

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



**Rezistence českých populací lociky kompasové  
(*Lactuca serriola* L.) vůči *Bremia lactucae* z *L. serriola***

*Bakalářská práce*

Autor: **Jitka Křenová**

Studijní program: B1501 Biologie

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

Forma studia: Prezenční

Vedoucí práce: **Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.**

Termín odevzdání práce: duben 2013

Prohlašuji, že jsem tuto práci na téma „Rezistence českých populací lociky kompasové (*Lactuca serriola* L.) vůči *Bremia lactucae* z *L. serriola*“ vypracovala samostatně, pouze za využití literatury uvedené v přehledu použité literatury.

V Olomouci dne 25. 4. 2013

.....  
Podpis

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce **Prof. Ing. Aleši Lebedovi, DrSc.** za možnost podílet se na tomto výzkumu, za odborné vedení, vstřícnost, věcné připomínky a čas, který mi věnoval při konzultacích.

Poděkování rovněž náleží celému kolektivu laboratoře fytopatologie Katedry botaniky PřF, zejména paní **Drahomíře Vondrákové** a **Věře Zoubkové** za jejich ochotu, praktické rady a pomoc při zpracovávání experimentálních pokusů.

## **Bibliografická identifikace:**

<b>Jméno a příjmení autora:</b>	Jitka Křenová
<b>Název práce:</b>	Rezistence českých populací lociky kompasové ( <i>Lactuca serriola</i> L.) vůči <i>Bremia lactucae</i> z <i>L. serriola</i>
<b>Typ práce:</b>	bakalářská práce
<b>Pracoviště:</b>	Katedra botaniky
<b>Vedoucí práce:</b>	Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.
<b>Rok obhajoby práce:</b>	2013

**Abstrakt:** Bakalářská práce se zabývá problematikou rezistence souboru 250 jedinců *Lactuca serriola*. Rostlinný materiál byl sesbírán na území České republiky v roce 2001 v rámci evropského projektu „Gene-Mine“. K experimentu bylo použito celkem 5 izolátů *B. lactucae* a udržovaných ve sbírce mikroorganismů na Katedře botaniky Univerzity Palackého v Olomouci. Jednotlivé testy byly prováděny na semenáčcích *L. serriola* a hodnoceny kvalitativními i kvantitativními metodami ve dvoudenních intervalech 6.–14. den po jejich inokulaci. Na základě získaných dat bylo stanoveno procento rezistentních reakcí v rámci jedinců i populací, a byla posouzena heterogenita zkoumaných populací *L. serriola*. Zároveň byla sledována variabilita virulence *B. lactucae*, dále pak byly stanoveny fenotypy virulence jednotlivých izolátů, a to na základě jejich interakcí s diferenciacním souborem genotypů *Lactuca* spp. Z provedených experimentů bylo zjištěno velmi nízké procento rasově-specifické rezistence zkoumaných populací *L. serriola* a vysoký stupeň virulence studovaných izolátů *B. lactucae*.

**Klíčová slova:** plíseň salátová, locika kompasová, interakce hostitel-patogen, přírodní populace, stupeň napadení, variabilita rezistence

Počet stran: 60

Počet příloh: 20

Jazyk: český

## **Bibliographical identification**

**Autor's first name and surname:** Jitka Křenová

**Title:** Resistance of Czech populations of prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.) to *Bremia lactucae* from *L. serriola*

**Type of thesis:** bachelor thesis

**Department:** Department of Botany

**Supervisor:** Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.

**The year of presentation:** 2013

**Abstract:** This bachelor thesis deals with variation of resistance in the set of 250 *Lactuca serriola* samples. The seeds of *L. serriola* were collected in 2001 in the Czech Republic as a part of European project called "Gene-Mine". For screening were used 5 isolates of *Bremia lactucae* originating from natural populations *L. serriola*, and maintained at the collection of microorganisms in Department of Botany at Palacky University in Olomouc. The tests were carried out at the stage of fully expanded cotyledon leaves (6 days after sowing). The evaluations were made from 6 to 14 days after inoculations by using qualitative and quantitative methods. Based on these data was determined a percentage of resistant reactions within individuals and populations. Heterogeneity of the examined populations of *L. serriola* was assessed as well. There was observed virulence variation of *Bremia lactucae*, further virulence phenotypes were determined on the background of recorded reactions on the differential set of *Lactuca* spp. genotypes. The results showed very low level of race-specific resistance of investigated *L. serriola* populations, and as well as a high degree of virulence of investigated *B. lactucae* isolates.

**Keywords:** Lettuce downy mildew, Prickly lettuce, host-pathogen interaction, natural populations, degree of infection, virulence variation

Number of pages: 60

Number of appendices: 20

Language: Czech

# OBSAH

<b>1. ÚVOD .....</b>	<b>8</b>
<b>2. CÍLE PRÁCE.....</b>	<b>9</b>
<b>3. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....</b>	<b>10</b>
3.1. Taxonomické zařazení <i>Lactuca serriola</i> .....	10
3.2. Geografické rozšíření <i>Lactuca serriola</i> .....	10
3.3. Charakteristika druhu <i>Lactuca serriola</i> .....	10
3.3.1. Morfologie <i>L. serriola</i> .....	10
3.3.2. Ekologické a geografické nároky <i>L. serriola</i> .....	11
3.3.3. Obecné informace .....	12
3.4. Taxonomie a systematické zařazení <i>Bremia lactucae</i> .....	12
3.5. Hostitelský okruh <i>Bremia lactucae</i> .....	13
3.6. Geografické rozšíření <i>Bremia lactucae</i> .....	14
3.7. Biologie <i>Bremia lactucae</i> .....	14
3.7.1. Životní cyklus <i>Bremia lactucae</i> – nepohlavní fáze .....	14
3.7.2. Životní cyklus <i>Bremia lactucae</i> – pohlavní fáze .....	16
3.8. Příznaky napadení <i>Bremia lactucae</i> .....	16
3.8.1. Hypersenzitivní reakce .....	17
3.9. Ekologie a epidemiologie .....	18
3.10. Interakce hostitel-patogen .....	19
3.10.1. Základní kompatibilita .....	19
3.10.2. Základní imkompatibilita .....	19
3.11. Genetické aspekty interakce hostitel-patogen .....	20
3.12. Virulence a její variabilita u <i>B. lactucae</i> .....	20
3.13. Mechanismy rostlinné rezistence .....	23
3.13.1. Nehostitelská rezistence .....	24
3.13.2. Hostitelská rezistence .....	24
3.13.2.1. Rasově specifická rezistence .....	24
3.13.2.2. Rasově nespecifická rezistence .....	25
3.13.2.3. Polní rezistence .....	26
<b>4. MATERIÁL A METODY .....</b>	<b>27</b>
4.1. Přehled použitého rostlinného materiálu .....	27

4.2. Přehled použitých izolátů.....	32
4.3. Příprava a množení izolátů <i>B. lactucae</i> .....	32
4.4. Příprava rostlin pro pokusy .....	33
4.5. Příprava inokula a inokulace .....	33
4.6. Metody hodnocení a stanovení výsledků.....	34
4.6.1. Kvantitativní hodnocení intenzity sporulace .....	34
4.6.2. Kvalitativní hodnocení intenzity sporulace .....	35
4.6.3. Determinace faktorů virulence a frekvence jejich zastoupení.....	36
4.6.4. Fenotypy virulence .....	36
<b>5. VÝSLEDKY .....</b>	<b>37</b>
5.1. Testování rezistence souboru <i>Lactuca serriola</i> .....	37
5.1.1. Hodnocení populací a jedinců <i>L. serriola</i> z hlediska rezistence .....	37
5.2. Testování izolátů na diferenciačním souboru genotypů <i>Lactuca</i> spp.....	42
5.2.1. Vyhodnocení reakcí použitých izolátů <i>B. lactucae</i> na diferenciačním souboru genotypů <i>Lactuca</i> spp.....	42
5.2.2. Virulence použitých izolátů <i>B. lactucae</i> na diferenciačním setu <i>Lactuca</i> spp. ....	47
5.2.4. Fenotypy virulence .....	50
<b>6. DISKUZE .....</b>	<b>52</b>
<b>7. ZÁVĚR .....</b>	<b>55</b>
<b>8. PŘEHLED LITERATURY .....</b>	<b>56</b>
<b>9. PŘÍLOHY .....</b>	<b>61</b>
9.1. Tabulky.....	61
9.2. Obrázky .....	77

# 1. ÚVOD

Locika kompasová (*Lactuca serriola* L.) je nejvíce rozšířeným druhem rodu *Lactuca* spp. a v současnosti se na evropském žebříčku řadí mezi nejčetnější plevelné rostliny (Lebeda et al., 2002). I přes povědomí její existence už od 18. století se do popředí zájmu botaniků a fytopatologů dostala až v posledních letech v souvislosti s *Bremia lactucae*.

Plíseň salátová (*Bremia lactucae* Regel) je závažný obligátní patogen způsobující problémy zejména v oblasti zemědělství. Vyvolává rozsáhlá infekční onemocnění kulturního salátu (*L. sativa*), vlivem čehož dochází k výrazným ekonomickým ztrátám prostřednictvím snížení nejen produkce, ale i kvality této plodiny. V důsledku hledání trvalejší ochrany před touto chorobou se výzkum zaměřil na využívání nových genetických zdrojů rezistence z planých druhů blízké příbuzných *L. sativa*, zejména pak z přírodních populací *L. serriola*.

Struktura planých společenstev *L. serriola*, propojení populací prostřednictvím genového toku a vzájemné interakce s *Bremia lactucae*, jsou dosud předmětem studií. Prostřednictvím velmi blízkého vztahu s hostitelem, rostlinný patogen působí na strukturu, dynamiku a celkovou evoluci populací *L. serriola*. Přispívá také k udržování a obohacování genetické diverzity jednotlivých rostlinných společenstev (Lebeda et al., 2008). Samotná existence *B. lactucae* je ale také ovlivňována klimatickými podmínkami hostitelského stanoviště (Petrželová & Lebeda, 2004a).

V České republice bylo experimentální studium planých populací *L. serriola* a *B. lactucae* zahájeno na počátku roku 1980. Detailnější informace o genetickém pozadí rezistence a distribuci odolných genotypů v populacích *L. serriola*, stejně jako údaje o distribuci a variabilitě virulence *B. lactucae* v přírodních patosystémech, jsou vyžadovány pro další kroky k úspěšnému boji proti onemocnění vyvolané plísní salátovou.



## 2. CÍLE PRÁCE

Předmětem předložené bakalářské práce bylo studium rezistence souboru 250 jedinců *Lactuca serriola* vůči 5 izolátům *Bremia lactucae*. Cílem práce bylo zejména:

1. Zpracovat informace o dané problematice ve formě rešerše;
2. Provést experimentální pokusy determinující rezistenci *Lactuca serriola* k izolátům *Bremia lactucae*
3. Zpracovat a interpretovat získaná data z hlediska variability rezistence hostitele v daném prostoru;

## 3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3.1. Taxonomické zařazení *Lactuca serriola*

*Lactuca serriola* L. (locika kompasová, v angličtině „prickly lettuce“) patří do rodu *Lactuca*, jenž je na základě fylogenetických studií zařazen do tribu *Lactuceae*, podčeledi *Cichorioidea* a čeledi *Asteraceae* (dříve *Compositae*), jedné z nejpočetnějších čeledí (Křístková et al., 2008; Lebeda et al., 2002, 2004a, 2009).

Rod *Lactuca* se dělí na další sekce, a to *Phaenixopus*, *Mulgedium*, *Lactucopsis*, *Tuberosae*, *Micranthae*, *Sororiae* a *Lactuca*. Na základě odlišného životního cyklu vzniklo dělení sekce *Lactuca* na dvě podsekce *Lactuca* a *Cyanicae* (Doležalová, 2001). Do podsekce *Lactuca* jsou řazeny *L. aculeata*, *L. altaica*, *L. azerbaijanica*, *L. dregeana*, *L. georgica*, *L. livida*, *L. saligna*, *L. sativa*, *L. scarioloides*, *L. virosa* a především *L. serriola* (Lebeda et al., 2009).

### 3.2. Geografické rozšíření *Lactuca serriola*

Locika kompasová je rostlinným druhem s preferencí na suché klimatické podmínky, upřednostňující mírné a teplé oblasti severní polokoule. Nalézt ji můžeme v Evropě, Asii, Africe, Indonésii, severní a centrální Americe (Lebeda et al., 2002, 2004a, 2008b).

Z důvodu snadného přenosu nažek na velké vzdálenosti dochází v současnosti k intenzivnímu šíření tohoto druhu v centrální, západní a severozápadní Evropě (Lebeda et al., 2007; Petrželová & Lebeda, 2004b; Novotná et al., 2011). Zároveň je invaze nových stanovišť úzce spojena s lidskou činností, zejména pak s narůstající dopravou (Novotná et al., 2011). Vlivem globálního oteplování dochází k nárůstu počtu potenciálních stanovišť pro *L. serriola* také v zemích severní zeměpisné šířky (D'Andrea et al., 2009).

### 3.3. Charakteristika druhu *Lactuca serriola*

#### 3.3.1. Morfologie *L. serriola*

Podle Prince et Carter (1977) *Lactuca serriola* existuje ve dvou formách jako *L. serriola* L. f. *serriola* a *L. serriola* L. f. *integrifolia*, lišící se vzhledem listů a geografickou distribucí (Lebeda et al., 2004, 2007; Novotná et al., 2011). V České republice převládá forma *L. serriola* L. f. *serriola* s peřenolaločnatými listy, a rozsahem areálu v centrální a severní Evropě. Druhá forma s celistvým okrajem listů se vyznačuje méně častým výskytem, a to

zejména v Německu, Nizozemí, Velké Británii, Itálii a Slovensku (Lebeda et al., 2004, 2007; Novotná et al., 2011). Pro formu *L. serriola* L. f. *integrifolia* lze v literatuře nalézt synonymum *L. serriola* var. *integrata* nebo také *L. integrata*.

### 3.3.2. Ekologické a geografické nároky *L. serriola*

*Lactuca serriola* je kosmopolit a patří mezi nejběžnější plevelné rostliny Evropy (Lebeda et al., 2002). První zmínka o tomto druhu v Evropě pochází už z 18. století (1765) z Belgie (D' Andrea et al., 2009). Dokládá to herbářový záznam, na kterém je použito jméno *Lactuca scariola* L., což je ovšem synonymum pro *L. serriola* (Novotná et al., 2011).

Locika kompasová (*Lactuca serriola*) je nejvíce rozšířený a proměnlivý druh rodu *Lactuca*. Tato dvouletá rostlina svou výškou dosahuje 70–90 cm. Její vzpřímená lodyha je pevná a v dolní části štětinatá, někdy lysá a rozvětvená. Tvar listů je kracovitý, peřenolaločnatý, hrálovitě srdčitou bází přisedlý a na okraji osténkatě zubatý. Listy v horní části lodyhy jsou kopinaté, celokrajné a sivě zelené. Povrch listů je pokryt jemnými chloupky. Rostlina vzápětí po poranění roní latex (Kubát et al., 2002).

Doba kvetení *L. serriola* se pohybuje od července až do září (Marks & Prince, 1981). Načasování této fáze životního cyklu je však do jisté míry ovlivněno ekologickými a geografickými podmínkami určitého stanoviště. Období kvetení rostlin se může lišit mezi populacemi na různých habitatech, přičemž tato specifická bývá geneticky zakódována (Novotná et al., 2011). Květenstvím je vrcholíková lata se šikmo odstálými úbory. Úbory jsou malé, stopkaté až přisedlé s válcovitým zákrovem. Listeny jsou sivě zelené, lysé a na konci nafialovělé. Plodem lociky je sivá až černavá nažka, lehce bradavičnatá, 3–4 mm dlouhá a 1 mm široká (Novotná et al., 2011). Na její špičce je malá štětinka. Produkce nažek v polních podmínkách trvá po dobu asi 2 měsíců, zatímco při pěstování ve skleníku po dobu až 6 týdnů. Anemochorní nažky jsou ochmýřené a opatřené háčky různých tvarů, díky nimž dochází k jejich šíření na velké vzdálenosti (Novotná et al., 2011).

*Lactuca serriola* je hemikryptofyt, vyskytující se v meridionální temperované až kontinentální oblasti Evropy a Asie. Z ekologického hlediska locika kompasová svou životní strategií odpovídá r-stratégům, patří mezi velmi invazivní a pionýrské druhy osidlující nová stanoviště (Lebeda et al., 2007). V průběhu evoluce došlo ke zkrácení jejího životního cyklu a získání silné schopnosti samooplození a adaptace na disperzi větrem. Dalším zvýhodněním je pro opylovače atraktivní žlutá barva květů (D' Andrea et al., 2009).

Ideálním stanovištěm pro tuto rostlinu jsou slunná, suchá a skalnatá místa. Můžeme ji nalézt i na lesostepních stráních a druhotně také na násypech, sutinách a okrajích kamenolomů. Nejčastějším výskytem tohoto druhu jsou však ruderalní a synantropní rozrušená stanoviště, která jsou díky lidské činnosti propojená a lépe dostupná pro novou invazi rostlin. (Lebeda et al., 2004a, D' Andrea et al., 2009). Populace *L. serriola* o různé velikosti lze zaznamenat na okrajích vozovky, železnice, na skládkách a v městských oblastech. V posledních letech vzrůstá její výskyt také v zemědělských oblastech s úrodnou půdou, jako jsou sady, vinice a pastviny. Hojně se rovněž množí i na neobdělávané půdě a v okolí polí (Lebeda et al., 2004a, 2007).

Na zmíněných habitatech *L. serriola* často roste ve společnosti např. *Tripleurospermum inodorum* (heřmánkovec nevonný), *Arrhenatherum elatius* (ovsík vyvýšený), *Urtica dioica* (kopřiva dvoudomá), *Chenopodium album* (merlík bílý) a *Artemisia vulgaris* (pelyněk černobýl) (Lebeda et al., 2007).

### 3.3.3. Obecné informace

*Lactuca serriola* je součástí primárního genového poolu rodu *Lactuca*. Vyznačuje se blízkou příbuzností ke kulturnímu salátu (*Lactuca sativa*, locika setá) a je považována za jeho předka (Lebeda et al., 2004a, 2008b; Novotná et al., 2011; Petrželová & Lebeda, 2004a;). Rostlinní progenitoři včetně *L. serriola* jsou využíváni ke studiu odolnosti proti chorobám z důvodu jejich velké genetické variability. Locika kompasová je využívána jako zdroj rezistence proti virům Lettuce Mosaic Virus, Corky Root, dále také proti rostlinným patogenům *Glovinomyces cichoracearum* (padlí tykvovitých) a zejména pak *Bremia lactucae* (plíseň salátová) (Lebeda et al. 2007, Novotná et al., 2011).

## 3.4. Taxonomie a systematické zařazení *Bremia lactucae*

*Bremia lactucae* (plíseň salátová), v zahraniční literatuře označovaná jako „downy mildews“, je systematicky řazena do evolučně pokročilého řádu *Peronosporales* (tzv. „nepravá padlí“), zahrnující asi 650 druhů rostlin v 9 rodech (Lebeda et al., 2002). Dále patří do podtřídy *Peronosporomycetidae*, třídy *Peronosporomycetes* a početného oddělení *Peronosporomycota* (dříve nazývaného *Oomycota* – řasovky; plísně vaječné). V minulosti bylo toto oddělení řazeno do říše *Fungi* z důvodu podobného způsobu výživy a růstu mycelia, dnes však je součástí říše *Chromista* (Latijnhouwers et al., 2003).

Rod *Bremia* zahrnuje pouze dva druhy, a to *Bremia lactucae* a *Bremia graminicola*. Navzájem se odlišují okruhem hostitelů, přičemž *B. lactucae* napadá obzvláště zástupce čeledi *Asteraceae*, zatímco *B. graminicola* se vyskytuje na druzích rodu *Arthraxon* Beauv (*Poaceae*) (Lebeda et al., 2002).

Patogen *B. lactucae* se vyznačuje svou vysokou hostitelskou specificitou často na jediný rod či druh hostitele. Na základě této charakteristiky je členěn na 11 specializovaných forem (*formae speciales*, f.sp.) (Lebeda et al., 2002, 2008a).

### 3.5. Hostitelský okruh *Bremia lactucae*

Spektrum hostitelů, které je *B. lactucae* schopna infikovat, je značně rozsáhlé a byla zaznamenána na více než 200 druzích z bohaté čeledi *Asteraceae* (hvězdnicovitě). Současně jsou za potenciální hostitele pokládáni zástupci až 40 rodů této čeledi (Lebeda et al., 2002, 2007, 2008). *Bremia lactucae* napadá zejména rod *Lactuca* a je považována za velmi závažného patogena konzumních odrůd salátu, schopného způsobit značné ekonomické ztráty (*Lactuca sativa*) (Lebeda et al., 2002, Petrželová & Lebeda, 2004b).

V Evropě je popsáno 17 planých druhů náležících do rodu *Lactuca*, avšak pouze 7 z nich lze považovat za přirozeného hostitele *B. lactucae* (Lebeda et al., 2002, Petrželová & Lebeda, 2011). Nejběžnějším hostitelem je však *Lactuca serriola* (Lebeda et al., 2008). Informace o struktuře a distribuci patogenní populace v rámci *L. serriola* a i planých populací dalších druhů, jsou prozatím velmi omezené (Lebeda et al., 2002, Petrželová & Lebeda, 2004).

V České republice vykazuje vysoký stupeň napadení plísní salátovou *Lactuca serriola*, druhým nejčastějším hostitelem je *Sonchus oleraceus* (mléč zelinný) (Lebeda et al., 2002, Petrželová & Lebeda, 2004). Výskyt infekce byl pozorován řídce i na *Arctium tomentosum* (lopuch plstnatý), *Carduus crispus* (bodlák kadeřavý), *Cirsium arvense* (pcháč rolní), *Lapsana communis* (kapustka obecná), *Sonchus arvensis* (mléč rolní) a *Sonchus asper* (mléč drsný) (Lebeda et al., 2008) a rovněž na okrasných rostlinách, např. *Senecio* (starček).

I přes široký okruh hostitelů zůstávají jednotlivé rasy *B. lactucae* velmi specifické a často omezené na stejný rostlinný druh či rod (Lebeda et al., 2002, Petrželová & Lebeda, 2004), což je v souladu s jejich evoluční pokročilostí.

### **3.6. Geografické rozšíření *Bremia lactucae***

Rozšíření choroby vyvolané tímto závažným obligátním patogenem je celosvětové. S výjimkou Antarktidy ji lze zaznamenat na všech kontinentech, především v oblastech s mírným klimatem (Lebeda et al., 2002). *Bremia lactucae* velmi běžně napadá populace *Lactuca serriola* (locika kompasová) v České republice, obdobná situace je podle posledních průzkumů i v Nizozemí (Lebeda et al., 2008b). V dalších evropských zemích jako je Rakousko, Francie, Německo, Švýcarsko, Slovensko a Švédsko, byla infekce zjištěna pouze ojediněle. Podrobnější fakta týkající se distribuce a geografických odlišností populací *B. lactucae* v rámci Evropy dosud chybí (Lebeda et al., 2008).

### **3.7. Biologie *Bremia lactucae***

Plíseň salátová je velmi primitivní a drobný patogen. Jako obligátní parazitický druh se vyznačuje závislostí na rostlinném hostiteli a jeho existence, vývoj a rozmnožování může proběhnout pouze na živé rostlině. Z důvodu této závislosti svého hostitele neusmrcuje (Lebeda et al., 2002, Michelmores & Wong, 2008). Růst hyf probíhá v protoplastu hostitele, stélka je tzv. endobiotická a intercelulární – rozrůstající se v mezibuněčných prostorech. Další charakteristikou stélky je její eukarpičnost a monocentričnost (Latijnhouwers et al., 2003). Mycelium je cenocytické, vláknité a větvené. Rovněž vytváří typický znak parazitů tzv. haustoria, kterým proniká přes buněčné stěny hostitele a vysává z něho živiny.

Rozlišovacím znakem od ostatních rodů je tvorba diferenciovaných sporangioforů ukončeného růstu na povrchu napadené části rostliny. Od ostatních *Peronosporales* se *B. lactucae* odlišuje typickým větvením a tvarem sporangioforů. Charakteristickým znakem je potom rozšířená terčovitá naduřenina naspodu větévky sporangioforu (Kalina & Váňa, 2005).

#### **3.7.1. Životní cyklus *Bremia lactucae* – nepohlavní fáze**

Ve vegetativní fázi vývoje se *Bremia lactucae* vyskytuje většinu svého cyklu. K nepohlavnímu rozmnožování tohoto houbového mikroorganismu dochází mimo rostlinné pletivo. Hyfy, na kterých vyrůstají sporangia, jsou označovány jako konidiofory. Nosiče sporangií prorůstají průduchy zejména na spodní straně listů v počtu 1 až 3. Na jejich vrcholu se tvoří nepohlavní tenkostěnné a vícejaderné útvary tzv. konidie (konidiosporangia) (Kalina & Váňa, 2005). Ty se po čase odlamují a za příhodných podmínek může dojít k jejich ulpění

na listovém povrchu a postupnému vniknutí patogena do hostitelského pletiva pomocí infekčních struktur. Tyto procesy jsou však pod vlivem faktorů prostředí. Do jisté míry záleží taktéž na genotypu rostliny a jejím ontogenetickém stádiu. Detaily samotné adheze spor na listovém povrchu však nejsou dosud podrobně prozkoumány.

Klíčení konidií nastává většinou 1–3 hodiny po inokulaci a je z velké části pod vlivem teploty. Optimum pro klíčení se pohybuje okolo 10–15° C, přičemž k němu dochází jak v případě hostitelské, tak i nehostitelské rostliny (Lebeda et al., 2008a). Sporangium *Bremia lactucae* je označováno za jednosporové, klíčí tedy přímo, pomocí klíčící hyfy (Kalina & Váňa, 2005). Vychlípáním stěny spory v jednom místě dochází k formování klíčku, který se dále prodlužuje v klíčící vlákno (Lebeda, 1989, Sargent et al., 1977). Délka klíčícího vlákna je u různých druhů velmi proměnlivá. Podle nejnovějších průzkumů jsou však tyto infekční struktury planých *Lactuca* spp. výrazně kratší než u *Lactuca sativa* (Lebeda et al., 2008a). Po určité době je růst klíčícího vlákna zastaven a asi 3–6 hodin po inokulaci dochází k formování apresoria (Lebeda & Reinink, 1994). Tento polštářovitý infekční útvar je jedním z předpokladů pro penetraci a překonání bariér ve formě kutikuly, buněčné stěny a plazmatické membrány rostliny (Latijnhouwers et al., 2003). Apresorium umožňuje kontakt plísně s povrchem rostliny a jeho vnitřní stěna je základem pro vznik penetračního hrotu, který slouží k průniku přes rostlinnou epidermis (Lebeda, 1989). Invaze do pletiva hostitele probíhá za využití mechanických faktorů a sekretovaných látek. Degradací enzymy zajišťují narušení a rozklad kutikuly a buněčných stěn, ve výsledku však s co nejmenším poškozením hostitele (Cooper, 1981). K penetraci dochází ve většině případů přes kutikulární povrch rostliny, zřídka přes stomata (cca v 1–5 %), za teploty 12–15° C (Lebeda, 1991; Lebeda & Reinink, 1991; Lebeda et al., 2008a; Michelmore & Wong, 2008). Po přímém průniku penetračního hrotu do epidermální buňky se vytváří vakovitá primární vezikula, z ní pak dále sekundární vezikula, vyplňující spolu celý vnitřní prostor rostlinné buňky.

Další etapou nepohlavního cyklu je prorůstání mezibuněčných prostor listového mezofylu intercelulárními coenocytickými hyfami *B.lactucae* a tvorba diploidního vegetativního mycelia. Do okolních buněk jsou vysílány kyjovitá haustoria, pomocí nichž patogen absorbuje živiny hostitele a narušuje jeho metabolismus (Cooper, 1981, Latijnhouwers et al., 2003). Asexuální cyklus se uzavírá prorůstáním konidioforů přes listové průduchy a tvorbou nových nepohlavních spor (Kalina & Váňa, 2005).

### 3.7.2. Životní cyklus *Bremia lactucae* – pohlavní fáze

Pohlavní rozmnožování u *Bremia lactucae* se nazývá oogametangiogamie. Plíseň je řazena mezi heterotalické druhy, u kterých je geneticky zakódovaná přítomnost tzv. párovacích typů, které však od sebe nelze rozlišit morfologicky. Ke splynutí gametangií dojde pouze za předpokladu přítomnosti dvou odlišných pohlavních párovacích typů stélek B1 a B2 (+/-) (Lebeda et al., 2002). V případě stejných kmenů stélek nedochází k sexuální reprodukci z důvodu zastavení tohoto procesu homologickým párem genu inkompatibility (Michelmore & Wong, 2008).

Pohlavní proces začíná v okamžiku, kdy se prorůstající hyfy dostanou do těsného kontaktu sexuálně opačné hyfy (+/-). Tímto způsobem je potlačen asexuální cyklus a v místě střetnutí dochází ke vzniku shluku nepohyblivých gametangií (Michelmore & Wong, 2008). Jsou rozdělena na samičí kulovitá oogonia, vznikající ze zduřeniny na konci intracelulární hyfy a následně utvářená samičí kyjovitá antheridia (Sargent et al., 1977). Samčí gametangium je hormonálně přitahováno k samičímu gametangiu. Současně v nich dochází k meióze a tvorbě gamet. Touto fází přechází patogen z diploidního stádia, ve kterém se nachází nejdelší část svého cyklu, do stádia haploidní spory (Latijnhouwers et al., 2003, Michelmore & Wong, 2008). Při pohlavním procesu plísně salátové se však netvoří pohyblivé spory (zoospory), jak je tomu u některých *Peronosporales*. Po samotném oplození se jediná oosféra produkovaná oogoniem mění v tlustostěnnou zygotu, označovanou jako oospora. Ta je schopna přežít volně v půdě či na rostlinných zbytcích. Oospora se tak může stát zdrojem pro vznik nové infekce v dalším vegetačním období a klíčí podobným způsobem jako nepohlavní spory (Kalina & Váňa, 2005; Latijnhouwers et al., 2003; Lebeda et al., 2002).

### 3.8. Příznaky napadení *Bremia lactucae*

*Bremia lactucae* je schopna napadat rostliny v jakékoliv fázi jejich ontogenetického vývoje a k šíření vyvolané infekce dochází po celé vegetační období (Petrželová & Lebeda, 2004a). Při terénním výzkumu v České republice byl registrován první výskyt nákazy u *L. serriola* počátkem dubna či května, poslední záznam pocházel obvykle z konce září.

Pro tohoto patogena je typické široké spektrum a značné rozdíly v makroskopickém projevu choroby, které jsou důsledkem rozsáhlé genetické diverzity populací *L. serriola* a množství rasově specifických genů rezistence resp. faktorů. Rostliny z jednotlivých populací lokiky kompasové však zpravidla vykazují podobné symptomy (Lebeda et al., 2008).

Prvotním příznakem infekce *B. lactucae* je nález chlorotické tkáně v rozdílné šíři



následkem úbytku listového chlorofylu. Na spodní straně listů jsou znatelné světle zelené až žlutozelené skvrny nepravidelného tvaru a nabývající různé velikosti. Ve většině případů skvrny ohraničuje silnější žilnatina (Lebeda et al., 2008). Poté v místě napadení na abaxiální straně listů vyrůstá bílý krupičkovitý povlak sporangioforů se sporangii. Intenzita sporulace je do značné míry ovlivněna podmínkami prostředí a koncentrace primárního inokula se odráží v dosaženém procentu sporulace (Lebeda et al., 2008). Sekundárně se sporulace může tvořit i na adaxiální straně listu za příznivých mikroklimatických podmínek (Petrželová & Lebeda, 2000).

V závislosti na měnící se vzdušné vlhkosti okolního prostředí dále listy podléhají hnilobě nebo zasychají. Rozsah a šíření choroby v jednotlivých populacích rostlin je podmíněna sezónou a do jisté míry klimatem a faktory počasí, které se významně podílí na postupu či potlačení vývoje choroby (Scherin & Bruggen, 1994).

### **3.8.1. Hypersenzitivní reakce**

Hypersenzitivní reakce je mechanismus spojený s rezistencí hostitele k patogenní infekci a regulací obranné reakce v místní i vzdálené tkáni (Morel & Dangl, 1997). Patří mezi hlavní rysy rasově specifické rezistence *L. serriola* a *B. lactucae* a míra rozsahu této reakce je jedinečná pro každý genotyp hostitele a patogena (Lebeda et al., 2008a). Je řízena signály jak na straně hostitele, tak patogena. Podmínkou je přítomnost genů avirulence kódující ligand, jež je rozpoznáván produkty genů rezistence (Morel & Dangl, 1997). Vykazuje-li rostlina známky hypersenzitivní reakce je odolná vůči patogenu, avšak je přecitlivělá na jeho přítomnost (Lebeda, 1989).

Hypersenzitivní reakce je forma programované buněčné smrti, geneticky kontrolovaného aktivního procesu, která se může objevit již několik málo hodin po kontaktu hostitele s patogenem (Morel & Dangl, 1997). V rámci buněk lze pozorovat náhlé změny propustnosti buněčných membrán, porušení turgoru a destrukci membrán subcelulárních organel. Výsledkem této rostlinné odpovědi na infekci je zhroucení a konečná nekróza buněk (Lebeda, 1989). Smrt buněk je tak účinným způsobem jak znemožnit haustoriím patogena přístup k potřebným živinám (Lebeda, 1989; Lebeda et al, 2008a; Morel & Dangl, 1997).

### 3.9. Ekologie a epidemiologie *Bremia lactucae*

Ontogeneze plísňe salátové je v úzkém spojení s okolními podmínkami prostředí. Za nejdůležitější faktory ovlivňující existenci tohoto patogena se považuje teplota, relativní vzdušná vlhkost a světlo. Jejich kooperace se výrazně projevuje ve vývoji a intenzitě napadení hostitelských rostlin. Svou roli však zde hraje i stáří rostliny a koncentrace inokula (Lebeda et al., 2008b).

Podmínkou nepohlavní fáze životního cyklu, jejímž cílem je tvorba konidioforů na listovém povrchu a produkce spor – konidií, je načasování na dobu vysoké vlhkosti, nízké rychlosti větru a zejména určitého časového úseku temna (Wu et al., 2002). Sporulace a její intenzita je v největší míře ovlivněna relativní vzdušnou vlhkostí a teplotou prostředí. Oba tyto faktory jsou spolu vzájemně propojeny a souběžně spolu modifikují sporulaci s ohledem na dobu jejich společného působení (Su et al., 2004). Hranice minimální vlhkosti, která je vyžadována pro zdárný vývoj patogena, je asi 80 %. Přičemž za ideální se považují hodnoty od 90 do 100 % relativní vzdušné vlhkosti. Za takových podmínek dochází intenzivnímu nárůstu sporangioforů ve formě bílého krupičkovitého povlaku na povrchu listů (Petrželová & Lebeda, 2004a, Su et al., 2004). *Bremia lactucae* je schopna sporulovat v rozmezí teplot od 4 do 20° C. Optimální teplota se však pohybuje od 10 do 15° C, přičemž nejvyšší intenzita sporulace byla zaznamenána při teplotě 15° C (Su et al., 2004).

Po sporulaci, jež probíhá převážně v noci, jsou v časných ranních hodinách z konidioforů uvolňovány konidie (Schermer & Bruggen, 1994). Tento proces může být inhibován působením světla, zvyšující se teplotou a následným odpařováním vlhkosti na listovém povrchu (Wu et al., 2000). Konidie jsou dále šířeny větrem, v méně případech i pomocí vody. Pro vznik nové infekce je nejzásadnější dostatečně vlhký listový povrch, který je zachován po několik hodin po předešlé noci (Wu et al., 2000). Může tak dojít k šíření spor a následnému uchycení, klíčení a napadení nového hostitele současně během jednoho rána (Schermer & Bruggen, 1994, Wu et al., 2000). V případě vhodných podmínek, jako je nejen vlhkost listů trvající nejméně 3 hodiny, ale i teplotní optimum 15° C, dochází po uchycení konidií na listovém povrchu ke klíčení a následné penetraci do tkání hostitele. Horní mez pro teplotu přijatelnou pro klíčení a penetraci se pohybuje kolem 20° C (Schermer & Bruggen, 1994, Wu et al., 2000).

Konidie *Bremia lactucae* mohou přežívat i volně a za nevhodných podmínek pro vznik infekce, avšak dochází k tomu zřídka. Důvodem je negativní účinek slunečního záření, z něhož složka UVB (250–320 nm) má nejvíce škodlivý charakter, a vysoké teploty během

dne. Z tohoto důvodu je proces uvolnění a klíčení konidií načasován na brzká rána (Wu et al., 2002).

### **3.10. Interakce hostitel-patogen**

Při kontaktu rostlinného hostitele s houbovým patogenem vzniká velmi těsné spojení, prostřednictvím kterého dochází ke vzájemnému ovlivňování se zúčastněných genových systémů. Změna v genotypu hostitele navozuje změnu v genotypu patogenu a naopak (Lebeda, 1989). Důležitou roli v interakci hostitele a patogenu hrají spontánně vzniklé mutace, a to jak u hostitele, tak i u patogenu. Jejich účinkem se vyvíjí současně geny rezistence rostlinného organismu i virulence patogenu. Významnost mutací spočívá rovněž v tom, že patogen může měnit svou schopnost napadat určitý druh hostitele či odrůdy. (Lebeda, 1989).

Pro poznání vztahu hostitele a patogenu je důležité nejenom studium dědičnosti a proměnlivosti virulence patogenu, ale i dědičnosti a proměnlivosti rezistence k chorobě vyvolané tímto patogenem. Detailní znalost jejich recipročního vztahu je zásadní pro objasnění variability virulence *Bremia lactucea* z hlediska virulentních faktorů virulentních fenotypů (Lebeda & Zinkernagel, 2003).

#### **3.10.1. Základní kompatibilita**

Podmínkami pro kompatibilní reakci patogenu a hostitele jsou více či méně specifické biochemické a genetické mechanismy. Při této reakci dochází ke specifickému přizpůsobení patogenu svému hostiteli. Specifičnost zde spočívá v tom, že jistý druh patogenu se vyznačuje značně vymezeným a ustáleným okruhem hostitelů (Lebeda, 1989).

#### **3.10.2. Základní inkompatibilita**

Reakcí inkompatibilní se rozumí stav absolutní neslučitelnosti rostliny a mikroorganismu. Tento jev není zřejmě pod vlivem interakce gen-proti-genu a je řízen aktivně přímo rostlinou. Výsledné reakce se rovněž nezúčastňují faktory prostředí (Lebeda, 1989).

### 3.11. Genetické aspekty interakce hostitel-patogen

V přírodě většina vztahů rostlinného hostitele a patogenu funguje na principu teorie gen-proti-genu (v angličtině „gene-for-gene“). S touto myšlenkou jako první přišel americký fytopatolog Harold Henry Flor na základě svých experimentů se rží lnovou (*Melampsora lini*) a různými odrůdami lnu (*Linum usitatissimum* L.). Poukázal na existenci R-genů (geny rezistence) a Avr genů (geny avirulence), jež řídí výsledek interakce v různých kombinacích patogenu a hostitele (Crute & Pink, 1996).

Na Flora navázal a tuto teorii rozvinul Person. Upozornil na její použití pro stanovení pravděpodobného počtu genů rezistence a virulence a jejich kombinací v systému hostitel-patogen (Lebeda, 1989).

Teorie gen-proti-genu je založena na existenci genů rezistence hostitele a jim odpovídajícím specifickým genům virulence resp. avirulence patogena. Aby byl patogen schopen infikovat hostitele, musí mít alespoň tolik genů patogenity, kolik má hostitel genů rezistence (Lebeda, 1989).

Současný výzkum se snaží o odhalení všech zákonitostí a dalších systémů fungujících na tomto principu. Doposud byl vztah gen-proti-genu zjištěn např. u rží u dvojic *Linum-Melampsora linii*, *Zea-Puccinia sorpici*, *Tritium-Puccinia graminis*, u sněží u *Avena-Ustilago avenae*, u padlí *Erysiphe graminis hordei* a u dalších. Tento vztah byl rovněž zaznamenán u hub, bakterií a virózy (Lebeda, 1989).

Výsledek interakcí jednotlivých genotypů stanovují specifické genové páry (Crute a Pink, 1996). V interakci typu gen-proti-genu je vyjádřením genotypu patogenu rezistence či vnímavost hostitelské rostliny. Naopak na genotypu hostitele závisí možný stupeň virulence patogenu (Crute & Pink, 1996, Lebeda & Zinkernagel, 2003). Nová rezistence na straně hostitele může být velmi rychle překonána změnami ve virulenci patogenu, výskytem nové rasy s odpovídajícími geny virulence (Lebeda & Zinkernagel, 2003). Tato rychlá úprava patogenu byla zaznamenána nejen v interakci *Bremia-Lactuca*, ale i dalších vztazích hostitel-patogen (Lebeda & Zinkernagel, 2003).

### 3.12. Virulence a její variabilita u *B. lactucae*

Výjimečnou schopnost patogenu zdolat překážku ve formě genů rezistence přítomných u hostitele označujeme pojmem virulence. Jako jedna z hlavních složek vyjadřuje kvalitativně patogenitu. Kvantitativně, tedy stupeň patogenity, vyjadřuje potom agresivita.

Pro označení genu virulence se používá symbol p (= patogenita) společně s číslem odpovídajícím specifickému genu rezistence v hostiteli, který je patogenem překonáván (Lebeda et al., 1988).

Variabilita virulence *B. lactucae* byla poprvé charakterizována v USA. Později se tomu tak stalo i v ostatních zemích známých v pěstování salátu (*Lactuca sativa*) (Lebeda et al., 2002). Interakce *Lactuca* spp.-*B. lactucae* je z důvodu dobré znalosti genetického pozadí hostitele a patogenu velmi vhodným modelem pro studie (Petrželová & Lebeda, 2004b).

Z počátku tohoto století se rozdíly ve specifické patogenitě izolátů popisovaly pomocí fyziologických ras (Lebeda et al., 2002, Petrželová & Lebeda, 2004). Tento termín rozděloval izoláty patogenu na základě odlišné schopnosti *B. lactucae* napadat odrůdy hostitele jednoho druhu. Fyziologické rasy se tedy vyznačují možností infekce různých genotypů rostliny (Lebeda et al., 1988). Z hlediska morfologie jsou však rasy identické. K jejich označení se používala zkratka země nálezů psaná velkým písmem a číslo pořadí dle nálezů této rasy (Petrželová & Lebeda, 2000).

Toto označení však bylo do jisté míry omezující, spíše taxonomickým způsobem a příliš nepodpořilo další vývoj a využití ve šlechtění na rezistenci. Další nevýhodou byla nemožnost definování genetické podstaty virulence ras (Petrželová & Lebeda, 2000). Z tohoto důvodu byl zaveden nový pojem – fenotyp virulence, pomocí něhož jsou v současnosti označovány izoláty patogenu odlišující se svou specifickou patogenitou (Petrželová & Lebeda, 2004b). Tato změna proběhla v návaznosti na definování teorie gen-proti-genu v 70. letech.

Základním principem, podle kterého jsou definovány jednotlivé fenotypy virulence, je stanovení konkrétních faktorů resp. genů virulence, jež vlastní jistý izolát patogena (Lebeda et al., 1988). Tímto způsobem je možné mapovat zastoupení konkrétních faktorů virulence v populaci *B. lactucae*, a dále tyto populace a subpopulace mezi sebou porovnávat (Petrželová & Lebeda, 2000).

Na základě dohody několika evropských států byla v roce 1999 přijata nová koncepce popisu virulence izolátů *Bremia lactucae*, která měla přinést užitek zejména v zemědělské a šlechtitelské praxi. Byla zavedena nová forma popisu a identifikace ras ve formě tzv. sextet-kódů. Pro přiřazení kódu a studium virulence je potřeba testování izolátu na souboru 19 diferenciacních odrůd salátu, v jejichž genotypu lze nalézt významné faktory a geny rezistence používané v současném šlechtění salátu. V případě nově identifikovaných genů rezistence je tento soubor doplňován novými odrůdami vlastními tyto rezistentní geny. Diferenciační soubor se skládá ze šestic genotypů mající své vlastní číslo (1, 2, 4, 8, 16, 32).

Pokud se reakce izolátu a hostitelské rostliny jeví jako náchylná, je tomuto izolátu přiděleno číslo pro tento diferenciační genotyp. Ve výsledku dochází k součtu čísel v každé šestici, přičemž získáme výsledný kód. Sextetový kód je složen z 8 čísel a je jedinečný pro každou kombinaci virulentních faktorů. Toto označení je velmi praktické, slučující předchozí metody a jednoduché na orientaci pro další práci s izoláty. Hlavní výhodou oproti dřívějším způsobům popisu je samotné objasnění genetické struktury fenotypu virulence studovaného patogena (Petrželová & Lebeda, 2000).

Dosažené poznatky o virulenci se prakticky využívají ve šlechtění na rezistenci odrůd salátu. Současný výzkum směřuje k objasnění principů virulentní struktury plísně salátové, jakož i její distribuce v přirozených populacích *L. serriola* (Lebeda & Petrželová, 2004). O struktuře a diverzitě patogenních populací v planých systémech jsou prozatím omezené znalosti a dostupné informace (Lebeda, 2002).

Plíseň salátová (*Bremia lactucae*) je známá svou vysokou genetickou variabilitou a produkcí množství ras s rozdílnou patogenitou, na čemž se podílí řada faktorů, které však doposud nejsou zcela známy. Studium virulence izolátů se provádí hodnocením kompatibilních a nekompatibilních reakcí plísně s příslušnými diferenciačními genotypy *Lactuca* spp. (Lebeda et al., 1988, 2002). Počet virulentních faktorů není konečný, teoreticky však může vzniknout až  $2^n$  možných kombinací, kde  $n$  je počet známých faktorů virulence (Petrželová & Lebeda, 2000).

Stejně jako vyjádření rezistence či vnímavosti hostitele závisí na genotypu patogenu, tak i stupeň virulence je podmíněn hostitelským genotypem. Úroveň a genetické změny ve variabilitě patogenity i rezistence se odráží v dynamice populace patogenu a současně i v rovnováze interagujících druhů (Lebeda, 2002, Lebeda & Zinkernagel, 2003). Taktéž sexuální reprodukce může působit na rozmanitost genetické variability a epidemiologii plísně salátové a je důvodem vzniku nových izolátů s rozdílnými virulentními fenotypy (Lebeda et al., 2008, Lebeda & Zinkernagel, 2003).

Co se týče počtu genů virulence *B. lactucae*, obecně mají rasy s vyšším počtem virulentních genů nižší fitness oproti rasám s menším počtem genů rezistence. Geny se v genotypu patogenu nehromadí, ale během evoluce se postupně z populace patogenu vytrácejí. V rámci této výměny je možné dostat se zpět ke genům rezistence, které byly dříve patogenem překonány. Tato skutečnost je důležitá zejména pro oblast šlechtitelství kulturního salátu (Lebeda et al., 1988).

Řada virulentních faktorů v populacích patogenu je považována za zbytečné vzhledem k tomu, že k nim odpovídající *Dm* geny chybí nebo se vyskytují v izolátech ve velmi nízkých

frekvencích. I přesto tento rozpor zůstávají v populaci patogenu. Zmíněný jev byl pozorován i u jiných rostlinných patogenních hub. Funkce dosud není známá (Lebeda & Zinkernagel, 2003).

Jednotlivé izoláty *B. lactucae* se mohou různit v prostorové distribuci virulentních fenotypů (v-fenotypů). Distribuce virulentního fenotypu v populaci a mezi populacemi je do značné míry ovlivněna selekcí (Lebeda & Petrželová, 2004).

Z hlediska virulence populací patogenu lze pozorovat podstatné rozdíly planým a kulturním patosystémem (Petrželová & Lebeda, 2004b, 2004c). Na rozdíl od planého patosystému je forma a genetická struktura rezistence hostitelské populace v kulturním patosystému zásadně pod vlivem pěstitelů. Současně je omezená i distribuce virulence v patogenních populacích. Důvodem je hledání nových genů rezistence a jejich aplikace v podobě nových odolných odrůd (Petrželová & Lebeda, 2004b). Izoláty *Bremia lactucae*, původem z přirozeně napadených populací *Lactuca serriola*, jsou velmi jedinečné svou strukturou a vesměs vykazují relativně jednodušší fenotypy virulence v porovnání s izoláty kulturních populací (Lebeda, 2002; Lebeda et al., 2002; Lebeda & Petrželová, 2004b).

### **3.13. Mechanismy rostlinné rezistence**

Rezistencí hostitele se rozumí jeho schopnost ubránit se invazivnímu účinku patogenu či zmírnit jeho škodlivé efekty. Ve většině případů je tato vlastnost podmíněna dominantními znaky (Lebeda et al., 1988). Rostlinný genom obsahuje početnou skupinu genů, které jsou zřejmě zapojeny v detekci a rozlišování potenciálních patogenů (Crute & Pink, 1996). V rámci shodných i různých druhů mohou být identické geny uloženy na odlišných lokusech a zodpovědné za rezistenci k odlišným patotypům mikroorganismů (Crute & Pink, 1996). Exprese těchto genů je do jisté míry ovlivňována vnějšími podmínkami, zejména pak teplotou a světlem (Lebeda et al., 1988). Typy rezistence a jejich mechanismy víceméně souvisí s diverzitou houbových organismů (Lebeda et al., 2002). Předpokládá se, že největší variabilita genů rezistence a současně i variabilita v populaci patogena, je v centrech původu rostliny. Důvodem je souběžný vývoj hostitele a parazita po dlouhou periodu a jejich vzájemné ovlivňování se (Lebeda et al., 1988). V rámci koevoluce hostitele a patogenu dochází k neustálému zdokonalování obranných mechanismů a adaptací rostlin za účelem limitace útoku patogenu (Petrželová & Lebeda, 2004b).

### 3.13.1. Nehostitelská rezistence

Rostlinná nehostitelská rezistence je z mnoha pohledů velmi výhodná. Hlavním důvodem je její vysoká efektivita a trvanlivost zajišťující rostlinám ochranu před patogenem oproti rasově specifické rezistenci, jejíž ochrana prostřednictvím genů rezistence není stabilní. Další předností je fakt, že nepodléhá vlivům životního prostředí na rozdíl od ostatních typů rezistence (Lebeda et al., 2002, Mysore et al., 2004). Do nehostitelské rezistence jsou zapojeny současně aktivní i pasivní biochemické procesy v rostlině, které vykazují jak vnitrodruhové, tak i mezidruhové rozdíly (Lebeda et al., 2002).

Tento typ rezistence byl zjištěn zejména u *L. saligna* a je pro něj charakteristická nízká frekvence jakýkoliv symptomů (Lebeda et al., 2002, 2008a).

### 3.13.2. Hostitelská rezistence

Předmětem výzkumu se hostitelská rezistence stala na počátku 20. století a je intenzivně podrobována jak klasickým, tak molekulárním metodám, které v poslední době ve větší míře převažují. Stěžejním zájmem je aplikace dosažených poznatků ve šlechtění na rezistenci rostlin.

Do kategorie hostitelské rezistence jsou řazeny tři nejznámější typy rezistence - rasově specifická rezistence, rasově nespecifická rezistence a polní rezistence (Lebeda et al., 2008a). Na rozdíl od nehostitelské rezistence se vyznačuje sníženou schopností dlouhodobé obrany před patogeny a širokou škálou makroskopických symptomů.

#### 3.13.2.1. Rasově specifická rezistence

Rasově specifická rezistence je nejintenzivněji studovaný typ rezistence současnosti. Ve zkoumání jejich zákonitostí a mechanismů se aktuálně nejvíce uplatňují molekulární metody, včetně mapování genů pomocí molekulárních markerů.

Tento typ rezistence je založen na teorii gen-proti-genu (Lebeda et al., 2008a, Petrželová & Lebeda, 2004b). Její specifčnost spočívá v dominantně založených genech resp. faktorech rezistence (*Dm* geny a R-faktory) u hostitele a rovněž dominantních genech avirulence patogenu (*Avr* geny). Napadená rostlina *L. serriola* může vykazovat vnímavost či rezistenci vůči *B. lactucae*, výsledek interakce je však závislý na obou zúčastněných genotypech (Crute & Pink, 1996, Lebeda & Zinkernagel, 2003). Dosud bylo identifikováno 13 *Dm* genů (*Dm* 1–7, 10, 11, 13–16) a 38 R-faktorů. Většina z nich pochází či jsou odvozeny z *L. serriola* (Lebeda et al., 2002). Na základě teorie gen-proti-gen se předpokládá



existence stejného počtu komplementárních v-faktorů (faktorů virulence) u patogenu.

Rostlina vybavena rasově specifickou rezistencí při setkání s mikroorganismem vykazuje inkompatibilní reakci a nepodléhá jeho účinku. Odolnost je však omezena pouze na specifické fenotypy patogenu (rasy) (Lebeda, 1989, Burdon et al., 1996). Dalším nevýhodným znakem této rezistence je neschopnost trvalé ochrany před infekcí *Bremia lactucae*. Patogen se v rámci rychlých změn v podobě virulentních genů, snadno přizpůsobí hostiteli, což vede ke vzniku nové virulentní rasy. Dokáže tak překonat rezistenci nového kultivaru (Lebeda et al., 2008b; Lebeda & Schwinn, 1994; Lebeda & Zinkernagel, 2003).

Existence rasově specifické rezistence byla poprvé potvrzena v rámci interakce kultivarů *L. sativa* (locika setá, kulturní salát) a *B. lactucae*. Rovněž byla zaznamenána u *Lactuca serriola* a u jiných planých jedinců rodu *Lactuca*, včetně několika příbuzných rodů (Lebeda et al., 2002). Z dalších zástupců, u kterých byl tento typ rezistence potvrzen lze uvést např. *L. viminea* (locika prutnatá), *L. tatarica* (locika tatarská), *L. quercina* (locika dubová) a *L. indica* (locika východní) (Lebeda et al., 2002).

Tento způsob ochrany rostlin před jejich patogeny je velmi častým jevem v přirozeném systému planá rostlina-patogen a zdá se být velmi běžným mechanismem rezistence v rámci interakce *L. serriola* a *B. lactucae* (Lebeda et al., 2002). Současně se předpokládá existence dalších rezistentních genů, které prozatím nebyly identifikovány (Lebeda et al., 2002). Známé geny rezistence a virulence jsou dále využívány k testování izolátů *B. lactucae* a k popisu jejich virulence (Lebeda et al., 2008a).

### **3.13.2.2. Rasově nespecifická rezistence**

Rasově nespecifická rezistence, na rozdíl od té specifické, poskytuje hostiteli ochranu před všemi fyziologickými rasami patogenu (Burdon et al., 1996; Lebeda et al., 1988, 2008a). Vlastnost této rezistence však rostlině neumožňuje ochranu před infekcí, tudíž není zabráněno možnému napadení *B. lactucae* (Lebeda et al., 2002).

Mechanismus nespecifické rezistence a všechny podílející se faktory zatím nebyly odhaleny. Předpokládá se však vliv skupiny několik genů na expresi tohoto typu rezistence a dominantní účinek major genů a modifikátorů (Burdon et al., 1996, Lebeda et al., 2002).

Přestože byla přítomnost rasově nespecifické rezistence zaznamenána u *L. sativa* i *L. serriola*, poznatky ohledně zákonitostí a četnosti výskytu, jsou značně omezené. Stejně je tomu tak i dalších planých druhů rodu *Lactuca*.

### 3.13.2.3. Polní rezistence

V poslední době se zájem výzkumu soustřeďuje na objasnění principů polní rezistence a potenciální možnosti její aplikace v zemědělství a šlechtitelství, přičemž se do budoucna předpokládá její intenzivní využití.

Polní rezistenci lze pozorovat na přirozených stanovištích rostlin a polních porostech za přirozeného napadení rostliny patogenem a nelze ji plně simulovat v laboratorních podmínkách. Důvodem je značně dynamický charakter této odolnosti a proměnlivost vyvolaný klimatickými faktory a změnami metabolismu rostlin (Lebeda et al., 1988).

Tato rezistence má různý genetický základ i projev v závislosti na faktorech okolního prostředí, které ovlivňují její působení (Lebeda, 1989). Polní rezistence se vyznačuje sníženou frekvencí penetrace, zpomalenou invazí pletiva, delší latentní periodou, omezenou tvorbou lezí, redukcí sporulace a infekčních částic.

Již z dřívějších studií je zřejmá jistá spojitost polní rezistence a délky klíčících vláken spor. U kultivarů s vysokým stupněm polní rezistence byly zaznamenány podstatně větší rozměry infekčních struktur. Při klíčení je tak spotřebováno mnohem více energie, což může vést až k samotnému vyčerpání zásob spory, a tím i účinnému snížení pravděpodobnosti penetrace (Lebeda & Reinink, 1991).

Doposud se studie zaobíraly a orientovaly především na poznání polní rezistence u odrůd *L. sativa* (Lebeda et al., 2002). Přítomnost vysokého stupně polní rezistence byla potvrzena v populacích *L. serriola*, a tudíž se předpokládá její existence v různé míře u mnoha příbuzných planých druhů rodu *Lactuca* (Lebeda et al., 2002). Prozatím byly testování na přítomnost toto typu rezistence podrobeny druhy *L. serriola* (locika kompasová), *L. saligna* (locika vrbová), *L. aculeata*, *L. indica* a hybrid *L. serriola* × *L. sativa*.

I přestože je mechanismus rasově specifické rezistence velmi častým obranným mechanismem *Lactuca* spp., výzkum se v posledních letech spíše zaměřil na studium a využití polní rezistence. Důvodem je omezená trvanlivost rasově specifické rezistence založené na *Dm* genech resp. R-faktorech (Crute & Pink, 1996, Lebeda et al., 2008a).

## 4. MATERIÁL A METODY

### 4.1. Přehled použitého rostlinného materiálu

K experimentálnímu studiu rezistence českých populací *Lactuca serriola* L. vůči izolátům *Bremia lactucae* získaným z planě rostoucích rostlin lociky kompasové (*L. serriola*) byl vybrán soubor 250 jedinců *Lactuca serriola* pocházejících z 16 českých populací (CZ01–CZ16). Osivo z těchto populací bylo sesbíráno v rámci 15 krajů České republiky. Tato kolekce byla zkompletována v rámci evropského projektu „Gene-Mine“ v roce 2001. Přehled krajů a lokalit sběru nažek, včetně jejich charakteristik, je uveden v Tabulce 1 a 2.

Pro charakteristiku variability virulence izolátů *B. lactucae* a jejich fenotypů virulence byl použit diferenciacní soubor 49 genotypů *Lactuca* spp. Tento diferenciacní set obsahuje 35 genotypů *L. sativa*, 12 genotypů *L. serriola* a 2 mezidruhové křížence (*Hilde* × *L. serriola* (H × B); *L. serriola* × *L. sativa* (CS - RL)), se stanovenými geny rezistence resp. geny rezistence. Seznam těchto genotypů, včetně *Dm* genů (R-faktorů) je uveden v Tabulce 3. 1 a 3. 2.

V rámci obou testování bylo použito osivo univerzálně náchylné *L. serriola* (LSE/57/15) jako kontrola.

**Tabulka 1. Charakteristika lokalit sběru osiva *Lactuca serriola* v roce 2001**

Kraj	Okres	Počet navštívených lokalit
Jihomoravský	Brno-venkov (BI)	2
Královohradecký	Jičín (JC)	1
	Rychnov nad Kněžnou (RK)	1
	Trutnov (TU)	1
Olomoucký	Olomouc (OC)	1
	Přerov (PR)	1
	Šumperk (SU)	1
Pardubický	Svitavy (SY)	2
	Ústí nad Orlicí (UO)	1
Středočeský	Kolín (KO)	1
	Mělník (ME)	1
	Nymburk (NB)	1
Ústecký	Litoměřice (LT)	1
Zlínský	Uherské Hradiště (UH)	1

**Tabulka 2. Charakteristika lokalit sběru nažek *Lactuca serriola* v roce 2001** (Lebeda et al., 2007)

Číslo populace	Lokalita	Popis lokality	Datum sběru
CZ01	za výjezdem z Litomyšle (SY)	okraj silnice	13. 8. 2001
CZ02	Vračovice (UO)	rumiště	13. 8. 2001
CZ03	Křivice (RK)	hromada suti u staveniště domu	13. 8. 2001
CZ04	Dvůr Králové nad Labem (TU)	hromada suti u staveniště domu	13. 8. 2001
CZ05	Holovousy (JC)	okraj pole	13. 8. 2001
CZ06	Soběnice (LT)	okraj pole	13. 8. 2001
CZ07	Ovčáry (ME)	okraj pole	14. 8. 2001
CZ08	Olomouc - Holice (OC)	okraj silnice	16. 8. 2001
CZ09	Kojetín (PR)	navážka u silnice	16. 8. 2001
CZ10	Topolná (UH)	okraj pole	16. 8. 2001
CZ11	Ochoz u Brna (BI)	bývalá skládka stavebního materiálu	17. 8. 2001
CZ12	Želešice (BI)	zpustlé pole	17. 8. 2001
CZ13	Újezd (SU)	břeh potoka - vlhký příkop	22. 8. 2001
CZ14	Moravská Třebová (SY)	u benzínové pumpy	22. 8. 2001
CZ15	Přerov nad Labem (NB)	příkop u neobdělávaného pole	29. 8. 2001
CZ16	Kostelec nad Černými lesy (KO)	okraj pole a pole	29. 8. 2001



Obrázek 1. Lokality sběru osiva *Lactuca serriola* v České republice v průběhu roku 2001 (zdroj: Lebeda et al., 2007)

**Tabulka 3. 1. Diferenciační soubor genotypů *Lactuca spp.* (Lebeda a Petrželová, 2010)**

Pořadové číslo v diferenciačním souboru	Genotyp	<i>Dm</i> gen (R-faktor)
1	Cobham Green	R?
2	Blondine	Dm1+13
3	Cristallo	Dm1+2
4	Mildura	Dm1+3
5	Line 4/57/D	Dm4
6	Valmaine	Dm5/8
7	Sabine	Dm6
8	Mesa	Dm7+13
9	Valverde	Dm5/8
10	Bourguignonne	Dm4+5/8+10+13+14
11	Sucrine	Dm5/8+10
12	Capitan	Dm11
13	British Hilde	R12
14	Pennlake	Dm13
15	Spartan Lakes	Dm1+?
16	Kinemontepas	Dm10+13+16
17	Amanda Plus	Dm2+4
18	H x B	Dm11
19	Saffier	Dm1+3+7+16
20	Vanguard	Dm7+10+13
21	Mariska	R18
22	Lednický	Dm1
23	UCDM2	Dm2
24	UCDM10	Dm10
25	UCDM14	Dm14
26	Santa Anna	R?
27	Regina di Maggio	R?
28	Iceberg	R?

**Tabulka 3. 2. Diferenciační soubor genotypů *Lactuca* spp. (pokračování)**

Pořadové číslo v diferenciačním souboru	Genotyp	<i>Dm</i> gen (R-faktor)
29	Reskia	Dm1+3+7
30	PI 273617	R?
31	LSE/18	Dm16
32	PIVT 1309	Dm15
33	LSE/57/15	Dm7+?
35		Dm7+R23
	CGN 05153 PIVT 1544	
37	PI 491178	24+29
38	PI 491229	R30
39	CS-RL	R?19
41	CGN 14255	R24+25
42	CGN 14256	R24+26
43	CGN 14270	R24+27
44	CGN 14280	R24+28
45	Titan	Dm6+R36
46	Libusa	R18+?
47	Ninja	R36
48	Dandie	Dm3
49	LS-102	R17
50	Colorado	R18sec
51	Discovery	R37
52	Argeles	R38
53	UC02200	Dm4+Dm15
54	UC02201	R32
55	UC02202	R33
56	UC02204	R35
57	UC02205	R41
58	UC02206	R42
59	G288	?

## 4.2. Přehled použitých izolátů

Pro pokusy bylo vybráno celkem 5 izolátů *Bremia lactucae* z planě rostoucích a přirozeně napadených jedinců *Lactuca serriola*, které byly získány z populací na území České republiky v letech 1998, 2001, 2003 a 2007. Izoláty byly udržovány a uloženy ve sbírce mikroorganismů na Katedře botaniky PřF Univerzity Palackého v Olomouci. Seznam izolátů a jejich popis je uveden v Tabulce 4.

**Tabulka 4. Přehled izolátů *Bremia lactucae* použitých k testování**

Číslo izolátu <i>B. lactucae</i>	Lokalita	Popis lokality	Datum sběru
33/98	Nový Dvůr – Grygov (OC)	u silnice	6. 9. 1998
70/01	1,5 km před vjezdem do obce Mikulov po silnici č. 414 od obce Březí (BV)	okraj pole	13. 8. 2001
16/1/03	Dražice (MB)	u silnice	18. 8. 2003
19/1/07	Smržice (PV)	příkop	18. 7. 2007
61/1/07	Kvasice (KM)	-	21. 8. 2007

Vysvětlivky: - = stanoviště blíže nespecifikováno

## 4.3. Příprava a množení izolátů *B. lactucae*

Před samotným testováním rezistence českých populací *L. serriola* bylo hlavním úkolem namnožit vybrané izoláty *B. lactucae*. Pro tyto účely byly používány semena univerzálně náchylného genotypu *L. serriola* (LSE/57/17).

Nažky *L. serriola* (LSE/57/17) byly vysévány do průhledných plastových misek o průměru 9 cm, jež byly vyloženy 3 vrstvami buničité vaty a jednou vrstvou filtračního papíru. Před samotným výsevem bylo třeba dostatečně zvlhčit tyto vrstvy destilovanou vodou pro dobré naklíčení osiva a udržení dostatečné vzdušné vlhkosti v misce pro růst rostlin. Tímto způsobem provedený výsev byl kultivován v klimatizované komoře 5–6 dní při teplotách 10–15° C a 12hodinové fotoperiodě. Po dosažení stádia plně rozvinutých děložních lístků, bylo provedeno odstranění osemení z lístků a filtračního papíru pomocí sterilní laboratorní pinzety. Důvodem je zajištění dobrého uchycení inokula na listech a rovněž zamezení vzniku infekce z rostlinných zbytků.



Takto nachystané semenáčky byly inokulovány příslušným izolátem. Kultivace misek probíhala v klimatizované místnosti opět při teplotě 10–15° C a 12hodinové fotoperiodě, přičemž 24 hodin těsně po inokulaci byly misky překryty černou neprůhlednou fólií. Průběžně byly prováděny kontroly sporulace a po uplynutí 9–10 dnů od inokulace (ve výjimečných případech u některých izolátů po 8 dnech), byly izoláty namoženy a připraveny k inokulaci souboru.

#### 4.4. Příprava rostlin pro pokusy

Pro pěstování pokusných rostlin byly použity neprůhledné plastové truhlíky o rozměrech 34 × 27 × 4,5 cm, které byly překryty sklem z důvodu udržování dostatečně vysoké vzdušné vlhkosti. Dno truhlíků bylo vyloženo 3 vrstvami buničité vaty a 1 vrstvou filtračního papíru. Semena *L. serriola* byla vysévána do řádků na vlhký filtrační papír v počtu cca 30 semen od všech genotypů. Každý truhlík byl rozdělen na 13 řádků ve dvou sloupcích, délka sloupce činila 11 cm a vzdálenost mezi jednotlivými řádky byla 2 cm.

Výsevy v truhlících byly udržovány v kultivované místnosti při teplotách 10–15°C a 12hodinové fotoperiodě. Klíčení nažek souboru *L. serriola* z České republiky trvalo v rozmezí 5–7 dní, v případě diferenciačního souboru 5–6 dní. Semenáčky ve stádiu prvních děložních lístků byly zbaveny o semenění a připraveny tak na inokulaci izoláty *B. lactucae*.

#### 4.5. Příprava inokula a inokulace

Z misek s předem namnoženými izoláty *B. lactucae*, ve stádiu 9. nebo 10. dne po inokulaci, byly vybrány napadené semenáčky *L. serriola* a přeneseny do kádinky s destilovanou vodou (cca 5 ml). Pomocí třepačky byly konidiofory s konidii smyty z povrchu děložních lístků, přičemž tento proces se opakoval několikrát. Po té bylo inokulum zbaveno rostlinných zbytků přelitím přes gázu. Pozorováním pod mikroskopem byla provedena kontrola hustoty inokula (při zvětšení 40×) a životnosti konidií (při zvětšení 100×). Za ideální hustotu inokula se považuje  $5 \times 10^4$ – $10^6$  konidií ml<sup>-1</sup> (Lebeda & Petrželová, 2010). Mrtvé konidie od živých lze snadno rozeznat pomocí jejich zbarvení.

Po získání dostatečného množství inokula byla provedena samotná inokulace ve sterilní místnosti. Z truhlíků s předpěstovaným rostlinným materiálem byla odstraněna přebytečná voda a včetně otěru lístků z důvodu případného zředění inokula. Pomocí

skleněného rozprašovače a balonku bylo inokulum rovnoměrně rozprášeno na semenáčky *L. serriola*, tak aby byl povrch děložních lístků dostatečně zvlhčen. Bezprostředně po infikování rostlin *L. serriola* následovala inkubace ve tmě po dobu 24 hodin (truhlíky byly překryty černou folií), kultivace probíhala při 12hodinové fotoperiodě a teplotě 10–15° C.

#### **4.6. Metody hodnocení a stanovení výsledků**

Hodnocení reakcí diferenciačního setu genotypů *Lactuca* spp. a souboru 250 jedinců *Lactuca serriola* s izoláty *Bremia lactucae* bylo prováděno zpravidla 5× v dvoudenních intervalech 6.–14. den po inokulaci. Za nejdůležitější byl však považován 14. den hodnocení. V případě velmi náchylné reakce rostlin se sporulace objevovala už 6. či 7. den po inokulaci.

Za rezistentní byly označeny genotypy, které poslední den vykazovaly nulovou či značně omezenou sporulaci. V případě heterogenní reakce se v testovaném souboru objevovaly rostliny zcela náchylné i rezistentní. U některých genotypů byla stanovena rovněž neúplná rezistence v důsledku velmi nízkého stupně sporulace, což bylo obyčejně doprovázeno žloutnutím a nekrotizací pletiva děložních lístků.

##### **4.6.1. Kvantitativní hodnocení intenzity sporulace**

Základem kvantitativního hodnocení je stanovení intenzity napadení semenáčků *L. serriola* izoláty *B.lactucae* podle následující stupnice sporulace na děložních lístcích (Lebeda & Petrželová, 2010):

0 = konidiofory nejsou na listech patrné

1 = sporadický výskyt konidioforů

2 = méně než 50 % povrchu listu je pokryto konidiofory

3 = více než 50 % povrchu listu je pokryto konidiofory

V dalším kroku se intenzita sporulace (stupeň infekce) vyjadřuje jako procento maximální možné sporulace. Výsledná hodnota se počítá podle Towsenda a Heubergera (1943):

$$P = \frac{\sum(n.v).100}{x.N}$$

kde: P = celkový stupeň napadení

n = počet rostlin v každé kategorii napadení

v = stupeň napadení

x = rozsah stupnice napadení

N = celkový počet hodnocených rostlin

#### 4.6.2. Kvalitativní hodnocení intenzity sporulace

Intenzita sporulace semenáčků, vyjádřená dle stupnice 0– 3, je dále posouzena z hlediska kvalitativního hodnocení. Používá se následující kategorizace (Lebeda & Petrželová, 2010):

- = rezistence, všechny rostliny hodnoceny stupněm 0, na semenáčcích není patrná sporulace
- + = náchylnost, většina rostlin hodnocena stupněm 2 a 3, procentuálně vyjádřeno na 80–100%, na semenáčcích je viditelná sporulace
- (-) = neúplná rezistence, většina rostlin hodnocena stupněm 0 nebo 1, hodně slabá či omezená sporulace často doprovázena makroskopicky viditelnou hypersenzitivní reakcí nebo žloutnutím pletiva
- (+) = heterogenní reakce, sporulace rozložená rovnoměrně mezi všemi stupni či půl na půl, v testovaném souboru jsou rostliny zcela náchylné i rezistentní

#### 4.6.3. Determinace faktorů virulence a frekvence jejich zastoupení

Genetická variabilita použitých izolátů *B. lactucae* byla postihnutá na základě testu na přítomnost 33 faktorů virulence stanovených v diferenačním souboru genotypů *Lactuca* spp. Prostřednictvím frekvence faktorů virulence (v-faktorů) byla vyjádřena přítomnost zaznamenaných v-faktorů v souboru izolátů *B. lactucae* dle uvedené rovnice (Lebeda, 1982):

$$F_a = \frac{a}{N_a}, \dots, F_n = \frac{j}{N_j},$$

kde:  $F_a$  = relativní frekvence faktoru  $a$ ,

$a$  = celkový počet resp. přítomnost v-faktoru  $a$ ,

$N_a$  = celkový počet fenotypů virulence resp. izolátů, u nichž byla provedena determinace v-faktoru  $a$ .

#### 4.6.4. Fenotypy virulence

Izoláty *B. lactucae* byly charakterizovány fenotypy virulence na základě zjištěné přítomnosti jednotlivých virulentních faktorů (Lebeda, 1982).

## 5. VÝSLEDKY

### 5.1. Testování rezistence souboru *Lactuca serriola*

Rezistence k 5 izolátům *Bremia lactucae*, původem z planě rostoucích rostlin *Lactuca serriola*, byla studována na souboru 250 jedinců *Lactuca serriola* pocházejících z 16 populací sesbíraných na území České republiky v roce 2001 v rámci evropského programu „Gene Mine“. Přehled a charakteristika jednotlivých izolátů a stejně tak populací je uveden v Tabulce 1, 2 a 4 v kapitole 4.

Z důvodu nedostatku osiva nejsou ve výsledcích zahrnuty reakce jedince s pořadovým číslem 10 a 11 z populace CZ01, jedince čísla 16 z populace CZ02, jedince čísla 10 z populace CZ05, jedince čísla 5 z populace CZ09 a reakce jedince čísla 9 z populace CZ11 vzhledem k velmi špatné klíčivosti semen.

Ke zpracování výsledků byla použita data pouze z posledního hodnocení (14. den po inokulaci), kdy sporulace *B. lactucae* dosáhla svého maxima. V případě intenzity napadení nepřesahující 30% byla reakce *L. serriola* označena jako rezistentní. Označení náchylné reakce bylo přiděleno všem reakcím s hodnotou napadení nad tuto hranici. Výsledky kvalitativního hodnocení reakcí populací a jedinců *L. serriola* s izoláty *B. lactucae* jsou shrnuty v Tabulce 5.1 - 5.16 v příloze.

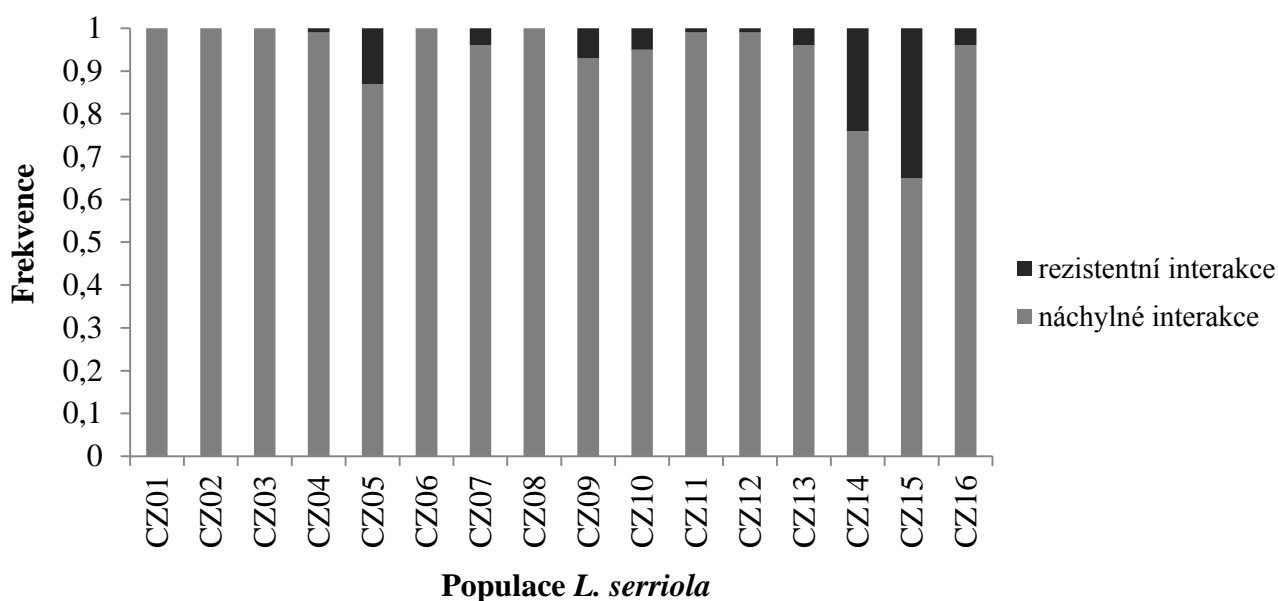
#### 5.1.1. Hodnocení populací a jedinců *L. serriola* z hlediska rezistence

Ze získaných dat reakcí souboru izolátů *Bremia lactucae* s jedinci jednotlivých populací byl až na výjimky zjištěn značně vysoký stupeň náchylnosti všech populací *L. serriola* (viz Graf 1). Přestože procento napadení semenáčků bylo ve většině subpopulací hodně vysoké, z celkového počtu 16 subpopulací byla zaznamenána kompletní náchylnost vůči všem 5 izolátům pouze u 5 populací (31,3 %). V těchto populacích (CZ01, CZ02, CZ03, CZ06, CZ08) dosahoval počet náchylných interakcí nejvyšší možné hodnoty 100 % (viz Tabulka 6). Oproti tomu žádná populace *L. serriola* nevykazovala k izolátům kompletní rezistenci. Nejvýrazněji se počtem svých rezistentních interakcí od ostatních populací odlišovaly populace CZ15 (33 % rezistentních interakcí), CZ14 (24 % rezistentních) a CZ05 (13 % rezistentních interakcí). U ostatních populací (CZ04, CZ07, CZ09, CZ10, CZ11, CZ12, CZ13, CZ16) se případy odolných interakcí *L. serriola* pohybovaly v hodnotách od 1 do 7 % z celkového počtu interakcí jednotlivých populací.

Ve studovaných 16 populacích zastupující českou populaci *L. serriola* byla zjištěna náchylnost rostlin v 94 % interakcí (1167 vnímavých interakcí), zatímco rezistence dosahovala nízké hodnoty 6 % (78 odolných reakcí) (viz Tabulka 7).

Jev kompletní náchylnosti jedince byl častý v mnoha populacích. Z pohledu jedinců vykazovalo kompletní vnímavost 50,4 % jedinců, což je v celkovém součtu 126 rostlin. Odolnost vzorků byla velmi variabilní, ve většině případů však jedinci vykazovaly rezistenci vůči 1 či 2 izolátům *B. lactucae*. Rezistentní vůči 5 testovaným izolátům *B. lactucae* nebyl žádný z vzorků souboru *L. serriola*. Za nejvíce odolného jedince lze však považovat jedince s pořadovým číslem 5 z populace CZ05, jež byl náchylný jedině k izolátu 33/98. K 3 izolátům byly rezistentní jedinci z populace CZ05 a CZ15.

**Graf 1. Zastoupení (frekvence) rezistentních a náchylných reakcí v populacích *L. serriola* po inokulaci izoláty *B. lactucae***



**Tabulka 6. Zastoupení jednotlivých reakcí v populacích *L. serriola* vůči izolátům *B. lactucae***

Číslo populace	Celkový počet interakcí v populaci	Poměr interakcí (procenta/absolutní hodnoty)	
		náchylných	rezistentních
CZ01	70	100/70	0/0
CZ02	75	100/75	0/0
CZ03	80	100/80	0/0
CZ04	80	99/79	1/1
CZ05	75	87/65	13/10
CZ06	80	100/80	0/0
CZ07	80	96/77	4/3
CZ08	80	100/80	0/0
CZ09	75	93/70	7/5
CZ10	80	95/76	5/4
CZ11	75	99/75	1/1
CZ12	75	99/74	1/1
CZ13	80	96/77	4/3
CZ14	80	76/61	24/19
CZ15	80	65/52	35/28
CZ16	80	96/77	4/3

**Tabulka 7. Celkový přehled zastoupení jednotlivých reakcí v populaci *L. serriola***

Populace (n=celkový počet populací)	Interakce (absolutní hodnoty/procenta)	
	náchylné	rezistentní
CZ (n=16)	94 (1167)	6 (78)

### 5.1.2. Virulence použitých izolátů

U izolátů *B. lactucae* byla taktéž posuzována jejich variabilita virulence. Obecně lze říci, že virulence se mezi jednotlivými izoláty výrazně nelišila. Populace *L. serriola* byla z celkového pohledu výrazně náchylná, izoláty byly avirulentní pouze v několika případech (viz Tabulka 8 a Graf 3). Ostatní izoláty svou virulencí převyšoval izolát číslo 33/98, u něhož bylo zaznamenáno 244 náchylných interakcí z celkového počtu 249 interakcí izolátu s jedinci populací *L. serriola*. Nejvíce avirulentní byl izolát 19/1/07, u něhož bylo zjištěno 225 náchylných reakcí jedinců *L. serriola*. Rezistentní reakce vůči tomuto izolátu se týkaly zejména subpopulace CZ05, CZ14 a CZ15. I přesto lze tento izolát považovat za značně patogenní vzhledem k vysokému procentu napadení semenáčků (80–100 %) ve většině populací *L. serriola*.

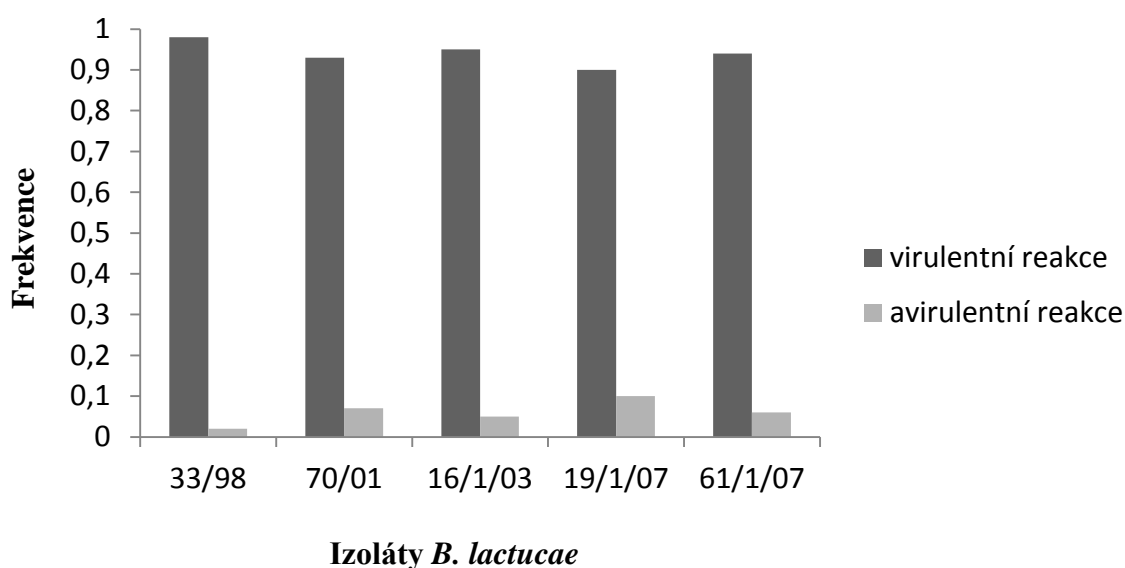
**Tabulka 8. Zastoupení virulentních a avirulentních reakcí *B. lactucae* v populacích *L. serriola***

Izolát <i>B. lactucae</i>	Reakce izolátu <i>B.lactucae</i> s jedinci <i>L.serriola</i>	
	virulentní	avirulentní
33/98	244	5
70/01	232	17
16/1/03	236	13
19/1/07	225	24
61/1/07	235	14

Vysvětlivky: V rámci všech populací *L. serriola* (n=16) byl celkový počet reakcí každého izolátu *B. lactucae* s jedinci *L. serriola* byl 249.



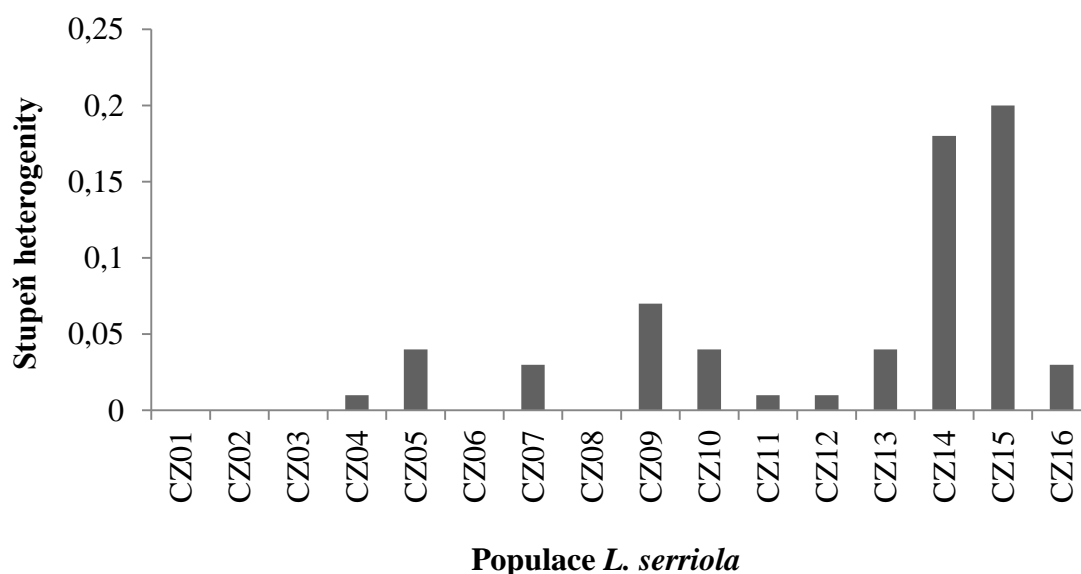
**Graf 3. Odlišnost reakcí izolátů *B. lactucae* v populaci *L. serriola***



### 5.1.3. Heterogenita populací

Heterogenita jednotlivých populací *L. serriola* byla posuzována na základě počtu identifikovaných fenotypů rezistence a vyjádřena jako poměr mezi celkovým číslem testovaných jedinců v populacích a počtem R-fenotypů (fenotypů rezistence). Následně byla tato odlišnost populací znázorněna na stupnici od 0 (vysoká homogenita populací) do 1 (nejvyšší heterogenita), přičemž nejvyšší hodnota 0,2 patřila značně nehomogenní populaci CZ15 (viz Graf 4). Dohromady počet stanovených fenotypů rezistence 16 subpopulací *L. serriola* činil 51. Populace CZ01, CZ02, CZ03 A CZ08 byly naprosto homogenní, tudíž neobsahovaly žádný R-fenotyp a vykazovaly 100 % náchylnost vůči všem použitým izolátům *B. lactucae*. Nejvíce heterogenní byla populace CZ14 s 14 fenotypy rezistence a CZ se 16 fenotypy rezistence. Ve zbývajících populacích *L. serriola* byl zjištěn nízký počet R-fenotypů, který se pohyboval v počtech od 1 do 5.

**Graf 4. Heterogenita rezistence jednotlivých populací *L. serriola***



Vysvětlivky: Stupeň heterogenity rezistence populací *L. serriola* je na stupnici frekvence (0-1) vyjádřen poměrem mezi celkovým číslem testovaných jedinců v jednotlivých populacích a počtem fenotypů rezistence; 0 = vysoká homogenita populace, 1 = nejvyšší heterogenita populace.

## **5.2. Testování izolátů na diferenciačním souboru genotypů *Lactuca* spp.**

Za účelem charakterizace a popisu variability 5 izolátů *Bremia lactucae* pocházejících z přirozeně napadených populací *Lactuca serriola* byl použit diferenciační soubor 49 genotypů *Lactuca* spp. Popis izolátů a místa sběrů jsou shrnuty v Tabulce 4 v kapitole 4. Seznam použitých genotypů je uveden v Tabulce 3.1 a 3.2 opět v kapitole 4.

### **5.2.1. Vyhodnocení reakcí použitých izolátů *B. lactucae* na diferenciačním souboru genotypů *Lactuca* spp.**

Z výsledných reakcí mezi izoláty *B. lactucae* a diferenciačního setu (viz Tabulka 9.1, 9.2 a 9.3) je na první pohled zřejmý rozdíl mezi reakcemi použitých genotypů *Lactuca sativa* a *Lactuca serriola*. Přestože žádný z izolátů není virulentní vůči všem odrudám a liniím, všech 5 izolátů vykazuje značnou patogenitu na genotypech *L. serriola*. V mnoha případech intenzita napadení lociky kompasové dosahovala 70–100 %.

Naopak většina genotypů *L. sativa* byla vůči izolátům rezistentní, sporulace se vůbec nevyskytovala či byla značně omezená. V diferenciačním souboru se vyskytly 2 zcela

náchylné genotypy PI 491229 a LSE/57/15, jež je používán jako univerzálně náchylná kontrola při experimentálních testech. V obou případech se jednalo o jedince *L. serriola*. Mezi zcela rezistentní genotypy se řadily pouze zástupci *L. sativa*, a to linie a odrůdy Cobham Green, Blondine, Cristallo, Mildura, Line 4/57/D, Sabine, Mesa, Valverde, Bourguignonne, Sucrine, British Hilde, Pennlake, Kinemontepas, Amanda Plus, Saffier, Vanguard, Mariska, Lednický, UCDM2, UCDM10, Santa Anna, Regina di Maggio, Iceberg, Reskia, Titan, Ninja, Colorado, Discovery a Argeles.

Použitý diferenční set obsahoval 35 genotypů *L. sativa*, z nichž celkem 30 genotypů bylo zcela rezistentních proti všem 5 izolátům *B. lactucae*. Mezi odrůdy, na kterých nebyly zaznamenány žádné konidiofory či pouze v malé míře nepřesahující intenzitu napadení 10% patří odrůdy a linie uvedené výše.

Neúplná rezistence pohybující se v procentech napadení od 20 do 35 % byla zjištěna u reakce genotypu Capitan s izolátem 61/1/07, genotypu Valmaine s izolátem 70/01 a v případě interakce genotypu UCDM14 s izolátem 16/1/03. Pouze ve dvou případech procento napadení jedince *L. sativa* dosahovalo hodnoty 35–50 %, přičemž reakce genotypu a patogena byla označena za heterogenní. Jednalo se o reakci odrůdy Capitan s izolátem 70/01 a reakci genotypu UCDM14 a izolátu 61/1/07. Oproti vysoké četnosti rezistentních reakcí *L. sativa* s izoláty *B. lactucae* žádný z genotypů *L. sativa* nevykazoval kompletní náchylnost vůči 5 izolátům. Odrůda Spartan Lakes vykazovala vůči izolátu 33/98 reakci, kterou lze považovat za zcela náchylnou, neboť sporulace přesahovala více jak 80 %. Byl to jediný genotyp z *L. sativa*, u něhož byla prokázána silná vnímavost alespoň k jednomu z izolátů *B. lactucae*.

Zatímco většina rostlin byla k izolátům *B. lactucae* původem z přirozeně napadených populací *L. serriola* rezistentní, opačná situace nastala v případě genotypů *L. serriola*. Žádný z genotypů *L. serriola* nelze považovat za zcela rezistentní vůči všem testovaným izolátům. V souboru genotypů lociky kompasové bylo ve výsledku 30 náchylných reakcí a 20 rezistentních reakcí. Nejvíce rezistentních reakcí, a to 4 z 5 vykazoval genotyp PI 273617 vůči izolátům 70/01, 16/1/03, 19/1/07 a 61/1/07. Ke zbývajícimu izolátu 33/98 byl plně vnímavý. Mezi rostlinami byly 2 genotypy - PI491229 a LSE/57/15, jež byly náchylné ke všem 5 izolátům. Nejvíce virulentní byl izolát 33/98, u něhož byly zaznamenány pouze 2 rezistentní genotypy (LSE/18, LS-102) a jeden neúplně rezistentní (CGN 14255). Zbytek genotypů byl vnímavý vůči napadení.

**Tabulka 9.1. Reakce izolátů *B. lactuca* na diferenciačním souboru genotypů *Lactuca* spp.**

Číslo položky diferenciačního souboru	Genotyp	Dm gen (R-faktor)	Číslo izolátu <i>B. lactuca</i>				
			33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
1	Cobham Green	R?	-	-	-	-	-
2	Blondine	Dm1+13	-	-	-	-	-
3	Cristallo	Dm1+2	-	-	-	-	-
4	Mildura	Dm1+3	-	-	-	-	-
5	Line 4/57/D	Dm4	-	-	-	-	-
6	Valmaine	Dm5/8	-	(-)	-	-	-
7	Sabine	Dm6	-	-	-	-	-
8	Mesa	Dm7+13	-	-	-	-	-
9	Valverde	Dm5/8	-	-	-	-	-
10	Bourguignonne	Dm4+5/8+10+13+14	-	-	-	-	-
11	Sucrine	Dm5/8+10	-	-	-	-	-
12	Capitan	Dm11	-	(+)	-	-	(-)
13	British Hilde	R12	-	-	-	-	-
14	Pennlake	Dm13	-	-	-	-	-
15	Spartan Lakes	Dm1+?	+	-	-	-	-
16	Kinemontepas	Dm10+13+16	-	-	-	-	-
17	Amanda Plus	Dm2+4	-	-	-	-	-
18	H x B	Dm11	(-)	-	-	-	-
19	Saffier	Dm1+3+7+16	-	-	-	-	-

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce

**Tabulka 9.2. Reakce izolátů *B. lactucae* na diferenciačním souboru genotypů *Lactuca* spp.**

Číslo položky diferenciačního souboru	Genotyp	<i>Dm</i> gen (R-faktor)	Číslo izolátu <i>B. lactucae</i>				
			33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
20	Vanguard	Dm7+10+13	-	-	-	-	-
21	Mariska	R18	-	-	-	-	-
22	Lednický	Dm1	-	-	-	-	-
23	UCDM2	Dm2	-	-	-	-	-
24	UCDM10	Dm10	-	-	-	-	-
25	UCDM14	Dm14	-	-	(-)	-	(+)
26	Santa Anna	R?	-	-	-	-	-
27	Regina di Maggio	R?	-	-	-	-	-
28	Iceberg	R?	-	-	-	-	-
29	Reskia	Dm1+3+7	-	-	-	-	-
30	PI 273617	R?	+	-	-	-	-
31	LSE/18	Dm16	-	-	+	-	+
32	PIVT 1309	Dm15	+	-	-	(+)	+
33	LSE/57/15	Dm7+?	+	+	+	+	+
35	CGN 05153 PIVT 1544	Dm7+R23	+	-	-	-	-
37	PI 491178	24+29	+	+	(+)	+	(-)
38	PI 491229	R30	+	+	+	+	+
39	CS-RL	R?19	-	-	-	+	-
41	CGN 14255	R24+25	(-)	+	(+)	+	(-)

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce

**Tabulka 9.3. Reakce izolátů *B. lactucae* na diferenciačním souboru genotypů *Lactuca* spp.**

Číslo položky diferenciačního souboru	Genotyp	<i>Dm</i> gen (R-faktor)	Číslo izolátu <i>B. lactucae</i>				
			33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
43	CGN 14270	R24+27	+	-	(+)	-	+
44	CGN 14280	R24+28	+	-	(+)	+	(+)
45	Titan	Dm6+R36	-	-	-	-	-
46	Libusa	R18+?	-	-	-	-	-
47	Ninja	R36	-	-	-	-	-
48	Dandie	Dm3	-	-	-	-	-
49	LS-102	R17	(+)	+	+	+	(-)
50	Colorado	R18sec	-	-	-	-	-
51	Discovery	R37	-	-	-	-	-
52	Argeles	R38	-	-	-	-	-
53	UC02200	Dm4+Dm15	-	-	-	-	-
54	UC02201	R32	-	-	-	-	-
55	UC02202	R33	-	-	-	-	-
56	UC02204	R35	-	-	-	-	-
57	UC02205	R41	-	-	-	-	-
58	UC02206	R42	-	-	-	-	-
59	G288	?	+	+	+	+	-

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce

### 5.2.2. Virulence izolátů *B. lactucae* na diferenciačním souboru *Lactuca* spp.

Za nejméně virulentní lze považovat izolát 70/01, k němuž pouze 5 genotypů (LSE/57/17, PI 491178, PI 491229, CGN 14255, CGN 14256) vykazovalo vnímavou reakci. Ostatní genotypy v interakci s tímto izolátem byly plně rezistentní. Ani jeden z izolátů však nebyl virulentní ke všem 12 genotypům *L. serriola* z diferenciačního souboru.

Procento napadení vyšší než 10 %, kdy lze genotyp považovat za neúplně rezistentní, bylo zaznamenáno při reakci izolátu 33/98 s genotypem CGN 14255, izolátu 16/1/03 s genotypem CGN 14256, dále reakce izolátu 61/1/07 s genotypy PI 491178, CGN 14255, CGN 14256 a LS-102.

Některé rostlinné genotypy byly napadeny rovnoměrně mezi stupni půl na půl, přičemž některé rostliny byly zcela náchylné a jiné zcela rezistentní. V těchto případech se intenzita napadení *B. lactucae* pohybovala od 35 do 50 % a byla považována reakci heterogenní. Jednalo se o interakci izolátu 33/98 s genotypem LS-102, reakci 16/1/03 s genotypy PI 491178, CGN 14255, CGN 14270 a CGN 14280, rovněž také reakce izolátu 19/1/07 s PIVT 1309 a CGN 14256.

Součástí diferenciačního souboru byly i 2 genotypy kříženců H×B a CS-RL. Kříženec Hilde a *L. serriola* (H×B) byl neúplně rezistentní vůči izolátu 33/98 a ke zbývajícím 4 izolátům byl plně rezistentní. Pouze po inokulaci CS-RL (*L. serriola* × *L. sativa*) izolátem 19/1/07 dosahovala sporulace při posledním hodnocení více jak 80 %, tudíž tento genotyp je náchylný. V interakcích s ostatními izoláty se tento kříženec jevil jako rezistentní.

### 5.2.3. Determinace faktorů virulence a frekvence jejich zastoupení

Pokud byla reakce rezistentní nebo neúplně rezistentní, hodnota napadení se pohybovala v nulových či velmi nízkých hodnotách nepřesahující 30 %, přičemž v-faktor byl označen za nepřítomný.

Z celkového počtu 33 faktorů virulence bylo v souboru 5 izolátů *B. lactucae* zjištěno 16 těchto v-faktorů a to v různém zastoupení. Žádný fenotyp neobsahoval virulentní faktor v1, v2, v3, v4, v5/8, v6, v10, v12, v13, v18, v32, v33, v35, v36, v37, v38, v41 a v42. Ve fenotypu všech 5 izolátů se vyskytovaly pouze v-faktory v7 a v30.

Pomocí frekvence virulentních faktorů bylo vyjádřeno zastoupení jednotlivých specifických v-faktorů v souboru 5 izolátů *B. lactucae* (viz Tabulka 10 a Graf 5). Horní hranice frekvence zastoupení dosáhla dvojice faktorů v7 a v30, jenž byly přítomny ve frekvenci 1,0. Oproti tomu v minimální frekvenci bylo přítomno podstatně více faktorů

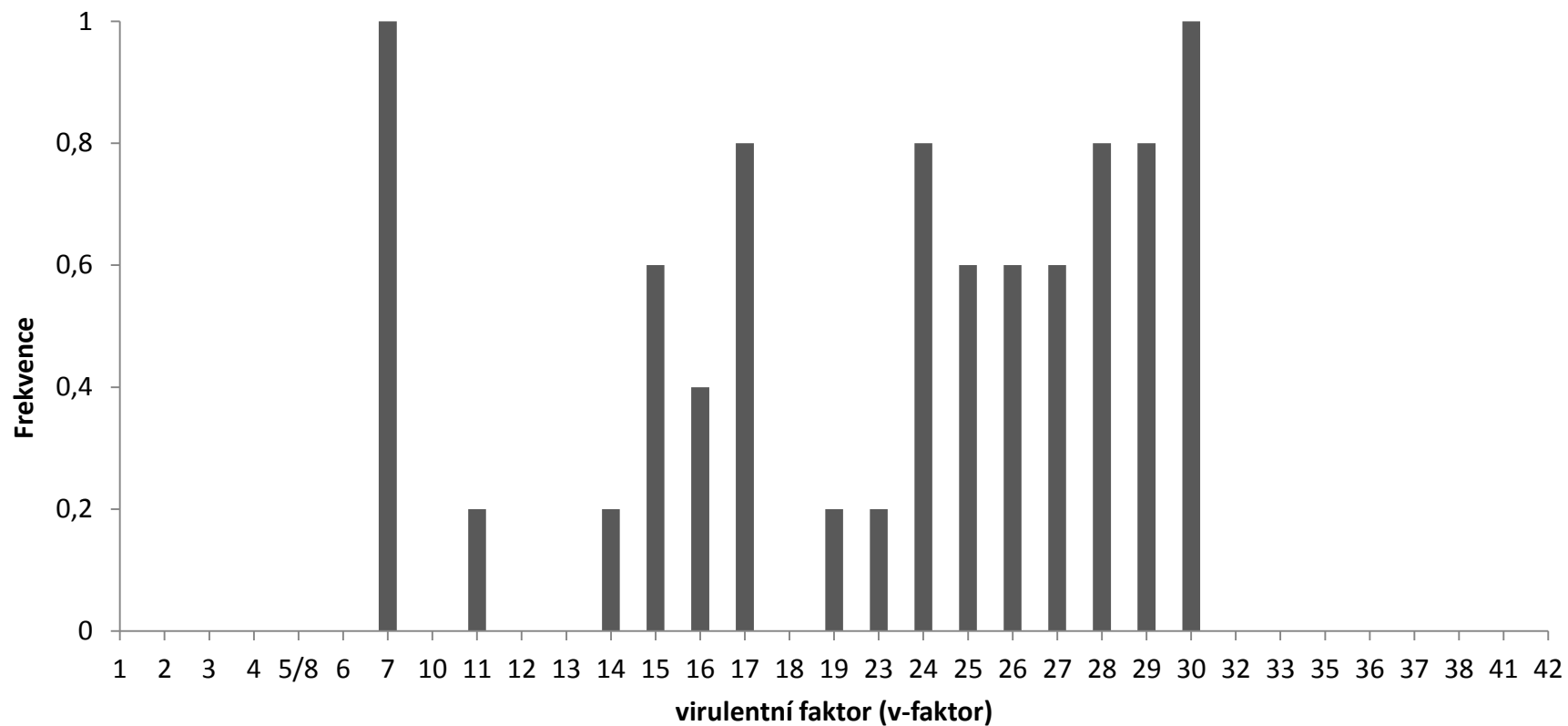
virulence, mezi nimi faktor v1, v2, v3, v4, v5/8, v6, v10, v12, v13, v18, v32, v33, v35, v36, v37, v38, v41 a v42. Ve velmi nízké frekvenci 0,2 se vyskytovaly faktory v11, v14, v19 a v23. Jediný faktor virulence v16 dosáhl hodnoty frekvence 0,4. Ostatní v-faktory v15, v25, v26, v27 (0,6) a v17, v24, v28, v29 (0,8) byly ve fenotypu izolátů zastoupeny v poměrně vyšších frekvencích.

**Tabulka 10. Frekvence jednotlivých v-faktorů v souboru 5 izolátů *B. lactucae* z *L. serriola***

Faktor(y) virulence	Frekvence
v1, v2, v3, v4, v5/8, v6, v10, v12, v13, v18, v32, v33, v35, v36, v37, v38, v41, v42	0
v11, v14, v19, v23	0,2
v16	0,4
v15, v25, v26, v27	0,6
v17, v24, v28, v29	0,8
v7, v 30	1



**Graf 2. Frekvence faktorů virulence (v-faktorů) v souboru 5 izolátů *Bremia lactucae***



Vysvětlivky: v1, v2, v3, v4, v10, v12, v13, v14 = v-faktory komplementární *Dm* genům v odrůdách *L. sativa*

v5/8, v6, v11, v18, v38 = v-faktory komplementární *Dm* genům v odrůdách *L. sativa*, jež byly odvozeny z *L. serriola*

v7, v15, v16, v17, v23, v24, v25, v26, v27, v28, v29, v30 = v-faktory komplementární *Dm* genům resp. R-faktorům v *L. serriola*

v36, v37 = v-faktory komplementární *Dm* genům v odrůdách *L. sativa*, jež byly odvozeny z *L. saligna*

#### 5.2.4. Fenotypy virulence

Použité izoláty *B. lactucae*, původem z přirozeně infikovaných rostlin *L. serriola*, byly označeny pojmem „fenotyp virulence“ na základě své specifické virulence. Fenotyp virulence každého z izolátů je velmi jedinečný díky unikátnímu zastoupení specifických *Dm* genů (genů rezistence) resp. R-faktorů (faktorů rezistence) a byl definován prostřednictvím faktorů virulence v souboru *Lactuca* spp.

Za pomoci přítomnosti či nepřítomnosti v-faktorů u izolátů *B. lactucae* bylo stanoveno celkem 5 fenotypů virulence (viz Tabulka 11.1 a 11.2). Žádný z fenotypů virulence nebyl složen ze všech dosud známých v-faktorů. Počty zúčastněných faktorů virulence byly proměnlivé, u každého izolátu velmi individuální a pohybovaly se od 6 do 11 faktorů virulence. Nejvyšší počet 11 v-faktorů byl zaznamenán ve fenotypu izolátu 19/1/07, zatímco izolát 61/1/07 měl nejméně v-faktorů ze všech, a to celkem 6.

V souboru 5 izolátů *B. lactucae* bylo zjištěno zastoupení všech faktorů virulence (v7, v15, v16, v17, v23, v24, v25, v26, v27, v28, v30) odpovídající genům rezistence resp. faktorům rezistence lokalizovaných v *L. serriola*. Faktory v7 a v30 se vyskytovaly ve všech izolátech. Z 15 v-faktorů komplementárních k *Dm* genům respektive faktorům rezistence *L. sativa* byl zjištěn jen faktor virulence v11 v případě izolátu 70/01 a v-faktor v14 ve fenotypu virulence izolátu 61/1/07.

**Tabulka 11. 1. Stanovení přítomnosti v-faktorů v jednotlivých izolátech *B. lactucae***

Číslo izolátu <i>B. lactucae</i>	Faktory virulence (v-faktory)																																									
	1	2	3	4	5/8	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	23	24	25	26	27	28	29	30	32	33	35	36	37	38	41	42									
33/98	.	.	.	.	.	7	.	.	.	.	.	15	.	17	.	.	23	24	.	26	27	28	29	30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
70/01	.	.	.	.	.	7	.	11	.	.	.	.	.	17	.	.	.	24	25	26	.	.	29	30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
16/1/03	.	.	.	.	.	7	.	.	.	.	.	.	16	17	.	.	.	24	25	.	27	28	29	30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
19/1/07	.	.	.	.	.	7	.	.	.	.	.	15	16	17	.	19	.	24	25	26	.	28	29	30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
61/1/07	.	.	.	.	.	7	.	.	.	.	14	15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	27	28	.	30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			

**Tabulka 11. 2. Fenotypy virulence jednotlivých izolátů *B. lactucae* z *L. serriola***

Izolát <i>B. lactucae</i>	Fenotyp virulence (v-faktory)	Celkový počet faktorů virulence
33/98	v7, v15, v17, v23, v24, v26, v27, v28, v29, v30	10
70/01	v7, v11, v17, v24, v25, v26, v29, v30	8
16/1/03	v7, v16, v17, v24, v25, v27, v28, v29, v30	9
19/1/07	v7, v15, v16, v17, v19, v24, v25, v26, v28, v29, v30	11
61/1/07	v7, v14, v15, v27, v28, v30	6

## 6. DISKUZE

Problematika patogenů způsobující onemocnění kulturních i planých rostlin je stále intenzivně diskutovaným tématem. V souvislosti s tím došlo v posledních letech ke směřování studií za účelem poznání struktury přírodních populací *Lactuca serriola*. I přes intenzivní výzkum v této oblasti, není k dispozici dostatek informací pro vytvoření uceleného obrazu fungování těchto systémů.

Tématem předložené bakalářské práce je zejména rezistence planých populací *L. serriola*, jejíž data mohou posloužit jako další zdroj poznatků ohledně dosud zcela nepoznané genetiky rezistence planých populací *L. serriola*.

Variabilita rezistence českých populací *Lactuca serriola* (locika kompasová) byla studována na souboru 16 populací z roku 2001. Celkem bylo použito 5 izolátů *Bremia lactucae* získaných z planě rostoucích rostlin *L. serriola* v letech 1998, 2001, 2003 a 2007. Obecně lze říci, že v tomto souboru převažuje fenomén náchylnosti. Procento zaznamenané rezistence vůči použitým izolátům bylo velmi nízké, což je v souladu s dříve publikovanými studii týkající se těchto populací (Lebeda et al., 2008; Petrželová & Lebeda, 2004, 2011). Velmi častým jevem planých *L. serriola* je velký podíl nakažených populací v protikladu s nízkým či středním stupněm intenzity napadení (Petrželová & Lebeda, 2004). Avšak studované populace a jedinci lociky kompasové vykazovaly v mnoha případech vysoký stupeň intenzity napadení po inokulaci a značnou náchylnost až v 94 % ze všech zaznamenaných interakcí. Největší komplexita náchylnosti byla zjištěna u populace CZ01, CZ02, CZ03 a CZ08 a u dříve rezistentní populace CZ06 (Petrželová & Lebeda, 2011). V protikladu k nim zastoupením svých odolných interakcí vynikaly populace CZ05, CZ14, CZ15, u nichž bylo zjištěno vysoké procento rezistentních reakcí většiny jedinců, a sporulace byla velmi omezená či se vůbec nevyskytla.

Z hlediska patogenity na testovaném souboru *L. serriola* se jednotlivé izoláty *B. lactucae* od sebe překvapivě nijak výrazněji nelišily. Všechny lze považovat za značně virulentní, což koreluje s pozorovanou intenzitou napadení semenáčků. Nejvyšší virulence dosáhl izolát 33/98, vůči kterému jedinci *L. serriola* projevily pouze 5 rezistentních interakcí z celkového počtu 249. Za méně virulentní, ale i přesto se závažnou patogenitou, byl označen izolát 19/01/07.

Už dříve bylo poukázáno na heterogenitu mezi studovanými populacemi *L. serriola* (Petrželová & Lebeda, 2011). Ta však při tomto experimentu nebyla až tak výrazná a pohybovala se v nižších stupních. Celkem bylo identifikováno 16 fenotypů rezistence

(R-fenotypů), na základě jejichž počtu se populace odlišovaly. Plně či spíše homogenní byly populace CZ01, CZ02, CZ03, CZ04, CZ05, CZ 06, CZ07, CZ08 a CZ16. Zajímavým jevem byla homogenita populací CZ10, CZ11, CZ12, vyznačující se v předešlých studiích spíše svou vyšší heterogenitou. Populace CZ9, CZ14 a CZ15 dosáhly poměrně vysokého stupně heterogenity oproti ostatním populacím.

Izoláty *Bremia lactucae* z přirozených populací *L. serriola* byly rovněž testovány na standartním diferenčním souboru genotypů *Lactuca* spp. Tento set má jedinečné složení genotypů *Lactuca serriola* i *Lactuca sativa* obsahující dosud identifikované geny resp. faktory rezistence, tudíž pozorované interakce na těchto genotypech byly velmi odlišné. I přestože přírodní i kulturní patosystém funguje na principu gen-proti-genu, už v předešlých studiích byl zdůrazněn zřejmý rozdíl koncepce a fungování těchto patosystémů. Současný expanzivně se vyvíjející výzkum v této oblasti dosud však nepředložil dostatečné množství informací k detailnímu poznání o distribuce, variabilitě virulence a epidemiologie *B. lactucae* v přírodních populacích *L. serriola* (Petrželová & Lebeda, 2004). Ze získaných dat je patrná převaha patogenity izolátů na genotypech *L. serriola*. Pouze u jediné odrůdy *L. sativa* (Spartan Lakes), jež je z předešlých let známá svou variabilitou odpovědí, byla zaznamenána vnímavá reakce na izolát *B. lactucae*, a to v případě izolátu 33/98.

Determinace faktorů virulence u použitých izolátů *Bremia lactucae* poukázala na drobné odchylky ve frekvenci zastoupení dosud identifikovaných v-faktorů (faktory virulence) a na rozdíly oproti předchozím výsledkům z přírodních populací *L. serriola*. V souboru 5 izolátů bylo zjištěno 16 v-faktorů z 33 testovaných. V souladu s předchozími studiemi je přítomnost faktoru v7 v maximální frekvenci (1,00). Rovněž byl v této frekvenci zaznamenán faktor v30, jež bývá obvykle v planých patosystémech také četně zastoupen (Lebeda & Petrželová, 2004, Petrželová & Lebeda, 2004). Poměrně hojně byly zastoupeny faktory v25, v26, v27, v24, v28, v29 a faktory typické spíše pro planý patosystém v15 a v17 (Petrželová & Lebeda, 2004). Dále byly přítomny v souboru izolátů faktory virulence v11, v14, v19, v23, známé svou variabilitou výskytu, což bylo potvrzeno jejich nízkou frekvencí.

Většina v-faktorů odpovídající genům a faktorům rezistence lokalizovaných v *L. sativa* nebyla vůbec zjištěna. Pozoruhodným jevem byla absence virulentního faktoru v5/8, jež byl v dřívějších letech, i když s proměnlivým výskytem, často zaznamenán (Lebeda & Petrželová, 2004). Specifické geny (*Dm* geny) resp. faktory (R-faktory) odpovídající tomuto v-faktoru jsou lokalizovány v genotypu *L. sativa*, avšak tato rezistence je introdukována z genotypu *L. serriola*.

Typickou charakteristikou izolátů *Bremia lactucae* z planých patosytémů jsou mnohem jednodušší fenotypy virulence (v-fenotypy) ve srovnání s fenotypy izolátů kulturních patosytémů (Lebeda, 2002, Lebeda & Petrželová, 2004). V souboru testovaných izolátů bylo popsáno celkem 5 fenotypů virulence. Ty se lišily jak v počtu zastoupených v-faktorů, tak i v jejich kombinaci. Ve složení v-fenotypů byly přítomny všechny dosud známé faktory virulence odpovídající *Dm* genům (R-faktorům) v genotypech *L. serriola*. Výskyt komplementárních v-faktorů ke genům resp. faktorům rezistence v *L. sativa* byl ojedinělý, a to pouze v případě v11 a v 14. Geny (faktory) rezistence odpovídající v-faktoru v11 jsou introdukovány z *L. serriola* do *L. sativa*.

## 7. ZÁVĚR

Předložená bakalářská práce uvádí výsledky studia rezistence českých populací *Lactuca serriola* (locika kompasová) vůči izolátům *Bremia lactucae* (plíseň salátová) z *L. serriola*. Teoretická část je zaměřena na vytvoření představy od dané problematice. Shrnuje dosavadní poznatky o struktuře přírodních populací *L. serriola* a taktéž o distribuci, epidemiologii a virulenci *B. lactucae*. V rámci experimentální části této práce bylo provedeno testování souboru 16 českých populací *L. serriola* vůči 5 izolátům *B. lactucae* dříve popsány standardními metodami. Současně byly použité izoláty zkoumány skrze interakce s genotypy diferenciačního souboru *Lactuca* spp. Ze získaných dat lze vyvodit následující závěry.

Ve studovaných českých populacích *L. serriola* výrazně převažuje fenomén náchylnosti nad rasově-specifickou rezistencí. Pouze v případě 3 populací byl zaznamenán větší podíl rezistentních interakcí, který je však ve srovnání s procentem vnímavých interakcí v těchto populacích nepatrný. Žádná z planých populací či jedinec, nebyly kompletně rezistentní vůči všem 5 izolátům *B. lactucae*. Izoláty se ve své virulenci mezi sebou nijak významně nelišily, všechny byly na populacích *L. serriola* vysoce patogenní.

Heterogenita populací *L. serriola* byla stanovena na základě 16 zjištěných fenotypů rezistence. Jednotlivé populace se mezi sebou odlišovaly ve stupni heterogenity, většinu těchto populací lze však označit za více či méně homogenní.

Z reakcí izolátů *B. lactucae* na diferenciačním souboru genotypů *Lactuca* spp. byly potvrzeny předchozí úvahy o vyšší virulenci izolátů *B. lactucae* z *L. serriola* na genotypech *L. serriola* než na *L. sativa*. Na rozdíl od genotypů *L. serriola* reagovalo 25 z 35 genotypů *L. sativa* kompletní rezistencí vůči všem použitým izolátům.

Na základě reakcí jedinců *L. serriola* s izoláty *B. lactucae* bylo determinováno celkem 16 faktorů virulence z 33 dosud popsáných a testovaných. Specifické faktory se lišily mezi sebou i oproti předešlým studiím ve frekvenci zastoupení. V nejvyšší frekvenci byly zastoupeny faktory v7 a v30.

Ve studovaném souboru izolátů bylo dále stanoveno 5 specificky složených fenotypů virulence. Faktory virulence komplementární ke genům resp. faktorům rezistence v *L. sativa* byly v těchto fenotypech zastoupeny minimálně.

## 8. PŘEHLED LITERATURY

- Burdon, J. J., Wennström, A., Elmqvist, T. & Kirby, G. C. (1996): The Role of Race Specific Resistance in Natural Plant Populations. *Oikos* 76 (2), 411–416.
- Burdon, J. J. & Silk, J. (1997): Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. *Phytopathology* 87 (7), 664–669.
- Crute, I. R. & Pink, D. A. C. (1996): Genetics utilization of patogen resistance in plants. *The Plant Cell* 8 (10), 1747-1755.
- D'Andrea, L., Broennimann, O., Kozłowski, G., Guisan, A., Morin, X., Keller-Senften, J. & Felber, F. (2009): Climate change anthropogenic disturbance and the northward range expansion of *Lactuca serriola* (Asteraceae). *Journal of Biogeography* 36 (8), 1573–1587.
- Doležalová, I., Lebeda, A. & Křístková, E. (2001): Původ a variabilita kulturních forem salátu. *Živa* 1, 20–22.
- Kalina, T. & Váňa, J. (2005): Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Nakladatelství Karolinum. Praha. 606 pp.
- Kazda, J. & kol. (1997): Choroby a škůdci polních plodin, ovoce a zeleniny. V redakci časopisu *Farmář a Zemědělské listy*. Praha. 116 pp.
- Křístková, E., Doležalová, I., Lebeda, A., Vinter, V. & Novotná, A. (2008): Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Horticultural science* 35 (3), 113–129.
- Kůdela, V., Bartoš, P., Čača, Z., Dirlbek, J., Frič, F., Lebeda, A., Šebesta, J., Ulrychová, M., Valášková, E. & Veselý, D. (1989): *Obecná fytopatologie*. Academia, Praha, 387 pp.
- Lanáč, J., Šimko, K. & Vanek, G. (1969): *Atlas chorob a škůdců ovocných plodin, révy vinné a zeleniny*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha. 329 pp.
- Latijnhouwers, M., De Wit, P. J. & Govers, F. (2003): Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants. *Trends in microbiology* 11(10), 462–469.
- Lebeda, A.: Population genetic aspects in the study of phytopathogenic fungi. *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung.* 17, 1982, 215–219.



- Lebeda, A.: Parazitismus (Parasitism). In Kůdela, V. (Ed.): Obecná fytopatologie (General plant pathology). Academia, Praha 1989, 69–76.
- Lebeda, A.: Patogenismus (Patogenism). In Kůdela, V. (Ed.): Obecná fytopatologie (General plant pathology). Academia, Praha 1989, 77–82.
- Lebeda, A.: Specifičnost vzájemných vztahů mezi hostitelem a patogenem (Specificity of host-pathogen relationships). In Kůdela, V. (Ed.): Obecná fytopatologie (General plant pathology). Academia, Praha 1989, 87–107.
- Lebeda, A. (2002): Occurrence and variation in virulence of *Bremia lactucae* in natural populations of *Lactuca serriola*. In Spencer - Phillips, P. T. N., Gisi, U., Lebeda, A. (Eds.): Advances in Downy Mildew Research. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 179–183 pp.
- Lebeda, A., Bartoš, P. & Jendrulek, T. (1988): Šlechtění rostlin na odolnost k chorobám. Praha, Československá akademie zemědělská. 214 pp.
- Lebeda, A., Doležalová, I., Astley, D. (2004b): Representation of wild *Lactuca* spp. (Asteraceae, Lactuceae) in world genebank collections. Genetic Resources and Crop Evolution 51 (2), 167–174.
- Lebeda, A., Doležalová, I., Feráková, V. & Astley, D. (2004a): Geographical distribution of wild *Lactuca* species (Asteraceae, Lactuceae). The Botanical Review 70 (3), 328–356.
- Lebeda, A., Doležalová, I., Křístová, E., Kitner, M., Petrželová, I., Mieslerová, B. & Novotná, A. (2009): Wild *Lactuca* germplasm for lettuce breeding: current status, gaps and challenges. Euphytica 170, 15–34.
- Lebeda, A., Křístková, E., Dehmer, K.J., Astley, D., van de Wiel, C. C. M. & van Treuren, R. (2007): Acquisition and ecological characterization of *Lactuca serriola* L. germplasm collected in the Czech Republic, Germany, the Netherlands and United Kingdom. Genetic Resources and Crop Evolution 54 (3), 555–562.
- Lebeda, A. & Petrželová, I. (2004): Variation and distribution of virulence phenotypes of *Bremia lactucae* in natural populations of *Lactuca serriola*. Plant Pathology 53, 316–324.

- Lebeda, A. & Petrželová, I. (2010): Screening for resistance to lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*). In: Spencer, M. M., Lebeda, A. (Eds.): Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Disease. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria. Chapter 15, pp. 245–256.
- Lebeda, A., Petrželová, I. & Maryška, Z. (2008b): Structure and variation in the wild-plant pathosystem: *Lactuca serriola*-*Bremia lactucae*. European Journal of Plant Pathology 122 (1), 127–146.
- Lebeda, A., Pink, D. A. C. & Astley, D. (2002): Aspects of the interactions between wild *Lactuca* spp. and related genera and lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*). In: Spencer Phillips, P. T. N., Gisi, U. & Lebeda, A. (Eds.): Advances in Downy Mildew Research. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 85–117pp.
- Lebeda, A. & Reinink, K. (1991): Variation in the early development of *Bremia lactucae* on lettuce cultivars with different levels of field resistance. Plant Pathology 40 (2), 232–237.
- Lebeda, A., Sedlářová, M., Petřivalský, M., Prokopová, J. (2008a): Diversity of defence mechanisms in plant-oomycete interactions: a case study of *Lactuca* spp. and *Bremia lactucae*. European Journal of Plant Pathology 122, 71–89.
- Lebeda, A. & Zinkernagel, V. (2003): Evolution and distribution of virulence in the German population of *Bremia lactucae*. Plant Pathology 52, 41–51.
- Petrželová, I. & Lebeda, A. (2000): Plíseň salátová, její genetická variabilita a rezistence salátu. Rostlinolékař 11 (6), 13–16.
- Petrželová, I. & Lebeda, A. (2004a): Occurrence of *Bremia lactucae* in natural populations of *Lactuca serriola*. Journal Pathology 152, 391–398.
- Petrželová, I. & Lebeda, A. (2004b): Temporal and spatial variation in virulence of natural populations of *Bremia lactucae* occurring on *Lactuca serriola*. In: Spencer-Phillips, P. T. N., Jeger, M. (Eds.): Advances in Downy Mildew Research, Vol. 2. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 141–163.

- Petrželová, I. & Lebeda, A. (2004c): Comparison of virulence of *Bremia lactucae* isolates originating from *Lactuca sativa* and *Lactuca serriola*. *Acta fytotechnica et zootechnica* 7, 249–250.
- Petrželová, I. & Lebeda, A. (2011): Distribution of race-specific resistance against *Bremia lactucae* in natural populations of *Lactuca serriola*. *European Journal of Plant Pathology* 129 (2), 233–253.
- Prince, S.D. & Carter, R.N. (1977): Prickly Lettuce (*Lactuca serriola* L.) in Britain. *Watsonia* 11(4), 331–338.
- Sargent, J. A., Ingram, D. S. & Tommerup, I. C. (1977): Oospore development in *Bremia lactucae* Regel.: an ultrastructural study. *Proceedings of the Royal Society of London-Series B* 198, 129–138.
- Scherm, H. & Bruggen, A. H. C. (1994): Weather variables associated with infection of lettuce by downy mildew (*Bremia lactucae*) in coastal California. *Phytopathology* 84, 860–865.
- Su, H., van Bruggen, A. H. C., Subbarao, K.V. & Scherm, H. (2004): Sporulation of *Bremia lactucae* affected by temperature, relative humidity, and wind in controlled conditions. *Phytopathology* 94 (4), 396–401
- Marks, M. & Prince, S. (1981): Influence of germination date on survival and fecundity in wild lettuce *Lactuca serriola*. *Oikos*, 326–330.
- Michelmore, R. & Wong, J. (2008): Classical and molecular genetics of *Bremia lactucae*, cause of lettuce downy mildew. *European Journal Plant Pathology* 122, 19–30.
- Morel, J. B. & Dangl, J. L. (1997): The hypersensitive response and the induction of cell death in plants. *Cell Death and Differentiation* 4(8), 671–683.
- Mysore, K. S. & Ryu, C. M. (2004): Nonhost resistance: how much do we know?. *Trends in plant science*, 9 (2), 97–104.
- Novotná, A., Doležalová, I., Lebeda, A., Kršková, M. & Berka, T. (2011): Morphological variability of achenes of some European populations of *Lactuca serriola* L.. *Flora* 206, 473–483.

Wu, B. M., Subbarao, K. V. & van Bruggen, A. H. C. (2000): Factors affecting the survival of *Bremia lactucae* sporangia deposited on lettuce leaves. *Phytopathology* 90 (8), 827–833.

Wu, B. M., van Bruggen, A. H. C., Subbarao, K. V. & Scherm, H. (2002): Incorporation of temperature and solar radiation thresholds to modify a lettuce downy mildew warning system. *Phytopathology* 92 (6), 631–636.

Elektronické zdroje:

URL: < <http://d-maps.com/m/europa/tchequie/tchequie24.gif> > [cit. 2013-2-25]

## 9. PŘÍLOHY

### 9.1. Tabulky

Tabulka 5. 1. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ01 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae*

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ01	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	(+)	+
	5	+	+	+	+	+
	6	+	(+)	+	+	+
	7	+	+	+	+	+
	8	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	(+)	+
	10	.	.	.	.	.
	11	.	.	.	.	.
	12	+	+	+	+	+
	13	(+)	+	+	+	+
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	+	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
. = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 2. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ02 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ02	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	(+)	+
	6	+	+	+	+	+
	7	+	+	+	+	+
	8	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+
	11	+	+	+	+	+
	12	+	+	+	+	+
	13	(+)	+	+	+	+
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	.	.	.	.	.

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
 . = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 3. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ03 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ03	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	(+)	+
	7	+	+	+	+	+
	8	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+
	11	+	+	+	+	+
	12	+	+	+	+	+
	13	+	+	+	+	+
	14	+	+	+	(+)	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	(+)	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
 . = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 4. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ04 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ04	1	+	+	+	+	(+)
	2	+	+	+	(+)	(+)
	3	(+)	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	+
	7	+	+	+	+	(+)
	8	+	+	+	+	(+)
	9	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	(+)
	11	+	+	+	+	(-)
	12	+	+	+	+	+
	13	+	+	+	+	+
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	+	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
 . = netestováno (data nejsou k dispozici)



**Tabulka 5. 5. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ05 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ05	1	+	(-)	(-)	-	+
	2	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+
	5	+	-	-	-	-
	6	+	-	-	+	-
	7	+	+	+	+	+
	8	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+
	10	.	.	.	.	.
	11	+	+	+	+	+
	12	+	+	+	+	(+)
	13	+	+	+	+	+
	14	(+)	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	+	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
 . = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 6. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ06 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ06	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	+
	7	+	+	+	+	+
	8	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+
	11	+	+	+	+	+
	12	+	+	+	+	+
	13	+	+	+	+	+
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	+	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
 . = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 7. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ07 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ07	1	(+)	(-)	(-)	+	(+)
	2	+	+	(-)	+	(+)
	3	+	+	+	+	+
	4	(+)	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	(+)
	7	(+)	(+)	+	+	(+)
	8	+	(+)	+	+	(+)
	9	+	(+)	+	+	(+)
	10	+	+	+	+	(+)
	11	+	(+)	+	+	(+)
	12	+	(+)	+	+	(+)
	13	+	(+)	+	+	(+)
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	(+)
	16	+	+	+	+	(+)

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
 . = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 8. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ08 (*L. serriola*) s izoláty *B.lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ08	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+
	3	(+)	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	+
	7	+	+	+	+	+
	8	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+
	11	+	+	+	+	+
	12	+	+	+	+	+
	13	+	(+)	+	+	+
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	+	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
 . = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 9. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ09 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ09	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+
	3	(+)	+	+	+	+
	4	+	(-)	+	+	+
	5	.	.	.	.	.
	6	+	-	+	+	+
	7	+	+	+	+	+
	8	+	(-)	+	+	+
	9	+	(+)	+	+	+
	10	+	+	+	+	+
	11	+	(-)	+	+	+
	12	+	+	+	+	+
	13	+	(-)	+	+	+
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	+	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
 . = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 10. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ10 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ10	1	+	(-)	-	+	+
	2	+	+	+	(+)	+
	3	(+)	+	+	+	+
	4	+	(+)	+	+	+
	5	+	+	+	+	+
	6	+	(+)	+	(-)	+
	7	+	+	+	+	+
	8	+	+	+	(+)	(+)
	9	+	+	+	(+)	(+)
	10	+	+	+	+	+
	11	+	+	+	+	+
	12	+	+	+	(+)	(+)
	13	+	(+)	+	(+)	(+)
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	+	(-)

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce

. = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 11. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ11 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ11	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+
	3	(+)	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	+
	7	+	+	+	+	+
	8	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+
	11	.	.	.	.	.
	12	+	-	+	+	+
	13	+	(+)	+	+	+
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	+	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce

. = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 12. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ12 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ12	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+
	3	.	.	.	.	.
	4	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	+
	7	+	+	+	+	+
	8	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+
	11	+	+	+	+	+
	12	+	-	+	+	+
	13	+	+	+	+	+
	14	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	+	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce

. = netestováno (data nejsou k dispozici)



**Tabulka 5. 13. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ13 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ13	1	(+)	+	+	+	+
	2	(+)	+	(+)	+	(+)
	3	(+)	+	+	+	+
	4	(-)	+	(+)	+	(+)
	5	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	+
	7	(+)	+	+	+	+
	8	(+)	+	(+)	+	(-)
	9	(+)	+	+	+	+
	10	(+)	+	(+)	+	+
	11	+	+	(+)	+	+
	12	+	-	+	+	(+)
	13	(+)	+	+	+	+
	14	(+)	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+
	16	+	+	+	(+)	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce

. = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 14. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ14 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ14	1	+	(+)	+	+	(+)
	2	+	+	+	(-)	(+)
	3	+	+	(+)	(+)	+
	4	+	(+)	+	-	(+)
	5	+	(+)	(+)	-	(-)
	6	+	+	(+)	-	-
	7	+	+	(+)	(-)	(+)
	8	+	+	(+)	(-)	(+)
	9	+	+	+	(+)	(-)
	10	+	+	(+)	(+)	(-)
	11	(+)	+	+	-	(+)
	12	+	+	+	(+)	(-)
	13	+	(+)	(+)	(-)	(-)
	14	+	+	(+)	-	-
	15	+	(+)	+	-	(-)
	16	+	+	(+)	(-)	(+)

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce

. = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 15. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ15 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ15	1	+	+	(+)	(-)	-
	2	+	(+)	(+)	(-)	+
	3	(+)	+	-	(-)	+
	4	+	+	(+)	(-)	+
	5	+	(-)	(+)	(-)	(+)
	6	+	(+)	+	-	(+)
	7	-	+	(-)	(-)	(+)
	8	(+)	+	(-)	(-)	(+)
	9	(-)	+	(+)	(-)	(+)
	10	+	+	(+)	(-)	+
	11	(+)	+	(+)	(-)	(+)
	12	(+)	-	(-)	(-)	(+)
	13	(-)	(+)	(-)	-	(+)
	14	(+)	+	+	(-)	+
	15	(+)	+	(-)	(-)	+
	16	+	+	(-)	(-)	+

Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce  
 . = netestováno (data nejsou k dispozici)

**Tabulka 5. 16. Kvalitativní vyhodnocení interakcí populace CZ16 (*L. serriola*) s izoláty *B. lactucae***

Číslo populace	Pořadové číslo jedince	Izolát <i>Bremia lactucae</i>				
		33/98	70/01	16/1/03	19/1/07	61/1/07
CZ16	1	+	+	+	+	+
	2	+	(+)	+	+	+
	3	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	(+)	+
	5	(-)	(-)	+	+	+
	6	+	(+)	+	(+)	+
	7	(+)	+	+	+	+
	8	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+
	10	(+)	+	+	+	+
	11	(+)	+	+	+	+
	12	(+)	.	+	+	+
	13	+	(+)	+	+	+
	14	+	+	+	+	+
	15	(+)	+	+	+	+
	16	(+)	+	+	+	+

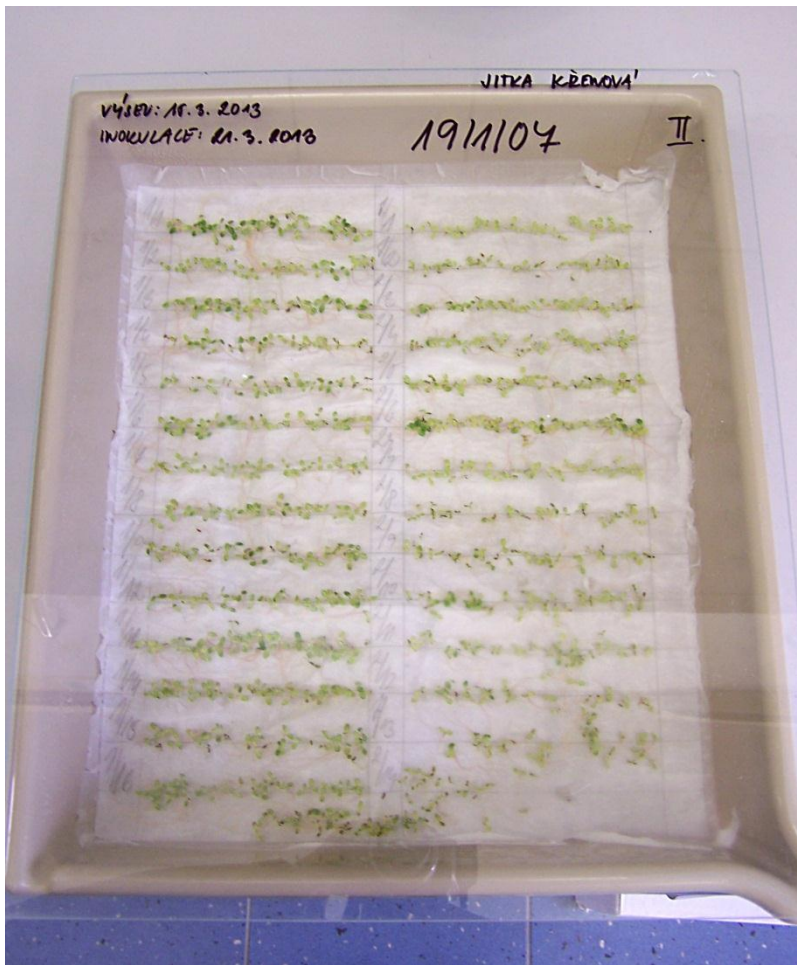
Vysvětlivky: - = rezistentní reakce, (-) = neúplná rezistence, (+) = heterogenní reakce, + = náchylná reakce

. = netestováno (data nejsou k dispozici)

## 8.1. Obrázky



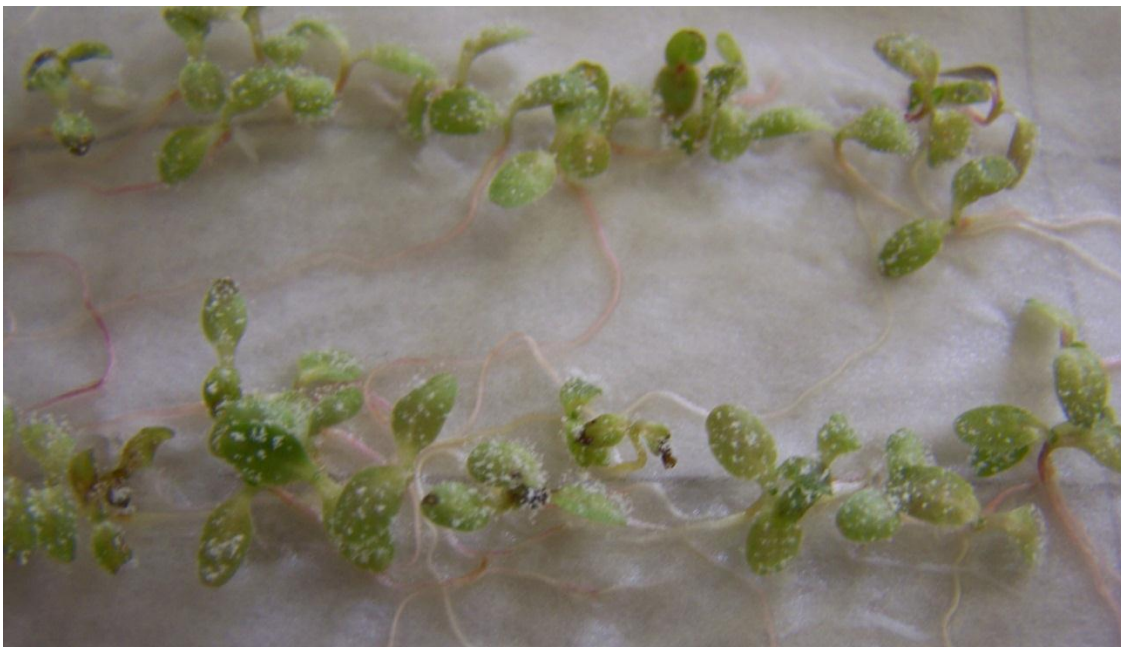
**Obrázek 1. Pohled do kultivační místnosti**



Obrázek 2. Ukázka výsevního truhlíku se založeným pokusem



Obrázek 3. Ukázka neúplné rezistence *L. serriola* (1. řádek) a rezistence (2. řádek) po inokulaci izolátem *B. lactucae*



Obrázek 4. Ukázka zcela náchylných jedinců *L. serriola* po inokulaci izolátem *B. lactucae*



**Obrázek 5. Detailní záběr na sporulaci *Bremia lactucae***