

**Mendelova univerzita v Brně**

**Zahradnická fakulta v Lednici**

**CHARAKTERISTIKA HOUBOVÝCH PATOGENŮ  
ZPŮSOBUJÍCÍCH ONEMOCNĚNÍ KMÍNKŮ RÉVY VINNÉ  
(GRAPEVINE TRUNK DISEASES)**

**Bakalářská práce**

Vedoucí bakalářské práce  
Ing. Aleš Eichmeier, Ph.D.

Vypracovala  
Ivana Grunová

Lednice 2016

Zadání

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci: CHARAKTERISTIKA HOUBOVÝCH PATOGENŮ ZPŮSOBUJÍCÍCH ONEMOCNĚNÍ KMÍNKŮ RÉVY VINNÉ (GRAPEVINE TRUNK DISEASES) vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 Autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity o tom, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne:

---

podpis

## **Poděkování**

Děkuji vedoucímu práce Ing. Aleši Eichmeierovi, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, ochotu a čas, který mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnoval. Zároveň děkuji Dr. GeorGINě Eleně Jiménez za cenné rady při realizaci práce. Poděkování patří i mým nejbližším za podporu po celou dobu studia.

## Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce .....	9
3	Původci onemocnění kmínků révy vinné a symptomy .....	10
3.1	Mladé vinice .....	10
3.1.1	Černání pat kmínku révy (Black Foot Disease of Grapevines) .....	10
3.1.2	Botryosferiové odumírání révy (Botryosphaeria Dieback).....	11
3.1.3	Petriho choroba (Petri Disease).....	12
3.2	Dospělé vinice .....	13
3.2.1	Botryosferiové odumírání révy (Botryosphaeria Diaback).....	13
3.2.2	ESCA .....	13
3.2.3	Eutypové odumírání révy (Eutypa Dieback) .....	14
3.2.4	Phomopsisové odumírání révy (Phomopsis Dead Arm).....	15
4	Taxonomické rozdělení GTD patogenů.....	16
4.1	Rod <i>Botryosphaeria</i> .....	16
4.1.1	<i>Botryosphaeria dothidea</i> (Moug.) Ces. & De Not., 1863.....	16
4.2	Rod <i>Diplodia</i> .....	16
4.2.1	<i>Diplodia mutila</i> (Fr) Mont. 1834 .....	16
4.2.2	<i>Diplodia seriata</i> De Notaris.....	17
4.3	Rod <i>Dothiorella</i> .....	17
4.3.1	<i>Dothiorella iberica</i> A. J. L. Phillips, J. Luque & A. Alves, 2005 .....	17
4.4	Rod <i>Lasiodiplodia</i> .....	17
4.4.1	<i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Pat.) Griffon & Maubl., 1909.....	17
4.5	Rod <i>Neofusicoccum</i> .....	17
4.5.1	<i>Neofusicoccum australe</i> (Slippers, Crous & M.J. Wingf.) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips, 2006 .....	18
4.5.2	<i>Neofusicoccum luteum</i> (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips, 2006 .....	18
4.5.3	<i>Neofusicoccum parvum</i> (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips, 2006 .....	18

4.6	Rod <i>Spencermartinsia</i> .....	18
4.6.1	<i>Spencermartinsia viticola</i> (A.J.L. Phillips & J. Luque) A.J.L. Phillips, A. Alves & Crous, 2008.....	19
4.7	Rod <i>Phaeomoniella</i> .....	19
4.7.1	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai) Crous & W. Gams, 2000.....	19
4.8	Rod <i>Cadophora</i> .....	19
4.8.1	<i>Cadophora luteo-olivacea</i> (J. F. H. Beyma) T. C. Harr. & McNew, 2003	19
4.9	Rod <i>Phomopsis</i> .....	20
4.9.1	<i>Phomopsis viticola</i> (Sacc.) Sacc., 1915 .....	20
4.10	Rod <i>Phaeoacremonium</i> .....	20
4.10.1	<i>Phaeoacremonium cinereum</i> Gramaje, Mohammadi, Banihash., Armengol & L. Mostert, 2009 .....	20
4.10.2	<i>Phaeoacremonium hispanicum</i> Gramaje, Armengol & L. Mostert, 2009.	21
4.11	Rod <i>Campylocarpon</i> .....	21
4.11.1	<i>Campylocarpon pseudofasciculare</i> Halleen, Schroers & Crous, 2004 .....	21
4.12	Rod <i>Cylindrocladiella</i> .....	21
4.13	Rod <i>Dactylonectria</i> .....	22
4.14	Rod <i>Ilyonectria</i> .....	22
4.14.1	<i>Ilyonectria liriiodendri</i> (Halleen, Rego & Crous) P. Chaverri & C. Salgado, 2011 .....	22
4.14.2	<i>Ilyonectria macrodidyma</i> (Halleen, Schroers & Crous) P. Chaverri & C. Salgado, 2011.....	22
4.14.3	<i>Ilyonectria robusta</i> (A. A. Hildebr.) A. Cabral & Crous, 2012.....	22
4.15	Rod <i>Diatrype</i> .....	23
4.15.1	<i>Diatrype oregonensis</i> (Wehm.) Rappaz, 1987.....	23
4.15.2	<i>Diatrype stigma</i> (Hoffm.) Fr., 1849.....	23
4.15.3	<i>Diatrype whitmanensis</i> J. D. Rogers & Glawe, 1983 .....	23
4.16	Rod <i>Diatrypella</i> .....	23
4.16.1	<i>Diatrypella favacea</i> (Fr.) Ces. & De Not., 1863.....	23

4.17	Rod <i>Eutypa</i> .....	24
4.17.1	<i>Eutypa lata</i> (Pers.) Tul. & C. Tul., 1863 .....	24
4.18	Rod <i>Eutypella</i> .....	24
4.19	Taxonomické zařazení GTD patogenů .....	25
5	Světové rozšíření GTD a působené ekonomické ztráty .....	26
6	Metody detekce .....	28
6.1	Izolace hub .....	28
6.2	Morfologické studium .....	29
6.3	Detekce na molekulární úrovni .....	29
7	Strategie ochrany .....	31
7.1	Biologický způsob ochrany .....	32
7.2	Chemický způsob ochrany .....	33
7.3	Agrotechnický způsob ochrany .....	34
8	Vlastní komentář k řešené problematice .....	35
9	Závěr .....	37
10	Souhrn a Resume, Klíčová slova .....	38
11	Seznam použité literatury .....	39
12	Seznam obrázků a tabulek .....	47
13	Seznam zkratk .....	48
14	Přílohy .....	49

# 1 Úvod

Onemocnění kmínků révy vinné (*Vitis vinifera* L.), dále GTD z anglického Grapevine Trunk Diseases, je celosvětově rozšířený komplex houbových patogenů způsobující choroby révy vinné. Soubor houbových patogenů způsobuje onemocnění projevující se strukturními a fyziologickými změnami v rostlině. Díky celosvětovému rozšíření řadíme GTD k jednomu z nejdestruktivnějších biotických činitelů produkčních vinic, způsobující významné ztráty v ekonomice vinohradnických podniků. Dosud nebyla vyřešena otázka primární a sekundární infekce jednotlivými patogeny. Projevy příznaků, od změny zbarvení a deformace listů až k vadnutí letorostů a odumírání rostliny, jsou různorodé ve vinohradnických oblastech světa díky různým geografickým podmínkám (klíma, teplota), použitého podnožového a roubového materiálu při výrobě sazenic, ročníku, stáří vinohradu aj.

Problém tohoto onemocnění začal pomalu přicházet do povědomí vinohradníků od konce 80. let 20. století. Kontrola výskytu a šíření GTD je omezena dostupnými opatřeními. Možnost případné efektivní kontroly GTD prostřednictvím fungicidů není k dispozici, jelikož dostupné přípravky byly díky své toxicitě zakázány, a další možné efektivní ošetření neexistuje (ÚRBEZ-TORRES et al. 2006). Řezné rány patří k nejrizikovějším vstupům GTD patogenů do rostliny. Ošetření řezných ran omezuje růst hub na otevřených ranách (GRAMAJE 2015).

Fytopatogenní houby se mohou vyskytovat často i v latentní formě v pletivech rostlin. Infikované rostliny nelze léčit, proto je kladen velký důraz na zdravý mateční materiál využívaný k výrobě certifikovaných školkařských sazenic.

Závažnost GTD ve vztahu k působeným ekonomickým ztrátám se začala diskutovat koncem 80. let 20. století. V 90. letech 20. století se začaly objevovat první publikace o GTD. Důsledkem zásadního významu v oblasti vinařského průmyslu byla založena mezinárodní rada zaměřující se na GTD, International Council on Grapevine Trunk Diseases. Hlavním úkolem International Council on Grapevine Trunk Diseases (ICGTD) je koordinace spolupráce mezi různými vědeckými ústavami zaměřujícími se na studium zásadního onemocnění postihující země pěstující révu vinnou (*Vitis vinifera* L.).



## **2 Cíl práce**

Cílem bakalářské práce bylo soustředit, zpracovat a vyhodnotit dostupné informace problematiky GTD – onemocnění kmínků révy vinné. Charakterizovat kauzální houbové patogeny způsobující GTD. Popsat symptomy působené jednotlivými GTD patogeny, možnosti detekce patogenů, oblasti výskytu GTD a ekonomické ztráty.

### 3 Původci onemocnění kmínků révy vinné a symptomy

Pod názvem onemocnění kmínků révy vinné (dále GTD, z anglického Grapevine Trunk Diseases) rozumíme soubor různých chorob, které jsou zapříčiněny mnoha druhy různých houbových patogenů (GRAMAJE a ARMENGOL 2011) vstupující do rostlin přes řezné rány ve dřevě révy (ÚRBEZ-TORRES et al. 2006). V roce 2014 bylo označeno 103 druhů houbových patogenů způsobující GTD. Různé a proměnlivé příznaky závislé na kultivaru a geografické oblasti jsou charakteristické zvláště pro každou chorobu, obecně se jedná o pomalé chřadnutí révy způsobené přerušением cévní vodivosti nebo produkcí toxických látek (ÚRBEZ-TORRES et al. 2006). Do komplexu chorob řadíme Chřadnutí a odumírání révy (ESCA a Petriho choroba), Černání pat kmínku révy, Eutypové odumírání révy a Botryosferiové odumírání révy (AGUSTÍ-BRISACH et al. 2014). Z nich ESCA, Petriho choroba a Eutypové odumírání révy obvykle vedou ke smrti rostliny (HOFSTETTER et al. 2012).

Ve výskytu chorob hrají zásadní roli faktory abiotické (klíma, teplota, půda) a biotické (stáří rostliny, odrůda, podnož, agrotechnika, smíšené infekce – ostatní patogeny) (HOFSTETTER et al. 2012; GRAMAJE 2015).

#### 3.1 Mladé vinice

Černání pat kmínku révy, Petriho choroba a Botryosferiové odumírání rostlin se podílejí na slábnutí mladých vinic (GRAMAJE a ARMENGOL 2011). Infikované matečnice a školkařská činnost s chorobami postiženými sazenicemi přispívají k neustálému udržování a rozšiřování chorob kmene v mladých vinicích (GRAMAJE 2015).

Mladými vinicemi rozumíme vinice do 8. roku, kdy se nejčastěji jedná o postižení sazenic ve školkách a nově vysazených vinicích. Choroby přispívají k poklesu produkce a životnosti. Výsledkem zpětných šetření rostlin z napadených vinohradů je infekčnost sazenic již před výsadbou nového vinohradu, či zapěstováním ve školkách, kdy houbové patogeny vniknou do rostlin během štěpování, nebo si nesou infekčnost z matečnic (podnožového a roubového materiálu) (GRAMAJE a ARMENGOL 2011).

##### 3.1.1 Černání pat kmínku révy (Black Foot Disease of Grapevines)

Název choroby odvozen od černého zbarvení zasažených kořenů (ALANIZ et al. 2007). Za Černáním pat kmínku révy stojí několik houbových druhů rodu

*Campylocarpon*, *Cylindrocarpon*, *Cylindrocladiella* a *Ilyonectria*. Černání pat kmínku révy způsobuje značné ekonomické ztráty ve světovém vinohradnickém průmyslu. První popis symptomů choroby pochází z francouzských vinic z 60. let 20. století. Začátkem 90. let 20. století se stala choroba rostoucím problémem jak ve školkách, tak v mladých výsadbách (HAAG et al. 2014).

Patogeny infikují především kmen a kořeny rostlin. Na příčném řezu kmenem se objevují v místě paty kmenu nekrózy, dřevní svazky jsou ucpány černými cizorodými útvary (Příloha č. 1 kapitola 14) (HAAG et al. 2014). Kořenový systém a jeho vlášení je potlačováno v růstu, čím vzniká málo kořenové biomasy. Kořeny jsou černé, zakrslé, nekrotické. Relativně často vypadají kořeny normálně, jsou pravidelně, ale mělce rozprostřeny, což brání rostlině k dostatečnému příjmu živin (ALANIZ et al. 2007). Důsledkem je slabý růst na jaře, zpomalený růst vedoucí ke krátkým internodiím na letorostech a malým chlorotickým listům. Eventuálním následkem je smrt rostliny během období růstu, nebo následující zimy. Velmi často příznakové rostliny mají nepravidelné vlášení, které na jedné straně zcela chybí, tzv. J-rooting (Příloha č. 2 kapitola 14) (HAAG et al. 2014; GRAMAJE 2015).

Černání pat kmínku révy se vyskytuje ve všech hlavních vinohradnických regionech od Evropy, přes Blízký východ, Jihoafrickou republiku až po Severní a Jižní Ameriku (HAAG et al. 2014).

Vhodným způsobem ochrany může být vyšlechtění rezistentního hostitele, v našem případě podnože, a biologická ochrana (GRAMAJE a ARMENGOL 2011). Patogen infikuje rostlinu přes otevřené rány, vzniklé přirozeně nebo lidskou činností. Největším rizikem je štěpování sazenic (použití nesterilních strojů, což umožňuje snadné šíření infekce) a zimní řez (nesterilní plochy nůžek, velké rány). Za primární zdroj inokulace považujeme půdu. Pro vypěstování zdravých sazenic je důležité se vyhnout těžkým zádržným půdám. Využití mykorrhizní houby *Glomus intraradices*, některých zástupců rodu *Trichoderma*, před inokulací patogenem, vede ke zdravým kontrolám bez patogena (GRAMAJE a ARMENGOL 2011).

### **3.1.2 Botryosferiové odumírání révy (*Botryosphaeria* Dieback)**

Infekci zapříčiňuje rod *Botryosphaeriaceae*. Riziko infekce roste absencí dezinfekce používaných nástrojů při výrobě sazenic. Nadzemní orgány jsou vedle množitelského materiálu pro výrobu sazenic nejrizikovějším místem nákazy kvůli každoročnímu poškození řeznými ranami při zimním řezu a mechanickým poraněním.

Omlazením rostliny vzniká velká řezná rána na kmenu rostliny a jejím neošetřením vstupuje do rostliny infekce. Uvolňující se konidie z pyknid se za účasti deště a větru usazují na povrchu otevřených ran. Zde dochází k rozmnožení a kolonie napadají vodivá pletiva přes dřevní svazky (PITT et al. 2012).

Poškozením vodivého systému a tvorbou nádorů rostlina chřadne. Omezení růstu nových letorostů a slabý růst na jaře je typický. K dalším symptomům řadíme úhyn oček. Na odumřelém dřevě se během čtyř let tvoří černé kulaté pyknidy. Na řezu starého víceletého dřeva, podélném i příčném, vidíme typické trvalé klínovité nekrózy (Příloha č. 3 kapitola 14). Smrt rostliny nastane, pokud nekróza proroste celým pletivem rostliny. Symptomatická odpověď na rostlině závisí na místě vstupu patogena. Zasažena může být pouze polovina rostliny, kde se projeví symptomy, a druhá nevykazuje žádné poškození, růst je normální (Příloha č. 4 kapitola 14). Symptomy jsou výraznější při stresu suchem. Stejné symptomy jsou patrné i v dospělých vinicích. Symptomy vedou k omezené sklizni (PITT et al. 2010).

Choroba je rozšířena v USA, Mexiku, Evropě, Jihoafrické republice a západní až jihovýchodní Asii (PITT et al. 2010).

### **3.1.3 Petriho choroba (Petri Disease)**

Dosavadní bádání odhalilo, že Petriho chorobu společně s ESCA způsobují především houbové druhy rodu *Phaeoacremonium* a *Phaeomoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai) Crous & W. Gams, 2000 (MUGNAI et al. 1999).

Napadené rostliny slábnou, vadnou, postupně odumírají, až do fáze kdy odchází celá rostlina (MUGNAI et al. 1999). Chlorotické listy s okrajovými nekrózami, zabrzděný kořenový růst, zpomalené až chybějící rašení jsou nejviditelnějšími projevy choroby (GRAMAJE et al. 2009). Patogeny postihují především podnož, kde černají vodivé svazky. Infekce se šíří vodivým systémem dřeva a negativně ovlivňuje zdraví rostliny. Na příčném řezu postiženým kmenem vidíme hnědé až černé cévní svazky dřevní, gumové a fenolické celky (kuličky) vzniklé jako reakce rostliny na růst patogenů (Příloha č. 5 kapitola 14). Tyto části na vzduchu černají. Vnější symptomy na listech a plodech jsou zapříčiněny ucpáváním cévních svazků a s tím související změna zbarvení napadeného dřeva uvnitř kmenu. Výjimečně se objevuje bílá hniloba společně s listovými symptomy (MUGNAI et al. 1999).

Zdroj infekce patogenů je půda a množitelský materiál (GRAMAJE 2015).

## 3.2 Dospělé vinice

Od 8. roku rostliny, tj. již v zapěstovaných produkčních vinicích, se mohou na révě projevit tři choroby komplexu GTD, Botryosferiové a Eutypové odumírání révy a ESCA (GRAMAJE 2015).

### 3.2.1 Botryosferiové odumírání révy (*Botryosphaeria Diaback*)

Viz kapitola 3.1.2 Botryosferiové odumírání révy (*Botryosphaeria Dieback*) na straně 14.

### 3.2.2 ESCA

ESCA je známá též jako Chřadnutí a odumírání révy, či jako „černé neštovice“ (LECOMTE et al. 2012; MUGNAI et al. 1999).

Název ESCA pochází z latinského slova znamenající jídlo, neduh či obrazně návnada (MUGNAI et al. 1999).

Díky obrovské rozmanitosti symptomů na listech a dřevě rozlišujeme dvě formy, chronickou a akutní. Hlavním hlediskem rozdělení je jejich kritičnost a rozsah poškození (LECOMTE et al. 2012).

Chronická forma postihuje kmen, ramena, letorosty, listy i plody. K nejčastějšímu symptomu řadíme bílou hnilobu (MUGNAI et al. 1999), způsobenou stopkovýtrusnými houbami (LECOMTE et al. 2012), která způsobuje změnu z tvrdého dřeva na měkkou houbovou formu měnící barvu do krémově žluté až bělavé (Příloha č. 6 kapitola 14). Na příčném řezu můžeme vidět oddělení zdravého pletiva od shnilého tlustou černou až tmavě hnědou čárou. Hnití dřeva se rozšiřuje jak směrem nahoru, tak i dolů podél kmenu. Málokdy pokračuje přes místo roubování do kořenů. Malé, tmavě hnědé nebo černé tečky se shromažďují ve skupinách okolo letokruhů, ve dřevě v blízkosti dřeně (PITT et al. 2010). Na příčném řezu se skupiny teček jeví jako pruhy a na podélném jako sloupce. Z černých teček se často vyvíjejí růžovo hnědá až tmavě červeno hnědá místa především v centrálním sloupci kmenu a po okrajích poškozeného pletiva, čímž odděluje zdravé pletivo od napadeného. Hnědé útvary různých tvarů a struktur se objevují s výše zmíněnými změnami zbarvení na povrchu velkých řezných ran (MUGNAI et al. 1999). Symptomy na listech se začínají objevovat na přelomu jara a léta (LECOMTE et al. 2012). Na listech se objevují světle zelené až chlorotické tečky, které se zvětšují až do nekrotických skvrn ohraničené žilnatinou a okrajem listů, tzv. tygrovitost (Příloha č. 7 kapitola 14). V úzkém pásu okolo hlavních žilek se nachází

zelené pletivo. Vadnutí letorostů a plodů je způsobeno nefunkčností dřevních vodivých svazků (MUGNAI et al. 1999) a možným stresem způsobeným nedostatkem vody v důsledku cévních okluzí (VAN ALFEN 1989). Na pokožce bobulí vznikají povrchové černé skvrny, výraznější u bílých odrůd, od toho odvozeno používané pojmenování „černé neštovice“. Symptomy na listech a plodech se nemusí projevit každý rok na stejném místě. Rozsáhlost poškození není specifická – často jsou poškozeny pouze některé bobule v hroznu, všechny hrozny na letorostu či část letorostů (MUGNAI et al. 1999).

Akutní forma, označovaná jako apoplexie, nastává na přelomu jara a léta (HAAG et al. 2014), kdy zprvu u zdravě vypadající rostliny začne bazipetálně uvadat listová stěna a třapina s plody sesychat. Během několika dní se zdravé zelené listy změni přes bledě zelenou až šedo zelenou na kompletně uschlé. Možnou příčinou rozvoje apoplexie je teplé léto, popř. konec jara, kdy po vydatných srážkách následuje sucho. Tím se zahustí obsah toxických metabolitů a zvýší se jejich aktivita související se zvýšenou transpirací (MUGNAI et al. 1999).

Do zapěstované rostliny se infekce dostává vzduchem přes neošetřené rány a při výrobě sazenic (GRAMAJE 2015).

K hlavním patogenům patří *Phaeomoniella chlamydospora* (PHILIPS et al. 2008), druhy rodu *Phaeoacremonium* a *Basidiomycetes*.

### **3.2.3 Eutypové odumírání révy (Eutypa Dieback)**

Eutypové odumírání révy patří k vážným chorobám pomalu vedoucí ke smrti rostliny. Chorobu způsobují druhy hub rodu *Diatrypaceae* (MUNKVOLD 1994).

Listové symptomy jsou nejpatrnější na jaře při délce letorostů 30 až 70 cm. Zakrslé letorosty se zkrácenými internodii a malými chlorotickými listy (Příloha č. 8 kapitola 14). Listy mají chlorotický okraj a nekrotické pletivo mezi cévami. Většina květů uschne dřív, než se stačí otevřít. Řidší hrozny mají menší bobule. Přes řezné rány prostupuje infekce do cévních svazků dřeva kmenu i ramen. Hrozny s menším počtem bobulí a velikostí. Kolonie způsobují hnědé nekrózy klínovitého tvaru (Příloha č. 9 kapitola 14). Měkká hniloba často doprovází popisovanou chorobu (BERTSCH et al. 2013).

Rizikovým místem infekce jsou rány. Spory patogena se šíří vzduchem (GRAMAJE 2015). Askospory jsou uvolněny z peritecií hodinu až dvě po ovlhčení, postačují 2 mm srážek. Askospory vyklíčí a rozrůstají se do dřeva. Následkem toho se

na rostlině projevují symptomy (HALLEEN et al. 2010).

#### **3.2.4 Phomopsisové odumírání révy (Phomopsis Dead Arm)**

Phomopsisové odumírání révy, dříve označováno jako odumírání ramen (dead-arm disease of grape, způsobují houby z čeledi *Diaporthaceae* – *Diaporthe ambigua*, *Diaporthe eres*, *Diaporthe neotheicola* a *Phomopsis viticola* (ÚRBEZ-TORRES 2014).

Na jaře je typický slabý růst. Patogeny napadají všechny zelené části rostliny. Na listech se objevují malé světle zelené až žluté skvrny s nekrotickým středem. Při čtenějším zastoupení skvrn odumírá celý list. Na letorostech se tvoří hnědé až černé nekrotické nepravidelně tvarované léze, které se během vegetace prodlužují a mohou i podélně praskat (Příloha č. 10 kapitola 14). Skvrny se nejčastěji objevují ve spodní části letorostu. Houby způsobují zesvětlení až vybělení borky vyzrávajících letorostů. Na světlé borce lze pozorovat nápadné černé plodničky pyknid. Infikované dřevo je na povrchu černé a na příčném řezu lze vidět klínovité nekrózy. Pletivo může být zasaženo i v kmenu a ramenech. Patogeny způsobují zkrácená internodia a odumírání letorostů. Tmavé nekrotické skvrny se mohou objevit na květenství a později i na zelených plodech. Při větší infekci způsobují usychání až opad. Výjimečně se může infekce projevit na podzim, kdy se po deštivé periodě před sklizní objevují na plodech světle hnědé skvrny, které se zvětšují a hnědnou (ÚRBEZ-TORRES et al. 2013; Chakroun et al. 2014; PINE 1958).

Přezimující pyknidy na dřevě uvolňují za deštivého počasí na jaře spory, které jsou kapkami přenášeny na mladé letorosty a způsobují infekci (PINE 1958).

## 4 Taxonomické rozdělení GTD patogenů

Houby, také Fungi, Mycota, Mycetes, žijí v nejrůznějších prostředích a na nejrůznějších substrátech. Některé druhy jsou pozorovány pouhým okem, makromycety, některé za pomoci mikroskopu, mikromycety (KLABAN 2011).

Choroby kmenu révy zapříčiňující nevratné změny v rostlině jsou způsobeny fytopatogenními mikroskopickými houbami vřeckovýtrusnými (KLABAN 2011). Vzhledem k obsáhlosti této kapitoly budou zmíněny pouze nejvýznamnější druhy tříd komplexu GTD.

### 4.1 Rod *Botryosphaeria*

Houby rodu *Botryosphaeria* patří ke kauzálním patogenům dřevitých rostlin. Bylo popsáno 13 druhů zapříčiňující symptomy choroby révy (ÚRBEZ-TORRES et al. 2006).

Izoláty hub rodu *Botryosphaeria* byly nalezeny v Egyptě, Kalifornii, Arizoně, Mexiku, Maďarsku, Francii, Itálii, Portugalsku, Španělsku, Jižní Africe, Chile, Austrálii (ÚRBEZ-TORRES et al. 2006).

#### 4.1.1 *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not., 1863

Bílé vzdušné mycelium, postupně se měnící v zelené až tmavě zelené po 4 až 5 denní inkubaci při pokojové teplotě. Tvořící samostatné, malé, černé pyknidy s hyalinními a tenkostěnnými konidii. Velikost konidií pohybující se kolem  $23,5 - 32 \times 6 - 9 \mu\text{m}$  (Příloha č. 11 kapitola 14). Optimální teplota pro růst je  $30,8^\circ\text{C}$  (ÚRBEZ-TORRES et al. 2006).

### 4.2 Rod *Diplodia*

Houby rodu *Diplodia* jsou kauzálními patogeny způsobující Botryosferiové odumírání révy – nekrózy dřeva, cévní pruhování, trvalé nádory, odumírání kmenu, slabá chloróza, omezené rašení, vadnutí listů. Celosvětově rozšířený, vyskytující se i na rodu *Malus* (MOHAMMADI et al. 2013).

#### 4.2.1 *Diplodia mutila* (Fr) Mont. 1834

Izolát produkující tmavě zelené kolonie. Vzdušné mycelium se samostatnými, malými, tmavě hnědými a černými pyknidy. Pyknidy pozorovány již v mladé kultuře, 7 denní. Konidie pigmentované a tlustostěnné. Bez rozmnožovacích orgánů. Tvořící



pigmentované, tlustostěnné konidie o průměrné velikosti  $24,3 - 28 \times 12 - 14,6 \mu\text{m}$  (Příloha č. 12 kapitola 14). Optimální teplota růstu při  $24,8 \text{ }^\circ\text{C}$  (ÚRBEZ-TORRES et al. 2006).

#### **4.2.2 *Diplodia seriata* De Notaris**

Husté mycelium s koloniemi barvy od bílé přes šedou, tmavě olivově zelené do černé, dosahující průměru  $27,9 \text{ mm}$  při  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  (optimální teplota) po dobu 48 hodin. Zbarvené tlustostěnné konidie vejcovitého tvaru s kulatým vrcholem, měřící  $23,5 \times 9,3 \mu\text{m}$ . Samostatné, malé, tmavě hnědé a černé pyknidy v 7 dní staré kultuře (Příloha č. 12 kapitola 14). Optimum při  $26,8 \text{ }^\circ\text{C}$  (MOHAMMADI et al. 2013).

### **4.3 Rod *Dothiorella***

Popsány 3 druhy rodu *Dothiorella*, způsobující Botryosferiové odumírání révy (PITT et al. 2013).

#### **4.3.1 *Dothiorella iberica* A. J. L. Phillips, J. Luque & A. Alves, 2005**

Tlustostěnné konidie holoblastické barvy hnědé. Obvykle dvoubuněčné. Kulatý vrchol, kulatá příležitostně seříznutá spodní strana. Velikost konidií  $23,2 \times 10,9 \mu\text{m}$ . Hnědé askospory s jednou přehrádkou. Vřecka obsahující 8 tlustostěnných hnědých dvoubuněčných spor (Příloha č. 13 kapitola 14). Optimální růst při teplotě  $22,5 \text{ }^\circ\text{C}$  (PITT et al. 2013).

### **4.4 Rod *Lasiodiplodia***

Druhy rodu *Lasiodiplodia* způsobují Botryosferiové odumírání révy (GRAMAJE 2015).

#### **4.4.1 *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., 1909**

Rychlý růst kolonie dosahující průměr  $42 \text{ mm}$  za 48 hodin při pokojové teplotě, tmavě šedá až tmavě zelená, se světlejším okrajem. Mladé konidie hyalinní, tlustostěnné. Dospělé tmavě hnědé, dvoubuněčné (Příloha č. 14 kapitola 14). Optimální teplota  $30,8 \text{ }^\circ\text{C}$ . Rostoucí i při teplotě  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  (ÚRBEZ-TORRES et al. 2008).

### **4.5 Rod *Neofusicoccum***

Rod *Neofusicoccum* podílejší se na Botryosferiovém odumírání révy.

Nejtypičtějšími symptomy jsou nekrózy dřeva, cévní pruhození, nádory, postupně odumírání kmenu, chloróza, zabrzděné rašení, vadnutí listů (MOHAMMADI et al. 2013).

#### **4.5.1 *Neofusicoccum australe* (Slippers, Crous & M.J. Wingf.) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips, 2006**

Bílo krémové kolonie. Po 4 dnech při pokojové teplotě charakteristické žluté zbarvení ve středu kolonie zespodu. Světle šedé mycelium s tmavě zelenou spodní stranou po 10 dnech inkubace. Mycelium s hustě vlnitým středem a plochými okraji. Produkující hyalinní, tenkostěnné konidie. Průměrná velikost dosahující  $24,3 - 31 \times 7,3 - 9,8 \mu\text{m}$  (Příloha č. 15 kapitola 14). Teplotní optimum je  $27,8 \text{ }^\circ\text{C}$  (MOHAMMADI et al. 2013).

#### **4.5.2 *Neofusicoccum luteum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips, 2006**

Bílo krémové kolonie. Po 4 dnech při pokojové teplotě charakteristické žluté zbarvení ve středu kolonie zespodu. Tmavě zelené zbarvení po 10 denní inkubaci při pokojové teplotě. Produkující hyalinní, tenkostěnné konidie o velikosti v průměru  $19,5 - 25,9 \times 6,3 - 9,4 \mu\text{m}$  (Příloha č. 15 kapitola 14). Optimum růstu při teplotě  $29,4 \text{ }^\circ\text{C}$  (ÚRBEZ-TORRES et al. 2006).

#### **4.5.3 *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips, 2006**

Tmavé, kulovité pyknidy po 6 denní inkubaci. Produkující hyalinní, tenkostěnné konidie měřící  $16 \times 6 \mu\text{m}$ . Kolonie dosahující po 8 dnech při  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  na Petriho misce průměr  $8,5 - 11 \text{ mm}$ , ploché, plstnaté s plným okrajem, často chomáčkované. Na MEA kouřově šedé, zespodu olivově černé až šedě olivové, na PDA bílé až žlutohnědé z vrchu, zespodu olivově žlutohnědé až olivově zelené, na OA zeleně šedé až světle šedé, po 16 dnech žlutohnědé až olivově žlutohnědé (Příloha č. 15 kapitola 14). Optimum  $28,2 \text{ }^\circ\text{C}$  (ÚRBEZ-TORRES et al. 2006; MOHAMMADI et al. 2013).

### **4.6 Rod *Spencermartinsia***

Podílí se s ostatními druhy čeledi *Botryosphaeriaceae* na odumírání révy a tvorbě nádorů (PITT et al. 2013; GRAMAJE 2015).

#### **4.6.1 *Spencermartinsia viticola* (A.J.L. Phillips & J. Luque) A.J.L. Phillips, A. Alves & Crous, 2008**

Kolonie tmavě břidlicovitě modré s řidším myceliem vytvořené za 28 dní při 25 °C (Příloha č. 16 kapitola 14). Osamocené pyknidy pokrývající mycelium, kulovité, zelenošedé, od velikosti 2 mm v průměru, centrální, či násobný průduch. Hyalinní askospory, tenkostěnné, jednobuněčné se stávají časem tlustostěnnými, hnědými o velikosti 14,8 – 15,2 × 7,5 – 7,7 μm. Konidie zprvu hyalinní, tenkostěnné, stárnoucí v tlustostěnné, hnědé dvoubuněčné, vrcholová část zakulacená, spodní část zakulacená, občas seříznutá. Velikost konidií se pohybuje v rozmezí 18,8 – 19,7 × 9,8 – 10,3 μm. Teplotní optimum 24 °C (PITT et al. 2013).

### **4.7 Rod *Phaeomoniella***

Houby rodu *Phaeomoniella* jsou kauzálními patogeny způsobující chorobu ESCA v dospělých vinohradech starších než 7 let i Petriho chorobu v mladších vinohradech (GRAMAJE 2015).

#### **4.7.1 *Phaeomoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai) Crous & W. Gams, 2000**

Olivové kolonie s řidším myceliem s nevětvenými, hladkými konidiofory barvy zeleno hnědé, hyalinní o velikosti 1,7 – 3,2 μm. Jednobuněčné konidie, slabě zbarvené, hladké, obdélníkovité až elipsoidní. Černé kulovité pyknidy s hustým, bílým cirusem. Optimální teplota růstu mycelia dosahuje 25 °C (DÍAZ a LATORRE 2014).

### **4.8 Rod *Cadophora***

Houby rodu *Cadophora* způsobují infekci Petriho chorobou. Zasažená dřevní část vykazuje velké léze (GRAMAJE et al. 2011; GRAMAJE 2015).

#### **4.8.1 *Cadophora luteo-olivacea* (J. F. H. Beyma) T. C. Harr. & McNew, 2003**

Ploché kolonie barvy od bílé až po zeleně olivovou dosahující průměru 15,5 – 17,2 mm po 8 dnech při 25 °C. Mycelium s větvenými, přehrádkovanými hyfami nacházející se osamoceně či v pětičlenných shlucích. Velikost od 3 μm v průměru, hladké, středně hnědé, široké 2,5 – 4 μm. Krátké konidiofory, obvykle nevětvené, vícebuněčné, světle hnědé, 11,5 – 65 μm dlouhé a 2 – 2,5 μm široké. Centrální i boční fialidy, nejčastěji jednobuněčné, hladké, hyalinní, o rozměrech 2,5 – 3 × 2 – 2,5 μm.

Průhledné konidie vejcovité nebo obdélníkovitě elipsoidní,  $3,5 - 7,5 \times 2 - 3 \mu\text{m}$ . Optimální teplota  $20 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Minimální  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  a maximální  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  (GRAMAJE et al. 2011).

#### 4.9 Rod *Phomopsis*

Rod *Phomopsis* s *Phomopsis viticola* (Sacc.) Sacc., 1915 patří k nejnebezpečnějšímu zástupci čeledi *Diaporthaceae* (KALITERNA et al. 2012).

##### 4.9.1 *Phomopsis viticola* (Sacc.) Sacc., 1915

Mycelium slabě vyvýšené, pomalu rostoucí – k dosažení kolonie o 6 cm vyžaduje 4 týdny. Zvětšující se prstenec s okraji zbarvujícími se stářím do černa. Tvorba tmavě hnědých pyknid (ÚRBEZ-TORRES et al. 2013). Kolonie nepatrně vyvýšené s nápadně rostoucími prstenci, žlutohnědé až medové barvy s kouřově šedými skvrnami. Alfa konidie jednobuněčné, elipsového tvaru s kulatým vrcholem, spodní část seříznuta, velikosti  $9,4 - 10,3 \times 1,9 - 3,4 \mu\text{m}$  (Příloha č. 17 kapitola 14). Beta konidie méně časté, vláknité, zkroucené, průměrné velikosti  $20 - 24,8 \times 0,5 - 1 \mu\text{m}$  (KALITERNA et al. 2012).

#### 4.10 Rod *Phaeoacremonium*

Houby rodu *Phaeoacremonium* zapříčiňují choroby dřevitých rostlin i závažné lidské infekce. Izolovaných 22 druhů z révy, jenž působí vážné onemocnění kmínků révy – Petriho chorobu a ESCA. Teleomorfou je nejčastěji rod *Togninia* (GRAMAJE et al. 2009). Systematika čeledi *Togniniaceae* je stále ve vývoji.

##### 4.10.1 *Phaeoacremonium cinereum* Gramaje, Mohammadi, Banihash., Armengol & L. Mostert, 2009

Název odvozen od kouřově šedé kolonie na MEA.

Kolonie dosahující po 8 dnech při  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  na Petriho misce průměr  $8,5 - 11 \text{ mm}$ , ploché, plstnaté s plným okrajem, často chomáčkovitě. Na MEA kouřově šedé, spodní strana olivově černá až šedě olivová, na PDA bílé až žlutohnědé, spodní strana olivově žlutohnědá až zeleně olivová, na OA zeleně šedé až světle šedé, po 16 dnech žlutohnědé až olivově žlutohnědé. Optimální teplotní nárok dosahující  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Přehrádkované mycelium. Hyfy s přehrádkami rostoucími samostatně, či ve shlucích až po osmi, na povrchu bradavčité s průměrem  $2 \mu\text{m}$ . Středně hnědé až světle hnědé hyfy  $2 \text{ až } 3 \mu\text{m}$  široké. Krátké konidiofory sedmibuněčné. Středně až slabě hnědá barva o délce

22 – 48 ( $\bar{x} = 34$ )  $\mu\text{m}$  a šířce 2,5 – 4 ( $\bar{x} = 2,9$ )  $\mu\text{m}$ . Centrální i boční fialidy jsou jednobuněčné, 1,5 – 2,5  $\mu\text{m}$  dlouhé, 1 – 1,5  $\mu\text{m}$  široké. Průsvitné konidie, nejčastěji obdélníkovitě elipsového tvaru, 4 – 6  $\times$  1,5 – 3  $\mu\text{m}$  (GRAMAJE et al. 2009).

#### **4.10.2 *Phaeoacremonium hispanicum* Gramaje, Armengol & L. Mostert, 2009**

Název odvozen od Španělska, kde byl druh izolován a popsán. Kolonie dosahující průměr 2,5 – 7 mm po 8 dnech při 25 °C, ploché, plstnaté, úplný okraj po 8 dnech a vroubkovaný až plný okraj po 16 dnech. Na MEA a PDA bílé až žlutohnědé, na spodní straně žlutohnědé. Na OA ploché, vlnaté, úplný okraj, bílé. Optimální teplota růst je 20 °C. Přehrádkované mycelium, hyfy v septech. Nacházejí se samostatně i ve skupinách do 7. Bradavičnaté výrůstky do průměru 1  $\mu\text{m}$ . Světle oranžovohnědé barvy, nejčastěji jemné, 2 – 3  $\mu\text{m}$  široké. Konidiofory nejčastěji krátké, rozšířené v bázi, světle hnědé, hladké, 19,5 – 45 ( $\bar{x} = 31$ )  $\mu\text{m}$  dlouhé a 2,5 – 4 ( $\bar{x} = 3,2$ )  $\mu\text{m}$  široké. Objevují se jak na povrchu, tak pod povrchem. Fialidy nejčastěji jednobuněčné, hladké až bradavičité, 1,5 – 2  $\mu\text{m}$  dlouhé, 1 – 1,5  $\mu\text{m}$  široké. Konidie oválně elipsoidní až vejčité, 4 – 6  $\times$  1,5 – 3  $\mu\text{m}$  (GRAMAJE et al. 2009).

### **4.11 Rod *Campylocarpon***

Rod způsobuje v mladých vinicích především Černání pat kmínku révy (SANTOS et al. 2014; GRAMAJE 2015).

#### **4.11.1 *Campylocarpon pseudofasciculare* Halleen, Schroers & Crous, 2004**

Bavlněná textura kolonie s jemnými okraji. Zbarvení bílé až světle hnědé. Makrokonidie obvykle čtyřbuněčné, velikost odlišná podle počtu buněk – v průměru 38  $\times$  7  $\mu\text{m}$ . Mikrokonidie nepozorovány (Příloha č. 18 kapitola 14). Kulaté chlamydospory výjimečně postřehnuty (SANTOS et al. 2014).

### **4.12 Rod *Cylindrocladiella***

Dva druhy rodu *Cylindrocladiella*, *Cylindrocladiella parva* (P. J. Anderson) Boesew., 1982 (Příloha č. 19 kapitola 14) a *Cylindrocladiella peruviana* (Bat., J. L. Bezerra & M. P. Herrera) Boesew., 1982, způsobují jednu z nejvážnějších chorob ve většině vinařských oblastí, Černání pat kmínku révy (AGUSTÍ- BRISACH a ARMENGOL 2013).

Mycelium barvy tmavě až světle hnědé. Průsvitné, samostatné, přeslenovité

i štětčkovité konidiofory s primárními i sekundárními příhrádkami. Fialidy jsou centrální, průsvitné. Malé, válcovité konidie, zakulacené na obou stranách, dvoubuněčné, stářím ztloustlé stěny. Chlamydospory v řetězcích (AGUSTÍ- BRISACH a ARMENGOL 2013).

#### **4.13 Rod *Dactylonectria***

Rod *Dactylonectria* zapříčiňuje Černání pat kmínku – charakteristické vpadlé nekrotické kořenové rány se sníženou kořenovou tvorbou, nižší vitalita, zkrácená internodia, řídkší listová plocha s malými chlorotickými listy, vedoucí k úhynu rostliny.

Plstnaté mycelium, od bílé až po žlutou nebo světlé po tmavě hnědou barvu. Kolonie dosahující průměr 72 mm po 17 dnech při 20 °C (HAAG et al. 2014). Okraj kolonie celý, lehce laločnatý. Tvorba až tříbuněčných mikro i makrokonidií, samostatných či v řetězec se shlukující chlamydospory. Optimální teplota okolo 20 – 25°C (ALANIZ et al. 2007).

#### **4.14 Rod *Ilyonectria***

Rod způsobující chorobu Černání pat kmínku révy (HAAG et al. 2014).

##### **4.14.1 *Ilyonectria liriodendri* (Halleen, Rego & Crous) P. Chaverri & C. Salgado, 2011**

Světle až tmavě hnědé rovné mycelium, s lehce laločnatými světle oranžovými okraji kolonií (Příloha č. 20 kapitola 14). Průměr kolonie dosahující 78 mm po 17 dnech při teplotě 20 °C. Vyskytující se mikro i dvoubuněčné makrokonidie. Kulaté chlamydospory nacházející se osamoceně, či spojené do řetízků (HAAG et al. 2014).

##### **4.14.2 *Ilyonectria macrodidyma* (Halleen, Schroers & Crous) P. Chaverri & C. Salgado, 2011**

Nažloutlé plstnaté mycelium s jantarově žlutým okrajem kolonie, dosahující po 17 dnech kultivace při 20 °C průměrů 47 mm (Příloha č. 20 kapitola 14). Makrokonidie nejčastěji tříbuněčné, objevující se i čtyř až pěti (HAAG et al. 2014).

##### **4.14.3 *Ilyonectria robusta* (A. A. Hildebr.) A. Cabral & Crous, 2012**

Světle až tmavě hnědé rovné mycelium s až tmavě oranžovými okraji kolonií (Příloha č. 20 kapitola 14). Kolonie dosahující 85 mm v průměru za 17 dní na Petriho misce. Makrokonidie nejčastěji vícebuněčné.

#### **4.15 Rod *Diatrype***

Houby rodu *Diatrype* jsou kauzálními patogeny Eutypového chřadnutí révy (TROUILLAS et al. 2009).

##### **4.15.1 *Diatrype oregonensis* (Wehm.) Rappaz, 1987**

Kolonie barvy bílé vylučující žlutý pigment (Příloha č. 21 kapitola 14). Konidie vláknité velikosti  $22 - 40 \times 1 - 1,5 \mu\text{m}$ . Tvořící až 30 peritecií, puchýřkovité, či slévající se do jednoho. Tvaru vejcovitého až elipsoidního, velikosti  $0,3 - 0,6 \text{ mm}$ . Aska s 8 sporami, kyjovitého tvaru, velikosti  $50 - 65 \times 6 - 9,5 \mu\text{m}$ . Askospory zbarvující se do světležluté barvy,  $10 - 12 \times 2 - 2,5 \mu\text{m}$  (TROUILLAS et al. 2009).

##### **4.15.2 *Diatrype stigma* (Hoffm.) Fr., 1849**

Bílé kolonie s nepravidelným obrysem (Příloha č. 21 kapitola 14). Oranžové konidie velikosti  $5,5 - 8,5 \times 1 \mu\text{m}$ . Plochá, uhlově černá stromata. Kruhové až vejcovité peritecia, v průměru  $0,15 - 0,25 \text{ mm}$ . Kyjovitá aska s hyalinními askosporami dosahující velikosti  $5,5 - 7,5 \times 1,5 \mu\text{m}$  (TROUILLAS et al. 2009).

##### **4.15.3 *Diatrype whitmanensis* J. D. Rogers & Glawe, 1983**

Kolonie bílé vylučující světle žlutý pigment patrný ze spodní části (Příloha č. 21 kapitola 14). Konidie vláknité, průsvitné,  $22 - 32 \times 1 - 1,5 \mu\text{m}$ . Peritecia v jedné vrstvě, výjimečně osamocené, o velikosti  $0,45 - 0,65 \text{ mm}$ . Kyjovitá až vřetenovitá aska s 8 sporami. Obdélníkovité askospory tmavě hnědé velikosti  $7,5 - 10 \times 1 - 1,5 \mu\text{m}$  (TROUILLAS et al. 2009).

#### **4.16 Rod *Diatrypella***

Houby rod způsobují Eutypové chřadnutí révy (TROUILLAS et al. 2009).

##### **4.16.1 *Diatrypella favacea* (Fr.) Ces. & De Not., 1863**

Synonymum *Diatrypella verrucaeformis* (Ehrh.) Fr., 1849.

Bílé kolonie, zespodu tmavě šedé, obvykle ploché s nepravidelným okrajem, tvořící pyknidy s bílo béžovými konidii (Příloha č. 22 kapitola 14). Vláknité konidie velikosti  $25 - 40 \times 1,5 - 2 \mu\text{m}$ . Puchýřkovitá peritecia tvaru kruhového až vejcovitého, velikosti  $0,5 - 0,7 \mu\text{m}$ . Aska s dlouhou stopkou s askosporami velikosti  $25 - 40 \times 1,5 - 2 \mu\text{m}$  (TROUILLAS et al. 2009).

#### **4.17 Rod *Eutypa***

Zástupci rodu *Eutypa* se podílejí na Eutypovém chřadnutí révy (ROLSHAUSEN et al. 2006; TROUILLAS et al. 2009).

##### **4.17.1 *Eutypa lata* (Pers.) Tul. & C. Tul., 1863**

Kolonie mají zprvu bílou barvu s bavlněnou smetanovou spodní stranou. Po dvou týdenním pěstování kultury mění se v šedé zbarvení, spodní strana až černá. Konidie nacházející se ve smetanově zbarvených kapkách až kolech (Příloha č. 23 kapitola 14). Vlákňité konidie, přímé, či zkroucené, čteně zastoupené. Peritecia, v průměru okolo 0,5 mm, ležící nepravidelně v jedné rovině. Aska velikosti  $30 - 60 \times 5 - 7,5 \mu\text{m}$ , s dlouhými stopkami, čteně, vřetenovitěho tvaru, s osmi sporami. Hnědé askospory vejčitého tvaru, subhyalinní,  $7 - 11 \times 2 \mu\text{m}$  (MUNKVOLD 1994).

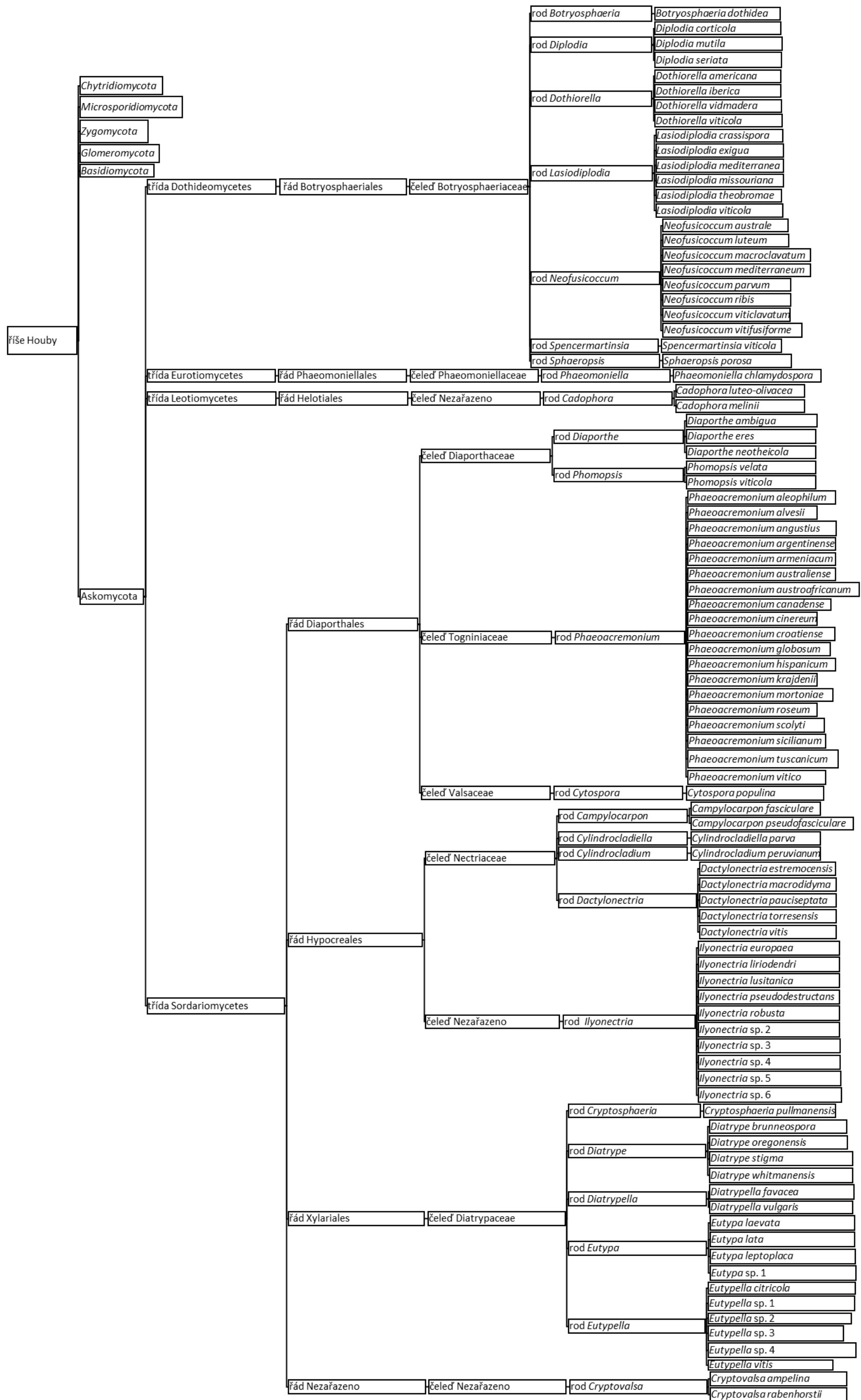
#### **4.18 Rod *Eutypella***

Zástupci rodu *Eutypella* jsou kauzálními patogeny Eutypového chřadnutí révy (TROUILLAS et al. 2009).

Bílé kolonie, nepravidelně šedé až černé při stárnutí, částečně viditelné zesponu. Větší počet bělavých pyknid. Vlákňité konidie velikosti  $10 - 25 \times 1 - 1,5 \mu\text{m}$  (TROUILLAS et al. 2009).

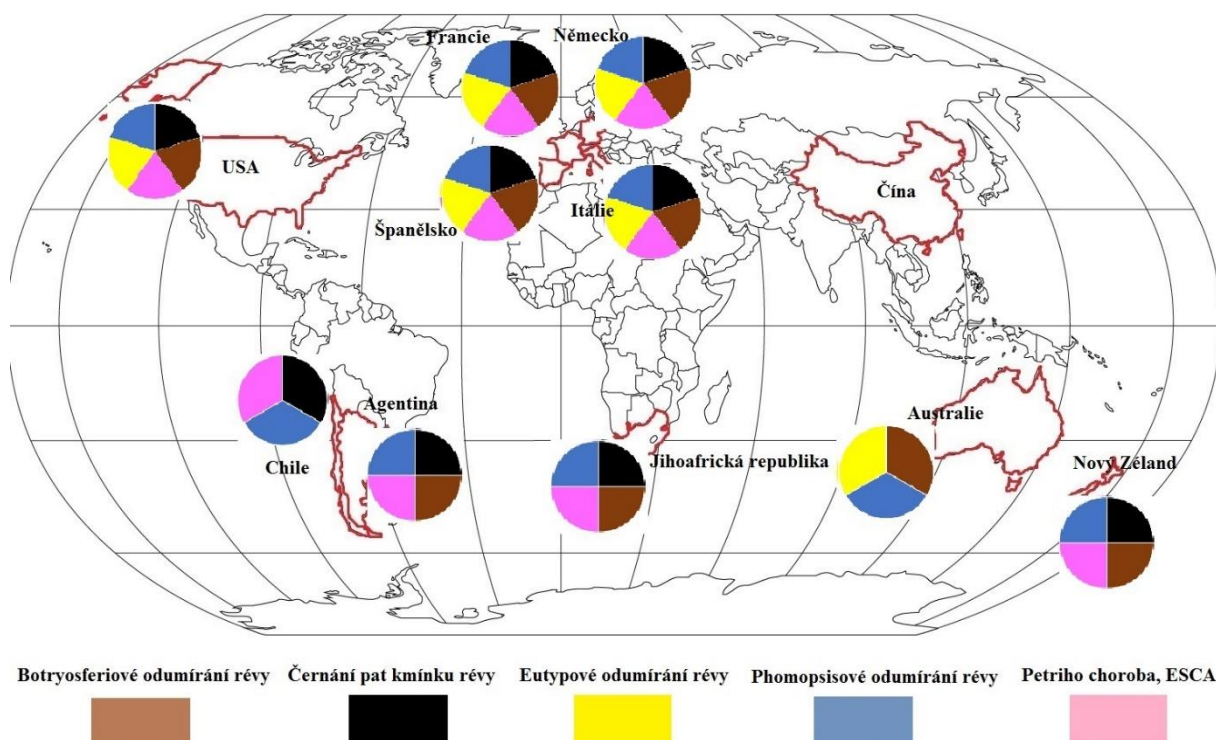


4.19 Taxonomické zařazení GTD patogenů



## 5 Světové rozšíření GTD a působené ekonomické ztráty

Onemocnění kmínků révy se stalo za posledních 30 let největším problémem révy vinné (*Vitis vinifera* L.) ve vinohradnických oblastech a stále rapidně stoupá počet poškozených rostlin komplexem houbových patogenů, kdy jsou trvale poškozeny orgány rostlin, což způsobuje významné ekonomické ztráty. Obr. 1 znázorňuje rozšíření GTD v největších vinohradnických světových zemích. Celosvětové náklady na vyklučení zasažených vinic a výsadbu nových rostlin šplhají do částky vyšší než 1,5 miliard dolarů za rok (HOFSTETTER et al. 2012).



Obr. 1 Výskyt GTD v největších vinohradnických zemích světa, kde je réva pěstována.

V roce 2011 dle zprávy OIV (International Organisation of Vine and Wine) činila rozloha světových vinic 7 550 000 ha. Výsadba hektaru nové vinice stála 15 000 eur. Pokud by bylo zasaženo houbovými chorobami pouhé 1 % vinic vedoucí ke smrti rostlin, stálo by vyklučení a znovu vysázení 1 132 miliard eur (HOFSTETTER et al. 2012; BRUGALI 2009).

Již v roce 1999 potvrdil italský výzkum zásadní dopad na italskou ekonomiku,

kdy bylo zasaženo 63 % vinohradů v Apulii (jižní Itálie) a 85 % v Toskánsku (střední Itálie) (GONZÁLEZ et al. 2012).

Vnější projevy ESCA byly dlouho tlumeny pomocí fungicidu, arsenitanem sodným, který byl však zakázán na začátku roku 2000 (BERTSCH et al. 2013). Zákaz způsobil drastický vzestup počtu infikovaných rostlin. Italské vinohradnictví uvádí rapidní zvýšení napadených vinohradů ESCA až na 50 %. Šestiletý výzkum v Austrálii odhalil každoroční zvýšení výskytu vnějších projevů ESCA o 2,7 %. Napadení vinic chorobami ESCA a utypové odumírání révy ve francouzském Alsasku ročně způsobuje zvýšení počtu vykloučených rostlin až o 10 %. Petriho choroba postihuje 1 až 5 % nově založených vinic v Kalifornii (HOFSTETTER et al. 2012).

Černání pat kmínku je problém od roku 1961, kdy se začalo vyskytovat ve všech vinařských oblastech světa (Itálie, Portugalsko, Španělsko, Jihoafrická republika, Nový Zéland, Austrálie, Kalifornie). Odstraňování a podsazování poškozených rostlin je ekonomicky náročné, což vede k finančním ztrátám (GONZÁLEZ et al. 2012).

Roční ztráty v produkci způsobené Eutypovým odumíráním révy dosahují v Austrálii 20,5 miliónů dolarů, v Kalifornii až 260 miliónů dolarů (SIEBERT 2001).

Ve Francii jsou houbové choroby zodpovědné za 12% ztráty v produkci hroznů, tzn. na 100 000 ha postižených francouzských vinohradů ztráta 1 miliard eur. Během posledních tří let odumírá ročně 5 – 7 % vinohradů (ANON. 2014). Ekonomické roční ztráty způsobené GTD patogeny se pohybují ve francouzské vinohradnické oblasti v Loire-et-Cher ve výši 5-6 miliónů eur (GROSMAN et al. 2012).

## 6 Metody detekce

Izolace patogena jako axenické kultury jsou považovány za běžně používanou metodu detekce. Identifikaci mikroorganismů předchází kultivace, často prováděné v několika opakováních. Hlavní zásady identifikace spočívají v charakterizaci kolonií, konidií a buněk produkující konidie. Spolehlivá identifikace však vyžaduje značné zkušenosti a plasticita v rámci jednotlivých rodů velmi znesnadňuje detekci. Tyto obtíže odpadají u diagnostických testů založených především na imunologických metodách, metodách na bázi identifikace DNA, polymerázové řetězové reakci (PCR) a sekvenování (KLABAN 2011).

### 6.1 Izolace hub

Postup izolace hub z dřeva révy je v podstatě založen na získání povrchově sterilizovaného dřeva z chorobou postižené rostliny a jeho umístění na agarové médium.

Rozlišujeme dvě metody odběru vzorků, tj. nedestruktivní a destruktivní metodu. **Nedestruktivní metodu** použijeme při polním odebrání dřevních vzorků z dospělé rostliny za využití vrtáku o průměru 2,5 mm s cílem získání nejhlubší části dřevního pletiva. Získané vzorky o velikosti 2 – 3 cm je potřeba sterilizovat ve snaze odstranit nežádoucí organismy. Získané vzorky buď umístíme do mikroskopavek typu Eppendorf, obsahující 1,5 ml sterilního bramborovo-dextrózového vývaru (potato dextrose broth, PDB) a antibiotika (např. aureomycin), pomocí sterilní pinzety, nebo vzorek namočíme do etanolu (96%) a následně opláchneme destilovanou vodou, nebo opálíme. Dřevní vzorky se odebírají ze tří míst kmenu – ze spodní, prostřední a vrchní části. Očištěné a sterilní vzorky, nejčastěji 3 nezávislé dřevní vzorky z rostliny po 5 kusech z každého místa, jsou umístěny na Petriho misku obsahující agar.

**Destruktivní metoda** je použita u odebraných vzorků z matečné rostliny. Kůra a kořeny jsou odstraněny a povrch je ošetřen 3,5% NaClO po dobu 20 min. Vzorky o velikosti 1 mm jsou po 15 kusech, nejčastěji 15 nezávislých dřevních vzorků, umístěny na agar (HOFSTETTER et al. 2012).

Houby jsou kultivovány na různých organických médiích nejčastěji při teplotě (20 – 25 °C) v průběhu 3 až 6 týdnů ve snaze o indukci sporulace. Jako základní médium při izolacích se používá médium označované jako PDA (potato dextrose agar, česky bramborovo-dextrózový agar). Jedná se o výtažek z brambor obohacený o glukózu a ztužený agar. Kromě média typu PDA se také velmi často používá médium

WA a MEA (PANCHER et al. 2012; HOFSTETTER et al. 2012).

## 6.2 Morfologické studium

Tradiční způsob identifikace hub je založený na morfologických znacích jednotlivých hub. K hlavním rozlišovacím znakům patří mycelium, pohlavní orgány (vřečka) a pyknidy s konidiemi (VÁŇA 2005).

Rozlišujeme znaky mikroskopické a makroskopické. Mikroskopické znaky se týkají mikroskopických struktur a hrají primární roli v identifikaci hub. Na rozdíl od makroskopických znaků, které popisují vzhled kolonií, mající sekundární význam (VÁŇA 2005).

## 6.3 Detekce na molekulární úrovni

Metoda popisu společenstev hub bez morfologické závislosti. Molekulární metoda je založena na namnožení určitých úseků jaderné ribozomální DNA pomocí PCR (z anglického polymerase chain reaction, česky polymerázová řetězová reakce). Nejčastěji se používá oblast malé podjednotky jaderné ribozomální DNA (SSU) (SCHÜBLER et al. 2001) a oblast „Internal Transcribed Spacer“ (ITS) (HOFSTETTER et al. 2012).

Z hlediska systematiky a fylogenetiky mají molekulární znaky oproti znakům morfologickým řadu výhod. Za výhodu jednotlivých molekulárních znaků považujeme jejich velké množství a odlišnosti mezi nimi. Znaky jsou převážně kvalitativní, selektivně neutrální aj. (FLEGR 2002).

Genomová oblast ITS se vyznačuje vysokou sekvenční variabilitou a je nejčastěji využívanou oblastí pro identifikaci hub (HOFSTETTER et al. 2012).

Na ITS sekvencích izolátu GTD patogenů jsou založeny operačně taxonomické jednotky (OTUs, Operation Taxonomic Units). Biodiverzita hub zjištěna podle OTUs závisí na přímé identifikaci a srovnávání ITS sekvencí se sekvencemi v GenBank (HOFSTETTER et al. 2012).

Pro určení sekvence DNA lze použít kapilární elektroforézu, novější modifikace Sangerovy metody založené na detekci ukončení prodlužujícího se vlákna DNA pomocí odlišné fluorescence ddNTP nebo primerů (STUDHOLME et al. 2011; SOPER et al. 1998).

Novější metoda NGS (z anglického Next Generation Sequencing, sekvenační metoda nové generace) patří dnes k dokonalejším metodám. Masivně paralelní

sekvenování poskytuje mnohonásobně vyšší výstupy (output) v porovnání s klasickým kapilárním sekvenováním (BRENNER et al. 2000). K nejčastěji využívaným NGS technologiím řadíme pyrosekvenaci, sekvenaci syntézou, sekvenaci v reálném čase nebo sekvenaci ligací (PALIY 2013).

## 7 Strategie ochrany

GTD patogeny způsobují destruktivní onemocnění kmínků révy v celosvětovém měřítku. Snaha zabránit infekci a její rozvoj je hlavní náplní výzkumů v této oblasti. Zákonem dovolená přímá ochrana neexistuje ve většině států. V Tab. 1 jsou zaznamenány povolené fungicidy v některých státech, které se používají při ochraně proti GTD patogenům. Důraz se klade na prevenci a nepřímou ochranu.

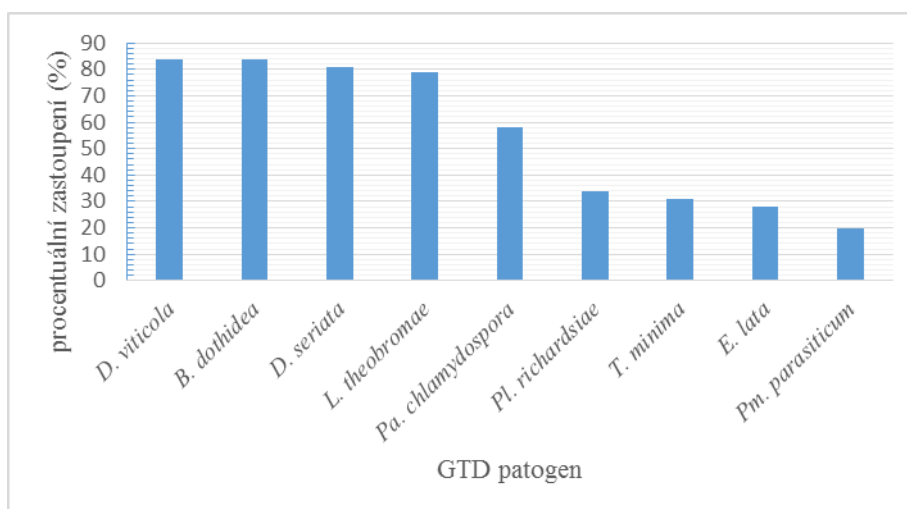
Tab. 1 Seznam povolených fungicidů (GRAMAJE 2015).

Povolené fungicidy proti GTD patogenům	
Německo	Chinosol
Španělsko	žádný
Portugalsko	Cyprodinil + Fludioxonil (proti Černání pat kmínku révy a Botryosferiové odumírání révy)
Francie	žádný
Velká Británie	žádné školky - Sporekill
Řecko	žádný
Itálie	žádný
Česká republika	žádný
Maďarsko	žádný
Israel	Cyprodinil + Fludioxonil (proti Černání pat kmínku révy a Botryosferiové odumírání révy)
Chorvatsko	žádný

K hlavním vstupním místům infekce řadíme řezné rány. V Obr. 2 jsou zaznamenány výsledky polního pokusu v Kalifornii probíhajícího v letech 2005 a 2006, kdy byl pozorován rozvoj devíti GTD patogenů na řezných ranách révy (ROLSHAUSEN et al. 2010). Zdrojem infekce je i půda, mumifikované bobule, odumřelé infikované dřevo v blízkosti vinohradu.

Rozšíření a projev infekce závisí na době vzniku a stáří rány. Řezné rány vzniklé na začátku dormance jsou méně odolné vůči rozvoji askospor GTD patogenů než řezné rány vzniklé v polovině a na konci dormance. Odolnost rány před patogeny souvisí s ukládáním ligninu a suberinu během dormance, kdy platí pozitivní korelace mezi dormancí a akumulací ligninu a suberinu. V závislosti na zmíněných parametrech se pohybuje negativně aktivita nepatogenních mikroorganismů na řezné ráně díky rychlému růstu na povrchu rány (AGUSTÍ-BRISACH et al. 2015).

Negativně na rozvoj GTD patogenů působí slzení (vylučování mízy obsahující cukry, aminokyseliny, organické kyseliny aj.). Vliv na citlivost rostliny nemá stáří dřeva, kde je poškození ranou, velikost povrchu rány a místo poškození na rostlině. Proto by měly být ošetřeny všechny rány po řezu (Halleen et al. 2010).



Obr. 2 Vyhodnocení napadení řezných ran GTD patogeny v kalifornských vinohradech (ROLSHAUSEN et al. 2010).

## 7.1 Biologický způsob ochrany

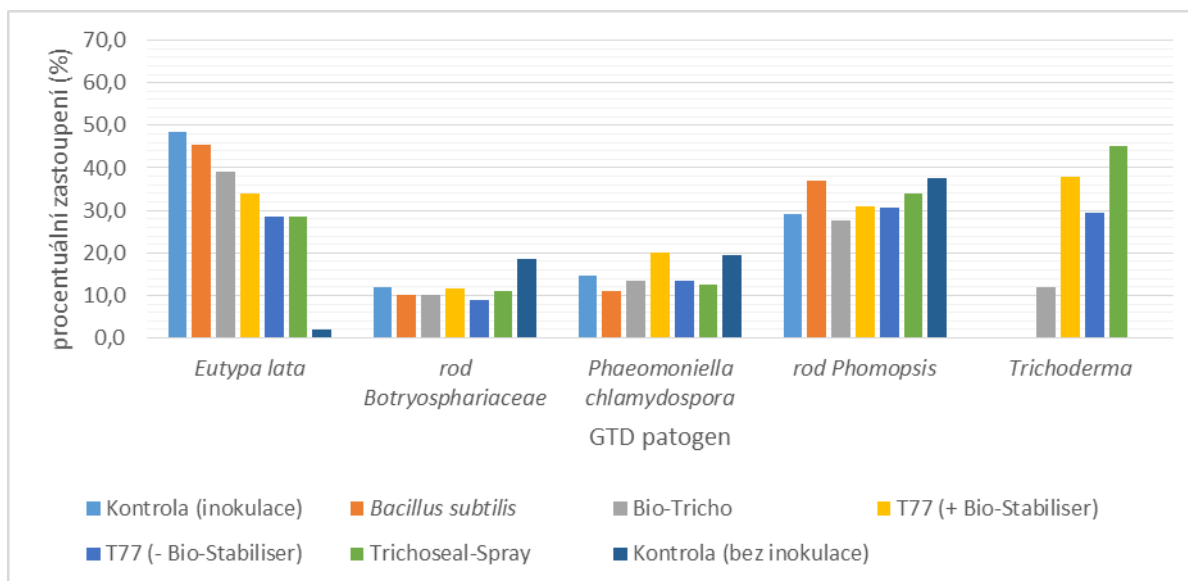
Hlavní výhodou biologické ochrany je pozitivní ochrana před GTD patogeny i přes nepříznivé environmentální podmínky.

Biologické prostředky zabraňují infekci díky rozvoji na povrchu rány. Jedním z biologických činitelů je izolát *Bacillus subtilis*, který ne vždy inhibuje *Eutypa lata*. Pozitivní výsledky byly zaznamenány použitím *Fusarium lateritium* i *Cladosporium herbarum*.

Produkty na bázi rodu *Trichoderma* jsou zaregistrovány na Novém Zélandu, ve snaze zamezit Eutypovému odumírání révy. Přípravky pro ochranu révy obsahují *Trichoderma harzianum* (izolát T77) a *Trichoderma atro-viride* jako např. Trichodowels™, Trichojet™, Trichoseal™, Trichoseal-Spray™ a Vinevax™. *T. harzianum* přetrvává ve dřevě 20 měsíců po aplikaci. *Botryosphaeriaceae*, *Phomopsis* a *Phaeomoniella chlamydospora* se vyskytovali v ránách i po aplikaci produktů na bázi *Trichoderma*. Účinek *T. harzianum* byl prokázán při potlačení původců ESCA.

Účinnou látkou v rozvoji eutypové infekce by mohla být kyselina boritá, tj. Biopasta (obsahující 5 % kyseliny borité) a Bioshield (obsahující 5 % kyseliny borité ze spor *Cladosporium herbarum*). Testování proběhlo v Kalifornii (HALLEEN et al. 2010).





Obr. 3 Výskyt GTD patogenů na řezné rány v závislosti na použité biologické ochraně (HALLEEN et al. 2010).

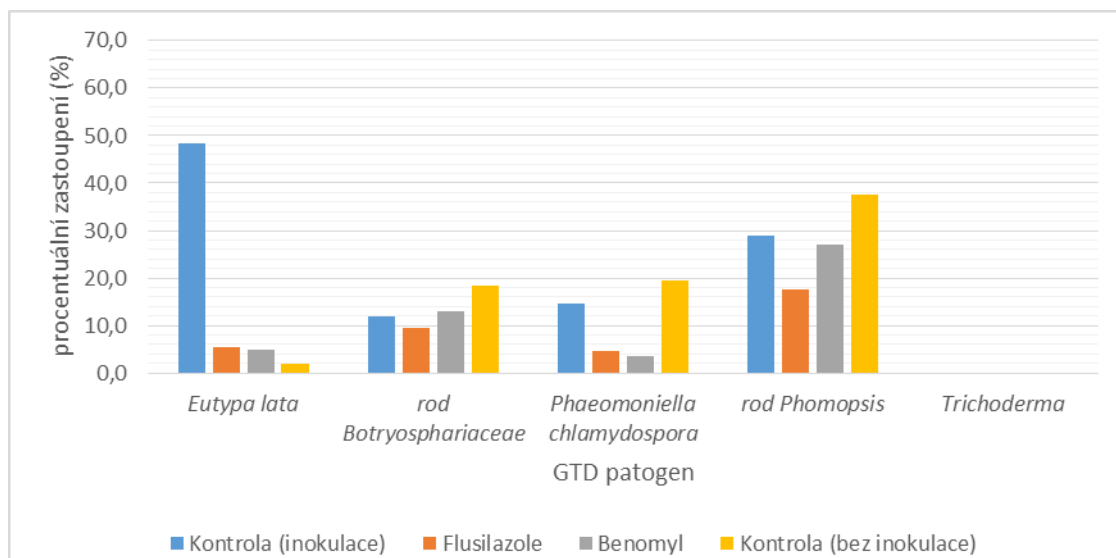
Obr. 3 znázorňuje procentuální zastoupení rozvoje GTD patogenů na řezných ranách, které byly ošetřeny biologickými preparáty ihned po řezu (HALLEEN et al. 2010).

## 7.2 Chemický způsob ochrany

Nejčastěji si ošetřují řezné rány pomocí barev, past či sprejů. V USA byl registrován od roku 1976 Benomyl, jako účinná látka proti rozvoji kauzálního patogenu *Eutypa lata*. Benomyl byl obsažen v barvě ve sprejích v koncentraci 25 g/l. I přes používání benomylu se nepodařilo zastavit rozvoj infekce. Flusilazole, alternativní ochranný prostředek, ochraňuje místo poškození 14 dní po aplikaci (v Austrálii zkoušeno). V současné době je benomyl zakázán v mnoha zemích včetně USA. Podobné účinky zajišťuje carbendazim, benzimidazolový fungicid, který dokáže chránit ránu po dobu 14 dní. Ovlhčení deštěm v krátké periodě po aplikaci fungicidu snižuje jeho účinek (HALLEEN et al. 2010).

Benomyl i flusilazole pozitivně redukuje *Phaeomoniella chlamydospora* a rod *Phomopsis* na řezných ranách.

Výsledky polního pokusu v USA zobrazuje Obr. 4, kdy byla zkoušena růstová reakce GTD patogenů na řezných ranách při použití chemických preparátů (HALLEEN et al. 2010).



Obr. 4 Výskyt GTD patogenů na řezné rány v závislosti na použité chemické ochraně (HALLEEN et al. 2010)

### 7.3 Agrotechnický způsob ochrany

Ozelenění ve vinici může hrát významnou roli v potlačení některých houbových patogenů. S úspěchem byl zjištěn pozitivní vliv hořčice na potlačení rodu *Ilyonectria*. Účinnou látkou je isothiokyanát, oceňován jako účinný biofumigant. Isothiokyanát, těkavá sloučenina uvolňována hořčicí, snižuje hladinu infekce v půdě a inhibuje spory hub (RAHMAN a SOMERS 2005).

Vhodné je posunout termín zimního řezu do období pozdní dormance, kdy uložený lignin a suberin omezí rozvoj spor GTD patogenů. Suché počasí eliminuje rozvoj infekce, protože k uvolnění askospor z peritecií u některých patogenních druhů je zapotřebí ovlhčení, např. na dešťových srážkách závisí šíření patogena *Phaeomoniella chlamydospora* na rozdíl od *Phaeoacremonium aleophilum*, který vlhkost nepotřebuje k uvolňování spor (AGUSTÍ-BRISACH et al. 2015; ROLSHAUSEN et al. 2010).

Odstraňování zbytků po řezu, vykloučené a nemocné keře, ale i odumírající stromy okolo vinice mohou znamenat riziko infekce. Za nejvhodnější řešení považujeme spálení dřevních částí mimo vinici (AGUSTÍ-BRISACH et al. 2015).

Zásadní roli v potlačení a rozvoji infekce hraje hygiena. Nejen během výroby sazenic, tj. dezinfekce prostor, zařízení a nástrojů, ale i při zimním řezu, kde se klade důraz na dezinfekci nůžek (AGUSTÍ-BRISACH et al. 2015).

## 8 Vlastní komentář k řešené problematice

Onemocnění kmínků révy je stále se rozšiřujícím komplexem chorob, které decimuje vinohrady na celém světě. Omezení šíření a rozvoje obrovského počtu houbových patogenů není snadným úkolem, ale představuje důležitou roli ve snaze o zdravé vinohrady, produkující kvalitní materiál a s tím související pozitivní rozvoj ekonomiky.

Jediným účinným bojem proti houbovým patogenům je správně zvolená agrotechnika každého vinohradníka ve snaze o minimalizaci rozvoje patogenů a zdravý produkční vinohrad. Nejrizikovějšími faktory pro vstup GTD patogena jsou otevřené rány (GRAMAJE 2015).

Spory kauzálních hub způsobujících GTD jsou všude kolem nás. Důraz by měl být kladen již při výrobě sazenic i výběru množitelského materiálu. Pokud nedostaneme ze školek zdravé sazenice, jsou naše snahy o vypěstování dlouhověkého kvalitního vinohradu marné. Při výrobě sazenic apelujeme na čisté a sterilní nástroje, které jsou často zdrojem infekce, kterou snadno přeneseme do každé rány (GRAMAJE 2015; ÚRBEZ-TORRES 2014). Za vhodný, účinný a dostupný dezinfekční prostředek považují etanol, popřípadě použití ohně.

Okolo vinic se nacházejí často dřevité rostliny, jako např. rody *Maulus*, *Prunus*, *Olea* aj., které mohou být též napadeny houbovými patogeny a tím být snadným zdrojem infekce pro naše vinohrady. Proto bychom měli udržovat i nejbližší okolí kolem vinohradů čisté a bez zdrojů infekce.

Nejrizikovější doba snadného rozvoje infekce v dospělých vinicích je období zimního řezu, kdy se na rostlině vyskytují otevřené rány, často ve větším počtu. Rostlina se nemůže bránit, jelikož je ve stádiu dormance a vzniklé rány se nehojí. Proto vidím vhodné řešení posunutí řezu do předjarního či jarního období, kdy réva začíná vegetovat a řezné rány jsou v důsledku teplejšího počasí rychleji zaceleny. Mnohé podniky vlastní desítky až stovky hektarů vinohradů a posunutí termínu do předjarního období je pro ně nemyslitelné. Řez v zimním období by měl být prováděn alespoň za teplejších a především suchých dní. Snaha o co nejmenší počet řezných ran znamená omezení vstupních míst pro patogeny i snadnější a především rychlejší ošetření ran fungicidními nátěry – barvou, či pastou. Chemická a biologická ochrana je v počátcích rozvoje. V minulosti s úspěchem používané chemické preparáty byly z karcinogenního důvodu zakázány, proto ve většině států neexistuje povolená účinná chemická látka

(ÚRBEZ-TORRES 2014).

Staré dřevo bychom neměli nechávat v blízkosti vinice a především ho ve vinici nedrtit. Nejlepším řešením je staré dřevo spálit a tím zničit zárodky infekce (možnost využití dřeva ve formě štěpek při vytápění). Réví a dvouleté dřevo může být ve vinici podrceno a ponecháno.

## 9 Závěr

Onemocnění kmínků révy (Grapevine Trunk Diseases, GTD) řadíme k nejzávažnějším chorobám révy vinné (*Vitis vinifera* L.) na celém světě. GTD je souhrnem vícero chorob houbového původu, které napadají jak mladé vinice (stáří vinic do 8 let), tak dospělé (8 let a více). Mladé vinice postihuje především Černání pat kmínku révy, Botryosferiové odumírání révy a Petriho choroba, dospělé vinice krom Botryosferiové odumírání révy trpí chorobou ESCA a Eutypovým odumírání révy. K obecným vnějším projevům řadíme pomalý růst sazenic, zkrácené letorosty, diskolorace listů, úhyn části či celé rostliny. Vnější symptomy jsou podmíněny ucpáním cévních svazků, ve kterých se tvoří inkluze. V pletivu mohou být soustředěny do kruhu okolo dřene, nebo tvořit klínovité nekrózy. Choroby bývají doprovázeny hnilobami, které způsobují trouchnivění dřeva. Patogenní houby napadají rostlinu nejen ze vzduchu a půdy, ale jsou přenášeny i rozmnožovacím materiálem.

Původcem komplexu chorob révy jsou houby vřeckovýtrusné, které mohou být doprovázeny houbami stopkovýtrusnými (nejčastěji doprovázejí ESCA). Černání pat kmínku způsobují rody *Ilyonectria*, *Campylocarpon*, *Cylindrocladiella*. K nejčastěji vyskytujícím se houbám u Petriho choroby řadíme *Phaemoniella chlamydospora*, rod *Phaeoacremonium*, *Cadophora luteo-olivacea*. Čeled' *Botryosphaeriaceae* poškozují jak mladé vinice, tak staré Botryosferiovým odumíráním révy. Chorobu ESCA doprovází houby vřeckovýtrusné *Phaemoniella chlamydospora*, rod *Phaeoacremonium* a houby stopkovýtrusné. Rod *Diatrypaceae* způsobuje chorobu Eutypové odumírání révy.

Celosvětový výskyt houbových patogenů je závažný a aktuální problém. Choroby zapříčiňují markantní ztráty v ekonomice. Snaha o získání zdravého sadbového materiálu může být polovičním úspěchem, jelikož podmínky k růstu ve vinici hrají podstatnou roli. Patogen se může dostat do rostliny přes půdu i vzduch, především neošetřenými řeznými ranami. Snaze o omezení rozvoje houbových patogenů napomůže ošetření řezných ran (barva, Topsin-M sprej či barva, sprej na bázi myclobutanilu), pozdější řez, či dvojitý řez (forma předřezu) (ÚRBEZ-TORRES 2014).

Snahou o průzkum komplexu houbových patogenů a získání zdravých sazenic zajišťuje morfologická a molekulární detekce hub. Zdlouhavá morfologická metoda umožní popsat vnější projev hub. K pozitivním hlediskům molekulární detekce patří především rychlost a přesnost.

## **10 Souhrn a Resume, Klíčová slova**

### **Charakteristika houbových patogenů způsobujících onemocnění kmínků révy vinné (Grapevine Trunk Diseases)**

Bakalářská práce na téma Charakteristika houbových patogenů způsobujících onemocnění kmínků révy vinné (Grapevine Trunk Diseases) byla vypracována v letech 2015/2016 na Mendeleu – ústav genetiky, na Zahradnické fakultě Mendelovy univerzity v Brně. Hlavním cílem bakalářské práce je charakterizovat houbové patogeny způsobující onemocnění kmínků révy (GTD). Zároveň se zaměřit na popsání symptomů chorob, možností detekce hub, jejich celosvětový výskyt ve vinohradnických oblastech, způsobené ekonomické ztráty a možnosti ochrany. V textu je dále uvedeno, jak je možné omezit rozvoj houbových patogenů v rostlině.

#### **Klíčová slova**

GTD, ESCA, Petriho chroba, Botryosferiové odumírání révy, Eutypové odumírání révy, houby vřekovýtrusné, metody detekce, ochrana

#### **The Characterization of Fungal Pathogens Caused Grapevine Trunk Diseases**

This bachelor thesis with the topic “The Characterization of Fungal Pathogens Caused Grapevine Trunk Diseases” has been written in 2015/2016 at Mendeleum – Institute of Genetics and Plant Breeding at the Faculty of Horticulture at Mendel University in Brno. The main purpose of this thesis is to describe the fungal pathogens which caused Grapevine Trunk Diseases (GTD). Moreover, this thesis reports the symptoms of diseases, methods of detection, their worldwide incidence in grapevine-growing areas, caused economic losses and strategies of protec.

#### **Key words**

Grapevine Trunk Diseases (GTD), ESCA, Petri disease, Botryosphaeria dieback, Eutypa dieback, Ascomycota, methods of detection, protection

## 11 Seznam použité literatury

AGUSTÍ- BRISACH, C. a J. ARMENGOL, 2013. *Black-foot disease of grapevine: an update on taxonomy, epidemiology and management strategies* [online]. 2013. [vid. 23. únor 2016]. Dostupné z: doi:10.14601/Phytopathol\_Mediterr-12662

AGUSTÍ-BRISACH, C., M. LEÓN, J. GARCIA-JIMENEZ a J. ARMENGOL, 2015. Detection of Grapevine Fungal Trunk Pathogens on Pruning Shears and Evaluation of Their Potential for Spread of Infection. *Plant Disease* [online]. roč. 99, č. 7, s. 150204092345006. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-12-14-1283-RE

AGUSTÍ-BRISACH, C., L. MOSTERT a J. ARMENGOL, 2014. Detection and quantification of *Ilyonectria* spp. associated with black-foot disease of grapevine in nursery soils using multiplex nested PCR and quantitative PCR. *Plant Pathology* [online]. roč. 63, č. 2, s. 316–322. ISSN 00320862. Dostupné z: doi:10.1111/ppa.12093

ALANIZ, S., M. LEÓN, A. VICENT, J. GARCÍA-JIMÉNEZ, P. ABAD-CAMPOS a J. ARMENGOL, 2007. Characterization of *Cylindrocarpon* Species Associated with Black Foot Disease of Grapevine in Spain. *Plant Disease* [online]. B.m.: The American Phytopathological Society, 9.9., roč. 91, č. 9, s. 1187–1193 [vid. 23. únor 2016]. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-91-9-1187

ANON., 2014. *Fatal Wood Diseases Affect 12 Percent of French Vineyards* [online]. 2014. Dostupné z: <http://www.wine-searcher.com/m/2014/10/fatal-wood-diseases-affect-12-percent-of-french-vineyards>

BERTSCH, C., M. RAMÍREZ-SUERO, M. MAGNIN-ROBERT, P. LARIGNON, J. CHONG, E. ABOU-MANSOUR, A. SPAGNOLO, C. CLÉMENT a F. FONTAINE, 2013. Grapevine trunk diseases: Complex and still poorly understood. *Plant Pathology* [online]. roč. 62, č. 2, s. 243–265. ISSN 00320862. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-3059.2012.02674.x

BRENNER, S., M. JOHNSON, J. BRIDGHAM, G. GOLDA, D. H. LLOYD, D. JOHNSON, S. LUO, S. MCCURDY, M. FOY, M. EWAN, R. ROTH, D. GEORGE, S.

ELETR, G. ALBRECHT, E. VERMAAS, S. R. WILLIAMS, K. MOON, T. BURCHAM, M. PALLAS, R. B. DUBRIDGE, J. KIRCHNER, K. FEARON, J. MAO a K. CORCORAN, 2000. Gene expression analysis by massively parallel signature sequencing (MPSS) on microbead arrays. *Nature biotechnology* [online]. B.m.: Nature America Inc., 6., roč. 18, č. 6, s. 630–4 [vid. 19. duben 2016]. ISSN 1087-0156. Dostupné z: doi:10.1038/76469

BRUGALI, L., 2009. Materials and methods for vineyard plant [online]. Dostupné z: <http://www.teatronaturale.com/technical-area/grapevine-and-wine/39-materials-and-methods-for-vineyard-plant.htm>

DÍAZ, G. A. a B. A. LATORRE, 2014. Infection Caused by *Phaeomoniella chlamydospora* Associated with Esca-like Symptoms in Grapevine in Chile. *Plant Disease* [online]. B.m.: The American Phytopathological Society, 7.3., roč. 98, č. 3, s. 351–360 [vid. 8. únor 2016]. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-12-12-1180-RE

FLEGR, J., 2002. *Stručný přehled přednášky Základy molekulární taxonomie*. 2002.

GONZÁLEZ, M. F., A. M. MORALES a P. M. I. CAÑAS, 2012. Identification of fungi associated with grapevine trunk diseases by fragment length analysis of internal transcribed spacer regions. In: *Abstracts of oral and poster presentations given at the 8th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases*. Valencia, Spain: Firenze University Press.

GRAMAJE, D., 2015. *Etiology, epidemiology and control of grapevine trunk diseases*. (přednáška) Lednice na Moravě: Zahradnická fakulta Mendelovy univerzity v Brně. 2015.

GRAMAJE, D. a J. ARMENGOL, 2011. Fungal Trunk Pathogens in the Grapevine Propagation Process: Potential Inoculum Sources, Detection, Identification, and Management Strategies. *Plant Disease* [online]. roč. 95, č. 9, s. 1040–1055. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-01-11-0025



GRAMAJE, D., J. ARMENGOL, H. MOHAMMADI, Z. BANIHASHEMI a L. MOSTERT, 2009. Novel Phaeoacremonium species associated with Petri disease and esca of grapevine in Iran and Spain. *Mycologia* [online]. roč. 101, č. 6, s. 920–929 [vid. 8. únor 2016]. ISSN 0027-5514. Dostupné z: doi:10.3852/08-222

GRAMAJE, D., L. MOSTERT a J. ARMENGOL, 2011. *Characterization of Cadophora luteo-olivacea and C. melinii isolates obtained from grapevines and environmental samples from grapevine nurseries in Spain* [online]. 18. prosinec 2011. [vid. 23. únor 2016]. Dostupné z: doi:10.14601/Phytopathol\_Mediterr-8723

GROSMAN, J., B. DOUBLET, P. LECOMTE, L. GUERIN-DUBRANA a P. REY, 2012. The French Grapevine Trunk Wood Diseases Survey: overview of the data obtained over the last decade. In: *Abstracts of oral and poster presentations given at the 8th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases*.

HAAG, P., P. BOWEN a D. T. O. GORMAN, 2014. Grapevine Trunk Diseases in British Columbia : Incidence and Characterization of the Fungal Pathogens Associated with Esca and Petri Diseases of Grapevine. *Plant Disease* [online]. roč. 98, č. April, s. 469–482. ISSN 01912917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-05-13-0524-RE

HALLEEN, F., P. H. FOURIE a P. J. LOMBARD, 2010. Protection of Grapevine Pruning Wounds against Eutypa lata by Biological and Chemical Methods. *South African Journal for Enology and Viticulture* [online]. 1.1., roč. 31, č. 2 [vid. 8. duben 2016]. ISSN 0253-939X. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/265263407\\_Protection\\_of\\_Grapevine\\_Pruning\\_Wounds\\_against\\_Eutypa\\_lata\\_by\\_Biological\\_and\\_Chemical\\_Methods](https://www.researchgate.net/publication/265263407_Protection_of_Grapevine_Pruning_Wounds_against_Eutypa_lata_by_Biological_and_Chemical_Methods)

HOFSTETTER, V., B. BUYCK, D. CROLL, O. VIRET, A. COULOUX a K. GINDRO, 2012. What if esca disease of grapevine were not a fungal disease? *Fungal Diversity* [online]. roč. 54, s. 51–67. ISSN 15602745. Dostupné z: doi:10.1007/s13225-012-0171-z

CHAKROUN, Ben Ghnaya, REZGUI, VALLANCE, KHAROUBI, DRIDI, Rabeh HAJLAOUI, REY a SADFI-ZOUAOU, 2014. First Molecular and Biochemical

Characterization of *Phomopsis viticola* and *Diplodia seriata* two pathogens of Esca and black dead arm diseases of grapevine in the Northern region of the Tunisia. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* [online]. 18.12., roč. 3, č. 8 [vid. 25. duben 2016]. Dostupné z: <http://prodinra.inra.fr/?locale=en#!ConsultNotice:275849>

KALITERNA, J., T. MILIČEVIĆ a B. CVJETKOVIĆ, 2012. Grapevine trunk diseases associated with fungi from the Diaporthaceae family in Croatian vineyards. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* [online]. 1.12., roč. 63, č. 4, s. 471–9 [vid. 23. únor 2016]. ISSN 0004-1254. Dostupné z: doi:10.2478/10004-1254-63-2012-2226

KLABAN, V., 2011. *Ekologie mikroorganismů*. 1. vyd. Praha: Galén. ISBN 9788072627707.

LECOMTE, P., G. DARRIETORT, J.-M. LIMINANA, G. COMONT, A. MURUAMENDIARAZ, F.-J. LEGORBURU, E. CHOUEIRI, F. JREIJIRI, Roula EL AMIL a Marc FERMAUD, 2012. New Insights into Esca of Grapevine: The Development of Foliar Symptoms and Their Association with Xylem Discoloration. *Plant Disease* [online]. roč. 96, č. 7, s. 924–934. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-09-11-0776-RE

MOHAMMADI, H., D. GRAMAJE, Z. BANIHASEMI a J. ARMENGOL, 2013. Characterization of *Diplodia seriata* and *Neofusicoccum parvum* Associated with Grapevine Decline in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology* [online]. 1.3., roč. 15, č. 3, s. 603–616 [vid. 23. únor 2016]. ISSN 1680-7073. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/236233200\\_Characterization\\_of\\_Diplodia\\_seriata\\_and\\_Neofusicoccum\\_parvum\\_Associated\\_with\\_Grapevine\\_Decline\\_in\\_Iran](https://www.researchgate.net/publication/236233200_Characterization_of_Diplodia_seriata_and_Neofusicoccum_parvum_Associated_with_Grapevine_Decline_in_Iran)

MUGNAI, L., A. GRANITI a G. SURICO, 1999. Esca (Black Measles) and Brown Wood-Streaking: Two Old and Elusive Diseases of Grapevines. *Plant Disease* [online]. roč. 83, č. 5, s. 404–418. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS.1999.83.5.404

MUNKVOLD, G. P., 1994. Reductions in Yield and Vegetative Growth of Grapevines Due to *Eutypa Dieback*. *Phytopathology* [online]. roč. 84, č. 2, s. 186. ISSN 0031949X.

Dostupné z: doi:10.1094/Phyto-84-186

PALIY, O., 2013. The Golden Age of Molecular Ecology. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology* [online]. B.m.: OMICS International, roč. 01, č. 03 [vid. 19. duben 2016]. ISSN 23299002. Dostupné z: doi:10.4172/2329-9002.1000e105

PANCHER, M., M. CEOL, P. E. CORNEO, C. M. O. LONGA, S. YOUSAF, I. PERTOT a A. CAMPISANO, 2012. Fungal endophytic communities in grapevines (*Vitis vinifera* L.) respond to crop management. *Applied and environmental microbiology* [online]. 6., roč. 78, č. 12, s. 4308–17 [vid. 14. únor 2016]. ISSN 1098-5336. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.07655-11

PHILIPS, A.J.L., A. ALVES, S.R. PENNYCOOK, P.R. JOHNSTON, A. RAMALEY, A. AKULOV a P.W. CROUS, 2008. Resolving the phylogenetic and taxonomic status of dark-spored teleomorph genera in the Botryosphaeriaceae. *Persoonia* [online]. 12., roč. 21, s. 29–55 [vid. 23. únor 2016]. ISSN 1878-9080. Dostupné z: doi:10.3767/003158508X340742

PINE, T. S., 1958. Etiology of the dead-arm disease of Grapevines. *Phytopathology* [online]. roč. 48, č. 4, s. 192–197 . [vid. 25. duben 2016]. ISSN 0031-949X. Dostupné z: <http://www.cabdirect.org/abstracts/19581102737.html>

PITT, W. M., J. R. ÚRBEZ-TORRES a F. P. TROUILAS, 2013. *Dothiorella vidmadera*, a novel species from grapevines in Australia and notes on *Spencermartinsia*. *Fungal Diversity* [online]. 8.6., roč. 61, č. 1, s. 209–219 [vid. 23. únor 2016]. ISSN 1560-2745. Dostupné z: doi:10.1007/s13225-013-0244-7

PITT, W.M., R. HUANG, C.C. STEEL a S. SAVOCCHIA, 2010. Identification, distribution and current taxonomy of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine decline in New South Wales and South Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. 2., roč. 16, č. 1, s. 258–271 [vid. 12. leden 2016]. ISSN 13227130. Dostupné z: doi:10.1111/j.1755-0238.2009.00087.x

PITT, W.M., M.R. SOSNOWSKI, R. HUANG, C.C. STEEL a S. SAVOCCHIA, 2012.

Evaluation of fungicides for the management of *Botryosphaeria* canker grapevines. *Plant Disease* [online]. roč. 96, č. September, s. 1303–1308. ISSN 1526-4998. Dostupné z: doi:10.1002/ps.2309

RAHMAN, L. a T. SOMERS, 2005. Suppression of root knot nematode (*Meloidogyne javanica*) after incorporation of Indian mustard cv. Nemfix as green manure and seed meal in vineyards. *Australasian Plant Pathology* [online]. roč. 34, č. 1, s. 77–83. ISSN 08153191. Dostupné z: doi:10.1071/AP04081

ROLSHAUSEN, P. E., N. E. MAHONEY, R. J. MOLYNEUX a W. D. GUBLER, 2006. A Reassessment of the Species Concept in *Eutypa lata*, the Causal Agent of *Eutypa* Dieback of Grapevine. *Phytopathology* [online]. roč. 96, č. 4, s. 369–77. ISSN 0031-949X. Dostupné z: doi:10.1094/PHYTO-96-0369

ROLSHAUSEN, P. E., J. R. ÚRBEZ-TORRES, S. ROONEY-LATHAM, A. ESKALEN, R. J. SMITH a W. D. GUBLER, 2010. Evaluation of Pruning Wound Susceptibility and Protection Against Fungi Associated with Grapevine Trunk Diseases. *Am. J. Enol. Vitic.* [online]. 1.3., roč. 61, č. 1, s. 113–119 [vid. 12. duben 2016]. Dostupné z: <http://www.ajevonline.org/content/61/1/113.short>

SANTOS, R. F., E. BLUME, M. F. B. MUNIZ, R. HARAKAWA, L. R. GARRIDO a C. REGO, 2014. *Characterization of Campylocarpon pseudofasciculare associated with black foot of grapevine in southern Brazil* [online]. 22. prosinec 2014. [vid. 23. únor 2016]. Dostupné z: doi:10.14601/Phytopathol\_Mediterr-14045

SCHÜSSLE, A., H. GEHRIG, D. SCHWARZOTT a C. WALKER, 2001. Analysis of partial Glomales SSU rRNA gene sequences: implications for primer design and phylogeny. *Mycological Research* [online]. 1., roč. 105, č. 1, s. 5–15 [vid. 1. březen 2016]. ISSN 09537562. Dostupné z: doi:10.1017/S0953756200003725

SIEBERT, J. B., 2001. *Eutypa: The economic toll on vineyards* [online]. 2001. Dostupné z: doi:2001. *Eutypa: The economic toll on vineyards. Wines and Vines*, April: 50-56.

SOPER, S. A., D. C. WILLIAMS, Y. XU, S. J. LASSITER, Y. ZHANG, S. M. FORD a R. C. BRUCH, 1998. Sanger DNA-Sequencing Reactions Performed in a Solid-Phase Nanoreactor Directly Coupled to Capillary Gel Electrophoresis. *Analytical Chemistry* [online]. B.m.: American Chemical Society, 10., roč. 70, č. 19, s. 4036–4043 [vid. 19. duben 2016]. ISSN 0003-2700. Dostupné z: doi:10.1021/ac980288z

STUDHOLME, D. J., R. H. GLOVER a N. BOONHAM, 2011. Application of high-throughput DNA sequencing in phytopathology. *Annual review of phytopathology* [online]. B.m.: Annual Reviews, 12.1., roč. 49, s. 87–105 [vid. 1. duben 2016]. ISSN 0066-4286. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-phyto-072910-095408

TROUILLAS, F. P., J. R. ÚRBEZ-TORRES a W. D. GUBLER, 2009. Diversity of diatrypaceous fungi associated with grapevine canker diseases in California. *Mycologia* [online]. roč. 102, č. 2, s. 319–336. ISSN 0027-5514. Dostupné z: doi:10.3852/08-185

ÚRBEZ-TORRES, J. R., 2014. Pacific Agri-Food Research Centre, Summerland, B.C. V0H1Z0, Canada. 2014.

ÚRBEZ-TORRES, J. R., G. M. LEAVITT, T. M. VOEGEL a W. D. GUBLER, 2006. Identification and Distribution of *Botryosphaeria* spp . Associated with Grapevine Cankers in California. *Plant Disease* [online]. roč. 90, č. 12, s. 1490–1503. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PD-90-1490

ÚRBEZ-TORRES, J. R., F. PEDUTO, R. J. SMITH a W. D. GUBLER, 2013. Phomopsis Dieback: A Grapevine Trunk Disease Caused by *Phomopsis viticola* in California. *Plant Disease* [online]. B.m.: The American Phytopathological Society, 6.12., roč. 97, č. 12, s. 1571–1579 [vid. 23. únor 2016]. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-11-12-1072-RE

ÚRBEZ-TORRES, J.R., G.M. LEAVITT, J.C. GUERRERO, J. GUEVARA a W.D. GUBLER, 2008. Identification and Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata* , the Causal Agents of Bot Canker Disease of Grapevines in Mexico. *Plant Disease* [online]. roč. 92, č. 4, s. 519–529. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-92-4-0519

VAN ALFEN, N. K., 1989. Reassessment of Plant Wilt Toxins. *Annual Review of Phytopathology* [online]. B.m.: Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA, 28.9., roč. 27, č. 1, s. 533–550 [vid. 23. únor 2016]. ISSN 0066-4286. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.py.27.090189.002533

VÁŇA, J., 2005. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii* [online]. B.m.: Karolinum [vid. 1. březen 2016]. ISBN 8024610361. Dostupné z: <https://books.google.com/books?id=jh9mAAAACAAJ&pgis=1>

## 12 Seznam obrázků a tabulek

Obr. 1 Výskyt GTD v největších vinohradnických zemích světa, kde je réva pěstována. ....	26
Obr. 2 Vyhodnocení napadení řezných ran GTD patogeny v kalifornských vinohradech (ROLSHAUSEN et al. 2010).....	32
Obr. 3 Výskyt GTD patogenů na řezné ráně v závislosti na použité biologické ochraně (HALLEEN et al. 2010).....	33
Obr. 4 Výskyt GTD patogenů na řezné ráně v závislosti na použité chemické ochraně (HALLEEN et al. 2010).....	34
Tab. 1 Seznam povolených fungicidů (GRAMAJE 2015).....	31

### 13 Seznam zkratk

ddNTP	Dideoxyribonukleotid
DNA	Deoxyribonucleic acid, kyselina deoxyribonukleová
ESCA	Chřadnutí a odumírání révy
GTD	Grapevine Trunk Diseases
ICGTD	International Council on Grapevine Trunk Diseases
ITS	Internal transcribed spacer, genomová oblast
MEA	Malt extract agar base, agar se sladovým extraktem
mRNA	Kyselina ribonukleová mediátorová
NGS	Next Generation Sequencing, sekvenční metoda nové generace
OA	Oat meal agar, ovesný agar
OIV	International Organisation of Vine and Wine
OTUs	Operation Taxonomic Units, operačně taxonomické jednotky
PCR	Polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce
PDA	Potato dextrose agar, bramborovo-dextrózový agar
PDB	Potato dextrose broth, bramborovo-dextrózový vývar
SSU	Small subunit, oblast malé podjednotky jaderné ribozomální DNA
WA	Water agar, médium obsahující ve vodě promytou agarosu



## 14 Přílohy

Příloha č. 1 Černání pat kmínku révy: černé cizorodé útvary na příčném řezu kmenem (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 2 Černání pat kmínku révy: J-rooting (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 3 Botryosferiové odumírání révy: klínovité nekrózy na příčném a podélném řezu kmenem (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 4 Botriosferiové odumírání révy: projev symptomu na polovině rostliny (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 5 Petriho choroba: černé cévní svazky na příčném řezu kmenem (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 6 ESCA: trouchnivění dřeva révy (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 7 ESCA: tygrovitost listů (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 8 Eutypové odumírání révy: zakrslé letorosty s chlorotickými listy (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 9 Eutypové odumírání révy: klínovité nekrózy na příčném řezu kmenem (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 10 Phomopsisové odumírání révy: nekrotické léze na letorostech (ÚRBEZ-TORRES et al. 2013).

Příloha č. 11 Botryosphaeria dothidea: mycelium, tenkostěnné konidie (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 12 Mycelium a konidie A) Diplodia mutila, B) D. seriata (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 13 Dothiorella iberica: mycelium, dvoubuněčné askospory (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 14 Lasiodiplodia theobromae: tmavě šedé kolonie, tlustostěnné konidie (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 15 Kolonie a konidie A) Neofusicoccum australe, B) N. luteum, C) N. parvum (GRAMAJE 2015).

Příloha č. 16 Spencermartinsia viticola: kolonie (PITT et al. 2013).

Příloha č. 17 Phomopsis viticola: kolonie na Petriho misce (ÚRBEZ-TORRES et al. 2013).

Příloha č. 18 Campylocarpon pseudofasciculare: makrokonidie (SANTOS et al. 2014).

Příloha č. 19 Cyliandrocladiella parva: konidie (AGUSTÍ- BRISACH a ARMENGOL 2013).

Příloha č. 20 Kolonie A) *Ilyonectria liriodendri*, B) *I. macrodidyma*, C) *I. robusta* (HAAG et al. 2014).

Příloha č. 21 Aska A) *Diatrype oregonensis*, B) *D. stigma*, C) *D. whitmanensis* (TROUILLAS et al. 2009).

Příloha č. 22 *Diatrypella favacea*: aska (TROUILLAS et al. 2009).

Příloha č. 23 *Eutypa lata*: kolonie (BERTSCH et al. 2013).