

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA BOTANIKY



**Rezistence českých populací padlí tykvovitých
vůči novým skupinám fungicidů**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:

Martin Šrajbr

Studijní program:

B1407 / Chemie

Studijní obor:

Chemie - Biologie

Forma studia:

Prezenční

Vedoucí diplomové práce:

Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.

Olomouc 2015

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracoval samostatně, podle metodických pokynů vedoucího bakalářské práce a za použití uvedené literatury.

V Olomouci dne

.....

Poděkování:

Děkuji RNDr. Boženě Sedlákové Ph.D. a Prof. Ing. Aleši Lebedovi, DrSc. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost při tvorbě bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat paní V. Zoubkové za pěstování pokusných rostlin.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora:	Martin Šrajbr
Název práce:	Rezistence českých populací padlí tykvovitých vůči novým skupinám fungicidů
Typ práce:	Bakalářská práce
Pracoviště:	Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 27, 783 71, Olomouc-Holice
Vedoucí bakalářské práce:	Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.
Rok obhajoby práce:	2015
Abstrakt:	

V teoretické části byla vypracována rešerše týkající se vybraných skupin fungicidních přípravků, světové rezistence k používaným fungicidům a poznatkům o rezistenci padlí dýňovitých (druhů: *Golovinomyces orontii* /Go/ a *Podosphaera xanthii* /Px/) k fungicidům v České republice (ČR) v letech 2001-2011.

V praktické části byla sledována účinnost těchto šesti fungicidů: ATLAS 500 SC (účinná látka: quinoxifen), BUMPER 25 EC (propiconazol), CORBEL (fenpropimorf), TOPAS 100 EC (penconazol), KARATHANE LC (dinocap) a ORTIVA (azoxystrobin). Celkem 24 izolátů padlí dýňovitých (11 Go, 13 Px) pocházejících ze sběrů realizovaných na území ČR v roce 2012 bylo testováno třemi různými koncentracemi fungicidu ve třech opakováních s využitím modifikované metody listových disků. Přípravky na bázi propiconazolu, fenpropimorfu a penconazolu byly 100% účinné. Fenpropimorf navíc vykazoval fytotoxicitu k listovým diskům *C. sativus* 'Stela F₁'. Dinocap měl vysokou účinnost, ale byla u něho ojediněle pozorována také tolerance vůči všem testovaným koncentracím, která korespondovala s předchozími lety. Quinoxifen vykazoval klesající účinnost a byly pozorovány rozdíly mezi oběma druhy patogenů. Azoxystrobin byl rovněž méně účinný, což bylo zaznamenáno již v roce 2011.

Klíčová slova: azoxystrobin, dinocap, fenpropimorf, *Golovinomyces orontii*, padlí dýňovitých, padlí tykvovitých, penconazol, *Podosphaera xanthii*, propiconazol, quinoxifen, rezistence k fungicidům.

Počet stran: 82

Počet příloh: -

Jazyk: Český

Bibliographical identification

Autor's first name and surname: Martin Šrajbr
Title: Resistance of Czech populations of cucurbit powdery mildew to a new groups of fungicides
Type of thesis: Bachelor
Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Šlechtitelů 27, 783 71, Olomouc-Holice
Supervisor: Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.
The year of presentation: 2015
Abstract:

In the theoretical part of the thesis, survey of selected groups of fungicides, resistance to used fungicides in world and knowledge about fungicide resistance in cucurbit powdery mildew populations (species: *Golovinomyces orontii* /Go/ and *Podosphaera xanthii* /Px/), in the Czech Republic (ČR) in 2001-2011.

In the practical part, the efficacy of these six fungicides was screened: ATLAS 500 SC (active ingredient: quinoxifen), BUMPER 25 EC (propiconazole), CORBEL (fenprophimorph), TOPAS 100 EC (penconazole), KARATHANE LC (dinocap) and ORTIVA (azoxystrobin). Altogether 24 CPM Czech isolates (11 *Go*, 13 *Px*) originated from the collecting expeditions at the area of CR from the year 2012 were screened using a modified leaf-disc bioassay with three different concentrations of fungicide in three replicates. Propiconazole, fenprophimorph and penconazole were 100% effective. In addition fenprophimorph showed phytotoxicity to *C. sativus* 'Stela F₁' leaf discs. Dinocap expressed highly efficacy but there were rarely also noted moderate resistance on all tested concentrations that verified our previous results. Quinoxifen showed lower efficacy and there were noted differences in reaction between both CPM species. Azoxystrobin expressed decreased efficacy that reflected situation in Czech CPM populations in 2011.

Key words: azoxystrobin, cucurbit powdery mildew, dinocap, fenprophimorph, fungicide resistance, *Golovinomyces orontii*, penconazol, *Podosphaera xanthii*, propiconazol, quinoxifen.

Numer of pages: 82

Numer of appendices: -

Language: Czech

OBSAH

1. ÚVODNÍ SLOVO A POHLEDNUTÍ ZA PŮVODEM FUNGICIDŮ	8
2. CÍL PRÁCE	10
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	11
3.1. HISTORIE POUŽITÍ FUNGICIDŮ A FRAC	11
3.1.1. <i>Historie použití fungicidů</i>	11
3.1.2. <i>FRAC (The Fungicide Resistance Action Committee)</i>	12
3.2. CHARAKTERISTIKA SKUPIN A ZAŘAZENÍ VYBRANÝCH FUNGICIDŮ	14
3.3. C-SKUPINA INHIBITORŮ	15
3.3.1. <i>Charakteristika hlavní skupiny</i>	15
3.3.2. <i>C3: Komplex III – cytochrom bc1 (ubichinol oxidáza) v Qo cyklu</i>	20
3.3.3. <i>C5: Rozpojovače oxidativní fosforylace</i>	22
3.4. E-SKUPINA INHIBITORŮ	25
3.4.1. <i>Charakteristika hlavní skupiny</i>	25
3.4.2. <i>Základní rozdělení inhibitorů signálních procesů</i>	25
3.5. G-SKUPINA INHIBITORŮ	27
3.5.1. <i>Charakteristika hlavní skupiny</i>	27
3.5.2. <i>Základní rozdělení inhibitorů sterolové biosyntézy</i>	29
3.6. PŘÍPRAVKY REGISTROVANÉ PROTI PADLÍ DÝŇOVITÝCH VE SVĚTĚ	35
3.7. SEZNAM CELOSVĚTOVÝCH PŘÍPRAVKŮ SE ZNÁMOU REZISTENCÍ	39
3.8. SEZNAM PŘÍPRAVKŮ REGISTROVANÝCH V ČR PROTI PADLÍ DÝŇOVITÝCH	42
3.9. REZISTENCE PADLÍ DÝŇOVITÝCH VŮČI FUNGICIDŮM V ČR	43
4. MATERIÁL A METODY	47
4.1. METODA LISTOVÝCH DISKŮ	47
4.1.1. <i>Rostlinný materiál</i>	47
4.1.2. <i>Původ, charakteristika a uchovávání izolátů padlí tykvoovitých použitých k testování</i>	47
4.1.3. <i>Modifikovaná metoda listových disků a použité fungicidy</i>	50
4.1.4. <i>Charakteristika testovaných fungicidů</i>	51
4.1.5. <i>Hodnocení intenzity sporulace</i>	52

5. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	54
5.1. ATLAS 500 CS (QUINOXYFEN).....	54
5.2. BUMPER 25 EC (PROPICONAZOL).....	55
5.3. KARATHANE LC (DINOCAP).....	55
5.4. TOPAS 100 EC (PENCONAZOL).....	56
5.5. ORTIVA (AZOXYSTROBIN).....	56
5.6. CORBEL (FENPROPIMORPH).....	57
6. ZÁVĚR.....	71
7. POUŽITÁ LITERATURA	73

1. Úvodní slovo a poohlédnutí za původem fungicidů

Padlí způsobuje závažná onemocnění mnoha rostlin, nejen důležitých v zemědělství, ale i okrasných a planě rostoucích (Brown, 2002). V řadě literárních pramenů se uvádí, že hlavní příčinou množství produkčních ztrát v čeledi tykvovitých (Cucurbitaceae) je z celosvětového měřítka právě padlí dýňovitých (Cohen et al., 2004; Křístková et al., 2009; McGrath, 2006). Původcem tohoto onemocnění jsou dva biotrofní ektoparazitické druhy, které jsou podle monografie Brauna Cooka z roku 2012 nazývány takto: *Golovinomyces orontii* (Go) a *Podosphaera xanthii* (Px) (Křístková et al., 2009).

Oba druhy patří do vřecovýtrusých hub oddělení Ascomycota z řádu Erysiphales a napadají hostitelské druhy nejčastěji pomocí konidií (v anamorfním stádiu) nebo vzácně askospor (v teleomorfním stádiu), které vyklíčením pronikají přes epidermální či stomatární buňky do hostitele (Jarvis et al., 2002). Choroba postihuje nejčastěji listovou čepel na adaxiální, později i abaxiální straně, případně ve vhodných podmínkách a silné infekci i stonky a řapíky listů. Na postižených místech se vytvářejí kruhové, postupně se zvětšující, bílé až šedobílé skvrny, které časem splývají v souvislou vrstvu mycelia produkující především nepohlavní konidie (Jahn et al., 2002).

U obou druhů padlí dýňovitých je známo, že jsou vysoce variabilní ve své patogenitě a virulenci, a to nejen na úrovni patotypů, ale také i ras (Lebeda et al., 2011). Patotyp vyjadřuje variabilitu patogenu na úrovni jeho hostitelského okruhu, v případě padlí dýňovitých čeledi Cucurbitaceae, zatímco rasa na úrovni jednoho hostitelského druhu (v současnosti pouze *Cucumis melo*) (Bardin et al., 1997). Ve světě (především u Px), ale i v České republice (u obou patogenů) bylo popsáno velké množství patotypů a ras (Jahn et al., 2002; Lebeda & Sedláková, 2006; McGrath, 2006).

Mnohem dříve než vůbec došlo k domestikaci předchůdců zemědělských plodin, planých rostlin, nepochybně již existovaly choroby na rostlinách. Již ve velmi starých literárních pramenech se nacházejí zmínky o výskytu nejrůznějších „plísni“, proti kterým měl tehdejší lid vyzkoušenou účinnou zbraň v podobě elementární síry, která patří dodnes mezi základní složky obranných látek. Avšak z těchto pramenů není patrné, zda mezi tyto nemoci patřilo už i samotné padlí. Významným krokem, po zavedení „vápno-sírové“ obranně na počátku 19. století, se stalo zavedení nových chemických metod, které v roce 1934 vyvrcholily objevem prvních organických fungicidů. Stejně tak tomu bylo i při vývoji antibiotik, které

však, i přes svou účinnost vzhledem k padlí a především jeho dobré kontrole, opravdové využití v zemědělství nikdy nezaznamenaly. Těmito událostmi odstartoval mohutný vývoj obranných a ochranných látek, které měly za úkol ničit především parazitické organizmy nebo vůbec předcházet jejich samotnému vývinu na hostitelských organizmech (Hollomon, Wheeler, 2002).

Problematika rezistence padlí dýňovitých vůči fungicidům je v České republice dlouhodobě řešena kolektivem pracovníků Katedry botaniky, Přf UP pod vedením prof. Lebedy. Tento výzkum je podporován granty QH 71229, MSM 6198959215, IGA Přf 2014 001, IGA Přf 2015 001. Získané experimentální výsledky této bakalářské práce tak mohou být využity při zpracování této problematiky formou publikace v odborném periodiku.

2. Cíl práce

Teoretická část bakalářské práce měla za cíl zpracování literární rešerše, která by obsahovala charakteristiku vybraných skupin fungicidů, ze kterých pocházejí účinné látky, jejichž efektivita je testována v praktické části této práce. Druhým cílem byla aktualizace zjištěných rezistencí v populacích padlí dýňovitých vůči fungicidům ve světě a především v České Republice (ČR).

V experimentální části byla sledována účinnost šesti fungicidů a jejich účinných látek v chemické ochraně vůči padlí dýňovitých. Jednalo se o fungicidní přípravky: ATLAS 500 SC (účinná látka: quinoxifen), BUMPER 25 EC (propiconazol), CORBEL (fenpropimorf), TOPAS 100 EC (penconazol), KARATHANE LC (dinocap) a ORTIVA (azoxystrobin). Celkem bylo k testování vybráno 24 izolátů padlí dýňovitých (11 *Golovinomyces orontii* /Go/ a 13 *Podosphaera xanthii* /Px/), které pocházely ze sběrů realizovaných na území ČR v roce 2012. Testování probíhalo s třemi různými koncentracemi fungicidů pomocí modifikované metody listových disků, která byla pro účely screeningu rezistence vůči fungicidům v populacích padlí tykvoovitých již v minulosti vytvořena (Lebeda a Sedláková, 2010; Sedláková a Lebeda, 2008).

Získané experimentální výsledky zpracované v této bakalářské práci především přispěly výzkumu této problematiky, která je dlouhodobě řešena týmem prof. Lebedy a Dr. Sedlákové z Fytopatologické laboratoře Katedry botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, a byly v minulosti nebo jsou v současnosti řešeny v rámci několika grantů (QH 71229; MSM 6198959215; PřF 2011 003; PřF 2012 001; PřF 2013 003; IGA PřF 2014 001; IGA PřF 2014 001, IGA PřF 2015 001).

3. Literární rešerše

3.1. Historie použití fungicidů a FRAC

3.1.1. Historie použití fungicidů

Jak již bylo v úvodu zmíněno, první jednodušší fungicidy byly objeveny již na počátku 19. století, kdy William Forsyth představil „vápno-sírovou“ obranu, doporučenou pro zamezení chorob padlí na ovocných stromech (Brent, 1985). O pár desetiletí později v roce 1885 francouzský vědec Millardet přichází s další tzv. Bordeaux směsí, založenou na bázi mědi, která byla vyvinuta na obranu proti patogenům z říše Chromista, např. proti druhu *Plasmopara viticola* na hroznech (Viennot-Bourgin, 1985). V obou těchto případech se do určité míry jednalo o pionýrské druhy preparátů, které byly postupem času nahrazeny složitějšími a především účinnějšími fungicidy. (Kuck et al., 2012)

První fungicidy organického původu se objevily až na počátku 20. století a byly vytvořeny především z důvodu léčby a ochrany obilných zrn. Dalšími prostředky pro účinnou kontrolu na rostlinných organizmech se stali od 30. let sloučeniny obsahující dikarbamáty a ftalimidy, které svým vícesložkovým a širokospektrálním, avšak nesystémovým působením poskytovaly ochranu na povrchu rostliny proti mnoha různým chorobám. (Kuck et al., 2012)

K výraznému pokroku ve vývoji chemických prostředků docházelo i v následujících desetiletích. Postupně tak došlo v 60. letech vyvinutí benzimidazolů a karboxamidů, začátkem 70. let inhibitorů syntézy sterolů (SBI inhibitory) a později také dikarboximidů, fenylamidů a dalších nových SBI fungicidů. Rozvoj těchto fungicidů znamenal zásadní průlom především z hlediska jejich efektivnosti, kdy se specializací účinků, působících na přesně daném jednom místě, dosáhlo snížení nákladů, množství spotřebované látky i počtu dávek pro danou sezónu ve srovnání s dříve vyvinutými fungicidními přípravky. (Kuck et al., 2012)

Další výhodou jsou u většiny těchto látek jejich systémové vlastnosti, které umožňují vstřebání a rozvod účinné látky dřevním svazkem po celé rostlině, a tím zaručí, že se látka dostane i do míst, kam by povrchovou aplikací (postřikem) neměla šanci. Navíc jsou tyto látky také špatně smývatelné, což celkově doplňuje paletu jejich vynikajících vlastností. Avšak bohužel s rozvojem těchto moderních fungicidních přípravků došlo i k vývoji obrany u jednotlivých houbových organizmů, které časem často vytváří plně rezistentní populace. (Kuck et al., 2012)

3.1.2. FRAC (The Fungicide Resistance Action Committee)

Postupem času vzrostl počet případů výskytu rezistentních druhů mnoha patogenů vůči řadě chemických látek, což vyvolalo určité obavy. Vrcholem se stalo znepokojení ohledně rezistence fenylamidů a triazolů a především rozsáhlé rezistentní problémy u benzimidazolů a dikarboximidů. Následkem těchto skutečností se v letech 1981 a 1982 na Wageningově univerzitě v Holandsku uskutečnily sjezdy odborné veřejnosti a byly zorganizovány vědecké semináře. Právě zde také byla uzavřena dohoda vrcholných představitelů zemědělských společností na založení mezinárodní společnosti, jejímž úkolem by byla koordinace postupů, řešících zvyšující odolnost cílových organismů. Nedlouho poté tak došlo k založení organizace s názvem FRAC (The Fungicide Resistance Action Committee), zabývající se a řešící problémy spojené s rezistencí a soustředící své snahy na řízení a pokud možno předcházení vzniku rezistence u patogenů. Pozdějším začleněním této organizace do Mezinárodní skupiny národních asociací pracovníků v zemědělských odvětvích GIFAP (The International Group of National Association of Manufacturers of Agrochemical Products) začala série mnoha organizačních vzestupů. Propracováním se do Světové organizace na ochranu plodin GCPF (The Global Crop Protection Federation) počínaje a začleněním do světové federace Croplife International představující rostlinný vědecký průmysl konče. (Kuck et al., 2012)

V současnosti FRAC slouží hned k několika účelům. Ve stručnosti je lze shrnout do těchto tří hlavních bodů: poskytování návodu na strategii použití fungicidních přípravků, prodloužení účinnosti rizikových přípravků a tím i omezení sklizňových ztrát. V těchto bodech je však zahrnuto mnoho činností a cílů, které tato organizace provádí a kterými se snaží přispět k lepšímu pochopení této problematiky veřejností. Jsou to hlavně tyto cíle:

1. Identifikace existujícího či potenciálního problému rezistence
2. Shromažďování informací o odolnosti a informování všech zainteresovaných stran ve výzkumu, vývoji, distribuci, registraci či samotných uživatelů
3. Poskytování směrnic a rad pro použití fungicidní ochrany ke snížení rizika vytvoření rezistence a ke zmírnění dopadu již vytvořené rezistence v populacích patogenů
4. Doporučení metod pro studium mechanismů rezistence
5. Umožnění spolupráce s univerzitami, vládními organizacemi, poradci, různými pracovníky z praxe, distributory a v neposlední řadě i s farmáři

Samotná organizace dále dohlíží na výrobu fungicidních přípravků a především si všímá mechanismu jejich působení. Pokud by se tedy stalo, že se ve dvou odlišných látkách

nachází aktivní části, které narušují stejný cyklus patogenu ve stejném místě, tedy způsobem ničení parazita, který se ukázal jako rizikový, okamžitě se tímto problémem začíná zabývat „FRAC Working Group“. Tato pracovní skupina co nejdříve zajistí analýzu potencionálního rizika a zároveň vytvoří systém doporučení, kterými by se měli možní uživatelé řídit. V současnosti již existují pracovní skupiny FRAC kontrolující SBInhibitory, QoInhibitory, AP-fungicidy, SDHInhibitory a CAA-fungicidy. Jednotlivé skupiny se pravidelně schází a každoročně vydávají hodnotící zprávy o aktuálním stavu fungicidních přípravků a dále přidávají vhodná doporučení pro jejich použití. (Kuck et al., 2012)

Nejvýraznějším a podle mnoha názorů z řad široké veřejnosti rovněž i nejdůležitějším přínosem organizace FRAC se stala klasifikace fungicidů podle jejich chemické povahy, způsobu účinku a rizikovosti ke vzniku rezistence. Tímto počinem vznikl tzv. „FRAC Code List“.

Vytvořený seznam sdružuje všechny existující komerční fungicidní přípravky do rozsáhlé, ale přehledné, tabulky podle jejich mechanismu působení a stupně rizika k vytvoření rezistence k dané fungicidní skupině. Společně s fungicidy jsou do tohoto seznamu začleněny i nejvýznamnější baktericidy. (www.frac.info, 2015)

Samotné uspořádání těchto látek ve FRAC Code Listu se věrně drží podoby kteréhokoliv hierarchického systému s několika důležitými systémovými kategoriemi. Při zařazování se nejprve určí metabolický proces patogenního organismu, který bývá danou látkou narušen (MOA Code, tzv. způsob účinku). Tato kategorie je označována písmeny A-I, s výjimkami pro P (host plant defence inducers, látky spouštějící obranné mechanismy rostlin), U (inhibitory neznámého účinku) a M (inhibitory s vícepolohovým účinkem, tzv. multi-site inhibitory). Další vytvořenou kategorií je (Target Site and Code), tzv. místo, kde dochází k ovlivnění účinnou látkou. K danému místu byl přiřazen také kód. Následuje kategorie „Název chemické skupiny“ (Group Name), které úzce souvisí s jejím chemickým složením, a chemická skupina, jejíž jméno je přiřazováno podle IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Následující kategorií klasifikace je „Název účinné látky“ (Common Name), která musí být též uvedena na popisných štítcích fungicidních přípravků. Předposlední kategorií v seznamu tvoří Komentáře k jednotlivým skupinám zaměřené na riziko vzniku rezistence u dané skupiny patogenů resp. druhu ke konkrétní účinné látce, resp. chemické skupině. Na základě těchto stupňů rizikovosti, resp. nebezpečí rizika vzniku rezistence v dané populaci patogenu, jsou rozlišeny tyto: neznámý (not known), nízký (low), střední (medium), vysoký (high). Poslední kategorií je tzv. FRAC Code. Jedná se o číselný kód, který byl přiřazen každé skupině (Target Side and Code) poté, co byl první

produkt z dané skupiny uveden na trh. Zatímco výše zmíněné členění skupin podle místa účinku s příslušným kódem (Target Side and Code, např. A1) bylo přisuzováno skupinám podle místa účinku (www.frac.info, 2015)

Dosud byly publikovány také další FRACu podobné seznamy fungicidních látek. Jako příklad lze uvést tyto: FRUG-UK (Fungicide Resistance, August 2001) či „Lerouxův seznam“ (Classification des fongicides agricoles et résistance, November 2002). (www.frac.info, 2015)

3.2. Charakteristika skupin a zařazení vybraných fungicidů

Následující kapitola bude zaměřena na charakteristiku jednotlivých vybraných skupin fungicidů, ze kterých pocházejí účinné látky, jejichž efektivita je testována v praktické části této BP, a to na souboru izolátů padlí dýňovitých z roku 2011. Úvodní odstavec každé kapitoly je věnován popisu fungování procesů v buňkách, které pak jsou příslušnou skupinou fungicidů ovlivňovány. U chemických skupin se vycházelo z jejich rozdělení podle Seznamu FRACu (FRAC Code List) z roku 2015 (www.frac.info, 2015), tedy podle způsobu účinku a jeho označení příslušným kódem (Mode Of Action, MOA), cílového místa působení (Target Side and Code), chemické skupiny a podskupiny, účinné látky a FRAC kódu (FRAC Code). Budou zde charakterizovány tyto skupiny: C (zaměřená na dýchací řetězec), E (na signalizační procesy) a G (na sterolovou biosyntézu). (**Tabulka č.1.**)

Tabulka č.1. Ilustrativní tabulka základního členění vybraných chemických skupin podle FRACu, z nichž pocházely účinné látky testovaných fungicidních přípravků v této BP.

MOA	TARGET SITE AND CODE	GROUP NAME	CHEMICAL GROUP	COMMON NAME	FRAC CODE
C: Respiration	C3:complex III: cytochrome bc1	QoI-fungicides	methoxy-acrylates	azoxystrobin	11
	C5:uncouplers of oxidative phosphorylation	-----	dinitrophenyl crotonates	dinocap	29
G: Sterol biosynthesis	G1: C14-demethylase	DMI-fungicides	triazoles	penconazole propiconazole	3
	G2: Δ 14-reductase and Δ 8 \rightarrow Δ 7-isomerase	Amines ("Morpholines")	morpholines	fenpropimorf	5
E: signal transduction	E1: Transduction (mechanism unknow)	azanaphthalenes	quinolines	quinoxifen	13

Každá z těchto skupin bude následně rozdělena podle systému FRACu až na samotné účinné látky, mezi kterými se nachází ty, které jsou v praktické části BP testovány. Celý tento

postup bude v následujících kapitolách dodržen a bude věnována pozornost vždy dané hierarchické skupině, do které námi testovaná účinná látka patří.

3.3. C-skupina inhibitorů

3.3.1. Charakteristika hlavní skupiny

3.3.1.1. Popis procesů v dýchacím řetězci

Všechny eukaryotické buňky rozkládají cukry, tuky a bílkoviny, které procházejí oxidačními procesy. Při těchto rozkladných procesech dochází k uvolňování energie, která je dále uskladňována v podobě ATP. Tato uskladněná energie je dále využívána k fungování celé buňky, jejíž existence je hlavně závislá na jednotlivých kinetických, biochemických a především procesech udržujících rovnováhu. Samotná oxidace probíhá prostřednictvím 2 koenzymů: nikotinamidadeninukleotid (NAD) a flavinadeninukleotid (FAD). Redukcí těchto dehydrogenáz dochází k vzniku NADH a FADH₂, které jsou důležitou součástí nejen pro výrobu ATP. Při jejich reoxidaci, při které je nezbytná přítomnost O₂, dochází k uvolnění elektronů, jež jsou dále přenášeny složitým systémem přenašečů přes vnitřní mitochondriální membránu. Během tohoto přenosu dochází i k transportu protonových iontů, které vytváří ideální prostředí pro funkci ATP-syntázy, související s již zmíněnou tvorbou ATP. Tomuto procesu se říká obecně dýchání (nebo také elektronový transportní řetězec či cytochromová oxidace). (Earley, 2012)

Při detailním studiu mitochondriálního elektronového transportního řetězce bylo zjištěno, že celý mechanismus se skládá z několika podjednotek. Každá takováto jednotka vždy úzce souvisí se sousedními, a tím všechny vytvářejí daný řetězec. Vědci tyto jednotky podle návaznosti a pořadí pojmenovali jako Komplexy I-IV. Základní sdružení, někdy zvané „superkomplex“, je tvořeno Komplexem I (NADH-UQ oxidoreduktáza), III (ubichinol-cytochrom c oxidoreduktáza) a IV (cytochrom c oxidáza). Společně s ostatními byl objeven i Komplex II (sukcinát-UQ oxidoreduktáza), u kterého byl později dokázán těsný vztah s Komplexem III. (Earley, 2012)

Jakkoliv se to může zdát překvapivé, i jednotlivé podjednotkové komplexy byly úspěšně detailně prostudovány a dnes, zásluhou neúnavné práce mnoha vědců a výzkumníků, známe jejich přesné složení a popis procesů v nich probíhajících.

Komplex I, největší podjednotka v řetězci, zprostředkovává dvouelektronovou oxidaci koenzymu NADH, která je doprovázena současným transportem 4 protonů skrz vnitřní

mitochondriální membránu (Galkin et al., 1999). Tato podjednotka se skládá ze 3 částí (I_{α} , I_{β} , I_{γ}), celkově vytvářejících strukturu ve tvaru L, která napříč prostupuje celou vnitřní membránou (Guenebaut et al., 1998; Djafarzadeh et al., 2000; Efremov et al., 2010; Hunte et al., 2010). Část I_{γ} je tvořena vazebným místem pro NADH, kde dochází k dehydrogenaci koenzymu, flavinovým kofaktorem (FMN) a Fe-S klastry, které svou redukcí zachycují volné elektrony. Klastr s největším potenciálem se nachází v N2 centru, ve kterém dochází k redukcí ubichinonu umístěného v části I_{β} . (Earley, 2012)

Komplex III se skládá ze 3 katalytických podjednotek a cytochromu b, Rieskeho železo-sírového proteinu (ISP) a cytochromu cI . Fyziologicky vytváří elektronový přenos z redukovaného ubichinonu na cytochrom c, spojený s dalším průchodem H-iontů mechanismem zvaným Q cyklus (Rich, 2004; Mulkidjanian, 2005; Osyczka et al., 2005). Při oxidaci ubichinolu dochází k rozdělení přenášených elektronů, kdy první prochází vnitřní (Q_i) a druhý venkovní (Q_o) stranou vnitřní mitochondriální membrány. První ubichinolový elektron postupně přechází na ISP, poté na cytochrom cI a nakonec redukuje cytochrom c. Druhý naopak cestuje membránou pomocí hemových center cytochromu b (b_L a b_H) a redukuje ubichinon na vnitřní straně membrány. (Earley, 2012)

Komplex IV působí jako poslední část v elektronovém transportu. Dochází zde k oxidaci redukovaného cytochromu c a vedení elektronů přes katalytické jádro komplexu rozdělené na 2 podjednotky. Podjednotka II obsahuje dvoujaderné měděné centrum Cu_A , přes které vede elektrony do podjednotky I. Zde přechází přes hem a na vedlejší dvoujaderné centrum, které je složené z hem a_3 a měděného iontu Cu_B . Právě mezi těmito částmi se pak otevírá kanál pro průchod protonů skrz membránu a vznik konečného produktu v podobě molekuly H_2O . (Earley, 2012)

Komplex II je součástí Citrátového cyklu a umožňuje oxidaci sukcinátu na fumarát spojenou s redukcí ubichinonu na ubichinol. Celkový komplex dehydrogenázy se skládá ze 4 podjednotek. Podjednotka A, flavoprotein, obsahuje navázanou skupinu FAD, která primárně oxiduje sukcinát a přijímá tak od něj elektrony, které jsou přenášeny do podjednotky B. V tomto železo-proteinu se jednotlivé elektrony přenáší pomocí tří Fe-S klastrů, jejichž cesta nakonec končí na překrytí podjednotek B, C a D. Toto místo se označuje jako Q_P a právě zde nakonec dochází k redukcí ubichinonu na ubichinol, který dále pokračuje do Komplexu III. Částečně lze tedy říci, že se jedná o podobný proces jako v případě Komplexu I, avšak energeticky se jedná o mnohem slabší reakci a především zde nedochází k průchodu vodíkových iontů skrz mitochondriální membránu. (Earley, 2012)

Krom výše zmíněných komplexů ještě bývá zahrnut v rostlinných a houbových organizmech alternativní elektronový transport. Tento řetězec je tvořen alternativní NADH-ubichinonovou oxidoreduktázou, která obchází Komplex I, a ubichinolovou oxidázou (tzv.alternativní oxidáza), která obchází zbývající Komplexy III a IV. Oba enzymy tak úspěšně nahrazují celý řetězec, avšak jsou spouštěny pouze ve výjimečných situacích. Hlavním důvodem jsou obrovské energetické nároky, které by vznikly na uskladnění energie tímto způsobem, a právě proto tedy dochází k jejich tlumení a méně častému využívání. Ovšem je zároveň nutné zmínit, že pro rostlinu jsou neocenitelnou ochranou proti oxidativnímu stresu a v souvislosti s fungicidy též zmírňují celkový inhibiční dopad. (Earley, 2012)

Uskladnění vzniklé energie je posledním článkem celého dýchacího řetězce. Tento proces vyžaduje především syntézu ATP v mitochondriích, avšak nemalou úlohu hrají také membránové přenašeče, které zajišťují export vzniklé ATP a naopak import ADP a P k syntéze. Tyto přenašeče jsou kontrolovány speciálními proteinovými nosiči, které patří do velké skupiny mitochondriálních transportérů. Samotná výroba energie probíhá v ATP syntáze (někdy též zvané F_1F_0 ATPáza, či dokonce Komplex V), která je složená celkem z 15 jednotek sdružených do dvou hlavních komplexů F_1 a F_0 . Globulární F_1 komplex je tvořen 5 různými podjednotkami. Jednotky γ , δ a ϵ tvoří tzv.stonek, kde především část γ vytváří alfa-helikální střed. Na konci centrálního stonku se pak nachází po třech jednotkách α a β , které vytváří tzv. hlavu, přičemž na každé jednotce β jsou katalytická místa tvorby ATP. Celkový komplex F_1 , který je rozpustný v matrix, se tak chová jako ATPáza. Membránový komplex F_0 je složen ze 7 druhů podjednotek, které můžeme opět ještě rozdělit na 2 velké domény. První tvoří 10 vlásečkových kopií jednotky c, rozkládající se napříč membránou a dohromady vytvářející tzv.barel, přes který putují protony. Právě tento proud vodíkových iontů způsobuje rotaci, která se dále přenáší na s doménou spojený stonek, a tím podporuje ATP syntázu. Druhá doména komplexu F_0 se skládá ze zbylých 6 jednotkových typů tvořících „stator“, který spojuje jednotky c s hlavovou částí komplexu F_1 , čímž zamezuje její případné rotaci. (Earley, 2012)

Na závěr je však ještě nutné zmínit, že ačkoliv výzkum dýchacího řetězce různých organismů dosáhl velkého pokroku a mnohé oblasti jsou v současnosti detailně prozkoumány, stále ještě existuje mnoho „otazníků“, ke kterým dosud nemáme dostatek potřebných informací. Nicméně právě tento důvod může být největší motivací k dalšímu výzkumu.

3.3.1.2. *Inhibiční oblasti dýchacího řetězce*

Dýchání je pro každý živý organizmus nezbytné pro přežití. Právě z tohoto důvodu se vědci a výzkumníci zaměřili při obranné taktice primárně na tento proces. V této skupině inhibitorů existují 3 třídy: inhibitory elektronového transportu, oxidativní fosforylace a tzv. rozpojovače.

Obecně lze všechny třídy definovat jako látky, které rychle ovlivňují míru využitého vzdušného kyslíku v buňce. Avšak u inhibitorů elektronového transportu jsou rozpoznány schopnosti tlumit oxidaci substrátů, čímž dochází k zásadnímu efektu na redukci či reoxidaci cytochromů v membráně. Naopak přesná definice rozpojovačů a inhibitorů fosforylace je nesnadná a vyžaduje použití nedotčených preparátů, u kterých lze oxidativní fosforylaci sledovat a tím určit množství spotřebovaného kyslíku v předem určených podmínkách. (Earley, 2012)

Inhibitory elektronového transportu dělíme podle jednotlivých podjednotek. U Komplexu I se setkáváme s velkým problémem s nalezením přesného místa navázání jednotlivých účinných látek. Ačkoli se tomuto problému věnovalo již mnoho vědeckých týmů a byla publikována celá řada prací z této oblasti, zůstává pravidlem, že u účinných látek se dané místo vazby nalézt nedaří. Jedinou výjimkou se stal fenamínosulf, který zabraňuje redukci či zpětně reoxidaci redoxních center. U ostatních studovaných látek (rotenon, fenpyroximát, pyridaben,..) se cílové místo pouze odhaduje, a to někde mezi N₂ centrem a ubichinonem (Friedrich et al., 1994). Důvodů je uváděno hned několik, avšak patrně nejčastěji zmiňovaný je problém neustále se měnící konformace celého komplexu, způsobené přítomností NADH či jiných ligandů (Heinrich et al., 1992; Schuler et al., 2001). (Earley, 2012)

U Komplexu II pozorujeme výraznou inhibici 3-nitropropionovou kyselinou, toxickým metabolitem rostlin a hub (Anderson et al., 2005), která působí jako tzv. „sebevražedný substrát“ v místě obvyklé vazby se sukcinátem (Coles et al., 1979). Další inhibiční místa pak nacházíme především v oblasti Q_P, kde dochází k soutěžení vazby ubichinonu s aplikovanou účinnou látkou fungicidu. Poslední významnou oblastí inhibičních vazeb je Q_D nacházející se na styku podjednotek C a D blíže vnějšímu okraji mitochondriální membrány. Jako zástupce inhibitorů této skupiny můžeme jmenovat boskalid, karboxin nebo flutolanil. (Earley, 2012)

V Komplexu III nacházíme velmi silné a selektivní inhibitory ubichinonů, které v případě Q_i cyklu vykazují schopnost „superredukce“ cytochromu b (van Ark et al., 1981; Gutierrez-Cirlos et al., 2004). V případě Q_o cyklu můžeme ještě rozdělovat jednotlivé

přípravky podle jejich přesnějšího místa účinku. Například stigmatellin se váže v blízkosti ISP, zatímco ostatní (myxothiazol, strobilurin,..) působí poblíž hem skupiny b_L (Esser et al., 2004; Crofts, 2004). Mnoho látek bylo vytvořeno podle genového vzoru cytochromu b, avšak postupem času dochází v cílových organizmech ke snížení citlivosti vůči těmto přípravkům, resp. vlivem mutací se u nich vyvinula rezistence vůči nim. Například vlivem několika mutací v místě QoI došlo k rezistenci vůči stigmatellinu, avšak nikoliv k strobilurinům a myxothiazolu. (Trumpower, 1990; Colson, 1993). Křížová rezistence (cross rezistence) byla pozorována mezi všemi 7 skupinami strobilurinových fungicidů (FRAC 2006). (Earley, 2012)

V případě Komplexu IV se žádné fungicidy nenachází. Jako vysvětlení se uvádí obecně nepřístupnost komplexu větším molekulám (Kornblatt, 1998). (Earley, 2012)

Inhibitory oxidativní fosforilace se nacházejí na ATP syntázovém komplexu, kde můžeme najít hned několik významných míst pro případnou inhibici. V případě domény F_0 se ideální cílová místa nachází na koncových částech glutamové kyseliny, navázané na β jednotkách, které úspěšně využívá například inhibitor DCCD (Gibbons et al., 2000). U domény F_1 může docházet k postižení míst protonového vedení (např. podjednotky c), což způsobuje například oligomycin (Devenish et al., 2000). V důsledku velké podobnosti se k těmto místům váží také látky jako ossamycin a venturicidin A, včetně makrolidům velmi podobné apoptolidin, dunaimycin, citovaricin a rutamicin (Kirst et al., 1995; Canedo et al., 2000; Salomon et al., 2001). U přenašečů se vyskytují inhibitory, které se váží buďto na venkovní stranu transportéru (atractylosid a jeho analogy), a tím blokují vstup do mitochondrií, nebo na vnitřní stranu transportéru (bongkreická kyselina) (Stubbs, 1979). Posledním druhem jsou ještě inhibitory ATP a ADP nosičů, jako například nový fungicid silthiofam (Beale et al., 1998). (Earley, 2012)

Kromě inhibitorů jediného předem určeného dýchacího komplexu v mitochondriálních membránách také došlo k vývoji fungicidních přípravků potlačujících oxidativní fosforylaci jinými cestami. Takovéto fungicidy se nazývají „rozpojovače oxidativní fosforylace“. Jejich účinek spočívá v narušení mechanismu ukládání energie potřebné pro další fyziologické procesy, avšak bez přerušení elektronového transportu potřebného pro samotné dýchání. Typickou účinnou látkou z této skupiny je menadion, který působí jako alternativní příjemce elektronů, které odklání z jejich trasy během putování mitochondriemi (De Haan et al., 1969). (Whittingham, 2012)

3.3.2. C3: Komplex III – cytochrom bc₁ (ubichinol oxidáza) v Qo cyklu

Inhibitory postihující dýchací řetězce jsou v seznamu FRACu soustředěny do skupiny označené MOA (Mode Of Action) kódem C a dále se dělí na základě komplexu, který ovlivňují, na dalších 8 podskupin (C1-8).

Přípravky nacházející se v podskupině C3, označené FRAC kódem 11, se ve svém působení zaměřují na komplex III, a to na místo mezi cytochromy b a c₁. Přesněji to znamená, že v tomto komplexu ovlivňují cyklus Qo, který tímto zpomalují či plně zastavují.

3.3.2.1. QoI-fungicidy (*Quinone outside Inhibitory*)

Nejvýznamnějšími inhibitory tohoto oddělení jsou především strobiluriny, které tvoří většinu v C3 skupině. Dále se zde ale nacházejí i některé další účinné látky, kde mezi nejznámějšími můžeme jmenovat famoxadon, fenamidon, cyazofamid, amisulbrom a ametoctradin. (Sauter, 2012)

Strobiluriny se dostaly po více jak čtvrtstoletí výzkumů v průmyslovém odvětví mezi nejvýznamnější třídu přípravků používaných k ochraně rostlin vůči patogenům. V současné době se dokonce na obchodním trhu propracovaly na příčku nejvyšší, přičemž nyní tvoří čtvrtinu celkového celosvětového obchodu s fungicidy. Zde vystřídaly dosud převažující skupinu triazolů. (Sauter, 2012)

Biologická aktivita strobilurinů byla poprvé studována před 40ti lety, kdy došlo k zahájení výzkumu na univerzitách, zaměřeného na studium přípravků na bázi přírodních produktů. Výsledkem byla izolace a poté i objasnění struktury prvních strobilurinových látek, a to oudemansinu A a strobilurinu A. Právě strobilurin A se později pro svou jednoduchou stavbu a hlavně výrazné fungicidní vlastnosti stal předlohou pro vývoj dalších účinných látek podobně působících. Současně s těmito pokroky probíhaly další nezávislé výzkumy strobilurinů ve vědeckých týmech bývalé ICI (Imperial Chemical Industries), nyní sloučené do společnosti Syngenta, a BASF (Badische Anilin- & Soda-Fabrik). Nedlouho po jejich objevu došlo také k poznání způsobu jejich působení na dýchací řetězec, popsání interakce a určení přesného místa účinku, mitochondriálního bc₁-komplexu. Následné testování na živých organizmech pak poskytlo především neocenitelně zkušenosti pro další vývoj analogů. Strobiluriny se vyznačují svou neobvyklou širokospektrální účinností, díky níž působí na všechny 4 hlavní třídy houbových organizmů (Ascomycetes, Basidiomycetes, Deuteromycetes a Oomycetes) a právě díky této jejich vlastnosti se dostaly na špičku obchodních řetězců s fungicidy. Avšak dále v této skupině můžeme najít i zástupce

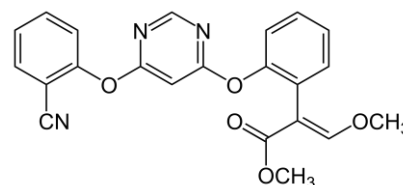
akaricidních přípravků, například fluacrypyrim. Dále vynikají i bohatou variabilitou co se týče struktury chemické látky. Změna stavby fungicidu tedy může nastat nejen v místech vedlejšího řetězce či centrálního kruhu, ale dokonce může být nahrazen i sám farmakofor, tedy část přímo zodpovědná za vazbu celé látky. (Sauter, 2012)

V důsledku všeobecné snahy přijít s dalšími novými strobilurinovými fungicidy, došlo v průběhu let k vývoji a testování více jak 50000 strobilurinových analogů. Veškeré úsilí mezi jednotlivými soutěžícími vědeckými týmy směřovalo jen k jedinému cíli, a to k zisku patentů. Důsledkem této skutečnosti bylo dodnes podáno více než 1000 různých patentových přihlášek a to pouze na strobiluriny. Ačkoliv se tato různorodá skupina účinných látek neustále rozrůstá, a to především v asijských zemích (v Japonsku, Číně,..), v současnosti je používáno nejvíce těchto 9 typicky strobilurinových fungicidů. Patří sem kresoxim-methyl, azoxystrobin, metominostrobin, trifloxistrobin, picoxystrobin, pyraclostrobin, fluoxastrobin, dimoxystrobin a orysastrobin. Bohužel v průběhu let došlo právě u mnoha patogenů k vytvoření rezistence k řadě účinných látek z této chemické třídy, zejména mezi zástupci řádu Erysiphales. Avšak rozšíření použití strobilurinových fungicidů i proti dalším houbovým organizmům zaručuje jejich vysokou efektivitu, protože u těchto organizmů nemohlo zatím dojít k žádnému vytvoření rezistence. Shrnutí celkového přínosu strobilurinů pro zemědělství bylo publikováno v řadě vědeckých prací a ukázalo se, že po aplikaci těchto přípravků dochází i přímo k ovlivnění fyziologického stavu ošetřovaných rostlin. Mají tak příznivé účinky na rostliny, a tím také ovlivňují celkovou úrodu. Obecně lze tedy říci, že strobilurinové přípravky zlepšují zdraví ošetřených rostlin. (Sauter, 2012)

V rámci C3 skupiny se podle FRAC Code Listu (2015) rozlišuje celkem 9 různých chemických podskupin zprostředkávajících vazbu mezi ošetřující látkou a místem účinku. Účinné látky z těchto skupin prošly dlouhou cestou úspěšných testů než se objevily v obchodních řetězcích. U přípravku ORTIVA, jehož účinnost byla sledována v praktické části této BP, je obsažena účinná látka azoxystrobin, která patří do methoxy-akrylátů.

1.1.1.1.1. Azoxystrobin

Azoxystrobin je syntetický analog přírodně se vyskytujících houbových produktů strobilurinů a oudemansinů. Jeho přesné jméno je methyl-(E)-2-{2-[6-(2-cyanofenoxy)pyrimidin-4-yloxy]fenyl}-3-methoxyakrylát. Poprvé byl objeven týmem J.R.Godwina v roce 1992 a o 4 roky později ho již firma Zeneca Agrochemicals (dnešní Syngenta) uvedla na trh. Přípravek



blokuje elektronový transport mezi cytochromy b a c_1 , a tím potlačuje Q_0 cyklus mitochondriálního dýchání. Dále tímto svým účinkem nahrazuje například přípravky ze skupin fenylamidů, dikarboxamidů či benzimidazolů, vůči kterým si již patogeny vytvořily rezistenci. (Tomlin, 2003)

Použitím tohoto fungicidu se plodinám dostává kurativní a ochranné péče, která je mimo jiné zajištěna jeho translaminárními a systémovými vlastnostmi. Látka může být použita u celé řady zemědělských plodin, jako například u obilnin, rýže, tykvovité zeleniny, kde poskytuje ochranu vůči mnoha patogenům včetně padlí. Při toxikologických testech bylo zjištěno, že dochází k ohrožení sliznice či pokožky savců, avšak bez genotoxických, karcinogenních či neurotoxických dopadů. Dále mohou být zatíženy i některé živočišné skupiny ptáků a ryb, bezobratlé hrotnatky, včely a červi, a v neposlední řadě také řasy. Zamoření těchto látek nebo jejich produktů v půdě se podařilo prokázat maximálně do hloubky patnácti centimetrů. (Tomlin, 2003)

Setkat se s touto účinnou látkou můžeme také u dalších fungicidů jako je například Amistar (Syngenta), Heritage (Syngenta) nebo ZX (Barclay). (Tomlin, 2003)

3.3.3. C5: Rozpojovače oxidativní fosforylace

Další podskupinou v rámci skupiny C, jsou tzv. rozpojovače, označené ve FRACu kódem 29, které jsou podle způsobu účinku (Mode Of Action) ve FRACu zařazeny do podskupiny C5. „Rozpojovače“ působí jako narušitelé různých komplexů mitochondriálního elektronového řetězce. Možná nejvýstižnější by mohla být pro tuto skupinu látek definice, která je charakterizuje jako narušitele spojení mezi funkčním elektronovým řetězcem a ATP syntázou. (Whittingham, 2012)

Existuje velké množství chemických látek, které narušují stabilitu membrány mitochondrií, a tím zvyšují její propustnost pro protony a další malé ionty. Tento princip byl popsán hned u několika zástupců „rozpojovačů“, kteří tak ovlivněním permeability membránových přechodů umožnily zvýšení schopnosti jednotlivých iontů procházet skrz membránu (Nakagava et al., 1999; Shinohara et al., 2000; Shinohara et al., 2003; Halestrap, 2009). Tímto došlo k narušení prostředí na obou stranách a znemožnění správného fungování ATP syntázy. Stejného, avšak méně specifického, efektu bylo dosaženo také za použití polypeptidu gramicidinu A (Rottenberg et al., 1989; Rottenberg, 1990; Skulachev, 1998). Dalšími účinnými látkami z této skupiny jsou ionofory, které zprostředkovávají transport iontů kovu skrz membránu. Takto dochází k rozptýlení membránového potenciálu a změně

protonového gradientu, což vede k snížení účinnosti potřebné oxidativní fosforylace. Někdy bývají k látkám tohoto typu řazeny i mastné kyseliny s dlouhým postranním řetězcem, které však k správnému působení potřebují aktivní transportéry. (Whittingham, 2012)

Posledním druhem tzv. rozpojovačů jsou látky, které se aktivně účastní přenosu vodíkových iontů přes membránu, čímž rozptylují protonový gradient. Tím zároveň narušují protomotorickou sílu, která pohání ATP syntázu (Mitchell, 1961; Cunarro et al., 1973; Cunarro, 1975). Právě tyto chemické látky pak mají největší význam z praktického hlediska. Jejich úkol spočívá v neustálém průchodu protonizovaných a neprotonizovaných forem napříč membránou. Nejběžnějšími chemickými látkami tohoto druhu jsou lipofilní slabé kyseliny, někdy nazývané „klasické rozpojovače“. Nejprve dochází v mezimembránovém prostoru, kde se nachází vyšší koncentrace H^+ iontů, k protonizaci kyseliny. Ta poté putuje přes membránu do matrix, kde zásluhou vyššího pH dojde k deprotonizaci. Vzniká tak anion slabé kyseliny, který nazpět prostupuje membránou ven a znovu se protonizuje. Účinnost těchto látek ovlivňuje především schopnost procházet membránou u anionu. Byla však také pozorována dvoumolekulová uskupení, která vznikají sloučením slabé kyseliny s jejím anionem, a tím zlepšují schopnost průchodu (Finkelstein, 1970). Z tohoto důvodu se používají i směsi kyselin, kdy první obtížně disociovatelná kyselina napomáhá v průchodu membránou druhé, již deprotonizované (Escher et al., 2001). Nakonec tedy prochází membránou společně. Méně častými jsou pak ještě lipofilní slabé báze, které pracují na podobném principu jako předchozí kyseliny. Jedinou výjimkou je fakt, že v mezimembránovém prostoru dochází k vzniku forem BH^+ a v matrix za uvolnění protonu forem B. (Whittingham, 2012)

Samotné inhibitorové „rozpojovače“ se rozdělují do několika podskupin na základě části chemické struktury zprostředkovávající vazbu mezi ošetřující látkou a místem působení. Takovýchto podskupin existuje velké množství, avšak z hlediska ekonomického nejdůležitější jsou především tyto tři: dinitrofenoly, arylhydrazony a diarylaminy. (Whittingham, 2012)

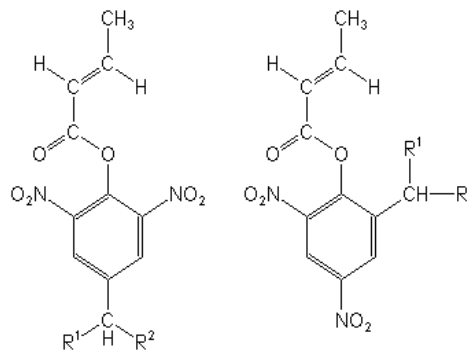
U přípravku KARATHANE, jehož efektivita je testována v praktické části této BP, je účinnou látkou dinocap, který se svou strukturou řadí do skupiny dinitrofenolů.

Dinitrofenoly se staly první uveřejněnou podskupinou C5-inhibitorů. Při svém účinkování našly na trhu místo jako herbicidy, insekticidy (i akaricidy) a fungicidy. Avšak v posledních letech bývají některé z nich pro svou vysokou toxicitu či nedostačující selektivitu nahrazovány jinými chemickými třídami. Ve této podskupině se můžeme setkat především s účinnou látkou dinocap a s jeho vylepšenou formou meptyldinocap. Dále sem patří například i dinobuton a binapacryl, avšak z dosud neznámých důvodů nedosahují takové

účinnosti vůči cílovým skupinám, kterými jsou zástupci řádu Erysiphales (padlí), v porovnání s již zmíněným dinocapem. (Whittingham, 2012)

1.1.1.1.2. Dinocap

Dinocap je účinná látka vyskytující se ve dvou izomerech. Jeho přesný název zní 2,6-dinitro-4-octylfenyl krotonát, nebo 2,4-dinitro-6-octylfenyl krotonát, kde octyl vystupuje jako 1-methylheptyl, 1-ethylhexyl, nebo 1-propylpentyl skupina. Dnes se v přípravcích vyskytuje v poměru 2(2,5):1 s převažující formou 6-octyl izomeru. Poprvé byl představen společností Rohm & Haas, dnes známé jako Dow AgroSciences. Přípravek působí jako rozpojovač mitochondriální oxidativní fosforylace. (Tomlin, 2003)



Použitím tohoto kontaktního fungicidu je poskytnuta plodinám kurativní a ochranná péče, sekundárně doprovázená nesystémovými akaricidními účinky. Látka je především využívána na kontrolu zástupců řádu Erysiphales, tedy různých druhů padlí na zemědělských plodinách, včetně jabloní, peckovin, citrusů, tykvovitých rostlin, zeleniny, chmelu a okrasných rostlin. Dále také působí proti některým roztočům a v poslední letech též proti molicím (Hadar, 2005). Při testovacích pokusech nebyla, s výjimkou skleníkových růží, zjištěna žádná fytoxicita, avšak riziko může narůstat se vzrůstající teplotou. Při toxikologických testech v případě savců nepříznivě působil na sliznici, pokožku a oblast očí. Nedošlo k zaznamenání žádných karcinogenních účinků, s výjimkou nepatrných účinků teratogenních. Dále mohou být zatíženy i některé živočišné skupiny ptáků a ryb, bezobratlé hrotnatky, včely a červi, a v neposlední řadě také řasy. Přímé dopady této chemické látky na organizmy jsou minimální, jelikož dochází k jejímu okamžitému rozkladu a vylučování z těla. Dále nebyly zjištěny ani žádné dopady na zásoby podzemní vody. Za zmínku však stojí informace, že produktem rozkladu dinocapu (v těle, půdě, vzduchu i vodě), je dinitrofenol, vysoce toxická látka. (Tomlin, 2003)

S touto účinnou látkou se dále můžeme setkat již pouze u fungicidu Sialite (Siapa). (Tomlin, 2003)

3.4. E-skupina inhibitorů

3.4.1. Charakteristika hlavní skupiny

3.4.1.1. Popis průběhu signalizace

Souhrnně lze mnohobuněčné organizmy popsat jako soustavy jednotek, tvořených buňkami. Mezi jednotlivými buňkami dochází k vzájemné komunikaci, čímž o sobě jednotlivé části získávají informace. Právě tento fakt má za následek reciproční kooperaci buněk. Komunikace však nemusí být pouze mezibuněčná, ale samozřejmě dochází i ke komunikaci vnitrobuněčné. Ta navazuje na vnější a umožňuje dorozumívání jednotlivých organel a jejich systémů v buňce. Celková spojení buněk jsou zprostředkovávána jednotlivými signály, ať již přijatými nebo poskytnutými. Signálem se v molekulární biologii mnohobuněčných organizmů rozumí informace vysílaná od jedné buňky ke druhé (hormony, neurotransmitery) (Rostlinolékař 6/2008). Zachycená komunikace a následné zpracování buňkou vnitrobuněčnými signály se nazývá transdukcí. Pojem transdukcí (přenos nebo převod) signálu se užívá pro sekvenci událostí, kterou buňka tento signál přijímá, zesiluje a posílá na ni fyziologicky reaguje buněčnou odpovědí (Rostlinolékař 6/2008).

3.4.2. Základní rozdělení inhibitorů signalizačních procesů

Vzhledem k jednotlivým systémům a mnoha signalizačním látkám tedy existuje velké spektrum míst nabízejících se k případné inhibici. Skupina E se rozlišuje na další tři podskupiny (E1-3). Patří sem inhibitory signálních transduktorů a inhibitory MAP/Histidinových kináz s osmotickou signální transdukcí genu os-2 s protein-kinázou HOG1 nebo genu os-1 s protein-kinázou Daf1.

MAP (mitogen-activated protein) je aktivovaná bílkovina obsahující mitogen, zodpovědná za průběh mnoha procesů v buňce, jako například mitóza, diferenciace a proliferace buněk, a dokonce i buněčná smrt. Avšak tento protein potřebuje být aktivován jiným enzymem, MAP kinázou (aktivovanou MAP kinázou kinázou, aktivovanou MAP kinázou kinázou kinázou). Pro názornost lze představit příklad komunikace, ke které dochází při navýšení vnější koncentrace glycerolu, u kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae*. Zde se nachází dnes již dobře prostudovaná kaskáda proteinů odpovědných za patřičnou reakci na zvýšené množství glycerolu ve vnějším prostředí. Celá cesta začíná u transmembránového Sln1 proteinu. Tento protein se skládá ze dvou částí: kinázové a regulátorové domény. Pokud se vně buňky nachází nízká koncentrace glycerolu, dochází k autofosforylaci histidinového

zbytku na kinázové doméně a následné předání tohoto fosfátu skupině aspartátové na regulátorové doméně. Z ní je pak fosfátová skupina dopravována pomocí Ypd1 proteinu na regulátorový protein Ssk1. Nicméně ten je ve fosforylovaném stavu neaktivní, a proto zde tento signál končí. Nastanou-li však podmínky ke zvýšení koncentrace glycerolu, všechny dosud zmíněné proteiny zůstávají defosforylované, což umožňuje Ssk1 proteinu aktivovat kaskádu MAP kináz. Ta je zakončena transkripcí enzymu, který umožňuje buňce patřičně reagovat na zvýšený osmotický tlak vnějšího prostředí vyvolaný glycerolem. (Corran, 2012)

V neposlední řadě je tedy důležité říci, že celkový systém všech komunikací tvoří spleť sítí vztahů, které jsou velice složité, a to jak technicky tak i druhově. Objasnit jejich procesy, funkce a složení jednotlivých částí šířícího řetězce je proto velice obtížný úkol. Z toho vyplývají i nesnáze při objevování a obecně výzkumu jednotlivých přípravků, které by těmto signalizacím měly čelit. (Corran, 2012)

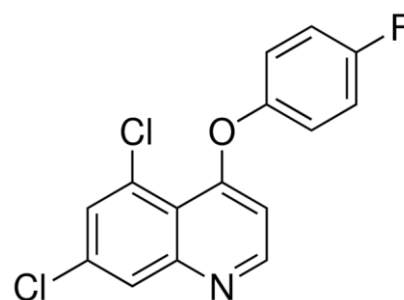
3.4.2.1. Vedlejší podskupiny a jejich fungicidy

Vedlejší podskupiny dále formují i přípravky, které se vůči nim používají. V podskupině E2 se nachází tzv. PP-fungicidy (PhenylPyrroles) fenylpyrolové struktury a v podskupině E3 se nachází inhibitory dikarboximidy. Avšak pro tuto bakalářskou práci je nejdůležitější podskupina E1 označovaná ve FRACu kódem 13, která zahrnuje dvě skupinky azanaftalenů, a to aryloxyquinoliny a quinazolinony. (Corran, 2012)

A právě u přípravku ATLAS, jehož účinnost je testována v praktické části této BP, je účinnou látkou quinoxyfen, který svou strukturou patří do skupiny aryloxyquinolinů.

1.1.1.1.3. Quinoxyfen

Quinoxyfen je přípravek, patřící do nové chemické třídy fungicidů zvané fenoxiquinoliny, které vynikají specifickou aktivitou vůči padlí (Knauf-Beiter, G. et al. 2012). Jeho přesný název zní 5,7-dichloro-4-quinolyl 4-



fluorofenyl éter. Poprvé byl oznámen vědeckým týmem vedeným C.Longhurstem v roce 1996 a následně uveden na trh společností DowElanco, dnes známé jako Dow AgroSciences. Ve stejném roce také došlo v Evropě k jeho první dočasné registraci. Přípravek je používán jako narušitel růstových signálů. (Tomlin, 2003)

Použitím tohoto fungicidu poskytujeme plodinám ochrannou péči, která potlačuje rozvoj houbových „prvobuněk“ infikujících rostlinného hostitele. Rozvod je zajišťován

systémem vodivých pletiv v obou směrech, i vypařováním. Avšak tato látka nemá eradikativní efekt, neusmrcuje patogeny. Přípravky s touto účinnou látkou se používají především na kontrolu padlí na obilninách (původce: *Erysiphe graminis*), nově i padlí na vinné révě (*Uncinula necator*) a dalších vybraných zemědělských plodinách, jako například chmelu a cukrové řepě. Při toxikologických testech působil quinoxifen v případě savců nepříznivě na sliznici, pokožku a oblast očí, avšak nebyly prokázány žádné mutagenní, teratogenní, ani ontogenní vlastnosti. Dále mohou být zatíženy i některé živočišné skupiny ptáků a ryb, bezobratlé hrotnatky, včely a červi, a v neposlední řadě také řasy. Laboratorní testy dále prokázaly neškodnost vůči většině necílových organismů skupiny šestinohých, a také minimální efekty na polní či obecně půdní mikroorganismy. Ačkoliv uvnitř rostlin, živočichů nebo v půdě dochází k velice pomalému rozkladu, z pohledu dopadů na životní prostředí má quinoxifen nebo jeho produkty minimální účinky na podzemní vodu či na další nepostradatelné zdroje. Samotná účinná látka je řazena mezi látky se zanedbatelnými následky. (Tomlin, 2003)

S touto účinnou látkou se dále můžeme setkat u dalších fungicidů jako například Fortress (Dow AgroScience) a Quintec (Dow AgroScience). (Tomlin, 2003)

3.5. G-skupina inhibitorů

3.5.1. Charakteristika hlavní skupiny

3.5.1.1. Popis průběhu sterolové biosyntézy

Nedílnou součástí každého živého organismu je biosyntéza, která tvoří velice důležitou složku metabolismu celého těla. Biosyntéza je proces, při kterém se chemické sloučeniny vytvářejí z jednoduchých látek (Rostlinolékař 1/2009). Na rozdíl od chemické syntézy se odehrává v prostředí živých organismů (Rostlinolékař 1/2009). Její správný průběh zajišťují různé enzymy katalyzující celý proces. (Rostlinolékař 1/2009)

Steroly vytváří skupinu steroidů, které se přirozeně vyskytují v organizmech. Uvnitř strukturních vzorců rozlišujeme základní část, na které jsou obvykle navázány v poloze 3 hydroxylová skupina a v poloze 17 alifatický postranní řetězec. Podle původu můžeme steroly rozdělovat na živočišné zoosteroly, rostlinné fytosteroly a neposledně také mykosteroly. Nejdůležitějšími steroly jsou pak cholesterol, ergosterol (provitamin D) a stigmasterol pro syntézu steroidních hormonů (Rostlinolékař 1/2009). (Rostlinolékař 1/2009)

Obecně lze říci, že sterolové látky mají v organismu celou řadu různých funkcí. Mezi nejdůležitější patří jejich přítomnost v buněčných membránách a také podíl na syntéze mnoha

hormonů steroidního typu. Důsledkem narušení jejich tvorby dochází primárně k zabránění produkce dalších nových membrán, které jsou pro přežití buňky nezbytné. Závažným problémem může být také kumulace toxických produktů rozkladu ergosterolů, které vznikly právě působením fungicidů (Mercer, 1984). Dále to však přináší i hromadění některých jiných komponent membrán, které inhibicí tvorby sterolů nemohly být upotřebeny. Jako příklad lze uvést přebytek mastných kyselin s neustálou tvorbou dalších nových, které by jinak mohly najít využití v β -oxidačních procesech k zisku energie. (Kuck et al., 2012)

Nejdetaillnější popis houbových buněčných membrán byl vytvořen především u skupin hub oddělení Ascomycota a Basidiomycota. Zde tvoří ergosterol běžnou složku klasických membrán. Avšak existují výjimky, kdy se v organismu nachází pouze sloučeniny příbuzné jako například fungisterol (ergost-7-enol), stigmat-7-enol a další (Weete, 1980). Právě tento fakt pak způsobuje využívání především fungicidů inhibujících biosyntézu sterolů (SBI fungicidy) namísto fungicidů přesně specializovaných na biosyntézu ergosterolů (EBI fungicidy). Poslední studie ukazují, že s ohledem na obsah ergosterolů v hostitelských organizmech dokážeme určit, zda je daný jedinec chorobou zasažen. Dokonce lze na základě druhu ergosterolů zjistit o jaký přesný druh patogenu se jedná (Stahl et al., 1996; Pasanen et al., 1999). Zásadní rozdíl však můžeme najít u skupiny Oomycetes, která na rozdíl od „pravých hub“ obsahuje v buněčné stěně především beta-glukany a celulózu, doprovázené chitinem. Zástupci této skupiny nedokáží samostatně syntetizovat ergosteroly, avšak při napadení rostlin dokáží využívat jejich prekurzory, díky nimž pak dochází k tvorbě mykosterolů. Například tedy u skupiny Perenosporales její zástupci nezvládají přípravu skvalenů, ale dokáží přeměnit rostlinný cykloartenol na sterolový lanosterol. U některých dokonce probíhá pokročilejší změna na fecosterol, ergosterol, nebo také až na samotný cholesterol (Warner et al., 1982). Přesto však zůstávají vůči zástupcům ze třídy Oomycetes SBI fungicidy stále neúčinné. (Kuck et al., 2012)

3.5.1.2. Inhibitory sterolové biosyntézy a jejich vývoj

Fungicidy, jejichž účinek spočívá v narušení zmíněné houbové biosyntézy sterolů (SBIinhibitory), se staly na velice dlouhou dobu celosvětově nejdůležitější skupinou specifických inhibitorů. Jejich obliba u uživatelů, a tedy i širší využití, nastaly především také důsledkem toho, že při svém účinku nepůsobí kromě hub na kterékoli jiné cílové organismy. Odolnost ať již rostlinných či živočišných organismů je dána rozdílnými specifickými steroly, které se od těch houbových svou stavbou poněkud liší. Právě tato vlastnost umožnila fungicidům sterolových syntéz značný rozvoj, a proto není náhoda, že více jak 40 různých

druhů inhibitorů se již dokázalo prosadit na světovém obchodním trhu. Hlavní výhodou dodnes zůstává fakt, že aplikováním těchto inhibitorů, nedochází k žádné fytotoxicitě ošetřovaných rostlin, ani k projevům, které by měly nějaký důsledek na životní prostředí. Avšak byly pozorovány výrazné vedlejší účinky na rostlinné růstové regulátory projevující se například zvýšenou stresovou tolerancí ošetřených plodin. Na základě tohoto zjištění došlo k vývoji specifických rostlinných růstových regulátorů (PGR) triazolové struktury, jako například paclobutrazol (Lürssen, 1988). Dalšími výzkumy účinných látek z této skupiny byl poté připisován také veliký potenciál přípravkům, které by dokázaly potlačit biosyntézu rostlinných hormonů giberelinů, či některých dalších sterolových hormonů (Sisler et al., 1984; Burden et al., 1989). Následujícími neméně důležitými vlastnostmi SBI jsou také širokospektrální působení, lokálně-systemická aktivita nebo také prokázané hubící a léčivé účinky. Lokálně-systemická aktivita znamená, že po aplikaci postřikem plodin dochází k vstřebání účinné látky do celého systému rostliny, kde dochází k uchování těchto látek a případnému využití po delším časovém úseku. V neposlední řadě jsou tyto látky řazeny z hlediska rezistence mezi nízkou až středně rizikové přípravky. Přičemž dojde-li k případnému vzniku rezistence k určité účinné látce z této skupiny, je tento přípravek nahrazen přípravkem s jinou účinnou látkou ze stejné skupiny (Kuck, 2002). Vše je navíc podpořeno skutečností, že ačkoliv byly zaznamenány jisté náznaky rezistence mezi SBI-třídami I a II, v rámci skupin se mezi jednotlivými přípravky jakékoliv zmínky rezistence vyskytovaly jen ojediněle. (Kuck et al., 2012)

Z pohledu postavení těchto přípravků na marketingovém trhu tvoří SBI fungicidy celosvětově přibližně 30% všech fungicidních přípravků a převážnou většinu z nich tvoří právě fungicidní skupina triazolů. Zdaleka největší odbyt těchto přípravků se nachází v západní Evropě a v zemích Latinské Ameriky, kde se největším spotřebitelem stala Brazílie. V Evropě jsou používány SBI fungicidy především na ochranu pšenice a ječmene, v Brazílii k ochraně před asijskou sojovou rzí, jejímž původcem je *Phakopsora pachyrhizi*. (Kuck et al., 2012)

3.5.2. Základní rozdělení inhibitorů sterolové biosyntézy

Inhibitory postihující biosyntézu sterolů v buněčných membránách (SBI), uvedené ve FRACu pod kódem G, rozdělujeme podle inhibovaného kroku v celkové syntéze do 4 podskupin (G1-4). Patří sem inhibitory enzymů sterol-C14 demethylázy, Δ^{14} -reduktázy a Δ^8 - Δ^7 -izomerázy, sterol-C3 ketoreduktázy a skvalen-epoxidázy.

3.5.2.1. Podskupina G1: DMI-fungicidy

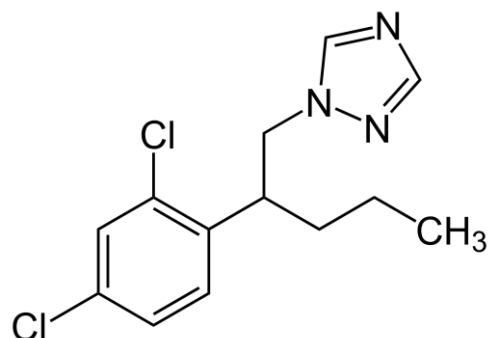
Přípravky nacházející se v podskupině G1, označované FRAC kódem 3, byly prvními fungicidy patřícími do této skupiny. Svým působením zamezují činnosti enzymu sterol-C14 demethylázy, která vytváří syntézový přechod mezi látkami 24-methylendihydrolanosterol (eburicol) a 4,4-dimethylergosta-8,14,24(28)-trien-3 β -ol. Tyto přípravky se souhrnně nazývají DMI-fungicidy (DeMethylation Inhibitors) právě podle potlačované aktivity daného enzymu. V roce 1973 byly poprvé testovány vlastnosti a mechanismus účinku látky triarimol, pyrimidinového derivátu houby *Ustilago maydis*. Především poznání vlastností této účinné látky pak přispělo k nebyvalému rozvoji studia této rozsáhlé skupiny a vedlo k její pozdější celosvětové oblibě. Všechny DMI-fungicidy můžeme dále ještě rozdělit podle chemických skupin, které se v jejich struktuře nezbytně nachází, a to na piperaziny, pyridiny, pyrimidiny, imidazoly a především triazoly. (Kuck et al., 2012)

Přípravky TOPAS a BUMPER, jejichž účinnost je testována v praktické části této BP, obsahují účinné látky ze skupiny triazolů. V případě fungicidu TOPAS se jedná o triazolovou účinnou látku penconazol. V případě fungicidu BUMPER o účinnou látku zvanou propiconazol.

První triazolové přípravky byly vyvinuty již před rokem 1990, počínaje zavedením triadimefonu do obchodního řetězce v roce 1976. Především pak díky vynikajícím účinkům vůči padlí, rzím a několika dalším listovým nemocem se staly všeobecně oblíbenými a uznávanými. Začátkem 80.let došlo k dalšímu rozsáhlému výzkumu těchto látek a byly objeveny bitertanol a triadimenol. Listový Bitertanol byl součástí hlavně kontaktních fungicidů a poskytoval účinnou obranu vůči strupovitosti jablek (*Ventura inaequalis*) a patogenům na banánech (*Mycosphaerella fijiensis*). Triadimenol byl naopak spíše systémový fungicid, který se využíval především na ošetření obilnin. V 90tých letech se pak později objevily ještě přípravky na bázi těchto účinných látek: propiconazol, flusilazol, penconazol a tebuconazol. Od roku 1990 pak bylo vyvinuto dokonce 11 nových účinných látek, které se později dostaly až do obchodních řetězců. Patřily sem tyto látky: tetraconazol, fenbuconazol, epoxiconazol, triticonazol, bromuconazol, metconazol, ipconazol, fluquinconazol, imibenconazol, simeconazol a prothioconazol. (Kuck et al., 2012)

1.1.1.1.4. Penconazol

Penconazol je fungicid, který byl vyvinut především pro aplikaci na širokolisté rostliny. Jeho přesný název zní 1-(2,4-dichloro-β-propylfenethyl)-1H-1,2,4-triazol. Poprvé byl objeven vědeckým týmem J. Eberleho v roce 1983 a následně ho společnost Ciba-Geigy AG, dnes známá jako Syngenta AG, představila široké veřejnosti jako fungicid pro zemědělské využití. Do obchodů se podařilo přípravek dostat ještě téže roku společností Janssen Pharmaceutical NV. Penconazol je látka působící jako inhibitor demethylace sterolů, potlačující tak samotný průběh biosyntézy ergosterolů v buněčných membránách hub. (Tomlin, 2003)

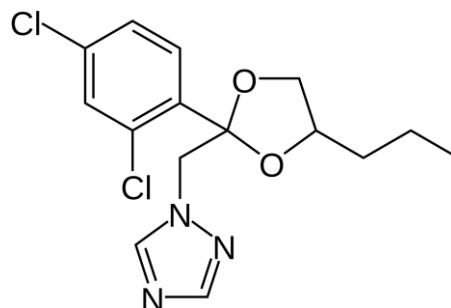


Použitím tohoto systémového fungicidu poskytujeme plodinám ochrannou a kurativní péči, která je zajišťována absorbováním přípravku listy. Odtud je rozváděn systémem vodivých pletiv směrem k vzrostlým vrcholům. Přípravek se využívá na kontrolu padlí, strupovitosti jablek a mnoha dalších patogenů patřících do tříd Ascomycetes, Basidiomycetes a Deuteromycetes, například na ochranu vůči patogenům vyskytujících se na vinné révě, jádrovinách, peckovinách, okrasných rostlinách a zelenině. Při toxikologických zkouškách penconazol v případě savců působil nepříznivě na sliznici, pokožku a oblast očí, avšak nebyly prokázány žádné mutagenní, teratogenní, ani ontogenní vlastnosti. Dále mohou být při aplikaci postřikové kapaliny zasaženy i některé živočišné skupiny ptáků a ryb, bezobratlé hrotnatky, včely a červi, a také řasy. Z hlediska životního prostředí má tento fungicid minimální dopad. Živočichové přípravek snadno vylučují z těla ven a rostliny metabolizují na glukosidy či triazolylactovou kyselinu. (Tomlin, 2003)

S touto účinnou látkou se dále můžeme setkat také u dalších fungicidů jako například Dallas (Rocca). (Tomlin, 2003)

1.1.1.1.5. Propiconazol

Propiconazol je další úspěšný triazol se širokým spektrem účinků na řadu patogenů z různých taxonomických tříd. Jeho přesný název je 1-[2-(2,4-dichlorofenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl]-1H-1,2,4-triazol. Jako přípravek byl poprvé představen vědeckým týmem P.A.Urecha v roce 1979 a pro zemědělské užití ho dále vyvinula společnost Ciba-Geigy AG, nyní známá jako Syngenta AG. Poprvé byl fungicid popsán



společností Janssen Pharmaceutical NV. Propiconazol je látka používaná jako inhibitor demethylace sterolů, potlačující samotný průběh biosyntézy ergosterolů v buněčných membránách hub. (Tomlin, 2003)

Použitím tohoto systémového fungicidu, který bývá především aplikován foliárně (na povrch listů) poskytujeme plodinám ochrannou a kurativní péči, která je zajišťována absorbováním přípravku, jež je veden dřevní částí směrem k vzrostlým vrcholům. Přípravek se využívá na kontrolu houbových nemocí na obilninách (*Erysiphe graminis*,..) a banánech (*Mycosphaerella musicola*,..). Dále je jako postřik užíván na ochranu travních porostů proti rzím (rod *Puccinia*,..), rýže (*Rhizoctonia solani*,..), kávovníku (*Hemileia vastatrix*), podzemnice olejné (*Cercospora spp.*), kukuřice (*Helminthosporium spp.*) a peckovin proti padlí (*Podosphaera spp.*) a monilióze (*Monilinia*). Při toxikologických zkouškách propiconazol v případě savců působil nepříznivě na sliznici, pokožku a oblast očí, avšak nebyly prokázány žádné mutagenní, ani teratogenní vlastnosti. Navíc nebyl prokázán ani žádný karcinogenní potenciál, který by jakýmkoli způsobem působil na člověka. Dále mohou být při jeho aplikaci zasaženy i některé živočišné skupiny ptáků a ryb, bezobratlé hrotnatky, včely a červi, a také řasy a další vodní organizmy. Z pohledu životního prostředí dochází k minimálním dopadům. Živočiškové přípravky snadno vylučují z těla ven a rostliny metabolizují především na glukosidy. (Tomlin, 2003)

S touto účinnou látkou se dále můžeme setkat také u jiných fungicidů, například u Tilt (Syngenta, Makhteshim-Agan), Bolt (Barclay), Juno (Milenia), Menphis (Rocca) a Propivap (Vasco). Dále bývá někdy také součástí vícesložkových fungicidů, kde kromě účinné látky propiconazol bývá ještě další jedna i více účinných látek z jiných chemických skupin, jako například u fungicidu Stereo, s účinnou látkou cyprodinil, a Stratego, s trifloxystrobinem. (Tomlin, 2003)

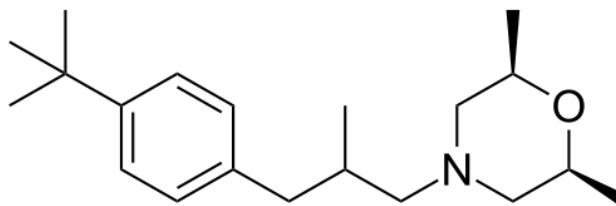
3.5.2.2. Podskupina G2: SBI-fungicidy II.třídy

Další podskupinou v rámci SBI fungicidů je podskupina G2, označovaná ve FRACu kódem 5. Přípravky s touto účinnou látkou znemožňují správnou funkci enzymů Δ^{14} -reduktázy a Δ^8 - Δ^7 -izomerázy, kde právě enzym sterol Δ^8 - Δ^7 -izomeráza vytváří v syntéze přechod mezi látkami fecosterol a episterol. Tato podskupina bývá označována také jako Třída II (SBI: Class II fungicides) a patří sem aminy (někdy nazývané „morfoliny“). Pokud bychom se však zaměřili detailněji na konkrétní chemické skupiny aminů, můžeme je dále dělit na morfoliny, piperidiny a spiroketal-aminy. (Kuck et al., 2012)

U přípravku CORBEL, jehož účinnost byla testována v praktické části této BP, je obsažena účinná látka fenpropimorph, která se svou strukturou řadí mezi morfoliny.

1.1.1.1.6. Fenpropimorph

Fenpropimorph je účinná látka, která zamezuje činnosti především enzymu Δ^{14} -reduktázy. Jeho přesný název zní cis-4-[3-(4-tert-butylfenyl)-2-methylpropyl]-2,6-dimethylmorfolin. Fungicid byl vyvinut dvojicí vědců K.Bohnen a A.Pfiffner v roce 1979 a současně ho publikovala také jiná výzkumná dvojice, a to E.H.Pommer a W.Himmele. Avšak jeho představení proběhlo až v roce 1983 v Německu společností BASF AG a také Dr R. Maag Ltd and Rhône-Poulenc Agriculture (dnes známé jako Bayer CropScience). Fenpropimorph je látka používaná jako inhibitor enzymů Δ^{14} -reduktázy a Δ^8 - Δ^7 -izomerázy, potlačující samotný průběh biosyntézy ergosterolů v buněčných membránách hub. (Tomlin, 2003)



Aplikací tohoto systémového fungicidu, který bývá převážně aplikován foliárně (na povrch listů), poskytujeme plodinám ochrannou a kurativní péči, která je zajišťována absorbováním přípravku, jež je veden dřevní částí směrem k vzrostlým vrcholům. Jako fungicidní přípravek se používá ke kontrole houbových nemocí, a to padlí na obilninách (*Erysiphe graminis*,...), rzi na cukrové řepě (*Uromyces betae*,...) nebo rzích na fazolu a pórku (rod *Uromyces* a *Puccinia* ssp.). Při toxikologických zkouškách fenpropimorph v případě savců působil nepříznivě na sliznici, pokožku a oblast očí, avšak nebyly prokázány žádné mutagenní, ani karcinogenní vlastnosti. Navíc nebyl prokázán ani žádný teratogenní potenciál, který by závažným způsobem působil na člověka. Dále mohou být zasaženy i některé živočišné skupiny ptáků a ryb, bezobratlé hrotnatky, včely a červi, a také řasy. Z pohledu životního prostředí dochází k minimálním dopadům. Živočiškové přípravek snadno vylučují z těla ven a rostliny štěpí morfolinový kruh a dále ho pak oxidují na jednodušší produkty. (Tomlin, 2003)

Tato účinná látka bývá součástí hlavně vícesložkových fungicidů, a to například u fungicidu Mentor, s další účinnou látkou kresoxim-methyl, a Opus Team, s epoxiconazole. (Tomlin, 2003)

3.5.2.3. *Ostatní podskupiny: SBI-fungicidy III. a IV.třídy*

Zbývající účinné látky inhibující sterolovou biosyntézu se sdružují do dvou podskupin, které jsou označeny FRAC kódem G3 (neboli SBI fungicidy III.třídy) a G4 (SBI fungicidy

IV.třídy). Do skupiny G3 patří hydroxyanilidy, které narušují činnost enzymu sterol-C3 ketoreduktázy. Ta tvoří nejdříve přechod mezi 4 α -methylfecosteronem a 4-methylfecosterolem, a později v syntéze také mezi fecosteronem a alkoholovým fecosterolem. Nejmladšími fungicidy jsou přípravky 4. třídy, které byly vyvinuty teprve v nedávné době a v současnosti se zatím jako fungicidní přípravky v zemědělství nepoužívají. Svým účinkem poškozují činnost enzymu skvalen-epoxidázy, která se zvláště u hub výrazně liší od stejného enzymu u savců či vyšších rostlin (Ruckenstuhl et al., 2005). Především z tohoto důvodu lze bezpečně vytvořit látky, které účinkují jako fungicidy, či případně herbicidy nižších rostlin. (Kuck et al., 2012)

3.6. Přípravky registrované proti padlí dýňovitých ve světě

Padlí dýňovité (ve starší odborné literatuře nazývané jako padlí tykvovité) představuje svým téměř kosmopolitním rozšířením celosvětový problém při řešení chorob na zemědělských plodinách. Vůči této chorobě bylo již vyvinuto mnoho chemických přípravků, fungicidů, ve snaze zmírnit ekonomické ztráty při silných infekcích na pěstovaných druzích tykvovitých zelenin, především pak na porostech tykve obecné (*Cucurbita pepo*), které bývají často infekcí zcela zasaženy. V **tabulce číslo 2** je podán přehled fungicidů celosvětově používaných v boji proti padlí dýňovitých. Podkladem pro tvorbu této shrnující tabulky byly práce McGrath z roku 2001; 2012 a McGrath et al. (2013); Lebeda et al. (2012), ve kterých v podstatě jako jediných byly shrnuty poznatky k této problematice ve světě. V následujícím textu jsou charakterizovány nejdůležitější skupiny fungicidů používané v boji proti padlí dýňovitých (resp. druhu *P.xanthii*) v USA, kde jediným původcem této choroby je askomyceta *P.xanthii*.

Prvním fungicidy, které se staly účinné přímo proti padlí dýňovitých, byly přípravky ze skupiny MBC fungicidů, někdy zvané benzimidazoly. Tuto skupinu látek lze ve FRACu najít pod kódem 1, což také naznačuje, že se jedná o vůbec první přípravky, které byly vyvinuty. Prvním zástupcem této skupiny se stal benomyl, avšak u něho se již během prvního roku jeho intenzivního využívání v zemědělské praxi (v roce 1967) vytvořila v populacích patogenů (především Px) rezistence, a proto byl hledán další. Tím se stala účinná látka thiophanate-methyl. Avšak i přes její méně intenzivní využívání v praxi v porovnání s benomylem došlo i vůči ní v patogenních populacích k vytvoření rezistence. A dnes se již thiophanate-methyl nedoporučuje používat proti padlí dýňovitých. U přípravků s účinnými látkami z této skupiny je známa tzv. „cross-rezistence“, což znamená, že pokud se vytvořila rezistence k jedné účinné látce z dané skupiny, tak je velmi velká pravděpodobnost, že i k dalším látkám z téže skupiny může existovat nebo by se při jejich používání velmi rychle vytvořila. Tato skutečnost platí právě pro již zmiňované benomyl a thiophanate-methyl. (McGrath, 2012)

Další chemickou skupinou používanou v boji proti padlí dýňovitých je skupina DMI-fungicidů (demethylation inhibitors) ve FRACu pod kódem 3. V této skupině byl první objevenou účinnou látkou triadimefon, který byl registrován v roce 1984 v USA. Nicméně hned 2 roky poté došlo v populacích patogenu k vytvoření rezistence. Dalším výzkumem byly objeveny nové účinné látky, a to například myclobutanil, který při výzkumu realizovaném na

amerických univerzitách vykazoval nadějně výsledky u triadimefon-rezistentních kmenů patogenů, a později se podobně jevil také triflumizol. Obě tyto účinné látky poskytovaly až do roku 2009 velice účinnou ochranu vůči padlí dýňovitých. V posledních letech došlo v rámci této skupiny k vyvinutí dalších nových účinných látek, například difenoconazolu, tebuconazolu, metconazolu, avšak žádná z nich nedosahovala takové účinnosti jako látky objevené dříve. (McGrath, 2012)

QoI-fungicidy (Quinone outside inhibitor), označené FRAC kódem 11, se staly třetí skupinou zapojenou do boje proti padlí dýňovitých. V roce 1999 došlo k registraci azoxystrobinu a později téhož roku ještě trifloxystrobinu. Následně ještě v roce 2002 doplnila vzniklou předchozí dvojici účinná látka pyraclostrobin. Fungicidy této skupiny se staly v prvních letech od jejich uvedení na trh vysoce účinnými, nicméně již v roce 2002 se objevily první náznaky rezistence v populacích patogenu. Díky tomu se v současnosti nedoporučuje QoI-fungicidy používat pro danou lokalitu pravidelně, ale pouze ve směsích a pravidelně je střídat s přípravky z jiných chemických skupin. V současnosti je v USA používán v boji proti padlí dýňovitých pouze jediný fungicid obsahující strobilurinový fungicid, ale jedná se o vícesložkový přípravek, kterého je součástí spolu s boscalidem, nové účinné látky ze skupiny C2 (skupiny 7 ve FRACu). (McGrath, 2012)

Čtvrtou účinnou chemickou skupinou fungicidů v boji proti tomuto patogenu jsou karboximidy (FRAC skupina 7). Jedná se ovšem o systémové fungicidy, u nichž je riziko vzniku rezistence mnohem vyšší než u kontaktních přípravků. První přípravek byl vyroben již v roce 2003 a obsahoval látku boscalid a pyraclostrobin. Nicméně již v roce 2008 byly zaznamenány v populaci *P.xanthii* plně rezistentní kmeny. Přesto však se s touto skupinou počítá i do budoucna. (McGrath, 2012)

Poslední skupinou účinných látek nasazovaných do boje vůči padlí dýňovitých jsou quinoliny, ve FRACu pod kódem 13. Tato nejnovější skupina zapojená do boje proti tomuto patogenu obsahuje velice účinnou látku quinoxifen, která v roce 2007 vykazovala vysokou účinnost u melounů (*C. melo*) a v roce 2009 také u dýní (*C. pepo*). (McGrath, 2012)

Tabulka č.2. Seznam přípravků registrovaných ve světě vůči padlí dýňovitých (upraveno podle McGrath, 2001, McGrath et al., 2013 a seřazeno podle FRAC Code Listu © 2015)

MOA	TARGET SITE AND CODE	GROUP NAME	CHEMICAL GROUP	COMMON NAME	COMMENTS	FRAC CODE
A:Nucleic acids	A2: adenosin-deaminase	hydroxy-(2-amino-) pyrimidines	hydroxy-(2-amino) pyrimidines	bupirimate	Medium risk	8
				dimethirimol		
				ethirimol		
B:Mitosis and cell	B1: β -tubuline assembly in mitosis	MBC-fungicides (Methyl Benzimidazole Carbamate)	benzimidazoles	benomyl	High risk	1
				carbendazim		
			thiophanates	thiophanate-methyl		
C:Respiration	C2:complex II: succinate-dehydrogenase	SDHI (Succinate dehydrogenase inhibitors)	pyridiny-ethyl-benzimidazoles	fluopyram	Medium to high risk	7
			pyrazole-4-carboxamides	penthiopyrad		
			pyridine-carboxamides	boscalid		
	C3:complex III: cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase) at Qo site (cyt b gene)	QoI-fungicides (Quinone outside Inhibitors)	methoxy-acrylates	azoxystrobin	High risk	11
			methoxy-carbamates	pyraclostrobin		
			oximino-acetates	kresoxim-methyl		
	trifloxystrobin					
C5:uncouplers of oxidative phosphorylation		dinitrophenyl crotonates	dinocap	Resistance not known	29	
D: Amino acids and protein	D1: methionine biosynthesis (proposed) (cgs gene)	AP-fungicides (Anilino-Pyrimidines)	anilino-pyrimidines	cyprodinil	Medium risk	9
F: Lipids and membran	F2: phospholipid biosynthesis, methyl-transferase	phosphorothiolates	phosphoro-thiolates	pyrazophos	Low to medium risk	6
				afugan		

Tabulka č.2: pokračování z předchozí strany

G: Sterol biosynthesis in membranes	G1: C14-demethylase in sterol biosynthesis (erg11/cyp51)	DMI-fungicides (DeMethylation Inhibitors) (SBI: Class I)	piperazines	triforine	Medium risk	3
			pyrimidines	fenarimol		
			imidazoles	nuarimol		
				imazanil		
				prochloraz		
			triazoles	triflumizole		
				bromuconazole		
				cyproconazole		
				difenconazole		
				diniconazole		
				fenbuconazole		
				hexaconazole		
				myclobutanil		
				penconazole		
	propiconazole					
tebuconazole						
tetraconazole						
triadimefon						
triadimenol						
G2: Δ 14-reductase and Δ 8 \rightarrow Δ 7-isomerase in sterol biosynthesis (erg24, erg2)	Amines ("Morpholines") (SBI: Class II)	morpholines	tridemorph	Low to medium risk	5	
E: signal transduction	E1: Signal transduction (mechanism unknow)	azanaphthalenes	quinolines	quinoxifen	Resistance known. Medium risk	13
Multi-site contact activity	Multi-site contact activity	inorganic	inorganic	copper (diff.salts)	Low risk	M1
		inorganic	inorganic	sulphur		M2
		chloronitriles (phthalonitriles)	chloronitriles (phthalonitriles)	chlorothalonil		M5

Tabulka č.2: pokračování z předchozí strany

		sulfamides	sulfamides	dichlofluanid		M6
				ditalimfos		M10
		quinoxalines	quinoxalines	quinomethyonat		
Unknown mode of action	Unknown	phenyl-acetamide	phenyl-acetamide	cyflufenamid	Resistance management required	U6
Not-classified	Unknown	diverse	diverse	mineral oils, organic oils, potassium bicarbonate, material of biological origin	Resistance not known	NC

MOA: Je kód sloužící k odlišení jednotlivých fungicidních skupin podle jejich biochemického účinku, značí se písmeny A až I s číslicí.

TARGET SITE AND CODE (cílové místo a kód): Jsou k dispozici pro upřesnění, v mnoha případech ovšem není cílové místo známo.

FRAC CODE: Je kód značen písmeny a čísly, rozlišuje fungicidy do skupin dle chování při cross-rezistenci.

Číslo byla přidělena podle uvádění výrobku na trh (poslední aktualizace 2015).

3.7. Seznam celosvětových přípravků se známou rezistencí

Aplikováním fungicidních přípravků v zemědělství každoročně ve snaze zmírnit výnosové ztráty porostů tykvovitých zelenin vzhledem k infekci padlím dýňovitých se v populaci tohoto patogenu v průběhu let vytvořila větší či menší míra rezistence k používaným fungicidům. Fungicidy, u kterých byl zaznamenán v populacích padlí dýňovitých výskyt tolerance, případně rezistence ve světě jsou shrnuty v přehledné **tabulce č.3**. Z této tabulky je zřejmé, že v populaci tohoto patogenu se vytvořila odolnost k mnoha přípravkům na bázi různých účinných látek. I přes tyto rizika však fungicidy představují stále hlavní účinný nástroj v boji proti této chorobě (McGrath, 2001).

Tabulka č.3. Seznam přípravků, vůči kterým byla zaznamenána rezistence nebo klesající účinnost u původců padlí dýňovitých (nejčastěji Px) v některých zemích (upraveno podle McGrath, 2001; McGrath, 2012; McGrath et al, 2013; Lebeda et al., 2010c; Lebeda, Sedláková, 2004; Sedláková a Lebeda, 2010; Wyenandt A. et al., 2015 a seřazeno podle FRAC Code Listu © 2015)

MOA	TARGET SITE AND CODE	GROUP NAME	CHEMICAL GROUP	COMMON NAME	COMMENTS	CODE
A:Nucleic acids	A2: adenosin-deaminase	hydroxy-(2-amino-) pyrimidines	hydroxy-(2-amino) pyrimidines	bupirimate	Medium risk	8
				dimethirimol		
				ethirimol		
B:Mitosis and cell	B1: β -tubuline assembly in mitosis	MBC-fungicides (Methyl Benzimidazole Carbamate)	benzimidazoles	benomyl	High risk	1
				carbendazim		
			thiophanates	thiophanate-methyl		
C:Respiration	C2:complex II: succinate-dehydrogenase	SDHI (Succinate dehydrogenase inhibitors)	pyridiny-ethyl-benzimidazoles	fluopyram	Medium to high risk	7
			pyrazole-4-carboxamides	penthiopyrad		
			pyridine-carboxamides	boscalid		
	C3:complex III: cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase) at Qo site (cyt b gene)	QoI-fungicides (Quinone outside Inhibitors)	methoxy-acrylates	azoxystrobin	High risk	11
				pyraoxystrobin		
				methoxy-carbamates		
	oximino-acetates	kresoxim-methyl				
C5:uncouplers of oxidative phosphorylation			dinitrophenyl crotonates	dinocap	Resistance not known	29
D: Amino acids and protein	D1: methionine biosynthesis (proposed) (cgs gene)	AP-fungicides (Anilino-Pyrimidines)	anilino-pyrimidines	cyprodinil	Medium risk	9
F: Lipids and membran	F2: phospholipid biosynthesis, methyl-transferase	phosphorothiolates	phosphoro-thiolates	pyrazophos	Low to medium risk	6
				afugan		
G: Sterol biosynthesis in membranes	G1: C14-demethylase in sterol biosynthesis (erg11/cyp51)	DMI-fungicides (DeMethylation Inhibitors) (SBI: Class I)	pyrimidines	fenarimol	Medium risk	3
				nuarimol		
			imidazoles	imazanil		
				triflumizole		
			triazoles	difenconazole		
	myclobutanil					

Tabulka č.3: pokračování z předchozí strany

				penconazole propiconazole tebuconazole triadimefon		
	G2: Δ 14-reductase and Δ 8 \rightarrow Δ 7-isomerase in sterol biosynthesis (erg24, erg2)	Amines ("Morpholines") (SBI: Class II)	morpholines	tridemorph fenpropimorph	Low to medium risk	5
Multi-site contact activity	Multi-site contact activity	inorganic	inorganic	copper (diff.salts)	Low risk	M1
		inorganic	inorganic	sulphur		M2
		dithiocarbamates and relatives	dithio-carbamates	mancozeb		M3
		chloronitriles (phthalonitriles)	chloronitriles (phthalonitriles)	chlorothalonil		M5
		quinoxalines	quinoxalines	quinomethyonat		M10
Unknow mode of action	Unknown	phenyl-acetamide	phenyl-acetamide	cyflufenamid	Resistance in Sphaerotheca	U6
Not-classified	Unknown	diverse	diverse	mineral oils, organic oils, potassium bicarbonate, material of biological origin	Resistance not known	NC

MOA: Je kód sloužící k odlišení jednotlivých fungicidních skupin podle jejich biochemického účinku, značí se písmeny A až I s číslicí.

TARGET SITE AND CODE (cílové místo a kód): Jsou k dispozici pro upřesnění, v mnoha případech ovšem není cílové místo známo.

FRAC CODE: Je kód značen písmeny a čísly, rozlišuje fungicidy do skupin dle chování při cross-rezistenci.

Čísla byla přidělena podle uvádění výrobku na trh (poslední aktualizace 2015).

3.8. Seznam přípravků registrovaných v ČR proti padlí dýňovitých

V České Republice stejně jako v jiných částech světa se v boji s populacemi padlí dýňovitých, které každoročně způsobují infekce na pěstovaných druzích tykvovitých zelenin využívá celá řada fungicidů. Jedná se o přípravky, které jsou komerčně dostupné jak pro malospotřebitele tzv. hobby balení, tak rovněž i velkobalení pro velkoplošnou aplikaci v zemědělství a jsou v ČR registrovány proti tomuto patogenu. O pravidelnou registraci přípravků na ochranu rostlin se stará Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ), který každý rok vydává Seznam povolených přípravků a dalších prostředků na ochranu rostlin. Tímto seznamem plní svou povinnost informovat veřejnost o přípravcích, které jsou v České Republice povoleny, uváděny na trh a používány. Celý seznam je vydáván prostřednictvím Věstníků, které jsou pravidelně čtvrtletně aktualizovány. (ÚKZÚZ, 2015). Zastoupení přípravků povolených v ČR na padlí dýňovitých je v Registru přípravků na ochranu rostlin rovněž obměňováno a každoročně aktualizováno v souvislosti s nově uváděnými přípravky na trh jednotlivými mezinárodními společnostmi a také s informacemi o vývoji stavu rezistence patogenů k jednotlivým přípravkům. A tuto skutečnost také zobrazuje **Tabulka číslo 4**, kde je zpracován seznam přípravků, které byly v ČR registrovány na ochranu porostů tykvovitých zelenin vůči padlí dýňovitých v roce 2012 a v roce letošním.

Tabulka č.4. Seznam přípravků povolených v České republice proti padlí dýňovitých pro rok 2012 a 2015 (zdroj: Seznam registrovaných přípravků a dalších prostředků na ochranu rostlin 2012 a 2015, Věstník LEDEN 2012 a LEDEN 2015, ÚKZÚZ - webové stránky)

Rok	Přípravek	Účinná látka	Dávkování (v l/ha)	Obsah účinné látky	Výrobce
2012	Ortiva	Azoxystrobin	1l/ha	250 g/l	Syngenta Lim. Guildfort
	Kumulus WG	Síra	2 kg/ha (0,3%)	80%	BASF SE
	Bioblatt	Lecitin	7,5ml/5l vody (0,15%)	25%	GmbH KG
2015	Ortiva	Azoxystrobin	1l/ha	250 g/l	Syngenta Lim. Guildfort
	Collis	Boskalid + Kresoxim-methyl	0,5 - 0,75 l/ha	200 g/l + 100 g/l	BASF SE
	Kumulus WG	Síra	2 kg/ha (0,4%)	80%	BASF SE
	Sulfolac 80 WG	Síra	1,5 kg/ha 600 l vody/ha	798,4 g/kg	Agrostulln GmbH
	Sulfurus	Síra	1,5 kg/ha 600 l vody/ha	798,4 g/kg	Agrostulln GmbH

Ze srovnání obou let je zřejmé, že spektrum registrovaných fungicidů se s odstupem tří let částečně obměnilo. V roce 2015 je pro ochranu porostů tykvvovitých zelenin vůči padlí dýňovitých povoleno pět fungicidů. Tři jsou přípravky kontaktními, nesystémovými, všechny na bázi síry (Kumulus WG, Sulfolac 80 WG a Sulfurus), dalším přípravkem je Ortiva s účinnou látkou azoxystrobinem (C3: QoI, FRAC 11 methoxy-acrylates). A nově zavedeným přípravkem je vícesložkový fungicid Collis, který obsahuje jednak účinnou látku boscalid (C2: SDHI, FRAC 7, pyridine-carboxamide) a také kresoxim-methyl (C3: QoI, FRAC 11 oximino-acetates).

3.9. Rezistence padlí dýňovitých vůči fungicidům v ČR

Podobně jako v zahraničí, je i v České Republice problematika rezistence padlí dýňovitých intenzivně sledována, a to od roku 2001 vědeckým týmem pod vedením profesora Lebedy na Katedře Botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, kde se tedy již 15. rokem při laboratorních pokusech sledují rizika vzniku potenciálních rezistencí v populacích tohoto patogenu vůči vybraným fungicidům. Hlavním cílem tohoto výzkumu je tedy monitorování českých populací padlí dýňovitých z hlediska jejich rezistence k vybraným skupinám fungicidů používaným v ČR v ochraně porostů tykvvovitých zelenin vůči padlí (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2010b; Sedláková a Lebeda, 2008, 2010).

Na tomto pracovišti byla doposud sledována účinnost 4 hlavních fungicidních přípravků, které byly používány v boji proti padlí dýňovitých. Jednalo se o přípravky Rubigan 12 EC (fenarimol), Karathane LC (dinocap), Topsin M 70 WP (thiophanate-methyl) a Ortiva (azoxystrobin). Dále byl testován též přípravek Fundazol 50 WP (benomyl), i když se jedná o látku, které již v roce 2004 vypršela platnost registrace v ČR, ale i nadále se v českých populacích tohoto patogenu sledovala frekvence výskytu rezistentních kmenů. Všech těchto pět testovaných fungicidů patří do různých skupin FRACu, a v boji vůči tomuto patogenu působily vzhledem ke své odlišné chemické povaze na různé fáze vývoje patogenu. (Lebeda et al., 2010). Právě činností vědeckého týmu profesora Lebedy došlo díky intenzivnímu výzkumu této problematiky v letech 2001-2011 k nashromáždění velkého množství experimentálních dat. Studium výsledků tohoto jedenáctiletého výzkumu se ukázalo, že testované přípravky vykazovaly různý stupeň účinnosti na studovanou patogenní populaci a byly zaznamenány v průběhu let změny ve frekvenci výskytu kmenů obou patogenů senzitivních/tolerantních /rezistentních u některých testovaných. Tyto změny jsou důsledkem

nejen případně vznikajících rezistencí, ale také mohou být dány virulencí izolátů, a právě tento argument je zásadní pro další pokračování výzkumu. (Lebeda et al., 2010)

Tabulka č.5. Testované koncentrace fungicidů z let 2010-2011 (zdroj: Seznam registrovaných přípravků a dalších prostředků na ochranu rostlin 2014, ÚKZÚZ)

Účinná látka	Koncentrace účinné látky (µg/ml) / koncentrace fungicidu (%)				
	1	2	3*	4	5
fenarimol	9,6 / 0,008	18 / 0,015	36 / 0,03	72 / 0,06	144 / 0,12
dinocap	28 / 0,008	52,5 / 0,0015	105 / 0,03	210 / 0,06	420 / 0,12
benomyl	62,5 / 0,0125	125 / 0,025	250 / 0,05	500 / 0,1	1000 / 0,2
thiophanate-methyl	131,25 / 0,018	262,5 / 0,037	525 / 0,075	1050 / 0,15	2100 / 0,3
azoxystrobin	125 / 0,05	250 / 0,1	500 / 0,2	1000 / 0,4	2000 / 0,8

* koncentrace doporučená výrobcem

Výsledky celkového výzkumu byly již publikovány v několika vědeckých časopisech či prezentovány na domácích a zahraničních konferencích a též byly součástí několika bakalářských (Paulík, 2009) či diplomových (Jeřábková 2007-2008, Paulík 2010-2011) prací (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b, 2012 Lebeda a Sedláková, 2004, 2005, 2011; Paulík, 2011; Sedláková a Lebeda, 2004 a,b; 2006, 2008, 2010; Sedláková et al., 2009, 2012 a,b).

RUBIGAN 12 EC (fenarimol)

Přípravek Rubigan 12 EC s účinnou látkou fenarimol se během testovaného období projevil jako vysoce účinný přípravek proti padlí dýňovitých. Mezi lety 2001-2011 byla u téměř 85% všech otestovaných izolátů pozorována vysoká účinnost, tedy i v nejnižších koncentracích přípravku. Ostatní izoláty navíc vykazovaly pouze minimální rezistenci, zaznamenanou na nejnižších koncentracích. Od samotného počátku testování se přípravek jevil jako vysoce účinný. Až v roce 2002 byl zaznamenán výskyt rezistence, a to u koncentrací 9,6µg a 18µg účinné látky u izolátů Go (Sedláková a Lebeda, 2008). Nicméně při testech v letech 2003 a 2004 se obavy vytvoření rezistence k tomuto fungicidu dále nepotvrdily (Sedláková a Lebeda, 2008). V roce 2005 však došlo opět k určitému zvýšení rezistence (Lebeda, et al. 2010), a tentokrát se tak stalo u obou druhů patogenů (Go i Px), kdy se sporulace objevila v jediném případě dokonce i na druhé nejvyšší koncentraci 72µg účinné látky. Během dalších šesti let měly výsledky testů u tohoto fungicidu podobný charakter jako v letech předchozích, kdy jen vzácně se objevila tolerance/resistence, a to pouze na nejnižších koncentracích. Celkově však lze říci, že fenarimol se jevil v celém studovaném období téměř 100% účinný v podmínkách ČR. (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b; Lebeda a

Sedláková, 2004, 2005, 2011; Paulík, 2011; Paulík, 2014; Sedláková a Lebeda, 2004 a,b; 2006, 2008, 2010; Sedláková et al., 2009, 2012 a,b).

KARATHANE LC (dinocap)

Přípravek Karathane LC s účinnou látkou dinocap se během testovaného období ukázal jako vysoce účinný proti padlí dýňovitých. Mezi roky 2001-2009 byla zaznamenána u 70% všech izolátů 100%-ní účinnost, tedy i na nejnižších koncentracích přípravku. Nicméně v některých letech jeho účinnost mírně klesla, kdy se vyskytly kmeny s tolerancí či rezistencí testovaných koncentrací, a to i vůči nejvyšším testovaným koncentracím. Pokles účinnosti tohoto přípravku byl v české populaci padlí dýňovitých zaznamenán již v roce 2001, a to u obou patogenů (Sedláková a Lebeda, 2008). Další podobná reakce se v české populaci tohoto patogenu opakovala i v roce 2002, a to pouze u patogenu Go, a v roce 2004 jen u patogenu Px (Sedláková a Lebeda, 2008). A v celém období let 2001-2011 byly v českých populacích sice vzácně, ale zaznamenány kmeny s tolerancí nižších testovaných koncentrací (Lebeda et al., 2010). Zhodnotíme-li celé období 2001-2011 z hlediska reakce české populace padlí dýňovitých na doporučené koncentraci pro ošetření plodin, můžeme konstatovat 96% účinnost přípravku, z tohoto pohledu lze tento přípravek považovat za účinný v podmínkách ČR. Avšak frekvence výskytu kmenů s tolerancí či rezistencí vůči testovaným koncentracím tohoto fungicidu se během sledované periody lišilo a z tohoto hlediska se jeví jako potřebné reakci české populace vůči tomuto fungicidu sledovat i nadále. (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b; Lebeda a Sedláková, 2004, 2005, 2011; Paulík, 2011; Paulík, 2014; Sedláková a Lebeda, 2004 a,b; 2006, 2008, 2010; Sedláková et al., 2009, 2012 a,b).

FUNDAZOL 50 WP (benomyl)

Přípravek Fundazol 50 WP s účinnou látkou benomyl se během testovaného období ukázal jako neúčinný prostředek proti padlí dýňovitých. V období 2001-2004 byla většina patogenní populace (88% testovaných izolátů patogenu Go a 97% Px) plně rezistentní vůči tomuto fungicidu (Sedláková a Lebeda, 2008). Do roku 2003 pouze jediný izolát Px a devět Go vykazovalo senzitivní reakci vůči testovaným koncentracím tohoto fungicidu (Sedláková a Lebeda, 2008). Ale celkově lze brát tento přípravek v období do roku 2007 jako minimálně účinný (Lebeda et al., 2010). Následné čtyřleté testované období (2008-2011) sledování jeho účinku v českých populacích padlí dýňovitých pouze potvrdilo předchozí výsledky. Na základě výsledků z let 2001-2011 lze tedy Fundazol 50 WP považovat za neúčinný v podmínkách ČR. (Lebeda et al., 2010b; Lebeda a Sedláková, 2004, 2005, 2011; Paulík,

2011; Paulík, 2014; Sedláková a Lebeda, 2004 a,b; 2006,2008, 2010; Sedláková et al., 2009, 2012 a,b).

TOPSIN M 70 WP (thiophanate-methyl)

Přípravek Topsin M 70 WP s účinnou látkou thiophanate-methyl se během testovaného období (2005-2011) jevil (stejně jako Fundazol 50 WP) jako neúčinný fungicid proti padlí dýňovitých. Už v prvním roce, kdy začal být testován, tedy v roce 2005 již vykazoval nízkou účinnost (Lebeda et al., 2010). Do roku 2009 bylo 77% všech testovaných izolátů plně rezistentních a v následujícím období let 2010-2011 došlo dokonce ke zvýšení až na 80%. Na základě výsledků z let 2001-2011 lze tedy Topsin M 70 WP považovat za neúčinný v podmínkách ČR. (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b, 2012; Lebeda a Sedláková, 2011; Paulík, 2011; Paulík, 2014; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009, 2012 a,b)

ORTIVA (azoxystrobin)

Přípravek Ortiva s účinnou látkou azoxystrobin vykazoval během testovaného období (2007-2011) nízkou účinnost proti padlí dýňovitých. Už v prvním roce testování (2007) se tento fungicid jevil efektivní jen částečně a podobná situace byla i v následujících dvou letech (2008 a 2009). Reakce české populace tohoto patogenu vůči azoxystrobinu však byla ve sledovaném období zcela odlišná od její reakce k ostatním testovaným fungicidům. V českých populacích totiž byly zastoupeny buď kmeny zcela senzitivní vůči všem testovaným koncentracím azoxystrobinu nebo naopak zcela rezistentní vůči němu. A v jednotlivých letech se frekvence zastoupení těchto kmenů lišila, a to i v rámci obou druhů. A od roku 2010 došlo ke zvýšení frekvence výskytu kmenů zcela rezistentních vůči všem testovaným koncentracím (59% izolátů v roce 2010, 89% izolátů v roce 2011). Celkově lze z výsledků tohoto pětiletého výzkumu říci, že v české populaci padlí dýňovitých došlo ke zvýšení frekvence výskytu kmenů zcela rezistentních k tomuto fungicidu, a jeho praktické využití by tedy mělo být vždy ještě předem uváženo (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b, 2012; Lebeda a Sedláková, 2011; Paulík, 2011; Paulík 2014; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009, 2012 a,b).

4. Materiál a metody

4.1. Metoda listových disků

4.1.1. Rostlinný materiál

Pro testování rezistence vůči padlí tykvovitých byly použity listy okurky seté (*Cucumis sativus*), náchylné odrůdy Stela F1.

Nejprve byla semena vyseta do malých plastových kelímků o průměru 7 cm s perlitem. Poté, co se vyvinuly děložní lístky, byly sazenice přemístěny do květináčů se zeminou a zahradnickým substrátem (poměr 2:1). Rostliny byly pěstovány ve skleníku při teplotě 25°C/15 °C (den/noc), zde denně zalévány a jednou týdně přihnojeny (Kristalon Start – NU3 B. V., Vlaardingem, Nizozemsko). Listy pro přípravu listových disků byly odebírány z šest až osm týdnů starých rostlin (ve stádiu 3-6 pravého listu) (Lebeda, 1986).

4.1.2. Původ, charakteristika a uchovávání izolátů padlí tykvovitých použitých k testování

Hostitelskou rostlinou pro udržení kultury jednotlivých izolátů padlí tykvovitých byly semenáčky *Cucumis sativus* náchylné odrůdy (cv. Stela F1), které byly před inokulací přechovávány v kelímcích s perlitem ve skleníku při teplotě 25°C/15 °C (den/noc) a denně zalévány. Kultury padlí tykvovitých byly udržovány na semenáčcích okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Stela F1 v plastových krabičkách ve fytotronu při teplotě 24°C ve dne a 18°C v noci a 12ti hodinové fotoperiodě. Krabičky byly přikryty plastovými víky, aby se zabránilo šíření konidií. Vždy zhruba po čtrnácti dnech byly kultury přeočkovány na nové rostliny, a to přenesením konidií pouhým přiložením listu s udržovanou kulturou izolátu na děložní lístky náchylné odrůdy *C. sativus* cv. Stela. (Lebeda a Sedláková, 2010).

V **tabulce číslo 6** jsou seznamy izolátů padlí dýňovitých pocházejících z různých lokalit ČR z roku 2012 použitých pro testování rezistence k fungicidům.

Tabulka č.6. Seznam izolátů padlí dýňovitých použitých pro testování rezistence k fungicidům v roce 2012

Číslo izolátu	Kraj	Okres	Lokalita	Místo	Hostitelská rostlina	SN	Patogen	Datum sběru
1/12 1	OLK	OC	Olomouc-Holice	pole	CP	1	Go	11.7.2012
12/12	OLK	PR	Tovačov-Annín	zahr. kolonie	CP	1	Go	6.8.2012
25/12	JHM	HO	Vnorovy	pole	CM	1	Go	6.8.2012
31/12	JHM	HO	Čejč	pole	CP	3	Go	6.8.2012
33/12	PAK	SY	Sedliště	zahrada	CP	1	Go	8.8.2012
36/12	HKK	RK	Opočno	zahrada	CS	2	Go	8.8.2012
37/12	HKK	RK	Opočno	zahrada	CP	1	Go	8.8.2012
38/12	HKK	RK	Dobruška, pneuservis	zahrada	CM	1	Go	8.8.2012
40/12	HKK	JC	Konecchlumí	zahrada	CP	4	Go	8.8.2012
43/12	STC	MB	Řitovice	zahrada	CP	3	Go	8.8.2012
59/12	JHM	BO	Ořechov	pole	CM	1	Go	22.8.2012
7/12 1	OLK	OC	Olomouc-Holice	pole	Lag.	1	Px	9.8.2012
9/12 2	OLK	OC	Olomouc-Holice	pole	C. mosch.	1	Px	22.8.2012
13/12	ZLK	KM	Kvasice, za bytovkami	zahrada	CP	1	Px	6.8.2012
17/12	ZLK	ZL	Napajedla, naproti Fatry	zahrada	CS	1	Px	6.8.2012
20/12	ZLK	UH	Ostrožná Nová Ves	pole, před obcí	CM	1	Px	6.8.2012
32/12	JHM	BV	Velké Bílovice	pole	CP	2	Px	6.8.2012
42/12	HKK	JC	Sobotka, za obcí	zahrada	CP	1	Px	8.8.2012
49/12 1	MSK	NJ	NJ-Kojetín	zahrada	CM	1	Px	29.9.2012
51/12	OLK	OC	Lutín, před bytovkami	zahrada	CP	2	Px	22.8.2012
53/12	OLK	PV	Olišany u Prostějova	zahrada	CP	1	Px	22.8.2012
56/12	JHM	BK	Jedovnice	zahrada	CP	1	Px	22.8.2012
62/12	JHM	BO	Moravské Bránice	zahrada	CP	4	Px	22.8.2012
67/12	MSK	NJ	NJ-Kojetín	zahrada	C. mosch.	4	Px	29.9.2012

SN = stupeň napadení (0-4), podle Lebedy (1986)

CP - *Cucurbita pepo*, **CM** - *Cucurbita maxima*, **Cme** - *Cucumis melo*, **Cmosch** - *Cucurbita moschata*, **CS** - *Cucumis sativus*; **Lag** - *Lagenaria siceraria*

Go - *Golovinomyces orontii*, **Px** - *Podosphaera xanthii*

Kraje ČR:

OLK – Olomoucký, **JHM** – Jihomoravský, **MSK** – Moravskoslezský, **ZLK** – Zlínský, **STC** – Středočeský, **HKK** – Královéhradecký, **STC** – Středočeský

Okresy ČR:

BK – Blansko, **BO** – Brno-venkov, **BV** – Břeclav, **HO** – Hodonín, **JC** – Jičín, **KM** – Kroměříž, **MB** – Mladá Boleslav, **NJ** – Nový Jičín, **OC** – Olomouc, **PR** – Přerov, **PV** – Prostějov, **RK** – Rychnov nad Kněžnou, **SY** – Svitavy, **UH** – Uherské Hradiště, **ZL** – Zlín

4.1.3. Modifikovaná metoda listových disků a použité fungicidy

K testování rezistence/tolerance vybraného souboru obou druhů padlí na dýňovitých vůči fungicidům, izolátů z roku 2012, byla použita modifikovaná metoda listových disků (Anonymus, 1982; Sedláková a Lebeda, 2004 a,b 2006, 2008).

Pro testování bylo vybráno šest fungicidních přípravků: **Atlas 500 CS** (účinná látka quinoxifen), **Karathane LC** (ú.l. dinocap), **Ortiva** (ú.l. azoxystrobin), **Topas 100 EC** (ú.l. penconazole), **Bumper 25 EC** (ú.l. propiconazole) a **Corbel** (ú.l. fenpropimorph). Všechny tyto fungicidy s danou účinnou látkou, se testovaly ve třech koncentracích. Jedna z koncentrací (prostřední) byla doporučená výrobcem a dále pak jedna nad a jedna pod touto hranicí (tabulka č.7). Destilovaná voda sloužila jako kontrola.

Tabulka č.7. Testované koncentrace fungicidů

Fungicid	Účinná látka	Koncentrace účinné látky (µg/ml) / koncentrace fungicidu (%)		
		1	2*	3
Atlas 500 CS	quinoxifen	165 / 0,033	330 / 0,066	660 / 0,132
Karathane LC	dinocap	52,5 / 0,015	105 / 0,03	210 / 0,06
Ortiva	azoxystrobin	250 / 0,1	500 / 0,2	1000 / 0,4
Topas 100 EC	penconazol	15 / 0,015	30 / 0,03	60 / 0,06
Bumper 25 EC	propiconazol	197,54 / 0,083	395,08 / 0,166	790,16 / 0,332
Corbel	fenpropimorph	1500 / 0,2	3000 / 0,4	6000 / 0,8

* koncentrace doporučená výrobcem

Poté bylo korkovrtem (průměr 15mm) vykrájeno z listů okurky celkem 15 listových disků (3 opakování po 5 discích) pro každou koncentraci určitého fungicidu. Pro přípravu listových disků byly použity listy náchylné odrůdy *C. sativus* Stela F1, nejlépe ve stádiu 3-6 pravého listu (Lebeda, 1986). Následně byly tyto listové disky ponořeny do plastových boxů (190 x 140 x 65 mm) s roztokem testovaného fungicidu příslušné koncentrace a ponechány v něm po dobu 30 minut. Poté byl roztok fungicidu slit a listové disky byly narovnané svrchní stranou do plastových krabiček (190 x 140 x 65 mm), které byly nejprve vytřeny 96% roztokem líhu a které byly vystlány buničitou vatou a filtračním papírem a navlhčeny destilovanou vodou. V každé krabičce byly umístěny 2 koncentrace a v rámci každé koncentrace bylo uloženo celkem 15 listových disků (3 opakování po pěti discích). Na 1 izolát

/ 1 testovaný fungicid tak připadaly 2 plastové krabičky (K, I; II, III): 1. krabička = K + I. koncentrace; 2. krabička = II. + III. koncentrace;. Krabičky byly ponechány přibližně hodinu otevřené ve sterilní místnosti, aby listové disky oschly, a poté byly přikryty víčkem. Po 24 hodinách byly disky inokulovány (naočkovány) příslušnými izoláty Go a Px, a to přiložením děložního lístku (*C.sativus* Stela F1) pokrytého sporulujícím myceliem. Inkubace probíhala ve stejných podmínkách jako přechovávání izolátů.

4.1.4. Charakteristika testovaných fungicidů

ATLAS 500 SC (výrobce Dow AgroSciences Ltd., Velká Británie)

Atlas je postřikový fungicid ve formě suspenzního koncentrátu proti padlí travnímu na pšenici a ječmeni. Účinná látka je zde quinoxifen, která patří mezi inhibitory signálních drah. Působí jako protektivní fungicid, který působí na buněčné úrovni, kde inhibuje tvorbu primárních apresorií. Současně též brání klíčení spor. Látka proniká do rostlinných pletiv a dlouhodobě je chrání, především nově vzrůstající vrcholy. V porostu přetrvává 4-8 týdnů. Přípravek je nebezpečný pro životní prostředí. (Převzato z etikety přípravku)

TOPAS 100 EC (výrobce Syngenta Crop Protection AG, Basel, Švýcarsko)

Fungicidní přípravek ve formě emulgovatelného koncentrátu určený k ochraně jabloně proti padlí, jadrovin proti strupovitosti a révy vinné, okurek, rajčat a paprik proti padlí révovému. Účinnou látkou je zde penconazol, který patří mezi inhibitory sterolové biosyntézy. Jedná se o systémový fungicid, který proniká do rostliny prostřednictvím listů do 24 hodin po aplikaci. Po uplynutí této doby nedochází k jeho smytí z povrchu listů deštěm. Penconazol je rozváděn vodivým systémem rostliny především směrem ke vzrostným vrcholům, k novým přírůstkům a poskytuje preventivní i kurativní účinky. Látka působí na mycelium, respektive hyfy. Přípravek je toxický a nebezpečný pro životní prostředí. (Převzato z etikety přípravku)

KARATHANE LC (výrobce Dow AgroSciences Ltd., Itálie)

Karathane je postřikový emulgovatelný koncentrát, který je potřeba před aplikací naředit vodou a používá se proti padlí na jabloních, révě vinné, okurkách, mrkvi, petrželi, tabáku, růžích a padlí americkému na angreštu. Účinnou látkou je zde dinocap, který patří mezi inhibitory dýchání. Jedná se o kontaktní fungicid s kurativním, eradikativním (hubícím) a preventivním účinkem na různé druhy padlí a současně omezující populace svilušek. Dále unikátně působí proti přezimujícím myceliím padlí v sadech a vinohradech, a proto bývá zařazován do prvních postřiků. Přípravek je toxický a nebezpečný pro životní prostředí. (Převzato z etikety přípravku)

BUMPER 25 EC (výrobce Irvita Plant Protection N.V., Curacao, Nizozemské Antily)

Postřikový fungicidní přípravek ve formě emulgovaného koncentrátu k ochraně proti chorobám listů a klasů v porostech pšenice, žita a ječmene a proti námelu v semenných porostech trav. Účinnou látkou je zde propiconazol, který patří mezi inhibitory sterolové biosyntézy. Jedná se o systémový fungicidní přípravek s protektivní a kurativní účinností s vysokou tenzí par určený na choroby listů a klasů jako je například padlí travní (*Erysiphe graminis*), rez plevová (*Puccinia glumarum* /syn. *Puccinia striiformis*/), rez ječná (*Puccinia triticina*), hnědá skvrnitost (*Pyrenophora teres*), skvrnitost ječmene (*Rhynchosporium secalis*). Dále vykazuje účinnost i proti druhům *Septoria sp.*, *Cercospora herpotrichoides*, a dalším. Přípravek je nebezpečný pro životní prostředí. (Převzato z etikety přípravku)

ORTIVA (výrobce Syngenta Limited Guildford, Velká Británie)

Jedná se o fungicidní přípravek ve formě suspenzního koncentrátu k ochraně borovice (lesní a okrasné školky), chmele, okrasných rostlin a zeleniny proti houbovým chorobám jako například padlí, plíseň chmelová, hniloba jahod,... Účinná látka azoxystrobin má systemické a translaminární vlastnosti a blokuje transport elektronů v mitochondriích při dýchání. Přípravek působí proti původcům řady chorob zeleniny ze skupin Oomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes a Deuteromycetes. Účinky jsou dlouhodobé protektivní, proto je nutné použít fungicid před či v počátcích choroby. Ošetřené rostliny jsou delší dobu zelené, vykazují tzv. „green efekt“. Přípravek je nebezpečný pro životní prostředí. (Převzato z etikety přípravku)

CORBEL (výrobce BASF SE, Ludwigshafen, Německo)

Corbel je systémový fungicid ve formě emulgovatelného koncentrátu proti padlí travnímu a rzi na pšenici, ječmeni a žitě. Účinnou látkou je zde fenpropimorf, který je vstřebáván nadzemními částmi rostlin a rozváděn po celé rostlině. Přípravek má rychlou počáteční, ale také dobrou reziduální účinnost (několik měsíců) proti padlí travnímu (*Erysiphe graminis*) na pšenici a ječmeni, proti rzi plevové (*Puccinia glumarum* /syn. *Puccinia striiformis*/), a rzi pšeničné (*Puccinia triticina*) na pšenici a rzi ječné (*Puccinia hordei*) na ječmeni. Přípravek je dráždivý a nebezpečný pro zdraví a životní prostředí. (Převzato z etikety přípravku)

4.1.5. Hodnocení intenzity sporulace

Intenzita sporulace na jednotlivých listových discích byla hodnocena vizuálně ve 2-4 denních intervalech a to 5. až 14. den po inokulaci. K vyhodnocení byla použita jak metoda

kvantitativní, vyjadřující plochu rostlinného pletiva postiženého chorobou, tak rovněž metoda kvalitativní, kdy je hodnocena přítomnost nebo absence choroby (Lebeda, 1986).

Kvantitativní metoda hodnocení

Ke kvantitativnímu hodnocení se použila pěti-bodová stupnice intenzity sporulace tzn. procento listové plochy pokryté sporulujícím myceliem houby (SN – stupeň napadení).

Škála 0 – 4 (Lebeda, 1984):

0 - bez příznaků

1 – < 25% stupeň napadení (SN)

2 – 25 - 50% SN

3 – 50 - 75% SN

4 – >75%

Celkový stupeň napadení (P) pro každý izolát podle Towsenda & Heubergera (1943) byl vyjádřen v procentech:

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

P = celkový stupeň napadení,

n = počet disků v každé kategorii napadení,

v = stupeň napadení,

x = maximální stupeň napadení

N = celkový počet hodnocených disků

Kvalitativní metoda hodnocení

Ke kvalitativnímu hodnocení byla používána tří-bodová stupnice, resp. byly stanoveny 3 typy reakcí (Urban a Lebeda, 2004):

–... senzitivní reakce, stupeň napadení = 0-10%

(–) ... tolerantní reakce, stupeň napadení = 10,1-34,9%

+ ... rezistentní reakce, stupeň napadení \geq 35%

Stanovení hodnoty ED50

Pro každý izolát byla stanovena hodnota ED50 (tj. koncentrace fungicidu inhibující sporulaci houby o 50 %) v intervalu testovaných koncentrací fungicidu (Sedláková a Lebeda, 2008; Urban a Lebeda, 2004).

5. Výsledky a diskuze

Provedená experimentální studie stavu rezistence českých populací padlí vůči vybraným fungicidům přináší výsledky screeningu 24 izolátů dvou druhů padlí dýňovitých (*Golovinomyces orontii*, *Podosphaera xanthii*). Izoláty byly získány ze vzorků listů se symptomy infekce odebraných při sběrových expedicích na území České republiky, z oblastí severovýchodních Čech a Moravy, kdy nejvíce izolátů pocházelo z okolí Olomouce. Každý z izolátů byl minimálně jedenkrát otestován vůči každému z vybraných 6 typů fungicidů. Celkem se tudíž provedlo přes 144 testování a měření.

Výsledky předkládané studie můžeme rozdělit do logických 6 skupin podle typu aplikovaného fungicidu, a každou následně ještě do dalších dvou podle druhu patogenu. Výsledky testování ukázaly rozdíly v účinnosti vybraných testovaných fungicidů na testované populaci patogenu v roce 2012.

5.1. ATLAS 500 CS (*quinoxifen*)

Přípravek Atlas 500 CS vykazoval v roce 2012 sníženou účinnost. Zatímco 50% všech otestovaných izolátů (30% Go, 70% Px) bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku, tak téměř 30% zkoumané populace vykazovalo nízkou sporulaci i v nejsilnějších koncentracích přípravku. Pouze 67% izolátů pak bylo citlivých vůči doporučené koncentraci, kdy dokonce v případě jednoho Go izolátu (38/12) byl zaznamen pokročilý stupeň rezistence. Hodnota ED₅₀ se u všech izolátů pohybovala pod střední (doporučenou) koncentrací účinné látky (330 µg/ml), kdy u více jak 83% byla hodnota nižší než nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku, tedy < 165 µg ú.l/ml. Dosažené výsledky tedy evidentně naznačují vysokou účinnost vůči Px izolátům a výrazně sníženou u izolátů Go, avšak z celkového hlediska se jedná o fungicid citlivý/tolerantní v české populaci padlí dýňovitých v roce 2012. (**Tabulky č.8a-b, 9a-b**)

Ze světových výzkumů vyplývá, že účinná látka quinoxifen má nízké riziko vzniku rezistence (Hollomon et al., 1997). Potvrzují to také testy provedené v USA, kde se tato látka úspěšně využívá k boji proti padlí dýňovitých samostatně nebo ve směsích s jinými látkami (McGrath, 2010, McGrath et al., 2015; Keinath, 2015). Podobně výborné vlastnosti směsí quinoxyfenu s jinými účinnými látkami potvrzují i studie z jižních oblastí Austrálie (Wicks et al., 2002), a publikované články ve Španělsku (Bellón-Gómez et al., 2014; Bellón et al., 2011) taktéž dokazují i samostatné účinkování bez vzniku jakékoli rezistence.

5.2. *BUMPER 25 EC (propiconazol)*

Tento přípravek byl v roce 2012 100% účinný. U žádného z testovaných izolátů u obou patogenů nebyla pozorována sporulace, ani slabá na žádné z testovaných koncentrací. Hodnota ED₅₀ byla pro všechny testované izoláty nižší než nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku, tedy < 197,54 µg ú.l./ml. Z výsledků je tedy evidentní, že v roce 2012 nedošlo v české populaci padlí dýňovitých k vytvoření rezistence/tolerance vůči tomuto přípravku. (**Tabulky č.16a-b, 17a-b**)

K účinné látce propiconazol existuje v odborné literatuře jen velmi málo informací. Ale např. podle publikované studie Damgaard a kol. z roku 1998, se aplikace fungicidů s účinnou látkou propiconazol ukázala jako účinný nástroj v boji proti populacím padlí dýňovitých v Dánsku (Damgaard et al., 1998).

Z dalších výzkumů uskutečněných ve Velké Británii nicméně také vyplynulo, že účinky propiconazolu klesají, pokud je užíván jako náhrada za přípravek s účinnou látkou patřící do stejné skupiny (triazolů), ke kterému se již vyvinula rezistence. (Blatter et al., 1998). To tedy znamená, že u přípravků s různými účinnými látkami ze skupiny triazolů se vyvinula křížová rezistence (cross-resistance).

5.3. *KARATHANE LC (dinocap)*

Tento přípravek lze v roce 2012 považovat za téměř 100% účinný. Téměř 80% všech odebraných izolátů nevykazuje žádné procento sporulace. Pouze u několika testovaných izolátů obou patogenů se vyskytla slabá sporulace. V případě patogenu Go se jednalo o 2 izoláty (25/12, 40/12), u kterých byla prokázána mírná tolerance vůči dinocapu ve všech koncentracích, nicméně oba izoláty byly nezávisle na sobě odebrány v Čechách a Moravě z odlišných lokalit. A pouze u jediného Px izolátu (13/12) byl pozorován vznik mírné tolerance v nejnižší koncentraci účinné látky. Hodnota ED₅₀ byla pro všechny testované izoláty nižší než 52,5 µg ú.l./ml, tedy nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku. Experimentální výsledky tedy prokazují vysokou účinnost tohoto přípravku vůči českým populacím padlí dýňovitých v roce 2012. (**Tabulky č.10a-b, 11a-b**)

Při srovnání dosažených výsledků z roku 2012 s experimentálními daty z předchozích let pozorujeme velmi podobné hodnoty, kdy do roku 2009 byla u 70% všech otestovaných izolátů prokázána maximální citlivost a kdy byla dosažena celková 96% účinnost účinné látky vůči všem otestovaným izolátům za období 2001-2011. Dosažené výsledky tedy korelují s údaji s předchozích let, kdy byl Karathane LC celkové zhodnocen jako účinný v

podmínkách ČR (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b; Lebeda a Sedláková, 2004, 2005, 2011; Paulík, 2011; Paulík, 2014; Sedláková a Lebeda, 2004 a,b; 2006, 2008, 2010; Sedláková et al., 2009, 2012 a,b). Podobně vysokou účinnost v populacích tohoto patogenu sledujeme také v jiných světových oblastech. Již v publikovaných studiích z let 1981-1983 v Holandsku je potvrzena vynikající účinnost dinocapu (Schepers, 1984), kde se autor Schepers mimo jiné také pozastavuje nad stále platnými vlastnostmi, kterými fungicid disponuje už více jak 30let nepřetržitého používání. Stejně úspěšných výsledku bylo dosaženo i z indických výzkumů během období 1992-1994 (Kalra et al., 2000) a 2002-2003 (Sugha, 2007). Podobné zprávy ale můžeme nalézt i z jižního Španělska, Japonska a Taiwanu (McGrath, 2001).

5.4. TOPAS 100 EC (penconazol)

Tento přípravek lze v roce 2012 považovat za 100% účinný. Pouze u několika testovaných izolátů obou patogenů se vyskytla slabá sporulace do 10% na nejnižší testované koncentraci tohoto přípravku. A pouze jeden Go izolát (40/12) slabě sporuloval na všech testovaných koncentracích. Hodnota ED₅₀ byla pro všechny testované izoláty nižší než nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku, tedy < 15 µg ú.l/ml. Experimentální výsledky tedy jasně ukázaly vysokou účinnost tohoto přípravku v české populaci padlí dýňovitých v roce 2012. (**Tabulky č.14a-b, 15a-b**)

K účinné látce penconazol v odborné literatuře existuje jen velmi málo informací ve vztahu k tomuto patogenu. Ale například u populací padlí dýňovitých v oblastech Egypta byly prokázány pozitivní účinky po aplikaci přípravků na bázi penconazolu. (Ismail et al. 2009).

5.5. ORTIVA (azoxystrobin)

Přípravek Ortiva (ú.l.: azoxystrobin) vykazoval v roce 2012 sníženou účinnost, což odpovídalo situaci v české populaci padlí dýňovitých v roce 2011. Zatímco 32% všech testovaných izolátů bylo v roce 2012 kontrolováno všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku, tak 46% testované populace vykazovalo zcela opačnou reakci a mělo naopak rezistentní reakci na všech koncentracích. A pouze 22 % izolátů bylo s tolerancí případně rezistencí k testovaným koncentracím. Hodnota ED₅₀ rozdělila testovanou českou populaci padlí dýňovitých v roce 2012 do dvou zcela odlišných skupin (ED₅₀< 250 µg ú.l/ml a ED₅₀>1000 µg ú.l/ml) a frekvence zastoupení izolátů obou patogenů v obou skupinách byla rovnoměrná. Izoláty, které vykazovaly rezistenci na všech testovaných koncentracích,

pocházely ze vzorků z různých lokalit ČR, nelze tedy přímo generalizovat oblast s výskytem těchto kmenů padlí dýňovitých. (**Tabulky č.12a-b, 13a-b**)

Ze srovnání dosažených výsledků z roku 2012 s experimentálními údaji z předchozího období (2007-2011) je patrná shoda, kdy v celém testovaném období byly v populaci patogenu zastoupeny kmeny jak zcela senzitivní nebo naopak zcela rezistentní ke všem testovaným koncentracím a vyskytly se i kmeny s tolerancí všech koncentrací. Zároveň však byl v českých populacích padlí dýňovitých pozorován u obou patogenů nárůst frekvence výskytů kmenů zcela rezistentních a tedy i dlouhodobě snížená účinnost přípravku (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b, 2012; Lebeda a Sedláková, 2011; Paulík, 2011; Paulík 2014; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009, 2012 a,b.). Podobný pokles senzitivity vůči azoxystrobinu v populacích tohoto patogenu byl zaznamenán také v jiných částech světa a je také zmiňován v člancích z Japonska (Ishii et al., 2001), Velké Británie (Fraaije et al., 2001) a některých oblastí Španělska (Fernández-Ortuño et al., 2006), USA (McGrath & Shishkoff, 2003; McGrath, 2005, 2006). Vznikem rezistence vůči azoxystrobinu či jiným účinným látkách ze skupiny azoxystrobinů u mnoha dalších houbových organizmů se zabývala řada zahraničních prací, zvláště v souvislosti s tzv.cross-rezistencí (Sierotzki et al., 2000; Mondal et al., 2005; Markoglou et al., 2006; Gisi et al., 2008).

5.6. CORBEL (fenpropimorph)

Tento přípravek byl v roce 2012 100% účinný. U žádného z testovaných izolátů u obou patogenů nebyla pozorována sporulace, ani slabá na žádné z testovaných koncentrací. U tohoto přípravku bylo navíc zjištěno, že na listových discích kontroly neošetřené fungicidem, která byla umístěna v plastové krabici na navlhčeném filtračním papíru s buničinou společně s nejnižší testovanou koncentrací se projevil fyto toxický efekt tohoto fungicidu. Tato skutečnost byla zjištěna v počátcích tohoto experimentu. Z tohoto důvodu se ukázalo jako potřebné udělat při testování ještě jednu kontrolu a umístit ji do zvláštního samostatného boxu, aby se zajistila kontrola správnosti inokulace při testování. Hodnota ED₅₀ byla pro všechny testované izoláty nižší než nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku, tedy < 1500 µg ú.l/ml. Z výsledků je tedy evidentní, že v roce 2012 nedošlo v české populaci padlí dýňovitých k vytvoření rezistence/tolerance vůči tomuto přípravku. (**Tabulky č.18a-b, 19a-b**)

V odborné literatuře existuje jen velmi málo informací k účinné látce fenpropimorph ve vztahu k patogenům padlí dýňovitých. Avšak například podle výzkumu publikovaném v Holandsku z roku 1986 byla tato látka prokázána jako velice účinná proti populacím padlí druhu *Erysiphe graminis* f. sp.*tritici* na pšenici (Waard et al., 1986). Další, laboratorní

výzkumy, uskutečněné v Dánsku také poukazují na výjimečné vlastnosti fenpropimorfu v porovnání s ostatními přípravky, co se týče rizika vzniku rezistence u populací padlí druhu *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* na ječmeni (O'Hara et al., 2000).

Tabulka 8a-b. Celkový stupeň napadení (P) listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Atlas 500 CS (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	ATLAS 500 CS (quinoxifen) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	165	330*	660	
1/12 1 Go	96,6	25	20	18,3	< 165 µg ú.l./ml
12/12 Go	85	11,66	1,66	1,66	< 165 µg ú.l./ml
25/12 Go	46,6	1,66	1,66	0	< 165 µg ú.l./ml
31/12 Go	96,6	85	30	26,6	165-330 µg ú.l./ml
33/12 Go	65	23,3	8,33	8,33	< 165 µg ú.l./ml
36/12 Go	81,6	6,6	0	0	< 165 µg ú.l./ml
37/12 Go	81,6	38,3	11,6	11,6	< 165 µg ú.l./ml
38/12 Go	95	50	43,3	26,6	165 µg ú.l./ml
40/12 Go	98,3	6,66	0	0	< 165 µg ú.l./ml
43/12 Go	93,3	55	26,6	23,3	165-330 µg ú.l./ml
59/12 Go	100	56,6	11,6	11,6	165-330 µg ú.l./ml

Číslo izolátu a patogen	ATLAS 500 CS (quinoxifen) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	165	330*	660	
7/12 1 Px	91,6	0	1,66	0	< 165 µg ú.l./ml
9/12 2 Px	60	6,66	5	0	< 165 µg ú.l./ml
13/12 Px	100	13,3	3,33	0	< 165 µg ú.l./ml
17/12 Px	91,6	35	31,6	26,6	< 165 µg ú.l./ml
20/12 Px	98,3	11,6	3,33	1,66	< 165 µg ú.l./ml
32/12 Px	55	1,66	0	1,66	< 165 µg ú.l./ml
42/12 Px	100	5	1,66	0	< 165 µg ú.l./ml
49/12 Px	100	6,66	1,66	1,66	< 165 µg ú.l./ml
51/12 Px	98,3	10	1,66	1,66	< 165 µg ú.l./ml
53/12 Px	85	3,33	1,66	3,33	< 165 µg ú.l./ml
56/12 Px	56,6	8,33	3,33	1,66	< 165 µg ú.l./ml
62/12 Px	93,3	31,6	15	3,33	< 165 µg ú.l./ml
67/12 Px	88,3	3,33	1,66	3,33	< 165 µg ú.l./ml

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 9a-b. Typ reakce izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Atlas 500 CS (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	ATLAS 500 CS (quinoxifen) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	165	330*	660
1/12 1 Go	+	(-)	(-)	(-)
12/12 Go	+	(-)	-	-
25/12 Go	+	-	-	-
31/12 Go	+	+	(-)	(-)
33/12 Go	+	(-)	-	-
36/12 Go	+	-	-	-
37/12 Go	+	+	(-)	(-)
38/12 Go	+	+	+	(-)
40/12 Go	+	-	-	-
43/12 Go	+	+	(-)	(-)
59/12 Go	+	+	(-)	(-)

Číslo izolátu a patogen	ATLAS 500 CS (quinoxifen) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	165	330*	660
7/12 1 Px	+	-	-	-
9/12 2 Px	+	-	-	-
13/12 Px	+	(-)	-	-
17/12 Px	+	+	(-)	(-)
20/12 Px	+	(-)	-	-
32/12 Px	+	-	-	-
42/12 Px	+	-	-	-
49/12 Px	+	-	-	-
51/12 Px	+	-	-	-
53/12 Px	+	-	-	-
56/12 Px	+	-	-	-
62/12 Px	+	(-)	(-)	-
67/12 Px	+	-	-	-

- = senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) = tolerantní reakce (SN 10,1- 34,9 %);

+ = rezistentní reakce (SN \geq 35 %);

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 10a-b. Celkový stupeň napadení (P) listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Karathane LC (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	KARATHANE LC (dinocap) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	52,5	105*	210	
1/12 1 Go	75	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
12/12 Go	86,6	8,33	1,66	1,66	< 52,5 µg ú.l./ml
25/12 Go	91,6	30	18,3	18,3	< 52,5 µg ú.l./ml
31/12 Go	63,3	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
33/12 Go	81,6	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
36/12 Go	50	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
37/12 Go	75	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
38/12 Go	71,6	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
40/12 Go	100	21,6	23,3	15	< 52,5 µg ú.l./ml
43/12 Go	43,3	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
59/12 Go	66,6	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml

Číslo izolátu a patogen	KARATHANE LC (dinocap) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	52,5	105*	210	
7/12 1 Px	68,3	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
9/12 2 Px	65	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
13/12 Px	65	11,6	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
17/12 Px	50	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
20/12 Px	86,6	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
32/12 Px	88,3	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
42/12 Px	96,6	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
49/12 Px	43,3	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
51/12 Px	58,3	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
53/12 Px	66,6	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
56/12 Px	85	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
62/12 Px	80	6,66	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml
67/12 Px	35	0	0	0	< 52,5 µg ú.l./ml

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 11a-b. Typ reakce izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Karathane LC (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	KARATHANE LC (dinocap) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	52,5	105*	210
1/12 1 Go	+	–	–	–
12/12 Go	+	–	–	–
25/12 Go	+	(–)	(–)	(–)
31/12 Go	+	–	–	–
33/12 Go	+	–	–	–
36/12 Go	+	–	–	–
37/12 Go	+	–	–	–
38/12 Go	+	–	–	–
40/12 Go	+	(–)	(–)	(–)
43/12 Go	+	–	–	–
59/12 Go	+	–	–	–

Číslo izolátu a patogen	KARATHANE LC (dinocap) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	52,5	105*	210
7/12 1 Px	+	–	–	–
9/12 2 Px	+	–	–	–
13/12 Px	+	(–)	–	–
17/12 Px	+	–	–	–
20/12 Px	+	–	–	–
32/12 Px	+	–	–	–
42/12 Px	+	–	–	–
49/12 Px	+	–	–	–
51/12 Px	+	–	–	–
53/12 Px	+	–	–	–
56/12 Px	+	–	–	–
62/12 Px	+	–	–	–
67/12 Px	+	–	–	–

– = senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(–) = tolerantní reakce (SN 10,1- 34,9 %);

+ = rezistentní reakce (SN ≥35 %);

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 12a-b. Celkový stupeň napadení (P) listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Ortiva (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	ORTIVA (azoxystrobin) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	250	500*	1000	
1/12 1 Go	100	0	0	0	< 250 µg ú.l./ml
12/12 Go	48,3	51,6	51,6	30	< 250 µg ú.l./ml
25/12 Go	100	100	100	100	>1000 µg ú.l./ml
31/12 Go	58,3	50	20	0	250 µg ú.l./ml
33/12 Go	100	100	100	100	>1000 µg ú.l./ml
36/12 Go	93,3	93,3	91,6	88,3	>1000 µg ú.l./ml
37/12 Go	100	100	100	81,6	>1000 µg ú.l./ml
38/12 Go	100	8,33	0	0	< 250 µg ú.l./ml
40/12 Go	100	8,33	0	0	< 250 µg ú.l./ml
43/12 Go	100	81,6	80	75	>1000 µg ú.l./ml
59/12 Go	76,6	0	0	0	< 250 µg ú.l./ml

Číslo izolátu a patogen	ORTIVA (azoxystrobin) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	250	500*	1000	
7/12 1 Px	100	100	100	100	>1000 µg ú.l./ml
9/12 2 Px	35	3,33	0	0	< 250 µg ú.l./ml
13/12 Px	88,3	96,6	90	83,3	>1000 µg ú.l./ml
17/12 Px	80	41,6	31,6	21,6	< 250 µg ú.l./ml
20/12 Px	45	41,6	40	0	< 250 µg ú.l./ml
32/12 Px	98,3	95	96,6	88,3	>1000 µg ú.l./ml
42/12 Px	100	100	100	100	>1000 µg ú.l./ml
49/12 Px	70	38,3	38,3	31,6	< 250 µg ú.l./ml
51/12 Px	81,6	3,33	0	0	< 250 µg ú.l./ml
53/12 Px	81,6	0	0	0	< 250 µg ú.l./ml
56/12 Px	100	100	100	100	>1000 µg ú.l./ml
62/12 Px	100	100	100	100	>1000 µg ú.l./ml
67/12 Px	70	0	0	0	< 250 µg ú.l./ml

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 13a-b. Typ reakce izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Ortiva (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	ORTIVA (azoxystrobin) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	250	500*	1000
1/12 1 Go	+	–	–	–
12/12 Go	+	+	+	(–)
25/12 Go	+	+	+	+
31/12 Go	+	+	(–)	–
33/12 Go	+	+	+	+
36/12 Go	+	+	+	+
37/12 Go	+	+	+	+
38/12 Go	+	–	–	–
40/12 Go	+	–	–	–
43/12 Go	+	+	+	+
59/12 Go	+	–	–	–

Číslo izolátu a patogen	ORTIVA (azoxystrobin) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	250	500*	1000
7/12 1 Px	+	+	+	+
9/12 2 Px	+	–	–	–
13/12 Px	+	+	+	+
17/12 Px	+	+	(–)	(–)
20/12 Px	+	+	+	–
32/12 Px	+	+	+	+
42/12 Px	+	+	+	+
49/12 Px	+	+	+	(–)
51/12 Px	+	–	–	–
53/12 Px	+	–	–	–
56/12 Px	+	+	+	+
62/12 Px	+	+	+	+
67/12 Px	+	–	–	–

– = senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(–) = tolerantní reakce (SN 10,1- 34,9 %);

+ = rezistentní reakce (SN ≥35 %);

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 14a-b. Celkový stupeň napadení (P) listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Topas 100 EC (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	TOPAS 100 EC (penconazol) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	15	30*	60	
1/12 1 Go	78,3	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
12/12 Go	41,6	1,66	0	0	< 15 µg ú.l./ml
25/12 Go	96,6	1,66	0	0	< 15 µg ú.l./ml
31/12 Go	50	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
33/12 Go	63,3	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
36/12 Go	55	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
37/12 Go	46,6	1,66	0	0	< 15 µg ú.l./ml
38/12 Go	43,3	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
40/12 Go	90	8,33	1,66	1,66	< 15 µg ú.l./ml
43/12 Go	43,3	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
59/12 Go	75	5	0	0	< 15 µg ú.l./ml

Číslo izolátu a patogen	TOPAS 100 EC (penconazol) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	15	30*	60	
7/12 1 Px	78,3	10	0	0	< 15 µg ú.l./ml
9/12 2 Px	66,6	5	0	0	< 15 µg ú.l./ml
13/12 Px	43,3	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
17/12 Px	56,6	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
20/12 Px	60	1,66	0	0	< 15 µg ú.l./ml
32/12 Px	46,6	5	0	0	< 15 µg ú.l./ml
42/12 Px	55	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
49/12 Px	58,3	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
51/12 Px	58,3	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
53/12 Px	66,6	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
56/12 Px	71,6	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
62/12 Px	76,6	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml
67/12 Px	35,3	0	0	0	< 15 µg ú.l./ml

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 15a-b. Typ reakce izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Topas 100 EC (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	TOPAS 100 EC (penconazol) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	15	30*	60
1/12 1 Go	+	–	–	–
12/12 Go	+	–	–	–
25/12 Go	+	–	–	–
31/12 Go	+	–	–	–
33/12 Go	+	–	–	–
36/12 Go	+	–	–	–
37/12 Go	+	–	–	–
38/12 Go	+	–	–	–
40/12 Go	+	–	–	–
43/12 Go	+	–	–	–
59/12 Go	+	–	–	–

Číslo izolátu a patogen	TOPAS 100 EC (penconazol) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	15	30*	60
7/12 1 Px	+	–	–	–
9/12 2 Px	+	–	–	–
13/12 Px	+	–	–	–
17/12 Px	+	–	–	–
20/12 Px	+	–	–	–
32/12 Px	+	–	–	–
42/12 Px	+	–	–	–
49/12 Px	+	–	–	–
51/12 Px	+	–	–	–
53/12 Px	+	–	–	–
56/12 Px	+	–	–	–
62/12 Px	+	–	–	–
67/12 Px	+	–	–	–

– = senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(–) = tolerantní reakce (SN 10,1- 34,9 %);

+ = rezistentní reakce (SN ≥35 %);

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 16a-b. Celkový stupeň napadení (P) listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Bumper 25 EC (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	BUMPER 25 EC (propiconazol) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	197,54	395,08*	790,16	
1/12 1 Go	53,3	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
12/12 Go	65	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
25/12 Go	75	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
31/12 Go	53,3	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
33/12 Go	81,6	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
36/12 Go	78,3	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
37/12 Go	61,6	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
38/12 Go	41,6	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
40/12 Go	100	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
43/12 Go	48,3	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
59/12 Go	56,6	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml

Číslo izolátu a patogen	BUMPER 25 EC (propiconazol) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K	197,54	395,08*	790,16	
7/12 1 Px	68,3	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
9/12 2 Px	81,6	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
13/12 Px	41,6	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
17/12 Px	95	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
20/12 Px	61,6	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
32/12 Px	70	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
42/12 Px	76,6	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
49/12 Px	86,6	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
51/12 Px	85	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
53/12 Px	75	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
56/12 Px	68,3	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
62/12 Px	83,3	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml
67/12 Px	78,3	0	0	0	< 197,54 µg ú.l./ml

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 17a-b. Typ reakce izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Bumper 25 EC (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	BUMPER 25 EC (propiconazol) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	197,54	395,08*	790,16
1/12 1 Go	+	–	–	–
12/12 Go	+	–	–	–
25/12 Go	+	–	–	–
31/12 Go	+	–	–	–
33/12 Go	+	–	–	–
36/12 Go	+	–	–	–
37/12 Go	+	–	–	–
38/12 Go	+	–	–	–
40/12 Go	+	–	–	–
43/12 Go	+	–	–	–
59/12 Go	+	–	–	–

Číslo izolátu a patogen	BUMPER 25 EC (propiconazol) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K	197,54	395,08*	790,16
7/12 1 Px	+	–	–	–
9/12 2 Px	+	–	–	–
13/12 Px	+	–	–	–
17/12 Px	+	–	–	–
20/12 Px	+	–	–	–
32/12 Px	+	–	–	–
42/12 Px	+	–	–	–
49/12 Px	+	–	–	–
51/12 Px	+	–	–	–
53/12 Px	+	–	–	–
56/12 Px	+	–	–	–
62/12 Px	+	–	–	–
67/12 Px	+	–	–	–

– = senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(–) = tolerantní reakce (SN 10,1- 34,9 %);

+ = rezistentní reakce (SN ≥35 %);

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 18a-b. Celkový stupeň napadení (P) listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Corbel (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	CORBEL (fenpropimorf) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K**	1500	3000*	6000	
1/12 1 Go	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
12/12 Go	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
25/12 Go	96	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
31/12 Go	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
33/12 Go	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
36/12 Go	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
37/12 Go	92	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
38/12 Go	98,5	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
40/12 Go	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
43/12 Go	95,5	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
59/12 Go	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml

Číslo izolátu a patogen	CORBEL (fenpropimorf) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / stupeň napadení)				ED50
	K**	1500	3000*	6000	
7/12 1 Px	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
9/12 2 Px	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
13/12 Px	92	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
17/12 Px	95,5	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
20/12 Px	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
32/12 Px	98,5	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
42/12 Px	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
49/12 Px	95,5	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
51/12 Px	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
53/12 Px	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
56/12 Px	90,5	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
62/12 Px	100	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml
67/12 Px	98,5	0	0	0	< 1500 µg ú.l./ml

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

** kontrola umístěna v samostatném boxu

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

Tabulka 19a-b. Typ reakce izolátů *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii* z roku 2012 ošetřených přípravkem Corbel (14. den po inokulaci).

Číslo izolátu a patogen	CORBEL (fenpropimorf) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K**	1500	3000*	6000
1/12 1 Go	+	–	–	–
12/12 Go	+	–	–	–
25/12 Go	+	–	–	–
31/12 Go	+	–	–	–
33/12 Go	+	–	–	–
36/12 Go	+	–	–	–
37/12 Go	+	–	–	–
38/12 Go	+	–	–	–
40/12 Go	+	–	–	–
43/12 Go	+	–	–	–
59/12 Go	+	–	–	–

Číslo izolátu a patogen	CORBEL (fenpropimorf) (koncentrace účinné látky (µg/ml) / typ reakce)			
	K**	1500	3000*	6000
7/12 1 Px	+	–	–	–
9/12 2 Px	+	–	–	–
13/12 Px	+	–	–	–
17/12 Px	+	–	–	–
20/12 Px	+	–	–	–
32/12 Px	+	–	–	–
42/12 Px	+	–	–	–
49/12 Px	+	–	–	–
51/12 Px	+	–	–	–
53/12 Px	+	–	–	–
56/12 Px	+	–	–	–
62/12 Px	+	–	–	–
67/12 Px	+	–	–	–

– = senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(–) = tolerantní reakce (SN 10,1- 34,9 %);

+ = rezistentní reakce (SN ≥35 %);

* koncentrace doporučená výrobcem (vyjádřená v µg ú.l./ml)

** kontrola umístěna v samostatném boxu

K – kontrola neošetřená fungicidem

Go – *Golovinomyces orontii*

Px – *Podosphaera xanthii*

6. Závěr

Bakalářská práce byla zaměřena na zjištění míry rezistence českých populací padlí dýňovitých vůči nově vybraným skupinám fungicidů. Provedená experimentální studie stavu rezistence českých populací vůči vybraným fungicidům přinesla výsledky screeningu 24 izolátů dvou druhů padlí dýňovitých (*Golovinomyces orontii*, *Podosphaera xanthii*). Během celého výzkumu byl každý z izolátů minimálně jedenkrát otestován vůči každému z vybraných 6 typů fungicidů. Celkem se tudíž provedlo přes 144 testování a měření. V návaznosti na předchozí studium problematiky rezistence u českých populací padlí dýňovitých byly vybrány fungicidní přípravky: Karathane LC (ú.l. dinocap) a Ortiva (ú.l. azoxystrobin). Jako nové přípravky byly vybrány: Atlas 500 CS (ú.l. quinoxyfen), Topas 100 EC (ú.l. penconazole), Bumper 25 EC (ú.l. propiconazole) a Corbel (ú.l. fenpropimorph). Všechny tyto fungicidy s danou účinnou látkou, se testovaly ve třech koncentracích (střední – doporučená výrobcem) pomocí modifikované metody listových disků (Anonymus, 1982; Sedláková a Lebeda, 2004a,b 2006, 2008).

Přípravek **Atlas 500 CS** (úč.l. **quinoxyfen**) vykazoval v roce 2012 sníženou účinnost. Zatímco 50% všech otestovaných izolátů (30% Go, 70% Px) bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku, tak téměř 30% zkoumané populace vykazovalo nízkou sporulaci i v nejsilnějších koncentracích přípravku. Hodnota ED₅₀ u více jak 83% byla nižší než nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku, tedy < 165 µg ú.l./ml. Fungicid vykazuje vysokou účinnost vůči Px izolátům a výrazně sníženou u izolátů Go. Z celkového hlediska se jedná o fungicid citlivý/tolerantní v české populaci padlí dýňovitých v roce 2012.

Přípravek **Bumper 25 EC** (úč.l. **propiconazol**) byl v roce 2012 100% účinný. U žádného z testovaných izolátů u obou patogenů nebyla pozorována sporulace, ani slabá na žádné z testovaných koncentrací. Hodnota ED₅₀ byla pro všechny testované izoláty nižší než nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku, tedy < 197,54 µg ú.l./ml. Z výsledků tedy plyne vysoká citlivost českých populací padlí dýňovitých vůči tomuto přípravku.

Přípravek **Karathane LC** (úč.l. **dinocap**) lze v roce 2012 považovat za téměř 100% účinný. Téměř 80% všech odebraných izolátů nevykazuje žádné procento sporulace. Pouze u několika testovaných izolátů obou patogenů se vyskytla slabá sporulace. Hodnota ED₅₀ byla pro všechny testované izoláty nižší než 52,5 µg ú.l./ml, tedy nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku. Experimentální výsledky tedy prokazují vysokou účinnost tohoto přípravku vůči českým populacím padlí dýňovitých v roce 2012.

Přípravek **Ortiva** (úč.l. **azoxystrobin**) vykazoval v roce 2012 sníženou účinnost. Zatímco 32% všech testovaných izolátů bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku, 46% testované populace vykazovalo naopak rezistentní reakci na všech koncentracích. Hodnota ED_{50} rozdělila testovanou populaci padlí dýňovitých do dvou zcela odlišných skupin ($ED_{50} < 250 \mu\text{g } \dot{\text{u}}.\text{l./ml}$ a $ED_{50} > 1000 \mu\text{g } \dot{\text{u}}.\text{l./ml}$). Izoláty, které vykazovaly rezistenci na všech testovaných koncentracích, pocházely ze vzorků z různých lokalit ČR, nelze tedy přímo generalizovat oblast s výskytem těchto kmenů padlí dýňovitých.

Přípravek **Topas 100 EC** (úč.l. **penconazol**) lze v roce 2012 považovat za 100% účinný. Pouze u několika testovaných izolátů obou patogenů se vyskytla slabá sporulace na nejnižších testovaných koncentracích. Hodnota ED_{50} byla pro všechny testované izoláty nižší než nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku, tedy $< 15 \mu\text{g } \dot{\text{u}}.\text{l./ml}$. Výsledky tedy jasně ukázaly vysokou účinnost tohoto přípravku v české populaci padlí dýňovitých.

Přípravek **Corbel** (úč.l. **fenpropimorph**) byl v roce 2012 100% účinný. U žádného z testovaných izolátů u obou patogenů nebyla pozorována sporulace. U tohoto přípravku bylo navíc zjištěno, že se na listových discích neošetřených fungicidem projevil fyto toxický efekt tohoto fungicidu. Z tohoto důvodu byla vytvořena ještě jedna kontrola, která byla umístěna do zvláštního samostatného boxu k zajištění správnosti při testování. Hodnota ED_{50} byla pro všechny testované izoláty nižší než nejnižší testovaná koncentrace tohoto přípravku, tedy $< 1500 \mu\text{g } \dot{\text{u}}.\text{l./ml}$. Experimentální výsledky tedy prokazují vysokou účinnost tohoto přípravku vůči českým populacím padlí dýňovitých v roce 2012.

Získané experimentální výsledky v této bakalářské práci by mohly přispět k dalšímu studiu rezistence populací padlí dýňovitých vůči fungicidům v České republice.

7. Použitá literatura

- ANDERSON, R.C., MAJAK, W., RASSMUSSEN, M.A., CALLAWAY, T.R., BEIER, R.C., NISBET, D.J., ALLISON, M.J. (2005) *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2344. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- ANONYMOUS (1982): FAO Method No. 30. FAO. *Plant Protection Bulletin*, vol. 30: 2.
- BARDIN, M.; NICOT, P. C.; NORMAND, P.; LEMAIRE, J. M. (1997): Virulence variation and DNA polymorphism in *Sphaerotheca fuliginea*, causal agent of powdery mildew of cucurbits. *European Journal of Plant Pathology*. 103: 545-554.
- BEALE, R.E., PHILLION, D.P., HEADRICK, J.M., O'REILLY, P., COX, J. (1998) *Brighton Crop Prot. Conf. – Pests Dis.*, 2, 343. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- BELLÓN, D., LÓPEZ-RUIZ, F.J., SÁNCHEZ-PULIDO, J.M., JOUSSEAUME, C., PÉREZ-GARCÍA, A., TORÉS, J.A. (2010): Powdery Mildew of Cucurbits: Fungicide Resistance in Pathogen Populations of Southern Spain. In: Dehne, H.W., Deising, H.B., Gisi, U., Kuck, K.H., Russell, P.E., Lyr, H. (Eds.): Modern Fungicides and Antifungal Compounds VI. *Spectrum Phytomedizin*, kap. 44: 285-288.
- BELLÓN-GÓMEZ, D., VELA-CORCÍA, D., PÉREZ-GARCÍA, A., TORÉS, J.A. (2014): Sensitivity of *Podosphaera xanthii* populations to anti-powdery-mildew fungicides in Spain. *Pest Management Science*, 11.
- BLATTER, R.H.E., BROWN, J.K.M., WOLFE, M.S. (1998): Genetic control of the resistance of *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* to five triazole fungicides. *Plant Pathology*, 47: 570-579.
- BRAUN, U., COOK, R.T.A. (2012): Taxonomic manual of the *Erysiphales* (Powdery Mildews). *CBS Biodiversity*, Series 11: 1-707.
- BRENT, K.J. (1985): Fungicides for Crop Protection: 100 Years of Progress. *British Crop Protection Council (BCPC)*, 31: 11-22. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 14, pp. 539-557.
- BROWN, M.K.J. (2002): Comparative genetics of avirulence and fungicide resistance in the powdery mildew fungi. In: Bélanger, R.R., Bushnell, R.W., Dik, A.J., Carver, W.L.T. (Eds.): The Powdery Mildews: A Comprehensive Treatise. *APS Press, St. Paul, MN, USA*, pp. 56-65.
- BURDEN, R.S., COOKE, D.T., CARTER, G.A. (1989) *Phytochemistry*, 28, 1791-1804. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- CANEDO, L.M., FERNANDEZ-PUENTES, J.L., BAZ, J.P. (2000) *J. Antibiot.*, 53, 479. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- COHEN, R., BURGER, Y. & KATZIR, N. (2004): Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. *Phytoparasitica*, 32: 174-183.
- COLES, C.J., EDMONDSON, D.E., SINGER, T.P. (1979) *J. Biol. Chem.*, 254, 5161. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection

- Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- COLSON, A.M. (1993) *J. Bioenerg. Biomembr.*, 25, 211. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- CORRAN, A. (2012): Fungicides Acting on Signal Transduction; Mode of Action. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.) (2012): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 17.1, pp. 715-721.
- CROFTS, A.R. (2004) *Annu. Rev. Physiol.*, 66, 689. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- CUNARRO, J., WEINER, M.W. (1973) *Nature*, 245, 36-37. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- CUNARRO, J., WEINER, M.W. (1975) *Biochim. Biophys. Acta*, 387, 234-240. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- DAMGAARD, C., NIELSEN, B.J. (1999): The effect of fungal density on fungicide dose-response curves in barley powdery mildew (*Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*). *Plant Pathology*, 48: 402-407.
- DÉLYE, CH., LAIGRET, F., CORIO-COSTET, M.-F. (1997): New Tools for Studying Epidemiology and Resistance of Grape Powdery Mildew to DMI Fungicides. *Pesticide Science*, 51: 309-314.
- DEVENISH, R.J., PRESCOTT, M., BOYLE, G.M., NAGLEY, P. (2000) *J. Bioenerg. Biomembr.*, 32, 507. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- DE HAAN, E.J., CHARLES, R., (1969) *Biochim. Biophys. Acta*, 180, 417-419. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- DE WAARD, M.A., KIPP, E.M.C., HORN, N.M., VAN NISTELROOY, J.G.M. (1986): Variation in sensitivity to fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis in wheat powdery mildew. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 92 (1): 21-32.
- DJAFARZADEH, R., KERSCHER, S., ZWICKER, K., RADERMACHER, M., LINDAHL, M., SCHAGGER, H., BRANDT, U. (2000) *Biochim. Biophys. Acta*, 1459, 230. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- DOYLE, A. (2004): Evolution of fungicide resistance. *Irish Farmers Journal*, Crop protection, 17 April 2004: 12-14.
- DOYLE, A. (2004): Towards improved variety resistance. *Irish Farmers Journal*, Crop protection, 17 April 2004: 15-17.
- EARLEY, F. (2012): Fungicides Acting on Oxidative Phosphorylation; The Biochemistry of Oxidative Phosphorylation: A Multiplicity of Targets for Crop Protection Chemistry. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.) (2012): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- EFREMOV, R.G., BARADARAN, R., SAZANOV, L.A. (2010) *Nature*, 465, 441. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection*

- Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- ESCHER, B.I., HUNZIKER, R.W., SCHWARZENBACH, R.P. (2001) *Environ. Sci. Technol.*, 35, 3905-3914. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- ESSER, L., QUINN, B., LI, Y.-F., ZHANG, M., ELBERRY, M., YU, L., YU, C.-A., XIA, D. (2004) *J. Mol. Biol.*, 341, 281. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D., PÉREZ-GARCÍA, A., LÓPEZ-RUIZ, F., ROMERO, D., DE VICENTE, A., TORÉS, J.A. (2006): Occurrence and distribution of resistance to API fungicides in populations of *Podosphaera fusca* in south central Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 115: 215-222.
- FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D., TORÉS, J.A., DE VICENTE, A., PÉREZ-GARCÍA, A. (2008): Field resistance to QoI fungicides in *Podosphaera fusca* is not supported by typical mutations in the mitochondrial cytochrome b gene. *Pest Management Science*, 64: 694-702.
- FINKELSTEIN, A. (1970) *Biochim. Biophys. Acta*, 205, 1-6. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- FRAAIJE, B.A., BUTTERS, J.A., COELHO, J.M., JONES, D.R., HOLLOMON, D.W. (2002): Following the dynamics of strobilurin resistance in *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* using quantitative allele-specific real-time PCR measurements with the fluorescent dye SYBR Green I. *Plant Pathology*, 51: 45-54.
- FRAAIJE, B.A., COOLS, H.J. (2006): Methods to detect fungicide resistance: from broth dilution to real-time PCR. *Aspects of Applied Biology*, 78: 11-15.
- FRAC (2006) QoI Fungicides Working Group. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- FRIEDRICH, T., HEEK, P., LEIF, H., OHNISHI, T., FORCHE, E., KUNZE, B., JANSEN, R., TROWITZSCH-KIENAST, W., HOLFE, G., REICHENBACH, H., WEISS, H. (1994) *European Journal of Biochemistry*, 219, 691. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- GALKIN, A.S., GRIVENNIKOVA, V.G., VINOGRADOV, A.D. (1999) *FEBS Lett.*, 451, 157. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- GIBBONS, C., MONTGOMERY, M.G., LESLIE, A.G., WALKER, J.E. (2000) *Nat. Struct. Biol.*, 7, 1055. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- GISI, U., SIEROTZKI, H. (2008): Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. *European Journal of Plant Pathology* 122: 157-167.
- GUENEBAUT, V., SCHLITT, A., WEISS, H., LEONARD, K., FRIEDRICH, T. (1998) *J. Mol. Biol.*, 276, 105. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.

- GUTIERREZ-CIRLOS, E.B., MERBITZ-ZAHRADNIK, T., TRUMPOWER, B.L. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 8708. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- HADAR, A. (2005) Patent WO 2005/022,999. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- HALESTRAP, A.P. (2009) *J. Moll. Cell. Cardiol.*, 46, 821-831. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- HEINRICH, H., AZEVEDO, J.E., WERNER, S. (1992) *Biochemistry*, 31, 11420. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- HOLLOMON, D.W., WHEELER, I.E. (2002): Controlling powdery mildews with chemistry. In: Bélanger, R.R., Bushnell, R.W., Dik, A.J., Carver, W.L.T. (Eds.): *The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise*. APS Press, St. Paul, MN, USA, pp. 249-255.
- HOLLOMON, D.W., WHEELER, I., DIXON, K., LONGHURST, CH., SKYLAKAKIS, G. (1997): Defining the Resistance Risk of the New Powdery Mildew Fungicide Quinoxifen. *Pesticide Science*, 51: 347-351.
- HUNTE, C., ZICKERMANN, V., BRANDT, U. (2010) *Science*, 329, 448. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- ISHII, H. (2004): Studies on fungicide resistance in phytopathogenic fungi. *Journal of General Plant Pathology*, 70: 379-381.
- ISHII, H., FRAAJE, B.A., SUGIYAMA, T., NOGUCHI, K., NISHIMURA, K., TAKEDA, T., AMANO, T. & HOLLOMON, D.W. (2001): Occurrence and molecular characterization of strobilurin resistance in cucumber powdery mildew and downy mildew. *Phytopathology*, 91 (12): 1166-1171.
- JAHN, M., MUNGER, H.M. & MCGREIGHT, J.D. (2002): Breeding cucurbit crops for powdery mildew resistance. In: Bélanger, R. R.; Bushnell, W. R.; Dik, A. J.; Carver, L. W. (Eds): *The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise*. APS Press, St. Paul, MN, USA, pp. 239-248.
- JARVIS, W. R.; GUBLER, W. D.; GROVE, G. G. (2002): Epidemiology of powdery mildews in agricultural pathosystems. In: Bélanger, R. R.; Bushnell, W. R.; Dik, A. J.; Carver, L. W. (Eds), *The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise*. APS Press, St. Paul, MN, pp. 169-199.
- JERÁBKOVÁ, H. (2010): Rezistence k fungicidům v populaci padlí tykvovitých v České republice. Diplomová práce (Mgr.). PřF UP, Olomouc, 84 pp.
- KALRA, A., PARAMESWARAN, T.N., RAVINDRA, N.S., RAO, M.G., KUMAR, S. (2000): Effects of planting date and dinocap applications on the control of powdery mildew and yields of seed and seed oil in coriander. *Journal of Agricultural Science*, 135: 193-197.
- KEINATH, P.A. (2015): Efficacy of fungicides against powdery mildew on watermelon caused by *Podosphaera xanthii*. *Crop Protection*, 75: 70-76.
- KIRST, H.A., LARSEN, S.H., PASCHAL, J.W., OCCOLOWITZ, J.L., CREEMER, L.C., STEINER, J.L., LOBKOVSKY, E., CLARDY, J. (1995) *J. Antibiot.*, 48, 990. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.

- KNAUF-BEITER, G., ZEUN, R. (2012): Fungicides Acting on Signal Transduction; Chemistry and Biology of Fludioxonil, Fenpiclonil, and Quinoxifen. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.) (2012): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 17.2, pp. 721-737.
- KORNBLATT, J.A. (1998) *Biophys. J.*, 75, 3127-3134. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- KRÄMER, W., SCHIRMER, U., JESCHKE, P., WITSCHHEL, M. (Ed.) (2012): Modern Crop Protection Compounds, Volume 2: Fungicides; Second, Revised and Enlarged Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, pp. 535-928.
- KŘISTKOVÁ, 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.
- KŘÍŽOVÁ, P., LOKAJ, Z. (2009): Taháky z fytofarmakologie – mechanismus fungicidních účinných látek III. *Rostlinolékař*, 1: 29-32.
- KŘÍŽOVÁ, P., LOKAJ, Z. (2009): Taháky z fytofarmakologie – mechanismus fungicidních účinných látek IV. *Rostlinolékař*, 2: 20-23.
- KUNZ, S., LUTZ, B., DEISING, H., MENDGEN, K. (1998): Assessment of Sensitivities to Anilinopyrimidine- and Strobilurin-fungicides in Populations of the Apple Scab Fungus *Venturia inaequalis*. *J. Phytopathology*, 146: 231-238.
- KUCK, K.H. (2002) in *Modern Fungicides and Antifungal Compounds III* (eds Dehne, H.W., Gisi, U., Kuck, K.H., Russel, P.E., Lyr, H.), Agroconcept, Bonn, pp. 21-28. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- KUCK, K.-H., LEADBEATER, A., GISI, U. (2012). FRAC Mode of Action Classification and Resistance Risk of Fungicides. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.) (2012): Modern Crop Protection Compounds, Volume 2: Fungicides; Second, Revised and Enlarged Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 14, pp. 539-557.
- KUCK, K.-H., RUSSELL, P.E. (2006): FRAC: Combined resistance risk assessment. *Aspects of Applied Biology*, 78: 3-10.
- KUCK, K.-H., STENZEL, K., VORS, J.-P. (2012): Sterol Biosynthesis Inhibitors. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.) (2012): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- LÁNSKÝ, M., KLOUTVOROVÁ, J. (2005): Resistence houby *Venturia inaequalis* Cke. Aderh. vůči strobilurinovým a DMI fungicidům při ochraně jabloní proti strupovitosti. *Rostlinolékař*, 4: 20-22.
- LEBEDA, A. (1984): Screening of wild Cucumis species for resistance to cucumber powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum* and *Sphaerotheca fuliginea*). *Scientia Horticulturae*, 24: 241-249.
- LEBEDA, A. (1986): Padlí okurkové. *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea* (Cucumber powdery mildew. *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea*). In: LEBEDA, A. (Ed.): Methods of Testing Vegetable Crops for Resistance to Plant Pathogens, VHI Sempra, *Research Institute of Vegetable crops*, Olomouc, p. 87-91.
- LEBEDA, A., MCGRATH, M.T. & SEDLÁKOVÁ, B. (2010b): Fungicide Resistance in cucurbit powdery mildew fungi. In: Carisse, O. (Ed.): *Fungicides*. InTech Publishers, Vienna, Austria, pp. 221-246.
- LEBEDA, A., SEDLÁKOVÁ, B. (2004): Druhové spektrum, patogenní variabilita a rezistence vůči fungicidům u padlí tykvovitých. *Rostlinolékař*, 6: 15-19.
- LEBEDA, A. & SEDLÁKOVÁ, B. (2005): Ochrana okurek a dalších tykvovitých zelenin vůči padlí tykvovitých /Proceedings/ [Protection of cucumbers and other cucurbitaceous UP

- v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra botaniky 2014 105 vegetables to cucurbit powdery mildew /Proceedings/. In: F. KOCOUREK et al. (Eds.): Metodika pro integrovaný systém ochrany polní zeleniny vůči škodlivým organismům (Methods for integrated system of field vegetables protection to dangerous organisms). Zelinářská unie Čech a Moravy, Olomouc [Vegetables Grower Union of Bohemia and Moravia, Olomouc, Czech Republic]. pp. 39-53.
- LEBEDA, A. & SEDLÁKOVÁ, B. (2006): Identification and survey of cucurbit powdery mildew races in Czech populations. In: G.J. Holmes (Ed.): *Cucurbitaceae 2006*, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA, pp. 444-452.
- LEBEDA, A., SEDLÁKOVÁ, B. (2011): Fungicide resistance in Czech cucurbit mildew populations. *Phytopathology* 101 (6), S99-S99.
- LEBEDA, A., SEDLÁKOVÁ, B., KRÍSTKOVÁ, 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: Sari, N., Solmaz, I., Aras, V. (Eds.): *Cucurbitaceae 2012, Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae*. October 15-18th, 2012, Antalya, Turkey. Cukurova University, Adana, Turkey, 2012, pp. 172-180. (ISBN:978-605-63297-0-8)
- LEBEDA, A., SEDLÁKOVÁ, B., PEJCHAR, M. & JEŘÁBKOVÁ, H. (2010c): Variation for fungicide resistance among cucurbit powdery mildew populations in the Czech Republic. *Acta Horticulturae*, 871, ISHS 2010: 465-475.
- LÓPEZ-RUIZ, F.J., PÉREZ-GARCÍA, A., FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D., ROMERO, D., GARCÍA, E., DE VICENTE, A., BROWN, J.K.M., TORÉS, J.A. (2010): Sensitivities to DMI fungicides in populations of *Podosphaera fusca* in south central Spain. *Pest Management Science*, 66 (7): 801-808.
- LÜRSEN, K. (1988) in *Sterol Biosynthesis Inhibitors: Pharmaceutical and Agrochemical Aspects* (eds. Berg, D., Plempel, M.), Wiley-VCH Verlag GmbH, Cambridge, New York, Basel and Horwood, Chichester, pp. 305-320. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- MARKOGLU, A.N., MALANDRAKIS, A.A., VITORATOS, A.G., ZIOGAS, B.N. (2006): Characterization of laboratory mutants of *Botrytis cinerea* resistant to QoI fungicides. *European Journal of Plant Pathology*, 115: 149-162.
- MCGRATH, M.T. (2001): Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and Challenges. *Plant Disease*, 85: 236-245.
- MCGRATH, M.T. (2006): Occurrence of fungicide resistance in *Podosphaera xanthii* and impact on controlling cucurbit powdery mildew in New York. In: G.J. Holmes (Ed.): *Cucurbitaceae 2006*, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA, pp. 473-482.
- MCGRATH, M.T. (2010): Managing cucurbit powdery mildew in 2010. *Department of Plant Pathology and Plant-Microbe Biology*.
- MCGRATH, M.T. (2012): Challenge of Fungicide Resistance and Anti-Resistance Strategies in Managing Vegetable Diseases in the USA. In: Thind, T.S. (Ed.): *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management*. CAB International, 191-207.
- MERCER, E.I. (1984) *Pestic. Sci.*, 15, 33-155. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- MITCHELL, P. (1961) *Biochem. J.*, 81, 24P. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- MONDAL, S.N., BHATIA, A., SHILTS, T., TIMMER, L.W. (2005): Baseline

- Sensitivities of Fungal Pathogens of Fruit and Foliage of Citrus to Azoxystrobin, Pyraclostrobin, and Fenbuconazole. *Plant Disease* 89: 1186-1194.
- MULKIDJANIAN, A.Y. (2005) *Biochim. Biophys. Acta*, 1709, 5. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, kap. 15.1, pp. 559-584.
- NAKAGAWA, Y., MOORE, G. (1999) *Biochem. Pharmacol.*, 58, 811-816. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, kap. 15.4, pp. 645-670.
- O'HARA, R.B., NIELSEN, B.J., ØSTERGÅRD, H. (2000): The effect of fungicide dose on the composition of laboratory populations of barely powdery mildew. *Plant Pathology*, 49: 558-566.
- OSYCZKA, A., MOSER, C.C., DUTTON, P.L. (2005) *Trends Biochem. Sci.*, 30, 176. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, kap. 15.1, pp. 559-584.
- PASANEN, A.L., YLI-PIETILA, K., PASANEN, P., KALLIOKOSKI, P., TARHANEN, J. (1999) *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 138-142. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, kap. 19, pp. 761-805.
- PAULÍK, R. (2011): Porovnání účinnosti vybraných fungicidů vůči padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*) v České republice. Bakalářská práce (Bc.). PřF UP Olomouc, 82. pp
- PAULÍK, R. (2014): Výskyt kmenů s rezistencí vůči fungicidům v populacích padlí tykvovitých v České republice. Diplomová práce (Mgr.). PřF UP Olomouc, 123. pp
- PROFFER, T.J., BERARDI, R., MA, Z.H., NUGENT, J.E., EHRET, G.R., MCMANUS, P.S., JONES, A.L., SUNDIN, G.W. (2006): Occurrence, distribution, and polymerase chain reaction-based detection of resistance to sterol demethylation inhibitor fungicides in populations of *Blumeriella jaapii* in Michigan. *Phytopathology*, 96 (7): 709-717.
- PROKOP, M. (2010): Výskyt rezistence houbových patogenů vůči fungicidním účinným látkám, mechanismy, hodnocení rizika vzniku a ovlivňující faktory. *Rostlinolékař*, 5: 30-33.
- PROKOP, M. (2010): Opatření, jak se vyhnout rezistenci houbových patogenů vůči fungicidním účinným látkám. *Rostlinolékař*, 6: 35-36.
- PROKOP, M. (2011): Strategie zvládnutí rizika rezistence houbových patogenů u nejdůležitějších fungicidních skupin. *Rostlinolékař*, 1: 19-22.
- REINMANN, S., DEISING, H.B. (2005): Inhibition of Efflux Transporter-Mediated Fungicide Resistance in *Pyrenophora tritici-repentis* by a Derivative of 4'-Hydroxyflavone and Enhancement of Fungicide Activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (6): 3269-3275.
- RICH, P.R. (2004) *Biochim. Biophys. Acta*, 1658, 165. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, kap. 15.1, pp. 559-584.
- ROTTENBERG, H., KOEPPE, R.E. II (1989) *Biochemistry*, 28, 4355-4360. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, kap. 15.4, pp. 645-670.
- ROTTENBERG, H. (1990) *Biochim. Biophys. Acta*, 1018, 1-17. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, kap. 15.4, pp. 645-670.

- RUCKENSTUHL, C., EIDENBERGER, A., LANG, S., TURNOWSKY, F., (2005) *Biochem. Soc. Trans.*, 33, 1197-1201. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- SALOMON, A.R., VOEHRINGER, D.W., HERZENBERG, L.A., KHOSLA, C. (2001) *Chem. Biol.*, 8, 71. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- SAUTER, H. (2012): Fungicides Acting on Oxidative Phosphorylation; The Biochemistry of Oxidative Phosphorylation: Strobilurins and Other Complex III Inhibitors. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.) (2012): Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.2, pp. 584-627.
- SEDLÁKOVÁ, B. & LEBEDA, A. (2004a): Resistance to fungicides in cucurbit powdery mildew populations in the Czech Republic. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 7: 269-271.
- SEDLÁKOVÁ, B. & LEBEDA, A. (2004b): Variation in sensitivity to fungicides in Czech populations of cucurbit powdery mildews. In: Lebeda, A., Paris, H.S. (Eds.): Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proceedings of *Cucurbitaceae* 2004, 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding, Palacký University in Olomouc, July 12-17, 2004, Palacký University, Olomouc, Czech Republic pp. 289-294.
- SEDLÁKOVÁ, B. & LEBEDA, A. (2006). Survey of fungicide resistance in cucurbit powdery mildews populations in the Czech Republic. In: G. HERDA J. MAZÁKOVÁ & M. ZOUHAR (Eds.): Proceedings of XVII. Czech and Slovak Plant Protection Conference, Prague, September 12-14, 2006, Czech University of Agriculture, Prague, Czech Republic, pp. 346-350.
- SEDLÁKOVÁ, B., LEBEDA, A. (2008): Fungicide resistance in Czech populations of cucurbit powdery mildews. *Phytoparasitica*, 36 (3): 272-289.
- SEDLÁKOVÁ, B. & LEBEDA, A. (2010): Temporal population dynamics of cucurbit powdery mildews (*Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*) in the Czech Republic. In: Thies, J.A., Kousik, S., Levi, A., (Eds.): Proceedings of Cucurbitaceae 2010, Charleston, SC, USA, November 14-18, 2010, pp. 244-247.
- SEDLÁKOVÁ, B., LEBEDA, A., JEŘÁBKOVÁ, H., PAULÍK, R., VAJDOVÁ, M. (2012a): Rezistence k fenarimolu, dinocapu, benomyly, thiophanate-methylu a azoxystrobinu v populacích padlí tykvovitých v České republice (Resistance to fenarimol, dinocap, benomyl, thiophanate-methyl and azoxystrobin in cucurbit powdery mildew populations in the Czech Republic). In: Bokor, P., Tóthová, M. (Eds.): Zborník Abstraktov z XIX. Slovenskej a českej konferencie o ochrane rastlín (Proceedings of Abstracts of the XIXth Slovak and Czech Plant Protection Conference), Nitra, September 5 – 7, 2012. Katedra ochrany rastlín, Slovenska poľnohospodárska univerzita v Nitre (Department of Plant Protection, Slovak University of Agriculture), Slovak Republic, 2012, pp. 44-45.
- SEDLÁKOVÁ, B., LEBEDA, A., JEŘÁBKOVÁ, H., PAULÍK, R., VAJDOVÁ, M. (2012b): Resistance to fenarimol, dinocap, benomyl, thiophanate-methyl and azoxystrobin in cucurbit powdery mildew populations in the Czech Republic (Rezistence k fenarimolu, UP v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra botaniky 2014 108 dinocapu, benomyly, thiophanate-methylu a azoxystrobinu v populacích padlí tykvovitých v České republice). *Acta fytotechnica et zootechnica* 15 (Special Number), 46-49.
- SEDLÁKOVÁ, B., LEBEDA, A., PEJCHAR, M. & JEŘÁBKOVÁ, H. (2009): Výskyt kmenů rezistencí vůči fungicidům v české populaci padlí tykvovitých (Occurrence of the strains with resistance to fungicides in Czech cucurbit powdery mildew populations). In: I. Šafránková & H. Šefrová (Eds.): Proceeding of Abstracts of 18th Czech and Slovak Plant Protection Conference. MZU Brno, 2.-4.září 2009, p. 119.

- SHINOHARA, Y., TERADA, H. (2000) in *Membrane Structure in Disease and Drug Therapy*, Chapter 7 (ed. G. Zimmer), Marcel Dekker, New York., pp. 107-126. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- SHINOHARA, Y., YAMAMOTO, T., TERADA, H. (2003) *Maku*, 28, 271-277. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- SCHEPERS, H.T.A.M. (1984): Persistence of resistance to fungicides in *Sphaerotheca fuliginea*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 90 (4): 165-171.
- SCHULER, F., CASIDA, J.E. (2001) *Biochim. Biophys. Acta*, 1506, 79. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- SIEROTZKI, H., GISI, U. (2006): Mechanisms and diagnostics of QoI resistance in cereal pathogens. *Aspects of Applied Biology*, 78: 17-19.
- SIEROTZKI, H., PARISI, S., STEINFELD, U., TENZER, I., POIREY, S., GISI, U., (2000): Mode of resistance to respiration inhibitors at the cytochrome bc₁ enzyme complex of *Mycosphaerella fijiensis* field isolates. *Pest Management Science*, 56: 833-841.
- SISLER, H.D., RAGSDALE, N.N., WATERFIELD, W.W. (1984) *Pestic. Sci.*, 15, 167-176. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- SKULACHEV, V. P. (1998) *Biochim. Biophys. Acta*, 1363, 100-124. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- STAHL, P.D., PARKIN, T.B. (1996) *Soil Biol. Biochem.*, 28, 847-855. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- STUBBS, M. (1979) *Pharmacol. Ther.*, 7, 329. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- SUGHA, S.K., BANYAL, D.K., RANA, S.K. (2007): Management of powdery mildew of cucurbits caused by *Sphaerotheca fuliginea* with fungicides. *Pestology*, 31 (7): 37-39.
- ŠENOLDOVÁ, P., LOKAJ, Z. (2008): Taháky z fytofarmakologie – mechanismus fungicidních účinných látek I. *Rostlinolékař*, 5: 29-32.
- ŠENOLDOVÁ, P., LOKAJ, Z. (2008): Taháky z fytofarmakologie – mechanismus fungicidních účinných látek II. *Rostlinolékař*, 6: 31-33.
- TOMLIN, C.D.S. (Ed.) (2003): *The Pesticide Manual: A World Compendium of Pesticides*. *British Crop Protection Council*. 13th edition, 1344 s.
- TRUMPOWER, B.L. (1990) *Microbiol. Rev.*, 54, 101. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds*, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- URBAN, J., LEBEDA, A. (2004): Differential sensitivity to fungicides in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. In: Lebeda, A., Paris, H. S. (Eds.): *Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proceedings of Cucurbitaceae 2004, the 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding*. Palacký University in Olomouc, Olomouc (Czech Republic), 275-280.
- VAN ARK, G., RAAP, A.K., BERDEN, J.A., SLATER, E.C. (1981) *Biochim. Biophys. Acta*, 637, 34. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop*

- Protection Compounds, Second Edition. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.1, pp. 559-584.
- VIENNOT-BOURGIN, C. (1985): Fungicides for Crop Protection: 100 Years of Progress. British Crop Protection Council (BCPC), 31: 3-11. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 14, pp. 539-557.
- WARNER, S.A., EIEMAN, D.E., SOVOCOL, G.W., DOMNAS, A.J. (1982) *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 79 3769-3772. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- WEETE, J.D. (1980) *Lipid Biochemistry of Fungi and other Organisms*, Plenum, New York. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 19, pp. 761-805.
- WHITTINGHAM, W.G. (2012): Fungicides Acting on Oxidative Phosphorylation; Uncouplers of Oxidative Phosphorylation. In: Krämer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M. (Ed.) (2012): *Modern Crop Protection Compounds, Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, kap. 15.4, pp. 645-670.
- WICKS, T.J., HITCH, C.J. (2002): Integration of strobilurins and other fungicides for the control of powdery mildew on grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8: 132-139.

Internetové odkazy:

- FRAC Code List ©2015. Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering) (dostupné z: <http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2015-finalC2AD7AA36764.pdf?sfvrsn=4>).
- ISMAIL, A.A., HAMADA, E.A.M., ELHAAK, M.A. (2009): Control of powdery mildew disease by some fungicides of different chemical groups and their side effect on squash. Abstrakt, www.cababstractsplus.org/abstracts/Abstract.aspx?AcNo=20053043552.
- MCGRATH, M.T., GUGINO, B., EVERTS, K., RIDEOUT, S., KLECZEWSKI, N., WYENANDT, A. (2013): Effectively Managing Cucurbit Downy Mildew in the mid-Atlantic and Northeast Regions in 2013 (dostupné z: <http://extension.psu.edu/plants/vegetable-fruit/production-guides/2011-fungicide-resistance-management-guidelines-for-cucurbit-downy-mildew-and-powdery-mildew-in-the-northeast>).
- ÚKZÚZ (dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/>)
- WYENANDT, A., KLECZEWSKI, N., EVERTS, K.L., RIDEOUT, S.L., GUGINO, B.K., RAHMAN, M. (2015): Commercial Vegetable Production Recommendations Guide for Pennsylvania (dostupné z: <http://extension.psu.edu/plants/vegetable-fruit/production-guides/2011%20FRAC%20Guide.pdf>).