

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA BOTANIKY



Porovnání účinnosti vybraných fungicidů vůči padlí
tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum*,
Podosphaera xanthii) v České republice

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	Roman Paulík
Studijní program:	B1501 Biologie
Studijní obor:	Biologie - geologie v ochraně ŽP
Vedoucí bakalářské práce:	RNDr. Božena Sedláková Ph.D.
Rok obhajoby:	2011

Prohlášení:

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

V Olomouci dne 15.8.2011

.....

Poděkování:

Děkuji RNDr. Boženě Sedlákové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky a trpělivost při tvorbě bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat paní Věře Zoubkové za rady a pomoc při pěstování pokusných rostlin.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Roman Paulík
Název práce: Porovnání účinnosti vybraných fungicidů vůči padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*) v České republice
Typ práce: Bakalářská práce
Pracoviště: Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71, Olomouc-Holice
Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Božena Sedláková Ph.D.
Rok obhajoby práce: 2011

Abstrakt:

V teoretické části byla vypracována rešerše týkající se padlí tykvovitých, druhů *Golovinomyces cichoracearum* /Gc/ a *Podosphaera xanthii* /Px/ jejich biologie, taxonomie, morfologie, patogenní variability, geografického rozšíření, hostitelského okruhu a zdrojů rezistence tykvovitých plodin. Hlavní část rešerše byla věnována fungicidům, rezistenci vůči nim a shrnutí poznatků o rezistenci padlí tykvovitých k fungicidům v České republice (ČR) v letech 2001-2008.

V praktické části byla sledována účinnost pěti fungicidů používaných proti padlí tykvovitých, jednalo se o RUBIGAN 12 EC (účinná látka fenarimol), KARATHANE LC (dinocap), ORTIVA (azoxystrobin), TOPSIN M 70WP (thiophanate-methyl) a FUNDAZOL 50 WP (benomyl). Tyto fungicidy byly testovány pomocí modifikované metody listových disků a u každého z nich bylo testováno celkem pět různých koncentrací (jedna doporučená výrobcem – optimální, dvě pod optimem a dvě nad optimem). Celkem 29 izolátů padlí tykvovitých (18 Gc 11 Px), které pocházely ze sběrů realizovaných na území ČR v roce 2009 bylo testováno na rezistenci k fungicidům. Přípravky Rubigan 12 EC (fenarimol) a Karathane LC (dinocap) byly vysoce efektivní, kdy většina testovaných izolátů (94%) bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi těchto přípravků, naopak přípravek Fundazol 50 WP (benomyl) a Topsin M 70 WP (thiophanate-methyl) se ukázaly jako zcela neúčinné, kdy téměř všechny izoláty byly rezistentní ke všem testovaným koncentracím. Přípravek Ortiva (azoxystrobin) vykazoval sníženou účinnost.

Klíčová slova: azoxystrobin, benomyl, dinocap, fenarimol, *Golovinomyces cichoracearum*, padlí tykvovitých, *Podosphaera xanthii*, rezistence k fungicidům, thiophanate-methyl

Počet stran: 82

Počet příloh: 1

Jazyk: Český

Bibliographical identification

Autor's first name and surname: Roman Paulík
Title: Comparison of fungicide efficacy to cucurbit powdery mildews (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*) in the Czech Republic
Type of thesis: Bachelor
Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Šlechtitelů 11, 783 71, Olomouc-Holice
Supervisor: RNDr. Božena Sedláková Ph.D.
The year of presentation: 2011

Abstract:

In the theoretical part of the thesis, the literature about cucurbit powdery mildews caused by *Golovinomyces cichoracearum* /Gc/ and *Podosphaera xanthii* /Px/, their biology, taxonomy, morphology, pathogenicity variation, geographical distribution, host range and resistance resources in cucurbit plants was reviewed. The main part is focused on fungicides, resistance to fungicides and summarization of knowledge about fungicide resistance in cucurbit powdery mildew populations in the Czech Republic (CR) in 2001-2008.

In the practical part, the efficacy of five fungicides used for cucurbit powdery mildews control in CR was screened: RUBIGAN 12 EC (effective substance fenarimol), KARATHANE LC (dinocap), ORTIVA (azoxystrobin), TOPSIN M 70WP (thiophanate-methyl) and FUNDAZOL 50 WP (benomyl). A modified leaf-disc bioassay was used in fungicide resistance screening and five concentrations of each fungicide were tested (one recommended by the producer-optimum, two above and two below the optimum). Altogether 29 cucurbit powdery mildew isolates (18 Gc, 11 Px) originated from the collecting expeditions realized at the area of CR were screened on resistance to fungicides in 2009. Fungicides Rubigan 12 EC (fenarimol) and Karathane LC (dinocap) were highly effective, when majority of screened isolates (94%) were controlled by all tested concentrations of these fungicides. On the contrary that fungicides Fundazol 50WP (benomyl) and Topsin M 70WP (thiophanate-methyl) were totally inactive, when almost all isolates were resistant to all screened concentrations. Fungicide Ortiva (azoxystrobin) showed decreased efficacy.

Key words: : azoxystrobin, benomyl, cucurbit powdery mildews, dinocap, fenarimol, fungicide resistance, *Golovinomyces cichocearum*, *Podosphaera xanthii*, thiophanate-methyl

Number of pages: 82

Number of appendices: 1

Language: Czech

OBSAH

1. ÚVOD	8
2. CÍL	9
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	10
3.1. Taxonomie řádu Erysiphales a jeho postavení v systému	10
3.2. Morfologie a životní cyklus řádu Erysiphales	13
3.2.1. Anamorfní stádium	13
3.2.2. Teleomorfní stádium.....	15
3.3. Patogenní variabilita padlí tykvovitých ve světě a v ČR	15
3.4. Výskyt padlí tykvovitých	18
3.4.1. Výskyt padlí tykvovitých ve světě.....	18
3.4.2. Výskyt padlí tykvovitých v České republice	18
3.5. Hostitelský okruh padlí a rezistence hostitelských rostlin vůči padlí tykvovitých	19
3.5.1. Hostitelský okruh padlí tykvovitých.....	19
3.5.2. Rezistence hostitelských rostlin vůči padlí tykvovitých.....	19
3.6. Chemické přípravky v boji proti padlí tykvovitých	20
3.6.1. Historie fungicidních přípravků.....	20
3.6.2. Přípravky registrované v České republice vůči padlí tykvovitých	22
3.6.3. Rozdělení fungicidů podle místa účinku	23
3.6.3.1. Kontaktní fungicidy	23
3.6.3.2. Systémové fungicidy.....	24
3.7. Rezistence vůči fungicidům	24
3.7.1. Typy rezistence vůči fungicidům.....	24
3.7.1.1. Kvalitativní rezistence	24
3.7.1.2. Kvantitativní rezistence	24
3.7.1.3. Cross-rezistence (křížová rezistence)	25
3.7.1.4. Mnohonásobná rezistence.....	25
3.7.2. Celosvětově užívané fungicidy proti padlí tykv. a vznik rezistence.....	25
3.7.3. Rezistence padlí tykvovitých k fungicidům v České republice	30
3.8. Metodika výzkumu rezistence padlí tykvovitých k fungicidům	41
3.8.1. Laboratorní metody.....	41

3.8.1.1. Metody listových disků pro determinaci rezistence/tolerance k fungicidům v populaci padlí tykvovitých	41
3.8.2. Polní pokusy	42
4. MATERIÁL A METODY.....	43
4.1. Metoda listových disků.....	43
4.1.1. Rostlinný materiál.....	43
4.1.2. Původ, charakteristika a uchovávání izolátů padlí tykvovitých použitých k testování	43
4.1.3. Modifikovaná metoda listových disků a použité fungicidy.....	45
4.2. Charakteristika testovaných fungicidů.....	46
4.3. Hodnocení intenzity sporulace.....	47
5. VÝSLEDKY A DISKUZE	49
6. ZÁVĚR	63
7. POUŽITÁ LITERATURA.....	64
8. PŘÍLOHA.....	72

1. Úvod

Jako téma bakalářské práce jsem si zvolil porovnání účinnosti vybraných fungicidů vůči padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum* /Gc/, *Podosphaera xanthii* /Px/) v České republice.

Padlí tykvovitých je v současné době jednou z nejrozšířenějších a nejvýznamnějších chorob tykvovitých zelenin nejen v České republice, ale i v evropském a celosvětovém měřítku (Cohen et al., 2004; Křístková et al., 2009). Druhy *Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*, původci padlí tykvovitých ve střední Evropě, se liší především morfologií nepohlavních spor, konidií a pohlavních plodnic, chazmothecií, ale rovněž i svým hostitelským okruhem, ekologickými nároky a geografickým rozšířením a rezistencí k fungicidům (Křístková et al., 2009; McGrath, 2001; Sedláková a Lebeda, 2008). Populace padlí tykvovitých jsou vysoce variabilní ve své patogenitě a to jednak celosvětově (především populace druhu Px, o druhu Gc není ve světové literatuře mnoho zmínek), ale také i v České republice (ČR, týká se obou patogenů) (Lebeda et al., 2011). Bylo popsáno velké množství patotypů a ras, a to nejen ve světě (McCreight, 2006), ale rovněž i v rámci samotné ČR (Lebeda et al., 2011). Na základě dlouhodobého výzkumu populací padlí tykvovitých v ČR týmem pracovníků Katedry botaniky PřF UP pod vedením prof. Lebedy se ukazuje, že struktura České populace padlí tykvovitých je výrazně odlišná od evropských i celosvětových populací padlí tykvovitých, a to především patogenní variabilitou a rezistencí k fungicidům a mění se v čase (Sedláková a Lebeda, 2008; Lebeda et al., 2010c). Tuto skutečnost lze demonstrovat tím, že v ČR bylo popsáno velké množství nových ve světě dosud nepopsaných patotypů a ras obou patogenů (Lebeda et al., 2011). A pro volbu vhodného a účinného managementu v ochraně proti padlí tykvovitých je potřeba dobře znát složení patogenních populací obou druhů padlí tykvovitých, a proto se ukazuje jako velmi potřebné každoroční sledování struktury populací těchto patogenů, A právě znalosti o rezistenci populací obou patogenů k fungicidům by měly přinést cenné informace o účinnosti jednotlivých fungicidních přípravků, vyloučit ty neúčinné fungicidy, a eliminovat tak vznik rezistence k fungicidům v populacích padlí tykvovitých.

2. Cíl

Cílem této bakalářské práce bylo vypracování literární rešerše týkající se porovnání účinnosti vybraných fungicidů vůči padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum* – *Gc* a *Podosphaera xanthii* – *Px*) v České republice (ČR). Obecná část této práce byla zaměřena na biologii těchto patogenů, především na jejich taxonomii, morfologii, patogenní variabilitu, rozšíření ve světě i v ČR, hostitelský okruh a zdroje rezistence tykvovitých zelenin vůči padlí tykvovitých. Hlavní část teoretické části této práce byla zaměřena na chemické prostředky používané v boji vůči padlí tykvovitých, jejich historii, charakteristice a také na rezistenci v populaci obou patogenů vůči těmto fungicidům ve světě a především v ČR.

V experimentální části byla porovnávána účinnost vybraných fungicidů a jejich účinných látek používaných v současnosti i v minulých letech v ČR v chemické ochraně vůči těmto patogenům. Jednalo se o těchto pět fungicidních přípravků: RUBIGAN 12EC (účinná látka /ú.l./ fenarimol), KARATHANE LC (dinocap), ORTIVA (azoxystrobin), TOPSIN M (thiophanate-methyl), FUNDAZOL 50WP (benomyl)). U všech těchto fungicidů je známa u nás i ve světě rezistence v populacích padlí tykvovitých (Hollomon a Wheeler, 2002; Lebeda et al., 2010c; McGrath, 1994; Sedláková a Lebeda, 2008). K testování bylo vybráno 29 izolátů padlí tykvovitých (18 *Gc*, 11 *Px*), které pocházely ze sběrů realizovaných na území ČR v roce 2009. U všech fungicidních přípravků bylo testováno pět koncentrací s využitím modifikované metody listových disků, která byla pro účely screeningu rezistence vůči fungicidům v populacích padlí tykvovitých již minulosti vytvořena (Lebeda a Sedláková, 2010; Sedláková a Lebeda, 2008) a byla ověřována vhodnost použití této metody.

Problematika rezistence k fungicidům v populacích padlí tykvovitých je dlouhodobě řešena kolektivem pracovníků Katedry botaniky, PřF UP pod vedením prof. Lebedy v rámci několika v současnosti probíhajících grantů: QH 71229; MSM 6198959215 a PrF 2011 001. A získané experimentální výsledky této bakalářské práce tak mohou být využity při zpracování této problematiky za delší časové období formou publikace v odborném periodiku.

3. Literární rešerše

3.1. Taxonomie řádu Erysiphales a jeho postavení v systému

Podle v současnosti uznávaného systému Erikssona a Hawkswortha (1993) je taxonomie řádu Erysiphales následující (Braun et al., 2002):

Oddělení: Eumycota

Pododdělení: Ascomycotina

Třída: Ascomycetes

Řád: Erysiphales

Čeleď: Erysiphaceae

Pro čeleď Erysiphaceae byla navržena následující klasifikace, která je podpořena také výsledky molekulárních analýz (Mori et al., 2000; Braun et al., 2002):

čeleď Erysiphaceae

tribus Erysipheae - *Brasiliomyces*, *Erysiphe emend.* (zahrnuje rody *Microsphaera*, *Uncinula* atd.), *Typhulochaeta*

tribus Golovinomyceteae (U. Braun) U. Braun a S. Takamatsu (2000)

subtribus: Golovinomycetinae – *Golovinomyces*

subtribus: Neoerysiphinae (U. Braun) U. Braun a S. Takamatsu (2000) – *Neoerysiphe*

subtribus: Arthrocladiellinae (R.T.A. Cook *et al.*) U. Braun a S. Takamatsu (2000) – *Arthrocladiella*

tribus: Cystothecae (Katamoto) U. Braun (1987)

subtribus: Cystothecinae – *Cystotheca*, *Podosphaera emend.* (zahrnující *Sphaerotheca*)

subtribus: Sawadaeinae (U. Braun) U. Braun a S. Takamatsu (2000) – *Sawadaea*

tribus: Phyllactinieae (Palla) R.T.A. Cook *et al.*, v Braun (1999a) – *Leveillula*, *Phyllactinia*, *Pleochaeta*

tribus: Blumerieae R. T. A. Cook *et al.* (1997) – *Blumeria*

V české resp. československé fytopatologické literatuře z minulého století (Skalický, 1961; Čača et al., 1981), bylo dlouhodobě uváděno v podstatě mechanicky opisováno, že původcem padlí tykvovitých je askomyceta *Erysiphe polyphaga* Hamm (Lebeda a Sedláková, 2004). Avšak již první vyšetření vzorků padlí, pocházejících z většího počtu lokalit bývalého Československa indikovalo, že informace vyžadují revizi, která následně ukázala, že na území bývalého Československa se vyskytují dva

druhy padlí patřící k odlišným rodům řádu Erysiphales a to tyto: *Erysiphe cichoracearum* DC. ex Mérat a *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht. ex Fr.) Poll.) (Lebeda a Sedláková, 2004).

V posledních letech byla v systému řádu Erysiphales (Braun et al., 2002) provedena další revize, kde druh *Erysiphe cichoracearum* respektive *E. orontii* je dnes uváděn jako *Golovinomyces cichocearum* (DC.) V.P.Gelyuta a druh *Sphaerotheca fuliginea* resp. *S. fusca* jako *Podosphaera xanhtii* (Castag.) U.Braun a N.Shish.

V této bakalářské práci jsou použity nejnovější názvy obou druhů padlí tykvotíých: *Golovinomyces cichoracearum* a *Podosphaera xanthii*.

Třetí druhem řádu Erysiphales, který je původcem padlí tykvovitých je endoparazitický druh *Leveillula taurica* (Lev.) Arnaud, která se však vyskytuje pouze v oblasti kolem Středozemního moře (Braun, 1995; Křístková et al., 2009).

Tabulka 1. Vývoj taxonomického pojmenování původců padlí tykvovitých (upraveno podle Křístková, 1999; Lebeda et al., 2008 nepublikováno)

<i>Podosphaera xantii</i>	Citace	<i>Golovinomyces cichocearum</i>	Citace
<i>Sphaerotheca fuliginea</i> (Schlecht. ex.Fr.) Poll.	Lemaire et al. (1998) Cohen et al. (2004)	Erysiphe – jako komplex 4 druhů: <i>E. cichoracearum</i> <i>E. communis</i> <i>E. polygoni</i> <i>E. polyfaga</i>	Ballantyne (1975); Sitterly (1978)
<i>Sphaerotheca fusca</i> (Fr.) Blumer, med. Braun	Braun (1995)	<i>E. cichocearum</i> DS. Es Mérat	Braun (1987); Lebeda (1983); Lemaire et al. (1998)
<i>Sphaerotheca cucurbitae</i>	Takamatsu et al., (1998) Takamatsu (2004)	<i>E. orontii</i> Cast. emend. Braun	Braun (1995)
<i>Podosphaera xanthii</i> (Castag.) U. Braun et. N Shish	Shishkoff (2000)	<i>E. cucurbitacearum</i> Zheng & Chen sp. nov.	Zheng a Chen (1981)
		<i>Golovinomyces cichoracearum</i> (DC.) V.P. Gelyuta	Vakalounakis a Klironomou (2001)

3.2. Morfologie a životní cyklus řádu Erysiphales

U houbových patogenů lze rozlišovat dva důležité pojmy, a to jednak životní cyklus, který je soubornější povahy a infekční cyklus, který je jeho součástí. Životní cyklus je v zásadě tvořen vývojem patogenu během různých ontogenetických stádií a ročních období, vývojem na různých hostitelích atd. Oproti tomu infekční cyklus chápeme jako řadu dějů, mezi něž zahrnujeme infekci, kolonizaci, sporulaci, disperzi a opět infekci. U patogenních hub je nejčastější fází infekčního cyklu asexuální proces a rozmnožovací částice dlouhodobě nepřežívají, životní cyklus je většinou tvořen pohlavním i nepohlavním stádiem a dlouhodobým přežíváním rozmnožovacích částic během nepříznivého období. Životní cyklus patogenu se ve většině případů kryje s jednou pěstitelskou sezónou a jedním ročním cyklem (Kůdela et al., 1989; Zadoks a Schein, 1979).

A stejně je tomu i u padlí tykvovitých (*G. cichoracearum*, *P. xanthii*), jejichž životní cyklus je v obecných rysech podobný ostatním zástupcům řádu Erysiphales (obr. 7. asexuální cyklus *P. fusca* (*P. xanthii*), Pérez-García et al., 2009). Avšak na základě výzkumu Zlochové (1990) existují mezi oběma patogeny odlišnosti v časovém průběhu jednotlivých etap jejich primárního infekčního cyklu, kdy 1. etapa (A- klíčení konidií) u *S. fusca* (*P. xanthii*) trvá 6-12h, u *E. orontii* (*G. cichoracearum*) 2-4h, k penetraci (C-etapa) dochází u *S. fusca* (*P. xanthii*) za 19-24h, u *E. orontii* (*G. cichoracearum*) 10-17h od inokulace. I délka životního cyklu je u *S. fusca* (*P. xanthii*) odlišná (144h) od *E. orontii* (*G. cichoracearum*) (120h). Oba druhy padlí tykvovitých se však liší především morfologií struktur anamorfního a teleomorfního stádia (viz podrobněji v následujících kapitolách 3.2.1. a 3.2.2).

3.2.1. Anamorfní stádium

Anamorfní stádium vřecovýtrusých hub je charakterizováno vznikem pomocných rozmnožovacích útvarů.

Oba dva druhy padlí tykvovitých (*G. cichoracearum*, *P. xanthii*) jsou obligátními ektoparazity a potřebují tedy ke své existenci živou hostitelskou rostlinu, na které vytváří epifytické mycelium. Po napadení se na hostiteli vytvoří mycelium, na němž se mohou tvořit apresoria a haustoria. Apresoria jsou zvláštní infekční útvary vznikající na klíčících vláknkách, jimiž parazitická houba v místě kontaktu přilne k povrchu hostitele (Kůdela et al., 1989). U mnoha zástupců rodu *Podosphaera* sect. *Sphaerotheca* (také pro *P. xanthii*) jsou apresoria nezřetelná, naopak u mnoha jiných

zástupců čeledi Erysiphaceae, např. pro rod *Golovinomyces* a rod *Podosphaera* ne však pro druh *P. xanthii*, jsou apresoria naopak zřetelná, bradavčitého tvaru (Braun et al., 2002). Následně se pak vytváří haustorium, vysoce specializovaný infekční útvar resp. orgán, jehož primární funkcí je absorpce živin z buněk hostitele (Kůdela et al., 1989). Toto haustorium se většinou tvoří z infekční hyfy nebo sekundární, někdy i primární vezikuly, případně přímo z apresoria, jako je tomu u ektofytických druhů, kam patří i padlí tykvovitých (Aist et al., 1976; Kůdela et al., 1989). Mohou být rovněž různého tvaru, kulovitá nebo hruškovitá s více či méně laločnatou strukturou (Braun et al., 2002). Z primárního apresoria nebo z jiných částí konidie vyrůstá primární hyfa, která vytváří sekundární apresorium a z něj se dále tvoří sekundární haustorium. Později se z primární hyfy větví sekundární hyfová vlákna, ze kterých vznikají konidiofory a na konci každého konidioforu se tvoří konidie (Braun 1987, 1995; Braun et al., 2002). Vzniklý „chomáč“ sekundárních hyf a konidií ve formě bílého mycelia na povrchu listu je typickým symptomem padlí tykvovitých (Obr. 2a, 2b, 2d v příloze). Oba dva druhy padlí tykvovitých se liší morfologií konidií a konidioforů, způsobem klíčení konidií, přítomností/nepřítomností fibrosinových tělísek (Braun 1987, 1995; Braun et al., 2002), což hraje důležitou roli při jejich determinaci (viz Tabulka 2 a Obr. 1, konidie obou druhů padlí tykvovitých).

Tabulka 2. Hlavní morfologické znaky nepohlavního (anamorfního) stádia důležité pro druhovou determinaci padlí tykvovitých (upraveno podle Bertrand et al., 1992; Braun, 1995; Lebeda, 1983)

<i>Podosphaera xanthii</i>		<i>Golovinomyces cichoracearum</i>	
konidie	eliptické	konidie	protáhlé
délka (L), šířka (B) a jejich poměr (L/B)	L=25-45(50) μm B=14-20(26) μm L/B=1,4-2,1 μm	délka (L), šířka (B) a jejich poměr (L/B)	L=(22)-25-40 μm B=15-23 μm L/B=1,8-2 μm
fibrosinová tělíska	přítomna	fibrosinová tělíska	nepřítomna
klíčení	z laterální části spory, vidličnatě větveným vlákem	klíčení	z apikální části spory, pomocí jednoduchého, nevětveného vlákna

3.2.2. Teleomorfní stádium

Po asexuálním cyklu nastává vlastní pohlavní cyklus. U heterothalických druhů hub, a tedy i u obou patogenů padlí tykvovitých, může dojít k sexuální reprodukci až po setkání dvou vláken odlišného párovacího (pohlavního, mating) typu (Bertrand et al., 1992; McGrath, 1994). Tvoří se plodnice (askokarpy, chasmothecia), v nichž se tvoří vřecka s askosporami. Oba druhy padlí tykvovitých se liší morfologií chasmothecií, vřecek, počtem askospor atd., což dokládá tabulka 3. Chasmothecia, pomocí kterých patogen přečkává zimní období a která jsou zdrojem inokula v dalším roce se však v přírodě vyskytují velmi vzácně a dokonce v některých částech světa, kde jsou okurky pěstovány, nebyly pozorovány vůbec (Braun et al., 2002; McGrath, 1994; Zlochová, 1990). Proto otázkou zůstává, jak přesně některé druhy patogenu přežívají. Vzácnost výskytu chasmothecií by mohla být dána nerovnoměrnou distribucí mycelií odlišných párovacích (pohlavních, mating) typů v přírodě (Bardin et al., 1999; Bertrand et al., 1992).

Z důvodu vzácnosti výskytu chasmothecií v přírodě je proto v praxi druhová determinace padlí tykvovitých (druhů *G. cichoracearum*, *P. xanthii*) prováděna pouze na základě analýzy anamorfního stádia.

Tabulka 3. Hlavní morfologické znaky pohlavního stádia důležité pro druhovou determinaci původců padlí tykvovitých (upraveno podle Braun, 1987, 1995)

<i>Podosphaera xanthii</i>		<i>Golovinomyces cichoracearum</i>	
buňky peridie	velké	buňky peridie	drobné
počet a délka apendixů	<10 k; 0,5-4x delších než průměr plodnice	počet a délka apendixů	>10 ks; 0,5-2x delších jako průměr plodnice
počet a tvar vřecek	jediné vřecko bez stopky	počet a tvar vřecek	7 - 15 stopkatých vřecek
počet askospor ve vřecku	8	počet askospor ve vřecku	2

3.3. Patogenní variabilita padlí tykvovitých ve světě a v České republice

Je velmi dobře známo, že biotrofní parazitické houby z řádu Erysiphales jsou velmi variabilní z hlediska jejich patogenity resp. virulence a tato problematika je

dlouhodobě studována např. u padlí travního (*Blumeria graminis*) (Wolfe a McDermott, 1994). V České republice probíhá intenzivní výzkum této problematiky posledních patnáct let (Křístková, 1999; Sedláková a Lebeda, 2010) a rovněž i výzkum v posledních deseti letech ve světě, a to ve Francii, Řecku, Španělsku, Izraeli, Japonsku a USA (Bertrand, 1991; McCreight, 2005; Pérez-García et al., 2009; Vakalounakis a Klironomou, 1995) měl zásadní význam pro posun vpřed (Lebeda a Sedláková, 2005). Patogenita obou druhů padlí (*Gc*, *Px*) se popisuje na úrovni patotypů a ras (Bardin et al., 1997, 1999). Patotypy v podstatě vyjadřují patogenní variabilitu padlí tykvovitých na úrovni jejich hostitelského okruhu, naopak rasy představují stupeň virulence na souboru vybraných genotypů jednoho hostitelského druhu (v současné době pouze *Cucumis melo*) s různými geny rezistence. Podle terminologie autorů McDonalda a Lindeho (2002) patří padlí tykvovitých do skupiny patogenů vysoce rezistentních („highly resistant pathogens,“) tzn., že mají vysoký potenciál pro rozvoj rezistence, což potvrzují i výsledky výzkumu ve světě i u nás, kdy bylo ve světě popsáno několik různých patotypů obou patogenů a velké množství *Px* ras a pouze 2 *Gc* rasy (tabulka 4). Avšak na základě výsledků průzkumu patogenní variability padlí tykvovitých v České republice v letech 2000-2007 (Lebeda et al., 2011), kdy bylo analyzováno přes 400 virulentních izolátů obou druhů padlí tykvovitých, se zjistilo, že patogenní struktura české populace padlí tykvovitých je výrazně odlišná od populací padlí tykvovitých v jiných částech Evropy (od Francie a Španělska, srovnatelné údaje z jiných evropských zemí bohužel nejsou k dispozici), a odlišné jsou i populace v jiných neevropských zemích. A v ČR by zjištěn také velký počet nově objevených patotypů a ras, ve světě dosud nepopsaných a také se složení česká populace padlí tykvovitých lišilo časově a prostorově (Lebeda a Sedláková 2004, 2005, 2006, 2010; Lebeda et al. 2004, 2007, 2011, tabulka 4).

Pro determinaci a popis patotypů a ras původců padlí tykvovitých neexistuje dosud ve světě jednotný systém (např. existují tři různé způsoby popisu ras padlí tykvovitých, tabulka 5), avšak v současnosti se pracuje na jeho nové koncepci, která by byla objektivní, jednotná a akceptovatelná ve světě. Návrh této koncepce poprvé publikoval Lebeda et al. (2008) na konferenci Cucurbitaceae 2008 v Avignonu a později také na jiných vědeckých setkáních (Lebeda et al., 2009a, 2010).

Tabulka 4. Přehled patotypů a ras padlí tykvovitých (*G. cichoracearum*, *P. xanthii*) determinovaných celosvětově^a (upraveno podle Lebeda et al., 2010, 2011)

Kategorie patogenity	Počet zjištěných patotypů a ras		Literatura
	<i>Gc</i>	<i>Px</i>	
Francie	4	3	Bertrand (1991); Bertrand et al. (1992);
Španělsko	-	4	del Pino et al. (2002)
Česká republika	13 (12/1) ^b	8 (7/1) ^b	Lebeda a Sedláková (2004, 2005); Lebeda et al. (2004, 2010, 2011)
Rasy			
Celosvětově	2	25 ^c	Bardin et al. (1999); Bertrand (2002); Pitrat et al. (1998); Cohen et al. (2000); shrnutí McCreight (2006)
Česká republika 2000 - 2007	86 (86/0) ^b	48 (44/4) ^b	Lebeda a Sedláková (2004, 2005, 2006, 2010); Lebeda et al. (2004, 2007, 2011)

^a Lebeda et al., 2007; Lebeda et al. nepublikovaná data; McCreight 2006, upraveno

^b Počet patotypů nebo ras zjištěných pouze v ČR/počet patotypů nebo ras zjištěných v jiných zemích

^c Počet zjištěných ras *Px* zahrnuje: osm variant rasy 1, šest variant rasy 2, tři varianty rasy 3 a osm jiných *Px* ras.

Tabulka 5. Tři metody popisu ras padlí tykvovitých (*Px*, *Gc*) (upraveno podle Lebeda et al., 2011)

Metoda	Příklad popisu ras	Literatura
čísla	1, 2, 3	Bertrand F (1991); Bertrand et al. (1992)
písmena	A, B, C	Lebeda et al. (2007)
kombinace čísel a písmen	1J, 2F, 2US	McCreight (2006) Pitrat M et al. (1998)

3.4. Výskyt padlí tykvovitých

3.4.1. Výskyt padlí tykvovitých ve světě

Výskyt druhu *Golovinomyces cichoracearum* je obecně vázán na chladnější temperátní oblasti, naopak *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*) se nejčastěji vyskytuje v teplejších oblastech, případně na tykvovitých rostlinách pěstovaných v krytých prostorách (Lebeda, 1983; Křístková et al., 2009). To souhlasí i s údaji o rozšíření obou druhů v Evropě, kdy na oblast severní a střední Evropy je vázán druh *Golovinomyces cichoracearum*, naopak v oblasti jižní Evropy převažuje druh *Podosphaera xanthii* (Cohen et al., 2004; McGrath, 1994; Vakalounakis et al., 1994). Z průzkumů realizovaných koncem devadesátých let vyplývá, že *Px* se začíná významně šířit zejména v západní a jižní Evropě (Bardin et al., 1997, 1999; Vakalounakis et al., 1994). Druh *Px* je ovšem v posledních letech nalézán i v chladnějších oblastech, kde se dříve nevyskytoval. Z dostupných dat však zatím nelze s jistotou určit, zda jde o trvalý trend, nebo pouze o náhodný jev podmíněný roční fluktuací klimatických podmínek, případně dalšími faktory (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2009b). Obr. 8 v příloze zobrazuje rozšíření padlí tykvovitých ve světě (Křístková et al., 2009).

3.4.2. Výskyt padlí tykvovitých v České republice

Již ze začátku 20. století, kdy byly zaznamenány první zmínky o sledování chorob tykvovitých zelenin, včetně padlí tykvovitých, existují informace o výskytu a škodách, které padlí tykvovitých vyvolávalo na všech druzích tykvovitých zelenin na území bývalého Československa (Lebeda a Sedláková, 2004). První mikroskopická vyšetření vzorků padlý tykvovitých pocházejících z většího počtu lokalit bývalého Československa zpochybnila *Erysiphe polyphaga* jako opakovaně uváděného původce padlí a potvrdila výskyt dvou druhů, patřící ke dvěma odlišným rodům řádu Erysiphales, *Golovinomyces cichoracearum* a *Podosphaera xanthii*. (Lebeda, 1983). Koncem 80. let druh *Gc* převažoval na území bývalého Československa (80% lokalit), naopak druh *Px* byl detegován pouze na 14% lokalit, a to hlavně na jižní Moravě a jihu Slovenska, smíšená infekce nebyla pozorována vůbec (Lebeda, 1983). Pozdější studie (z 90. let a také z let 2001-2007) z území ČR prokázaly opět výskyt těchto dvou druhů a to buď samostatně nebo ve smíšené infekci, přičemž se ukázalo, že druh *Gc* dlouhodobě převažuje a podíl druhu *Px* stoupá, zvláště ve smíšených infekcích

s *Gc* (Křístková et al., 2009; Lebeda, 1983; Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2009a). Tyto studie také zjistily, že druhové spektrum padlí tykvovitých (podíl jednotlivých druhů a směsné infekce) se během sledovaného období měnilo a všechny tyto změny v druhové spektru padlí tykvovitých by mohly být způsobeny i změnami klimatu, např. teplotními změnami během sezóny (předběžná studie možného vlivu klimatických změn, konkrétně změn teploty na druhové spektrum padlí tykvovitých v ČR byla publikována Lebedou et al. (2009b)). Pro potvrzení této domněnky však bude potřeba dalšího výzkumu v této oblasti.

3.5. Hostitelský okruh padlí a rezistence hostitelských rostlin vůči padlí tykvovitých

3.5.1. Hostitelský okruh padlí tykvovitých

V České republice pokrývá hostitelský okruh padlí v podmínkách přirozené infekce v podstatě všechny hlavní pěstované druhy tykvovitých zelenin (*Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, *C. maxima*, *Cucumis melo*) (Obr 3 a-d). Z výsledků monitorování porostů tykvovitých zelenin v ČR v letech 2001-2007, vypululo, že největší frekvence výskytu padlí byla zjištěna na *Cucurbita pepo* a *C. maxima*, naopak velmi nízká frekvence výskytu byla zjištěna u polních okurek (Lebeda a Sedláková, 2004; Sedláková a Lebeda 2008, 2010). Tato skutečnost je výrazně odlišná od 70. a 80. let minulého století, kdy infekce polních okurek padlím tykvovitých byla daleko častější (Lebeda, 1983). To lze vysvětlit častějším nástupem infekce plísní tykvovitých (*Pseudoperonospora cubensis*) (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda a Sedláková 2005, 2010). Vzácně bylo padlí pozorováno i na *Citrullus lanatus* (Křístková a Lebeda, 2000), případně na *Cucurbita moschata* a *Cucurbita ficifolia* (B. Sedláková, osobní sdělení). U planě rostoucích tykvovitých, a to u posedu bílého (*Bryonia alba*) či štetince laločnatého (*Echinocystis lobata*) nebyla infekce padlím tykvovitých pozorována, a proto nemají tykvovité planě rostoucí rostliny na území ČR větší epidemiologický význam (Lebeda a Sedláková, 2004).

3.5.2. Rezistence hostitelských rostlin vůči padlí tykvovitých

Nejnovější poznatky o problematice genetické odolnosti tykvovitých zelenin vůči padlí byly souhrnně zpracovány Jahnem et al. (2002). Vyplývá z nich, že u okurky seté byl ve šlechtění na rezistenci k padlí dosud učiněn relativně malý pokrok. Hlavním důvodem je nedostatek kvalitních zdrojů odolnosti a poznatků o interakci hostitel-

patogen. Naopak u melounu cukrového (*Cucumis melo*) je k dispozici celá řada zdrojů rasově specifické odolnosti, včetně komerčně pěstovaných odrůd (Lebeda et al., 2007). Problémem zůstává otázka polní rezistence. Velká variabilita v rezistenci vůči padlí je známa u tykví (*Cucurbita* spp.). Významné rozdíly byly zjištěny zejména v polní odolnosti *C. pepo*, ale i některých dalších druhů (Jahn et al., 2002; Lebeda a Křístková, 1994, 1996; Lebeda et al., 1999). Tyto poznatky jsou nyní využívány v praktickém šlechtění. (převzato z Lebeda a Sedláková, 2005).

3.6. Chemické přípravky v boji proti padlí tykvovitých

3.6.1. Historie fungicidních přípravků

Plané rostliny byly napadány různými chorobami dlouho před tím, než je lidé začali pěstovat a obdělávat. První zmínky o napadení můžeme nalézt již v řecké či římské literatuře. Toto napadení bylo houbového charakteru, není proto pochyb, že mezi nimi bylo též padlí. První řečtí a římscí zemědělci používali jako jednu z hlavních ochran proti padlí elementární síru. (Hollomon a Wheeler, 2002).

Krátce před druhou světovou válkou byly objeveny první organické fungicidy, poté následoval rychlý vývoj chemických prostředků v boji proti rostlinným chorobám. Do šedesátých let 20. století byly vůči padlí používány dva typy přípravků: protektanty a multi-site inhibitory. Produkty, které obsahovaly dithiokarbamáty, chinomethionát a síru, byly používány jen na omezené spektrum plodin. Užití těchto fungicidů však bylo omezeno z důvodu vysokých dávek a cen na aplikaci, které omezovaly aplikaci těchto fungicidů jen na velmi ceněné plodiny. Dalším důvodem mohla být i několikátýdenní prodleva mezi aplikací a sklizní plodin. Situace se ale dramaticky změnila s příchodem prvního systémově úspěšného produktu, benomylu, širokospektrálního fungicidu, který vykazoval dobrý účinek proti padlí. Benomyl byl uveden na trh v USA v roce 1972. Krátce nato byly na trh s úspěchem zavedeny další přípravky ze skupiny systémových fungicidů, morpholiny (tridemorph a dodemorph), 2-aminopyrimidiny (dimethirimol a ethirimol). V 80. letech přichází na trh tzv. DMI fungicidy (inhibitory demethylace sterolů) a v 90. letech vyvinuté QoI strobilurinové fungicidy (př. azoxystrobin) a anilinopyridiny (cyprodinil). A v důsledku intenzivního výzkumu se na trh dostávají stále nové a nové fungicidní přípravky s novými účinnými látkami, a tak v současnosti je nabídka fungicidních přípravků velmi široká (Hollomon a Wheller, 2002). Seznam přípravků registrovaných ve světě je uveden v tabulce č. 6)

Tabulka 6. Seznam přípravků registrovaných ve světě vůči padlí tykvovitých (upraveno podle McGrath, 2001 a seřazeno podle FRAC Code List[©] 2011)

MOA	TARGET SITE AND CODE	GROUP NAME	CHEMICAL GROUP	COMMON NAME	COMMENTS	FRAC CODE
A: Nucleic acids synthesis	A2: adenosin-deaminase	hydroxy-(2-amino-) pyrimidines	hydroxy-(2-amino-) pyrimidines	bupirimate dimethirimol ethirimol	Medium risk resistance	8
B: Mitosis and cell	B1: β -tubuline assembly in mitosis	MBC-fungicides (Methyl Benzimidazole Carbamates)	benzimidazoles	benomyl carbendazim	High risk	1
			thiophanates	thiophanate-methyl		
C: Respiration	C3: complex III: cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase) at Qo site (<i>cyt b gene</i>)	QoI-fungicides (Quinone outside Inhibitors)	methoxy-acrylates	azoxystrobin	High risk	11
			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) (<i>cgs gene</i>)	AP-fungicides (Anilino-Pyrimidines)	anilino-pyrimidines	cyprodinil	Medium risk	9
F: Lipids and membrane	F2: phospholipid biosynthesis, methyl-transferase	phosphorothiolates	phosphorothiolates	pyrazophos afugan	Low to medium risk	6
G: Sterol biosynthesis in membranes	G1: C14-demethylase in sterol biosynthesis (<i>erg11/cyp51</i>)	DMI-fungicides (DeMethylation Inhibitors) (SBI: Class I)	piperazines	triforine	Medium risk	3
			pyrimidines	fenarimol nuarimol		
			imidazoles	imazanil prochloraz triflumizole		
			triazoles	bromuconazole cyproconazole diniconazole fenbuconazole hexaconazole myclobutanil penconazole propiconazole tebuconazole tetraconazole triadimefon triadimenol		

Tabulka 6 (pokračování)

MOA	TARGET SITE AND CODE	GROUP NAME	CHEMICAL GROUP	COMMON NAME	COMMENTS	FRAC CODE
	G2: Δ 14-reductase and Δ 8 \rightarrow Δ 7-isomerase in sterol biosynthesis (<i>erg24, erg2</i>)	Amines (“Morpholines”) (SBI: Class II)	morpholines	tridemorph	Low to medium risk	5
E: signal transduction	E1: Signal transduction (mechanism unknow)	azanaphthalenes	quinolines	quinoxyfen	Resistance not known, Medium risk	13
				ditalimfos		
			quinoxaline	quinomethyonate (syn. oxythioquinox, chinomethionat)		
Multi – site contact activity	Multi-site contact activity	inorganic	inorganic	copper (different salts)	Low risk resistance	M1
		inorganic	inorganic	sulphur		M2
		chloronitriles (phthalonitriles)	chloronitriles (phthalonitriles)	chlorothalonil		M5
		sulfamides	sulfamides	dichlofluanid		M6
Not-classified	Unknown	diverse	diverse	mineral oils, organic oils, potassium bicarbonate, materiál 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 2011).

3.6.2. Přípravky registrované v České republice vůči padlí tykvovitých

Výzkum rezistence padlí tykvovitých v České republice probíhal od roku 2001 a stále pokračuje týmem pracovníků pod vedením prof. Lebedy na Katedře botaniky PřF UP a jeho hlavním cílem bylo zjistit, zda v české populaci padlí tykvovitých existuje

rezistence k vybraným skupinám fungicidů, které jsou hlavními přípravky používanými v ČR v ochraně porostů tykvovitých zelenin vůči padlí (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2010b; Sedláková a Lebeda, 2008, 2010). I když platnost registrace některých z těchto přípravků již skončila (např. u přípravku Fundazol 50WP), stále se však monitoruje stav rezistence k tomuto přípravku v české populaci padlí tykvovitých. Tabulka 7 znázorňuje seznam přípravků registrovaných v roce 2009 v ČR vůči padlí tykvovitých.

Tabulka 7. Seznam přípravků povolených v České republice pro rok 2009 proti padlí tykvovitých (zdroj: Seznam registrovaných přípravků a dalších prostředků na ochranu rostlin 2009, SRS)

Přípravek	Účinná látka	Dávkování na ha
BIOAN	albumin mléčný, kasein, lecitin	0,5 - 5,0%
BIOBLATT	sojový lecitin	0,9 - 1,8 l
BIOOL	řepkový olej	5,0%
BIOTON	řepkový olej, lecitin	0,5 - 3%
KARATHANE LC	dinocap	0,3 l
KUMULUS WG	síra	2,0 kg
ORTIVA	azoxystrobin	1l
RUBIGANE 12 EC	fenarimol	0,2 l
SULIKOL K	síra	3,0 kg
TOPSIN M 70 WP	thiophanate-methyl	0,075%

3.6.3. Rozdělení fungicidů podle místa účinku

3.6.3.1. Kontaktní fungicidy

Kontaktní fungicidy jsou přípravky nesystémové, určeny k preventivnímu užití, nebo jako doplněk k systémovým fungicidům. Poté co je nanesen kontaktní fungicid na povrch rostliny, působí přímo a inhibuje patogena tak, aby se nedostal do rostlinného pletiva. Někdy jsou označovány jako tzv. multi-site fungicidy, jež působí nespecificky na mnoha místech metabolismu patogenu. Obecně kontaktní fungicidy jako např. sulphur nebo dinocap, jsou méně náchylné k vyvinutí rezistence než systémové a translaminární fungicidy se specifickým způsobem účinku (McGrath, 2001).

3.6.3.2. Systémové fungicidy

Systémové fungicidy, nebo-li též single-site fungicidy jsou přípravky účinkující jen v jednom konkrétním bodě metabolické cesty patogenu. K jejich šíření uvnitř rostlinné tkáně dochází apoplastickou (řízeno difúzí a rychlostí transpirace) nebo symplastickou cestou (zahrnuje příjem a distribuci ze zdroje do sinku) (Neumann a Jakob, 1995).

Výhodou systémových fungicidů je to, že rostliny nemusí být tak důkladně ošetřeny v porovnání použijeme-li k ošetření kontaktní přípravky. Účinná látka systémového přípravku je transportována uvnitř rostliny a může poskytnout ochranu vůči patogenu také v místech, která nebyla zasažena přípravkem, tedy i na spodní straně listu. Problémem může být zvýšené riziko mutace a tím pádem i vznik rezistence z důvodu jejich účinku v jednom konkrétním bodu metabolické dráhy patogenu (McGrath, 2001).

3.7. Rezistence vůči fungicidům

3.7.1. Typy rezistence

3.7.1.1. Kvalitativní rezistence

Pokud při vzniku rezistence dojde ke změně v jediném hlavním genu, což vede k úplné ztrátě kontroly nad chorobou, které se nedá zamezit ani použitím vyšších dávek nebo častější aplikací fungicidu, jedná se o kvalitativní rezistenci. Příkladem tohoto typu rezistence je rezistence k tzv. BMI fungicidům (např. benomyl, thiophanate-methyl) (McGrath, 2001).

3.7.1.2. Kvantitativní rezistence

Pokud rezistence vychází z několika interagujících genů, patogen v závislosti na počtu genových změn (mutací) projeví různou citlivost k fungicidu. Variabilita v citlivosti uvnitř populace je kontinuální nebo unimodální a selekce se objevuje v určitém směru, a proto pak vznik rezistence narušuje možnost chemické kontroly dané choroby. Pokud však použijeme vyšší dávky fungicidu nebo častější daný přípravek aplikujeme, může být choroba omezena. Až po další selekci v genetické výbavě patogenu může dojít k úplné ztrátě kontroly nad chorobou. Tento typ rezistence vzniká vůči tzv. multi-site fungicidům, které u patogenu zasahují více míst, pokud se

u patogenu objeví současně několik mutací. Příkladem tohoto typu rezistence je rezistence k DMI fungicidům (inhibitorům demethylace) (McGrath, 2001).

3.7.1.3. Cross-rezistence (křížová rezistence)

Způsoby účinku různých fungicidů v rámci každé z uvedených skupin jsou velmi podobné nebo stejné. Pokud je patogenní populace rezistentní k jednomu fungicidu bude s pravděpodobností rezistentní i k jiným přípravkům ze stejné skupiny. Tento fakt značně limituje kontrolu rezistence. Jakmile se jednou vyvine rezistence vůči jednomu fungicidu, ostatní přípravky téže skupiny se pravděpodobně stanou méně účinné nebo úplně neúčinné (Brown, 2002; McGrath, 2001). Někdy může dojít k situaci, kdy mohou být nové látky z téže skupiny účinnější než ty starší(dříve vyvinuté), v tomto případě je cross-rezistence jen částečná. Křížová rezistence je známa např. u DMI či QoI fungicidů (Hollomon a Wheeler, 2002).

3.7.1.4. Mnohonásobná rezistence

Pro tento typ rezistence je charakteristické, že dochází ke vzniku rezistence k fungicidům více jak jedné chemické skupiny. Ke vzniku mnohonásobné rezistence u patogenních populací dochází díky intenzivnímu používání rizikových fungicidů z různých chemických skupin a pokud nejsou sledovány principy správné kontroly rezistence. Např. v Japonsku byla po dvou letech intenzivní aplikace fungicidů v ochraně populací padlí tykvovitých detekována rezistence ke čtyřem hlavním skupinám fungicidů, a to především k QoI fungicidům, benzimidazolům a DMI fungicidům (Gallian et al., 2002).

3.7.2. Celosvětově užívané fungicidy proti padlí tykvovitých a vznik rezistence

❖ Fungicidy benzimidazolové skupiny (MBC) (FRAC group 1, FRAC Code List[®] 2011)

Nejvíce informací o fungicidní rezistenci v populaci padlí tykvovitých lze v literatuře nalézt k benzimidazolové skupině (MBC), zejména o přípravcích s účinnou látkou benomylem (Brown, 2002). Tato účinná látka je známa nejdéle a poprvé byla registrována v roce 1972 v USA, avšak již v následujícím roce byl zaznamenán první neúspěch v jeho účinnosti, což potvrdily i výsledky dřívější předběžné americké studie z roku 1967, při níž byl zjištěn první výskyt rezistentních kmenů vůči druhu *Px*.

V následujících letech proběhly v USA další experimenty, které ukázaly, že účinnost tohoto přípravku se může v čase měnit a dokonce i to, že v rámci jedné lokality se může měnit frekvence výskytu jednotlivých rezistentních kmenů patogenu. Díky tomu se ukázalo jako velmi obtížné předpovídat účinnost benomylu na základě frekvence výskytu benomyl-rezistentních kmenů v předchozím roce. Tento fakt byl potvrzen i v ČR, a to na základě výsledků dlouhodobé studie této problematiky, která je realizována od roku 2001 pracovníky Fytopatologické laboratoře Katedry botaniky PřF UP v Olomouci pod vedením prof. Lebedy. Další zmínky o rezistenci k benomylu ze světa pocházejí z 80. let 20. století z Austrálie, z 90. let z Nizozemska a Japonska.

Z dalších účinných látek z této skupiny MBC fungicidů, komerčně využívaných v boji proti padlí tykvovitých, stojí za zmínku thiophanate-methyl, který je účinnou látkou fungicidu Topsinu M. Na základě výsledků studia účinnosti tohoto přípravku vůči padlí tykvovitých v ČR nelze však tento přípravek v praktické ochraně vůči PM příliš doporučit z důvodu výskytu rezistence v České populaci PM (McGrath, 2001; Lebeda et al., 2010b,c; Lebeda a Sedláková, 2004; Sedláková a Lebeda, 2008, 2010;; Lebeda et al., 2010c).

❖ **DMI fungicidy** (FRAC Group 3, FRAC Code List[©] 2011)

DMI fungicidy (fungicidy demethylace) patří k další skupině přípravků používaných v boji proti padlí tykvovitých. K nejčastěji ve světě zmiňovaným účinným látkám DMI skupiny fungicidů patří fenarimol, triadimefon a triflumizol. Triadimefon, byl registrován už v roce 1984, avšak první neúspěchy v jeho účinnosti byly zaznamenány už o dva roky později, ale triadimefon-rezistentní kmeny byly poprvé zaznamenány až v roce 1990. V Japonsku byl donedávna jediným účinným fungicidem vůči padlí tykvovitých přípravek na bázi triflumizolu, ovšem v roce 2000 se objevily i vůči tomuto fungicidu první rezistentní kmeny.

Myklobutanil byl registrován v USA v roce 2000. U přípravků na bázi této účinné látky však musely být již dva roky před jeho registrací uděleny v některých amerických státech mimořádné výjimky z registrace FIFRA (Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act), jelikož pouze mobilní fungicidy byly v té době dostatečně účinné vůči padlí tykvovitých. Myklobutanil a triflumizol (registrovaný v USA od roku 2002) jsou za určitých předpokladů většinou účinné (Lopéz-Ruiz et al., 2009), avšak výsledky polních kontrolních měření nejsou dosud k dispozici (McGrath, 2011 nepubl.).

❖ **QoI fungicidy** (FRAC Group 11, FRAC Code List[®] 2011)

QoI fungicidy a jejich účinné látky představují další významnou skupinu chemických látek využívaných celosvětově v boji proti padlí tykvovitých. Přípravky na bázi QoI fungicidů se komerčně využívají teprve od roku 1997. V USA byl jako první registrován azoxystrobin (1998), v následujícím roce trifloxystrobin a o 3 roky později pyraklostrobin.

Rezistence vůči QoI fungicidům se v některých zemích vyvinula velice rychle. V roce 1999 byly nalezeny QoI-rezistentní kmeny v Japonsku, dále pak na Tchaj-wanu, v jižní Francii a jižním Španělsku a právě v těchto zemích se v boji vůči padlí tykvovitých intenzivně využívají právě QoI fungicidy. V USA byla rezistence vůči QoI fungicidům zjištěna v roce 2002 (McGrath a Shishkoff, 2003), kdy rezistentní kmeny byly hlášeny ze Severní Karolíny, Georgie, Virginie a New Yorku. V ČR, kde je od roku 2007 testována účinnost fungicidu Ortiva s účinnou látkou azoxystrobinem, byl již v roce 2007 zaznamenán výskyt azoxystrobin-rezistentních kmenů v populaci padlí tykvovitých v ČR. Dnes se již aplikace QoI fungicidů na ochranu porostů tykvovitých zelenin příliš nedoporučuje, protože výskyt rezistentních kmenů padlí tykvovitých je velmi častý a i v rámci přípravků z této skupiny je častá cross- rezistence. (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2010b; McGrath, 2001; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009).

❖ **Carboximidy** (FRAC 14, FRAC Code List[®] 2011)

Carboximidy jsou další skupinou mobilních fungicidů s rizikem vzniku rezistence, které jsou v USA používány v ochraně porostů tykvovitých zelenin. V roce 2003 byl registrován první produkt obsahující boscalid plus pyraklostrobin a až v roce 2008 byl zaznamenán poprvé výskyt rezistentních kmenů (McGrath, nepublikováno; Lebeda et al., 2010b).

❖ **Quinoliny**

Quinoliny byly poslední chemickou skupinou látek v boji proti padlí, jež se dostaly v USA na trh. V roce 2007 byl použit nově registrovaný přípravek na bázi quinoxifyfenu na ošetření porostů melounů (*C. melo*) a o dva roky později se jeho registrace rozšířila i na ošetření porostů tykví (*C. pepo*). (Lebeda et al., 2010b)

Tabulka 8 zobrazuje seznam přípravků, vůči kterým byla zaznamenána v populaci padlí tykvovitých ve světě rezistence a z této tabulky je zřejmé, že k mnoha přípravkům na bázi různých účinných látek se v populaci padlí tykvovitých vyvinula rezistence, i přes tyto rizika však fungicidy představují hlavní nástroj v boji proti padlí tykvovitých (McGrath, 2001).

Tabulka 8. Seznam přípravků, vůči kterým byla zaznamenána rezistence nebo klesající účinnost u původců padlí (nejčastěji *Px*) v některých zemích (upraveno podle McGrath, 2001; Lebeda et al., 2010c; Lebeda, Sedláková, 2004; Sedláková a Lebeda, 2010 a seřazeno podle FRAC Code List[®] 2011)

MOA	TARGET SITE AND CODE	GROUP NAME	CHEMICAL GROUP	COMMON NAME	COMMENTS	FRAC CODE
A: Nucleic acids synthesis	A2: adenosin-deaminase	hydroxy-(2-amino-) pyrimidines	hydroxy-(2-amino-) pyrimidines	bupirimate dimethirimol ethirimol	Medium risk resistance	8
B: Mitosis and cell division	B1: β -tubuline assembly in mitosis	MBC-fungicides (Methyl Benzimidazole Carbamates)	benzimidazoles	benomyl carbendazim	High risk	1
			thiophanates	thiophanate-methyl		
C. Respiration	C3: complex III: cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase) at Qo site (<i>cyt b gene</i>)	QoI-fungicides (Quinone outside Inhibitors)	methoxy-acrylates	azoxystrobin	High risk	11
			oximino-acetates	kresoxim-methyl		
	C5: uncouplers of oxidative phosphorylation		dinitrophenyl crotonates	dinocap	Resistance not known	29
F: Lipids and membrane synthesis	F2: phospholipid biosynthesis, methyl-transferase	phosphorothiolates	phosphorothiolates	pyrazophos	Low to medium risk	6

Tabulka 8 (pokračování)

MOA	TARGET SITE AND CODE	GROUP NAME	CHEMICAL GROUP	COMMON NAME	COMMENTS	FRAC CODE
G: Sterol biosynthesis in membranes	G1: C14-demethylase in sterol biosynthesis (<i>erg11/cyp51</i>)	DMI-fungicides (DeMethylation Inhibitors) (SBI: Class I)	pyrimidines	fenarimol nuarimol	Medium risk	3
			imidazoles	imazanil triflumizole		
			triazoles	bitertanol myclobutanil penconazole propiconazole triadimefon		
	G2: Δ 14-reductase and Δ 8 \rightarrow Δ 7-isomerase in sterol biosynthesis (<i>erg24, erg2</i>)	Amines (“Morpholines”) (SBI: Class II)	morpholines	fenpropimorph tridemorph	Low to medium risk	5
			quinoxaline*	quinomethyonate (syn. oxythioquinox, chinomethionat)		
			miscellaneous*	afugan		
				ditalimfos		

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 2011).

* tyto dvě chemické skupiny účinných látek nebyly nalezeny ve FRAC Code List[®] 2011 a jsou zařazeny pouze podle McGrath (2001)

3.7.3. Rezistence padlí tykvovitých k fungicidům v České republice

Výzkum rezistence padlí tykvovitých v České republice probíhá od roku 2001 a na základě výsledků z let (2001-2007), které již byly publikovány ve vědeckých časopisech či prezentovány na domácích či zahraničních konferencích se ukázalo, že účinnost testovaných fungicidů se lišila, u některých přípravků byly pozorovány rozdíly i mezi jednotlivými sledovanými roky a rovněž i mezi oběma patogeny padlí tykvovitých (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2010b; Sedláková a Lebeda, 2008, 2010) a ukazuje se tedy jako potřebné sledovat i nadále vývoj rezistence k fungicidům v populaci padlí tykvovitých v ČR.

Rubigan 12EC (fenarimol)

V letech 2001-2004 se ukázal přípravek RUBIGAN 12EC jako vysoce účinný, kdy 81% testovaných izolatů bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku (tzn. nesporulovalo na žádné z testovaných koncentrací), pouze u několika izolatů obou patogenů byla zaznamenána omezená nebo výrazná sporulace na nejnižší testované koncentraci tohoto přípravku (9,6 µg ú.l.) a také i na koncentraci 1x vyšší (18 µg ú.l.).(Sedláková a Lebeda, 2008) Grafy 1-2

V následujícím období (2005-2008) byla účinnost tohoto přípravku rovněž velmi vysoká, kdy většina testovaných izolatů nesporulovala na žádné z testovaných koncentrací, avšak výjimkou byl rok 2005, kdy byla u tohoto přípravku zaznamenána snížená účinnost, kdy v populaci *Gc* i *Px* byly zjištěny kmeny patogenů, které omezeně či výrazně sporulovaly na koncentracích nižších než optimální, a dokonce byla pozorována u některých izolatů (*Gc* i *Px*) tolerance doporučené koncentrace a 2 *Px* izoláty omezeně sporulovaly i na koncentraci 1x vyšší (72 µg ú.l.). (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009) Grafy 3-4

Karathane LC (dinocap)

V letech 2001-2004 se tento přípravek ukázal jako účinný, kdy 70% všech testovaných izolatů bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku (tzn. nesporulovalo na žádné z testovaných koncentrací), avšak v celém čtyřletém sledovaném období se v populaci obou patogenů vyskytly kmeny, které tolerovaly nebo byly rezistentní k nejnižší testované koncentraci (28 µg ú.l.) a také tolerovaly i koncentraci 1x vyšší (52.2 µg ú.l.) a u několika izolatů z let 2001-2002 byla

zjištěna omezená sporulace i na koncentraci doporučené výrobcem (105 µg ú.l.) (Sedláková a Lebeda, 2008). Grafy 5-6

V letech 2005-2008 byla účinnost tohoto přípravku u testovaných izolátů padlí tykvovitých také vysoká, kdy 83% testovaných izolátů bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku a pouze několik izolátů obou patogenů omezené sporulovalo na koncentracích nižších (28 µg ú.l., 52.2 µg ú.l.) než optimální (105 µg ú.l.) a u izolátů z roku 2005 byla pozorována i tolerantní reakce na doporučené koncentraci tohoto přípravku (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009). Grafy 7-8

Fundazol 50WP (benomyl)

V letech 2001-2004 se ukázal tento přípravek jako velmi málo účinný, kdy většina testovaných izolátů (88% *Gc* a 97% *Px*) patřila do skupiny vysoce rezistentních kmenů s rezistentní reakcí na doporučené koncentraci tohoto přípravku (250 µg ú.l.) a tolerancí nebo rezistencí na vyšších koncentracích (500 a 1000 µg ú.l.). Také byly v tomto čtyřletém období zaznamenány rozdíly v senzitivitě mezi oběma druhy padlí tykvovitých, kdy téměř všechny *Px* izoláty (s výjimkou jednoho z roku 2003) byly rezistentní, na rozdíl od 9 *Gc* izolátů (12%) z let 2001-2003, které vykazovaly senzitivní či tolerantní reakce na testovaných koncentracích tohoto přípravku (Sedláková a Lebeda, 2008). Grafy 9-10

V letech 2005-2008 byla účinnost tohoto přípravku stejně jako v předchozím sledovaném období také velmi nízká, kdy všechny testované izoláty omezeně či výrazně sporulovaly na doporučené koncentraci tohoto přípravku (250 µg ú.l.), a u 84% z nich byla zjištěna výrazná sporulace dokonce i na všech testovaných koncentracích tohoto přípravku (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009). Grafy 11-12

Na základě těchto výsledků z let 2001-2008 lze tedy považovat Fundazol 50 WP za neúčinný v podmínkách ČR.

Topsin M 70WP (thiophanate-methyl)

V letech 2005-2008 vykazoval tento přípravek velmi malou účinnost, kdy všechny testované izoláty omezeně či výrazně sporulovaly na doporučené koncentraci a dokonce 75% izolátů bylo rezistentních ke všem testovaným koncentracím tohoto fungicidu. U dvou *Gc* izolátů z let 2007-2008 byla zaznamenána omezená sporulace na

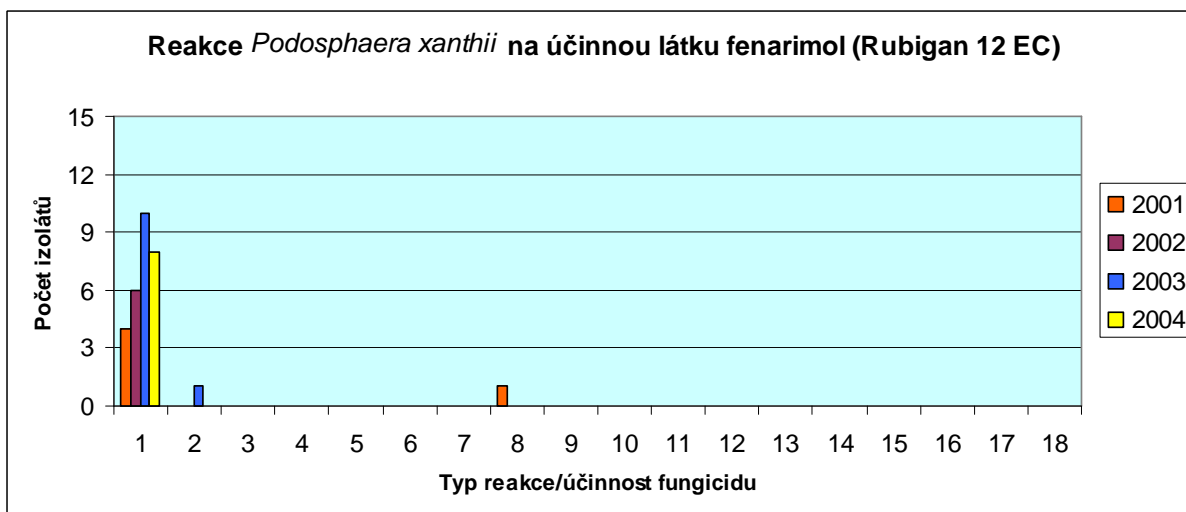
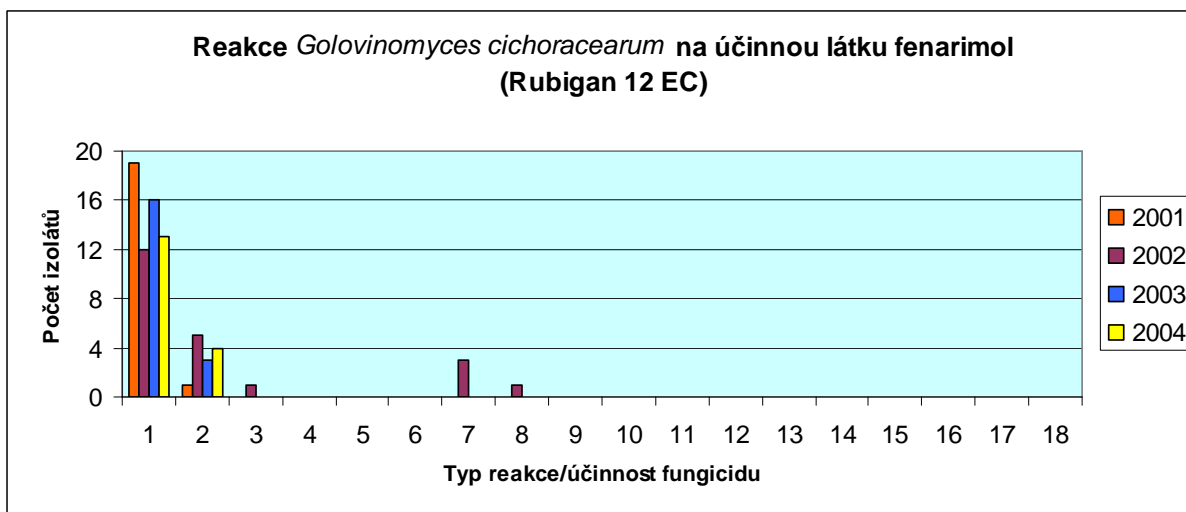
všech testovaných koncentracích a v letech 2005-2007 se vyskytovalo také několik izolátů obou patogenů s tolerancí nebo senzitivní reakcí na koncentracích 1x (1050 µg ú.l.) a 2x (2100 µg ú.l.) vyšších než optimální (525 µg ú.l.), zatímco k nižším testovaným koncentracím včetně doporučené byly rezistentní. (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009). Grafy 13-14

Ortiva (azoxystrobin)

Tento přípravek, který byl testován pouze v letech 2007-2008 vykazoval sníženou účinnost, kdy sice v populaci patogenu byla většina izolátů (63% v roce 2007, 50% v roce 2008) kontrolována doporučenou koncentrací tohoto přípravku, avšak u ostatních izolátů (37% v roce 2007, 50% v roce 2008) byla zaznamenána rezistence či tolerance na doporučené koncentraci (500 µg ú.l.) a i na koncentracích 1x (1000 µg ú.l.) a 2x (2000 µg ú.l.) vyšších než optimální (500 µg ú.l.). Takže na základě výsledků tohoto dvouletého výzkumu, lze říci, že v české populaci padlí tykvovitých došlo ke zvýšení frekvence výskytu kmenů zcela rezistentních k tomuto fungicidu (31% izolátů v roce 2007, 43% v roce 2008).

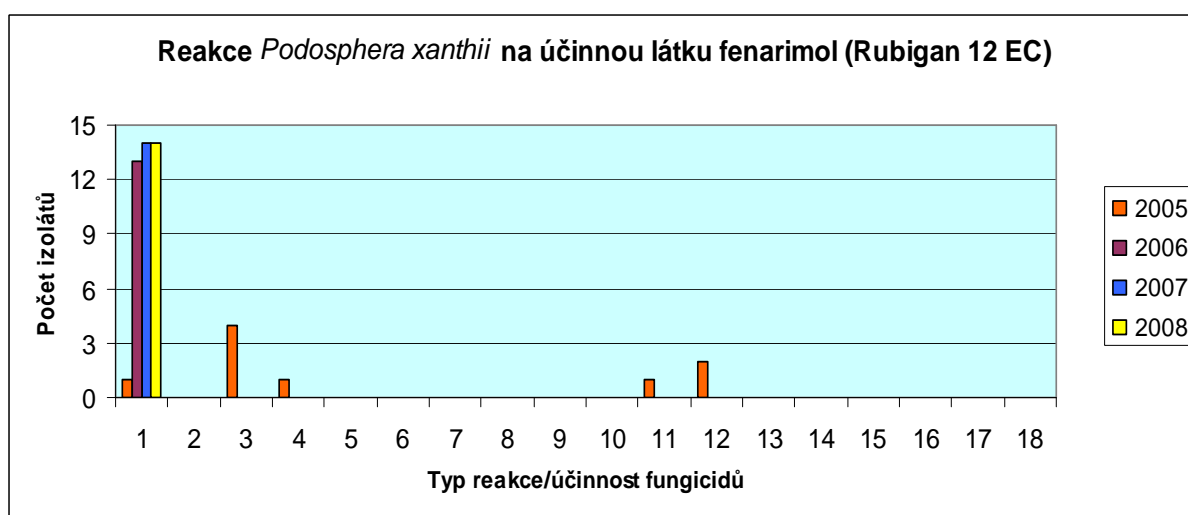
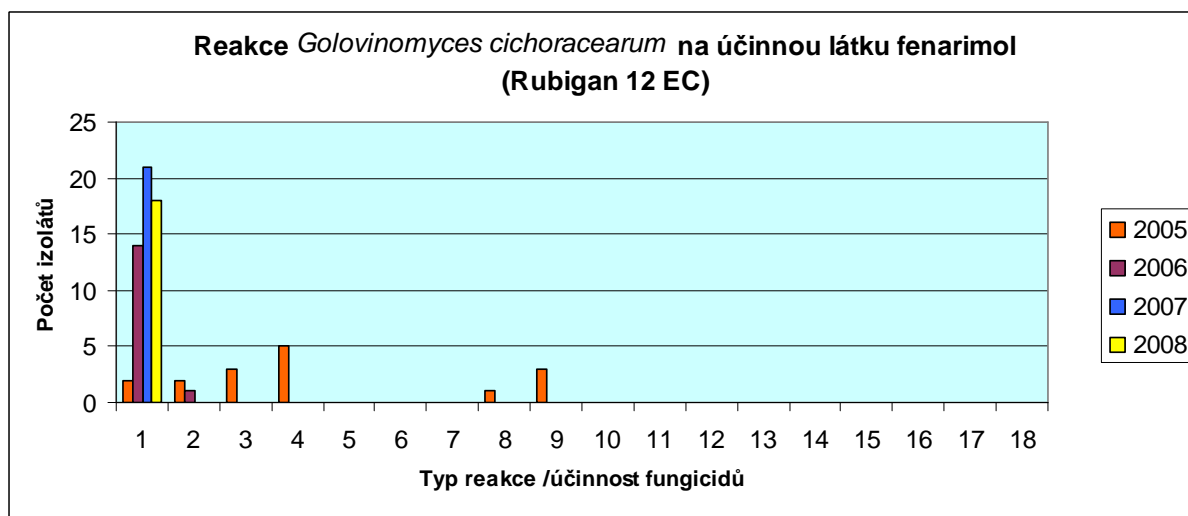
(upraveno podle Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009)

Graf 1 a 2. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Rubigan 12 EC v letech 2001-2004 (upraveno podle Sedláková a Lebeda, 2008).



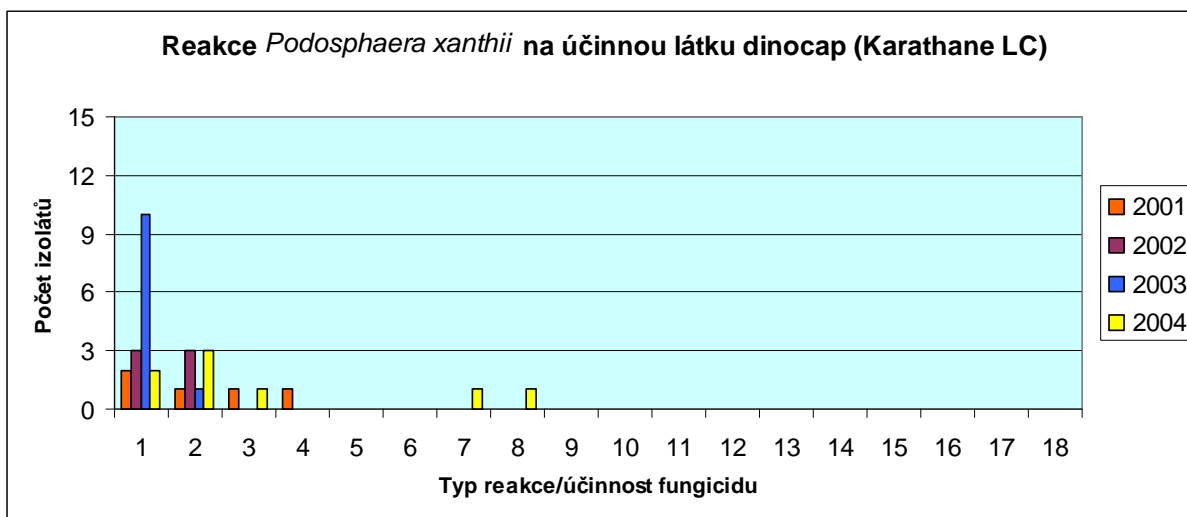
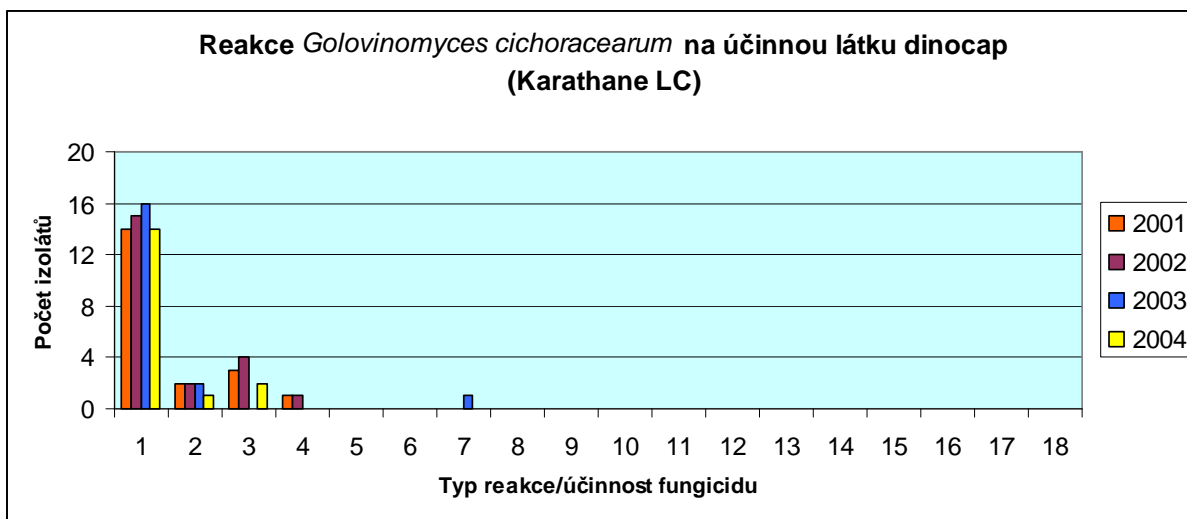
Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce						Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml): Rubigan 12 EC (fenarimol): I.- 0,008/9.6; II.- 0,015/18; III.- 0,03/36; IV.- 0,06/72, V.- 0,12/144 III. koncentrace doporučená výrobcem
	K	I.	II.	III.	IV.	V.	
1	+	-	-	-	-	-	
2	+	(-)	-	-	-	-	
3	+	(-)	(-)	-	-	-	
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-	
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
7	+	+	-	-	-	-	
8	+	+	(-)	-	-	-	
9	+	+	(-)	(-)	-	-	
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	
11	+	+	+	(-)	-	-	
12	+	+	+	(-)	(-)	-	
13	+	+	+	(-)	(-)	(-)	
14	+	+	+	+	-	-	
15	+	+	+	+	(-)	-	
16	+	+	+	+	(-)	(-)	
17	+	+	+	+	+	(-)	
18	+	+	+	+	+	+	

Graf 3 a 4. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Rubigan 12 EC v letech 2005-2008.(upraveno podle Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010)



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce						
	K	I.	II.	III.	IV.	V.	
1	+	-	-	-	-	-	Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml): Rubigan12 EC (fenarimol): I.-0,008/9.6; II.-0,015/18; III.-0,03/36; IV.-0,06/72, V.-0,12/136 III. koncentrace doporučená výrobcem
2	+	(-)	-	-	-	-	
3	+	(-)	(-)	-	-	-	
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-	
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
7	+	+	-	-	-	-	
8	+	+	(-)	-	-	-	
9	+	+	(-)	(-)	-	-	
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	
11	+	+	+	(-)	-	-	
12	+	+	+	(-)	(-)	-	
13	+	+	+	(-)	(-)	(-)	
14	+	+	+	+	-	-	
15	+	+	+	+	(-)	-	
16	+	+	+	+	(-)	(-)	
17	+	+	+	+	+	(-)	
18	+	+	+	+	+	+	

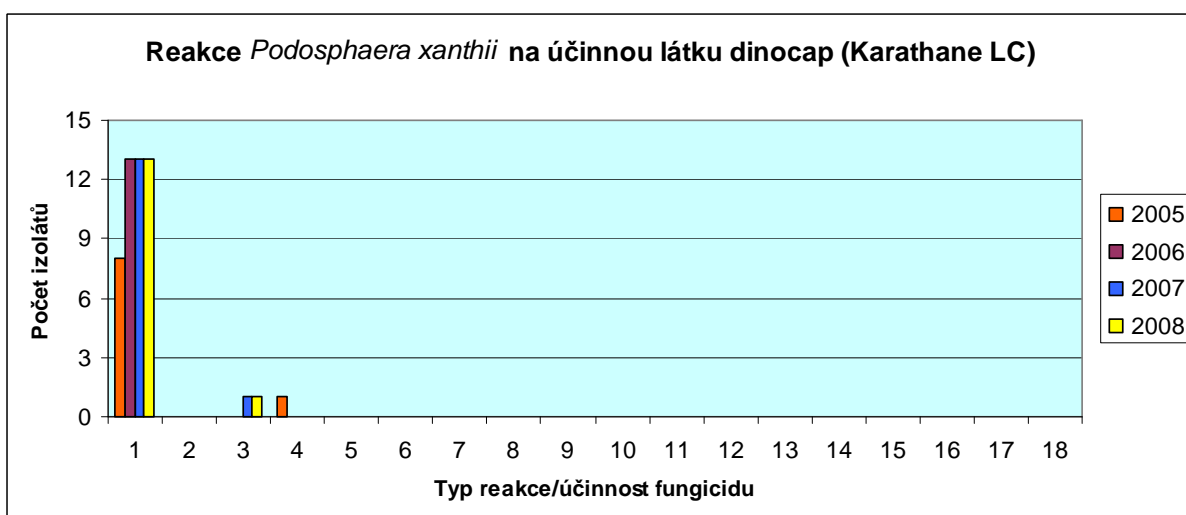
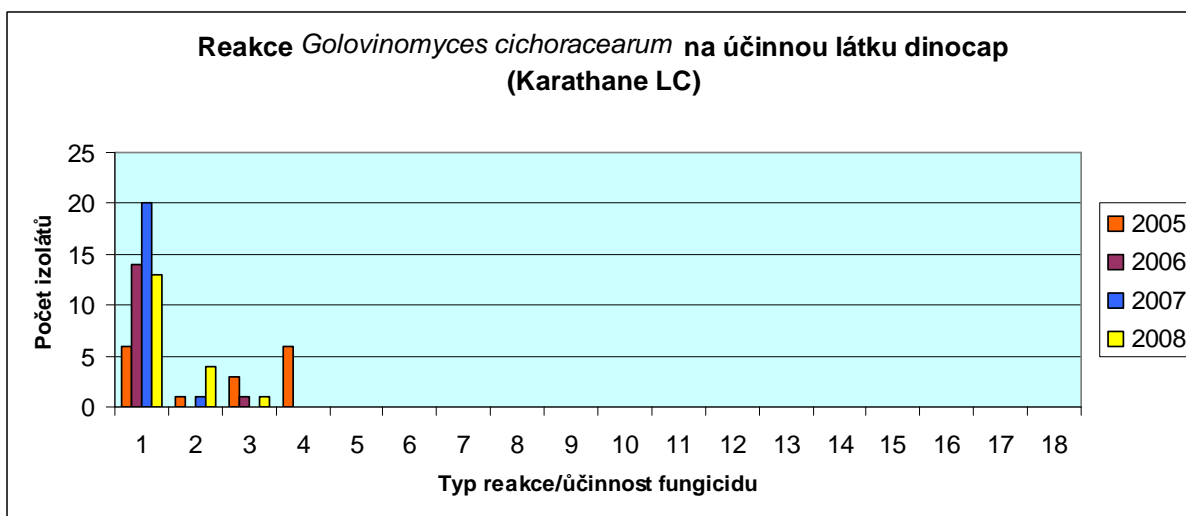
Graf 5 a 6. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Karathane LC v letech 2001-2004 (upraveno podle Sedláková a Lebeda, 2008).



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7	+	+	-	-	-	-
8	+	+	(-)	-	-	-
9	+	+	(-)	(-)	-	-
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
11	+	+	+	(-)	-	-
12	+	+	+	(-)	(-)	-
13	+	+	+	(-)	(-)	(-)
14	+	+	+	+	-	-
15	+	+	+	+	(-)	-
16	+	+	+	+	(-)	(-)
17	+	+	+	+	+	(-)
18	+	+	+	+	+	+

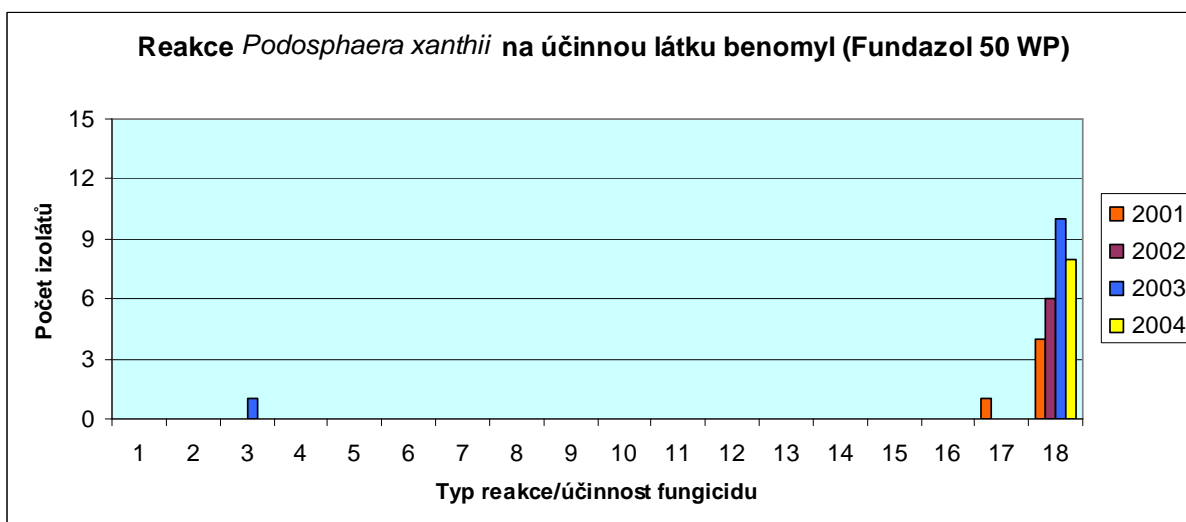
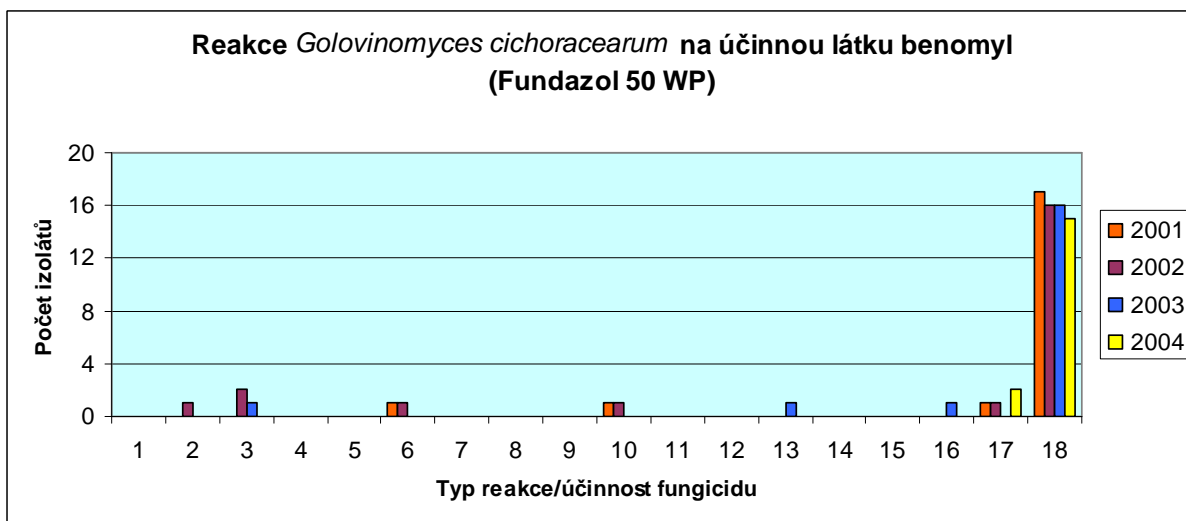
Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml):
 Karathane LC (dinocap):
 I.-0.008/28; II.-0.015/52.5; III.-0.03/105; IV.-0.06/210, V.-0.12/420
 III. koncentrace doporučená výrobcem

Graf 7 a 8. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Karathane LC v letech 2005-2008. (upraveno podle Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010)



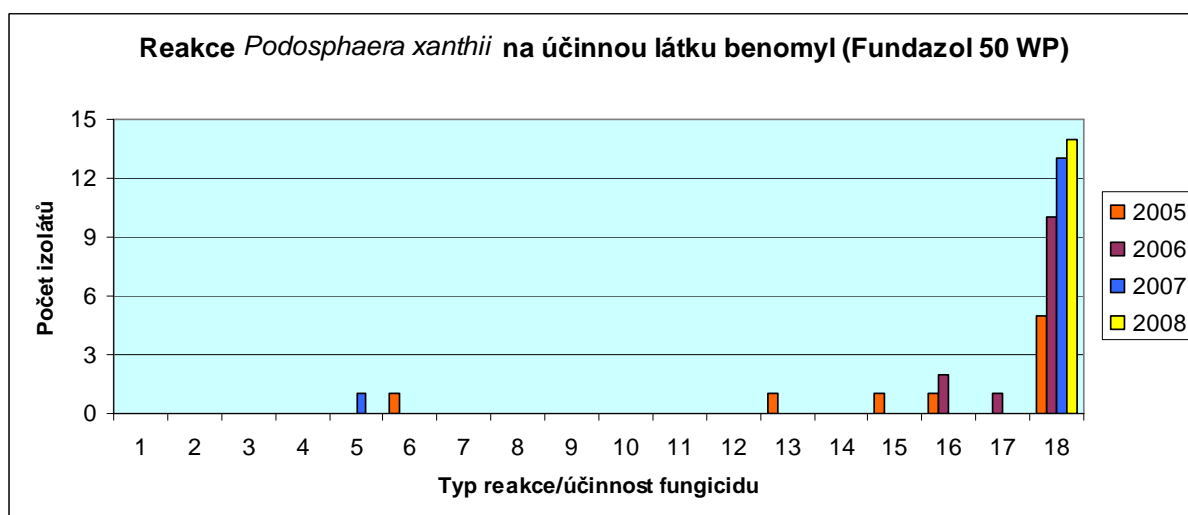
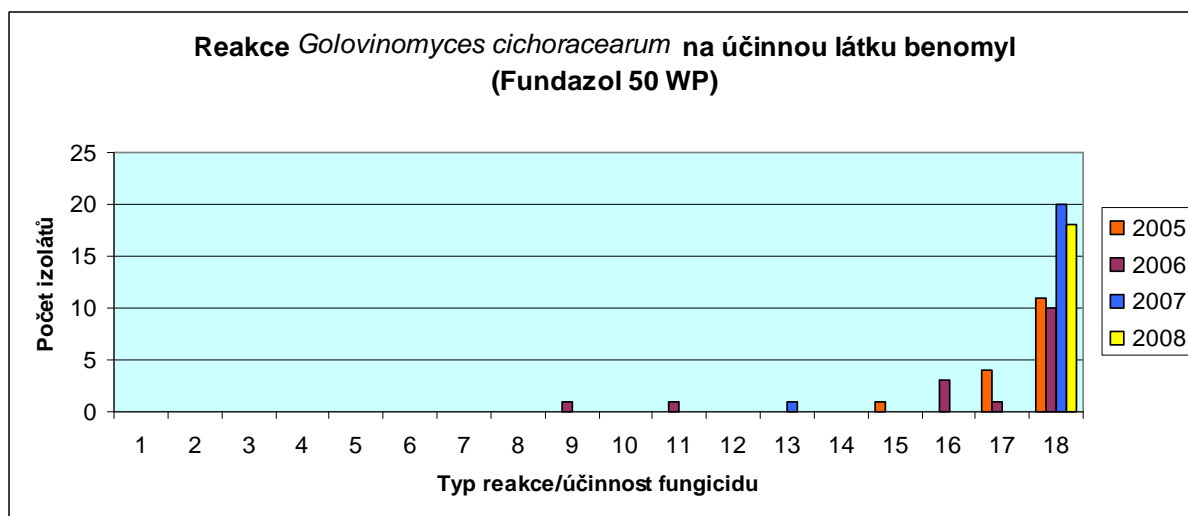
Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce							
	K	I.	II.	III.	IV.	V.		
1	+	-	-	-	-	-	Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml):	
2	+	(-)	-	-	-	-		
3	+	(-)	(-)	-	-	-		
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-		
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-		
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		
7	+	+	-	-	-	-	Karathane LC (dinocap):	
8	+	+	(-)	-	-	-		
9	+	+	(-)	(-)	-	-	I.-0.008/28; II.-0.015/52.5; III.-0.03/105; IV.-0.06/210, V.-0.12/420	
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)		
11	+	+	+	(-)	-	-		
12	+	+	+	(-)	(-)	-		
13	+	+	+	(-)	(-)	(-)		
14	+	+	+	+	-	-		
15	+	+	+	+	(-)	-		III. koncentrace doporučená výrobcem
16	+	+	+	+	(-)	(-)		
17	+	+	+	+	+	(-)		
18	+	+	+	+	+	+		

Graf 9 a 10. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Fundazol 50 WP v letech 2001-2004 (upraveno podle Sedláková a Lebeda, 2008).



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce						
	K	I.	II.	III.	IV.	V.	
1	+	-	-	-	-	-	Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml): Fundazol 50 WP (benomyl): I.-0.0125/62.5; II.-0.025/125; III.-0.05/250; IV.-0.1/500; V.-0.2/1000 III. koncentrace doporučená výrobcem
2	+	(-)	-	-	-	-	
3	+	(-)	(-)	-	-	-	
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-	
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
7	+	+	-	-	-	-	
8	+	+	(-)	-	-	-	
9	+	+	(-)	(-)	-	-	
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	
11	+	+	+	(-)	-	-	
12	+	+	+	(-)	(-)	-	
13	+	+	+	(-)	(-)	(-)	
14	+	+	+	+	-	-	
15	+	+	+	+	(-)	-	
16	+	+	+	+	(-)	(-)	
17	+	+	+	+	+	(-)	
18	+	+	+	+	+	+	

Graf 11 a 12. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Fundazol 50 WP v letech 2005-2008. (upraveno podle Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010)



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7	+	+	-	-	-	-
8	+	+	(-)	-	-	-
9	+	+	(-)	(-)	-	-
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
11	+	+	+	(-)	-	-
12	+	+	+	(-)	(-)	-
13	+	+	+	(-)	(-)	(-)
14	+	+	+	+	-	-
15	+	+	+	+	(-)	-
16	+	+	+	+	(-)	(-)
17	+	+	+	+	+	(-)
18	+	+	+	+	+	+

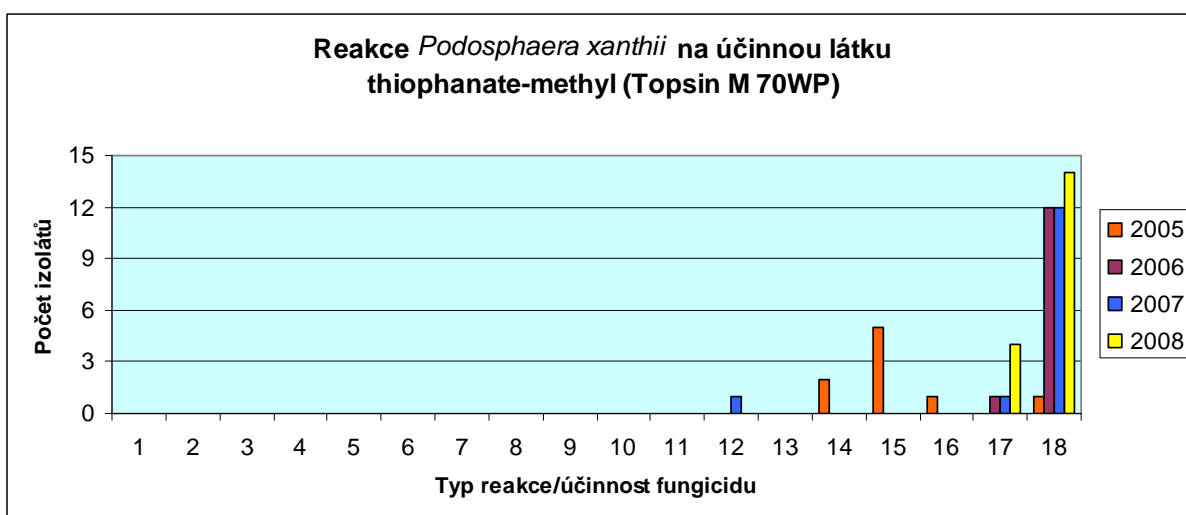
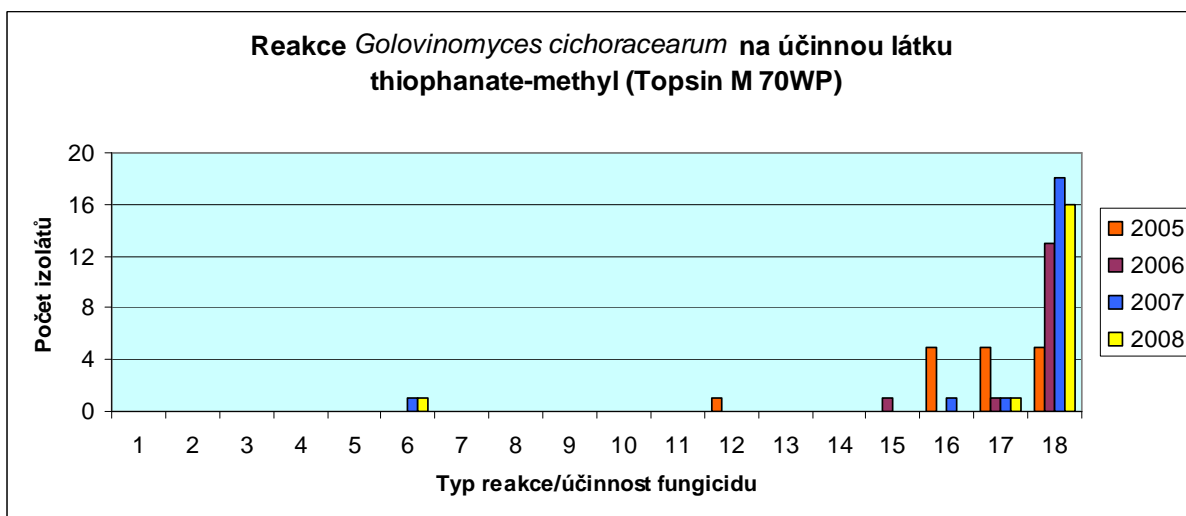
Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml):

Fundazol 50 WP (benomyl):

I.-0.0125/62.5; II.-0.025/125; III.-0.05/250;
IV.-0.1/500; V.-0.2/1000

III. koncentrace doporučená výrobcem

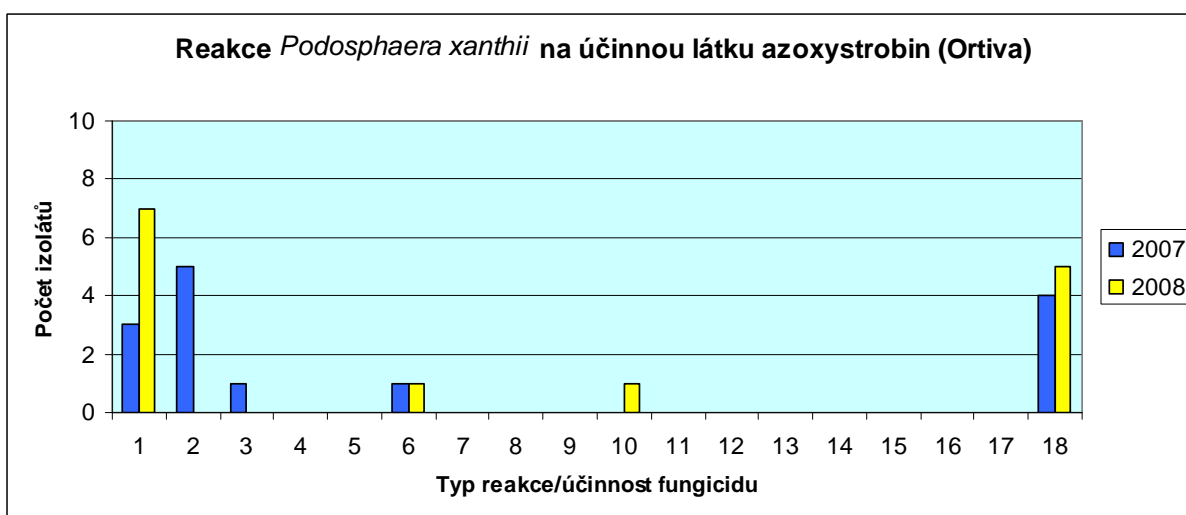
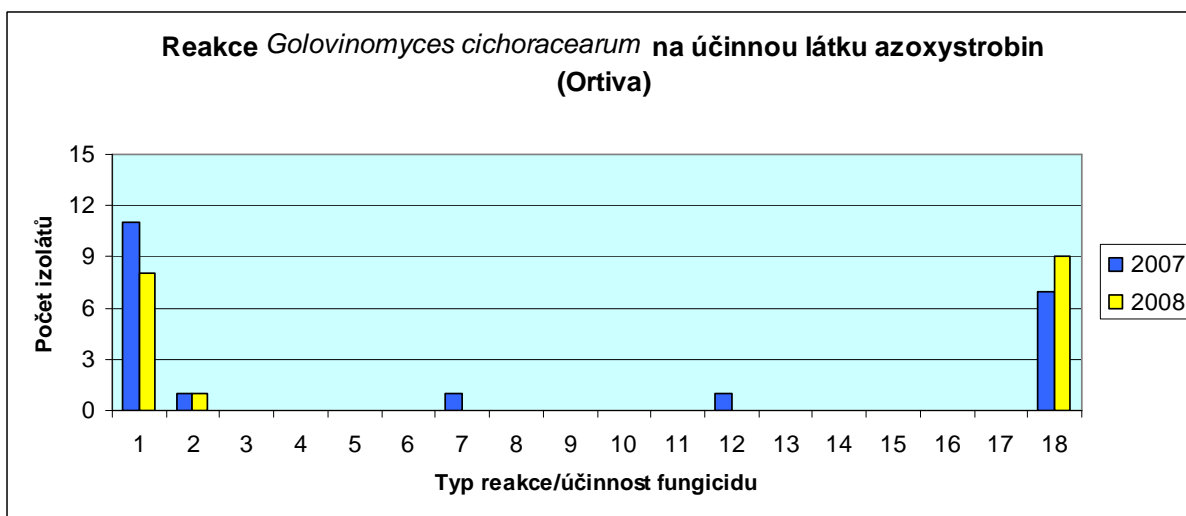
Graf 13 a 14. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Topsin M 70WP v letech 2005-2008*.(upraveno podle Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010)



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce						Koncepce fungicidu (%)/koncepce účinné látky (μg ú.l./ml): Topsin M (thiophanate-methyl): I.-0.018/131.25; II.-0.037/262.5; III.-0.075/525; IV.-0.15/1050; V.-0.3/2100 III. koncentrace doporučená výrobcem
	K	I.	II.	III.	IV.	V.	
1	+	-	-	-	-	-	
2	+	(-)	-	-	-	-	
3	+	(-)	(-)	-	-	-	
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-	
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
7	+	+	-	-	-	-	
8	+	+	(-)	-	-	-	
9	+	+	(-)	(-)	-	-	
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	
11	+	+	+	(-)	-	-	
12	+	+	+	(-)	(-)	-	
13	+	+	+	(-)	(-)	(-)	
14	+	+	+	+	-	-	
15	+	+	+	+	(-)	-	
16	+	+	+	+	(-)	(-)	
17	+	+	+	+	+	(-)	
18	+	+	+	+	+	+	

* Testováno pouze v letech 2005-2008.

Graf 15 a 16. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Ortiva v letech 2007-2008*.(upraveno podle Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010)



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce						
	K	I.	II.	III.	IV.	V.	
1	+	-	-	-	-	-	
2	+	(-)	-	-	-	-	
3	+	(-)	(-)	-	-	-	
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-	
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
7	+	+	-	-	-	-	
8	+	+	(-)	-	-	-	
9	+	+	(-)	(-)	-	-	
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	
11	+	+	+	(-)	-	-	
12	+	+	+	(-)	(-)	-	
13	+	+	+	(-)	(-)	(-)	
14	+	+	+	+	-	-	
15	+	+	+	+	(-)	-	
16	+	+	+	+	(-)	(-)	
17	+	+	+	+	+	(-)	
18	+	+	+	+	+	+	

Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml):

Ortiva (azoxystrobin):

I.-0.05/125; II.-0.1/250; III.-0.2/500; IV.-0.4/1000; V.-0.8/2000

III. koncentrace doporučená výrobcem

* Testováno pouze v letech 2007-2008.

3.8. Metodika výzkumu rezistence padlí tykvovitých k fungicidům

3.8.1. Laboratorní metody

3.8.1.1. Metody listových disků pro determinaci rezistence/tolerance k fungicidům v populaci padlí tykvovitých

Modifikovaná metoda listových disků byla vytvořena týmem pracovníků Katedry botaniky PřF UP pod vedením prof. Lebedy, který se zabývá problematikou rezistence/tolerance k fungicidům v populaci padlí tykvovitých v České republice od roku 2001 (Anonymus, 1982; Sedláková a Lebeda, 2004a,b 2006, 2008). Princip této metody a její hodnocení je podrobně popsán v kapitole 4.1.3. a 4.3 sekce Materiál a metody.

Nezávisle na této metodě vyvinuté v Česku, byla týmem pracovníků pod vedením profesorky McGrath na Kornelově univerzitě (Cornell University) v New Yorku vytvořena laboratorní metoda na posuzování citlivosti k fungicidům v populaci padlí tykvovitých (McGrath, 1996). Princip této metody spočívá v tom, že děložní lístky semenáčků tykve obecné (*Cucurbita pepo*) byly na povrchu nastříkány roztokem fungicidu dané koncentrace. Koncentrace jednotlivých testovaných fungicidů používané v testech byly odvozeny od koncentrací, které byly stanoveny předběžnými testy citlivosti již dříve než se začalo s testy. Takto ošetřené semenáčky byly ponechány přes noc v digestoři. Druhý den pak byly z jejich děložních listů dělány korkovrtem terčičky (Ø 9 mm), které byly adaxiální (spodní) stranou kladeny na vodní agar do Petriho misek rozdělených do čtyř částí (sekcí) a do každé z nich bylo dáno šest listových disků stejné koncentrace (Obr.4a). Každá Petriho miska měla v jedné ze čtyř sekcí disky neošetřené fungicidem, které sloužily jako kontrola. Každá miska byla naočkována příslušným izolátem padlí tykvovitých a inkubována 10 dní při laboratorní teplotě. Hodnocení bylo prováděno v intervalu 9-14. den od inokulace, kdy bylo hodnoceno, kolik % plochy disku je pokryto myceliem patogenu. Schopnost izolátu produkovat konidie i na fungicidem ošetřených discích byla považována za důležité měřítko tolerance/rezistence, které lze hodnotit vizuálně. Za senzitivní izoláty k danému fungicidu byly považovány ty, u nichž nebyla pozorována na disku sporulace patogenu, naopak za tolerantní, pokud bylo méně než 50% plochy disku pokryto myceliem patogenu a za rezistentní, pokud více než 50% disku pokrývalo sporulující mycelium. Pokud sporulace na disku nebyla viditelná pouhým okem, tak byl tento disk ještě

mikroskopován, aby se ověřilo, zda na něm opravdu nedošlo ke sporulaci patogenu. (Lebeda et al., 2010b)

3.8.2. Polní pokusy

Tato metoda hodnocení citlivosti k fungicidům na sazenicích tykví v polních podmínkách byla opět vyvinuta v New Yorku týmem profesorkou McGrath. (Obr. 4b-c) Princip této metody spočívá v tom, že sazenice tykve obecné (*Cucurbita pepo*) ve stádiu 3. pravého listu byly nastříkány různými fungicidy o různých koncentracích a umístěny po dobu 4 hodin na pole mezi porosty tykvovitých zelenin, kde se přirozeně vyskytovalo padlí tykvovitých. Poté byly sazenice přemístěny do skleníku a po 10 dnech bylo hodnoceno vizuálně, zda se na nich objevily příznaky infekce padlím tykvovitých a opět srovnávány s kontrolou (sazenicí *C. pepo* neošetřenou fungicidem). A navíc se také hodnotila účinnost jednotlivých fungicidů, které byly aplikovány jednou týdně na porosty tykvovitých zelenin na polích a míra rizika vzniku rezistence v populacích padlí tykvovitých k těmto fungicidům. Tyto porosty byly opět vizuálně hodnoceny každý týden, kdy se hodnotily symptomy infekce na svrchní i spodní straně listů (Lebeda et al., 2010b).

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 zemínou a zahradnickým substrátem (poměr 2:1). Rostliny byly pěstovány ve skleníku při teplotě 25°C/15 °C(den/noc), zde denně zalévány a jednou do týdne hnojeny (Kristalon Start – NU3 B. V., Vlaardingen, 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 uchování 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 12 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) (Obr. 2c-d)

V tabulce 9. je seznam použitých izolátů pro testování rezistence padlí tykvovitých k fungicidům sesbíraných z různých lokalit ČR v roce 2009, (obr. 9).

Tabulka 9. Seznam použitých izolátů pro testování rezistence padlí tykvovitých k fungicidům v roce 2009

Číslo izolátu	Kraj	Okres	Lokalita	Místo	Hostitelská rostlina	SN	Patogen	Datum sběru
3/09	JM	BV	Lednice	pole	CM	1	Gc	15.7.2009
14/09	OL	PV	Rozstání	zahrada	CP ZU	2	Gc	11.8.2009
17/09 2	JM	BK	Křtiny	zahr. kolonie	CP var. <i>oleifera</i>	2	Gc	11.8.2009
20/09	JM	BO	Želešice	pole	CP ZU	4	Gc	11.8.2009
29/09	JM	ZN	Moravský Krumlov-Polánka	zahrada	CP ZU	1	Gc	11.8.2009
38/09	JM	ZN	Prosiměřice	zahrada	CP	3	Gc	11.8.2009
41/09	JM	ZN	Lechovice	pole	CP ZU	3	Gc	11.8.2009
51/09 1	JM	HO	Čejč	pole	CP var. <i>oleifera</i>	3	Gc	13.8.2009
62/09	ZL	UH	Ostrožská Nová Ves-Chylice	pole	CM	2	Gc	13.8.2009
76/09	OL	PR	Tovačov-Annín	zahrádky	CP	2	Gc	13.8.2009
78/09	OL	OL	Dub nad Moravou	zahrada	CS	1	Gc	13.8.2009
80/09	Pardub.	UO	České Heřmanice-Netřeby	zahrada	CP	1	Gc	19.8.2009
81/09 2	Pardub.	UO	Choceň	zahr. kolonie	CP ZU	1	Gc	19.8.2009
88/09	Králov.	RK	Dobruška	zahrada, u Pneuservisů	CP	1	Gc	19.8.2009
95/09	Králov.	JC	Holovousy	zahrada	CP ZU	3	Gc	19.8.2009
100/09 1	Středoč.	MB	Prodašice	zahrada	CP ZU	4	Gc	20.8.2009
102/09	Středoč.	NY	Seletice	zahrada	CM	3	Gc	20.8.2009
109/09	Středoč.	NY	Sadská	zahrada	CP ZU	1	Gc	20.8.2009
49/09	JM	HO	Čejkovice	pole	CP ZU	3	Px	13.8.2009
63/09	ZL	UH	Ostrožská Nová Ves-Chylice	pole	CP	3	Px	13.8.2009
66/09	ZL	KM	Kvasice	pole	CP ZU	2	Px	13.8.2009
73/09	OL	PR	Polkovice	pole	CP	3	Px	13.8.2009
79/09	Pardub.	SY	Sedliště	zahrada	CP ZU	1	Px	19.8.2009
82/09 1	Králov.	RK	Černná n. Orlicí-Čičová	pole	CP	1	Px	19.8.2009
93/09	Králov.	JC	Hořice	zahrad. kolonie	CP	3	Px	19.8.2009
96/09	Králov.	JC	Konecchlumí	zahrada	CP ZU	4	Px	19.8.2009
103/09	Středoč.	NY	Mcely	zahrada	CP ZU	1	Px	20.8.2009
111/09 1	Mor-slez	NJ	NJ-Kojetín	zahrada	CP var. <i>oleifera</i>	2-3	Px	6.9.2009
120/09	Mor-slez	NJ	Trojanovice	zahr., aut.zast. restaurace U Balitů	CM	4	Px	28.9.2009

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

CP *Cucurbita pepo*, CP ZU (cuketa), CM *Cucurbita maxima* (tykev velkoplodá), CP var. *oleifera* (tykev olejná); CS *Cucumis sativus*

Gc (*Golovinomyces cichoracearum*), Px (*Podosphaera xanthii*)

4.1.3. Modifikovaná metoda listových disků a použité fungicidy

Pro zjištění rezistence obou druhů padlí na tykvovitých vůči fungicidům byla použita modifikovaná metoda listových disků (Anonymus, 1982; Sedláková a Lebeda, 2004a,b 2006, 2008).

Pro testování bylo vybráno pět fungicidních přípravků: **Rubigan 12 EC** (účinná látka/ú.l./ fenarimol, **Karathane LC** (ú.l. dinocap), **Ortiva** (ú.l. azoxystrobin), **Fundazol 50WP** (ú.l. benomyl), **Topsin M 70WP** (ú.l. thiophanate-methyl). Všechny tyto druhy fungicidů s příslušnou účinnou látkou, se testovaly v pěti koncentracích. Jedna z koncentrací byla doporučena výrobcem a dále pak dvě nad a dvě pod touto hranicí (tab. 10). Destilovaná voda sloužila jako kontrola. Poté bylo korkovrtem (průměr 15mm) vysekáno z listů okurky celkem 15 listových disků (3 opakování po 5 discích) pro každou koncentraci určitého fungicidu. Pro přípravu listových disků byly použity především starší 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 byly vydezinfikovány INCIDUREM* (výrobce: Ecolab, 6mbH & Co. OHG, Düseldorf, Německo) nebo ISORAPIDEM* (výrobce: Oro Clean Chemie AG, Fehraltorf, Švýcarsko) poté vystlány buničitou vatou a filtračním papírem a navlhčeny destilovanou vodou. V každé koncentraci bylo uloženo celkem 15 listových disků (3 opakování po pěti discích) (Obr.5), Krabičky byly ponechány přibližně hodinu otevřené ve sterilní místnosti, aby listové disky oschly, a poté byly přikryty víčkem. Po 24 hodinách byly disky inokulovány příslušnými izoláty Gc a Px a to přiložením děložního lístku (*C.sativus* Stela F1) pokrytého sporulujícím myceliem. Inkubace probíhala ve stejných podmínkách jako přechovávání izolátů.

*Tato dezinfekce plastových krabiček INCIDUREM/ISORAPIDEM měla zabránit růstu jiných houbových patogenů v miskách s inokulovanými disky na navlhčeném filtračním papíru

Tabulka 10. Testované koncentrace fungicidů (Lebeda et al., 2010b)

Fungicid	Koncentrace účinné látky (µg ú.l./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	52.5/0.015	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

*Vyráběné fungicidní přípravky měli následující účinné látky: Rubigan 12 EC ú.l.-fenarimol, Karathane LC ú.l.-dinocap, Fundazol 50 WP ú.l.-benomyl, Topsim M 70 WP ú.l.-thiophanate-methyl, Ortiva ú.l.-azoxystrobin

**koncentrace doporučená výrobcem

4.2. Charakteristika testovaných fungicidů

Rubigan 12 EC (výrobce Dow Elanco Ltd., Velká Británie)

Rubigan je postřikový lokálně systemický přípravek s eradikativní účinností. Účinnou látkou je fenarimol, který působí na klíčící vlákno klíčící spory, poté co pronikne skrze pokožku a mycelium houbového patogena. Rubigan lze aplikovat jako protektant i jako kurativní prostředek. Užívá se proti strupovitosti a padlí na okurkách a dále na jádrovinách, padlí na vinné révě, broskvoních, tabáku a okrasných rostlinách a dalším chorobám rostlin.

Karathane LC (výrobce Dow AgroSciences Ltd., Itálie)

Karathane (účinná látka dinocap) je kontaktní fungicid ze skupiny halogenovaných aromatických uhlovodíků vyznačující se kurativním, eradikativním a preventivním účinkem na různé druhy padlí (padlí na jabloních, okurkách, mrkvi, petrželi, tabáku, růžích, vinné révě a americkému padlí na angreštu).

Ortiva (výrobce Syngenta Limited, Velká Británie)

Ortiva je systemový protektivní širokospektrální fungicid. Účinná látka azoxystrobin působí proti původcům řady chorob zeleniny ze skupin Oomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes a Deuteromycetes. Inhibuje klíčení spor i růst mycelia, působí dlouhodobě a může tak zabránit vzniku nové infekce po dobu 3-8 týdnů.

Fundazol 50 WP

Fundazol 50 WP je postřikový systémový fungicid ve formě dispergovatelného prášku proti chorobám polních plodin, ovocných dřevin a okrasných rostlin, s kurativní a protektivní činností. Účinná látka benomyl je absorbována listy i kořeny rostlin a v rostlině je akropetálně translokovaný. Působí částečně ovicidně proti sviluškovitým na rostlinám.

Topsin M 70 WP (výrobce Nippon Soda Chemical Co. Ltd., Japonsko)

Topsin M je širokospektrální fungicidní systémový přípravek ze skupiny benzimidazolů, ve formě ve vodě rozpustného dispergovatelného prášku, s kurativní a protektivní činností. Účinná látka thiophanate-methyl je přijímána listy i kořeny. Slouží k ochraně proti houbovým chorobám polních plodin, okurek, olejnin, okrasných rostlin, tabáku, jahodníku a kmínu.

4.3. 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 používá pěti bodová stupnice intenzity sporulace tzn. procento listové plochy pokryté sporulujícím myceliem houby (SN - stupeň napadení) na listových discích škály 0 – 4 (Lebeda, 1984):

0 - bez příznaků

1 - < 25% stupeň napadení (SN)

2 - 25 - 50% SN

3 – 50 - 75% SN

4 – >75%

Obrázky jednotlivých stupňů napadení na listových discích viz příloha Obr. 6a-e.

Podle Townsenda & Heubergera (1943) byl vyjádřen celkový stupeň infekce pro každý izolát 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 je používána tři bodová stupnice:

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

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

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

5. Výsledky a diskuze

Při testování rezistence k vybraným fungicidům u 29 izolátů padlí tykvovitých (18 *Gc* 11 *Px*), které pocházely z ČR z roku 2009 byla ověřována i vhodnost použití modifikované metody listových disků (Anonymus, 1982; Sedláková a Lebeda, 2004a,b 2006, 2008). Tato metoda se ukázala jako vhodná pro další testování. Pouze byla doplněna o dezinfekci plastových krabiček přípravky INCIDUR nebo ISORAPID a to předtím, než byly vystlány navlhčenou buničitou vatou a filtračním papírem, což zabránilo kontaminaci misek jinými houbovými patogeny.

Přípravek **Rubigan 12 EC** (účinná látka: ú.l. **fenarimol**), testovaný v roce 2009, ukázal vysokou účinnost, kdy 97 % testovaných izolátů bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku (tzn. nesporelovalo na žádné z testovaných koncentrací), pouze u jednoho izolátu (111/09 1 *Px* lokalita Nový Jičín-Kojetín) byla zaznamenána omezená sporulace na nejnižší testované koncentraci tohoto přípravku (9,6 μg ú.l.). (Tab. 11-12, Graf 17). Avšak v roce 2009 nebyly v populaci padlí tykvovitých zjištěny kmeny s tolerancí či rezistencí ke koncentraci 1x nižší (18 μg ú.l.) než optimální (36 μg ú.l.), jak tomu bylo v letech 2001 - 2002 a 2005. Rovněž se v roce 2009 v populaci obou patogenů nevyskytly kmeny, které by tolerovaly i doporučenou koncentraci tohoto přípravku (36 μg ú.l.), případně i koncentraci 1x vyšší (72 μg ú.l.) než optimální (36 μg ú.l.), jak tomu bylo v roce 2005, kdy u tohoto přípravku byla zaznamenána snížená účinnost (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2008, 2010; Sedláková et al., 2009). Od roku 2006 se však tento přípravek jeví jako vysoce účinný a na základě výsledků z roku 2009 se zdá, že tento trend v populaci patogenu přetrvává. Protože však fenarimol, pyrimidinový fungicid patří do skupiny DMI fungicidů (inhibitorů demethylace, FRAC GROUP 3) se specifickým (single-site) způsobem účinku, které jsou aktivní pouze vůči jednomu místu jedné metabolické dráhy patogenu, je riziko vzniku rezistence v populaci patogenu větší (McGrath, 2001). A každoroční složení patogenní populace je závislé především na konidiích větrem se šířících, které se k nám dostávají z porostů tykvovitých zelenin z okolních států sousedících z ČR a které představují hlavní zdroj primárního inokula patogenu (Lebeda et al, 2010c; McGrath, 2001; Sedláková a Lebeda, 2008, 2010). A protože na základě výsledků dlouhodobého výzkumu patogenní variability populací padlí tykvovitých v ČR se ukázalo, že její složení je velmi

heterogenní, odlišné (patotypově i rasově) od ostatních evropských zemí (především Francie, Španělska, Itálie a Řecka, z ostatních evropských zemí nejsou k dispozici žádné údaje) a světa (Bardin et al., 1999; Cohen et al., 2004; del Pino et al. 2002; McCreight, 2006; Vakalounakis et al., 1994) a mění se i v čase (Lebeda a Sedláková, 2004, 2005, 2006; Sedláková a Lebeda, 2010). A nelze tedy s jistotou předvídat její další vývoj v budoucnu. Rezistence k DMI fungicidům je "kvantitativní", tzn. je výsledkem modifikací několika interagujících genů, ale použitím vyšších dávek nebo častější aplikací fungicidu může být choroba omezena (McGrath, 2001).

Přípravek **Karathane LC** (ú.l. **dinocap**) můžeme pro rok 2009 považovat (podobně jako Rubigan 12 EC) rovněž za vysoce účinný, kdy na žádné z pěti testovaných koncentrací tohoto přípravku nesporulovalo 90% testovaných izolátů. (Tab. 13-14, Graf 18) Avšak v populaci obou druhů padlí tykvovitých se vyskytly kmeny s omezenou či výraznou sporulací na koncentracích nižších než optimální (105 µg ú.l.). Konkrétně se jednalo o jeden Gc izolát (100/09 1 lokalita Prodašice), který omezeně sporuloval na koncentracích 28 a 52,5 µg ú.l. a jeden Px izolát (79/09 lokalita Sedliště), u něhož byla pozorována tolerantní reakce pouze na nejnižší testované koncentraci (28 µg ú.l.). A jeden Px izolát (111/09 1 Px lokalita Nový Jičín-Kojetín) byl rezistentní ke koncentracím 1x (28 µg ú.l.) a 2x (52,5 µg ú.l.) nižším než optimální (105 µg ú.l.). A tato reakce (označená v tabulce u grafů číslem 11, se nevyskytovala v populaci padlí tykvovitých v předchozím sledovaném období (2001-2008), poprvé byla pozorována právě až v roce 2009 u druhu Px (izolátu 111/09 1) v reakci na tento přípravek, proto v důsledku výskytu této nové reakce došlo k přečíslování všech reakcí následujících a k navýšení celkového počtu všech možných reakcí na počet 19. V roce 2009 (stejně tak jako v letech 2006-2008) nebyly v populaci patogenu detegovány kmeny s tolerancí doporučené koncentrace (105 µg ú.l.), jak tomu bylo v letech 2001-2002 a 2005 (Sedláková a Lebeda, 2008; Lebeda et al. 2010b,c) ukazuje se tedy, že by se mohlo jednat o trvalý trend, avšak vzhledem ke skutečnosti, že se v osmiletém období každoročně vyskytovaly v populaci padlí tykvovitých kmeny s tolerancí k nejnižší (28 µg ú.l.) nebo k oběma nižším koncentracím (28 a 52,5 µg ú.l.) tohoto přípravku (u některých izolátů i s rezistencí na nejnižší testované koncentraci (28 µg ú.l.)), nelze jejich výskyt v budoucnu vyloučit (Lebeda et al., 2010c; Sedláková a Lebeda, 2008, 2010). A rezistentní reakce Px izolátu 111/09 1 na koncentracích nižších než optimální, která byla v roce 2009 zaznamenána a která se dosud v předchozích letech nevyskytla, tuto skutečnost jen potvrzuje. Dinocap patří do skupiny kontaktních přípravků tzv.

multi-site fungicidů (FRAC group 29), které působí nespecificky na mnoha místech v metabolismu patogenu a jsou méně citlivé k vývinu rezistence (McGrath, 2001; FRAC). Rezistence k dinocapu (stejně jako k fenarimolu) je "kvantitativní" (McGrath, 2001).

Přípravek **Fundazol 50 WP** (ú.l. **benomyl**), testovaný v roce 2009, se ukázal jako zcela neúčinný, kdy téměř všechny izoláty byly zcela rezistentní ke všem testovaným koncentracím tohoto přípravku (s výjimkou jednoho Gc izolátu: 100/09 1 lokalita: Prodašice, který pouze omezeně sporuloval na nejvyšší testované koncentraci tohoto přípravku (1000 µg ú.l.), k ostatním byl rezistentní). (Tab. 15-16, Graf 19). Velmi nízká účinnost tohoto přípravku byla zaznamenána v ČR i v předchozím osmiletém období (Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2008, 2010).

Přípravek **Topsin M 70 WP** (ú.l. **thiophanate-methyl**), testovaný v roce 2009, se ukázal stejně jako přípravek Fundazol 50 WP zcela neúčinný, kdy téměř všechny izoláty byly zcela rezistentní ke všem testovaným koncentracím tohoto přípravku (s výjimkou jednoho Gc izolátu: 88/09 lokalita: Dobruška, který pouze omezeně sporuloval na nejvyšší testované koncentraci tohoto přípravku (2100 µg ú.l.), k ostatním byl rezistentní). (Tab. 17-18, Graf 20). Tato skutečnost koresponduje s údaji z ČR z let 2005-2007 (Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010; Sedláková et al., 2009).

Jak **benomyl**, tak rovněž i **thiophanate-methyl** patří do skupiny benzimidazolových fungicidů (FRAC group 1) s vysokým rizikem vzniku rezistence (McGrath, 2001) a rezistence k této skupině fungicidů je "kvalitativní", tzn. může být výsledkem modifikace jednoho genu, což může vést k úplné ztrátě kontroly nad touto chorobou, a nelze tomu zabránit ani použitím vyšších dávek nebo častější aplikací přípravku (McGrath, 2001). To by mohlo být jedním z možných vysvětlení jeho neúčinnosti v české populaci padlí tykvovitých, dalším by mohla být skutečnost, že mezi těmito dvěma benzimidazolovými fungicidy, benomylem a thiophanate-methylem, mohlo dojít ke cross-rezistenci, která se mohla vyvinout v české populaci padlí tykvovitých, protože benomyl byl v minulosti jedním z nejčastěji používaných přípravků v ochraně porostů tykvovitých zelenin. (Lebeda et al. 2010c). Rezistence k benomylu je jednou z nejčastěji uváděných rezistencí ze světa (Lebeda et al., 2010c; Lebeda a Sedláková, 2004; McGrath, 2001).

Přípravek **Ortiva** (ú.l. **azoxystrobin**) vykazoval sníženou účinnost, i když v populaci padlí tykvovitých byla většina (u Gc izolátů - 78%) a více než polovina (u Px izolátů - 55%) kontrolována všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku,

vyskytly se však v populaci obou patogenů kmeny, které byly zcela rezistentní ke všem testovaným koncentracím tohoto přípravku (s výjimkou jednoho Gc izolátu: 41/09 lokalita: Lechovice, který pouze omezeně sporuloval na nejvyšší testované koncentraci tohoto přípravku (2000 µg ú.l.), k ostatním byl rezistentní). Tyto izoláty Gc i Px, které byly zcela rezistentní k tomuto přípravku pocházely z různých lokalit ČR, a to jak z Čech, tak rovněž i z jižní, střední a severní Moravy, nedá se tedy říct, že by výskyt těchto rezistentních kmenů byl vázán na určitou geografickou oblast. Snížená účinnost tohoto přípravku byla potvrzena v české populaci padlí tykvovitých i v letech 2007-2008 (Jeřábková, 2010; Lebeda et al., 2010b,c; Sedláková a Lebeda, 2010). Avšak na rozdíl od předchozího dvouletého období došlo v Gc populaci v roce 2009 ke zvýšení frekvence výskytu kmenů zcela senzitivních ke všem testovaným koncentracím tohoto fungicidu a naopak k poklesu frekvence zastoupení kmenů zcela rezistentních (s výraznou sporulací na všech testovaných koncentracích tohoto přípravku), v případě druhu Px však tato skutečnost nebyla pozorována. Azoxystrobin patří mezi strobilurinové QoI fungicidy (FRAC group 11) se specifickým (single-site) způsobem účinku s vysokým rizikem vzniku rezistence v populaci patogenu a rezistence k této skupině fungicidů je "kvalitativní" stejně jako u benomyly, což znamená, že kmeny patogenů jsou buď vysoce senzitivní nebo vysoce rezistentní (McGrath, 2001, 2006; Ishii et al. 2001). Tento fakt nekoresponduje se situací v české populaci padlí tykvovitých ve vztahu k azoxystrobinu v letech 2007-2008 a také i s výsledky této bakalářské práce z roku 2009, protože v české populaci padlí tykvovitých se současně vyskytují kmeny patogenů s rezistencí k azoxystrobinu, a rovněž i kmeny s tolerancí ke všem testovaným koncentracím azoxystrobinu, což může být dáno strukturou patogenní populace v ČR, která je vysoce variabilní ve své patogenitě a virulenci a zcela odlišná od ostatních evropských zemí i světa (Bardin et al., 1999; Cohen et al., 2004; del Pino et al. 2002; McCreight, 2006; Vakalounakis et al., 1994) a mění se i v čase (Lebeda a Sedláková, 2004, 2005, 2006; Sedláková a Lebeda, 2010). Rezistence k azoxystrobinu se v mnoha zemích východní Asie a v oblastech kolem Středozemního moře vyvinula už po prvním roce jejich používání (Hollomon a Wheeler, 2002).

Tab. 11-12. Intenzita sporulace (%) u izolátů *Px* a *Gc* (2009) ošetřených přípravkem RUBIGAN 12 EC

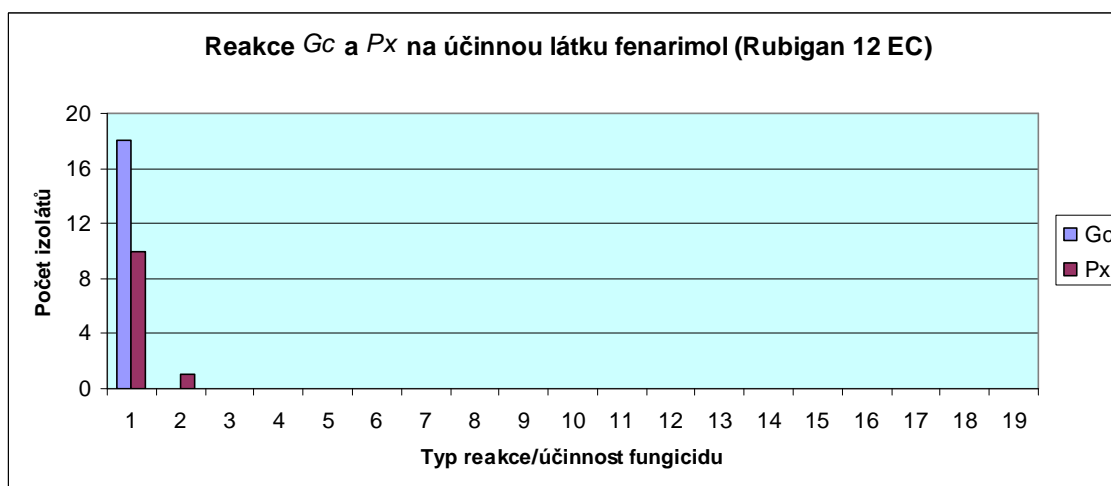
Patogen Číslo izolátu	RUBIGAN 12 EC (fenarimol) (koncentrace ú.l.µg/ml)					
	C	9,6	18	36*	72	144
<i>Gc</i>						
3/09	100,0	0	0	0	0	0
014/09	91,67	0	0	0	0	0
17/09 2	100,0	0	0	0	0	0
20/09	100,0	0	0	0	0	0
29/09	86,67	0	0	0	0	0
38/09	76,67	0	0	0	0	0
41/09	80,0	0	0	0	0	0
51/09 1	80,0	0	0	0	0	0
62/09	100,0	0	0	0	0	0
76/09	78,33	0	0	0	0	0
78/09	70,0	0	0	0	0	0
80/09	63,33	0	0	0	0	0
81/09 2	88,33	0	0	0	0	0
88/09	90,0	0	0	0	0	0
95/09	86,67	0	0	0	0	0
100/09 1	100,0	0	0	0	0	0
102/09	95,0	0	0	0	0	0
109/09	80,0	0	0	0	0	0

Patogen Číslo izolátu	RUBIGAN 12 EC (fenarimol) (koncentrace ú.l.µg/ml)					
	C	9,6	18	36*	72	144
<i>Px</i>						
49/09	83,33	0	0	0	0	0
63/09	75,0	0	0	0	0	0
66/09	75,0	0	0	0	0	0
73/09	85,0	0	0	0	0	0
79/09	78,33	0	0	0	0	0
82/09 1	70,0	0	0	0	0	0
93/09	71,67	0	0	0	0	0
96/09	81,67	0	0	0	0	0
103/09	85,0	0	0	0	0	0
120/09	85,0	0	0	0	0	0
**111/09 1	100,0	15,0	0	0	0	0

*koncentrace doporučená výrobcem

**111/09 1 *Px* lokalita Nový Jičín-Kojetín (Moravsko-slezský kraj, okres Nový Jičín)

Graf 17. Intenzita sporulace izolátů u přípravku RUBIGAN 12 EC v roce 2009*.



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce						Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml):
	K	I.	II.	III.	IV.	V.	
1	+	-	-	-	-	-	Rubigan 12 EC (fenarimol): I.- 0,008/9.6; II.- 0,015/18; III.- 0,03/36; IV.- 0,06/72, V.- 0,12/144 III. koncentrace doporučená výrobcem
2	+	(-)	-	-	-	-	
3	+	(-)	(-)	-	-	-	
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-	
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
7	+	+	-	-	-	-	
8	+	+	(-)	-	-	-	
9	+	+	(-)	(-)	-	-	
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	
11**	+	+	+	-	-	-	
12	+	+	+	(-)	-	-	
13	+	+	+	(-)	(-)	-	
14	+	+	+	(-)	(-)	(-)	
15	+	+	+	+	-	-	
16	+	+	+	+	(-)	-	
17	+	+	+	+	(-)	(-)	
18	+	+	+	+	+	(-)	
19	+	+	+	+	+	+	

*číselné označení reakcí (1-19)/účinnosti fungicidu platí pouze pro rok 2009

**Tato reakce označená v tabulce jako 11 se nevyskytovala v populaci padlí tykvovitých v předchozích sledovaných letech (2001-2008), poprvé byla pozorována až v roce 2009 u druhu Px (izolátu 111/09 1 Px) v reakci na přípravek Karathane LC, a proto v důsledku výskytu této nové reakce došlo k přečíslování všech reakcí následujících a k navýšení celkového počtu všech možných reakcí na počet 19

Tab. 13-14. Intenzita sporulace (%) u izolátů *Px* a *Gc* (2009) ošetřených přípravkem KARATHANE LC

Patogen	KARATHANE LC (dinocap) (koncentrace ú.l.µg/ml)					
Číslo izolátu	C	28	52,5	105*	210	420
<i>Gc</i>						
3/09	100,0	3,33	3,33	0	0	0
14/09	90,0	0	0	0	0	0
17/09 2	100,0	0	0	0	0	0
20/09	100,0	0	0	0	0	0
29/09	73,33	0	0	0	0	0
38/09	100,0	0	0	0	0	0
41/09	100,0	0	0	0	0	0
51/09 1	81,67	0	0	0	0	0
62/09	100,0	0	0	0	0	0
76/09	100,0	0	0	0	0	0
78/09	76,67	0	0	0	0	0
80/09	75,0	0	0	0	0	0
81/09 2	60,0	0	0	0	0	0
88/09	78,33	0	0	0	0	0
95/09	85,0	0	0	0	0	0
102/09	100,0	0	0	0	0	0
109/09	73,33	0	0	0	0	0
**100/09 1	76,67	11,67	11,67	0	0	0

Patogen	KARATHANE LC (dinocap) (koncentrace ú.l.µg/ml)					
Číslo izolátu	C	28	52,5	105*	210	420
<i>Px</i>						
49/09	100,0	0	0	0	0	0
63/09	75,0	0	0	0	0	0
66/09	78,33	0	0	0	0	0
73/09	73,33	0	0	0	0	0
82/09 1	80,0	0	0	0	0	0
93/09	100,0	1,67	0	0	0	0
96/09	63,33	0	0	0	0	0
103/09	91,67	0	0	0	0	0
120/09	78,0	0	0	0	0	0
**79/09	100,0	11,67	0	0	0	0
**111/09 1	100,0	36,67	35,0	5,0	0	0

*koncentrace doporučená výrobcem

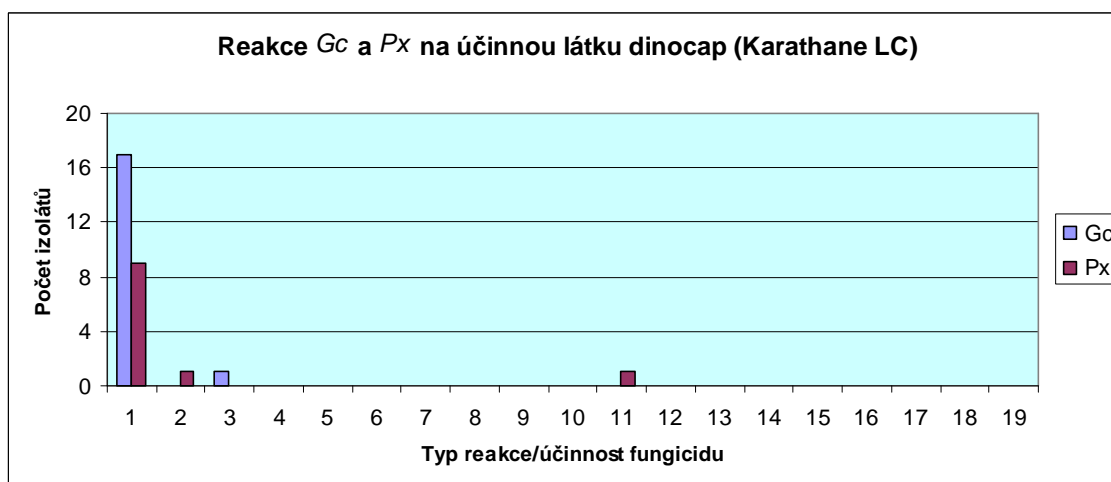
**Původ izolátů padlí tykvovitých, u nichž byla zaznamenána omezená nebo výrazná sporulace na koncentracích tohoto přípravku nižších než optimální:

100/09 1 Gc lokalita: Prodašice (kraj: Středoč., okres: Mladá Boleslav);

79/09 Px lokalita: Sedliště (kraj: Pardub., okres: Svitavy)

111/09 1 Px lokalita: Nový Jičín-Kojetín (kraj: Moravsko-slezský, okres: Nový Jičín)

Graf 18. Intenzita sporulace izolátů u přípravku KARATHANE LC v roce 2009*.



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7	+	+	-	-	-	-
8	+	+	(-)	-	-	-
9	+	+	(-)	(-)	-	-
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
11**	+	+	+	-	-	-
12	+	+	+	(-)	-	-
13	+	+	+	(-)	(-)	-
14	+	+	+	(-)	(-)	(-)
15	+	+	+	+	-	-
16	+	+	+	+	(-)	-
17	+	+	+	+	(-)	(-)
18	+	+	+	+	+	(-)
19	+	+	+	+	+	+

Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml):

Karathane LC (dinocap):

I.-0.008/28; II.-0.015/52.5; III.-0.03/105; IV.-0.06/210, V.-0.12/420

III. koncentrace doporučená výrobcem

*číselné označení reakcí (1-19)/účinnosti fungicidu platí pouze pro rok 2009

**Tato reakce označená v tabulce jako 11 se nevyskytovala v populaci padlí tykvovitých v předchozích sledovaných letech (2001-2008), poprvé byla pozorována až v roce 2009 u druhu Px (izolátu 111/09 1 Px) v reakci na přípravek Karathane LC, a proto v důsledku výskytu této nové reakce došlo k přečíslování všech reakcí následujících a k navýšení celkového počtu všech možných reakcí na počet 19.

Tab. 15-16. Intenzita sporulace (%) u izolátů *Px* a *Gc* (2009) ošetřených přípravkem FUNDAZOL 50 WP

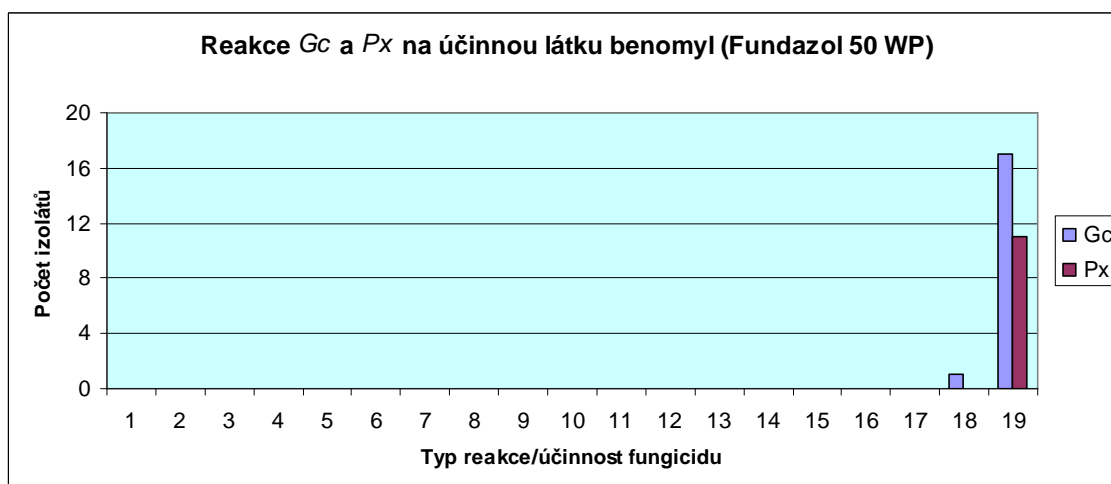
Patogen Číslo izolátu	FUNDAZOL 50 WP (benomyl) (koncentrace ú.l.µg/ml)					
	C	62,5	125	250*	500	1000
<i>Gc</i>						
**100/09 1	63,33	51,67	48,33	46,67	35,0	33,33
3/09	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	85,0
14/09	100,0	100,0	100,0	96,67	78,33	73,33
17/09 2	83,33	80,0	78,33	71,67	66,67	58,33
20/09	100,0	100,0	93,33	86,67	81,67	65,0
29/09	100,0	85,0	76,67	75,0	63,33	51,67
38/09	90,0	81,67	80,0	78,33	70,0	55,0
41/09	85,0	81,67	68,33	63,33	46,67	43,33
51/09 1	100,0	100,0	100,0	100,0	73,33	60,0
62/09	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
76/09	76,67	71,67	61,67	58,33	58,33	51,67
78/09	73,33	70,0	66,67	58,33	56,67	41,67
80/09	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
81/09 2	93,33	93,33	85,0	83,33	81,67	50,0
88/09	100,0	100,0	100,0	93,33	91,67	81,67
95/09	100,0	96,67	95,0	86,67	83,33	81,67
102/09	86,67	85,0	83,33	83,33	80,0	78,33
109/09	75,0	70,0	58,33	56,67	53,33	51,67

Patogen Číslo izolátu	FUNDAZOL 50 WP (benomyl) (koncentrace ú.l.µg/ml)					
	C	62,5	125	250*	500	1000
<i>Px</i>						
49/09	100,0	100,0	93,33	86,67	80,0	68,33
63/09	85,0	81,67	81,67	81,67	75,0	75,0
66/09	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	96,67
73/09	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
79/09	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
82/09 1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
93/09	100,0	100,0	100,0	81,67	80,0	76,67
96/09	100,0	100,0	100,0	86,67	83,33	78,33
103/09	100,0	100,0	100,0	91,67	83,33	76,67
111/09 1	100,0	100,0	100,0	100,0	96,67	93,33
120/09	100,0	100,0	100,0	90,0	78,33	76,67

*koncentrace doporučená výrobcem

**100/09 1 *Gc* lokalita: Prodašice (kraj: Středoč., okres: Mladá Boleslav)

Graf 19. Intenzita sporulace izolátů u přípravku FUNDAZOL 50 WP v roce 2009*.



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce						Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml):
	K	I.	II.	III.	IV.	V.	
1	+	-	-	-	-	-	Fundazol 50 WP (benomyl): I.-0.0125/62.5; II.-0.025/125; III.-0.05/250; IV.-0.1/500; V.-0.2/1000 III. koncentrace doporučená výrobcem
2	+	(-)	-	-	-	-	
3	+	(-)	(-)	-	-	-	
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-	
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
7	+	+	-	-	-	-	
8	+	+	(-)	-	-	-	
9	+	+	(-)	(-)	-	-	
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	
11**	+	+	+	-	-	-	
12	+	+	+	(-)	-	-	
13	+	+	+	(-)	(-)	-	
14	+	+	+	(-)	(-)	(-)	
15	+	+	+	+	-	-	
16	+	+	+	+	(-)	-	
17	+	+	+	+	(-)	(-)	
18	+	+	+	+	+	(-)	
19	+	+	+	+	+	+	

*číselné označení reakcí (1-19)/účinnosti fungicidu platí pouze pro rok 2009

**Tato reakce označená v tabulce jako 11 se nevyskytovala v populaci padlí tykvoovitých v předchozích sledovaných letech (2001-2008), poprvé byla pozorována až v roce 2009 u druhu Px (izolátu 111/09 1 Px) v reakci na přípravek Karathane LC, a proto v důsledku výskytu této nové reakce došlo k přečíslování všech reakcí následujících a k navýšení celkového počtu všech možných reakcí na počet 19

Tab. 17-18. Intenzita sporulace (%) u izolátů *Px* a *Gc* (2009) ošetřených přípravkem TOPSIN M

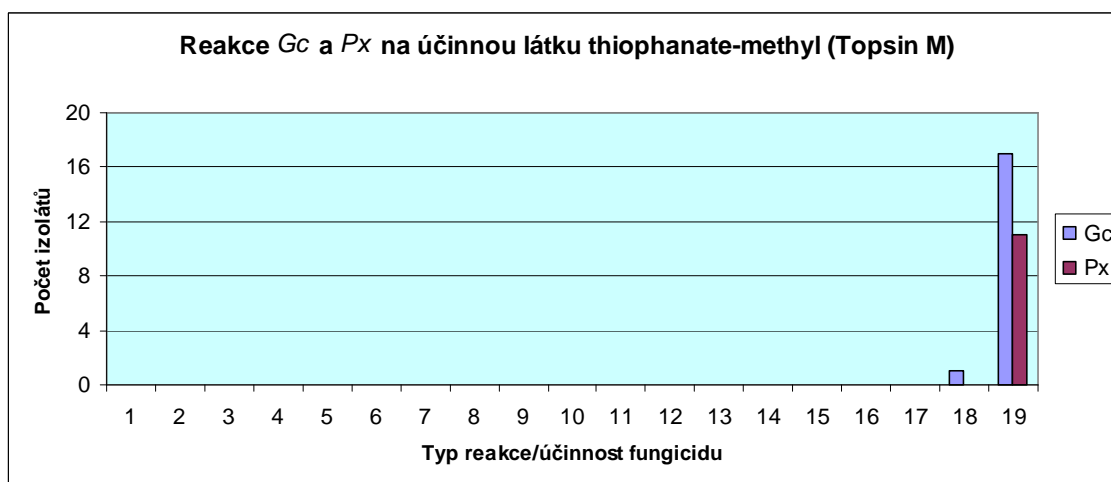
Patogen	TOPSIN M (thiophanate-methyl) (koncentrace ú.l.µg/ml)						
	Číslo izolátu	C	131,25	262,5	525*	1050	2100
<i>Gc</i>							
**88/09		71,67	70,0	63,33	56,67	51,67	33,33
3/09		100,0	100,0	93,33	90,0	78,33	66,67
14/09		86,67	85,0	81,67	81,67	80,0	80,0
17/09 2		100,0	100,0	100,0	100,0	91,67	86,67
20/09		71,67	53,33	51,67	51,67	43,33	38,33
29/09		78,33	75,0	75,0	75,0	68,33	61,67
38/09		93,33	93,33	61,67	50,0	43,33	40,0
41/09		100,0	100,0	91,67	88,33	83,33	40,0
51/09 1		85,0	85,0	85,0	81,67	80,0	65,0
62/09		100,0	95,0	95,0	95,0	88,33	88,33
76/09		81,67	80,0	68,33	58,33	51,67	43,33
78/09		88,33	86,67	76,67	58,33	53,33	50,0
80/09		80,0	65,0	63,33	61,67	56,67	50,0
81/09 2		91,67	83,33	73,33	61,67	45,0	40,0
95/09		100,0	100,0	100,0	100,0	96,67	91,67
100/09 1		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
102/09		81,67	76,67	73,33	65,0	63,33	63,33
109/09		100,0	78,33	75,0	75,0	70,0	66,67

Patogen	TOPSIN M (thiophanate-methyl) (koncentrace ú.l.µg/ml)						
	Číslo izolátu	C	131,25	262,5	525*	1050	2100
<i>Px</i>							
49/09		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
63/09		100,0	100,0	100,0	83,33	80,0	68,33
66/09		65,0	63,33	60,0	55,0	50,0	43,0
73/09		100,0	96,67	95,0	93,33	83,33	80,0
79/09		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	96,67
82/09 1		100,0	100,0	100,0	100,0	96,67	91,67
93/09		100,0	100,0	100,0	91,67	85,0	83,33
96/09		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
103/09		100,0	100,0	100,0	100,0	86,67	80,0
111/09 1		100,0	100,0	100,0	100,0	96,67	76,67
120/09		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

*koncentrace doporučená výrobcem

**88/09 *Gc* lokalita: Dobruška (kraj: Králov., okres: Rychnov nad Kněžnou)

Graf 20. Intenzita sporulace izolátů u přípravku TOPSIN M v roce 2009*.



Typ reakce/účinnosti fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7	+	+	-	-	-	-
8	+	+	(-)	-	-	-
9	+	+	(-)	(-)	-	-
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
11**	+	+	+	-	-	-
12	+	+	+	(-)	-	-
13	+	+	+	(-)	(-)	-
14	+	+	+	(-)	(-)	(-)
15	+	+	+	+	-	-
16	+	+	+	+	(-)	-
17	+	+	+	+	(-)	(-)
18	+	+	+	+	+	(-)
19	+	+	+	+	+	+

Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml):

Topsin M (thiophanate-methyl):

I.-0.018/131.25; II.-0.037/262.5; III.-0.075/525; IV.-0.15/1050; V.-0.3/2100

III. koncentrace doporučená výrobcem

*číselné označení reakcí (1-19)/účinnosti fungicidu platí pouze pro rok 2009

**Tato reakce označená v tabulce jako 11 se nevyskytovala v populaci padlí tykvovitých v předchozích sledovaných letech (2001-2008), poprvé byla pozorována až v roce 2009 u druhu Px (izolátu 111/09 1 Px) v reakci na přípravek Karathane LC, a proto v důsledku výskytu této nové reakce došlo k přečíslování všech reakcí následujících a k navýšení celkového počtu všech možných reakcí na počet 19

Tab. 19-20. Intenzita sporulace (%) u izolátů *Px* a *Gc* (2009) ošetřených přípravkem
ORTIVA

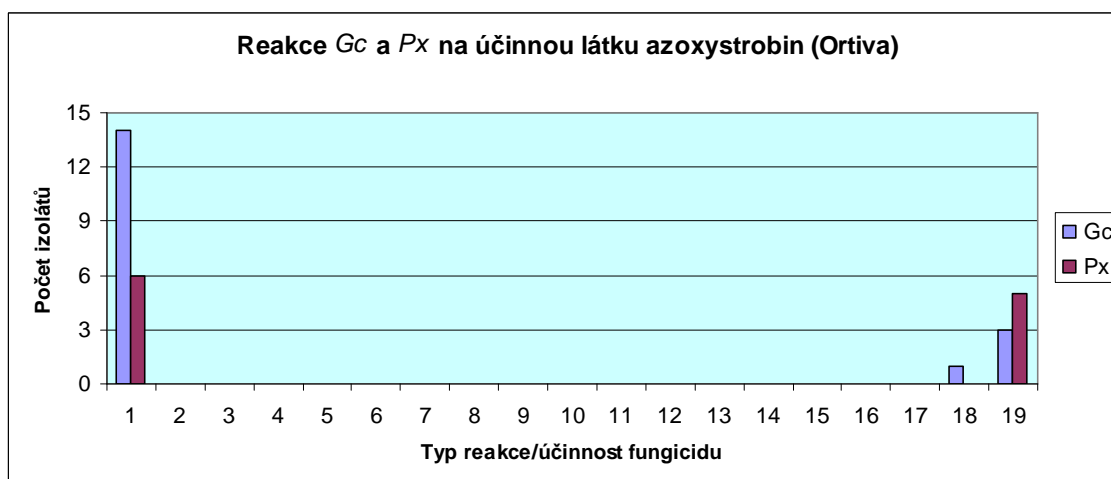
Patogen Číslo izolátu	ORTIVA (azoxystrobin) (koncentrace ú.l.µg/ml)					
	C	125	250	500*	1000	2000
<i>Gc</i>						
3/09	83,33	0	0	0	0	0
14/09	76,67	8,33	8,33	6,67	6,67	6,67
17/09 2	53,33	0	0	0	0	0
20/09	100,0	5,0	5,0	5,0	0	0
29/09	73,33	0	0	0	0	0
38/09	76,67	0	0	0	0	0
51/09 1	100,0	3,33	3,33	3,33	3,33	0
76/09	100,0	0	0	0	0	0
80/09	81,67	0	0	0	0	0
81/09 2	100,0	0	0	0	0	0
88/09	100,0	0	0	0	0	0
95/09	100,0	0	0	0	0	0
102/09	76,67	0	0	0	0	0
109/09	85,0	0	0	0	0	0
**41/09	100,0	55,0	51,67	50,0	40,0	30,0
**62/09	100,0	100,0	100,0	100,0	81,67	81,67
**78/09	100,0	90,0	88,33	80,0	76,67	71,67
**100/09 1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Patogen Číslo izolátu	ORTIVA (azoxystrobin) (koncentrace ú.l.µg/ml)					
	C	125	250	500*	1000	2000
<i>Px</i>						
66/09 Px	78,33	0	0	0	0	0
73/09 Px	100,0	0	0	0	0	0
79/09 Px	100,0	0	0	0	0	0
82/09 1 Px	100,0	0	0	0	0	0
93/09 Px	100,0	0	0	0	0	0
103/09 Px	81,67	0	0	0	0	0
**49/09 Px	83,33	80,0	76,67	71,67	63,33	56,67
**63/09 Px	78,33	78,33	68,33	61,67	56,67	55,0
**96/09 Px	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
**111/09 1 Px	100,0	100,0	100,0	76,67	75,0	71,67
**120/09 Px	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

*koncentrace doporučená výrobcem

****Původ izolátů, u nichž byla zaznamenána výrazná sporulace na všech testovaných koncentracích tohoto přípravku:** **41/09 Gc** lokalita: Lechovice (kraj: Jihomorav., okres: Znojmo) na nejvyšší testované koncentraci zaznamenána pouze omezená sporulace); **62/09 Gc** lokalita: Ostrožská Nová Ves-Chylice; (kraj: Jihomorav., okres: Uher. Hradiště); **78/09 Gc** lokalita: Dub nad Moravou (kraj: Olomoucký, okres: OL); **100/09 1 Gc** lokalita: Prodašice (kraj: Středoč., okres: Mladá Boleslav); **49/09 Px** lokalita: Čejkovice (kraj: Jihomorav., okres: Hodonín); **63/09 Px** lokalita: Ostrožská Nová Ves-Chylice (kraj: Zlínský, okres: Uher. Hradiště); **96/09 Px** lokalita: Konecchlumí (kraj: Královohradecký, okres: Jičín); **111/09 1 Px** lokalita: Nový Jičín-Kojetín (kraj: Moravsko-slezský, okres: Nový Jičín) **120/09 Px** lokalita: Trojanovice (kraj: Moravsko-slezský, okres: Nový Jičín)

Graf 21. Intenzita sporulace izolátů u přípravku ORTIVA v roce 2009*.



Typ reakce/účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-
6	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7	+	+	-	-	-	-
8	+	+	(-)	-	-	-
9	+	+	(-)	(-)	-	-
10	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
11**	+	+	+	-	-	-
12	+	+	+	(-)	-	-
13	+	+	+	(-)	(-)	-
14	+	+	+	(-)	(-)	(-)
15	+	+	+	+	-	-
16	+	+	+	+	(-)	-
17	+	+	+	+	(-)	(-)
18	+	+	+	+	+	(-)
19	+	+	+	+	+	+

Koncentrace fungicidu (%)/koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml):

Ortiva (azoxystrobin):

I.-0.05/125; II.-0.1/250; III.-0.2/500; IV.-0.4/1000; V.-0.8/2000

III. koncentrace doporučená výrobcem

*číselné označení reakcí (1-19)/účinnosti fungicidu platí pouze pro rok 2009

**Tato reakce označená v tabulce jako 11 se nevyskytovala v populaci padlí tykvoovitých v předchozích sledovaných letech (2001-2008), poprvé byla pozorována až v roce 2009 u druhu Px (izolátu 111/09 1 Px) v reakci na přípravek Karathane LC, a proto v důsledku výskytu této nové reakce došlo k přečíslování všech reakcí následujících a k navýšení celkového počtu všech možných reakcí na počet 19

6. Závěr

Tato bakalářská práce byla zaměřena na porovnání účinnosti vybraných fungicidů vůči padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*) v České republice. Celkem bylo otestováno 29 izolátů padlí tykvovitých (18 Gc 11 Px), které pocházely z ČR z roku 2009. V návaznosti na předchozí studium této problematiky, byly vybrány tyto fungicidní přípravky: RUBIGAN 12 EC (ú.l. fenarimol), KARATHANE LC (ú.l. dinocap), ORTIVA (ú.l. azoxystrobin), TOPSIN M 70WP (ú.l. thiophanate-methyl) a FUNDAZOL 50WP (ú.l. benomyl) a u každého z nich bylo testováno celkem pět různých koncentrací (jedna doporučená výrobcem – optimální, dvě pod optimem a dvě nad optimem). Tyto fungicidy byly testovány pomocí modifikované metody listových disků (Anonymus, 1982; Sedláková a Lebeda, 2004a,b 2006, 2008), která se ukázala jako vhodná a použitelná pro další testování. Tato metoda byla pouze doplněna o dezinfekci plastových krabiček přípravky INCIDUR nebo ISORAPID a to předtím, než byly vystlány navlhčenou buničitou vatou a filtračním papírem, což zabránilo kontaminaci misek jinými houbovými patogeny.

Přípravek **Rubigan 12 EC** (účinná látka: ú.l. **fenarimol**), byl vysoce efektivní, kdy 97 % testovaných izolátů bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku.

Přípravek **Karathane LC** (ú.l. **dinocap**) byl také (podobně jako Rubigan 12 EC) vysoce účinný, kdy 90% testovaných izolátů nesporulovalo na žádné z pěti testovaných koncentrací tohoto přípravku. Avšak v populaci obou druhů padlí tykvovitých se vyskytly kmeny s omezenou či výraznou sporulací na koncentracích nižších (28 µg ú.l. a 52 µg ú.l.) než byla optimální (105 µg ú.l.).

Přípravky **Fundazol 50 WP** (ú.l. **benomyl**) a **Topsin M 70 WP** (ú.l. **thiophanate-methyl**) se ukázaly jako zcela neúčinné, kdy téměř všechny izoláty byly zcela rezistentní ke všem testovaným koncentracím obou přípravků.

Přípravek **Ortiva** (ú.l. **azoxystrobin**) vykazoval sníženou účinnost, i když v populaci padlí tykvovitých byla většina (u Gc izolátů - 78%) a více než polovina (u Px izolátů - 55%) kontrolována všemi testovanými koncentracemi tohoto přípravku, vyskytly se v populaci obou patogenů kmeny které byly zcela rezistentní ke všem testovaným koncentracím tohoto přípravku a které pocházely z různých lokalit ČR.

Teoretické shrnutí v této práci a získané výsledky by mohly přispět k dalšímu studiu rezistence populací padlí tykvovitých k fungicidům.

7. Použitá literatura

- AIST, J.R., HEITEFUSS, R. & WILLIAMS, P.H. (1976): *Physiological Plant Pathology*, Berlin; New York; Springer-Verlag, 890 pp.
- ANONYMOUS (1982): FAO Method No. 30. FAO. *Plant Protection Bulletin*, vol. 30: 2.
- BALLANTYNE, B. (1975): Powdery mildew on cucurbitaceae: identity, distribution, host range and sources of resistance. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales.*, 99 (2), pp. 100-120
- BARDIN, M., CARLIER, J., & NICOT, P.C. (1999): Genetic differentiation in the French population of *Erysiphe cichoracearum*, a causal agent of powdery mildew of cucurbits. *Plant Pathology*, 48: 531-540.
- 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.
- BERTRAND, F. (1991): Les oïdiums des Cucurbitacées: Maintien en culture pure, Etude de leur variabilité et de la sensibilité chez le melon. Thèse Université Paris-Sud-Orsay, Spécialité "Phytopathologie", 225 pp.
- BERTRAND, F., PITRAT, M., GLANDARD, A., & LEMAIRE, J.M. (1992): Diversité et variabilité des champignons responsables de l' oïdium des cucurbitacées. *Phytoma – La défense des Végétaux*, 438: 46-49.
- BRAUN, U. (1987): *A monograph of the Erysiphales (Powdery mildews)*. Beiheft zur Nova Hedwigia, 89, 700 pp.
- BRAUN, U. (1995): *The powdery mildews (Erysiphales) of Europe*. Jena; New York: Gustav Fischer Verlag, 337 pp.
- BRAUN, U., COOK, R. T.A., INMAN, A.J. & SHIN, H.D. (2002): The taxonomy of the powdery mildew fungi. In: BÉLANGÉR, R.R., BUSHNELL, R.W.; DIK, J.A. & CARVER, W.L.T. (Eds.): *The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise*. APS Press, St. Paul, MN, pp. 13-55.
- BROWN, M.K.J. (2002): Comparative genetics of avirulence and fungicide resistance

- in the powdery mildew fungi. In: BÉLANGÉR, 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. 55-65.
- 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.
- COHEN, Y., BAIDER, A., PETROV, L., SHECK, L. & VOLOISKY, V. (2000): Cross-infectivity of *Sphaerotheca fuliginea* to watermelon, melon, and cucumber. *Acta Horticulturae*, 510: 85-88.
- DEL PINO, D., OLLALA, L., PÉREZ-GARCÍA, A., RIVERA, M.E., GARCIA, S., MORENO, R., DE VICENTE, A. & TORÉS, J.A. (2002): Occurrence of races and pathotypes of cucurbit powdery mildew in southeastern Spain. *Phytoparasitica*, 30: 459-466.
- FRAC Code List[©] 2011. Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). <http://www.frac.info/frac/publication/anhang/FRAC%20Code%20List%202011-final.pdf>, p. 10.
- GALLIAN, J.J., MILLER, J.S. & NOLTE, P. (2002): Managing fungicide resistance.
- 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.
- ISHII, H., FRAAIJE, 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, R.W., DIK, A.J. & CARVER, W.L.T. (Eds.): *The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise*. APS Press, St. Paul, MN, USA, pp. 239-248.
- JEŘÁBKOVÁ H. (2010). Rezistence k fungicidům v populaci padlí tykvovitých v České republice. Diplomová práce (Mgr.). PšF UP, Katedra botaniky, Olomouc, 84 pp.

- KŘÍSTKOVÁ, E. (1999): Biologie a epidemiologie hub řádu Erysiphales na rodu *Cucurbita*. Autoreferát disertace k získání vědecké hodnosti doktor. Přf UP, Katedra botaniky, Olomouc, 23 pp.
- KŘÍSTKOVÁ, E. & LEBEDA, A. (2000): *Citrullus lanatus* – a potential host of powdery mildew in the Czech republic. *Cucurbit Genetics Cooperative Report*, 23: 46-48.
- KŘÍSTKOVÁ, E., LEBEDA, A. & SEDLÁKOVÁ, B. (2009): Species spectra, distribution and host range of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic, and in some other European and Middle Eastern countries. *Phytoparasitica*, 37: 337-350.
- KŘÍSTKOVÁ, E., LEBEDA, A., SEDLÁKOVÁ, B. & DUCHOSLAV, M. (2002) Distribution of cucurbit powdery mildew species in the Czech Republic. *Plant Protection Science*, vol. 38 (Spec. Issue 2): 415-416.
- KŮDELA a kol. (1989): Obecná fytopatologie. Academia Praha, 369 pp.
- LEBEDA, A. (1983): The genera and species spectrum of cucumber powdery mildew in Czechoslovakia. *Phytopathology*, 108: 71-79.
- 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: A. LEBEDA (Ed.): *Methods of Testing Vegetable Crops for Resistance to Plant Pathogens*, VHJ Sempra, Research Institute of Vegetable crops, Olomouc, p. 87-91.
- LEBEDA, A. & KŘÍSTKOVÁ, E. (1994): Field resistance of *Cucurbita* species to powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum*). *Jurnal of Plant Diseases and Protection*, 101: 598-603.
- LEBEDA, A. & KŘÍSTKOVÁ, E. (1996): Genotypic variation in field resistance of *Cucurbita pepo* cultivars to powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43: 79-84.
- LEBEDA, A., KŘÍSTKOVÁ, E. & SEDLÁKOVÁ, B. (2004): Distribution, harmfulness and pathogenic variability of cucurbit powdery mildew in the Czech republic. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 7:174-176.
- LEBEDA, A., KŘÍSTKOVÁ, E., SEDLÁKOVÁ, B., MCGREIGHT, J.D., & COFFEY,

- M.D. (2008): New concept for determination and denomination of pathotypes and races of cucurbit powdery mildew. In M. PITRAT (Ed.), *Cucurbitaceae 2008*. Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae, Avignon, France: INRA, pp. 125-134.
- LEBEDA, A., KŘÍSTKOVÁ, E., SEDLÁKOVÁ, B., COFFEY, M.D. & MCGREIGHT, J.D. (2011): Gaps and perspectives of pathotype and race determination in *Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*. *Mycoscience*, 52: 159-164.
- LEBEDA, A., KŘÍSTKOVÁ, E., SEDLÁKOVÁ, B., MCGREIGHT, J.D. & COFFEY, M.D., MCGREIGHT, J.D. (2009a): Pathogenic variability of individuals and population of cucurbit powdery mildew—great confusion and great mystery, or why we still need the classical phytopathology. In: I. ŠAFRÁNKOVÁ & H. ŠEFROVÁ (Eds.): *Proceeding of Abstracts of 18th Czech and Slovak Plant Protection Conference*. MZU Brno, 2.-4.září 2009, p. 8.
- LEBEDA, A., KŘÍSTKOVÁ, E., SEDLÁKOVÁ, B., MCGREIGHT, J.D. & COFFEY, M.D. (2010a): Gaps and perspectives of pathogenicity evaluation and denomination in cucurbit powdery mildews (*Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*). In: S. TAKAMATSU, U. BROWN, & L. KISS (Eds.): *Biology, biodiversity, evolution and systematics of the Erysiphales*. Abstracts, A Special Interest Group (SIG) Meeting of the 9th International Mycological Congress (IMC9), 1.- 6.8. 2010, Edinburgh, UK, pp. 21-22.
- LEBEDA, A., MCGRATH, M.T. & SEDLÁKOVÁ, B. (2010b): Fungicide Resistance in cucurbit powdery mildew fungi. In: O. Carisse, (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 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. (2010): Screening for resistance to cucurbit powdery mildews (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*);. In: *Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Diseases*. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria, Chapter 19, pp. 295-307.
- LEBEDA, A., SEDLÁKOVÁ, B., KŘÍSTKOVÁ, E. & VYSOUDIL, M. (2009b): Long-lasting changes in the species spectrum of cucurbit powdery mildew in the Czech Republic – influence of climate changes or random effect? *Plant Protect. Sci.* 45 (Special Issue): S41-S47.
- 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.
- LEBEDA, A., WIDRLECHNER, M.P., STAUB, J., EZURA, H., ZALAPA, J. & KŘÍSTKOVÁ, E. (2007): Cucurbits (*Cucurbitaceae*; *Cucumis spp.*, *Citrullus spp.*), Chapter 8. In R. SINGH (Ed.): *Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement series*. Volume 3-Vegetable crops. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, pp. 271-376.
- LEMAIRE, J.M., GINOUX, G., BARDIN M., CONUS, M, FERRIÈRE H, CHASTELLIÈRE, M.G., NICOT, P. & MAS, P. (1998) Résistance a l'oïdium induite par greffage. *Culture Légumière* 45 : 13-6.
- 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.
- MCCREIGHT, D.J. (2006) Melon-powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 131: 59-65.
- MCDONALD, B.A. & LINDE, C. (2002): Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 349-379.
- MCGRATH, M.T. (1994): Heterothallism in *Sphaerotheca fuliginea*. *Mycologia*, 86:

517-523.

- 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. & SHISHKOFF, N. (2003): First report of the cucurbit powdery mildew fungus (*Podosphaera xanthii*) resistant to strobilurin fungicides in the United States. *Plant Disease*, 87(8): 1007.
- MCGRATH, M.T., STANISZEWSKA, H., SHISHKOFF, N. & CASELLA, G. (1996): Fungicide sensitivity of *Sphaerotheca fuliginea* populations in the United States. *Plant Disease*, 80: 697-703.
- MORI, Y., SATO, Y. & TAKAMATSU, S. (2000): Evolutionary analysis of the powdery mildew fungi using nucleotide sequences of the nuclear ribosomal DNA. *Mycologia* 92: 74-93.
- NEUMANN, S. & JACOB, F. (1995): Principles of uptake and systemic transport of fungicides within plant. In: H. Lyr & P. Braun (Eds.): *Modern selective fungicides: properties, applications, mechanisms of action*, Jena; Stuttgart: Fischer, pp. 53-73.
- PÉREZ-GARCÍA, A., OLALLA, L., RIVERA, E., DEL PINO, D., CÁNOVAS, I., DEVICENTE, A. & TORÉS, J.A. (2001): Development of *Sphaerotheca fusca* on susceptible, resistant, and temperature-sensitive resistant melon cultivars. *Mycological Research*, 105: 1216-1222.
- PÉREZ-GARCÍA, A., ROMERO, D., FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D., LÓPEZ-RUIZ, F., DE VICENTE, A. & TORÉS, J.A. (2009): The powdery mildew fungus *Podosphaera fusca* (synonym *Podosphaera xanthii*), a constant threat to cucurbits. *Molecular Plant Pathology*, 10: 153-160.
- SEDLÁKOVÁ, B. & LEBEDA, A. (2004a): Resistance to fungicides in cucurbit powdery mildew populations in the Czech Republic. *Acta fytotech. et zootech.*, 7: 269-271.
- SEDLÁKOVÁ, B. & LEBEDA, A. (2004b): Variation in sensitivity to fungicides in Czech populations of cucurbit powdery mildews. In: A. LEBEDA & H.S. PARIS (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: J.A. Thies, S. Kousik & A. Levi (Eds.): *Proceedings of Cucurbitaceae 2010*, Charleston, SC, USA, November 14-18, 2010, pp. 244-247.
- SEDLÁKOVÁ, B., LEBEDA, A., PEJCHAR, M. & JEŘÁBKOVÁ, H. (2009): Výskyt kmenů s 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.
- SHISHKOFF, N. (2000): The name of the cucurbit powdery mildew: *Podosphaera* (sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castag.) U. Braun & N. Shish. comb. nov. *Phytopathology* 90: S133.
- SITTERLY, W.R. (1978): The powdery mildews of cucurbits. In: SPENCER, D. (Ed.): *The Powdery Mildews*. London: Academic Press, pp. 359-377.
- TAKAMATSU, S. (2004): Phylogeny and evolution of the powdery mildew fungi (*Erysiphales*, *Ascomycota*) inferred from nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycoscience* 45: 147-157.
- TAKAMATSU, S., HIRATA, T. & SATO, Y. (1998): Phylogenetic analysis and predicted secondary structures of the rDNA internal transcribed spacers of the powdery mildew fungi (Erysiphaceae). *Mycoscience* 39: 441-453.
- VAKALOUNAKIS, D.J. & KLIRONOMOU, E. (1995). Race and mating type

- identification of powdery mildew on cucurbits in Greece. *Plant Pathol.* 44: 1033-1038.
- VAKALOUNAKIS D.J. & KLIRONOMOU, E. (2001): Taxonomy of *Golovinomyces* on cucurbits. *Mycotaxon* 80: 489-491.
- VAKALOUNAKIS, D.J., KLIRONOMOU, E., & PAPADAKIS, A. (1994): Species spectrum, host range and distribution of powdery mildew on Cucurbitaceae in Crete. *Plant Pathology*, 45: 813-818.
- WOLFE, M.S. & MCDERMOTT, J.M. (1994): Population genetics of plant pathogen interactions: the example of the *Erysiphe graminis* – *Hordeum vulgare* pathosystem. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32: 89-113.
- ZADOKS, J.C. & SCHEIN R.D. (1979): *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press, New York. 427 pp.
- ZHENG, R.Y. & CHEN, G.Q. (1981): The genus *Erysiphe* in China. *Sydowia* 34: 214-327.
- ZLOCHOVÁ, K. (1990): Autoreferát dizertácie k získanie vedeckej hodnosti kandidáta biologických vied. Botanický ústav SAV, Bratislava, 17 pp.

Internetové odkazy

http://www.bio-gaertner.de/Images/Photos/Botanik/Cucurbita_pepo_Frucht2.jpg

<http://www.biolib.cz/cz/image/id90070/>

http://lh6.ggpht.com/luirig/R5sU9ZTdj4I/AAAAAAAAAEzE/BYdqD5N4dq8/s800/cucumis_melo_1.jpg

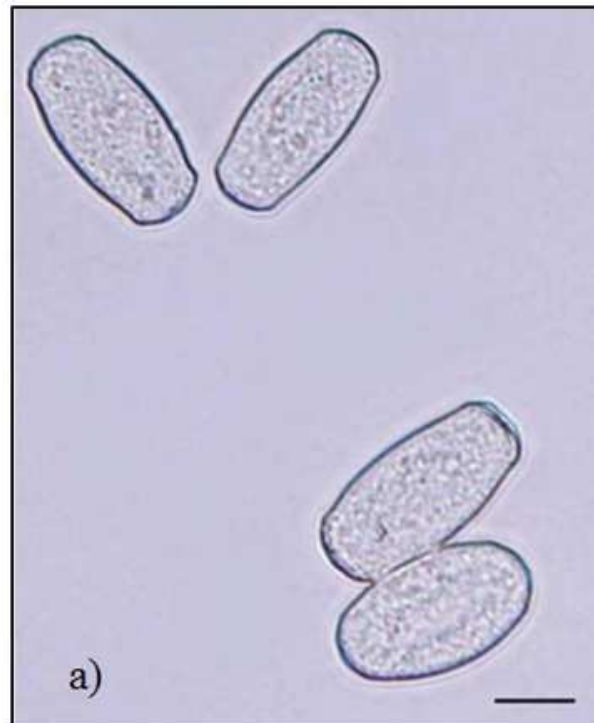
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cucurbita_pepo_ssp._pepo_convar._giromontina_02.JPG

<http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-units06/cucumis-sativus25466.jpg>

<http://www.frac.info/frac/publication/anhang/FRAC%20Code%20List%202011-final.pdf>

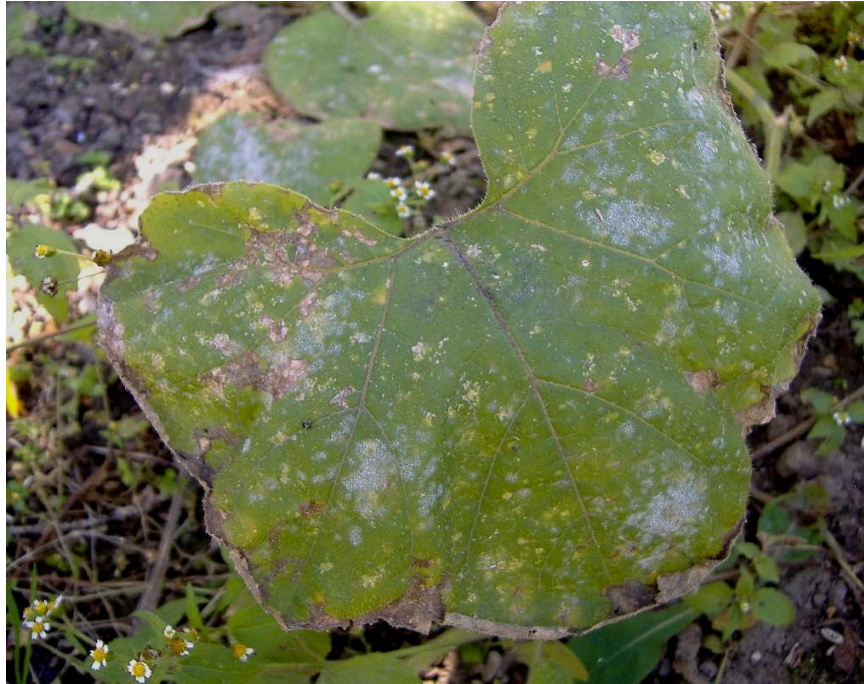
8. Příloha

Obr. 1 a-b. Konidie a) *Golovinomyces cichoracearum*, b) *Podosphaera xanthii* (bar = 10 μm) (Lebeda et al., 2010b)



Obr. 2 a-b. Příznaky napadení padlím tykvovitých na porostech tykvovitých zelenin v polních podmínkách

Obr. 2a. Příznaky napadení padlím tykvovitých v polních podmínkách na tykvi velkoplodé (*Cucurbita maxima*)



Obr. 2b. Příznaky napadení padlím tykvovitých v polních podmínkách na okurce seté (*Cucumis sativus*)

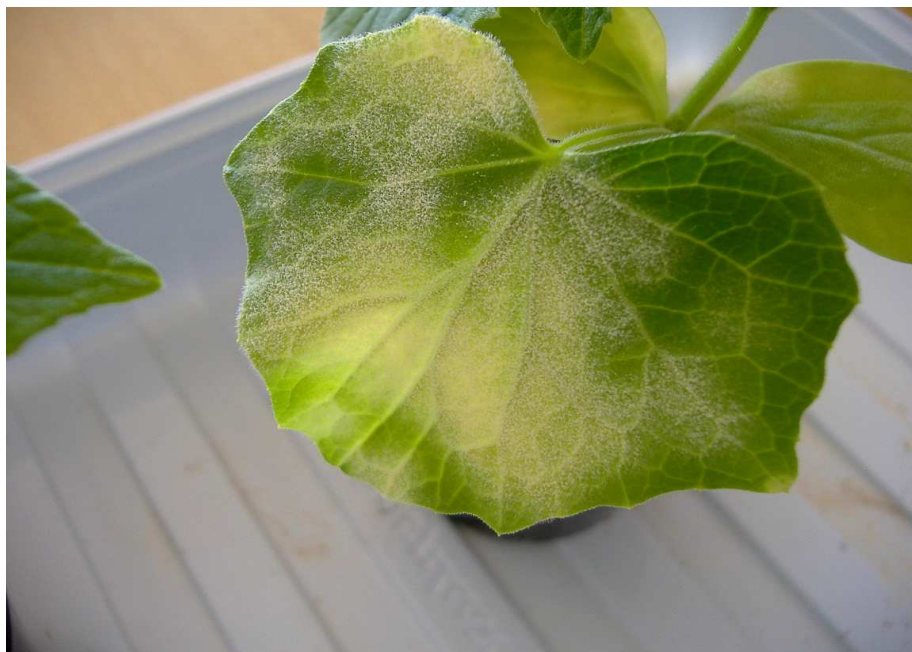


Obr. 2 c-d. Uchovávání izolátů padlí tykvovitých v podmínkách *in vitro*

Obr. 2c. Uchovávání izolátů padlí tykvovitých na semenáčcích náchylné odrůdy okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Stela F1 ve fytotronu



Obr. 2d. Detailní pohled na sporulaci padlí tykvovitých na prvním pravém listu semenáčku náchylné odrůdy okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Stela F1 udržovaném ve fytotronu v podmínkách *in vitro*



Obr. 3 a-d. Hlavní pěstované druhy tykvovitých zelenin (*Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, *C. maxima*, *Cucumis melo*), které mohou být hostiteli padlí tykvovitých v polních i skleníkových porostech

a) *Cucumis sativus*



b) *Cucurbita pepo*



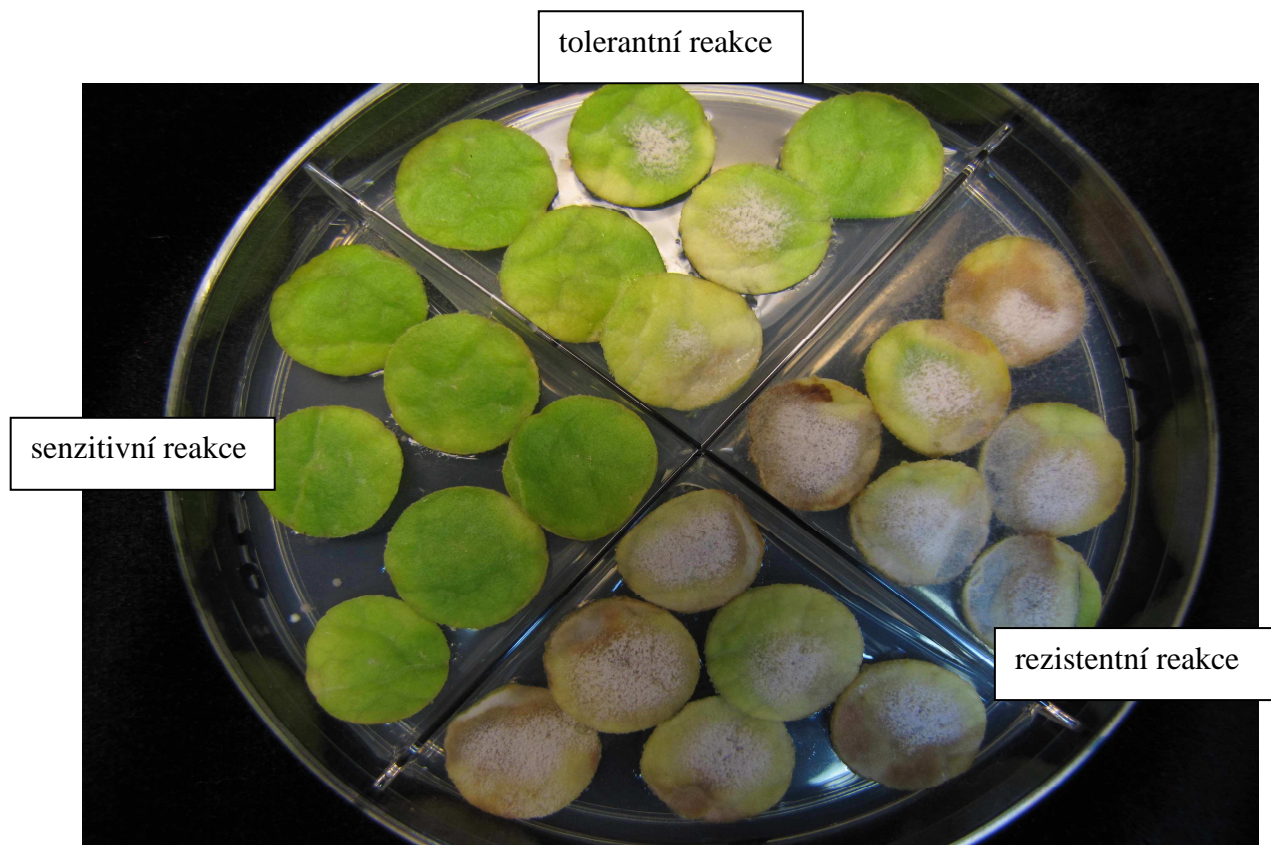
c) *Cucurbita maxima*



d) *Cucumis melo*



Obr. 4a. *In vitro* metoda listových disků používaná k testování rezistence padlí tykvovitých k fungicidům v New Yorku (Cornell University, týmem prof. McGrath) (Lebeda et al., 2010b)

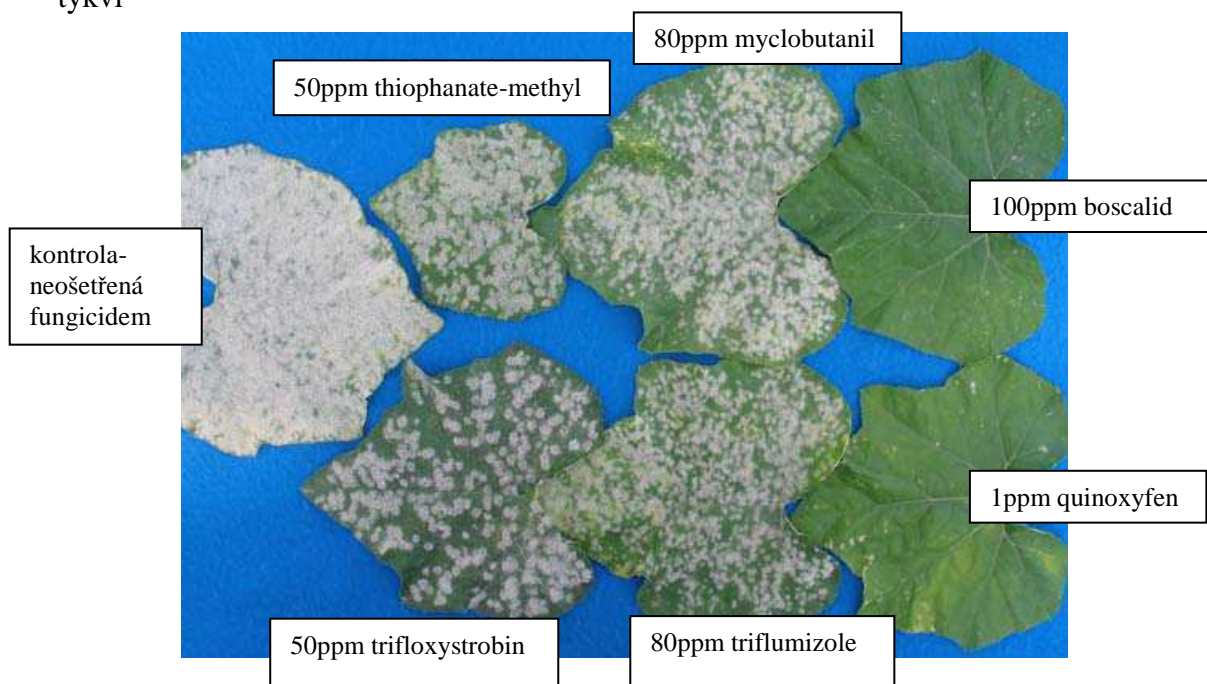


Obr. 4 b-c. Metoda testování rezistence padlí tykvovitých k fungicidům v polních podmínkách vyvinutá týmem profesorky McGrath (Cornell University, New York) (Lebeda et al., 2010b)

Obr. 4b. Mladé sazenice *Cucurbita pepo* ošetřené fungicidem a také sazenice neošetřené fungicidem (sloužící jako kontrola) umístěné aspoň na 4 h do polního porostu tykví pro tuto metodu testování rezistence padlí tykvovitých k fungicidům v polních podmínkách



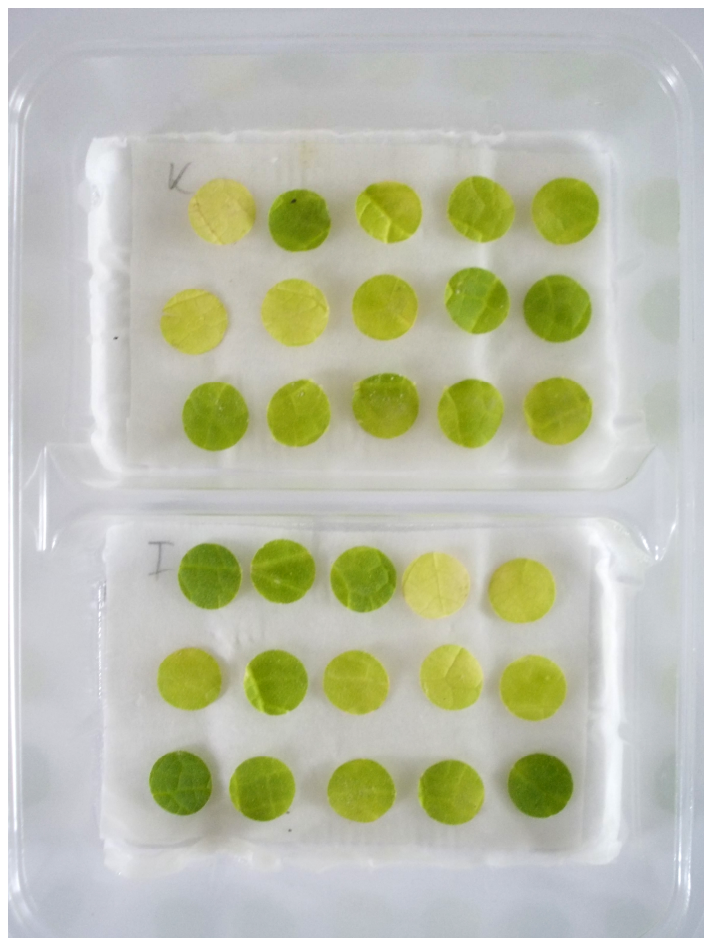
Obr. 4c. Listy mladých sazenic *Cucurbita pepo* 11 dní po umístění v polním porostu tykví



Obr. 5a-b. Plastová krabička s listovými disky ošetřenými fungicidem Ortiva a naočkovaná příslušným izolátem padlí tykvovitých

a) K (kontrola neošetřeno fungicidem), I. (konc. 0.05%),

1. den po inokulaci



b) II (konc. 0,1%), III (konc. 0,2%),

10. den po inokulaci, na discích je patrná výrazná sporulace



Obr. 6 a-e. Kvantitativní metoda hodnocení intenzity napadení padlím tykvovitých na listových discích náchylné odrůdy okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Stela F1 pomocí pětibodové stupnice stupně podle Lebedy (1984)

a) stupeň napadení (SN) 0



b) SN 1



c) SN 2



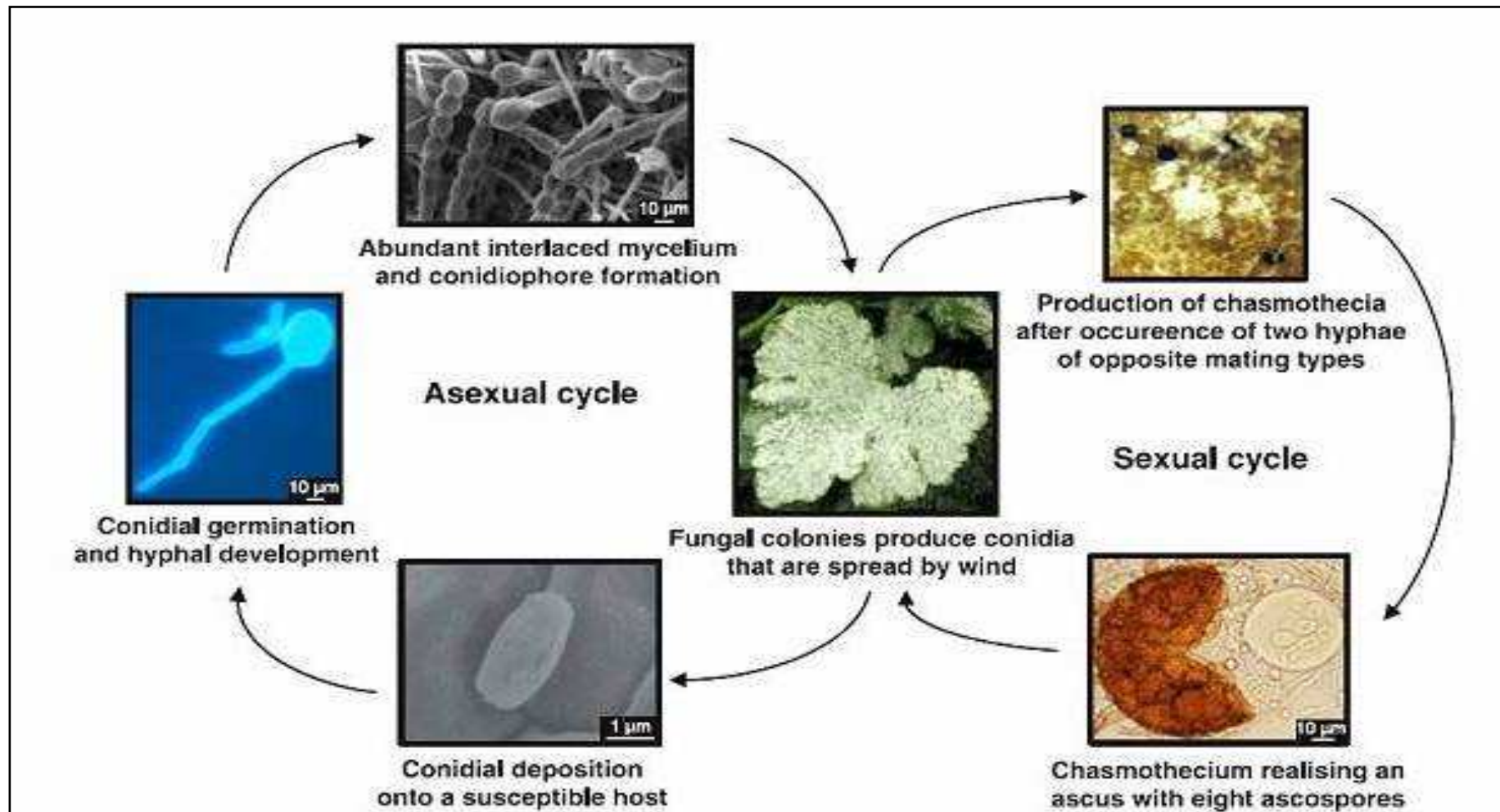
d) SN 3



e) SN 4

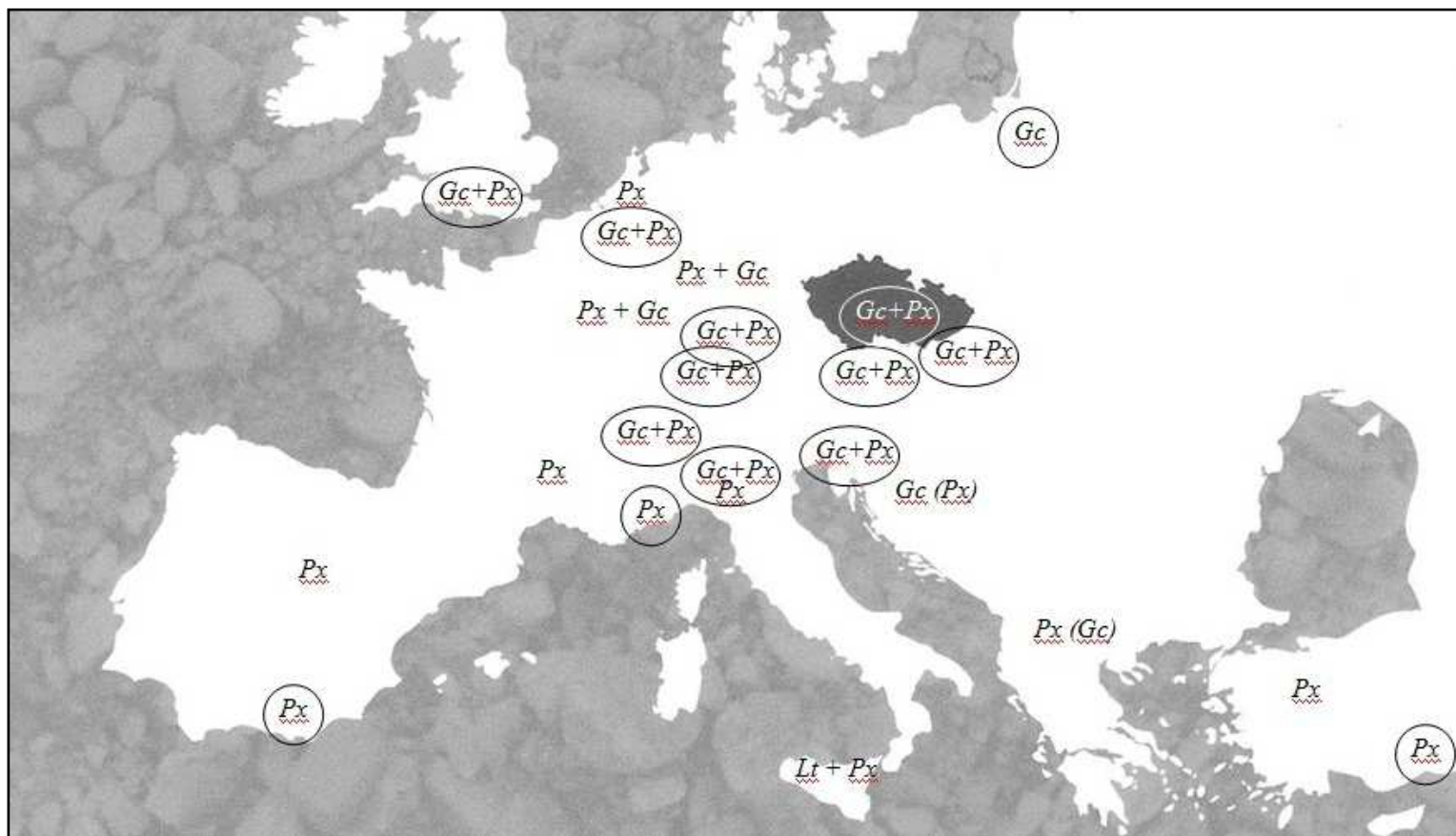


Obr 7. Schéma životního cyklu *Podosphaera fusca* (*Podosphaera xanthii*) (Pérez-García et al., 2009)



Obr. 8. Rozšíření padlí tykvovitých v Evropě (*Gc* - *Golovinomyces cichoracearum*, *Lt* - *Leveillula taurica*, *Px* - *Podosphaera xanthii*)
(Křístková et al., 2009)

V této mapě jsou vyznačeny jednak údaje o výskytu těchto tří druhů získané z dostupné literatury (označené v obr. kurzívou), tak také vlastní výsledky pozorování autorů tohoto článku (zakroužkovány)



Obr. 9. Lokality původu testovaných izolátů *Podospaera xanthii* a *Golovinomyces cichoracearum* získaných při sběrech v České republice v roce 2009

