

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra ochrany rostlin**



**Alternativní způsoby ochrany zeleniny proti houbovým  
patogenům**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Martina Pačesová**

**Obor studia: Produkční zahradnictví**

**Vedoucí práce: Ing. Jana Mazáková, Ph.D.**

© 2018 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Alternativní způsoby ochrany zeleniny proti houbovým patogenům" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 12.4.2018

---

### **Poděkování**

Poděkování patří mé vedoucí diplomové práce Ing. Janě Mazákové, Ph.D. za odborné vedení, věcné připomínky a pomoc při zpracování této práce. Ráda bych dále poděkovala mé konzultantce Ing. Evě Zuskové za pomoc a praktické rady při realizaci pokusů, cenné rady, vstřícnost při konzultacích, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování diplomové práce věnovala.

# Alternativní způsoby ochrany zeleniny proti houbovým patogenům

## Souhrn

*Alternaria dauci* je původcem choroby alternáriové (suché) skvrnitosti listů mrkve. Jedná se o nejrozšířenější a nejvýznamnější chorobu mrkve, která je rozšířena téměř po celém světě a má široký hostitelský okruh. Listy napadené *A. dauci* odumírají a dochází tak k znemožnění mechanizované sklizně. V současné době je velmi populární trend snižování využití chemických přípravků při pěstování rostlin, což vede k hledání nových prostředků a alternativ v boji proti patogenům. Houba *A. dauci*, ač významný patogen zeleniny, nebyla zatím podrobena mnoha výzkumům, proto se stala tématem i této práce.

Hypotézou bylo, zda existují esenciální oleje, které mají fungicidní účinek na růst houbového patogena *A. dauci* a jsou využitelné při ochraně hostitelských rostlin vůči tomuto patogenu. Byly testovány účinky vybraných esenciálních olejů na růst a vývoj tohoto patogena v laboratorních a polních podmínkách. Celkově bylo testováno 16 esenciálních olejů v *in vitro* podmínkách a *Cymbopogon winterianus*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Pimpinella anisum* v polním pokusu.

Z laboratorních pokusů vyplívá, že velký potenciál mají esenciální oleje z *Cinnamomum zeylanicum* a *Eugenia caryophyllus*. V polních podmínkách je poněkud obtížné stanovit závěry, jelikož proběhl zatím pouze jeden ročník pokusů. Jasnější výsledky budou získány až po druhé sezóně polních pokusů, které budou následovat v sezóně 2017. Zatím se jako nejvíce nadějný esenciální olej pro další použití jeví olej z rostliny *Pelargonium graveolens*.

**Klíčová slova:** *Alternaria dauci*, houbový patogen, zelenina, ochrana rostlin, esenciální oleje.

# Alternative protection methods of vegetable crops against fungal pathogens

## Summary

*Alternaria dauci* causes disease carrot leaf blight. It is the most spread and the most important disease of carrot which is spread around the World and has got wide host range. Leaves attacked by these pathogen died and possibility of mechanical harvest is disabled. Currently is very popular the trend of reduction chemicals in crop production, this need lead to search for new alternatives in the fight against pathogens. *Alternaria dauci* is significant pathogen of vegetable, but has not been topic to many researches, therefore has become the theme of this work.

The hypothesis was that there are essential oils that have a inhibition effect on the growth of the fungal pathogen *Alternaria dauci* and they can be useful in protecting the host plants. Effects of selected essential oils were tested on the growth of this pathogen in laboratory and field conditions. Overall, the 16 essential oils were tested in vitro, and *Cymbopogon winterianus*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Pimpinella anisum* in field conditions.

The laboratory experiments showed that essential oils from *Cinnamomum zeylanicum* and *Eugenia caryophyllus* has got great potential. In field conditions is difficult to establish conclusions. Clearer results will be obtained after the second season of field experiments that will follow in season 2017. The most promising essential oil is from plant *Pelargonium graveolens*.

**Keywords:** *Alternaria dauci*, fungal pathogen, vegetable, plant protection, essential oils.

# Obsah

1	Úvod .....	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce .....	3
3	Přehled literatury .....	4
3.1	Botanické pesticidy .....	4
3.2	Esenciální oleje .....	6
3.2.1	Složení esenciálních olejů .....	6
3.2.2	Mechanismus účinku esenciálních olejů .....	7
3.2.3	Zdroje esenciálních olejů .....	8
3.2.4	Technologie získávání esenciálních olejů .....	8
3.2.5	Nejčastěji používané esenciální oleje .....	9
3.3	Mrkev obecná setá ( <i>Daucus carota</i> subsp. <i>sativus</i> (Hoffm.) Schübl. & G. Martens) .....	12
3.3.1	Pěstování mrkve obecné seté .....	12
3.4	Choroby a škůdci mrkve obecné seté .....	14
3.4.1	Houbové choroby .....	14
3.4.2	Bakteriózy .....	15
3.4.3	Virózy .....	15
3.4.4	Škůdci .....	16
3.4.5	Abionózy .....	17
3.5	<i>Alternaria</i> spp. ....	19
3.5.1	Morfologie rodu <i>Alternaria</i> spp. ....	20
3.6	<i>Alternaria dauci</i> .....	21
3.6.1	Životní cyklus <i>A. dauci</i> .....	21
3.6.2	Příznaky napadení způsobené <i>A. dauci</i> .....	22
3.6.3	Hostitelský okruh <i>A. dauci</i> .....	23
3.6.4	Ochrana vůči <i>A. dauci</i> .....	24
4	Materiál a metody .....	27
4.1	Izolace patogena <i>A. dauci</i> .....	27
4.2	Identifikace izolátů <i>A. dauci</i> .....	28
4.2.1	Izolace genomické DNA .....	28
4.2.2	PCR .....	29
4.2.3	Gelová elektroforéza .....	30
4.3	Účinnosti esenciálních olejů .....	31
4.4	Polní maloparcelkový pokus .....	32
5	Výsledky .....	36
5.1	Izolace a identifikace <i>A. dauci</i> .....	36
5.2	Stanovení účinnosti EO při 0,1 % koncentraci .....	37

<b>5.3</b>	<b>Polní maloparcelkový pokus .....</b>	<b>40</b>
5.3.1	Vyhodnocení výnosů mrkve .....	40
5.3.2	Vyhodnocení kvality kořene mrkve.....	40
5.3.3	Vyhodnocení napadení listů mrkve patogenem <i>A. dauci</i> .....	41
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>47</b>
<b>8</b>	<b>Lieratura.....</b>	<b>48</b>
<b>9</b>	<b>Seznam použitých zkratek .....</b>	<b>56</b>
<b>10</b>	<b>Seznam tabulek .....</b>	<b>57</b>
<b>11</b>	<b>Seznam grafů.....</b>	<b>57</b>
<b>12</b>	<b>Seznam obrázků .....</b>	<b>57</b>

# 1 Úvod

Cíleným pěstováním rostlin dal člověk vzniknout oboru zemědělství. Spolu s rozšiřujícími se obhospodařovanými plochami a narůstající produkcí vznikalo bezpočet problémů, které měly vliv na kvalitu a zdravotní stav rostlin. Produkty vyrobené z rostlin, které trpěly zdravotními problémy, měly nižší kvalitu. Jedním z nejvýznamnějších problémů minulosti, ale i současnosti spojeným s pěstováním rostlin, je výskyt původců chorob a škůdců, kteří dokáží způsobit značné ztráty na výnosu a kvalitě dané plodiny.

Využívání chemických přípravků v zemědělství vede k řadě nežádoucích problémů, spojených např. s výskytem reziduí v potravním řetězci a životním prostředí či vznikem rezistentních populací škůdců a patogenů. Vlivem těchto zjištění byla zakázána řada přípravků na ochranu rostlin a byla podpořena snaha hledat alternativní způsoby ochrany rostlin. Cílem těchto alternativních metod je snížení závislosti na pesticidech, a tak snížení vlivu pesticidních látek na životní prostředí, zdraví člověka a životní prostředí.

Jednou z přijatelných alternativ v ochraně rostlin, která by poskytla ekologicky bezpečné přípravky, by mohlo být využití extraktů z rostlin proti patogenům a škůdcům. Ne zcela komplexní znalosti o rostlinných metabolitech využitelných v ochraně rostlin před škodlivými organismy daly vzniknout řadě prací, zabývajících se výzkumem, vývojem a testováním botanických pesticidů jak v zahraničí, tak i v České republice.

Rostliny produkují jako sekundární metabolit esenciální oleje, které lze z rostlinných pletiv extrahovat. Esenciální oleje jsou komplexy tvořené desítkami látek, díky této komplexnosti se vyznačují fungicidním účinkem. V komplexu nalezneme 1 až 5 majoritních látek, které jsou typické pro daný rostlinný druh. Vyšší biologickou účinností esenciálního oleje může být podpořena synergismem mezi majoritní a minoritní látkou.

Původcem jedné z nejvýznamnějších a nejčastěji vyskytujících se houbových chorob mrkve obecné seté je *Alternaria dauci*. Tento patogen způsobuje tzv. alternariovou skvrnitost listů mrkve, s níž se můžeme setkat ve všech oblastech, kde je mrkev pěstována. Pokud nejsou provedena vhodná ochranná opatření vůči tomuto patogenu, choroba se může projevit úplným zaschnutím rostlinné natě, což se odrazí i na výnosu a kvalitě kořene.

Ochranu mrkve lze zajistit dodržováním osevního postupu a vhodně zvoleným stanovištěm. Prioritou je použití zdravého osiva a likvidace posklizňových zbytků. Chemickou ochranu zastupuje moření osiva před výsevem spolu s postřiky fungicidů při



zjištění napadení porostu. V některých případech není možné mrkev bez chemického ošetření pěstovat, a proto je zde nutnost účinné alternativy, která by byla schopná zajistit produkci v dostatečné míře a kvalitě.

## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza diplomové práce byla stanovena: existují esenciální oleje, které mají fungicidní účinek na růst houbového patogena *Alternaria dauci* a jsou využitelné při ochraně hostitelských rostlin vůči tomuto patogenu.

Cílem diplomové práce bylo testování účinku vybraných esenciálních olejů na růst a vývoj patogena *Alternaria dauci* v laboratorních a polních podmínkách. S tímto hlavním cílem se pojí i dva podcíle, a to zhodnotit vhodné živné médium pro laboratorní pokusy a vytvořit vlastní stupnici napadení při hodnocení polního pokusu.

### 3 Přehled literatury

Na začátku 20. století byly uveřejněny zprávy, které vypovídaly o negativních dopadech využívání pesticidů na zdraví člověka a životní prostředí. Dané problémy jsou způsobené markantním využíváním chemie a technickou intenzifikací v zemědělství. Tyto zjištění vedly k změnám ve způsobu hospodaření a vzniku alternativního způsobu zemědělství (Kotěra a kol., 2010).

V ekologickém způsobu hospodaření jsou na prvním místě zohledňována přírodní ekologická hlediska, a to způsobem, kdy člověk svou zemědělskou činností nepůsobí v přírodě destruktivně, nezvětšuje narušení ekologické stability v krajině. Zároveň vytváří přirozené podmínky pro vývoj a růst pěstovaných rostlin a chovaná zvířata (Dvorský, 1997).

Nejvíce problémů ekozemědělcům způsobují plevele, původci chorob a škůdci. Poškození úrody chorobami a škůdci snižuje celkové výnosy tak i kvalitu samotných výpěstků. Vlivem těchto ztrát je kladen veliký důraz na ochranu rostlin. Ochrana rostlin v ekologickém zemědělství má za svůj cíl regulaci škodlivých organismů, ne jejich bezpodmínečné odstranění (Šarapatka a kol., 2006).

#### 3.1 Botanické pesticidy

Písemné zmínky dokládající první využití rostlinných extraktů při ochraně rostlin pochází z Číny a jsou staré 5000 let. Jak docházelo k vývoji zemědělství, stoupala i snaha o zdokonalení ochrany proti škodlivým činitelům. Během 19. století zvyšují svou působnost chemici, vyrábí první syntetické pesticidy. Tyto uměle vyrobené přípravky potlačily využívání botanických pesticidů ve všech rozvinutých státech. Vlivem jejich nadměrného využívání vznikla řada komplikací, vytvoření rezistentních populací patogenů a škůdců. Důsledkem byl zákaz využívání některých přípravků a hledání alternativních způsobů při ochraně rostlin. Návrat zpět k rostlinným extraktům a snaze najít nové botanické pesticidy je jedním ze způsobů, jak zabezpečit produkci s ohledem na životní prostředí.

V současné době probíhá řada výzkumných projektů zaměřených na nové biologicky aktivní látky, či prohloubení znalosti biologické aktivity známých rostlinných sekundárních metabolitů. Každá nově popsána rostlinná látka může být potenciálem pro botanický pesticid nebo pomocnou látku zvyšující obranyschopnost rostlin (Pavela, 2011).

## Botanické pesticidy první generace

Jedná se o jedny z nejstarších a neúčinnějších botanických insekticidů. Rostlinné extrakty se zmiňovaným insekticidním účinkem byly jako první využívány při ochraně proti škůdcům. Jejich účinné látky vykazují vysokou toxicitu pro hmyz. Vyznačují se neselektivní účinností, použití je omezeno pouze na kryté prostory. Nesmí dojít k zasažení necílového organismu (Pavela, 2011).

Získávají jsou z malého množství rostlinných druhů. Téměř totožné účinné látky slouží k jejich rozdělení:

Pyretrum získávané z řimbaby stračkolisté - *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Vis nebo řimbaby šarlatové – *Chrysanthemum coccineum* Willd.

Nikotin obsahují rostliny tabák virginský – *Nicotiana tabacum* L., tabák selský – *Nicotiana rustica* L. a tabák lesní – *Nicotiana sylvestris* Speg. Comes.

Rotenon získávaný z kožnatců – *Derris* sp.

Ryanodine obsahuje jihoamerická rostlina *Ryania speciosa* Vahl.

Veratrin získávaný z kýchavice všivec – *Sabadilla officinarum* Retz.

Quassin z kvasie hořké – *Quassia amara* L. (Pavela, 2011; Šarapatka a kol., 2006).

## Botanické pesticidy druhé generace

Další vývoj byl zaměřen na eliminaci veškerých známých environmentálních a zdravotních rizik. Nejdůležitějším je jejich selektivita vůči přirozeným nepřítelům a parazitoidům škůdců. Neméně důležitou zůstává zdravotní nezávadnost spolu s možnou univerzálností. Tedy, aby účinkovali fungicidně, insekticidně a bakteriálně. Rostliny, jejichž extrakty byly využity ve druhé generaci botanických pesticidů:

- *Azadirachta indica* Juss.,
- *Pongamia pineta* (L.) Pierre,
- *Calceolaria andina* L.,
- *Reynoutria* sp.,
- *Sophora flavescens* Ait.,
- *Sapindus* sp.,
- *Allium sativum* L.,
- *Cymbopogon* sp. (Pavela, 2011).

## **Botanické pesticidy třetí generace**

Botanické pesticidy třetí generace jsou nejnovější pesticidy z rostlinných extraktů. Vyznačují se preventivním účinkem a jedná se především o pomocné látky. Jedna ze skupin se vyznačuje účinností zvýšení vitality a zdravého růstu rostlin. Příkladem mohou být extrakty z vrb – *Salix* sp. nebo kopřiv – *Urtica* sp. Druhá skupina elicituje syntézu látek obranného charakteru například rostliny tužebníku – *Filipendula ulmana* L. (Pavela, 2001).

## **3.2 Esenciální oleje**

V 17. století se objevuje první botanický insekticid. Po druhé světové válce, dochází k zvyšování zájmu o rostlinné sloučeniny pro ochranu rostlin (Pavela, 2007). Bakkali et al. (2008) uvádějí, že jako první extrahovali esenciální olej Arabové ve středověku.

Kulturní rostliny vlivem šlechtění ztrácejí své geneticky podmíněné látky. Tyto látky plnily funkci obranného charakteru. Šlechtitelským cílem zůstává obnovení této rezistence vůči chorobám a škůdcům (Pavela, 2006).

Za esenciální olej je považován produkt získaný destilací z rostlinného materiálu či mechanicky ze slupky (u citrusů). Jde o látky olejovitého charakteru, jejichž vlastnostmi je bezbarvosť, těkavosť, lehkosť a nerozpustnosť ve vodě. Kapalné skupenství si uchovávají při pokojové teplotě (Başer et al., 2010). Změny jakožto oxidace, tmavnutí či pryskyřičnatění olejů se projevují po delší době skladování (Bacílková a kol., 2012).

Esenciální oleje tvoří přirozenou obranu rostlin proti škůdcům a patogenním houbám (Batist et al., 2008). V ochraně rostlin mohou působit antibakteriálně a dále jako antivirotika, antimykotika a insekticidy (Bakkali et al., 2008).

### **3.2.1 Složení esenciálních olejů**

Složením obsahují dvě až tři hlavní složky vysokých koncentrací (20-70%) a dále složky zastoupené v stopovém množství. Příkladem hlavních složek může být linalool zastoupený z 68 % v koriandru setém nebo karvakrol a tymol zastoupeny z 30 % v dobromyslu (Bakkali et al., 2008).

Jde o komplexní směsi, kde převažují terpeny (monoterpeny a seskviterpeny), dále pak aromatické fenoly, oxidy, ethery, alkoholy, estery, aldehydy a ketony. Poslední ze zmíněného

výčtu vytvářejí charakteristické aroma dané rostliny. Terpeny v rostlinách působí jako atraktanty pro opylovače (Batist et al., 2008).

Vysoké koncentrace terpenů se vyskytují v citrusových plodech, borovicích a cypřiších. Esenciální oleje levandule a majoránky obsahují větší množství alkoholů. Aromatické fenoly zastupují vyšší koncentrace u bazalky a tymiánu. Příkladem vyššího obsahu aldehydu v esenciálním oleji mají meduňka a citronová tráva. Dále pak vyšší zastoupení ketonů můžeme najít v šalvěji a mátě, esterů v heřmánku či kardamonu a oxidů v eukalyptu (Bakkali et al., 2008).

Samotné složení esenciálního oleje je ovlivněno řadou faktorů, kterými jsou vývojová fáze rostliny a klimatické podmínky (Pavela, 2010).

### **3.2.2 Mechanismus účinku esenciálních olejů**

Mechanismus účinku není doposud zcela znám. Odlišné aktivní složky v esenciálních olejích dávají vzniknout jejich antimikrobiální aktivitě. Účinnost je ovlivněna citlivostí samotného mikroorganismu a druhu silice. Účinek silice je ovlivněn nejen jejím chemickým složením, ale také klimatem při růstu rostliny, částí rostliny, z které je olej extrahován, způsobem extrakce a způsobem uchování esenciálního oleje. Různé silice působí jinými způsoby na mikroorganismy. Například terpeny vykazují účinek na membránové enzymy, jiné silice zase ovlivňují biochemické změny v buňce. Samotné zastoupení jednotlivých komponent v esenciálním oleji ovlivňuje jeho účinnost (Bakkali et al., 2008).

Řada esenciálních olejů působí cytotoxicky. Prochází buněčnou stěnou a cytoplazmatickou membránou, kde narušují strukturu vrstev u fosfolipidů, polysacharidů a mastných kyselin. Dochází k velkému poškození permeability. Prooxidační činnost rozkládá proteiny, zároveň se tvoří reaktivní formy kyslíku (Bakkali et al., 2008).

Jsou-li buňky vystaveny světlu, může dojít k poškození buněčných makromolekul. Cytotoxicita a fytotoxicita jsou podmíněny přítomností daných molekul v esenciálním oleji, kompartmentací v buňce a vystavením světlu (Bakkali et al., 2008).

### 3.2.3 Zdroje esenciálních olejů

Celosvětový výskyt aromatických rostlin se odhaduje na 5 %, jedná se o cca 17 500 druhů (Růžičková, 2002). Nejvyšší koncentrace esenciálních olejů jsou zaznamenány v následujících částech rostliny: pupen, květ, plod (semena), list, kůra, kořen a dřevo (Bakkali et al., 2008; Farre-Halls, 2007).

Růžičková (2002) uvádí, čeledě s nejvyšším zastoupením aromatických rostlin:

- hluchavkovité (*Lamiaceae*),
- hvězdnicovité (*Asteraceae*),
- lipnicovité (*Poaceae*),
- miříkovité (*Apiaceae*),
- myrtovité (*Myrtaceae*),
- pepřovníkovité (*Piperaceae*),
- routovité (*Rutaceae*),
- vavřínovité (*Lauraceae*),
- zázvorovité (*Zingiberaceae*).

Pro každou z čeledí je typický jiný způsob ukládání esenciálního oleje, stejně tomu je i u vzniku oleje. Sekreční buňky vyprodukují esenciální olej, ten je dopraven a uložen ve speciálních útvarech. K uložení slouží žláznaté trichomy, papily, siličné buňky, kanálky a vhodné mezibuněčné prostory (Başer et al., 2010).

### 3.2.4 Technologie získávání esenciálních olejů

Esenciální oleje se získávají 3 hlavními způsoby. Nejčastěji využívanou je destilace vodní parou, jelikož se jedná o nejlevnější metodu. Zbývající dva způsoby využívají tuky (enfleuráž) nebo mechanických sil včetně lisování (Růžičková, 2002).

Při destilaci vodní parou je povětšinou používán sušený materiál, je možné vyučít i čerstvý. Pokud je použit materiál suchý, není žádoucí jeho přímé vaření, používá se pouze pára. Do destilační aparatury se vloží směs (voda + sušený materiál), ke které se přivede pára.

Pára spolu s těkavými látkami končí v kondenzátoru, zde dochází k jejich oddělení. (Başer et al., 2010).

Při enfleuráži je využit jako nosič tuk, lze ho využít za studena i za tepla. Využívá se pouze u získávání vzácných rostlinných silic. Následná extrakce silice z tuku probíhá za pomoci organických rozpouštědel. Nejčastěji využívanými rozpouštědly bývají benzín a petrolether. Použitím rozpouštědla vznikne tzv. konkret, který musí být extrahován v etanolu. Až poté vznikne absolutní silice (Růžičková, 2002).

Hlavní způsob získání esenciálních olejů ze semen či plodů je lisování. Před zpracování semen je důležité jejich rozmělnění. Působením určitého tlaku na drť dojde k uvolnění oleje spolu s menšími částmi semen. Z vylisovaného oleje jsou odstraněny nečistoty za pomoci filtrace. Během celého výrobního procesu působí ochranný plyn. Nevýhoda tohoto procesu spočívá v nízké produkci oleje, která je částečně kompenzována vysokou kvalitou produktu (Poustková et al., 2010).

### 3.2.5 Nejčastěji používané esenciální oleje

V následující kapitole jsou zmíněny nejčastěji používané esenciální oleje, které byly použity i v této diplomové práci. Přené složení esenciálních olejů bylo poskytnuto Ing. Miloslavem Zouharem, Ph.D.

- Voňatka winterová - *Cymbopogon winterianus* Jowitt

*Cymbopogon* spp. patří do čeledi *Poaceae*, samotný rod čítá přibližně 55 druhů. Tyto rostliny pocházejí z tropických a subtropických oblastí Oceánie. Využití nacházejí jak v kulinářském odvětví tak lidovém léčitelství. Řada rostlin tohoto druhu odpuzuje různé druhy hmyzu (Pavela, 2011a).

Hlavní oblastí pěstování jávské citronely je Indonésie. Jedná se o rostlinu hustě trsnatou s dužnatými listy, až 2 m vysokou, s načervenalou bází stonků. Sklízí se celé rostliny.

Hlavní složky tvoří s 50-60 % citronelal a citronelol, další s 20-25 % geraniol. Účinně působí proti bakteriím, houbám a savému hmyzu (Pavela, 2011a).

Přesné složení použitého oleje: limonene<sup>C</sup> 3,77, linalool<sup>C</sup> 0,91, isopulegol<sup>C</sup> 1,56, β-citronellal 34, 17, citronello<sup>C</sup> 11,80, neral 0,21, geraniol<sup>C</sup> 18,51, geranial<sup>C</sup> 0,45, citronellyl



acetate 4,00, eugenol 1,17, geranyl acetate 4,52,  $\beta$ -elemene 2,94,  $\beta$ -caryophyllene<sup>C</sup> 0,26,  $\gamma$ -muurolene 0,27, germacrene D 2,22,  $\alpha$ -muurolene 0,68,  $\gamma$ -cadinene 0,80,  $\beta$ -cadinene 2,85, elemol 4,30, germacrene D-4-ol 0,85,  $\gamma$ -eudesmol 0,33, tau-muurolol 0,81,  $\beta$ -eudesmol 0,33 a  $\alpha$ -cadinol 1,14.

- Máta klasnatá - *Mentha spicata* L.

Rod *Mentha* se řadí do čeledi *Lamiaceae*, čítá 25 druhů a nepřeborné množství planých i kulturních hybridů. Se zástupci se nejčastěji setkáme v severních částech mírného a subtropického pásu. Pouze na dvou místech světa zástupce tohoto rodu nenalezneme a to na Antarktidě a v Jižní Americe (Pavela, 2011a).

Převážnou část tvoří trvalky, ojediněle jde o jednoleté druhy. Stonek charakteru vzpřímeného se čtvercovým průřezem, výška je variabilní od 0,1 do 1,2 m dle druhu. Barva květů je od fialové přes růžovou do bílé. Využití našla v lékařství a potravinářství (Pavela, 2011a).

Pavela (2011b) uvádí, že pro druh máty je obecně obsah silice 1-3 %. Tyto silice obsahují více jak 50 % mentholu. Vykazují fungicidní účinky, bakteriální a největší měrou insekticidní. Extrakty vykazují velmi vysoký protipožerový efekt.

Přesné složení použitého oleje:  $\alpha$ -pinene<sup>C</sup>0,59, sabinene 0,41,  $\beta$ -pinene<sup>C</sup> 0,66, myrcene<sup>C</sup> 1,00, octanol-3 0,28, p-cymene<sup>C</sup> 0,39, limonene<sup>C</sup> 15,27, menthone<sup>C</sup> 0,30, menthol<sup>C</sup> 1,65, terpinen-4-ol 0,78,  $\alpha$ -terpineol 0,28, cis-carvone, dihydro 1,88, trans-carvone, dihydro 0,20, trans-carveol 0,70, carvone<sup>C</sup> 70,72, piperitone 0,36, dihydrocarveol acetate 0,30, cis- carvyl acetate 0,23,  $\beta$ -bourbonene 1,41,  $\beta$ -caryophyllene<sup>C</sup> 0,86 a  $\beta$ -farnesene 0,28.

- Pelargonie vonná - *Pelargonium graveolens* (Thunb.) L'Hér

Rod *Pelargonium* řadíme do čeledě *Geraniaceae*. Jedná se o velice obsáhlý rod čítající cca 220 různých druhů. Převážnou většinu zástupců nalezneme v jižní Africe (Sajfrtová a kol., 2014).

Na místech původního výskytu jde o vzpřímený keř dorůstající 1,3 m do výšky a až 1 m šířky. Bylinné stonky stářím dřevnatí. Listy pokrývají žláznaté chloupky, květy bílé až narůžovělé. Uplatnění tato rostlina našla v kosmetickém průmyslu, parfumerii a lékařství.

Nejvíce zastoupeny jsou dvě složky citronelol 25 % a geraniol 18 %. První ze složek se vyznačuje fumigačním účinkem a druhá antimikrobiálními účinky (Sajfrtová a kol., 2014).

Přesné složení použitého oleje:  $\alpha$ -pinene<sup>C</sup> 0,66, linalool<sup>C</sup> 5,22, cis-rose oxide 1,57, trans-rose oxide 0,60, menthone<sup>C</sup> 2,35, isomenthone 6,34, citronello<sup>C</sup> 32,56, geraniol<sup>C</sup> 14,92, geranial<sup>C</sup> 0,78, citronellyl formate 8,86, geranyl formate 3,59,  $\alpha$ -copaene 0,79,  $\beta$ -bourbonene 2,26,  $\beta$ -caryophyllene<sup>C</sup> 1,81, citronellyl propionate<sup>C</sup> 0,58, geranyl propionát 1,06, germacrene D 1,47,  $\delta$ -cadinene 2,18, citronellyl butyrate 0,64, geraniol butyrate 1,36, phenethyl tiglate 1,24,  $\gamma$ -eudesmol 6,87 a geranyl tiglate 1,65.

- Bedrník anýz - *Pimpinella anisum* L.

*Pimpinella* spp. patří do čeledě *Apiaceae*, tento rod obsahuje 23 druhů. Původem pochází z Blízkého východu (Arslan et al., 2004).

Jde o jednoletou bylinu s bílými květy, vysokou 0,5 m. Netradiční jsou listy trojího druhu. Semena obsahují 1,5-6 % silice, hlavní složku tvoří s 90 % anethol, nižších koncentrací dosahují estragol. Vyznačuje se insekticidním účinkem. Využití nalezl v léčitelství a jako koření v potravinářství (Pavela, 2014).

Přesné složení použitého oleje:  $\alpha$ -pinene<sup>C</sup> 0,35, myrcene<sup>C</sup> 0,04,  $\alpha$ -phellandrene 0,26, 3-carene 0,11, p-cymene<sup>C</sup> 0,05, limonene<sup>C</sup> 0,34, eucalyptol<sup>C</sup> 0,11,  $\gamma$ -terpinene<sup>C</sup> 0,04, linalool<sup>C</sup> 1,00, terpinen-4-ol 0,10,  $\alpha$ -terpineol 0,08, estragole<sup>C</sup> 4,38, anisaldehyde 0,84, anethole<sup>C</sup> 88,55,  $\alpha$ -copaene 0,09, anisketone 0,11, cis- $\alpha$ -bergamotene 0,05,  $\beta$ -caryophyllene<sup>C</sup> 0,30, trans- $\alpha$ -bergamotene 0,36,  $\beta$ -farnesene 0,07,  $\alpha$ -farnesene 0,10,  $\beta$ -cadinene 0,06 a  $\alpha$ -cadinol 0,05.

Příkladem dalších používaných olejů mohou být:

- Kastrovník lékařský - *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl,
- Skořicovník cejlonský - *Cinnamomum zeylanicum* Breyn,
- Blahovičník citroníkový - *Eucalyptus citriodora* Hook. In T. L. Mitchell, syn. *Corymbia citriodora* (Hook.) K. D. Hill & L. A. Johnson,
- Fenykl obecný - *Foeniculum vulgare* Mill.,
- Levandule lékařská - *Lavandula angustifolia* Mill.,
- Hybrid levandule - *Lavandula hybrida* Reverchon,
- Vavřín kubébový - *Litsea cubeba* (Lour.) Pers,
- Bazalka pravá - *Ocimum basilicum* L.,
- Majoránka zahradní - *Origanum majorana* Moench,
- Šalvěj lékařská - *Salvia officinalis* L.,
- Mateřídouška obecná, syn. Tymián obecný - *Thymus vulgaris* L.

### **3.3 Mrkev obecná setá (*Daucus carota* subsp. *sativus* (Hoffm.) Schübl. & G. Martens)**

Mrkev původem pochází z Persie ve Střední Asii přesněji z Afganistánu a Íránu (Iorizzo et al., 2013). Davis et al. (2002) uvádějí jako centrum původu mrkve Turkmenistán spolu s Afganistánem.

Jedná se o běžně využívanou zeleninu a také v současné době jednu z nejpůvodnějších. Mrkev obecná setá se vyvinula z mrkve obecné - *Daucus carota* L. (Farrar et al., 2004).

Prvními pěstovanými mrkvemi nebyly dnes rostliny s typickými kořeny oranžové barvy. Kořeny byly zastoupeny celou škálou barev od bílé přes žlutou, zelenou, fialovou, červenou a černou. Habitus kořenů byl velice úzký a kořeny byly využívány především v léčitelství (Farrar et al., 2004).

Dodnes se pěstuje řada kultivarů s různě tvarovanými a barevnými kořeny oproti oranžovému standardu. Standardní kořen mrkve pro evropský trh musí být kratšího štíhlého válcovitého tvaru, oranžového zbarvení se žlutým nádechem. Opakem je mrkev určená pro asijský trh. Vyžadovány jsou kořeny kuželovitého tvaru, silné a co nejdelší, červeno-oranžového zbarvení (Farrar et al., 2004).

V Nizozemí v 17. století byly využity plané formy mrkve k vyšlechtění prvních mrkví s oranžovou dužninou kořene (Petříková a kol., 2012).

*Daucus carota* subsp. *sativus* náleží do čeledi miříkovité *Apiaceae* (Petříková a kol., 2012). Mrkev je rostlina dvouletá, vytvářející listovou růžici a konzumní část (kořen) v prvním roce. Tvar kořene je vysoce variabilní, jak v průměru tak délce. Průměr čítá od 1 do 10 cm a délka od 5 do 40 cm. Květenství vytváří rostlina až v druhém roce vývoje (Rubatsky et al., 1999). Vyprodukovaná semena patří do skupiny malých semen, v jediném gramu napočítáme 500-1000 ks (Farrar et al., 2004.)

#### **3.3.1 Pěstování mrkve obecné seté**

Velikost pěstitelských ploch v České republice se udržuje na stabilních cca 3 600 ha. Poptávka českých spotřebitelů po mrkvi svazkové i konzumní převyšuje domácí produkci. Tato nerovnováha se nejvíce projevuje v zimě a předjaří. Jedním z důsledků tohoto nedostatku je nedostatečná skladovací kapacita a jejich špatná technologie (Bartoš, 2001a).

Při pěstování mrkve velice záleží na zpracování orničního profilu, ten musí být homogenní. Výsevy do rovna působí pozitivně pouze u vysychavých půd bez závlahy. Převážná část produkce mrkve spočívá v jejím pěstování na hrůbcích. Příprava hrůbků je prováděna na podzim či těsně před výsevem. Druhý způsob je více využíván díky menšímu množství přejezdů na pozemku. Při setí jsou výhradně používány přesné secí stroje. Farrar et al. (2004) uvádějí, že výsevek na hektar by měl být 0,5-3 milionu kusů semen při hloubce výsevu odpovídající 3-10 mm. Jestliže po výsevu převládá suchý charakter počasí, je vhodné na pozemku aplikovat závlahu. Na hrůbcích se nejčastěji pěstují tři dvojřádky nebo čtyři jednořádky (Bartoš, 2001 a).

Délka vegetace se liší podle typu odrůdy.

Mrkev lze tedy rozdělit podle délky vegetace:

- velmi rané odrůdy – do 80 dní,
- rané odrůdy – od 80 do 110 dní,
- polorané odrůdy – od 110 do 130 dní,
- polopozdní odrůdy – od 130 do 150 dní,
- pozdní odrůdy – více než 150 dnů (Brātuca et al., 2013).

Půdní profil pro pěstování mrkve musí být zpracován do dostatečné hloubky. Optimální půdy pro pěstování jsou záhřevné, humózní, hlinitopísčité až hlinité a lehké půdy. Optimální hodnota pH půdy činí 6,0-6,5. Nevyhovujícími jsou půdy kamenité, vysychavé, těžké a slévací. Nevhodné půdy zapříčiní deformace, větvení a porušení kořenů. Deformované kořeny činí veliké množství odpadu, který zůstává po třídění mrkve během sklizně (Peters, 2014).

Vhodná teplota pro optimální růst mrkve během vegetace se pohybuje v rozmezí 16-21 °C (Benjamin et al., 1997).

Mrkev se pěstuje v druhé trati a nesnese hnojení hnojem. Půdy suchých stanovišť musejí být hnojeny fosforem a draslíkem dvakrát. První aplikace těchto prvků je prováděna rok před výsevem na podzim, druhá aplikace před výsevem nejpozději však 3 týdny. Mrkev je velice náročná na hnojení dusíkem. Dávky dusíku se odvíjejí od zásoby  $N_{\min}$  ve 30 cm hloubky ornice. Dávku dusíku ovlivní i způsob zpracování mrkve. Konzumní odrůdy hnojíme dávkou 60-80 kg N/ha, průmyslově zpracovávané mrkve vyžadují dávky až dvojnásobně větší 100-120 kg N/ha. Dávky ostatních hnojiv.

Průměrné dávky hnojiv: 36-64 kg  $P_2O_5$ /ha

80-120 kg K<sub>2</sub>O/ha

20-30 kg MgO/ha.

V Nizozemí je běžnou praxí, že producenti mrkve po 60 dnech od výsevu kontrolují optimální výživu porostu mrkve (Bartoš, 2001b).

Čerstvá mrkev s natí určená ke svazkování se sklízí ručně po předchozím podorání porostu. Ihned po ruční sklizni je prováděno třídění, v případě potřeby i vyprání, následuje svazkování. Jako svazkové mrkve se nejčastěji pěstují rané druhy mrkve (Bartoš, 2001a).

K mechanizované sklizni se používají ostatní odrůdy mrkvi. Pro účely mechanizované sklizně musejí být využity odrůdy takové, které dosahují sklizňové zralosti ve stejnou dobu (Abd El-Gany et al., 2008). Mechanicky sklizené mrkve jsou využívány především ke skladování (Mirecki et al., 2015).

Samotný termín sklizně se odvíjí od stavu natě na mrkvi. Dnes jsou nejčastěji využívány stroje s vysouvacími pracovními orgány. Tento způsob sklizně je méně ekonomicky nákladný. Pokud je nať poškozena, používají se nakládací vyorávače (Bartoš, 2001a). Řádek je podorán stejně jako u sklizně ruční, následně klínové řemeny uchopí nať podorané mrkve a dojde k jejímu vytažení z půdy (Vogel et al., 1996).

### 3.4 Choroby a škůdci mrkve obecné seté

#### 3.4.1 Houbové choroby

##### ○ Padlí miříkovitých

Choroba je způsobena houbovým patogenem *Erysiphe heraclei* DC. (*E. umbelliferarum* de Bary). Hostitelský okruh patogena je zastoupen většinou zástupců čeledi *Apiaceae*. Široký hostitelský okruh napomáhá jeho celosvětovému rozšíření (Rod, 2004).

Výskyt padlí je ovlivněn klimatickými podmínkami, příznivými jsou suchá a horká léta. Typickým příznakem choroby je povlak bílého moučnatého mycelia na nadzemních částech rostlin. Tmavé kulovité plodničky se vyskytují na starším a tmavším myceliu. Ztráty asimilační plochy způsobují i ztráty na výnosu kořenů. Padlí bývá problémem mrkve sklizené i s natí. Nejvýznamnější škody vznikají v semenných porostech.

Zdrojem infekce jsou napadené posklizňové zbytky či infikovaná semena. Nepřímou ochranou je likvidace posklizňových zbytků a dodržování izolačních vzdáleností. Během vegetace je možno porost ošetřit fungicidy na bázi síry (Watson, 2011).

- Černá hniloba mrkve

Patogen způsobující toto onemocnění je houba *Alternaria radicina*. Původce choroby je rozšířen po celém světě. Hostitelský okruh je tvořen mrkví obecnou, ale i lilkem bramboru a datlovníkem pravým (Khudhair et al., 2015).

První příznaky se projevují na řapících starších listů ve formě lézí. Povrchové tmavé léze dále postupují do korunkové části kořene a na samotný kořen. Na kořenech se objevují propadající se černé skvrny, které se stářím zvětšují do plochy i hloubky. Zdrojem patogenu může být napadené osivo spolu s posklizňovými zbytky (Rod, 2002).

Dalšími houbovými chorobami snižujícími skladovatelnost mrkve mohou být:

- plíseň šedá – *Botryotinia fuckeliana*,
- kořenomorka fialová – *Helicobasidium purpureum*,
- kořenomorka bramborová – *Rhizoctonia solani* (Táborský, 2002).

### 3.4.2 Bakteriózy

- Měkká hniloba mrkve

Táborský (2002) uvádí, že onemocnění je způsobeno bakteriemi *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Erwinia chrysanthemi* Burkholder et al. či *Pseudomonas viridiflava* Burkholder. Patogen napadá kořeny rostlin již v půdě nebo během jejich skladování. Pro rozšíření choroby jsou příznivé zamokřená půdy. Příznaky choroby se šíří od napadených bází listů nebo vrcholu kořene. Během optimálních podmínek dochází k rozkladu kořene během několika málo dní.

### 3.4.3 Virózy

Nejběžnějšími viry u mrkve jsou:

- virus tenkolistosti mrkve – Carrot thin Lea virus – CTLV,
- virus červenolistosti mrkve – Carrot red Lea virus – CRLV,
- virus strakatosti mrkve – Carrot mottle virus – CMoV.

Příznaky v prvním roce při sklizni kořene jsou patrné jako menší deformace a barevné změny listů. Hlavní škody se projevují v druhém roce v semenných porostech. Napadené rostliny

vytvářejí semena s nízkou životností, častějším jevem je nevytváření semen vůbec (Rod, 2009).

#### 3.4.4 Škůdci

- Merule mrkvová - *Trioza cicalis*

Škůdce sáním způsobuje deformaci listů formou zkadeření a následného nahloučení listů do kuličky. Typické je dlouho trvající tmavě zelené zbarvení deformovaných listů. Silné zamoření porostu způsobí snížení výnosu. Hostitelský okruh merule je velice specifický (Muška, 2005).

Dospělci merule jsou drobného podlouhlého tvaru přibližně 3 mm velcí. Zbarvení těla je světle zelené s hrudí žlutavou a bezbarvými křídly. Merule mohou skákat, nejvíce se podobají mšicím. Vajíčka jsou 0,3 mm velká se stopkou, barvy bílé až žlutavé. Z vajíčka se líhnou žlutavé ploché larvy s lemem. Přezimují dospělci. Na rostlinách škodí dospělci i larvy a to sáním na listech (Muška, 2005).

- Pochmurnatka mrkvová – *Psila rosae* F.

Pochmurnatka mrkvová patří do řádu dvoukřídlých. Nevýraznému tmavému tělu dominují žlutě zbarvené nohy, křídla pochmurnatky jsou široká a nazelenalým odstínem. Dosahují velikosti kolem 5 mm. Samičky kladou mléčně bílá a oválná vajíčka. Typickým znakem larvy této pochmurnatky mrkvové je její délka. Larvy lze nalézt na kořenech mrkve. Díky způsobu života uvnitř pletiv je jejich konstituce těla křehká. Během jedné vegetace má tato pochmurnatka dvě generace. Přezimují ve stadiu kukly v půdě (Grichanov et al., 2009).

Samičky kladou vajíčka do bezprostřední blízkosti kořene. Škodí larvy podpovrchovým žírem na kořenech. Larvy způsobují dobře viditelné žlutavé chodbičky. Takto znehodnocené kořeny již nejsou určeny k prodeji (Grichanov et al., 2009).

- Mšice – *Aphidoidea*

Hlavními druhy, které škodí na porostech mrkve:

- mšice mrkvová – *Semiaphis dauci*,
- mšice hlohová – *Dysaphis crataegi* (Muška, 2005).

První ze zmíněných mšic saje na listech, které se následně krouť a čepele mají vyklenuté směrem dolů. Napadené listy mění barvu do žluta. Samičky zeleného zbarvení o

velikosti 1,5-1,8 mm mají bělavě ojíňený povrch. Tyto mšice přenášejí fytopatogení viry, jejich hostitelský okruh je úzký (čeleď *Apiaceae*). Přezimují vajíčka na povrchu listů (Muška, 2005).

Mšice hlohová způsobuje krnění rostlin. Samičky sají na kořenech a bázi listů, jsou černé, hnědé, šedozelené až zelené s šedomodrým ojíňením. Tato mšice je o něco větší než mrkvová, její velikost je cca 2 mm. Primárním hostitelem je hloh, sekundárními jsou rostliny z čeledě *Apiacea*. Vajíčka přezimují na primárním hostiteli. Preventivní ochranné ošetření se neprovádí (Muška, 2005).

- Škůdci semenných porostů
  - klopušky – *Lygus*,
  - makadlovka kmínová – *Depressaria nervosa* (Muška, 2007).

Klopušky sají na květech, semenech i listech rostliny, sáním škodí larvy i dospělci. Napadené pletiva jsou deformována a mohou nekrotizovat. Tělo o velikosti 4-8 mm oválně ploché je pokryto jemnými chloupky, zbarvení těla žlutozelené až tmavohnědé. Nymfy jsou nápadně podobné dospělcům, ale bez křídel. Přezimuje dospělec, ojediněle mohou u některých druhů i vajíčka (Muška, 2007).

Housenky makadlovky kmínové škodí na okolících. Dále poškozují okusem květní stopky a semena. Otvěrky ve stoncích, které jsou překryty pavučinkami, signalizují vzniklé chodbičky uvnitř stonku. Přezimují jako hnědí motýli o velikosti 2,5 cm. Samičky kladou 0,5 mm zelená vajíčka na květní stopky. Následně housenky okusují pokožku a vyžírají dřev. Housenky mají černé brvy s podélnými pruhy po stranách (Muška, 2007).

### **3.4.5 Abionózy**

- Větvení kořenů

Jedná se o poruchu, která se nejčastěji vyskytuje na těžkých, kamenitých a silně zhutnělých půdách. Vhodné pro pěstování mrkve jsou tak stanoviště s lehčími půdami. Důležitá je předseťová příprava, kdy dojde k důkladnému nakypření půdy (Rod, 2005).

Větvení nemusí být způsobeno pouze nevhodným stanovištěm. Příčinou mohou být houbové choroby, háďátka, poškození herbicidem či hnojivem nebo nedostatkem kyslíku v půdě (Rod, 2005).



- Zelenání kořenů

Zelenání je způsobeno nežádoucí tvorbou chlorofylu, kdy vznikají takzvané zelené hlavy kořenů. Dochází k tomu u kořenů vystavených přímému světlu. Náchylné jsou odrůdy tvořící menší objem listové natě (Rod, 2008).

V chladnějších podmínkách zabarvují kořeny antokyany do purpurové barvy. Společnou ochranou v těchto případech je podpora tvorby listové natě a přihřívání půdy k rostlinám (Rod, 2008).

### 3.5 *Alternaria* spp.

Rotem (1994) uvádí, že houbu rodu *Alternaria* určil v roce 1817 Nees. Taxonomie rodu *Alternaria* od této doby prodělala několik odlišných způsobů zařazení do systému, stejně tomu bylo i u rodů příbuzných. Od roku 1816 až 1850 probíhala první etapa řazení do systému, při níž byla *Alternaria* posuzována jako houba nedokonalá *Hyphomycetes*. Ve druhé etapě (1850-1930) byly popsány úplně nové druhy hub. Následující třetí etapa (1930-1960) byla využita ke kontrole rodů *Alternarie* a *Macrosporium*. Závěrečnou etapu (1960-2000) lze nazvat jako „Simmons“, kdy byla provedena kompletní revize rodu *Alternaria* (Lawrence et al., 2015).

Celkem je popsáno 50 druhů rodu *Alternaria*, jednotné rozdělení, které by se využívalo v širším měřítku, doposud není vytvořeno.

Rod *Alternaria* tvoří velká skupina hub. Zařazení do systému je možné díky odlišnosti znaků jednotlivých konidií. Nejčastěji se jedná o barvu, tvar, velikost, počet přehrádek a tvorbu různě dlouhých řetězců. Méně významným faktorem je hostitelský okruh nebo biochemie druhu (Lawrence et al., 2015).

Říše: *Fungi*

Podříše: *Dikarya*

Oddělení: *Ascomycota*

Pododdělení: *Pezizomycotina*

Třída: *Dothideomycetes*

Podtřída: *Pleosporomycetidae*

Řád: *Pleosporales*

Podřád: *Pleosporineae*

Čeleď: *Pleosporaceae*

Rod: *Alternaria* (NCBI, 2014).

### 3.5.1 Morfologie rodu *Alternaria* spp.

Typické pro konidie rodu *Alternaria* je v první řadě jejich velikost. Oproti ostatním druhům jsou tyto konidie mnohem větší. Jejich tvar je úzce protáhlý k jedné straně nitkovitě zúžený. Jednotlivé přehrádky rozdělují konidii. Jejich charakteristickou barvou je olivově-hnědá (Farrar et al., 2004).

Singh et al. (2015) uvádějí, převážnou část druhů *Alternaria* jsou producenty nepohlavních výtrusů.

Hyfy rodu *Alternaria* jsou průhledné posléze tmavě zelené až hnědé. Barevnost je ovlivněna jejich stářím, čím starší, tím tmavší barva. Vnitřní prostor hyf je dělený přehrádkami, šířka dosahuje intervalu 2-10  $\mu\text{m}$  (Davis et al., 2002).

Hyfa nesoucí konidie takzvaný konidiofor může dosáhnout velikosti 6-10 x 30-100  $\mu\text{m}$ . Konidiofory mohou být dvojího typu. Prvním typem je rovný, jež má pouze jediné zakončení. Druhý typ má dvě až tři zakončení, jedná se o konidiofor větvený (Davis et al., 2002).

Konidie tvarem připomíná elipsu o velikosti 12-24 x 50-100  $\mu\text{m}$ . Délka zúžené a zašpičatělé části vespělé konidie může být i třikrát delší než samotná konidie. Barva prodloužené části odpovídá barvě konidie podle jejího stáří (Davis et al., 2002).



**Obrázek 1: Konidie *A. dauci***  
Zdroj: Farrar et al., 2004.

## 3.6 *Alternaria dauci*

### 3.6.1 Životní cyklus *A. dauci*

Hlavním způsobem přežívání *A. dauci* je schopnost spor uchytit se na povrchu semena, kde vytváří dormantní mycelium. Nebo se konidie mohou stát součástí pericarpu. Infikovaná semena v příznivých podmínkách umožňují šíření *A. dauci* do dalších pěstitelských oblastí. Mladé rostlinky z napadených semen snadno podléhají *A. dauci*. Nejprve dojde k celkovému oslabení rostlinky, která posléze uhynie. Na takto oslabených rostlinách *A. dauci* velice dobře vytváří velké množství spor (Davis et al., 2002; Farrar et al., 2004).

Vzdušná vlhkost ovlivňuje uvolňování spor. Stoupáním teploty klesá vzdušná vlhkost a dochází k uvolnění spor. Tyto spory napadají okolní rostliny, jsou unášeny větrem a mohou se šířit do vzdálenějších oblastí (Pryor et al., 2002).

Optimální podmínky pro infekci můžou být vytvořeny špatně zvoleným načasováním zavlažování. Jestliže bude doba ovlhčení listů prodlužována, dojde k vytvoření příznivých podmínek pro vývoj onemocnění. Neovlivnitelnou podmínkou je charakter počasí během dané vegetace. Častější výskyt mlh v dané lokalitě postačí, jako příznivá podmínka pro infekci, kterou způsobuje patogen *A. dauci* (Nunez, 2012).

Kapičky vody setrvávající na listech rostlin umožňují sporám snadno a rychle vyklíčit. Ze spory vyrůstá vlákno, které může být jednoduché nebo větvené. Toto vlákno se zvětšuje a proniká do listu díky průduchům na rostlině. Optimální vývoj probíhá při teplotě 16-25 °C po dobu 8 až 12 hodin (Davis et al., 2002).

Během sklizně dochází k uvolňování velkého množství spor. Spory unášené větrem napadají okolní porosty určené k pozdější sklizni. Sklízecí mechanizace rozšiřuje spory do vzdálených oblastí. Potenciálním zdrojem dalších spor mohou být divoce rostoucí rostliny v okolí pěstování porostů mrkve (Roger et al., 2011).

Další způsob, jak *A. dauci* přežívá, je za pomoci posklizňových zbytků v půdě. Průměrně v půdě přežívá okolo jednoho roku, záleží na délce rozkladu posklizňových zbytků. *A. dauci* zaniká spolu s rozloženými posklizňovými zbytky. Pokud se v půdě budou nacházet napadené posklizňové zbytky, které nebudou rozloženy, a přesto dojde k výsevu semen, vzniká nová epidemie onemocnění (Gugino et al., 2004).

Houba způsobuje snížení kvality semen a výnosu u semenářských porostů. *A. dauci* přežívá několik let na semenech (Rogers, 2007).

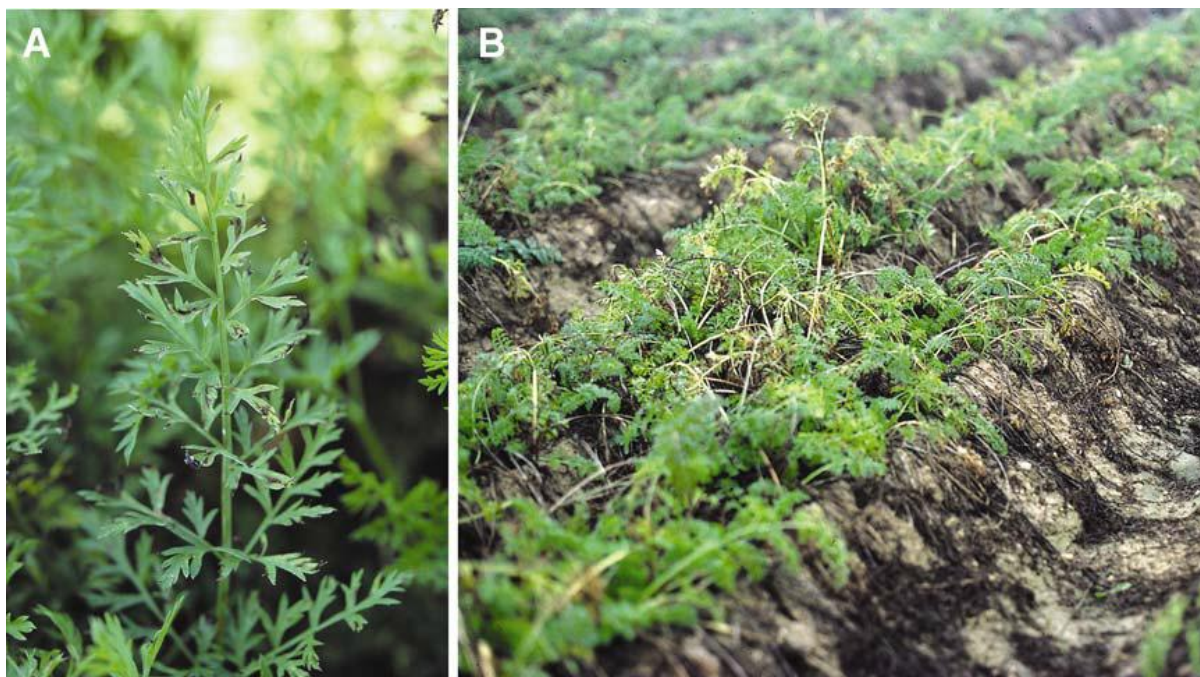
### 3.6.2 Příznaky napadení způsobené *A. dauci*

První příznaky na listech se projevují 8-10 dnů po napadení. Typickými jsou vodnaté skvrny zeleno-hnědé barvy, zvětšující se vodnaté skvrny tmavou a stávají se tmavě hnědými až černými. Tmavé skvrny bývají ohraničeny žlutým proužkem, který tvoří lem. Hranice skvrn nebývá ohraničena žilnatinou listu. Jestliže se jednotlivé skvrny spojí, vytvoří jednotný povlak. Dosáhne-li povlak více jak 40 % plochy listu, dojde ke změně jeho barvy. Takto napadený list nejprve žloutne, sesychá a odumírá. Jako první napadá *A. dauci* nejstarší listy na rostlině (Davis et al., 2002; Lopes et al., 2008).

Příznaky se neobjevují pouze na listech, ale také na řapících. Projevy na řapících jsou totožné jako na listech. Jedinou výjimkou je jejich tvar, který je tence protáhlý. Velké léze na řapících zapříčiní odumření celého listu (Davis et al., 2002). Další infikovanou částí celé rostliny může být květenství (Farrar et al., 2004).

Projevy *A. dauci* lze snadno zaměnit za jinou skvrnitost listů, jedná se o cerkosporovou skvrnitost listů mrkve, jejíž průvodce je *Cercospora carotae* (Pass.) Solheim (Davis et al., 2002). Projevy obou chorob jsou na první pohled totožné a často zaměňované. Skvrny na listech obou chorob se nejčastěji vyskytují na okrajích listů (Rod, 2009). Mladé rostlinky napadené tímto houbovým patogenem hynou 2-3 týdny po vzejití (Davis et al., 2002).

Nejvíce rozšířenou chorobou listů mrkve je alternariová skvrnitost listů mrkve, jejímž původcem je právě *A. dauci*. Patogen za příznivých podmínek způsobí postupné ubývání listů. V některých případech až defoliaci mrkve. Při ztrátě listové plochy mrkev omezuje vývoj kořene. Výsledkem je snížení velikosti a kvality kořene mrkve. Další ztráty jsou způsobené při samostatné sklizni porostu mrkve. Absence listů při mechanizované sklizni mrkve má za následek její ponechání na poli. Dochází ke snížení výnosu produkce mrkve na hektar (Ben-Noon et al., 2003). Ben-Noon et al. (2001) uvádějí, ztráty které *A. dauci* způsobuje na výnosech mrkve od 40 do 60 %.



Obrázek 2: Příznaky *A. dauci* na mrkvi, A - skvrny na listech, B – rozsáhlá defoliace porostu na poli  
Zdroj: Farrar et al, 2004.

### 3.6.3 Hostitelský okruh *A. dauci*

Houby rodu *Alternaria* spp. jsou původci celé řady onemocnění na důležitých zemědělských plodinách. Tyto rostliny tvoří velkou škálu hostitelského okruhu. Řadí se sem:

- obilniny,
- okrasné rostliny,
- olejniny,
- zelenina - květák, brokolice, mrkev, brambor,
- ovoce - rajčata, citrusy a jablka (Thomma, 2003).

Boedo et al. (2012) sledovali ve svém řízeném pokusu hostitelský okruh *A. dauci*. Pro pokus bylo zvoleno 17 zástupců rostlin, jak z čeledě *Apiaceae*, tak i dalších čeledí. Zástupce z čeledi *Apiaceae* tvořili kulturní i divoce rostoucí rostliny. Veškeré zástupce dvouděložných rostlin, nezávisle na čeledi patogen *A. dauci* infikoval a byl schopen sporulace. Tyto hostitelské rostliny byly rozděleny do dvou skupin.

U první skupiny dochází pouze k rozšiřování skvrn. Jedná se o zástupce pěstovaných (*Daucus carota* subsp. *sativus* Hoffm.) a divokých druhů (*Daucus carota* subsp. *carota*) mrkve. Dále pak do této skupiny patří kopr vonný (*Anethum graveolens* L.) a fenykl obecný (*Foeniculum vulgare* Mill.). Tato skupina rostlin by se dala hodnotit jako hlavní hostitelský okruh.

Druhá skupina čítá podstatně více zástupců. Zde se skvrny nerozšiřují. Tuto skupinu tvoří zbylí zástupci testovaných dvouděložných rostlin z různých rostlinných čeledí:

- lilek rajče (*Solanum lycopersicum* L.),
- ředkev setá (*Raphanus sativus* L.),
- potočnice lékařská (*Nasturtium officinale*),
- kozlíček polníček (*Valerianella locusta* L.),
- pastinák setý (*Pastinaca sativa* L.),
- petržel obecná (*Petroselinum crispum* Mill.),
- celer bulvový (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*),
- miřík celer (*Apium graveolens* L.),
- kerblík třebule (*Cerifolium sativum* Bess.),
- koriandr setý (*Coriandrum sativum* L.).

Tito zástupci jsou alternativními hostitelskými rostlinami.

Jediní dva zástupci jednoděložných rostlin, kteří byly začleněny do testování hostitelského spektra tohoto druhu, se projeví jako rostliny nehostitelské. Jednalo se o pór zahradní - *Allium porrum* L. a kukuřici cukrovou - *Zea mays* conv. *saccharata* (Boedo et al., 2012).

Rod (2004) uvádí, že patogen alternariové skvrnitosti napadá pouze rostliny mrkve a fenyklu. Petržel spolu s pastinákem již nenapadá, i když jde o zástupce z téže čeledě, naopak Farrar et al. (2004) dodávají, že napadá pastinák, zemědým, celer a petržel. Tudíž hostitelský okruh může být závislý na více faktorech, než jen na hostitelské rostlině.

#### **3.6.4 Ochrana vůči *A. dauci***

Ztráty způsobené touto chorobou činí 40-99 %. Na způsob ochrany jsou kladeny vysoké nároky (Boedo et. al., 2010).

- Preventivní opatření

Jako nepřímou ochranu lze zvolit osevňovací postup se střídáním plodin po 3-4 letech. Zapracováním rostlinných zbytků po sklizni mrkve dojde k jejich rychlejšímu rozkladu a snížení možností přežití patogenu (Jellison, 2013). Snížením doby ovlhčení listů natě jsou eliminovány vhodné podmínky pro vývoj choroby. Délku ovlhčení natě lze ovlivnit jak pěstováním mrkve na hrůbcích, tak větším sponem při pěstování mrkve. Těmito způsoby se

docílí lepšího proudění vzduchu v porostu. Nejlepším termínem zavlažování porostu je brzy ráno, mokrá nať má delší dobu na osychání (Weidemann et al., 2016).

V provozech, kde dochází k výsevům mrkve postupně, je velice obtížné tuto chorobu eliminovat. Vhodné stanoviště k pěstování mrkve, se nachází v lokalitě s dostatečnou prostorovou izolací od potenciálního zdroje nákazy. Tato stanoviště by měla být chráněna před zavlečením patogena pomocí zdravého osiva. Infikovaná semena mohou být ošetřena fungicidními mořidly. Namoření osiva omezuje do určité míry patogena. Podobného účinku lze dosáhnout namoření semen do vody o teplotě 50 °C po dobu 20 minut (Davis et al., 2002).

Malé množství odrůd pěstované mrkve vykazuje poměrně dobrou odolnost k původci alternariové skvrnitosti listů. Větší skupinu tvoří odrůdy tolerující tuto chorobu (Jellison, 2013).

#### ○ Chemická ochrana

Pokud během vegetace nastanou vhodné podmínky pro výskyt *A. dauci*, ochrana je velice obtížná. Při využití chemické ochrany dochází k aplikaci postřiku fungicidů. Pokud je listová část rostlin tvořena malým množstvím listů, aplikace postřiku probíhá bez sebemenších problémů. Po zmožutnění listové růžice dochází k špatné aplikaci postřiku. Velké množství listů zabraňuje docílení důkladného pokrytí listů postřikem (Davis et al., 2002).

Jellison (2013) uvádí, pokud se projevy onemocnění vyskytnou více jak na 25 % natě, přistupuje se k aplikaci fungicidů. Opakovaná aplikace fungicidu by měla být podmíněna samotnému vývoji choroby spolu s povětrnostními vlivy.

Běžnou praxí bývá aplikace fungicidů již při výskytu prvních příznaků napadení. V oblastech s charakterem vlhčího počasí, je prováděna aplikace postřiku již při samotném náznavu vývinu příznaků (Ben-Noon et al., 2001).

#### ○ Biologická ochrana

Aplikací kyseliny giberelové lze docílit hned několika pozitivních projevů. Při řádné aplikaci kyseliny do listové růžice dochází k prodlužování listů a zesílení jejich řapíků. Díky tomuto nedochází k poléhání listů a prodlužování jejich ovlhčení. V porostu dochází k lepšímu proudění vzduchu, doba ovlhčení listů se zkracuje. Vhodné podmínky pro rozvoj



choroby jsou limitovány. Nezanedbatelnou výhodou této kyseliny je její možné využití při sklizni mrkve určené pro svazkování. Kyselina zajistí robustnější řapíky, které jsou poté odolnější (Davis et al., 2002). Santos et al. (2000) uvádějí, že dvakrát aplikovaná kyselina se rovná čtyřem aplikacím fungicidu (iprodion).

Lima et al. (2016) publikovali pokus ošetření semen mrkve vybranými rostlinnými výtažky (česnek, pepř a koriandr). Semena byla máčena v třech koncentracích vybraných olejů (10, 20 a 30%) po dobu jedné minuty. Výzkum prokázal nižší výskyt *A. dauci* oproti neošetřené kontrole. Z rostlinných výtažků nejlepších výsledků dosáhl česnek.

Hernández et al. (2006) provedli pokus s *Bacillus subtilis* a jeho využití inhibičního účinku na růst mycelia *A. dauci* v laboratorních podmínkách. Testováno bylo 5 kmenů, pouze u jednoho z nich nebyl prokázán žádný inhibiční účinek. U ostatních kmenů byl průměrný inhibiční účinek okolo 47 %. Hodnocen byl i vliv na samotnou mrkev ve skleníkovém pokusu. V porovnání s kontrolou bylo dosaženo vyššího výnosu u testovaných variant.

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Izolace patogena *A. dauci*

Izoláty patogena *Alternaria dauci* byly získány z napadených pletiv rostlin mrkve obecné seté (*Daucus carota* subsp. *sativus*), které byly získány na pozemku Demonstračního a experimentálního pracoviště České zemědělské univerzity. Listy mrkve s příznaky alternáriové skvrnitosti mrkve byly odebrány v průběhu srpna 2016 z porostu odrůdy Fidra pěstované na maloparcelkových pokusech.

#### Pomůcky pro izolaci:

Kultivační termostat, flow box ESCO, filtrační papír, sterilní skalpel, plastové Petriho misky ø 60 mm, Erlenmeyerova baňka, odměrný válec, sterilní jehla, tlakový hrnec, hrnec, parafilm.

#### Chemikálie pro výrobu mrkvového agaru:

Agar, vývar z mrkve, fruktóza, sacharóza, ddH<sub>2</sub>O, destilovaná voda.

#### Postup přípravy mrkvového agaru s přidavkem fruktózy (MFA) nebo sacharózy (MSA):

- V 1 l destilované vody bylo uvařeno 250 g mrkve.
- K 500 ml vývaru bylo přidáno 500 ml ddH<sub>2</sub>O, kde bylo rozpuštěno 20 g agaru a 4 g fruktózy nebo sacharózy (podle druhu připravovaného média).
- Agar byl sterilizován v tlakovém hrnci po dobu 20 min.

#### Postup izolace patogena:

- Z infikované natě mrkve byly vyříznuty segmenty o velikosti 4 mm s typickými skvrnami způsobené patogenem.
- Vypreparované segmenty byly vloženy na připravené živné médium v Petriho miskách ø 60 mm.
- Petriho misky s pletivem byly inkubovány ve tmě při stálé teplotě 19,5 °C.
- Po nárůstu mycelia patogenu bylo mycelium přeneseno sterilní jehlou na nový živný agar.
- Čisté kultury patogenu byly v pravidelném třítydenním intervalu přeočkovávány na nový živný agar.

## 4.2 Identifikace izolátů *A. dauci*

Druhová příslušnost izolátů byla určena mikroskopicky podle velikosti a charakteru konidií. Přesná identifikace druhu byla provedena pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) s využitím specifických primerů pro *A. dauci* (Konstantinova et al., 2002).

### 4.2.1 Izolace genomické DNA

#### Pomůcky:

Třecí miska s tloučkem, špachtle, automatické pipety, polypropylenové špičky, třepačka, vortex, centrifuga, mikrozkuhavky (2 ml), termostat, stojan na mikrozkuhavky, sada na izolaci DNA, kahan, kádinka.

#### Chemikálie:

Tekutý dusík, izolační kit GenElute™ Plant Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich).

#### Postup:

- V prvním kroku byly zchlazeny třecí misky a tlouček pomocí tekutého dusíku.
- Mycelium jednotlivých izolátů *A. dauci* v Petriho miskách (60 mm) bylo zalito tekutým dusíkem a pomocí vysterilizované špachtle bylo seškrábáno do vychlazené třecí misky.
- Pomocí tekutého dusíku a tloučku bylo mycelium rozmělněno na jemný prášek.
- K rozmělněnému myceliu bylo přidáno 375 µl LA roztoku a homogenát byl přemístěn do mikrozkuhavky.
- K homogenátu bylo přidáno 50 µl LB roztoku, směs byla důkladně promíchána na vortexu a inkubována po dobu 10 min při 65 °C v termostatu.
- Následně bylo ke směsi přidáno 130 µl PPT roztoku, směs byla promíchána otáčením v ruce a inkubována po dobu 5 min na ledu.
- Následovala centrifugace při 14 000 g po dobu 5 min.
- Supernatant byl přenesen do mikrozkuhavky s modrou filtrační kolonkou a centrifugován při 14 000 g po dobu 1 min.
- Po centrifugaci byla z mikrozkuhavky odstraněna filtrační kolonka a k filtrátu bylo přidáno 700 µl BIND pufru.

- Do mikrozkušavky s vázací červenou kolonkou bylo pipetováno 500 µl CPS roztoku pro přípravu kolonky pro navázání DNA, poté byly mikrozkušavky centrifugovány 1 min při 14 000 g.
- Po centrifugaci byl roztok na dně mikrozkušavky odstraněn a na kolonku bylo pipetováno 700 µl promíchané směsi filtrátu s BIND roztokem, poté byly mikrozkušavky centrifugovány 1 min při 14 000 g.
- Po centrifugaci byla směs vylita a předchozí krok byl zopakován.
- Po centrifugaci byla vázací kolonka přemístěna do nové mikrozkušavky a navázaná DNA byla promyta 500 µl WASH pufru.
- Po centrifugaci 1 min při 14 000 g, byla mikrozkušavka vyprázdněna a promytí WASH pufrům bylo zopakováno, centrifugace byla prodloužena na 3 min.
- Po centrifugaci byla kolonka přemístěna do nové mikrozkušavky, na kolonku bylo pipetováno 120 µl ES pufru zahřátého na teplotu 65 °C.
- Po inkubaci 5 min při pokojové teplotě, byly mikrozkušavky centrifugovány 1 min při 14 000 g, kolonka byla odstraněna a DNA byla uchována při -24 °C.

#### 4.2.2 PCR

##### Pomůcky:

PCR zkušavky (0,2 ml), mikrozkušavky (1,5 ml), automatické pipety, polypropylenové špičky, termocykler, stojan na zkušavky.

##### Chemikálie:

ddH<sub>2</sub>O, pufr pro *Taq* polymerázu (Thermo Scientific), termostabilní *Taq* polymeráza (Thermo Scientific), směs nukleotidů dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) (Thermo Scientific), MgCl<sub>2</sub> (Thermo Scientific), primery (Sigma-Aldrich), DNA.

##### Použité primery:

Převzaty z publikace Konstantinova et al., (2002):

AAF2 5' TGCAATCAGCGTCAGTAACAAAT 3'  
 AAR3 5' ATGGATGCTAGACCTTTGCTGAT 3'

#### Postup přípravy reakční směsi pro PCR (25 µl/l vzorek):

- Příprava reakční směsi o objemu 24 µl pro jeden vzorek: do zkumavky bylo pipetováno 19,15 µl ddH<sub>2</sub>O, 2,5 µl pufru pro *Taq* polymerázu (2,5 x), 1,5 µl MgCl<sub>2</sub> (1,5 mM), 0,25 µl dNTP (0,25 µM každého), 0,4 µl směsi primerů (0,4 µM každého), 0,2 µl termostabilní *Taq* polymerázy (1 U).
- K reakční směsi byl přidán 1 µl DNA a PCR mikrozkušavky byly vloženy do termocyklu.

#### Schéma průběhu PCR programu:

počáteční denaturace	95 °C, 5 min
35 cyklů	{ denaturace 95 °C, 1 min
	{ annealing 63 °C, 30 s
	{ Polymerace 72 °C, 30 s
Konečná polymerace	72 °C, 10 min

### **4.2.3 Gelová elektroforéza**

#### Pomůcky:

Elektroforetická cela, elektroforetická vanička, hřebínek, Erlenmeyerova baňka, kádinka, automatické pipety, polypropylenové špičky, destičky s jamkami, zdroj napětí pro elektroforézu.

#### Chemikálie:

Agaróza, TBE pufr, ethidium bromid, barvivo DNA Gel Loading Dye 6x (Thermo Scientific), molekulární marker Mass-Ruler Low Range DNA Ladder (Thermo Scientific).

#### Příprava gelu:

- Gel byl připraven rozpuštěním agarózy v 1x TBE pufru v mikrovlnné troubě.
- Množství gelu bylo připraveno v závislosti na velikosti elektroforetické vaničky.
- Po zchlazení gelu byl v gelu rozmíchán ethidium bromid (0,5 µg/mL).
- Gel byl nalit do elektroforetické vaničky, do vaničky byl vložen hřebínek vymezující jamky pro nanášení PCR produktů.

- Po ztuhnutí gelu byl odstraněn hřebínek a vanička byla vložena do elektroforetické cely a zalita 1x TBE pufrém.
- 5 µl PCR produktu bylo smícháno s 1 µl barviva v jamkách destičky a pipetováno do jamek v gelu.
- Do první a poslední jamky v gelu byl pipetován molekulární marker.
- Elektroforetická separace probíhala při elektrickém napětí 5-8 V/cm.
- Výsledný elektroforeogram byl zdokumentován automatickým dokumentačním a analytickým systémem.

### 4.3 Účinnosti esenciálních olejů

Účinek esenciálních olejů byl testován pomocí *in vitro* testu na agaru.

#### Pomůcky:

Kultivační termostat, flow box ESCO, plastové Petriho misky ø 90 mm, Erlenmeyerova baňka, odměrný válec, tlakový hrnec, hrnec, parafilm, automatické posuvné pravítko.

#### Chemikálie:

Živné agary MFA a MSA, DMSO (dimethylsulfosid), esenciální oleje (EO) z rostlin (Saloos): *Cinnamomum camphora*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus citriodora*, *Eugenia caryophyllus*, *Foeniculum vulgare*, *Lavandula angustifolia*, *Lavandula hybrida*, *Litsea cubeba*, *Mentha spicata*, *Ocimum basilicum*, *Origanum majorana*, *Pelargonium graveolens*, *Pimpinella anisum*, *Salvia officinalis* a *Thymus vulgaris*.

#### Postup přípravy agarů s 0,1 % koncentrací EO:

- Postup přípravy agarů je uvedena v kapitole 4.1
- Do vysterilizovaného a zchladlého agaru (teplota agaru v rozmezí 40-50 °C) byl přidán EO rozpuštěný v DMSO (v poměru 1:1) v množství, aby jeho konečná koncentrace v agaru byla 0,1 % (1000 µl/l). Kontrolní varianta obsahovala pouze DMSO (0,1 %).
- Po důkladném promíchání byl připravený agar nalit do Petriho misek ø 90 mm.

#### Postup založení testu:

- Agar v Petriho miskách byl zaočkován izolátem patogena *A. dauci*, izoláty byly inkubovány po celou dobu ve tmě při stálé teplotě 19,5 °C.
- Test byl proveden ve všech opakováních pro variantu s EO i kontrolní variantu.
- Po nárůstu mycelia na kontrolní variantě byl změřen růst mycelia u všech variant a opakování pomocí automatického posuvného pravítka.
- Inhibice růstu mycelia u jednotlivých izolátů *A. dauci* byla spočítána dle vzorce:

$$= 100 - \left( \frac{t}{K} * 100 \right)$$

t: naměřená hodnota mycelia v mm

K: naměřená hodnota mycelia u kontroly v mm

- Testování bylo provedeno celkem u 10 izolátů.

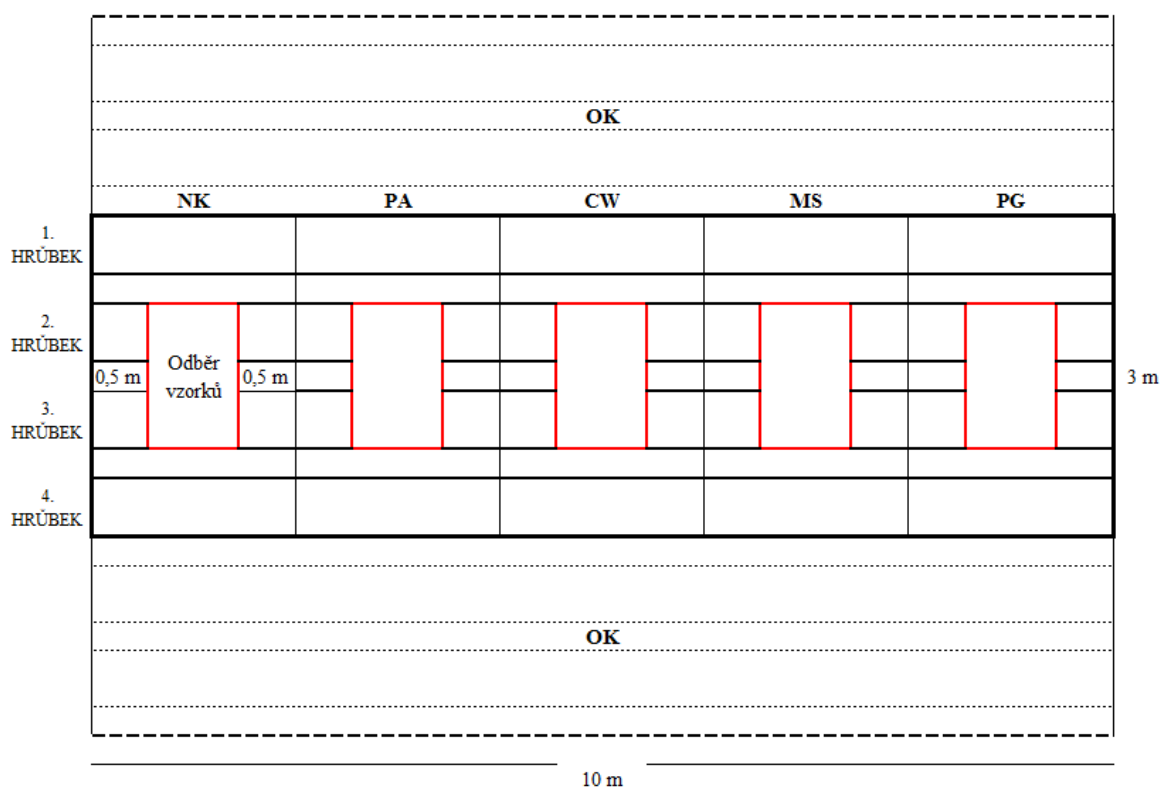
Výsledky byly zpracovány v programu STATISTICA pomocí parametrické jednofaktorové ANOVY a tabulky s výsledky byly zpracovány v programu MS Excel.

#### **4.4 Polní maloparcelkový pokus**

Výsev mrkve obecné seté odrůdy Fidra byl proveden 15. dubna 2016 na pozemku Demonstračního a experimentálního pracoviště České zemědělské univerzity na ploše 30 m<sup>2</sup>. Každá varianta byla tvořena 4 hrůbky, na každém hrůbku byly vysety 2 řádky. Délka hrůbku byla 10 m a šířka hrůbku 50 cm. Mezi každým hrůbkem byla mezera široká 30 cm. Pro kontrolu v konvenčním systému pěstování byl využit okolní porost, který byl ošetřen fungicidem Askon (ú. l. azoxastrobin). V rámci pokusu byly využity formulace esenciálních olejů, které byly poskytnuty Ing. Zouharem Ph.D. z probíhajícího projektu na využití esenciálních olejů.

### Varianty pokusu (Obr. 3):

- NK: neošetřená kontrola.
- OK: kontrola - konvenční systém (Askon).
- PA: varianta ošetřená formulací s esenciálním olejem z *Pinpinella anisum* v 1% koncentraci.
- CW: varianta ošetřená formulací s esenciálním olejem z *Cymbopogon winterianus* v 1% koncentraci.
- MS: varianta ošetřená formulací s esenciálním olejem z *Mentha spicata* v 1% koncentraci.
- PG: varianta ošetřená formulací s esenciálním olejem z *Pelargonium graveolens* v 1% koncentraci.



**Obrázek 3: Schéma maloparcelkového pokusu na Demonstračním a experimentálním pracovišti ČZU**

### Ošetření pokusu:

- Pozemek byl hnojen před setím dávkou 500 kg síranu amonného, během vegetace byl dvakrát přihnojen dávkou 200 kg ledku vápenatého.
- Všechny varianty pokusu byly jedenkrát ošetřeny herbicidem Bandur (4 l/ha).



- Varianta (OK) konvenčního systému byla jednou ošetřena fungicidem Askon (1 l/ha).
- U variant, kde byl testován účinek EO, byly jednotlivě aplikovány oleje z rostlin *Cymbopogon winterianus*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens* a *Pimpinella anisum*. Aplikace EO byla provedena dvakrát v rozmezí 3 týdnů.

Sklizeň rostlin byla provedena ručně. Rostliny byly odebrány z vnitřního čtverce (1 x 1m), jehož rozmístění je znázorněno na obr. 1. Z každého řádku tohoto čtverce byly sklizeny všechny rostliny, u nichž byl vyhodnocen výnos. Dále bylo z každého řádku tohoto čtverce náhodně vybráno 15 rostlin (celkem 60 rostlin), u nichž byl posouzen zdravotní stav. Každý řádek byl brán jako opakování, celkem byly tedy zohledněny čtyři opakování. Pro hodnocení napadených rostlin byla sestavena šestibodová stupnice pro určení míry napadení listů v natě.

Stupnice napadení natě (všechny listy jedné rostliny) (Obr. 4):

- 0: bez příznaků
- 1: drobné skvrnky na některých listech
- 2: větší počet drobných skvrn na veškerých listech, listy zelené, napadení pod 50 %
- 3: 1-2 listy neschopné fotosyntézy (zaschlé), zelené listy, napadení nad 50 %
- 4: více než 2 listy neschopné fotosyntézy (zaschlé), zelené listy, napadení nad 50 %
- 5: odumřelé veškeré listy



**Obrázek 4: Stupnice napadení natě mrkve patogenem *A. dauci***  
Zdroj: Martina Pačesová

Kořeny rostlin mrkve byly podle svého zdravotního stavu rozděleny subjektivně do 2 skupin:

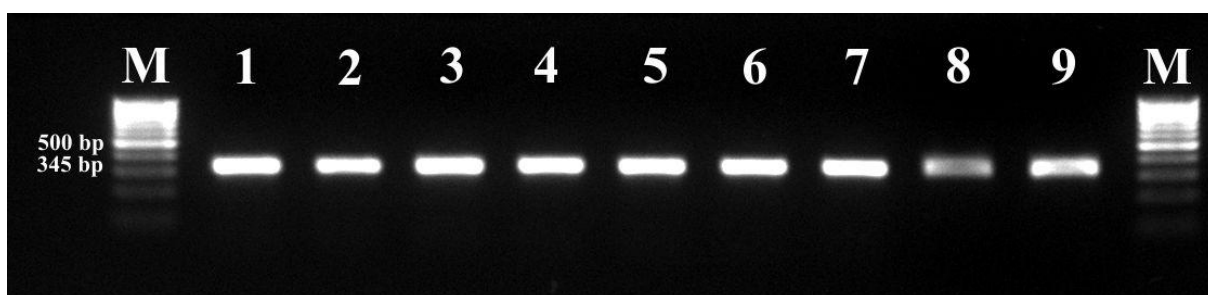
- 1) Prodejné – dobrý zdravotní stav
- 2) Neprodejné – tmavé léze na kořenu, měkké a mokré hniloby způsobené bakteriemi

Výsledky byly zpracovány v programu STATISTICA pomocí parametrické ANOVY s interakcemi a tabulky s výsledky byly zpracovány v programu MS Excel.

## 5 Výsledky

### 5.1 Izolace a identifikace *A. dauci*

V roce 2016 bylo celkem získáno 9 izolátů, které jsme determinovali na základě morfologických znaků – velikosti charakteru konidií. Jelikož spory rodu *Alternaria*, jsou si u některých druhů značně podobné, přesnou identifikaci do druhu jsme potvrdily pomocí analýzy PCR. Z výsledků PCR analýzy vyplynulo, že všechny námi získané izoláty byly *A. dauci*. Na elektroforeogramu (Obr. 5) je vidět, že pomocí primerů AA byl specificky amplifikován fragment DNA o velikosti 345 bp u všech izolátů. S izoláty se tak pracovalo dále a byly využity pro další testování.



Obrázek 5: Elektroforetická separace PCR produktů po amplifikaci s primery AAF2 a AAR3

Zdroj: Martina Pačesová

M	molekulární marker
1	izolát <i>A. dauci</i> SACH1
2	izolát <i>A. dauci</i> SACH2
3	izolát <i>A. dauci</i> SACH3
4	izolát <i>A. dauci</i> FRU1
5	izolát <i>A. dauci</i> FRU2
6	izolát <i>A. dauci</i> FRU 3
7	izolát <i>A. dauci</i> CL1
8	izolát <i>A. dauci</i> CL2
9	izolát <i>A. dauci</i> CL3

## 5.2 Stanovení účinnosti EO při 0,1 % koncentraci

V tabulce č. 1 a 2 jsou shromážděny výsledky všech 16 esenciálních olejů, jejichž účinek byl testován na 10 izolátech *A. dauci*, a to na dvou druhích živných médií, mrkvový agar s přidavkem fruktózy (MFA) a mrkvový agar s přidavkem sacharózy (MSA). Veškerá opakování byla do tabulek vložena souhrně za každý izolát jako průměr za 6 opakování.

Izolát	Inhibiční účinek EO (%)															
	CC	CZ	CW	EC1	EC2	FV	LA	LH	LC	MS	OB	OM	PG	PA	SO	TV
F	0,0	100,0	100,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	89,6	0,0	0,0	0,0	99,5	0,0	0,0	100,0
F1F	0,0	100,0	100,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	94,4	0,0	0,0	0,0	74,0	60,5	0,0	98,7
F3F	0,0	100,0	68,3	0,0	100,0	17,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	55,2	0,0	83,2
F4F	0,0	100,0	19,7	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	79,0
F5F	0,0	100,0	100,0	49,0	100,0	0,0	0,0	0,0	98,8	88,3	0,0	23,0	100,0	0,0	0,0	100,0
S1F	0,0	100,0	85,1	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	64,7	0,0	0,0	0,0	67,4	0,0	0,0	100,0
S2F	0,0	100,0	100,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	99,5	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
C1F	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	55,0	0,0	0,0	0,0	0,0	21,3	0,0	85,8
C2F	0,0	100,0	45,7	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	61,9	0,0	0,0	0,0	0,0	21,0	0,0	23,1
NZF	42,0	100,0	100,0	0,0	100,0	79,3	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	97,2
Průměr	4,2	100,0	71,9	4,9	100,0	9,7	0,0	0,0	66,4	8,8	0,0	2,3	54,1	15,8	0,0	86,7

Tabulka 1: Inhibiční účinek EO (%) na nárůst mycelia patogena *A. dauci* na MFA

Nejlepších inhibičních výsledků na MFA, bylo dosaženo u EO pocházejících z *Cinnamomum zeylanicum* (CZ) a *Eugenia caryophyllus* (EC2), a to u všech izolátů. U všech izolátů nedošlo vlivem EO k nárůstu mycelia, inhibiční účinek těchto EO byl 100 %. Naopak velmi nízký až žádný inhibiční účinek byl prokázán u esencí z *Cinnamomum camphora* (CC) 4,2 %, *Eucalyptus citriodora* (EC1) 4,9 %, *Foeniculum vulgare* (FV) 9,7 %, *Lavandula angustifolia* (LA) 0 %, *Lavandula hybrida* (LH) 0 %, *Mentha spicata* (MS) 8,8 %, *Ocimum basilicum* (OB) 0 %, *Origanum majorana* (OM) 2,3 % a *Salvia officinalis* (SO) 0 % u izolátů.

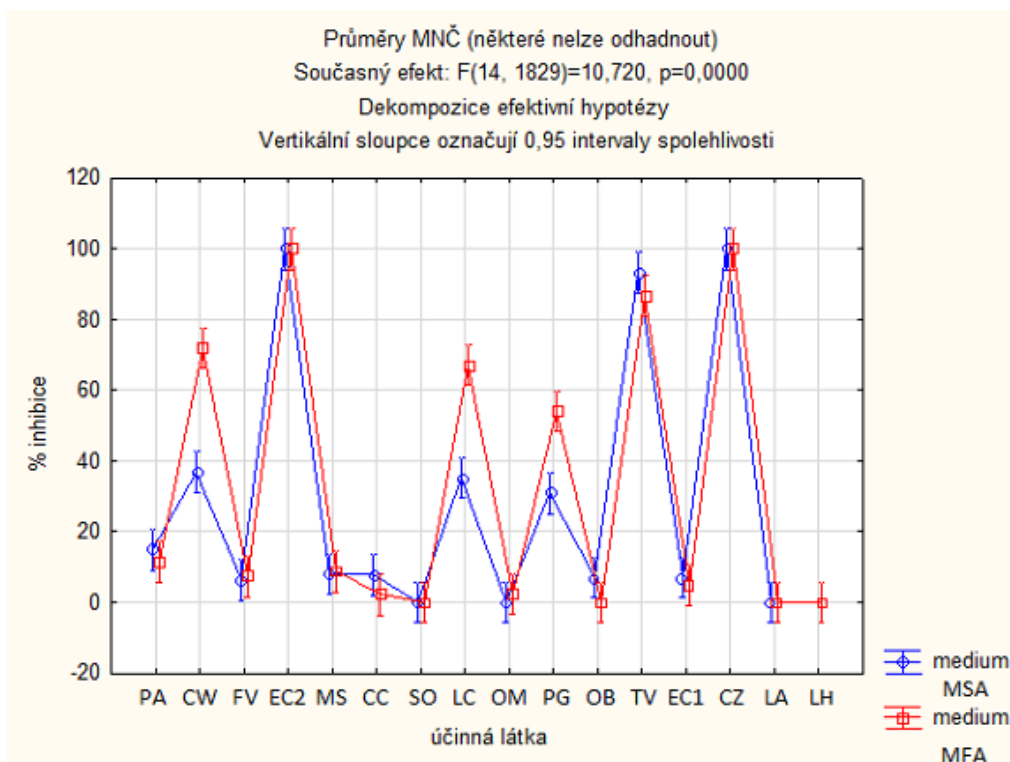
Esence z *Thymus vulgaris* (TV) prokázala velmi dobrý inhibiční účinek. U izolátů F, F5F, S1F a S2F esenciální olej TV vykazoval 100% účinnost, u izolátů F1F, F3F, F4F, C1F a NZF přesahoval účinek této látky 79 %. Esence z *Cymbopogon winterianus* (CW) 71,9 %, *Litsea cubeba* (LC) 66,4 %, *Pelargonium graveolens* (PG) 54,1 % a *Pimpinella anisum* (PA) 15,8 % prokázaly nevyrovnanou účinnost mezi jednotlivými izoláty.

Izolát	Inhibiční účinek EO (%)														
	CC	CZ	CW	EC1	EC2	FV	LA	LC	MS	OB	OM	PG	PA	SO	TV
S	0,0	100,0	22,3	0,0	100,0	0,0	0,0	94,2	0,0	0,0	0,0	39,3	0,0	0,0	100,0
F1S	0,0	100,0	41,1	0,0	100,0	0,0	0,0	30,2	0,0	0,0	0,0	0,0	41,6	0,0	93,2
F3S	0,0	100,0	67,1	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	57,5	0,0	0,0	98,5
F5S	0,0	100,0	26,2	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	18,3	0,0	0,0	41,3	0,0	0,0	100,0
S1S	0,0	100,0	64,8	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	44,9	0,0	91,3
S2S	0,0	100,0	67,0	0,0	100,0	0,0	0,0	33,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	91,1
S4S	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	36,3	0,0	0,0	100,0
C1S	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	77,5
C2S	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	45,6	0,0	0,0	84,1
NZS	78,2	100,0	80,4	70,2	100,0	63,6	0,0	93,8	61,7	70,7	0,0	88,6	62,7	0,0	97,2
Průměr	7,8	100,0	36,9	7,0	100,0	6,4	0,0	35,2	8,0	7,1	0,0	30,9	14,9	0,0	93,3

Tabulka 2: Inhibiční účinek EO (%) na růst mycelia patogena *A. dauci* na MSA

100% inhibiční účinek byl na MSA prokázán u esencí pocházejících z *Cinnamomum zeylanicum* (CZ) a *Eugenia caryophyllus* (EC2) u veškerých izolátů. Inhibiční účinek nebyl zaznamenán u většiny izolátů při použití esence z *Cinnamomum camphora* (CC) 7,8 %, *Eucalyptus citriodora* (EC1) 7,0 %, *Foeniculum vulgare* (FV) 6,4 %, *Lavandula angustifolia* (LA) 0,0 %, *Mentha spicata* (MS) 8,0 %, *Ocimum basilicum* (OB) 7,1 %, *Origanum majorana* (OM) 0,0 % a *Salvia officinalis* (SO) 0,0 %.

Druhou nejvyšší inhibiční účinnost na růst mycelia prokázala esence z *Thymus vulgaris* (TV). 100% účinnost byla zaznamenána u izolátů F5S a S4S. U zbylých izolátů vykazovala TV účinnost nad 77 %. Účinnost esencí *Cymbopogon winterianus* (CW) 36,9 %, *Litsea cubeba* (LC) 35,2 %, *Pelargonium graveolens* (PG) 30,9 % a *Pimpinella anisum* (PA) 14,9 % byla v rámci izolátů velice variabilní.



**Graf 1: Průměrný nárůst mycelia při 0,1% koncentraci jednotlivých esenciálních olejů**

V grafu 1 jsou statisticky zhodnoceny dané výsledky z výše uvedených tabulek. Statistická analýza inhibičních účinků nárůstu mycelia izolátů *A. dauci* potvrdila, že nejúčinnějšími oleji jsou ty pocházejících z rostlin *Cinnamomum zeylanicum*, *Eugenia caryophyllus* a *Thymus vulgaris*. Dva oleje z *Cinnamomum zeylanicum* a *Eugenia caryophyllus* způsobovaly nulový nárůst mycelia. Olej z *Thymus vulgaris* způsoboval inhibici růstu mycelia izolátů do 90 %. Ostatní oleje působily jen zhruba s 50% účinkem.

Na MAS mycelium všech izolátů rostlo lépe než na MFA, a to i pod vlivem esenciálních olejů. Naopak bez použití esenciálního oleje, porovnáme-li růst mycelia na kontrolních variantách, byl zaznamenán větší a rychlejší nárůst mycelia izolátů patogena na MFA.

## 5.3 Polní maloparcelkový pokus

### 5.3.1 Vyhodnocení výnosů mrkve

V tabulce č. 3 je uveden celkový počet počet rostlin sklizených u jednotlivých variant ze 4 řádků v rámci čtverce 1 x 1 m. Rovněž jsou uvedeny výnosy všech opakování v jednotlivých variantách přepočtené na m<sup>2</sup>.

Opakování	Výnos (kg/m <sup>2</sup> ) u jednotlivých variant pokusu					
	CW (n – 173)	MS (n – 141)	PA (n – 137)	PG (n – 121)	OK (n – 128)	NK (n – 115)
I.	1,29	1,40	1,10	2,05	1,39	1,54
II.	1,27	1,58	1,27	2,10	1,31	1,22
III.	1,29	1,66	0,86	2,30	1,17	1,13
IV.	0,92	1,61	0,76	1,87	1,03	1,03
Celkem	4,77	6,25	3,99	8,32	4,90	4,92

Tabulka 3: Vyhodnocení maloparcelkového pokusu - průměr výnosu mrkve (kg/m<sup>2</sup>) u jednotlivých variant

n – celkový počet rostlin sklizených z 1 m<sup>2</sup>

V rámci opakování nejlepších výnosů dosáhla varianta ošetřena esencí z *Pelargonium graveolens* (PG) s výnosem 8,32 kg/m<sup>2</sup>. Nejnižší výnos byl zaznamenán u varianty ošetřené esencí z *Pimpinella anisum* (PA) s výnosem 3,99 kg/m<sup>2</sup>.

### 5.3.2 Vyhodnocení kvality kořene mrkve

V tabulce č. 4 jsou uvedeny počty prodejných a neprodejných kořenů u jednotlivých variant pokusu. Počet kusů kořene je součet kořenů ze všech 4 opakování.

Stav	Počet kořenů u jednotlivých variant pokusu					
	CW	MS	PA	PG	OK	NK
Prodejné	41	46	29	39	44	32
Neprodejné	19	14	31	21	16	28

Tabulka 4: Vyhodnocení maloparcelkového pokusu – kvalita kořene mrkve u jednotlivých variant

Nejvíce napadených kořenů mrkve bylo prokázáno u varianty ošetřené esencí *Pimpinella anisum* (PA) s 31 neprodejnými kusy z celkových 60. Podobné výsledky byly i u neošetřené kontroly.

Naopak nejméně poškozených kořenů vykazovala varianta s *Mentha spicata* (MS) se 14 neprodejnými kořeny z celkových 60. Druhého nejlepšího výsledku bylo docíleno u varianty ošetřené chemickým postřikem (konvenční systém). Tyto hodnoty opět dosáhly podobných výsledků. Účinek EO byl brán obecně za celkový zdravotní stav.

### 5.3.3 Vyhodnocení napadení listů mrkve patogenem *A. dauci*

Podle stupnice uvedené v kapitole materiál a metody bylo vyhodnoceno 15 rostlin z každého opakování a každé varianty. V tabulce č. 5 jsou uvedeny počty rostlin zařazené do jednotlivého bodového hodnocení.

Stupeň napadení	Počet rostlin u jednotlivých variant pokusu					
	CW	MS	PA	PG	OK	NK
0	0	0	0	0	30	0
1	5	2	6	22	22	1
2	20	18	20	20	8	14
3	23	26	21	15	0	25
4	9	10	6	3	0	10
5	3	4	7	0	0	10

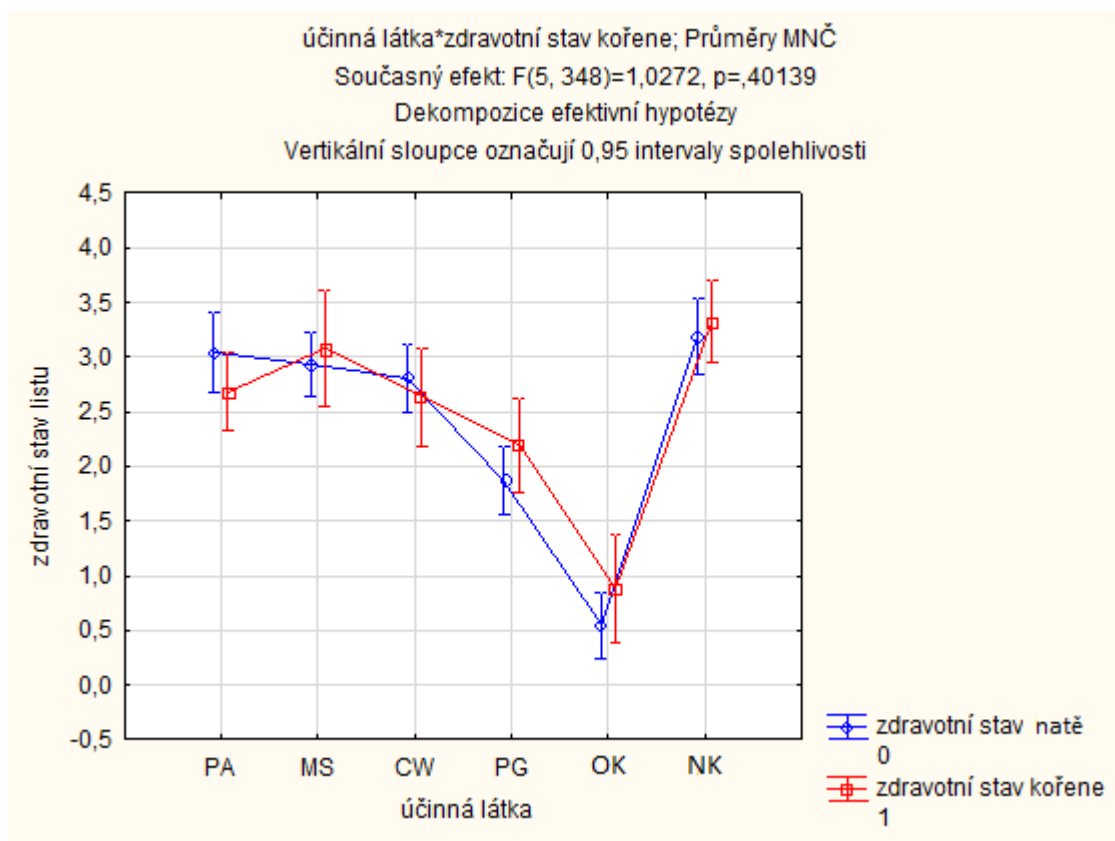
Tabulka 5: Vyhodnocení maloparcelkového pokusu – výskyt *A. dauci* na listech u jednotlivých variant

Veškeré rostliny mrkvi ošetřené esencemi z *Cymbopogon winterianus* (CW), *Mentha spicata* (MS), *Pelargonium graveolens* (PG), *Pimpinella anisum* (PA) a rostliny neošetřené kontroly vykazovala příznaky napadení v nati.

Celkově nejnižší stupeň napadení vykazovala varianta ošetřená chemickým postřikem. Z variant ošetřených esencí nejnižší napadení bylo zjištěno u varianty ošetřené *Pelargonium graveolens* (PG). Nejvyšší stupeň napadení natě byl zjištěn u kontrolní neošetřené varianty.



Celkové zhodnocení maloparcelkového pokusu s ohledem na zdravotní stav, zdravotní stav kořene a využitého esenciálního oleje je uvedeno v grafu č. 2.



**Graf 2: Vyjádření zdravotního stavu natě a kořene mrkve s využitím EO při maloparcelkovém pokusu**

Porovnáme-li všechny sledované faktory (výnos, zdravotní stav natě a kořenů) v závislosti na jednotlivých variantách nejlepší výsledky byly získány u varianty ošetřené chemickým prostředkem. Z variant ošetřených esencí byla nejlépe vyhodnocena varianta ošetřená EO z *Pelargonium graveolens* (PG). V rámci výnosu a ošetření listů dosáhla tato varianta (PG) nejlepších výsledků. Z hlediska napadení kořenů byl u této varianty dosažen průměrný výsledek.

## 6 Diskuze

Každý rok je na ochranu rostlin použito okolo 2,5 milionu pesticidů. I takto velké množství pesticidů nezabrání ztrátám na výnosech plodin způsobených škodlivými organismy. Meziroční výnosové ztráty se pohybují mezi 20-25 % potenciálního světového výnosu. S rostoucí populací roste i snaha získat vyšší výnosy u plodin. Ochrana rostlin v tomto případě hraje velmi důležitou roli. Velký zájem je soustředěn na nahrazení konvenčních chemických pesticidů využívaných v rámci ochrany rostlin, a to využitím rostlinných výtažků a olejů (Gurjar et al., 2012; Miresmailli et al., 2014).

Využitelnost širokého potenciálu, který mají esenciální oleje, již byla cílem velkého množství výzkumných prací. Účinné látky esenciálních olejů uvolněné do prostředí eliminují výskyt vektorů rostlinných patogenů, hmyzu, hub a bakterií (Pavela, 2011). Na základě těchto skutečností bylo vybráno toto téma diplomové práce.

Lima et al. (2016) se zabývali účinností vybraných esencí aplikovaných při klíčení a vzházení semen na patogeny *A. alternata* a *A. dauci*. Nejlepších výsledků bylo dosaženo aplikací esence z česneku a pomeranče. Tyto esence snížily výskyt *A. alternata* a *A. dauci* a neovlivnily klíčení semen a jejich vývoj.

Mishra et al. (2009) ve svém výzkumu zmiňují inhibiční účinky extraktu z *Cinnamomum zeylanicum* na klíčení spor *A. solani*. Testovány byly extrakty o koncentraci 50, 100 a 500 ug/ml. Extrakty získané z kůry u veškerých koncentrací prokázaly inhibiční účinek na klíčení spor převyšující 70 %. Následně byl proveden stejný pokus, ve kterém byly extrakty *C. zeylanicum* získané z listů. Tato změna měla za následek jinou inhibiční aktivitu extraktů. Inhibiční účinnost extraktu z listů při koncentraci 500 ug/ml byla 100%. V našem *in vitro* pokusu s *A. dauci* byl u oleje z *C. zeylanicum* prokázán 100% inhibiční účinek na růstu mycelia, a to nezávisle na živném médiu. Tyto skutečnosti staví olej do pozice velmi vhodného kandidáta pro další pokusy pro další patogeny z rodu *Alternaria*. Také Ranasinghe et al. (2002) provedli pokus s oleji z *C. zeylanicum* a *Syzygium aromaticum* a jejich antifungální vliv zkoumali na houbové posklizňové patogeny banánů. Zjištěn byl jejich pozitivní vliv proti těmto patogenům. Uvedené výsledky naznačují široké pole účinnosti oleje z *C. zeylanicum* u celé řady rostlinných patogenů.

Dellavalle et al. (2011) rovněž v *in vitro* testech zkoušeli vliv vybraných extraktů proti houbám *Alternaria* spp. Z jejich testů vyplývá, že extrakty ze *Salvia sclarea*, *Salvia officinalis* a *Rosmarinus officinalis* jsou potenciálním zdrojem pro získávání antifungicidních sloučenin. Výše zmíněné extrakty dosáhly stejných účinků jako při ošetření chemickým fungicidem.

Z výsledků této diplomové práce vyplývá, že olej z rostliny *Salvia officinalis* neproказuje inhibiční účinky proti růstu mycelia *A. dauci*. Nesouladé výsledky jsou podnětem pro další testování, které by potvrdilo nebo vyvrátilo rávěr vyplývající z této práce, že olej ze *Salvia officinalis* nepůsobí inhibičně na *A. dauci*.

Pal et al. (2013) ve své práci uvádějí, že extrakty z *Ageratum conyzoides* mají potenciál jako fungicidní prostředky proti fytopatogením houbám *Alternaria* spp. Stejného potenciálu dosáhl extrakt z *Parthenium hysterophorus*.

Listové extrakty z *Lantana camara*, byly testovány v *in vitro* podmínkách pro svůj fungicidní potenciál i proti dalšímu významnému druhu *A. alternata*. Testován byl extrakt v kombinaci se třemi rozpouštědly a to acetonem, metanolem a etanolem. Úplnou inhibici vůči růstu mycelia vykazovaly extrakty s acetonem a etanolem, extrakt s metanolem dosáhl pouze 50% účinnosti (Singh et al., 2012).

Mougy (2009) se zabýval fungicidním účinkem olejů z karafiátu, kmínu a tymiánu na *Alternaria solani*. V laboratorních podmínkách byly testovány tři koncentrace olejů. Při zvyšování koncentrací byl pozorován zvyšující se inhibiční účinek na růst *A. solani*. Při 1% koncentraci oleje z karafiátu došlo ke kompletní inhibici růstu mycelia. Olej z kmínu při 1% koncentraci dosáhl 85% inhibičního účinku, při stejné koncentraci prokázal olej z tymiánu 79% účinnosti na růstu mycelia. V další fázi byly oleje testovány v polním pokusu na listech brambor. Polní pokus byl proveden během dvou období. V první sezóně byly aplikovány postřiky 1% koncentrace olejů z laboratorních testů. Snížení onemocnění bylo vlivem oleje karafiátu o 38 %, oleje kmínu o 36 % a oleje tymiánu o 38 %. Hlízy z porostu ošetřeného 1% olejem prokázaly vyšší výtěžnost než kontrola o 22-49 %.

Porovnáme-li výsledky výše zmíněné práce s výsledky této diplomové práce, inhibiční účinnost oleje z tymiánu na houbu *A. dauci* byl prokazatelně vyšší než u uvedeného druhu *A. solani* v *in vitro* pokusu. Účinnost na *A. dauci* byla vyšší než 90 %, což zcela koresponduje s výsledky, které byly získány v rámci diplomové práce, a to i při použití nižších koncentrací esenciálního oleje.

Hadizadeh et al. (2009) provedli výzkum inhibičních účinků olejů *Urtica dioica*, *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens* a *Achillea millefolium* proti *Alternaria alternata* na rajčatech. Olej z *Urtica dioica* při množství 1500 ppm vykazoval 100% inhibiční účinek proti radiálnímu růstu *A. alternata*. Extrakt z *Thymus vulgaris* vykázal velmi dobrou účinnost s 69 % při množství 1500 ppm a 75 % při množství 2000 ppm. Nižší inhibiční účinky byly zaznamenány u olejů *Ruta graveolens* a *Achillea millefolium*. Z našich pokusů vyplývá, že

v porovnání s touto prací olej z *Thymus vulgaris* vykázal v *in vitro* testu vyšší, 90% inhibiční účinnost na *A. dauci* než na *A. alternata*.

Antimykotické účinky citronelového olej byly testovány také proti houbě *A. alternata*. Testy provedené v *in vitro* podmínkách prokázaly velmi silnou inhibiční účinnost tohoto oleje proti *A. alternata* (Chen et al., 2014). Na základě těchto výsledků byl zkoumán účinek tohoto oleje v průběhu skladování rajčat. Zde citronelový olej významně snížil výskyt *A. alternata* oproti kontrole. Z výsledků vyplývá, že tento olej má velmi dobrý inhibiční účinek. Tato skutečnost dává prostor pro další výzkum, kde by mohl být vyzkoušen inhibiční účinek tohoto oleje vůči *A. dauci*, a zda dosáhne stejně dobrých výsledků jako u *A. alternata*.

Tzortzakis and Economikis (2007) testovali antifungální aktivitu oleje z *Cymbopogon citratus* v *in vitro* podmínkách. Testování účinku bylo provedeno u hub *Colletotrichum coccodes*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Rhizopus stolonifer* a *Aspergillus niger*. Díky aplikaci tohoto oleje bylo dosaženo snížení tvorby nových spor patogenů a samotnému klíčení spor. Těchto výsledků bylo dosaženo u všech zmíněných patogenů až na *Aspergillus niger*. Inhibiční účinek oleje z *Cymbopogon citratus* proti patogenu *A. dauci* v *in vitro* podmínkách byl u našich testů nižší než 10 %.

Další studie (Ramezani et al., 2002) prokázala schopnost oleje z *Eucalyptus citriodora* potlačovat fytopatogenní houby *Rhizoctonia solani* a *Helminthosporium*. Tento olej byl také testován v rámci naší práce, kde účinnost proti růstu mycelia u *A. dauci* byla zanedbatelná.

Hooshyari et al. (2013) provedli testování účinnosti oleje z *Achillea wilhelmsii* na *A. solani* a *Sphaerotheca fuliginea*. Posuzován byl i rozdíl v účinnosti oleje, a to vlivem lokality, kde rostliny rostly před získáním esence. Oba oleje inhibovaly růst proti *A. solani*. Vzájemně se významně lišili v úrovni inhibiční účinnosti. Inhibiční účinek u *Sphaerotheca fuliginea* byl diametrálně odlišný. Jeden olej vykazoval inhibiční účinek, druhý naopak ne. Z tohoto testování lze vyvodit dva závěry. Pokud olej z *Achillea wilhelmsii* prokázal inhibiční účinek v obou případech, nemohl by být také použit při ochraně proti onemocnění způsobené *A. dauci*. Inhibiční rozdíly jednoho oleje mohou být výrazně ovlivněny lokalitou původu, z které byla rostlina pro získání esence odebrána. Tato skutečnost vede k výzkumu, který by objasnil, jak velké rozdíly v účinnosti způsobuje lokalita růstu rostlin, které jsou použity k získání dané esence.

Soylu and Kose (2015) zkoumali účinky olejů z *Origanum onites*, *Thymbra spicata*, *Lavandula stoechas*, *Foeniculum vulgare* a *Laurus nobilis* proti *Alternaria alternata* v *in vitro* podmínkách. Nejlepší výsledky byly získány při použití olejů z *Origanum onites* a *Thymbra spicata*. Oleje zcela inhibovaly růst mycelia *A. alternata*. Veškeré klíčení konidií inhibovaly

předešlé dva oleje a *Foeniculum vulgare*. Tento výsledek ve srovnání s neúčinností *Foeniculum vulgare* při inhibici růstu mycelia *A. dauci* podněcuje k výzkumu, zda by také nemohl být inhibiční účinek zaznamenán pouze u klíčení spor a ne na mycelia. Pokud by došlo k zabránění klíčení spor, eliminovalo by se šíření patogena na další hostitelské rostliny.

V rámci laboratorních a polních testů této diplomové práce byly testovány tyto stejné oleje z *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Cymbopogon winterianus* a *Pimpinella anisum*. Výsledky olejů z rostlin *M. spicata* a *P. anisum* potvrdily svou nižší účinnost při inhibici mycelia *A. dauci* jak v *in vitro* testech tak v polním testování. Testy *in vitro* s esenciálním olejem z *Cymbopogon winterianus* prokázaly nevyrovnaný inhibiční účinek. Polní testování prokázalo srovnatelné inhibiční účinky s oleji z *M. spicata* a *P. anisum*. Olej z rostliny *P. graveolens* vykázal v *in vitro* testech inhibiční účinek proti růstu mycelia *A. dauci* nad 50 %. Prokázala se jeho potenciální možnost využití při inhibici růstu mycelia. Tento potenciál byl potvrzen při polním pokusu, kde dosáhl nejlepší účinnosti z použitých esenciálních olejů. Tyto výsledky staví olej do pozice velmi vhodného kandidáta pro další pokusy.

## 7 Závěr

- V průběhu řešení diplomové práce se úspěšně podařilo získat z infikovaných rostlin mrkve 9 izolátů patogena *A. dauci*.
- Byla připravena vhodná živná média, na kterých patogen vykazoval uspokojivý růst.
- Získané izoláty patogena *A. dauci* byly úspěšně testovány v laboratorních podmínkách pomocí *in vitro* testu na agaru. Z laboratorních pokusů vyplývá, že potenciálně úspěšné esenciální oleje pro budoucí použití jsou oleje z rostlin *Cinnamomum zeylanicum*, *Eugenia caryophyllus* a *Thymus vulgaris*.
- Účinek vybraných esenciálních olejů byl testován i na rostlinách mrkve v maloparcelkovém pokusu, kde byly rostliny ošetřovány esenciálními oleji z rostlin *Cymbopogon winterianus*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens* a *Pimpinella anisum*. Po vyhodnocení všech faktorů (výnos, zdravotní stav nati a kvalita kořene) byla jako nejúspěšnější varianta vyhodnocena ošetřená kontrola – konvenční systém ošetřený fungicidem. Jako nejúspěšnější z esenciálních olejů byl vyhodnocen olej z rostliny *Pelargonium graveolens*.
- Pro hodnocení napadených listů natě byla sestavena stupnice, která byla úspěšně použita při hodnocení stupně napadení natě.
- Stanovená hypotéza, zda existují esenciální oleje, které mají fungicidní účinek na růst houbového patogenu *Alternaria dauci* a jsou využitelné při ochraně hostitelských rostlin vůči tomuto patogenu, byla potvrzena. Cíle práce byly splněny a byly získány výsledky, které budou sloužit k založení pokusů v sezoně 2017.

## 8 Lieratura

- Abd El-Gany, H. M., El-Sahhar, E. A., Mostafa, M. M., Abd-Elhady, F. A. 2008. A developed machine to harvest carrot crop. *Farm machinery and power*. 25 (4). 1163-1173.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Sarihan, E. O., Bayrak, A., Gümüşçü, A. 2004. Variation in Essential Oil Content and Composition in Turkish Anise (*Pimpinella visum* L.) Populations. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 28 (3). 173-177.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46 (2008). 446-475.
- Bartoš, J. 2001. Hlavní nedostatky v pěstování mrkve. *Zemědělec*. 9 (14). 10. a)
- Bartoš, J. 2001. Mrkev je slabinou českého zelinářství. *Zemědělec*. 9 (14). 9. b)
- Başer, K., Buchbauer, G. 2010. Handbook of Essentials oils: science, technology, and applications. Taylor & Francis Group. Boca Raton. p. 994. ISBN: 978-1-4200-6315-8.
- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., Kaur, S. 2008. Eucalyptus Essentials oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*. 256 (2008). 2167-2174.
- Ben-Noon, E., Shtienberg, D., Shelvin, E., Dinoor, A. 2003. Joint action of disease kontrol measures: a case study of alternaria Lea blight of carrot. *Phytopathology*. 93 (10). 1320–1328.
- Ben-Noon, E., Shtienberg, D., Shlevin, E., Vintal, H., Dinoor, A. 2001. Optimization of Chemical Suppression of *Alternaria dauci*, the Causal Agent of Alternaria Leaf Blight in Carrots. *Plant Disease*. 85 (11). 1149–1156.
- Benjamin, L. R., McGarry, A., Gray, D. 1997. The root vegetables: Beet, carrot, parsnip and turné. *The Physoiology of Vegetable Crops*. Wallingford, UK: CAB International. 553-580. ISBN: 978-0-85199-146-7.

Boedo, C., Benichou, S., Berruyer, R., Bersihand, S., Dongo, A., Simoneau, P., Lecomte, M., Briard, M., Le Clerc, V., Poupard, P. 2012. Evaluating aggressiveness and host range of *Alternaria dauci* in a controlled environment. *Plant Pathology*. 2012 (61). 63-75.

Boedo, C., Berruyer, R., Lecomte, M., Bersihand, S., Briard, M., Le Clerc, V., Simoneau, P., Poupard, P. 2010. Evaluation of different methods for the characterization of carrot resistance to the alternaria leaf blight pathogen (*Alternaria dauci*) revealed two qualitatively different resistances. *Plant Pathology*. 2010 (59). 368-375.

Brătuca, Gh., Marin, A. L., Florea, C. C. 2013. Research on carrot drying by means of solar energy. *Agricultural Food Engineering*. 6 (55). 1-8.

Davis, R. M., Raid, R. N. 2002. *Compendium of Umbelliferous Crop Diseases*. APS Press. St. Paul Minnesota. p. 75. ISBN: 0-89054-287-2.

Dellavalle, P. D., Cabrera, A., Alem, D., Larrañagal, P., Ferreira, F., Rizza, M. D. 2011. Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. *Chilean journal of agricultural research*. 71 (2). 231-239.

Dvorský, J. 1997. Ekologické zemědělství. *Zemědělské listy*. (47). 7.

Farrar, J. J., Pryor, B. M., Davis, R. M. 2004. *Alternaria* Diseases of Carrot. *Plant Disease*. 88 (8). 776-784.

Farrer-Halls, G., 2007. *Aromaterapie od A do Z: podrobný průvodce světem esenciálních olejů*. Metafora. Praha. s. 400. ISBN: 978-807-3590-864.

Grichanov, I. Y., Ovsyannikova, E. I. Pests *Psila rosae* (Fabricius) [online]. Russia. Interactive Agricultural Ecological Atlas of Russia and Neighboring Countries. 2003-2009 [cit. 2017-03-07]. Dostupné z <[http://www.agroatlas.ru/en/content/pests/Psila\\_rosae/](http://www.agroatlas.ru/en/content/pests/Psila_rosae/)>.

Gugino, B. K., Carroll, J., Chen, J., Ludwig, J., Abawi, G. 2004. Carrot Leaf Blight Diseases and their Management in New York. Department of Plant Pathology. Cornell University. 1-4.



- Gurjar, M., Ali, S., Akhtar, M., Singh, K. 2012. Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agricultural Sciences*. 3 (3). 425-433.
- Hadizadeh, I., Peivastegan, B., Hamzehzarghani, H. 2009. Antifungal Activity of Essential Oils from Some Medicinal Plants of Iran against *Alternaria alternata*. *American Journal of Applied Sciences*. 6 (5). 857-861.
- Hernández, C. F. D., Aguirre, A. A., Saldivar, R. H. L., Rodríguez, E. G., Marales, G. G. 2006. Bioeficacia de productos orgánicos, biológicos y químicos contra *Alternaria dauci* Kühn y su efecto en el cultivo de zanahoria. *Phyton*. 2006 (75). 91-101.
- Hooshyari, P., Sharafzadeh, S., Zakerin, A. 2013. Antifungal Activity of *Achillea wilhelmsii* Oil from Iran against *Alternaria solani* and *Sphaerotheca fuliginea*. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 5 (5). 484-486.
- Chen, Q., Xu, S., Wu, T., Guo, J., Sha, S., Zheng, X., Yu, T. 2014. Effect of citronella Essentials oil on the inhibition of postharvest *Alternaria alternata* in cherry tomato. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 94 (12). 2441-2447.
- Iorizzo, M., Senalik, D. A., Ellison, S. L., Grzebelus, D., Cavagnaro, P. F., Allender, Ch., Brunet, J., Spooner, D. M., Deynze, A. V., Simon, P. W. 2013 Genetic structure and domestication of carrot (*Daucus carota* subsp. *sativus*) (*Apiaceae*). *American Journal of Botany*. 100 (5). 930-938.
- Jellison, J. Carrot, *Alternaria* Leaf Blight [online]. 14th January 2013. [cit. 2017-01-01]. Dostupné z <<https://ag.umass.edu/vegetable/fact-sheets/carrot-alternaria-leaf-blight>>.
- Khudhair, M. W., Jabbar, R. A., Dheyab, N. S., Hamad, B. S., Aboud, H. M., Khalaf, H. S., Mohammed, N. J. 2015. *Alternaria radicina* causing leaf spot disease of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in wasit (middle of Iraq) and its susceptibility to bioassay test of two fungicides. *Unt. J. Phytopathol*. 2015. 04 (02). 81-86.
- Koike, S. T., Gladders, P., Paulus, A. O. 2007. *Vegetable diseases A Color Handbook*. Academic press. America. p. 448. ISBN: 978-0-12-373675-8.

- Konstantinova, P., Bonants, P. J. M., Gent-Pelzer, van M. P. E., Zouwen, van der P. Bulk, van den Ruud. 2002. Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria* spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assays. *Mycological Research*. 106 (1). 23-33.
- Kotěra, J., Valeška, J., Dlouhý, J. 2010. Ekologické zemědělství a biopotraviny otázky a odpovědi pro ekoporadny. PRO-BIO LIGA. Praha. s. 36. ISBN: 978-80-904223-2-2.
- Lawrence, D. P., Rotondo, F. Gannibal, P. B. 2015. Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria*. *Mycol Progress*. 2016 (22). 1-22.
- Lima, C. B., Rentschler, L. L. A., Bueno, J. T., Boaventura, A. C. 2016. Plant extracts and Essentials oils on the control of *Alternaria alternata*, *Alternaria dauci* and on the germination and emergence of carrot seeds (*Daucus carota* L.). *Ciência Rural*. 46 (5). 764-770.
- Lopes, M. C., Martins, V. C. 2008. Fungal plant pathogens in Portugal: *Alternaria dauci*. *Rev Iberoam Micol*. 2008 (25). 254-256.
- Mirecki, N., Ilič, Z. S., Šunič, L., Rukie, A. 2015. Nitratr kontent in carrot, celeriac and parsnip at harvest time and during prolonged cold storage. *Fresenius Environmental Bulletin*. 24 (10a). 3266-3273.
- Miresmailli, S., Isman, M. 2014. Botanical insecticides inspired by plant – herbivore chemici interactions. *Trends in Plant Science*. 19 (1). 29-35.
- Mishra, A. K., Mishra, A., Kehrii, H. K., Sharma, B., Pandey, A. K. 2009. Inhibitory activity of Indian spice plant *Cinnamomum zeylanicum* extracts against *Alternaria solani* and *Curvularia lunata*, the pathogenic dematiaceous moulds. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 8 (1). 1-7.
- Mougy, N. S. 2009. Effect of some Essentials oils for lifting early blight (*Alternaria solani*) development in potato field. *Journal of plant protection research*. 49 (1). 57-62.

Muška, F. 2005. Nejvýznamnější škůdci mrkve. Agro: ochrana, výživa, odrůdy. 10 (9-10). 26-29.

Muška, F. 2007. Škůdci mrkve – II. díl. Zahradnictví. (10). 20-21.

Nunez, J. Carrot *Alternaria* Leaf Blight [online]. University of California Integrated Pest Management. University of California. September 2012. [cit. 2016-12-25]. Dostupné z <<http://ipm.ucanr.edu/PMG/r102100711.html>>.

Pal, G. K., Kumar, B., Shahi, S. K. 2013. Antifungal activity of some common weed extracts against seed borne phytopathogenic fungi *Alternaria* spp. International Journal of Universal Pharmacy and Life Sciences. 3 (2). 1-10.

Pavela, R. 2006. Rostlinné insekticidy, hubíme hmyz bez chemie. Grada Publishing, a.s. Praha. s. 96. ISBN: 8024710196.

Pavela, R. 2007. Possibilities of Botanical Insecticide Exploitation in Plant Protection. Pest Technology 1 (1). 47-52.

Pavela, R. 2010. Acute and synergistic effects of monoterpenoid Essentials oil compounds on the larva of *Spodoptera littoralis*. Journal of Biopesticides. 3 (3). 573-578.

Pavela, R. 2011a. Botanické pesticidy. Kurent, s.r.o. s. 128. ISBN: 978-80-87111-26-0.

Pavela, R. 2011b. Rostlinné pesticidy (43. díl) Máta – rostlina vhodná nejen do čaje. Agromanuál. 6 (1). 26.

Pavela, R. 2012. Rostlinné pesticidy (55. díl) *Eugenia aromatica* – hřebíček vonný. Agromanuál. 7 (3). 64-65.

Pavela, R. 2014. Insecticidal properties of *Pimpinella anisum* essential oils against the *Culex quinquefasciatus* and the non-target organism *Daphnia magna*. Journal of Asia-Pacific Entomology. 2014 (17). 287-293.

Peters, K. E., 2014, Midwest Fruit & Vegetable Gardening: Plant, Grow, and Harvest the Best Edibles - Illinois, Indiana, Iowa, Kansas, Michigan, Minnesota, Missouri, Nebraska, North Dakota, Ohio, South Dakota & Wisconsin. Cool Springs Press. p. 240. ISBN: 978-16-10589-60-4.

Petříková, K., Hlušek, J. 2012. Zelenina: pěstování, výživa, ochrana a ekonomika. Profi Press. Praha. s. 194. ISBN: 978-80-86726-50-2.

Poustková, I., Babička, L., Kouřimská, L., Siegrová, G., Staruch, L. 2010. Quality of hemp seed oil depending on its obtaining. Potravinářstvo. 4 (3). 53-57.

Pryor, B. M., Strandberg, J. O., Davis, R. M., Nunez, J. J., Gilbertson, R. L. 2002. Survival and Persistence of *Alternaria dauci* in Carrot Cropping Systems. Plant Disease. 86 (10). 1115-1122.

Ramezani, H., Singh, H. P., Batish, D. R., Kohli, R. K., Dargan, J. S. 2002. Fungicidal effect of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* and its major konstituent citronelal. New zealand plant protection. 2002. 327-330.

Ranasinghe, L., Jayawardena, B., Abeywickrama, K. 2002. Fungicidal activity of essentials oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M.Perry against grown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. Letters in Applied Microbiology. 35 (3). 208-211.

Rod, J. 2002. Skládkové choroby zeleniny. Agro: ochrana, výživa, odrůdy. 7 (2). 24, 26-27.

Rod, J. 2004. Houbové choroby nadzemních částí mrkve, petržele a pastináku. Agro: ochrana, výživa, odrůdy. 9 (6). 14-15.

Rod, J. 2005. Nejčastější abionózy zeleniny IV. Kořenová zelenina. Zahradnictví. 2005 (4). 30-31.

Rod, J. 2008. Abiotické poruchy zeleniny – díl I. Zahradnictví. 2008 (2). 18-19.

- Rod, J. 2009. Choroby nadzemních částí miříkovité zeleniny. *Zahradnictví*. 2009 (10). 16-18.
- Rogers, P. M., Stevenson, W. R., Wyman, J. A., Frost, K., Groves, R. 2011. IPM Perspectives for Carrot Foliar Diseases in Wisconsin. Russell Labs. University of Wisconsin – Extension. A3945 (1). 1-8.
- Rotem, J. 1994. The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology, and Pathogenicity. APS Press. St. Paul, Minnesota. p. 326. ISBN: 0-89054-152-3.
- Rubatsky, V. E., Quiros, C. F., Siman, P. W. 1999. Carrots and Related Vegetable Umbelliferae. CABI Publishing. Wisconsin. p. 294. ISBN: 978-0-85199-129-0.
- Růžičková, G. 2002. Silice – obsahové látky léčivých rostlin. *Úroda*. 50 (9). 8-9.
- Sajfrtová, M., Machalová, Z., Pavela, R., Žabka, M. 2014. Možnosti získávání výtažků z pelargonie vonné (*Pelargonium graveolens*) a jejich využití v ochraně rostlin. Ústav chemických procesů AV ČR. Praha. s. 21. ISBN: 978-80-8618-65-59.
- Singh, P., Srivastava, D., 2012. Biofungicidal or biocontrol activity of *Lantana camara* against phytopathogenic *Alternaria alternata*. *International journal of pharmaceutical science and research*. 12 (3). 4818-4821.
- Singh, V., Shrivastava, A., Jadon, S., Wahi, N., Singh, A., Sharma, N. 2015. *Alternaria* diseases of vegetable crops and its management control to reduce the production. *International Journal of Agriculture Scien*. 7 (13). 834-840.
- Soylu, E. M., Kose, F. 2015. Antifungal Activities of Essential Oils Against Citrus Black Rot Disease Agent *Alternaria alternata*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 18 (4). 894-903.
- Šarapatka, B., Urban, J., Čížková, S., Dukát, V., Hejduk, S., Hrabalová, A., Hrabal, R., Juršík, J., Leibl, M., Mátlová, V., Moudrý, J., Plíšek, B., Pokorný, E., Rozsypal, R., Sedlo, J., Škeřík, J., Šonková, R., Trávníček, P., Vaněk, D., Zídek, T. 2006. *Ekologické zemědělství v praxi. PRO-BIO Svaz ekologických zemědělců. Šumperk*. s. 502. ISBN:978-80-903583-0-0.

- Táborský, V. 2002. Posklizňové choroby kořenové zeleniny. *Zahradnictví*. 94 (11). 16-17.
- Thomma, B. P. H. J. 2003. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*. 4 (4). 225-236.
- Tzortzakis, N. G., Economakis, C. D. 2007. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 8 (2). 253-258.
- Vogel, G. 1996. *Handbuch des speziellen Gemüsebaues*. Ulmer. Stuttgart. p. 1127. ISBN: 3-8001-5285-1.
- Watson, A. *Erysiphe heraclei* DC. Pathogen of the month – 2011 [online]. Australia. The Australasian Plant Pathology Society Inc. September 2011 [cit. 2017-03-06]. Dostupné z <<http://www.appsnet.org/Publications/potm/pdf/Sep11.pdf>>.
- Weidemann, G., Sheely, D., LaValley, K., Vittum, P., Rebar, J., Lantagne, D. O. Disease Control [online]. 2016 [cit. 2017-01-01]. Dostupné z <<http://nevegetable.org/crops/disease-control-4>>.
- Anon., Integrated Taxonomic Information System on-line database: ITIS Standard Report Page: *Alternaria* [online]. 2016 [cit. 2016-11-10]. Dostupné z <[https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=14134#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=14134#null)>.
- Anon., National Center for Biotechnology Information [online]. 18th February 2014. [cit. 2016-11-12]. Dostupné z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5598&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>>.

## 9 Seznam použitých zkratek

CC	<i>Cinnamomum camphora</i>
CL	celulóza
CMoV	Carrot mottle virus
CRLV	Carrot redLea virus
CTLV	Carrot thin Lea virus
CW	<i>Cymbopogon winterianus</i>
CZ	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
ddH <sub>2</sub> O	dvakrát destilovaná voda
DMSO	dimethylsulfosid
EC1	<i>Eucalyptus citriodora</i>
EC2	<i>Eugenia caryophyllus</i>
EO	esenciální olej
FRU	fruktóza
FV	<i>Foeniculum vulgare</i>
LA	<i>Lavandula angustifolia</i>
LC	<i>Litsea cubeba</i>
LH	<i>Lavandula hybrida</i>
MFA	mrkvovo-frukózový agar
MS	<i>Mentha spicata</i>
MSA	mrkvovo-sacharózový agar
NK	neošetřená kontrola
OB	<i>Ocimum basilicum</i>
OK	kontrola
OM	<i>Origanum majorana</i>
PA	<i>Pimpinella anisum</i>
PG	<i>Pelargonium graveolens</i>
SACH	sacharóza
SO	<i>Salvia officinalis</i>
TV	<i>Thymus vulgaris</i>

## 10 Seznam tabulek

Tabulka 1: Inhibiční účinek EO (%) na nárůst mycelia patogena <i>A. dauci</i> na MFA .....	37
Tabulka 2: Inhibiční účinek EO (%) na růst mycelia patogena <i>A. dauci</i> na MSA .....	38
Tabulka 3: Vyhodnocení maloparcelkového pokusu - průměr výnosu mrkve (kg/m <sup>2</sup> ) u jednotlivých variant .....	40
Tabulka 4: Vyhodnocení maloparcelkového pokusu – kvalita kořene mrkve u jednotlivých variant .....	40
Tabulka 5: Vyhodnocení maloparcelkového pokusu – výskyt <i>A. dauci</i> na listech u jednotlivých variant .....	41

## 11 Seznam grafů

Graf 1: Průměrný nárůst mycelia při 0,1% koncentraci jednotlivých esenciálních olejů.....	39
Graf 2: Vyjádření zdravotního stavu natě a kořene mrkve s využitím EO při maloparcelkovém pokusu.....	42

## 12 Seznam obrázků

Obrázek 1: Konidie <i>A. dauci</i> .....	20
Obrázek 2: Příznaky <i>A. dauci</i> na mrkvi, A - skvrny na listech, B – rozsáhlá defoliace porostu na poli .....	23
Obrázek 3: Schéma maloparcelkového pokusu na Demonstračním a experimentálním pracovišti ČZU.....	33
Obrázek 4: Stupnice napadení natě mrkve patogenem <i>A. dauci</i> .....	34
Obrázek 5: Elektroforetická separace PCR produktů po amplifikaci s primery AAF2 a AAR3 .....	36