

Univerzita Palackého v Olomouci

Bakalářská práce

Olomouc 2024

Michaela Kadlecová

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra buněčné biologie a genetiky



Studium virulence padlí tykvovitých na druhu
Cucumis melo
Bakalářská práce

Michaela Kadlecová

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie
Forma studia: Prezenční

Olomouc 2024

Vedoucí práce: RNDr. Božena Sedláková, Ph.D.

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Michaela KADLECOVÁ**
Osobní číslo: **R20701**
Studijní program: **B1501 Biologie**
Studijní obor: **Molekulární a buněčná biologie**
Téma práce: **Studium virulence padlí tykvovitých na druhu Cucumis melo**
Zadávající katedra: **Katedra buněčné biologie a genetiky**

Zásady pro vypracování

Literární rešerše bude zaměřena:

- na téma BP: Studium virulence padlí tykvovitých na druhu Cucumis melo. Jak z pohledu patogenu: *Podosphaera xanthii*, rovněž i ve vztahu k čeledi Cucurbitaceae, především na rody Cucumis a Cucurbita.

Experimentální část bakalářské práce bude zaměřena na:

- Determinace a popis patotypů a ras na souboru dvanácti izolátů *Podosphaera xanthii*, které jsou součástí pracovní kolekce udržované Dr. Sedlákovou ve Fytopatologické laboratoři Katedry botaniky PFF UP v Olomouci, a budou studentce poskytnuty k experimentu.

- Experiment bude realizován s využitím modifikované metody listových disků navržené Lebedou et al. (2008). Soubor pro identifikaci patotypů je složen ze šesti genotypů čeledi Cucurbitaceae a pro detekci ras z 22 genotypů Cucumis melo.

- Mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* na rezistentním a náchylném genotypu Cucumis melo. Tyto genotypy *C. melo* budou vybrány z diferenačního souboru 22 genotypů *C. melo*, podle jejich reakcí na testovaném souboru izolátů *P. xanthii*.

- Zpracování, vyhodnocení a interpretace získaných výsledků.

Rozsah pracovní zprávy:

Rozsah grafických prací:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Lebeda, A., Mieslerová, B., Huszár, J., Sedláková, B. 2017. Padlí kulturních a planě rostoucích rostlin. Taxonomie, biologie, ekologie a epidemiologie, mechanismy rezistence, šlechtění na odolnost, metody experimentální práce, diagnostika a ochrana rostlin. Agriprint, Olomouc (ISBN 978-80-87091-69-2).

Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B., McCreight, J.D., Coffey, M.D. 2016. Cucurbit powdery mildews: Methodology for objective determination and denomination of races. *European Journal of Plant Pathology* 144: 399-410. DOI 10.1007/s10658-015 https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10658-015-0776-7.pdf

Lebeda A., Křístková E., Sedláková B., McCreight J.D., Coffey M.D. 2008. New concept for determination and denomination of pathotypes and races of cucurbit powdery mildew. In: Pitrat M. (Ed.): Cucurbitaceae 2008, IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae. INRA, Avignon, France, May 21-24, 2008, pp. 125-134.

Lebeda A., Křístková E., Sedláková B., Coffey, M.D., McCreight J.D., 2011. Gaps and perspectives of pathotype and race determination in *Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*. *Mycoscience* 52: 159-164.

- Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B., McCreight, J.D., Kosman, E. 2018. Virulence variation of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic – population approach. *Eur J Plant Pathol.*(2018) 152: 309-326. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1476-x>
- Lebeda A., Sedláková B. 2010. Screening for resistance to cucurbit powdery mildew (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*). In: *Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Diseases*. IAEA, Vienna, Austria 2010, chapter 19, pp. 295-307.
- Lebeda A, Sedláková B., Křístková E, Vajdová M., McCreight J.D. 2012. Application of a new approach for characterization and denomination of races of cucurbit powdery mildews-a case study of Czech pathogen populations. In: *Cucurbitaceae 2012, Proceedings of the Xth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae*, (eds. Sari N., Solmaz I., Aras V.) Anatya (Turkey), pp. 172-180.
- Lebeda, A., Sedláková, B., Křístková, E., Widrlechner, M., Kosman, E. 2021. Understanding pathogen population structure and virulence variation for efficient resistance breeding to control cucurbit powdery mildews. *Plant Pathol.* 2021;70: 1364-1377. <https://doi.org/10.1111/ppa.13379>
- Sedláková B., Lebeda A. 2010. Temporal population dynamics of cucurbit powdery mildews (*Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*) in the Czech Republic. In: *Proceedings of Cucurbitaceae 2010*, Charleston, SC, USA, November 14-18, 2010, pp. 244-247, ISBN 978-0-9830932-0-6.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Božena Sedláková, Ph.D.**
Katedra botaniky

Datum zadání bakalářské práce: **30. března 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **31. července 2023**

LS.

doc. RNDr. Martin Kubala, Ph.D.
děkan

prof. RNDr. Zdeněk Dvořák, DrSc.
vedoucí katedry

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Michaela Kadlecová

Název práce: Studium virulence padlí tykvovitých na druhu *Cucumis melo*

Typ práce: Bakalářská práce

Pracoviště: Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta UP v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc-Holice

Vedoucí práce: RNDr. Božena Sedláková, Ph.D.

Rok obhajoby: 2024

Abstrakt: Tato bakalářská práce se zaměřuje na studium patogenní variability padlí tykvovitých *Podosphaera xanthii* (Px). Teoretická část se zabývá čeledí tykvovitých (Cucurbitaceae), popisem padlí se zaměřením na druh *P. xanthii* a patogenní variabilitou padlí tykvovitých na úrovni patotypů a ras. Dále se věnuje genům rezistence vybraných zástupců čeledi Cucurbitaceae vůči padlí, obranným mechanismům rostlin této čeledi vůči padlí a sekvencování genomu padlí *P. xanthii*.

Praktická část se zabývá determinací a popisem patotypů a ras 12 izolátů padlí *Podosphaera xanthii* pocházejících z let 2017-2022, které jsou součástí pracovní kolekce udržované Dr. Sedlákovou ve Fytopatologické laboratoři Katedry Botaniky PřF UP s využitím modifikované metody listových disků podle Lebedy *et al.* (2008). Celkem bylo na diferenciačním souboru 6 genotypů čeledi Cucurbitaceae determinováno 5 různých patotypů a na diferenciačním souboru 22 genotypů *Cucumis melo* bylo identifikováno 12 různých ras. Tyto výsledky byly porovnány s patogenní variabilitou padlí tykvovitých z předcházejících let, a i v letech 2017-2022 bylo dokázáno, že je patogen vysoce variabilní jak na patotypové, tak na rasové úrovni a potvrdily se výsledky z předchozích let. Bylo také provedeno mikroskopické pozorování vývoje padlí *P. xanthii* na vybraných rezistentních a náchylných genotypch *C. melo* pod mikroskopem, které bylo v souladu s výsledky vizuálního hodnocení těchto genotypů.

Klíčová Slova: patogenní variabilita, patotypy, rasy, padlí tykvovitých, *Podosphaera xanthii*, Cucurbitaceae, tykvovité

Počet stran: 83

Jazyk: Český

Bibliographical identification:

Autor's first name and surname: Michaela Kadlecová

Title: Study of cucurbit powdery mildew virulency on *Cucumis melo*

Type of thesis: Bachelor thesis

Workplace: Department of Botany, Faculty of Science, Palacky University in Olomouc, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc-Holice

Supervisor: RNDr. Božena Sedláková, Ph.D.

The year of presentation: 2024

Abstract: This bachelor's thesis focuses on the study of the pathogenic variability of powdery mildew *Podosphaera xanthii* (Px). The theoretical part deals with the cucurbit family (Cucurbitaceae), the description of powdery mildew with a focus on the species *P. xanthii* and the pathogenic variability of cucurbit powdery mildew at the level of pathotypes and races. It also deals with the resistance genes of selected members of the Cucurbitaceae family against powdery mildew, the defense mechanisms of plants of this family against powdery mildew and the sequencing of the powdery mildew genome of *P. xanthii*.

The practical part deals with the determination and denomination of the pathotypes and races of 12 powdery mildew *Podosphaera xanthii* isolates originating from the years 2017–2022, which are part of the working collection maintained by Dr. Sedláková in the Phytopathology Laboratory of the Department of Botany PřF UP using the modified leaf disks method according to Lebeda et al. (2008). In total, 5 different pathotypes were determined on the differential set of 6 genotypes of the Cucurbitaceae family, and 12 different races were identified on the differential set of 22 *Cucumis melo* genotypes. These results were compared with the pathogenic variability of cucurbit powdery mildew from previous years. As well from 2017 to 2022, the pathogen showed to be highly variable both at the pathotype and race levels as has been seen before the year 2017. Microscopic observation of powdery mildew development of *P. xanthii* on selected *C. melo* resistant and susceptible genotypes under a microscope was also carried out and reflected results from visual evaluation.

Keywords: pathogenicity variation, pathotypes, races, cucurbit powdery mildews, *Podosphaera xanthii*, Cucurbitaceae

Number of pages: 83

Language: Czech

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracovala samostatně pod odborným vedením RNDr. Boženy Sedlákové, Ph.D. a za použití uvedené literatury.

V Olomouci dne

.....

Michaela Kadlecová

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla vyjádřit poděkování vedoucí mé bakalářské práce paní RNDr. Boženě Sedlákové, PhD. za odbornou konzultaci a cenné rady, osobní a profesionální přístup, a především za odborné vedení bakalářské práce.

Výsledky získané v praktické části této bakalářské práce byly řešeny v rámci projektů IGA UP_ PrF_ 2022-002 a IGA UP_ PrF 2023-001, PrF_2024_001

OBSAH

1	Úvod	1
2	Cíle práce	2
3	Literární přehled	3
3.1	Charakteristika čeledi Cucurbitaceae (tykvovité)	3
3.1.1	Rod <i>Cucumis</i>	3
3.1.2	Rod <i>Cucurbita</i>	5
3.1.3	Rod <i>Citrullus</i>	6
3.1.4	Rod <i>Lagenaria</i>	7
3.2	Charakteristika padlí tykvovitých	7
3.2.1	Symptomy napadení.....	8
3.2.2	Popis patogena <i>Px</i>	9
3.2.3	Životní cyklus	9
3.2.4	Hostitelský okruh	10
3.2.5	Druhové spektrum padlí tykvovitých v ČR.....	11
3.2.6	Geografické rozšíření.....	11
3.3	Patogenní variabilita	12
3.3.1	Patotypy.....	12
3.3.2	Rasy.....	15
3.4	Geny rezistence významných zástupců čeledi Cucurbitaceae vůči vybraným rasám padlí tykvovitých	23
3.5	Obranné mechanismy rostlin čeledi Cucurbitaceae vůči padlí	26
3.6	Sekvencování genomu padlí <i>Px</i>	27
4	Materiál a metody	29
4.1	Rostlinný materiál	29
4.2	Původ, charakteristika a uchovávání izolátů padlí tykvovitých použitých k testování	29
4.3	Determinace patotypů a ras	32
4.4	Hodnocení intenzity sporulace a stupně napadení	34
4.5	Mikroskopické sledování vývoje <i>Podosphaera xanthii</i>	36
5	Výsledky.....	38
5.1	Patogenní variabilita padlí tykvovitých <i>Podosphaera xanthii</i> v ČR v letech 2017-2022 na úrovni patotypů	38
5.2	Patogenní variabilita padlí tykvovitých <i>Podosphaera xanthii</i> v ČR v letech 2017-2022 na úrovni ras.....	42
5.3	Mikroskopické pozorování vývoje padlí <i>Podosphaera xanthii</i>	51
6	Diskuse.....	56

7	Závěr.....	60
8	Literatura.....	62

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Kladogram řádu Cucurbitales (Schaefer a Renner, 2011).....	4
Obrázek 2 - List napadený padlím <i>Px</i> (Peskest, 2018).....	8
Obrázek 3 - Životní cyklus padlí tykvovitých (Vielba-Fernandéz <i>et al.</i> , 2020).....	10
Obrázek 4 - Výsledek testování známých ras <i>Px</i> na 8 charakterizovaných genotypech druhu <i>Cucumis melo</i> (Hong <i>et al.</i> , 2018).....	19
Obrázek 5 - Výsledek testování neznámých ras <i>Px</i> na 8 charakterizovaných genotypech druhu <i>Cucumis melo</i> (Hong <i>et al.</i> , 2018).....	20
Obrázek 6 - Distribuce délky kontigů v dřívě dostupném transkriptomu <i>Px</i> zahrnující 37241 transkriptů (GEUO00000000) ve srovnání s celkovými sestavenými kontigy (71095) a identifikovanými transkripty (23065) padlí <i>Px</i> získané v této studii (De Miccolis Angelini <i>et al.</i> , 2019).....	28
Obrázek 7 - Modifikovaná metoda listových disků podle Lebedy <i>et al.</i> , 2008 (foto M. Kadlecová).....	34
Obrázek 8 - Pětibodová stupnice využita pro hodnocení intenzity sporulace padlí tykvovitých pomocí modifikované metody listových disků (Lebeda <i>et al.</i> , 2017).....	35
Obrázek 9 - Schéma mikroskopického pokusu (Sedláková – osobní sdělení).....	37
Obrázek 10 – Resistentní genotyp <i>C. melo</i> SVI105 vůči izolátu <i>P. xanthii</i> 22/21.....	54
Obrázek 11 - Náchylný genotyp 5 – <i>C. maxima</i> Goliáš vůči izolátu <i>P. xanthii</i> 22/21.....	55

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 - Frekvence virulence padlí <i>Golovinomyces orontii</i> a <i>Podosphaera xanthii</i> na jednotlivých genotypech <i>Cucumis melo</i> v letech 2001-2012 (Lebeda <i>et al.</i> , 2021).....	21
Graf 2 - Počet ras popsaných v letech 2013-2016 na izolátech <i>Golovinomyces orontii</i> a <i>Podosphaera xanthii</i> na území ČR (převzato: Rušáková, 2018).....	22
Graf 3 - Srovnání frekvence výskytu náchylné/resistentní reakce genotypů čeledi Cucurbitaceae pro detekci patotypů na izolátu padlí <i>Podosphaera xanthii</i>	42
Graf 4 - Frekvence výskytu náchylné/resistentní reakce genotypů druhu <i>Cucumis melo</i> na izolátech <i>Px</i>	45
Graf 5 - Frekvence výskytu náchylné/resistentní reakce genotypů <i>Cucumis melo</i> diferenciačního souboru v reakci na testované izoláty <i>Podosphaera xanthii</i> v letech 2013–2016 (v %) (Rušáková, 2018).....	58
Graf 6 - Frekvence výskytu náchylné/resistentní reakce genotypů <i>Cucumis melo</i> diferenciačního souboru v reakci na testované izoláty <i>Podosphaera xanthii</i> v letech 2017-2022 (v %) (vlastní výsledky).....	58

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Izoláty padlí tykvoovitých sbírané v ČR v letech 2001-2012 (Lebeda <i>et al.</i> 2021).....	11
Tabulka 2 - Počet rostlin infikovaných výhradně patogeny <i>Go</i> nebo <i>Px</i> či oběma společně ve tříletých intervalech (Lebeda <i>et al.</i> 2021).....	11
Tabulka 3 - Diferenciační soubory používané pro popis patotypů padlí tykvoovitých (převzato a upraveno z Lebeda <i>et al.</i> 2011)	13
Tabulka 4 - Nový systém k determinaci patotypů padlí tykvoovitých (Lebeda <i>et al.</i> , 2008).....	14
Tabulka 5 - Počet patotypů identifikovaných ve světě (převzato a upraveno z Lebeda <i>et al.</i> , 2011; Xu <i>et al.</i> , 2020).....	14
Tabulka 6 - Přehled patotypů popsanych na izolátech <i>Golovinomyces orontii</i> (<i>Go</i>) a <i>Podosphaera xanthii</i> (<i>Px</i>) v letech 2013-2016 na území ČR (převzato: Rušáková, 2018)	15
Tabulka 7 – Diferenciační soubory pro identifikaci ras <i>Podosphaera xanthii</i> a <i>Golovinomyces orontii</i> padlí tykvoovitých na druhu <i>Cucumis melo</i> seřazených v chronologickém pořadí (Lebeda <i>et al.</i> , 2011).....	16
Tabulka 8 - Tři metody soužící pro denominaci ras padlí tykvoovitých <i>Px</i> a <i>Go</i> (Lebeda <i>et al.</i> , 2011)....	16
Tabulka 9 - Nově navržený systém pro determinaci ras <i>Px</i> a <i>Go</i> (Lebeda <i>et al.</i> , 2021)	17
Tabulka 10 - 11 diferenciačních genotypů druhu <i>Cucumis melo</i> použitých pro testování virulence padlí <i>Go</i> a <i>Px</i> (Lebeda <i>et al.</i> , 2021).....	21
Tabulka 11 - Variabilita výskytu virulentních fenotypů (v-fenotypů) CPM v ČR v letech 2001-2012 (Lebeda <i>et al.</i> , 2021).....	22
Tabulka 12 - Rasy detekované u izolátů <i>Golovinomyces orontii</i> (<i>Go</i>) a <i>Podosphaera xanthii</i> (<i>Px</i>) pomocí nově navrhovaného systému (Lebeda <i>et al.</i> , 2008), opakovaně se vyskytující během let 2013-2016 v české populaci padlí dýňovitých (převzato: Rušáková, 2018)	23
Tabulka 13 - Geny okurek (<i>Cucumis sativus</i>) řídící resistenci vůči padlí <i>Px</i> a <i>Go</i> (Wehner, 2005; Weng a Wehner, 2016).....	24
Tabulka 14 - Geny resistance melounu (<i>Cucumis melo</i>) vůči padlí <i>Px</i> a <i>Go</i> (Dogimont a Sari, 2022) ...	25
Tabulka 15 - Pokračování tabulky 14 - Geny resistance melounu (<i>Cucumis melo</i>) vůči padlí <i>Px</i> a <i>Go</i> (Dogimont a Sari, 2022).....	26
Tabulka 16 - Geny resistance druhů <i>Cucurbita</i> vůči padlí <i>Px</i> a <i>Gc</i> (Paris a Brown, 2005; Paris a Kabelka, 2009; Paris a Padley, 2014-2015)	26
Tabulka 17 - Seznam testovaných izolátů padlí tykvoovitých <i>Px</i>	31
Tabulka 18 - Nový diferenciační soubor pro determinaci patotypů padlí tykvoovitých navržený Lebedou <i>et al.</i> (2008)	33
Tabulka 19 - Nově navržený systém pro determinaci ras padlí tykvoovitých navržený Lebedou <i>et al.</i> (2021)	33
Tabulka 20 – Celkový stupeň napadení (%) testovaných izolátů <i>Podosphaera xanthii</i> na diferenciačním souboru Cucurbitaceae po 14. dnech od inokulace padlím	39
Tabulka 21 – Stupně virulence izolátů padlí <i>Px</i> na genotypu čeledi Cucurbitaceae (A – avirulentní, MV – středně virulentní, V – virulentní)	39
Tabulka 22 – Reakce izolátů padlí <i>P. xanthii</i> na diferenciační genotypy čeledi Cucurbitaceae (R - resistantní, MR - středně resistantní, S - virulentní)	40
Tabulka 23 - Reakce testovaných izolátů <i>Podosphaera xanthii</i> na diferenciačním souboru šesti genotypů čeledi Cucurbitaceae (izoláty seřazený chronologicky)	40
Tabulka 24- Převedení výsledků hodnocení virulence jednotlivých testovaných izolátů <i>Podosphaera xanthii</i> na označení 1 pro náchylnou (S) a 0 resistantní (R) reakci na genotypy diferenciačního souboru	41
Tabulka 25 - Výsledné sextetové kódy patotypů jednotlivých testovaných izolátů padlí <i>Podosphaera xanthii</i>	41

Tabulka 26 – Celkový stupeň napadení (%) izolátů <i>P. xanthii</i> na diferenciačním souboru 22 genotypů <i>Cucumis melo</i> (14. den po inokulaci).....	44
Tabulka 27 - Stupně virulence izolátů <i>Px</i> na genotypech <i>Cucumis melo</i> (A – avirulentní, MV – středně virulentní, V – virulentní).....	46
Tabulka 28 - Interakce genotypů <i>Cucumis melo</i> k izolátům <i>Px</i> (R – resistantní, MR – středně resistantní, S – virulentní)	47
Tabulka 29 – Reakce testovaných izolátů <i>P. xanthii</i> na diferenciačním souboru 22 genotypů <i>C. melo</i> (izoláty seřazeny chronologicky) (R- resistantní reakce, S – náchylná reakce)	48
Tabulka 30 - Převedení výsledků hodnocení intenzity sporulace jednotlivých testovaných izolátů <i>P. xanthii</i> na označení 1 pro kompatibilní (S) a 0 inkompatibilní (R) reakci genotypů <i>C. melo</i> diferenciačního souboru	49
Tabulka 31 – Rasy detekované u izolátů <i>Podosphaera xanthii</i> pomocí nově navrhovaného systému podle Lebedy <i>et al.</i> , (2021).....	50
Tabulka 32 - Hodnocení intenzity sporulace vybraných genotypů <i>C. melo</i> diferenciačního souboru patotypů a ras vůči padlí <i>P. xanthii</i> izolátu 22/21	52
Tabulka 33 - Počet konidioforů a konidií izolátu 22/21 <i>Px</i> na listových discích pozorovaných pod mikroskopem.....	53

1 ÚVOD

Tykvovité rostliny řazené do čeledi Cucurbitaceae jsou hospodářsky významné plodiny pěstované ve všech oblastech světa, především v tropickém a subtropickém pásmu. Tato čeleď zahrnuje přibližně 980 druhů jednoletých nebo víceletých kvetoucích bylin, z nichž jsou za hlavní plodiny považovány okurka setá (*Cucumis sativus*), meloun cukrový (*Cucumis melo*), vodní meloun (*Citrullus lanatus*), tykve a dýně (*Cucurbita* spp.) (Schaefer a Renner, 2011; Lebeda et al., 2024). Jednotlivé druhy jsou ekologicky, morfologicky i velikostně rozmanité (Faisal et al., 2019).

Padlí tykvovitých patří mezi nejčastěji se vyskytující houbové onemocnění se širokým hostitelským okruhem, včetně čeledi Cucurbitaceae. Napadají všechny nadzemní části rostlin, převážně však listové čepele. Jedná se o biotrofní parazity, tudíž jsou závislí na tkáni hostitele, čímž způsobují oslabení rostlin a jejich následnou nekrózu. Na tykvovitých rostlinách parazitují tři druhy z řádu Erysiphales, a to dva celosvětově rozšířené *Podosphaera xanthii* a *Golovinomyces orontii*, což jsou ektoparazitické druhy a jeden endoparazitní druh *Leveillula taurica* vyskytující se především v oblasti Středozemního moře, ale i v dalších zemích (např. Mexiko, Japonsko, USA) (Lebeda et al., 2024).

Interakce těchto patogenů s druhy tykvovitých rostlin jsou vysoce variabilní na úrovni patotypů a ras. Protože se této problematice věnuje Fytopatologická laboratoř Katedry botaniky PřF UP pod vedením profesora Lebedy, jsem si jako téma bakalářské práce zvolila Studium patogenní variability padlí tykvovitých na druhu *Cucumis melo* a se svou vedoucí práce jsem se domluvila na zpracování dat o patogenní variabilitě padlí tykvovitých–izolátů druhu *Podosphaera xanthii* pocházejících z České republiky z let 2017-2022.

2 CÍLE PRÁCE

1. Literární rešerše této bakalářské práce je zaměřena na studium virulence padlí tykvovitých na druhu *Cucumis melo*. Jak z pohledu patogenu: *Podosphaera xanthii*, rovněž i ve vztahu k čeledi Cucurbitaceae, především na rody *Cucumis* a *Cucurbita*.

2. Experimentální část bakalářské práce se zabývá determinací a popisem patotypů a ras u souboru dvanácti izolátů padlí *Podosphaera xanthii* pocházejících z let 2017-2022 z území České republiky, které jsou součástí pracovní kolekce udržované Dr. Sedlákovou ve Fytopatologické laboratoři Katedry botaniky PřF UP v Olomouci. Experiment byl realizován s využitím modifikované metody listových disků navržené Lebedou *et al.* (2008). Soubor pro identifikaci patotypů je složen ze šesti genotypů čeledi Cucurbitaceae a pro detekci ras z 22 genotypů *Cucumis melo*. Dále bylo k experimentům zaměřeno také mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* na rezistentním a náchylném genotypu *Cucumis melo* a jeho srovnání s vizuálním hodnocením stupně napadení listových disků testovaných genotypů *C. melo*. Tyto genotypy *C. melo* byly vybrány z diferenciačního souboru 22 genotypů *C. melo*, podle jejich reakcí na testovaném souboru izolátů *P. xanthii*.

3. Zpracování, vyhodnocení a interpretace získaných výsledků.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Charakteristika čeledi Cucurbitaceae (tykvovité)

Rostliny čeledi tykvovitých jsou rozšířené po celém světě, ale vyskytují se převážně v tropických oblastech (Simpson, 2010). Tato čeleď má více než 800 druhů rostlin, mezi které se zařazují dýně, tykve, melouny, okurky a mnoho dalších. Patří mezi hospodářsky nejvýznamnější plodiny celého světa, díky tomu, že velké množství druhů z těchto rodů se využívá ke konzumaci plodů, semen nebo dužiny. (Schaffer a Paris, 2003).

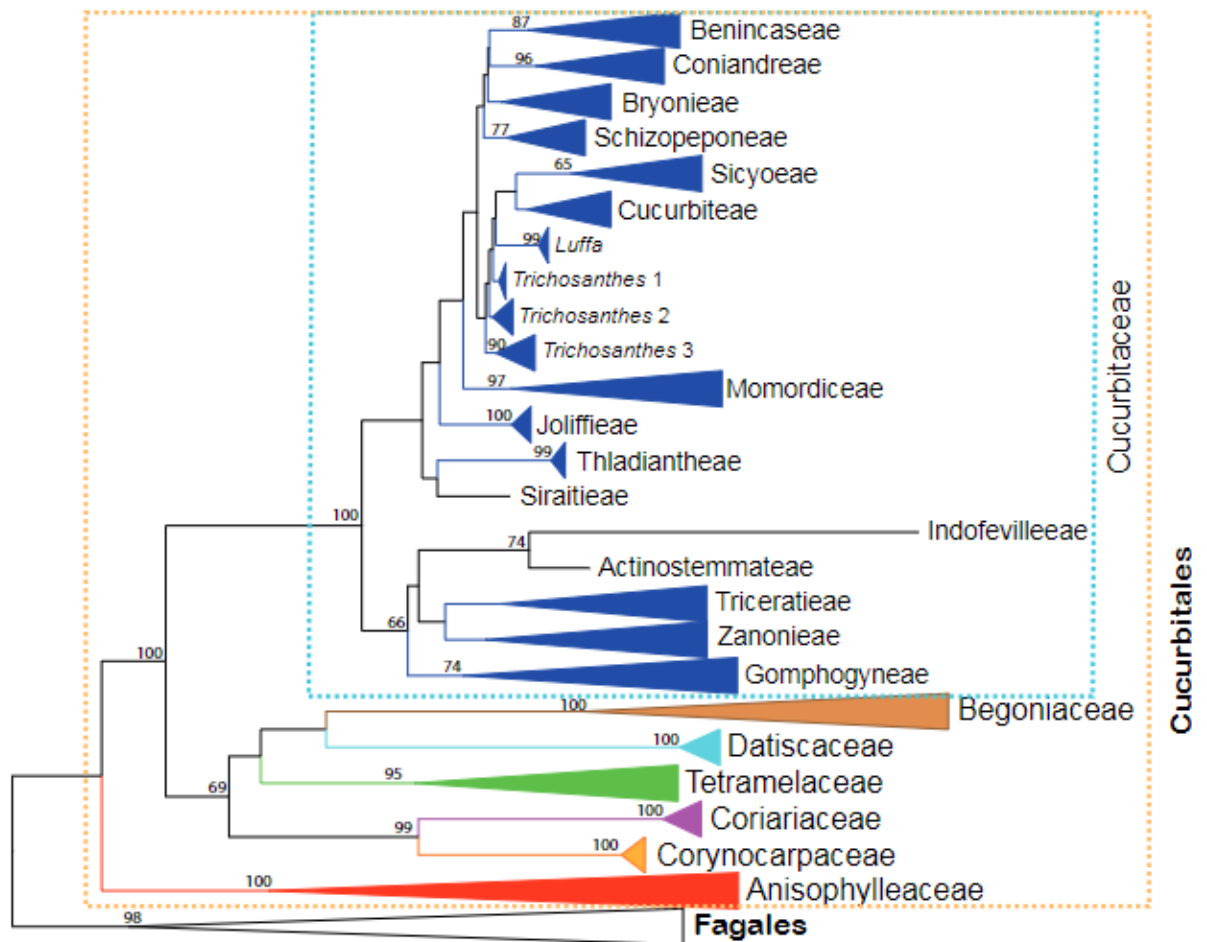
Charakterizují se jako jednoleté jednodomé nebo dvoudomé liány (Simpson, 2010). Mají jeden kulový kořen s mnoha větvenými sekundárními kořeny po stranách. Listy těchto bylin jsou jednoduché, žilkované a hluboce laločnaté uspořádané po jednom na stonek. Vytvářejí velké, nápadné bílé až žluté jednopohlavné květy a jejich plody jsou rozmanité a liší se tvarem, velikostí i barvou (Faisal *et al.*, 2019).

3.1.1 Rod *Cucumis*

Rod *Cucumis* patří do kmene Benincaseae, jak popisují Schaefer a Renner (2011), a zahrnuje více než 60 pěstovaných a planě rostoucích druhů, přičemž v současnosti je v databázi GRIN Taxonomy (GRIN-Global 2020) uvedeno 63 druhů. Na obrázku č. 1 je zobrazen kladogram řádu Cucurbitales. V rámci tohoto rodu existují dva hlavní druhy, které mají světový význam: *Cucumis melo* (meloun cukrový) a *Cucumis sativus* (okurka setá), které byly dříve považovány podle morfologických dat za blízce příbuzné. Ovšem nedávné molekulárně fylogenetické studie (např. Chung *et al.*, 2006; Renner *et al.*, 2007; Sebastian *et al.*, 2010) ukázaly, že jsou tyto dva druhy poměrně vzdáleně příbuzné s jejich příslušnými liniemi, jež se od sebe oddělily asi před osmi miliony let. Tyto dva druhy se liší také v počtu chromozomů a při pokusech o jejich vzájemné křížení došlo k ranému potratu embryí, takže bylo neúspěšné (Ebert *et al.*, 2023).

Cucumis melo (meloun cukrový) je diploidní rostlinný druh s 12 páry chromozomů s genomovou velikostí 454 Mb (Kesh a Kaushik, 2021). Jedná se o jednoletou jednodomou bylinu pěstovanou v tropických a subtropických oblastech a v nejteplejších oblastech mírného pásma. Jeho lodyha je poléhavá, hranatá a drsně chlupatá. Listy jsou mnohoúhelníkovité s rohy a zaokrouhlenými, často zvlňnými laloky. V úžlabí listů vyrůstají krátce stopkaté pětičetné květy jasně žluté barvy, se srostlým kalichem a korunou. Plody jsou kulovité až elipsoidní bobule, až 30 cm dlouhé a 15 cm široké. Vnější oplodí je tuhé až kožovité, vnitřní dužnaté až masité. Jejich barva je žlutá, zelená, oranžová až světle hnědá (Slavík, 2000).

Cucumis sativus (okurka setá) je diploidní rostlinný druh s plazivou lodyhou se 7 chromozomovými páry a genomovou velikostí 367 Mbp (Li et al., 2011). Tato jednoletá bylina vyskytující se v teplejších oblastech má poléhavou nebo šplhavou lodyhu, dorůstající 60 až 200 cm. Listy má drsné, dlanitě laločnaté ve tvaru pěti až sedmi úhelníku s dlouhými řapíky (Dorušková, 2008). Květy jasně žluté až zlatožluté barvy kvetou od června do srpna. Na rostlině se také vyskytují nevětvené přichytné úponky a drobné pichlavé štětiny. Plody okurky seté jsou žlutozelené bobule podlouhlého válcovitého tvaru, dorůstající délky až 50 cm (Slavík, 2000). Běžným rysem produkce okurek je vysoká meziroční variabilita výnosů, v důsledku citlivosti plodiny na změny počasí a nevhodné podmínky pěstování. Riziko pro produkci okurek v mnoha částech světa také představuje nízká genetická diverzita mezi kultivary, způsobená tržní poptávkou po jednotném produktu (plodech okurek uniformního vzhledu), protože v praxi pak dochází k častějšímu ošetření jak porostů okurek chemicky, tak rovněž i půdy a zvyšuje se tak její zranitelnost vůči novým chorobám a škůdcům (Ebert et al., 2023).



Obrázek 1 - Kladogram řádu Cucurbitales (Schaefer a Renner, 2011)

3.1.2 Rod *Cucurbita*

Rod *Cucurbita* se podle popisu Schaefera a Rennera (2011) řadí do kmene Cucurbitae. Zahrnuje 15 uznávaných pěstovaných a divokých druhů, jak je aktuálně uvedeno v GRIN Taxonomy (GRIN-Global 2020). V rámci rodu existuje pět pěstovaných druhů, včetně čtyř hlavních druhů světově významných, a to například tykev muškátová (*C. moschata*), tykev stříbrná (*C. argyrosperma*), tykev obrovská (*C. maxima*) a tykev obecná (*C. pepo*). Všechny tyto plodiny jsou diploidní ($2n = 40$), jednoleté a jednodomé, a většina jsou byliny s větvenými úponky. Dnes jsou pěstované druhy rodu *Cucurbita* velmi různorodé jak svým tvarem, tak rovněž i chutí a pěstují se po celém světě pro svá jedlá semena a plody, které lze sklízet nezralé nebo ve zralosti, v závislosti na druhu (Ebert *et al.*, 2023).

Cucurbita pepo (tykev obecná) je jednoletá jednodomá bylina s velikostí genomu 500Mb (Andolfo *et al.*, 2017). Její keříkovitá nebo popínavá lodyha, která je štětinatě chlupatá, dorůstá délky 20 cm až 12 m (Slavík, 2000). 15-40 cm listy jsou stejně jako stonky drsně chlupaté, trojúhelníkovité, dlanitolaločné s nevýraznými až hluboce zaříznutými laloky (Vobořil, 2015). v úžlabí listů vyrůstají silně žluté a zlatožluté květy v průměru (50-)70-110(-120) mm velké. Jsou pětičetné, se srostlým kalichem a korunou. Kalich je zvonkovitý, cípy úzce až čárkovitě trojúhelníkovité koruna zvonkovitá nebo nálevkovitá. Samčí květy mají 5 tyčinek, 4 jsou srostlé po dvou a jedna je volná, esovitě zakřivené prašníky tvoří střední sloupek. Samčí květy jsou dlouze stopkaté, rozvíjejí se dříve než samičí, samičí květy jsou krátce stopkaté. Samičí květy s trojhrannými nebo laločnatými staminodii (patyčkami). Bobulovité plody jsou velmi různého tvaru – kulovité, smáčklé, sféroidní, kyjovité, elipsoidní, hruškovité, diskovité, talířovité, zvonkovité, polokulovité nebo hřibovité. Jsou různě velké, 30–70 cm dlouhé. Vnější oplodí je měkké, tuhé, kožovité až dřevnaté, vnitřní oplodí je měkké nebo tuhé a často vysychavé. Povrch je hladký, síťovaný, vrásčitý, bradavičnatý, žebernatý nebo rýhovaný. Barva plodu je bělavá, zelená, žlutá nebo oranžová, někdy jsou dvoubarevné. Vnitřní oplodí je bílé, žluté, nazelenalé nebo oranžové. (Slavík, 2000).

Cucurbita maxima (tykev velkoplodá) je po druhu *Cucurbita pepo* druhý nejvíce fenotypicky variabilní druh se širokou škálou charakteristik plodů, včetně barevných vzorů, tvarů a velikostí. Má nejvyšší toleranci vůči nízkým teplotám a některé odrůdy také vykazují odolnost vůči virovým onemocněním (Ebert *et al.*, 2023). Velikost genomu této jednoleté jednodomé rostliny je 373,9 Mb. (Zhang *et al.*, 2015). 2-5m dlouhá lodyha je poléhavá, drsně chlupatá až štětinatá, okrouhlá a větvená. Její úponky se větví ve 2–3 ramena. Listy jsou dlouze řapíkaté, dlanitě 5–7úhelníkovité, na bázi celokrajné, 30–50(–55) cm velké. V úžlabí listů vyrůstají 70–100 mm velké zlatožluté květy, které jsou 5četné, se srostlým kalichem a korunou.

Samčí květy mají 4 tyčinky srostlé po dvou a jednu volnou, spojené esovitě zakřivené prašníky tvoří střední sloupek. Samičí květy s trojhrannými nebo laločnatými staminodii. Plody jsou smáčknuté, kulovité, sféroidní nebo polokulovité bobule, 30–80 cm dlouhé a až 100 kg těžké. Vnitřní oplodí je dužnaté, vnější oplodí je měkké. Povrch je hladký, síťovaný nebo rýhovaný. Barva plodu je bělavá, zelená, žlutá, oranžová nebo nahnědlá, vnitřní oplodí je žluté nebo oranžové (Slavík, 2000).

Cucurbita moschata (tykev pižmová/tykev muškátová) má velikost genomu 372,0 Mb (Sun *et al.*, 2017). Jedná se o jednoletou jednodomou liánu s úponky a nevýrazně hranatou, plstnatě chlupatou lodyhou. Široce oválné až srdčité 20-30 cm velké listy s 3 nebo 5 slabě vyvinutými laloky a zoubkatým okrajem mají více než 30 cm dlouhé řapíky, úponky 3-5-ti klané. Pětičetné žluté květy zvonkovitého tvaru jsou jednotlivé, na stopkách dlouhých několik cm (Vobořil, 2014). Stejně jako u ostatních druhů rodu *Cucurbita* jsou plody *C. moschata* velmi variabilní především, co se týká tvaru plodů (Ebert *et al.*, 2023). Jedná se o mnohosemenné bobule vážící 1-20 kg. Nejčastěji se vyskytují žebernaté plody, zploštělé, oblé nebo široce hruškovité. Vnější oplodí je tlusté pevné a hladké, málo kdy bradavičnaté nebo zvrásněné, barva od bílé přes krémovou, hnědou, červenou, zelenou až černou. Sladká dužina je obvykle oranžová nebo zelená (Vobořil, 2014).

3.1.3 Rod *Citrullus*

Citrullus lanatus (meloun vodní) je diploidní ($2n=22$) jednoletá, jednodomá rostlina plazivou lodyhou s větvičkami se úponky (Ebert, 2023). Velikost genomu této plodiny je 425 Mb (Guo *et al.*, 2020). Jedná se o jednoleté, jednodomé hustě krátce chlupaté byliny s poléhavými 80–200 cm dlouhými lodyhami a větvenými úponky. Listy v obrysu široce vejčité, až trojúhelníkovité, 1–2x peřenodílné až peřenosečné, (5–)10–35 cm dlouhé. v úžlabí listů vyrůstají po 1-2 široce zvonkovité květy světle žluté barvy s obvejčitými listeny. Mají v průměru 25–30 mm, jsou 5 čtené, se srostlým chlupatým kalichem a vně vlnatou korunou. Samčí květy mají 4 tyčinky srostlé po dvou a jednu volnou. Samičí květy se 3 krátkými staminodii (Slavík, 2000). Plody vynikají tvrdou vnější slupkou a dužnatým středovým jádrem, které je plné semen. Většina kultivarů má dužninu červené barvy, což je způsobeno přítomností karotenoidu lykopenu. Existují i některé genotypy s dužninou oranžovou, růžovou, bílou, žlutou a dokonce zelenou. Plody mají rozdílný tvar a velikost, která se pohybuje od 2 kg až po více než 100 kg. Také se liší barvou a vzorem slupky, stejně jako chutí a texturou dužniny. I když jsou jednotlivé kultivary melounů fenotypově variabilní, tak je jejich genetická diverzita nízká i ve srovnání s jinými druhy z čeledi Cucurbitaceae. Vysoká genetická

podobnost mezi kultivary *C. lanatus* je činí zvláště zranitelnými vůči škůdcům a chorobám, a výnosy melounů také silně závisí na dostatečné úrodnosti a kvalitě půdy (Ebert, 2023).

3.1.4 Rod *Lagenaria*

Lagenaria siceraria je diploidní ($2n=22$) plodina s velikostí genomu 313,4 Mb (Wu *et al.*, 2017). Byla několikrát domestikována v mnoha oblastech světa pro různé účely (Lust a Paris, 2016). Tato nezávislá selekce v rámci rodu *Lagenaria* vedla k obrovské diverzitě typů, tvarů a velikostí plodů. Jednoletá jednodomá mohutná úponkatá a jemně chlupatá liána s výhonky dlouhými až 10 m a charakteristickým zápachem. Listy jsou velké, dlouze řapíkaté, okrouhlé, široce trojúhelníkovité až srdčité, s jemně chlupatým sametovým povrchem. Několik centimetrů velké, rozevřené bílé květy jsou různopohlavné, samčí na dlouhých, samičí na krátkých řapících, otevírající se na noc. Plody s voskovitým, většinou hladkým povrchem, ale i s nepravidelnými lištami nebo slabě nebo hustě bradavčítým, mají různý tvar a barvu, většinou váží několik kilogramů. Dužnina je nasládlá, bělavá, semena velká, hnědá, charakteristického tvaru, zúžená na bocích, u některých typů vybíhající až v jakýsi náznak křídla (Vobořil, 2012).

3.2 Charakteristika padlí tykvovitých

Padlí tykvovitých je jedna z nejčastěji se vyskytujících chorob tykvovitých rostlin. Patří do čeledi Erysiphaceae v řádu Erysiphales a zahrnuje více než 80 rodů a 900 druhů (Vielba-Fernandéz *et al.*, 2020). Jedná se o téměř celosvětově rozšířeného obligátního biotrofního ektoparazita, rostoucí na povrchu rostlin především na listech a stoncích a způsobujícího předčasné usychání listů, snížení růstu rostlin a snížení kvality a tvorby plodů (Cui *et al.*, 2022). Pro dokončení životního cyklu potřebuje pro získání živin živé buňky, proto nezpůsobuje přímo smrt napadené rostliny (Vielba-Fernandéz *et al.*, 2020). Byly popsány tři druhy padlí vyskytující se na tykvovitých rostlinách, a to *Leveillula taurica*, *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii*, přičemž nejběžnějšími druhy jsou *P. xanthii* a *G. orontii*, zatímco *L. taurica* má menší ekonomický význam (Cui *et al.*, 2022).

Systematické zařazení padlí tykvovitých (Lebeda *et al.*, 2017)

Říše: FUNGI

Oddělení: ASCOMYCOTA

Pododdělení: PEZIZOMYCOTINA (syn. ASCOMYCOTINA)

Třída: LEOTIOMYCETES

Řád: ERYSIPHALES

Čeleď: ERYSIPHACEAE

Rod: *Golovinomyces*

Podosphaera

Leveillula

3.2.1 Symptomy napadení

Na hostitelských rostlinách lze snadno rozpoznat, zda byly napadeny padlím. Na svrchní a později i spodní straně listů, čepele a stonků jsou přítomny viditelné bílé práškovité skvrny (viz Obrázek 2), které se mohou vyskytovat občas i na květech a plodech (Vielba-Fernandéz *et al.*, 2020). S přibývajícím množstvím práškové hmoty na povrchu rostliny dochází ke snížení fotosyntetické kapacity rostliny, což způsobuje žloutnutí listu a následně může vést k odumření listu i celé rostliny (Pérez-García *et al.*, 2009). I když k napadení plodů tykvovitých rostlin nedochází tak často, může u nich dojít k deformaci nebo předčasnému či neúplnému dozrání (Pérez-García *et al.*, 2009).



Obrázek 2 - List napadený padlím Px (Peskett, 2018)

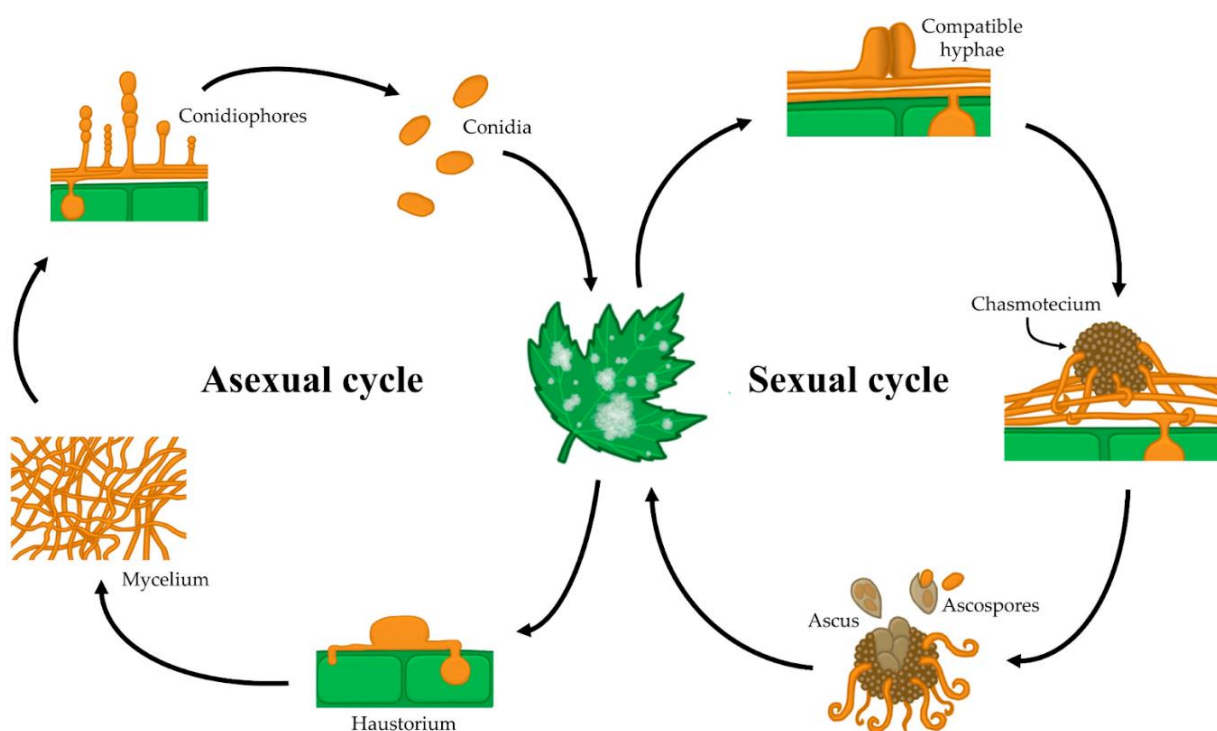
3.2.2 Popis patogena *Px*

Podosphaera xanthii má amfigenní mycelium, hyfy, které ho tvoří jsou tenkostěnné, hladké nebo téměř hladké, (3–)5–8(–10) μm široké, hyfální apresoria jsou jednotlivá, nezřetelná až bradavkovitá. Z horní části mateřské buňky, ve středu nebo blíže k jednomu konci vyrůstají vzpřímené konidiofory. Má cylindrické bazální buňky o velikosti 30–100 \times 10–13 μm , které mohou být u báze mírně zúžené, následované 1–3(–4) kratšími buňkami. Elipsovité vejčité konidie produkované v dlouhých řetězcích mají velikost 25–45 \times 14–22 μm . Chasmothecia, která jsou roztroušená až shlukovitá mají v průměru (70–)80–110(–115) μm . Peridiální buňky zřetelné s průměrnou velikostí (10–)15–55 μm , nepravidelně mnohotvaré. Na spodní polovině chasmothecia rostou apendixy v počtu několika až více početné, jsou jednoduché nebo nepravidelně větvené, často propletené mezi sebou nebo s myceliem, o proměnlivé délce (0,25–4 násobek průměru chasmothecia), občas mohou být uniformně krátké, příležitostně rudimentární, jsou široké 4–12 μm , sklovité, později se zbarvují do hněda a směrem k vrcholu světlejší (krátké hnědé apendixy často promíchány s delšími světlejšími), mají tenkou stěnu a jsou přehrádkované, hladké až drsné. Stopkatá nebo velmi krátce přisedlá vřecka o velikosti 60–80 \times 50–65 μm , jsou široce elipsovité vejčité, stopkatá nebo velmi krátce přisedlá, jejich stěna je až 3 μm silná, terminální okulus o rozměrech (10–)15–25 μm obsahuje (6–)8 většinou nezralých spor. Široce elipsovité vejčité askospory, velké 15–23 \times 12–17 μm , dozrávají později, v úplné dospělosti mohou být příležitostně větší a bezbarvé (Braun a Cook, 2012; Petřeková, 2018).

3.2.3 Životní cyklus

Životní cyklus většiny druhů padlí se skládá z asexuálního i sexuálního stádia reprodukce (viz Obrázek 3). V asexuálním stádiu, které probíhá během vegetačního období dochází k tvorbě velkého množství konidií (Glawe a Grove, 2023). Po jejich vyklíčení se vytvoří krátký zárodek, po jehož prodloužení dojde k vytvoření infekční hyfální struktury zvané apresorium (Siskos *et al.*, 2022). Po přímé penetraci patogenu přes buněčnou stěnu se formuje haustorium, které využívá k získávání živin při rozrůstání svého mycelia na povrchu listu (Sapak *et al.*, 2023). Po infikování hostitele dochází k zahájení tvorby konidií na konidioforech (Pérez-García *et al.*, 2009). K sexuálnímu stádiu dochází v pozdním vegetačním období (Glawe a Grove, 2023). Po spojení dvou hyf opačného párovacího typu vzniká chasmothecium, obsahující jeden askus (vřecko) s osmi askosporami (Jarvis *et al.*, 2002 IN Pérez-García, 2009).

Chasmothecia jsou považovány za přezimující a zdroje inokula určených k šíření. Ačkoli propuknutí onemocnění způsobeného askosporami nebylo zcela objasněno, předpokládá se, že se podobá onemocnění způsobenému konidii. Pro některé druhy, jako je padlí révové *Erysiphe necator*, mají chasmothecia velký epidemiologický význam. U jiných druhů, jako je padlí tykvovité *Podosphaera xanthii*, jsou chasmothecia v terénu pozorovány jen zřídka nebo nebyly nikdy pozorovány, a proto nebyla stanovena epidemiologická relevance sexuálního životního cyklu tohoto patogena. (Vielba-Fernandéz *et al.*, 2020).



Obrázek 3 - Životní cyklus padlí tykvovitých (Vielba-Fernandéz *et al.*, 2020)

3.2.4 Hostitelský okruh

Okruh hostitelů padlí tykvovitých je mimořádně rozsáhlý celosvětově. *Px* je polyfágní druh padlí, jež napadá více druhů rostlin z různých čeledí, a to převážně druhy dvou čeledí Asteraceae a Cucurbitaceae, u nichž je velmi vysoká incidence a závažnost nemoci, ale také Lamiaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae a Verbenaceae (Lebeda *et al.*, 2024)

V České republice byl druh *Podosphaera xanthii* pozorován na okurkách (*Cucumis sativus*), melounech (*Cucumis melo*), dýních, tykvích a lagenáriích (*Cucurbita spp.*) a na melounech (*Citrullus lanatus*) (Lebeda *et al.*, 2018a). Vyskytuje se také na *Calendula officinalis* (měsíček lékařský) (Petřeková, 2018).

3.2.5 Druhové spektrum padlí tykvovitých v ČR

V letech 2001-2012 bylo na vzorcích listů odebraných z osmi druhů tykvovitých plodin (*Cucumis sativus*, *Cucumis melo*, *Citrullus lanatus*, *Cucurbita pepo*, *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita ficifolia* a *Lagenaria siceraria*) v České republice generováno 619 izolátů padlí tykvovitých (417 *Go* a 202 *Px*) (Tabulka 1) (Lebeda *et al.* 2021).

Tabulka 1 - Izoláty padlí tykvovitých sbírané v ČR v letech 2001-2012 (Lebeda *et al.* 2021)

Host species	Host abbreviation	No. of isolates	
		G. orontii	P. xanthii
<i>Cucumis sativus</i>	CS	21	20
<i>Cucumis melo</i>	Cme	0	8
<i>Citrullus lanatus</i>	CL	0	1
<i>Cucurbita pepo</i>	CP	282	106
<i>Cucurbita maxima</i>	CM	114	52
<i>Cucurbita moschata</i>	Cmo	0	11
<i>Cucurbita ficifolia</i>	Cf	0	2
<i>Lagenaria siceraria</i>	Lag	0	2
Total		417	202

V každém tříletém intervalu této studie (2001-2003, 2004-2006, 2007-2009, 2010-2012) byl vypočítán podíl rostlin infikovaných oběma patogeny (*Go* i *Px*) společně nebo samostatně *Go* nebo *Px* (Tabulka 2) (Lebeda *et al.* 2021).

Tabulka 2 - Počet rostlin infikovaných výhradně patogeny *Go* nebo *Px* či oběma společně ve tříletých intervalech (Lebeda *et al.* 2021)

	2001-2003	2004-2006	2007-2009	2010-2012	2001-2012
No. (percentage of total) of <i>G. orontii</i> samples	282 (81.8)	254 (73.8)	206 (56.4)	94 (39.2)	836 (64.6)
No. (percentage of total) of <i>P. xanthii</i> samples	17 (4.9)	25 (7.3)	34 (9.3)	59 (24.6)	135 (10.4)
No. (percentage of total) of <i>G. orontii</i> + <i>P. xanthii</i> samples	46 (13.3)	65 (18.9)	125 (34.3)	87 (36.2)	323 (25.0)
Total number of samples	345	344	365	240	1,294
Hill number of order $q = 1$	1.79	2.07	2.49	2.94	2.37
Evenness	0.395	0.535	0.745	0.970	0.685

3.2.6 Geografické rozšíření

Obecně se *Px* vyskytuje častěji v teplejších oblastech a na chráněných plodinách, zatímco *Go* je běžnější v mírných oblastech a chladnějších regionech. Ideální teplota pro vyklíčení konidií u *Go* je 15-25 °C a *Px* 25-30 °C. (Zlochová 1990 IN Krístková *et al.*, 2009). *Px* bylo často uváděno jako původce padlí tykvovitých v 60. letech minulého století v Africe, Severní a Jižní Americe, Asii, Evropě, Austrálii a na Novém Zélandu.

Studie v 70. a 80. letech minulého století odhalily, že *Px* se na území bývalého Československa, konkrétně k jihovýchodu a nejteplejším částem Slovenska rozšířilo

z Maďarska (Křístková *et al.*, 2009). Nicméně během let 1995-1998 se *Px* rozšířilo do severních oblastí České republiky (Křístková *et al.*, 2002). Převažujícím druhem v České republice je však *Go* (Křístková *et al.*, 2009). V posledním desetiletí se *Px* vyskytuje po celém světě častěji a převládá v mnoha částech světa, včetně Evropy (Lebeda a Urban, 2004).

3.3 Patogenní variabilita

Mnoho studií ze světa i z České republiky dokazuje velkým množstvím determinovaných patotypů a ras, že padlí tykvovitých je vysoce variabilní ve své patogenitě a virulenci (Lebeda *et al.*, 2011). Patogenní variabilita původců padlí je vyjadřována jak na úrovni patotypů, tak na úrovni ras (Bardin *et al.*, 1997, 1999). Patotypy charakterizují patogenní variabilitu na úrovni širokého hostitelského okruhu daného patogena (Lebeda *et al.*, 2017), na rozdíl od ras, jež vyjadřují variabilitu reakce patogenů na souboru daných genotypů jednoho hostitelského druhu s různými faktory resistance (Lebeda *et al.*, 2008).

3.3.1 Patotypy

3.3.1.1 Původní systém k determinaci patotypů

Pro determinaci patotypů se ve světě nejčastěji využívá soubor šesti genotypů čeledi Cucurbitaceae. Základ souboru reprezentuje pět genotypů navržených Bertrandem (1991) a tvoří ho tři rody z čeledi tykvovitých (*Cucumis*, *Cucurbita* a *Citrullus*). V roce 1999 byl doplněn o další genotyp druhu *Cucurbita maxima* (tykev velkoplodá) odrůda 'Goliáš' autory Křístkovou a Lebedou. Odlišný diferenciacní soubor čeledi Cucurbitaceae byl použit ve Španělsku, kde každý diferenciacní druh byl zastupován dvěma genotypy. Tento soubor se se souborem celosvětovým shodoval pouze použitím genotypu 'Sugar Baby' u druhu *Citrullus lanatus* (vodní meloun) (del Pino *et al.*, 2002). Patotyp definuje kombinace písmen A–D, která označují susceptibilní (náchylnou) reakci hostitelského genotypu (Bertrand, 1991). Tyto soubory jsou zobrazeny v tabulce 3 (Lebeda *et al.*, 2011).

Tabulka 3 - Diferenciační soubory používané pro popis patotypů padlí tykvovitých (převzato a upraveno z Lebeda *et al.* 2011)

	Diferenciační druhy	Genotypy	Kódy ^a	Zdroje
Nejpoužívanější diferenciační soubor ^b				
	<i>Cucumis sativus</i> (okurka setá)	Marketer 430	A	Bertrand (1991)
	<i>Cucumis melo</i> (meloun cukrový)	Védrantais	B1	
	<i>Cucumis melo</i> (meloun cukrový)	PMR 45	B2	
	<i>Cucurbita pepo</i> (tykev obecná)	Diamant F1	C	
	<i>Citrullus lanatus</i> (vodní meloun)	Sugar Baby	D	
	<i>Cucurbita maxima</i> (tykev velkoplodá)	Goliáš	Cm	Křístková a Lebeda (1999)
Diferenciační soubor používaný ve Španělsku ^c				
	<i>Cucumis sativus</i> (okurka setá)	Bellpuig	A	del Pino <i>et al.</i> (2002)
		Negrito		
	<i>Cucumis melo</i> (meloun cukrový)	Piel de Sapo	B	
		Rochet		
	<i>Cucurbita pepo</i> (tykev obecná)	Negro Belleza	C	
		Virginia Blanco		
<i>Citrullus lanatus</i> (vodní meloun)	Klondike	D		
	Sugar Baby			

Legenda:

^a kód pro každý druh

^b soubor navržený Bertrandem (1991), doplněný Křístkovou a Lebedou (1999)

^c soubor osmi genotypů ze čtyř významných druhů čeledi Cucurbitaceae

3.3.1.2 Nový systém k determinaci patotypů

K determinaci a denominaci patotypů ve světě neexistuje všeobecně akceptovaný jednotný systém. Standardní systém šesti genotypů čeledi Cucurbitaceae (tykvovité), jež se využívá pro determinaci a denominaci patotypů padlí tykvovitých byl navržen Francouzi (Bertrand, 1991). V roce 2008 byl Lebedou *et al.* navržen nový systém se stejným základem, kde byl pouze vyměněn genotyp *Cucurbita pepo* „Diamant F1“ za nový genotyp „Kveta“ (Tabulka 4) (Lebeda *et al.*, 2014).

Tabulka 4 - Nový systém k determinaci patotypů padlí tykvovitých (Lebeda *et al.*, 2008)

Table 1. Proposed CPM pathotype differentials by number. (according to Lebeda *et al.*, 2008).

No.	Taxon	Differential	Original source	Country of origin
1	<i>Cucumis sativus</i>	Marketer 430	–	Czech Republic
2	<i>Cucumis melo</i>	Védrantais	–	France
3	<i>Cucumis melo</i>	PMR 45	USDA	USA
4	<i>Cucurbita pepo</i>	Kveta ^a	–	Czech Republic
5	<i>Cucurbita maxima</i>	Goliáš	–	Czech Republic
6	<i>Citrullus lanatus</i>	Sugar Baby	–	the Netherlands

^a'Kveta' was proposed by Lebeda *et al.* (2008) to replace 'Diamant FI' in the standard set of CPM pathotype differentials.

Na konferenci Cucurbitaceae 2008 ve francouzském Avignonu byl navržen sextetový kód, který je unikátní pro každý patotyp. Tato metoda byla navržena Lebedou *et al.* (2008) a její princip spočívá v tom, že reakce daného izolátu padlí tykvovitých udává binární výsledek hodnocení, kdy se při pozitivní reakci přiřazuje příslušná číselná hodnota (1, 2, 4, 8, 16, nebo 32) a při negativní reakci hodnota 0, jež je následně převeden sečtením číselných hodnot do unikátního sextetového kódu (Lebeda *et al.* 2008).

3.3.1.3 Patotypy popsané ve světě

V tabulce 5 jsou zobrazeny počty zjištěných patotypů ve světě. Z Francie a Španělska byly publikovány informace o druhu *Px* a druh *Go* byl zjištěn pouze ve Francii (Lebeda *et al.*, 2011). Nově byla publikována informace o druhu *Px*, který se vyskytl v Číně (Xu *et al.*, 2020).

Tabulka 5 - Počet patotypů identifikovaných ve světě (převzato a upraveno z Lebeda *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2020)

Stát	Počet zjištěných patotypů		Zdroje
	<i>Go</i>	<i>Px</i>	
Francie	4	3	Bertrand (1991); Bertrand <i>et al.</i> (1992)
Španělsko	-	4	del Pino <i>et al.</i> (2002)
Čína	-	1	Xu <i>et al.</i> (2020)

3.3.1.4 Patotypy popsané v České republice

V letech 2013-2016 probíhal výzkum patogenní variability u 114 izolátů padlí pocházejících z ČR pomocí nově navrhovaných diferenciačních souborů pro determinaci a denominaci patotypů a ras Lebedou *et al.* (2008). Tímto se zabývala ve své diplomové práci

studentka Eva Rušáková, která tuto svoji diplomovou práci úspěšně obhájila v roce 2018. Ve sledovaném období bylo popsáno 5 patotypů na souboru 35 izolátů *Go* a 7 patotypů v případě souboru 79 izolátů *Px*. U obou patogenů bylo celkově popsáno 8 různých patotypů, přičemž se nejvíce vyskytoval patotyp 59 u *Px* (celkem 39x) a 63 u *Go* (16x). Čtyři patotypy: 27, 31, 59 a 63 byly popsány u obou patogenů. Přehled patotypů u patogenů popsáných v těchto letech je znázorněn v tabulce 6 (Rušáková, 2018).

Tabulka 6 - Přehled patotypů popsáných na izolátech *Golovinomyces orontii* (*Go*) a *Podosphaera xanthii* (*Px*) v letech 2013-2016 na území ČR (převzato: Rušáková, 2018)

	2013		2014		2015		2016		celkem	
	<i>Go</i>	<i>Px</i>	<i>Go</i>	<i>Px</i>	<i>Go</i>	<i>Px</i>	<i>Go</i>	<i>Px</i>	<i>Go</i>	<i>Px</i>
15	-	-	-	-	1	-	-	-	1	0
25	-	-	-	4	-	-	-	-	0	4
27	-	2	-	12	1	-	-	1	1	15
31	5	2	1	1	3	-	-	3	9	6
43	-	-	-	-	-	1	-	-	0	1
57	-	-	-	2	-	1	-	-	0	3
59	3	1	1	11	4	9	-	18	8	39
63	4	5	2	2	10	-	-	4	16	11
celkem vzorků	12	10	4	32	19	11	0	26	35	79

3.3.2 Rasy

3.3.2.1 Původní systém pro determinaci a denominaci ras

Rasy padlí tykvovitých se vyznačují interakcí různých izolátů patogenu s různými kultivary daného hostitelského druhu (Bardin *et al.*, 1999; Bertrand 1991; Lebeda, Sedláková 2010; Pitrat *et al.*, 1998 IN Lebeda *et al.*, 2011). Doposud byly rasy padlí tykvovitých rozlišovány pouze na druhu *Cucumis melo*. Byly vytvořeny sady diferenciačních souborů CPM (cucurbit powdery mildew) s lišícím se počtem genotypů pro identifikaci ras, které jsou znázorněny v tabulce 7 v chronologickém pořadí. Ten nejstarší soubor pro identifikaci ras padlí tykvovitých pochází z roku 1938, kdy byla objevena druhé rasy *Px*. Nejčastěji používané sady zahrnují 11 genotypů druhu *Cucumis melo* (Lebeda *et al.*, 2011).

Tabulka 7 – Diferenční soubory pro identifikaci ras *Podosphaera xanthii* a *Golovinomyces orontii* padlí tykvoovitých na druhu *Cucumis melo* seřazených v chronologickém pořadí (Lebeda *et al.*, 2011)

<i>Px</i> and <i>Gc</i> races	Number of genotypes	<i>C. melo</i> genotype(s)	References
<i>Px</i> races 1 and 2	1	PMR 45	Jagger <i>et al.</i> (1938)
<i>Px</i> races 1, 2, and 3	5	Hale's Best Jumbo, PMR 45, PMR 5, PMR 6, Edisto 47	Thomas (1978)
<i>Px</i> races 1, 2, and 3	10	Delicious 51, Top Mark, Védrantais, PMR 45, PMR 450, PMR 6, Perlita, PI 124111, PI 124112, Seminole	McCreight <i>et al.</i> (1987)
<i>Px</i> races 1 and 2	4	Piel de Sapo, PMR-45, PMR-5, PI 124112	Vakalounakis and Klironomou (1995)
<i>Px</i> races 0, 1, 2U.S., 2F, 3, 4, 5	11	Iran H, Védrantais, Top Mark, Ananas, PMR 45, PMR 5, WMR 29, Edisto 47, PI 414723, MR-1, PI 124112	Bardin <i>et al.</i> (1999); Jahn <i>et al.</i> (2002); Lebeda and Sedláková (2010); Pitrat <i>et al.</i> (1998)
Survey of <i>Gc</i> and <i>Px</i> races in Czech Republic	11	Iran H, Védrantais, Solartur, PMR 45, PMR 5, WMR 29, Edisto 47, PI 414723, MR-1, PI 124112, Nantais Oblong	Křístková and Lebeda (1999); Lebeda and Sedláková (2004, 2006); Lebeda <i>et al.</i> (2004, 2007)
<i>Px</i> races 2F, 2Z	11	Doublon, Rochet, PMR 45, PMR 5, Edisto 47, WMR 29, PI 124112, PI 414723, Negro, BG 6011, BG 6016	Alvarez <i>et al.</i> (2000)
<i>Px</i> races 1, 2F, 2U.S., 3, 4, 5, N1, N2, N3, N2	10	Fuyu 3, PMR 45, PMR 5, WMR 29, Edisto 47, PI 414723, Hainan 21, Quincy, Earl's Knight Natsu 2, Earl's Miyabi Natsu 2	Hosoya <i>et al.</i> (2000)
<i>Px</i> races 1 and 2	8	PMR 45, PMR 5, WMR 29, Edisto 47, PI 313970, PI 124111, PI 124112, PI 414723	McCreight (2003)
<i>Px</i> races 1, 2 and 5	8	Fuyu 3, PMR 45, PMR 5, WMR 29, Edisto 47, MR-1, PI 124112, PI 414723	Kuzuya <i>et al.</i> (2006)
<i>Px</i> races 1 and 2	11	Iran H, Védrantais, Top Mark, PMR 45, PMR 5, WMR 29, Edisto 47, PI 414723, MR-1, PI 124111, PI 124112	McCreight (2006)

K popisu ras padlí tykvoovitých se dosud nevyužívá ve světě jednotný systém, který by byl smysluplný, objektivní a metodický. Obvykle se rasy popisují pomocí jedné ze tří metod zobrazených v tabulce 8: popis pomocí čísel (např. 1, 2, 3), popis pomocí písmen (např. A, B, C) nebo kombinací čísel i písmen (např. 1J, 2F, 2US) (Lebeda *et al.*, 2008, 2011).

Tabulka 8 - Tři metody soužící pro denominaci ras padlí tykvoovitých *Px* a *Go* (Lebeda *et al.*, 2011)

Method	Example	References
Numbers	1, 2, 3	Jagger <i>et al.</i> (1938); Thomas (1978, 1988)
Letters	A, B, C	Křístková and Lebeda (1999); Lebeda and Sedláková (2004, 2006); Lebeda <i>et al.</i> (2007)
Numbers and letters	1J, 2F, 2US	Alvarez <i>et al.</i> (2000); Bertrand (2002); Cohen <i>et al.</i> (2004); Floris and Alvarez (1995); Hosoya <i>et al.</i> (2000); Křístková and Lebeda (1999); Lebeda and Sedláková (2004, 2006, 2010); Lebeda <i>et al.</i> (2004, 2007, unpublished); McCreight <i>et al.</i> (1987); Pitrat <i>et al.</i> (1998)

3.3.2.2 Nový systém pro determinaci a denominaci ras

Na XI. Konferenci Eucarpia o genetice a šlechtění tykvovitých v roce 2016 v polské Varšavě došlo mezi autory a zástupci devíti mezinárodních společností specializujících se na šlechtění melounů k dohodě o doplnění navrženého systému pro jednotnou charakterizaci stanovení ras (Lebeda *et al.*, 2016a,b, 2018a,b, 2021). Navržený systém byl založen na trojitém septetu 21 různých ras *Cucumis melo*, jehož základ tvoří souboru jedenácti genotypů navržený Francouzi (Bertrand, 1991; Bertrand *et al.*, 1992), jež je nejvíce využíván ve světě, doplněný o deset dalších diferenciacních genotypů popisujících nové rasy *Px* i *Go* (Hosoya *et al.*, 2000; Bertrand, 2002; Lebeda a Sedláková, 2006; Longzhou *et al.*, 2008; McCreight *et al.*, 2012; Sedláková *et al.*, 2014; Lebeda *et al.*, 2007a, 2008, 2011 IN Lebeda *et al.*, 2016). v průběhu tohoto procesu byl vytvořen nový septet s přidáním dalšího diferenciacního genotypu *C. melo* SVI105, označeného jako 4.1. Soubor těchto genotypů, které jsou rozdělené do čtyř skupin a mají jasně dané pořadí je zobrazen v tabulce 9 (Lebeda *et al.*, 2021).

Tabulka 9 - Nově navržený systém pro determinaci ras *Px* a *Go* (Lebeda *et al.*, 2021)

GRIN no.	Septet no.	Differential	Other designation(s)	Source ^y	Country
ICPMI 1 01	1.1	Iran H	-	INRA	Iran
ICPMI 1 02	1.2	Védrantais	M 319 ^y	INRA	France
ICPMI 1 03	1.3	PI 179901	Teti	USDA	India
ICPMI 1 04	1.4	PI 234607	Sweet Melon	USDA	South Africa
ICPMI 1 05	1.5	AR HBJ	AR Hale's Best Jumbo	USDA	USA
ICPMI 1 06	1.6	PMR 45	M 321 ^x	USDA	USA
ICPMI 1 07	1.7	PMR 6	Ames 26810	USDA	USA
ICPMI 1 08	2.1	WMR 29	M 322 ^x	USDA	USA
ICPMI 1 09	2.2	Edisto 47	NSL 34600	Clemson Univ.	USA
ICPMI 1 10	2.3	PI 414723	LJ 90234	USDA	India
ICPMI 1 11	2.4	PMR 5	Ames 26809	USDA	USA
ICPMI 1 12	2.5	PI 124112	Koelz 2564	USDA	India
ICPMI 1 13	2.6	MR-1	Ames 8578	USDA	USA
ICPMI 1 14	2.7	PI 124111	Koelz 2563	USDA	India
ICPMI 1 15	3.1	PI 313970	PI 315410; VIR 5682	USDA	India
ICPMI 1 16	3.2	Noy Yizre'el	-	Bar Ilan Univ.	Israel
ICPMI 1 17	3.3	PI 236355	-	USDA	England
ICPMI 1 18	3.4	Negro	-	Univ. Zaragoza	Spain
ICPMI 1 19	3.5	Amarillo	-	Univ. Zaragoza	Spain
ICPMI 1 20	3.6	Nantais Oblong	M 320 ^x	INRA	France
ICPMI 1 21	3.7	Ames 31282	-	USDA	China
ICPMI 1 22	4.1	SVI105	-	INRA	France

3.3.2.3 Rasy popsané ve světě

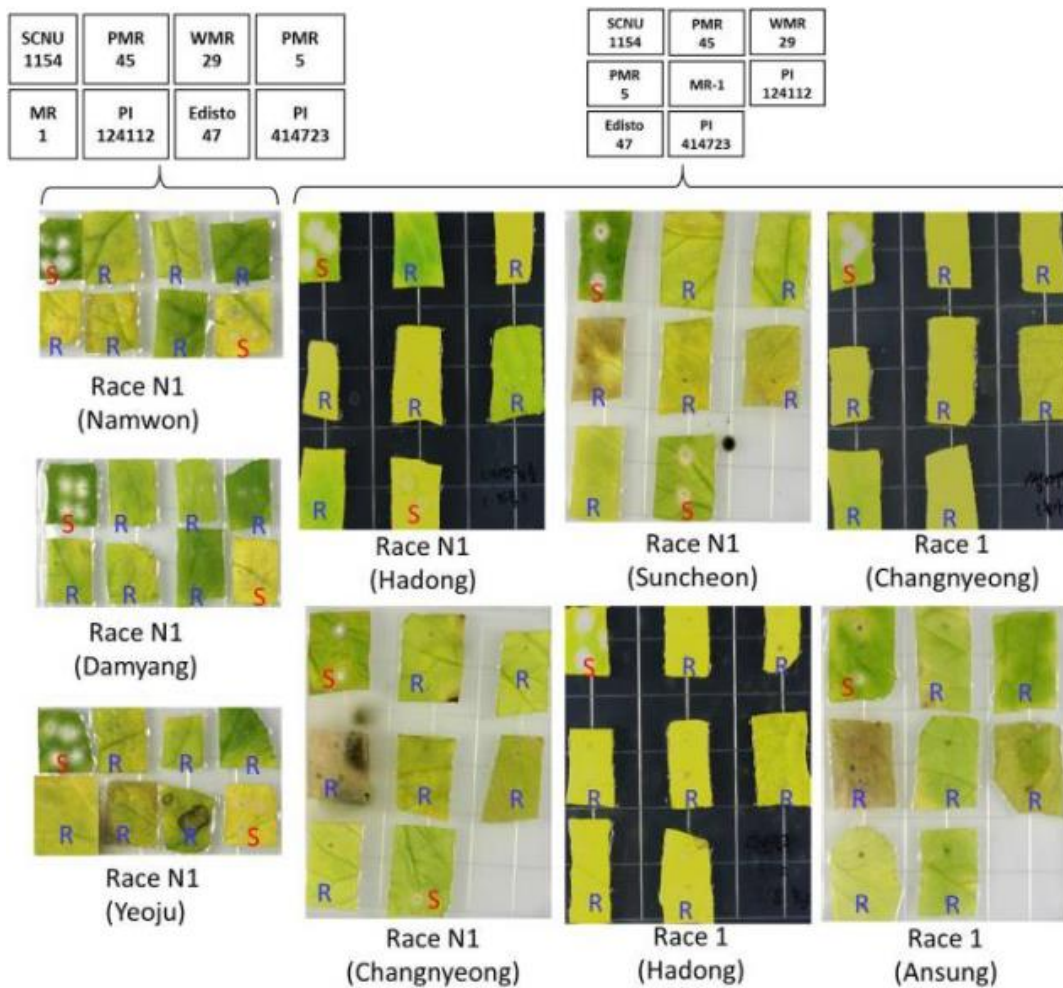
McCreight *et al.* (2012) publikoval ucelený přehled ras padlí tykvovitých popsáných ve světě. Bylo popsáno 46 ras druhu *Px* na souboru 37 genotypů *C. melo*. Tento souhrn obsahoval i 15 ras popsáných v ČR z roku 2010.

V letech 2014 a 2015 byly v rámci studie korejských autorů Honga *et al.* publikované v roce 2018 shromážděny izoláty padlí z hostitelské rostliny *Cucumis melo* (melounu cukrového) z farem v různých oblastech Jižní Koreje (v Hadongu, Buyeu, Yeongamu, Gokseongu a Janghuengu) a známé rasy N1 z oblastí Namwon, Damyang, Yeosu, Hadong, Changnyeong a Suncheon a rasa 1 z oblastí Changnyeong, Hadong a Ansong pro porovnání, zda se jedná o stejné rasy. U těchto izolátů však nebylo provedena druhová determinace, zda se jedná o druh *P. xanthii* nebo *G. orontii*.

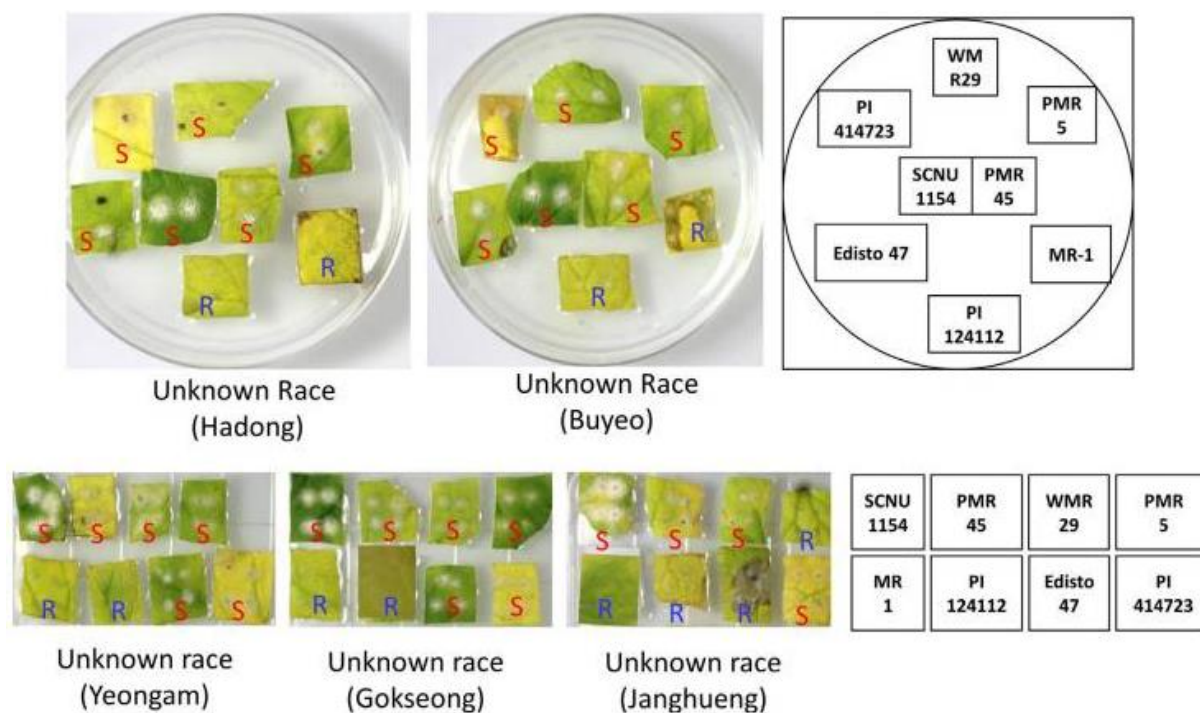
Testovalo se pomocí metody listových segmentů a výsledky byly posuzovány po dvou týdnech od inokulace. Na obrázku 4 můžeme pozorovat, že u Rasy N1 (ze všech šesti regionů) byly zaznamenány příznaky napadení pouze na těchto dvou genotypech *C. melo*: SCNU1154 a PI414723, zatímco zbývajících šest genotypů bylo odolných vůči rase. Rasa 1 (ze všech tří regionů) byla schopna sporulovat pouze na segmentech genotypu SCNU1154, zatímco proti této rase bylo odolných 7 zbývajících genotypů testovaného souboru *C. melo*.

Stejným způsobem byly testovány nově posbírané izoláty. Na obrázku 4 je patrné, že nově získané izoláty z oblastí Hadong, Buyeo, Yeongam a Gokseong byly virulentní pouze vůči genotypům MR-1 a PI124112. Při porovnání s výsledky známých ras bylo patrné, že žádný z testovaných izolátů nevykazuje stejný vzor patogenity. Byl navržen nový název rasy KN1.

Na obrázku 5 můžeme vidět, že izolát z oblasti Jang-Hueng vykazoval náchylnou reakci pouze u těchto čtyř genotypů *C. melo*: SCNU1154, PMR 45, WMR 29 a PI414723. Patogenita tohoto izolátu se neshoduje se žádnou ze známých ras a odlišuje se také odolností kultivarů PMR 5 a Edisto 47, jež byly náchylné vůči izolátům z oblastí Hadong, Buyeo, Yeongam a Gokseong. Tento izolát představuje novou unikátní rasu s názvem KN2 (Hong *et al.*, 2018).



Obrázek 4 - Výsledek testování známých ras *Px na 8* charakterizovaných genotypech druhu *Cucumis melo* (Hong et al., 2018)



Obrázek 5 - Výsledek testování neznámých ras *Px* na 8 charakterizovaných genotypech druhu *Cucumis melo* (Hong *et al.*, 2018)

3.3.2.4 Rasy popsané v České republice

V letech 2001-2012 byla testována patogenní variabilita (determinace ras) padlí *Go* a *Px* na jedenácti diferenačních genotypech druhu *Cucumis melo* (Tabulka 10). Tato tabulka znázorňuje frekvenci náchylné reakce jednotlivých genotypů diferenačního souboru *C. melo* pro detekci ras k padlí *Go* i *Px*. Vysoká četnost náchylné reakce (>80%) vykazovaly 4 genotypy *C. melo* (Iran H, Védraçais, Nantais Oblong a Solartur), náchylnost mezi 54% a 73% představovaly tři (PMR45, Edisto 47 a PI 414723), méně náchylné reakce mezi 32% a 51% představují dva genotypy (WMR 29 a PMR 5) a nejvíce resistantní genotypy s četností náchylné reakce mezi 17% a 29% vůči těmto dvěma testovaným izolátům padlí byly PI 124112 a MR-1 (Graf 1) (Lebeda *et al.*, 2021).

Data z této studie byla zpracována také z pohledu variability výskytu virulentních fenotypů (v-fenotypy – autoři této studie používají tento termín, ale jedná se o rasy padlí) CPM v ČR během studie se významně lišila jak u obou druhů patogenů, tak mezi nimi. Celkem bylo zjištěno 104 různých v-fenotypů (ras) v populacích *Go* a 69 v populacích *Px* (Tabulka 11). Mezi těmito v-fenotypy bylo 59 specifických pouze pro populace *Go*, 25 pro populace *Px* a 42 byly společné pro oba druhy CPM. (Lebeda *et al.*, 2021).

Tabulka 10 - 11 diferenciačních genotypů druhu *Cucumis melo* použitých pro testování virulence padlí *Go* a *Px* (Lebeda *et al.*, 2021)

Differential genotype	Triple septet set group no. ^a	Other designation(s) ^b	Origin	Country
Iran H ^c	1.1	–	INRA	Iran
Védrantais ^c	1.2	M 319	INRA	France
PMR 45 ^c	1.6	M 321	USDA	USA
WMR 29 ^c	2.1	M 322	USDA	USA
Edisto 47 ^c	2.2	NSL 34600	Clemson University	USA
PI 414723 ^c	2.3	LJ 90234	USDA	India
PMR 5 ^c	2.4	Ames 26809	USDA	USA
PI 124112 ^c	2.5	Koelz 2564	USDA	India
MR-1 ^c	2.6	Ames 8578	USDA	USA
Nantais Oblong ^d	3.6.	M 320	INRA	France
Solartur ^e	Control (susceptible)	–	–	Czech Republic



Graf 1 - Frekvence virulence padlí *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* na jednotlivých genotypch *Cucumis melo* v letech 2001-2012 (Lebeda *et al.*, 2021)

Tabulka 11 - Variabilita výskytu virulentních fenotypů (v-fenotypů) CPM v ČR v letech 2001-2012 (Lebeda *et al.*, 2021)

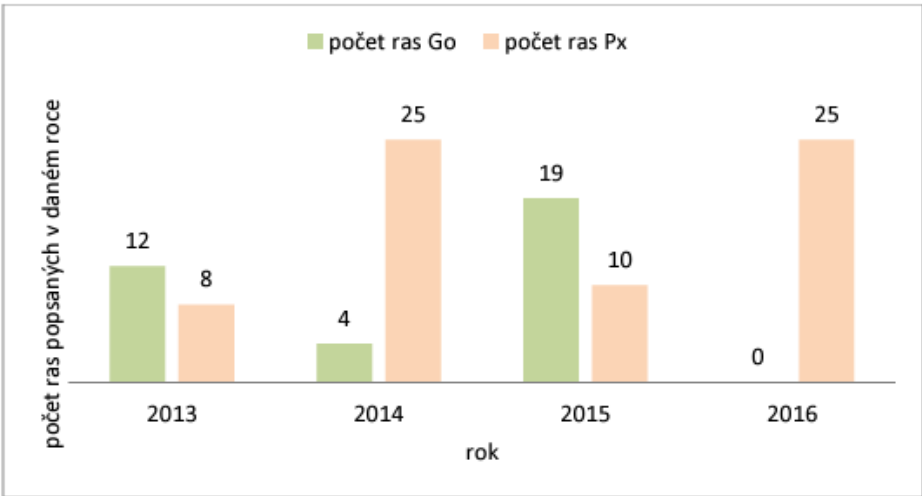
	Year																
	2001	2002	2003	2001-2003	2004	2005	2006	2004-2006	2007	2008	2009	2007-2009	2010	2011	2012	2010-2012	2001-2012
<i>G. orontii</i>																	
No. of isolates	27	45	45	117	53	57	41	151	42	28	35	105	7	14	23	44	417
No. of reaction patterns ^b	22	18	25	51 ^a	21	21	19	44 ^a	25	16	10	42 ^a	5	10	15	26 ^a	104 ^a
Relative richness ^c	0.81	0.40	0.56	0.44	0.40	0.37	0.46	0.29	0.60	0.57	0.29	0.40	0.71	0.71	0.65	0.59	0.25
<i>P. xanthii</i>																	
No. of isolates	7	7	22	36	9	14	15	38	18	19	20	57	26	25	20	71	202
No. of reaction patterns	4	6	15	21 ^a	9	8	10	22 ^a	17	16	14	38 ^a	18	19	15	33 ^a	69 ^a
Relative richness	0.57	0.86	0.68	0.58	1.0	0.57	0.67	0.58	0.94	0.84	0.70	0.67	0.69	0.76	0.75	0.46	0.34

^aSome reaction patterns (virulence phenotypes, v-phenotypes) have repeatedly occurred throughout the study. In the totals for 3-year periods and for the entire study, they are counted only once.

^bReaction pattern = v-phenotype.

^cRelative richness = ratio of the number of v-phenotypes to the number of isolates.

Výsledky determinace ras v české populaci padlí dýňovitých na souboru 21 genotypů *C. melo* podle Lebedy *et al.*, 2008 z období let 2013-2016, které byly zpracovány v diplomové práci Evy Rušákové (2018) potvrdily vysokou variabilitu české populace padlí tykvovitých, kdy bylo popsáno 95 odlišných ras u celkem 114 izolátů, 68 ras na 79 izolátech *Px* (Graf 2). Více než dvakrát se u jednoho druhu patogenu objevily pouze dvě rasy: 18.0.125, která byla popsána 3x a 23.0.124, která byla popsána celkem 5x. Na každém ze souboru 35 izolátů *Go* byla popsána jiná rasa, tudíž bylo popsáno 35 různých ras, přičemž se žádná z ras nevyskytla opakovaně. U tří ras byl pozorován výskyt obou patogenů zároveň. Byly to rasy 22.0.124, 23.100.125 a 127.127.127 (Tabulka 12) (Rušáková, 2018).



Graf 2 - Počet ras popsanych v letech 2013-2016 na izolátech *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* na území ČR (převzato: Rušáková, 2018)

Tabulka 12 - Rasy detekované u izolátů *Golovinomyces orontii* (Go) a *Podosphaera xanthii* (Px) pomocí nově navrhovaného systému (Lebeda *et al.*, 2008), opakovaně se vyskytující během let 2013-2016 v české populaci padlí dýňovitých (převzato: Rušáková, 2018)

kód izolátu	HR	Iran H	Védrañtais	PI 179901	PI 234607	ARHBJ	PMR 45	PMR 6	WMR 29	Edisto 47	PI 414723	PMR 5	PI 124112	MR-1	PI 124111	PI 313970	Noy Yizre'el	PI 236355	Negro	Amarillo	Nantais Oblong	Ames 31282	rasa	VF
Px_2014_Rk_1	CP	0	2	0	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4	8	16	32	64	18.0.125	8
Px_2014_Ny	CP	0	2	0	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4	8	16	32	64	18.0.125	8
Px_2016_Km_2	CM	0	2	0	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4	8	16	32	64	18.0.125	8
Px_2014_Ho_3	CP	1	2	4	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	16	32	64	23.0.124	9
Px_2014_Bv	CP	1	2	4	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	16	32	64	23.0.124	9
Px_2014_Bk	CP	1	2	4	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	16	32	64	23.0.124	9
Px_2014_Zn_2	CP	1	2	4	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	16	32	64	23.0.124	9
Px_2016_Jc	CM	1	2	4	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	16	32	64	23.0.124	9
Go_2015_Bo	CP	0	2	4	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	16	32	64	22.0.124	8
Px_2014_Ho_2	CP	0	2	4	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	16	32	64	22.0.124	8
Px_2014_Ol_1	CM	0	2	4	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	16	32	64	22.0.124	8
Go_2015_Ol_2	CP	1	2	4	0	16	0	0	0	0	4	0	0	32	64	1	0	4	8	16	32	64	23.100.125	13
Px_2016_Su	CS	1	2	4	0	16	0	0	0	0	4	0	0	32	64	1	0	4	8	16	32	64	23.100.125	13
Go_2013_Pr	CP	1	2	4	8	16	32	64	1	2	4	8	16	32	64	1	2	4	8	16	32	64	127.127.127	21
Px_2013_Ol_1	Cme	1	2	4	8	16	32	64	1	2	4	8	16	32	64	1	2	4	8	16	32	64	127.127.127	21
Px_2013_Nj_2	Cme	1	2	4	8	16	32	64	1	2	4	8	16	32	64	1	2	4	8	16	32	64	127.127.127	21

Hostitelská rostlina (HR): CM – *Cucurbita maxima*, CP – *Cucurbita pepo*, CS – *Cucumis sativus*, Cme – *Cucumis melo*
VF – virulentní faktor

3.4 Geny rezistence významných zástupců čeledi Cucurbitaceae vůči vybraným rasám padlí tykvovitých

První komplexní přehled genů rezistence poskytli Pierce a Wehner (1990). Seznamy genů pro všechny ekonomicky důležité druhy tykvovitých plodin jsou aktualizovány a publikovány v databázi The Cucurbit Genetics Cooperative (Wehner, 2005) s nejnovějším seznamem genů pro okurky (Tabulka 13), který vytvořili Weng a Wehner (2016).

Geny *pm-1*, *pm-2*, *pm-3* a *pm-h* ovládající odolnost vůči *Px* byly zahrnuty do seznamu genů pro okurky z roku 2005 (Wehner, 2005). v nejnovějším seznamu genů pro okurky (Weng a Wehner, 2016) byl zachován pouze gen *pm-h* a přidány geny *pm1.1* a *pm5.1* (Lebeda *et al.*, 2024).

Tabulka 13 - Geny okurek (*Cucumis sativus*) řídící resistenci vůči padlí Px a Go (Wehner, 2005; Weng a Wehner, 2016)

Gene ^a	Source	Race	Remark	Reference
<i>P. xanthii</i> <i>pm-1</i>	Natuhusinari or Natsufushinari	Not specified		Hujieda and Akiya (1962), Kooistra (1971), Shanmugasundaram <i>et al.</i> (1972)
<i>pm-2</i>	Natuhusinari or Natsufushinari	Not specified		Fujieda and Akiya (1962), Kooistra (1971), Shanmugasundaram <i>et al.</i> (1972)
<i>pm-3</i>	PI 200815, PI 200818	Not specified		Kooistra (1971), Shanmugasundaram <i>et al.</i> (1972)
<i>pm-h</i> (<i>s, pm</i>)	Gy 2 cp cp, Spartan Salad, Wis. 2757	Not specified	Resistance noted as no fungal symptoms appearing on seedling cotyledon, recessive to susceptibility (<i>Pm-h</i> from "SMR 18")	Fanourakis (1984), Shanmugasundaram <i>et al.</i> (1971b)
<i>pm5.1</i> (<i>CsMLO-1</i> , <i>CsMLO8,pm-h</i>)	isolated from leaves of cucumber grown in a greenhouse	Not specified	Major <i>mlo</i> -type QTL, <i>pm5.1</i> , that seems to co-localize with <i>pm-h</i>	Nie <i>et al.</i> (2015a; 2015b)
<i>pm-h</i> (<i>s, pm</i>)		Hypocotyl resistance	Quantitative; <i>pm-h</i> played a major role in whole plant PM resistance; located in chromosome 5; may be the same as <i>pm5.1</i> .	Shanmugasundaram <i>et al.</i> (1971a; 1971b); de Ruiter <i>et al.</i> (2008); He <i>et al.</i> (2013)
<i>PM species not specified</i> <i>Pm1.1</i>	North China type cucumber line Jin5-508	Not specified	Dominant major- QTL located in a 41.1 kb region of chromosome 1 harboring two tandemly arrayed cysteine rich receptor-like protein kinase genes	Xu <i>et al.</i> (2016b)

Legenda: Tabulka převzata z publikace Wehner 2005

Seznam genů melounu (*C. melo*) je pravidelně aktualizován v rámci činnosti Cucurbit Genetics Cooperative, jež poskytují veškerá dostupná data a zprávy o genech poskytujících odolnost vůči CPM (cucurbit powdery mildew), přičemž poslední verze byla zveřejněna autory Dogimont a Sari (2022) (Tabulka 14, 15). Odolnost je často specifická pro jednotlivé rasy a účinná proti příslušným rasám Px (Lebeda *et al.*, 2024).

Tabulka 14 - Geny resistance melounu (*Cucumis melo*) vůči padlí Px a Go (Dogimont a Sari, 2022)

<i>pin</i>	-	<i>pine-seed shape</i> in PI 161375.	III	(Perin et al., 2002a)
<i>Pm-2</i>	<i>Pm²</i> <i>Pm-C?</i>	<i>Powdery mildew resistance-2. Interacts with Pm-1; Resistance to race 2 of Podosphaera xanthii</i> in PMR 5 with <i>Pm-1</i> .		(Bohn and Whitaker, 1964)
<i>Pm-3</i>	<i>Pm³</i>	<i>Powdery mildew resistance-3. Resistance to race 1 of Podosphaera xanthii</i> in PI 124111.	(7)	(Harwood and Markarian, 1968a and b)
<i>Pm-4</i>	<i>Pm⁴</i>	<i>Powdery mildew resistance-4. Resistance to Podosphaera xanthii</i> in PI 124112.		(Harwood and Markarian, 1968a and b)
<i>Pm-5</i>	<i>Pm⁵</i>	<i>Powdery mildew resistance-5. Resistance to Podosphaera xanthii</i> in PI 124112.		(Harwood and Markarian, 1968a and b)
<i>Pm-6</i>	-	<i>Powdery mildew resistance-6. Resistance to Podosphaera xanthii</i> race 2 in PI 124111.		(Kenigsbuch and Cohen, 1989)
<i>Pm-7</i>	-	<i>Powdery mildew resistance-7. Resistance to Podosphaera xanthii</i> race 1 in PI 414723.		(Anagnostou et al., 2000)
<i>Pm-8</i>		<i>Powdery mildew resistance-8. Resistance to Podosphaera xanthii</i> race pxCh1 in PI 134198.		(Liu et al., 2010)
<i>Pm-E</i>	-	<i>Powdery mildew resistance-E. Interacts with Pm-C in PMR 5 for Golovinomyces cichoracearum</i> resistance.		(Epinat et al., 1993)
<i>Pm-F</i>	-	<i>Powdery mildew resistance-F. Interacts with Pm-G in PI 124112 for Golovinomyces cichoracearum</i> resistance.		(Epinat et al., 1993)
<i>Pm-G</i>	-	<i>Powdery mildew resistance-G. Interacts with Pm-F in PI 124112 for Golovinomyces cichoracearum</i> resistance.		(Epinat et al., 1993)
<i>Pm-H</i>	-	<i>Powdery mildew resistance-H. Resistance to Golovinomyces cichoracearum</i> and susceptibility to <i>Podosphaera xanthii</i> in Nantais oblong.		(Epinat et al., 1993)
<i>Pm-R</i>	-	<i>Powdery mildew resistance-R. Resistance to Podosphaera xanthii</i> races 1, 2, and 5 in TGR-1551.	V	(Yuste-Lisbona et al., 2011b)
<i>pm-S</i>		<i>powdery mildew resistance-S. Resistance to Podosphaera xanthii</i> race S in PI 313970. Recessive to susceptibility in Top Mark.		(McCreight and Coffey, 2011)
<i>Pm-w</i>	<i>Pm-B?</i>	<i>Powdery mildew resistance-w. Resistance to Podosphaera xanthii</i> race 2 in WMR 29.	(2) V	(Pitrat, 1991)
<i>Pm-x</i>	-	<i>Powdery mildew resistance-x. Resistance to Podosphaera xanthii</i> in PI 414723.	(4) II	(Pitrat, 1991)
<i>Pm-y</i>	-	<i>Powdery mildew resistance-y. Resistance to Podosphaera xanthii</i> in VA 435.	(7) XII	(Pitrat, 1991)
<i>Pm-z</i>		<i>Powdery mildew resistance-z. Resistance to Podosphaera xanthii</i> races 1 and 2US in PI 313970.		(McCreight, 2003)
<i>PmV.1</i>	-	<i>Powdery mildew resistance V.1. Resistance to Podosphaera xanthii</i> races 1, 2 and 3 in PI 124112.	V	(Perchepped et al., 2005b)

Legenda: Tabulka převzata z publikace Dogimont a Sari (2022)

Tabulka 15 - Pokračování tabulky 14 - Geny rezistence melounu (*Cucumis melo*) vůči padlí *Px* a *Go* (Dogimont a Sari, 2022)

<i>PmXII.1</i>	<i>Powdery mildew resistance XII.I. Resistance to <i>Podosphaera xanthii</i> races 1, 2 and 5 and to <i>Golovinomyces cichoracearum</i> race 1 in PI 124112.</i>	XII	(Perchepped et al., 2005b)
<i>PMRI</i>	<i>Powdery mildew resistance to <i>Podosphaera xanthii</i> race 1 in leaves of MR-1 with an epistatic effect on the recessive gene <i>pmrs</i>.</i>	XII	(Cui et al., 2022a)
<i>pmrs</i>	<i>powdery mildew resistance to <i>Podosphaera xanthii</i> race 1 in stem of MR-1. Recessive to susceptibility in MR-1.</i>	X	(Cui et al., 2022a)

Legenda: Tabulka převzata z publikace Dogimont a Sari (2022)

V roce 2005 byly v seznamu genů pro druhy *Cucurbita* (Paris a Brown, 2005) uvedeny čtyři geny odolnosti vůči CPM (cucurbit powdery mildew) (viz Tabulka 16): *Pm*, *pm-1* a *pm-2* byly poprvé označeny jako účinné proti *Go*, zatímco *Pm-0* poskytoval odolnost vůči *Px*. Nedávné aktualizace seznamu genů pro *Cucurbita* (Paris a Kabelka, 2009; Paris a Padley, 2014–2015) připisují odolnost *Pm* a *Pm-0* na *Px*, zatímco *pm-1* a *pm-2* zůstávají specifikovány jako odolné proti *Go*, přestože je možné, že jsou odolné proti *Px* místo *Go* (Lebeda *et al.*, 2024).

Tabulka 16 - Geny rezistence druhů *Cucurbita* vůči padlí *Px* a *Go* (Paris a Brown, 2005; Paris a Kabelka, 2009; Paris a Padley, 2014–2015)

Symbol	Source	CPM species ^a	Remark	Reference
<i>Pm</i>	<i>C. lundelliana</i>	Gc	Powdery mildew resistance	Rhodes (1964)
<i>Pm-0</i>	<i>C. okeechobeensis</i> <i>C. pepo</i>	<i>Px</i>	<i>Powdery mildew resistance-0</i> ; transferred from <i>C. okeechobeensis</i> to <i>C. pepo</i> ; not known if this is the same or different locus from <i>Pm</i>	Contin (1978); Jahn <i>et al.</i> (2002); Cohen <i>et al.</i> (2003)
<i>pm-1</i>	<i>C. moschata</i>	Gc	<i>Powdery mildew resistance-1</i> ; series of three alleles: <i>pm-1^P</i> for high susceptibility from Ponca dominant to <i>pm-1^L</i> for resistance from La Primera, which is dominant to <i>pm-1^W</i> for susceptibility in Waltham Butternut	Adeniji and Coyne (1983)
<i>pm-2</i>	<i>C. moschata</i>	Gc	<i>Powdery mildew resistance-2</i> ; allele <i>pm-2^S</i> for resistance in Seminole is recessive to <i>Pm-2</i> for susceptibility in Ponca	Adeniji and Coyne (1983)

^aGc: *Golovinomyces cichoracearum*; Px: *Podosphaera xanthii*.

Legenda: Tabulka převzata z publikace Lebeda *et al.* (2024)

3.5 Obranné mechanismy rostlin čeledi Cucurbitaceae vůči padlí

Rostliny mohou vyvinout vhodné obranné mechanismy k rozpoznání a následnému odolání proti infekci houbami prostřednictvím aktivace jejich složitých obranných reakcí (Dangl a Jones, 2001 IN Zhang *et al.*, 2021). Rychlostí aktivace a stupněm aktivity enzymů uplatňujících se v obranných mechanismech rostlin se mohou lišit různé genotypy rostlin při interakci mezi rostlinou a patogenem. Nejranější obrannou reakcí je rychlé vytváření reaktivních forem kyslíku (ROS), mezi které se řadí peroxid vodíku (H₂O₂), hydroxyl (OH⁻) a superoxidový anion (O₂⁻) (Zhang *et al.*, 2021). Podílejí se na oxidačním poškození mastných

kyselin, DNA a proteinů, i dalších buněčných složek. Jejich nadprodukce však způsobuje četné poruchy (Krumová a Cosa, 2016). V regulaci úrovně ROS a rozsahu oxidačního poškození hrají zásadní roli enzymy pro odstraňování ROS, jako je superoxid dismutáza (SOD), peroxidáza (POD), kataláza (CAT) a askorbat peroxidáza (APX) (Niu *et al.*, 2018 IN Zhang *et al.*, 2021). Další obrannou reakcí u vyšších rostlin je fenylypropanoidní dráha. Fenylypropanoidy jsou různorodou skupinou sloučenin odvozených z uhlíkové struktury fenylyalaninu, které se podílejí na obraně rostlin, strukturální podpoře a přežití. Tyto sloučeniny se označují jako sekundární metabolity, protože se neúčastní bazálních buněčných procesů (Fraser a Chapple, 2011). Enzym, podílející se na tvorbě obranných ligninů a fenolických sloučenin je fenylyalanin ammonium-lyáza (PAL) a klíčový enzym při syntéze fenolických sloučenin pro obranu proti patogenům je polyfenoloxidáza (PPO) (Zhang *et al.*, 2021).

Tyto dva obranné mechanismy byly studovány Zhangem *et al.* (2021) na genotypech dýní (*Cucurbita pepo*) infikovanými padlím *Podosphaera xanthii*. Tato studie zjistila, že jedním z možných mechanismů aktivace obranného systému a prevence infekce patogenem u genotypů dýní odolných vůči Px je zvýšení aktivity a exprese genů enzymů zapojených do fenylypropanoidní dráhy, aby se podpořila syntéza fenolických látek a ligninu, zvýšila se schopnost odstraňování ROS a snížila se akumulace ROS a vyvážila se oxidativní poškození.

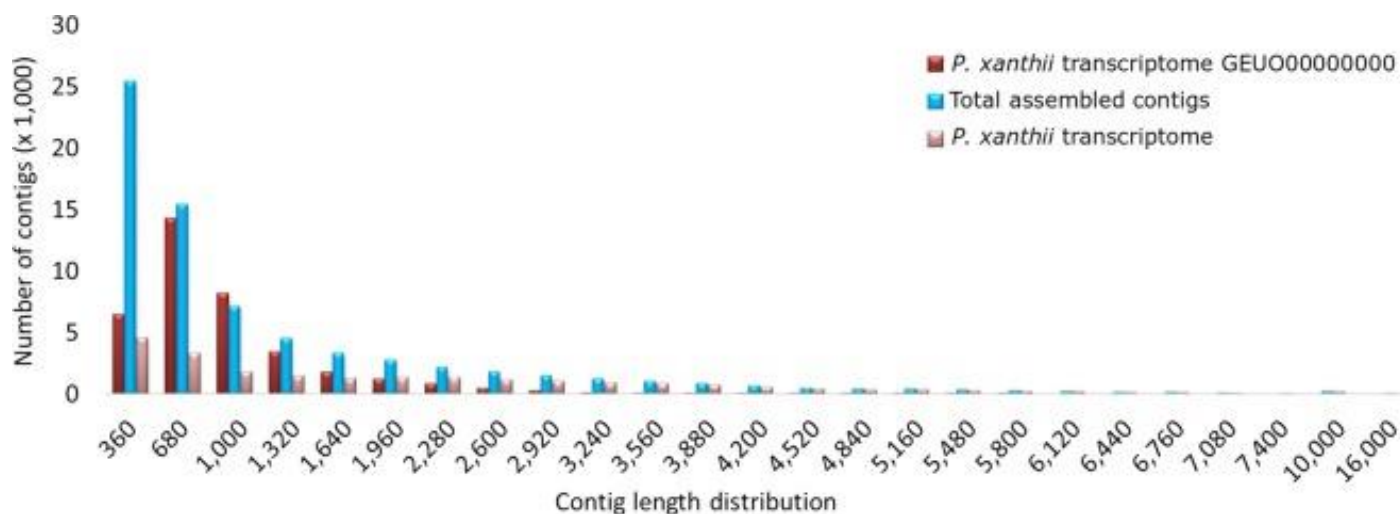
3.6 Sekvencování genomu padlí Px

Technologie sekvenování nové generace (NGS) byla použita k rozšíření znalostí v genomovém výzkumu pro vývoj molekulárních markerů, identifikaci genetických variací a objevování genů pomocí sekvenačních přístupů (Kolísko, 2017).

V současnosti nejpoužívanější metodou sekvenování je technologie od společnosti Illumina. Dnes stojí na prvním místě v počtu najednou sekvenovaných bází (až 900 miliard). Nevýhoda spočívá v poněkud kratších sekvencích pohybujících se pouze kolem stovky bází. Při sekvenování metodou Illumina jsou pomocí adaptérů jednotlivé nastříhané molekuly DNA přichyceny na malou destičku. Každá molekula DNA se následně opakovaně namnoží, až na destičce vznikne mozaika milionů klastrů, přičemž každou skupinu tvoří vzájemně identické molekuly. Vlastní sekvenační proces pak využívá podobného mechanismu jako Sangerovo sekvenování, kdy jsou do rostoucího řetězce zařazeny báze s navázanou fluorescenční barvou (každé písmeno má specifickou barvu), které syntézu zastaví. Tato blokáce syntézy je na rozdíl od Sangerova sekvenování vratná. Po přečtení nově přidané báze vysoce citlivou kamerou dojde k enzymatickému odstranění jak fluorescenčního značení,

tak blokující části molekuly a může proběhnout další kolo reakce, tedy přidání další báze. Kamera v každém jednotlivém kole syntézy řetězce DNA snímá signál z celé destičky a podle rozdílné fluorescence pozná, jaké písmeno bylo přidáno u každé z milionů skupin. Počítač pak opět analyzuje záznam krok po kroku a podle toho, jak se mění fluorescenční signál v rámci každé skupiny, zrekonstruuje přesnou sekvenci molekul DNA v příslušné skupině. Illumina má velmi vysokou přesnost čtení DNA (uvádí se mezi 99 až 99,9 %). Nejčastější chybou je špatně přečtená báze, záměna jednoho nukleotidu (Kolísko, 2017).

Sekvenování mRNA pomocí technologie Illumina ze dvou izolátů *P. xanthii* s opačnými párovacími typy (MAT1-1 a MAT1-2) a jejich pohlavního křížení bylo použito k získání podrobné de novo sestavy transkriptomu *P. xanthii* založeného na Trinity. Bylo získáno více než 60 milionů kvalitních párových čtení a sestaveno do 71 095 kontigů odpovídajících putativním transkriptům, které byly funkčně anotovány (Obrázek 6). Více než 55 % sestavených transkriptů (40 221 kontigů) mělo v BLASTx vyhledávání signifikantní hit a zahrnovalo sekvence související s pohlavní kompatibilitou a reprodukcí, stejně jako několik tříd přenosných elementů a putativních mykovirů. (De Miccolis Angelini et al., 2019).



Obrázek 6 - Distribuce délky kontigů v dříve dostupném transkriptomu *Px* zahrnující 37241 transkriptů (GEU000000000) ve srovnání s celkovými sestavenými kontigy (71095) a identifikovanými transkripty (23065) padlí *Px* získané v této studii (De Miccolis Angelini et al., 2019)

4 MATERIÁL A METODY

V praktické části této bakalářské práce jsou zpracována data o patogenní variabilitě vybraných souborů izolátů *Podospaera xanthii* jednoho z původců padlí tykvovitých pocházejících z let 2017-2022, které jsou součástí pracovní kolekce udržované Dr. Sedlákovou ve Fytopatologické laboratoři Katedry botaniky PřF UP v Olomouci. Experiment byl realizován s využitím modifikované metody listových disků navržené Lebedou *et al.* (2008). Podrobná metodika testování je popsána v následující kapitole 4.3.

4.1 Rostlinný materiál

Semena náchylné odrůdy okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Perseus F1 byla vyseta do malých plastových květináčů o průměru 7 cm naplněných navlhčeným perlitem. Sazenice s plně vyvinutými děložními lístky byly přesázeny po třech rostlinkách do malých plastových květináčů s perlitem a uchovány při pokojové teplotě, dokud nebyly použity k přeočkování izolátů padlí.

Pro stanovení patotypů padlí tykvovitých byl používán soubor 6 diferenciačních genotypů čeledi Cucurbitaceae (viz tabulka 18) a pro detekci ras padlí tykvovitých byl využit soubor 22 diferenciačních genotypů *Cucumis melo* (viz tabulka 19) (Lebeda *et al.*, 2021). Semena těchto genotypů byla vyseta do plastových květináčků o průměru 7 cm s navlhčeným perlitem. Po vyvinutí děložních lístků byly sazenice přemístěny do plastových květináčů se zahradní zeminou a uchovávány ve skleníku při teplotách 25°C/15°C (den/noc), 12 hodinové fotoperiodě, denně zalévány a 1x týdně hnojeny (Kristalon Start – NU3 B. V., Vlaardingen, Nizozemsko). Jako náchylná kontrola byla využívána okurka setá (*Cucumis sativus*) cv. Perseus F1, jejíž semena byla vyseta a vypěstována stejným způsobem jako sazenice genotypů melounů diferenciačního souboru. Listy pro přípravu listových disků na testy byly odebírány z šesti až osmi týdnů starých rostlin (ve stádiu 3-6 pravého listu) (Lebeda, 1986, Lebeda a Sedláková, 2010).

4.2 Původ, charakteristika a uchovávání izolátů padlí tykvovitých použitých k testování

Pro uchovávání kultury padlí tykvovitých sloužily děložní lístky náchylné odrůdy okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Perseus F1. Tyto semenáčky byly ukládány v plastových krabičkách přikrytých průhlednými plastovými víky ve fytostronu, kde byly kultivovány při inkubační teplotě 18/22 °C (den/noc) a 12 hodinové fotoperiodě. Jednotlivé kultury padlí tykvovitých byly přeočkovávány přibližně ve čtrnáctidenních intervalech, kdy byly konidie přeneseny pouhým přiložením listu s udržovanou kulturou izolátu na děložní lístky nového semenáčku náchylné

odrůdy (Lebeda a Sedláková, 2010). Seznam jednotlivých testovaných izolátů s jejich původem a datem sběru je zobrazen v tabulce 17.

Tabulka 17 - Seznam testovaných izolátů padlí tykvovitých Px

Č. izolátu ve sbírce UPOC	Číslo izolátu	Kraj	Okres	Lokalita		Druh hostitelské rostliny, odrůda	Stupeň napadení	Datum sběru
UPOC-FUN-309	59/17 Px	Olomoucký	Olomouc	Olomouc-Holice	pole	CL cv. Crimson Sweet	1	14.8.2017
UPOC-FUN-310	1/18 Px	Olomoucký	Olomouc	Olomouc-Lutin	zahrada	CS	3	6.8.2018
	12/18 Px	Jihomoravský	Znojmo	Prosiměřice	zahrada	CP	1	6.8.2018
	19/18 Px	Zlínský	Kroměříž	Postoupky	zahrada	CS	1	7.8.2018
UPOC-FUN-307	22/18 Px	Zlínský	Uherské Hradiště	Babice	zahrada, skleník	CS	1	7.8.2018
	30/18 Px	Jihomoravský	Hodonin	Čejč	pole, před obcí	CP olejná	2	7.8.2018
	31/18 Px	Jihomoravský	Břeclav	Velké Bilovice	pole	CP olejná	2	7.8.2018
UPOC-FUN-311	22/21 Px	Moravskoslezský	Nový Jičín	Nový Jičín-Kojetín	zahrada	CP ZU	2	14.8.2021
	26/21 Px	Olomoucký	Olomouc	Olomouc-Holice	pole	CM Hokkaido Orange	3	15.8.2021
UPOC-FUN-342	18/22 Px	Jihomoravský	Hodonin	Veselí nad Moravou, místní část Milokošů	zahrada	CP	4	3.8.2022
	26/22 Px	Olomoucký	Olomouc	Olomouc-Holice	pole	Cmosch cv. Laura	1	15.8.2022
	27/22 Px	Olomoucký	Olomouc	Olomouc-Holice	pole	Lag	2	15.8.2022

CS *Cucumis sativus* (okurka setá), CL *Citrullus lanatus* (vodní meloun), Cmosch *Cucurbita moschata* (tykev muškátová), CP *Cucurbita pepo* (tykev obecná) ZU cuketa, CM *Cucurbita maxima* (tykev velkoplodá), Lag *Lagenaria siceraria* cv. cultivar (kultivar, odrůda)

4.3 Determinace patotypů a ras

Pro detekci patotypů a ras testovaných izolátů padlí tykvovitých byla využita metoda listových disků podle Lebedy *et al.* (2008). Z listů všech rostlin každého diferenčního genotypu byly připraveny pomocí korkovrtu terčíky o průměru 15 mm, které byly vkládány spodní stranou listu na navlhčený filtrační papír, podložený čtyřmi tenkými vrstvami buničité vaty do plastových tácu (360x320x65 mm). Na jeden test bylo použito devět disků z každého genotypu (Obrázek 7). Listové disky byly inokulovány (naočkovány) příslušným izolátem *Px* přiložením děložního lístku (*C. sativus* „Perseus F1“) pokrytého sporulujícím myceliem. Inkubace probíhala za stejných podmínek jako uchovávání izolátů.

Patotypy původců padlí tykvovitých byly popisovány pomocí nového souboru diferenčních genotypů čeledi Cucurbitaceae navrženého Lebedou *et al.* (2008) uvedeného v tabulce 18. Na základě reakcí genotypů tohoto diferenčního souboru byly určovány patotypy. Sextetový kód pro popis patotypu představuje šest unikátních genotypů. Výsledný sextetový kód je dán součtem číselných hodnot, přiřazených k jednotlivým genotypům diferenčního souboru při náchylné reakci. Každému genotypu byla přidělena příslušná číselná hodnota (1, 2, 4, 8, 16 nebo 32) při pozitivní interakci nebo hodnota (0) při negativní interakci s příslušným izolátem padlí tykvovitých.

Determinace ras původců padlí tykvovitých byla provedena na základě reakcí izolátů padlí s dvaceti dvěma diferenčními genotypy *Cucumis melo* podle Lebedy *et al.* (2021) uvedených v tabulce 19. Navržený triplet septetový kód byl reprezentován čtyřmi skupinami, kdy první tři skupiny byly tvořeny sedmi genotypy a poslední skupina jedním genotypem, kdy měl každý genotyp v rámci své skupiny striktně dané pořadí a byla mu přiřazena příslušná číselná hodnota (1, 2, 4, 8, 16, 32 nebo 64) pro pozitivní nebo hodnota (0) pro negativní interakci s padlím tykvovitých. Výsledný triplet septetový kód byl složen ze čtyř částí ve formátu: součet hodnot skupiny jedna; součet hodnot skupiny dvě; součet hodnot skupiny tři; hodnota čísla ve skupině 4. Takto vytvořený triplet septetový kód je pak unikátní pro každou detekovanou rasu.

Tabulka 18 - Nový diferenciační soubor pro determinaci patotypů padlí tykvovitých navržený Lebedou *et al.* (2008)

Table 1. Proposed CPM pathotype differentials by number. (according to Lebeda *et al.*, 2008).

No.	Taxon	Differential	Original source	Country of origin
1	<i>Cucumis sativus</i>	Marketer 430	–	Czech Republic
2	<i>Cucumis melo</i>	Védrantais	–	France
3	<i>Cucumis melo</i>	PMR 45	USDA	USA
4	<i>Cucurbita pepo</i>	Kveta ^a	–	Czech Republic
5	<i>Cucurbita maxima</i>	Goliáš	–	Czech Republic
6	<i>Citrullus lanatus</i>	Sugar Baby	–	the Netherlands

^a'Kveta' was proposed by Lebeda *et al.* (2008) to replace 'Diamant F1' in the standard set of CPM pathotype differentials.

Tabulka 19 - Nově navržený systém pro determinaci ras padlí tykvovitých navržený Lebedou *et al.* (2021)

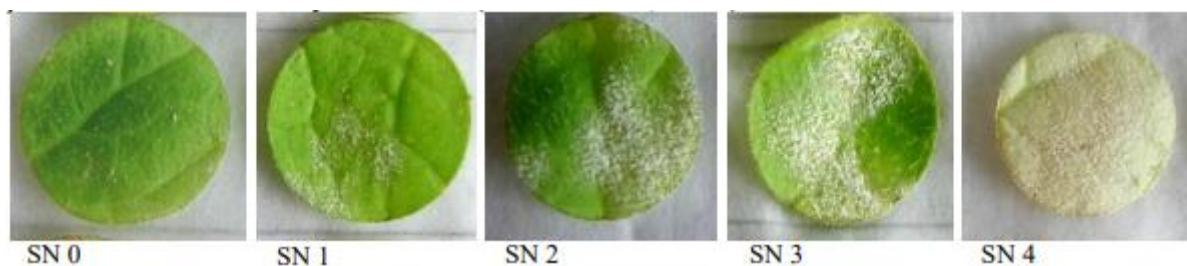
GRIN no.	Septet no.	Differential	Other designation(s)	Source ^y	Country
ICPMI 1 01	1.1	Iran H	–	INRA	Iran
ICPMI 1 02	1.2	Védrantais	M 319 ^y	INRA	France
ICPMI 1 03	1.3	PI 179901	Teti	USDA	India
ICPMI 1 04	1.4	PI 234607	Sweet Melon	USDA	South Africa
ICPMI 1 05	1.5	AR HBJ	AR Hale's Best Jumbo	USDA	USA
ICPMI 1 06	1.6	PMR 45	M 321 ^x	USDA	USA
ICPMI 1 07	1.7	PMR 6	Ames 26810	USDA	USA
ICPMI 1 08	2.1	WMR 29	M 322 ^x	USDA	USA
ICPMI 1 09	2.2	Edisto 47	NSL 34600	Clemson Univ.	USA
ICPMI 1 10	2.3	PI 414723	LJ 90234	USDA	India
ICPMI 1 11	2.4	PMR 5	Ames 26809	USDA	USA
ICPMI 1 12	2.5	PI 124112	Koelz 2564	USDA	India
ICPMI 1 13	2.6	MR-1	Ames 8578	USDA	USA
ICPMI 1 14	2.7	PI 124111	Koelz 2563	USDA	India
ICPMI 1 15	3.1	PI 313970	PI 315410; VIR 5682	USDA	India
ICPMI 1 16	3.2	Noy Yizre'el	–	Bar Ilan Univ.	Israel
ICPMI 1 17	3.3	PI 236355	–	USDA	England
ICPMI 1 18	3.4	Negro	–	Univ. Zaragoza	Spain
ICPMI 1 19	3.5	Amarillo	–	Univ. Zaragoza	Spain
ICPMI 1 20	3.6	Nantais Oblong	M 320 ^x	INRA	France
ICPMI 1 21	3.7	Ames 31282	–	USDA	China
ICPMI 1 22	4.1	SVI105	–	INRA	France



Obrázek 7 - Modifikovaná metoda listových disků podle Lebedy *et al.*, 2008 (foto M. Kadlecová)

4.4 Hodnocení intenzity sporulace a stupně napadení

Intenzita sporulace na jednotlivých discích byla zjišťována vizuálně v rozmezí 5. a 14. dne od naočkování ve dvou až čtyřdenních intervalech. Hodnocení bylo prováděno pomocí kvantitativní metody, při které se vyjadřuje procentuální pokryvnost listové plochy disků sporujícími myceliemi, na základě pěti bodové stupnice (Lebeda, 1986). 0 – bez příznaků symptomů napadení (SN), SN 1 – méně než 25 % plochy listu pokryté myceliemi, SN 2–25 až 50 % plochy listu pokryté myceliemi, SN 3 – 50 až 75 % plochy listu pokryté myceliemi, SN 4 – 75% a víc plochy listu pokryté myceliemi (Obrázek 8). Reakce testovaných genotypů v rozsahu hodnot 0–1 byla klasifikována jako rezistentní (R), reakce 2–4 náchylná (S).



Obrázek 8 - Pětibodová stupnice využita pro hodnocení intenzity sporulace padlí tykvovitých pomocí modifikované metody listových disků (Lebeda *et al.*, 2017)

Pro konečné vyhodnocení výsledků bylo potřebné získat jednu hodnotu pro každou interakci hostitel-patogen. Hodnoty stupně intenzity napadení sloužily k vypočítání maximálního procentuálního stupně intenzity napadení (%maxID) dle vzorce (1) podle Townsenda a Heubergera (1943):

$$\%maxID = \frac{\sum(n \cdot v) \cdot 100}{x \cdot N}, \quad (1)$$

kde %maxID = celkový stupeň napadení,

n = počet listových disků v každém stupni napadení,

v = stupeň napadení,

x = maximální stupeň napadení,

N = počet všech hodnocených listových disků.

Na základě hodnot %maxID byly stanoveny stupně virulence pro každý izolát padlí *P. xanthii* na genotypu čeledi Cucurbitaceae (Lebeda *et al.*, 2013):

A (Avirulent) = avirulentní, %maxID ≤ 30 %,

MV (Moderately Virulent) = středně virulentní, 30 % < %maxID ≤ 60 %,

V (Virulent) = virulentní, 60 % < %maxID ≤ 100 %.

V závislosti na hodnotách %max ID byly určeny kategorie interakcí všech genotypů čeledi Cucurbitaceae k izolátům *Podospaera xanthii* (Lebeda *et al.*, 2012):

R (Resistant) = rezistentní, %maxID ≤ 30 %,

MR (Moderately Resistant) = středně rezistentní, 30 % < %maxID ≤ 60 %,

S (Susceptible) = náchylný, 60 % < %maxID ≤ 100 %.

4.5 Mikroskopické sledování vývoje *Podosphaera xanthii*

Pro sledování vývoje padlí druhu *Podosphaera xanthii* na vybraném rezistentním a náchylném genotypu *C. melo* pomocí mikroskopu (Olympus CX21) byl použit izolát 22/21 Px. Tento izolát byl zvolen, protože během předchozího hodnocení testování patotypů a ras byla mezi testovanými diferenciacními genotypy zastoupena jak náchylná, tak rezistentní reakce. V rámci tohoto hodnocení bylo vybráno 6 genotypů z diferenciacního souboru pro detekci patotypů a ras. Listy zvolených genotypů byly přichystány pomocí modifikované metody listových disků, jež byla podrobně popsána v předchozím experimentu (kapitola 4.3). Po inokulaci byly v přesných časových intervalech (4. den, 7. den a 11. den) (viz schéma – Obrázek 9) vizuálně hodnoceny 3 disky ve třech opakováních pomocí 5-ti bodové stupnice podle Lebedy (1986) viz kapitola 4.4. a také tři další disky odebírány pro mikroskopickou analýzu. Odebrané listové disky byly vkládány do lahviček naplněných 99% kyselinou octovou, aby došlo k odbarvení chlorofylu, z důvodu lepší viditelnosti struktur patogenů. Po 48 hodinách byly přemístěny do 85% glycerolu.

Nakonec byly pomocí pinzety přeneseny svrchní stranou na podložní sklíčko, kde byly zakápnuty 1% anilínovou modří, která napomáhá k lepšímu pozorování pod mikroskopem, jelikož se dostává do chitínových struktur houbových organismů. Listové disky se nechaly přibližně 2 minuty inkubovat, poté byly překryty podložním sklíčkem a pomocí filtračního papíru byl odsátý její přebytek. Takto připravené preparáty byly pozorovány pod mikroskopem při zvětšení 40x. Hodnotil se počet konidioforů padlí a přítomnost volných konidií. Byla použita semikvantitativní metoda pro hodnocení sporulace padlí podle následujících kategorií:

- 0 konidioforů na disku
- 1-10¹ konidioforů na disku
- 10¹-10² konidioforů na disku
- 10²-10³ konidioforů na disku
- > 10³ konidioforů na disku

MILK. (ODBĚR)		PH (3 dísky)	5CH	REZERVA
4 DPT	000	000	(137)	5 CH 000 (137)
7 DPT	000			
11 DPT	000			
4		2.6. (HR-1)	2.6. (HR-1)	2.6. (HR-1)
7				
11				
4		3.6. Nan.O.	3.6. Nan.O.	3.6. Nan.O.
7				
11				
4		4.1. <u>SV 105</u>	4.1. <u>SV 105</u>	4.1. <u>SV 105</u>
7				
11				
4		1.1. 12AN4	1.1. 12AN4	1.1. 12AN4
7				
11				
4		6 CL(049)	6 CL(049)	6 CL(049)
7				
11				
KONTROLA NAOC		000		000
000				
CS PERZEUS				

Obrázek 9 - Schéma mikroskopického pokusu (Sedláková – osobní sdělení)

5 VÝSLEDKY

Výsledky studia patogenní variability souboru 12 izolátů padlí tykvovitých *Podospaera xanthii* pocházejících z let 2017-2022 z ČR jsou shrnuty v této kapitole.

5.1 Patogenní variabilita padlí tykvovitých *Podospaera xanthii* v ČR v letech 2017-2022 na úrovni patotypů

V tabulce č. 20 je zaznamenán celkový stupeň napadení testovaných izolátů *P. xanthii* na diferenciačním souboru Cucurbitaceae, který byl vypočítán podle metodiky podrobně popsané v kapitole 4.4 a ze které se vycházelo při determinaci a denominaci. Reakce izolátů byly rozdílné jak na úrovni patotypů, tak z pohledu jednotlivých genotypů diferenciačního souboru. Izolát 22/21 *Px* byl jediný rezistentní vůči všem diferenciačním genotypům čeledi Cucurbitaceae. Nejvíce rezistentní byl genotyp 6 – *Citrullus lanatus* Sugar Baby, který byl rezistentní vůči 9 izolátům a vykazoval pouze 3 náchylné reakce, vůči 8 izolátům byl rezistentní genotyp 3 – *Cucumis melo* PMR 45 který byl středně rezistentní vůči izolátu 26/22 a rezistentní ke zbylým 3 izolátům. V tabulce č. 21 jsou zobrazeny stupně virulence izolátů padlí *Px* na genotypech čeledi Cucurbitaceae, kdy A značí avirulentní reakci, MV – středně virulentní reakci a V – virulentní reakci. V tabulce č. 22 je vyznačena interakce všech genotypů čeledi Cucurbitaceae k izolátům *Px*, kdy R – rezistentní reakce, MR – středně rezistentní reakce a S – náchylná reakce.

Reakce testovaných izolátů *P. xanthii* na diferenciačním souboru jednotlivých genotypů je zobrazena v tabulce č. 23. Rezistentní reakce je značena písmenem R a náchylnou (susceptibilní) reakci značí písmeno S. V tabulce č. 24 jsou převedeny výsledky hodnocení intenzity sporulace jednotlivých testovaných izolátů *Px* na označení 1 pro kompatibilní (S) a 0 inkompatibilní (R). Pomocí výsledků z tabulek č. 23 a 24 byly přiděleny příslušné číselné hodnoty k jednotlivým genotypům diferenciačního souboru, které byly následně sečteny pro získání výsledných sextetových kódů, které jsou uvedeny v tabulce č. 25.

Na souboru 12 testovaných izolátů padlí tykvovitých *Podospaera xanthii* bylo rozpoznáno 5 patotypů (27, 31, 57, 59 a 63). Patotyp číslo 27 byl zjištěn na 6 izolátech *Px*, což představuje 50 % ze všech testovaných izolátů. Pouze jednou byly rozlišeny patotypy 57, 59 a 63 a na zbývajících 3 izolátech byl rozpoznán patotyp 31.

Graf č. 3 vyobrazuje frekvenci náchylné nebo rezistentní reakce genotypů diferenciačního souboru čeledi Cucurbitaceae na testované izoláty padlí *Px*. Rezistentní reakce se vyskytovala pouze u 3 genotypů, a to u *Cucumis melo* Védraçais (8,3 %), *Cucumis melo* PMR 45 (66,7 %)

a *Citrullus lanatus* Sugar Baby (75 %). Ostatní genotypy diferenciačního souboru patotypů byly 100% náchylné. V grafu máme také genotyp, který není součástí nového diferenciačního souboru. Je to *Cucurbita pepo* Diamant F1, který byl součástí diferenciačního souboru Cucurbitaceae pro determinaci patotypů padlí v minulosti (Lebeda *et al.*, 2011), který byl v novém diferenciačním souboru patotypů nahrazen genotypem *Cucurbita pepo* Kveta, oba tyto genotypy vykazovaly podobné reakce a byly 100% náchylné.

Tabulka 20 – Celkový stupeň napadení (%) testovaných izolátů *Podosphaera xanthii* na diferenciačním souboru Cucurbitaceae po 14. dnech od inokulace padlím

Číslo izolátu Px	1	2	3	4	5	6
59/17	99,96	61,09	0	88,85	99,96	86,07
1/18	99,96	94,41	94,41	88,85	94,41	0
12/18	97,18	72,19	0	99,96	86,08	11,11
19/18	91,63	94,41	0	88,85	97,18	16,66
22/18	99,96	97,18	0	94,41	97,18	0
30/18	99,96	99,96	0	99,96	49,98	0
31/18	99,96	83,3	0	99,96	83,3	0
22/21	99,96	99,96	69,42	99,96	86,08	80,42
26/21	99,96	0	0	99,96	55,53	80,52
18/22	99,96	99,96	94,41	99,96	97,18	5,55
26/22	83,3	88,85	55,53	88,85	99,96	0
27/22	80,52	58,31	5,55	97,18	83,3	0

Legenda: Genotypy čeledi *Cucurbitaceae*: 1. – *Cucumis sativus* Marketer 430, 2. – *Cucumis melo* Védrantais, 3. – *Cucumis melo* PMR 45, 4. – *Cucurbita pepo* Kveta, 5. – *Cucurbita maxima* Goliáš, 6. – *Citrullus lanatus* Sugar Baby

Tabulka 21 – Stupně virulence izolátů padlí Px na genotypu čeledi Cucurbitaceae (A – avirulentní, MV – středně virulentní, V – virulentní)

Číslo izolátu Px	1	2	3	4	5	6
59/17	V	V	A	V	V	V
1/18	V	V	V	V	V	A
12/18	V	V	A	V	V	A
19/18	V	V	A	V	V	A
22/18	V	V	A	V	V	A
30/18	V	V	A	V	MV	A
31/18	V	V	A	V	V	A
22/21	V	V	V	V	V	V
26/21	V	A	A	V	MV	V
18/22	V	V	V	V	V	A
26/22	V	V	MV	V	V	A
27/22	V	MV	A	V	V	A

Legenda: Genotypy čeledi *Cucurbitaceae*: 1. – *Cucumis sativus* Marketer 430, 2. – *Cucumis melo* Védrantais, 3. – *Cucumis melo* PMR 45, 4. – *Cucurbita pepo* Kveta, 5. – *Cucurbita maxima* Goliáš, 6. – *Citrullus lanatus* Sugar Baby

Tabulka 22 – Reakce izolátů padlí *P. xanthii* na diferenciační genotypy čeledi Cucurbitaceae (R - rezistentní, MR - středně rezistentní, S - virulentní)

Číslo izolátu Px	1	2	3	4	5	6
59/17	S	S	S	S	S	R
1/18	S	S	R	S	S	R
12/18	S	S	R	S	S	R
19/18	S	S	R	S	S	R
22/18	S	S	R	S	S	R
30/18	S	S	R	S	MR	R
31/18	S	S	R	S	S	R
22/21	S	S	S	S	S	S
26/21	S	R	R	S	MR	S
18/22	S	S	S	S	S	R
26/22	S	S	MR	S	S	R
27/22	S	MR	R	S	S	R

Legenda: Genotypy čeledi *Cucurbitaceae*: 1. – *Cucumis sativus* Marketer 430, 2. – *Cucumis melo* Védrantais, 3. – *Cucumis melo* PMR 45, 4. – *Cucurbita pepo* Kveta, 5. – *Cucurbita maxima* Goliáš, 6. – *Citrullus lanatus* Sugar Baby

Tabulka 23 - Reakce testovaných izolátů *Podosphaera xanthii* na diferenciačním souboru šesti genotypů čeledi Cucurbitaceae (izoláty seřazeny chronologicky)

Číslo izolátu Px	1	2	3	4	5	6
59/17	S	S	R	S	S	S
1/18	S	S	S	S	S	R
12/18	S	S	R	S	S	R
19/18	S	S	R	S	S	R
22/18	S	S	R	S	S	R
30/18	S	S	R	S	S	R
31/18	S	S	R	S	S	R
22/21	S	S	S	S	S	S
26/21	S	R	R	S	S	S
18/22	S	S	S	S	S	R
26/22	S	S	S	S	S	R
27/22	S	S	R	S	S	R

Legenda: Genotypy čeledi *Cucurbitaceae*: 1. – *Cucumis sativus* Marketer 430, 2. – *Cucumis melo* Védrantais, 3. – *Cucumis melo* PMR 45, 4. – *Cucurbita pepo* Kveta, 5. – *Cucurbita maxima* Goliáš, 6. – *Citrullus lanatus* Sugar Baby

Tabulka 24- Převedení výsledků hodnocení virulence jednotlivých testovaných izolátů *Podospaera xanthii* na označení 1 pro náchylnou (S) a 0 resistantní (R) reakci na genotypy diferenciačního souboru

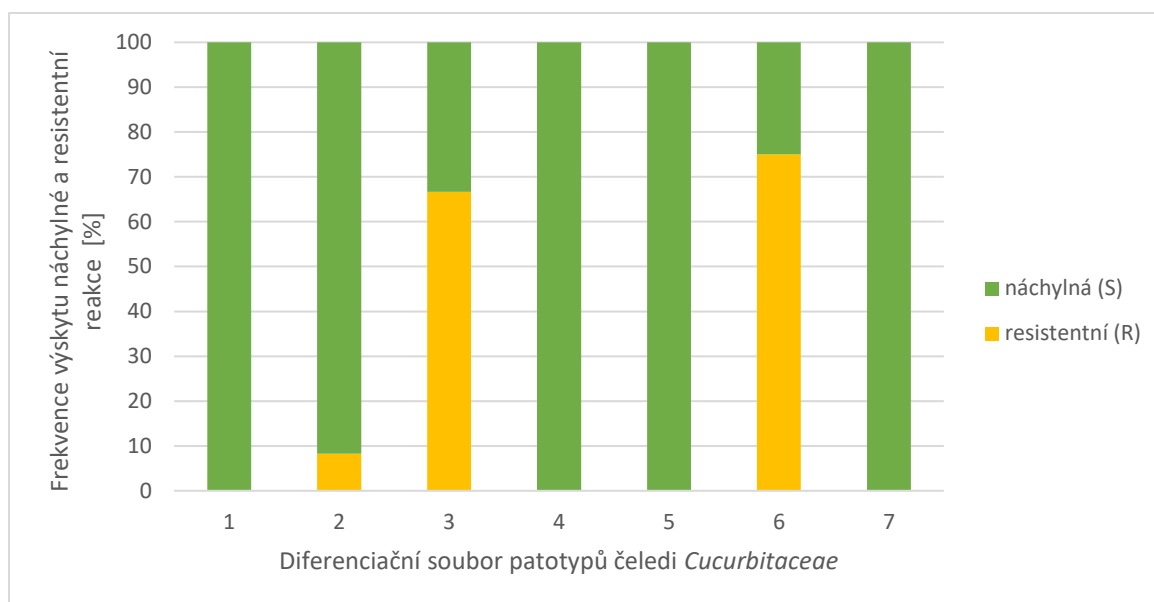
Číslo izolátu Px	1	2	3	4	5	6
59/17	1	1	0	1	1	1
1/18	1	1	1	1	1	0
12/18	1	1	0	1	1	0
19/18	1	1	0	1	1	0
22/18	1	1	0	1	1	0
30/18	1	1	0	1	1	0
31/18	1	1	0	1	1	0
22/21	1	1	1	1	1	1
26/21	1	0	0	1	1	1
18/22	1	1	1	1	1	0
26/22	1	1	1	1	1	0
27/22	1	1	0	1	1	0

Legenda: Genotypy čeledi *Cucurbitaceae*: 1. – *Cucumis sativus* Marketer 430, 2. – *Cucumis melo* Védrantais, 3. – *Cucumis melo* PMR 45, 4. – *Cucurbita pepo* Kveta, 5. – *Cucurbita maxima* Goliáš, 6. – *Citrullus lanatus* Sugar Baby

Tabulka 25 - Výsledné sextetové kódy patotypů jednotlivých testovaných izolátů padlí *Podospaera xanthii*

Číslo izolátu Px	1	2	3	4	5	6	Sextetový kód
59/17	1	2	0	8	16	32	59
1/18	1	2	4	8	16	0	31
12/18	1	2	0	8	16	0	27
19/18	1	2	0	8	16	0	27
22/18	1	2	0	8	16	0	27
30/18	1	2	0	8	16	0	27
31/18	1	2	0	8	16	0	27
22/21	1	2	4	8	16	32	63
26/21	1	0	0	8	16	32	57
18/22	1	2	4	8	16	0	31
26/22	1	2	4	8	16	0	31
27/22	1	2	0	8	16	0	27

Legenda: Genotypy čeledi *Cucurbitaceae*: 1. – *Cucumis sativus* Marketer 430, 2. – *Cucumis melo* Védrantais, 3. – *Cucumis melo* PMR 45, 4. – *Cucurbita pepo* Kveta, 5. – *Cucurbita maxima* Goliáš, 6. – *Citrullus lanatus* Sugar Baby



Graf 3 - Srovnání frekvence výskytu náchylné/rezistentní reakce genotypů čeledi Cucurbitaceae pro detekci patotypů na izolátu padlí *Podosphaera xanthii*

Legenda: Genotypy čeledi *Cucurbitaceae*: 1. – *Cucumis sativus* Marketer 430, 2. – *Cucumis melo* Védrantais, 3. – *Cucumis melo* PMR 45, 4. – *Cucurbita pepo* Kveta, 5. – *Cucurbita maxima* Goliáš, 6. – *Citrullus lanatus* Sugar Baby, 7. – *Cucurbita pepo* Diamant F1, 8. – *Cucumis melo* Solartur

7. – *Cucurbita pepo* Diamant F1 – není součástí nového diferenciačního souboru

5.2 Patogenní variabilita padlí tykvovitých *Podosphaera xanthii* v ČR v letech 2017-2022 na úrovni ras

Celkový stupeň napadení izolátů padlí *Px* byl zjišťován také na souboru 22 genotypů *Cucumis melo* (cukrového melounu) a je zobrazen v tabulce č. 26. Jednotlivé reakce se lišily jak z pohledu jednotlivých izolátů *Px*, tak na úrovni ras. V tabulce č. 27 jsou zobrazeny stupně virulence pro každý izolát padlí *Px* na diferenciačních genotypech *Cucumis melo*, kdy A značí avirulentní reakci, MV – středně virulentní reakci a V – virulentní reakci. V tabulce č. 28 je vyznačena interakce všech genotypů druhu *Cucumis melo* k izolátům *Px*, kdy R – rezistentní reakce, MR – středně rezistentní reakce a S – náchylná reakce. Zcela náchylné byly genotypy 1.5 – ARHBJ, 3.5 – Amarillo a 3.6 – Nantais Oblong, genotyp 3.3 – PI 236355 byl středně náchylný vůči izolátu 26/21, vůči ostatním izolátům byl náchylný, genotyp 1.4 – PI 234607 byl náchylný pouze vůči izolátu 12/18, genotyp 2.6 – MR - 1 byl náchylný vůči izolátu 30/18 a genotyp 3.2 – Noy Yizre'el k izolátu 22/21, jinak byly tyto genotypy rezistentní k ostatním testovaným izolátům *P. xanthii*. Zcela rezistentní byly genotypy 2.1 – WMR – 29 a 4.1 – SVI105. U ostatních genotypů se vyskytovaly rezistentní, středně rezistentní i náchylné reakce.

Frekvence výskytu rezistentní nebo náchylné reakce diferenciačních genotypů *C. melo* je znázorněna v grafu č. 4, ve kterém je také uveden genotyp 8 – Solartur, který není součástí nového souboru, ale v minulosti se testoval a vykazuje podobné reakce jako genotyp 1.5 –

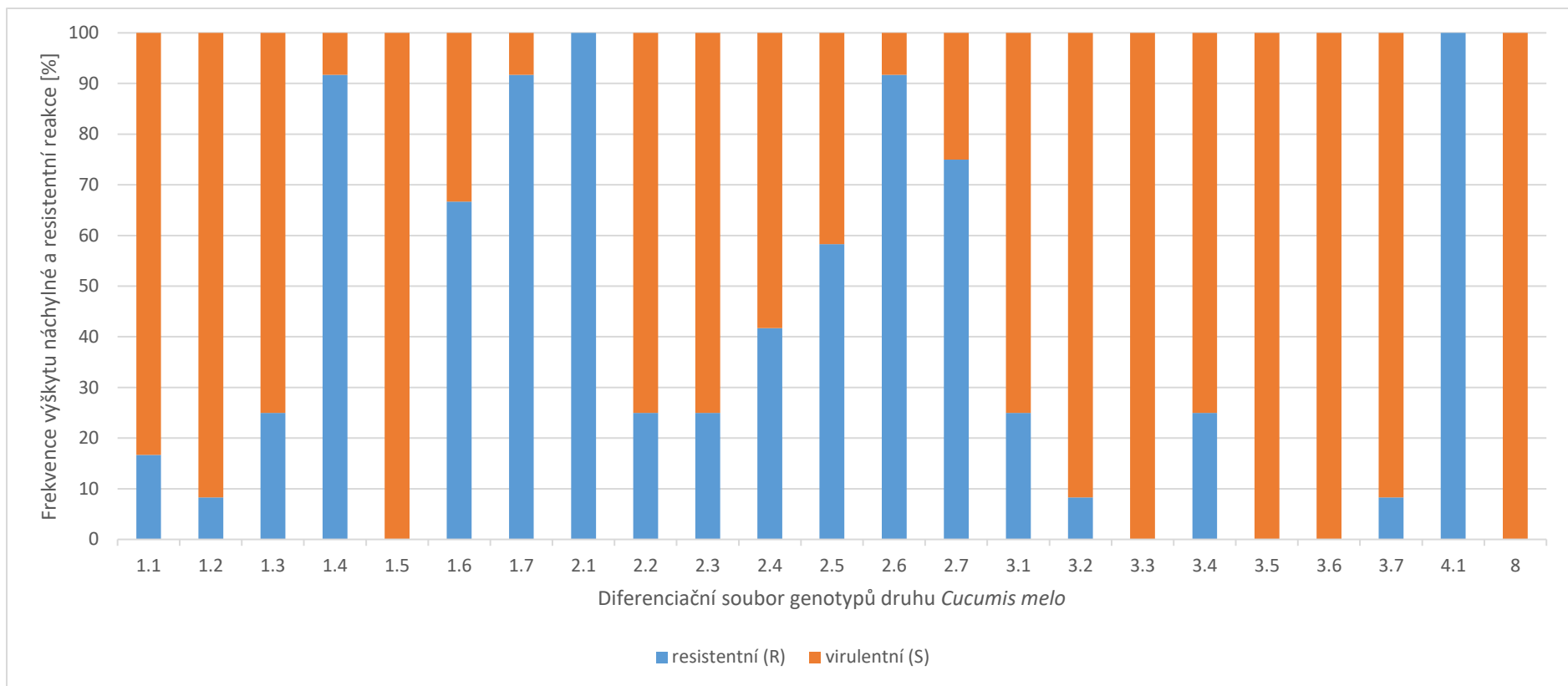
ARHBJ, 3.5 – Amarillo a 3.6 – Nantais Oblong, všechny byly 100% náchylné. V tabulce č. 29 je zaznamenána reakce testovaných izolátů *Px na* diferenciačním souboru 22 genotypů *C. melo*. Rezistentní reakci popisuje písmeno R a náchylná (susceptibilní) reakce je označena písmenem S. V tabulce č. 30 jsou výsledky hodnocení intenzity sporulace jednotlivých testovaných izolátů *P. xanthii* zaměněny za označení 1 pro kompatibilní (S) a 0 inkompatibilní (R) reakci genotypů *C. melo*.

Pomocí výsledků předchozích tabulek (29 a 30) byly přiděleny příslušné číselné hodnoty k jednotlivým genotypům diferenciačního souboru, které byly následně sečteny pro získání výsledných triplet septetových kódů, které jsou uvedeny v tabulce č. 31. Žádný kód se v tabulce neopakoval, tudíž každá testovaná rasa byla unikátní.

Tabulka 26 – Celkový stupeň napadení (%) izolátů *P. xanthii* na diferenčním souboru 22 genotypů *Cucumis melo* (14. den po inokulaci)

Číslo izolátu <i>Px</i>	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	4.1
59/17	11,11	61,09	0	24,99	70,58	0	8,33	0	36,10	8,33	36,10	0	0	5,55	77,75	0	83,3	74,97	94,41	88,85	99,96	0
1/18	91,68	94,41	80,52	0	80,52	94,41	52,76	0	83,3	44,43	63,86	77,75	0	19,44	72,14	0	99,96	86,08	80,52	97,18	97,18	0
12/18	99,96	72,19	0	83,3	99,96	0	8,33	0	94,41	41,65	0	5,55	0	11,11	77,85	8,33	91,63	94,41	99,96	99,96	99,96	0
19/18	87,47	94,41	94,41	0	99,96	0	16,66	0	47,2	99,96	0	47,21	0	22,21	63,86	0	99,96	0	94,41	99,6	99,96	0
22/18	91,63	97,18	0	0	99,96	0	0	0	0	61,09	0	0	0	61,09	47,2	5,55	99,96	0	74,97	99,96	99,96	0
30/18	11,11	99,96	66,64	0	99,96	0	0	0	55,53	49,98	61,09	0	63,86	22,21	61,09	0	97,18	0	99,96	94,41	99,96	0
31/18	86,08	83,3	80,52	0	99,96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33	0	99,96	99,96	99,96	94,41	91,63	0
22/21	83,19	99,96	66,64	0	99,96	69,42	8,33	2,78	88,65	5,55	97,18	99,96	0	69,42	77,75	88,85	99,96	99,96	99,96	99,96	99,96	0
26/21	99,96	0	99,96	0	99,96	0	19,44	0	41,65	94,41	27,77	49,98	0	5,55	0	0	55,53	99,96	99,96	99,96	99,96	0
18/22	83,3	99,96	83,3	0	97,18	94,41	2,78	0	74,97	47,2	83,3	0	0	47,2	44,43	0	99,96	99,96	91,63	88,85	99,96	0
26/22	91,63	88,85	99,96	0	99,96	55,53	8,33	5,55	52,76	86,08	11,11	16,66	11,11	11,11	22,21	8,33	97,18	88,85	83,3	99,96	0	0
27/22	86,08	58,31	58,31	0	99,96	5,55	22,21	0	1,44	30,55	58,31	58,31	0	5,55	52,76	0	99,96	0	61,09	99,96	99,96	0

Legenda: Genotypy *Cucumis melo*: 1.1 – Iran H, 1.2 – Védrañtais, 1.3 – PI 179901, 1.4 – PI 234 607, 1.5 – ARHBJ, 1.6 – PMR 45, 1.7 – PMR 6, 2.1 – WMR 29, 2.2 – Edisto 47, 2.3 – PI 414723, 2.4 – PMR 5, 2.5 – PI 124112, 2.6 – MR-1, 2.7 – PI 124111, 3.1 – PI 313970, 3.2 – Noy Yizre'el, 3.3 – PI 236355, 3.4 – Negro, 3.5 – Amarillo, 3.6 – Nantais Oblong, 3.7 – Ames 31282, 4.1 – SVI105



Graf 4 - Frekvence výskytu náchylné/resistentní reakce genotypů druhu *Cucumis melo* na izolátech Px

Legenda: Genotypy *Cucumis melo*: 1.1 – Iran H, 1.2 – Védrantais, 1.3 – PI 179901, 1.4 – PI 234 607, 1.5 – ARHBJ, 1.6 – PMR 45, 1.7 – PMR 6, 2.1 – WMR 29, 2.2 – Edisto 47, 2.3 – PI 414723, 2.4 – PMR 5, 2.5 – PI 124112, 2.6 – MR-1, 2.7 – PI 124111, 3.1 – PI 313970, 3.2 – Noy Yizre’el, 3.3 – PI 236355, 3.4 – Negro, 3.5 – Amarillo, 3.6 – Nantais Oblong, 3.7 – Ames 31282, 4.1 – SVI105

8 – Solartur – není součástí nového diferenčního souboru

Tabulka 27 - Stupně virulence izolátů Px na genotypech *Cucumis melo* (A – avirulentní, MV – středně virulentní, V – virulentní)

Číslo izolátu Px	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	4.1	
59/17	A	V	A	A	V	A	A	A	MV	A	MV	A	A	A	V	A	V	V	V	V	V	V	A
1/18	V	V	V	A	V	V	MV	A	V	MV	V	V	A	A	V	A	V	V	V	V	V	V	A
12/18	V	V	A	V	V	A	A	A	V	MV	V	A	A	A	V	A	V	V	V	V	V	V	A
19/18	V	V	V	A	V	A	A	A	MV	V	V	MV	A	A	V	A	V	A	V	V	V	V	A
22/18	V	V	A	A	V	A	A	A	A	V	V	A	A	V	MV	A	V	A	V	V	V	V	A
30/18	A	V	V	A	V	A	A	A	MV	MV	V	A	V	A	V	A	V	A	V	V	V	V	A
31/18	V	V	V	A	V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	V	V	V	V	V	V	A
22/21	V	V	V	A	V	V	A	A	V	A	V	V	A	V	V	V	V	V	V	V	V	V	A
26/21	V	A	V	A	V	A	A	A	MV	V	A	MV	A	A	A	A	MV	V	V	V	V	V	A
18/22	V	V	V	A	V	V	A	A	V	MV	V	A	A	MV	MV	A	V	V	V	V	V	V	A
26/22	V	V	V	A	V	MV	A	A	MV	V	A	A	A	A	A	A	V	V	V	V	V	A	A
27/22	V	MV	MV	A	V	A	A	A	A	MV	MV	MV	A	A	MV	A	V	A	V	V	V	V	A

Legenda: Genotypy *Cucumis melo*: 1.1 – Iran H, 1.2 – Védrantais, 1.3 – PI 179901, 1.4 – PI 234 607, 1.5 – ARHBJ, 1.6 – PMR 45, 1.7 – PMR 6, 2.1 – WMR 29, 2.2 – Edisto 47, 2.3 – PI 414723, 2.4 – PMR 5, 2.5 – PI 124112, 2.6 – MR-1, 2.7 – PI 124111, 3.1 – PI 313970, 3.2 – Noy Yizre'el, 3.3 – PI 236355, 3.4 – Negro, 3.5 – Amarillo, 3.6 – Nantais Oblong, 3.7 – Ames 31282, 4.1 – SVI105

Tabulka 28 - Interakce genotypů *Cucumis melo* k izolátům Px (R – rezistentní, MR – středně rezistentní, S – virulentní)

Číslo izolátu Px	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	4.1	
59/17	R	S	R	R	S	R	R	R	MR	R	MR	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
1/18	S	S	S	R	S	S	MR	R	S	MR	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
12/18	S	S	R	S	S	R	R	R	S	MR	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
19/18	S	S	S	R	S	R	R	R	MR	S	R	MR	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S	R
22/18	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	S	MR	R	S	R	S	S	S	S	R
30/18	R	S	S	R	S	R	R	R	MR	MR	S	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	R
31/18	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R
22/21	S	S	S	R	S	S	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
26/21	S	R	S	R	S	R	R	R	MR	S	R	MR	R	R	R	R	MR	S	S	S	S	S	R
18/22	S	S	S	R	S	S	R	R	S	MR	S	R	R	MR	MR	R	S	S	S	S	S	S	R
26/22	S	S	S	R	S	MR	R	R	MR	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R
27/22	S	MR	MR	R	S	R	R	R	R	MR	MR	MR	R	R	MR	R	S	R	S	S	S	S	R

Legenda: Genotypy *Cucumis melo*: 1.1 – Iran H, 1.2 – Védrantais, 1.3 – PI 179901, 1.4 – PI 234 607, 1.5 – ARHBJ, 1.6 – PMR 45, 1.7 – PMR 6, 2.1 – WMR 29, 2.2 – Edisto 47, 2.3 – PI 414723, 2.4 – PMR 5, 2.5 – PI 124112, 2.6 – MR-1, 2.7 – PI 124111, 3.1 – PI 313970, 3.2 – Noy Yizre'el, 3.3 – PI 236355, 3.4 – Negro, 3.5 – Amarillo, 3.6 – Nantais Oblong, 3.7 – Ames 31282, 4.1 – SVI105

Tabulka 29 – Reakce testovaných izolátů *P. xanthii* na diferenčním souboru 22 genotypů *C. melo* (izoláty seřazeny chronologicky) (R – rezistentní reakce, S – náchylná reakce)

Číslo izolátu Px	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	4.1	
59/17	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
1/18	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
12/18	S	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
19/18	S	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S	R
22/18	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R
30/18	R	S	S	R	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	R
31/18	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R
22/21	S	S	S	R	S	S	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
26/21	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R
18/22	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R
26/22	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R
27/22	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S	R

Legenda: Genotypy Cucumis melo: 1.1 – Iran H, 1.2 – Védrantais, 1.3 – PI 179901, 1.4 – PI 234 607, 1.5 – ARHBJ, 1.6 – PMR 45, 1.7 – PMR 6, 2.1 – WMR 29, 2.2 – Edisto 47, 2.3 – PI 414723, 2.4 – PMR 5, 2.5 – PI 124112, 2.6 – MR-1, 2.7 – PI 124111, 3.1 – PI 313970, 3.2 – Noy Yizre'el, 3.3 – PI 236355, 3.4 – Negro, 3.5 – Amarillo, 3.6 – Nantais Oblong, 3.7 – Ames 31282, 4.1 – SVI105

Tabulka 30 - Převedení výsledků hodnocení intenzity sporulace jednotlivých testovaných izolátů *P. xanthii* na označení 1 pro kompatibilní (S) a 0 inkompatibilní (R) reakci genotypů *C. melo* diferenčního souboru

Číslo izolátu Px	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	4.1
59/17	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0
1/18	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0
12/18	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0
19/18	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0
22/18	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0
30/18	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0
31/18	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0
22/21	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
26/21	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0
18/22	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0
26/22	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
27/22	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0

Legenda: Genotypy Cucumis melo: 1.1 – Iran H, 1.2 – Védrañtais, 1.3 – PI 179901, 1.4 – PI 234 607, 1.5 – ARHBJ, 1.6 – PMR 45, 1.7 – PMR 6, 2.1 – WMR 29, 2.2 – Edisto 47, 2.3 – PI 414723, 2.4 – PMR 5, 2.5 – PI 124112, 2.6 – MR-1, 2.7 – PI 124111, 3.1 – PI 313970, 3.2 – Noy Yizre’el, 3.3 – PI 236355, 3.4 – Negro, 3.5 – Amarillo, 3.6 – Nantais Oblong, 3.7 – Ames 31282, 4.1 – SVI105

Tabulka 31 – Rasy detekované u izolátů *Podosphaera xanthii* pomocí nově navrhovaného systému podle *Lebedy et al.* (2021)

Číslo izolátu Px	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	4.1	Septetový kód
59/17	0	2	0	0	16	0	0	0	2	0	8	0	0	0	1	0	4	8	16	32	64	0	18.10.125.0
1/18	1	2	4	0	16	32	64	0	2	4	8	16	0	0	1	0	4	8	16	32	64	0	119.30.125.0
12/18	1	2	0	8	16	0	0	0	2	4	0	0	0	0	1	0	4	8	16	32	64	0	27.6.125.0
19/18	1	2	4	0	16	0	0	0	2	4	0	16	0	0	1	0	4	8	16	32	64	0	23.22.125.0
22/18	1	2	0	0	16	0	0	0	0	4	0	0	0	64	1	0	4	0	16	32	64	0	19.68.117.0
30/18	0	2	4	0	16	0	0	0	2	4	8	0	32	0	1	0	4	0	16	32	64	0	22.46.117.0
31/18	1	2	4	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	16	32	64	0	23.0.124.0
22/21	1	2	4	0	16	32	0	0	2	0	8	16	0	64	1	2	4	8	16	32	64	0	55.90.127.0
26/21	1	0	4	0	16	0	0	0	2	4	0	16	0	0	0	0	4	8	16	32	64	0	21.22.124.0
18/22	1	2	4	0	16	32	0	0	2	4	8	0	0	64	1	0	4	8	16	32	64	0	55.78.125.0
26/22	1	2	4	0	16	32	0	0	2	4	8	0	0	0	0	0	4	8	16	32	0	0	55.14.60.0
27/22	1	2	4	0	16	0	0	0	2	4	8	16	0	0	1	0	4	0	16	32	64	0	21.30.117.0

Legenda: Genotypy *Cucumis melo*: 1.1 – Iran H, 1.2 – Védraçais, 1.3 – PI 179901, 1.4 – PI 234 607, 1.5 – ARHBJ, 1.6 – PMR 45, 1.7 – PMR 6, 2.1 – WMR 29, 2.2 – Edisto 47, 2.3 – PI 414723, 2.4 – PMR 5, 2.5 – PI 124112, 2.6 – MR-1, 2.7 – PI 124111, 3.1 – PI 313970, 3.2 – Noy Yizre’el, 3.3 – PI 236355, 3.4 – Negro, 3.5 – Amarillo, 3.6 – Nantais Oblong, 3.7 – Ames 31282, 4.1 – SVI105

5.3 Mikroskopické pozorování vývoje padlí *Podospaera xanthii*

Bylo srovnáváno vizuální hodnocení intenzity sporulace izolátu 22/21 Px na 6 zvolených genotypech diferenciačního souboru patotypů a ras čeledi Cucurbitaceae s mikroskopickým pozorováním přítomnosti struktur nepohlavního stádia (konidioforů a konidií). Na základě výsledků z předchozího hodnocení byly genotypy C. melo vybrány tak, aby byly při mikroskopování zastoupeny jak genotypy rezistentní, tak náchylné. Byly vybrány dva rezistentní druhy: 2.6 – *Cucumis melo* MR - 1 a 4.1 – *Cucumis melo* SVI105 a čtyři virulentní druhy: 1.1 – *Cucumis melo* Iran H, 3.6 – *Cucumis melo* Nantais Oblong, 5 – *Cucurbita maxima* Goliáš a 6 – *Citrullus lanatus* Sugar Baby. U tří inokulovaných listových disků každého genotypu byly jednotlivé disky zabarveny anilínovou modří a pozorovány, vyhodnoceny a fotografovány (obrázky č. 10 a 11) pod mikroskopem 4., 7. a 11. den po inokulaci. V tabulce 32 je vyobrazeno hodnocení intenzity sporulace vybraných genotypů diferenciačního souboru patotypů a ras vůči padlí *P. xanthii*, přičemž hodnocení 0-1 vykazuje rezistentní reakci a hodnocení 2-4 reakci náchylnou. Výsledky, které jsou sepsány v tabulce 33 byly hodnoceny pomocí semikvantitativní metody, kdy byl hodnocen počet konidioforů a volné konidie. Na obrázku 10 můžeme pozorovat mycelium, volné konidie a velmi málo konidioforu na rezistentním genotypu 4.1 – *C. melo* SVI105. Na obrázku 11 se nachází velké množství konidioforů na náchylném genotypu 5 – *C. maxima* Goliáš.

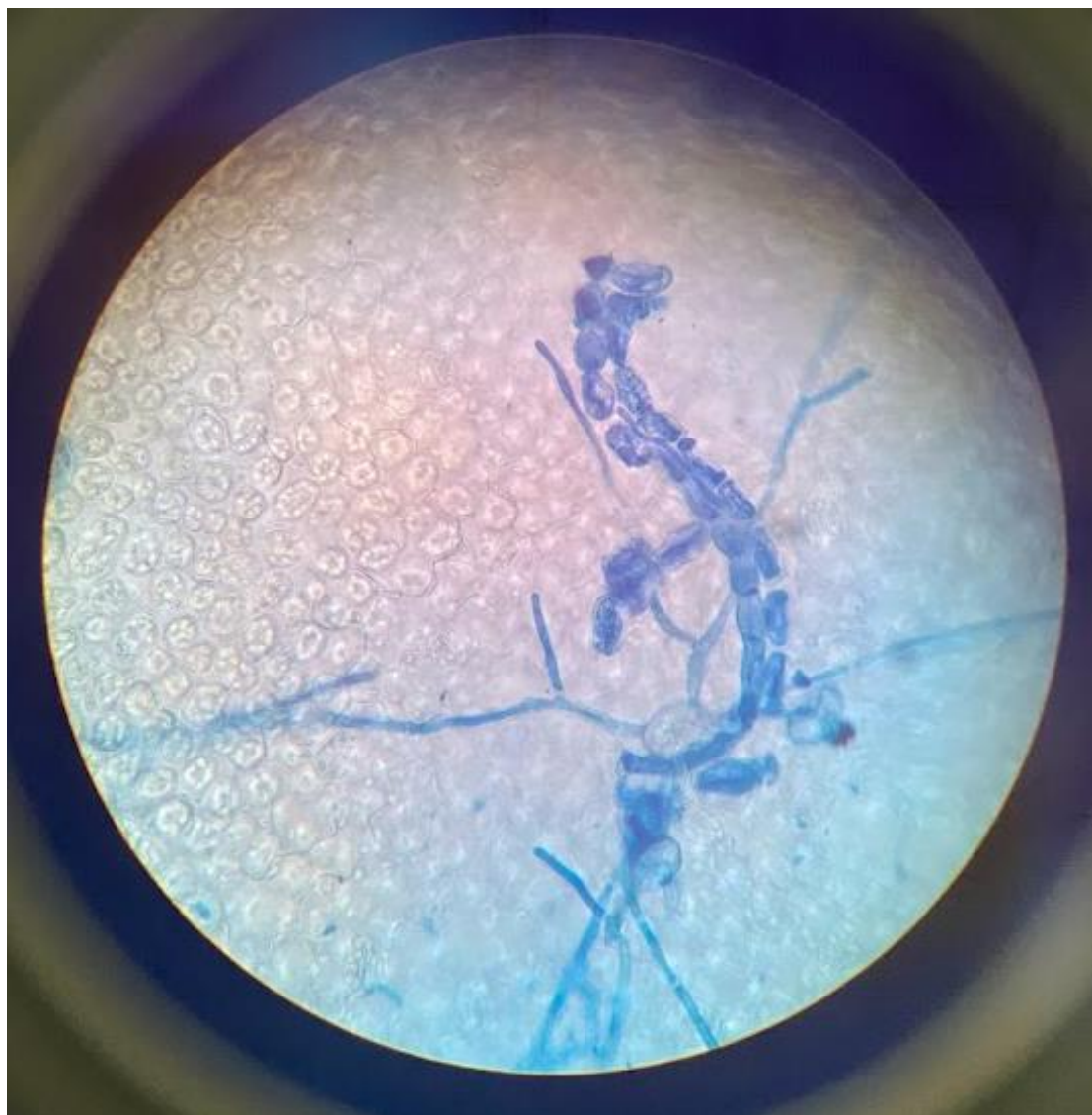
Tabulka 32 - Hodnocení intenzity sporulace vybraných genotypů *C. melo* diferenciačního souboru patotypů a ras vůči padlí *P. xanthii* izolátu 22/21

Číslo vybraného genotypu diferenciačního souboru	Hodnocení 4. den	Hodnocení 7.den	Hodnocení 11. den
5 – <i>C. maxima</i> Goliáš	1, 2, 1 (1,17)	2, 2, 2 (2)	4, 4, 4 (4)
2.6 – <i>C. melo</i> MR – 1	0, 0, 1 (0,33)	0, 0, 1 (0,33)	1, 0, 1 (0,67)
3.6 - <i>C. melo</i> Nantais Oblong	2, 2,5, 2 (2,17)	2, 3, 3, (2,67)	4, 4, 4 (4)
4.1 - <i>C. melo</i> SVI105	0, 1, 0 (0,33)	0, 1, 0 (0,33)	0, 1, 0 (0,33)
1.1 - <i>C. melo</i> Iran H	1, 2, 1,5 (1,5)	2, 2, 2 (2)	4, 4, 4, (4)
6 – <i>C. lanatus</i> Sugar Baby	0, 1, 1 (0,67)	1, 1,5, 1 (1,17)	3, 3, 2 (2,67)

Legenda: Hodnocení sporulace všech tří disků (v závorce vypočtený průměr těchto tří hodnot)

Tabulka 33 - Počet konidioforů a konidií izolátu 22/21 Px na listových discích pozorovaných pod mikroskopem

Číslo genotypu diferenciačního souboru		Doba odběru listových disků po inokulaci izolátem <i>P. xanthii</i>		
		4. den	7. den	11. den
		Sporulace (počet konidioforů a volných konidií)		
5 – <i>C. maxima</i> Goliáš	1	1-10 ¹	10 ² -10 ³	10-10 ² + volné konidie
	2	10-10 ²	10-10 ²	1-10 ¹ + volné konidie
	3	10-10 ²	10 ² -10 ³	10-10 ² + volné konidie
2.6 – <i>C. melo</i> MR - 1	1	1-10 ¹ + volné konidie	1-10 ¹	0
	2	1-10 ¹ + volné konidie	1-10 ¹	0
	3	1-10 ¹ + volné konidie	1-10 ¹	1-10 ¹
3.6 – <i>C. melo</i> Nantais Oblong	1	10 ² -10 ³	10 ³ <	10 ² -10 ³ + volné konidie
	2	10 ² -10 ³	10 ³ <	10-10 ² + volné konidie
	3	10 ² -10 ³	10 ² -10 ³	10-10 ² + volné konidie
4.1 – <i>C. melo</i> SVI105	1	0	1-10 ¹	1-10 ¹
	2	0	1-10 ¹	0
	3	1-10 ¹	1-10 ¹	0
1.1 – <i>C. melo</i> Iran H	1	10-10 ²	10 ³ <	10 ² -10 ³ + volné konidie
	2	10-10 ² + volné konidie	10 ² -10 ³	10-10 ² + volné konidie
	3	10-10 ²	10 ³ <	10-10 ² + volné konidie
6 – <i>C. lanatus</i> Sugar Baby	1	1-10 ¹	10-10 ²	10 ² -10 ³
	2	1-10 ¹	10 ² -10 ³	10-10 ² + volné konidie
	3	0	10-10 ²	10 ² -10 ³



Obrázek 10 – rezistentní genotyp *C. melo* SVI105 vůči izolátu *P. xanthii* 22/21



Obrázek 11 - Náchylný genotyp 5 – *C. maxima* Goliáš vůči izolátu *P. xanthii* 22/21

6 DISKUSE

V experimentální části této bakalářské práce byly zpracovány výsledky výzkumu patogenní variability izolátů padlí tykvovitých *Podosphaera xanthii* pocházejících z let 2017-2022 z území České republiky, které jsou součástí pracovní kolekce udržované Dr. Sedlákovou ve Fytopatologické laboratoři Katedry botaniky PřF UP v Olomouci.

Výsledky testování souboru izolátů *P. xanthii* z České republiky z let 2017-2022 na detekci patotypů zpracované v této BP ukázaly, že mezi izoláty *P. xanthii* existuje variabilita patotypová (na úrovni jejich hostitelského okruhu – tedy čeledi Cucurbitaceae) a že i v jednotlivých letech se lišila, a to i na relativně malém souboru otestovaných izolátů *P. xanthii* (12). Nebylo však záměrem experimentální části této BP otestovat velké množství izolátů na patotypy, což by ani vzhledem k náročnosti celého testování nebylo možné, a platí to rovněž i pro determinaci ras u tohoto souboru izolátů. Cílem však bylo získat informaci o patotypové/rasové variabilitě *P. xanthii* v období od roku 2017, zda je variabilní jako v předchozích letech či nikoliv, a tuto informaci jsem z výsledků svých experimentů mohla posoudit.

Nový soubor využívaný k determinaci a popisu patotypů byl stejně jako soubor používaný v předchozích letech tvořen šesti diferenciacními genotypy čeledi Cucurbitaceae navrženými Lebedou *et al.* (2008). Reakce testovaných izolátů padlí tykvovitých na úrovni patotypů z let 2017-2022 zpracované v rámci této bakalářské práce byly rozdílné, což dokazuje, že tento patogen je v ČR vysoce variabilní, což se shoduje s výsledky studia patogenní variability z let 2010-2012 (Sedláková *et al.*, 2014) a 2013-2016 (Rušáková, 2018). Některé patotypy *P. xanthii* se ve sledovaném období 2017-2022 vyskytovaly opakovaně, což je v souladu s výsledky Rušákové (2018).

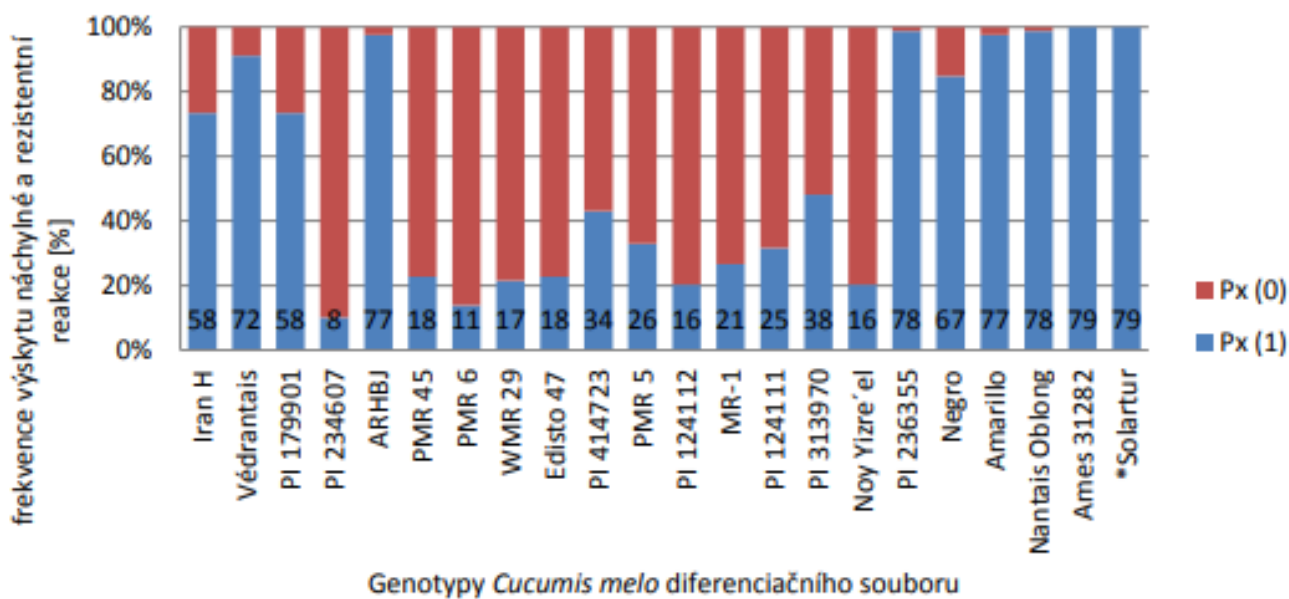
V letech 2010-2012 byly popsány patotypy 25, 27, 31, 47, 59 a 63 (Sedláková *et al.*, 2014), v letech 2013-2016 bylo popsáno 7 patotypů 25, 27, 31, 43, 57, 59 a 63 (Rušáková, 2018), ve srovnání s předchozími výsledky se vyskytly navíc patotypy 43 a 57 a patotyp 47 se nevyskytoval. Testování od roku 2017 do roku 2022 rozlišilo patotypy 27, 31, 57, 59 a 63. S výjimkou patotypů 25 a 43, které v letech 2017-2022 nebyly detegovány, tak ostatní patotypy, které jsem v rámci své BP na testovaném souboru izolátů *P. xanthii* rozlišila, se vyskytly i v předchozích letech.

Patotyp 27 se v letech 2017-2022 vyskytoval nejčastěji. Objevoval se také často během minulých období, ve kterých však převládal naopak jiný patotyp, a to 59 (Rušáková, 2018).

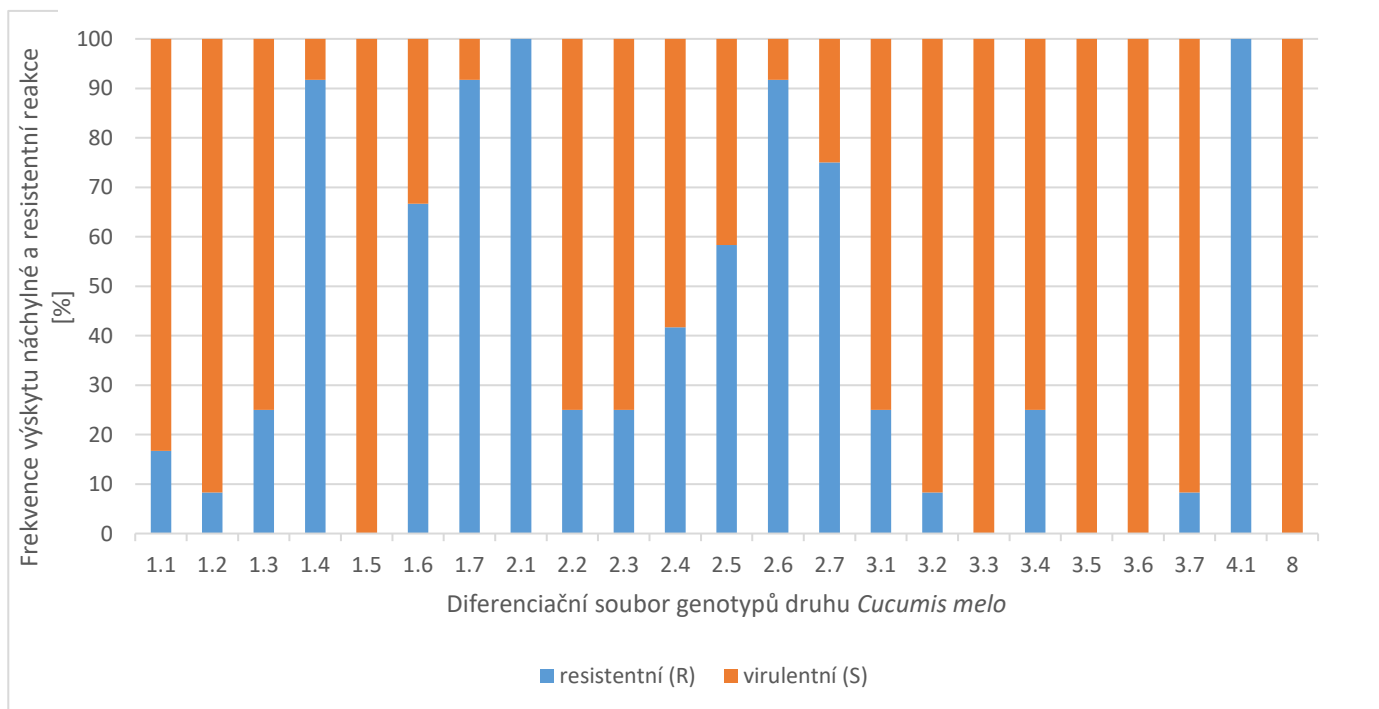
Patotypy během testovaného období v letech 2017-2022 vykazovaly převážně virulentní reakce k testovaným genotypům čeledi Cucurbitaceae diferenciačního souboru pro detekci patotypů. Převážně resistantní reakci vykazovaly 2 genotypy z diferenciačního souboru čeledi Cucurbitaceae, a to *Citrullus lanatus* Sugar Baby, který byl resistantní ze 75 % a *Cucumis melo* PMR 45, který vykazoval náchylnou reakci pouze vůči 33 % izolátů. Tyto dva genotypy prokazovaly shodné výsledky také v předchozích obdobích (Sedláková *et al.*, 2014; Rušáková, 2018).

Výsledky determinace ras *P. xanthii* na souboru 22 genotypů *Cucumis melo* (Lebeda *et al.*, 2021) potvrdily vysokou patogenní variabilitu detekovanou v předchozích letech (Lebeda *et al.* 2021; Sedláková *et al.* 2014; Rušáková, 2018), protože bylo na souboru 12 testovaných izolátů *Px* identifikováno 12 různých ras, tudíž byly všechny rasy unikátní a žádná z nich se neopakovala. Srovnat tyto výsledky s předchozími obdobími je vzhledem k přidanému poslednímu genotypu 4.1 – SVI105 složitější, ale pokud budeme srovnávat pouze první tři triplety, které se nacházely i v předchozím diferenciačním souboru (Lebeda *et al.*, 2008), rasa 23.0.124, která byla popsána v období 2013-2016 se shoduje s rasou 23.0.124.0 z testovaného období 2017-2022, jinak se žádné rasy neopakovaly. A i na rasové úrovni z hlediska počtu detekovaných ras v letech 2017-2022 se potvrdila odlišnost české populace *P. xanthii*.

Z pohledu frekvence výskytu náchylné a resistantní reakce genotypů *C. melo* vůči *P. xanthii* byly tyto reakce vysoce variabilní, což odpovídá rovněž výsledkům z předchozích let (Lebeda *et al.* 2021; Sedláková *et al.* 2014; Rušáková, 2018) a můžeme pozorovat v grafu 5 (Rušáková, 2018) a 6 (vlastní výsledky BP). Zcela náchylné byly genotypy 1.5 – ARHBJ, 3.5 – Amarillo a 3.6 – Nantais Oblong, tyto genotypy byly vysoce náchylné také v letech 2013-2016. Rozdílné reakce ve srovnání mezi obdobími 2013-2016 a 2017-2022 byly u genotypů 2.2 – Edisto 47, 2.5 – PI 124112 a 3.2 – Noy Yizre 'el.



Graf 5 - Frekvence výskytu náchylné/rezistentní reakce genotypů *Cucumis melo* diferenciačního souboru v reakci na testované izoláty *Podosphaera xanthii* v letech 2013–2016 (v %) (Rušáková, 2018)



Graf 6 - Frekvence výskytu náchylné/rezistentní reakce genotypů *Cucumis melo* diferenciačního souboru v reakci na testované izoláty *Podosphaera xanthii* v letech 2017-2022 (v %) (vlastní výsledky)

Experimentální část této BP byla doplněna také mikroskopickým úkolem, kdy z výsledků experimentů determinace patotypů a ras *P. xanthii* byly vybrány dva resistantní 2.6 – *Cucumis melo* MR - 1 a 4.1 – *Cucumis melo* SVI105 a čtyři náchylné genotypy 1.1 – *Cucumis melo* Iran H, 3.6 – *Cucumis melo* Nantais Oblong, 5 – *Cucurbita maxima* Goliáš a 6 – *Citrullus lanatus* Sugar Baby čeledi Cucurbitaceae a byl mikroskopicky sledován vývoj izolátu 22/21 *Px* z pohledu přítomnosti struktur nepohlavního stadia (konidioforů, konidií) a jejich četnosti a srovnáván s vizuálním hodnocením disků dle metodiky Lebedy (1986) a Lebedy *et al.* (2021) popsané podrobně v kapitole 4.4. na rezistentních druzích *C. melo* byly podle očekávání pozorované převážně jen neklíčící konidie, a pokud některé přece jen klíčily a vytvořily mycelium, tak bylo zaznamenáno jen velmi malé množství nově utvořených konidioforů a volných konidií z nich oddělených. Odlišná situace byla zjištěna na náchylných genotypech *C. melo*, kdy bylo naopak pozorováno velké množství nových konidioforů a volných konidií z těchto rozpadlých konidioforů a výsledky tak odpovídaly výsledkům vizuálního hodnocení disků pomocí semikvantitativní metody podrobně popsané v kapitole 4.4. Výsledky z experimentů zpracovaných v této BP ukázaly, že pokud studujeme patogenní variabilitu padlí tykvovitých, tak je potřeba ji studovat komplexně: a to nejen z pohledu patogena (*P. xanthii*), ale rovněž i z pohledu hostitelských genotypů *C. melo* a je-li to možné (máme-li k tomu technické vybavení (mikroskop...) doplnit ho mikroskopickým pozorováním vybraných rezistentních /náchylných genotypů *C. melo* na izolát *P. xanthii*.

Zároveň se ukázala potřeba a nutnost existence jednotného systému pro determinaci a denominaci patotypů a ras padlí tykvovitých, protože jsem výsledky získané v experimentech zpracovaných v této bakalářské práci mohla srovnávat jen s výsledky týmu prof. Lebeda a Dr. Sedlákové a jejich studentů (Evy Rušákové). Tedy pracoviště, kde se studiu patogenní variability věnují dlouhodobě a systematicky. Zahraniční práce na téma patogenní variability existují také, např. práce autorů Honga *et al.* z roku 2018, o které jsem se v kapitole 3.3 literárního přehledu zmiňovala podrobněji. A také např. přehledová práce McCreighta *et al.* z roku 2012, ve které jsou shrnuty všechny dosud popsané rasy *P. xanthii* na souboru 37 genotypů *C. melo* včetně jejich pojmenování. Jelikož je to však práce typu review, zpracována na základě informací od autorů používajících různé diferenciacní soubory pro detekci ras, různá pojmenování ras, tak výsledná rozsáhlá tabulka všech popsaných ras působí velmi složitě, a ne příliš přehledně a ne ke všem 37 genotypům *C. melo* se autorovi podařilo získat všechny potřebné informace.

7 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat v teoretické části literární rešerši zaměřenou na charakteristiku čeledi Cucurbitaceae a patogena *Podosphaera xanthii*, orientovanou především na studium patogenní variability padlí tykvovitých na úrovni patotypů a ras ve světě a v České republice.

V experimentální části byly vyhodnoceny výsledky testování patogenní variability (patotypů a ras) u 12 izolátů padlí *Podosphaera xanthii* pocházejících z let 2017-2022 z území České republiky, které jsou součástí pracovní kolekce udržované Dr. Sedlákovou ve Fytopatologické laboratoři Katedry botaniky PřF UP v Olomouci. Ke studiu byla použita modifikovaná metoda listových disků podle Lebedy *et al.* (2008) a patogenní variability izolátů *P. xanthii* byla testována pomocí nově navrženého systému pro determinaci a denominaci padlí tykvovitých Lebedou *et al.* (2008) a Lebedou *et al.* (2021).

Soubor pro popis patotypů byl složen ze 6 genotypů čeledi Cucurbitaceae navržených Lebedou *et al.* (2008). Celkem bylo identifikováno pět patotypů, a to 27, 31, 57, 59 a 63, přičemž byly nejčastěji popsány patotypy 27 a 59. Výsledky testování ukázaly mezi diferenciačními genotypy čeledi Cucurbitaceae převahu náchylné reakce s výjimkou těchto dvou diferenciačních genotypů *Citrullus lanatus* Sugar Baby a *Cucumis melo* PMR 45.

Pro výzkum patogenní variability na úrovni rasové byl využit soubor 22 genotypů *Cucumis melo* podle Lebedy *et al.* (2021). Celkem bylo na 12 izolátech padlí *P. xanthii* rozlišeno 12 různých ras, což znamená, že každá rasa byla unikátní. Z pohledu frekvence výskytu náchylné a resistantní reakce genotypů *C. melo* převažovaly v letech 2017-2022 převážně náchylné reakce s výjimkou genotypů 2.1 – WMR 29 a nově přidaného 4.1 – SVI105, který byly zcela resistantní a genotypů 2.6 – MR – 1 a 3.2 – Noy Yizre 'el, které byly náchylné pouze vůči jednomu testovanému izolátu, ke zbývajícím však byly zcela resistantní.

Dále byl mikroskopicky sledován vývoj izolátu 22/21 *P. xanthii* z pohledu přítomnosti struktur nepohlavního stadia (konidioforů, konidií) a jejich četnosti a srovnáván s vizuálním hodnocením disků vybraných genotypů čeledi Cucurbitaceae dle metodiky Lebedy (1986) a Lebedy *et al.* (2021) jednalo se o a dva resistantní a čtyři náchylné genotypy čeledi Cucurbitaceae, které byly vybrány z diferenciačních souborů pro popis patotypů a ras, podle jejich reakcí během testování. Na resistantních druzích *C. melo* byly podle očekávání pozorované převážně jen neklíčící konidie, a pokud některé přece jen klíčily a vytvořily mycelium, tak bylo zaznamenáno jen velmi malé množství nově utvořených konidioforů a volných konidií z nich oddělených. Odlišná situace byla zjištěna na náchylných genotypech

C. melo, kdy bylo naopak pozorováno velké množství nových konidioforů a volných konidií z těchto rozpadlých konidioforů a výsledky tak odpovídaly výsledkům vizuálního hodnocení disků pomocí semikvantitativní metody.

8 LITERATURA

Andolfo, G., Di Donato, A., Darrudi, R., Errico, A., Aiese Cigliano, R., & Ercolano, M. R. (2017). Draft of Zucchini (*Cucurbita pepo* L.) Proteome: a Resource for Genetic and Genomic Studies. *Frontiers in genetics*, 8, 181. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00181>

Bardin M, Nicot PC, Normand P, Lemaire JM. (1997) Virulence variation and DNA polymorphism in *Sphaerotheca fuliginea*, causal agent of powdery mildew on cucurbits. *Europ J Plant pathol.* 103: 545- 554.

Bardin, Carlier, & Nicot. (1999). Genetic differentiation in the French population of *Erysiphe cichoracearum*, a causal agent of powdery mildew of cucurbits. *Plant Pathology*, 48(4), 531-540.

Bardin, M., Dogimont, C., Nicot, P., & Pitrat, M. (1997, May). Genetic analysis of resistance of melon line PI 124112 to *Sphaerotheca fuliginea* and *Erysiphe cichoracearum* studied in recombinant inbred lines. In i International Symposium on Cucurbits 492 (pp. 163-168).

Bergová, B. (2021) Problematika patogenní variability padlí na salátu (*Golovinomyces bolayi*). Olomouc. bakalářská práce (Bc.). UNIVERZITA PALACKÉHO v OLOMOUCI. Přírodovědecká fakulta

Bertrand, F. (1991). Les oïdiums des Cucurbitacées: Maintien en culture pure, étude de leur variabilité et de la sensibilité chez le melon (Doctoral dissertation, Paris 11).

Bertrand, F. (2002). AR Hale's Best Jumbo, a new differential melon variety for *Sphaerotheca fuliginea* races in leaf disk test. *Proc Cucurbitaceae 2002*. Naples, Florida, 234-237.

Bertrand, F., Pitrat, M., Glandard, A. & Lemaire, J.M. (1992) Diversité et variabilité des champignons responsables de l'oïdium des cucurbitacées. *Phytoma*, 438, 46–49.

Bisognin, D. A. (2002). Origin and evolution of cultivated cucurbits. *Ciência Rural*, 32, 715-723.

Braun, U., Cook, R. T. A. (2012):Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews). CBS Biodiversity Series No. 11:1-707

Braun, U., Cook, T.A. , Inman, A.J. and Shin, H.D. (2002) The taxonomy of powdery mildew fungi In: The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise (Bélanger R.R., Bushnell W.R., Dik A.J. and Carver T.L.W., eds), pp. 13–55. Saint Paul, MN: APS Press

Braun, U., Takamatsu, S. (2000). Phylogeny of *Erysiphe*, *Microsphaera*, *Uncinula* (Erysipheae) and *Cystotheca*, *Podosphaera*, *Sphaerotheca* (Cystothecae) inferred from rDNA

ITS sequences – some taxonomic consequences. *Schlechtendalia* 4: 1–33. Braun, U., Cook, R. T. A., Inman, A. J., Shin, H.-D. (2002): The taxonomy of the powdery mildew fungi. In: Bélanger, R. R., Bushnell, W. R., Dik, A. J., Carver, T. L. W. (eds.): *The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise*. St Paul, MN, USA, APS Press, pp. 13–55

Cui, L., Siskos, L., Wang, C., Schouten, H. J., Visser, R. G., & Bai, Y. (2022). Breeding melon (*Cucumis melo*) with resistance to powdery mildew and downy mildew. *Horticultural Plant Journal*, 8(5), 545-561.

Dangl, J. L., & Jones, J. D. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *nature*, 411(6839), 826-833.

De Miccolis Angelini, R. M., Pollastro, S., Rotondo, P. R., Laguardia, C., Abate, D., Rotolo, C., & Faretra, F. (2019). Transcriptome sequence resource for the cucurbit powdery mildew pathogen *Podosphaera xanthii*. *Scientific Data*, 6(1), 95.

Del Pino, D., Olalla, L., Pérez-García, A., Rivera, M. E., García, S., Moreno, R., ... & Torés, J. A. (2002). Occurrence of races and pathotypes of cucurbit powdery mildew in southeastern Spain. *Phytoparasitica*, 30, 459-466.

Dogimont, C., and Sari, N. (2022). Gene list for melon. *Cucurbit Genet. Coop. Rep.* 45: 1–47.

Dorušková, V. (2008) *BOTANY.cz: Cucumis sativus* [online]. O. s. Přírodovědná společnost, BOTANY.cz

Dostálová, V., (2023) *Peronospora destructor* (plíseň česnekovitých). Olomouc. bakalářská práce (Bc.). UNIVERZITA PALACKÉHO v OLOMOUCI. Přírodovědecká fakulta

Ebert, A. W., E. B. M. Drummond, P. Giovannini and M. van Zonneveld. (2023) a global conservation strategy for crops in the Cucurbitaceae family. Global Crop Diversity Trust. Bonn, Germany. Version 2 (minor corrections). DOI: 10.5281/zenodo.769652

Faisal, M., Saeed, A., & Shahzad, D. (2019). Portrait of the synthesis of some potent anti-inflammatory natural products. In *Discovery and Development of Anti-Inflammatory Agents from Natural Products* (pp. 141-183).

Fraser, C. M., & Chapple, C. (2011). The phenylpropanoid pathway in Arabidopsis. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 9.

Glawe D. A., Grove G. G. (2023) *Powdery Mildew Diseases*. Pacific Northwest Handbooks[online].<https://pnwhandbooks.org/plantdisease/pathogenarticles/common/fungi/powdery-mildew-diseases>

Gryczová, K. (2013) Nový systém pro determinaci a popis patotypů a ras padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*). Olomouc. bakalářská práce (Bc.). UNIVERZITA PALACKÉHO v OLOMOUCI. Přírodovědecká fakulta

Guo, S., Sun, H., Xu, Y., & Fei, Z. (2020). *Citrullus lanatus*. Trends in Genetics, 36(6), 456-457.

Hong, Y. J., Hossain, M. R., Kim, H. T., Park, J. I., & Nou, I. S. (2018). Identification of two new races of *Podosphaera xanthii* causing powdery mildew in melon in South Korea. The plant pathology journal, 34(3), 182.

Hosoya, K., Kuzuya, M., Murakami, T., Kato, K., Narisawa, K., & Ezura, H. (2000). Impact of resistant melon cultivars on *Sphaerotheca fuliginea*. Plant Breeding, 119(3), 286-288.

Chung, S.-F., Staub, J. E., and Chen, J.-F. (2006). Molecular phylogeny of *Cucumis* species as revealed by consensus chloroplast SSR marker length and sequence variation. Genome 49: 219–229. doi:10.1139/g05-101

Jahn M, Munger HM, McCreight JD (2002) Breeding cucurbit crops for powdery mildew resistance. In: Bélanger RR, Bushnell WR, Dik AJ, Carver LW (eds.) The Powdery Mildews: a Comprehensive Treatise. APS Press, St. Paul, MN, USA, pp 239-248.

Jarvis, W., Gubler, W. G., Grove, G. G., Belanger, R. R., Bushnell, W. R., Dik, A. J., & Carver, T. L. (2002). The powdery mildews. a comprehensive treatise.

Jee, Hyeong-Jin, et al. (2006) "Symptoms and Damages of Powdery Mildew on Leafy Lettuce Caused by *Podosphaera Fusca*." Research in Plant Disease, vol. 12, no. 3, Korean Society of Plant Pathology, pp. 294–297. Crossref, doi:10.5423/rpd.2006.12.3.294.

Kesh, H., & Kaushik, P. (2021). Advances in melon (*Cucumis melo* L.) breeding: An update. *Scientia Horticulturae*, 282, 110045.

Kolíško, M. (2017). Moderní metody sekvenování DNA. *Živa*, 3, 2017

Koubková L., Vojtěšek B., Vyzula R. (2014) Sekvenování nové generace a možnosti jeho využití v onkologické praxi. *Klin Onkol* 2014; 27 (Suppl 1): S61–S68.

Krumová K. a Cosa G., (2016) Singlet Oxygen: Applications in Biosciences and Nanosciences, ed. S. Nonell, C. Flors, S. Nonell a C. Flors, The Royal Society of Chemistry, kap. 1, str. 1-21.

Křístková, E. (1999). Powdery mildew of cucurbits in the Czech Republic-species, pathotype and race spectra. In *Proc 1st Int Powdery Mildew Conf. Avignon, 1999* (pp. 14-15).

Křístková, E., & Lebeda, A. (1997, May). Searching of *Cucumis sativus* L. genetic resources for field resistance to powdery mildew of cucurbits. In *I International Symposium on Cucurbits 492* (pp. 371-376).

Křístková, E., Lebeda, A., & Katovská, J. (2002). Response of *Cucumis melo* genotypes MR-1 and PI 124112 to Czech isolates of cucurbit powdery mildew.

Křístková, E., Lebeda, A., & Sedláková, B. (2009). Species spectra, distribution and host range of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic, and in some other European and Middle Eastern countries. *Phytoparasitica*, 37, 337-350.

Lebeda A, Sedláková B., Křístková E, Vajdová M., McCreight J.D. (2012). Application of a new approach for characterization and denomination of races of cucurbit powdery mildews- a case study of Czech pathogen populations. In: *Cucurbitaceae 2012, Proceedings of the Xth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae*, (eds. Sari N., Solmaz I., Aras V.) Anatya (Turkey), pp. 172-180.

Lebeda A., Křístková E., Sedláková B., Coffey, M.D., McCreight J.D., (2011). Gaps and perspectives of pathotype and race determination in *Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*. *Mycoscience* 52: 159-164.

Lebeda A., Křístková E., Sedláková B., McCreight J.D., Coffey M.D. (2008). New concept for determination and denomination of pathotypes and races of cucurbit powdery mildew. In: Pitrat M. (Ed.): *Cucurbitaceae 2008, IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae*. INRA, Avignon, France, May 21-24, 2008, pp. 125-134.

Lebeda A., Sedláková B. (2010). Screening for resistance to cucurbit powdery mildew (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*). In: *Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Diseases*. IAEA, Vienna, Austria 2010, chapter 19, pp. 295-307.

Lebeda, A. & Křístková, E. & Sedláková, Božena & McCreight, James & Coffey, Michael. (2008). New concept for determination and denomination of pathotypes and races of cucurbit powdery mildew. *Proc 9th EUCARPIA Meet Genetics Breeding Cucurbitaceae*. 125-134.

Lebeda, A. (1986). Padlí okurkové. *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea* (Cucumber powdery mildew. *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea*). *Methods of testing vegetable crops for resistance to plant pathogens*, 87-91.

Lebeda, A., & Sedláková, B. (2006). Identification and survey of cucurbit powdery mildew races in Czech populations.

Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B. & McCreight, J.D. (2016b). Initiative for international cooperation of researchers and breeders related to determination and

denomination of cucurbit powdery mildew races. In: Kozik, E.U. & Paris, H.S. (Eds.) Proceedings of Cucurbitaceae 2016, the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, July 24–28, 2016. Skierniewice, Poland: Wydawnictwo SIGMA Sp. J., pp. 148–152.

Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B. & McCreight, J.D. (2018b) Initiative for uniform cucurbit powdery mildew race determination and denomination: status of race differentials. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 41, 17–19

Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B., McCreight, J.D., Coffey, M.D. (2016a). Cucurbit powdery mildews: Methodology for objective determination and denomination of races. European Journal of Plant Pathology 144: 399-410. DOI 10.1007/s10658-015-0776-7 <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10658-015-0776-7.pdf>

Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B., McCreight, J.D., Kosman, E. (2018a). Virulence variation of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic – population approach. Eur J Plant Pathol.(2018) 152: 309-326. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1476-x>

Lebeda, A., Mieslerová, B., Huszár, J., Sedláková, B. (2017). Padlí kulturních a planě rostoucích rostlin. Taxonomie, biologie, ekologie a epidemiologie, mechanismy rezistence, šlechtění na odolnost, metody experimentální práce, diagnostika a ochrana rostlin. Agriprint, Olomouc (ISBN 978-80-87091-69-2).

Lebeda, A., Mieslerová, B., Petrželová, I., & Korbelová, P. (2013). Host specificity and virulence variation in populations of lettuce powdery mildew pathogen (*Golovinomyces cichoracearum* s. str.) from prickly lettuce (*Lactuca serriola*). Mycological Progress, 12, 533-545.

Lebeda, A., Mieslerová, B., Petrželová, I., Korbelová, P., & Česneková, E. (2012). Patterns of virulence variation in the interaction between *Lactuca* spp. and lettuce powdery mildew (*Golovinomyces cichoracearum*). Fungal Ecology, 5(6), 670-682.

Lebeda, A., Sedláková, B., & Křístková, E. (2007a). Temporal changes in pathogenicity structure of cucurbit powdery mildew populations. Acta Horticulturae, 731, 381–388

Lebeda, A., Sedláková, B., Křístková, E., McCreight, J. D., den Hertog, M., & Reitsma, K. (2022). Development and Availability of a Melon Differential Set for Determination of Virulence Variation of Cucurbit Powdery Mildews (*Podosphaera xanthii* and *Golovinomyces orontii*). Cucurbit Genetics Cooperative Report, 44, 15-19.

Lebeda, A., Sedláková, B., Křístková, E., Widrlechner, M. P., & Kosman, E. (2021). Understanding pathogen population structure and virulence variation for efficient resistance breeding to control cucurbit powdery mildews. Plant Pathology, 70(6), 1364-1377.

Lebeda, Aleš & Urban, Jiří. (2004). Distribution, harmfulness and pathogenic variability of cucurbit downy mildew in the Czech Republic. *Acta fytotechnica et zootechnica*. 7.

Li, D., Cuevas, H.E., Yang, L. et al. (2011) Syntenic relationships between cucumber (*Cucumis sativus* L.) and melon (*C. melo* L.) chromosomes as revealed by comparative genetic mapping. *BMC Genomics* 12, 396. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-396>

Longzhou, L., Xiaojun, Y., Run, C., Junsong, P., Huanle, H., Lihua, Y., ... & Lihuang, Z. (2008). Quantitative trait loci for resistance to powdery mildew in cucumber under seedling spray inoculation and leaf disc infection. *Journal of Phytopathology*, 156(11-12), 691-697.

Loubová, V. (2022) Biologické přípravky v ochraně vůči padlí dýňovitých. Olomouc. diplomová práce (Mgr.). UNIVERZITA PALACKÉHO v OLOMOUCI. Přírodovědecká fakulta

Lust, T. A., & Paris, H. S. (2016). Italian horticultural and culinary records of summer squash (*Cucurbita pepo*, Cucurbitaceae) and emergence of the zucchini in 19th-century Milan. *Annals of botany*, 118(1), 53-69.

Ma, L., Wang, Q., Zheng, Y., Guo, J., Yuan, S., Fu, A., ... & Xu, Y. (2022). Cucurbitaceae genome evolution, gene function, and molecular breeding. *Horticulture Research*, 9, uhab057.

McCreight, J. D., Coffey, M. D., Sedlakova, B., & Lebeda, A. (2012). Cucurbit powdery mildew of melon incited by *Podosphaera xanthii*: global and western US perspectives.

Mieslerová, B., Cook, R. T., Wheeler, C. P., & Lebeda, A. (2022). Ecology of Powdery Mildews—Influence of Abiotic Factors on their Development and Epidemiology. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1-26.

Michalcová, K. (2015) Studium variability padlí na salátu (*Golovinomyces cichoracearum*). Olomouc. bakalářská práce (Bc.). UNIVERZITA PALACKÉHO v OLOMOUCI. Přírodovědecká fakulta

Niu, J., Cao, Y., Lin, X., Leng, Q., Chen, Y., & Yin, J. (2018). Field and laboratory screening of anthurium cultivars for resistance to foliar bacterial blight and the induced activities of defence-related enzymes. *Folia horticultrae*, 30(1), 129-137.

Paris, H. S. (2015). Origin and emergence of the sweet dessert watermelon, *Citrullus lanatus*. *Ann. Bot.* 116: 133–148. doi:10.1093/aob/mcv077

Paris, H. S. (2016). Germplasm enhancement of *Cucurbita pepo* (pumpkin, squash, gourd: Cucurbitaceae): progress and challenges. *Euphytica* 208: 415–438. doi:10.1007/s10681-015-1605-y

Paris, H. S., & Brown, R. N. (2005). The genes of pumpkin and squash. *HortScience*, 40(6), 1620-1630.

Paris, H. S., and Kabelka, E. (2008-2009). Gene list of *Cucurbita* species, 2009. Cucurbit Genet. Coop. Rep. 31– 32: 44–69.

Paris, H. S., and Padley, L. D. Jr., (2014-2015). Gene List for *Cucurbita* species, 2014. Cucurbit Genet. Coop. Rep. 37– 38: 1–14. https://cucurbit.info/wp-content/uploads/2018/10/gene14_squash.pdf

Pérez-García, A., Romero, D., Fernández-Ortuño, D., López-Ruiz, F., De Vicente, A., & Torés, J. A. (2009). The powdery mildew fungus *Podosphaera fusca* (synonym *Podosphaera xanthii*), a constant threat to cucurbits. *Molecular plant pathology*, 10(2), 153–160. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00527.x>

Peskett M. (2018). Powdery mildew Prevention for Pumpkins. Načteno z <https://www.growlikegrandad.co.uk/allotment/pests-diseases/powdery-mildew-prevention-pumpkins.html>

Petřeková V. (2018). Atlas vybraných druhů padlí (řád Erysiphales) v České republice. 1. Praha: Academia. ISBN 978-80-200-2800-6.

Pierce, L. K., and Wehner, T. C. (1990). Review of genes and linkage groups in cucumber. *HortScience* 25: 605–615. doi:10.21273/HORTSCI.25.6.605

Pitrat, M., Dogimont, C., & Bardin, M. (1998). Resistance to fungal diseases of foliage in melon. In J. D. McCreight (Ed.), *Cucurbitaceae '98: Evaluation and enhancement of cucurbit germplasm* (pp. 167–173). Alexandria: ASHS Press.

Renner, S.S., Schaefer, H., Kocyan, A. (2007). Phylogenetics of Cucumis (Cucurbitaceae): Cucumber (*C. sativus*) belongs in an Asian/Australian clade far from melon (*C. melo*). *BMC Evolutionary Biology* 7: 58.

Rušáková, E. (2016) Výzkum patogenní variability v populacích padlí tykvovitých v České republice (2001-2009). Olomouc. bakalářská práce (Bc.). UNIVERZITA PALACKÉHO v OLOMOUCI. Přírodovědecká fakulta

Rušáková, E. (2018) Patogenní variabilita padlí dýňovitých v České republice v letech 2013-2016. Olomouc. diplomová práce (Mgr.). UNIVERZITA PALACKÉHO v OLOMOUCI. Přírodovědecká fakulta

Sapak, Z., Melloy, P., Minchinton, E.J. et al. (2023) The influence of temperature and vapour pressure deficit on conidia germination and germ tube production in an Australian *Podosphaera xanthii* isolate. *Eur J Plant Pathol* 166, 315–328. <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02664-5>

Sebastian, P., Schaefer, H., Telford, I.R.H., Renner, S.S. (2010). Cucumber (*Cucumis sativus*) and melon (*C. melo*) have numerous wild relatives in Asia and Australia, and the sister

species of melon is from Australia. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 107: 14269–14273.

Sedláková, B., & Lebeda, A. (2010). Temporal population dynamics of cucurbit powdery mildews (*Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*) in the Czech Republic. In J. A. Thies, S. Kousik, & A. Levi (Eds.), Cucurbitaceae 2010 proceedings (pp. 244–247). Alexandria: American Society for Horticultural Science

Sedláková, B., Lebeda, A., Gryczová, K., & Křístková, E. (2014). Virulence structure (pathotypes, races) of cucurbit powdery mildew populations in the Czech Republic in the years 2010–2012. Cucurbitaceae 2014 proceedings, 28-31.

Schaefer, H., and Renner, S. S. (2011). Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). *Taxon* 60: 122–138. doi:10.1002/tax.601011

Schaffer, Art & Paris, Harry. (2003). MELONS, SQUASHES, AND GOURDS. 10.1016/B0-12-227055-X/00760-4.

Schaffer, Arthur & Paris, Harry. (2016). Melons, Squashes, and Gourds. 10.1016/B978-0-08-100596-5.03426-0

Simpson M. . (2010) Plant systematics, 2nd edn. Academic Press, London, pp 341–344

Siskos, L., Cui, L., Wang, C., Visser, R. G., Bai, Y., & Schouten, H. J. (2022). A new challenge in melon resistance breeding: the ToLCNDV case. *Euphytica*, 218(9), 129.

Sitterly, W. R. (1972). Breeding for disease resistance in cucurbits. *Annu. Rev. Phytopathol.* 10: 471–490. doi:10.1146/annurev.py.10.090172.002351

Sitterly, W. R., (1978). Powdery mildews of cucurbits. In *The Powdery Mildews*; Spencer, D. M. Ed. Academic Press: London, UK, pp 359–379.

SLAVÍK, Bohumil (ed.). (2000). *Květena České republiky*. 6. Praha: Academia. ISBN 80-200-0306-1.

Sun, H., Wu, S., Zhang, G., Jiao, C., Guo, S., Ren, Y., ... & Xu, Y. (2017). Karyotype stability and unbiased fractionation in the paleo-allotetraploid *Cucurbita* genomes. *Molecular plant*, 10(10), 1293-1306.

Townsend G.R., Heuberger J.V. (1943): Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Report* 27(17): 340–343.

Vielba-Fernández, A.; Polonio, Á.; Ruiz-Jiménez, L.; de Vicente, A.; Pérez-García, A.; Fernández-Ortuño, D. (2020) Fungicide Resistance in Powdery Mildew Fungi. *Microorganisms*, 8, 1431. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091431>

Vobořil, P. (2012) BOTANY.cz: *Lagenaria siceraria* [online]. O. s. Přírodovědná společnost, BOTANY.cz

Vobořil, P. (2014) BOTANY.cz: *Cucurbita moschata* [online]. O. s. Přírodovědná společnost, BOTANY.cz

Vobořil, P. (2015) BOTANY.cz: *Cucurbita pepo* [online]. O. s. Přírodovědná společnost, BOTANY.cz

Wehner, T. C. (2005-2006). Gene List 2005 for Cucumber. Cucurbit Genet. Coop. Rep. 28–29: 105–141.

Weng, Y., & Sun, Z. (2011). Major cucurbit crops. Genetics, Genomics and Breeding of Cucurbits”(YH Wang, TK Behera, C. Kole, eds.). CRC Press, Florida, USA, 1-16.

Weng, Y., and Wehner, T. C. (2016). Cucumber Gene Catalog 2017. Cucurbit Genet. Coop. Rep. 39 & 40: 17–27

Wu, S., Shamimuzzaman, M. D., Sun, H., Salse, J., Sui, X., Wilder, A., ... & Fei, Z. (2017). The bottle gourd genome provides insights into Cucurbitaceae evolution and facilitates mapping of a Papaya ring-spot virus resistance locus. The Plant Journal, 92(5), 963-975.

Xiang, Y., Miller, A. N., McGrath, M., & Babadoost, M. (2020). Genotyping-by-sequencing for analysis of the genetic variation of *Podosphaera xanthii*, incitant of cucurbit powdery mildew. Plant disease, 104(3), 951-957.

Xu, X., Liu, X., Tan, M., Qi, X., Xu, Q., & Chen, X. (2020). First report of powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii* on *Cucumis dipsaceus* in China. Plant Dis, 104(3).

Zhang, G., Ren, Y., Sun, H. et al. (2015) a high-density genetic map for anchoring genome sequences and identifying QTLs associated with dwarf vine in pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.). BMC Genomics 16, 1101. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2312-8>

Zhang, S., Liu, J., & Xu, B. (2021). Differential responses of *Cucurbita pepo* to *Podosphaera xanthii* reveal the mechanism of powdery mildew disease resistance in pumpkin. Frontiers in Plant Science, 12, 633221.

Zlochová K. (1990): Fytopatogénne mikromycéty čeľade Erysiphaceae parazitujúce na hostiteľských rastlinách čeľade Cucurbitaceae na území Slovenska. [Autoreport of Ph.D. Thesis.] Slovenská akadémia vied, Bratislava.