

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra ochrany rostlin**



**Vliv esenciálních olejů na životnost spor  
*Alternaria dauci* a *Phytophthora infestans***

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Martina Slanařová**

**Obor studia: Zahradnictví**

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

**Konzultant práce: Ing. Eva Zusková**

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv esenciálních olejů na životnost spor *Alternaria dauci* a *Phytophthora infestans*" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19.4.2018

---

### **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 Ing. Evě Zuskové za ochotu a pomoc při práci v laboratoři.

# Vliv esenciálních olejů na životnost spor *Alternaria dauci* a *Phytophthora infestans*

## Souhrn

Díky novodobé legislativě se do popředí dostávají alternativní možnosti ochrany v zemědělské produkci. Proto bylo zvoleno téma s ohledem na možné využití esenciálních olejů jako alternativní ochrany rostlin. Bakalářská práce se zabývá vlivem esenciálních olejů na životnost spor patogenů *Alternaria dauci* a *Phytophthora infestans*.

*Alternaria dauci* je významným patogenem, protože znemožňuje strojovou sklizeň mrkve. Listy po napadení patogenem usychají a zemědělské stroje nemohou mrkev vytáhnout ze země. Plíseň bramboru je nejobávanější chorobou lilku bramboru, kterou způsobuje původce *Phytophthora infestans*. Napadá rostliny z čeledi *Solanaceae*, u kterých způsobuje závažné ztráty, ty nejsou způsobené jen při pěstování, ale i během skladování a zpracování. Plíseň se objevuje každoročně a intenzita napadení porostů závisí hlavně na klimatických podmínkách a způsobu ochrany. Příznaky infekce se projevují na nadzemních i podzemních částech rostliny a způsobují jejich znehodnocení až úhyn.

Práce je zaměřena na ověření účinnosti esenciálních olejů z 16 rostlin a následné pozorování spor *Alternaria dauci* a *Phytophthora infestans*. Byla stanovena vhodná metoda na získání spor a pozorován vliv jednotlivých esenciálních olejů na spory.

Klíčová slova: *Alternaria dauci*, *Phytophthora infestans*, mrkev obecná, lilek brambor, esenciální olej

# **Influence of essential oils on spore life *Alternaria dauci* and *Phytophthora infestans***

## **Summary**

Due to the new legislature there are new alternative options of the agriculture production. That is the reason why it was chosen the theme involving use of an essential oils as the alternative protection of a plants. This bachelor thesis is aimed at the influence of the essential oils on a vitality of the spores patogen *Alternaria dauci* and *Phytophthora infestans*.

*Alternaria dauci* is the important patogen because it prevents a harvest machinery from harvesting a carrot. The leaves, after they are attacked by the patogen are dried and the harvest machinery is not able to extract the carrot from the ground. The potatoe mold is one of the most dangerous disease activated by *Phytophthora infestans*. It attacks plants from menials of Solanaceae, where it causes important losses, which are not caused only when plants are growing up, but even when they are stored and processed. The mold appears anually and intensity of the attacks of the growth depends on the climatical conditions and form of the protection. The symptoms of the infection could be seen on upper and lower parts of the plant and they causes their devaluation or extinction.

The thesis is aimed at verification of a usefulness of the essential oils from 16 plants and at the subsequent observations of a spores *Alternaria dauci* and *Phytophthora infestans*. The appropriate method was introduced to the extraction of the spores and so was observation of the infulence of the essential oils to the spores.

Key words: *Alternaria dauci*, *Phytophthora infestans*, *Daucus carota*, *Solanum tuberosum*, essential oils

# **Obsah**

<b>1 Úvod</b> .....	1
<b>2 Cíl práce</b> .....	2
<b>3 Literární rešerše</b> .....	3
3.1 Ochrana plodin .....	3
3.2 Pesticidy .....	3
3.3 Botanické pesticidy .....	4
3.4 Esenciální oleje .....	5
3.4.1 Složení esenciálních olejů .....	5
3.4.2 Historie používání esenciálních olejů .....	6
3.4.3 Metody získávání esenciálních olejů .....	7
3.4.4 Nejčastěji používané rostliny pro výrobu esenciálních olejů .....	8
3.5 Mrkev obecná setá <i>Daucus carota</i> subsp. <i>sativus</i> (Hoffm.) Schübl. & G. Martens .....	12
3.5.1 Historie pěstování mrkve .....	12
3.5.2 Nároky na stanoviště, výživa a osevní postup .....	12
3.6 Alternáriová (suchá) skvrnitost listů mrkve .....	13
3.6.1 Původ a taxonomické zařazení <i>A. dauci</i> .....	13
3.6.2 Výskyt a symptomy alternáriové skvrnitosti listů mrkve .....	14
3.6.3 Biologie a rozmnožování <i>A. dauci</i> .....	14
3.6.4 Ochrana proti <i>A. dauci</i> .....	15
3.7 Lilek brambor <i>Solanum tuberosum</i> L. ....	15
3.7.1 Historie pěstování brambor .....	15
3.7.2 Nároky na stanoviště, výživa a osevní postup .....	15
3.8 Plíseň bramboru .....	16
3.8.1 Původ a taxonomické zařazení <i>P. infestans</i> .....	16
3.8.2 Výskyt a symptomy plísně bramboru .....	16
3.8.3 Biologie a rozmnožování <i>P. infestans</i> .....	17
3.8.4 Ochrana proti <i>P. infestans</i> .....	18
3.9 Mikroskopické metody .....	18
3.9.1 Popis mikroskopu .....	19
3.9.2 Spora a sporulace .....	19
<b>4 Metodika</b> .....	21
4.1 Vliv esenciálních olejů na inhibici patogenu <i>Alternaria dauci</i> .....	21
4.1.1 Použitý materiál a přístroje .....	21
4.1.2 Izolace patogenu a získání čistých kultur .....	21
4.1.3 <i>In vitro</i> test na agaru .....	21

4.1.3.1 Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) esenciálních olejů.....	22
4.1.4 Vliv esenciálních olejů na tvorbu spor u patogenu <i>Alternaria dauci</i> .....	22
4.1.4.1 Postup získání spor <i>A. dauci</i> .....	23
4.2 Vliv esenciálních olejů na tvorbu spor u patogenu <i>Phytophthora infestans</i> .....	24
<b>5 Výsledky</b> .....	<b>25</b>
5.1 Vliv esenciálních olejů na inhibici patogenu <i>Alternaria dauci</i> .....	25
5.1.1 In vitro test na agaru .....	25
5.1.2 Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) esenciálních olejů.....	26
5.1.3 Vliv esenciálních olejů na tvorbu spor u patogenu <i>Alternaria dauci</i> .....	27
5.2 Vliv esenciálních olejů na tvorbu spor u patogenu <i>Phytophthora infestans</i> .....	28
<b>6 Diskuze</b> .....	<b>30</b>
<b>7 Závěr</b> .....	<b>32</b>
<b>8 Seznam literatury</b> .....	<b>33</b>
<b>9 Přílohy</b> .....	<b>38</b>
<b>10 Seznam příloh:</b> .....	<b>40</b>

# 1 Úvod

V současné době patří brambory a mrkev mezi nejkonzumovanější skupiny zelenin v Evropě, a tak výskyt patogenů *Alternaria dauci* a *Phytophthora infestans* není výjimkou.

Jako ochrana proti patogenům slouží agrotechnická opatření, například u brambor včasná výsadba a správná volba odrůdy, u mrkve odstraňování posklizňových zbytků a dodržování odstupu v osevních postupech. Jako přímá opatření se používají hlavně syntetické fungicidy. Avšak použití těchto přípravků je postupně omezováno z legislativních důvodů, kvůli škodlivým účinkům chemických látek na životní prostředí a lidské zdraví. Proto se objevuje silná poptávka po alternativní ochraně rostlin, do které spadá i aplikace esenciálních olejů. Integrovaná ochrana rostlin je podporovaná legislativou Evropské unie a začíná být upřednostňována i běžnými spotřebiteli z důvodu šetrnějšího vlivu na životní prostředí a k rostlinám samotným.

Mrkev obecná setá patří mezi třetí nejpěstovanější zeleninu v České republice a pěstuje se v mírném pásu, subtropickém i tropickém. Obsahuje velké množství vitamínů, hlavně provitamín A neboli beta-karoten. Tento provitamín má vliv na imunitní systém a zrak člověka. Lilek brambor je hlíznatá rostlina a velmi často se používá jako příloha k pokrmům. Obsahuje až 70 % škrobu a má vysoký obsah minerálních látek.

Potřeba zajištění dostatečné produkce bez přílišného využívání syntetických pesticidů dává směr novodobému výzkumu a byla také důvodem pro zvolení tématu bakalářské práce.



## 2 Cíl práce

Hypotéza práce: Existují esenciální oleje, které mají fungicidní či fumigační účinek na tvorbu spor.

Cílem práce bylo:

Otestovat vybrané esenciální oleje jako inhibitory růstu mycelia patogenu *A. dauci*.

Optimalizovat metody, které umožňují počítat spory patogenu *A. dauci* v Bürkerově komůrce.

Testovat účinek různých koncentrací vybraných esenciálních olejů na tvorbu spor *A. dauci*.

Zkoumat fumigační účinek vybraných esenciálních olejů na tvorbu spor *P. infestans*.

## **3 Literární rešerše**

### **3.1 Ochrana plodin**

V současné době choroby a škůdci rostlin způsobují závažné ztráty na produkci zemědělských plodin a ovocných stromů, snižují výši výnosů a kvalitu produktů. Ochranná opatření namířená proti nim, založená především na aplikaci syntetických pesticidů, zvyšují náklady a mají nepříznivý účinek na životní prostředí. Dnes už se nepřikláníme k intenzivní chemické ochraně, která byla velmi využívána v minulém století, a byl silně poškozován ekosystém. Jako protipól vznikl trend, jež propaguje a realizuje tzv. alternativní (ekologické) pěstování bez chemických prostředků. Bohužel alternativní pěstování má své nevýhody. Například se snižuje produkce až o třetinu a je náročnější na práci. Proto se zemědělci přiklánějí k tzv. šetrné ochraně, kdy základem je integrovaná ochrana rostlin (IOR). Ta využívá kombinaci účinných pěstebních opatření jako například mechanické způsoby, prostředky biologické ochrany, ale omezeně i chemickou ochranu (Horák a Rod, 2011).

Pravidla IOR jsou jasně vymezena evropskou legislativou a mezi její zásady platí využívat preventivní a podpůrná opatření, která zabraňují napadení škodlivými organismy (vhodné oseední postupy, výběr vhodné odrůdy, vyvážené hnojení atd.), dále pak monitoring výskytu škodlivých organismů a upřednostňování nechemických prostředků před chemickými atd. (Talich a kol., 2013).

### **3.2 Pesticidy**

Podle mezinárodní definice FAO (Food and Agriculture Organization) se pesticidem rozumí jakákoli látka nebo směs látek určených k prevenci, ničení nebo zvládnutí jakéhokoli škůdce, včetně vektorů onemocnění člověka nebo zvířat, nežádoucích druhů rostlin nebo živočichů způsobujících škody v průběhu výroby, zpracování, skladování, přepravy nebo uvádění na trh potravin, zemědělských komodit. Termín zahrnuje rovněž látky určené jako regulátory růstu rostlin, defolianty, látky zabraňující předčasnému pádu ovoce před sklizní a látky aplikované na plodiny před, nebo po sklizni na ochranu před poškozením během skladování a přepravy (Vlček, 2011).

V současné době je v České republice používáno více než 400 schválených látek a organismů s pesticidními účinky. Klasifikace těchto látek je možná z různých hledisek, zohledňujících jejich chemickou strukturu, toxické účinky na organismy (cílové případně necílové), chování v prostředí apod. S ohledem k praktickému použití, lze pesticidy resp. aktivní složky pesticidních přípravků nejčastěji rozdělit na: herbicidy, určené proti plevelným

roślinám, fungicidy, proti houbovým chorobám, insekticidy, proti hmyzu, akaricidy, proti roztočům, moluskocidy, proti měkkýšům a nematocidy, proti hád'átkům (Vlček, 2011).

### 3.3 Botanické pesticidy

Botanické pesticidy jsou alternativou při ochraně rostlin před škůdci a chorobami. Jsou to přípravky na ochranu rostlin, které obsahují rostlinné extrakty s biologickými látkami obranného charakteru. Nižší účinnost a vyšší náklady na výrobu dělají botanické pesticidy dražšími ve srovnání s cenou použití konvenčních látek. I přes zájem široké veřejnosti o dlouhodobý vliv syntetických pesticidů na zdraví a životní prostředí, přírodní pesticidy, jak mikrobiálního, tak rostlinného původu, stále nemají stabilní místo na trhu (Isman, 2000).

Rozdělení botanických pesticidů:

#### Botanické pesticidy první generace

V této skupině lze nalézt komerčně vyráběné botanické pesticidy, které byly používány po staletí a mají své kořeny zasahující hluboko do historie. Jednoduché extrakty z rostlin byly předchůdci první generace syntetických insekticidů. První zmínky pochází již z Persie z 5. století př. n. l. První komerční extrakt byl vyroben v roce 1851 a byl to insekticid. Největší rozkvět byl v období Napoleonských válek. Na sklonku 19. století započala éra chemizace a rostlinné insekticidy se přestaly vyrábět. Nicméně od konce 20. století zájem o botanické insekticidy narůstá. Vyrábějí se například z nikotinu a pyrethrumu. V současné době se dováží tyto látky z Keni a Austrálie (Pavela, 2011).

#### Botanické pesticidy druhé generace

Jedná se o přípravky, které postupně vznikaly zhruba od 20. století, a to v rámci celosvětového hledání nových alternativ ochrany rostlin. Tyto přípravky se vyznačují selektivitou, environmentální a zdravotní bezpečností. Většina těchto přípravků je vyráběna z léčivých rostlin. Obvykle tyto přípravky účinkují nejen kurativně (účinek insekticidní, baktericidní a fungicidní), ale i preventivně (repelentní účinek proti hmyzu, inhibují klíčení spor). Obsahují směs biologicky aktivních látek, které jsou často v unikátních synergických vztazích. Díky této vzájemné podpoře zabráňují vzniku selekce rezistentních populací patogenů a škůdců. V této skupině botanických pesticidů najdeme i přípravky herbicidní. Bohužel obvykle nejsou selektivní. Obsahují polyfenolické látky (flavonoidy a kumariny) a polyterpenické látky limonoidy. Účinek látek z aromatických rostlin může být buď přímý, kdy

je narušena buněčná stěna nebo organely, nebo nepřímý, a to může docházet například k inhibici klíčení spor (Pavela, 2011).

### Botanické pesticidy třetí generace

Do této skupiny patří nejmodernější přípravky, které byly vyvinuty v tomto tisíciletí. Většinou nemají přímé pesticidní účinky, pouze omezují vývoj původce choroby, například inhibicí dalšího růstu patogenů. U škůdců například zabrání žíru, kladení vajíček a mají repelentní vlastnosti. Zvyšují přirozenou obranyschopnost rostlin tím, že zvyšují částečnou rezistenci proti škůdcům a původcům chorob (Pavela, 2011).

## **3.4 Esenciální oleje**

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 nositelé chuti, konzervanty nebo jiné přídatné látky. V kosmetice jsou 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 disfunkce orgánů, systémové poruchy nebo rakovinové bujení. Jsou základním prvkem v aromaterapii (Bakkali et al., 2008).

### **3.4.1 Složení esenciálních olejů**

Charakteristickou vlastností mnoha rostlin je vůně. Tento vjem vyvolává směs těkavých látek, esenciální olej. Rostlin, které obsahují esenciální oleje, je na světě mnoho, rostou na plantážích ať již na polích nebo jako lesní porosty i ve volné přírodě. Esenciální oleje mají rozhodující uplatnění v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu, jako dochucovadla se vyskytují i v potravinářství, ale využívají se i v dalších odvětvích. Esenciální

oleje jsou definovány jako charakteristicky a intenzivně vonící těkavá olejová tekutina obsažená v různých částech rostliny (Valíček a kol., 2002).

Většina olejů se skládá z terpenů, ty jsou zastoupeny nízkomolekulárními těkavými látkami, především monoterpeny, seskviterpeny a diterpeny. Nejvíce se nacházejí především v citrusových olejích a olejích jehličnatých stromů. Mají omezenou trvanlivost, protože rychle oxidují a mohou dráždit pokožku. Jejich deriváty jsou například estery, vyskytují se zejména v levanduli a smilku. Jsou to hlavně octany geraniolu, terpineolu a borneolu. Dalším důležitým esterem je methyalsalicylát. Estery mají vyrovnávací účinek a uvolňují křeče (Valíček a kol., 2002).

Peroxidy a oxidy jsou obsažené například v eukalyptu. Nejvíce vyskytující se sloučeninou je askaridol, který patří mezi nejstabilnější organické peroxidy. Můžeme jej bez rizika zahřívát nebo destilovat s vodní parou. Oxidy uvolňují hlen a působí protiinfekčně. Fenoly a fenolické étery působí jako antibiotikum. Za hlavní zástupce fenolů můžeme považovat thymol a eugenol, které najdeme v silici tymiánové a v silici hřebíčkové. Za fenolické étery můžeme jmenovat například safrol a také anetol, který nalezneme v plodech anýzu a fenyklu. Fenoly mají velmi silné účinky, hubí bakterie a houby, působí velmi dráždivě na pokožku a mají pronikavý zápach (Germann, 2013).

Ketony mají detoxikační účinky na játra a ledviny. Nejznámější složky jsou menton, který je v silici mátové nebo karmon nacházející se v silici kmínové a také kafr a šalvěj. Efektivně hubí viry a spory hub. Ve vysokých dávkách působí neurotoxicky (Germann, 2013).

### **3.4.2 Historie používání esenciálních olejů**

Užívání esenciálních olejů má dlouhou historii, která započala asi 7000 let před n. l. v Číně, kde byly esenciální oleje využívány hlavně ke konzervaci vína. Do stejné doby se datuje i vznik metody získávání květového oleje, kdy se květy namáčejí do mastného oleje, a tím se esence uvolní a navážou na olej. Nejstarším doložený důkaz je nález destilační aparatury, která je z doby asi 3000 let před n. l. a pochází z dnešního Pákistánu. Toto zařízení funguje na principu získávání esenciálních olejů pomocí vodních par. Ve starověkém Egyptě byli pomocí olejů balzamováni mrtví. V Alexandrii bylo nutné udržovat hygienu, a proto se zde dennodenně na ulicích pálily ve speciálně vykopaných strouhách vonné kužely. V 9. století dovedli Arabové ovládat metodu destilace vodní parou. Od středověku byly esenciální oleje široce používány pro baktericidní, viricidní, fungicidní, antiparazitické, insekticidní, léčivé a kosmetické přípravky, a hlavně proti moru (Germann, 2013).

První metodický výzkum provedl francouzský chemik M. J. Dumas. Své výsledky poprvé publikoval v roce 1833. Zjistil, že esenciální oleje mají několik složek a určil některé z nich, především některé uhlovodíky. *In vitro* fyzikálněchemické testy charakterizují většinu z nich jako antioxidanty. V některých případech změny v intracelulárním redoxním potenciálu a mitochondriální disfunkce vyvolané éterickými oleji mohou být spojeny s jejich schopností vyvíjet antigenotoxické účinky. Tato zjištění naznačují, že alespoň příznivé účinky esenciálních olejů jsou díky jejich prooxidačním účinkům na buněčné úrovni. V roce 1862 se podařilo vyrobit první syntetický olej (Bakkali et al., 2008).

### **3.4.3 Metody získávání esenciálních olejů**

Esenciální oleje se získávají pomocí řady metod, na kterých většinou závisí i jejich konečná kvalita a tím i využití (Valíček a kol., 2002).

#### Destilace vodní parou

V uzavřené baňce se odpařuje voda a přes připojenou chladicí hadici se zase ochlazuje. Rostlinný materiál, který se nejdříve navlhčí, se umístí na sítko v baňce, která je zúžená a pod ní je vroucí voda. Pomocí horka a vznikajícího tlaku vynáší vodní pára drobné těkavé látky z rostlin mechanicky s sebou vzhůru. Pára ochlazená v chladicí trubce zkondenzuje. Takto kondenzovaná voda se nazývá hydrolát (Germann, 2013). Esenciální olej se usadí na povrchu hydrolátu, což pak umožní jeho oddělení. Při této metodě často dochází k částečnému rozkladu obsahovaných látek silice, proto je složení odlišné od přirozené skladby oleje rostliny (Valíček a kol., 2002).

#### Florentinská nádoba

Jedná se o láhev s širokým hrdlem, ze které vede po straně u dna hadice, sahající téměř až k ústí nádoby. Tato nádoba se používá k oddělení dvou nemísitelných kapalin, vody a oleje. Kapalina, která je těžší, klesne ke dnu a lehčí kapalina odteče postranní odtokovou trubkou ven.

Podle druhu výchozího materiálu se mění doba destilace i teplota (Germann, 2013).

### Lisování za studena

Pro získávání esencí především ze slupek citrusových plodů, jako jsou grapefruit, citron, mandarinka, bergamot a limetka, se nejčastěji používá lisování za studena (Valíček a kol., 2002). Mačkáním vnější vrstvy slupky praskají zásobníky s olejem. Ten se zachytává do speciálních nádob. Lisováním za studena lze snadno získat oleje, které jsou citlivé na vysokou teplotu (Germann, 2013).

### Enfleuráž

Nejstarší metoda získávání éterických olejů, ale dnes se již moc nepoužívá, spočívá v extrakci tukovým rozpouštědlem. Na skleněnou desku s tenkou vrstvou tuku se ručně poklade část rostliny, která obsahuje silici. Vrstva se přiklopí další skleněnou deskou a rostliny se přes dvanáct hodin skladují na chladném a suchém místě. Těchto desek se na sebe klade několik vrstev, ale lisované části se musí často měnit, a tak je potřeba velké množství pracovních sil. Proto se tímto způsobem získává olej téměř pouze z jasmínu (Valíček a kol., 2002).

## **3.4.4 Nejčastěji používané rostliny pro výrobu esenciálních olejů**

### Bazalka pravá (*Ocimum basilicum* L.)

Bazalka je jednoletá rostlina, která dorůstá 45 cm a pochází z Indie. Patří do čeledi *Lamiaceae*. Na světě existuje 60 druhů bazalek. Má zaoblené, lehce pilovité listy s velice pronikavou vůní. Květ je nenápadný a semena černohnědá o velikosti 1 mm. Používá se především v kuchyni, čerstvá do salátů a extrakt z listů se přidává do oleje. Podporuje trávení a má široké využití v aromaterapii (Bremnessová, 2004). Hlavní účinné látky v silici jsou monoterpenoly a fenyléter. Silice se získává destilací vodní parou. Má silné protizánětlivé účinky a pomáhá k utišení křečí (Germann, 2013).

### Skořicovník pravý (*Cinnamomum verum* J. Presl)

Tento tropický stálezelený strom dosahuje výšky až 9 metrů. Patří do čeledi *Lauraceae*. Má hladkou bledou kůru, která se používá po usušení do čajů, medů, punčů a svařeného vína a v medicíně je známá pro antiseptické účinky. Mletá semena se používají do směsí potpourri. Esenciální olej je získáván ze semen a využívá se hlavně v parfumerii (Bremnessová, 2004).

### Bedrník anýz (*Pimpinella anisum* L.)

Tato jednoletá bylina je známá již od starověku, pěstovala se v oblasti Malé Asie a Středomoří. Patří do čeledi *Apiaceae* a dorůstá 45 cm. Má vřetenovitý kořen a lodyhu, která je okrouhlá, rýhovaná a v horní části větvená, nesoucí dlouze nedělené spodní listy a horní okrouhle srdčité a na okraji zoubkaté. Má bílé květy uspořádané v okolíky, které kvetou v pozdním létě a jejím plodem je dvounažka, která úplně dozrává jen v opravdu teplém létě (Vermeulen, 2001). Celá rostlina velice aromaticky voní. Semena obsahují asi 2 % silice.

Průmyslově se zpracovává ve farmacii k přípravě aromatických olejů, lihů, sirupů, léčivých čajů. V domácnosti se užívá jako koření nebo jako návnada do pastí na myši. Bedrník má protikřečový účinek, uklidňuje a působí proti kašli a nachlazení. Hlavní účinná látka je fenyléter (Germann, 2013).

### Máta klasnatá (*Mentha spicata* L.)

Máta se hojně využívala už ve starověku a patří do čeledi *Lamiaceae* a je to vytrvalá rostlina. Je to růžově kvetoucí léčivá rostlina se špičatými a silně vonícími listy. Bohatě se rozmnožuje kořenovými výběžky. Často se zpracovává průmyslově na výrobu oleje a jako dochucovadlo do různých potravin (Vermeulen, 1999). Plodem je malá tmavohnědá okrouhlá tvrdka. Obsahuje až 3 % silice, v níž je více než 50 % mentholu a estery s kyselinou octovou. Máta se často užívá na nachlazení, žaludeční potíže a také na masáže proti migrénám (Pavela, 2011).

### Fenykl obecný (*Foeniculum vulgare* Mill.)

Fenykl obecný je vytrvalá rostlina a patří do čeledi *Apiaceae*. Pochází ze zemí okolo Středomořího moře, již v 8. století byl pěstován v každé královské zahradě Evropy. Je to silně vonící bylina s jemně rýhovanou až 2 m vysokou lodyhou. Fenykl má malé žluté květy uspořádané v ploché okolíky, kvetoucí uprostřed léta. Semena jsou zelenohnědá, žebrovaná. Jako hlavní složky v silici jsou anethol a fenchon. V současné době se plody používají do omáček, jako koření k rybám. Listy fenýklu se přidávají do nádivek tučných ryb. V léčení se používá extrakt ze semen pro zlepšení zažívání a proti zácpě (Bremnessová, 2004).

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

Pelargonie patří do čeledi *Geraniaceae* a byla objevena v Jižní Africe. Je to vytrvalá rostlina s chloupkatými, dlanitými listy a silně vonícími růžovými květy do vrcholíků, u nás se pěstuje jako balkonová rostlina (Vermeulen, 2001).



Valíček a kol. (2002) uvádějí, že hlavní účinné látky jsou geraniol (1–2 %), citronellol a linalool. Gerániová silice se používá v parfémtech, mýdlech, rtěnkách a pudrech. Má také protizánětlivé a protiinfekční účinky.

#### *Corymbia citriodora* (Hook.) K. D. Hill & L. A. Johnson

Je stálezelený strom dorůstající výšky 40 m z čeledi *Myrtaceae*. Pochází z Austrálie. Listy má střídavé a po rozedmutí aromaticky voní. Květy vytvářejí vidlany, plody jsou vejcovité tobolky. Z listů se získává silice (*Corymbii oleum*) a obsahuje především citronellol, citronellal a neral. Užívá se k výrobě levnějších parfémů, mýdel a dezinfekčních prostředků. Dřevo slouží při stavbě nejrůznějších konstrukcí a jako podlahový materiál (Valíček a kol. 2002).

#### *Litsea cubeba* (Lour.) Pers

Vavřín je stálezelený dvoudomý strom z čeledi *Lauraceae*. Má vonné, kožovité, lesklé tmavozelené listy, zespoda světlejší barvy, žluté květy a fialové plody. Před dobou ledovou rostl v Jižní Evropě. Dorůstá až 70 m. List se suší a přidává se do polévek, omáček a marinád. Čerstvý list se přikládá na popáleniny a podlitiny (Vermeulen, 2001).

#### *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor

Pochází pravděpodobně z oblasti Indie, v současnosti je rozšířen v tropech téměř po celém světě. *C. winterianus* je vytrvalá tráva vysoká až 1,8 m a patří do čeledi *Poaceae*. Má husté trsy vonných, velmi dlouhých zašpičatělých listů se střední žilkou. Květenství je z laty klásků. Olej obsahuje geraniol, limonen a citral. Olej se používá k čištění pleti, do relaxačních koupelí a přidává se do mýdel a parfémů (Bremnessová, 2004).

#### Hřebíčkovec kořený (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry)

Stálezelený strom žijící v tropech, dosahuje výšky 10 metrů. Má velké kožovité listy rostoucí v párech. Kvete dvakrát za rok zvonkovými růžovými květy. Olej se získává vodní destilací z pupat těchto květů (Bremnessová, 2004). Patří do čeledi *Myrtaceae*. Silice hřebíčkovce obsahuje převážně eugenol (asi 90 %). Olej uvolňuje křeče, dezinfikuje a tlumí bolest. Podporuje koncentraci a uvolňuje svaly (Germann, 2013).

### Levandule lékařská (*Lavandula angustifolia* Mill.)

Stálezelený keřík, dorůstající až 1 metru. Má celokrajné tupě špičaté listy. Květ je malý fialově modrý uspořádaný v lichoklasech. Aromatická je celá rostlina. Olej se vyrábí pouze z květů. Kvetoucí nať obsahuje 0,8–1,5 % silice, jejíž hlavními složkami jsou linalool, linalylacetát, 1,8–cineol, limonen, pinen, karyofylen a levandulylacetát. Dříve sloužila levandule jako odpuzovač hmyzu. V současnosti se levandulový olej dává do aroma lamp, přidává se do parfémů a dalších kosmetických výrobků a velmi rozšířené jsou vonné pytlíčky s nasušenou levandulí (Vermeulen, 2001).

### Šalvěj lékařská (*Salvia officinalis* L.)

Šalvěj je stálezelený otužilý keřík až 75 cm vysoký, patřící do čeledi *Lamiaceae*. Lodyhy jsou přímé, dřevnatějící, listy jsou šedozelené s vystouplou žilnatinou na spodní straně. Květ je trubkovitá červenofialová koruna (Bremnessová, 2004). V listech je silice (1,5–2,5 %), která obsahuje složky jako je thujon, salviol a cineol. Olej dezinfikuje a povzbuzuje regeneraci. Dříve se používal na zmírňování křečí, snižování pocení a zastavování průjmu. Šalvěj se nesmí brát ve velkých dávkách ani dlouhodobě, může způsobit epileptické záchvaty (Vermeulen, 2001).

### Mateřídouška obecná (*Thymus vulgaris* L.)

Tymián je vytrvalý mrazuvzdorný až 40 cm vysoký polokeř, patří do čeledi *Lamiaceae*. Lodyhy jsou silně zdřevnatělé, čtyřhranné s aromaticky vonícími listy. Květy jsou bledě fialové a objevují se začátkem léta. Plodem jsou hnědé tvrdky. Nať se používá k dochucování jídel, obsahuje největší množství silice (2–2,4 %) z rostliny. Hlavními složkami jsou thymol, citral, kafr, karavon, karvakrol a 1,8-cineol. Má silný dezinfekční a protizánětlivý účinek (Germann, 2013).

### Kafrovník lékařský (*Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl)

Kafrovník je stálezelený strom s šupinatou kůrou a patří do čeledi *Lauraceae*. V Japonsku a Číně dorůstá až 40 metrů (Vermeulen, 1999). Kveté drobnými zelenožlutými květy a plody má tmavě červené bobule. V silicích je hlavní složkou kafr, který tvoří až 75 % a dále safron a eugenol. Dříve se kafr používal jako dezinfekční prostředek, kvůli jedovatosti se vnitřně používá jen zřídka. Průmyslově se zpracovává do masážních olejů na revma (Valíček a kol. 2002).

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

Mrkev obecná je dvouletá rostlina a patří do čeledi *Apiaceae*. V prvním roce vytváří růžici zpeřených listů a zdužnatělý kořen, druhý rok vykvétá složenými okolíky drobných bílých kvítků (Pekárková, 2004). Terminální květ může být fialový. Je to cizosprašná rostlina a opylovává jí hmyz (entomofilní). Jako plod má hnědou dvounažku s háčkovitými ostny (Malý, Petříková, 1998). Mrkev je pěstována z přímého výsevu. Je bohatá na provitamin A, obsahuje i vitamíny B1, B2 a C, cukry a bílkoviny (Pekárková, 2004).

#### **3.5.1 Historie pěstování mrkve**

Divoká mrkev obecná (*Daucus carota* L.), také známá jako krajka královny Anny, je předek dnešní mrkve. Centrum původu mrkve je s největší pravděpodobností ve střední Asii v oblasti Afghánistánu a Turkistánu. První kultivované mrkve byly bílé, nachové, červené, žluté, zelené a černé, ale nikdy oranžové. Kořeny byly tenké a tvarované (Farrar a kol., 2004). Oranžová mrkev je výsledkem dlouhého procesu výběru mutantů, které vznikli šlechtěním v 17. století v Nizozemí (Malý, Petříková, 1998). Žlutá mrkev byla nejdůležitější zdrojem potravy během období zimy v Evropě, ale stala se vzácnou. Bílé odrůdy se pěstovaly pro dobytek ve „Starém světě“, v současné době se již moc nepěstují, pouze v Asii. Všechny typy mrkve jsou odvozené z fialové odrůdy, která byla pěstována v Asii a Středomoří již na začátku našeho letopočtu (Hyams, 1976).

V dnešní době je mrkev v Evropě velmi známou zeleninou. Planou formou mrkve je mrkvous, s kulturní mrkví se snadno kříží. Zřejmě se dnešní podoba mrkve vyvinula z její plané formy, která se vyskytuje hojně na našich loukách či zahradách jako plevel (Pekárková, 2004).

#### **3.5.2 Nároky na stanoviště, výživa a osevní postup**

Mrkev není náročná na klima, nejlépe roste při teplotách 9–12 °C. Dobře se jí daří v lehčích, hlubokých a kyprých půdách, dobře zásobených vodou. Kořeny mají pak rovný tvar a jsou sytě zbarveny. Pro pozdní odrůdy mrkve jsou nejvhodnější hlinité půdy a pro odrůdy svazkové a rané mrkve jsou vhodné písčité půdy s nízkým obsahem humusu. Hodnota pH půdy by se měla pohybovat v rozmezí 6,7–7,5 (Malý, Petříková, 1998).

Mrkev v osevním postupu patří až do druhé trati, nesnáší přímé hnojení organickými hnojivy. Proto hnojíme k předplodině, snažíme se do půdy vpravit dostatečné množství vápníku a dusíku. Na dusík je mrkev velice citlivá, při přiměřeném hnojení se zvyšuje výnos

i délka kořene a zároveň se snižuje jejich lámavost, naopak při přebytku N dochází k zhoršení chuti a vysokému hromadění dusičnanů v kořenech (Malý a Petříková, 1998). Nedostatek dusíku má za následek žloutnutí listů (Pekárková, 2004). Skladovatelnost mrkve ovlivňuje dostatečný obsah draslíku v půdě, podle rozborů půdy můžeme přihnojovat vícesložkovými hnojivy NPK (Malý a Petříková, 1998).

### 3.6 Alternariová (suchá) skvrnitost listů mrkve

Jejím původcem je houba *Alternaria dauci* (J. G. Kühn) J. W. Groves & Skolko, ve starší literatuře uváděná jako *Alternaria porri* f. sp. *dauci*. Choroba se většinou vyskytuje ohniskově, při silnějším výskytu však i celoplošně. Intenzitu napadení podporuje vlhčí počasí, teploty nad 25 °C a husté porosty. Vedle mrkve může napadat i fenykl, divoký pastinák, *Fumaria muralis*, celer a petržel (Farrar, 2004).

#### 3.6.1 Původ a taxonomické zařazení *A. dauci*

Alternariová skvrnitost listů mrkve byla poprvé popsána v Německu roku 1855, kdy bylo zaznamenáno několik menších ohnisek choroby na severu Evropy. V té době, byl patogen nazván jako *Sporidesmium exitiosum* var. *dauci* J. G. Kühn. Během následujících 90 let nemoc zřejmě nehrála významnou roli v produkci mrkve v Evropě. Ve Spojených státech amerických alternariová skvrnitost listů mrkve byla nejdříve ohlášena v Louisianě v roce 1890, kde byla houba pojmenována jako *Macrosporium carotae* Ellis & Langlois. Skvrnitost listů byla ohlášena od Massachusetts až na Floridu a škoda na plodinách mrkve byla významná. Po těchto prvních zprávách o alternariové skvrnitosti listů, se nemoc rozšířila do všech produkčních oblastí na světě a stala se jednou z nejvíce destruktivních chorob mrkve (Farrar, 2004).

Taxonomické zařazení: *Alternaria dauci* (J. G. Kühn) J. W. Groves & Skolko

Říše: *Fungi*

Oddělení: *Ascomycota*

Třída: *Dothideomycetes*

Řád: *Pleosporales*

Čeleď: *Pleosporaceae*

Rod: *Alternaria*

(Indexfungorum, 2017).

### 3.6.2 Výskyt a symptomy alternáriové skvrnitosti listů mrkve

Příznaky se objevují 8 až 10 dnů po iniciaci infekce a projevují se především na listech, řapíkách a květech. Příznaky na listech se ve větším rozsahu objevují až ve druhé polovině vegetace. Na nejstarších listech vznikají jeden až dva milimetry velké žlutohnědé skvrny se světlejším lemem. Skvrny se postupně zvětšují, splývají a tmavnou. V pozdějších fázích jsou všechny listy s výjimkou nejmladších („srdéčkových“) zcela suché a odumřelé (Kazda a kol, 2007).

Silná redukce listů má za následek nejen podstatné snížení výnosů kořenů, ale i znemožnění sklizně (především mechanizované), protože není za co kořeny vytáhnout ze země. Choroba se většinou vyskytuje ohniskově, při silnějším výskytu však i celoplošně. Intenzitu napadení podporuje vlhčí počasí, teploty nad 25 °C a husté porosty (Kužma, 2002). Infikované květy brzy produkují pouze neživotaschopná semena. Květy infikované později, produkují semena životaschopná, ale infikovaná a ta pak rozšiřují infekci do dalších oblastí. Infikované rostliny mohou být prorostlé myceliem houby a hojně produkovat konidie. Později černají a mokvají (Farrar, 2004).

### 3.6.3 Biologie a rozmnožování *A. dauci*

*Alternaria dauci* patří do skupiny patogenů rostlin. Rozmnožuje se nepohlavně konidiemi, které vyrůstají ze špiček konidioforů. Konidiofory jsou krátké, tmavé a s přehrádkami. Konidiofory mohou být dvojího typu. Prvním typem je rovný konidiofor, jež má pouze jediné zakončení. Druhý typ má dvě až tři zakončení, tento konidiofor je větvený. Toto větvení může nastat až na vrcholku hyfy nebo již v průběhu růstu hyfy. Z konidioforů vyrůstají jedna až dvě konidie, v laboratorních podmínkách vytváří několikačetné řetězce. Zralá konidie je mnohobuněčná, oválná se zobáčkem na jedné straně a je dělena příčnými a podélnými přepážkami. Je obklopena dvouvrstvou stěnou, vnější stěna je pigmentovaná a vnitřní průhledná. Typické pro konidie rodu *Alternaria* je v první řadě jejich velikost. Oproti ostatním druhům jsou tyto konidie mnohem větší. Konidie se šíří vzduchem a při příznivých podmínkách se uchycuje na povrchu rostliny. Mycelium z konidií prorůstá hyfami průduchy nebo poškozenou epidermis rostliny. Pohlavní rozmnožování nebylo u tohoto druhu pozorováno (Khandelwal, 2014).

### **3.6.4 Ochrana proti *A. dauci***

Základem ochrany proti alternáriové skvrnitosti listů je dostatečný časový odstup při pěstování hostitelských rostlin na jednom místě (minimálně tři roky), pěstování mrkve na vzdušných a slunných místech, používání zdravého osiva z uznaných porostů, řidší výsevy, pouze omezená závlaha a likvidace posklizňových zbytků. V náchylnosti odrůd existují v některých případech i značné rozdíly. Účinné je moření osiva. V semenných porostech se používají přípravky na bázi mědi nebo mancozebu (Kužma, 2002).

## **3.7 Lilek brambor *Solanum tuberosum* L.**

Lilek brambor je víceletá hlíznatá rostlina, u nás se pěstuje jako jednoletá a patří do čeledi *Solanaceae*. Pěstuje se v mírném pásu. Je to bylina s hranatou, bohatě rozvětvenou lodyhou, přímou nebo i poléhavou, s krátkými chloupky. Dorůstá výšky 60 až 100 cm. Listy jsou lichozpeřené, mírně ochlupené. Květy jsou nejčastěji bílé, růžové nebo fialové se sytě žlutými až oranžovými prašníky. Plody jsou zelené nebo žlutozelené bobule o průměru 2 až 4 cm obsahující bílá semena. Podzemní část je charakteristická svazčitými kořeny s hlízami rozmanitých elipsoidních až nepravidelných tvarů, nejčastěji s okrově žlutou až světle hnědou, u některých kultivarů červenou až červenofialovou pokožkou. Obsahuje až 70 % škrobu a vysoký obsah minerálních látek. Dle obsahových látek se zpracovává v lihovarech, škrobárnách nebo slouží pro přímý konzum (Čepl a kol., 2009).

### **3.7.1 Historie pěstování brambor**

Území, na kterém původně rostly brambory, byly náhorní plošiny na západě Jižní Ameriky. Evropané se poprvé setkaly s bramborami v první třetině 16. století, na území vyspělého státu Inků. První zmínka o pěstování bramboru v Evropě se datuje roku 1537. Během 17. století se rozšiřují brambory po celé Evropě a Severní Americe. V 18. století musela Evropa procházet několika hladomory, a tak se brambory osvědčily jako snadno pěstované a výživné jídlo pro chudé (Kutnar, 2005).

### **3.7.2 Nároky na stanoviště, výživa a osevní postup**

Bramborám se obecně nedaří v kamenitých nebo těžkých půdách s vysokou sklonitostí nebo vlhkostí. U brambor se musí dbát na zpracování půdy, které by mělo probíhat na podzim i na jaře. Na podzim se nejdříve provede podmítka a orba, která slouží k zapravení organických hnojiv. Na jaře se prokypřuje půda do hloubky 20 cm. Brambory se hnojí

průměrně 50 kg dusíku, 9 kg fosforu, 70 kg draslíku a 20 kg vápníku ročně, podle potřeby se přidává i hořčík.

Kombinují se statková hnojiva i minerální, jako například DAM – 390 (Čepl a kol., 2009).

### 3.8 Plíseň bramboru

#### 3.8.1 Původ a taxonomické zařazení *P. infestans*

Patogen je původní v centrální oblasti Mexika, později se rozšířil do USA a Kanady. Pravděpodobně v letech 1843–1844 byly dovezeny lodní dopravou infikované hlízy do Evropy. V roce 1845 nastalo epidemické šíření choroby po západní Evropě až do Německa, postupně se choroba rozšířila do všech evropských zemí. V současné době se patogen vyskytuje ve všech oblastech pěstování bramboru a rajčete na všech kontinentech (Juroch, 2011).

Říše: *Chromista*

Kmen: *Oomycota*

Třída: *Oomycetes*

Řád: *Peronosporales*

Čeleď: *Peronosporaceae*

Rod: *Phytophthora* (Mont.) de Bary (Indexfungoru, 2017)

#### 3.8.2 Výskyt a symptomy plísně bramboru

Původce plísně bramboru přezimuje na infikovaných hlízách ve formě mycelia, buď na nevyoraných hlízách, které na pozemku zbyly po sklizni nebo hlízách skladovaných. Primární infekce se projevuje tak, že mycelium prorůstá přes stonky a řapíky do vrcholových lístků rostliny. Na těchto listech se vytváří skvrny, které zasychají, a to nejprve na špičkách listů a z nich se šíří na celý list. Na spodní straně listu se vytváří bílé mycelium se sporangiofory (Kazda a kol, 2007).

Sekundární infekce se projeví nejdříve na spodních listech, kde ulpívají nejdéle kapky vody. Infikována je celá rostlina i veškerý porost. Vegetativní růst mycelia je závislý na vlhkosti a teplotě. Optimální teplota je 20–25 °C, v noci pak 12–15 °C. Inkubační doba od napadení po vznik viditelných příznaků je přibližně týden. Napadené hlízy jsou šedivé, a pokud je infekce silná, do několika týdnů shnijí. Původce napadá i rajčata (Talich a kol., 2013).

### 3.8.3 Biologie a rozmnožování *P. infestans*

Původce choroby *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary je fakultativní hemibiotrofní parazit. Patogen přezimuje v napadených hlízách jak na poli, tak ve skladech. Pokud je infekce silná, celá hlíza shnije (Kazda a kol., 2007). Po výsadbě mycelium prorůstá do nadzemní části rostliny až k vegetačnímu vrcholu, zde za příznivých podmínek fruktifikuje, takto probíhá primární napadení (Talich a kol., 2013). Ve vodním prostředí se ze sporangií, přenesených větrem nebo vodními kapkami na povrch hostitelské rostliny, uvolňuje 6–8 (10) zoospor, které jsou ledvinovitého, mírně zploštělého tvaru a opatřené 2 bičíky různé délky. Zoospory se brzy přestávají pohybovat, ztrácí bičíky, vytváří klíční vlákno zakončené apresoriem, jehož penetrační roh proniká do hostitelské rostliny průduchy nebo pokožkou do vnitřních parenchymatických pletiv a vyvíjí se v mycelium (Juroch, 2011).

V mezibuněčných prostorách napadených pletiv se postupně rozrůstají jednotlivé hyfy, větví se a tvoří haustoria, kterými pronikají do buněk, z nichž získávají živiny. Z mycelia vyrůstají nejčastěji průduchy nebo poraněnou pokožkou sporangiofory, a to jednotlivě nebo ve svazečcích po 2–5. Sporangiofory jsou v horní části stroměčkovitě větvené. Na koncích jednotlivých větví se tvoří sporangia citrónkovitého nebo oválného tvaru. Rozměry sporangií jsou proměnlivé, nejčastěji jsou 12 (20) – 21 (23)  $\mu\text{m}$  široké a 21 (27) – 30 (38)  $\mu\text{m}$  dlouhé. Sporangia jsou bezbarvá, hladká a tenkostěnná, jsou opatřena krátkou stopečkou na bázi a apikálním pórem. Po dozrání jsou uvolňována a mohou být přenášena větrem na velké vzdálenosti nebo vodními kapkami z horních listových pater na spodní. Sporangia jsou zdrojem sekundárních infekcí. Uvolněná sporangia klíčí buď přímo pomocí vytvořeného klíčního vlákna, nebo nepřímo tvorbou zoospor (Juroch, 2011).

Přímé klíčení probíhá za teplého počasí (18–26 °C), za nižších teplot (10–18 °C) sporangia klíčí nepřímo. Volné zoospory mají na rozdíl od sporangií a zejména pohlavně vzniklých oospor omezenou životnost, a to především v nepřítomnosti vody nebo při vystavení slunečnímu záření po delší dobu. Pohlavní rozmnožování, při kterém dochází ke spojení antheridií a oogonií a z oplodněné oosféry vzniká oospora, bylo prokázáno v našich podmínkách (Talich a kol., 2013).

Oospory jsou silnostěnné spory, které mohou přežívat nepříznivé podmínky (např. velmi nízké teploty, sucho) a zůstat životaschopné po dobu několika let. Vznikají v pletivech napadených částí rostlin (listy, stonky, hlízy) a přetrvávají ve zbytcích rostlin a po jejich rozkladu v půdě. Oospory jsou kulovitého tvaru, velikosti 24–35 (46)  $\mu\text{m}$ , klíčí pomocí klíčního vlákna, které je zakončené terminálním sporangiem (Juroch, 2011).



### 3.8.4 Ochrana proti *P. infestans*

Základem je volba vhodné odrůdy podle klimatických podmínek dané lokality. Doporučuje se také časná výsadba, neboť v době nástupu epidemie je porost odolnější, částečně již zajištěným výnosem. Důležité také je dodržení sponu rostlin, protože při nahuštěném porostu se udržuje vysoká vzdušná vlhkost (Talich a kol., 2013).

Podle možnosti by se neměly brambory pěstovat v lokalitách s těžkou půdou, v blízkosti vod a lesů. Vyrovnaná výživa podporuje odolnost porostu k infekci. Nedoporučuje se přehnojení dusíkem, vede k přebujení porostu a rychlejšímu šíření choroby. Napadení hlíz lze omezit vyšší vrstvou půdy nad hlízami. Při výskytu plísně v hlízách je vhodné udělat sklizeň později, aby se stačily napadené hlízy rozložit. Jako chemická ochrana se doporučuje použití fungicidů včas a fungicidní clona se musí udržovat celou dobu bez přerušení. Výběr fungicidů se podřizuje náchylnosti odrůdy na plíseň, klimatickým podmínkám a stavu porostu. Jako preventivní postřiky se používají kontaktní fungicidy. V době začátku epidemie se používají fungicidy s lokálně systemickou složkou, systemické fungicidy a účinnější kontaktní fungicidy (citace?).

V závěru vegetace se používají přípravky na ochranu hlíz (Kazda a kol, 2007).

### 3.9 Mikroskopické metody

Identifikace spor je prováděna v *in vitro* podmínkách. Kolonie houby je vypěstovaná v Petriho miskách. Teploty inkubace a uchování a složení agarů jsou vysoce rozdílné pro každý patogen (Christensen, 1975).

Bürkerova komůrka je asi 0,5 cm silné zabroušené sklo, délky 7 cm a šířky 3 cm. Horní plocha je rozdělena dvěma silnými příčnými rýhami a jednou podélnou. Střední část je snížena o 0,1 mm oproti okolí. Přikrytím střední části vzniká komůrka výšky 0,1 mm, spodní plocha je rozdělena jemnými vrypy na síť známých rozměrů. Bürkerova komůrka se naplní tak, že se pipeta naplněná roztokem přiloží ze strany ke štěrbině mezi krycím sklem a střední nižší lištou komůrky. Roztok se kapilaritou nasaje do komůrky. Po správném naplnění počítacího prostoru se přenesou komůrka na stolek mikroskopu a několik minut je nutné vyčkat, aby došlo k sedimentaci buněk do jedné optické roviny. Poté je možné počítat buňky/spory (Fenclová, 2006).



Obrázek 1: Bürkerova komůrka

Zdroj:<https://www.lfp.cuni.cz/patofyziologie/materialy/krev/pocitani.html>

### 3.9.1 Popis mikroskopu

Klasický mikroskop se skládá z takzvané optické části, která zajišťuje vznik a promítání obrazu a mechanické části, která chrání optickou část a tvoří tělo mikroskopu.

Mechanická část se sestává ze stativu, který drží tělo mikroskopu a stolku. Součástí stativu může být také osvětlení, které zajišťuje v moderních mikroskopech Led-lampa. Poté jedno nebo dvě otáčivá kolečka na boku stativu, sloužící k ostření na preparát. Stolek může být buď křížový, kdy pohybujeme pomocí šroubů preparátem ve čtyřech směrech, nebo kulatý, určený pro posazení Petriho misek (Kremer, 2013).

Optická část většinou vypadá jako tubus (trubka), která je složená z okuláru, kterým nahlížíme do mikroskopu, a ve spodní části se nachází soustava čoček. Nachází se zde několik objektivů různých délek a zvětšení v revolverovém měniči objektivů. Kondenzor, který má za úkol soustřeďovat světlo ze zdroje na objektiv. Polní clona reguluje hloubku ostrosti. Podle typu mikroskopu může být součástí optické části i sběrná čočka a přídatné filtry (polarizační apod.) (Kremer, 2013).

### 3.9.2 Spora a sporulace

Spora je obecný termín pro rozmnožující částici, ze které může vzniknout nový jedinec. Skládá se z jedné nebo více buněk a neobsahuje zásobní látky jako semena rostlin. Spory mají velké množství variací, od bezbarvé až po černou barvu, mohou být hladké i s vroubkem. Jejich tvar je přizpůsoben ke vznášení se ve vodě. Dokáží nepoškozené projít

trávicím traktem zvířat a při příznivých podmínkách ihned vyklíčit. U některých druhů může být životaschopnost dlouhá více jak 5 let (Petersen, 2013).

Spory se dělí podle vzniku na mitospory, vznikají mitoticky a meiospory, jejich vzniku předchází meiotické dělení, typické pro askospory (u vřeckovýtrusých hub) a bazidiospory (u stopkovýtrusých hub). Dále se dělí podle pohyblivosti: zoospory, jsou pohyblivé, mají dva bičíky a ve vodním prostředí jsou schopny aktivního pohybu např. (planospory) – typické pro oddělení chytridiomycety. Sporangiospory jsou nebičíkaté nepohyblivé spory, tzv. aplanospory, vznikající ve sporangiu. Tento typ spor je typický pro zástupce oddělení zygomycety. Konidie jsou nepohyblivé jedno- či vícebuněčné spory, vznikající na specializovaných hyfách, nazývaných konidiofory (nosiče konidií), konidie mohou vznikat buď rozpadem hyfy, nebo se na hyfách tvoří nově na principu pučení; tento typ rozmnožování je typický pro vřeckovýtrusé a stopkovýtrusé houby (Petersen, 2013).

## 4 Metodika

### 4.1 Vliv esenciálních olejů na inhibici patogenu *Alternaria dauci*

#### 4.1.1 Použitý materiál a přístroje

Pro inkubaci izolátů při stálé teplotě, která byla 19,5 °C, bylo využito kultivačního termostatu. Pro rozlévání agarů a očkování izolátů patogenu byl využit laminární box ESCO Laminar Flow Cabinet. Pro izolaci a následné uchování izolátů byly použity plastové Petriho misky o průměru 60 mm. Testy účinnosti esenciálních olejů byly provedeny v Petriho miskách o průměru 90 mm. Dále byl použit světelný mikroskop se zabudovaným fotoaparátom na sledování spor patogenu.

Pro růst patogenu bylo využito živné medium - mrkvový agar s přidavkem sacharózy (MSA).

Složení:

na 1 živného média bylo využito

Vývar z 250 g mrkve - po uvaření bylo odebráno 500 ml mrkvového vývaru a bylo zředěno s 500 ml destilované vody. Následně byl roztok doplněn 4 g sacharózy a 20 g agarů. Následně byla směs sterilizována v tlakovém hrnci.

#### 4.1.2 Izolace patogenu a získání čistých kultur

Patogen byl izolován 5. 9. 2016 z listů mrkve obecné seté (odrůda Fidra), která byla získána při hodnocení maloparcelkových pokusů na pokusném a demonstračním pozemku ČZU.

Pro pokusy s esenciálními oleji (EO) na živném medium bylo využito 9 izolátů *A. dauci* z 9 rostlin. Pro zajištění diverzity byl jako desátý izolát použit Novozélandský izolát *A. dauci*, kterou poskytl RNDr. Čeněk Novotný, PhD. z Akademie věd České republiky.

Použité izoláty: NZ referenční izolát a české izoláty označené S1, S2, F1, F2, F3, F4, F5, C1 a C2.

#### 4.1.3 *In vitro* test na agaru

Do zchlazeného agarů byl v koncentraci 0,1 % přidán esenciální olej rozpuštěný v DMSO (dimethylsulfoxid) v poměru 1:1. Následně byl agar rozlit do Petriho misek o průměru 90 mm a poté byl naočkován izoláty patogenu *A. dauci* pomocí sterilní jehly. Patogen byl po dobu 13 dnů inkubován v termostatu ve tmě při teplotě 19,5 °C. Do kontrolní varianty byl

přidán DMSO. Testy byly provedeny v šesti opakováních. Vyhodnocení testu bylo stanoveno s ohledem na růst mycelia patogenu na kontrolní variantě.

Byl zkoumán fungicidní účinek při 0,1% koncentraci u vybraných esenciálních olejů z rostlin: *Pimpinella anisum*, *Cymbopogon winterianus*, *Foeniculum vulgare*, *Eugenia caryophyllus*, *Mentha spicata*, *Cinnamomum camphora*, *Salvia officinalis*, *Litsea cubeba*, *Origanum majorana*, *Pelargonium graveolens*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris*, *Eucalyptus citriodora*, *Cinnamomum zeylanicum* a *Lavandula angustifolia*.

Po nárůstu mycelia na kontrolní variantě byl vyhodnocen nárůstu mycelia všech variant pomocí automatického pravítka. Inhibiční účinek jednotlivých esenciálních olejů na jednotlivé izoláty *A. dauci* byl spočítán podle vzorce

$$\% = 100 - [(dT/dC) \times 100], \text{ dT} = \text{nárůst patogenu}, \text{ dC} = \text{nárůst kontroly}.$$

Výsledky byly zpracovány v programu MS Excel.

#### **4.1.3.1 Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) esenciálních olejů**

Esenciální oleje, u nichž byl prokázán inhibiční účinek při 0,1% koncentraci, byly použity dále ke zjištění MIC, za pomoci kultivace daného patogenu na sérii koncentrací esenciální látky v agaru. Zásobní roztok látky v DMSO (dimethylsulfoxid) byl přidán do agaru o takovém objemu, aby bylo vytvořeno 5 koncentrací:

0,1 %	1000 µl/l
0,08 %	800 µl/l
0,06 %	600 µl/l
0,04%	400 µl/l
0,02%	200 µl/l

Do kontrolní varianty bylo přidáno pouze DMSO. Test byl proveden ve třech opakováních. Vyhodnocení testu bylo stanoveno s ohledem na růst mycelia patogenu na kontrolní variantě.

#### **4.1.4 Vliv esenciálních olejů na tvorbu spor u patogenu *Alternaria dauci***

Pro test byl vybrán izolát patogenu *A. dauci* C1. Pro pozorování konidií byla použita Bürkerova komůrka. V objektivu byl sledován počet spor v 50 čtvercích a počet spor v ml byl spočítán podle tohoto vzorce.

Vzorec výpočtu -

$\text{počet spor v ml} = \text{počet} \frac{\text{spor v 50 čtvrtcích}}{\text{plocha}} \times 250 \times 1000 \times 50$

#### 4.1.4.1 Postup získání spor *A. dauci*

**Smytí destilovanou vodou** (Shahin et Shepard, 1978, Misaghi et al., 1977)

1) Po 3 týdnech růstu patogenu bylo do Petriho misky přidáno 5 ml destilované vody. Pomocí štětečku a pinzety byly spory uvolněny do vody. Pipetou byla přemístěna suspenze spor na podložní sklíčko Bürkerovy komůrky.

2) Na Petriho misky 90 mm, které již byly plně zarostlé myceliem patogenu (po týdnech), byly aplikovány esenciální oleje ve 100% koncentraci o objemu 5  $\mu\text{l}$  na sterilní filtrační papír o rozměru 5 x 5 mm, který byl vložen na plochu 1 x 1 cm, která byla vyříznuta v živném mediu.

Byly použity esenciální oleje z rostlin: *Litsea cubeba*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Thymus vulgaris*, *Eugenia caryophyllus*. Pokus byl realizován ve dvou opakováních a počet spor byl měřen po 14 dnech. Pro porovnání byla použita kontrola s celofánem, jelikož z Petriho misky bez použití celofánu nebylo získáno dostatečné množství spor. Spory byly smývány 5 ml destilované vody z celé Petriho misky 90 mm.

Výsledky měření byly zpracovány v programu MS Excel.

**Smytí sacharózou a glukózou** (Hamad et al, 2014, Gottlieb et Caltrider, 1963)

Jelikož destilovaná voda neumožnila u misek porostlých patogenem dostatečné smytí spor, byly použity různě koncentrované roztoky sacharózy a glukózy – 5, 10, 15, 20 a 25% roztoky v 5 ml destilované vody z celé Petriho misky 90 mm. Následně pomocí těchto roztoků byly smývány spory z povrchu živného media.

#### **Využití celofánu**

Z celofánu byla vystřižena kolečka o velikosti Petriho misky. Celofán byl sterilizován v tlakovém hrnci po dobu 30 min. Na čerstvě připravený a ztuhlý MSA byl vložen celofán, tak, aby se pravidelně rozprostřel po jeho celém povrchu. Petriho misky zůstaly několik minut pootevřené, aby se z celofánu odpařila přebytečná vlhkost. Izolát byl naočkován doprostřed

misky přímo na celofán. Po 3 týdnech byly spory patogenu smyty 5 ml destilované vody z celé Petriho misky 90 mm.

Pro tento test byly použity oleje *Litsea cubeba*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon winterianus*, *Thymus vulgaris*, *Eugenia caryophyllus*, *Pelargonium graveolens* o koncentracích: 0,1 %, 0,08 %, 0,06 %, 0,04 % a 0,02 %.

#### **4.2 Vliv esenciálních olejů na tvorbu spor u patogenu *Phytophthora infestans***

Pro tento test byly použity izoláty V2 27 patogenu *P. infestans* pocházející se sbírky katedry ochrany rostlin. Byl použit bramborový agar s glukosou.

Do Petriho misek 90 mm s patogenem *P. infestans* byly aplikovány esenciální oleje ve 100 % koncentraci o objemu 5 µl na sterilní filtrační papír o rozměru 5 x 5 mm, který byl vložen na plochu 1 x 1 cm, která byla vyříznuta v živném mediu.

Byly použity esenciální oleje z rostlin: *Litsea cubeba*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon winterianus*, *Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*, *Eugenia caryophyllus*, *Pelargonium graveolens*.

Spory smyté 5 ml destilované vody z celé Petriho misky byly počítány třikrát a to po 1 dni, po 4 dnech a po 14 dnech.

## 5 Výsledky

### 5.1 Vliv esenciálních olejů na inhibici patogenu *Alternaria dauci*

#### 5.1.1 In vitro test na agaru

V tabulce 1 jsou uvedeny inhibiční účinky esenciálních olejů při 0,1% koncentraci na izoláty patogenu *A. dauci*. Nejlepšího a to 100% inhibičního účinku dosáhly esenciální oleje z rostlin *Eugenia caryophyllus* a *Cinnamomum zeylanicum*. Velmi dobrý účinek vykázal i esenciální olej z *Thymus vulgaris* (93 %). Esenciální oleje z *Cymbopogon winterianus*, *Litsea cubeba* a *Pelargonium graveolens* již neposkytly takový inhibiční účinek jako oleje předchozí. V návaznosti na uvedené výsledky byly vybrány esenciální oleje pro určení vlivu na počet spor v další fázi pokusů.

Tabulka 1: Inhibiční účinek (%) esenciálních olejů (0,1%) na růst mycelia izolátů *A. dauci* (průměrná hodnota šesti opakování)

Izolát <i>A. dauci</i> / Název	S1	S2	F1	F2	F3	F4	F5	C1	C2	NZ	Průměr celkový %
<i>Pimpinella anisum</i>	43	0	39	0	50	0	0	0	0	59	19,03
<i>Cymbopogon winterianus</i>	61	63	38	21	63	0	28	0	0	78	35,30
<i>Foeniculum vulgare</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60	5,96
<i>Eugenia caryophyllus</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Mentha spicata</i>	0	0	0	0	0	0	17	0	0	58	7,42
<i>Cinnamomum camphora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	76	7,58
<i>Salvia officinalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



<i>Litsea cubeba</i>	0	33	30	93	0	0	100	0	0	93	35,00
<i>Origanum majorana</i>	0	0	0	0	0	0	22	0	0	0	2,19
<i>Pelargonium graveolens</i>	0	0	0	36	53	33	39	0	43	87	29,13
<i>Ocimum basilicum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	67	6,74
<i>Thymus vulgaris</i>	90	90	93	100	98	100	100	75	82	97	92,56
<i>Eucalyptus citriodora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	67	6,69
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Lavandula angustifolia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Konrtola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

### 5.1.2 Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) esenciálních olejů

Esenciální oleje, které při koncentraci 0,1 % vykazovaly 50-100% inhibiční účinek, byly testovány v koncentračních řadách za účelem stanovení minimální inhibiční koncentrace.

Tabulka 2: Minimální inhibiční koncentrace vybraných olejů

EO	MIC
<i>Cymbopogon winterianus</i>	0,10 %
<i>Litsea cubeba</i>	0,08 %
<i>Eugenia caryophyllus</i>	0,08 %

<i>Pelargonium graveolens</i>	0,08 %
<i>Thymus vulgaris</i>	0,02 %
<i>Cinnamomum ceylanicum</i>	0,02 %

MIC *Eugenia caryophyllus* byla stanovena na 0,08 %. Pro esenciální olej z *Litsea cubeba* byla stanovena minimální inhibiční koncentrace 0,08 %. Minimální inhibiční koncentrace u esence z *C. winterianus* byla stanovena na 0,1 %. *Pelargonium graveolens* - při nejvyšší koncentraci látky byla inhibice růstu patogena 100 % a postupně inhibiční efekt klesal. MIC byla stanovena na 0,08 %. Silice z *Cinnamomum ceylanicum* je podle dosavadních výzkumů jednou z nejúčinnějších silic a její minimální inhibiční koncentrace se předpokládá menší než 0,02 %. *Thymus vulgaris* - minimální inhibiční koncentrace byla stanovena na 0,02 %.

### 5.1.3 Vliv esenciálních olejů na tvorbu spor u patogenu *Alternaria dauci*

Z Petriho misky porostlé patogenem bez přítomnosti esenciálního oleje byly spory vymývány nejprve destilovanou vodou a jako další způsob bylo vyzkoušeno vymývání roztokem cukrů (fruktózy a sacharózy) v různé koncentraci.

Množství spor nebylo dostačující, a tak výsledky nemohly být popsány.

#### Smytí destilovanou vodou

Bylo zjištěno, že esenciální oleje pravděpodobně podporují sporulaci a z agarů s esenciálním olejem je možné snadno vymýt spory v dostatečném množství pouhou destilovanou vodou (5 ml). Na základě výsledků při měření nárůstu mycelia při koncentraci 0,1 % byly zvoleny 4 oleje, jejichž účinek byl zjišťován ve 2 opakováních (viz. tabulka 3).

Tabulka 3: Počty spor *Alternaria dauci* po aplikaci vybraných druhů olejů

esenciální olej	1. opakování		2. opakování		průměr spor v 1 ml
	počet spor	spory v 1 ml	počet spor	spory v 1 ml	
<i>Litsea cubeba</i>	236	1180000	324	1620000	1 400 000
<i>Eugenia caryophyllus</i>	716	3580000	628	3140000	3 360 000
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	489	2445000	267	1335000	1 890 000
<i>Thymus vulgaris</i>	150	750000	166	830000	790 000
Kontrola na celofánu	532	2 660000	492	2 460000	2 560 000

Z výsledků znázorněných v tabulce 2 vyplývá, že počty spor jsou značně variabilní nejenom, co se týče rozdílů mezi esenciálními oleji, ale i mezi jednotlivými měřeními, i přesto, že substrát byl homogenní. Z výsledků je zřejmé, že počet spor pod vlivem esenciálního oleje nekoreluje s jeho účinností. Největší počet spor byl naměřen u varianty s olejem z *Eugenia caryophyllus*, který je vyhodnocen jako velmi účinný, co se týče inhibičního účinku.

### Smytí sacharózou a glukózou

Pomocí této metody nebylo získáno dostatečné množství spor. Byla tudíž z pokusů vyřazena.

### Využití celofánu

U kontrolních variant, kde byl umístěn celofán na agar, byla zaznamenána tvorba velkého množství spor. Avšak u variant s různými koncentracemi esenciálních olejů nebyla a tvorba spor zaznamenána nebo jen ve velmi malém množství.

## 5.2 Vliv esenciálních olejů na tvorbu spor u patogenu *Phytophthora infestans*

Počet spor u patogenu *P. infestans* nekoreluje s výsledky, které byly získány u patogenu *A. dauci*.

Tabulka 4: Počty spor *Phytophthora infestans* v 1ml vody po aplikaci vybraných druhů olejů ve 3 měřeních

Oleje	po 1 dni	po 4 dnech	po 14 dnech
<i>Pelargonium graveolens</i> (PG)	0	0	0
<i>Litsea cubeba</i> (LC)	0	20000	15000
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (CC)	150000	360000	29000
<i>Cymbopogon winterianus</i> (CW)	920000	110000	280000
<i>Thymus vulgaris</i> (TV)	410000	110000	170000
<i>Mentha spicata</i> (MS)	90000	210000	320000
<i>Eugenia caryophyllus</i> (EC)	15000	100000	320000
Kontrola	200000	180000	0

Z tabulky 4 vyplývá, že počet spor je opět velmi variabilní, a to jak v ohledu na esenciální olej, tak i v rozestupu mezi měřeními. Ne vždy je jeho trend klesající, popř. stoupající kvůli těkavosti. Daná variabilita jen podtrhuje výsledky z laboratorních pokusů nejenom v rámci této práce, a to, že esenciální oleje jsou značně variabilní a jejich působení nelze stále zcela vysvětlit.

## 6 Diskuze

Již od středověku byly esenciální oleje široce používány pro ochranu rostlin před bakteriemi, viry, houbovými chorobami, parazity a škodlivým hmyzem. V současné době se požívají především ve farmacii, kosmetice, zemědělství a potravinářském průmyslu (Bakkali, 2008). Určité esenciální rostlinné oleje, jsou již léta používány k odpuzování hmyzu. Nedávné výzkumy v několika zemích potvrzují, že některé rostlinné silice mohou nejen odpuzovat hmyz, ale mají insekticidní účinek proti konkrétním škůdcům a fungicidní účinek proti některým důležitým rostlinným patogenům (Isman, 2000).

Robak et al. (2007) aplikovali ještě před sklizní mrkve esenciální oleje z pomeranče a grapefruitu a pozorovali výskyt skvrnitosti listů mrkve ve skladech. V pokusech prokázali, že esenciální olej z grapefruitu snížil výskyt patogenu *A. dauci* až o 90 %. V této práci ani jeden z vybraných esenciálních olejů neprokazoval tak velké snížení výskytu *A. dauci*.

V práci Lima (2016) byly použity extrakty rostlin česneku (*Allium sativum*), koriandru (*Coriandrum sativum*) a papriky (*Capsicum baccatum*) v kombinaci s esenciálním olejem z pomerančovníku (*Citrus sinensis*) a byl zkoumán výskyt *A. dauci* na pěti odrůdách semen mrkve. Výskyt *A. dauci* po ošetření rostlinnými extrakty a silice se výrazně snížil, největší inhibiční účinky měl extrakt z česneku v kombinaci s pomerančovým olejem.

Bařová (2015) ve své práci uvádí, že esenciální látky z rostlin *Cymbopogon winterianus*, *Litsea cubeba*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Syzygium aromaticum* a *Thymus vulgaris* vykazují při 0,1% koncentraci 100 % inhibici na růst patogenu *P. infestans*. V předložené práci prokázal esenciální olej *Pelargonium graveolens* inhibiční vliv na tvorbu spor.

Olanya and Larkin (2006) zkoumali růst patogenu *P. infestans* při použití esenciálních olejů z *Lavandula angustifolia*, *Thymus vulgaris* a *Origanum vulgare*. Naprostou inhibici růstu patogenu bylo dosaženo za použití esenciálního oleje z oregana. Při použití silice z tymiánu byl pouze zpomalen růst mycelia, avšak oleje z levandule byly nejméně účinné. *Lavandula angustifolia* a *Thymus vulgaris* prokazatelně v předložené práci neovlivnily sporulaci *P. infestans*.

Soylu et al. (2006) zkoumali účinky esenciálních olejů na růst patogenu. Použity byly EO z oregána (*Origanum syriacum* var. *bevanii*), tymiánu (*Thymbra spicata* subsp. *spicata*), levandule (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas*), rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*), fenyklu (*Foeniculum vulgare*) a vavřínu (*Laurus nobilis*). Esenciální oleje z rozmarýnu, levandule a vavřínu inhibovaly patogen při koncentracích 0.4–2.0 µg/ml, esenciální oleje z tymiánu a

oregana při koncentraci 0,3  $\mu\text{g/ml}$ . V předložené práci inhiboval tvorbu spor patogenu *P. infestans* pouze esenciální olej získaný z *Pelargonium graveolens*. Naopak *Thymus vulgaris* tvorbu spor patogenu spíše podpořil.

## 7 Závěr

V průběhu řešení této práce byly úspěšně získány izoláty *A. dauci*, které mohly být použity pro další testování.

Nejlepšího inhibičního účinku na růst mycelia *A. dauci* bylo dosaženo u esenciálních olejů z rostlin *Thymus vulgaris* (MIC 0,02 %) a *Cinnamomum zeylanicum* (MIC 0,02 %).

Byly optimalizovány metody měření počtu spor, získány potřebné vědomosti pro další výzkum v této oblasti a stanoveny závěry o účinnosti působení esenciálních olejů na spory.

Bylo zjištěno, že počet spor nekoreluje s inhibiční účinností esenciálního oleje. Výsledky z pokusů jsou velmi variabilní a tím pádem těžko vyhodnotitelné. Vlastnosti esenciálních olejů je stále třeba zkoumat. Vliv esenciálních olejů na spory bude předmětem dalšího výzkumu.

Hypotéza, že existují esenciální oleje, které mají fungicidní či fumigační účinek na tvorbu spor byla potvrzena.

## 8 Seznam literatury

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. Biological effects of essential oils– a review. Food and chemical toxicology[online]. Institut Curie-Section de Recherche.

29.9.2007 [cit. 2017-04-02]. Dostupné z

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541>.

Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., Kaur, S. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest Ecology and Management[online]. Department of Botany, Panjab

University. 24.9.2008 [cit. 2017-04-02]. Dostupné z

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378112708006166>.

Baťová, T. 2015. Účinnost esenciálních olejů na původce plísně bramboru. Bakalářská práce. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 46 s.

Bremnessová, L. 2004. Bylinář – praktický průvodce. Fortuna print. Praha. 286 s. ISBN 807321-113-0

Čepl, J., Čížek, M., Doležal, P., Domkářová, J., Hamouz, K., Hausvater, E., Kasal, P., Lachman, J., Rasocha, V., Urbancová, M., Vokál, B. 2009. Konzumní brambory na poli, zahradě a v kuchyni. Výzkumný ústav bramborařský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 206 s. ISBN: 97880-86940-23-0.

Farrar, J. Alternaria diseases of carrot [online], Plant Disease, The American Phytopathological Society, Publication no. D-2004-0614-01F. 2004. [cit. 18.4.2017] také dostupné z <http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.2004.88.8.776>

Fenclová E. Bürkerova počítačí komůrka [online] Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi. 14.12.2006 [cit. 18.4.2017]. Dostupné z

<http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/B/JVAMK.htm>

Germann G, Germann P. 2013. Rostliny pro aromaterapii: 90 vonných rostlin, jejich znaky a způsob využití. Grada. Praha. 204 s. ISBN 978-80-247-4672-2.



Gottlieb, David, Caltrider P.G. Synthesis of Enzymes during the Germination of Fungus Spores. *Nature* [online]. University of Illinois, Urbana, 25.1963, (197), 916-917 [cit. 2018-04-09]. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/197916a0>

Hamad, Hewa O., Alma M. H., Ismael H. M. a Goceri Ali. The Effect of Some Sugars on the Growth of *Aspergillus niger*. *KSU Doga* [online]. Salahaddin University, Iraq, 23.12.2014, 17(4), 8-11 [cit. 2018-04-09]. Dostupné z: <http://dergipark.gov.tr/download/article-file/212081>

Horák, J. Rod, J. 2011. Účinná ochrana zahradních plodin: Rostlinolékař radí. Grada Publishing a. s. Praha. 128 s. ISBN: 978-80-2247-3588-7.

Hyams, E. 1976. Rostliny ve službách člověka. Orbis. Praha: 154 s.

Christensen, C. M. 1975. Molds, Mushrooms, and Mycotoxins., Press, ProQuest Ebook Central, University of Minnesota 264 s. ISBN: 081-66-0743-5

Isman, M. B. Plant essential oils for pest and disease management[online]. Crop protection. Elsevier. 12.9.2000[cit. 18.4.2017]. Dostupné z <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026121940000079X>

Juroch, J. *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary původce chorob plísně bramboru a rajčete [online]. Ministerstvo zemědělství ČR ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou. 2011. [cit. 18.4.2017]. Dostupné z <http://eagri.cz/public/web/file/125259/plisen.pdf>

Kazda, J, Prokinová E., Ryšánek P. 2007. Škůdci a choroby rostlin: domácí rostlinolékař. Knižní klub. Praha. 288 s. ISBN 9788024218861.

Khandelwal S. Alternaria: Habitat, Symptoms and Reproduction Deuteromycotina. Biology discussion [online]. 2016 [cit. 18.4.2017]. Dostupné z <http://www.biologydiscussion.com/fungi/alternaria-habitat-symptoms-and-reproductiondeuteromycotina/24100>

Kremer, B. 2013. Mikroskop zcela jednoduše. Aventinum nakladatelství. Praha. 189 s. ISBN 978-80-7151-372-8

Kutnar, F. 2005. Malé dějiny brambor – 2. přepracované vydání. Etnologický ústav AV ČR. Pelhřimov. 216 s. ISBN: 80-85010-58-5.

Kužma, Š. 2002. Metodická příručka pro ochranu rostlin: zelenina, ovocné plodiny, réva. Státní rostlinolékařská správa, odbor přípravků na ochranu rostlin. Brno. 276 s. ISBN 8070844167.

Lima, C. B. D., Rentschler, L. L. A., Bueno, J. T., Boaventura, A. C. Plant extracts and essential oils on the control of *Alternaria alternata*, *Alternaria dauci* and on the germination and emergence of carrot seeds (*Daucus carota* L.). [online]. *Ciência Rural*. 25.2.2016 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782016000500764](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782016000500764)

Malý I, Petříková K. 1998. Základy pěstování kořenové zeleniny. V Praze: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR (Rostlinná výroba). 48 s. ISBN: 80-7105-162-4

Misaghy, I. J., Grogan R. G., Duniway J. M. a Kimble K. A. 1978. Influence of Environment and Culture Media on Spore Morphology of *Alternaria alternata*. *Phytopathology* [online]. University of California. 22. 6. 1977, [cit. 2018-04-09]. Dostupné z [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1978Articles/Phyto68n01\\_29.PDF](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1978Articles/Phyto68n01_29.PDF)

Olanya, O. M., Larkin, R. P. Efficacy of essential oils and biopesticides on *Phytophthora infestans* suppression in laboratory and growth chamber studies. *Biocontrol Science and Technology*[online]. 18.1.2007[cit. 2017-03-01]. Dostupné z <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583150600827918>

Pavela, R. 2011. Botanické pesticidy. Kurent, s. r. o. České Budějovice. 128 s. ISBN: 978–80–87111–26–0.

Pekárková, E. 2004. Pěstujeme mrkev, ředkvičky, celer a další kořenové zeleniny. 1. vyd. Grada Publishing. Praha. 100 s. ISBN 80-247-0744-6.

Petersen, J. H. 2013. The Kingdom of Fungi. Princeton University Press. 272 s. ISBN: 9780691157-54-2

Robak, j., Adamicki, F. The effect of pre-harvest treatment with fungicide on the storage potential of root vegetables. Research Institute of Vegetable Crops[online]. 1.3.2012 [cit. 18.4.2017]. Dostupné z <https://www.degruyter.com/downloadpdf/j/vcrb.2007.67.issue-1/v10032-007-00424/v10032-007-0042-4.pdf>

Shahin, E.A., Shepard. J.F. An Efficient Technique for Inducing Profuse Sporulation of Alternaria Species. *Phytopathology* [online]. Kansas State University, Manhattan, 21. 12. 1978 [cit. 2018-04-09]. Dostupné z: <https://www.apsnet.org/publications/phytopathology>

Soylu, E. M., Soylu, S., Kurt, S. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*[online]. 13.1.2006 [cit. 2018-04-09]. Dostupné z <https://doi.org/10.1007/s11046-005-0206-z>

Strandberg, J. O. Isolation, Storage and Inoculum Production Methods for *Alternaria dauci*. *Phytopathology* [online]. University of Florida, Sanford, 10.12.1986 [cit. 2018-04-09]. Dostupné z [http://apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1987Articles/Phyto77n07\\_1008.PDF](http://apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1987Articles/Phyto77n07_1008.PDF)

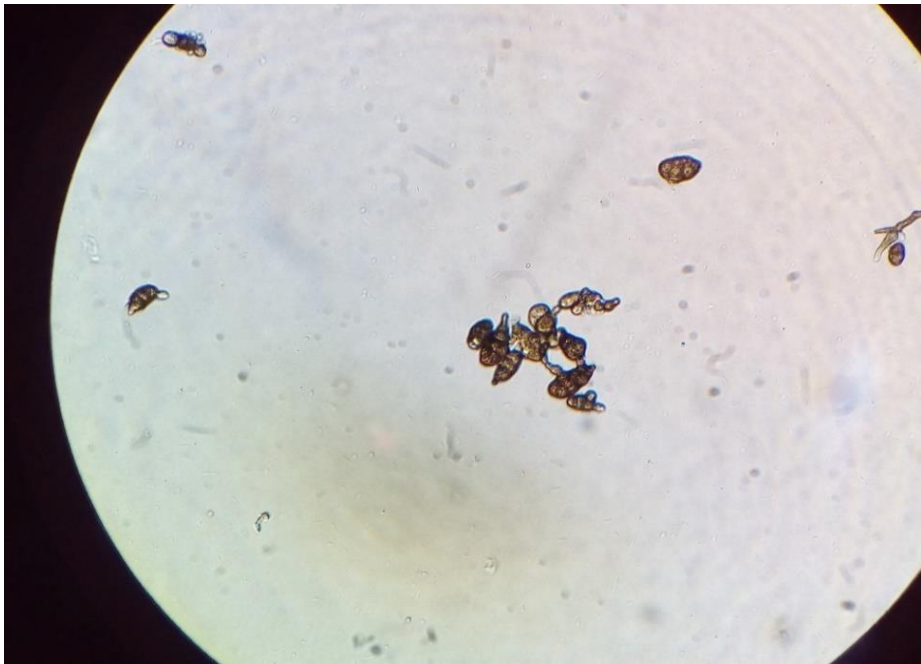
Talich, P., Řehák, V., Kocourek, F. 2013. Metodická příručka integrované ochrany – Polní plodiny. Česká společnost rostlinolékařská. Praha. 360 s. ISBN: 978–80–02–02480–4.

Valíček, P. 2006. Technické a siličnaté rostliny. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno. 96 s. ISBN:80-7157-936-X.

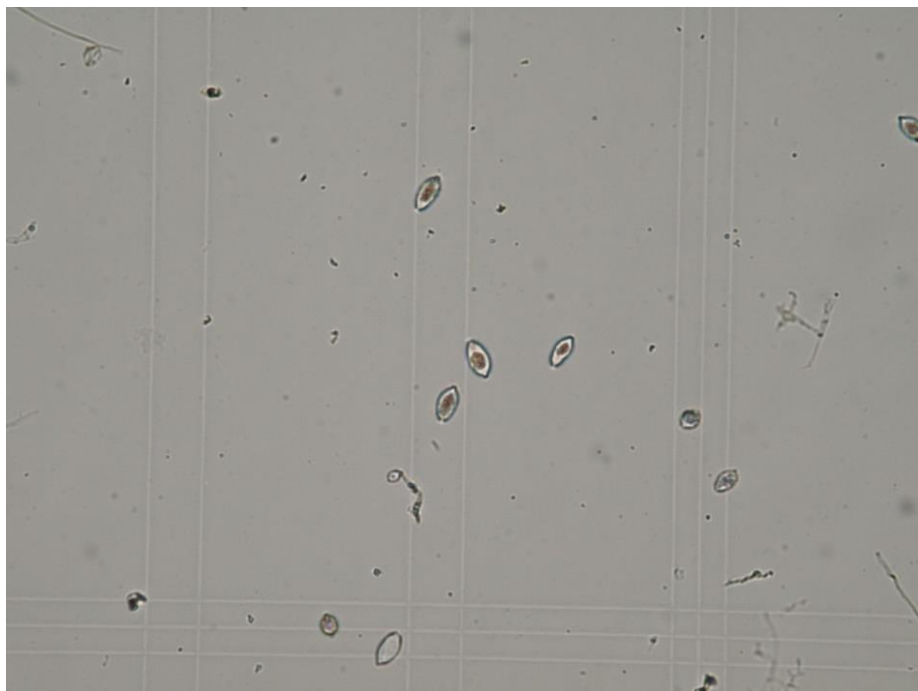
Vermeulen, N. 1999. Encyklopedie bylin a koření. Rebo productions. Praha. 319 s. ISBN: 80–7234–067–0.

Vlček, V., Pohanka M. Enviromentální aspekty organofosforových a karbamátových schválených k užití v České republice [online]. Chemické Listy 105, 908–912 (2011). 13.5.2011 [cit. 18.4.2017]. Dostupné z [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011\\_12\\_908912.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_12_908912.pdf)

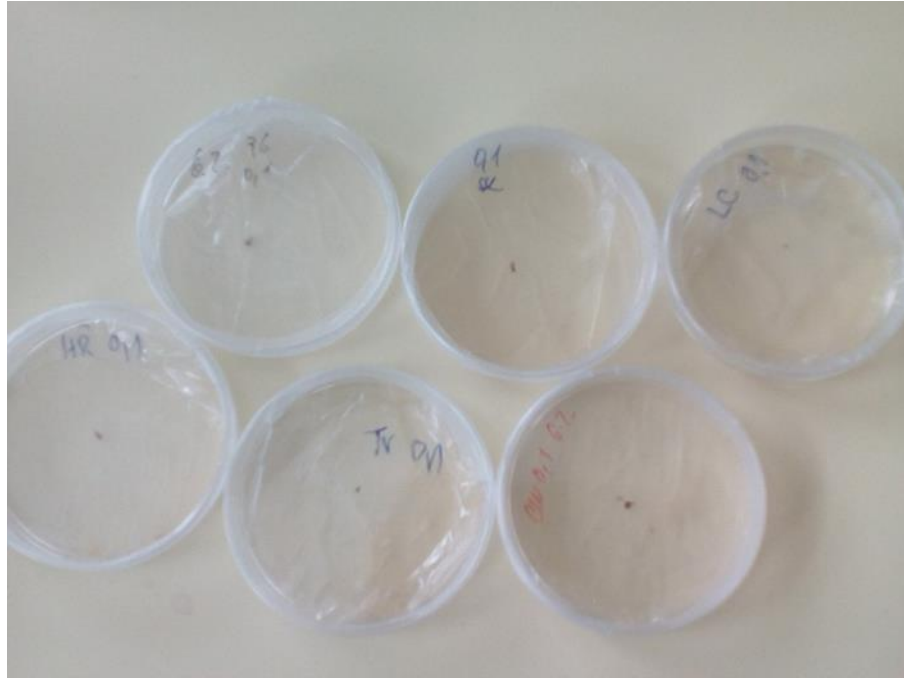
## 9 Přílohy



Obrázek 2: spory *A. dauci* ve světelném mikroskopu



Obrázek 3: Sporangia *P. infestans* na Bürkrově sklíčku



Obrázek 4: Patogen *P. infestans* očkovaný na celofán po aplikaci 0,1 % *Litsea cubeba*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon winterianus*, *Thymus vulgaris*, *Eugenia caryophyllus*, *Pelargonium graveolens*

## 10 Seznam příloh:

Obrázek 1: Bürkerova komůrka

Obrázek 2: spory *A. dauci* ve světelném mikroskopu

Obrázek 3: *P. infestans* na burkrově sklíčku

Obrázek 4: Patogen *P. infestans* očkovaný na celofán po aplikaci 0,1 % *Litsea cubeba*, *Cinnamomum ceylanicum*, *Cymbopogon winterianus*, *Thymus vulgaris*, *Eugenia caryophyllus*, *Pelargonium graveolens*

Tabulka 1: Inhibiční účinek (%) esenciálních olejů (0,1%) na růst mycelia izolátů *A. dauci* (průměrná hodnota šesti opakování)

Tabulka 2: Minimální inhibiční koncentrace vybraných olejů

Tabulka 3: Počty spor *Alternaria dauci* po aplikaci vybraných druhů olejů

Tabulka 4: Počty spor *Phytophthora infestans* na 1ml vody po aplikaci vybraných druhů olejů ve 3 měřeních