

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Antifungální účinek esenciálních olejů na vybrané původce
houbových chorob zeleniny**

Diplomová práce

Autor práce: Jana Vašátková

Vedoucí práce: Ing. Jana Mazáková, Ph.D

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Antifungální účinek esenciálních olejů na vybrané původce houbových chorob zeleniny" 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 neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 8. 4. 2015

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Janě Mazákové, Ph. D. za její věnovaný čas, odborné vedení, rady a připomínky k danému tématu a laboratornímu výzkumu. Dále bych ráda poděkovala paní Jaroslavě Vospělové a Ing. Janě Těšíkové za ochotu a pomoc při práci v laboratoři.

Antifungální účinek esenciálních olejů na vybrané původce houbových chorob zeleniny

Souhrn

Tato diplomová práce je zaměřena na využití fungicidní účinnosti esenciálních olejů z vybraných aromatických rostlin proti patogenům *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* a *Stromatinia cepivora*, které způsobují choroby na zelenině.

V prvním kroku experimentu byl proveden test antimykotické aktivity při 0,1% koncentraci esence z těchto bylin: *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus citriodora*, *Foeniculum vulgare*, *Litsea cubeba*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Pimpinella anisum*, *Rosmarinus officinalis* a *Thymus vulgaris*.

U esencí, které úspěšně zamezily růst houbového mycelia, byla stanovena tzv. MIC (minimální inhibiční koncentrace). Vůči patogenu *B. cinerea* nejlépe působil esenciální olej z *T. vulgaris* s MIC 0,02188 %. Další esence, které se vůči tomuto parazitu velmi dobře osvědčily, byly získány z: *L. cubeba* (MIC 0,03125 %), *C. winterianus*, *M. spicata* a *P. graveolens* (se stejnou MIC 0,04375 %). U houby *A. solani* byla zajištěna 100% inhibice pouze u jedné esence, a to z *T. vulgaris*, jejíž MIC dosahuje 0,03125 %. Mezi rostliny, jejichž esence jsou schopny zabránit růstu mycelia patogenu *S. sclerotiorum*, patří *C. winterianus* (MIC 0,075 %), *E. citriodora* (MIC 0,0625 %), *F. vulgare* (MIC 0,1 %), *L. cubeba* (MIC 0,04375 %), *M. spicata* (MIC 0,0625 %), *P. graveolens* (MIC 0,04375 %) a *T. vulgaris* (MIC 0,025%). Houba *S. cepivora* byla výborně inhibována esenciálními oleji z těchto rostlin: *C. winterianus* (MIC 0,03125 %), *L. cubeba* (MIC 0,0675 %), *M. spicata* (MIC 0,05 %), *P. anisum* (MIC 0,075 %), *P. graveolens* (MIC 0,025 %) a *T. vulgaris* (MIC 0,01875 %).

Z výsledků experimentu je patrný silný inhibiční vliv esence *T. vulgaris*, která jako jediná působila proti všem čtyřem testovaným houbám. Naproti tomu žádný patogen nebyl významně ovlivněn esencí *R. officinalis*. V rostlinách, především z *T. vulgaris*, *C. winterianus*, *L. cubeba*, *M. spicata* a *P. graveolens*, se ukrývá potenciál pro alternativní způsob ochrany v zemědělské produkci. Nelze však ani opomenout dobré účinky esencí *E. citriodora*, *F. vulgare* vůči patogenu *S. sclerotiorum* a *P. anisum* proti *S. cepivora*.

Klíčová slova: choroby zeleniny, esenciální olej, ochrana, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Stromatinia cepivora*

Antifungal effect of essential oils on selected causal agents of vegetable fungal diseases

Summary

The diploma work focuses on using the fungicidal efficiency of the essential oils of particular aromatic plants against certain pathogens such as *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Stromatinia cepivora* which cause vegetable diseases.

In the first part of the experiment, the antimycotic activity test was performed when using 0,1% concentration of the essence from the following herbs: *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus citriodora*, *Foeniculum vulgare*, *Litsea cubeba*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Pimpinella anisum*, *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris*.

So called MIC (minimal inhibitive concentration) was defined for those essences that prevented the growth of fungal mycelium successfully. The essential oil from *T. vulgaris* with MIC 0,02188 % reacted against the pathogen *B. cinerea* the best way. Other essences that proved to be effective against that parasite were extracted from: *L. cubeba* (MIC 0,03125 %), *C. winterianus*, *M. spicata* and *P. graveolens* with the same MIC 0,04375 %. Dealing with *A. solani*, a 100% inhibition was detected just with one essence which was *T. vulgaris* with MIC 0,03125 %. The following plants are those that are able to prevent the growth of mycelium of the pathogen *S. sclerotiorum*, they include: *C. winterianus* (MIC 0,075 %), *E. citriodora* (MIC 0,0625 %), *F. vulgare* (MIC 0,1 %), *L. cubeba* (MIC 0,04375 %), *M. spicata* (MIC 0,0625 %), *P. graveolens* (MIC 0,04375 %) and *T. vulgaris* (MIC 0,025%). The fungus *S. cepivora* was successfully inhibited with the essential oils from the following plants: *C. winterianus* (MIC 0,03125 %), *L. cubeba* (MIC 0,0675 %), *M. spicata* (MIC 0,05 %), *P. anisum* (MIC 0,075 %), *P. graveolens* (MIC 0,025 %) and *T. vulgaris* (MIC 0,01875 %).

The results of the experiment give us obvious conclusion about a strong inhibitive influence of the essence from *T. vulgaris* which positively reacted with all four tested fungi as the only one from the experiment. On the contrary, none of the pathogens was significantly influenced by the essence from *R. officinalis*. The plants such as *T. vulgaris*, *C. winterianus*, *L. cubeba*, *M. spicata* and *P. graveolens* contain the potential for an alternative way of protection in agricultural production. However, satisfactory effects of the essences from *E. cintriadora*, *F. vulgare* against *S. sclerotiorum* pathogen and *P. anisum* against *S. cepivora* should not be ignored.

Key words: vegetable diseases, essential oil, protection, *Botrytis cineria*, *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Stromatinia cepivora*

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Vědecká hypotéza a cíl práce	2
3	Literární přehled	3
3.1	Vybraní původci houbových chorob na zelenině.....	3
3.1.1	<i>Botrytis cinerea</i> Pers. (1974) (anam.)	3
3.1.2	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary (1884)	5
3.1.3	<i>Stromatinia cepivora</i> (Berk.) Whetzel (1945) (telem.)	6
3.1.4	<i>Alternaria solani</i> Sorauer (1896).....	7
3.2	Esenciální oleje vybraných rostlin	8
3.2.1	Mechanismy toxicity esenciálních olejů	9
3.2.1.1	Cytotoxicita esenciálních látek	9
3.2.1.2	Jaderná mutagenita.....	9
3.2.1.3	Specifičnost esenciálních látek	10
3.2.2	Způsoby získání esenciálního oleje.....	10
3.2.2.1	Lisování za studena	10
3.2.2.2	Hydrodestilace	10
3.2.2.3	Extrakce.....	11
3.2.3	<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt.....	12
3.2.4	<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook.	13
3.2.5	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	15
3.2.6	<i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Pers.....	17
3.2.7	<i>Mentha spicata</i> L.	18
3.2.8	<i>Pimpinella anisum</i> L.	20
3.2.9	<i>Pelargonium graveolens</i> (Thunb.) L'Hér.	22
3.2.10	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	23
3.2.11	<i>Thymus vulgaris</i> L.	24
4	Metodika	27
4.1	Použité chemikálie a laboratorní přístroje	27
4.2	Izolace patogenů	27
4.3	Stanovení fungicidní aktivity esenciálních látek	28
4.4	Stanovení minimální inhibiční koncentrace esenciálních olejů (MIC).....	28
4.5	Vyhodnocení pokusů.....	29
4.6	Zpracování výsledků	29

5	Výsledky	31
5.1	Stanovení fungicidní aktivity esenciálních látek	31
5.2	Stanovení MIC esenciálních olejů	33
5.2.1	<i>Botrytis cinerea</i> Pers. (1974)	33
5.2.2	<i>Alternaria solani</i> Sorauer (1896)	42
5.2.3	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary (1884)	43
5.2.4	<i>Stromatinia cepivora</i> (Berk.) Whetzel (1945)	50
6	Diskuze.....	56
7	Závěr	62
8	Seznam literatury	63
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	79
	Přílohy	80

1 Úvod

V této době se stále častěji diskutuje o syntetických přípravcích na ochranu rostlin. Vzdůstá tlak ze strany státu a Evropské unie, odkud přicházejí stále přísnější pravidla pro registraci pesticidů a jejich užívání. Zároveň stoupá iniciativa občanů, kteří požadují šetrnější přístup k životnímu prostředí a zdravější potraviny. Nelze ani opomenout dlouhotrvající problém s přibývajícím počtem rezistentních organizmů vůči určitým účinným látkám pesticidů.

Od 1. 1. 2014 vešla v platnost změna národní a unijní legislativy, která udává povinnost provádět zásady integrované ochrany. Tyto zásady mimo jiné kladou důraz na preferenci všech nechemických prostředků a metod ochrany rostlin, snížení aplikace chemických přípravků, minimální výskyt reziduí v potravinách a zamezení rozvoje rezistentních populací chorob a škůdců.

Je možné, že klíčem pro tato kritéria jsou právě aromatické rostliny. Během posledních 15 až 20 let začal vzrůstat zájem evropského výzkumu o biologicky aktivní látky z rostlin s pesticidními účinky, který spěje k vývoji nových přípravků na této bázi.

Tato práce se zabývá esenciálními oleji z *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus citriodora*, *Foeniculum vulgare*, *Litsea cubeba*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Pimpinella anisum*, *Rosmarinus officinalis* a *Thymus vulgaris* s fungicidním účinkem, který je testován na patogenech *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* a *Stromatinia cepivora*, vyskytujících se na zelenině.

2 **Vědecká hypotéza a cíl práce**

Hypotéza: Existují esenciální oleje, které mají inhibiční účinek na růst houbových patogenů zeleniny a potenciální využití v ochraně hostitelských rostlin před těmito patogeny.

Cílem diplomové práce bylo otestovat účinky vybraných esenciálních olejů na růst vybraných houbových patogenů zeleniny. V tomto cíli jsou zahrnuty dvě části experimentu. V první řadě bylo nutno ověřit fungicidní aktivitu zvolených esencí proti konkrétním houbám. Následně u esencí, které prokázaly tuto schopnost, byla stanovena minimální inhibiční koncentrace.

3 Literární přehled

3.1 Vybraní původci houbových chorob na zelenině

Pěstování zeleniny má v České republice svoji tradici. Již v 18. století došlo k obrovskému rozvoji zelinářství, které bylo věhlasné i v zahraničí. Docházelo ke vzniku mnoha nových odrůd, které reprezentují tehdejší i současné významné pěstitelské oblasti v Čechách i na Moravě. K nejznámějším patří například Plotištské zelí, Všetatská cibule, Malínský křen či okurky, Ivančický chřest, nebo Bzenecký česnek (Anonym, 2015b).

Vzhledem k vysoké konkurenci ze zahraničí mají dnešní zelináři daleko těžší podmínky pro podnikání, přesto na trhu stále nachází své místo. V České republice k 31. 5. 2014 bylo registrováno 9 211 ha osevní plochy, na které byla pěstována zelenina. Rok 2014 se vyznačoval deštivým květnem a přívalovými dešti v červenci, které spolu s výkyvy teplot přispěly k rozvoji houbových a bakteriálních chorob, především plísně cibule, alternárie na mrkvi, nebo i septoriózy na celeru. Na jaře byl na porostech špenátu zaznamenán častější výskyt plísně špenátové a antraknózy, na salátech plísně salátové a bakteriózy. Květák trpěl listovými skvrnitostmi a bakteriózami. Deštivé počasí v závěru vegetace rajčat se i přes intenzivní chemickou ochranu podepsalo na špatném zdravotním stavu plodů, které byly hojně napadeny fytoftorou a černěmi. Vysoké teploty snižovaly kvalitu zeleniny určené pro skladování, na kořenové zelenině sklizené za vysokých teplot se objevovaly houbové choroby, jako například plíseň šedá nebo plíseň způsobená *S. sclerotiorum* (Buchtová, 2014).

Průběh roku 2014 a jeho vliv na rozvoj houbových patogenů dokazuje, že houbové a bakteriální choroby jsou častým problémem ve sféře tržní produkce zeleniny. Následující podkapitoly se podrobně zabývají vybranými houbovými fytopatogeny. Jsou zde uvedeny optimální podmínky pro jejich rozvoj, popis vývojového cyklu, příznaky napadené rostliny a charakter průběhu choroby jimi způsobenou.

3.1.1 *Botrytis cinerea* Pers. (1974) (anam.)

Taxonomicky zařazeno dle Index Fungorum (2015)

Oddělení:	<i>Ascomycota</i>
Třída:	<i>Leotiomycetes</i>
Řád:	<i>Helotiales</i>
Čeleď:	<i>Sclerotiniaceae</i>
Telemorfa:	<i>Botryotinia fuckeliana</i> (de Bary) Whetzel (1945)

Podle časopisu *Molecular Plant Pathology* byla houba *B. cinerea* ohodnocena jako 2. nejvíce hospodářsky významný houbový patogen. Jedná se o průzkum, kterého se zúčastnilo 495 mykologů zabývajících se fytopatogeny. Příčinou takového umístění je zřejmě široké spektrum hostitelů, u kterých způsobuje závažné poškození jak před, tak i po sklizni. Odhady pro celkové světové náklady (mechanické opatření, fungicidy, biologická ochrana) vynaložené na ochranu proti *B. cinerea* přesahuje přes 1 bilion € ročně (Dean et al., 2012).

Patogen *Botrytis cinerea* je schopen napadnout prakticky všechny pěstované i volně rostoucí rostliny, ze zeleniny především rajčata, papriky, okurky, salát, zelí, hrách a fazol (Rod et al., 2005).

B. cinerea přežívá saprofytickým způsobem ve formě sklerocií, na kterých se na jaře začnou vyvíjet konidiofory. Patogen také tvoří mikrokonidie, které především slouží jako spermacie. Z nichž pohlavně – spermatizací vznikají apothecia (Beever et Weeds, 2007).

Zralé konidie se stávají primárním inokulem, který se šíří větrem (Beever et Weeds, 2007). Je dokonce známo několik druhů hmyzu, které přenáší životaschopné konidie, a to neperzistentně i perzistentně (Fermaud et Gaunt, 1995).

Patogen a jeho rozmnožovací struktury mohou být nalezeny na rostlinných zbytcích i na náradí. Je běžnou součástí půdní mikroflóry, podílí se na rozkladu rostlinného materiálu. Přenosný může být i osivem prostřednictvím mycelia v nažkách, nebo příměsí sklerocia (Talich et al., 2013).

Klíční hyfa s apresoriem není morfologicky uzpůsobena tak, aby dokázala odolávat osmotickému tlaku. Z tohoto důvodu nemůže aktivně prorůst do rostliny (Williamson et al., 2007).

Jeho vstupní branou jsou odumřelá či poškozená pletiva primárními patogeny, nebo mechanickým poškozením. Odtud se dále rozšiřuje i na zdravá pletiva (Talich et al., 2013). K primární infekci dochází na malých plodech či květních orgánech, kam se konidie snadno dostanou. Na tomto místě bývají často neaktivní až do chvíle, kdy dojde k poškození pleva (Viret et al., 2004).

Napadené mladé rostliny s příznaky měkké hniloby listů a stonků většinou odumírají, jedná se o tzv. padání klíčnic rostlin. *B. cinerea* je původcem šedé plísňovitosti, která se projevuje rozpadem pletiva na různých částech rostliny, doprovázený šedohnědým chmýřitým povlakem (Rod et al., 2005).

Na jednotlivých druzích zeleniny se může lišit prvotní místo napadení i příznaky. U salátu bývá v první řadě poškozen kořenový krček a srdéčko. U fazolu a tykvovité zeleniny se patogen šíří od konce plodů z odumřelých květů, u rajčat a paprik naopak přes stopku.

U brukvovité zeleniny se tato choroba nejčastěji vyskytuje na skladovaném hlávkovém zelí (Rod et al., 2005).

Častá aplikace syntetických fungicidů podnítila vznik rezistentních kmenů *B. cinerea*. Rezistence byla prokázána u chemických látek ze skupin dikarboximidy, benzimidazoly a v případě rezistence k účinné látce kaptan (skupina ftalimidy) byla identifikována křížová rezistence k různým dithiokarbamátům (Williamson et al., 2007).

V rámci antirezistentní strategie, intergrované a ekologické ochrany se upřednostňuje biologická kontrola, která na rozdíl od ostatních států není u nás registrovaná (Anonym, 2015a).

V zahraničí se využívají vláknité houby *Trichoderma harzianum*, *Clonostachys rosea* (*Gliocladium roseum*) a *Ulocladium oudemansii*, kvasinky *Candida oleophila*, nebo bakterie *Streptomyces griseoviridis*, *Bacillus subtilis* a *Pseudomonas syringae* (Elad et Stewart, 2007).

3.1.2 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (1884)

Taxonomicky zařazeno dle Index Fungorum (2015)

Oddělení:	<i>Ascomycota</i>
Třída:	<i>Leotiomycetes</i>
Řád:	<i>Helotiales</i>
Čeleď:	<i>Sclerotiniaceae</i>

Houba *S. sclerotiorum* stejně jako *B. cinerea* je považována za hostitelsky nespecifický a velmi agresivní patogen. Napadá více než 400 rostlin po celém světě. Mezi hostitelské plodiny patří například slunečnice, sója, řepka olejka, cizrna, čočka a různé druhy zeleniny (Bolton et al., 2006). Úspěšně kolonizuje pletiva salátu, polníčku, mrkve, petržele, rajčete, papriky, zelí, čekanky, fazolu a hrachu (Rod et al., 2005).

Patogen přetrvává v půdě ve formě sklerocií až 8 let. K tomu zřejmě slouží svrchní vrstva sklerocia obsahující melanin, který chrání sklerocium před nepříznivými podmínkami a mikrobiální degradací. Sklerocium je hlavním zdrojem infekce, která se šíří prostřednictvím mycelia (primární infekce) nebo askosporami (sekundární infekce) (Bolton et al., 2006).

Mycelium vyrůstající ze sklerocia může infikovat kořeny hostitele. Přes pokožku kořene se dostane pomocí enzymů, nebo mechanicky – apresoriem a penetračním rohem. Tento způsob je praktikován pouze na několika plodinách, na slunečnici a některé zelenině (Bolton et al., 2006).

Askospory jsou tvořeny ve vřeckách v plodnici (apotheciu), která vyrůstá za vhodných podmínek na sklerociu. Po dozrání jsou askospory aktivně vystřelovány nebo odnášeny větrem. Mohou klíčit na povrchu zdravé tkáně, ale musí mít k tomu dostatek živin a vodu. K infekci je tedy třeba staré nebo nekrotické pletivo poskytující živiny, vlhké prostředí a vyšší teplota vzduchu. Zmiňovaným zdrojem živin bývají často květní plátky, proto hostitel je velmi náchylný v době květu (Bolton et al., 2006).

U slunečnice může být patogen přenosný osivem, kde houba přežívá v semenu ve formě mycelia (Prokinová, 2010).

S. sclerotiorum patří k nejčastějším původcům skládkových chorob brukvovité a kořenové zeleniny. Zpočátku se projevuje jako měkká, rychle se rozšiřující hniloba. Na postižených pletivech vytváří bílé vatovité mycelium s černými sklerocii. U salátu a polníčku je spolu *B. cinerea* jednou z příčin tzv. podehnívání salátu. U fazolu, hrachu, rajčat a okurek jsou napadány jak plody, tak stonky, kdy rostliny nad infikovaným místem vadnou a odumírají (Rod et al., 2005).

Chemická ochrana je dobře zajištěná a zatím nejsou známy rezistentní kmeny, proti některým účinným látkám (Bolton et al., 2006).

V ČR jsou povoleny dva biologické prostředky na bázi *Coniothyrium minitans* a *Pythium oligandrum* (Anonym, 2015a). Je známo však mnohem více takových mykoparazitů proti *S. sclerotiorum*, které se v praxi běžně používají, například *Streptomyces lydicus*, *Trichoderma harzianum*, nebo bakterie *Bacillus subtilis* (Zeng et al., 2012).

3.1.3 *Stromatinia cepivora* (Berk.) Whetzel (1945) (telem.)

Taxonomicky zařazeno dle Index Fungorum (2015)

Oddělení:	<i>Ascomycota</i>
Třída:	<i>Leotiomycetes</i>
Řád:	<i>Helotiales</i>
Čeleď:	<i>Sclerotiniaceae</i>
Anamorfa:	<i>Sclerotium cepivorum</i> Berk. (1841) (anam.)

Tato celosvětově rozšířená houba způsobuje závažné škody v oblastech, kde se pěstuje cibulová zelenina. Napadá plodiny rodu *Allium spp.*, kam patří česnek, cibule, šalotka a pór. *S. cepivora* je příčinou vzniku tzv. bílé hniloby česnekovitých. Patogen přežívá ve formě sklerocií, která mohou přežít v půdě nepříznivé podmínky až 30 let. Bylo zjištěno, že pouze jedno sklerocium na 1 kilogram půdy může poškodit 50 % plodin. Pokud se v 1 kilogramu

půdy vyskytuje 10 až 20 sklerocií, dojde k infekci v podstatě všech rostlin (Sammour et al., 2011).

Primárním inokulem jsou tedy drobná tmavá sklerocia podobná makovému semenu, která se na pozemek zavlečou spolu se sadbou. Hlavním impulzem pro klíčení sklerocia jsou látky obsažené v kořenových exudátech hostitele, především sulfidy. Mycelium v půdě postupně roste směrem k hostitelské rostlině, do které se dostane pomocí apresoria a penetračního hrotu přes kořeny. Takto může napadat i okolní rostliny. Mycelium se vytváří především na podzemních částech rostliny a na bázích nadzemních částí. Na myceliu po čase dochází k produkci obrovského počtu dalších sklerocií. Ty se snadno rozšiřují pomocí silného větru, přívalového deště nebo zemědělskou technikou. Mladá sklerocia jsou po dobu 1 – 3 měsíců od jejich tvorby v klidovém stadiu, a poté mohou opět klíčit a jsou pak příčinou snížení výnosu po několik sezón. Rozvoj a šíření *S. cepivora* podporuje vlhké a chladné prostředí o teplotě do 20 °C, vododržné a málo propustné chladné půdy, které mají nízké pH a jsou přehnojené dusíkem (Sammour et al., 2011).

V případě vhodných podmínek může být hostitel infikován v jakékoliv fázi růstu, obvykle však k tomu dochází od fáze 3 až 5 listů. V porostu jsou patrná ohniska napadených rostlin, která žloutnou, jejich spodní listy odumírají a většina infikovaných rostlin hyne v průběhu vegetačního období (Rod et al., 2005).

Základem ochrany je prevence před zavlečením inokula, evidence zamořených ploch a zcela zdravý sadbový materiál (Rod et al., 2005). V ČR je povolen pouze jeden chemický přípravek s úč. látkou – azoxystrobin (Anonym, 2015a), proto by se mělo o to více soustředit na využití půdních antagonistů, konkrétně *Chaetomium globosum*, *Coniothyrium minitans*, *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, *Bacillus subtilis* (Sammour et al., 2011).

3.1.4 *Alternaria solani* Sorauer (1896)

Taxonomicky zařazeno dle Index Fungorum (2015)

Oddělení:	<i>Ascomycota</i>
Třída:	<i>Dothideomycetes</i>
Řád:	<i>Pleosporales</i>
Čeleď:	<i>Pleosporaceae</i>

Tato houba způsobuje tzv. alternáriovou skvrnitost rajčete a hnědou skvrnitost bramboru. Je celosvětově rozšířená a vyskytuje se v širokém rozsahu klimatických podmínek. Míra poškození záleží na vlhkosti, citlivosti odrůdy a výživovém stavu. V případě

neošetřeného porostu může v závislosti na jmenovaných faktorech dojít k výnosovým ztrátám v rozmezí 5 – 78 % (Kemmitt, 2002).

V ČR k vážným škodám dochází spíše lokálně u náchylnějších odrůd, v teplých a sušších oblastech (Talich et al., 2013).

A. solani přežívá na rostlinných zbytcích nebo na infikovaných hlízách ve formě konidií nebo mycelia. Na přelomu jara a léta konidie, které jsou přenesené větrem či dešťovými kapkami na list nové rostliny, začnou klíčit ve vlhkém prostředí při teplotě 24 - 29 °C. Prorůstají aktivně přes epidermis listu, nebo se do listu dostávají přes průduchy a poranění. Asi týden po infekci se na starších listech objevují tmavé léze, které se postupem času rozšiřují. Během střídání vlhka v noci a sucha ve dne se vytvoří konidiofory a následně nové konidie, které zajistí sekundární infekci (Kemmitt, 2002).

Tmavohnědé skvrny se postupně zvětšují, vnější okraje jsou žlutě lemované a uvnitř se objevují koncentrické kruhy. Při silnější infekci léze splývají a listy odumírají (Rod et al., 2005). Pokud skvrny vznikají od okraje listů, je v první polovině rozvoje choroby možná záměna s plísní bramborovou (Prokinová, 2010).

Na stoncích jsou viditelné protáhlé, mírně propadlé skvrny, které jsou příčinou častého lámání. Opad květů způsobují skvrny na stopkách. U napadených plodů se objevují ve stopkové části tmavé, propadlé, ostře ohraničené skvrny, které jsou za vlhka pokryté černým sametovým povlakem výtrusů hub. Na hlízách patogen způsobuje suchou hnilobu (Rod et al., 2005).

Během chemické ochrany je nutné brát zřetel na antirezistentní strategii. U *A. solani* byla již zaznamenána rezistence proti chemickým látkám skupiny QoI, které jsou obecně ohroženy rezistencí (Kemmitt, 2002).

3.2 Esenciální oleje vybraných rostlin

Esenciální oleje jsou přírodní těkavé sekundární metabolity aromatických rostlin, u nichž zajišťují mnoho funkcí. Slouží jako ochranný prostředek proti fytopatogenním mikroorganismům a živočichům využívající rostlinu pro svůj vývoj a reprodukci. Hrají důležitou roli v interakci mezi rostlinou a hmyzem, v podobě atraktantů či repelentů. Zároveň mohou zprostředkovat komunikaci mezi okolními rostlinami a symbiotickými mikroorganismy (Batish et al., 2008).

Esenciální oleje jsou v praxi z velké části užívány pro jejich přirozené schopnosti, tj. pro jejich antibakteriální, antimykotickou a insekticidní aktivitu. V současné době je známo

přibližně 3000 éterických olejů, z toho 300 se komerčně zpracovává. V potravinářském průmyslu slouží jako nositel chuti, konzervant nebo jiná přídatná látka. V kosmetice je častou složkou v různých krémech, mýdlech, make-up produktech, v parfumerii jsou dokonce nepostradatelné. Pro zemědělství představují alternativu syntetických pesticidů. Jejich uplatnění ve farmacii a medicíně pochází již z lidového léčitelství. Některé dokonce vykazují schopnost vyléčit různé dysfunkce orgánů, systémové poruchy nebo rakovinové bujení. Jsou základním prvkem v aromaterapii (Bakkali et al., 2008).

Jsou uloženy v sekrečních buňkách, kanálcích, epidermálních buňkách nebo žláznatých trichomech a mohou být získány ze všech rostlinných orgánů, z pupenů, květů, listů, stonků, větviček, semen, plodů, kořenů, dřeva i kůry (Bakkali et al., 2008).

Jedná se o velmi složité přírodní směsi, které mohou obsahovat 20 až 60 komponentů. Obsahují 2 až 3 hlavní složky, které ve složení zauímají poměrně velký podíl ve srovnání s ostatními látkami vyskytující se ve stopovém množství (Bakkali et al., 2008).

Procentuální zastoupení jednotlivých látek v oleji je velice variabilní a je ovlivněno řadou vnějších i vnitřních faktorů, tj. povětrnostní a půdní podmínky, geografická poloha, genetická výbava, stáří a vývojová fáze rostliny, typ extrakce, extrahovaná rostlinná část (Diao et al., 2014; Khanuja et al., 2005).

3.2.1 Mechanismy toxicity esenciálních olejů

3.2.1.1 Cytotoxicita esenciálních látek

Esenciální látky mají lipofilní charakter, tudíž prochází buněčnou stěnou a cytoplazmatickou membránou. Cestou narušují strukturu vrstev polysacharidů, mastných kyselin a fosfolipidů. Takto silně poškodí permeabilitu, což může vést k úniku makromolekul, či dokonce k lýze (Turina et al., 2006).

Mohou také zapříčinit srážení cytoplazmy, nebo rozrušit samotné organely rozkladem proteinu a lipidů. To vše je patrně způsobeno fenolovou prooxidační činností (urychlení oxidačního procesu). Při prooxidační reakci dochází k tvorbě reaktivních forem kyslíku (ROS) (Burt, 2004; Gustafson et al., 1998).

3.2.1.2 Jaderná mutagenita

Usmrcení škůdce či patogenu v důsledku jaderné mutagenity esencí není běžné. Existují však některé studie, ve kterých byla jaderná mutagenita esencí prokázána. Například

pelyněk estragon působil genotoxicky na *Bacillus subtilis*, nebo esence z máty klasnaté a kopru vonného měla podobný dopad na octomilku obecnou. Dále účinná látka anethol z fenyklu a anýzu byla také označena jako mutagenní (Bakkali, et al. 2008).

3.2.1.3 Specifičnost esenciálních látek

Specifičnost olejů nespočívá v biologickém účinku, např. v cytotoxicitě. Specifičnost se spíše týká konkrétního složení esenciálního oleje. Složení rozhoduje o tom, do jakého místa či orgány se esence v buňce dostane. V důsledku výskytu pak probíhá různý typ radikálové reakce, což ovlivňuje právě i produkci ROS (Bakkali et al., 2005).

3.2.2 Způsoby získání esenciálního oleje

3.2.2.1 Lisování za studena

Jde o jakýkoli mechanický proces, z něhož se získává olej rozdrčením vstupní suroviny. Tento způsob se využívá především u semen nebo plodů (nejčastěji citrusových). V případě citrusů, u kterých se esence nachází v olejových váčcích blízko povrchu kůry, postačí jemné stlačení. V praxi se buď zpracovává celý plod, nebo pouze kůra. Ze získané emulze se pak vlivem odstředivé síly oddělí esenciální olej (Lawrence, 1995).

Pakliže se jedná o semena, musí se před lisováním nejprve rozemlít. Při stlačení drti za určitého tlaku vytéká olej spolu s drobnými úlomky semene. Poté prochází filtrovací soustavou, kde je zbaven nečistot. Celý proces většinou probíhá za přítomnosti ochranného plynu. Tato technika je velice šetrná, při níž nedochází k degradačním změnám. Lisováním za studena se dosáhne sice vysoké kvality, ale zato nízké produkce (Poustková et al., 2010).

3.2.2.2 Hydrodestilace

Hydrodestilace se dělí na dva základní postupy: destilace vodní parou, nebo hydrodestilace podle Clevengera. Hlavní rozdíl mezi nimi spočívá v odlišné interakci mezi rostlinným materiálem a vodou. V případě parní destilace je droga umístěna v proudu páry, u Clevengerova přístroje je přímo ve vroucí vodě. Celý princip je postaven na skutečnosti, že destilované sloučeniny mají hydrofobní povahu a tudíž se snadno od sebe oddělí díky rozdílné hustotě (Topiař et al., 2013).

Jedná se o zdlouhavý proces, který může trvat i 4 hodiny, navíc monoterpeny mohou podléhat chemickým změnám. Z těchto důvodů byly vyvinuty nové technologie, které zkrátily celý proces, zvýšily výnos a zlepšily kvalitu izolovaného oleje (Lo Presti et al., 2005).

Hydrodestilace za pomoci mikrovln (MAHD) spočívá v působení mikrovln na vodu, která je obsažená v rostlinných pletivech. V důsledku této interakce se zvýší kinetická energie v molekule vody, protrhne se buněčná stěna buňky, uvolní se vodní emulze, z níž se voda začne odpařovat. MAHD splňuje všechny výše uvedené požadavky a navíc nezatěžuje životní prostředí (Lo Presti et al., 2005).

Existují modifikace této technologie, například vakuová mikrovlnná hydrodestilace (VMHD), nebo mikrovlnná destilace za přítomnosti stlačeného vzduchu (CAMD) (Vian et al., 2008).

3.2.2.3 Extrakce

Další variantou je extrakce pomocí rozpouštědla kapalného nebo tuhého. Požadované sloučeniny se vlivem rozpouštědla uvolní z rostlinné směsi a následně se oddělí odpařením rozpouštědla. Produkt získaný tímto způsobem není správné nazývat esenciálním olejem, jelikož po extrakci mohou zůstat v izolovaném oleji stopy rozpouštědla. Z tohoto důvodu ani nesplňuje podmínky pro ISO (Baser and Buchbauer, 2010).

Při extrakci éterických olejů je vhodné zvolit rozpouštědlo v podobě kapalného oxidu uhličitého. Předností je citlivé zpracování teplotně nestabilních látek a zároveň extrakt neobsahuje žádné zbytky rozpouštědel. CO₂ je nehořlavý, levný a nevzniká ekologicky závadný odpad. Na druhé straně se rozpouštědlo pomalu dávkuje a navíc dochází k diskontinuitě provozu při naplňování a vyprazdňování extraktoru v beztlakovém stavu (Poustková et al., 2010).

Při odstraňování rozpouštědla může dojít k vysokým ztrátám těkavých látek, proto lze použít šetrnější alternativu tohoto procesu superkritickou fluidní extrakci (SFE) (Bousbia et al., 2009).

V této metodě se k extrakci využívá tekutina v nadkritickém stavu. Jde o stav, kdy je tekutina vystavena teplotě a tlaku, které přesahují kritické hodnoty. Chování kapaliny je pak téměř shodné s chováním plynu. Nadkritické tekutiny mají nulový povrch napětí, čímž snadno pronikají do matrice a zvyšují rychlost extrakce (Lojková et al., 2005).

Nevýhodou však je obtížné vytvoření přesných technologických podmínek, což vede i k vysokým nákladům pro výrobu finálního produktu. Proto se tato metoda příliš nerozšířila.

Navíc v důsledku nadměrné extrakce se uvolňují i nežádoucí sloučeniny v podobě rostlinných vosků a pryskyřic (Bousbia et al., 2009).

Zde se také nabízí inovace v podobě extrakce rozpouštědlem za pomoci mikrovln (SFME) (Vian et al., 2008).

Další alternativou všech výše popsaných metod je mikrovlnná hydrodifúze a gravitace (microwave hydrodiffusion and gravity - MHG). Stejně jako u MAHD dojde k uvolnění vnitrobuněčné tekutiny a na základě hydrodifúze a zemské gravitace se extrakt dostane mimo rostlinný materiál. Po ochlazení se silice od vody oddělí vlivem rozdílné hustoty. MHG umožňuje extrahovat esenciální olej bez energeticky náročných operací, jako jsou destilace a odpařování, což vede ke značné úspoře nákladů (Vian et al., 2008).

3.2.3 *Cymbopogon winterianus* Jowitt

Složky esenciálních olejů z rostlin rodu *Cymbopogon* jsou ukládány v listech, konkrétně v parenchymatickém pletivu v leukoplastech (Khanuja et al., 2005).

Největší podíl z celkového obsahu oleje z *C. winterianus* zauímají tyto složky: citronellal 31,5 %, geraniol 22 %, geranylacetát 9 %, elemol 7,2 %, citronellol 5,7 %, citronellyl-acetát 4,6 % (Kakaraparthi et al., 2014).

Během růstu rostliny stoupá produkce limonenu, citronellalu a geraniolu, zatímco množství citronellyl-acetátu a geranyl-acetátu klesá (Kakaraparthi et al., 2014).

Antimikrobiální aktivita esence z *C. winterianus* byla pozorována v testech proti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Clostridium perfringens* (Scherer et al., 2009).

Tvrzení, že tento olej potlačuje růst *E. coli*, se shoduje s prací Duarte et al. (2007).

Mezi nejvýznamnější druhy, jejichž esence vykazují s fungicidními účinky, se řadí: *C. flexuosus*, *C. citratus*, *C. martinii*, *C. winterianus*, *C. nardus*, a *C. parkeri* (Ganjewala, 2009).

Billerbeck et al. (2001) prokázali inhibiční vliv silic z *C. nardus* na růstu mycelia *Aspergillus niger*.

Růst *Aspergillus* spp. účinně blokuje také olej z *C. citratus*. Uplatňuje se i při ochraně před posklizňovými chorobami a také proti *Rhizoctonia solani*, *Pyricularia oryzae* (patogen rýže) a *Fusarium oxysporum* (Hajieghrari et al., 2005).

Esence z *C. winterianus* také zabraňuje růstu hub *Aspergillus* spp. a *Penicillium* spp. (Xiaolong et al., 1993).

Fungicidní schopnosti byly potvrzeny také na kvasinkách *Candida albicans* (Oliveira et al., 2011).

Insekticidní schopnosti esence *C. winterianus* byly testovány na mšici broskvoňové (*Myzus persicae*) a na třásněnce *Frankliniella schultzei*. V obou případech se prováděla aplikace na nymfy 1. a 2. instaru. Zatímco u třásněnek bylo zaznamenáno velmi nízké procento mortality, mšice byly usmrceny téměř ze 100 %. Silice z *C. winterianus* je tedy velice slibnou alternativou ochrany proti mšicím a zároveň vhodným prostředkem v antirezistentní strategii (Pinheiro et al., 2013).

Esence byla také zkoušena proti zrnokazu skvrnitému (*Callosobruchus maculatus*). Ten často poškozují semena fazolu *Vigna unguiculata*, který se běžně pěstuje v tropických a subtropických zemích. Olej z *C. winterianus* proti tomuto škůdci působí repelentně, čímž snižuje počet nakladených vajíček a vylíhnutí nových jedinců o 100 % (Gusmão et al., 2013).

Vědecká práce Colpo et al. (2014) také vypovídá o možnostech využití oleje proti obaleči východnímu (*Grapholita molesta*). V experimentu byla zaznamenána významná mortalita vajíček a kukel, navíc podobně jako u *Callosobruchus maculatus* byly samičky obaleče esencí znatelně odpuzovány.

Silice z *C. winterianus* je schopna potlačovat rozvoj hád'átka *Meloidogyne incognita*, čímž zároveň zvyšuje výnos plodiny (Pandey, 2005).

Singh et al. (2006) zjistili, že monoterpen citronellal významně inhibuje růst plevelů *Ageratum conyzoides* (nestařec hnidákový), *Chenopodium album* (merlík bílý), *Parthenium hysterophorus*, *Malvastrum coromendelianum*, *Cassia accidentalis*. Pozitivní výsledek se projevil jak při preemergentní, tak i postemergentní aplikaci. Podle srovnání různých druhů v množství citronellalu lze usoudit, že nejefektivnější esence bude z *C. winterianus* (Khanuja et al., 2005).

3.2.4 *Eucalyptus citriodora* Hook.

Tato dřevina původem z Austrálie obsahuje v listech citronellal (61 %), β -citronellol (13 %), isopulegol (8 %), β -karyophylen (3 %), citronellyl-acetát (2,4 %) 1,8-cineol (1,85 %) (Singh et al., 2012).

Stáří listu *Eucalyptus citriodora* ovlivňuje procentuální zastoupení jednotlivých složek esencí. Nejvyšší množství citronellalu bylo naměřeno v rašících a mladých listech, zato citronellolu bylo nejvíce v listech dospělých (Batish et al., 2006).

Zmiňované látky nepůsobí toxicky samy o sobě, nýbrž vzájemným působením (Cimanga et al., 2002).

Esenciální olej z *E. citriodora* má antibakteriální schopnosti, blokuje růst především u grampozitivních bakterií, jako jsou například *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Mycobacterium smegmatis*, *Bacillus subtilis* (Luqman et al., 2008).

Saba et al. (2013) potvrzuje účinnost proti *Staphylococcus aureus* a zároveň uvádí účinnost vůči *B. subtilis* a gramnegativní *Escherichia coli*.

Esence z *E. citriodora* a její hlavní složka citronellal výborně potlačuje rozvoj hub. Tato aktivita je dokázána na *Rhizoctonia solani* a *Helminthosporium oryzae*. Ukazuje se, že oproti komplexní esenci má samotný citronellal vůči houbám silnější inhibici. (Remezani et al., 2002a).

Tento esenciální olej inhibuje i další fytofágní houby, mezi něž patří *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, *Alternaria triticina*, *Rhizoctonia solani*, a *Alternaria solani*. Patogen *R. solani* a *A. solani* jsou vůči silici nejcitlivější, zatímco *A. triticina*, *F. oxysporum f. sp. lycopersici* a *H. oryzae* jsou méně náchylné. Éterický olej v testu dosáhl dokonce lepších výsledků než syntetický fungicid mancozeb (polymerní manganato-zinečnatý komplex) (Remezani et al., 2002b).

Také růst *Botrytis cinerea* lze silně potlačit pomocí této esence (Tripathi et al., 2008).

Insekticidní aktivita byla prokázána na zrnokazu *Callosobruchus maculatus*, škůdci fazolu *Vigna unguiculata*. Esence se osvědčila proti dospělcům, jak ve formě kontaktního insekticidu, tak i ve formě fumigantu. Esence vykazovala i velmi dobrý odpuzující efekt proti oplozeným samičkám, čímž se snížil počet nakladených vajíček a tudíž i vylíhnutých jedinců. Takovéto hodnoty svědčí o dobré účinnosti tohoto oleje a poukazují na reálnou šanci uvedení přípravku na bázi eukalyptu do praxe (Gusmão et al., 2013).

Byly prováděny také testy na ovicidní účinek konkrétně proti potemníku skladištnímu a zavíječi moučnému. Zde nebyly účinky tak výrazné jako při aplikaci anýzového a kmínového oleje (Tunç et al., 2000).

Osvědčil se však proti potemníku hnědému *Tribolium castaneum*, a to jako repelent. (Olivero-Verbel et al., 2010).

U výtažků z eukalyptu byly také zpozorovány herbicidní účinky. Batish et al. (2004) sledovali působení silice na plevele *Cassia occidentalis*, *Amaranthus viridis* (laskavec zelený), *Echinochloa crus-galli* (ježatka kuří noha), ale zároveň také jeho toxicitu vůči plodinám (*Triticum aestivum*, *Zea mays*, *Raphanus sativus*). Výhoda eukalyptového oleje spočívá v druhové specifitě, která především tkví ve velikosti semene. V testu klíčivosti,

při němž byla aplikována esenciální látka, došlo k blokaci klíčení především malých semen *Amaranthus viridis*, přičemž velká semena ředkve byla postížena nejméně. Další pokus byl proveden na měsíc starých rostlinách pěstovaných ve skleníku. Tam měla toxicita oleje oproti jednoděložným rostlinám převážný vliv na dvouděložné, což je způsobeno právě citronellolem. Ačkoliv výsledky studie působí nadějně, v praxi se střetávají s komplikacemi, a to především s fyzikálními vlastnostmi hlavní složky budoucího biologického přípravku. Těkání či lipofilní charakter znesnadňuje příjem látky kořeny.

3.2.5 *Foeniculum vulgare* Mill.

Složení oleje ze semen *Foeniculum vulgare* bylo identifikováno z 95,8 %. Hlavní podíl tvoří fenylypropanoidy - trans-anethol (68,53 %) a estragol (10,42 %), následně pak limonen (6,24 %), fenchon (5,45 %) a další komponenty (Diao et al., 2014).

Esenciální fenyklový olej lze získat i z listů. Při chemické analýze této esence bylo naměřeno 59,8 – 90,4 % trans-anetholu, 0,1 – 21,5 % limonenu, 0,4 – 3,1 % estragolu. Zároveň bylo zjištěno, že při kompostovém hnojení se obsah trans-anetholu zvýší, nárůst činí 10 až 36 % (Senatore et al., 2013).

K nárůstu esence v pletivech přispívají houbové mikroorganizmy v podobě mykorrhizy. Naočkované houby (*Glomus macrocarpum* a *Glomus fasciculatum*) spolu s fosforovým hnojivem podpořily růst biomasy a zároveň pozvedly koncentraci oleje v semenech, oproti kontrole až o 78 %, současně se zvedl obsah trans-anetholu (Kapoor et al., 2004).

Podobný efekt byl dosažen při inokulaci půdních bakterií *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, a *Bacillus megatherium*, spolu s minerálním hnojivem NPK (Mahfouz et al., 2007).

Z hlediska účinků jsou fenylypropanoidy často úzce specifické sekundární metabolity, zároveň ale široce zastoupené téměř ve všech funkčních kategoriích, od těkavých a nízkomolekulárních atraktantů a repelentů, přes větší a polárnější detergenty a antifeedanty, specifické juvenoidy a receptorové agonisty ekdysteroidů, antihormonální látky, chemosterilanty a toxiny (Harmatha, 2005).

Ve studii Lo Cantore et al. (2004) byl hodnocen vliv esenciálního oleje z *Foeniculum vulgare* na 27 fytopatogenních bakteriích. Olej úspěšně potlačil růst některých druhů gram pozitivních bakterií - *Pseudomonas syringae*, *P. reactans*, *P. tolaasii*, *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Burkholderia gladioli*, *Xanthomonas campestris*

a gramnegativních bakterií - *Clavibacter michiganensis*, *Rhodococcus fascians* (Lo Cantore et al., 2004).

Také velice dobře působil proti *Salmonella typhimurium* a *Escherichia coli* (Bisht et al., 2014).

Fungicidní aktivita byla prokázána na *Sclerotinia sclerotiorum*. Ukázalo se, že tento éterický olej v *in vitro* podmínkách zcela potlačil růst mycelia. Olej se osvědčil i v *in vivo* podmínkách, v půdě obsahující inokulum patogenu, do které byla aplikována esence o různých koncentracích. Osivo rajčat, které bylo do tohoto substrátu vloženo, nevykazovalo při klíčení či vzcházení žádné poruchy vyvolané fytotoxicitou esence. Procento počtu zdravých klíčících a vzcházejících rostlin bylo výrazně vyšší, než v kontrolním vzorku bez fenyklového oleje. Dokonce byla potlačena životaschopnost sklerocií (Soylu et al., 2007).

V dalších vědeckých pracích byl popsán inhibiční vliv proti *Alternaria alternata*, *Penicillium digitatum* (Abdolahi et al., 2010a), *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. poae*, *F. equiseti* (Naeini et al., 2010), *Aspergillus parasiticus* (Alinezhad et al., 2011).

Larvicidní účinek byl prokázán na larvách komára *Culex pipiens*, naopak největší odolnost vykazovaly kukly (Zoubiri et al., 2014).

Své místo zaujímá fenyklová esence i při likvidaci skladištních škůdců čeledi *Coleoptera*, konkrétně *Sitophilus oryzae* (pilous rýžový), *Callosobruchus chinensis* (zrnokaz čínský), *Lasioderma serricorne* (červotoč tabákový). Nebyl zkoušen účinek oleje jako celku, nýbrž samostatně jednotlivé složky a to trans-anetholu, estragolu, fenichonu. Proti *Sitophilus oryzae* nejlépe působil estragon, naopak proti *Lasioderma serricorne* byl vhodnější trans-anethol. *Callosobruchus chinensis* byl velice citlivý ke všem třem látkám (Kim et Ahn, 2001).

Akaricidní potenciál byl potvrzen při testech na roztoči *Tyrophagus putrescentiae*, kosmopolitním skladištním a potravinovým škůdci. Nutno však podotknout, že esenciální olej nepocházel ze semen, nýbrž z plodů fenyklu. Složení esence je tudíž zcela odlišné. K majoritním látkám v tomto případě patří apiol, karvon, dihydrokarvon a limonen. Vyšlo najevo, že právě tyto jmenované sloučeniny, vyjma limonenu, zajišťují akaricidní aktivitu (Lee et al., 2006).

3.2.6 *Litsea cubeba* (Lour.) Pers.

Do rodu *Litsea* se řadí cca 622 druhů, rozšířených především v tropických a subtropických pásmech Austrálie, Nového Zélandu, Severní a Jižní Ameriky a Asie. Jen v samotné Číně se vyskytuje 74 druhů, kam patří i *Litsea cubeba*. Jedná se o vytrvalý dvoudomý strom či keř, rozšířený především na jihu Číny (Si et al., 2012).

Proto není divu, že Čína je hlavním producentem esenciálního oleje. Od roku 2000 do 2010 se vyváželo přes 400 t/rok, přičemž 60 % objemu mířilo do Evropy, především do V. Británie, Německa, Španělska, Nizozemska, Francie a Švýcarska (Chen et al., 2013a).

Zajímavostí je, že se považuje za potencionální surovinu pro výrobu bionafty (Chen et al., 2013a).

Esenciální olej z *Litsea cubeba* je ve složení velice rozmanitý, může se lišit i v hlavních komponentech (Saikia et al., 2013). Extrahuje se z různých částí rostliny: z větviček, listů, pupat, květů, plodů či kořenů. Získané množství a složení oleje se v jednotlivých částech liší. Mezi hlavní složky patří citral (Izomer Z = neral; izomer E = geraniol), β -felandren, cineol, β -terpinen, limonen, α -pinen, β -pinen, linalool atd. Podrobnější přehled o výskytu majoritních látek z různých částí rostlin je uveden v příloze č. 1.

Léčivé účinky *L. cubeba*, ať už v humánní medicíně či v rostlinolékařství, jsou zajištěny uhlovodíkovými a kyslíkatými monoterpeny, zejména neralem, geraniolem (Aiemsraad et al., 2011) a 1,8-cineolem (Mayaud et al., 2008).

Antibakteriální účinek byl prokázán na grampozitivních (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) i gramnegativních bakteriích (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Bylo patrné, že míra inhibice značně koreluje s obsahem některých hlavních složek (citral, sabinen, citronellal, citronello) a rozpustnosti v biologických membránách (Saikia et al., 2013).

Pozitivní efekt byl potvrzen i proti *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus* a *S. sanguinis* (Yang et al., 2013).

Yang et al. (2010) testovali antimykotické vlastnosti nově objevené kyseliny litseacubebic, monoterpenu laktonu a celé silice. Fungicidní aktivita byla zpozorována jak u jmenovaných látek, tak u oleje. Nejširší spektrum účinnosti bylo zaznamenáno u laktonu, který inhiboval v rozmezí 65,5 % až 81,8 % tyto houby: *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *A. mali*, *Fusarium graminearum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Thanatephorus cucumeris*, *Pseudocercospora musae*, *Colletotrichum gloeosporioides*. Esenciální olej sice

ovlivnil růst mycelia pouze u 4 patogenů (*B. cinerea*, *A. mali*, *S. sclerotiorum*, *T. cucumeris*), ale zato se silnějším inhibičním efektem.

Antimykotickou aktivitu potvrzují i další studie na patogenech *Alternaria alternata*, *Colletotrichum nicotianae* (Zhang et al., 2012), *Aspergillus niger* a *Candida albicans*. (Saikia et al., 2013).

Studie Ko et al. (2009) dokazuje insekticidní vlastnosti u tohoto oleje na obilných skladištních škůdcích, konkrétně na *Sitophilus zeamais* (pilous kukuřičný) a *Tribolium castaneum* (potemník hnědý). V případě repelentních účinků působí esence na oba brouky velmi dobře, přesto u *T. castaneum* je patrný větší účinek. Dále byla testována toxicita ve formě fumigantu a kontaktního přípravku. Během biologických testů se potvrdila značná citlivost obou škůdců vůči oběma formám, avšak *S. zeamais* byl citlivější.

Silná insekticidní aktivita při fumigační i postřikové aplikaci byla zaznamenána i u *Lasioderma serricorne* (červotoč tabákový) a *Lasioderma serricorne* (pisivka domácí) (Yang et al., 2014).

3.2.7 *Mentha spicata* L.

Rod *Mentha* patří mezi nejznámější a nejrozšířenější aromatické rostliny. Zahrnuje 25 až 30 druhů, které se vyskytují v Euroasii, Austrálii i Jižní Africe. V současné době se máta pěstuje od tropického až po mírné klima Ameriky, Evropy, Číny, Brazílie a Indie. Celosvětová poptávka esenciálního oleje máty činí 16 000 tun, přičemž 80 % vyprodukovaného oleje pochází z Indie (Khanuja, 2007).

Pro tuto produkci ISO povoluje pouze 3 druhy (*Mentha spicata* L., *Mentha arvensis* L. a *Mentha piperita* L.) (Chauhan et al., 2009).

Pomocí plynové chromatografie bylo identifikováno 99,8 % z celkového složení oleje. Ve složení dominují především monoterpeny, tvoří až 98,6 % ze všech sloučenin. Hlavními komponenty esence z *Mentha spicata* jsou: karvon (51,3 – 65,1 %), limonen (15,1 – 25,2 %), β -pinen (1,3 – 3,2 %) a 1,8-cineol (\leq 0,1 – 3,6 %). Mezi další účinné látky patří například menton (0,9 – 1,7 %), mentol (\leq 0,7%), menthyl-acetát (\leq 0,5 %) cis-karveol (0,3 – 1,4 %) (Padalia et al., 2013).

Velmi vysoká poptávka na trhu je i po samotném karvonu, který je nositelem mátové vůně. V důsledku toho se řada vědeckých organizací zapojila do výzkumu pro zvýšení jeho obsahu v *M. spicata*, pomocí šlechtění i biotechnologických metod. Nyní jsou na trhu k dispozici kultivary, které obsahují 60 – 70 % karvonu (Chauhan et al., 2009).

Antimikrobiální aktivita je zajištěna především již zmíněným karvonem a také cis-karveolem (Hussain et al., 2010).

Hussain et al. (2010) však uvádí, že cis-karveol patří mezi hlavní složky a zaujímá 24,3 %, zatímco dle Padalia et al. (2013) je obsažen v rozmezí 0,3 – 1,4 %.

Mírné antimikrobiální vlastnosti jsou prokázány také u limonenu (Sokovic et al., 2009).

Je také zajímavé, že u *M. piperita* za tuto schopnost odpovídá hlavní složka mentol (Iscan et al., 2002).

Při testech na baktericidní účinek měl olej i samotný karvon a karveol velmi dobré výsledky, dokonce srovnatelné s konvenční účinnou látkou (amoxicilin). Vyšší aktivita se projevovala opět u grampozitivních bakterií. Testované bakterie byly původci chorob člověka: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, a *Pasturella multocida* (Hussain et al., 2010).

Vzhledem k tomu, že při fungicidních testech byl dosažen mnohem lepší efekt, jsou patrně houby oproti bakteriím citlivější. Karvon i karveol vykazoval vyšší inhibici než komplexní esenciální olej. Esenciální olej v účinku předčil i syntetickou látku flumequin. Inhibiční vliv mátových silic je prokázán na těchto houbách: *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *Fusarium solani*, *Botryodiplodia theobromae* a *Rhizopus solani* (Hussain et al., 2010).

Sokovic et al. (2009) zkoušeli působení oleje z *M. spicata* na 19 druhích hub (*Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, *A. flavus*, *A. terreus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium tricinctum*, *P. ochrochloron*, *P. funiculosum*, *Phomopsis helianthi*, *Trichoderma viride*, *Trichosporon mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *T. tonsurans*, *Microsporium canis*, *M. gypseum*, a *Epidermophyton floccosum*), přičemž u všech byla potvrzena účinnost této esence. Nejcitlivěji reagovala houba *Phomopsis helianthi*, nicméně *Trichoderma viride* a *Penicillium* sp. tomuto vlivu nejvíce odolávaly.

Kedia et al. (2014) potvrdili inhibiční působení proti *A. flavus* a zároveň zaznamenali zamezení produkce aflatoxinu B₁. Dále se shodují s prací Sokovic et al. (2009) ohledně působení na houby *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*.

Kedia et al. (2014) také popisují fungicidní aktivitu vůči *Absidia ramosa*, *Aspergillus fumigatus*, *A. glaucus*, *A. unguis*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor* sp., *Mycelia sterilia*, *Penicillium citrinum*, *P. italicum*, *P. luteum*, *P. purpurogenum*, *Rhizopus stolonifer* a *Spondylocladium australe*.

Mátová esence byla testována proti *Callosobruchus chinensis* (zrnokaz čínský), konkrétně na semenech cizrny. Esence vykazovala insekticidní i repelentní účinky se 100% úspěšností. Velmi dobře odpuzoval samičky od kladení vajíček do cizrny. Vůči účinkům mátové silice byla nejvíce citlivá vajíčka a mladší larvální stadia (Kedia et al., 2014).

Má také výborné larvicidní vlastnosti proti komárům *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* a *Anopheles stephensi*. Podle testů 3 složek (limon, cis-karveol, karvon) dosahuje nejlepšího efektu limon (Govindarajan et al., 2012).

3.2.8 *Pimpinella anisum* L.

Největší množství esenciálního oleje se nachází v semenech, jeho podíl činí 1,5 - 1,6 % z celkového obsahu semene. Anýzový olej se skládá především z trans-anetholu (76,9 - 93,7 %), podobně jako je tomu u *Foeniculum vulgare*. K dalším hlavním sloučeninám patří γ -himachalen (0,4 – 8,2 %), p-anisaldehyd (5,4 %) a estragol (0,5 – 2,3%) (Orav et al., 2008).

Studie (Orav et al., 2008) monitorovala rozdíly v obsahu a složení oleje z *Pimpinella anisum* z různých evropských zemí. Zjistila, že nejvyšší obsah trans-anetholu (> 90 %) byl naměřen ve vzorcích z Řecka, Maďarska, Skotska, Litvy, Itálie a Německa.

Inhibiční vliv na rozvoj bakterií je prokázán na velkém množství druhů. Vypovídají o tom konkrétní příklady: *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* (Aishah et al., 2012), *Clostridium butyricum* (Kačániová et al., 2014), *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. songuins*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Hafnia alvei*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Salmonella arizonae* (Maofari et al., 2013), *Xanthomonas campestris* (Pino et al., 2012), *Proteus mirabilis*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Micrococcus luteus* a *Staphylococcus epidermidis* (Gülçin et al., 2003).

Vědecká studie Hasimi et al. (2014) je proti těmto článkům v rozporu. Podle Hasimi et al. (2014) vykazovala anýzová silice pouze slabou antibakteriální aktivitu proti *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*.

Také Gülçin et al. (2003) uvádí, že se v případě *P. aeruginosa* a *E. coli* neprojeví žádné známky inhibice.

Al-Bayati (2008) studoval synergické účinky esencí z *P. anisum*, *Thymus vulgaris* a účinné látky mentholu proti bakteriím: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Salmonella typhi*, *S. typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Bacillus cereus*. Zatímco samotný olej z *P. anisum* nezabránil růstu *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, kombinace esenciálních olejů dosáhla lepších výsledků, než standardní antibiotika Maxipime.

Antimykotické účinky byly zkoumány na houbách *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* a *Aspergillus parasiticus*. Největší citlivost byla zpozorována u *A. parasiticus*, dále pak *A. niger* a *A. alternata* (Özcan et Chalchat, 2006).

Proti *A. niger* byly srovnávány účinky anýzového a fenyklového oleje. U obou esencí byla zpozorována fungistatická aktivita, avšak u fenyklu byl efekt vyšší. Po srovnání množství trans-anetholu ve složení obou esencí (anýz 92,9 % a fenykl 71,2 %) je patrné, že tato hlavní složka není zodpovědná za fungicidní schopnosti esence (Sharifi et al., 2008).

Bluma et al. (2008) potvrdili vliv anýzového oleje na *Aspergillus parasiticus* a *Aspergillus flavus*, u nichž byla zaznamenána inhibice růstu mycelia a produkce aflatoxinu B₁.

Larvicidní účinek byl prokázán na komáru *Culex pipiens*, přičemž se potvrdila vysoká insekticidní aktivita trans-anetholu a eugenolu, který je součástí esence v nepatrném množství (Kimbaris et al., 2012).

Pro ověření nezávadnosti anýzového oleje byl proveden fyto toxický test, k němuž byla použita perloočka *Daphnia magna* (hrotnatka velká), která se běžně k tomuto účelu využívá. Pokud se koncentrace pohybovala mezi 35 a 50 µl/l docházelo k úmrtnosti hrotnatek a k narušení plodnosti. Při koncentraci do 20 µl/l nebyl zaznamenán žádný vliv. Přičemž tato dávka je dostatečná pro 100% mortalitu larev komárů (Pavela, 2014).

Ovicidní účinky byly testovány u skladištních škůdců *Tribolium confusum* (potemník skladištní), *Ephestia kuehniella* (zavíječ moučný). Potom co byl pozorovaný hmyz vystaven výparům anýzového oleje, bylo zjištěno, že *Ephestia kuehniella* je daleko citlivější než *Tribolium confusum* (Tunc et al., 2000).

Insekticidní vliv na dospělce potvrzuje výzkum Nenaah et Ibrahim (2011) u *Trogoderma granarium* (rušník obilný) a *Tribolium castaneum* (potemník hnědý). Pozitivního účinku bylo dosaženo po namoření osiva vysušeným esenciálním olejem ve formě prášku.

Pino et al. (2012) vyvrátili pochyby ohledně negativního vlivu na klíčení semene či růstu samotné rostliny.

3.2.9 *Pelargonium graveolens* (Thunb.) L'Hér.

Rod *Pelargonium* je zastoupen 25 druhy, avšak esenciální olej se získává pouze ze 4 druhů: *P. graveolens*, *P. odoratissimum*, *P. capitatum* a *P. radens* (Hsouna et Hamdi, 2012).

Výrazná antimikrobiální aktivita esence spočívá v jejím složení, především ve vysokém obsahu monoterpenů. V silici z *P. graveolens* bylo identifikováno 42 různých látek, z nichž největší podíl zaujímaly: linalool (6,54 %), citronellol (27,53 %), geraniol (25,85 %) a citronellyl-formiát (8,75 %) (Hsouna et Hamdi, 2012).

Antibakteriální aktivita je prokázána na širokém spektru bakterií. Mezi nejcitlivější druhy patří například: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*. Tato schopnost je pozoruhodná zvláště u bakterie *B. subtilis*, která se složitě odstraňuje i běžně účinnými antibiotiky a dokonce vytváří rezistentní kolonie (Hsouna et Hamdi, 2012).

Dále účinně blokuje množení bakterií *Agrobacterium tumefaciens* způsobující nádorovitost kořenů, nebo *Erwinia carotovora* var. *carotovora* původce mokré hniloby (Badawy et al., 2014).

Antibiotická schopnost esence z *P. graveolens* byla dále prokázána na *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* (Hsouna et Hamdi, 2012), *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* (Boukhatem et al., 2013).

Esence se také osvědčila při ochraně před houbovými chorobami. Výborně potlačuje růst mycelia *B. cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* a *Alternaria alternata* (Badawy et al., 2014).

Singh et al. (2008) také prokázali, že esence mají schopnost zabránit sekreci aflatoxinu B₁ do pletiv napadených *Aspergillus flavus*.

Vysoká fungicidní aktivita byla také potvrzena na: *Fusarium graminearum*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Rhizopus nigricans* (Hsouna et Hamdi, 2012), *Cladosporium herbarum*, *Trichoderma viride*, *Helminthosporium oryzae*, *Curvularia lunata* (Singh et al., 2008), *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. sake*, *Rhodotorula glutinis* (Boukhatem et al., 2013), *Rhizopus stolonifer* (Mativandlela et al., 2006) a *Rhizoctonia solani* (Bouzenna et Krichen, 2013).

Insekticidní aktivita byla prokázána na *Spodoptera frugiperda* (blýskavka kukuřičná). Nejcitlivěji na olej z *P. graveolens* reaguje 3. larvální stadium. Při testech toxicity

jednotlivých složek oleje byl geraniol vyhodnocen jako hlavní účinná látka, která spolu s citronellalem a linalolem vytváří celkový výsledek (Niculau et al., 2013).

O využití geraniolu také vypovídá vědecká práce Jeon et al. (2009), ve které jsou popsány výborné akaricidní účinky proti potravinovému škůdci *Tyrophagus putrescentiae*. Podle Leela et al. (1992) je také účinný jako nematocid proti *Meloidogyne incognita*.

3.2.10 *Rosmarinus officinalis* L.

Hlavními producenty rozmarýnu jsou země z oblasti Středoziemního moře, jako je Španělsko, Maroko a Tunisko, ale i Mexiko a Spojené státy (Santana-Méridas et al., 2014).

Při chemické analýze esenciálního oleje z *R. officinalis* bylo detekováno 22 komponentů, které tvoří 97,41 % obsahu. Hlavní složkou je 1,8-cineol (26,54 %), mezi další dominující sloučeniny pak patří: α -pinen (20,14 %), kafr (12,88 %), kamfen (11,38 %), β -pinen (6,95 %) a borneol (3,06 %) (Jiang et al., 2011).

Podle Elamrani et al. (2000) existují 3 chemotypy *R. officinalis*. V případě 1. chemotypu je hlavní sloučeninou α -pinen (37 – 40 %), v druhém převládá kafr (41 až 53 %) a ve třetím 1,8-cineol (58 – 63 %).

Jiang et al. (2011) uvádí, že účinnost oleje je vyšší, než účinnost samotného 1,8-cineolu či α -pinenu.

Při antibakteriálních testech většinou docházelo ke slabé, nebo dokonce žádné inhibici. Bylo zaznamenáno mírné potlačení růstu bakteriálních a kvasinkových kolonií *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* až při velmi vysoké koncentraci esence (Angioni et al., 2004).

S tímto tvrzením se shoduje i studie Barreto et al. (2014), ve které uvádí, že silice ani samotný 1,8-cineol nepůsobil proti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. V případě, že se ale esenciální olej přidá k běžnému antibiotiku, může se zabránit vzniku rezistentních kolonií, či dokonce posílit účinnost léku.

Vědci Mangena et Muyima (1999) dosáhli pozitivnějších výsledků. Nejsilnější inhibice se projevila u *Acinetobacter lwoffii*, *A. calcoaceticus*, *Shigella flexneri* a *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus subtilis*, *Erwinia carotovora*, *Staphylococcus aureus* a *Yersinia enterocolitica*. Bakterie *Salmonella enteritidis* a *S. typhi* vykazovaly již nižší citlivost, zatímco množení *Pseudomonas aeruginosa* a *P. fluorescens* nebylo vůbec ovlivněno.

Fungicidní aktivita rozmarýnového oleje vůči houbám je znatelně vyšší. Sacchetti et al. (2005) zjistili inhibiční účinky vůči *Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Yarrowia lipolytica*. Nutno však podotknout, že v oleji, který byl použit, převládala organická sloučenina verbenon.

Jiang et al. (2011) prokázal fungicidní vliv proti *Aspergillus niger* a *Candida albicans*.

Silice rozmarýny zabraňuje růstu mycelia patogenu *Fusarium verticillioides*. Při tomto pokusu bylo mikroskopem zpozorováno, že při styku s esencí se struktura buněčné stěny poruší, čímž dochází k úniku protoplastu. Zároveň je blokována produkce fumonisinu (mykotoxin) a ergosterolu. Tento děj probíhá u mnoha druhů atakovaných hub (Bomfim et al., 2015).

Studie Sousa et al. (2013) dokazuje, že esenci z *R. officinalis* lze využít jako prevenci proti posklizňovým patogenům *Aspergillus flavus* a *A. niger* na hroznovém víně. Při aplikaci oleje na plody se oddálí infekce a zároveň sníží množství napadených plodů. V kombinaci se silicí z *Origanum vulgare* dojde k synergickému efektu. Díky tomu se zvýší účinnost při nižší koncentraci obou esencí.

Insekticidní vliv esence z *R. officinalis* byl prokázán na *Ectomyelois ceratoniae* (zavíječ datlový). Olej vykazuje vůči němu ovicidní, larvicidní i adulticidní aktivitu (Amri et al., 2014).

Mezi další testovaný hmyz patří *Periplaneta americana* (šváb americký). Vůči rozmarýnovému oleji bylo nejcitlivější 1. stadium nymfy, méně citlivé 4. stadium nymfy, přičemž nejnižší mortalita se projevila u dospělců (Sharawi et al., 2013).

Olej z *R. officinalis* se vyznačuje i svými alelopatickými schopnostmi. Ty byly potvrzeny ve vědecké práci na plevelných rostlinách: *Eleusine indica* (kalužnice indická), *Cynodon dactylon* (troskut prstnatý) a *Digitaria sanguinalis* (rostnička krvavá). Vodní výluh z čerstvých, či sušených částí rozmarýny nebo přímo silice dokázaly potlačit klíčení semen a růst klíčících rostlin (Chen et al., 2013b).

3.2.11 *Thymus vulgaris* L.

Je známo 7 chemotypů tymiánu, které se od sebe liší ve složení sekundárních metabolitů. Každý z nich se vyznačuje jinou dominantní složkou. Mezi dominantní látky patří: thymol, karvakrol, linalool, geraniol, sabinen-hydrát, α -terpineol

nebo cineol (=eukalyptol). Takové chemotypy pak mohou být označeny jako *Thymus vulgaris* ct. *thymol*, *Thymus vulgaris* ct. *geraniol* apod. (Keefover-Ring et al., 2009).

Například v esenciálním oleji z *Thymus vulgaris* ct. *thymol* byly hlavními složkami oleje thymol (57,7 %), p-cymen (18,7 %) a karvakrol (2,8 %). Ostatní látky byly přítomny v množství menším než 2 % (Rota et al., 2008).

Tymián se řadí mezi byliny s nejvyšším fungicidním a antibakteriálním účinkem. Odborníci se v jednotlivých pracích shodují, že tento účinek je způsoben vysokým obsahem thymolu, karvakrolu nebo i kafru (Bouchra et al., 2003; Soković et al., 2009).

Vyšší koncentrace hlavní složky nutně neznamená lepší inhibiční vlastnosti. Například je prokázán synergismus mezi karvakrolem a jeho prekurzorem p-cymenem. Ukázalo se, že p-cymen je sice velmi slabá antibakteriální složka, ale je schopna narušit strukturu bakteriální buněčné membrány. Takto zajistí snadný vstup karvakrolu do protoplastu, který buňku zničí. Karvakrol také spolupůsobí s thymolem (Rota et al., 2008).

Soković et al. (2009) zkoušeli fungicidní aktivitu oleje z *T. vulgaris* na 17 druzích hub, na původce živočišných a rostlinných chorob i patogeny znehodnocující potraviny. Esence úspěšně inhibovala růst mycelia *Alternaria alternata*, *Fusarium tricinctum*, *Phomopsis helianthi*, *Cladosporium cladosporioides* a všech druhů *Aspergillus* spp. (*A.niger*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, *A. terreus*, *A. flavus*), zato druhy *Penicillium* spp. (*P. ochrochloron*, *P. funiculosum*) a *Trichoderma viride* vlivu oleje více odolávaly.

K podobným výsledkům došely Kumar et al. (2008), kteří testovali olej z tymiánu na *Aspergillus flavus*, *A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata*, *Alternaria alternata*, *Botryodiplodia theobromae*. Jejich práce uvádí, že tento esenciální olej má natolik silný účinek, že předčí mnohé syntetické fungicidy.

Hassani et al. (2012) zkoušeli tuto esenci proti houbám *Monilinia fructicola* a *Botrytis cinerea*, které se často vyskytují na peckovinách. Do pokusu byly vybrány meruňky, které byly naočkovány příslušnými sporami, poté se ošetřily esencí tymiánu o různých koncentracích. Růst mycelia byl blokován u obou patogenů, avšak v případě *M. fructicola* byla inhibice daleko intenzivněji než u *B. cinerea*.

To potvrzuje Camele et al. (2012) ve své práci, kde thymol kromě patogenu *B. cinerea* také blokuje růst *Penicillium italicum*, a navíc společně s karvakrolem *Penicillium expansum*.

Esenciální olej z *T. vulgaris* zabraňuje také tvorbě mykotoxinů, například aflatoxin B₁ houbou *A. flavus* (Kumar et al., 2008).

Antibakteriální aktivita oleje z tymiánu působí proti širokému spektru bakterií, avšak v porovnání s fungicidními účinky je ochranný efekt slabší. Toxicita proti grampozitivním bakteriím byla zaznamenána například u *Bacillus cereus* nebo *Staphylococcus aureus*. Proti gramnegativním bakteriím je účinnost daleko nižší, avšak přesto potlačuje množení *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi* nebo *Klebsiella pneumoniae* (Al-Bayati, 2008).

Millezi et al. (2012) testovali toxicitu tří esencí proti bakteriím: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*. Baktericidní vlastnosti esence z *T. vulgaris* se sice potvrdily, ale oproti *Cymbopogon citratus* byla intenzita jejího vlivu mnohem nižší.

Esence také vykazovala silný antibakteriální účinek proti *Erwinia amylovora* (Karami-Osboo et al., 2010).

V oleji z *T. vulgaris* se také skrývá potenciál botanického insekticidu. Pokusy účinnosti tymiánového oleje na *Trichoplusia ni* (kovolessklec cizokrajný) v 3. instaru dopadly úspěšně, a to v případě kontaktní i požerové aplikace (Jiang et al., 2012).

Velice dobře účinkuje i proti plošticí *Nezara viridula*. Mortalita byla zpozorována ve všech stádiích vývoje, avšak 2. instar byl nejcitlivější. Osvědčil se jak v podobě fumigantu, tak i v kontaktní formě (González et al., 2011).

4 Metodika

V tomto experimentu byl sledován účinek esenciálních olejů vybraných aromatických bylin na houbové patogeny *in vitro* pěstovaných na živných médiích v Petriho miskách. V první fázi byl monitorován růst mycelia při 0,1% koncentraci esence a srovnáván s kontrolní variantou. Následně byly vybrány esence s nejlepší inhibiční aktivitou vůči konkrétním patogenům. U těchto esencí byla v druhé fázi experimentu hledána minimální inhibiční koncentrace (MIC), která byla dostud schopná zabránit růstu mycelia.

4.1 Použité chemikálie a laboratorní přístroje

Pro izolaci a inkubaci patogenů byl vybrán bramboro-dextrózový agar (PDA), který byl připraven v autoklávu. Esenciální oleje byly zakoupeny od firmy Saloos. Pro rozpuštění a rovnoměrné rozptýlení olejů v agaru byly esenciální látky míchány s rozpouštědlem dimethylsulfoxidem (DMSO). Očkování patogenů bylo prováděno ve flow boxu, k inkubaci a kultivaci byl využit termostat. Izoláty se uchovávaly na agaru v Petriho miskách o průměru 6 cm, zatímco pro samotný pokus byly použity Petriho misky o průměru 9 cm.

4.2 Izolace patogenů

Izoláty *Botrytis cinerea* BC-Z1, BC-Z2, BC-Z 15/1, BC-Z 15/2 byly získány z hlávkového zelí (sklad zeleniny - Semice). Izoláty *Botrytis cinerea* BC-P1, BC-P2 byly odebrány z papriky (obchodní řetězec) a izolát BC-R byl opatřen z VÚRV. Izoláty *Sclerotinia sclerotiorum* SS-M1 a SS-M2 byly zajištěny z mrkve (sklad zeleniny - Semice).

Z napadených pletiv byly pomocí sterilní jehly odebrány konidiofory houby (*B. cinerea*) a hyfy (*S. sclerotiorum*) a přeneseny na živné médium PDA do Petriho misek. Takto připravené izoláty byly uloženy do termostatu a inkubovány při teplotě 20 °C.

Izoláty *Alternaria solani* AS-5, AS-7, AS-9 byly získány z listů bramboru (pole-Semice) a izoláty *Stromatinia cepivora* (SC-1, SC-2, SC-3) z česneku (pole - Semice). Z listu bramboru bylo vystříhnuto pletivo s nekrotickou lézí, u česneku bylo opatřeno pletivo se sklerociemi 5 krát 5 mm, následně povrchově sterilizováno 20% savem po dobu 30 minut a třikrát opláchnuto v ddH₂O. Poté co bylo pletivo osušeno na sterilním filtračním papíře, bylo položeno spodní stranou na agar do Petriho misky. Během inkubace v termostatu při teplotě okolo 20 °C se mycelium rozrostlo po okolním pletivu. To pak mohlo být přeočkováno na jiný agar.

4.3 Stanovení fungicidní aktivity esenciálních látek

V prvním kroku experimentu byla zjišťována fungicidní účinnost esencí z těchto bylin: *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus citriodora*, *Foeniculum vulgare*, *Litsea cubeba*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Pimpinella anisum*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* jednotlivě proti těmto patogenům: *B. cinerea*, *S. sclerotiorum*, *S. cepivora*, *A. solani*. Vliv esence na patogen byl sledován při 0,1% koncentraci konkrétní esence, která byla rozpuštěna v DMSO v poměru 1:1.

V první řadě bylo připraveno živné médium PDA dle návodu, který byl uveden výrobcem na obalu. 39 gramů agarů bylo rozpuštěno v 1000 ml destilované vody. Poté byl agar promíchán a sterilizován při 121 °C po dobu 20 minut v autoklávu. Následující úkony byly již prováděny ve flow boxu. Zde se nejprve do zchlazeného agarů (přibližně na 50 °C) přidala esence s DMSO, dále byl agar rozlit rovnoměrně do Petriho misek o průměru 9 cm. Jakmile agar dostatečně ztuhl, bylo z izolátů přeočkováno mycelium určitého patogenu sterilní jehlou do pokusných Petriho misek ve třech opakováních. Na konci byly Petriho misky řádně utěsněny parafilmem a vloženy do termostatu s nastavenou teplotou 20 °C. Po určité době inkubace v termostatu byl nárůst mycelia srovnán s kontrolní variantou, která obsahovala pouze DMSO (0,1% koncentrace). Doba inkubace závisela na rychlosti růstu houbového patogenu na kontrolní variantě, v případě *B. cinerea* a *S. sclerotiorum* 7 dní, *S. cepivora* 10 dní a *A. solani* 21 dní.

4.4 Stanovení minimální inhibiční koncentrace esenciálních olejů (MIC)

Do této fáze experimentu byly vybrány ty esenciální látky, které projevíly 100% inhibiční účinek při 0,1% koncentraci k daným patogenům. U těchto esencí byla hledána MIC dle koncentrační řady, která je zobrazena v tabulce č. 1. V závislosti na koncentraci se měnil podíl esence a DMSO. Pokud se koncentrace snížila, klesl i podíl esence a vzrostl podíl DMSO.

Tabulka 1: Koncentrační řada pro 1000 ml agarů

Koncentrace (%)	0,05	0,025	0,0125	0,00625	0,003125
EO (μl)	500	250	125	62,5	31,25
DMSO (μl)	1500	1750	1875	1937,5	1968,75

Jakmile byla provedena kultivace patogenů pro základní koncentrační řadu, byly určeny další 3 mezistupně koncentrace, které se nacházely mezi poslední účinnou a první neúčinnou koncentrací.

Př.: Pokud byla patrná 100% inhibice při koncentraci 0,05 %, ale koncentrace 0,025 % již neúčinkovala, byla hledána koncentrace na dalších mezistupních základní koncentrační řady, tj. v tomto případě 0,04375 %, 0,0375 % a 0,3125 %.

4.5 Vyhodnocení pokusů

Po inkubační době byly změřeny 2 průměry (d) kolonie mycelia pokusného vzorku a 2 průměry kolonie mycelia kontroly v jednotkách cm. Následně byly tyto hodnoty dosazeny do vzorce pro výpočet inhibice růstu (IR) v %.

$$IR = 100 - \left\{ \frac{[(d_1 + d_2)/2]}{[(d_{k1} + d_{k2})/2]} \times 100 \right\}, \text{ kde}$$

d_1, d_2 = průměr narostlé kolonie pokusné varianty

d_{k1}, d_{k2} = průměr narostlé kolonie kontrolní varianty

4.6 Zpracování výsledků

Výsledné hodnoty byly zpracovány ve statistickém modelu – jednovýběrovém t-testu, který ověřil, zda inhibiční aktivita určité esence k danému fytopatogenu byla rovna 100 %. Podle tohoto kritéria byla stanovena nulová hypotéza (H_0): $\mu = \mu_0$, neboli $\mu = 100$ %. Zvolená hodnota hladiny významnosti (α) byla 0,05. Ta pak byla srovnávána s důležitým výstupním parametrem p-hodnotou. V případě, že

- p-hodnota > 0,05, pak byla H_0 přijata,
- p-hodnota < 0,05, pak byla H_0 zamítnuta.

Pokud všechny izoláty ve všech opakováních byly inhibovány ze 100 %, tedy jejich $\bar{x} = 100$ %, pak nebylo třeba takové hodnoty ověřovat t-testem. Již v tomto bodě bylo zřejmé, že podmínky jsou splněny. Esence, které vyhovovaly těmto podmínkám, byly použity do 2. fáze experimentu.

Ve 2. fázi byla hledána minimální koncentrace, která byla stále schopna zajistit 100% inhibici. Pro vyhodnocení získaných hodnot procentuální inhibice jednotlivých esencí vůči pozorovaným patogenům byl zvolen statistický test jednofaktorová ANOVA. Ten umožnil mezi sebou porovnat jednotlivé výběrové soubory. V tomto případě však šlo především o porovnání všech výběrových souborů se souborem 0,1% koncentrace, který byl již ověřen t-testem. Takto byly postupně otestovány soubory z celé koncentrační řady. Na konci statistického vyhodnocení tak bylo zřejmé, kterými koncentracemi lze docílit 100% inhibice a kterými ne. Hladina významnosti (0,05) byla opět porovnáována s p-hodnotou.

5 Výsledky

5.1 Stanovení fungicidní aktivity esenciálních látek

V první fázi experimentu byla zjišťována fungicidní aktivita esencí na fytopatogenních houbách při 0,1% koncentraci. K tomuto testu bylo použito pět izolátů *B. cinerea* (BC-Z1, BC-Z2, BC-P1, BC-P2, BC-R), tři izoláty *S. cepivora* (SC-1, SC-2, SC-3), tři izoláty *A. solani* (AS-5, AS-7, AS-9) a dva izoláty *S. sclerotiorum* (SS-M1, SS-M2). V případě, že některá z esencí neprokázala u dané houby 100% inhibici, nebyla na tomto patogenu již v další fázi zkoušena. Účinnost jednotlivých esencí na všech izolátech je zobrazena v tabulce č. 2. Průměrné hodnoty uvedené v tabulce slouží pouze pro orientaci, přesné výsledky spolu s fotografiemi lze nalézt v příloze.

Tabulka 2: Průměrná inhibice růstu mycelia (%) při 0,1% koncentraci

Patogen	Izolát	esenciální olej z rostliny								
		CW	EC	FV	LC	MS	PA	PG	RO	TV
BC	BC-R	100	37	100	100	100	100	100	20	100
	BC-Z1	100	6	74	100	100	7	100	0	100
	BC-Z2	100	7	100	100	100	100	100	32	100
	BC-P1	100	35	27	100	74	30	100	19	100
	BC-P2	100	0	42	100	36	45	100	18	100
AS	AS-5	84	43	5	89	87	25	100	10	100
	AS-7	100	38	4	93	100	34	71	18	100
	AS-9	48	32	31	72	46	32	35	32	100
SS	SS-M1	100	100	100	100	100	95	100	1	100
	SS-M2	100	100	93	100	100	78	100	2	100
SC	SC-1	100	13	78	100	100	100	100	75	100
	SC-2	100	100	31	100	87	100	100	48	100
	SC-3	100	8	50	100	100	100	100	19	100

Podle výsledků vyplývá, že izoláty *B. cinerea* byly velmi dobře inhibovány esencemi z *C. winterianus*, *L. cubeba*, *P. graveolens*, *T. vulgaris*. U všech vzorků dosahovala inhibice 100 %. Esenciální olej z *M. spicata* zcela blokovala růst mycelia 3 izolátů BC-R, BC-Z1, BC-Z2, v případě izolátů BC-P1 a BC-P2 došlo pouze k částečnému omezení růstu. Esenciální olej z *F. vulgare* a *P. anisum* potlačil ze 100 % růst izolátů BC-R a BC-Z1, na ostatní izoláty měl však minimální vliv. U izolátu BC-P2 se v případě těchto esencí projevil netypický růst mycelia (viz. příloha č. 26). Esence z *E. citriodora* a *R. officinalis* vykazují velice slabou inhibiční aktivitu proti *B. cinerea*.

Patogen *A. solani* byl oproti *B. cinerea* značně odolný vůči fungicidnímu vlivu esencí. Nejúčinnější esence byla z *T. vulgaris*, která zajistila 100% inhibici u všech izolátů. Určité omezení v růstu mycelia bylo zaznamenáno u esencí z *C. winterianus* a *M. spicata*. Izolát AS-7 byl jimi úplně potlačen a izolát AS-5 byl inhibován z více než 80 %. Inhibice pohybující se okolo 80 % byla dosažena i po aplikaci oleje z *L. cubeba*. V případě ostatních esencí nebyla zaznamenána významná fungicidní aktivita.

Proti houbě *S. sclerotiorum* byly úspěšné téměř všechny vybrané esence. Stoprocentní účinek byl zpozorován u esenciálního oleje z: *C. winterianus*, *E. citriodora*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. graveolens* a *T. vulgaris*, a to u všech izolátů a ve všech opakováních. U esence z *F. vulgare* byl naměřen mírný nárůst mycelia jen u jednoho vzorku izolátu SS-M2 (20 %). Přijatelných výsledků dosáhl i olej z *P. anisum*. Jako zcela neúčinná se projevila esence z *R. officinalis*.

Mycelium všech izolátů patogenu *S. cepivora* bylo ze 100 % inhibováno esencemi z *C. winterianus*, *L. cubeba*, *P. anisum*, *P. graveolens* a *T. vulgaris*. Podobně tomu bylo i u esence *M. spicata*, kde se výsledky od ostatních esencí lišily pouze v jednom vzorku (62 %). Esence *E. citriodora* způsobila 100% inhibici u izolátu SC-2, ale u zbylých dvou izolátů byla téměř neúčinná. Esenciální oleje z *F. vulgare* a *R. officinalis* se projevily mírnou fungicidní aktivitou.

Pro ověření výsledků, zda dané esence dosahují požadované inhibice (100 %), byla použita statistická metoda jednovýběrový t-test. Hodnota hladiny významnosti byla stanovena na 0,05. Výsledky podložené tímto testem posloužily jako kritérium pro výběr esencí do další fáze experimentu. Výstupy z jednovýběrového t-testu jsou znázorněny v tabulce č 3.

Tabulka 3: Výstupy jednovýběrového t-testu

Esence	Patogen			
	<i>B. cinerea</i>	<i>A. solani</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>S. cepivora</i>
CW	$\bar{x} = 100^a$	$p < 0,05^b$	$\bar{x} = 100^a$	$\bar{x} = 100^a$
EC	$p < 0,05^b$	$p < 0,05^b$	$\bar{x} = 100^a$	$p < 0,05^b$
FV	$p < 0,05^b$	$p < 0,05^b$	$p > 0,05^a$	$p < 0,05^b$
LC	$\bar{x} = 100^a$	$p < 0,05^b$	$\bar{x} = 100^a$	$\bar{x} = 100^a$
MS	$p > 0,05^a$	$p < 0,05^b$	$\bar{x} = 100^a$	$p > 0,05^a$
PA	$p < 0,05^b$	$p < 0,05^b$	$p < 0,05^b$	$\bar{x} = 100^a$
PG	$\bar{x} = 100^a$	$p < 0,05^b$	$\bar{x} = 100^a$	$\bar{x} = 100^a$
RO	$p < 0,05^b$	$p < 0,05^b$	$p < 0,05^b$	$p < 0,05^b$
TV	$\bar{x} = 100^a$	$\bar{x} = 100^a$	$\bar{x} = 100^a$	$\bar{x} = 100^a$

^a H_0 je potvrzena $\rightarrow \mu = 100\%$; ^b H_0 je zamítnuta $\rightarrow \mu \neq 100\%$

Na základě těchto výstupů je potvrzena 100% inhibiční aktivita vůči *B. cinerea* u esencí z následujících rostlin: *C. winterianus*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. graveolens*, *T. vulgaris*. Stoprocentní účinnost proti *A. solani* byla potvrzena pouze u *T. vulgaris*. Patogen *S. sclerotiorum* je ze 100 % inhibován esencemi z *C. winterianus*, *E. citriodora*, *F. vulgare*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. graveolens*, *T. vulgaris*. V případě houby *S. cepivora* byla nulová hypotéza potvrzena u esencí z *C. winterianus*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. anisum*, *P. graveolens* a *T. vulgaris*.

5.2 Stanovení MIC esenciálních olejů

5.2.1 *Botrytis cinerea* Pers. (1974)

Proti tomuto patogenu vykazovaly nejlepší fungicidní aktivitu esence z *C. winterianus*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. graveolens*, *T. vulgaris*.

Ve druhé části experimentu byly esence testovány podle základní koncentrační řady na izolátech BC-Z1, BC-Z2 a BC-R. Izoláty BC-P1 a BC-P2 byly z této fáze vyloučeny, jelikož v průběhu experimentu jejich vitalita značně klesla a nebyly schopny se rozmnožovat. Poté co byla stanovena inhibice všech esencí v celé koncentrační řadě proti daným izolátům, byly založeny vzorky pro mezistupně koncentrací. K tomu byly opět využity výše jmenované izoláty. Během testování ale došlo ke snížení jejich fitness, proto musely být do pokusu zařazeny nové izoláty BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2, které sloužily k ověření stávajících výsledků.

Podrobné výsledky včetně názorných fotografií z 2. části experimentu jsou uvedeny v příloze.

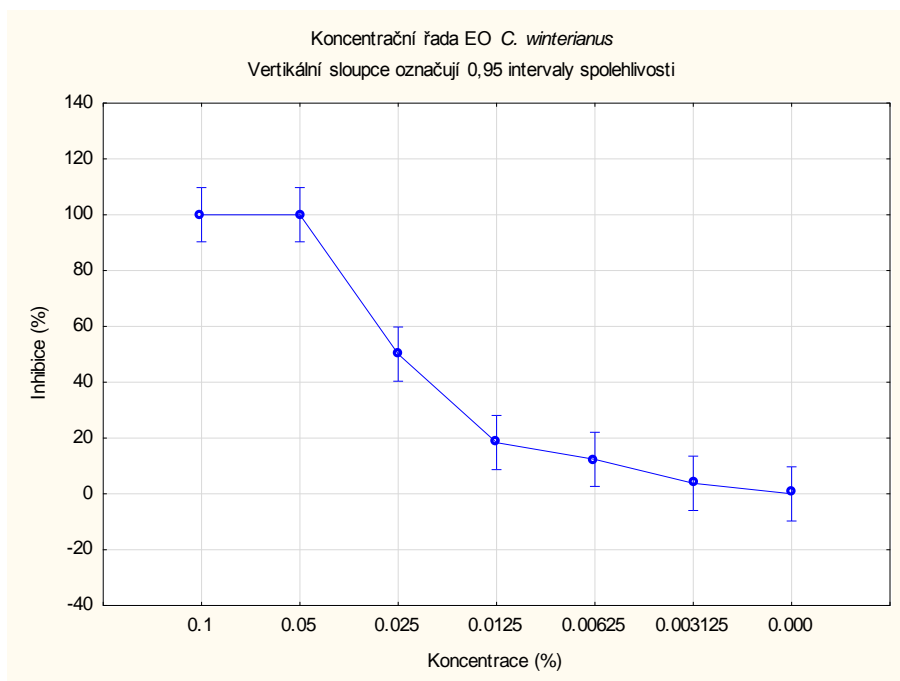
C. winterianus

Tato esence v základní koncentrační řadě dosáhla 100% inhibice při koncentraci 0,05 %, od této koncentrace ale začala účinnost značně klesat. Při 0,025 % byl růst mycelia blokováno pouze z 50 % a při 0,0125 % už jenom z 18,4 %. Vše je zobrazeno na obrázku č. 1.

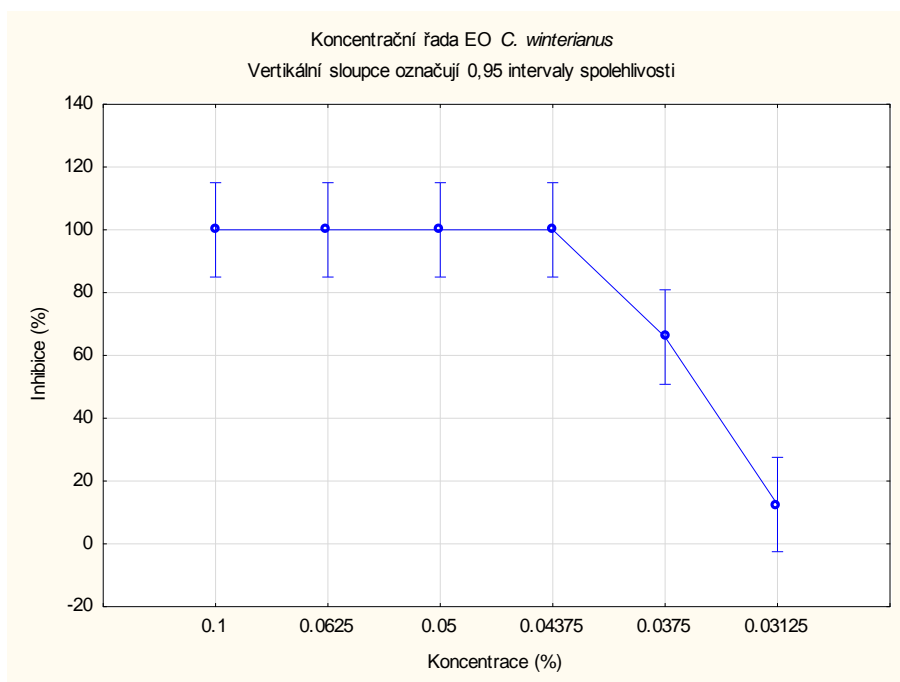
Na obrázku č. 2 je patrné, že izoláty BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2 byly testovány na koncentracích 0,1 %, 0,0625 %, 0,05 %, 0,04375 %, 0,0375 % a 0,03125 %. Absolutní inhibice byla naměřena při koncentracích 0,1 %, 0,0625 %, 0,05 %, a 0,04375 %. Varianta 0,0375 % účinkovala pouze na izolát BC-Z 15/1, na izolát BC-Z 15/2 měla slabý efekt. Esence při koncentraci 0,03125 % již postrádala inhibiční účinek.

Lze říci, že pro izoláty BC-Z1, BC-Z2 a BC-R platí MIC 0,05 %, nicméně na izolátech BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2 byla prokázána a statisticky ověřena 100% inhibice při 0,04375 %. Podle všeho ji tedy můžeme označit za MIC pro esenci z *C. winterianus*.

Obrázek 1: Koncentrační řada esence z *C. winterianus* vůči izolátům BC-Z1, BC-Z2 a BC-R



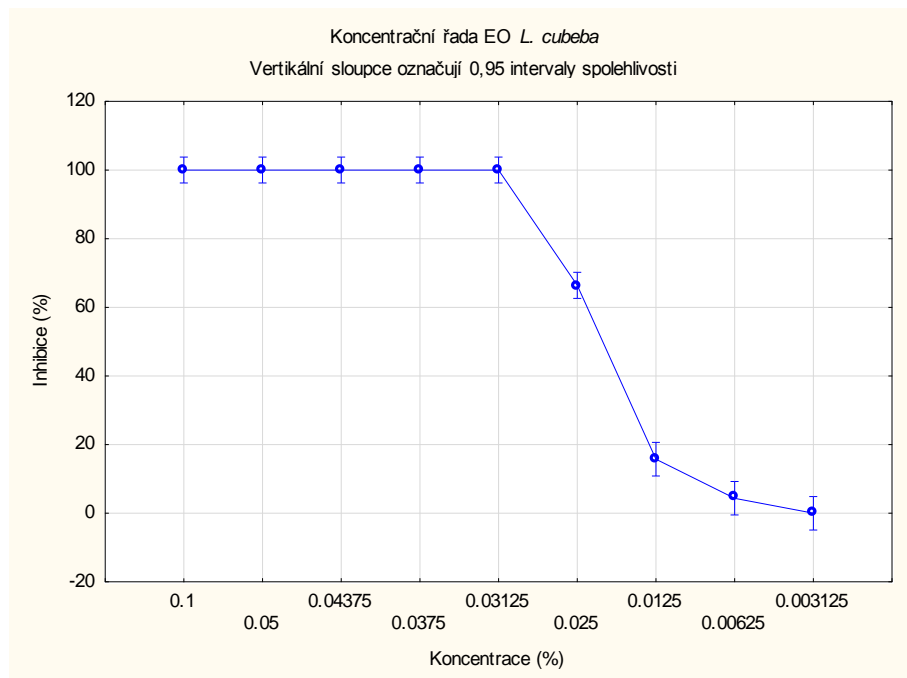
Obrázek 2: Koncentrační řada esence z *C. winterianus* aplikovaná na izoláty BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2



L. cubeba

Esence z *L. cubeba* stejně jako v případě *C. winterianus* byla v základní koncentrační řadě úspěšná při koncentraci 0,05 %, při koncentraci 0,025 % již došlo ke snížení inhibice na 67,5 %. MIC byla tedy hledaná mezi 0,05 % a 0,025 %, k tomu byly použity izoláty BC-Z1, BC-Z2 a BC-R . Koncentrace 0,1 %, 0,05 %, 0,04375 %, 0,0375 %, 0,03125 % a 0,025 %, byly zkoušeny i na izolátech BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2. Na základě těchto pokusů a statistického vyhodnocení lze nakonec říci, že koncentrace 0,05 %, 0,04375 %, 0,0375 % a 0,03125 % kompletně zamezily růst mycelia u všech izolátů. Pro všechny izoláty tedy platí, že MIC je 0,03125 %. Výsledky inhibiční reakce zmiňovaných koncentrací vůči izolátům *B. cinerea* jsou zobrazeny na obrázku č. 3.

Obrázek 3: Koncentrační řada esence z *L. cubeba* vůči všem izolátům patogenu *B. cinerea*

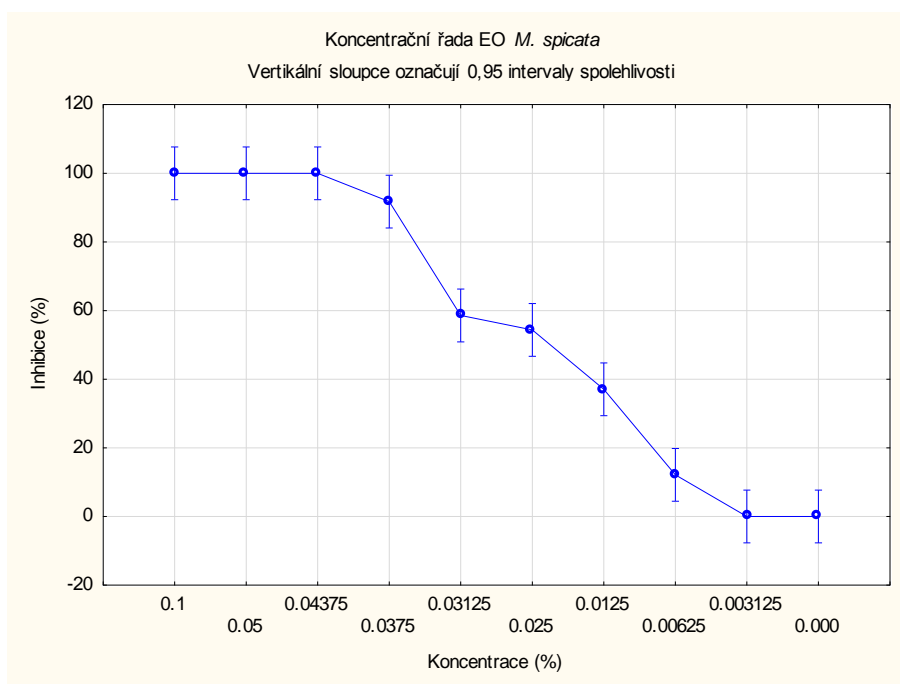


M. spicata

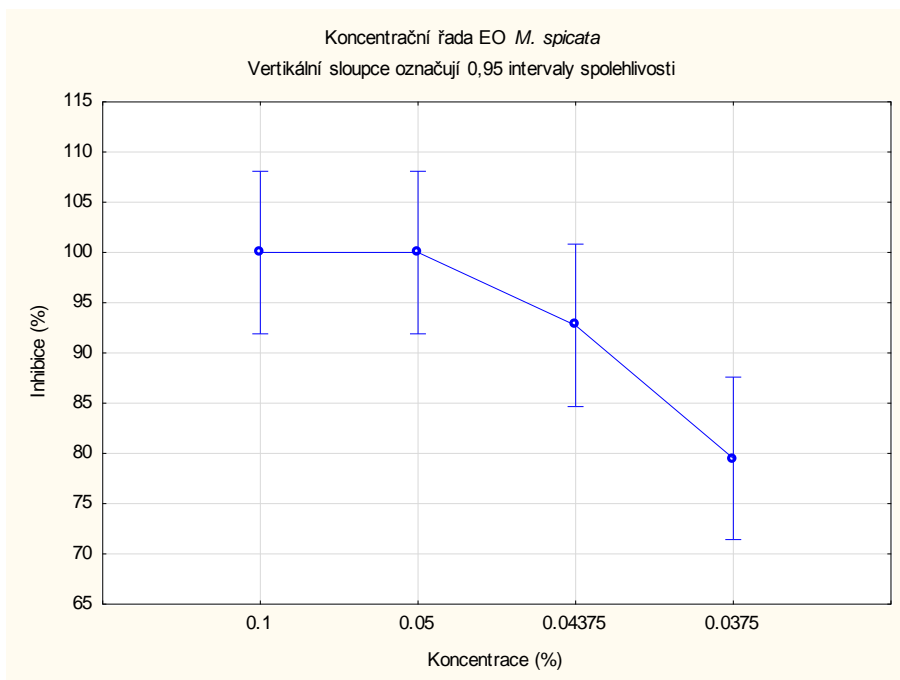
Stejně jako předchozí esence i tato účinně blokovala růst mycelia izolátů BC-Z1, BC-Z2 a BC-R v základní koncentrační řadě pouze při 0,05 %. Koncentrace 0,025 % neprokázala žádný významný vliv. V následujícím kroku byly tyto izoláty testovány při koncentracích 0,04375 %, 0,0375 % a 0,03125 %. Koncentrace 0,04375 % dosáhla ve všech vzorcích 100 % inhibice. Varianta 0,0375 % zabránila růstu izolátů BC-Z2 a BC-R. U izolátu BC-Z1 byla tato koncentrace méně úspěšná, přesto její vliv nebyl zanedbatelný (75,3 % inhibice). Při koncentraci 0,03125 % byla naměřena průměrná inhibiční hodnota 58,6 %. Vliv jednotlivých koncentrací proti těmto izolátům je znázorněn na obrázku č. 4.

Koncentrace 0,1 %, 0,05 %, 0,04375 % a 0,0375 % byly pro kontrolu zkoušeny na izolátech BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2 (viz obrázek č. 5). Účinnost variant 0,1 % a 0,05 % byla potvrzena. V případě koncentrace 0,04375 % byl izolát BC-Z 15/1 také inhibován ze 100 %, nicméně u izolátu BC-Z 15/2 byla účinnost nižší, v průměru 85,5 % inhibice. Varianta 0,0375 % měla rovněž významný vliv na pozorované izoláty, avšak dle statistického testu nebyla dostačující. Poslední koncentraci, kterou test ANOVA vyhodnotil jako účinnou ze 100 % proti všem izolátům, byla koncentrace 0,04375 %.

Obrázek 4: Koncentrační řada esence z *M. spicata* aplikovaná na izoláty BC-Z1, BC-Z2 a BC-R



Obrázek 5: Koncentrační řada esence z *M. spicata* aplikovaná na izoláty BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2

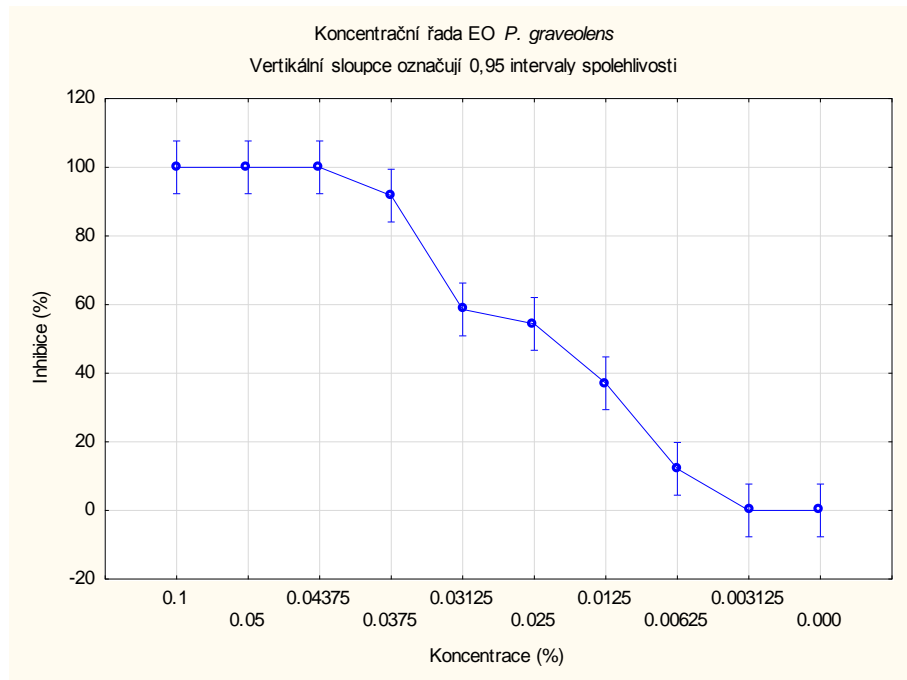


P. graveolens

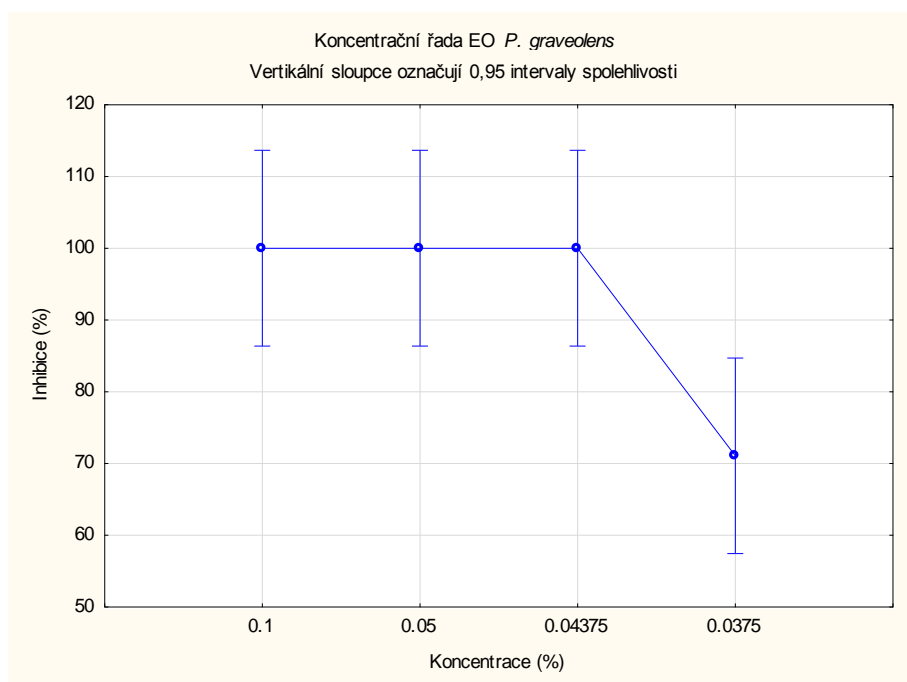
Esence z této rostliny v případě izolátů BC-Z1, BC-Z2 a BC-R prokázala 100% účinnost při první variantě ředění (0,05 %). Při koncentraci 0,025 % byl u izolátu BC-R zamezen růst ze 100 %. U izolátu BC-Z2 byla zaznamenána 100% inhibice ve dvou opakováních, ale ve 3. vzorku bylo naměřeno pouze 54,7 % inhibice. Na izolát BC-Z1 neměla esence tak zásadní vliv. Byla tedy provedena zkouška s koncentracemi 0,04375 %, 0,0375 %, 0,03125 %. Koncentrace 0,04375 % a 0,0375 % zcela potlačily růst izolátu BC-R a BC-Z2, ale na izolátu BC-Z1 se projevila nízká inhibice. Podobně tomu bylo i při koncentraci 0,03125 %, avšak v případě izolátu BC-Z2 byl jeden vzorek inhibován pouze z 56,5 %. Výsledky inhibice esence z *P. graveolens* vůči těmto izolátům dokládá graf na obrázku č. 6.

Izoláty BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2 byly testovány při koncentracích 0,1 %, 0,05 %, 0,04375 %, 0,0375 % (viz obrázek č. 7). Koncentrace 0,1 %, 0,05 %, 0,04375 % naprosto zabránily růstu mycelia u obou izolátů. Při koncentraci 0,0375 % byla účinnost esence nedostatečná. Varianta 0,04375 % je statisticky ověřená MIC pro všechny zkoušené izoláty.

Obrázek 6: Koncentrační řada esence z *P. graveolens* vůči izolátům BC-Z1, BC-Z2 a BC-R



Obrázek 7: Koncentrační řada esence z *P. graveolens* vůči izolátům BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2

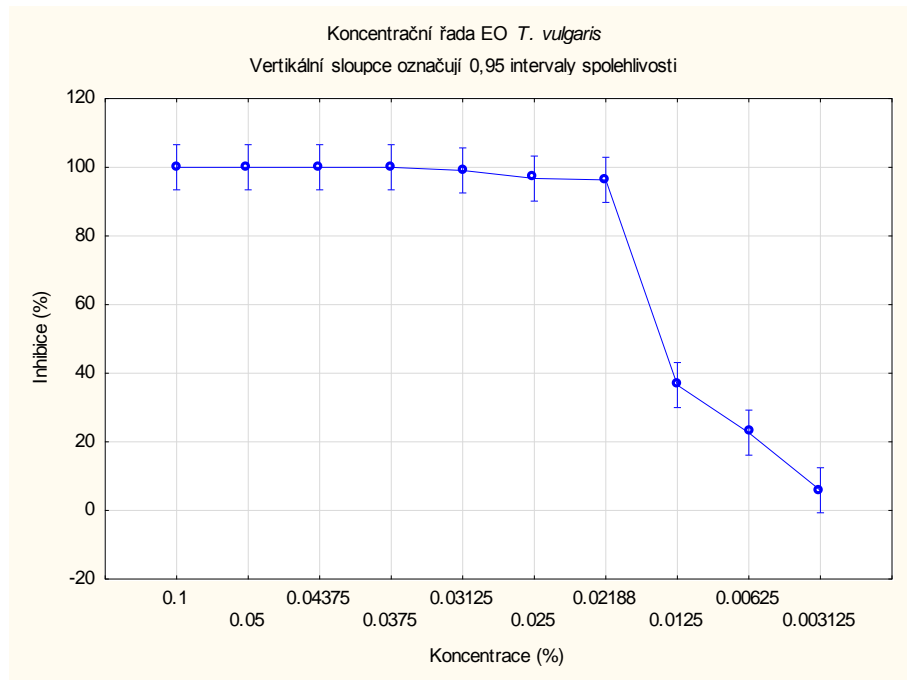


T. vulgaris

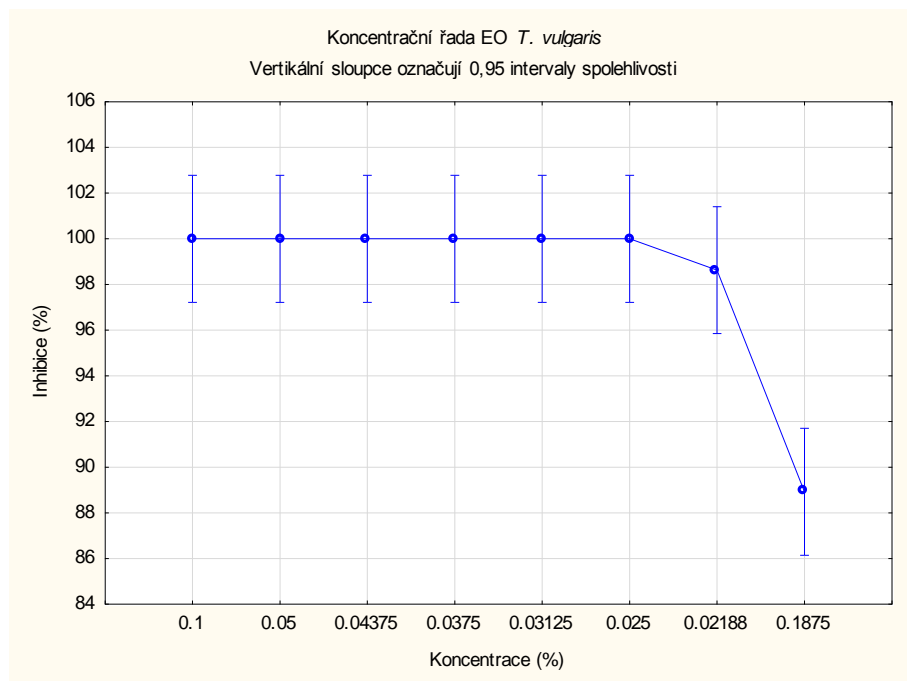
Na obrázku č. 8 je vidět, že tento esenciální olej zcela inhiboval izoláty BC-Z1, BC-Z2 a BC-R při variantách ředění 0,05 % a 0,025 %. U varianty 0,025 % byl v jednom vzorku izolátu BC-Z1 zpozorován drobný nález mycelia, zřejmě se však jedná o odchylku. Při hledání MIC byly testovány koncentrace 0,04375 %, 0,0375 %, 0,03125 % a 0,02188 %. Stoprocentní účinnost byla zaznamenána u variant 0,04375 % a 0,0375 %. Podobného výsledku bylo dosaženo při 0,03125 %, tam ale došlo k jedné odchylce u izolátu BC-Z1. Koncentrace 0,02188 % výborně působila na izoláty BC-Z2 a BC-R (100 % inhibice), ale u izolátu BC-Z1 mírně narostlo mycelium, čímž byl snížen průměr inhibice na 89 %.

Účinky těchto koncentrací byly potvrzeny i na izolátech BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2. Na těchto izolátech byla vyzkoušena i nižší varianta ředění 0,01875 %, která v průměru dosáhla 88,9 % inhibice. Dle statistického programu byla koncentrace 0,02188 % vyhodnocena pro všechny izoláty jako MIC. Účinky celé koncentrační řady jsou uvedeny na grafu (obrázek č. 9).

Obrázek 8: Koncentrační řada esence z *T. vulgaris* vůči izolátům BC-Z1, BC-Z2 a BC-R



Obrázek 9: Koncentrační řada esence z *T. vulgaris* vůči izolátům BC-Z 15/1 a BC-Z 15/2

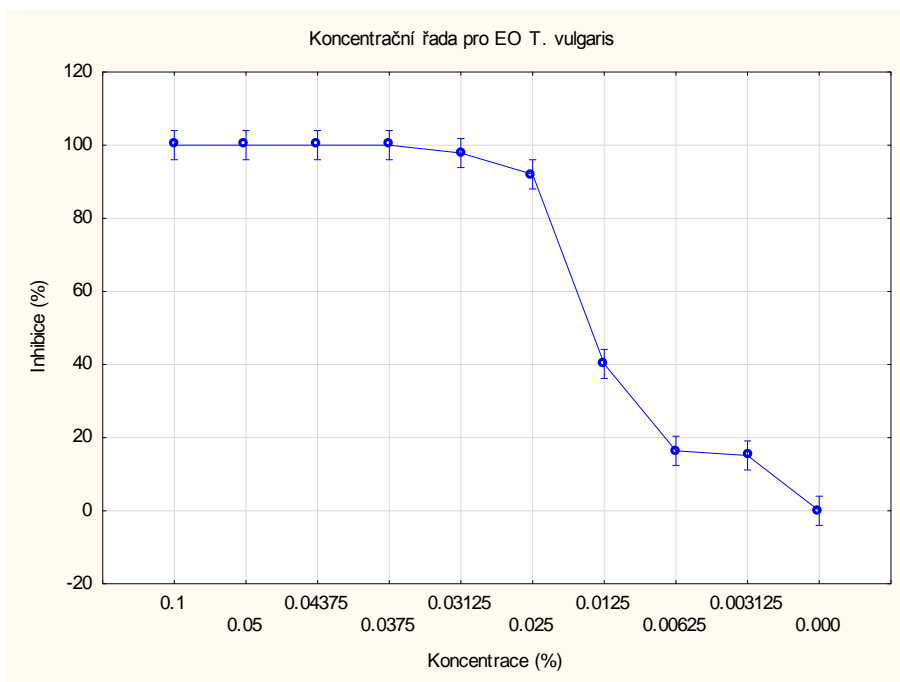


5.2.2 *Alternaria solani* Sorauer (1896)

T. vulgaris

Proti patogenu *A. solani* byla v první části pokusu úspěšná pouze esence z *T. vulgaris*. Jak je patrné z následujícího grafu (obrázek č. 10), silná fungicidní aktivita byla zaznamenána i při koncentracích 0,05 %, 0,04375 %, 0,0375 %. Tato esence si udržela relativně vysokou účinnost i při koncentraci 0,03125 %, při níž byla naměřena průměrná inhibice 97,8 %. Podle statistického testu ANOVA lze tuto koncentraci považovat za účinnou ze 100 %, koncentrace 0,025 % se již od této hodnoty liší, přesto vykazuje poměrně silný účinek (92 % inhibice). Na základě toho lze 0,03125 % označit jako minimální inhibiční koncentraci. Podrobné výsledky včetně názorných fotografií z této části experimentu jsou uvedeny v příloze.

Obrázek 10: Koncentrační řada esence z *T. vulgaris* vůči patogenu *A. solani*



5.2.3 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (1884)

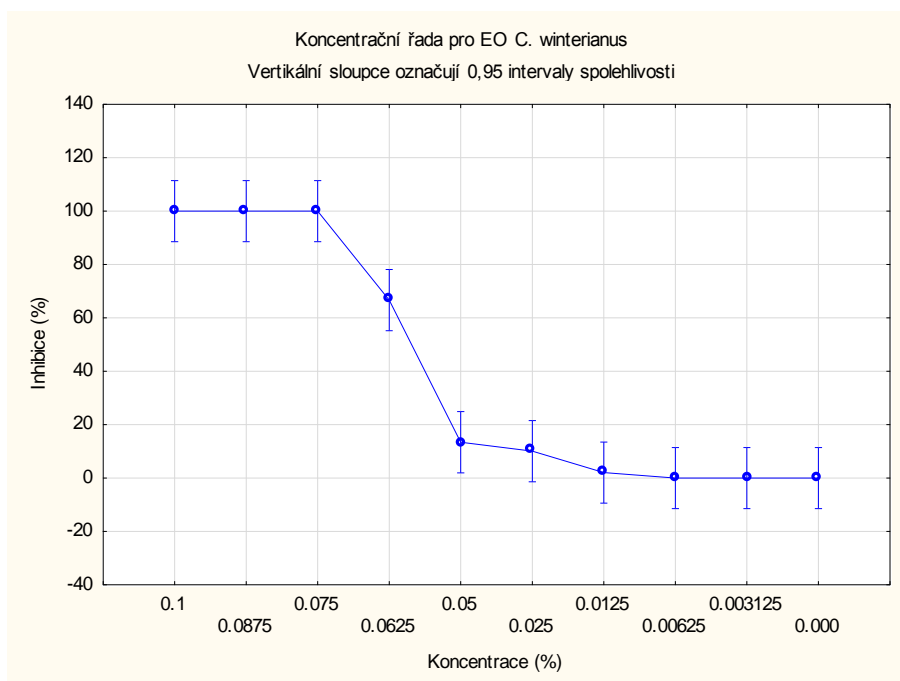
Mezi rostliny, u jejichž esencí byla prokázána antimykotická aktivita vůči houbě *S. sclerotiorum*, se řadí *C. winterianus*, *E. citriodora*, *F. vulgare*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. graveolens* a *T. vulgaris*.

V příloze jsou uvedeny tabulky a několik doprovodných fotografií, které podrobně popisují interakci mezi esencemi a patogenem *S. sclerotiorum* v 2. části experimentu.

C. winterianus

Při hledání inhibiční aktivity v základní koncentrační řadě bylo patrné, že esence při 0,05 % vykazuje velmi slabý účinek, přičemž při nižších koncentracích nebyl zpozorován téměř žádný efekt. Z tohoto důvodu byla MIC hledána mezi 0,1 % a 0,05 %. Při koncentraci 0,0875 % a 0,075 % byla naměřena u všech vzorků 100% inhibice. Koncentrace 0,0625 % úplně zamezila růst mycelia izolátu SS-M2, nicméně inhibiční účinky vůči izolátu SS-M1 byly minimální. Z těchto poznatků lze koncentraci 0,075 % považovat za MIC, což bylo potvrzeno i statistickým testem. Výsledky jsou zobrazeny na obrázku č. 11.

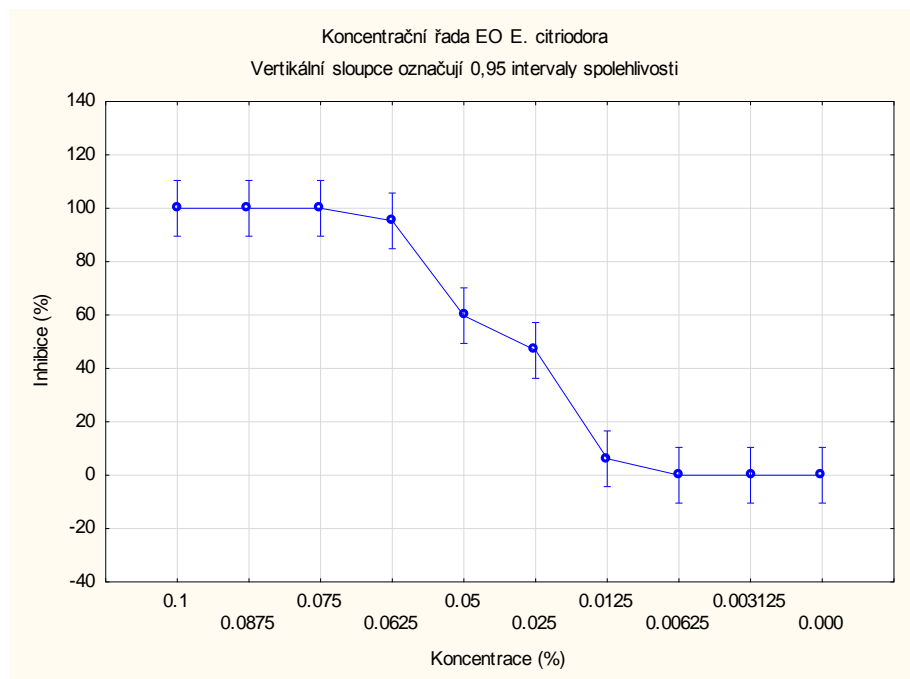
Obrázek 11: Koncentrační řada esence z *C. winterianus* vůči patogenu *S. sclerotiorum*



E. citriodora

Eukalyptový olej při snížené koncentraci 0,05 % vykazoval slabou fungicidní aktivitu (59,8 %). MIC byla hledána mezi koncentracemi 0,1 % a 0,05 %. Koncentrace 0,0875 % a 0,075 % působily u obou izolátů ze 100 %. Podobně tomu bylo i při koncentraci 0,0625 %, s výjimkou jednoho vzorku izolátu SS-M1, u kterého byla naměřena 71,8 % inhibice. I přes tuto odchylku byla varianta 0,0625 % vyhodnocena statistickým programem jako účinná ze 100 %, proto ji lze pro tuto esenci označit za MIC. Inhibiční aktivita koncentrační řady této esence je znázorněna na obrázku č. 12.

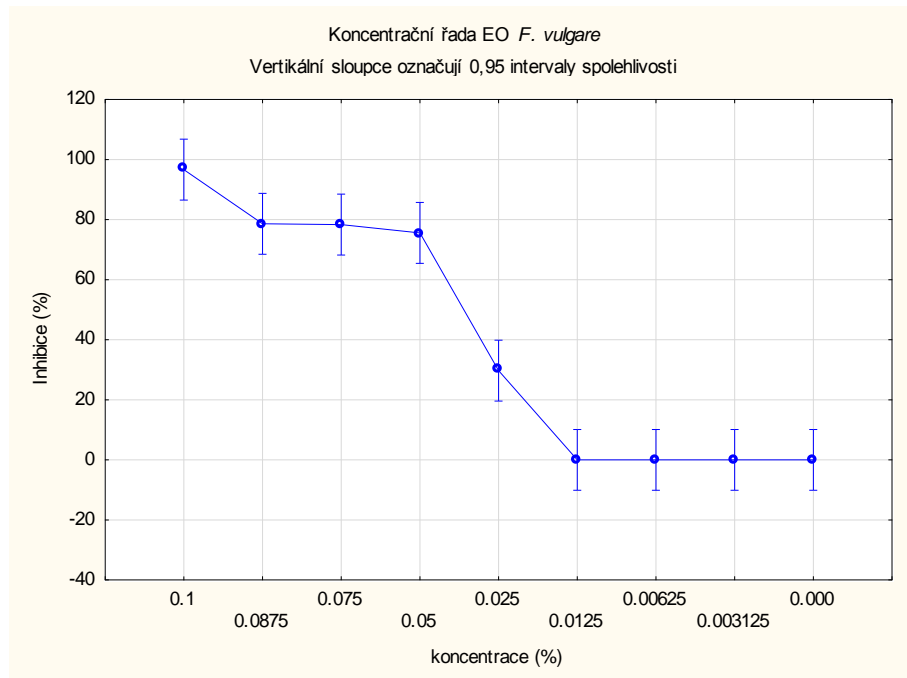
Obrázek 12: Koncentrační řada esence z *E. citriodora* vůči patogenu *S. sclerotiorum*



F. vulgare

Graf (obrázek č. 13) ukazuje, že u této esence klesla účinnost již při 1. variantě ředění, a to z 96,7 % na 75,6 %. Proto byla zkoušena při vyšších koncentracích 0,0875 % a 0,075 %. I zde nebyl zaznamenán 100% účinek. U obou koncentrací bylo dosaženo téměř stejné hodnoty inhibice 78,6 % a 78,3 %. Ve statistickém testu nebyla potvrzena shoda těchto variant s koncentrací 0,1 %, proto pro olej z fenyklu platí MIC 0,1 %.

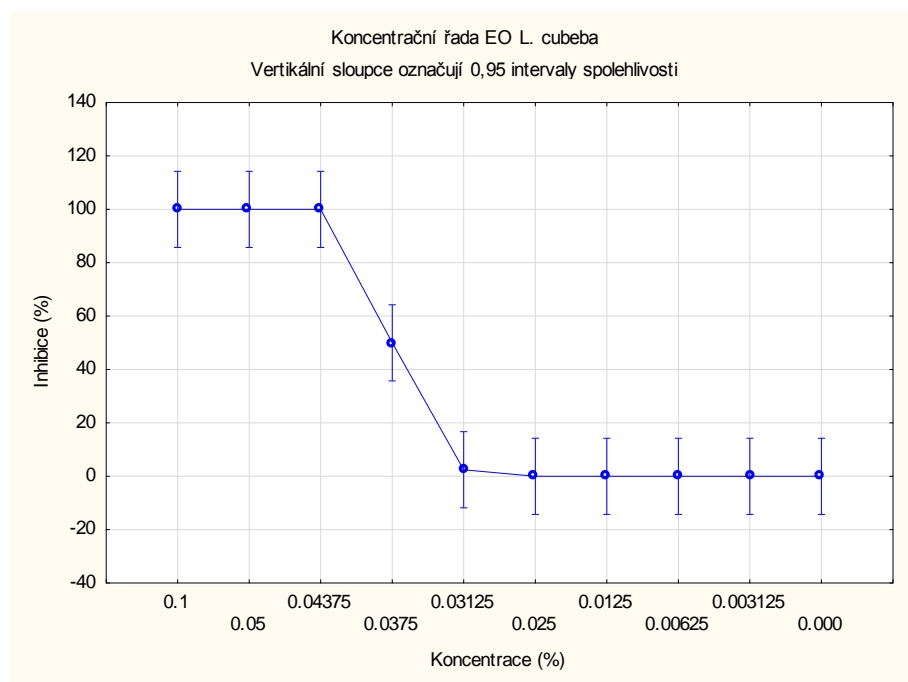
Obrázek 13: Koncentrační řada esence z *F. vulgare* vůči patogenu *S. sclerotiorum*



L. cubeba

V případě esence z *L. cubeba* byla zřejmá velmi ostrá hranice účinku. Na základní koncentrační řadě byl mezi koncentracemi 0,05 % a 0,025 % zaznamenán pokles inhibice ze 100 % rovnou na 0 %. Koncentrace 0,04375 % zajistila 100% mortalitu ve všech vzorcích, ale esence při koncentraci 0,0375 % byla úspěšná ze 100 % pouze u izolátu SS-M1, naopak izolát SS-M2 nebyl esencí nijak ovlivněn. Z grafu (obrázek č. 14) i z testu ANOVA je evidentní, že MIC je 0,04375 %.

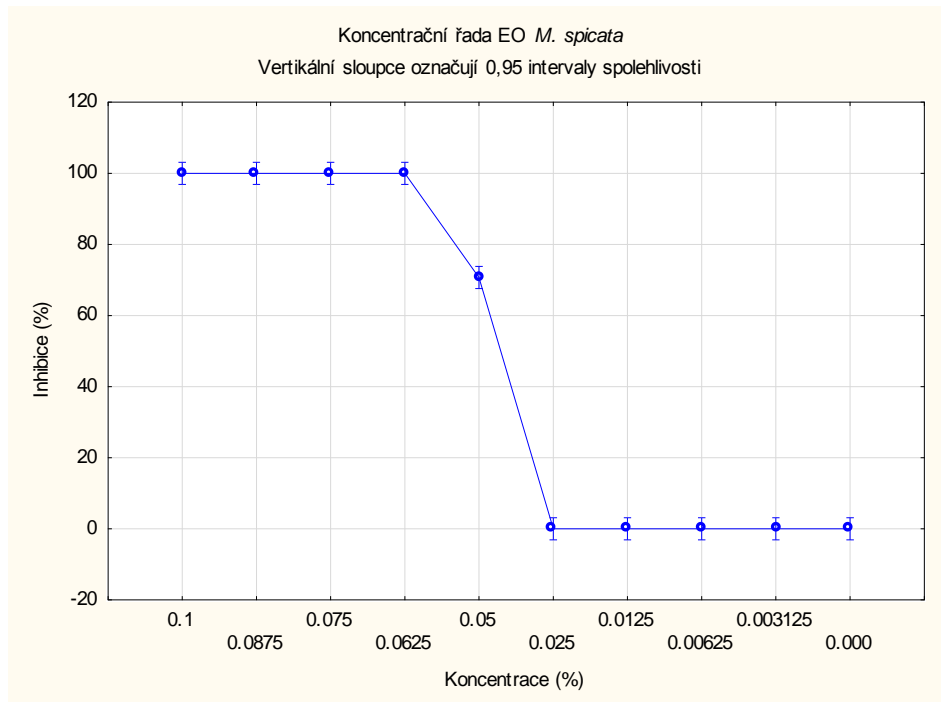
Obrázek 14: Koncentrační řada esence z *L. cubeba* vůči patogenu *S. sclerotiorum*



M. spicata

Jak je patrné z grafu (obrázek č. 15), při koncentraci 0,05 % bylo inhibováno 70,7 % růstu mycelia, proto byly izoláty testovány na koncentracích 0,0875 %, 0,075 % a 0,0625 %. Všechny tyto koncentrace vykazovaly 100% fungicidní aktivitu. Z grafu i ze statistické analýzy vyplývá, že varianta 0,0625 % je v tomto případě MIC. Od koncentrace 0,025 % nebyly zpozorovány žádné známky blokace růstu.

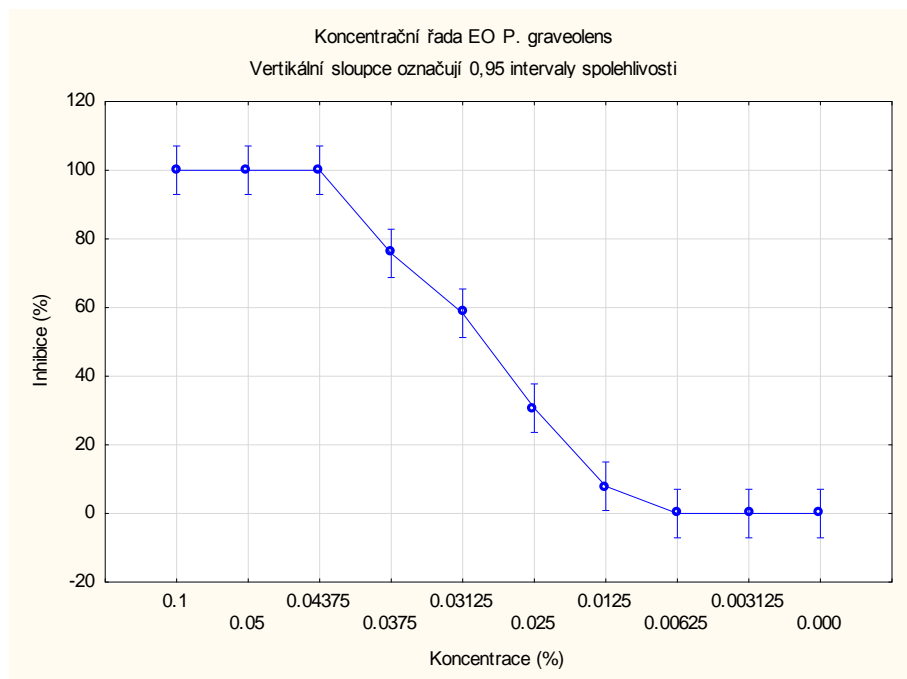
Obrázek 15: Koncentrační řada esence z *M. spicata* vůči patogenu *S. sclerotiorum*



P. graveolens

Tato esence vykazovala 100 % účinnost v základní koncentrační řadě při koncentraci 0,05 %, ovšem při 0,025 % prudce klesla na průměrnou hodnotu 30,7 %. Pro stanovení MIC byly určeny další tři koncentrace, které se nacházely v rozmezí 0,05 % a 0,025 %. K zamezení růstu mycelia všech vzorků došlo pouze při koncentraci 0,04375 %, při koncentracích 0,0375 % a 0,03125 % již fungicidní efekt slábl. Dle výsledků statistického programu je jasné, že MIC je pro tuto esenci 0,04375 %. Výsledná reakce koncentrační řady esence z *P. graveolens* je znázorněna na obrázku č. 16.

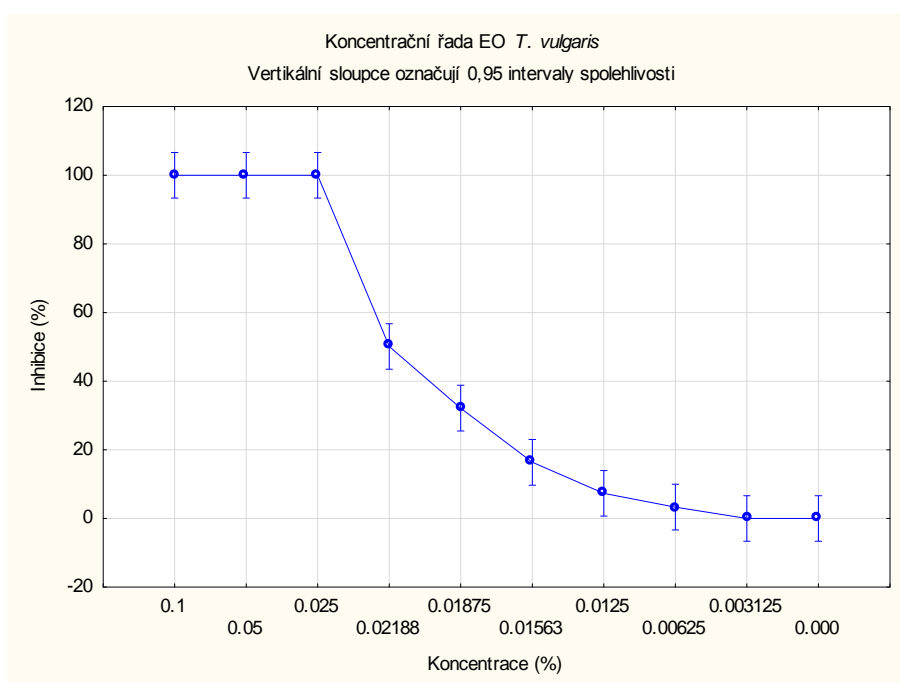
Obrázek 16: Koncentrační řada esence z *P. graveolens* vůči patogenu *S. sclerotiorum*



T. vulgaris

Esence z *T. vulgaris* vykazovala velice silnou fungicidní aktivitu vůči tomuto patogenu. 100 % inhibiční účinek byl zaznamenán při koncentraci 0,05 % i 0,025 %. Při koncentraci 0,0125 % nebyl růst mycelia významně ovlivněn. Aktivita oleje byla dále testována při koncentraci 0,02188 %, 0,01875 % a 0,01563 %. Výsledky z těchto variant vykazovaly spíše slabý vliv na houbu *S. sclerotiorum*, průměrné naměřené hodnoty dosahovaly 50,1 %, 32,1 % a 16,4 % inhibice. Výstupy z testu ANOVA potvrdily, že MIC oleje z tymiánu je 0,025 %. Inhibiční aktivita koncentrační řady popisuje graf (obrázek č. 17).

Obrázek 17: Koncentrační řada esence z *T. vulgaris* vůči patogenu *S. sclerotiorum*



5.2.4 *Stromatinia cepivora* (Berk.) Whetzel (1945)

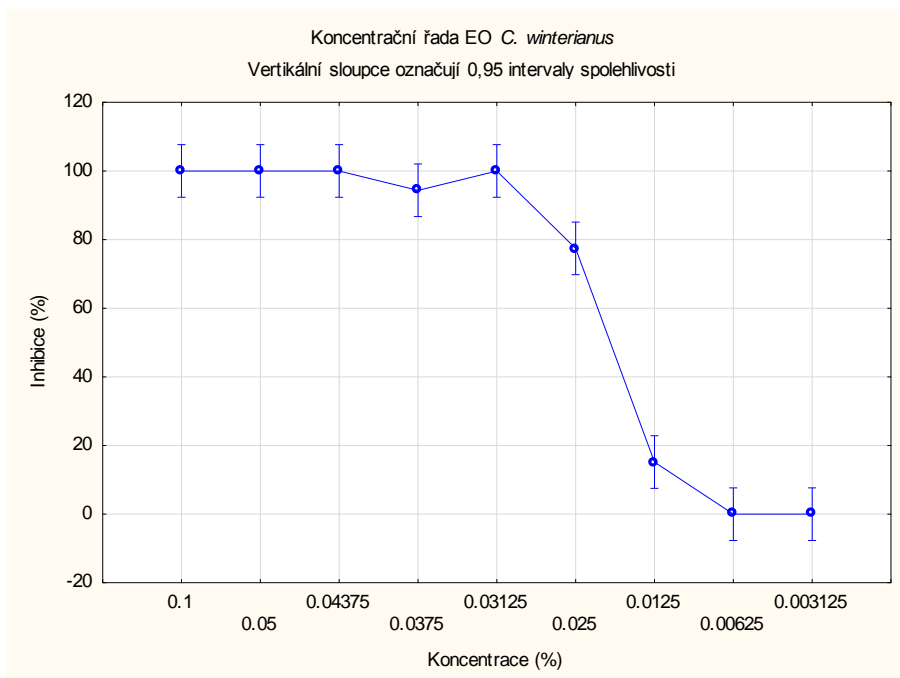
Esence, které vykazovaly v 1. části experimentu antimykotickou aktivitu vůči tomuto fytopatogenu, pocházely z *C. winterianus*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. anisum*, *P. graveolens* a *T. vulgaris*.

Podrobné výsledky a několik fotografií, které popisují reakci vybranných esencí vůči houbě *S. cepivora*, jsou zobrazeny v příloze.

C. winterianus

Při testech základní koncentrační řady byla při 0,05 % naměřena 100 % inhibice u všech izolátů, avšak při 0,025 % byl blokován ze 100 % pouze izolát SC-1, izoláty SC-2 a SC-3 byly inhibovány z 57,5 % a 74,9 %. Mezistupeň koncentrační řady 0,04375 % zcela zabránil růstu mycelia, stejně tak i koncentrace 0,03125 %. V případě varianty 0,0375 % byla zaznamenána odchylka u izolátu SC-2 ve dvou opakováních, kde narostlo mycelium z 18,8 % a 31,8 %. Nicméně, výstupy z testu ANOVA ukazují, že se tento soubor hodnot shoduje se souborem koncentrace 0,1 %. To bylo potvrzeno i v případě koncentrace 0,03125 %, tudíž ji lze označit za MIC. Vše je zaznamenáno na obrázku č. 18.

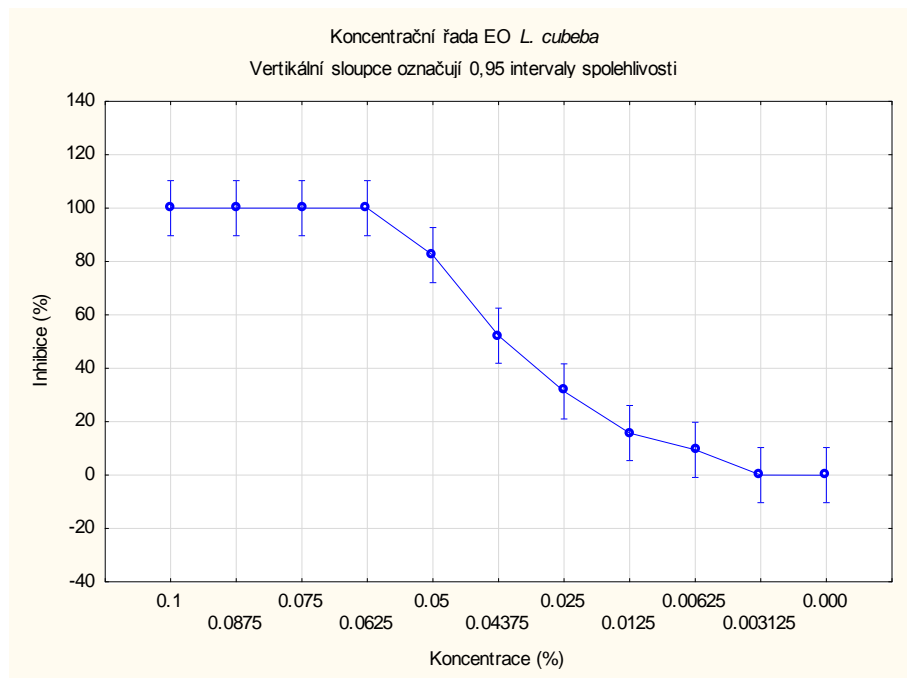
Obrázek 18: Koncentrační řada esence z *C. winterianus* vůči patogenu *S. cepivora*



L. cubeba

Při koncentraci 0,05 % byl inhibován izolát SC-2 ze 100 % ve všech opakováních. Průměrné hodnoty inhibice izolátů SC-1 a SC-3 byly 35,7 % a 66,5 %. K ověření zda se nejedná o odchylku, byla tato varianta znovu zopakována spolu s koncentrací 0,04375 %. Výsledky koncentrace 0,05 % předchozí hodnoty potvrdily, růst mycelia izolátu SC-2 byl opět zcela zamezen. Při koncentraci 0,04375 % k takovému efektu již nedošlo. Zároveň byly založeny varianty ředění 0,0875 %, 0,075 % a 0,0625 %, které inhibovaly růst všech izolátů ze 100 %. Test ANOVA tyto varianty označil za shodné s koncentrací 0,1 %, takže varianta 0,0675 % byla klasifikována jako MIC této esence. Graf (obrázek č. 19) vypovídá o síle účinku jednotlivých koncentrací vůči izolátům *B. cinerea*.

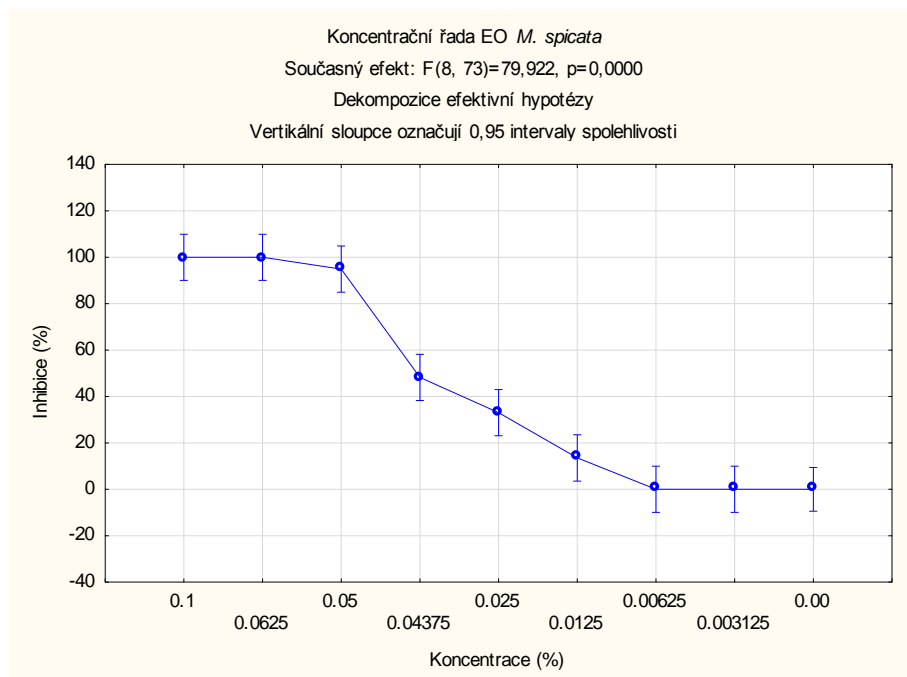
Obrázek 19: Koncentrační řada esence z *L. cubeba* vůči patogenu *S. cepivora*



M. spicata

Koncentrace 0,05 % u izolátů SC-1 a SC-2 zajistila 100% inhibici ve všech opakováních, avšak izolát SC-3 byl inhibován v průměru z 84,7 %. Podle statistického vyhodnocení byla tato koncentrace s koncentrací 0,1 % ještě shodná. Na základě toho byly pro vyhledání MIC zkoušeny koncentrace 0,0625 % a 0,04375 %. Koncentrace 0,0625 % úplně zamezila růst všech izolátů, ale koncentrace 0,04375 % inhibovala nedostatečně, v průměru 46,2 %. Statisticky ověřená hodnota 0,05 % je považována za MIC mátového oleje. Výše popisované výsledky jsou shrnuty v grafu na obrázku č. 20.

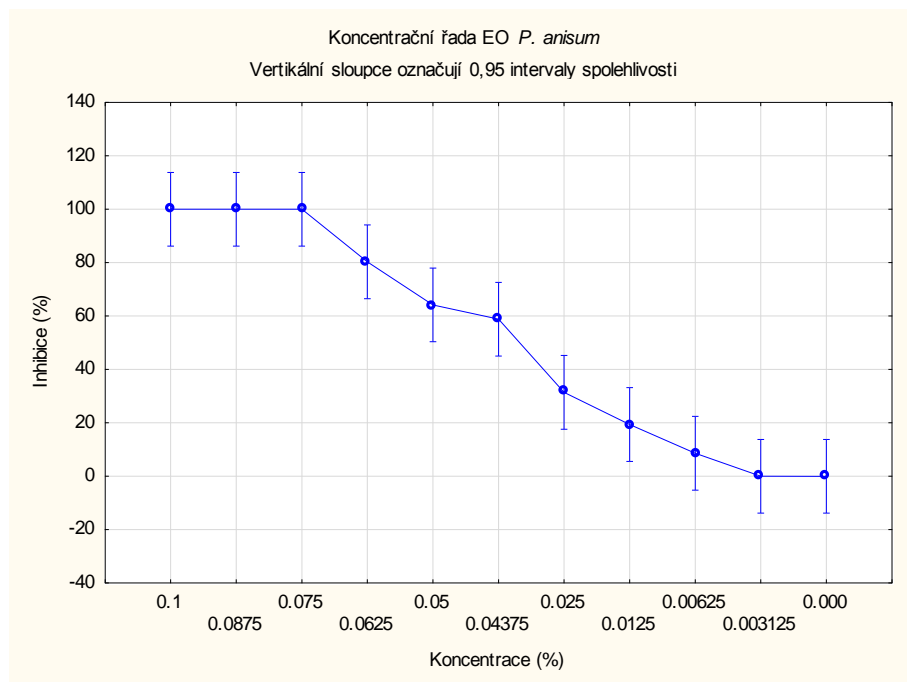
Obrázek 20: Koncentrační řada esence z *M. spicata* vůči patogenu *S. cepivora*



P. anisum

V případě esence z *P. anisum* byla 1. varianta ředění účinná pouze u izolátu SC-1, kde první dvě opakování byla inhibována ze 100 % a třetí z 86,3 %. Na další dva izoláty esence neměla podstatný vliv. Pro následující testování byly založeny varianty s těmito koncentracemi: 0,0875 %, 0,075 %, 0,0625 %, 0,04375 %. Stoprocentní inhibice se projevila u koncentrací 0,0875 % a 0,075 %. U varianty 0,0625 % byla zjištěna 100% úspěšnost pouze u izolátu SC-1, izolát SC-2 dosáhl průměrné inhibiční hodnoty 85,5 %. U izolátu SC-3 došlo v jednom případě k nulovému účinku, což mohlo být způsobeno chybou při pracovním postupu. U zbylých dvou opakování bylo naměřeno 83,2 % inhibice. Koncentrace 0,04375 % měla opět významný vliv na izolát SC-1 (100 % inhibice), avšak ostatní vzorky nebyly nijak zásadně poznamenány. Dle testu ANOVA platí, že poslední 100% účinná koncentrace proti patogenu *S. cepivorum* je 0,075 %. O inhibiční aktivitě vypovídá graf na obrázku č. 21.

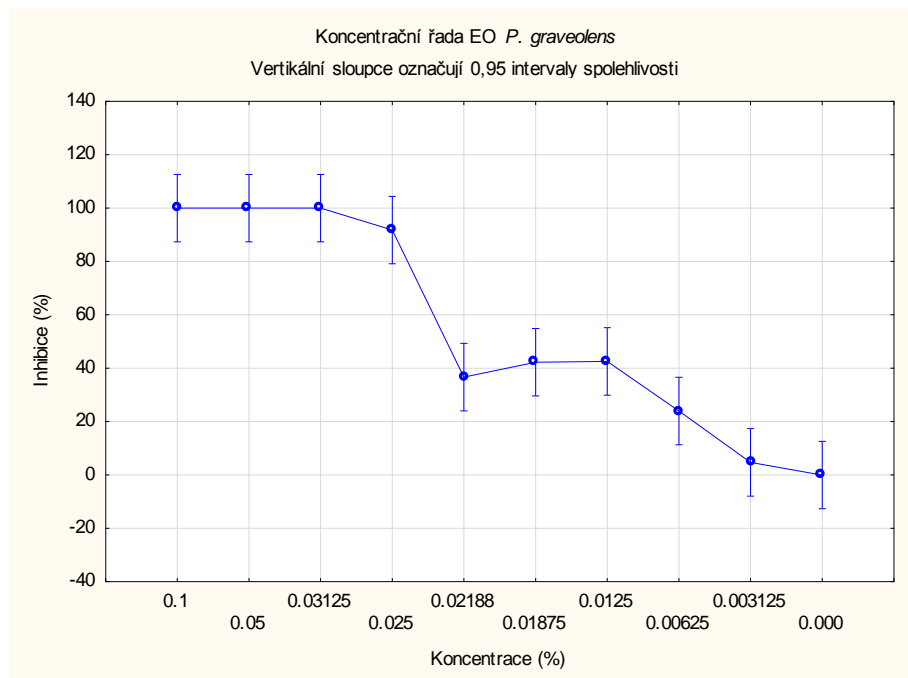
Obrázek 21: Koncentrační řada esence z *P. anisum* vůči patogenu *S. cepivora*



P. graveolens

V základní koncentrační řadě byla varianta 0,05 % úspěšná ze 100 % u všech izolátů. Při koncentraci 0,025 % došlo k 100% inhibici izolátů SC-1 a SC-3, u izolátu SC-2 byl blokován růst mycelia ze 75,2 %. MIC byla proto hledána mezi těmito variantami ředění: 0,03125 %, 0,02188 % a 0,01875 %. Kompletní zamezení růstu bylo zaznamenáno u varianty 0,03125 %, koncentrace 0,02188 % a 0,01875 % byly úspěšné pouze u izolátu SC-3. U varianty 0,02188 % izolát SC-2 naopak nebyl vůbec inhibován. Jelikož se v následující koncentraci mírná inhibice projevila, může se v tomto případě jednat o odchylku. Podle testu ANOVA, která účinnost koncentrace 0,025 % ohodnotila jako 100%, lze tuto hodnotu označit jako MIC této esence. Tyto informace jsou graficky znázorněny na obrázku č. 22.

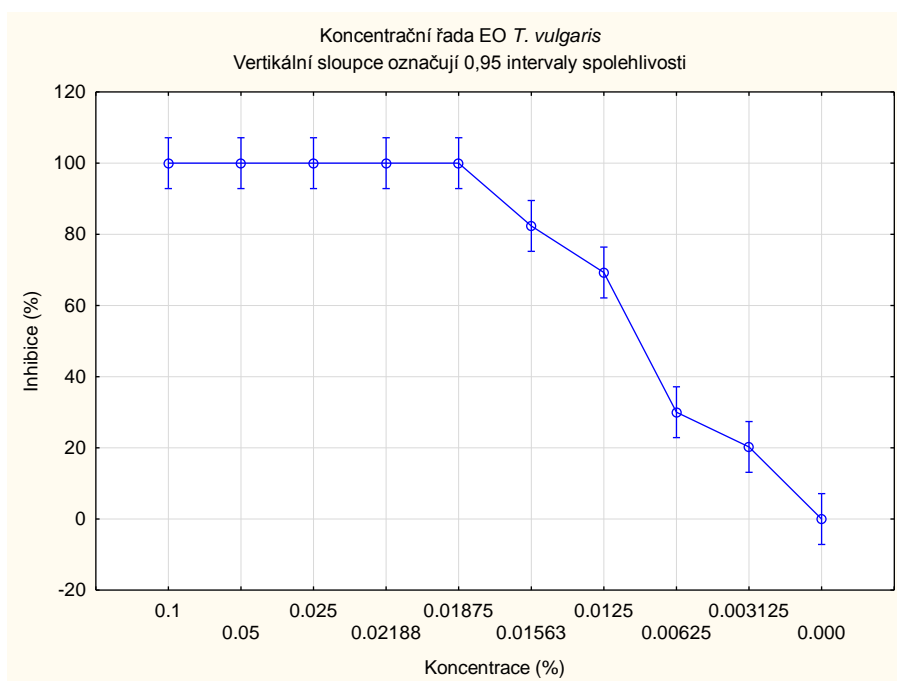
Obrázek 22: Koncentrační řada esence z *P. graveolens* vůči patogenu *S. cepivora*



T. vulgaris

Tato esence vykazuje vůči houbě *S. cepivora* velmi silnou fungicidní aktivitu. Na grafu (obrázek č. 23) je patrné, že i při té nejnižší variantě ředění je stále zjevný náznak inhibice. V základní koncentrační řadě byla 100% účinnost získána jak při 0,05%, tak i 0,025% koncentraci. Proto byly založeny mezistupně varianty ředění v rozmezí 0,025 % až 0,0125 %. Stoprocentní inhibice byla naměřena u všech izolátů při koncentraci 0,02188 % i 0,01875 %. Přestože koncentrace 0,01563 % dosáhla také dobrých výsledků (průměrná hodnota inhibice 82,3 %), nebyla statisticky shodná s variantou 0,1 %. MIC esence z tymiánu je tedy 0,01875 %.

Obrázek 23: Koncentrační řada esence z *T. vulgaris* vůči patogenu *S. cepivora*



6 Diskuze

V tomto experimentu proti parazitu *B. cinerea* nejlépe účinkovala esence z *T. vulgaris*, přičemž námi stanovená MIC dosahovala 0,02188 %. Ve vědecké práci Reddy et al. (1998) pozorovali růst mycelia izolátu *B. cinerea* získaného z napadených plodů jahodníku na PDA obsahující esence ze dvou linií *T. vulgaris*. Jejich studie naznačuje, že tento olej působí na patogen *B. cinerea* spíše fungistaticky než fungicidně. Ani jedna ze zkoušených koncentrací nezajistila 100% blokaci růstu mycelia, při nejvyšší testované koncentraci 0,02 % došlo při aplikaci esence z linie-1 k 63,5% inhibici a z linie-2 k 90,5% inhibici. Olej z linie-2 vykazoval relativně vyšší antifungální aktivitu, což bylo způsobeno vyšším obsahem thymolu, karvakrolu a linaloolu. O antimykotických účincích thymolu vůči *B. cinerea* pojednává i studie Camele et al. (2012). Při koncentraci 0,015 % a 0,02 % thymolu došlo k úplnému zastavení růstu mycelia izolátu z révy vinné. Antifungální aktivita tymiánové silice byla pozorována i v *in vivo* podmínkách. Po aplikaci 0,06% esence na uměle infikované meruňky došlo k rozvoji choroby pouze u 51,25 % plodů (Hassani et al., 2012). Podobný pokus byl proveden také na jablkách čtyř odrůd. Na záměrně mechanicky poškozené plody byly aplikovány konidie, po 15 a 30 dnech skladování byl měřen průměr hniloby kolem každé rány. Po použití 1% roztoku tymiánové esence došlo ke statisticky podobným výsledkům jako po aplikaci syntetického přípravku tebuconal. Při 10% koncentraci byla dokonce zajištěna účinnost srovnatelná s kontrolou, tedy tebuconalem (Lopez-Reyes et al., 2010). Tyto poznatky jednoznačně potvrzují vysokou účinnost esenciálního oleje z *T. vulgaris*, což je v souladu s našimi výsledky.

Esence pocházející z *L. cubeba* dosáhla v naší práci rovněž pozoruhodného efektu, 100% inhibice růstu mycelia *B. cinerea* byla zajištěna i při koncentraci 0,03125 %. Na stejném principu byla testována tato esence vědeckým týmem Yang et al. (2010). Ten naměřil 49,8% inhibici při 0,03% koncentraci esence. Toto tvrzení se s našimi výsledky relativně rozchází, nicméně v tom mohou hrát roli různé faktory, například odlišné složení esence. Složení esence z *L. cubeba* je velice rozmanité a záleží na genetickém vybavení konkrétního jedince (Saikia et al., 2013), zároveň je důležité z jaké části rostliny byl olej získán (Wang et Liu, 2010). Yang et al. (2010) pro svůj experiment použili olej z plodů *L. cubeba*, ve kterém převládá limonol (44,2 %), β -linalool (8,8 %), 1,8-cineol (5,4 %), elemicin (3,9 %), methyleugenol (3,8 %). Obsah našeho oleje je bohužel neznámý, proto je těžké tyto účinky srovnávat.

Esence z *C. winterianus*, *M. spicata* a *P. graveolens* dosáhly při působení na *B. cinerea* podobného účinku, jejich MIC byla stanovena na 0,04375 %.

Užití esenciálního oleje z *C. winterianus* proti *B. cinerea* nebylo prozatím ve vědecké literatuře zaznamenáno, avšak existuje článek od Tzortzakis et Economakis (2007), kteří popisují vliv esenciálního oleje z *C. citratus* na izolát *B. cinerea* z rajčete. Při koncentraci 0,01 % došlo k 33% inhibici a při 0,05 % byl růst mycelia zcela zamezen. Mezi majoritní složky tohoto druhu patří: geraniol (41 %), neral (32 %), limonen (4,4 %), zatímco u *C. winterianus* převládá citronellal (31,5 %), geraniol (22 %), geranyl-acetát (9 %) (Kakaraparthi et al., 2014). Jestliže citronellal hraje klíčovou roli v antimykotické aktivitě (Aguiar et al., 2014), měly by být podle složení těchto druhů jejich účinky rozdílné. Nicméně podle práce Tzortzakis et Economakis (2007) se účinnost esence druhu *C. citratus* shoduje s námi testovanou esencí z *C. winterianus*. Konečný efekt oleje z *C. citratus* však může být zajištěn geraniolem, který je známý svou vysokou fungicidní schopností (Aiemsraad et al., 2011).

Informace o působení esence z *M. spicata* na houbu *B. cinerea* nebyly nalezeny, proto nelze naše výsledky porovnat s jinými. Vzhledem k tomu, že se tento olej z *M. spicata* skládá z velmi účinných fungicidních sloučenin, jako jsou karvon, cis-karveol (Hussain et al., 2010), limonen (Sokovic et al., 2009), 1,8-cineol (Jiang et al., 2011), jsou získané výsledky velmi pravděpodobné.

Badawy et al. (2014) zaznamenali 50% inhibici při koncentraci 0,019 % esence z *P. graveolens*. Bohužel ale neuvádí koncentraci, která by zajistila úplné zamezení růstu. Nicméně i tento údaj vypovídá o dobré fungicidní aktivitě esence.

Esenciální oleje z *E. citriodora*, *F. vulgare*, *P. anisum* a *R. officinalis* vykazovaly mírnou nebo dokonce žádnou účinnost i při nejvyšší stanovené koncentraci 0,1 %.

O esenci z *E. citriodora* vypovídá práce Tripathi et al. (2008), ve které se tvrdí, že při koncentraci 0,05 % byl zcela blokován růst mycelia *B. cinerea*. Toto tvrzení se oproti našemu značně rozchází. Esenciální olej, který byl užit v tomto experimentu, vykazoval téměř nulový vliv i při nejvyšší testované koncentraci. To může být způsobeno například rozdíly ve složení, nebo odolnějšími izoláty. Dalším důvodem může být odlišná chemická látka pro zvýšení rozpustnosti esence. Tripathi et al. (2008) k tomu využili Tween 80, zatímco v našem testu byla zvolena sloučenina DMSO.

V této práci se esence z *F. vulgare* proti *B. cinerea* řadila spíše k méně úspěšným esencím. Avšak v případě dvou izolátů byl zcela potlačen růst mycelia 0,1% koncentrací. Podobný efekt byl popsán v článku od Hadian et al. (2008), zde při stejné koncentraci došlo

k 97,6% inhibici. Tou samou koncentrací byly ošetřeny uměle infikované jahody, což ze 75 % zabránilo rozvoji hniloby. Abdolahi et al. (2010b) stanovili MIC pro tuto esenci 0,06 % vůči izolátu získaného z hroznového vína. Tento esenciální olej vykazoval dokonce lepší účinky než esence z *T. vulgaris*. Podle všeho se tedy v této bylině skrývá fungicidní potenciál proti *B. cinerea*.

V naší práci měla esence z *P. anisum* minimální vliv na *B. cinerea*, nicméně pro nedostupnost vědeckých článků zabývajících se touto problematikou nelze tuto skutečnost věcně okomentovat.

Při koncentraci 0,0525 % esenciálního oleje z *R. officinalis* bylo inhibováno 50 % růstu mycelia *B. cinerea* (Badawy et al., 2014). O velmi slabých účincích vypovídají i Bouchra et al. (2003), kteří po aplikaci 0,025% esence naměřili pouze 10,7 % inhibice. Při testování esence na našich izolátech nebyl zpozorován žádný vliv ani při 0,1% koncentraci.

Naproti tomu stojí tvrzení Soylu et al. (2010), kteří popsali účinnost rozmarýnového oleje jak při kontaktní aplikaci (esence obsažená v agaru), tak ve formě fumigantu (v Petriho misce se esence vypařuje z filtračního papíru). Aplikace formou fumigantu byla zaručeně efektivnější. Stoprocentní inhibice izolátu, původem z napadeného listu rajčete, byla zajištěna při pouhých 0,00016 % esence, zatímco při kontaktní aplikaci je k tomuto účinku třeba 0,00256 %. Příčinu, proč jsou tyto inhibiční dávky tak nízké, autoři bohužel neuvádí, není známo ani složení použité esence.

Není mnoho vědecké literatury zabývající se účinky esencí, které byly použity v této diplomové práci, proti patogenu *A. solani*. Přesto existuje několik vědeckých článků, které se touto problematikou zabývají. Kupříkladu Al-Mughrabi et al. (2013) dokazují inhibiční schopnosti esence z *M. spicata* vůči houbě *A. solani* parazitující na rajčeti. V experimentu byl esenciální olej sledován především ve formě fumigantu, který při 1% koncentraci blokoval růst mycelia z 93,5 %. V našich testech byla použita 10x menší koncentrace (0,1 %), i přesto však bylo dosaženo podobných výsledků, především u izolátů AS-5 a AS-7. Nicméně je nutno vzít v úvahu, že v našem pokusu šlo o kontaktní účinnost.

O fungicidní aktivitě esence z *P. anisum* vůči izolátu *A. solani* z rajčete vypovídá článek Duarte et al.(2013). Tato informace však nekoresponduje s našimi výsledky, kde účinnost oleje z *P. anisum* byla jedna z nejslabších. Podle Ramezani et al. (2002b) *E. citriodora* by mohla být potencionálně využita pro výrobu přípravků proti chorobám způsobené *A. solani*. Při jeho pokusech byla zajištěna 100% inhibice již při 0,0001% koncentraci esence této byliny. V našich testech nepřesáhla ani 50 % inhibice, i když byla

použita 100x vyšší koncentrace. Vzhledem k tomu, že autoři neposkytují informace o složení esence, ani o způsobu provedení testu, je těžké tyto hodnoty srovnávat. Dále Hillen et al. (2012) testovali esenci *R. officinalis* na izolátech původce chorob *Alternaria* sp., u něhož došlo k 100% inhibici při koncentraci 0,3 %.

Jediná studie, kde se výsledky shodují s našimi, je od Abou-Jawdah et al. (2002). Zde ale nepoužívali přímo esenciální olej, nýbrž methylový extrakt z *F. vulgare*, který při 2% koncentraci zamezil růst mycelia pouze z 12 %. Klíčení spor nebylo vůbec ovlivněno. Olej z *F. vulgare* je v našich testech proti *A. solani* vyhodnocen jako nejméně účinný ze všech 9 esencí.

V této práci vychází olej z *T. vulgaris* jako esence s nejsilnější fungicidní aktivitou proti všem zkoušeným patogenům, tedy včetně *S. sclerotiorum*. Druhá neúspěšnější esence proti patogenu *S. sclerotiorum* pochází z *L. cubeba*. Kompletní zamezení růstu bylo zajištěno již při 0,04375% koncentraci. Vědecký článek Yang et al. (2010), který byl již rozebírán při porovnávání vlivu esence z *L. cubeba* vůči patogenu *B. cinerea*, popisuje 100% inhibiční účinek na *S. sclerotiorum* při 0,03% koncentraci. Vůči houbě *B. cinerea* vykazovala námi použitá esence oproti esenci ze zmíněného článku vyšší fungicidní aktivitu, v případě *S. sclerotiorum* tomu bylo naopak. Jak již bylo zmíněno, provedení analytického rozboru naší esence by napomohlo k objasnění těchto rozdílných reakcí.

S velmi dobrými účinky se v našem experimentu vyznamenala také esence z *E. citriodora*, jejíž MIC byla 0,0625 %, stejně tak tomu bylo i u esence z *M. spicata*. Antimykotické účinky mátové silice proti *S. sclerotiorum* testovali Al-Taisan et al. (2014). Bohužel autoři ve své práci neuvedli, o jaký druh máty se jedná, nepopsali ani složení tohoto oleje. Nicméně, tato esence při 0,0001% koncentraci způsobila 67,1% inhibici a při 0,001 % již 100% inhibici izolátu z napadeného fazolu. Dále prováděli *in vivo* testy, ve kterých zkoušeli klíčivost semen a vzcházení rostlin fazolu v uměle zamořené půdě po aplikaci 0,001 % mátové esence. Vlivem oleje z *Mentha* sp. vzešlo 60 % zdravých rostlinek, což svědčí o mírném efektu. Ačkoliv není znám původ mátové esence, tento článek spolu s naší prací potvrzuje inhibiční vliv rodu *Mentha* sp. vůči houbě *S. sclerotiorum*.

Nižší, přesto stále významný efekt vůči tomuto parazitovi má i esence z *F. vulgare*. Podle našich výsledků její MIC činí 0,1 %. Daleko silnější antimykotickou aktivitu tohoto oleje popisují Soylu et al. (2007), a to především při působení ve formě fumigantu. Stoprocentní inhibice vůči izolátu ze stonku rajčete nastala při dávce pouhých 0,00002 % esence. Pokud byla esence součástí agaru, tak jak to bylo provedeno i v našem pokusu, došlo k absolutní blokaci růstu mycelia při aplikaci 0,00016 %. Koncentrace 0,00032 % dokonce

způsobila ztrátu životaschopnosti sklerocia. Jediný rozdíl, který lze vyčíst z metodiky tohoto pokusu je použití jiného rozpouštědla (Tween 20), to ale jistě není jediným důvodem tak silného účinku.

Esence z *R. officinalis* se při koncentraci 0,1 % v našem experimentu jeví, jako zcela neúčinná. Pitarokili et al. (2008) ale publikovali práci, ve které dokládají inhibiční působení vůči *S. sclerotiorum*. Jako důkaz uvádějí hodnotu EC₅₀ (koncentrace způsobující 50% inhibici růstu mycelia) 0,025 %. Dále testovali účinnost α -pinenu, který zaujímá ve složení tohoto oleje největší podíl (21 %). Zjistili, že k 50% inhibici je třeba vyšší koncentrace, než tomu bylo u celé esence. Z toho vyplývá, že vliv oleje je mnohem silnější, než samotného α -pinenu. S tímto tvrzením se shoduje i Jiang et al. (2011).

Ojaghian et al. (2014) zkoušeli fungicidní aktivitu rozmarýnového extraktu získaného buď ethylacetátem, nebo ethanolem. Ukázalo se, že ethylacetátový extrakt má silnější účinky než ethylový, ale přesto proti *S. sclerotiorum* působil nedostatečně.

Proti patogenu *S. cepivora* účinkovalo v našem experimentu 6 z 9 zkoušených esencí. Nejsilnější toxicita byla zaznamenána u esence z *T. vulgaris*, jejíž MIC dosahuje pouhých 0,01875 %. Tyto výsledky jsou jednoznačně potvrzeny vědeckým článkem Lucini et al. (2006), ve kterém je publikován vliv sedmi monoterpenů pocházejících z esenciálních olejů na fytopatogenní houbu *S. cepivora*. Thymol a geraniol patří mezi látky, které v tomto testu dosáhly nejnižší MIC (0,04 %) zamezující růst mycelia *S. cepivora*. Jako druhý nejúspěšnější byl mentol s MIC 0,05 %, dále pak linalool s MIC 0,07 %, nakonec kafr a 1,8-cineol s MIC 0,12 %. Thymol, geraniol a linalool jsou dominantními složkami právě oleje z *T. vulgaris* (Keefover-Ring et al., 2009). Proto není divu, že vykazuje tak vysokou fungicidní aktivitu.

Na geraniol jsou také velmi bohaté esence z *C. winterianus* (Kakaraparthi et al., 2014) a *P. graveolens* (Hsouna et Hamdi, 2012), jejichž účinnost je v našem pokusu rovněž velice významná. Olej z *P. graveolens* kromě toho také obsahuje linalool (Hsouna et Hamdi, 2012). V oleji z *L. cubeba* se také může nacházet vysoké procento linaloolu, ale i 1,8-cineolu (Wang et Liu, 2010). To vše potvrzuje jejich dobrý inhibiční vliv těchto esencí vůči zkoumanému parazitu.

V esenci z *M. spicata* je obsaženo velmi nízké procento mentolu (Padalia et al., 2013), avšak i přesto byl v naší práci její inhibiční účinek vysoký. To může být zajištěno vysokým podílem karvonu, který se vyznačuje antimikrobiální aktivitou (Hussain et al., 2010).

Přestože trans-anethol přesahuje 90 % obsahu esencí z *P. anisum* (Orav et al., 2008) a *F. vulgare* (Diao et al., 2014), jejich výsledná reakce na *S. cepivora* není stejná. Olej

z *P. anisum* totiž úspěšně blokuje růst při 0,075 %, zatímco esence z *F. vulgare* neprojevila žádné známky inhibice. K podobnému závěru došli i vědci Sharifi et al. (2008), kteří ve své práci uvedli, že trans-anethol není zodpovědný za fungicidní schopnosti esence.

Esence z *R. officinalis* je bohatá na látky kafr, borneol i 1,8-cineol (Jiang et al., 2011), u kterých je dokázána inhibice jmenovaného patogenu (Lucini et al., 2006). Podle Pitarokili et al. (2008) tento olej dosahuje EC₅₀ vůči *S. cepivora* 0,76 %. Přesto v našich testech esence vykazovala nedostatečnou antimykotickou aktivitu.

7 Závěr

V 1. fázi experimentu byla testovaná fungicidní aktivita jednotlivých esenciálních látek při nejvyšší koncentraci (0,1 %) na fytopatogenních houbách *B. cinerea*, *A. solani*, *S. sclerotiorum* a *S. cepivora*. Absolutní blokace růstu mycelia *B. cinerea* byla zaznamenána u esencí z *C. winterianus*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. graveolens* a *T. vulgaris*. Patogen *A. solani* byl úspěšně inhibován pouze jedním esenciálním olejem, a to z *T. vulgaris*. Parazit *S. sclerotiorum* byl zcela potlačen esencemi získanými z *C. winterianus*, *E. citriodora*, *F. vulgare*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. graveolens* a *T. vulgaris*. V případě houby *S. cepivora* došlo k zamezení růstu mycelia po aplikaci esencí z rostlin: *C. winterianus*, *L. cubeba*, *M. spicata*, *P. anisum*, *P. graveolens* a *T. vulgaris*.

U těchto vybraných esencí byla stanovena minimální inhibiční koncentrace (MIC) proti jednotlivým houbovým patogenům. Pro esence inhibující rostlinného parazita *B. cinerea* byla určena MIC v hodnotách 0,04375 % (*C. winterianus*, *M. spicata*, *P. graveolens*), 0,03125% (*L. cubeba*) a 0,02188 % (*T. vulgaris*).

Růst mycelia *A. solani* byl zcela potlačen již při 0,03125 % oleje z *T. vulgaris*.

Pro esence s antimykotickým účinkem vůči *S. sclerotiorum* platí MIC 0,1 % u *F. vulgare*, 0,075 % u *C. winterianus*, 0,0625 % u *E. citriodora* a *M. spicata*, 0,04375 % u *L. cubeba* a *P. graveolens* a 0,025 % u *T. vulgaris*.

Dále u patogenu *S. cepivora* byla MIC zaznamenána v takovýchto hodnotách: *P. anisum* - 0,075 %, *L. cubeba* - 0,0675 %, *M. spicata* - 0,05 %, *C. winterianus* - 0,03125 % *P. graveolens* - 0,025 %, *T. vulgaris* - 0,01875 %.

Pro shrnutí celkových výsledků lze konstatovat, že účinnost esence klesala se snižující se koncentrací. Jednoznačně nejsilnější účinek vůči všem patogenům byl zaznamenán u esence z *T. vulgaris*. Ve všech případech dosáhla nejnižší MIC. Esenciální oleje z: *C. winterianus*, *L. cubeba*, *M. spicata* a *P. graveolens* se v této práci projevily silnou fungicidní aktivitou, velmi dobře účinkovaly proti většině testovaným houbám. Naopak esence *R. officinalis* vykazovala nedostačující inhibici u všech čtyř patogenů.

8 Seznam literatury

Abdolahi, A., Hassani, A., Ghuosta, Y., Bernousi, I., Meshkatalasadat, M. H. 2010b. In vitro efficacy of four plant essential oils against *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. and *Mucor piriformis* A. Fischer. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 13(1). 97-107.

Abdolahi, A., Hassani, A., Ghuosta, Y., Javadi, T., Meshkatalasadat, M. H. 2010a. Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. Journal of food safety. 30(2). 341-352.

Abou-Jawdah, Y., Sobh, H., Salameh, A. 2002. Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. Journal of agricultural and food chemistry. 50(11). 3208-3213.

Aguiar, R. W. D. S., Ootani, M. A., Ascencio, S. D., Ferreira, T. P., Santos, M. M. D., Santos, G. R. D. 2014. Fumigant antifungal activity of *Corymbia citriodora* and *Cymbopogon nardus* essential oils and citronellal against three fungal species. The scientific world journal, 2014.

Aiemsraad, J., Aiumlamai, S., Aromdee, C., Taweechaisupapong, S., Khunkitti, W. 2011. The effect of lemongrass oil and its major components on clinical isolate mastitis pathogens and their mechanisms of action on *Staphylococcus aureus* DMST 4745. Research in veterinary science. 91(3). 31-37.

Aishah, H. N., Zaini, N. M., Haslinda, M. 2012. Antimicrobial activity of *Pimpinella anisum* seed extract. In: Méndez-Vilas, A. (ed.). Microbes in Applied Research: Current Advances and Challenges. World Scientific. Singapore. p. 486-491 ISBN: 978-981-4405-03-4

Al-Bayati, F. A. 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. Journal of ethnopharmacology. 116(3). 403-406.

Alinezhad, S., Kamalzadeh, A., Shams-Ghahfarokhi, M., Rezaee, M. B., Jaimand, K., Kawachi, M., Razzaghi-Abyaneh, M. 2011. Search for novel antifungals from 49 indigenous medicinal plants: *Foeniculum vulgare* and *Platycladus orientalis* as strong inhibitors of aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Annals of mikrobiology. 61(3). 673-681.

- Al-Mughrabi, K. I., Coleman, W. K., Vikram, A., Poirier, R., Jayasuriya, K. E. 2013. Effectiveness of essential oils and their combinations with aluminum starch octenylsuccinate on potato storage pathogens. *Journal of essential oil bearing plants*. 16(1). 23-31.
- Al-Taisan, W. A., Bahkali, A. H., Elgorban, A. M., El-Metwally, M. A. 2014. Effective influence of essential oils and microelements against *Sclerotinia sclerotiorum*. *International journal of pharmacology*, 10(5).
- Amri, I., Hamrouni, L., Hanana, M., Jamoussi, B., Lebdi, K. 2014. Essential oils as biological alternatives to protect date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (*Lepidoptera: Pyralidae*). *Chilean journal of agricultural research*. 74(3). 273-279.
- Angioni, A., Barra, A., Cereti, E., Barile, D., Coisson, J. D., Arlorio, M., Cabras, P. 2004. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of agricultural and food chemistry*. 52(11). 3530-3535.
- Badawy, M. E., Abdelgaleil, S. A. 2014. Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. *Industrial crops and products*. 52. 776-782.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Zhiri, A., Idaomar, M., 2005. Cytotoxicity and gene induction by some essential oils in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.* 585. 1-13.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*. 46 (2). 446-475.
- Barreto, H. M., Silva Filho, E. C., Lima, E. D. O., Coutinho, H. D., Morais-Braga, M. F., Tavares, C. C., Lopes, J. A. D. 2014. Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and products*. 59. 290-294.
- Baser, K. H. C., Buchbauer, G. 2010. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press, Taylor and Francis Group. 994.
- Batish, D. R., Setia, N., Singh, H. P., Kohli, R. K. 2004. Phytotoxicity of lemon-scented eucalypt oil and its potential use as a bioherbicide. *Crop protection*. 23(12). 1209-1214.

- Batish, D. R., Singh, H. P., Setia, N., Kaur, S., Kohli, R. K. 2006. Chemical composition and phytotoxicity of volatile essential oil from intact and fallen leaves of *Eucalyptus citriodora*. *Zeitschrift fur Naturforschung C-Journal of Biosciences*. 61 (7-8).
- Batish, D. R, Singh, H. P, Kohli, R. K, Kaur, S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and management*. 256 (12). 2166-2174.
- Beever, R. E., Weeds, P. L. 2007. Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and *Botryotinia*. In *Botrytis: Biology, pathology and kontrol*. Springer Netherlands. 29-52.
- Billerbeck, V. G., Roques, C. G., Bessière, J. M., Fonvieille, J. L., Dargent, R. 2001. Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. *Canadian journal of mikrobiology*. 47(1). 9-17.
- Bisht, D. S., Menon, K., Singhal, M. K. 2014. Comparative antimicrobial activity of essential oils of *Cuminum cyminum* L. and *Foeniculum vulgare* Mill. *Jurnal of essential oil bearing plants*. 17(4).
- Bluma, R., Amaiden, M. R., Daghero, J., Etcheverry, M. 2008. Control of *Aspergillus* section Flavi growth and aflatoxin accumulation by plant essential oils. *Journal of applied mikrobiology*. 105(1). 203-214.
- Bolton, M. D., Thomma, B. P., Nelson, B. D. 2006. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular plant pathology*. 7(1). 1-16.
- Bomfim S. N., Nakassugi, L. P., Oliveira, J. F. P., Kohiyama, C. Y., Mossini, S. A. G., Grespan, R., Nerilo, S. B., Mallmann, C. A., Filho, B. A. A., Machinski, M. 2015. Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Food chemistry*, 166, 330-336.
- Bouchra, C., Achouri, M., Idrissi Hassani, L. M., Hmamouchi, M. 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan *Labiatae* against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *Journal of ethnopharmacology*. 89(1). 165-169.
- Boukhatem, M. N., Kameli, A., Saidi, F. 2013. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. *Food Control*. 34(1). 208-213

- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., Chemat, F. 2009. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food chemistry*. 114(1). 355-362.
- Bouzenna, H., Krichen, L. 2013. *Pelargonium graveolens* L'Her. and *Artemisia arborescens* L. essential oils: Chemical composition, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* and insecticidal activity against *Rhyssopertha dominica*. *Natural product research*. 27(9). 841-846.
- Buchtová, I. 2014. Situační a výhledová zpráva ZELENINA. Ministerstvo zemědělství. Praha. 68 s. ISBN 978-80-7434-187-8
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94. 223–253.
- Camele, I., Altieri, L., De Martino, L., De Feo, V., Mancini, E., Rana, G. L. 2012. In vitro control of post-harvest fruit rot fungi by some plant essential oil components. *International journal of molecular science*. 13(2). 2290-2300.
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De-Bruyne, T., Hermans, N., Vlietinck, A. J. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of ethnopharmacology*. 79 (2). 213-220.
- Colpo, J. F., Jahnke, S. M., Füller, T. 2014. Insecticidal potential of vegetable oil extracts on *Grapholita molesta* Busck (*Lepidoptera: Tortricidae*). *Revista brasileira de plantas medicinais*. 16(2). 182-188.
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Foster, G. D. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*. 13(4). 414-430.
- Diao, W. R., Hu, Q. P., Zhang, H., Xu, J. G. 2014. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control*. 35(1). 109-116.

- Duarte, M. C. T., Leme, E. E., Delarmelina, C., Soares, A. A., Figueira, G. M., Sartoratto, A. 2007. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. Journal of ethnopharmacology. 111(2). 197-201.
- Duarte, Y., Pino, O., Infante, D., Sánchez, Y., Travieso, M. D. C., Martínez, B. 2013. Efecto in vitro de aceites esenciales sobre *Alternaria solani* Sorauer. Revista de protección vegetal. 28(1). 54-59.
- Elad, Y., Stewart, A. 2007. Microbial control of *Botrytis* spp. In *Botrytis: biology, pathology and control*. Springer Netherlands. 223-241
- Elamrani, A., Zrira, S., Benjilali, B., Berrada, M. 2000. A study of Moroccan rosemary oils. Journal of essential oil research. 12(4). 487-495.
- Fermaud, M., Gaunt, R. E. 1995. Thrips obscuratus as a potential vector of *Botrytis cinerea* in kiwifruit. Mycological research. 99(3). 267-273.
- Ganjewala, D. 2009. Cymbopogon essential oil: Chemical composition and bioactivities. International journal of essential oil therapeutics. 3(2/3). 56-65.
- González, W. J. O., Gutiérrez, M. M., Murray, A. P., Ferrero, A. A. 2011. Composition and biological activity of essential oils from *Labiatae* against *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) soybean pest. Pest management science. 67(8). 948-955.
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswari, M., Yogalakshmi, K. 2012. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. Parasitology research. 110(5). 2023-2032.
- Gülçın, İ., Oktay, M., Kireççi, E., Küfrevioğlu, Ö. İ. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. Food chemistry. 83(3). 371-382.
- Gusmão, N., de Oliveira, J. V., Navarro, D. M., Dutra, K. A., da Silva, W. A., Wanderley, M. J. 2013. Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (FABR). (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). Journal of stored products research. 54. 41-47.

- Gustafson, J. E., Liew, Y. C., Chew, S., Markham, J. L., Bell, H. C., Wyllie, S. G., Warmington, J. R., 1998. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. Lett. Appl. Microbiol. 26. 194–198.
- Hadian, J., Ghasemnezhad, M., Ranjbar, H., Frazane, M., Ghorbanpour, M. 2008. Antifungal potency of some essential oils in control of postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger*. Journal of essential oil bearing plants. 11(5). 553-562.
- Hajieghrari, B., Mohammadi, M. R., Hadian, D. 2005. Antifungal activity of *Cymbopogon parkeri* stapf. essential oil on some important phytopathogenic fungi. Communications in agricultural and applied biological science. 71(3). 937-941
- Harmatha. J. 2005. Strukturní bohatství a biologický význam lignanů a jim příbuzných rostlinných fenylpropanoidů. Chemické listy. 99. 622-632
- Hasimi, N., Tolan, V., Kizil, S., Kilinc, E. 2014. Determination of essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of anise (*Pimpinella anisum* L.) and cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seeds. Journal of agricultural science. 20 (1): 19-26.
- Hassani, A., Fathi, Z., Ghosta, Y., Abdollahi, A., Meshkatsadat, M. H., Marandi, R. J. 2012. Evaluation of plant essential oils for control of postharvest brown and gray mold rots on apricot. Journal of food safety. 32(1). 94-101.
- Hillen, T., Schwan-Estrada, K. R. F., Mesquini, R. M., Cruz, M. E. S., Stangarlin, J. R., Nozaki, M. 2012. Antimicrobial activity of essential oils on the in vitro control of some fungal phytopathogens and on seed treatment. Revista brasileira de plantas medicinais. 14(3). 439-445.
- Hsouna, A. B., Hamdi, N. 2012. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia. Lipids in health and disease. 11(1). 167.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Shahid, M., Ashraf, M., Przybylski, R. 2010. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan. Journal of essential oil research. 22(1). 78-84.

- Chauhan, R. S., Kaul, M. K., Shahi, A. K., Kumar, A., Ram, G., Tawa, A. 2009. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM (J) 26] from North-West Himalayan region, India. *Industrial crops and products*. 29(2). 654-656.
- Chen, F., Peng, S. L., Chen, B. M., Ni, G. Y., Liao, H. X. 2013b. Allelopathic potential and volatile compounds of *Rosmarinus officinalis* L. against Leeds. *Allelopathy Journal*. 32 (1). 57-66
- Chen, Y., Wang, Y., Han, X., Si, L., Wu, Q., Lin, L. 2013a. Biology and chemistry of *Litsea cubeba*, a promising industrial tree in China. *Journal of essential oil research*. 25(2). 103-111.
- Iscan, G., Kirimer, N. E. S. E., Kürkcüoğlu, M., Baser, H. C., Demirci, F. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*. 50(14). 3943-3946.
- Jeon, J. H., Lee, C. H., Lee, H. S. 2009. Food protective effect of geraniol and its congeners against stored food mites. *Journal of food protection®*. 72(7). 1468-1471.
- Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y. J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C. J., Liu, X. L. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environmental toxicology and pharmacology*. 32(1). 63-68.
- Jiang, Z. L., Akhtar, Y., Zhang, X., Bradbury, R., Isman, M. B. 2012. Insecticidal and feeding deterrent activities of essential oils in the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of applied entomology*. 136(3). 191-202.
- Kačániová, M., Vukovič, N., Horská, E., Šalamon, I., Bobková, A., Hleba, L., Bobko, M. 2014. Antibacterial activity against *Clostridium* genus and antiradical activity of the essential oils from different origin. *Journal of environmental science and health, Part B*. 49(7). 505-512.
- Kakaraparthi, P. S., Srinivas, K. V. N. S., Kumar, J. K., Kumar, A. N., Rajput, D. K., Sarma, V. U. M. 2014. Variation in the essential oil content and composition of Citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) in relation to time of harvest and weather conditions. *Industrial crops and products*. 61. 240-248.

- Kapoor, R., Giri, B., Mukerji, K. G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource technology*. 93(3). 307-311.
- Karami-Osboo, R., Khodaverdi, M., Ali-Akbari, F. 2010. Antibacterial effect of effective compounds of *Satureja hortensis* and *Thymus vulgaris* essential oils against *Erwinia amylovora*. *Journal of agricultural science and technology*. 12. 35-45.
- Kedia, A., Prakash, B., Mishra, P. K., Chanotiya, C. S., Dubey, N. K. 2014. Antifungal, antiaflatoxicogenic, and insecticidal efficacy of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil. *International biodeterioration & biodegradation*, 89, 29-36.
- Keefover-Ring, K., Thompson, J. D., Linhart, Y. B. 2009. Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour and fragrance journal*. 24 (3). 117-122.
- Khanuja, S. P. S. 2007. Employ contract farming to boost area under cultivation for essential oil bearing crops. *Business enabling of aromatic plants and products*. 21-22.
- Khanuja, S. P. S., Shasany, A. K., Pawar, A., Lal, R. K., Darokar, M. P., Naqvi, A. A., Rajkumar, S., Sundaresan, V., Lal, N., Kumar, S. 2005. Essential oil constituents and RAPD markers to establish species relationship in *Cymbopogon* Spreng.(*Poaceae*). *Biochemical systematics and ecology*. 33(2). 171-186.
- Kim, D. H., Ahn, Y. J. 2001. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. *Pest management science*. 57(3). 301-306.
- Kimbaris, A. C., Koliopoulos, G., Michaelakis, A., Konstantopoulou, M. A. 2012. Bioactivity of *Dianthus caryophyllus*, *Lepidium sativum*, *Pimpinella anisum*, and *Illicium verum* essential oils and their major components against the West Nile vector *Culex pipiens*. *Parasitology research*. 111(6). 2403-2410.
- Ko, K., Juntarajumnong, W., Chandrapatya, A. 2009. Repellency, fumigant and contact toxicities of *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. 43. 56-63.

- Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Prasad, C. S., Dubey, N. K. 2008. Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. *Innovative food science & emerging technologies*. 9(4). 575-580.
- Lawrence, B. M. 1995. The isolation of aromatic materials from natural plant products. In: K. TULEY DE SILVA (ed.). *Manual of the Essentials oil Industry*. Vienna: UNIDO. 57 – 154.
- Lee, C. H., Sung, B. K., Lee, H. S. 2006. Acaricidal activity of fennel seed oils and their main components against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored-food mite. *Journal of Stored Products Research*. 42(1). 8-14.
- Leela, N. K., Khan, R. M., Reddy, P. P., Nidiry, E. S. J. 1992. Nematicidal activity of essential oil of *Pelargonium graveolens* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematol. Medit.* 20:57- 58.
- Lo Cantore, P., Iacobellis, N. S., De Marco, A., Capasso, F., Senatore, F. 2004. Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller var. *vulgare* (Miller) essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*. 52(26). 7862-7866.
- Lo Presti, M., Ragusa, S., Trozzi, A., Dugo, P., Visinoni, F., Fazio, A., Mondello, L. 2005. A comparison between different techniques for the isolation of rosemary essential oil. *Journal of separation science*. 28(3). 273-280.
- Lojtková, L., Sedláková, J., Kubáň, V. 2005. A two-step supercritical fluid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from roadside soil samples. *Journal of separation science*. 28(16). 2067-2075.
- Lopez-Reyes, J. G., Spadaro, D., Gullino, M. L., Garibaldi, A. 2010. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples in vivo. *Flavour and fragrance journal*. 25(3). 171-177.
- Lucini, E. I., Zunino, M. P., Lopez, M. L., Zygadlo, J. A. 2006. Effect of monoterpenes on lipid composition and sclerotial development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *Journal of phytopathology*. 154(7-8). 441-446.
- Luqman, S., Dwivedi, G. R., Darokar, M. P., Kalra, A., Khanuja, S. P. S. 2008. Antimicrobial activity of *Eucalyptus citriodora* essential oil. *International Journal of essential oil therapeutics*. 2(2). 69-75.

- Mahfouz, S. A., Sharaf-Eldin, M. A. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) International agrophysics. 21(4). 361.
- Mangena, T., Muyima, N. Y. O. 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. Letters in applied mikrobiology. 28(4). 291-296.
- Maofari, A. A. L., Hajjaji, S. E. L., Debbab, A., Zaydoun, S., Ouaki, B., Charof, R., Mosaddak, M. 2013. Chemical composition and antibacterial properties of essentials oils of *Pimpinella anisum* L. Growing in Morocco and Yemen.
- Mativandlela, S. P. N., Lall, N., Meyer, J. J. M. 2006. Antibacterial, antifungal and antitubercular activity of (the roots of) *Pelargonium reniforme* (CURT) and *Pelargonium sidoides* (DC) (*Geraniaceae*) root extracts. South african journal of botany. 72(2). 232-237.
- Mayaud, L., Carricajo, A., Zhiri, A., Aubert, G. 2008. Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. Letters in applied mikrobiology. 47(3). 167-173.
- Millezi, A. F., Caixeta, D. S., Rossoni, D. F., Cardoso, M. D. G., Piccoli, R. H. 2012. In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. Food science and technology (Campinas). 32(1). 167-172.
- Naeini, A., Ziglari, T., Shokri, H., Khosravi, A. R. 2010. Assessment of growth-inhibiting effect of some plant essential oils on different *Fusarium* isolates. Journal de mycologie médicale/Journal of medical mycology. 20(3). 174-178.
- Nenaah, G. E., Ibrahim, S. I. 2011. Chemical composition and the insecticidal activity of certain plants applied as powders and essential oils against two stored-products coleopteran beetles. Journal of pest science. 84(3). 393-402.
- Niculau, E. D. S., Alves, P. B., Nogueira, P. C. D. L., Moraes, V. R. D. S., Matos, A. P., Bernardo, A. R., Ribeiro, L. D. P. 2013. Insecticidal activity of essential oils of *Pelargonium graveolens* l'Herit and *Lippia alba* (Mill) Brown against *Spodoptera frugiperda* (Smith). Química Nova. 36(9). 1391-1394.

- Ojaghian, M. R., Chen, Y., Chen, S., Cui, Z. Q., Xie, G. L., Zhang, J. 2014. Antifungal and enzymatic evaluation of plant crude extracts derived from cinnamon and rosemary against *Sclerotinia* carrot rot. *Annals of applied biology*. 164(3). 415-429.
- Oliveira, W. A. D., Pereira, F. D. O., Luna, G. C. D. G. D., Lima, I. O., Wanderley, P. A., Lima, R. B. D., Lima, E. D. O. 2011. Antifungal activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor against *Candida albicans*. *Brazilian journal of microbiology*. 42(2). 433-441.
- Olivero-Verbel, J., Nerio, L. S., Stashenko, E. E. 2010. Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (*Coleoptera: Tenebrionidae*) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. *Pest management science*, 66(6), 664-668.
- Orav, A., Raal, A., Arak, E. 2008. Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. *Natural product research*. 22(3). 227-232.
- Özcan, M. M., Chalchat, J. C. 2006. Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum* L.) fruit oil at ripening stage. *Annals of mikrobiology*. 56(4). 353-358.
- Padalia, R. C., Verma, R. S., Chauhan, A., Sundaresan, V., Chanotiya, C. S. 2013. Essential oil composition of sixteen elite cultivars of *Mentha* from western Himalayan region, India. *Maejo international journal of science and technology*. 7(1). 83-93.
- Pandey, R. (2005). Management of *Meloidogyne incognita* in *Artemisia pallens* with bio-organics. *Phytoparasitica*. 33(3). 304-308.
- 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*. 17(3). 287-293.
- Pinheiro, P. F., Queiroz, V. T. D., Rondelli, V. M., Costa, A. V., Marcelino, T. D. P., Pratisoli, D. 2013. Insecticidal activity of citronella grass essential oil on *Frankliniella schultzei* and *Myzus persicae*. *Ciência e agrotecnologia*. 37(2). 138-144.
- Pino, O., Sánchez, Y., Rojas, M. M., Abreu, Y., Correa, T. M. 2012. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Pimpinella anisum* L. *Revista de protección vegetal*. 27(3). 181-187.

- Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A. 2008. Composition of the essential oil of spontaneous *Rosmarinus officinalis* from Greece and antifungal activity against phytopathogenic fungi. *Journal of essential oil research*. 20(5). 457-459.
- 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.
- Prokinová E. 2010. Atlas chorob. In: Kazda J., Mikulka J., Prokinová E. *Encyklopedie ochrany rostlin*. Profi Press s. r. o. Praha. 283 – 342. ISBN: 978-80-86726-34-2
- Reddy, M. B., Angers, P., Gosselin, A., Arul, J. 1998. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*. 47(8). 1515-1520.
- Remezani, H., Singh, H. P., Batish, D. R., Kohli, R. K., Dargan, J. S. 2002a. Fungicidal effect of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* and its major constituent citronellal. *New Zealand plant protection*. 55. 327-330.
- Remezani, H., Singh, H. P., Batish, D. R., Kohli, R. K. 2002b. Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*. *Fitoterapia*. 73 (3). 261-262.
- Rod J., Hluchý M., Zavadil K., Prášil J., Somssich M., Zacharda M. 2005. *Obrazový atlas chorob a škůdců zeleniny střední Evropy*. Biocont Laboratory, s. r. o. Brno. 400 s. ISBN: 80-901874-3-9
- Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A., Jordán, M. J. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hamalis* essential oils. *Food Control*. 19(7). 681-687.
- Saba, I., Iqbal, M. J., Iqbal, M. 2013. Bioactivity of *Eucalyptus citriodora* leaves essential oil. *AGROCHIMICA*. 57(2). 125-134.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*. 91(4). 621-632.
- Saikia, A. K., Chetia, D., D'Arrigo, M., Smeriglio, A., Strano, T., Ruberto, G. 2013. Screening of fruit and leaf essential oils of *Litsea cubeba* Pers. from north-east India-chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of essential oil research*. 25(4). 330-338.

- Sammour, R. H., Mahmoud, Y. A. G., Mustafa, A. A., Alhoziem, R. 2011. Biology, controlling and genetic variability in *Sclerotium cepivorum* Berk; the causal agent of *Allium* hite rot disease. *Current trends in microbiology*. (7). 101 – 111.
- Santana-Méridas, O., Polissiou, M., Izquierdo-Melero, M. E., Astraka, K., Tarantilis, P. A., Herraiz-Peñalver, D., Sánchez-Vioque, R. 2014. Polyphenol composition, antioxidant and bioplaguicide activities of the solid residue from hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*. 59. 125-134.
- Senatore, F., Oliviero, F., Scandolera, E., Tagliatalata-Scafati, O., Roscigno, G., Zaccardelli, M., De Falco, E. 2013. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel [*Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *azoricum* (Mill.) Thell]. *Fitoterapia*. 90. 214-219.
- Sharawi, S. E., Abd-Alla, S. M., Omara, S. M., Al-Ghamdi, K. M. 2013. Surface contact toxicity of clove and rosemary oils against American cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *African entomology*. 21 (2). 324-332.
- Sharifi, R., Kiani, H., Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M. 2008. Chemical composition of essential oils of Iranian *Pimpinella anisum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller and their antifungal activity against postharvest pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 11(5). 514-522.
- Scherer, R., Wagner, R., Duarte, M. C. T., Godoy, H. T. 2009. Composition and antioxidant and antimicrobial activities of clove, citronella and palmarosa essential oils. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 11(4). 442-449.
- Si, L., Chen, Y., Han, X., Zhan, Z., Tian, S., Cui, Q., Wang, Y. 2012. Chemical composition of essential oils of *Litsea cubeba* harvested from its distribution areas in China. *Molecules*, 17(6), 7057-7066.
- Singh, H. P., Batish, D. R., Kaur, S., Kohli, R. K., Arora, K. 2006. Phytotoxicity of the volatile monoterpene citronellal against some weeds. *Zeitschrift fur Naturforschung*. 61(5/6), 334.

- Singh, H. P., Kaur, S., Negi, K., Kumari, S., Saini, V., Batish, D. R., Kohli, R. K. 2012. Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemon-scented Eucalypt; *Myrtaceae*) and its major constituents. *LWT-Food Science and Technology*. 48(2). 237-241.
- Singh, P., Srivastava, B., Kumar, A., Kumar, R., Dubey, N. K., Gupta, R. 2008. Assessment of *Pelargonium graveolens* oil as plant-based antimicrobial and aflatoxin suppressor in food preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88(14). 2421-2425.
- Soković, M. D., Vukojević, J., Marin, P. D., Brkić, D. D., Vajs, V., Van Griensven, L. J. 2009. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules*. 14(1). 238-249.
- Sousa, L. L., de Andrade, S. C. A., Athayde, A. J. A. A., de Oliveira, C. E. V., de Sales, C. V., Madruga, M. S., de Souza, E. L. 2013. Efficacy of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils in combination to control postharvest pathogenic Aspergilli and autochthonous mycoflora in *Vitis labrusca* L. (table grapes). *International journal of food mikrobiology*. 165(3). 312-318.
- Soylu, E. M., Kurt, Ş., Soyly, S. 2010. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology*. 143(3). 183-189.
- Soylu, S., Yigitbas, H., Soyly, E. M., Kurt, Ş. 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of applied mikrobiology*. 103(4). 1021-1030.
- Talich P., Řehák V., Kocourek F. 2013. Metodická příručka integrované ochrany rostlin proti chorobám, škůdcům a plevelům POLNÍ PLODINY. Česká společnost rostlinolékařská. Praha. 360 s. ISBN: 978-80-02-02480-4
- Topiař, M., Sajfrtová, M., Sovová, H., Karban, J. 2013 Optimalizace a matematický popis hydrodestilace eukalyptu a lipie. Sborník Konference chemického a procesního inženýrství CHISA 2013. ISBN 978-80-02-02500-9. Dostupný také z: <<http://www.nusl.cz/ntk/nusl-161347>>

- Tripathi, P., Dubey, N. K., Shukla, A. K. 2008. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(1), 39-46.
- Tunc, I., Berger, B. M., Erler, F., Dağlı, F. 2000. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*. 36(2). 161-168.
- Turina, A. D. V., Nolan, M. V., Zygadlo, J. A., Perillo, M. A. 2006. Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. *Biophysical chemistry*. 122 (2). 101-113.
- 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.
- Vian, M. A., Fernandez, X., Visinoni, F., Chemat, F. 2008. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of chromatography a*. 1190(1). 14-17.
- Viret, O., Keller, M., Jaudzems, V. G., Cole, F. M. 2004. *Botrytis cinerea* infection of grape flowers: light and electron microscopical studies of infection sites. *Phytopathology*. 94(8). 850-857.
- Wang, H., Liu, Y. 2010. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from different parts of *Litsea cubeba*. *Chemistry & biodiversity*. 7(1). 229-235.
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., van Kan, J. A. 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*. 8(5). 561-580.
- Xiaolong, J., Dongyi, C., Jinan, Y., Wenbin, L., Yuanming, D. 1993. Analyses of essential oils of *Zanthoxylum bugeanum*, *Cymbopogon winterianus* and inhibitive effects on fungi of *Aspergillus* sp., *Fenicillium* sp. *Grain Storage*. 3. 002.
- Yang, K., Wang, Ch. F., Vy, Ch. X., Geng, Z. F., Sun, R. Q., Guo, S. S., Du, S. S., Lui, Z. L., Deng, Z. W. 2014. Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product insects. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 17(3). 459-466.

Yang, T. S., Liou, M. L., Hu, T. F., Peng, C. W., Liu, T. T. 2013. Antimicrobial activity of the essential oil of *Litsea cubeba* on cariogenic bacteria. *Journal of Essential Oil Research*. 25(2). 120-128.

Yang, Y., Jiang, J., Qimei, L., Yan, X., Zhao, J., Yuan, H., Wang, M. 2010. The fungicidal terpenoids and essential oil from *Litsea cubeba* in Tibet. *Molecules*. 15(10). 7075-7082.

Zeng, W., Kirk, W., Hao, J. 2012. Field management of *Sclerotinia* stem rot of soybean using biological control agents. *Biological Control*, 60(2), 141-147.

Zhang, W., Hu, J. F., Lv, W. W., Zhao, Q. C., Shi, G. B. 2012. Antibacterial, antifungal and cytotoxic isoquinoline alkaloids from *Litsea cubeba*. *Molecules*. 17(11). 12950-12960.

Zoubiri, S., Baaliouamer, A., Seba, N., Chamouni, N. 2014. Chemical composition and larvicidal activity of Algerian *Foeniculum vulgare* seed essential oil. *Arabian Journal of Chemistry*. 7(4), 480-485.

Internetové zdroje:

Anonym - Index fungorum. [online]. [cit. 6. 2. 2015]. Dostupné z <<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>>

Anonym – O zelenině [online]. [cit. 2015-3-10]. Zelinářská unie Čech a Moravy. Dostupné z: <<http://zucm.cz/o-zelenine/>>

Anonym – Rostlinolékařský portál [online]. [cit. 2015-2-25] Dostupné z: <http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/>

Index Fungorum. [Online] [cit. 2014-4-7] Dostupné z: <<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>>

Kemmitt, G. Early blight of potato and tomato [online]. Indianapolis. The American Phytopathological Society. 2002. 2013. [cit 2015-2-11]. Dostupné z: <<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/PotatoTomato.aspx>>

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

AS	<i>Alternaria solani</i>
BC	<i>Botrytis cinerea</i>
CW	<i>Cymbopogon winterianus</i>
ddH ₂ O	dvakrát destilovaná voda
DMSO	dimetylsufoxid
EC	<i>Eucalyptus citriodora</i> ,
EC ₅₀	koncentrace způsobující 50% inhibici růstu mycelia
EO	esenciální olej
FV	<i>Foeniculum vulgare</i> ,
LC	<i>Litsea cubeba</i> ,
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MS	<i>Mentha spicata</i> ,
PA	<i>Pimpinella anisum</i> ,
PDA	bramboro-dexterózový agar
PG	<i>Pelargonium graveolens</i>
RO	<i>Rosmarinus officinalis</i>
ROS	reaktivní forma kyslíku
SC	<i>Stromatinia cepivora</i>
SS	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
TV	<i>Thymus vulgaris</i>

Přílohy

Seznam příloh

Příloha 1: Obsah majoritních složek esence z <i>L. cubeba</i> (Wang et Liu, 2010).....	IV
Příloha 2: Inhibice růstu mycelia <i>B. cinerea</i> (%) při 0,1% koncentraci.....	V
Příloha 3: Inhibice růstu mycelia <i>A. solani</i> (%) při 0,1% koncentraci.....	VI
Příloha 4: Inhibice růstu mycelia <i>S. sclerotiorum</i> (%) při 0,1% koncentraci.....	VII
Příloha 5: Inhibice růstu mycelia <i>S. cepivora</i> (%) při 0,1% koncentraci	VIII
Příloha 6: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>C. winterianus</i> vůči patogenu <i>B. cinerea</i>	IX
Příloha 7: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>L. cubeba</i> vůči patogenu <i>B. cinerea</i>	X
Příloha 8: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>M. spicata</i> vůči patogenu <i>B. cinerea</i>	XI
Příloha 9: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>P. graveolens</i> vůči patogenu <i>B. cinerea</i>	XII
Příloha 10: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>T. vulgaris</i> vůči patogenu <i>B. cinerea</i>	XIII
Příloha 11: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>T. vulgaris</i> vůči patogenu <i>A. solani</i>	IX
Příloha 12: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>C. winterianus</i> vůči patogenu <i>S. sclerotiorum</i>	XIV
Příloha 13: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>E. citriodora</i> vůči patogenu <i>S. sclerotiorum</i>	XV
Příloha 14: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>F. vulgare</i> vůči patogenu <i>S. sclerotiorum</i>	XV
Příloha 15: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>L. cubeba</i> vůči patogenu <i>S. sclerotiorum</i>	XVI
Příloha 16: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>M. spicata</i> vůči patogenu <i>S. sclerotiorum</i>	XVI
Příloha 17: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>P. graveolens</i> vůči patogenu <i>S. sclerotiorum</i>	XVII
Příloha 18: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>T. vulgaris</i> vůči patogenu <i>S. sclerotiorum</i>	XVII

Příloha 19: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>C. winterianus</i> vůči patogenu <i>S. cepivora</i>	XVIII
Příloha 20: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>L. cubeba</i> vůči patogenu <i>S. cepivora</i>	XVIII
Příloha 21: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>M. spicata</i> vůči patogenu <i>S. cepivora</i>	XIX
Příloha 22: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>P. anisum</i> vůči patogenu <i>S. cepivora</i>	XIX
Příloha 23: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>P. graveolens</i> vůči patogenu <i>S. cepivora</i>	XX
Příloha 24: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z <i>T. vulgaris</i> vůči patogenu <i>S. cepivora</i>	XX
Příloha 25: Izoláty <i>B. cinerea</i>	XXI
Příloha 26: Netypický růst mycelia <i>B. cinerea</i> (Izolát BC-P2)	XXI
Příloha 27: Inhibice růstu mycelia <i>B. cinerea</i> (BC-R) při určité koncentraci esence z <i>C. winterianus</i>	XXII
Příloha 28: Inhibice růstu mycelia <i>B. cinerea</i> (BC-Z2) při určité koncentraci esence z <i>T. vulgaris</i>	XXIII
Příloha 29: Izoláty <i>S. sclerotiorum</i>	XXIV
Příloha 30: Inhibice růstu mycelia <i>S. sclerotiorum</i> (SS-M2) při určité koncentraci esence z <i>L. cubeba</i>	XXIV
Příloha 31: Inhibice růstu mycelia <i>S. sclerotiorum</i> (SS-M2) při určité koncentraci esence z <i>T. vulgaris</i>	XXV
Příloha 32: Inhibice růstu mycelia <i>S. sclerotiorum</i> (SS-M1) při určité koncentraci esence z <i>P. graveolens</i>	XXV
Příloha 33: Izoláty <i>A. solani</i>	XXVI
Příloha 34: Inhibice růstu mycelia <i>A. solani</i> při 0,1% koncentraci esence z <i>P. graveolens</i>	XXVI
Příloha 35: Inhibice růstu mycelia <i>A. solani</i> při 0,1% koncentraci esence z <i>M. spicata</i> ...XXVII	
Příloha 36: Inhibice růstu mycelia <i>A. solani</i> při 0,1% koncentraci esence z <i>T. vulgaris</i> ..XXVII	
Příloha 37: Inhibice růstu mycelia <i>A. solani</i> při 0,1% esenci z <i>C. winterianus</i>XXVII	
Příloha 38: Inhibice růstu mycelia <i>A. solani</i> (AS-9) při určité koncentraci esence z <i>T. vulgaris</i>	XXVIII
Příloha 39: Izoláty <i>S. cepivora</i>	XXVIII

Příloha 40: Inhibice růstu mycelia <i>S. cepivora</i> (SC-2) při určité koncentraci esence z <i>T. vulgaris</i>	XXIX
Příloha 41: Inhibice růstu mycelia <i>S. cepivora</i> (SC-1) při určité koncentraci esence z <i>L. cubeba</i>	XXIX
Příloha 42: Inhibice růstu mycelia <i>S. cepivora</i> (SC-2) při určité koncentraci esence z <i>M. spicata</i>	XXX
Příloha 43: Inhibice růstu mycelia <i>S. cepivora</i> (SC-3) při určité koncentraci esence z <i>P. graveolens</i>	XXX

Příloha 1: Obsah majoritních složek esence z *L. cubeba* (Wang et Liu, 2010)

rostlinné části	kořen	stonek/ větvička	list	poupě	květ	plod
množství EO (%)	0,31	0,29	1,3	2,3	3,1	2,1
Hlavní složky EO	neral (21,53 %)	β -felandren (18,74 %)	cineol (13,97 %)	β -felandren (3,74 %)	β -terpinen (33,17 %)	neral (63,75 %)
	citronellal (8,57 %)	terpinen-4-ol (12,05 %)	γ -elemen (8,27 %)	cineol (11,24 %)	cineol (13,68 %)	limonen (7,38 %)
	linalool (7,45 %)	limonen (9,82 %)	karyofylen (8,04 %)	α -pinen (8,95 %)	α -pinen (7,51 %)	Methyl heptenon (3,54 %)
	isopulegol (6,05 %)	α -thujanol (9,43 %)	linalool (6,94 %)	β -pinen (8,33 %)	β -pinen (7,25 %)	p-cymen (2,14 %)
	β -felandren (5,24 %)	β -pinen (6,94 %)	limonen (6,78 %)			

Příloha 2: Inhibice růstu mycelia *B. cinerea* (%) při 0,1% koncentraci

Esenciální olej	Varianta	Izoláty				
		BC - R	BC - Z1	BC-Z2	BC - P1	BC - P2
Cymbopogon winterianus	1.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	2.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	3.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Eucalyptus citriodora	1.	23,5	5,9	20,6	91,2	0,0
	2.	24,5	0,0	0,0	8,8	0,0
	3.	61,2	12,4	0,0	5,9	NT (0,75)
Foeniculum vulgare	1.	100,0	54,7	100,0	20,6	NT (0,25)
	2.	100,0	91,8	100,0	11,8	NT (0)
	3.	100,0	NT	100,0	48,0	100,0
Litsea cubeba	1.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	2.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	3.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Mentha spicata	1.	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0
	2.	100,0	100,0	100,0	100,0	9,0
	3.	100,0	100,0	100,0	20,6	100,0
Pimpinella anisum	1.	100,0	0,0	100,0	16,5	NT (0,45)
	2.	100,0	14,4	100,0	16,7	NT (0,45)
	3.	100,0	NT	100,0	55,8	NT (0,45)
Pelargonium graveolens	1.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	2.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	3.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Rozmarinus officinalis	1.	19,4	0,0	0,0	15,0	11,0
	2.	19,4	0,0	0,0	24,0	18,0
	3.	22,4	0,0	0,0	19,0	26,0
Thymus vulgaris	1.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	2.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	3.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NT= netypický růst

Příloha 3: Inhibice růstu mycelia *A. solani* (%) při 0,1% koncentraci

Esenciální olej	Varianta	Izoláty		
		AS-5	AS-7	AS-9
Cymbopogon winterianus	1.	90,67	100,00	44,59
	2.	62,00	100,00	49,04
	3.	100,00	100,00	49,04
Eucalyptus citriodora	1.	50,00	41,18	45,22
	2.	49,33	34,12	27,39
	3.	30,67	39,41	22,29
Foeniculum vulgare	1.	8,70	8,20	26,67
	2.	0,00	0,82	20,00
	3.	5,80	4,10	46,67
Litsea cubeba	1.	100,00	78,82	55,41
	2.	100,00	100,00	59,24
	3.	67,33	100,00	100,00
Mentha spicata	1.	84,00	100,00	36,31
	2.	76,00	100,00	42,68
	3.	100,00	100,00	57,96
Pimpinella anisum	1.	22,63	36,07	33,33
	2.	16,79	36,07	28,67
	3.	34,31	29,51	34,67
Pelargonium graveolens	1.	100,00	100,00	40,13
	2.	100,00	51,76	28,66
	3.	100,00	60,00	36,31
Rozmarinus officinalis	1.	11,33	18,82	27,39
	2.	10,67	15,29	42,68
	3.	8,67	21,18	26,75
Thymus vulgaris	1.	100,00	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00	100,00

Příloha 4: Inhibice růstu mycelia *S. sclerotiorum* (%) při 0,1% koncentraci

Esenciální olej	Varianta	Izoláty	
		SS-M1	SS-M2
Cymbopogon winterianus	1.	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00
Eucalyptus citriodora	1.	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00
Foeniculum vulgare	1.	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00
	3.	100,00	80,00
Litsea cubeba	1.	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00
Mentha spicata	1.	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00
Pimpinella anisum	1.	100,00	82,35
	2.	100,00	78,82
	3.	85,29	74,12
Pelargonium graveolens	1.	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00
Rosmarinus officinalis	1.	2,94	5,88
	2.	0,00	0,00
	3.	0,00	0,00
Thymus vulgaris	1.	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00

Příloha 5: Inhibice růstu mycelia *S. cepivora* (%) při 0,1% koncentraci

Esenciální olej	Varianta	Izoláty		
		SC-1	SC-2	SC-3
Cymbopogon winterianus	1.	100,00	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00	100,00
Eucalyptus citriodora	1.	25,29	100,00	15,88
	2.	8,24	100,00	5,88
	3.	5,88	100,00	2,94
Foeniculum vulgare	1.	82,35	29,41	15,88
	2.	95,29	0,00	54,12
	3.	56,47	62,35	80,00
Litsea cubeba	1.	100,00	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00	100,00
Mentha spicata	1.	84,00	100,00	100,00
	2.	76,00	100,00	100,00
	3.	100,00	62,35	100,00
Pimpinella anisum	1.	100,00	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00	100,00
Pelargonium graveolens	1.	100,00	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00	100,00
Rozmarinus officinalis	1.	72,94	57,65	50,59
	2.	69,41	35,29	0,00
	3.	83,53	51,76	5,88
Thymus vulgaris	1.	100,00	100,00	100,00
	2.	100,00	100,00	100,00
	3.	100,00	100,00	100,00

Příloha 6: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *C. winterianus* vůči patogenu *B. cinerea*

Izoláty	Koncentrace (%)										
	0,1	0,0625	0,05	0,04375	0,0375	0,03125	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
BC- Z1	100,00	^a	100,00	^a	^a	^a	32,35	8,82	7,65	0,00	0,00
	100,00	^a	100,00	^a	^a	^a	11,76	0,00	7,65	0,00	0,00
	100,00	^a	100,00	^a	^a	^a	11,76	0,00	2,94	0,00	0,00
BC- Z2	100,00	^a	100,00	^a	^a	^a	55,29	27,65	17,65	2,94	0,00
	100,00	^a	100,00	^a	^a	^a	64,71	10,59	15,29	0,00	0,00
	100,00	^a	100,00	^a	^a	^a	27,65	40,00	13,53	0,00	0,00
BC - R	100,00	^a	100,00	^a	^a	^a	100,00	10,00	17,65	0,00	0,00
	100,00	^a	100,00	^a	^a	^a	100,00	32,94	15,29	2,94	0,00
	100,00	^a	100,00	^a	^a	^a	47,06	35,29	13,53	28,24	0,00
BC-Z 15/1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	2,94	^a	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	29,41	^a	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	17,06	^a	^a	^a	^a	^a
BC-Z 15/2	100,00	100,00	100,00	100,00	69,41	20,00	^a	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	100,00	15,29	2,94	^a	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	100,00	10,59	2,94	^a	^a	^a	^a	^a

^a Při této koncentraci nebyl izolát testován

Příloha 7: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *L. cubeba* vůči patogenu *B. cinerea*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,05	0,04375	0,0375	0,03125	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
BC- Z1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	59,41	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	42,94	1,76	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	63,53	5,88	5,88	0,00	0,00
BC- Z2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	29,41	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	29,41	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	78,82	3,53	0,00	0,00	0,00
BC - R	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	49,41	25,88	5,88	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	64,71	26,47	10,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	48,24	19,41	17,65	0,00	0,00
BC-Z 15/1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	62,35	a	a	a	a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	47,06	a	a	a	a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	64,71	a	a	a	a
BC-Z 15/2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	74,71	a	a	a	a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	79,41	a	a	a	a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	60,59	a	a	a	a

^a Při této koncentraci nebyl izolát testován

Příloha 8: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *M. spicata* vůči patogenu *B. cinerea*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,05	0,04375	0,0375	0,03125	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
BC- Z1	100,00	100,00	100,00	81,18	55,88	21,18	14,12	5,88	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	82,35	50,00	29,41	15,88	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	62,35	37,65	14,71	19,41	0,00	0,00	0,00
BC- Z2	100,00	100,00	100,00	100,00	78,82	62,94	46,47	14,12	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	58,82	64,71	40,00	18,82	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	47,06	73,53	55,88	12,35	0,00	0,00
BC - R	100,00	100,00	100,00	100,00	65,88	72,35	51,76	26,47	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	68,24	74,12	34,12	11,76	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	64,71	76,47	55,88	20,00	0,00	0,00
BC-Z 15/1	100,00	100,00	100,00	100,00	a	a	a	a	a	a
	100,00	100,00	100,00	56,47	a	a	a	a	a	a
	100,00	100,00	100,00	82,94	a	a	a	a	a	a
BC-Z 15/2	100,00	100,00	100,00	85,88	a	a	a	a	a	a
	100,00	100,00	70,59	72,35	a	a	a	a	a	a
	100,00	100,00	85,88	79,41	a	a	a	a	a	a

^a Při této koncentraci nebyl izolát testován

Příloha 9: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *P. graveolens* vůči patogenu *B. cinerea*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,05	0,04375	0,0375	0,03125	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
BC- Z1	100,00	100,00	41,18	29,41	17,65	41,18	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	50,00	17,65	21,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	35,29	17,65	56,47	29,41	9,41	0,00	0,00	0,00
BC- Z2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	7,06	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	12,94	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	56,47	54,71	10,59	0,00	0,00	0,00
BC - R	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BC-Z 15/1	100,00	100,00	100,00	24,71	^a	^a	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	17,65	^a	^a	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	38,82	^a	^a	^a	^a	^a	^a
BC-Z 15/2	100,00	100,00	100,00	72,94	^a	^a	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	78,82	^a	^a	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	100,00	^a	^a	^a	^a	^a	^a

^a Při této koncentraci nebyl izolát testován

Příloha 10: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *T. vulgaris* vůči patogenu *B. cinerea*

Izoláty	Koncentrace (%)											
	0,1	0,05	0,04375	0,0375	0,03125	0,025	0,02188	0,01875	0,0125	0,00625	0,003125	0
BC- Z1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	84,71 ^a	8,82	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	82,35 ^a	14,12	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	91,76	70,59	100,00	^a	5,88	0,00	0,00	0,00
BC- Z2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	^a	55,88	29,41	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	^a	55,29	32,35	5,88	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	^a	47,06	34,12	29,41	0,00
BC - R	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	^a	46,47	32,35	5,88	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	^a	50,00	45,29	5,88	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	^a	45,29	30,59	5,88	0,00
BC-Z 15/1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	91,76	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	94,12	^a	^a	^a	^a
BC-Z 15/2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	90,59	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	81,76	^a	^a	^a	^a
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	75,29	^a	^a	^a	^a

^a Při této koncentraci nebyl izolát testován

Příloha 11: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *T. vulgaris* vůči patogenu *A. solani*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,05	0,04375	0,0375	0,03125	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
AS-5	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	50,72	21,74	20,29	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	84,06	53,62	24,64	18,12	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	78,26	60,87	18,84	23,19	0,00
AS-7	100,00	100,00	100,00	100,00	91,20	100,00	45,08	27,05	16,39	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	89,44	80,33	31,15	4,10	18,85	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	93,44	29,51	13,11	12,30	0,00
AS-9	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	27,78	17,46	11,90	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	95,24	23,02	6,35	8,73	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	96,83	39,68	14,29	6,35	0,00

Příloha 12: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *C. winterianus* vůči patogenu *S. sclerotiorum*

Izoláty	Koncentrace %									
	0,1	0,0875	0,075	0,0625	0,05	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
SS-M1	100,00	100,00	100,00	44,71	11,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	55,29	24,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	0,00	10,59	35,29	8,24	0,00	0,00	0,00
SS-M2	100,00	100,00	100,00	100,00	19,41	19,41	4,12	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	2,94	5,88	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	11,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Příloha 13: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *E. citriodora* vůči patogenu *S. sclerotiorum*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,0875	0,075	0,0625	0,05	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
SS-M1	100%	100,00	100,00	100,00	86,47	12,94	12,94	0,00	0,00	0,00
	100%	100,00	100,00	100,00	12,94	51,18	5,29	0,00	0,00	0,00
	100%	100,00	100,00	71,76	24,12	38,82	18,82	0,00	0,00	0,00
SS-M2	100%	100,00	100,00	100,00	68,24	55,88	0,00	0,00	0,00	0,00
	100%	100,00	100,00	100,00	82,35	62,94	0,00	0,00	0,00	0,00
	100%	100,00	100,00	100,00	84,71	58,82	0,00	0,00	0,00	0,00

Příloha 14: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *F. vulgare* vůči patogenu *S. sclerotiorum*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,0875	0,075	0,05	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0	
SS-M1	100,00	100,00	80,00	70,59	22,35	0,00	0,00	0,00	0,00	
	100,00	89,41	91,76	68,24	2,94	0,00	0,00	0,00	0,00	
	100,00	90,59	70,59	50,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
SS-M2	100,00	100,00	76,47	64,71	42,94	0,00	0,00	0,00	0,00	
	100,00	54,71	86,47	100,00	51,76	0,00	0,00	0,00	0,00	
	80,00	80,59	64,71	100,00	58,24	0,00	0,00	0,00	0,00	

Příloha 15: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *L. cubeba* vůči patogenu *S. sclerotiorum*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,05	0,04375	0,0375	0,03125	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
SS-M1	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	2,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	11,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SS-M2	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Příloha 16: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *M. spicata* vůči patogenu *S. sclerotiorum*

Izoláty	Koncentrace %									
	0,1	0,0875	0,075	0,0625	0,05	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
SS-M1	100,00	100,00	100,00	100,00	78,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	61,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	82,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SS-M2	100,00	100,00	100,00	100,00	78,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	51,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	71,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Příloha 17: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *P. graveolens* vůči patogenu *S. sclerotiorum*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,05	0,04375	0,0375	0,03125	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
SS-M1	100,00	100,00	100,00	84,71	71,76	65,29	10,59	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	62,35	51,76	30,00	4,71	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	78,24	55,88	12,94	15,88	0,00	0,00	0,00
SS-M2	100,00	100,00	100,00	82,35	58,82	2,94	16,47	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	75,29	57,65	52,35	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	71,76	54,12	20,59	0,00	0,00	0,00	0,00

Příloha 18: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *T. vulgaris* vůči patogenu *S. sclerotiorum*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,05	0,025	0,02188	0,01875	0,01563	0,0125	0,00625	0,003125	0
SS-M1	100,00	100,00	100,00	58,82	38,82	30,59	23,53	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	52,94	42,35	25,88	0,00	8,24	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	78,82	19,41	15,29	0,00	5,88	0,00	0,00
SS-M2	100,00	100,00	100,00	38,24	37,65	17,06	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	42,94	26,47	9,41	20,59	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	28,82	28,24	0,00	0,00	5,88	0,00	0,00

Příloha 19: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *C. winterianus* vůči patogenu *S. cepivora*

Izoláty	Koncentrace %									
	0,1	0,05	0,04375	0,0375	0,03125	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
SC-1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	20,50	14,29	1,24	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	34,16	17,39	35,40	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	36,65	21,12	0,00	0,00
SC-2	100,00	100,00	100,00	81,18	100,00	91,76	5,29	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	68,24	100,00	56,47	8,24	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	24,12	0,00	2,94	0,00	0,00
SC-3	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	83,53	5,88	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	41,18	25,88	0,00	0,00	0,00

Příloha 20: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *L. cubeba* vůči patogenu *S. cepivora*

Izoláty	Koncentrace %										
	0,1	0,0875	0,075	0,0625	0,05	0,04375	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
SC-1	100,00	100,00	100,00	100,00	51,76	82,35	100,00	5,88	29,41	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	42,35	52,94	82,35	65,29	33,53	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	12,94	24,71	56,47	5,29	22,35	0,00	0,00
SC-2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	62,35	51,76	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	67,06	22,35	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	64,71	7,06	0,00	0,00	0,00	0,00
SC-3	100,00	100,00	100,00	100,00	40,00	31,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	59,41	22,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	61,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Příloha 21: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *M. spicata* vůči patogenu *S. cepivora*

Izoláty	Koncentrace (%)								
	0,1	0,0625	0,05	0,04375	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
SC-1	100,00	100,00	100,00	57,06	88,24	21,76	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	47,06	62,35	24,12	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	40,00	41,18	44,71	0,00	0,00	0,00
SC-2	100,00	100,00	100,00	4,71	32,94	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	16,47	28,24	8,82	0,00	0,00	0,00
	62,35	100,00	100,00	51,76	44,71	22,35	0,00	0,00	0,00
SC-3	100,00	100,00	84,71	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	85,88	41,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	83,53	75,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Příloha 22: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *P. anisum* vůči patogenu *S. cepivora*

Izolát	Koncentrace %										
	0,1	0,0875	0,075	0,0625	0,05	0,04375	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0
SC-1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	68,94	42,86	23,60	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	61,49	46,58	25,47	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	86,34	100,00	68,94	57,76	28,57	0,00	0,00
SC-2	100,00	100,00	100,00	87,06	41,76	33,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	83,53	30,59	75,29	5,88	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	85,88	81,18	0,00	21,18	0,00	0,00	0,00	0,00
SC-3	100,00	100,00	100,00	90,59	52,94	63,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	75,88	55,29	22,35	20,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	0,00	29,41	34,71	36,47	27,06	0,00	0,00	0,00

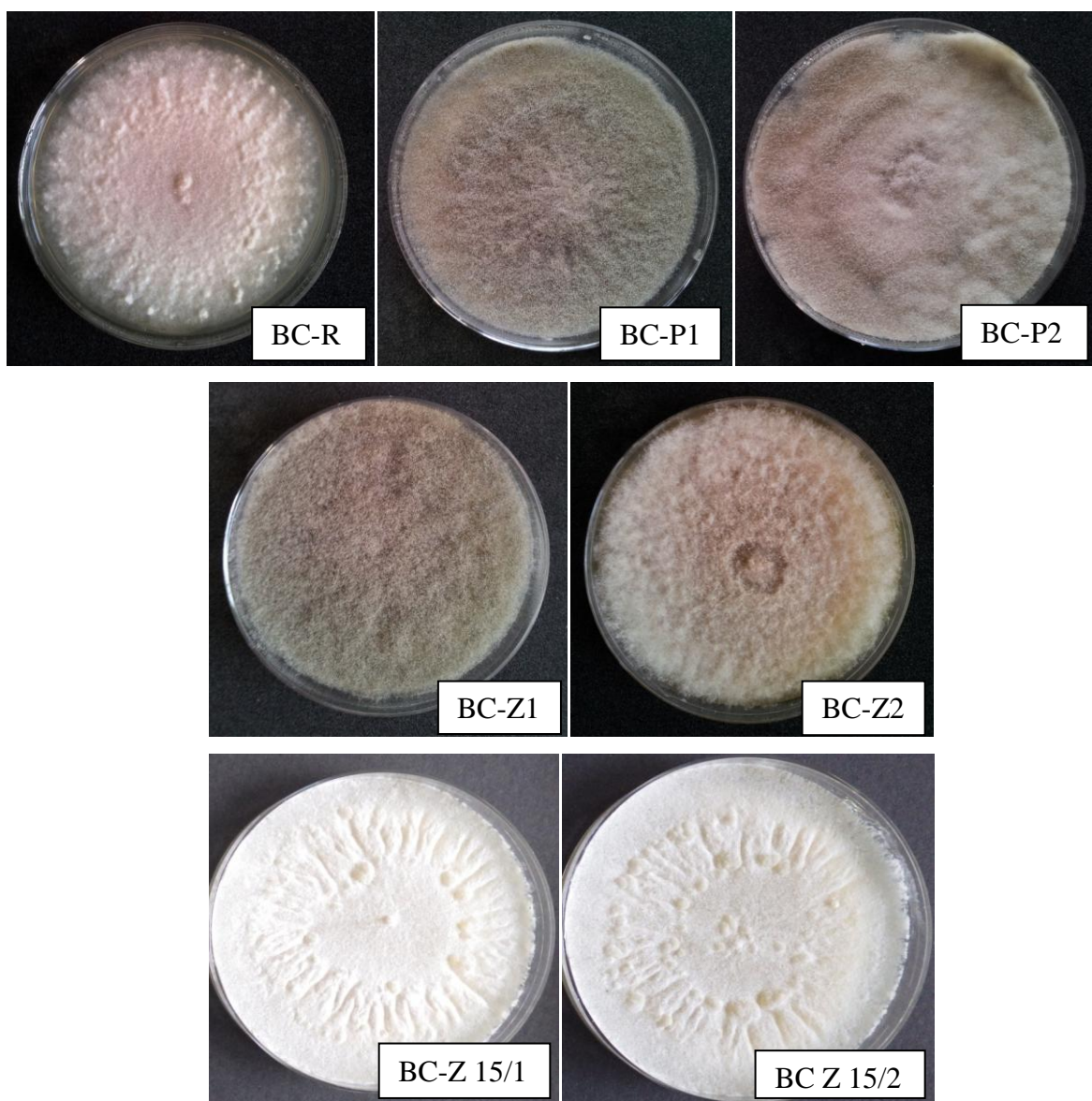
Příloha 23: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *P. graveolens* vůči patogenu *S. cepivora*

Izoláty	Koncentrace %									
	0,1	0,05	0,03125	0,025	0,02188	0,01875	0,0125	0,00625	0,003125	0
SC-1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	13,53	58,39	54,04	-5,59	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	58,24	72,94	85,09	72,05	16,77	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	51,76	37,06	59,01	56,52	22,98	0,00
SC-2	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	32,94	68,24	18,24	2,94	0,00
	100,00	100,00	100,00	57,65	0,00	35,88	27,06	14,71	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	68,24	0,00	30,59	85,29	0,00	0,00	0,00
SC-3	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00

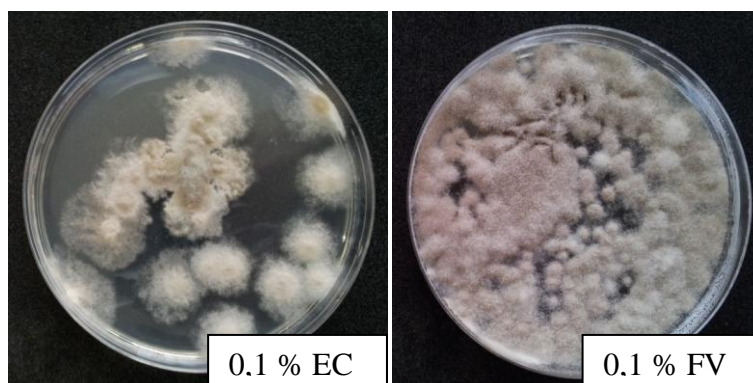
Příloha 24: Inhibiční účinky koncentrační řady esence z *T. vulgaris* vůči patogenu *S. cepivora*

Izoláty	Koncentrace (%)									
	0,1	0,05	0,025	0,02188	0,01875	0,01563	0,0125	0,00625	0,003125	0
SC-1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	89,41	70,59	49,41	44,12	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	96,47	65,88	47,06	48,82	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	92,94	56,47	50,00	41,18	0,00
SC-2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	81,18	31,18	13,53	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	85,88	87,06	20,00	13,53	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	87,06	83,53	20,59	21,18	0,00
SC-3	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	51,76	77,65	20,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	77,65	43,53	0,00	0,00	0,00
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	60,00	57,65	31,76	0,00	0,00

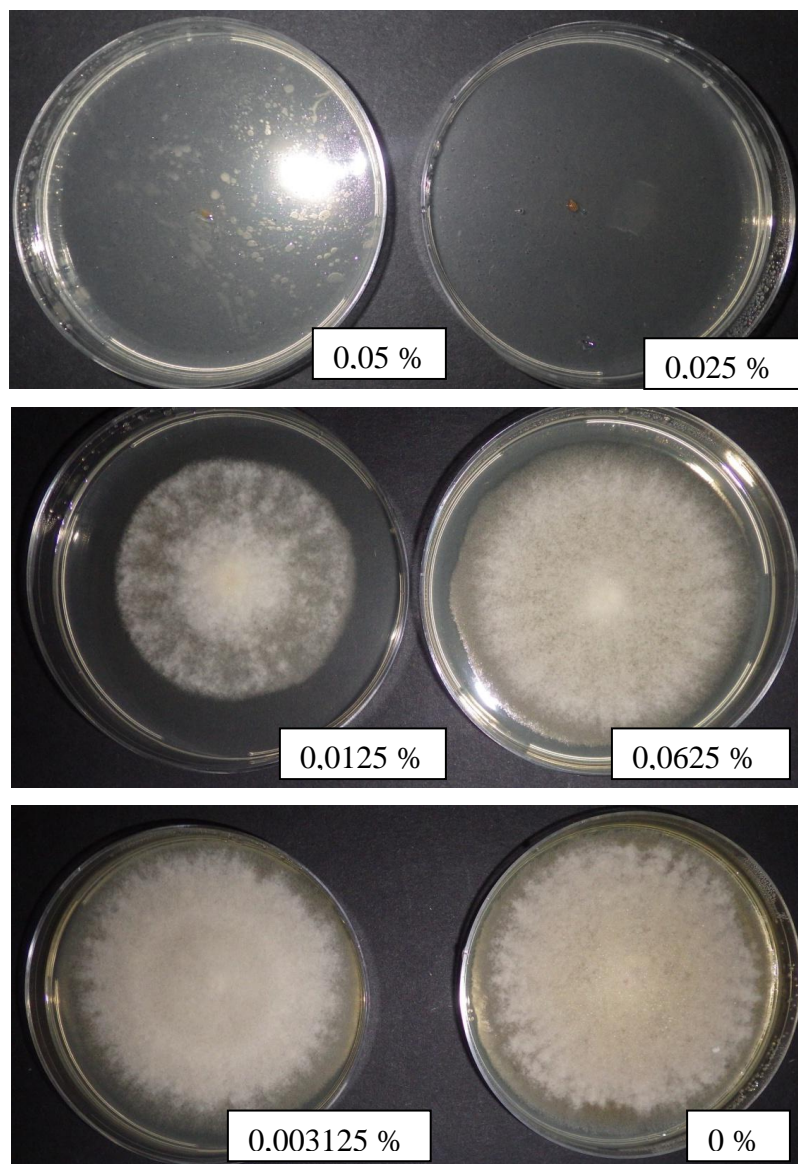
Příloha 25: Izoláty *B. cinerea*



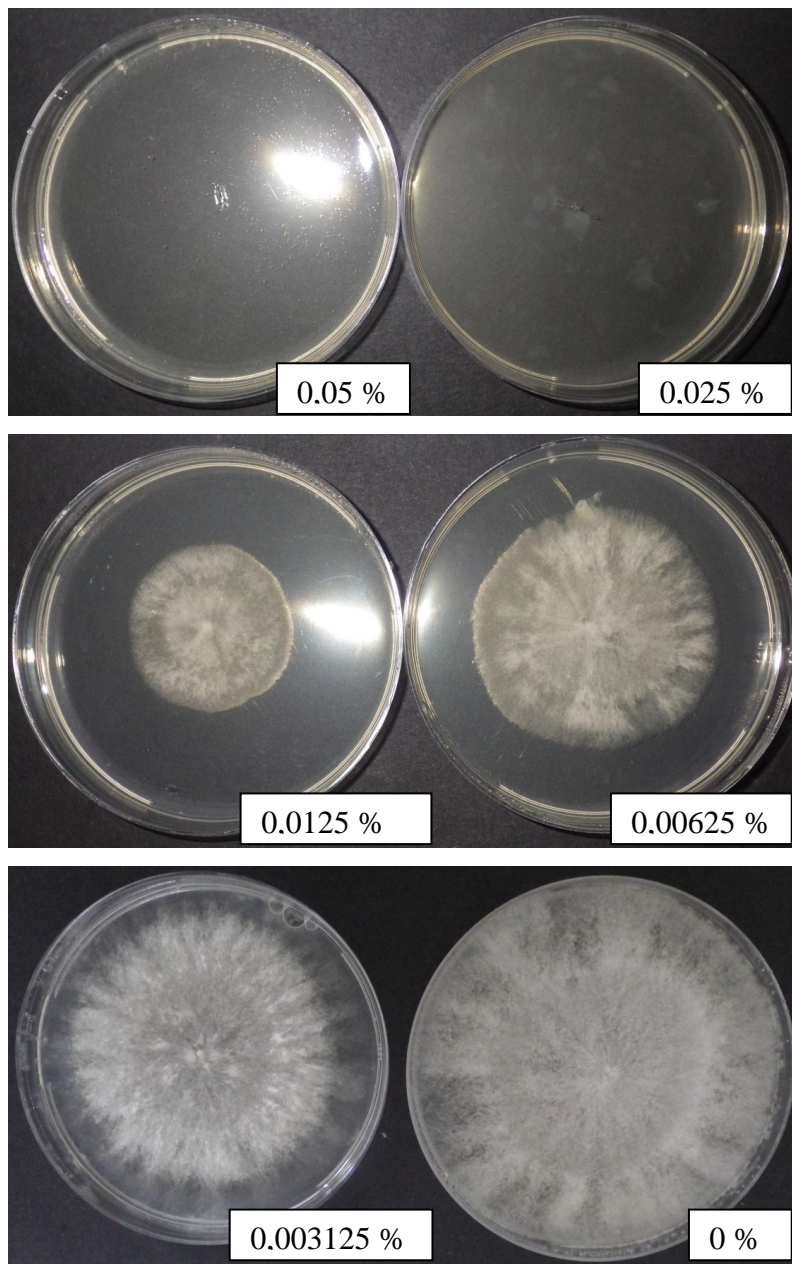
Příloha 26: Netypický růst mycelia *B. cinerea* (Izolát BC-P2) (esence a koncentrace uvedena na obrázku)



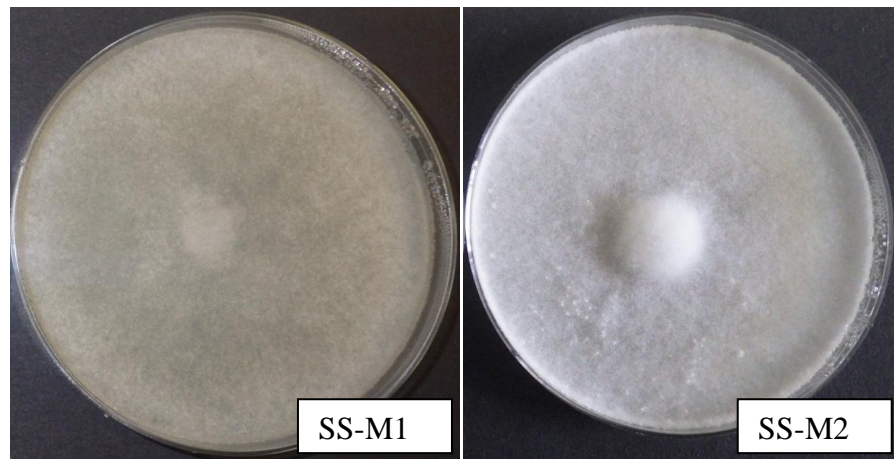
Příloha 27: Inhibice růstu mycelia *B. cinerea* (BC-R) při určité koncentraci esence z *C. winterianus*



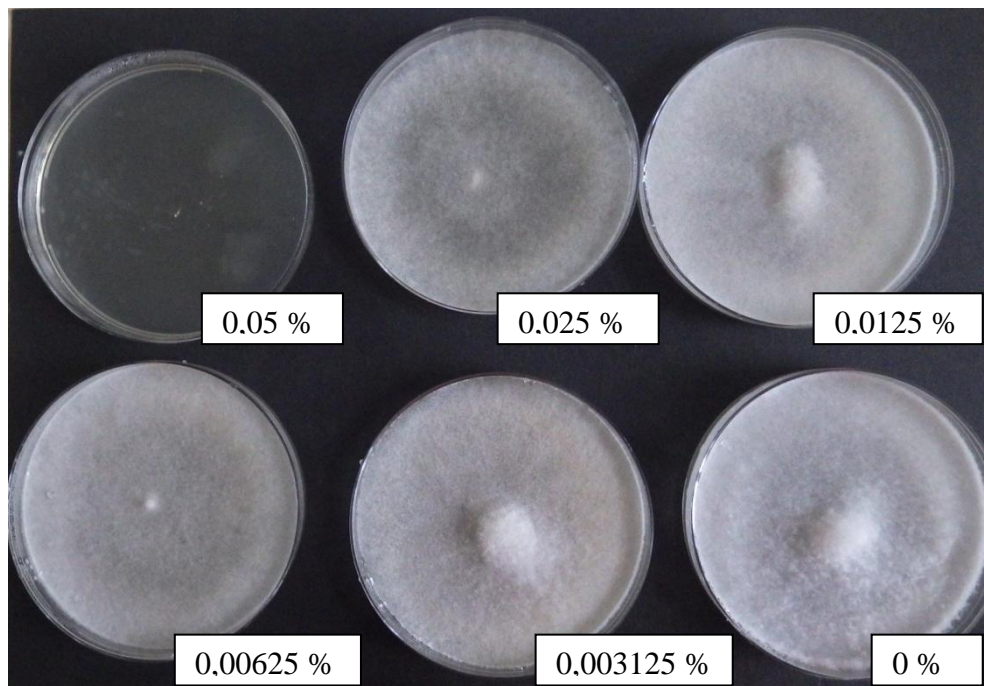
Příloha 28: Inhibice růstu mycelia *B. cinerea* (BC-Z2) při určité koncentraci esence z *T. vulgaris*



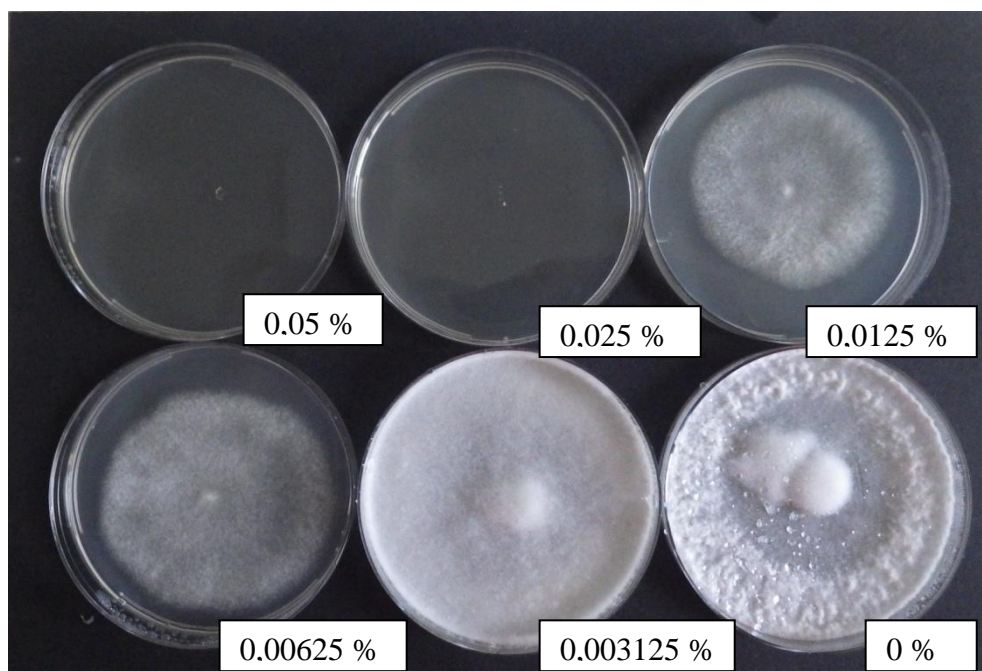
Příloha 29: Izoláty *S. sclerotiorum*



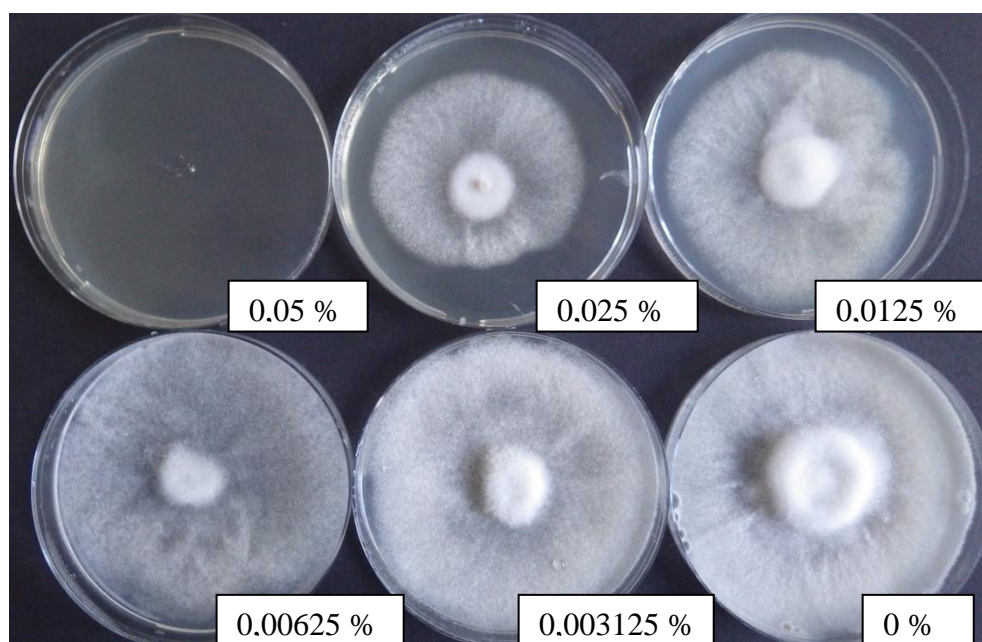
Příloha 30: Inhibice růstu mycelia *S. sclerotiorum* (SS-M2) při určité koncentraci esence z *L. cubeba*



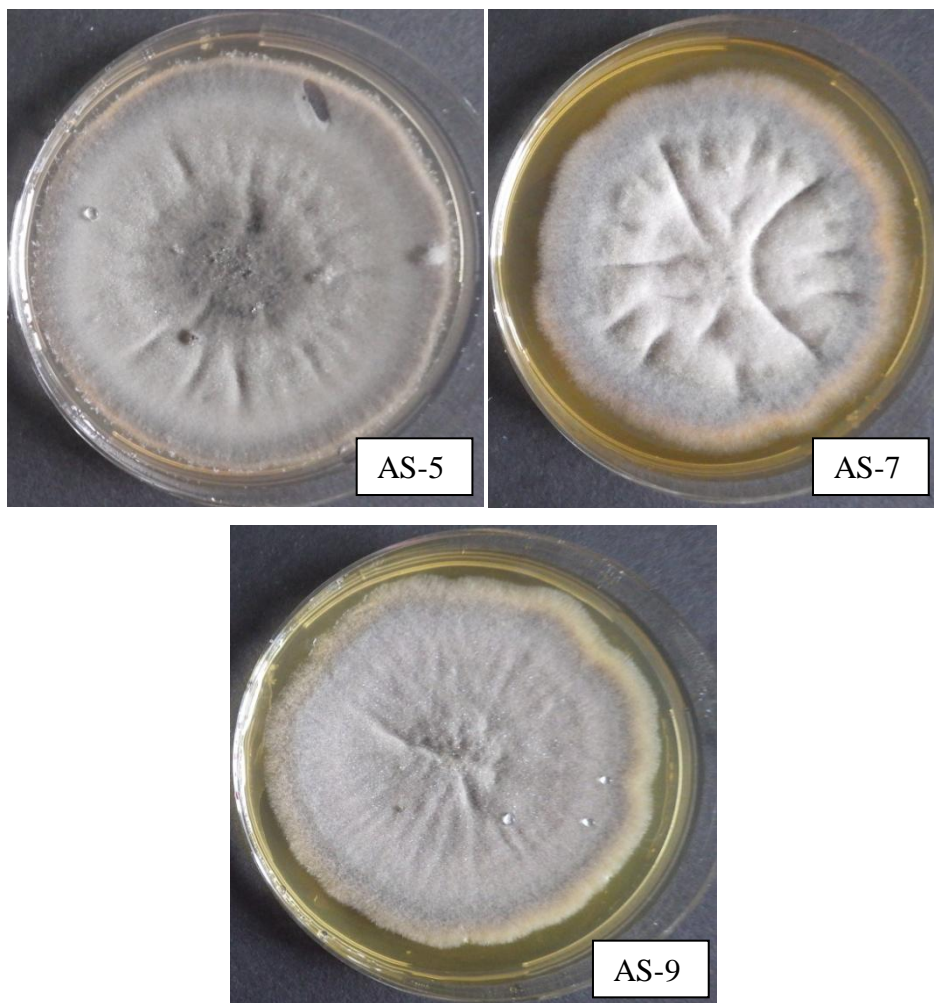
Příloha 31: Inhibice růstu mycelia *S. sclerotiorum* (SS-M2) při určité koncentraci esence z *T. vulgaris*



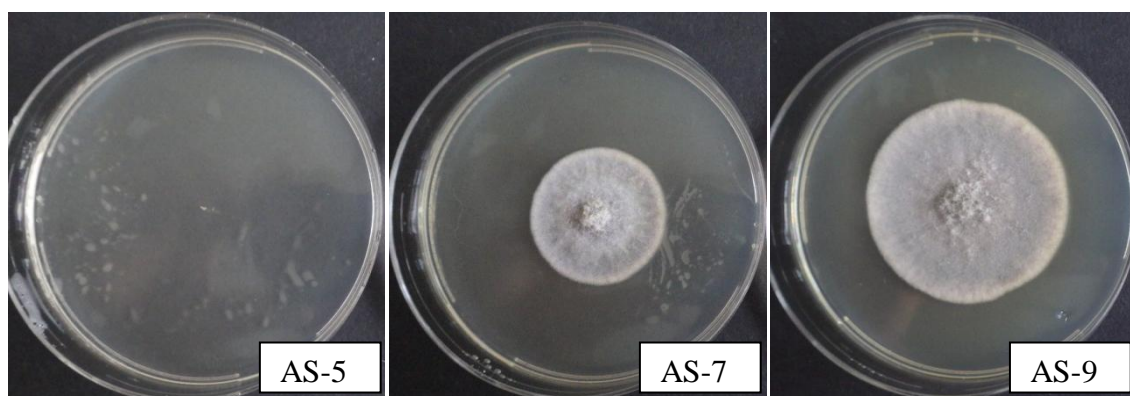
Příloha 32: Inhibice růstu mycelia *S. sclerotiorum* (SS-M1) při určité koncentraci esence z *P. graveolens*



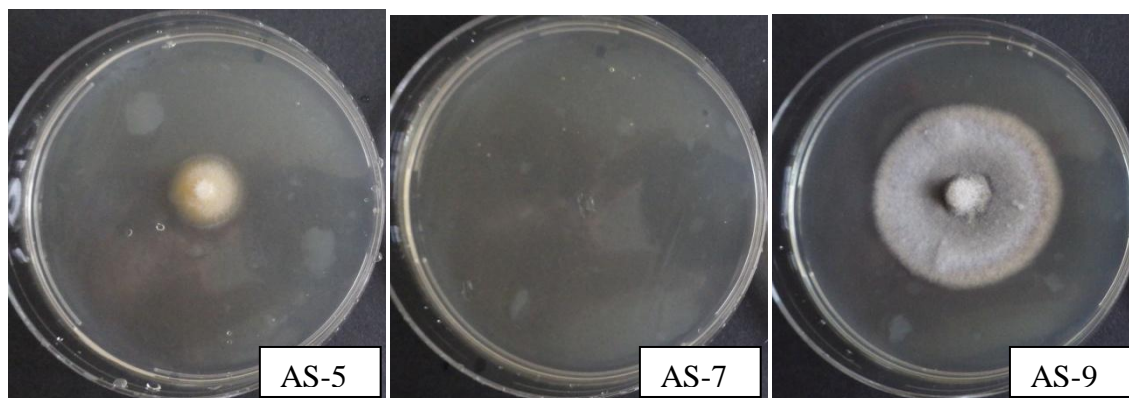
Příloha 33: Izoláty *A. solani*



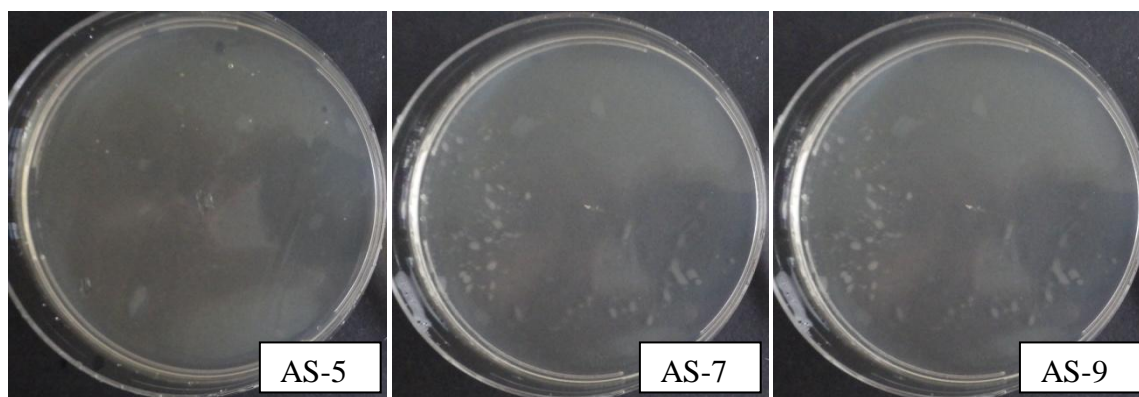
Příloha 34: Inhibice růstu mycelia *A. solani* při 0,1% esenci z *P. graveolens*



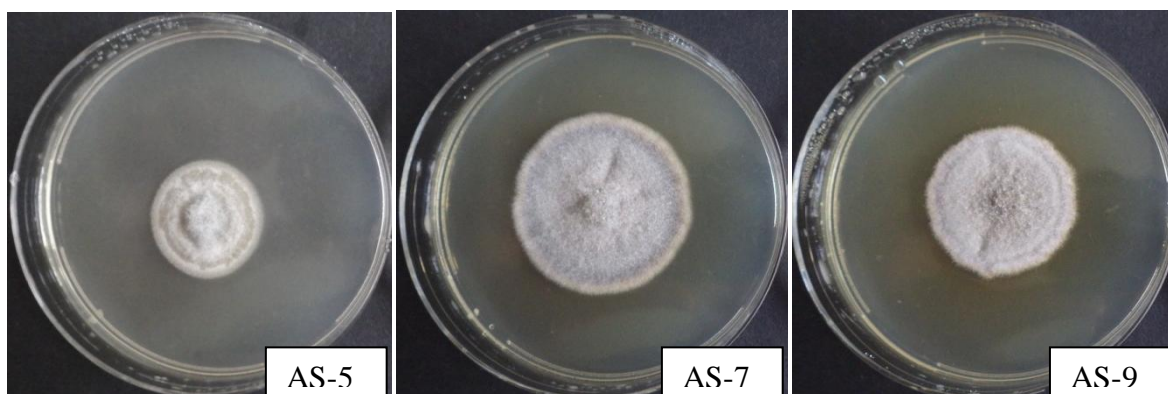
Příloha 35: Inhibice růstu mycelia *A. solani* při 0,1% koncentraci esence z *M. spicata*



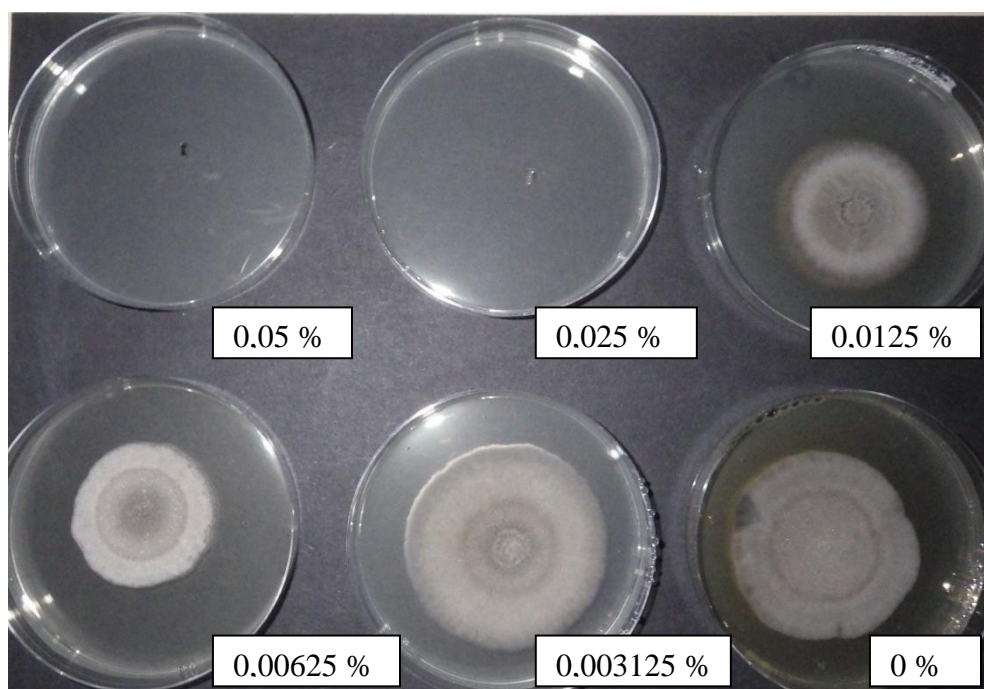
Příloha 36: Inhibice růstu mycelia *A. solani* při 0,1% koncentraci esence z *T. vulgaris*



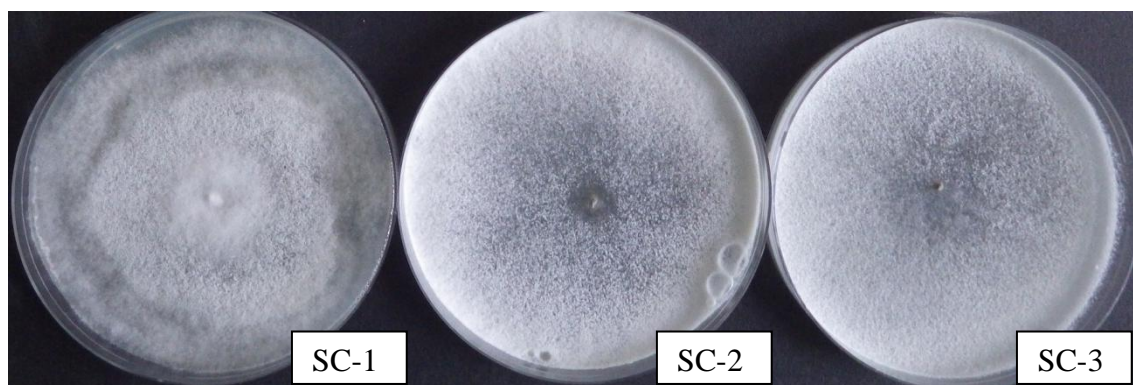
Příloha 37: Inhibice růstu mycelia *A. solani* při 0,1% esenci z *C. winterianus*



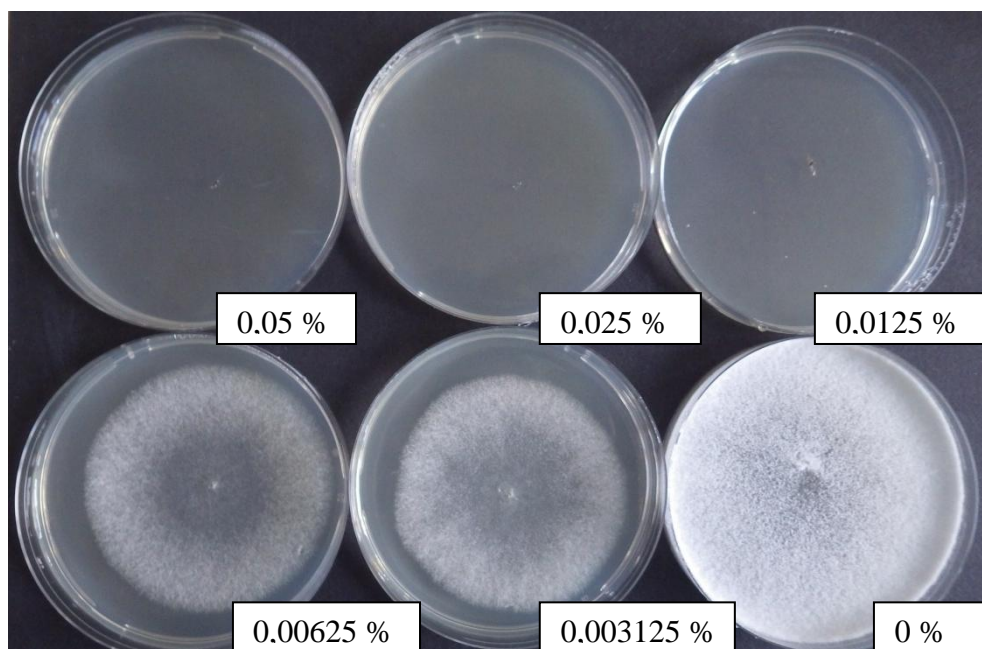
Příloha 38: Inhibice růstu mycelia *A. solani* (AS-9) při určité koncentraci esence z *T. vulgaris*



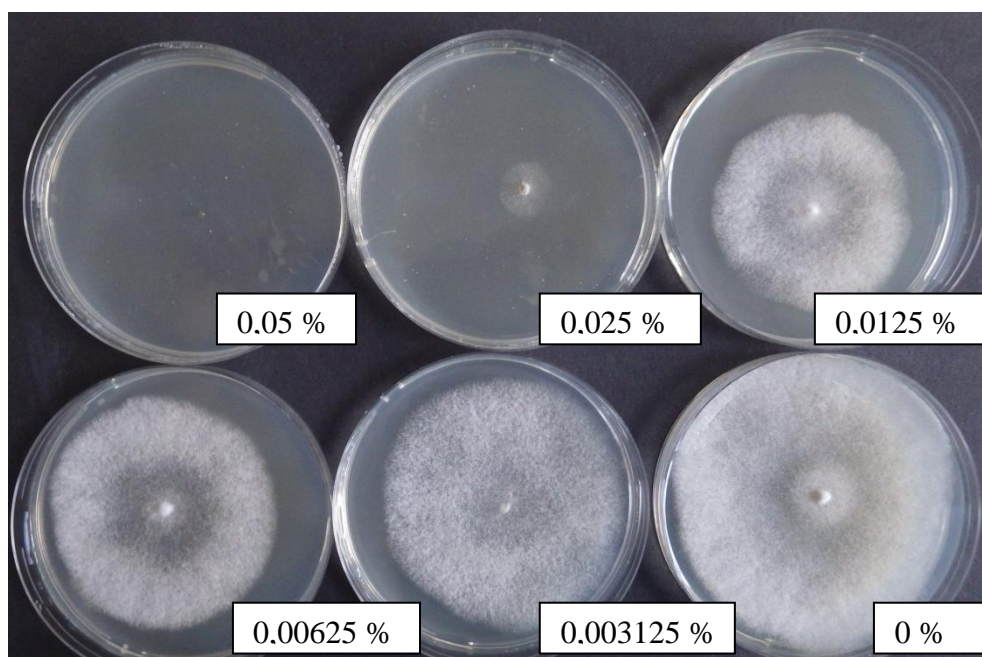
Příloha 39: Izoláty *S. cepivora*



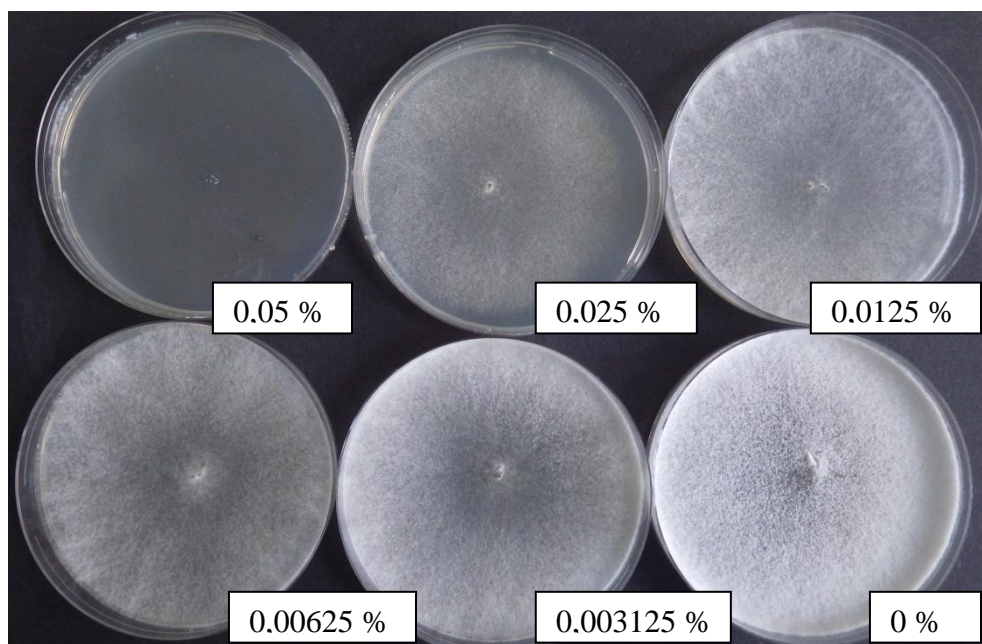
Příloha 40: Inhibice růstu mycelia *S. cepivora* (SC-2) při určité koncentraci esence z *T. vulgaris*



Příloha 41: Inhibice růstu mycelia *S. cepivora* (SC-1) při určité koncentraci esence z *L. cubeba*



Příloha 42: Inhibice růstu mycelia *S. cepivora* (SC-2) při určité koncentraci esence z *M. spicata*



Příloha 43: Inhibice růstu mycelia *S. cepivora* (SC-3) při určité koncentraci esence z *P. graveolens*

