Miroslava Hrdlicová
Katarína Bojnanská

Metodika testovania odolnosti obilnín na múčnatku trávovú v poľných a v laboratórnych podmienkach

Metodika pre prax

NÁRODNÉ POĽNOHOSPODÁRSKE A POTRAVINÁRSKE CENTRUM
VÝSKUMNÝ ÚSTAV RASTLINNEJ VÝROBY

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-20-0246 a Zmluvy č. APVV-18-0154

© Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav rastlinnej výroby, Piešťany, 2023

Metodika testovania odolnosti obilnín na múčnatku trávovú v poľných a v laboratórnych podmienkach

Metodika pre prax

Miroslava Hrdlicová

Katarína Bojnanská

Abstrakt

Rastliny majú vyvinutých niekoľko obranných stratégií na boj proti kolonizácii patogénmi. Prirodzená ochrana rastlín pred patogénmi je založená na rôznych mechanických a chemických bariérach, ktoré sú v rastline vytvorené ešte pred samotným vznikom infekcie. Odolnosť voči chorobám je teda založená na schopnosti rastliny zastaviť alebo spomaliť aktivitu patogéna, ktorý môže mať mnoho foriem. Odolnosť rastliny je teda jedným z najdôležitejších spôsobov ako mať kontrolu nad patogénom. Súčasné metódy ochrany pred múčnatkou využívajú najmä fungicídy a rezistentné kultivary s génmi rezistencie. Vedomosti o tom, ktoré gény sú prítomne v súčasných odrodách, sú však ešte stále neúplné.

Metodika sumarizuje základné poznatky o biológii múčnatky trávovej na pšenici, jačmeni a ovse. Dokumentuje tiež postupy získavania inokula v terénnych podmienkach ako aj postupy samotných laboratórnych analýz uskutočňovaných na pracovisku VÚRV v Piešťanoch.

Obsah

1. Cieľ metodiky 4
2. Popis metodiky 4
3. Prehľad problematiky 4
   3.1. Pôvod a šírenie múčnatky trávovej 4
   3.2. Symptómy a biológia múčnatky trávovej 5
   3.3. Medzihostitelia a špecializované formy múčnatky trávovej 6
   3.4. Odolnosť voči múčnatke trávovej 7
      3.4.1. Odrodová odolnosť a gény odolnosti 7
4. Metodika štúdia múčnatky trávovej 11
   4.1. Zber patotypov patogéna 11
      4.1.1. Získavanie patotypov patogéna z porastu 11
      4.1.2. Pasívne lapanie spór 11
      4.1.3. Aktívne lapanie spór 12
   4.2. Kultivácia patotypov patogéna 13
      4.2.1. Príprava listových segmentov 13
      4.2.2. Inokulácia pipetkou 14
      4.2.3. Inokulácia inokulačnou vežou 16
   4.3. Udržiavanie izolátov 18
   4.4. Stanovenie rezistencie 18
      4.4.1. Poľné testy odolnosti 18
      4.4.2. Laboratórne testy odolnosti 20
         4.4.2.1. Virulenčná analýza izolátov 21
         4.4.2.2. Identifikácia génov špecifickej rezistencie 23
   4.5. Molekulárne metódy 24
5. Záver 25
6. Popis uplatnenia metodiky 25
7. Použitá literatúra 25

1. Cieľ metodiky

Cieľom metodiky bolo zhrnúť poznatky o múčnatke trávovej na obilninách s využitím súčasných vedomostí a výsledkov experimentálnych prác. Metodika je určená pre pracoviská zaoberajúce sa výskumom a šľachtením obilnín, pre študentov stredných a vysokých škôl ako aj pre poľnohospodársku prax.

2. Popis metodiky

Metodika poskytuje celkový prehľad problematiky múčnatky trávovej na obilninách (výskyt, škodlivosť, šľachtenie na odolnosť) a je tiež doplnená o výsledky experimentálnych prác (poľné a laboratórne testy odolnosti).

3. Prehľad problematiky

3.1 Pôvod a šírenie múčnatky trávovej

Obligátny parazit *Blumeria graminis* (DC) Speer. je patogén, ktorý zapríčiňuje ochorenie s názvom múčnatka trávová. Tento hubový ektoparazit patrí podľa klasifikácie Ainswortha a Bisbyho (Whittaker, 2003) do oddelenia *Eumycota*, pododdelenia *Ascomycotina*, triedy *Plectomycetes* a radu *Erysiphales*. Na základe anamorfného štádia s ohľadom na fylogenetický vývoj boli zástupcovia taxónu *Erysiphales* rozdelení do viacerých radov. Rod *Blumeria* bol vyčlenený do samostatného radu s jedinou čeľaďou *Blumeriaceae,* s jediným druhom *Blumeria graminis*, ktorý má špecializované formy *formae speciale* (ďalej len f. sp.). Tieto f. sp. prvotne určil Marchal v roku 1902 na základe hostiteľa, na ktorom bola f. sp. nájdená (Paulech, 1995). V súčasnosti sú uvádzané tieto f.sp.: na pšenici- f.sp. *tritici*, na jačmeni- f.sp. *hordei*, na ovse- f.sp. *avenae*, na raži- f.sp. *secalis* a na trávach- f. sp. *agropyri*, *bromi*, *poae* a *lolii*.

Jednoduchý spôsob rozširovania a krátky rozmnožovací cyklus v nepohlavnom štádiu má za následok veľmi časté lokálne alebo rozsiahle epidémie. Choroba múčnatka trávová na obilninách sa vyskytuje na celom svete, vo všetkých oblastiach s prímorskou a kontinentálnou klímou. Uplatňovaním integrovaných pestovateľských postupov, ako je používanie závlah, dusíkatých hnojív a pestovanie uniformných krátko-steblových odrôd sa výskyt múčnatky trávovej rozširuje aj do suchších oblastí a zapríčiňuje významné straty na výnosoch (Bennett, 1984; Hsam *et* Zeller, 2002; Imani *et al.,* 2002). Patogén múčnatky trávovej spôsobuje redukciou odnoží, redukciou zŕn v klase a hmotnosťou zŕn straty na úrode až 48 % (Everts *et* Leath, 1992; Samobor *et al.,* 2005; Tratwal *et* Bocianowski, 2014). Choroba môže významne znížiť výťažnosť múky a nepriaznivo vplýva aj na iné parametre kvality zrna (Perugini *et al*., 2008). Už v druhej generácii nepohlavného štádia môže populácia patogéna dosiahnuť epidemický rozsah. Fyziologický vývoj zrelých konídií trvá v optimálnych podmienkach 5 dní (Paulech, 1995). Epidémia nebýva

spôsobená len rýchlym vývojom a produkciou veľkého množstva spór, ale aj vektorom prenosu, ktorý je v tomto prípade vietor. Limpert *et* Bartoš (2002) uvádzajú, že gény virulencie niektorých vetrom prenosných chorôb rastlín sa hromadia v smere prevládajúcich vetrov. Forsström (2002) uvádza rozširovanie patogéna rýchlosťou v priemere 110 km/rok v prevládajúcich veterných podmienkach. Tento poznatok môže byť významný aj pri importovaní génov rezistencie do nových genómov pšenice letnej (Limpert *et* Bartoš, 2002). Najvyššia komplexicita (počet génov virulencie na izolát) virulencie je vo východnej Ázii, preto aj účinné gény rezistencie pochádzajúce z tejto oblasti a sú najviac cenené.

3.2 Symptómy a biológia múčnatky trávovej

Pri typickom priebehu choroby vytvára múčnatka trávová na listovej čepeli, pošvách, steblách a klasoch biele mycélium, ktoré postupne mení sfarbenie cez sivé až na hnedasté. Mycélium sa tvorí na oboch stranách listov, môže splývať a pokryť tak celú plochu infikovaného orgánu. Výsledkom je zníženie asimilačnej plochy listu a napadnuté rastliny predčasne žltnú a usychajú. Neskôr sa medzi vláknami mycélia tvoria drobné avšak voľným okom viditeľné čierne plodnice- chasmotéciá (Obr. 1) (Jankovics *et al*., 2015).

Pri napadnutí odolných odrôd sa na listoch netvoria typické biele, ale žlté až tmavohnedé nekrotické, alebo olejové škvrny, niekedy s povlakom riedkeho mycélia, ktoré môžu prechádzať až do nekrotizácie pletiva. Nekrotizácia, alebo aj lokálne odumieranie pletiva, vzniká práve v dôsledku obranných reakcií odolných odrôd, tzv. hypersenzitívna reakcia (Obr.1). Symptómy žltnutia listov podobné obrannej reakcii však môžu byť spôsobené aj nedostatkom živín, suchom, nízkymi teplotami, alebo aj vysokou vlhkosťou pôdy, preto je pri pochybnostiach potrebná mikroskopická analýza.

Obrázok 1: vľavo- mycélium a chasmotécia múčnatky, vpravo- prejav hypersenzitívnej reakcie odolnej odrody

Škodlivosť múčnatky trávovej spočíva predovšetkým v znižovaní asimilačnej plochy listov, obsahu glycidov a naopak v zvyšovaní obsahu dusíkatých látok a

brzdeniu toku asimilátov z listov do tvoriacich sa zŕn. Napadnuté rastliny dýchajú oveľa intenzívnejšie, predčasne dozrievajú a sú náchylné na poliehanie. Zrná z takto napadnutých rastlín sú zle vyvinuté a zakrpatené, čo vedie k redukcii úrody na úrovni jej kvantity aj kvality.

Blumeria graminis je obligátny patogén, čo znamená, že jeho vývoj môže prebiehať len na živých organizmoch. Koncom vegetačného obdobia sa na staršom mycéliu patogéna tvoria čierne plodnice– chasmotéciá, fruktifikačné orgány pohlavného vývojového štádiá. V chasmotéciách zostávajú askospóry počas nepriaznivých poveternostných podmienok– horúce a suché počasie v lete. Akonáhle nastanú vhodné podmienky na jeseň, chasmotécia praskajú a uvoľňujú askospóry, ktoré spôsobujú infekciu mladých rastlín ozimín, prípadne hostiteľských rastlín (rôzne druhy tráv). Následne múčnatka dokáže prezimovať vo forme mycélia na oziminách, alebo prezimujú askospóry v chasmotésiách, ktoré klíčia ako sekundárna jarná infekcia. Počas vegetácie sa múčnatka šíri konídiami– spóry nepohlavného štádia, ktoré sa po dozretí uvoľňujú z konídiofórov.

Rastliny môžu byť počas vegetácie napadnuté v ktorejkoľvek rastovej fáze. Rast mycélia začína už pri 3°C a tvorba konídií od 5°C do 28°C so životnosťou približne 24 h až 5 dní. Konídie potrebujú na klíčenie vyššiu vzdušnú vlhkosť a teplotu okolo 17°C. Infekcia vzniká pri striedaní daždivého a suchého počasia v rozpätí od 0-25°C. Inkubačná doba je približne 3-7 dní. Napadnutie porastov podporuje aj vysoká hustota porastu, nedostatočná výživa, jednostranné hnojenie dusíkom, nedostatok stopových prvkov v pôde (bór, mangán), veľmi skorý výsev ozimín, citlivosť odrody a uzavreté plochy.

3.3 Medzihostitelia a špecializované formy múčnatky trávovej

Existuje len málo štúdií, ktoré by sa zaoberali vzťahmi tohto patogéna a jeho hostiteľov v zmysle druhu hostiteľa. Už prvé rozsiahlejšie štúdie (Hardison, 1944, 1945a,b) priniesli zaujímavé poznatky o špecifickosti smerom k hostiteľovi. Hardison (1944, 1945a,b) použil na testovanie monospórické izoláty *Blumeria graminis*. Infikoval odrody druhov z ktorých pochádzali izoláty a iné druhy obilnín a tráv. Použil približne 100 druhov z 25 rodov a zistil, že hoci izoláty z pšenice, jačmeňa a raži infikujú len svoju vlastnú plodinu, môžu tiež infikovať niekoľko druhov tráv. Jedna z tráv (*Agropyron spicatum*) bola dokonca infikovaná všetkými izolátmi. Taktiež boli niektoré izoláty získané z tráv schopné infikovať pšenicu a jačmeň a tiež niekoľko druhov z ďalších rodov. Izoláty *Blumeria graminis* zozbierané z hostiteľov obilnín nepochybne nie sú tak hostiteľsky špecifické ako sa myslelo a *A. spicatum* môže slúžiť ako bežný hostiteľ pre všetky f. sp. pochádzajúce z rôznych hostiteľov. Na druhej strane, žiadny z izolátov nebol spôsobilý infikovať iné druhy čeľade *Poaceae* mimo kmeňa *Triticeae*. Patogén *Blumeria graminis* je výhradne

obmedzený na zástupcov čeľade *Poaceae*. Napriek tomu svojím parazitovaním na obilninách a rôznych druhov tráv je jednou z najplurivornejším druhom múčnatiek (Hardison, 1944, 1945a,b).

3.4 Odolnosť voči múčnatke trávovej

Odolnosť rastliny je jedným z najdôležitejších spôsobov ako má rastlina nad patogénom kontrolu (Yu *et al*., 2001). Genetická rezistencia sa delí na dva základné typy:

1. Rasovo špecifická (vertikálna) rezistencia, ktorá je riadená jedným, alebo niekoľkými génmi a z pravidla zabezpečuje odolnosť len voči jedinému genotypu patogéna. Súčasné metódy ochrany pred múčnatkou využívajú okrem fungicídov, práve odolné kultivary s génmi špecifickej rezistencie označovanými ako *Pm* (pri pšenici), *Mla* (pri jačmeni) a *Pm* (pri ovse). Rasovo špecifické gény sa v šľachtení využívajú vo veľkej miere, avšak na zmenu avirulencie na virulenciu je u patogéna potrebná len jedna mutácia, z toho dôvodu je tento typ rezistencie ľahko prekonateľný. Na predĺženie účinku rasovo špecifickej rezistencie preto slúžia metódy ako kombinácia niekoľkých génov v jednej odrode – pyramídovanie génov, „multilines“, či zmes odrôd (Yu *et al*., 2001).
2. Rasovo nešpecifická (horizontálna) rezistencia je podmienená polygénne. Spomaľuje infekciu a rozmnožovanie patogéna v dospelých rastlinách a poskytuje dlhodobú ochranu rastliny pred patogénom (Yu *et al*., 2001). Výhodou tohto typu rezistencie je aj fakt, že je účinná voči viacerým významným patogénom na mnohých druhoch rastlín (McIntosh *et al*., 2006). Pri tomto type sa prejavuje silná interakcia genotypu s prostredím. Aj napriek výhodám horizontálnej rezistencie je jej využitie v šľachtiteľských programoch limitované, keďže ide časovo náročný proces zahrňujúci extenzívne a precízne kvantitatívne merania.

Či už ide o zavádzanie nových génov rezistencie do výnosného ale náchylného genotypu, o pyramídovanie špecifických génov rezistencie, alebo je zámerom šľachtiteľa dosiahnuť odrodu s rezistenciou dospelých rastlín, presná charakterizácia patogéna je prvým krokom pre úspešné šľachtenie na rezistenciu.

3.4.1 Odrodová odolnosť a gény odolnosti

Rastliny majú vyvinutých niekoľko obranných stratégií na boj proti kolonizácii patogénmi. Prirodzená ochrana rastlín pred patogénmi je založená na rôznych mechanických a chemických bariérach, ktoré sú v rastline vytvorené ešte pred samotným vznikom infekcie. Odolnosť voči chorobám je teda založená na schopnosti rastliny zastaviť, alebo spomaliť aktivitu patogéna, ktorý môže mať mnoho foriem (Goodman *et al.,* 1986). Najčastejšie je odolnosť rastlín

zabezpečovaná špecifickými génmi rezistencie veľkého účinku. Rôzni autori analyzovaním genotypov zistili veľmi malú diverzitu špecifických génov rezistencie voči múčnatke trávovej zabudovaných v komerčných odrodách (Bartoš *et al*., 2002). Zmeny na úrovni odrôd v zavádzaní nových génov rezistencie však vedú k zmenám v populácii patogéna, kedy v procese koevolúcie vznikajú nové komplexnejšie rasy s väčším počtom génov virulencie. Efektívnejšie v odolnosti sú kombinácie génov rezistencie.

V súčasnosti je známych viac ako 90 špecifických génov rezistencie a ich alelických foriem voči múčnatke trávovej na pšenici lokalizovaných na 62 lokusoch, *Pm1– Pm67* (Wu *et al.*, 2021; Simeon *et al.,* 2020; Radchenko *et al.,* 2020). Špecifické gény *Pm18, Pm22*, *Pm23* a *PM21* boli identifikované ako alelické formy iných *Pm* génov, gény *Pm1, Pm2, Pm3, Pm4, Pm5* a *Pm24* majú alelické formy v počte od 2 (napr. *Pm2a, Pm2b*) do 17 (*Pm3a-p*) (McIntosh *et al.*, 2014; Hao *et al.*, 2015; Ma *et al.,* 2015; Zhang *et al.,* 2016; Liu *et al.*, 2017). Bartoš *et al*. (2002) uvádzali ako najčastejšie sa vyskytujúce *Pm* gény v európskych pšeniciach gény *Pm2, Pm6, Pm4b, Pm8, pm5*. Tento stav zodpovedá aj situácii na Slovensku. Diverzita génov je však veľmi malá a odrody, ktoré ich majú v genóme zabudované boli aj tak viac či menej múčnatkou napadnuté. Tento fakt poukazuje na skutočnosť, že dané špecifické gény nie sú efektívne. Napríklad medzi úrovňou napadnutia odrôd Bruta a Hana, ktoré sú bez génu rezistencie (Bartoš *et al*., 2002) a odrodou Corsaire, ktorá má kombináciu génov *Pm2+6+4b* (Bartoš *et al*., 2002) nie je štatisticky významný rozdiel (Majeská *et* Bojnanská, 2017). Odrody s rovnakou kombináciou génov *Pm2+6* Estica a Torysa (Bartoš *et al*., 2002) a Ines (Bojnanská, 2009), majú štatisticky rozdielne hodnoty napadnutia (Majeská *et* Bojnanská, 2017). Estica je odolnejšia ako Ines a Torysa, ktorá patrí medzi najmenej odolné (Majeská *et* Bojnanská, 2017). Slovenské odrody Ignis a Eva, hodnotené ako odolné, ktoré nemajú gén rezistencie (Švec *et al*., 1999) sú v odolnosti štatisticky na rovnakej úrovni (Majeská *et* Bojnanská, 2017) ako odroda Lívia s génom *Pm8* (Bartoš *et al*., 2002). Tento gén rezistencie už nie je efektívny a odolnosť odrody Lívia je pravdepodobne prejavom nešpecifickej odolnosti. Význam hodnotenia nešpecifickej odolnosti potvrdzuje aj fakt pri porovnaní odrôd bez génu rezistencie (Švec *et al*., 1999, 2002; Bartoš *et al*., 2002), ktoré majú štatisticky rozdielne úrovne odolnosti (Klea, Viginta a Astella) v porovnaní s náchylnými odrodami (Košútka, Blava), a taktiež odroda Brea v porovnaní s odrodami Alana a Mv Magvas. Medzi úrovňou odolnosti odrôd Klea, Viginta a Astella, ktoré sú bez génu rezistencie a úrovňou odolnosti odrôd Markola a Veldava s *Pm2* génom (Bojnanská, 2009) nie sú štatisticky významné rozdiely (Majeská *et* Bojnanská, 2017). Odrody, u ktorých boli detegované gény rezistencie, majú v konečnom štatistickom zhodnotení rôzne

úrovne odolnosti (Majeská *et* Bojnanská, 2017). Malvína s kombináciou génov rezistencie *Pm4b+8* (Švec *et al*., 1999) patrí k odolnejším odrodám. Odrodu Sana taktiež s kombináciou génov *Pm2+6+8* (Švec *et al*., 1999) možno zaradiť medzi stredne odolné– stredne náchylné, avšak s pomerne stabilnou úrovňou odolnosti (Majeská *et* Bojnanská, 2017). Slovenskú odrodu Ilonu a zahraničnú odrodu Vladu, s rovnakým génom rezistencie *pm5* (Bartoš *et al*., 2002), možno zaradiť medzi stredne náchylné až stredne odolné odrody v rámci hodnotených súborov. Gén *Pm6* dol detegovaný v odrode Elpa (Bartoš *et al*., 2002), ktorú možno zaradiť medzi stredne odolné až stredne náchylné odrody (Majeská *et* Bojnanská, 2017). Odolnosť odrôd Charger, Astella a Vlada vo svojich prácach riešil aj Věchet (2004, 2006). Podľa jeho výsledkov boli všetky tri odrody stredne odolné a nepodarilo sa mu identifikovať žiadny špecifický gén rezistencie. Švec *et al*. (2002) zistili že odroda Mv Magvas je citlivá a taktiež bez génu rezistencie. Nešpecifickou rezistenciou odrôd Estica, Lívia, Sana, Košútka a Torysa sa zaoberali aj Mikulová *et al*. (2008). Podľa ich výsledkov rozdelili odrody na rezistentné (Estica, Lívia), stredne rezistentné (Sana) a odrody s nízkou úrovňou rezistencie (Košútka, Torysa) (Mikulová *et al*., 2008). Bojnanská (2009) uvádza nasledovné rozdelenie odrôd: citlivá odroda bez génov rezistencie (Astella), odolná odroda bez génov (Bardotka), stredne odolná s génmi *Pm2* a *Pm6* (Torysa) a stredne odolná s recesívnym génom *pm5* (Ilona).

U jačmeňa je známych viac ako 100 génov, ktoré ovplyvňujú odolnosť voči múčnatke trávovej (Dreiseitl, 2020). Radchenko *et al.* (2020) uvádza, že je popísaných okolo 30 allelických foriem *Mla* lokusu a 40 *Mlo* lokusu. V genóme jačmeňa sú v súčasnosti zmapované tieto lokusy obsahujúce gény rezistencie: na chromozóme 1H- *Mla, Mlat*, *Mlga*, *Mlk*, *Mlnn*, *Mlra, Mlp, Mli, Mln, Mlci, Mlmu, Mlmw*; na chromozóme 2H- *MlLa*, na chromozóme 4H- *Mlg*, *mlo*, *MlBo* a *Ml (CP),* na chromozóme 5H sa nachádza lokus *Mlj*, na chromozóme 6H- lokus *Mlh* a na chromozóme 7H- lokusy *Mlf a mlt* (Wei *et al.,* 1999; Chelkowski *et al.*, 2003). Rezistencia determinovaná lokusom *Mlo* (tzv. Mlo rezistencia) je unikátna predovšetkým preto, že hoci je monogénna, neriadi sa systémom gén proti génu a jej mechanizmus sa výrazne líši od ostatných typov rezistencie. Fenotypovo sa táto rezistencia prejavuje tým, že inokulované rastliny zostanú zdravé, fenotyp genotypu s mlo génom = od bez symptómov po nekrotické škvrny rôznej intenzity aj charakteru. Ich množstvo je silne závislé na hustote inokula, genotypu izolátu múčnatky, príslušnej alele *mlo* a celkovom genetickom pozadí hostiteľa (Jorgensen, 1994). V súčasnosti je mlo rezistencia k múčnatke trávovej najpoužívanejšia rezistencia u jarných odrôd v celej Európe (Lyngkjaer *et al.*, 2000). Najúčinnejšie alely tohto génu sú *mlo11* a *mlo9*, až 75% moderných jarných odrôd jačmeňa v Európe chránia voči múčnatke tieto gény (Dreiseitl, 2017).

V poľných pokusoch bola niekoľko rokov sledovaná odolnosť odrôd Ebson, Danuta, Nitran s *mlo* génom (Dreiseitl, 2013; Dreiseitl *et* Križanová, 2012). S pomedzi hodnotených odrôd boli preukazne najodolnejšie (Hrdlicová *et* Gubiš, 2017). Pri porovnaní odolnosti medzi odrodami s génom *mlo* a odrodou CI. 9819, ktorá je bez génu rezistencie, nebol pozorovaný výrazný rozdiel a odroda CI. 9819 sa takisto prejavila ako odolná- vysoko odolná (Hrdlicová *et* Gubiš, 2017). Kombináciu génov *mlo* a *Mla12* (Dreiseitl *et* Križanová, 2012) má identifikovaná odroda Madonna, no aj napriek prítomnosti *mlo* génu ju možno zaradiť medzi náchylné odrody (Hrdlicová *et* Gubiš, 2017). Naopak, rozdiel v odolnosti bol pozorovaný medzi odrodami s génom *Ml(St)*, Annabell (Dreiseitl *et* Križanová, 2012; Liatukas *et* Leistrumaité, 2007) a Bolina (Dreiseitl *et* Križanová, 2012). Bolina sa na rozdiel od Annabell prejavila po napadnutí múčnatkou len slabou náchylnosťou, zatiaľ čo Annabell reagovala na napadnutie múčnatkou náchylne. Ako náchylná až vysoko náchylná sa prejavila aj odroda Progres, ktorá je na rozdiel od Annabell bez génu rezistencie, výrazný rozdiel v odolnosti však pozorovaný nebol. Bez génu rezistencie je aj odroda Messina, ktorá patrila rovnako ako Bolina k odrodám so slabou náchylnosťou (Hrdlicová *et* Gubiš, 2017).

Pri ovse je aktuálne známych 11 špecifických génov, ktoré regulujú odolnosť voči múčnatke trávovej na ovse (Radchenko *et al.*, 2020). Odrody a línie, u ktorých boli postupne tieto gény detegované, sú zahrnuté v testovacom sortimente s génmi rezistencie označenými *Pm*: Jumbo—*Pm1*, Cc3678—*Pm2*, Mostyn—*Pm3*, AV1860—*Pm4*, Am27—*Pm5*, Bruno—*Pm6*, APR122—*Pm7* Rollo—*Pm3+8,* AVE2406—*Pm9*, AVE2925—*Pm10*, CN113536—*Pm11,*a citlivá odroda Fuchs (Okoň *et al*., 2021). V európskych odrodách sú dlhodobo používané najrozšírenejšie gény *Pm1, Pm3* a *Pm6* (Hsam *et. al.,* 1997; Hsam *et. al.,* 1998; Okoň, 2012), avšak tieto sú aj najmenej efektívne. Najvyššiu úroveň odolnosti preukazuje gén *Pm4* (Okoň, 2015). Takmer všetky špecifické gény rezistencie pochádzajú z rôznych divokých druhov a krajových odrôd.

V európskych šľachtiteľských programoch sú v súčasnosti využívané dva hlavné zdroje rezistencie dospelých rastlín voči múčnatke. Prvý pochádza z línie Pc54, ktorá je výsledkom kríženia medzi *A. sativa* a *A. sterilis* (Šebesta *et al.*, 1993). Rezistencia tejto línie je kontrolovaná jedným neúplne dominantným génom, ktorý sa dá zaradiť do kategórie APR (adult plant resistance- rezistencia dospelých rastlín). Druhý zdroj rezistencie pochádza z línií APR122 a APR166, ktoré sú derivované z hybrida *A. eriantha* x *A. sativa*, Táto rezistencia takisto patrí do skupiny APR. Tieto línie predstavujú najsľubnejší zdroj rezistencie voči múčnatke trávovej na ovse. Nakoľko v našich podmienkach nedochádza na ovse k výrazným stratám na úrode

spôsobených múčnatkou, z toho dôvodu nebola venovaná zvýšená pozornosť ani prítomnosti génov špecifickej rezistencie v registrovaných odrodách ovsa.

4. Metodika štúdia múčnatky trávovej

4.1 Zber patotypov patogéna

4.1.1 Získavanie patotypov patogéna z porastu

Na získanie patotypov patogéna z porastu je potrebné podrobne sledovať porast a v období, keď sa začnú vytvárať prvé príznaky múčnatky (malé biele kolónie mycélia), nastrihať listy s vyvíjajúcimi sa kolóniami na krátke segmenty a vložiť do Petriho misky (ďalej len PM) (Obr. 2) na agarové médium s nasledujúcimi obsahmi jednotlivých zložiek: agar 5g/l vody, benzimidazol 40mg/l, $AgNO_3$ 1µg/l, kvapalné plnozložkové hnojivo 50µg/l. Segmenty s vyvíjajúcimi kolóniami kultivujeme po dobu niekoľkých dní pri teplote 17°C- 18°C s nepretržitou fotoperiódou alebo s fotoperiódou deň/noc=16/8 (50-100 µmol/m^2/s). Takto získané izoláty väčšinou nie sú monospórické, môžu mať hyperparazity a celkovo sa s nimi ťažšie pracuje, preto je v ďalšom kroku potrebné získať čistý izolát. Použijeme na to metódu preočkovávania pipetkou (bod 4.2.2).

Obrázok 2: Získavanie patotypov patogéna z porastu

4.1.2 Pasívne lapanie spór

V období výskytu prvých symptómov v poraste, je možné využiť aj pasívne lapanie spór expozíciou náchylných rastlín. Do malých kvetináčov sa rovnomerne vyseje 10-20 zrn náchylnej odrody hostiteľských plodín. Rastliny sú kultivované v izolovaných podmienkach, aby sa zabránilo infekcii vzduchom prenosných patogénov pri bežných pestovateľských podmienkach vhodných pre plodinu a v

štádiu prvých listov cca 10–15 cm sa kvetináče vyložia von na exponované miesto, kde je prirodzený pohyb vzduchu (vietor). Rastliny necháme prirodzene sa infikovať maximálne tri dni, najlepšie od 7h do 24h. Následne sa kvetináče preložia do kultivačnej miestnosti pri teplote 18- 20°C, s nepretržitou fotoperiódou alebo s fotoperiódou deň/noc=16/8 (50-100 µmol/m^2/s). Rastliny sa pestujú v kultivačnej miestnosti, pokým nezaznamenáme prvé symptómy vývoja kolónií múčnatky. Následne sa listy nastrihajú na segmenty, vložia sa do PM s agarom a nechajú sa vysporulovať. Pasívne lapanie sa odporúča zopakovať aspoň 3x pre každú plodinu v 7-10 dňových intervaloch. Následne je potrebné opäť získať a namnožiť monospórické izoláty (bod 4.2.2).

4.1.3 Aktívne lapanie spór

Ďalším zo spôsobov ako získať izoláty múčnatky trávovej je aktívne lapanie. Najvhodnejšie obdobie na aktívne lapanie je koniec apríla až máj, alebo je potrebné vhodný termín odsledovať podľa výskytu múčnatky v poľných pokusoch.

Optimálne poveternostné podmienky pre mobilné lapanie spór sú: skoro jasno s ojedinelými kopovitými oblakmi, 19– 24C°, mierne veterno zvýši množstvo zachytených spór (Smith, 1973; Dreiseitl, 1998). Najlepšie sa spóry lapajú do poludnia aspoň 3 dni až týždeň po daždi. Odstup po daždi je potrebný preto, lebo dážď zmyje spóry, ktoré musia znovu narásť a dozrieť. Mobilné lapanie je vhodné robiť až keď vyschne rosa.

Mobilné lapanie spór je možné len s použitím špeciálneho prístroja– lapača spór (Obr. 3). Špeciálny prístroj je zložený zo sedimentačnej veže, laminárnej trysky, Venturiho trysky a prípadne konštrukcie, ktorá umožňuje upevnenie prístroja na strechu auta. Cez laminárnu trysku umiestnenú na vrchu sedimentačnej veže je vzduch nasávaný pomocou Venturiho trysky. Pohyb vzduchu cez Venturiho trysku je zabezpečený pojazdom auta pri mobilnom lapaní, alebo kompresorom pri stabilnom lapaní. V prípade mobilného lapania spór, kedy je lapač spór pevne prichytený na strechu auta, je potrebná pojazdová rýchlosť minimálne 80 $km.h^{-1}$, optimálne 90-100 $km.h^{-1}$ a maximálne 110 $km.h^{-1}$. Pomocou Venturiho trysky je vzduch aktívne nasávaný do lapača a pri prechode prúdu vzduchu cez laminárnu trysku dôjde k oddeleniu pevných častíc vrátane spór z prúdu vzduchu. Spóry potom sedimentujú na dno sedimentačnej veže, v ktorej je vzduch kľudný, bez akéhokoľvek prúdenia. Na dne veže je umiestnená PM s listovými segmentami hostiteľskej plodiny na agarovom médiu. PM s listovými segmentami je potrebné meniť: na diaľnici približne po 50 km; mimo diaľnice, kde je rýchlosť jazdy obmedzená pod 100 $km.h^{-1}$ a aktívne nasávanie nie je také účinné ako pri vyššej rýchlosti, je možné PM s listovými segmentami meniť po prejdení dlhšej vzdialenosti, 80-100 km. Takýmto spôsobom je možné získať reprezentatívnu

vzorku izolátov populácie patogéna z oblasti, kde boli spóry lapané. Pri stacionárnom lapaní spór pomocou lapača je možné lapač spór umiestniť v tesnej blízkosti porastu, kedy získané izoláty patogéna charakterizujú populáciu patogéna v poraste. Ak je potrebné získať reprezentatívnu vzorku izolátov, je potrebné lapač umiestniť postupne na viaceré miesta, nie v tesnej blízkosti porastu a lapanie uskutočniť pri rôznom prúdení vetra (Dreiseitl, 1998).

PM s takto nalapanými spórami na listových segmentoch je potrebné nechať odvetrať a kultivovať pokiaľ nedôjde k sporulácii jednotlivých kolónií na listových segmentoch. Takmer výlučne sú získané monospórické izoláty, ak je však hustota kolónií na jednotlivých segmentoch príliš vysoká je potrebné uplatniť postup so získaním a namnožením monospórických izolátov (bod 4.2.2). Minimálny počet izolátov patogéna pre presnú a reprodukovateľnú virulenčnú analýzu populácie patogéna je 70, pričom z jednej PM so zachytenými spórami sa odporúča preinokulovať 50 kolónií (Schwarzbach, 1979; Slováková *et al.*, 2002;).

Obrázok 3: Mobilný lapač spór

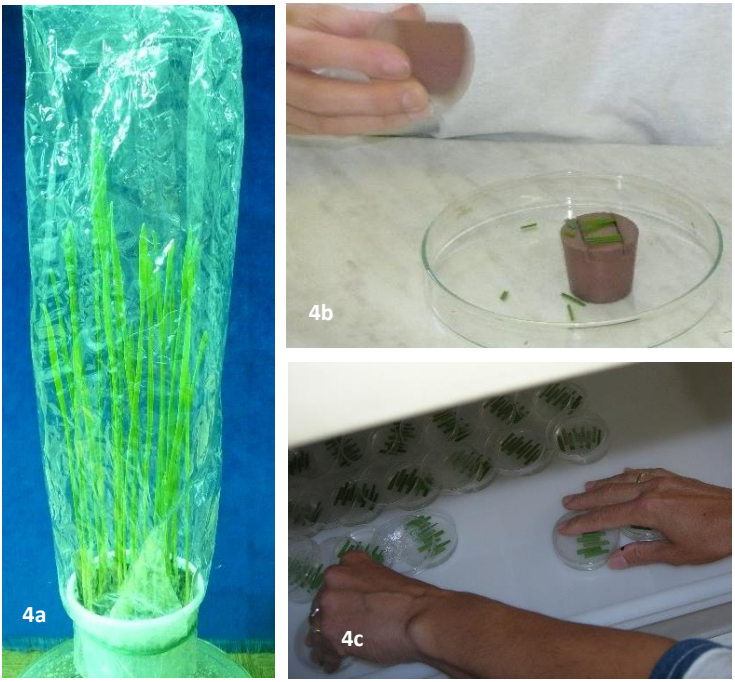
4.2 Množenie patotypov patogéna

4.2.1 Príprava listových segmentov

Do malých kvetináčov sa vyseje náchylná odroda hostiteľskej plodiny, kvetináče sa prekryjú celofánovými vreckami (Obr.4a) a pestujú/kultivujú v kultivačnej miestnosti s 24-hodinovým osvetlením pri teplote 20°C± 2°C. Na testovanie rezistencie sa používajú juvenilné rastliny s plne vyvinutým prvým

listom. Listové segmenty sa režú veľmi ostrým a ľahko dezenfikovateľným nástrojom (žiletka, chirurgické nožnice a pod.), aby plocha na koncoch segmentov nebola zbytočne zničená. Dĺžka segmentov môže byť od 1,5 do 2,5 cm (Obr.4b), podľa veľkosti PM, do ktorej segmenty ukladáme. Takto pripravené PM sa vložia do laminárneho boxu (Obr. 4c) so zapnutým prúdením vzduchu, nechajú sa odvetrať (poodkryjú sa približne na 30 minút) a sú pripravené na inokuláciu.

Obrázok 4a-c: Príprava listových segmentov



4.2.2 Inokulácia pipetkou

Metódu inokulácie pipetkou je potrebné zopakovať 2-3x, až pokým nebudeme mať istotu, že sme preočkovali len jednu kôpku, tzn. získali sme monospórický izolát. Pri preočkovávaní monospórových kultúr zo získaných izolátov, treba odobrať 70-100 kôpok múčnatky z izolátov odobraných na jednej lokalite (na zníženie pokusnej chyby). Po získaní monospórových kultúr nových izolátov je potrebné si tieto izoláty namnožiť cez inokulačnú vežu (bod 4.2.3) a čo najskôr urobiť ich virulenčnú analýzu (bod 4.4.2.1).

Na inokuláciu potrebujeme: 2 striekačky, sklenené pipetky upravené na potrebnú dĺžku, buničitú vatu alebo gázu na utieranie, silikónové hadičky s dvoma veľkosťami priemeru a úzke cylindrické inokulačné veže, ktoré majú na vrchu tesný otvor presne pre pipetku.

Pracovnú plochu, vrch a vnútro inokulačných veží je nutné utrieť liehom. pred preočkovávaním a po každom preočkovaní jedného izolátu. Misky s narezanými listovými segmentami danej plodiny musia byť odvetrané, aby na segmentoch neboli malé kvapky vody, ktorá spôsobuje, že spóry môžu vďaka osmóze prasknúť. Pipetka sa veľkým otvorom nasadí na hadičku tak, aby špička pipetky zostala voľná (Obr. 5a) a bola prichystaná na nasatie spór (Obr. 5b). Pod piest striekačky sa podloží pomocný štítok, špička pipetky sa priloží blízko kolónie, rýchlym zatlačením na štítok sa nadvihne piest striekačky a krátko sa nasajú spóry do pipetky (Obr. 5c). Pipetku opatrne vytiahneme, udržujeme ju v horizontálnej polohe, opatrne otrieme špičku gázou namočenou do liehu, do pipetky sa lieh nesmie dostať a buničitou vatou špičku opatrne utrieme do sucha. Zoberieme druhú striekačku nastavenú na 2 ml, pipetku nasadíme utretou špičkou na hadičku. PM umiestni pod inokulačnú vežu (Obr. 5d). Pipetku umiestnime kolmo do otvoru inokulačnej veže (Obr. 5e). Jednou rukou uchopíme do päste striekačku a piestom buchneme po rovnej ploche, aby boli spóry vyfúknuté prudko a krátko von z pipetky (Obr. 5f). Po 5 sekundách môžeme pipetku vytiahnuť a hneď ju vložiť do liehu.

Spóry v inokulačnej veži padajú na prichystanú PM len vplyvom gravitačnej sily, žiadny pohyb vzduchu neovplyvňuje ich pohyb/pád. Pre rýchlosť sedimentácie spór v kľudnom vzduchu je dostupných málo informácií a tieto sa ešte líšia. Yarwood *et* Hazen (1942), ktorých výsledky potvrdil aj Gregory (1973), uvádzajú rýchlosť sedimentácie spór v kľudnom vzduchu 1,2 cm/sec. Avšak Swarzbach *et al.* (2006) na základe experimentov zistili, že spóry *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* a *B. graminis* f. sp. *tritici* sedimentujú v kľudnom vzduchu rýchlosťou 1-5 cm, pričom 95% spór sedimentuje rýchlosťou 1-2 cm/sec. Dĺžka trvania sedimentácie spór po vyfúknutí je daná výškou inokulačnej veže. Na inokulovanie pipetkou je vhodné používať vyššie a užšie veže.

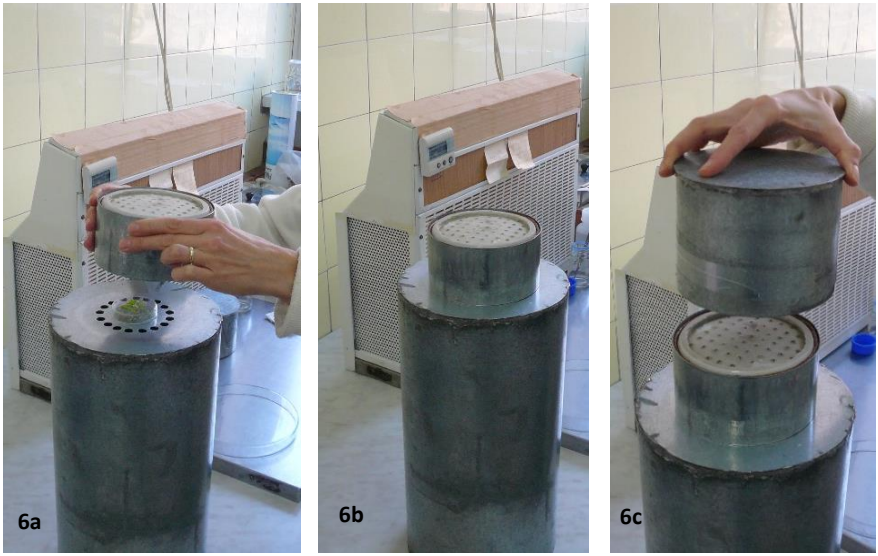
Obrázok 5 a-f: Inokulácia pipetkou

4.2.3 Inokulácia inokulačnou vežou

Pracovnú plochu, všetky používané nástroje a inokulačnú vežu, je nutné po práci s jedným izolátom utrieť liehom. Inokulačná veža sa skladá z troch častí (Obr.6a-c): spodný vysoký valec s perforovaným vrchom; spodný perforovaný diel malého inokulačného dvoj-valca, časť, ktorou sa prikrývajú segmenty na vysokom valci a vrchná plná časť malého inokulačného dvoj-valca. Odvetrané misky umiestnime

pod inokulačnú vežu. Na vrch vysokého valca inokulačnej veže položíme niekoľko segmentov s výraznou sporuláciou izolátu (Obr. 6a) , prikryjeme ich najprv spodnou perforovanou časťou malého inokulačného dvoj-valca (Obr. 6b) a následne nasadíme vrchnú plnú časť malého inokulačného dvoj-valca (Obr. 6c) a silno po nej udrieme tak, aby sa rýchlo zosunula po obvode spodnej časti. Spóry sú krátkym no razatným tlakom vzduchu vypudené cez otvory do inokulačnej veže, kde potom sedimentujú na dno veže, na listové segmenty v PM. V tomto prípade ide o sedimentáciu spór v turbulentnom vzduchu. Vírenie vzduchu bolo spôsobené pri inokulácii. Rýchlosť sedimentácie spór v rozvírenom vzduchu je podľa Schwarzbacha *et al*. (2006) 1-26 cm/sec. Dĺžka trvania sedimentácie je daná výškou veže, pričom odporúčame počítať s minimálnou rýchlosťou sedimentácie 1 cm/sec. Po uplynutí potrebného času, časti veže od seba oddelíme, použité segmenty vložím do nádobky s liehom a všetky časti veže, ako aj pracovnú plochu, umyjeme liehom. PM prikryjeme, označíme a pod mikroskopom skontrolujeme hustotu infekcie. Takto infikované PM si v inkubačnej miestnosti opäť poodkrývame po dobu asi 3 a viac hodín, aby nedošlo k opätovnému oroseniu segmentov. Potom misky zavrieme a kultivujeme pri teplote 17°C a kontinuálnom osvetlení zhruba 1-2 týždne. Po narastení patogéna alebo kultúry patogéna alebo mycélia so spórmi PM preložíme do chladničky.

Obrázok 6a-c: Inokulačná veža



4.3 Udržiavanie izolátov

Na uchovávanie izolátov sa osvedčili plastové Petriho misky s dištančnými prvkami na ventiláciu. Izoláty sa uchovávajú v chladničke pri teplote 0°C až 2°C, s denným rozptýleným svetlom (chladnička s plne sklenenými alebo pre svetlo plne priepustnými dverami). Takto uchované izoláty vydržia 3-5 týždňov (v závislosti od typu obilniny) potom ich treba opäť preočkovať.

4.4 Stanovenie rezistencie

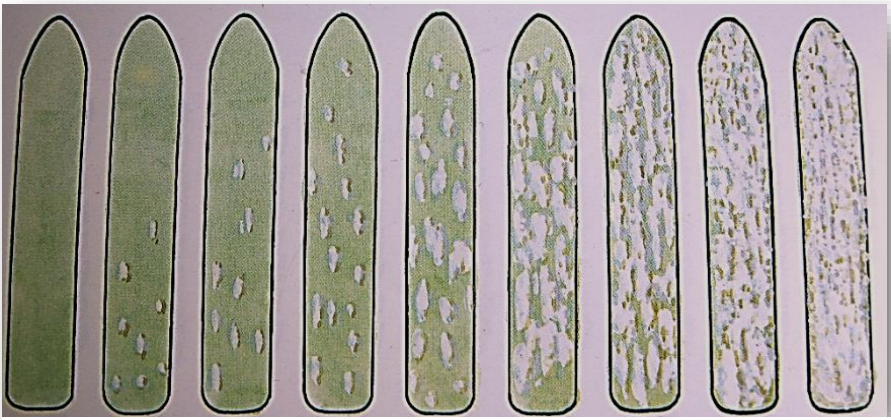
Z výsledkov získaných z poľných aj laboratórnych hodnotení získame objektívne informácie o odolnosti skúšaného materiálu a rozlíšime odolnosti účinné po celú vegetačnú dobu od odolností účinných len u dospelých rastlín.

4.4.1 Poľné testy odolnosti

Poľný pokus s múčnatkou trávovou prebieha v podmienkach prirodzeného infekčného tlaku. V poľných podmienkach sa vysievajú odrody alebo šľachtiteľské materiály s rôznou úrovňou odolnosti, čím sa vlastne sleduje odolnosť k aktuálnej populácii múčnatky v danej lokalite. Do pokusov sú začleňované aj kontrolné odrody s už známou a overenou odolnou/náchylnou reakciou. Pokus má mať minimálne 2 opakovania s náhodne usporiadanými pokusnými členmi. Pri sejbe sa využívajú viacriadkové výsevy s plochou 1-10m^2. V pokuse je zaradená v pravidelných vzdialenostiach medzi parcelkami náchylná odroda. Tým je zabezpečený prirodzený výskyt a rovnomerná inokulácia hodnotených parceliek. Ako prvé sa príznaky prejavia práve na náchylnej odrode a podľa tohto termínu sa odvíja začiatok hodnotenia pokusných členov.

Hodnotenie sa vykonáva v závislosti do environmentálnych podmienok, zhruba 2-3 týždne po prvom výskyte príznakov na náchylnej odrode, s pravidla v 10-14 dňových intervaloch, pričom sa zaznamenáva dátum, rastová fáza a stupeň napadnutia. Napadnutie je najlepšie zaznamenať percentuálnou hodnotou napadnutej plochy múčnatkou, alebo bodovou hodnotou podľa stupnice. Na bodové hodnotenie sa používa deväť bodová stupnica podľa Babajanca (Obr. 7, 8) (Babajanc, 1988), kde stupeň napadnutia 9 predstavuje 0% napadnutie listovej plochy. Táto stupnica zachytáva percento napadnutia listovej plochy a schopnosť choroby preniknúť do vyšších rastlinných poschodí. Z hľadiska štatistického vyhodnotenia sa odporúča urobiť minimálne 3 a viac hodnotení. Údaje plochy napadnutia získané z poľných hodnotení sa používajú na hodnotenie odolnosti voči múčnatke trávovej a je možné pre štatistické porovnanie použiť základné údaje na výpočet hodnoty plochy pod krivkou rozvoja choroby- AUDPC (area under disease-progress curve) podľa viacerých autorov napr. Bjarko *et* Line (1988), Jeger *et* Viljanen-Rollinson (2001) a Broers *et al*. (1996).

Obrázok 7: Stupnica napadnutia listovej plochy múčnatkou trávovou (Babajanc,_1988)



9	8	7	6	5	4	3	2	1 0%
	5%	10%	15%	25%	40%	65%	90%	100%

Obrázok 8: Stupnica hodnotenia múčnatky trávovej podľa Babajanca (Babajanc, 1988)

Stupeň	Percento napadnutia	Popis príznakov	Popis odolnosti
9	0 %	Bez príznakov choroby	Veľmi vysoká rezistencia
8	5 %	Na listoch jednotlivo chlorotické a nekrotické škvrny, ojedinelý nálet konídií	Vysoká odolnosť
7	10 %	Napadnuté najnižšie listy, jednotlivo pozorovať malé kôpky možno i v chlorotických a nekrotických škvrnách	Odolnosť
6	15 %	Napadnutá 1/3 rastliny v slabom stupni, najnižšie listy mierne, mycélium vytvára pretiahnuté kôpky zriedka v chlorotických a nekrotických škvrnách	Odolnosť
5	25 %	Rastlina napadnutá do ½ výšky, najnižšie listy silno a vyššie položené mierne až slabo napadnuté	Slabá náchylnosť
4	40 %	Listy v dolnej tretine napadnuté silno, pozorovať odumieranie najnižších listov, listy strednej tretiny napadnuté mierne, stopy infekcie na predvlajkovom liste	Náchylnosť
3	65 %	Dolná tretina rastliny napadnuté veľmi silne, pozorovať odumieranie, listy strednej tretiny napadnuté mierne až silno, vlajkový list slabo napadnutý	Náchylnosť
2	90 %	Rastlina do predvlajkového listu napadnutá silno, vlajkový list mierne, pozorovať odumieranie listov dolnej a strednej tretiny, pozorovaná infekcia kláskov a osín	Vysoká- veľmi vysoká náchylnosť
1	100 %	Všetky listy napadnuté, pozorované ich odumieranie, infekcia na kláskoch, osinách a steble v rôznom stupni	Veľmi vysoká náchylnosť

4.4.2 Laboratórne testy odolnosti

Laboratórne testy prebiehajú na listových segmentoch. Segmenty sú rezané z čepele prvého listu a následne sú umiestnené do PM s agarom. Takto pripravené segmenty sú infikované prostredníctvom inokulačnej veže, ako je popísané v

kapitole 4.2.3. Na inokuláciu testovaných genotypov sú používané izoláty patogéna s presne stanoveným spektrom virulencie.

4.4.2.1 Virulenčná analýza izolátov

Virulenčnou analýzou sa sledujú zmeny virulencie k jednotlivým génom rezistencie a tým sa zisťuje efektívnosť prípadne neefektívnosť génov rezistencie. Základom virulenčnej analýzy sú línie testovacieho súboru, kde je v každej línii obsiahnutý jeden gén, prípadne kombinácia génov rezistencie. Výsev samostatných línií musí byť presný, po obvode kvetináča, aby sa zabezpečili rovnaké podmienky rastu pre každý semenáč (Obr. 9).

Obrázok 9: vľavo-ukážka výsevu, vpravo- test virulenčnej analýzy

Na inokulovanie je vhodné použiť čerstvé inokulum s izolátov, ktoré boli kultivované 7-10 dní a neboli skladované v chladničke. Zabezpečíme tak plnú vitalitu a klíčivosť spór. Rastliny testovcieho sortimentu je potrebné pestovať 7-8 dní, je preto vhodné správne naplánovať termíny výsevu testovacieho sortimentu a inokuláciu izolátov, z ktorých budeme inokulát používať.

Pripravíme si PM s agarom (Ø 12-20 cm). Prichystáme si testovacie misky a to tak, že z jednej línie do misky vložíme 3-5 segmentov z jednej TS a po stranách uloženého testovacieho súboru uložíme zopár listových segmentov z náchylnej odrody. Ďalej pri inokulácii, odvetrávaní PM a inokulovaní postupujeme podľa popisu kapitoly 4.2.3 „Inokulácia inokulačnou vežou“. Hustotu inokulácie kontrolujeme pod mikroskopom postačí pri zväčšení 12x5, optimálna hustota je od 400 do 800 spór/cm^2. PM inkubujeme v kultivačnej miestnosti. Po 7-12 dňoch od inokulácie sa dajú infekčné typy (reakcie po inokulácii) jednotlivých línií testovacích súborov vyhodnotiť. Napadnutie na segmentoch náchylnej odrody zodpovedá

infekčnému typu 4 (IV) a poslúži ako štandart pre stanovenie infekčných typov línií testovacích sortimentov. Pokiaľ má daný izolát zaujímavé virulenčné spektrum, je vhodné zaradiť ho do zbierky a pravidelne preočkovávať. Z takto zozbieraných izolátov si postupne vytvoríme zbierku, pomocou ktorej budeme určovať špecifické gény rezistencie.

Stupnica hodnotenia= infekčné typy (Király *et al.*, 1970):

0– žiadna reakcia, listy bez chlorotických alebo nekrotických symptómov (imúnny), pri géne *mlo* môže dochádzať k tvorbe ojedinelých kolónií, čo sa označuje ako typ 0(IV)

1 (I)- obmedzený vývoj mycélia, tvorba chlorotických alebo nekrotických škvŕn (vysoko rezistentné)

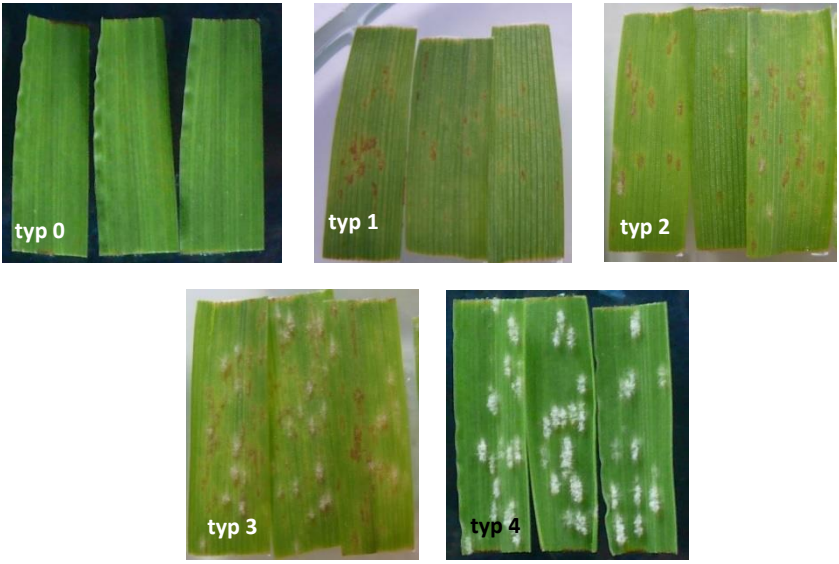
2 (II)- vývoj mycélia je stredný, tvorba nekrotických škvŕn s veľmi slabou sporuláciou, malá chloróza (stredne rezistentné)

3 (III)- rozvoj mycélia stredný až väčší alebo obmedzená sporulácia, menej nekróz a chloróz (stredne náchylná), pri jačmeni sa tvoria nekrotické škvrny so silnou sporuláciou

4 (IV)- mnoho kôpok mycélia, silná sporulácia bez nekrózy (vysoko náchylná)

Stupne 0, 1, 2 sú stupne odolnosti (R-rezistentné) a stupne 3, 4 sú stupne náchylnosti (S-senzitívne) (Obr. 10).

Obrázok 10: Škála reakcií infekčných typov



Pri jačmeni sa používa základný testovací súbor, línie odrody Pallas s génmi rezistencie *Mla1, Mla3, Mla6, Mla7, Mla9, Mla12, Mla13, Mlk, Mlat, Mlg, Mlo* a reakcie sa hodnotia podľa škály infekčných typov podľa Limperta (Limpert, 1985).

Základný testovací sortiment na virulenčnú analýzu populácií pšeničnej múčnatky pozostáva z línií, ktoré boli špeciálne pripravené na hodnotenie virulencie a avirulencie a z ďalších línií a odrôd, u prevažne ktorých boli následne detegované ďalšie gény špecifickej rezistencie. Línie s génmi *Pm1a, Pm2, Pm3a, Pm3b, Pm3c, Pm3d, Pm3f, Pm3g* majú 6-krát spätným dosycovaním rovnakou odrodou Chancellor zabezpečené rovnaké genetické pozadie. Línie a odrody s ďalšími génmi už neboli krížením upravované a do testovacieho sortimentu zaraďujeme genotypy s génmi, voči ktorým zmeny vo virulencii sledujeme. Väčšinou sú to gény (prípadne kombinácie génov) *Pm4a, Pm4b, Pm5a, Pm5b, Pm6, Pm7, Pm8, Pm17, Pm2+ Mld, Pm1+9, Pm1+2+9* a ďalšie podľa vlastného záujmu, napr. *Pm24, Pm28, Pm2b, Pm3h* atď. Na vyhodnotenie infekčných typov u pšenice možno hodnotiť stupnicou podľa Királyho (Király *et al.*, 1970).

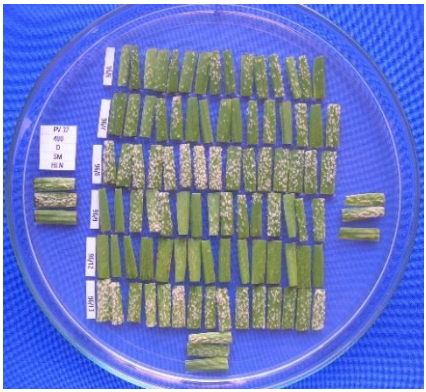
Testovací sortiment ovsa predstavuje 12 línií a odrôd s génmi označenými rovnako ako pri pšenici *Pm*: Jumbo—*Pm1*, Cc3678—*Pm2*, Mostyn—*Pm3*, AV1860—*Pm4*, Am27—*Pm5*, Bruno—*Pm6*, APR122—*Pm7* Rollo—*Pm3+8,* AVE2406—*Pm9*, AVE2925—*Pm10*, CN113536—*Pm11,* a citlivá odroda Fuchs. Na hodnotenie napadnutia použili Okoń *et al*. (2021) modifikovanú 0-4 bodovú stupnicu Mains (1934).

4.4.2.2 Identifikácia génov špecifickej rezistencie

V laboratórnych podmienkach sa genetická analýza rezistencie odolných genotypov obilnín voči múčnatke trávovej robí na listových segmentoch zo semenáčikov rastlín. Na testovanie sa používajú izoláty patogéna so známym virulenčným spektrom (zbierkové izoláty).

Vysejeme odrody alebo šľachtiteľské línie, u ktorých chceme detegovať prítomnosť špecifických génov. Zároveň si namnožíme vybrané zbierkové izoláty s už známym virulenčným spektrom a s génmi, prítomnosť ktorých chceme u testovaných materiáloch určiť. Prichystáme si PM s agarovou pôdou, zloženie je uvedené v kapitole 4.1.1., do ktorej postupne vkladáme listové segmenty testovaných genotypov každú po 5-10 ks (v závislosti od predpokladanej genetickej homogenity genotypov) (Obr. 11).

Obrázok 11: vľavo- ukladanie listových segmentov, vpravo- test identifikácie génov špecifickej rezistencie



PM necháme odvetrať, pracovnú plochu a inokulačnú vežu umyjeme liehom. Pri inokulácii a následnej kultivácii postupujeme podľa postupu uvedeného v kapitole 4.2.3 „Inokulácia inokulačnou vežou“. Infekčné typy testovaných genotypov vyhodnocujeme podľa už uvedených stupníc hodnotenie v kapitole 4.4.2.1. a vo fáze, kedy patogén na segmentoch kontrolnej odrody silno sporuluje (infekčný typ 4 (IV)). V prípade, že všetky segmenty 1 genotypu nereagovali jednotne, zaznamenáme infekčný typ každého listového segmentu. Tento prípad znamená, že testovaná novošľachtená línia nie je v géne rezistencie homogénna a v následných generáciách sa vyskytujú línie aj s génom a aj bez génu rezistencie a v prípade odrôd je v testovanej vzorke prímes nepôvodnej odrody. Výsledok vyhodnotíme podľa prevládajúceho typu reakcie a porovnáme ho s reakciou zbierkových izolátov.

4.5 Molekulárne metódy

Najmodernejšie metódy na identifikáciu génov rezistencie voči múčnatke predstavujú používanie molekulárnych markerov. Molekulárne markery slúžia okrem detekcie génov pri molekulárne podporenej selekcii (ďalej len MAS) aj na vytvorenie genetickej mapy génov a na určenie ich polohy na chromozómoch. Medzi najčastejšie metódy patria: RFLP (polymorfizmus dĺžky reštrikčných fragmentov), RAPD (náhodne amplifikovaný polymorfizmus DNA), AFLP (polymorfizmus dĺžky amplifikovaných fragmentov), mikrosatelity, SSR (jednoduché repetitívne sekvencie), STS (markery označujúce cielené sekvencie), EST (krátky úsek DNA získaný sekvenovaním exprimovaných génov) či DArT (molekulárny marker).

5. Záver

Hoci v našej krajine zaznamenávame menej časté epidemické výskyty múčnatky trávovej, hlavne v dôsledku intenzívnej chemickej ochrany, napriek tomu tento patogén stále predstavuje riziko pre produkciu obilnín. Hlavným predpokladom na prevenciu proti škodám spôsobených múčnatkou na obilninách je monitorovanie výskytu patogéna, výber nových zdrojov rezistencie, ich aplikácia a uplatnenie v šľachtiteľskej praxi, či sústavný prieskum virulencie v populácii múčnatky. V šľachtení má do budúcna veľkú perspektívu najmä šľachtenie na komplexnú odolnosť, tzn. voči viacerým hubovým chorobám obilnín s viacerými typmi rezistencie. Základom tohto procesu je však vyhľadávanie a získavanie stále nových zdrojov rezistencie voči neustále sa vyvíjajúcej a meniacej sa populácii patogéna.

6. Popis uplatnenia metodiky

Metodika je určená na praktickú výuku pre stredné aj vysoké školy. Je tiež nasmerovaná pre potreby poľnohospodárskej praxe a šľachtiteľov ako spôsob na sledovanie novo vzniknutých a šíriacich sa foriem múčnatky trávovej, ktoré ohrozujú šľachtiteľský materiál. Metodika zároveň poskytuje možnosť štúdia populácií múčnatky trávovej na Slovensku. Uvádza prehľad doteraz identifikovaných génov rezistencie v slovenských odrodách a opisuje aj metódy práce s múčnatkou ako v poľných, tak aj v laboratórnych podmienkach, čím poskytuje možnosti štúdia pre študentov. Uvedené údaje môžu slúžiť aj na vhodný výber odrodovej štruktúry.

7. Použitá literatúra

1. Babajanc, I. 1988, Metody selekcii i ocenki ustojčivosti pšenici i jačmenja, bolezňam. Praha: SEV, 1988, 321 p.
2. Bartoš, P.- Hanušová, R. 1993. Genes for resistance to rusts and powdery mildew in Czech and Slovak wheat cultivars. In: *Agriculture* (Poľnohospodárstvo), 1993, Vol. 39, Issue 4, p. 282-286. ISSN 1338-4376
3. Bartoš, P.- Šíp, V.- Chrpová, J. *et al*. 2002. Achievements and prospects of wheat breeding for disease resistance. In: *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 2002, Vol. 38, Issue 1, p. 16-18. ISSN 1805-9325
4. Bennett, F. 1984: Resistance to powdery mildew in wheat: a review of its use in agriculture and breeding programmes. In: *Plant Pathology*, 1984, Vol. 33, Issue 3, p. 279−300. ISSN 1365-3059
5. Bjarko, M.E. -Line, R.F. 1988. Heritability and number of genes controlling leaf rust resistance in four cultivars of wheat. In: *Phytopathology*, 1988, Vol. 78, No. 4, p. 457-461. ISSN 0031-949X

6. Bojnanská, K. 2009. Resistance and genes of resistance against powdery mildew of selected wheat genetic resources = Odolnosť a gény rezistencie voči múčnatke trávovej vo vybraných genetických zdrojoch pšenice letnej. In: *Agriculture* (Poľnohospodárstvo), 2009, Vol. 55, Issue 1, p. 42-48. ISSN 1338-4376
7. Broers, L.H.M.- Cuesta Subias, X.- López Atilano, R.M. 1996. Field assessment of quantitative resistance to yellow rust in ten spring bread wheat cultivars. In: *Euphytica,* 1996, Vol. 90, Issue 1, p. 9–16. ISSN 1573-5060
8. Dreiseitl, A. 1998. Posouzení metod studia populací padlí travního při zjišťování stavu populace *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* v roce 1997. In: *Plant Protection Science*, 1998, Vol. 34, No. 1, p. 33-38. ISSN 1212-2580
9. Dreiseitl, A. 2013. Postulation of genes for resistance to powdery mildew in spring barley cultivars registered in the Czech Republic from 1996 to 2010. In: *Euphytica*, 2013, Vol. 191, Issue 2, p. 183-189. ISSN 1573-5060
10. Dreiseitl, A. 2017. Genes for resistance to powdery mildew in European barley cultivars registered in the Czech Republic from 2011 to 2015. In: *Plant Breeding*, 2017, Vol. 136, No 3, p. 351-356. dostupné na: https://doi.org/10.1111/pbr.12471
11. Dreiseitl, A. 2020. Specific resistance of barley to powdery mildew, its use and beyond: A concise Critical Review. In: *Genes*, 2020, Vol 11, Issue 9, p. 1-15. ISSN 20734425. dostupné na: https://doi:10.3390/genes11090971
12. Dreiseitl, A.- Križanová, K. 2012. Powdery mildew resistance genes in spring barley cultivars registered in Slovakia from 2000 to 2010. In: *Cereal Research Communications*, 2012, Vol. 40, No. 4, p. 494-501. ISSN 1788-9170
13. Everts, K.L.– Leath, S. 1992. Effect of early season powdery mildew on development, survival, and yield contribution of tillers of winter wheat. In: *Phytopathology*, 1992, Vol. 82, No. 11, p. 1273-1278. ISSN 0031-949X
14. Forsström, P.O. 2002. Broadening of mildew resistance in wheat. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, 2002. Dostupné na internete:http://diss-epsilon.slu.se/archive/00000127/01/91-576-6128–820.fulltext.pdf
15. Goodman R.N.- Király Z.- Wood K.R. 1986. The biochemistry and physiology of plant disease. Columbia: University of Missouri Press, 1986
16. Gregory, P.H. 1973. The microbiology of the atmosphere.2nd ed. London: L. Hill, 1973, 377 p. ISBN 0249441101
17. Hao, Y.– Parks, R.– Cowger, Ch.– Chen, Z.– Wang, Y.– Bland, D.– Murphy, J.P.– Guedira, M.– Guedira-Brown, G.– Johnson, J. 2015. Molecular characterization of a new powdery mildew resistance gene *Pm54* in soft red winter wheat. In:

Theoretical and Applied Genetics, 2015, Vol. 128, Issue 3, p. 465-476. ISSN 1432-2242

18. Hardison, J.R. 1944. Specialization of pathogenicity in *Erysiphe graminis* on wild and cultivated grasses. In: *Phytopathology*, 1944, Vol. 34, p. 1-20. ISSN 0031-949X
19. Hardison, J.R. 1945a. Specialization of pathogenicity on *Poa* and its relation to bluegrass improvement. In*: Phytopathology*, 1945, Vol. 35, p. 62-71. ISSN 0031-949X
20. Hardison, J.R. 1945b. Specialization of pathogenicity in *Erysiphe graminis* for pathogenicity on wild and cultivated grasses outside the tribe *Hordeae*. In: *Phytopathology*, 1945, Vol. 35, p. 394-405. ISSN 0031-949X
21. Hrdlicová, M.- Gubiš, J. 2017. Odolnosť odrôd jačmeňa jarného na listové patogény. In: *Naše pole*, 2017, Vol. 12, p. 20-22. ISSN 1335-2466
22. Hsam, S.L.- Paderina, E.V.- Gordei, S.- Zeller, F.J. 1998. Genetic studies of powdery mildew resistance in cultivated oat (Avena sativa L.). II. Cultivars and breeding lines grown in Northern and Eastern Europe. In: *Hereditas*, 1998, Vol 129, No 3, p. 227-230. ISSN 1601-5223. dostupné na: https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1998.00227.x
23. Hsam, S.L.- Peters, N.- Paderina, E.V.- Felsenstein, F.- Oppitz, K.- Zeller, F.J. 1997. Geneticstudies of powdery mildew resistance in common oat (Avena sativa L.) I. Cultivars and breeding lines grown in Western Europe and North America. In: *Euphytica*, 1997, Vol. 96, No 3, p. 421-427. ISSN 1573-5060. dostupné na https://doi.org/10.1023/A:1003057505151
24. Hsam, S. L. K.- Zeller, F. J. 1998: Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in cultivated oat (*Avena sativa* L.). 1. Gene *Eg-3* in the cultivar 'Mostyn'. In: *Plant Breeding*, 1998, Vol. 117, Issue 2, p. 177-178. ISSN 1439-0523
25. Hsam, S.L.K.– Zeller, F.J. 2002. Breeding for powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.). In: Bélanger: The powdery mildews. A comprehensive treatise. Minnesota: 2002, 292 p. ISBN 0-89054-291-0
26. Huszár, J.- Bartoš, P.- Hanzalová, A. 2001. Importance of wheat disease resistace for sustainable agriculture. In: *Acta fytotechnica et zootechnica*, 2001, special issue 4, p. 292-294. ISBN 80-7137-959-X. ISSN 1336-9245
27. Chelkowski, J.- Tyrka, M.- Sobkiewicz, A. 2003. Resistance genes in barley (*Hordeum vulgare* L.) and their identification with molecular markers. In: *Journal of Applied Genetics*, 2003, Vol. 44, Issue 3, p. 291-309. ISSN 2190-3883

28. Imani, Y.- Ouassou, A.- Griffey, C.A. 2002. Virulence of *Blumeria graminis*, f. sp. *tritici* populations in Morocco. In: *Plant Disease*, 2002, Vol. 86, No. 4, p. 383-388. ISSN: 0191-2917
29. Jankovics, T.– Fábián, J.– Jäger, A.– Vida, G.– Kiss, L. 2015. New insights into the life cycle of the wheat powdery mildew: Direct observation of ascosporic infection in *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. In: *Phytopathology*, 2015, Vol. 105, No. 6, p 797-804. ISSN 0031-949X
30. Jeger, M.J.- Viljanen-Rolinson, S.L.H. 2001. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative resistance in crop cultivars. In: *Theoretical and Applied Genetics*,2001, Vol. 102, No. 1, p. 32-40. ISSN 1432-2242
31. Jørgensen, J.H. 1994. Genetics of powdery mildew resistance in barley. In: *Critical Reviews in Plant Sciences,* 1994, Vol. 13, Issue 1, p. 97–119. ISSN 0735-2689
32. Király, Z.- Klement, Z.- Solymosy, F. *et al*., Methods in plant pathology. Budapest: Académiai Kiadó, 1970, 509 p.
33. Liatukas, Z.- Leistrumaité, A. 2007. Field resistance of spring barley cultivars to powdery mildew in Lithuania. In: *Biologia,* 2007, Vol. 62, p. 664–669. ISSN 0006-3088
34. Limpert, E. 1985. Ursachen unterschiedlicher Zusammensetzung der Gerstenmehltaus, *Erysiphe graminis* D.C. f.sp. *hordei* Marchal und deren Bedeutung für Anbau von Gerste in Europa. Dissertationarbeit, TU München: Weihenstephan, 1985, 183 p.
35. Limpert, E.- Bartoš, P. 2002. Wind-dispersed nomadic diseases: conclusions for disease resistance. In: *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 2002, Vol. 38, Issue 3-4, p. 150-152. ISSN 1805-9325
36. Liu, W.– Koo, D.H.– Xia, Q.– Li. Ch.– Bai, F.– Song, Y.– Friebe, B.– Gill, B.S. 2017. Homoeologous recombination-based transfer and molecular cytogenetic mapping of powdery mildew-resistant gene *Pm57* from *Aegilops searsii* into wheat. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 2017, Vol. 130, p. 841-848. ISSN 1432-2242
37. Lyngkjar, M. F.- Newton, A. C.- Atzema, J. L. *et al*., 2000. The Barley *mlo-g*ene: an important powdery mildew resistance source. In: *Agronomie*, 2000, Vol. 20, No. 7, p. 745-756. ISSN 1773-0155
38. Ma, P.– Xu, H.– Xu, Y.– Li, L.– Qie, Y.– Luo, Q.– Zhang, X.– Li, X.– Zhou, Y.– An, D. 2015. Molecular mapping of a new powdery mildew resistance gene *Pm2b* in Chinese breeding line KM2939. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 2015, Vol. 128, p. 613-622. ISSN 1432-2242

39. Mains, E. B. 1934. Inheritance of resistance to powdery mildew, Erysiphe graminis tritici, in wheat. In: *Phytopathology*, 1934, Vol. 24, p. 1257- 1261. ISSN 0031-949X
40. Majeská, M.- Bojnanská, K. 2017. Odolnosť odrôd pšenice ozimnej voči múčnatke trávovej. In: *Naše pole*, 2017, Vol. 11, p. 20-21. ISSN 1335-2466
41. McIntosh, R.A.– Dubcovsky, J.– Rogers, W.J.– Morris, C.– Appels, R. Xia, X.C. 2014. Catalouge of Gene Symbol for Wheat: 2013-2014. http://maswheat.ucdavis.edu/CGSW/2013-2014_Supplement.pdf (accessed 13.9.2017)
42. Okoń, S. 2012. Identifcation of powdery mildew resistance genes in Polish common oat (Avena sativa L.) cultivars using host-pathogen tests. In: *Acta Agrobotanica*, 2012, Vol 65, No 3, p. 63-68. ISSN 2300-357X. dostupné na: https://doi.org/10.5586/aa.2012.008
43. Okoń, S. 2015. Effectiveness of resistant genes to powdery mildew in oat. In: *Crop Protection*, 2015, Vol. 74, p. 48-50. ISSN 1873-6904. dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.04.004
44. Okoń, S.- Ociepa, T.- Nucia, A.- Cieplak, M.- Kowalczyk, K. 2021. Is Every Wild Species a Rich Source of Disease Resistance? Avena fatua L.—Potential Donor of Resistance to Powdery Mildew. In: *Plants*, 2021, Vol. 10, Issue 3, p.560. ISSN 2223-7747
45. Paulech, C. 1995. Flóra Slovenska X/1. Huby, Múčnatkotvaré (*Erysiphales*). Bratislava: Veda, 1995, 183 p.
46. Perugini, L.D.- Murphy, J.P.- Marshall, D. *et al*. 2008. *Pm37*, a new broadly effective powdery mildew resistance gene from *Triticum timopheevii*. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, Vol. 116, Issue 3, p. 417-425. ISSN 1432-2242
47. Radchenko, E.E.- Abdullaev, R.A.- Anisimova, I.N. 2020. Genetic diversity of cereal crops for powdery mildew resistance. In: *Ecological genetics*, 2020, Vol. 18, No 1, p 59-78. dostupné na:https://doi.org/10.17816/ecogen14530
48. Samobor, V- Vukobratović, M.- Jošt, M. 2005. Effect of powdery mildew (*Erysiphe graminis* D.C. f.sp. *tritici* Marchal) attack on yield and physical parameters of wheat (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*) grain quality. In: *Agriculture*, 2005, Vol. 11, No 2, p 30-37. ISSN 1338-4376
49. Schwarzbach, E. 1979. Ahigh throughput jet trap for collecting mildew spores on living leaves. In: *Phytopathologische Zeitschrift*, 1979, Vol. 94, p. 165-171. ISSN 0031-9481
50. Simeone, R.- Piarulli, L.- Nigro, D.- Signorile, M.S.- Blanco, E.- Mangini, G- Blanco, A. 2020. Mapping Powdery Mildew (Blumeria graminis f. sp. tritici) Resistance in Wild and Cultivated Tetraploid Wheats. In: *International Journal*

of Molecular Science, 2020, Vol. 21. p. 1-19. ISSN 1422-0067. dostupné na: doi:10.3390/ijms21217910

51. Simons, M.D.- Martens, J.W.- McKenzie, R.I.H., *et al*., 1978. Oats: a standardized system of nomenclature for genes and chromosomes and catalog of genes governing characters. Washington: U.S. Department of Agriculture, DC. Agriculture handbook. 1978, no. 509
52. Singh, R.P.- Bechere, E.- Abdalla, O. 1993. Genetic analysis of resistance to leaf rust in nine durum wheats. In: *Plant Disease*, 1993, Vol. 77, p. 460–63. ISSN: 0191-2917
53. Slováková, T.– Švec, M.– Miklovičová, M. 2002. How many powdery mildew isolates do we need for virulence analysis? In: *Cereal Rusts and Powdery Mildew Bulletin*, dostupný na http://www.crpmb.org/2002/1011/slovakova/; stiahnutý 19.2.2003
54. Smith, L.P. 1973. Weather Condition and Spore Trap Catches of Barley mildew. In*: Plant Pathology*, 1973, Vol. 22, Issue 1, p. 1-10. ISSN 1365-3059
55. Šebesta, J.- Roderick, H.W.- Chong, J. *et al*., 1993. The oat line Pc54 as a source of resistance to crown rust, stem rust and powdery mildew in Europe. In: *Euphytica*, 1993, Vol. 71, Issue 1-2, p. 91-97. ISSN 1573-5060
56. Švec, M.- Miklovičová, M.- Biela, M. *et al*. 1998. Ktoré gény špecifickej rezistencie voči múčnatke trávovej na pšenici sú na Slovensku účinné? In: Zb. ref. zo seminára „Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín“, Piešťany: VÚRV, 1998, p. 135-138
57. Švec, M.- Miklovičová, M.- Bernáthová, T. *et al*. 1999. Identifying powdery mildew resistance genes in wheat varieties registered in the Slovak Republic in 1994– 1997. In: *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, 1999, Vol. 5-6, No. 45, p. 379– 387. ISSN 1338-4376
58. Schwarzbach, E.– Červená, V.- Bojnanská, K. 2006. Settling velocity and dispersion of powdery mildew conidia in still and turbulent air in a settling tower. In: Sustainable disease management: the European perspective: Abstract book 8th Conference of the European Foundation for Plant Pathology and British Society for Plant Pathology: Presidential Meeting 2006: 13th-17th August 2006, KVL, Frederiksberg, Denmark.- Frederiksberg: KVL, 2006. p. 34
59. Tratwal, A.- Bocianowski, J. 2014. Blumeria graminis f. sp. hordei virulence frequency and the powdery mildew incidence on spring barley in the Wielkopolska province. In: *Journal of Plant Protection Research*, 2013, Vol. 54, No 1, p. 28–35. ISSN 1899-007X

60. Věchet, Ľ. 2004. Comparing of powdery mildew epidemic on winter wheat cultivars with susceptible partial resistant and resistant reaction. In: *Acta fytotechnica et zootechnica,* 2004, Vol. 7, Special Number, Proceedings of the XVI. Slovak and Czech Plant Protection Conference organised at Slovak Agricultural University in Nitra, Slovakia, 2004, p. 339-341, ISSN 1336-9245
61. Věchet, Ľ. 2006.Reaction of Winter Wheat Cultivars and Breeding Lines to Blumeria graminis f.sp. tritici. In: *Plant protection science*, 2006, Vol. 42, No. 1, p. 15-20. ISSN 1805-9341
62. Wei, F.- Gobelman-Werner, K.- Morroll, S. M. 1999. The *Mla* (powdery mildew) resistance cluster is associated with three NBS-LRR gene families and suppressed recombination within a 240-kb DNA interval on chromosome 5S (1HS) of barley. In: *Genetics*, 1999, Vol. 153, Issue 4, p. 1929-1948. ISSN 1943-2631
63. Whittaker, R.H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. In: *Science,* volume 163, issue 3863, p. 150-161 [citované 2017-01-30]. Dostupné na http://www.ib.usp.br/inter/0410113/downloads/Whittaker_1969.pdf
64. WU, X.- BIAN, Q.- GAO, Y.- NI, X.- SUN, Y.- XUAN, Y.- CAO, Y.- LI, T. 2021. Evaluation of resistance to powdery mildew and identification of resistance genes in wheat cultivars. dostupné na: PeerJ 9:e10425 http://doi.org/10.7717/peerj.10425
65. Yarwood, C.E.- Hazen, W.E. 1942. Vertical orientation of conidia during fall. In: *Science*, 1942, Vol. 96, No 2492, p. 316-317
66. Yu, D. Z.- Yang, X. J.- Yang, L. J. *et al*. 2001. Assessment of partial resistance to powdery mildew in Chinese wheat varieties. In: *Plant breeding*, 2001, Vol. 120, Issue 4, p. 279-284. ISSN 0179-9541
67. Zhang, R.– Sun, B.– Chen, J.– Cao, A.– Xing, L.– Feng, Y.–Lan, C.– Chen, P. 2016. *Pm55*, a developmental-stage and tissue-specific powdery mildew resistance gene introgressed from *Dasypyrum villosum* into common wheat. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, Vol. 129, p. 1975-1984. ISSN 1432-2242

Autori metodiky a fotografií:
RNDr. Miroslava Hrdlicová, PhD.
Ing. Katarína Bojnanská

Názov: Metodika testovania odolnosti obilnín na múčnatku trávovú v poľných a v laboratórnych podmienkach

Vydal: Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav rastlinnej výroby, 921 68 Piešťany

ISBN 978-80-89162-82-6

Publikácia neprešla jazykovou úpravou

Metodika je nepredajná

Kontakt na autorov:
miroslava.hrdlicova@nppc.sk
katarina.bojnanska@nppc.sk

Vydal Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum- Výskumný ústav rastlinnej výroby, Piešťany

2023