

# **Reakce hostitele na infekční agens**

- **Základní inkompatibilita** - imunita (nehostitel - nepatogen)
- **Základní kompatibilita**  
REZISTENCE - schopnost host. oddálit nebo potlačit aktivitu patog. agens  
( rezistence # imunita)  
NÁCHYLNOST - neschopnost .....  
TOLERANCE – snášet zjevně neomezenou a rozsáhlou invazi bez příznaků

# Symptomy

- viditelná abnormalita vzniklá následkem napadení
- Lokální, systémové
- Hlavní, vedlejší – dle významu pro diagnostiku
- Iniciační, sekundární

# Klasifikace symptomů

## 1. Změny zabarvení - diskolorace

- **žloutnutí** (absence žluté barvy, redukce počtu chloroplastů)
- **hnědnutí** (odumírání pletiv, enzymatická přeměna polyfenolů v buněčné šťávě na hnědé oxidační produkty)
- **červenání – antokyanizace** (vymizení chlorofylu, vyniknutí antokyanů)
- **panašování, albinismus**
- **mozaika**
- **virescence**

## **2. Změny tvaru**

- hypoplasie – atrofie, zakrnělost**
- hyperplasie – tumory**
- kadeřavost**
- svinování listů**
- čarověníky**

### **3. Odumírání**

- odumírání buněk**
- vadnutí – ztráta turgoru**
- apoplexie**
- hniloba – mumifikace, mokrá**
- nekroza – lokální odúmrt' pletiv**

# Funkční změny

## Změny na úrovni pletiv a buněk

- Narušení integrity plasmalemy
- Změny fyz.-chemických vlastností cytoplasmy, narušení struktury koloidů cytoplasmy
- Změny plastidů – chloroplasty
- Mitochondrie – zvětšení, zvýšení, degradace
- Jádro – desintegrace, hypertrofie, vakuolizace

# Změny metabolismu

- Extrémní zatížení energetického metabolismu buňky
- Krytí zvýšené energetické podpory
- Indukce změn nízkomolekulárními metabolity patogenů
- Změna permeability membrán, ultrastruktura subcelulárních organel
- Změna v kompartmentaci látek
- Stoupá aktivita enzymů při katabolismu sacharidů, metabolismu aminokyselin, oxid.-red.procesech

# Fotosyntéza

- rychlosť klesá v průběhu onemocnění
- u nekróz absolutně
- U obligátních biotrofů poruchy

## Respirace

Zvyšuje se v průběhu patogeneze

Stresová situace – nárůst nároků na volnou energii

# Mechanismy rezistence

- V populacích rostlin převládá rezistence nad náchylností
- pro vznik choroby 4 faktory:
  - vhodnost živných látek rostliny pro patogena
  - účinnost obranných bariér
  - účinnost irritantů patogena
  - citlivost rostlin na přítomnost patogena

# **Strukturální obranné mechanismy (krycí pletiva, vosky, kutikula, buněčná st.)**

## **Krycí pletiva**

**Odpuzují patogeny nebo jejich vektory  
(vůně)**

**Zamezují vstupu**

**Vosky a hydrofobní povrch**

**Trichomy**

**Síla kutikuly- ovlivňuje rychlosť penetrace**

**Buněčná stěna – musí být porušena**

**Průduchy, lenticely, hydatody – brána infekce**

# Biochemické determinanty rezistence

## 1. Inhibiční látky rostliny

Nesyntetizují se až po napadení

Glykoalkaloid tomatin – rezistence k *Fusarium* u zelených plodů  
rajčat

## 2. Syntéza inhibičních látek po interakci hostitel – patogen

Fytoalexiny – sekundární metabolismus rostliny, antibiotické povahy  
pisatin, fazeolin, zeatin, trifolirhizin  
Exudáty

Enzymy lyzující patogeny - glukanázy, chitinázy

Antimikrobiální látky - fenoly, taniny, melaniny, lignin, kyan.  
glykosidy

## 3. Systémová rezistence - aktivní obranný systém tzv.

hypersenzitivní reakce, nekróza

kyselina salicylová, jasmonová, etylén – endogenní signál při SR

# Typy interakcí mezi patogenem a rostlinou

	<u>Patogen</u>	
<u>Hostitelská rostlina</u>	Virulentní	Avirulentní
Rezistentní	R -	R -
Citlivá	S Příznaky choroby	R -

Úroveň fenotypů  
genotypů      gen rezistence  $R/r$   
                    gen virulence  $Avr/avr$   
molekulární

# **Selekční metody**

## **Tvorba rezistentního materiálu**

- Klasické - artificiální inokulace, výběr, zpětné křížení
- Biotechnologické - *in vitro* kultury - protoplasty, buněčné suspenze, kalusy - toxické metabolity
- GMO - např. *Agrobacterium tumefaciens*, direct bombardment

# Markerování rezistence

- Klasicky - testy rezistence, zpětné křížení, hodnocení reakce hostitele na inokulaci
  - Biochemicky - např. analýza fytoalexinů, enzymů apod.
  - Molekulárně-geneticky
- PCR - RAPD markery (**PCR patogenů**)
- AFLP
  - RFLP, SSR markery, mikrosateliity

# **Genome mapping, MAS - marker assisted selection**

- genová mapa vojtěšky - odvozená v F2 generaci *M. sativa* subsp. *Falcata*
- více než 900 RFLP, RAPD, isozymových a morfologických markerů
- několik QTL (quantitative trait loci) především pro abiotické stresy (aluminium, sucho, mráz, ale i barva květů, somatická embryogeneze apod.)



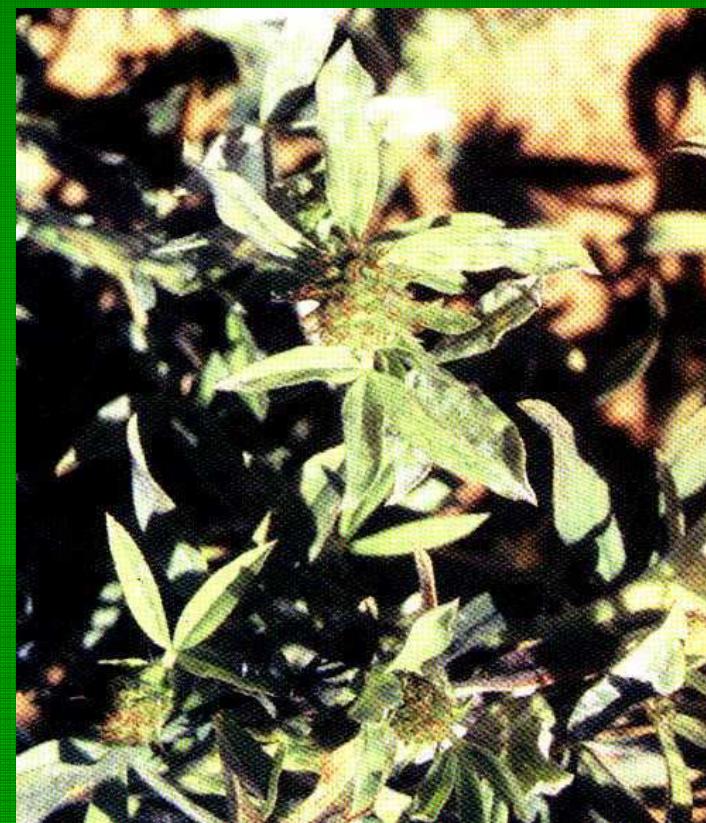
# **Viruses of red clover in the Czech Republic**

- **Bean yellow mosaic virus - BYMV**
- **Alfalfa mosaic virus - AMV**
- **Pea top necrosis virus**
- **Red clover vein mosaic virus**

# **Bean yellow mosaic virus - BYMV**

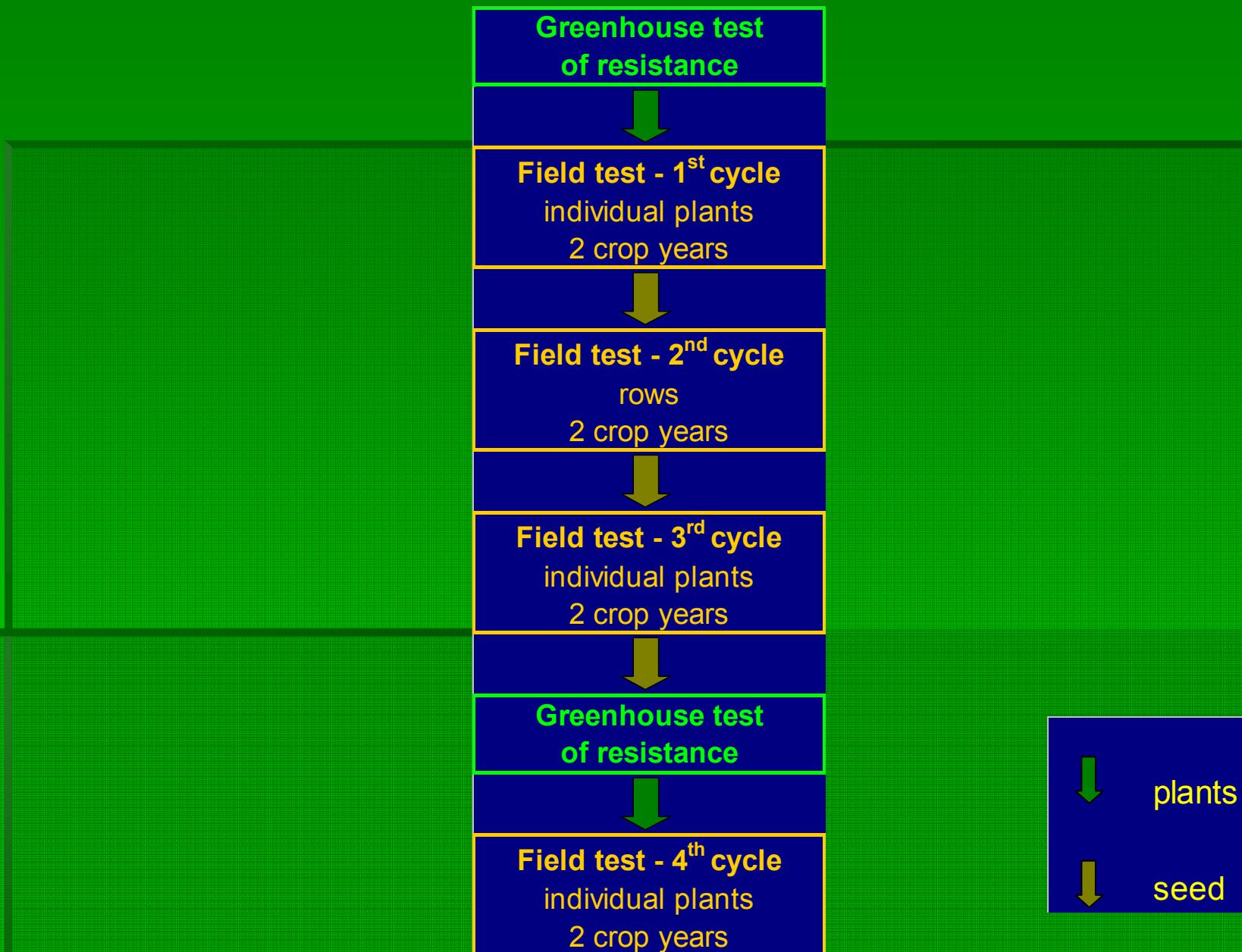
- Mozaika, zkadeření, retardace růstu
- Vektory - mšice, nepersistentní
- Částečný přenos mechanicky št'ávou, osivem
- Škodlivost: výnos o 25%, snížení vytrvalosti
- Rezistentní šlechtění- výsledky VÚPxHŽ

# Symptoms of virus diseases on *Trifolium* spp.



From: McKirdy, S.J et al., Aust. J. Agric. Res, 2000, 51, 325-345

# **Scheme of selection of red clover material resistant to BYMV**



# Greenhouse test - inoculation



# Plant nursery - individual plants



# Results of selection of red clover material resistant to BYMV

Cycle	Strains/ plants	GH	On field	Autumn 1 <sup>st</sup> CY			Spring 2 <sup>nd</sup> CY		
				PD	V	H	PD	V	H
1 <sup>st</sup>	116/2320	19,4	1717	42,6	39,9	17,5	64,0	29,5	6,5
3 <sup>rd</sup>	55/2820	nd	2820	nd	nd	nd	35,3	42,7	22,0
4 <sup>th</sup>	29/1330	6,5	1150	27,9	28,6	43,5	42,8	37,8	19,4

GH - greenhouse test - percentage of plants with symptoms

PD - percentage of plant death

V - percentage of plants with symptoms

H - percentage of healthy plants

CY - crop year

# **Percentage of red clover strains in particular grades of resistance to BYMV**

Cycle	Number of strains in cycle	Percentage of strains in particular resistance grade				
		1	2	3	4	5
1 <sup>st</sup>	116	37,9	37,1	21,6	1,7	1,7
4 <sup>th</sup>	29	75,9	24,1	0,0	0,0	0,0

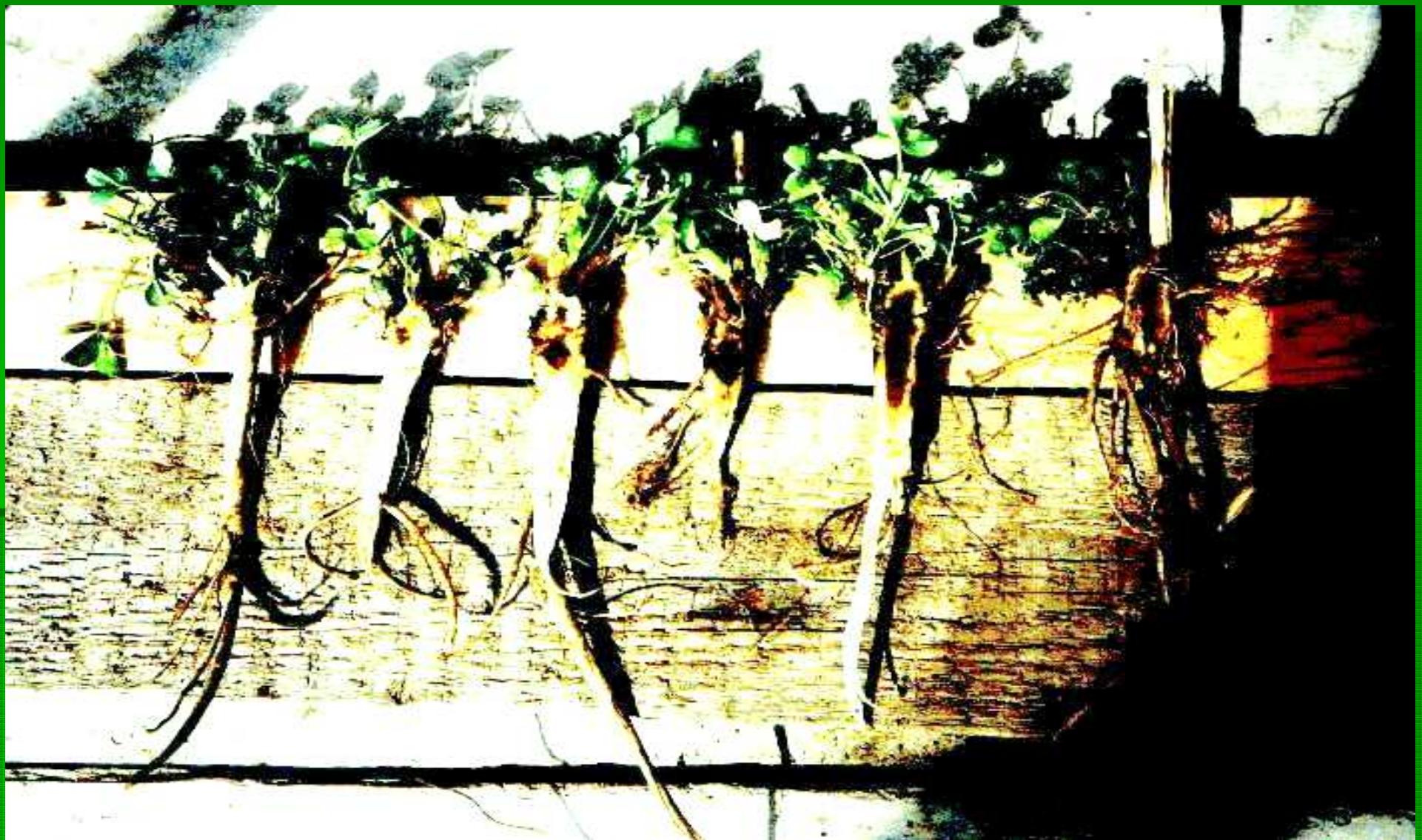
Grade 1

percentage of infection of particular strain till 10,0 %

# **Fusarium spp. - krčkové a kořenové hnily**

- Komplexní onemocnění, hnily kořenového systému
- V současnosti hlavní choroba
- Škodlivost v desítkách procent
- Snížení vytrvalosti, predispozice pro další patogeny
- Rezistence jako jedna z možností - příklad nšl. VUPxHŽ

# **Symptoms of *Fusarium* spp. on red clover roots**



# **Strains with different resistance to Fusarium spp.**



susceptible



resistant

# **Strategie a perspektivy**

- Specifika pícnin - cizosprašnost, self-incompatibilita, častá inbrední deprese
- Využívání MAS a QTL, SSR markery
- Mezidruhová a mezirodová hybridizace
- Postupné poznávání ras patogenů