

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zahradnictví



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Houby kořenů – přátelé nebo nepřátelé révy vinné

Bakalářská práce

Natálie Koudelková

Studijní program zahradnictví

Vedoucí práce RNDr. David Novotný, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Houby kořenů révy – přátelé nebo nepřátelé révy vinné“ 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 25.04.2024

Poděkování

Touto cestou bych chtěla ráda poděkovat vedoucímu bakalářské práce panu RNDr. Davidu Novotnému za celkovou přípravu, ochotu a rady k vedení mé závěrečné práci. Také chci poděkovat své rodině, která mě po celou dobu podporovala.

Houby kořenů révy – přátelé nebo nepřátelé révy vinné

Souhrn

Bakalářská práce zahrnuje literární rešerši o houbách a houbám podobných organismů vyskytujících se na kořenech nebo v kořenovém balu révy vinné, které mohou negativně / pozitivně ovlivňovat růst révy vinné. Praktická část zahrnuje získání čistých kultur kmenů těchto hub. Identifikace a charakteristika vybraných získaných kmenů hub.

Klíčová slova: réva vinná, fytopatogenní houby, endofytické houby, kořeny, mykobiota, mykorhiza

Vine root fungi – friends or foes of the vine

Summary

Part of the bachelor is thesis is a literature search on fungi and fungus-like occurring on the roots or in the root ball of grapevines, which can negatively/positively affect the growth of grapevines. The practical part involves obtaining pure cultures of strains of these, their identification and characterisation of selected fungal strains obtained.

Keywords: grapevine, phytopathogenic fungi, endophytic fungi, roots, mycobiota, mycorrhiza

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Rozdělení Vitis L.	10
3.2	<i>Vitis vinifera</i> L. - réva vinná	11
3.3	Morfologie Vitis vinifera	11
3.3.1	Charakteristika podzemních orgánů	11
3.3.2	Charakteristika nadzemních orgánů	12
3.3.3	Fenologie révy vinné	13
3.4	Pěstování révy vinné	13
3.5	Historie révy vinné a poznávání chorob	14
3.6	Vinařské oblasti Čechy a Morava.....	15
3.7	Mykorhizní houby révy vinné.....	15
3.7.1	<i>Glomus</i> spp.	15
3.8	Endofytické houby révy vinné	16
3.8.1	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals. – Criv.) Vuill.....	16
3.9	Houby kořenů a houby napadající dřevnaté části révy vinné	16
3.9.1	<i>Armillaria</i> spp.....	16
3.9.2	<i>Botryosphaeria dothidea</i> (Moug.: Fr.) Ces. & De Not.....	17
3.9.3	Houby rodu <i>Cylindrocarpon</i> spp. (<i>Neonectria</i>) a <i>Campylocarpon</i>	18
3.9.4	<i>Eutypa lata</i> (Pers.Fr.) Tul. & C.Tul.....	19
3.9.5	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> Crous & W. Gams.....	20
3.9.6	<i>Diaporthe neoviticola</i> Udayanga, Crous & K.D. Hyde.....	21
3.9.7	<i>Phymatotrichopsis omnivora</i> (Shear) Hennebert.....	21
3.9.8	<i>Phytophthora cactorum</i> (Lebert & Cohn) Schröt.....	22
3.9.9	<i>Roesleria subterranea</i> (Weinm), Redhead	22
3.9.10	<i>Dematophora necatrix</i> (Hartig)	23
3.9.11	<i>Verticillium dahliae</i> Kleb.	23
3.10	Nejvýznamnější fytopatogenní houby a houbám podobné organismy způsobující choroby nadzemních částí.....	24
3.10.1	<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	24

3.10.2	<i>Coniella diplodiella</i> (Speg.), Petr & Syd.....	24
3.10.3	<i>Elsinoë ampelina</i> Shear	25
3.10.4	<i>Erysiphe necator</i> Schwein	25
3.10.5	<i>Greeneria uvicola</i> (Berk. & M. A. Curtis) Punith	26
3.10.6	<i>Plasmopara viticola</i> (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni).....	26
4	Materiál a metodika.....	27
4.1	Charakteristika lokality.....	27
4.2	Odběr vzorků.....	27
4.2.1	Izolace a kultivace hub ze vzorku.....	28
4.2.2	Molekulární identifikace hub a analýzy DNA	29
4.2.3	Hodnocení citlivosti vybraných získaných kmenů hub k esenciálním rostlinným silicím	31
5	Výsledky práce	34
5.1	Výskyt hub na lokalitě	34
5.2	Míra inhibice vybraných kmenů hub k esenciálním rostlinným silicím ...	37
5.2.1	Růst vybraných kmenů hub kultivované na 2% malt extrakt s přidavkem jednotlivých silic při teplotě 22 °C	37
6	Diskuze.....	41
6.1	Identifikace hub.....	41
6.2	Míra inhibice vybraných kmenů <i>Vitis vinifera</i> k vybraným esenciálním olejům	43
7	Závěr	45
8	Seznam literatury a použitých zdrojů.....	46
9	Seznam obrázků, tabulek a grafů.....	54

1 Úvod

Réva vinná (*Vitis vinifera*) je popínavá rostlina a patří do čeledi révovitých (*Vitaceae*). Jejím plodem jsou bobule, které se využívají k výrobě vína, moštu a jiných druhů alkoholických a nealkoholických nápojů. Mezi nejvýznamnější škodlivé biologické činitele révy vinné patří hmyz a houby. Mezi nejvíce vyskytující houbové choroby patří padlí révové (způsobuje *Uncinula necator*), peronospora révy (způsobuje *Plasmopara viticola*), plíseň šedá (způsobuje *Botrytis cinerea*) a bílá hniloba (způsobuje *Metasphaeria diplodiella*), které poškozují révu (*Vitis vinifera*) natolik, že může dojít až k celkové likvidaci úrody. Mezi nejčastější škůdce patří hálčivec révový (*Calepitrimerus vitis*), vlnovník révový (*Eriophyes vitis*), mšička révokaz (*Viteus vitifolii*), ale hrozbou můžou být také některé druhy obratlovců například špačci. Chorobám lze do jisté míry předcházet správným agrotechnickým opatřením, pro které je důležitá, co nejrychlejší identifikace patogenu a provedení ochrany před tímto patogenem včetně případné likvidace napadených jedinců. Předložená bakalářská práce „Houby kořenů révy – přátelé nebo nepřátelé“ zahrnuje literární rešerši o houbách a houbám podobných organismů vyskytujících se především na nebo v kořenech révy vinné a praktická část je zaměřena na zjištění složení mykobioty kořenů révy vinné z vinařské trati Nad kapličkou v Kutné Hoře.

2 Cíl práce

Cílem práce je zahrnout literární řešerši o houbách a houbám podobných organismů vyskytujících se především na nebo v kořenech révy vinné a praktickou část, která je zaměřena na zjištění složení mykobioty kořenů révy vinné z vinařské trati Nad kapličkou v Kutné Hoře.

3 Literární rešerše

3.1 Rozdělení *Vitis* L.

Do čeledi *Vitaceae* se zahrnuje přibližně 700 druhů rozděleny do 14 rodů. Mezi významné rody patří (*Vitis* L.). Rod *Vitis* L. klasifikují různí badatele do různého počtu sekcí. J. E. PLANCHON (1887) docílil ke zjištění, která dopomohla k jeho klasifikaci čeledi *Vitaceae* Juss. a rodu *Vitis* L. uvádí rozdělení rodu na dva rozdílné podrody – *Muscandinia* a *Euvitis*. Oba podrody se liší počtem chromozomů, podrod *Euvitis* ($2n = 38$) a *Muscandinia* ($2n = 40$) a morfologickými znaky (Pavloušek, 2023).

Podrod *Euvitis*

Kříženci z podrodu jsou životaschopné a plodné. Řez výhonu je vždy eliptický a nikdy čtyřúhelníkový. Mezi jednotlivými uzly (nodami) mají přepážku diafragmu. Hrozny jsou tvořeny velkým množstvím bobulí, které mají tendenci se držet stopky až do zralosti i po dosažení plné zralosti. (Galet, 1998). Pod podrod *Euvitis* spadá několik druhů révy včetně *Vitis vinifera*. Dalšími významnými druhy jsou *Muscandinia rotundifolia*, *Vitis rupestris*, *Vitis riparia*, *Vitis berlandieri*, *Vitis amurensis* a *Vitis rotundifolia* (Záruba, 1985).

Botanické druhy podrodu *Euvitis* se člení do třech genových center – severoamerická, východoasijská a euroasijská.

Klasifikaci rodu *Vitis*, která je v současné době nejpoužívanější, vytvořil Negrul (1946) (Pavloušek, 2011).

Podle A. M. NEGRULA (1946) lze druhy rodu *Vitis* L. zařadit do tří ekologických skupin:

- 1) Severoamerická skupina s 28 druhy.
- 2) Východoasijská skupina s více než 40 druhy.
- 3) Euroasijská skupina s jedním druhem *Vitis vinifera* L., která se dělí na dva poddruhy:
 - a. subsp. *sylvestris* (C. C. Gmel.) Hegi — bas.: *V. sylvestris* C.C. Gmel = réva vinná lesní, rozšířená v okolí Středozemního moře;
 - b. subsp. *sativa* (D.C.) Hiegi = réva vinná pravá.

Druhy révy, které se řadí do skupiny severoamerických druhům se využívají především jako podnože. Víno, které je vyrobeno ze severoamerických druhům nemá odpovídající kvalitu (Frolec a kol., 1973)

Podrod *Muscandinia*

Do podrodu *Muscandinia* se zahrnují pouze tři druhy – *Muscandinia munsoniana*, *Muscandinia popenoi* a *Muscandinia rotundifolia*. Významná je *Muscandinia rotundifolia*, která se využívá v praktickém vinohradnictví, a zvláště při šlechtění révy kvůli její rezistenci k mnoha patogenům (Pavloušek, 2011). Jsou životaschopná a plodná. Výhony obsahují viditelné lenticely borka se neodlupuje. V době zralosti může docházet k odlupování epidermis. Neobsahují přepážku (diafragmou), dřev je nepřetržitá. Hrozny jsou tvořeny menším

množstvím bobulí s nízkou koncentrací cukru, proto jsou nevhodná na výrobu vína. K roubování se nevyužívá z důvodu špatné afinity k podrodu *Euvitis* a špatné schopnosti zakořeňovat (Galet, 1998).

3.2 *Vitis vinifera* L. - réva vinná

Řád: *Vitales*, **čeleď:** *Vitaceae*, **podrod:** *Euvitis*

Původ *Vitis vinifera* je nejasný, ale centra jejího vývoje se odhadují na Střední Asii, na Blízkém východě a ve Středozeří, kde proběhla domestikace tohoto druhu. Její vývoj byl ovlivněn hybridizací a selekcí. Nejstarší zmínky o výrobě vína pocházejí z Mezopotámie. Réva vinná se v současnosti pěstuje v nejteplejších oblastech středních Čech a jižní Moravy (Kovář, 2008). *Vitis vinifera* je jednodomá a v důsledku vynuceného křížení vysoce heterozygotní rostlina. *Vitis vinifera* má genom $2n = 38$ (Walker, 2015). Jedná se o teplomilnou liánovitou rostlinu, která se vysazuje na jižní, jihozápadní a jihovýchodní strany svahu (Dohnal & Kraus, 1972). Listy má řapíkaté 3–5 laločnaté, na rubu pýřité až vločkovitě chlupaté, laloky jsou zašpičatělé až tupé. Květy má pětičetné uspořádané do lat s korunními lístky srostlými v horní části. Plodem je bobule v barvě od zelené, žluté, červené až po modrofialové (Pavloušek & Lampíř et al., 2016).

3.3 Morfologie *Vitis vinifera*

3.3.1 Charakteristika podzemních orgánů

Kořeny slouží k mechanickému ukotvení, příjmu vody, živin a ukládání zásob na dobu dormance (Pavloušek, 2011). Patní (hlavní) kořeny (Kraus et al., 2005), které vyrůstají z paty kořenového kmene, přesněji v místě nodu, kde je kolénko na podnoži. Kořeny dosahují do hloubky 0,5–2 m i více metrů. Slouží k funkci ukládání zásobních látek, a především příjem živin, které jsou z jedním z hlavních faktorů pro zdravý růst. Středové, postranní kořeny neboli vedlejší, vyrůstají z ostatních nodů ze střední části kmene ve hloubce 0,15–0,5 m. Rosné kořeny vyrůstají z místa štěpování. Tyto kořeny jsou nežádoucí a musí se odstraňovat způsobem zvaným rámování při prvních letech výsadby. Kořenové vlášení je tvořeno jemnými kořínky, kterými rostlina přijímá vodu a živiny (Kraus et al., 2015).

Kořeny dělíme na dvě skupiny – silné a jemné. Silné kořeny vytvářejí velkou část kořenové biomasy a tvoří architekturu kořenového systému. Plní funkci zásobní a příjem vody a živin. Kořenová čepička a apikální meristém se vytváří na kořenovém vrcholu, která chrání vývoj a růst kořene v prodlužovací zóně. Na vrcholu se rovněž vytváří rostlinné hormony (gibereliny a cytokininy). Do půdy se uvolňují organické látky a vytváří vhodné prostředí mikroflóry v kořenové zóně. Nově vytvořené kořeny jsou ze začátku bíle zbarvené a později zhruba po pěti týdnech začnou hnědnout díky poklesu metabolické aktivity a dochází k ukončení funkce příjmu vody a živin (Pavloušek, 2011). Růst kořenů začíná po rašení, to největší probíhá mezi kvetením a zaměkáním bobulí. Omezení růstu nastává, když réva vinná prochází určitým druhu stresu např. suchem, vysokou vlhkostí půdy, teplotou půdy (optimální

mezi 25–30 °C) nebo také přetížení keře úrodou (Pavloušek, 2011). Mladý kořen neobsahuje válec cévních svazků obklopujících dřev, ale místo toho má centrální cévní válec. Dřev známá u některých kořenů se ve skutečnosti skládá z xylémového parenchymu. Vnitřní část kořenového pletiva je tvořena primárním xylémem, který je obklopen malými skupinami primárního pletiva floému. Pericykl obsahuje nejvzdálenější vaskulární tkáň (Goffinet & Pratt, 2015). Pericyklické buňky přispívají k rozvoji kořenů větví, původu korkové tkáně a iniciaci některých sektorů cévního kambia. Nejvnitřnější kůra se skládá z jedné vrstvy suberizovaných buněk známých jako endodermis, která poskytuje specifickou regulační funkci pro příjem a vstup vody do centrálního válce, kdy může také sloužit jako bariéra pro vstup patogenů (Goffinet & Pratt, 2015).

3.3.2 Charakteristika nadzemních orgánů

Dřevnaté části

Dřevo se rozeznává podle barvy od tmavohnědé až tmavošedé borky, která se odlupuje z kmínku. Kmen je tvořen z víceletého (staré dřevo), dvouletého a jednoletého dřeva. Kmínek je tvořen starým dřevem, které je více jak dva roky staré. Kořenový systém, staré dřevo, dvouleté a jednoleté dřevo slouží k ukládání zásobních látek, mezi které patří sacharidy – škrob a cukry (sacharóza, fruktóza, glukóza) a minerálními látky (Pavloušek, 2011). Na kmeni se nachází mnoho spících oček, které se poté probouzejí k rašení na jaře po zimní vegetaci. Důležité je zapěstování kmínku s minimem řezných ran, které způsobují narušení vodivých pletiv a dojde tak ke zhoršení rozvodu živin, oslabení révového keře a snazší vstup infekce houbových chorob. Starší dřevo umožňuje dobré rozložení plodného dřeva na vrcholu kmínku (Pavloušek, 2011). Rameno je starším dřevem, které může dosahovat do různých délek, ale záleží na cílovém pěstitelském tvarem rostliny. Zde mohou rašit spící očka. Dvouleté dřevo, které vzniklo přeměnou zelených jednoletých výhonů z předešlých roků, které se rozeznává podle barvy a slabšího růstu od staršího dřeva. Z dvouletého dřeva vyrůstá jednoleté dřevo, které je plodonosné (letorost). Letorost je tvořen z nodů (uzlů) a internodií (článeků). Délku internodií určuje odrůda a podmínky růstu. Pokud se během růstu projeví stres, délka internodií se zkracuje. Jednoleté dřevo je tzv. dorziventrální (zádově-břišní). Nod je tvořen z živého parenchymatického pletiva jinak řečeno přepážka (diafragma), která rozděluje dřev mezi dvěma internodia. Přepážka plní funkci zvyšování pevnosti letorostů a zdřevnatělých výhonů–uložení zásobních látek. Oddělením jednotlivých článků dochází k ochranné vrstvy dřevě (Pavloušek, 2011).

Bylinné (zelené) části

Z nodu vyrůstá pouze jeden list. Skládá se z řapíku a listové čepele. Listová čepel je dále členěna na laloky (3–7 laloků) a výřezy. Podle počtu laloků a výřezů lze rozeznat odrůdu révy Tyto znaky se řadí mezi ampelografické znaky (Pavloušek, 2011). Jedná se o list jednoduchý, skládá se z dlanitě laločnaté čepele, řapíku (listové stopky) a páru efemérních palistů na bázi řapíku. Čepel listu obsahuje dlanitou strukturu hlavních a postranních žil, které se spojují s cévními svazky řapíku. Větší žíly se skládají z dobře vyvinuté xylémové tkáně s velkými cévami a přilehlými vodivými prvky floému (Goffinet & Pratt, 2015).

Obsahují zelené barvivo chlorofyl, které umožňuje proces fotosyntézy a plní fyziologickou funkci růstu, vývoje rostliny, dýchání a transpiraci. Fotosyntéza tvoří cukr v bobulích, který rozhoduje o kvalitě hroznů (Pavloušek, 2011). Epidermis je kryta voskovou vrstvou kutikuly na vrchní straně čepele. Na spodní straně listu se vyskytují průduchy a listové trichomy, mají vliv na transport vody v rostlině (Pavloušek, 2011). Mezi další zelené části patří úponky, zálistky (fazochy), květenství, hrozny a očka. Květenstvím je květní lata. Květy jsou samosprašné (autogamní) a oboupohlavné. Opylení hmyzem nebo větrem (Pavloušek, 2011). Barva květu zelenožlutá. Plodem jsou bobule uspořádané do hroznů, který vznikne opylením květu v květenství složený z třapiny a bobulí. (Dohnal & Kraus, 1972). Bobule představuje dužnatý plod, který se skládá ze slupky, dužniny a semen. Slupka je tvořena z kutikuly, epidermis a hypodermis. Tloušťku slupky určuje odrůda a ovlivňuje chuť a barvu vína. Každá bobule skrývá 4 semena, ale může se stát, že bobule bude obsahovat i menší počet semen (Lampíř & Rubešová, 2018).

3.3.3 Fenologie révy vinné

Fenologická stádia podle BBCH stupnice vytvořená HACK aj. (1992) se rozdělují na fáze rašení, vývoj listů, vývoj květenství, kvetení, vývoj plodů, zrání plodů a nástup vegetačního klidu. Vývoj *V. vinifera* lze rozdělit do dvou fází růstu (mezi dubnem a říjnem) a dormance (vegetační klid) (Pavloušek, 2023). Slzení začíná při okolní teplotě 6 °C většinou na jaře a réva tzv. „pláče“. Míza vytéká ze všech poškozených míst z jednoletého nebo staršího dřeva (Kraus, 2004). Očka začínají rašit při teplotě nad 10 °C. V prodlužovacím růstu letorosty rostou do délky 600–800 mm. Kvetení probíhá na rozhraní června a července, ale závisí na klimatických podmínkách. Období vyzrávání se skládá ze zrání hroznů, vyzrávání révy a opadu listů. Zaměkání bobulí, kdy bobule dosáhly konečnou velikost a dužnina měkne nastává od poloviny srpna až do konce září podle jednotlivých odrůd (Svobodová, 2012). Období klidu se dělí na dvě fáze dormance a postdormance. Dormance oček je vnitřní vegetační klid, který je způsoben fyziologickým stavem a v očkách se neuskutečňují žádné procesy. Období dormance, které trvá od konce srpna do konce prosince. Postdormance je vynucený vegetační klid podmíněn vnějšími klimatickými podmínkami. Trvá od konce prosince do března. (Svobodová, 2012).

3.4 Pěstování révy vinné

Prvními pěstiteli na území České republiky byli Keltové (Hauft, 1989). Největší rozmach vinařství v Čechách se uskutečnil za vlády císaře Rudolfa II., kdy v této době vinice zaujímal zhruba 3 500 ha (Bendová, 2011). Postupem času vinice ubývaly kvůli válečným konfliktům, škůdcům a chorobám. V 19. století se začali zakládat vinařské školy ve Znojmě, Bzenci, Mělníku a Valticích. Během první a druhé světové války upadlo vinohradnictví v rozvoji o pěstování révy vinné. Vyráběla se hlavně stolní vína určená pro denní konzumaci. Ve 20. letech minulého století se začíná se s výrobou odrůdového vína, především z modrých odrůd např. André, Frankovka, Svatovavřínecké, Modrý Portugal a Zweigeltrebe a z bílých odrůd např. Chardonnay, Müller-Thurgau, Veltlínské červené a zelené a Sylvánské (Réblová,

2014). Dnes vinice v Čechách a na Moravě zaujímají plochu zhruba 17 884,9 ha. Na Moravě je to 17 188,4265 ha a v Čechách je to 696,4926 ha. V porovnání třeba se Španělskem (955 000 ha) nebo s Itálií (718 000 ha) patří Česká republika mezi menší pěstitele. K datu 31. 12. 2022 byla obhospodařovaná plocha vinic 17,89 tis. ha. Nejčastěji pěstovanými odrůdami za rok 2022 byly: Veltlínské zelené, Ryzlink rýnský Müller Thurgau a Ryzlink vlašský z bílých odrůd; Frankovka, Svatovavřínecké, Rulandské modré a Zweigeltrebe z modrých odrůd (eAgri, 2023).

Pěstování révy se daří v pásmu mezi 30°-tou a 50°-tou rovnoběžkou v mírném a subtropickém pásmu (Stavenson, 1993). Ideální teplota ovzduší by se měla pohybovat kolem 25–28 °C. Spolu se stoupající nadmořskou výškou klesá cukernatost hroznů o 1–1,5°NM (stupeň cukernatosti) na každých 100 m. V našich vinařských oblastech jsou vhodné polohy pro vinice ve výšce kolem 250–300 m. n. m. (Kraus, 2003).

Dalším kritériem pro úspěšné pěstování révy vinné je vhodná svažitosť, kdy na révu vinnou dopadá slunce pod příznivým úhlem. Vinice orientované na jižní svah vytvářejí teplejší podmínky s menší schopností zadržovat vodu, kde slaběji rostou, ale lépe vyzrávají hrozny pro vyšší kvalitu vín. Západní svahy jsou málo výhřevné s větší schopností zadržovat vodu v půdě, kde se dosahuje vyšších výnosů, ale většího rizika výskytu houbových chorob. Východní svahy jsou méně výhřevné se středními výnosy s výskytem jarních mrazů a severní svahy jsou nejméně osluněné a nevhodné, proto se na nich téměř nevysazuje (Kraus, 2004). Půda pro pěstování révy vinné nesmí být přemokřená. Réva vinná je citlivá na složení půdy z hlediska obsahu minerálních látek. Významným faktorem je obsah vody v půdě a půda pro pěstování révy nesmí být přemokřená. Tyto hlavní kritéria ovlivňují růst, výnos a kvalitu hroznů, která je důležitou predispozicí pro kvalitu vína. Pro odrůdy jako jsou například Pálava nebo Tramín červený jsou vhodné kamenité půdy, které jsou vzdušné a prohříváné, a kde tyto odrůdy dosahují vysokého výnosu při sklizni. Na šterkovitých půdách se pěstují modré odrůdy. Poslední skupinou jsou půdy hlinité a jílovité, které mají větší schopnost zadržovat vodu. Nevýhodou je menší výhřevnost těchto půd. V hlubokých hlinitých půdách se pěstují odrůdy Kerner a Frankovka. Půdy s vysokým obsahem jílu jsou nevhodné (Kraus, 2004).

3.5 Historie révy vinné a poznávání chorob

Původ révy vinné není zcela známý. Lze předpokládat, že za vznik vinné révy se podílela hybridizace a přirozená selekce, která se odehrála nejpravděpodobněji v dávném Středomoří, na Blízkém východě či ve Střední Asii (Hoskovec, 2018).

Podle Gadoury (2015) byla historie identifikace chorob velmi nejednoznačná a zcela záhadná věc. Docházelo k nižším výnosům a znehodnocení vinných keřů. V polovině 19. století se začala více chápat problematika znalostí o chorobách rostlin a v centru těchto všech změn byla vinná réva. Výsadby *V. vinifera* v Americe byly zničeny z důvodů nevědomostí pěstitelů, kteří vinice umístili do centra původu několika mikrobiálních patogenů révy jako jsou například *Erysiphe necator* (padlí révové) a *Plasmopara viticola* (plíseň révy) a révokazu (*Dactylospora vitifoliae*), ale španělští kolonisté byli úspěšnější ve vytvoření vhodných podmínek pro existenci a fungování vinic a jejich vinice začaly prosperovat. (Gadoury, 2015).

V roce 1845 byl v Anglii zjištěn druh *Erysiphe necator* (uvedeno jako *Oidium tuckeri*) a v roce 1847 se tento druh rozšířil přes Lamanšský průliv do Francie. V polovině 50. let 19. století kvůli padlí bylo ošetřování sírou nezbytnou činností ve všech vinařství v celé západní Evropě. V roce 1878 byla v jihozápadní Francii prvně zaznamenána plíseň révy (*Plasmopara viticola*). Kolem roku 1882 se choroba způsobená tímto organismem rozšířila téměř do všech ostatních částí kontinentů. Aplikace síry už nebyla účinná a následně na to v roce 1885 Millardet P. M. A. oznámil úspěšný pokus použití směs pod názvem bordeauxská jícha složená ze síranu měďnatého, vápna k potlačení této plísně (Gadoury, 2015). Choroba známa jako kalifornská nemoc vinné révy způsobena *Phaeoconiella chlamydospora* se poprvé objevila v roce 1884 v regionu Anaheim v Kalifornii. Bakteriální hnědnutí a odumírání révy (angl. Pierce's disease of grapevine) způsobené bakterií *Xylella fastidiosa*, bylo poprvé pozorováno v údolí Napa v roce 1887 a do roku 1906 zničila téměř 16 000 ha vinic v Napa Valley. V 90. letech 20. století se objevili důkazy o rozšíření této bakterie v jižní Kalifornii, jehož přenašečem byl hmyz druhu (*Homalodidysca vitipennis*) (Gadoury, 2015).

3.6 Vinařské oblasti Čechy a Morava

V České republice jsou z hlediska pěstování révy vinné dvě oblasti: Čechy a Morava. Vinařská oblast Čechy se dělí na dvě podoblasti Mělnická a Litoměřická. Vinice zde tvoří 4 % z celkových vinic v České republice. Zbýlých 96 % vinic se nachází na Moravě. Vinařská oblast Morava se dělí na čtyři podoblasti a to Znojemskou, Mikulovskou, Velkopavlovickou a Slováckou. Mezi největší vinařské podoblasti v ČR za rok 2022 patřily podobně jako v letech předešlých Mikulovská (4 969 ha), Velkopavlovická (4 765 ha), Slovácká (4 335 ha) a Znojemská (3 109 ha). Vinařské podoblasti v Čechách zaujímaly plochu celkem okolo 696 ha, Litoměřická (334 ha) a Mělnická (341 ha) (Bublíková, 2023). Podle statistických údajů Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ) se každým rokem vysází přibližně 100–115 ha za rok. Dvě třetiny pěstovaných odrůd tvoří bílé odrůdy a jednu třetinu modré odrůdy.

3.7 Mykorhizní houby révy vinné

3.7.1 *Glomus* spp.

Mycomycota, **třída:** *Glomeromycetes*, **Čeled:** *Glomeraceae*

Houby působí na kořenech *Vitis vinifera* i na podnožích. Mykorhiza napomáhá k vyšší odolnosti révy vinné vůči houbovým chorobám. Inokulace (naočkování) houbami rodu *Glomus* spp. (oddělení *Mucoromycota*, *Glomeromycotina*) se používá k podpoření růstu sazenic v révové školce (Pavloušek, 2011).

3.8 Endofytické houby révy vinné

3.8.1 *Beauveria bassiana* (Bals. – Criv.) Vuill

Ascomycota, třída: *Sordariomycetes* čeled': *Cordycipitaceae*

Je dobře známým entomopatogenním druhem, který je používán jako mikrobiální agens v integrované ochraně proti škůdcům a členovcům. Je považována za jeden z nejhojnějších druhů. Existuje mnoho dostupných komerčních produktů na bázi *B. bassiana* (Jackson et al., 2010, Zimmermann, 2007). Druh *B. bassiana* kromě entomopatogenní formy života je schopna také saprofytický žít v půdě, kolonizovat rhizosféru rostlin, používat antagonistickou schopnost proti rostlinným patogenům a endofyticky žít uvnitř rostlin (Vega et al., 2009). *B. bassiana* je schopna kolonizovat různé rostliny včetně révy vinné (Bamisile et al., 2019). Houba *Beauveria bassiana* se vyskytuje hlavně v kořenech, vnitřních pletivech, listech a stoncích rostliny (Renuka et al., 2016).

3.9 Houby kořenů a houby napadající dřevnaté části révy vinné

3.9.1 *Armillaria* spp.

Basidiomycota, řád: *Agaricales*, čeled': *Physalacriaceae*

Hniloba kořenů révy, (angl. *Armillaria* Root Rot)

Rod *Armillaria* se vyskytuje jako jeden z nejčastějších rodů a celosvětově způsobuje hnilobu kořenů. Původ rodu *Armillaria* pochází z Kalifornie, jihovýchodní části USA, Evropy, jižní Ameriky a Austrálie. Běžný výskyt rodu *Armillaria* v ČR je především na lesních dřevinách. Výskyt rodu *Armillaria* na vinné révě a ovocných sadech byly zjištěny na místech, kde se dříve vyskytovaly a rostly druhy *Quercus*. V Kalifornii houba byla prvně zaznamenána a popsána v 80. letech 19. století, a v té době vyústila v název „oak root rot“ (hniloba kořenů dubu) (Baumgartner & Rizzo, 2015). Šíření patogenu probíhá při kořenovém kontaktu nebo přes složitou strukturu rhizomorf (Yaffeto, 2018). Všechny druhy *Armillaria* se odlišují morfologií plodnice, ale sdílí stejný životní cyklus a cyklus infekce. Patogen může přežít i několik let v odumřelých kořenech infikovaného hostitele, které se ponechaly v půdě po vykloučení révy. K infekci nejčastěji dochází, pokud se dostane část kořenového systému zdravé révy vinné do přímého kontaktu mycelia *Armillaria* spp. z odumřelých kořenů. Tyto infikované kořeny révy vinné jsou zdrojem dalšího šíření do okolních vinic. Centra onemocnění se postupem času rozšiřují, ale pro podzemní šíření *A. mellea* pomocí rhizomorf je značně omezené z důvodu menšího výskytu a omezené délky. Spory *Armillaria* spp nejsou tak významným zdrojem šíření choroby (Baumgartner & Rizzo, 2015). Příznaky napadení se projevují hnilobou krčku kořenů, které později uhynou. Houba vylučuje enzymy, jež rozkládají kůru kořenů. Pod kůrou dochází ke kolonizaci a odumírání malé části vaskulárního kambia, později se začne tvořit vějíř z mycelia a dochází k rozkladu xylémového pletiva. V nadzemní části se projevuje zakrslostí listů a jejich předčasnou defoliací. Při dlouhotrvajícím vlhkém počasí může docházet k uvolňování spor z plodnic, které se rozšiřují do dužniny bobulí, kde způsobují praskání. Tím je usnadněna

infekce sekundárními patogenními organismy. Réva vinná nakonec podlehne chorobě, když se hniloba rozšíří na přibližně 50 % kořenového krčku. (Baumgartner & Rizzo, 2015).

3.9.2 *Botryosphaeria dothidea* (Moug.: Fr.) Ces. & De Not

Odumírání révy, (angl. *Botryosphaeria* Dieback)

Ascomycota, řád: *Botryosphaeriales*, čeleď: *Botryosphaeriaceae*

Druhy patřící do čeledi *Botryosphaeriaceae* jsou celosvětově rozšířené a vyskytují se v podobě endofytů, parazitů nebo saprofytů vně a na širokém spektru jednoletých a víceletých plodin, okrasných rostlin a lesních dřevin. Patří mezi nejrozšířenější a nejvýznamnější rakovinotvorné patogeny. Druhy patřící do čeledi *Botryosphaeriaceae* způsobují různorodé symptomy u ekonomicky důležitých víceletých plodin, do kterých se zahrnuje například skvrnitost listů, hniloba plodů, hniloba výhonků a rakovinný syndrom odumírání, které nakonec způsobí smrt hostitele. Mnoho let bylo odumírání révy vinné přehlíženo kvůli tomu, že se považovaly mylně za saprofyty nebo slabé parazity tohoto hostitele. Nedávné studie zjistily, že různé druhy z čeledi *Botryosphaeriaceae* lze izolovat z vinné révy vykazující stejné vaskulární symptomy, ale odlišné symptomy na listech (Úrbez-Torres et al., 2015). *Botryosphaeria dothidea* (Moug.: Fr.) způsobuje zblednutí vnější kůry, praskání palic, odumírání výhonků a úhyn pupenů. *Botryosphaeria stevensii* a *Botryosphaeria obtusa* způsobují malé léze a minimální poškození hostitele (Úrbez-Torres, Phillips, Gubler, 2015). Symptomy na listech se často zaměňují za projevy Esca, ale také za působení kombinací jiných druhů hub, které způsobují Esca choroba (Úrbez-Torres, Phillips, Gubler, 2015). Mezi typické symptomy se řadí vnitřní nekróza dřeva. Uvádí se, že druhy *Botryosphaeria* způsobují rakovinné odumírání a hnilobu ovoce a další příznaky na širokém spektru hostitelských rostlin (Davison & Tay, 1983), ale bylo zjištěno, že se vyskytuje řada dalších druhů čeledi *Botryosphaeriaceae* spojené s odumíráním vinné révy po celém světě (Úrbez-Torres et al., 2015).

Dnes je známo 23 druhů z čeledi *Botryosphaeriaceae*, které byly identifikovány na vinné révě. *Botryosphaeria dothidea* (Moug.), *Diplodia corticola* A. J. L. Phillips, A. Alves & J. Luque, *Botryosphaeria stevensii* Shoemaker (uvedno jako *Diplodia mutila*) (Fr.) Mont, *Diplodia seriata* De Not., *Dothiorella americana* Úrbez-Torres, Peduto & Gubler, *Dothiorella iberica* A. J. L. Phillips, J. Luque & A. Alves, *Dothiorella neclivora* W. M. Pitt & Úrbez-Torres, *Dothiorella vidmadera* W. M. Pitt, Úrbez-Torres & Trouillas, *Dothiorella vinea-gemma* W. M. Pitt & Úrbez-Torres, *Lasiodiplodia crassispora* T. I. Burgess & Barber, *Lasiodiplodia missouriana* Úrbez-Torres, Peduto & Gubler, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl., *Lasiodiplodia viticola* J. R. Úrbez-Torres, *Neofusicoccum australe* (Slippers, Crous & M. J. Wingf.) Crous, Slippers & A. J. L. Phillips, *Neofusicoccum luteum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A. J. L. Phillips, *Neofusicoccum macroclavatum* (T. I. Burgess, P.A. Barber & G.E. Hardy), *Neofusicoccum mediterraneum* Crous, M. J. Wingf & A. J. L. Phillips, *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A. J. L. Phillips, *Neofusicoccum viticlavatum* (Van Niekerk & Crous) Crous, Slippers & A. J. L. Phillips, *Neofusicoccum vitifusiforme* (Van Niekerk & Crous) Crous, Slippers & A. J. L. Phillips, *Spencermartinsia viticola* (A. J. L. Phillips & J. Luque) A. J. L. Phillips, A. Alves &

Crous, *Dothiorella westralis* (W.M. Pitt, Úrbez-Torr. & Trouillas) Tao Yang & Crous (uveden jako *Spencermartinsia westrale*) a *Sphaeropsis porosa* (Van Niekerk & Crous), A. J. L. Phillips & A. Alves (Úrbez-Torres, 2015).

Askomata *Botryosphaeria dothidea* jsou hnědé až černé askospóry jsou elipsoidní až široce hyalinní, cylindrické, hladké, tenkostěnné a jednobuněčné. Kolonie na živném médiu jsou zpočátku bílé, po 3 nebo 4 dnech se stávají zelenými, a nakonec jsou tmavě šedými. Optimální teplota růstu je 25 a 30 °C. Hlavním zdrojem primárního inokula jsou asexuální pyknidy. Struktury, které jsou zodpovědné za odumírání se objevují v kůře nemocných kordonů a kmenů, ale také na starých větvích ponechaných ve vinici. Pyknidy *B. dothidea*, *Botryosphaeria stevensii*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl, *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A. J. L. Phillips jsou uváděny ze širokého spektra druhů rostlin, z nichž některé se běžně vyskytují v okolí vinic. K šíření konidií dochází primárně vodou na relativně krátké vzdálenosti a většina infekcí začíná právě z inokula, které se vytváří na rostlinách z již infikované vinice. Z čeledi *Botryosphaeriaceae* zvláště *D. seriata* a *N. parvum* se pomocí izolace z nekrotického dřeva z podnože (výmladků nebo roubovaných svazků) při množení u mladých rév napomáhá k rozvoji epidemie ve vinicích (Úrbez-Torres et al., 2015).

3.9.3 Houby rodu *Cylindrocarpon* spp. (*Neonectria*) a *Campylocarpon*

Hniloba kořenů, kořenového krčku a báze stonků, (angl. Black Foot Disease)

Ascomycota, řád: *Hypocrales*, čeleď: *Nectriaceae*

Druhy *Cylindrocarpon* Wollenw se běžně vyskytují v půdě jako saprofyty na mrtvém rostlinném materiálu. Jsou kořenovými kolonizátory nebo představují i slabé patogeny různých bylin a dřevin (Brayford, 1993), kteří získávají energii z organických látek odumřelých organismů. *Cylindrocarpon destructans* (Zinns.) Scholten (anamorfa *Neonectria radicola* (Gerlach & L. Nilsson) Mantiri & Samuels a *C. obtusisporum* (Cooke & Harkn.) Wollenw byly často označovány jako původci hniloby kořenů různých hostitelů (Booth, 1996, Seifert et al., 2003b) a černou hnilobu *Vitis vinifera* L. První zjištění o *C. destructans* na révě vinné bylo ve Francii v roce 1961 (Maluta & Larigon, 1991). Od té doby se začal objevovat i v jiných zemích například Tasmánie (Sweetingham, 1983), Sicílie (Grasso, 1984) a v Portugalsku (Rego et al., 2000, 2001). Zejména *Cyl. liriodendri*, *Cyl. macrodidymum*, *Campylocarpon fasciculare* a *Camp. pseudofasciculare* vřekovýtrusné houby (*Ascomycota*) jsou spjaty s černou hnilobou révy vinné (Fischer & Kassemeyer, 2003). Druhy, které způsobují hnilobu kořenů na širokém spektru hostitelských rostlin ve všech vinařských oblastech v celosvětovém měřítku se jedná o tzv. „černou nohu“ (hniloba kořenů, kořenového krčku a báze stonků). Napadají oslabené rostliny za slabších stresových podmínek (Petit, 2015). Houba postihuje zejména mladé révy a způsobuje rozsáhlé infekce, které nejdou vyléčit a rostlina podlehne na nátlak infekce. (Petit, 2015). Vyskytuje se v podobě bílého mycelia. Na listech se objevují chlorotické nebo spálené skvrny s postupným odumíráním keře. Na příčném řezu se vyskytují nekrotické a xylémové cévy. Při infekčních testech byla objevena patogenita houby druhu *Ilyonectria destructans* i její schopnost způsobovat onemocnění mladé révy. Symptomy onemocnění se projevují zkrácením

internodií, defoliací, chlorózou listů, černou diskolorací dřeva. Černá diskolorace dřeva se vyskytuje v oblasti kmene, kde byla réva naočkována, ale i v oblastech sousedících. (Rego et al., 2000). Kauzální druhy organismů, které způsobují „černou nohu“ se řadí *Campylocarpon fasciculare* Schroers, Hallen a Crous: *Cylindrocarpon obtusisporum* (Cooke & Harness): *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm) Sholten: *Cylindrocarpon macrodidymum* Hallen, Schroers a Crous. Všechny tyto výše popsané organismy byly popsány jako původci onemocnění „černou nohou“ (Petit, 2015).

Cyklus onemocnění všudypřítomných půdních hub, které přetrvávají v půdě v latentním stavu a napadají hlavně slabé, nemocné či jinak poškozené rostliny. Houba proniká do otevřených otvorů nebo ranami na kořenech až do koruny podnože a postupem času napadá i pletiva rostlin, což má za následek rozvoj kořenových lézí a postupné ucpání xylému houbovou tkání, dásněmi a tylózy. Konidie v půdě v podobě želatinové formy se šíří pomocí vody. Produkce chlamydospor umožňuje, že patogen lze přežít po delší dobu v nepřítomnosti hostitele (Petit, 2015).

3.9.4 *Eutypa lata* (Pers.Fr.) Tul. & C.Tul

Eutypové odumírání révy vinné, (angl. *Eutypa Dieback*)

Ascomycota, řád: *Xylariales*, čeleď: *Diatrypaceae*

Vyskytuje se na zhruba 80 druzích hostitelských rostlin z nejméně 27 čeledí cévnatých rostlin. Je jednou z nejničivějších chorob kmene a dřevitých částí.

Vytváří vatovité bílé kolonie na kořenech, které postupně zešednou. Konidie jsou nitkovité, rovné či zakřivené (Fischer & Kassemeyer, 2003). Vřečka jsou produkována v peritheci. Askospory jsou produkovány ve stromatu na nemocném dřevě po dobu několika let od první infekce (Sosnowski, 2007).

Podle Ludvikové (2019) patogen způsobuje odumírání celých keřů. K napadení nejčastěji dochází v místech poškození, zejména při řezu. K infekci dochází již při teplotách nad 10 °C. Nejčastěji je napadena dřevní část tříletá a starší. Napadené keře se projevují slabším růstem. Listy jsou menší, nahloučené a často s příznakem nekrotických skvrn. Dochází ke sprchávání květenství. Na kmíncích se začínají vytvářet nekrózy a na příčném řezu je viditelná hnědá nekróza dřeva. Mezi další rozpoznatelné příznaky je snížená vitalita a deformace výhonů nejzřetelněji viditelné na jaře. Mladé listy jsou chlorotické, zmenšené miskovitěho tvaru s nekrotickými skvrny a potřhanými okraji na listech. Nakonec se nevytvářejí nové výhonky. Houba nenapadá zelené vegetativní části rostlin, ale pouze část kořenovou a dřevní. Symptomy na listech jsou vyvolány spíše toxiny například (eutypin), které jsou produkovány touto houbou. Žádný z těchto toxinů nebyl detekován v míze infikované révy (Rolshausen et al., 2015). Napadení druhem *Eutypa lata* způsobuje odumírání zvané také jako ‘dying arm’ nebo také ‘dead arm’. Onemocnění se vyskytuje chronicky a ovlivňuje produktivitu a kvalitu bobulí a životnost révy. Ze začátku nejsou příznaky viditelné a projevuje se tehdy, je-li keř deset a více let starý, nejčastěji na jaře na mladých zdravých výhonech, které jsou 25–50 cm dlouhé. Při hlubším průzkumu kordonu nebo kmene se v cévním spojení obvykle objeví rakovina obklopující řeznou ránu, která se

vytvořila již dříve. Na řezu se objeví zóna nekrotického dřeva, která se dále rozšiřuje, ale tento příznak mohou vyvolat i jiné rakovinnotvorné houby (Rolshausen et al., 2015).

3.9.5 *Phaeomoniella chlamydospora* Crous & W. Gams

Chřadnutí a odumírání révy, (angl. Esca, Petri, and Grapevine Leaf Stripe Disease)

Ascomycota, řád: *Phaeomoniellales*, čeleď: *Herpotrichiellaceae*

Dříve se choroba Esca projevovala náhlým, smrtelným vadnutím celé révy. V roce 1865 byla prvně popsána a objevena ve Francii jako listová hniloba dřeva (bílá hniloba) způsobena houbami *Basidiomycetes*, hlavně *Phellinus ignarius* a *Stereum hirsutum*. V roce 1926 byl objeven další příznak, a to intervenální chloróza a nekróza na listových čepelích, později se objevily listové pruhy na listech a onemocnění bylo označeno jako Esca (Gubler et al., 2015). Polyfágní jsou houby rodu *Phaeoacremonium* (např. *P. aleophyllum* napadá révu, aktinidii a olivovník), houby rodu *Cylindrocarpon* a *Botryosphaeria* i *Fomitiporia mediterranea*. Rozhodující jsou stanovištní podmínky, resp. stresové situace. Je prokázáno, že zvýšený výskyt se projevuje ve vinicích umístěné na extrémně suchých stanovištích s nedostatečnou výživou. Nejnáchylnější k chřadnutí a odumírání révy (ESCA) je odrůda 'Semillon' a za nejméně náchylnou 'Chardonnay'. U nás se nejčastěji vyskytuje u odrůd 'Muškát Moravský' a 'Modrý Portugal'. Podle Loskilla a kolektivu (2006) patří *Fomitiporia sp.*, *Phaeoacremonium sp.* a *Phaeomoniella* hlavními původci choroby Esca. Čeleď *Herpotrichiellaceae* a třída vřeckovýtrusné houby. Hyfy jsou přepážkovitě rozvětvené, které se vyskytují v pramenech do 8, zelené až nahnědlé zbarvení (Fischer & Kassemeyer, 2003). Projevuje se příznaky na listech, hroznech, ve dřevě (především kmínků) a u školkařského materiálu projevem hnědnutí až zčernání dřeva. Starší listy v průběhu vegetace jsou ze začátku žlutozelené až žlutobílé (bílé odrůdy) nebo červenofialové (modré odrůdy) skvrny (ÚKZUZ, 2024) Podélné řezy ukazují tmavé pruhy, které jsou jednotlivě nebo ve svazcích. Po proříznutí postižený cév vytéká černá gumovitá látka (Gubler et al., 2015). *Phaeomoniella chlamydospora* se projevuje v samotném začátku po výsadbě. Letorosty jsou slabší a kratší s kratšími internodii. Listy jsou malé a světle zelené s okrajovou chlorózou a místa poškozená nekrózou. Na podélném řezu se vyskytují tmavé proužky (ÚKZUZ, 2024). Nejvýraznějším příznakem jsou hnědé pruhy nebo skvrny xylémových cévách dřevnatého válce. Chlorotické a nekrotické tkáně, které se střídají mezi hlavními žilami, které ohraničují pruhem nepostížených tkáně, vytvářejí obrazec „tygřího pruhu“. Houba tvořící mycelium vytvořené na infikovaném dřevě, které je schopno produkovat konidie z fialid. Spory se dokážou uvolňovat po celý rok, ale počet je nízký v rámci zimních měsíců a během horkých dnů. Nejvíce spor se produkuje na jaře a na začátku podzimu. Spory jsou vymrštěny z asci do výšky zhruba 10 cm. Transportují se pomocí větru nebo jsou rozptýleny do řezných ran kapkami vody. K infekci dochází i při tvorbě školkařského materiálu. *Phaeomoniella chlamydospora* a spolu s *Phaeoacremonium minimum* vykazují endofytické chování u révy vinné. Způsobují příznaky v rámci různých stresových faktorů včetně nedostatku vody a vysokých teplot (Gubler et al., 2015).

3.9.6 *Diaporthe neoviticola* Udayanga, Crous & K.D. Hyde

Černá skvrnitost révy, (angl. Phomopsis Cane and Leaf Spot)

Ascomycota, řád: *Diaporthales* čeled': *Diaporthaceae*

Vyskytuje se tam, kde je vyšší půdní vlhkost. Mezi prvními příznaky napadení je žloutnutí a zakrslost keře. Bazální části keře postupně odumírají a na povrchu se objevují hnědá až černá vlákna mycelia. Houba roste v zelených částech v korovém parenchymu. Na letorostech jsou viditelné černé podélné skvrny, které postihují bazální část keře. Kůra se rozpadá a hniloba proniká do dřeva. Patogen je schopný osídlit révy, ramena a kmínky a zcela rozložit dřevo. Patogen s parazitickým a saprofytickým způsobem života vyskytující se pouze v nepohlavním stádiu. Přezimuje v podobě mycelia v révě a ve víceletém dřevě, kde tvoří plodnice, pyknidy. Pyknidy se vytvářejí na podzim a v zimě jako hnědé až černé vyvýšené tečky o průměru 0,2–0,5 mm. Konidie klíčí za vysoké vzdušné vlhkosti a patogen proniká přes pletiva listů a letorostů rašících z oček především průduchy. K infekci může docházet při teplotě v rozmezí 1–35,5 °C. Inkubační doba choroby je až 30 dnů, s rostoucí průměrnou teplotou se doba zkracuje, při teplotě 10 °C je 15 dnů a při teplotě 23 °C pouhých 8 dnů. K infekci dochází za optimální teploty 23 °C (ÚKZUZ, 2023).

3.9.7 *Phymatotrichopsis omnivora* (Shear) Hennebert

Kořenová hniloba, (angl. Phymatotrichopsis Root Rot)

Ascomycota, řád: *Pezizales*, Čeled': *Rhizinaceae*

Kořenová hniloba, která je známější pod názvem texaská kořenová hniloba nebo bavlníková hniloba, která byla zjištěna i v mangových a avokádových sadech tropických státech Veracruz, Michoacan a Sinola v Mexiku (McBride & Appel, 2015).

Hniloba se z části projevuje skvrnami na listech. Šíření patogenu je pomalé a je omezeno jen v určité části vinice, i když důvod není zcela znám. Napadená réva může vadnout a odumírat během časného léta nebo později. Neopadávají a zůstávají na odumřelé révě. Před zavadnutím mohou listy žloutnout nebo zčervenat. V mezi žilním prostoru se vyskytují žluté skvrny a nepravidelné nekrotické v oblasti na čepeli a na okrajích listů. Listy zhnědnou a jsou křehká. Výhony rostou pomalu a listy jsou v následujícím roce matně zelené. Na začátku léta listy s viditelnou nekrózou samovolně spadnou a jejich trsy se obnaží a spálí. Tyto rostliny se zdají, že se během pozdního léta zotavují, ale během zimy nebo v následujícím roce zahynou. Kořenový systém révy vinné je z velké části shnilý už v době prvních listových příznaků. Na povrchu kořenů jsou tlusté nebo tenká vlákna mycelia patogenu. Kořenová kůra je snadno oddělitelná od dřevnatého válce (McBride & Appel, 2015). Patogen se šíří v půdě ve hloubce 15–75 cm v profilu, ale může se objevit i ve hloubce 2 m, kde produkuje svá sklerocia, která slouží jako primární zdroj po dobu nejméně 12 let. Sklerocia se dostávají na povrch kořenů a vytvářejí zdroje infekce v přirozených otvorech (lenticely, praskliny). Patogen infikuje kořenovou kůru a cévní svazky, které brání translokaci vody. Houba se rozšiřuje kolonizací kořenového systému od napadených ke zdravým jedincům révy vinné. Optimální teplota pro růst patogenu je 28–30 °C, na kterou se dosáhne v letních měsících (McBride & Appel, 2015).

3.9.8 *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) Schröt

Fytoftorová hniloba kořenů a kořenového krčku, (angl. *Phytophthora Crown and Root Rot*)

Perenosporomycota, řád: *Peronosporales*, čeleď: *Phytophthora*

Podle Palovčíkové (2023) jsou hostitelskými rostlin semenáčky listnáčů a jehličnanů, z okrasných a lesních dřevin velmi často buk lesní (*Fagus sylvatica*), méně další druhy lípa (*Tilia* spp.), dub (*Quercus* spp.), javor (*Acer* spp.), modřín (*Larix* spp.), douglaska (*Pseudotsuga* spp.), jedle (*Abies* spp.), smrk (*Picea* spp.), kdy vinná réva se na seznamu neobjevuje. Podle seznamu patogen *Phytophthora cactorum* nebyla doposud zjištěna u révy vinné.

Na révě vinné byla hniloba kořenů způsobená houbou *Phytophthora cactorum* zjištěna v Austrálii, Chile, Indii, Novém Zélandu, Španělsku a v USA v Kalifornii (Browne & Latorre, 2015). Příznaky nadzemní části jsou podobné kořenové hnilobě *Armillaria*. Špatný růst výhonů, chloróza listů, předčasné zbarvení listů, vadnutí, defoliace a odumírání révy.

Oblasti kořenového systému a infikovaná kůra spodního kmene nejčastěji podléhají hnilobě, kdy se cévní pletiva zbarvují do červenohnědá až černé barvy. Odstranění vnější kůry pomocí nože zjistíme přehledně zdravé a nemocné zóny pletiv, které jsou ohraničené okrajem, dokud réva nezahyne a nevyschne. Vyšší četnost úhynu rostlin révy jsou u mladých a malých rostlin révy. Výskyt onemocnění je často spojován s oblastmi, které mají špatný odtok vody. K četnějšímu výskytu infekce může dojít v oblastech svahů s mělkou půdou s nepropustnou vrstvou pro vodu než v nižších polohách s hlubší půdou (Browne & Latorre, 2015). Patogen se může dostat do vinic prostřednictvím infikovaného materiálu, z půdy a vody. Voda je zdrojem šíření patogenních chorob. *Phytophthora* může přetrvávat v půdě mnoho let v podobě tlustostěnných oospor a chlamydospor, které umožní její přežití za nepříznivých podmínek. Zoospory jsou hlavní příčinou infekce. Chlamydospory a oospory se uvolňují do půdy při mírných teplotách od konce zimy do začátku léta a podzimu (Browne & Latorre, 2015).

3.9.9 *Roesleria subterranea* (Weinm), Redhead

Ascomycota, řád: *Dothideomycetes*, čeleď: *Roesleriaceae*

Vřeckovýtrusná půdní saprofytická houba, která způsobuje odumírání kořenového kmínku révy. Roste na mrtvém dřevě a způsobuje odumírání živých a zdravých rostlin. Vyskytuje se do hloubky 1,5 m na kořincích révy vinné (Halasů, 2022). „Během posledního desetiletí“ (Huber et al., 2006) se nahromadily zprávy z Německa a z Lucemburska o ztrátách ve vinicích způsobených houbou *Roesleria*, která způsobuje hnilobu kořenů (Huber et al., 2006). Ideální teplota pro přežití a růst se pohybuje okolo 15–20 °C, ale *R. subterranea* roste a přežívá i při teplotách mezi -3 °C a 35 °C (Höfer, 1992). Výskyt druhu *Roesleria subterranea* se pH v půdě pohybuje od 2,5 do 8,5 a dobře roste i ve vlhkých i suchých půdách s 10–30 % maximální schopností zadržovat vodu (Höfer, 1992). Infikované rostliny se vyskytují v nepravidelných skupinách. U nadzemních částí způsobuje zakrnělý růst a snížená vitalita. Dalším příznakem je rozpad kořenů. U nadzemních částí jsou příznaky poškození touto houbou zaměnitelné za příznaky jiných abiotických a biotických poškození a onemocnění,

jako je například chloróza způsobena nedostatkem železa a nadbytkem vápníku nebo nedostatkem dusíku, ale také komplex onemocnění révokazem nebo jinými houbami. Mezi nejčastější způsob, jak rozpoznat napadení *Roesleria* je zjistit zdravotní stav kořenového systému, kde se vytváří plodnice této houby (Höfer, 1992).

3.9.10 *Dematophora necatrix* (Hartig)

Kořenokaz révový, (angl. *Dematophora Root Rot*)

Ascomycota, řád: *Xylariales*, čeleď: *Xylariace*

Jedna z hub způsobující hnilobu kořenů. Tato houba má široké spektrum hostitelských rostlin může způsobovat ekonomické ztráty zejména při pěstování révy vinné. Bílá kořenová hniloba, která se projevuje vadnutím až odumíráním rostlin (Aimi et al., 2002). Houba prorůstá půdou a využívá kořeny, které zabila, jako zdroj pro svou výživu. Houba upřednostňuje vyšší vlhkost organického materiálu, který může také sloužit jako zdroj pro výživu, a často se houba vyskytuje v půdě s vysokým obsahem jílu. Listy zůstávají na liánách, které rychle odumírají. Réva se často láme na půdní linii, kde houba oslabila dřevo. Kůra kmene pod linií půdy ztmavne a snadněji opadá. Infikované rostliny mohou během sezóny rychle nebo pomalu odumřít nebo přetrvat do příští sezóny. Rychle rostoucí houba v infikovaném dřevě vytváří malé bílé povlaky rozptýlené po dřevě. (Raabe, 2015). Patogen se šíří pomocí zamořené půdy a infikovaného množitelského materiálu. Ačkoli nepohlavní stádium produkuje mnoho konidií, ale v laboratořích se je nepodařilo přimět k vyklíčení. Houba dobře odolává suchu a může zůstat životaschopná ve vzduchem vysušených kusech dřeva v laboratoři po několik let. Optimálně roste při 22–28 °C a přestává růst při teplotě nad 31 °C (Raabe, 2015).

3.9.11 *Verticillium dahliae* Kleb.

Verticiliové vadnutí, (angl. *Verticillium Wilt*)

Acomycota, řád: *Hypocreales*, čeleď: *Plectosphaerellaceae*

Vadnutí *Verticillium* postihuje révu vinnou ve věku 6–7 let. Infekce probíhá přes kořeny mladé révy a dochází k ucpávání cév. V rané fázi vegetačního období révy vinné nevykazuje žádné příznaky napadení. Na začátku letá dochází k vadnutí listů okrajovému popálení. Symptomy jsou typické pouze z jedné strany révy, kde listy a výhonky na jediném kordonu vykazují vadnutí. Zdroj infekce se obvykle vyskytuje na místech, kde se pěstovaly náchylné plodiny. Po výsadbě do zamořené půdy réva nevykazuje příznaky onemocnění. Ve druhém roce se projeví, že některá réva projevuje první příznaky. Réva s příznaky se časem sama zotaví a nevykazuje žádné příznaky, a to zapříčinilo dlouhého zkoumání, než bylo prokázáno, že *Verticillium* infikuje hrozny. Mycelium je hyalinní až bělavé, ale později se zbarví do černa tvorbou mikrosklerocií. Jsou tmavě hnědé až černé a mají schopnost růstu ve 30 °C (Eskalen, 2015).

3.10 Nejvýznamnější fytopatogenní houby a houbám podobné organismy způsobující choroby nadzemních částí

Choroby kořenů nelze zcela oddělit od chorob nadzemních částí, protože tvoří jeden organismus, a proto je zde vhodné zařadit i nejvýznamnější původce nadzemních částech vinné révy. Uvedené houby způsobují vážné poškození révy, které vedou k ekonomickým ztrátám při jejím pěstování.

3.10.1 *Botrytis cinerera* Pers.

Šedá hniloba hroznů révy, botrytiová hniloba květenství révy (angl. Botritis Bunch Rot and Blight)

Ascomycota, **třída:** *Leotimycetes*, **čeleď:** *Sclerotiniaceae*

Celosvětově rozšířený patogen v oblastech s mírnými teplotami a deštěm. Vzniká ekonomická ztráta v kvalitě produktů a na vynaložení většího úsilí k úpravě chemického složení nemocných bobulí (Wilcox et al., 2015). Polyfágní houba typu napadající všechny nadzemní růstu. Symptomy se mohou lišit na závislosti podmínek, ale na většině listů vznikají nekrotické skvrny různé velikosti, skvrny suché podobné písmenu „V“, které se šíří od kraje listu. Infikované oblasti zasychají a odumírají (Šafránková & Víchová, 2023). Na všech zelených pletivech révy se objevují spály a na bobulích se vytvářejí hniloby. Na začátku vegetace hrozí u napadených pupenů a mladých výhonů zhnědnutí a vyschnutí. Charakteristické jsou šedé povlaky mycelia na spodní straně listu. Šedé povlaky mycelia se tvoří zprvu ve středu trsu. Dále přes infekční ložiska se šíří z bobule na bobule, a nakonec dojde k napadení celého shluku bobulí. Při skladování hrozí mokrá hniloba s kruhovými hnědými lézemi. *Botrytis cinerera* je slabý patogen, který požaduje exogenní zdroj živin nebo hostitele k infekci. Houbě se daří ve vysoké vlhkosti. Zůstává v klidu po dlouhou dobu v infikovaných tkáních. Na vinicích přezimuje ve formě sklerocií, mycelia nebo chlamydospory v infikovaných pletivech hroznů. Klíčení a infekce může dojít při teplotách mezi 0–30 °C, ale optimální teplota se pohybuje v rozmezí 15–25 °C a ideální 18–20 °C (Wilcox et al., 2015). Z povolených fungicidních přípravků lze použít Switch (OL 35 dnů), Cantus, Cassiopee 79 WG, Melody Combi 65,3 WG – OL 28 dnů; Minos Forte, Pyrus 400 SC – OL 21 dnů, aj. (Gall, 2023).

3.10.2 *Coniella diplodiella* (Speg.), Petr & Syd

Bílá hniloba révy, (angl. White Rot)

Ascomycota, **třída:** *Sordariomycetes* **čeleď:** *Melanconidaceae*

Houba může napadnout všechna zelená pletiva révy. Nejzranitelnější jsou mechanicky nebo fyziologicky poškozené oblasti (Cortesi, 2015). Dochází k předčasnému zhnědnutí bobulí, které mají šedé zbarvení a pukají. Při vlhkém počasí následuje bakteriální hniloba, pokud nastanou sušší podmínky bobule začnou mumifikovat (Rod, 2017). Napadené nezralé bobule jsou světle zelené a scvrklé, poté narůžovělé a hnědé (Cortesi, 2015). Pyknidy

přezimují v napadaných bobulích a půdě. Napadená pletiva praskají, kůra se odlupuje a v místě nákazy se vytvářejí nádory (Ludvíková, 2019). Šíří se při teplotě 25–30 °C při vysoké vzdušné vlhkosti při mechanické poškození nebo abiotickými činiteli (Hluchý, 2008). Konidie klíčí při teplotě 11–30 °C. K infekci dochází u poraněných bobulí přibližně do 6 h vlhkosti při teplotách 22–27 °C. Inkubační doba onemocnění se pohybuje okolo 3 až 8 dnů a závisí na rozsáhlosti infikované tkáně a klimatických podmínkách (Cortesi, 2015). Z fungicidních povolených přípravků lze použít: Cassiopee 79 WG a další (Gall, 2023).

3.10.3 *Elsinoë ampelina* Shear

Antraknóza révy, (angl. Anthracnose)

Ascomycota, **třída:** *Dothideomycetes* **čeleď:** *Elsinoace*

Houba způsobuje antraknózu vinné révy na listové ploše, bobulích a v některých případech i stonkovou část. Symptomy se projevují zčernáním postižených tkání. Napadá nadzemní měkké části révy včetně výhonků, listů, řapíků, úponků a trsů. U mladých výhonků se projeví méně znatelné načervenalé kruhové skvrny, které se zvětšují až do propadlých lézí hnědé barvy s šedými středy a tmavými či hranatými okraji (Brook, 1973). Nejprve na listech vytvářejí malé tečkovité červenohnědé skvrny v rozmezí 1–5 mm v průměru. Pletivo praská a rozpadá se uprostřed vytvářejících se skvrn. Na nevyzrálých bobulích se vytvářejí tmavošedé až černé skvrny, později silně napadené bobule praskají nebo se mumifikují. Na vyzrálějších bobulích se tvoří okrouhlé, šedočerné a slabě propadlé skvrny s purpurovým nádechem lehce hnědým až tmavým okrajem s šedým středem ve velikosti (ÚKZUZ, 2024).

V roce 1874 byla prvně zaznamenána díky silného napadení, kdy odumíraly celé hrozny a dostala název *Sphaceloma ampelina* (Shear, 1929), kvůli konidiální formě. Sklerocia přezimují na napadaném réví, která klíčí na jaře v podobě mycelia tvořící konidie a za pomoci deště a se šíří a infikují všechny zelené části révy. Za vhodné klimatické podmínky pro šíření podporuje teplé a deštivé počasí (ÚKZUZ, 2024). Acervuly obsahují krátké, válcovité, vroubkované konidiofory, které nesou malé vejčité konidie. Askospóry vznikají v peritheciích, které se mohou tvořit na infikovaných částech ponechaných či zapomenutých na zemi z předchozího roku. Primární infekce se projevují zhruba za 3–7 dní od napadení (Brook, 1973).

3.10.4 *Erysiphe necator* Schwein

Padlí révové, (angl. Powdery Mildew)

Ascomycota, **třída:** *Leotiomycetes*, **čeleď:** *Erysiphaceae*

Vytvářejí bílý povlak vytvářející se na povrchu rostliny. Hlavním znakem padlí je přítomnost mycelia a konidií patogenu v podobě bělavého práškovitého porostu. Rozsáhlost infekce závisí na vitalitě révy. Kolonie v kruhu jednotlivě nebo ve skupinách (Gadoury et al., 2015) Dochází k deformaci a redukci listů a letorostů. Zá následek má tzv. sprchávání květenství nebo opad kvítků a praskání bobulí. Infekce v době květu až do změknutí bobulí (Rod, 2017). Šíří se za vysoké vzdušné vlhkosti a při teplotě 21–30 °C konidiami. Při nízkých teplotách je omezené šíření. Patogen přezimuje ve formě jako chasmothecií., která jsou pak

hlavním zdrojem infekce (Gadoury et al., 2015). Při silném výskytu lze z povolených fungicidních přípravků použít Collis, Dynali, Luna Max, Pronto, Spirox D, Vivando aj. a při menším výskytu za použití Flosul, Kumulus WG, Sulfolac 80WG, Sulfurus aj. (Gall, 2023).

3.10.5 *Greeneria uvicola* (Berk. & M. A. Curtis) Punith

Hořká hniloba, (angl. Bitter Rot)

Ascomycota, **třída:** *Sordariomycetes*, **čeleď:** *Phyllostictaceae*

Houba, která způsobuje hořkou hnilobu hroznů, která je rozšířena celosvětově. Přezimuje na stoncích a bobulích. Infikuje listy, úponky a stonky, ale významné ztráty způsobí na bobulích, pokud převládá deštivé počasí během vegetace do období sklizně. (Ridings & Clayton, 1970). Patogen zprvu napadá bobule. Infikované oblasti bobulí se světlejší slupkou zhnědnou a po dosažení plné velikosti bobulí se tvoří výrazné plodnice (acervuly), které způsobují praskání epidermis a kutikuly. Infikované hrozny révy změknou a scvrkávající se. Zaměňuje se se zralou hnilobou (angl. „ripe rot“) způsobenou rodem *Colletotrichum* spp. Přezimuje v podobě v opadaných plodech, na poškozených špičkách výhonů poškozená chladem a na nekrotické borce kmene a kordonů. K infekci dochází za vlhkého období při teplotách okolo 12–30 °C, i když za optimální teploty okolo 22,4–24,6 °C a vlhkost trvající 6–12 hodin (Sutton, 2015).

3.10.6 *Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Courtis) Berl. & De Toni)

Plíseň révová, (angl. Downy Mildew)

Oomycota, **třída:** *Perenosporomycetes*, **čeleď:** *Perenosporaceae*

Plíseň révy, která se projevuje velkými žlutými skvrnami na listech. Na spodní straně listu se vyskytuje bělavý povlak patogenu. Květy postupně zasychají a poté i mladé plody do velikosti hrášku. Vyhovující je vlhké a teplejší počasí. Patogen přezimuje na spadáných listech a v půdě ve formě oospor, kdy na jaře při minimální teplotě 7–12 °C klíčí a vytvářejí se sporangia a v nich zoospory, které způsobují primární infekci. Během vegetačního období se rozšiřuje pomocí sporangiospor. Optimální teplota pro rozvoj infekce je kolem 20–26 °C a inkubační doba se pohybuje mezi třetím a čtvrtým dnem (Rod, 2017). Z povolených fungicidních přípravků lze použít: Cassiopee 79 WG, Melody Combi 65,3 WG, Champion 50 WG (Gall, 2023).

4 Materiál a metodika

4.1 Charakteristika lokality

Vzorky byly odebrány na jižním svahu hory Kaňk (nadmořská výška 233–277 m. n. m.). Kutná Hora a tato lokalita se podle BPEJ nachází v teplém až mírně teplém klimatickém regionu, kde je průměrná roční teplota 8–9 °C, průměrný úhrn srážek je okolo 550–650 mm. Hora Kaňk představuje hnědozemě na mírném svahu s expozicí a s mírným obsahem skeletu podle BPEJ. Jílovitá až jílovitohlinitá půda

4.2 Odběr vzorků

Pro výzkum bylo odebráno po 3 kořenech (o tloušťce 5 mm) z 15 uhynulých rostlin z hloubky 5–20 cm. Celkem bylo zkoumáno 45 kořenů. Vzorky byly převezeny do laboratoře, kde proběhlo další zpracování.



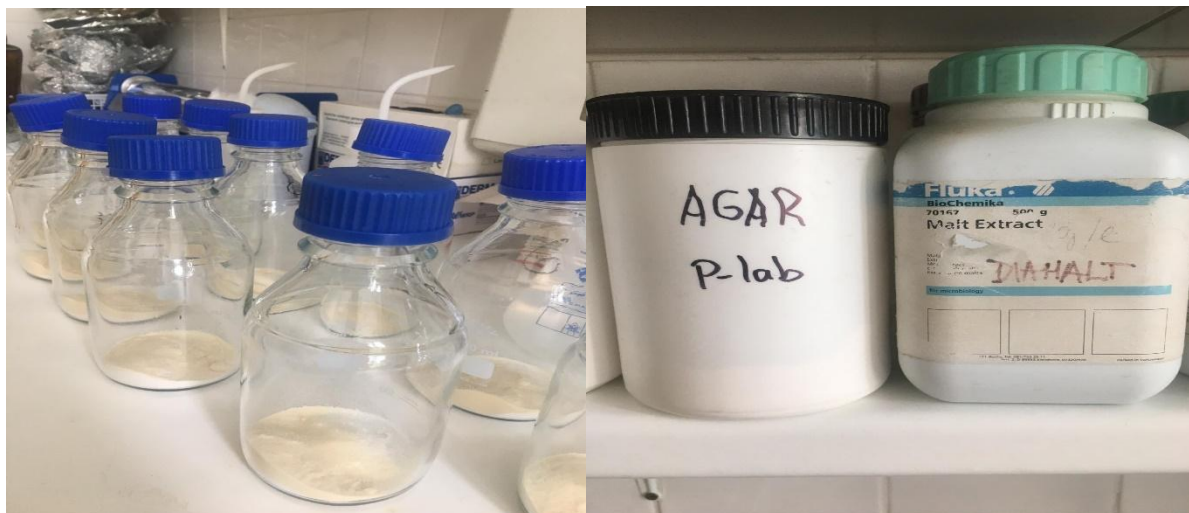
Obr. č. 1 - uhynulý keř (autor: Natálie Koudelková) Obr. č. 2 - odebraný vzorek (autor: Natálie Koudelková)



Obr. č. 3 - Příprava vzorků (autor: Natálie Koudelková)

4.2.1 Izolace a kultivace hub ze vzorku

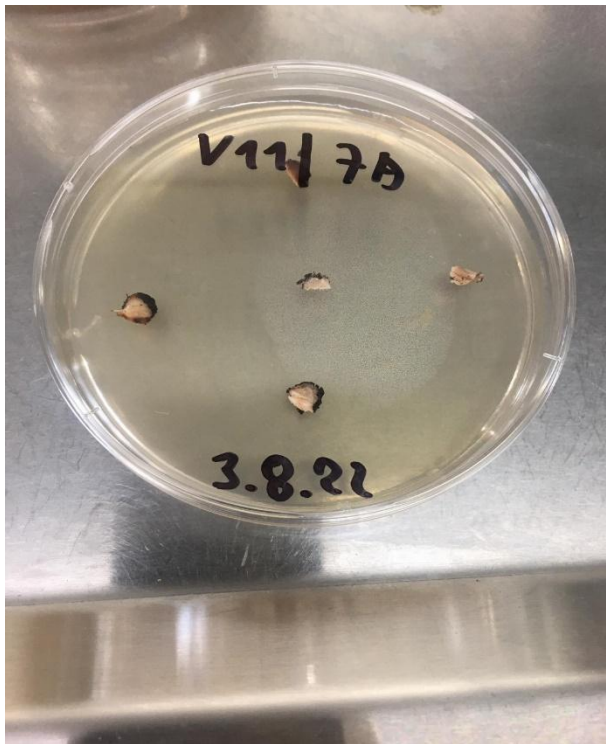
Izolace probíhala v mykologicko-mikrobiologické laboratoři. Kořeny byly nejprve mechanicky očištěny pod tekoucí vodou od zeminy a dalších nežádoucích substancí. Poté byly nařezány na kusy po 5–6 cm a povrchově sterilizovány 1 minutu v 96% etanolu, poté 2 minuty v 10–11 % chlornanu sodném (NaClO), pak 30 sekund v 96% etanolu, a na konec byly vzorky opláchnuty sterilní vodou. Poté byly kořeny sterilně nařezány na menší části pomocí skalpelu. Kousky vzorků se pokládaly na 2% malt extrakt agarové živné medium, ve kterém byl přidán chloramfenikol (100 mg chloramfenikolu na 1000 ml média) v 90 mm Petriho miskách. V jedné Petriho misce bylo vždy po pěti kouscích z daného vzorku. Vzorky byly inkubovány ve tmě při teplotě 20–22 °C a po 14 dnech byly vzorky prohlédnuty. 2% malt extrakt agarové živné medium se skládalo z 20 g agaru, 20 g sladového extraktu a 1000 ml vody a sterilizace probíhala které se sterilizovalo při teplotě 110 °C po dobu 25 minut v autoklávu. Poté se vysterilizované medium nalévalo do Petriho misek ve sterilním prostředí. Po 14 dnech inkubace byly vzorky hodnoceny a probíhala izolace vyrostlých hub do čisté kultury.



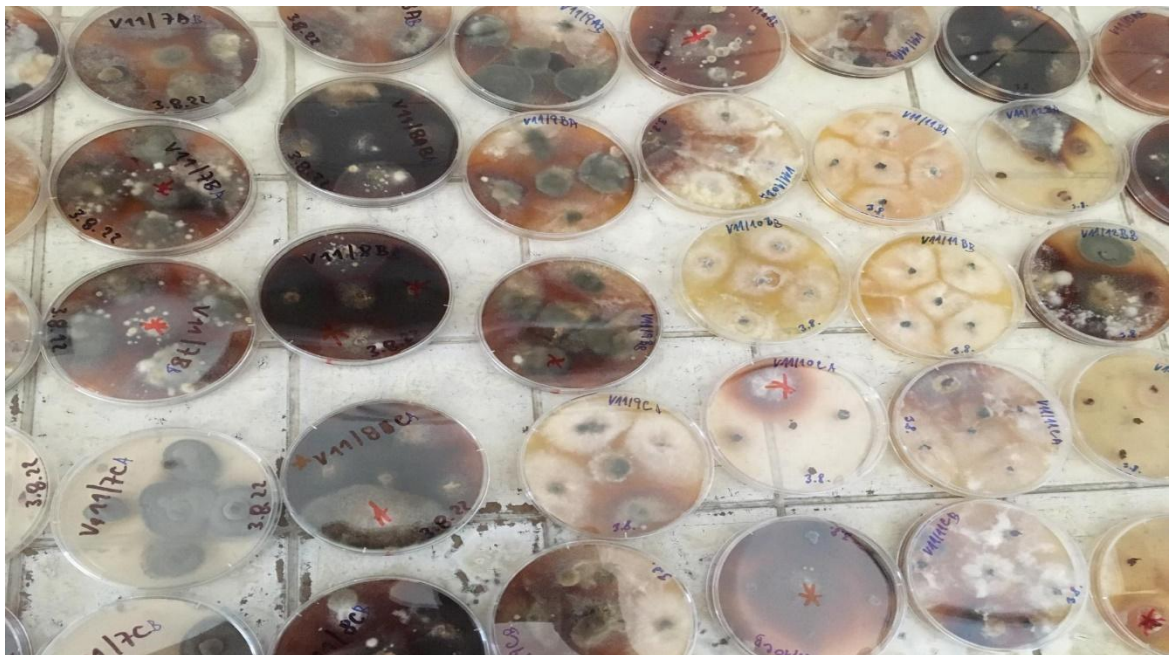
Obr. č. 4 - Příprava agaru (autor: Natálie Koudelková) Obr. č. 5 - Složky k přípravě malt extrakt agar (autor: Natálie Koudelková)



Obr. č. 6 - Připravený malt extrakt agar v Petriho miskách Obr. č. 7 - sterilní odebrání kousků pletiv z kořenů ve flow-boxu (autor fotografií: Natálie Koudelková)



Obr. č. 8 - Kousky vzorků položené na malt extrakt agaru Obr. č. 9 - Kolonie hub na 2% malt extrakt agaru v Petriho miskách po 14 dnech inkubace (autor fotografií: Natálie Koudelková)

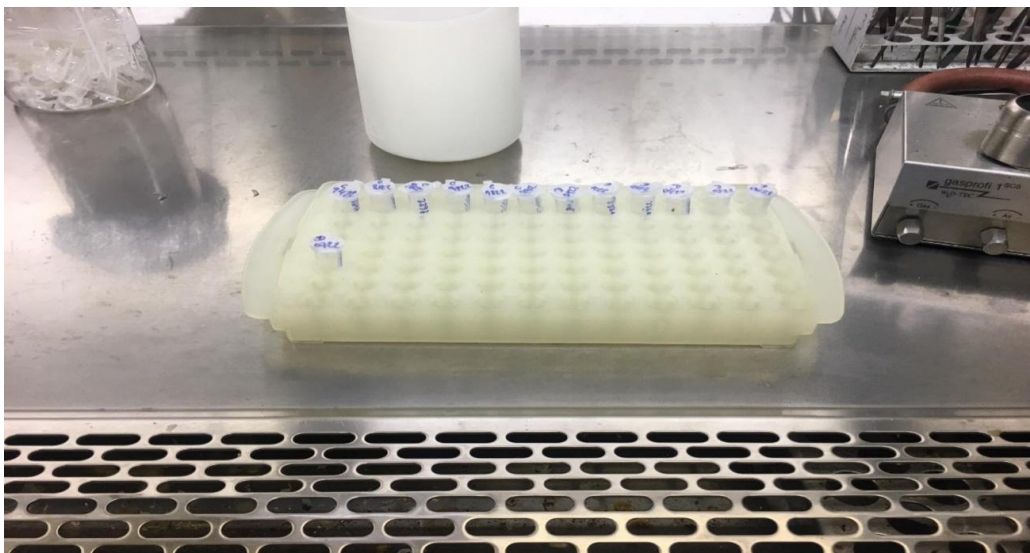


Obr. č. 10 Kolonie hub na 2% malt extrakt agaru v Petriho miskách po 14 dnech inkubace (autor: Natálie Koudelková)

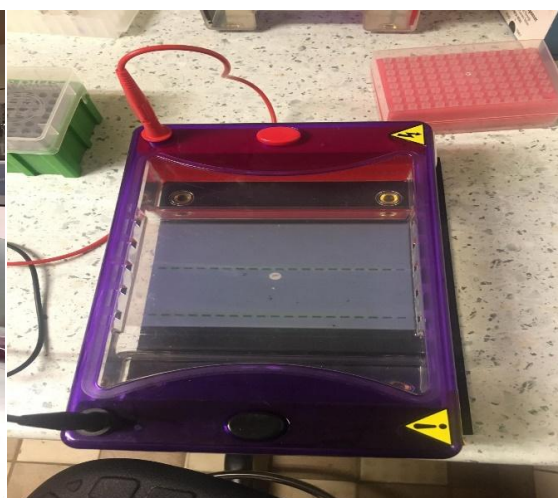
4.2.2 Molekulární identifikace hub a analýzy DNA

Pro amplifikace potřebných úseků DNA jednotlivých kmenů hub se použil (Phire Plant Direct PCR Master Mix). Pro získání DNA z mycelia byl použit Dilution Buffer, který je součástí jmenovaného kitu. NA přípravu Master Mixu pro PCR se použil Phire Plant Direct

PCR MAster Mix, do něhož se přidala voda a příslušné primery a následně se rozpipetovala po 24 μ l do jednotlivých 0,2 ml PCR zkumavek. Následně se přidal 1 μ l Dilution Buffer s DNA příslušného zkoumaného kmene houby. Poté se tyto zkumavky s připravenou reakační směsí vložili do termocykleru, u kterého byl nastaven příslušný program pro průběh PCR, následně byla provedena vlastní PCR. Po skončení PCR se gelovou elektroforézou vyhodnotilo, zda se daný úsek DNA daného vzorku namnožil či nikoliv. Elektroforéza proběhla v agarózovém gelu složeném z TAE pufru, agarózy a pro vizualizaci v UV transluminátoru s použitím barviva Gelred. Poté byly PCR produkty poslány do firmy Macro genu v Holandsku na osekvenování. Úprava (potřebná pro vyhodnocení) získaných záznamů sekvenování jednotlivých vzorků byla provedena pomocí programů Chromas a Bioedit. Zjištění, kterému druhu je daná výsledná sekvence DNA nejbližší, byla vyhodnocena pomocí BLAST na portálu NCBI (National center for biotechnology information) za využití databáze sekvencí z tohoto portálu. Na základě toho bylo možné určit, jakému rodu nebo druhu je určovaný kmen nejvíce příbuzný. Získané organismy, které se touto metodou získaly, jsou popsány pod kapitolou s názvem Výsledky práce.



Obr. č. 11 - Centrifugační zkumavky s vzorky kultur jednotlivých získaných izolátů hub mycelium v pufru (Dilution Buffer) (autor: Natálie Koudelková)



Obr. č. 12 - Laboratoř s flow-boxem (autor: Natálie Koudelková) Obr. č. 13 - Příprava na elektroforézu (autor: Natálie Koudelková)

4.2.3 Hodnocení citlivosti vybraných získaných kmenů hub k esenciálním rostlinným silicím

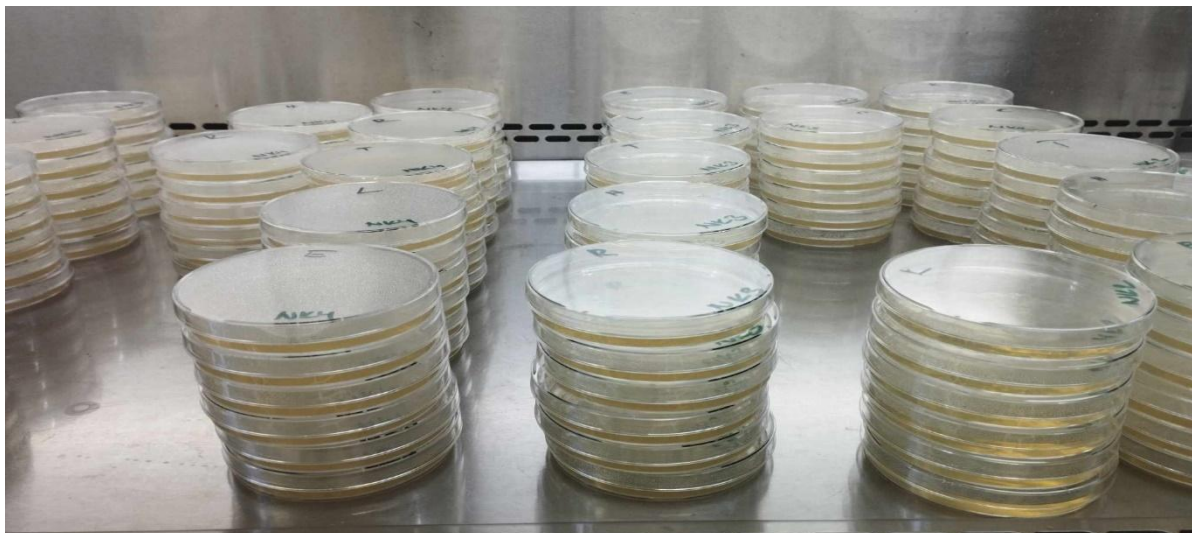
Před pokusem byly v předstihu připraveny startovní kultury vybraných kmenů hub. Kmeny rostly na Petriho miskách s 2% agarem při teplotě 20 °C po dobu 12 dní. Živné medium 2% malt extrakt agar se připravil navážením směsi 6,8g malt extrakt a 6,8g agaru smíchaný ve 340 ml vody. Následně proběhla sterilizace při 110 °C po dobu 20 minut. V rámci 20 minut se byly připraveny menší lahvičky na silice v koncentraci 62,5 µl /l s DMSO (kontrola) na objem 100 ul/l, které posloužilo jako ředidlo.

Použité silice:

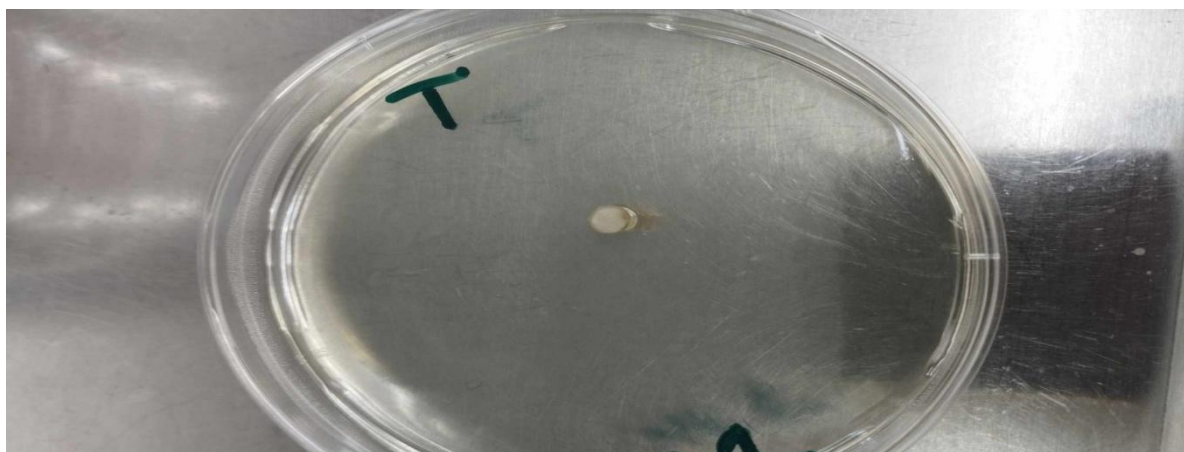
1. skořice (Cinnamon oil),
2. tymián (Thyme oil),
3. citronová tráva (Lemongrass oil),
4. hřebíček (Clove oil),
5. oregano (Origanum oilR),
6. Tea Tree oil.

Kontrola s DMSO byla přidána do vysterilizovaného 2% malt extrakt agar při teplotě 50 °C. Následovalo nalití agarového media do 90 mm Petriho misky po 168 kusech. Připravilo se 6 kusů Petriho misek od každé silice. Vybrané kmeny byly jednobodově zaočkovány bločkem s dvanáctidenní starou kulturou do Petriho misky s MA2 s vybranou koncentrací silic byly uchovány při teplotě 22 °C ve tmě v termostatu. Po čtyřech dnech byla provedena první kontrola dvou kmenů V11/6CA (bílá sterilní), (*Entoleuca*) a V11/13CA (černo-šedá, (*Botryosphaeria*). Po devíti dnech proběhla kontrola kmenů V11/6AB (bílá synematozní), (*Scedosporium*) a V11/7CA (šedá kolonie), (*Cephalotrichum*).

Pravítkem byl změřen průměr kolonie a byl zapsán do tabulky. Následně byla data zanesena do tabulky a z dat byla vypočítaná míra inhibice, která pak byla přepočtena na procenta. Následně byl vytvořen graf, který znázorňuje vyobrazení zjištěných dat. Míra inhibice se vypočítala tak, že se celkový průměr DmsO kontroly odečetl od celkového průměru silice, vydělilo se průměrem DmsO kontrolou a vynásobilo se stem a získali jsme míru inhibice v procentech. Tabulka je vyobrazena v kapitole 5 – Výsledky práce.



Obr. č. 14 - Připravený 2% malt extrakt s přidavkem jednotlivých silic v Petriho miskách (autor: Natálie Koudelková)



Obr. č. 15 - Jednobodově zaočkovaný bloček s dvanácti starou kulturou rostoucí na 2% malt extrakt s přidavkem vybraných silic (autor: Natálie Koudelková)

Použité Kmeny

Použité a vybrané čtyři kmeny hub ze studovaných kořenů. Následující použité kmeny:

- V11/6AB (bílá synematozní), (*Scedosporium*).
- V11/6CA (bílá sterilní), (*Entoleuca*).
- V11/7CA (šedá kolonie), (*Cephalotrichum*).
- V11/13CA (černo-šedá), (*Botryosphaeria*).



Obr. č. 16 - VII/13CA (černo-šedá, (*Botryosphaeria*) Obr. č. 17 - VII/6AB (bíla synematozní), (*Scedosporium*)
(autor fotografií: Natálie Koudelková)



Obr. č. 18 - VII/6CA (bíla sterilní), (*Entoleuca*) (autor: Natálie Koudelková)



Obr. č. 19 - VII/7CA (šedá kolonie), (*Cephalotrichum*) (autor: Natálie Koudelková)

5 Výsledky práce

5.1 Výskyt hub na lokalitě

Celkem bylo zkoumáno 450 segmentů. Přesněji byly tyto segmenty z 15 rostlin *Vitis Vinifera*, z každé rostliny 3 kořeny a z každého kořene bylo 10 segmentů *Vitis Vinifera*. Bylo izolováno 12 druhů hub.

Výsledky uvedené v tabulce č. 1 byly získány z molekulární analýzy, kde byly vzorky správně označeny a analyzován úsek EF a ITS. Z výsledků plyne, že nejčastěji se vyskytujícími rody jsou *Ilyonectria*, *Dactylonectria* a *Lophiostoma* spp.

V tabulce č. 2 jsou uvedeny různé druhy hub a morfotypy. Druhy hub jsou výsledkem molekulární analýzy, zatímco morfotypy představují skupinu taxonů s podobným vzhledem nebo charakteristickou formou organismu, který se morfologicky liší od ostatních jedinců téhož druhu. Tyto údaje vyjadřují procentuální výskyt z 450 studovaných segmentů z lokality u Kutné Hory na jižním svahu hory Kaňk. Nejčastěji se zde vyskytovaly druhy hub z rodů *Cylindrocarpona* spp. a *Clonostachys* spp. Další identifikované taxony zahrnovaly *Ilyonectria*, *Fusarium* a *Lophiostoma*. Byla také zaznamenána přítomnost čeledi *Helotiaceae*.

Během pokusu byly nalezeny vzorky obsahující bakterie, které však nebyly zkoumány v rámci této práce. Následně byla provedena analýza rezistence čtyř kmenů *Scedosporium apiospermum* Sacc. ex Castell. & Chalm, *Entoleuca* spp., *Cephalotrichum stemonitis* (Pers.) Nees a *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not vůči vybraným esenciálním olejům.

Tabulka č. 1 – Výsledky molekulární analýzy

Označení houby	Úsek	Výsledek
V11/1CA <i>Cylindrocarpon</i>	EF	<i>Dactylonectria torrensis</i>
V11/6AA <i>Cylindrocarpon</i>	EF	<i>Dactylonectria torrensis</i>
V11/8BB <i>Cylindrocarpon</i>	EF	<i>Ilyonectria robusta</i>
V11/13AA <i>Cylindrocarpon</i>	EF	<i>Ilyonectria liriodendri</i>
V11/15AB <i>Cylindrocarpon</i>	ITS	<i>Ilyonectria crassa</i>
V11/14CA <i>Fusarium</i>	EF	<i>Fusarium solanii</i> complex
V11/1AA šedočerná kolonie	ITS	<i>Botryosphaeria dothidia</i>
V11/3BA šedá kolonie	ITS	<i>Alternaria alternata</i> complex
V11/5CB <i>Clonostachys</i>	ITS	<i>Clonostachys rosea</i>
V11/6AB bílá synematózní kolonie	ITS	<i>Scedosporium apiospermum</i>
V11/6CA bílá sterilní	ITS	<i>Entoleuca</i> spp.
V11/7CB šedá sterilní	ITS	<i>Fusarium oxysporum</i>
V11/7CB <i>Aureobasidium</i>	ITS	<i>Fusarium oxysporum</i>
V11/12CB bílo hnědá kolonie	ITS	<i>Helotiaceae/ Helotiales</i> spp.
V11/13CA šedo černá kolonie	ITS	<i>Botryosphaeria dothidea</i>
V11/1CA šedo hnědá kolonie	ITS	<i>Botryosphaeria dothidea</i>
V11/9AB šedá kolonie	ITS	<i>Lophiostoma</i> spp.
V11/13AB malá šedá kolonie	ITS	<i>Lophiostoma</i> spp.
V11/14AB šedá kolonie	ITS	<i>Lophiostoma</i> spp.
V11/5AB bílí synematózní kolonie	ITS	<i>Talaromyces trachyspermus</i>
V11/7CA šedá kolonie	ITS	<i>Cephalotrichum stemonitis</i>
V11/14CB šedá kolonie	ITS	<i>Lophiostoma</i> spp.
V11/12CB oranžové <i>Verticillium</i>	ITS	<i>Heliotaceae</i>
V11/6AA malá šedá kolonie	ITS	<i>Peronosporales</i>

Tabulka č. 2 – Procenta segmentů kolonizovaných houbami ze studovaných 450 segmentů

Druhy/ morfotypy hub		
Množství studovaných segmentů	450	%
<i>Alternaria alternata</i> complex (Fr.) Keissl	64	14,22
<i>Botryosphaeria dothidea</i> (Moug.) Ces. & De Not	13	2,89
<i>Cephalotrichum stemonitis</i> (Pers.) Nees	64	14,22
<i>Clonostachys rosea</i> (Preuss) Mussat	73	16,22
<i>Dactylonectria torresensis</i> (A. Cabral, Rego & Crous) L. Lombard & Crous	269	57,33
<i>Entoleuca</i> sp.	2	0,44
<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl	65	14,44
<i>Fusarium solanii</i> complex Henn	1	0,22
<i>Helotiaceae</i>	1	0,22
<i>Ilyonectria crassa</i> (Wollenw.) A. Cabral & Crous	269	59,77
<i>Ilyonectria liriodendri</i> (Halleen, Rego & Crous) P. Chaverri & Salgado	269	59,77
<i>Ilyonectria robusta</i> (A.A. Hildebr.) A. Cabral & Crous	269	59,77
<i>Lophiostoma</i> sp.	64	14,22
<i>Peronosporales</i>	1	0,22
<i>Scedosporium apiospermum</i> Sacc. ex Castell. & Chalm.	1	0,22
<i>Talaromyces trachyspermus</i> (Shear) Stolk & Samson	1	0,22
Aureobasidiální	1	0,22
Bílá sterilní kolonie	2	0,44
Bílá kolonie	2	0,44
Bílohnědá kolonie	6	1,33
Bílá synematózní kolonie	1	0,22
<i>Clonostachys</i>	73	16,22
<i>Cylindrocarpon</i>	269	59,77
Šedá kolonie	64	14,22
Šedá sterilní kolonie	1	0,22
<i>Fusarium</i>	1	0,22
Malá šedá kolonie	1	0,22
<i>Trichoderma</i>	1	0,22
Šedočerná kolonie	11	2,44
Šedohnědá kolonie	2	0,44
Oranžové <i>Verticillium</i>	1	0,22
Malá kolonie	2	0,44

5.2 Míra inhibice vybraných kmenů hub k esenciálním rostlinným silicím

5.2.1 Růst vybraných kmenů hub kultivované na 2% malt extrakt s přidavkem jednotlivých silic při teplotě 22 °C

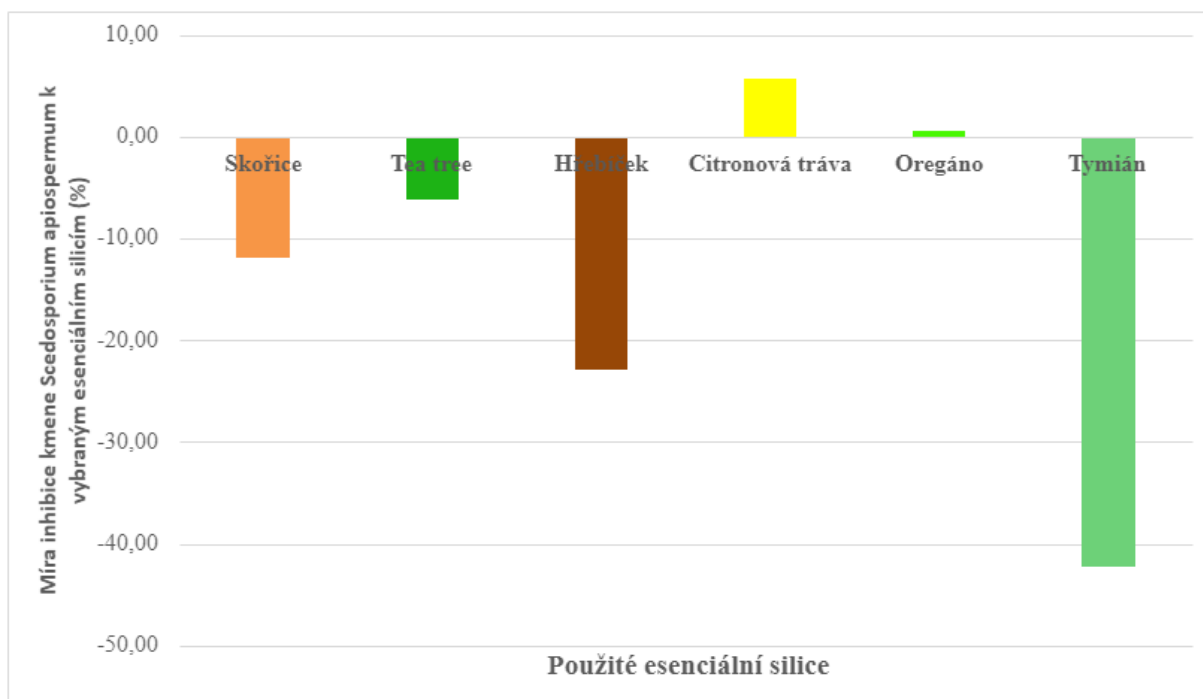
Scedosporium apiospermum

Z výsledků pokusu vyplývá, že kmen V11/6AB *Scedosporium apiospermum* nereagoval potlačujícím způsobem na silice tymiánu s -42,19 %. U silic hřebíčku, skořice a tea tree nebyl pozorován žádný potlačující účinek. Pouze silice citronové trávy a oregána vykazovaly mírné potlačení růstu kolonie (tab. č. 3 a graf č. 1).

Tabulka č. 3 – Míra inhibice kmene V11/6AB *Scedosporium apiospermum*

Název silice	Kmen V11/6AB <i>Scedosporium apiospermum</i>
	Míra inhibice (%)
Skořice	-11,98
Tea tree	-6,25
Hřebíček	-22,92
Citronová tráva	5,73
Oregano	0,52
Tymián	-42,19

Graf č. 1 – Míra inhibice kmene V11/6AB *Scedosporium* sp. po 9 dnech inkubace při teplotě 22 °C



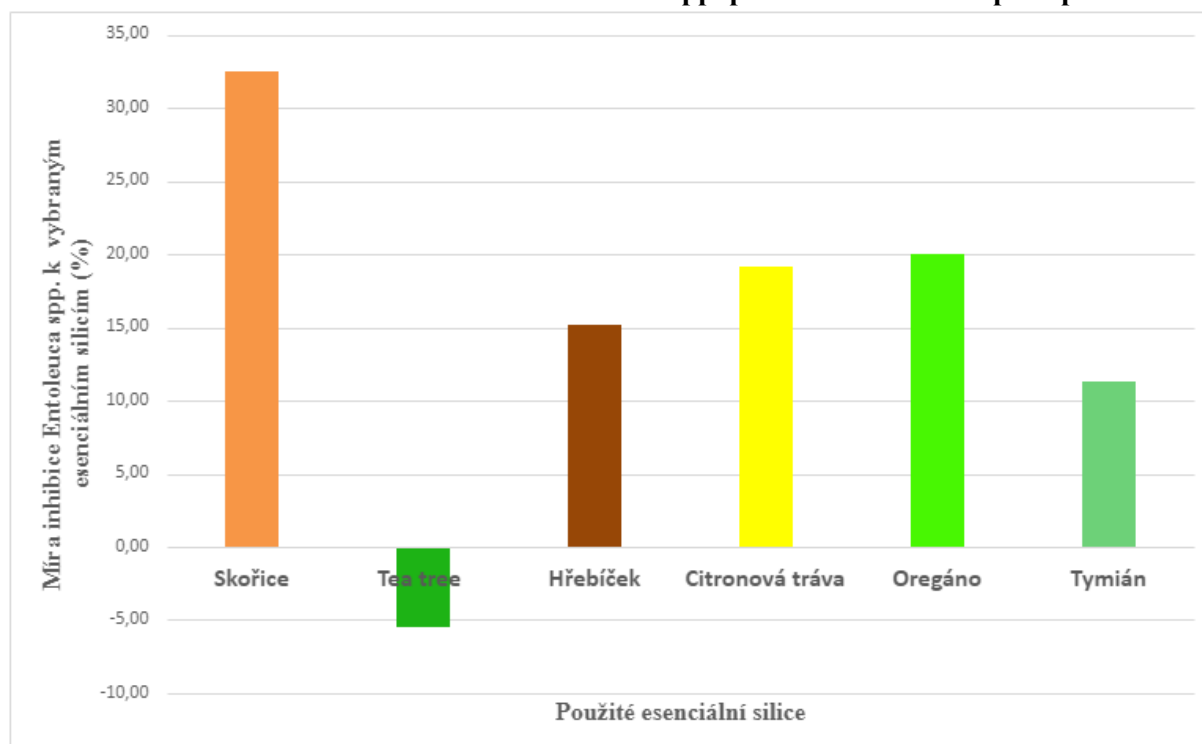
Entoleuca spp.

Nejvýraznější potlačení růstu kmene V11/6CA bylo pozorováno při použití silice skořice (32,48 %). Podobné účinky na růst kmene měly také silice hřebíčku (15,15 %), citronové trávy (19,12 %), oregana (19,97 %) a tymiánu (11,25 %). Silice tea tree naopak neměla žádný vliv na růst kmene V11/6CA (-5,47 %).

Tabulka č. 4 – Míra inhibice kmene V11/6CA *Entoleuca spp.*

Název silice	Kmen V11/6CA <i>Entoleuca spp.</i>
	Míra inhibice (%)
Skořice	32,48
Tea tree	-5,47
Hřebíček	15,15
Citronová tráva	19,12
Oregano	19,97
Tymián	11,25

Graf č. 2 – Míra inhibice kmene V11/6CA *Entoleuca spp.* po 4 dnech inkubace při teplotě 22 °C



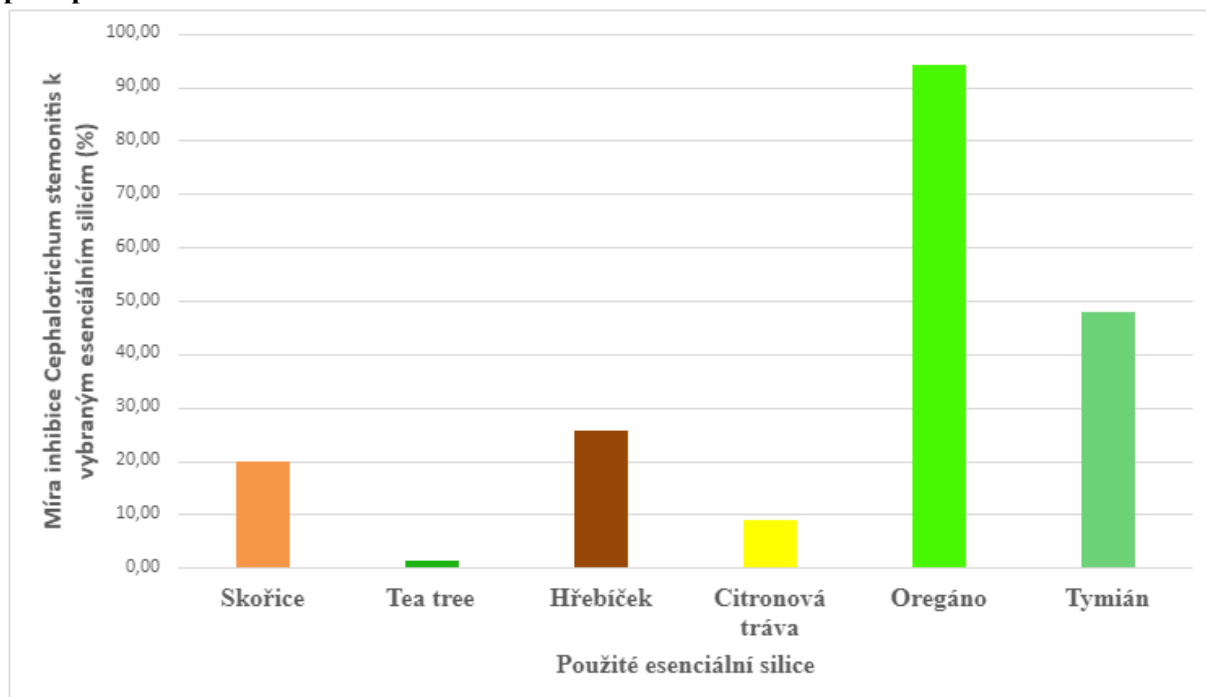
Cephalotrichum stemonitis

Největší účinek potlačení růstu u kmene V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis* byl pozorován při použití silice oregana (94,17 %). Silice tymiánu následovala s potlačujícím účinkem (47,98 %). Silice hřebíčku (25,56 %), skořice (19,73 %), tea tree (1,35 %) a citronové trávy (9,06 %) projevily mírnější účinek potlačení růstu než silice oregana. Všechny uvedené silice vykazovaly potlačení růstu u kmene V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis* (tab. č. 5 a graf č. 3).

Tabulka č. 5 – Míra inhibice kmene V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis*

Název silice	Kmen V11/7CA <i>Cephalotrichum stemonitis</i>	
	Míra inhibice (%)	
Skořice	19,73	
Tea tree	1,35	
Hřebíček	25,56	
Citronová tráva	9,06	
Oregano	94,17	
Tymián	47,98	

Graf č. 3 – Míra inhibice kmene V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis* po 9 dnech inkubace při teplotě 22 °C



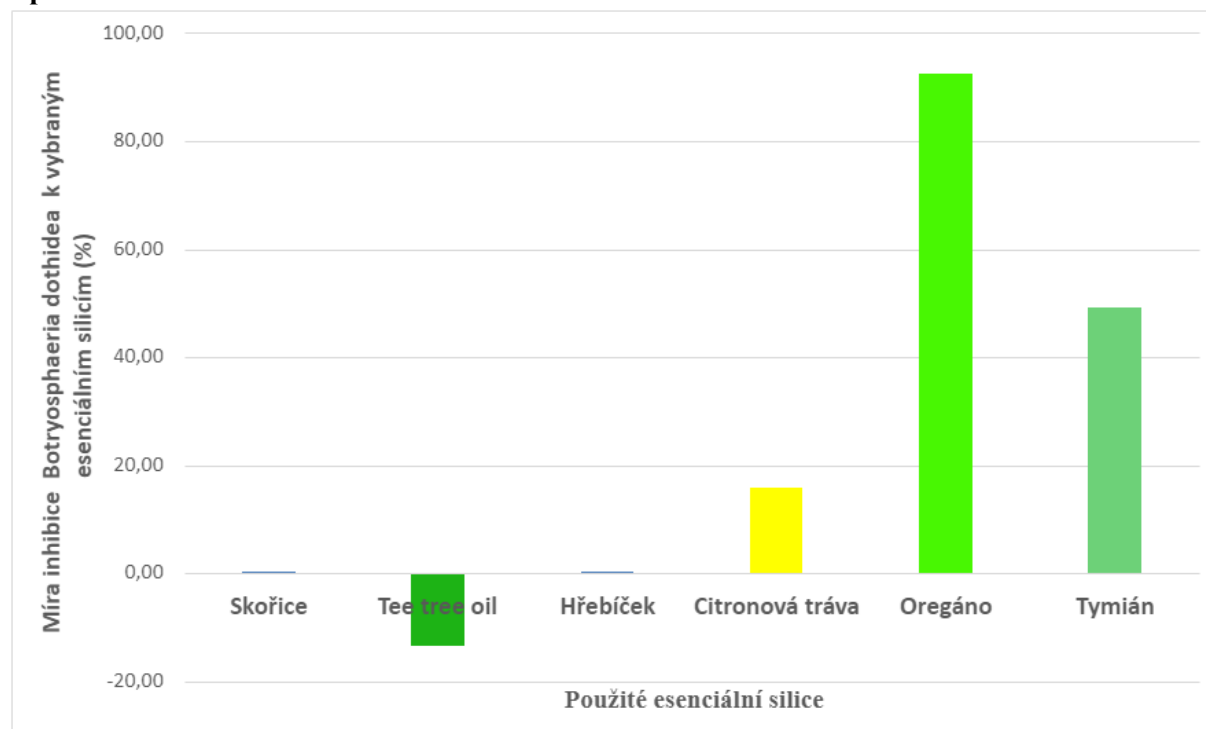
Botryosphaeria dothidea

Největší potlačení růstu u kmene V11/13CA *Botryosphaeria dothidea* bylo zaznamenáno při použití silice oregána (92,41 %). Další účinek potlačení růstu byl pozorován u silic tymiánu (49,12 %), citronové trávy (15,84 %). Mírné potlačení růstu bylo zaznamenáno u silice skořice (0,25 %), zatímco silice tea tree (-13,38 %) neprokázala žádný účinek na růst kmene V11/13CA. Silice hřebíčku neprokázala žádný účinek potlačení růstu po 4 dnech inkubace (tab. č. 6 a graf č. 4).

Tabulka č. 6 – Míra inhibice kmene V11/13CA *Botryosphaeria dothidea*

Název silice	Kmen V11/13CA <i>Botryosphaeria dothidea</i>	
	Míra inhibice (%)	
Skořice	0,25	
Tea tree	-13,38	
Hřebíček	0,00	
Citronová tráva	15,84	
Oregano	92,41	
Tymián	49,12	

Graf č. 4 – Míra inhibice kmene V11/13CA *Botryosphaeria dothidea* po 4 dnech inkubace při teplotě 22 °C



6 Diskuze

6.1 Identifikace hub

Z pokusu jsme získali data s výskytem nejčastějších taxonů *Ilyonectria*, *Fusarium* a *Lophiostoma*. Zjištěna byla i jedna čeleď *Helotiaceae*. Nejčastěji se objevoval rod *Ilyonectria* který byl v zástupu *Ilyonectria crassa*, *Ilyonectria liriodendri* a *Ilyonectria robusta* se řadí mezi patogenní taxony, které patří do asexuálních anamorf podobných *Cylindrocarpon* jsou původci „černé nohy“, která způsobuje nekrotické léze kořenů a odumírání révy (Gramaje et al., 2018). Poté rod *Fusarium* který byl zastoupen dvěma druhy, *Fusarium oxysporum* a *Fusarium solanii* complex jako půdní patogeny. *Fusarium oxysporum* patří mezi nejvýznamnější houbové rostlinné patogeny (Dean et al., 2012), který způsobuje vadnutí a hnilobu kořenů (Olivain & Alabauvette, 1999)). Dalšími zjištěnými patogenními druhy jsou *Alternaria alternata* complex a *Botryosphaeria dothidea*. Mezi vzácnější druh saprobní houby patří *Cephalotrichum stemonitis*. Mykoparazitická houba *Clonostachys rosea* je dalším zjištěným taxonem, který představuje hospodářský význam. Působí mykoparaziticky na širokém spektru půdních fytopatogenních hub. V půdě rozkládají sklerocia, mikrosklerocia, chlamydospory a oospory hub (*Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Bipolaris sorokiniana*, *Colletotrichum*, spp., *Pythium* spp., aj.) (Bohatá, JČU, 2024). Dále se z pokusu zjistil výskyt houby *Dactylonectria torrensis*, která také patří do asexuálních anamorf podobných *Cylindrocarpon*, která způsobuje onemocnění „černé nohy“ nejčastěji v Itálii (Garlucci et al., 2017), Portugalsku (Reis et al., 2013) a Španělsku (Berlanas et al., 2017) (Berlanas et al., 2019). Onemocnění „černé nohy“ způsobuje hnilobu kořenů, kořenového krčku a báze stonků (Petit, 2015). Napadají oslabené rostliny za slabších stresových podmínek (Petit, 2015). Vzácná houba *Scedosporium apiospermum* ,která byla v roce 1911 popsána jako lidský patogen a také jako původce kožní infekce a podkožní tkáně (Husain et al., 2005). Dalším objeveným taxonem je saprofytická houba *Talaromyces trachyspermus*. Mezi další zjištěné rody se nachází saprofytická houba *Lophiostoma* a lignikolní houba *Entoleuca* spp. V rámci pokusu se vyskytly i vzorky s bakteriemi, které ale nejsou součástí práce. Následně byla hodnocena rezistence čtyř kmenů pod označením V11/6AB *Scedosporium apiospermum*, V11/6CA *Entoleuca* spp., V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis* a V11/13CA *Botryosphaeria dothidea* k esenciálním olejům.

Kulišová et al. (2021) pracovali na podobné práci, která se lišila v zjištění výskytu houbových endofytů *Vitis vinifera* – faktory na podporu růstu rostlin. Vzorky kořenů se odebíraly ze dvou různých vinic České republiky: Kutná Hora (49,9336 N, 15,2889 E; vinná réva pěstovaná podle zásad ekologického zemědělství) a Praha (50,0690 N, 14,4454 E; konvenčně pěstovaná vinná réva). V tomto pokusu byly odebrány vzorky v srpnu 2022 z jednoho místa na jižním svahu hory Kaňk u Kutné Hory (nadmořská výška 233–277 m. n. m.). Bylo odebráno po 3 kořenech (o tloušťce 5 mm) z 15 uhynulých rostlin z hloubky 5–20 cm. Celkem bylo zkoumáno 45 kořenů.

U Kulišové a kolektivu (2021) se pokus lišil v tom, že u kořenů je vliv ročních období výrazně menší, než vliv ročních období u nadzemních orgánů. Jejich vzorkování listů

proběhlo v lednu, květnu, srpnu a říjnu v roce 2019, přesněji v odebraném množství mezi 3 a 10 g listů a palice byly sbírány v množství 50 g. V pokusu byly odebrány také bobule v září roku 2019. V tomto pokusu se kořeny nevážily, ale z jedné vinice se podařilo izolovat 12 mikroskopických druhů hub včetně endofytických a parazitických z kořenů *Vitis vinifera*. *Alternaria alternata* complex, *Botryosphaeria dothidea*, *Cephalotrichum stemonitis*, *Clonostachys rosea*, *Dactylonectria torrensis*, *Entoleuca* spp., *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* complex, *Helotiaceae* sp., *Ilyonectria crassa*, *Ilyonectria liriodendri*, *Ilyonectria robusta*, *Lophiostoma* spp., *Scedosporium apiospermum*, *Talaromyces trachyspermus*.

Podle nedávného výzkumu Kulišové a jejího týmu (2021) bylo z listů izolováno 24 endofytických mikroskopických hub, které patřily k 14 různým rodům. Tento výzkum se zaměřil na vegetaci a různé části rostliny *Vitis vinifera*, jako jsou listy a bobule. Izolace hub se lišila v závislosti na období sběru materiálu, přičemž 6 izolátů bylo získáno v zimě, 10 z jara, 4 z léta a 4 z podímu. Mezi nejčastější identifikované houby patřily *Cladosporium* byl zastoupen dvěma druhy, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries a *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link. Dalšími více zastoupenými rody byly *Didymella* sp., *Aspergillus* sp., *Aureobasidium* sp., a *Alternaria* sp. Všech pět izolátů získaných z bobulí patří k *Penicillium*, konkrétně k druhu *Penicillium cructosum* (Kulišová a kol., 2021).

V této studii byly houby izolovány z letního sběru roku 2022. Nejčastěji se vyskytovaly rody *Cylindrocarpon* spp, a *Clonosatchys* a *Ilyonectria*, včetně druhů *Ilyonectria crassa*, *Ilyonectria liriodendri* a *Ilyonectria robusta*.

Granett a kolektiv (1998) zkoumali výskyt houbových infekcí kořenů *V. vinnifera* ve vinicích, které byly zamořeny révokazem (*Phylloxera*). Zaměřovali se rány způsobené révokazem na kořenech *Vitis vinifera*, které mohou být infikovány různými druhy hub. V jejich studii byly zamořené kořeny odebrány z komerční vinice v okres San Joaquin v Kalifornii a také z tří vinic v okrese Mendocino také v Kalifornii v roce 1996. Na rozdíl od jejich práce se v mé studii odběr z kořenů provedl z jedné vinice na Kutnohorsku v Evropě v roce 2022. Rozdíl je tedy téměř 26 let, ale také v klimatických podmínkách kontinentu a vinicí dané oblasti. Granett a kolektiv (1998) ve své práci získali vzorky kmenů vinné révy kopáním do hloubky ne větší než 0,3 m. Při detekci hub v místech napadených révokazem na kořenech byly místa odstraněny, kořeny sterilizovány a kořenové segmenty umístěny na okyseleném bramborovém dextrózovém agaru. Tyto segmenty byly inkubovány při teplotě 24 °C po dobu 6 dnů.

V mé práci byly vzorky inkubovány na 2 % malt extrakt agaru v Petriho miskách při teplotě 20–22 °C po dobu 14 dnů. Pokusy se liší v inkubační teplotě, kdy byla použita jiná teplota a délka inkubace.

V práci Granetta a kolektivu (1998) odhalili devět taxonů, které byly identifikovány z ran způsobené révokazem (*Phylloxera*). Nejčastěji přítomnými druhy na kořenech *V. vinifera* byly *Fusarium sambucinum* (uvedeno pod jménem *Fusarium roseum* SCHLECHT.), *F. oxysporum* (MART) a *Pythium ultimum* TROW. Došli k závěru, že *Fusarium oxysporum* se objevoval běžně ve všech kořenových systémech, ale také zjistili, že *Acremonium* (uvedeno pod jménem *Cephalosporium* sp.) se vyskytoval nejčastěji pouze v kořenových systémech zamořených révokazem. *Phytophthora* sp. a *Rhizoctonia* sp. byly neobvyklé ve všech

kořenových systémech. *Trichoderma* sp. a *Macrophomina* sp. byly nalezeny pouze ve sbírkách okresu Mendocino.

V této práci se ve srovnání Granetta a kolektivu (1998) podobají ve zjištění akorát *Fusarium oxysporum*, které se však nezjišťovalo za pomoci výskytu révokazu (*Phylloxera*).

6.2 Míra inhibice vybraných kmenů *Vitis vinifera* k vybraným esenciálním olejům

Kenfaoui a kolektiv (2023) pracovali na podobném pokusu, kde použily jiné kmeny houbových chorob *Vitis vinifera* z marockých vinic. Použitými kmeny v práci byly *Diplodia mutila*, *Neoscytalidum novaehollandiae*, *Trichothecium roseum* a *Neopestalotiopsis vitis* k jiným rostlinným esenciálním olejům než v té mé práci. Jejich růstová aktivita byla zkoumána na esenciální oleje z *Eucalyptus globulus* Labill. (Eucalyptus), *Citrus limonum* (L.) Burm. (Citron), *Cinnamomum zeylanicum* Blume. (Skořice), *Lavandula latifolia* (levandule), *Rosmarinus officinalis* L. (Rozmarýn) a *Mentha spicata* L. (Máta peprná). Použily princip analýzy plynové chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií jim umožnila stanovení sloučenin přítomných v olejích. Měli k dispozici rozsáhlejší informace o tom, které kmeny reagují na určité sloučeniny, ze kterých jsou esenciální oleje složeny. Použily různé koncentrace esenciálních olejů Například u koncentrace 100 ul/ml. Zjistili významné potlačení růstu *D. Mutila* u silice *Eucalyptus globulus*, *Mentha spicata* a *Rosmarinus officinalis* s 81,37 %, 80,08 % a 53,75 %. Silice *L. latifolia*, *C. limonum* a *C. zeylanicum* vykazovaly potlačení růstu 52,66 %, 47,45 %, respektive 46,95 % při koncentraci 100 ul/ml a u silic *E. globulus* a *M. Spicata* zjistili nejnižší inhibici *N. vitis* (36,04 % a 49,29 %) při koncentraci 100 ul/ml (Kenfaoui et al, 2023).

V této studii bylo zjištěno, že kmen V11/6AB *Scedosporium apiospermum* nevykazoval potlačující účinek při použití silice tymiánu s účinkem -42,19 %. Naopak silice citronové trávy mírně potlačila růst kolonie tohoto kmene a silice oregana ho potlačila nepatrně po 9 dnech inkubace.

Nejvíce potlačení růstu kmene V11/6CA *Entoleuca* spp. Bylo pozorováno při použití silice skořice, která ho potlačila o 32,48 %. Podobně vysoké potlačení růstu vykazovaly silice hřebíčku, citronové trávy, oregana a tymiánu s hodnotami kolem 15-20 %. Naopak silice tea tree nevykazovala žádný významný potlačení růstu u kmene V11/6CA s -5,47 % po 4 dnech inkubace.

Největší potlačení růstu bylo pozorováno u kmene V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis*, při použití silice oregana (94,17 %), následované silicí tymiánu s účinkem (47,98 %). Silice hřebíčku (25,56 %), skořice (19,73 %), tea tree (1,35 %) a citronové trávy (9,06 %) projeví mírnějším účinkem než silice oregana. Zde všechny silice vykazovaly potlačení růstu u kmene V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis* po 9 dnech inkubace.

Největší potlačení růstu u kmene V11/13CA *Botryosphaeria dothidea* bylo zaznamenáno při použití silice oregana (92,41 %). Dále bylo potlačení růstu zaznamenáno při použití silice tymiánu (49,12 %) a citronové trávy (15,84 %). Mírné potlačení růstu bylo zjištěno u silice skořice (0,25 %), zatímco silice tea tree (-13,38 %) neprokázala žádný účinek

na růst kmene V11/13CA. Silice hřebíčku neprojevila žádný potlačující účinek na růst kmene po 4 dnech inkubace.

U kmene *Botryosphaeria dothidea* a *Entoleuca* spp. Došlo k rychlejšímu nárůstu kolonií již po 4 dnech inkubace při teplotě 22 °C, zatímco u kmene *Cephalotrichum stemonitis* a *Scedosporium apiospermum* se zřetelnější nárůst kolonií projevil až po 9 dnech inkubace při stejné teplotě za použití stejných esenciálních olejů u všech kmenů.

Inhibice růstu a vývoje kmenů *Vitis vinifera* pomocí esenciálních olejů může být potenciálně užitečná pro ochranu vinic před škůdci a chorobami. Některé studie naznačují, že některé esenciální oleje mohou mít inhibiční účinky na růst houbových chorob a mohou tak pomoci při ochraně vinic před těmito chorobami.

Je důležité, aby byla provedena další vědecká studia a výzkumy, abychom byli schopni lépe porozumět mechanismu inhibice vybraných kmenů *Vitis vinifera* esenciálními oleji a jejich potenciálního využití v ochraně vinic.

7 Závěr

Cílem práce bylo zahrnout literární rešerši o houbách a houbám podobných organismů vyskytujících se především na nebo v kořenech *V. vinifera*, následně pak realizovat praktickou část, která je zaměřena na zjištění složení mykobioty kořenů révy vinné z vinařské trati Nad kapličkou v Kutné Hoře.

V jedné vinici na Kutnohorsku bylo pomocí analýzy DNA z kořenů *V. vinifera* zjištěno celkem 12 mikroskopických hub včetně endofytických, parazitických a saprofytických hub. Mezi vzácnější výskyt jedné houby, která se přirovnává k lidskému patogenu vytvářející kožní infekce je *Scedosporium apiospermum*. Dalším objeveným druhem byl *Clonostachys rosea*, který je významný pro hospodářský význam. Houba působí mykoparaziticky na široké spektrum půdních fytopatogenních hub například *Botrytis cinerera*, *Rhizoctonia* a další. Z vinice jsme získali i houby *Dactylonectria torrensis*, *Ilyonectria crassa*, *Ilyonectria liriodendri* a *Ilyonectria robusta*, které jsou původci „černé nohy“. Onemocnění „černé nohy“ způsobuje hnilobu kořenů, kořenového krčku a báze stonků (Petit, 2015). Dalšími zjištěnými druhy byly *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* complex. Tyto druhy způsobují vadnutí a hnilobu kořenů. Dalšími patogenními druhy jsou *Alternaria alternata* complex, *Botryosphaeria dothidea*, *Cephalotrichum stemonitis*, *is*, *Entoleuca* sp., *Lophiostoma* sp. a *Talaromyces trachyspermus*.

Kmen V11/6AB *Scedosporium apiospermum* prokázal nepotlačující účinek růstu při použití silice tymiánu, zatímco silice citronové mírně potlačila růst. U kmene V11/6CA *Entoleuca* sp. bylo nejvíce potlačení růstu dosaženo použitím silice skořice, s podobnými účinky u silic hřebíčku, citronové trávy, oregana a tymiánu. Silice tea tree nepřinesla významné potlačení růstu kmene V11/6CA.

Lze konstatovat, že největší účinek potlačení růstu kmen V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis* byl prokázán při použití silice oregana s účinností 94,17 %. Těsně za ní následovala silice tymiánu s potlačujícím účinkem dosahujícím 47,98 %. Silice hřebíčku (25,56 %), skořice (19,73 %), tea tree (1,35 %) a citronové trávy (9,06 %) projeví mírnější potlačení růstu než silice oregana. Výsledky naznačují, že všechny zkoumané silice mají schopnost potlačit růst kmene V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis*. Lze také potvrdit, že největší potlačení růstu u kmene V11/13CA *Botryosphaeria dothidea* bylo dosaženo pomocí silice oregana (92,41 %), následováno silicemi tymiánu (49,12 %) a citronové trávy (15,84 %). Mírný náznak potlačení růstu byl zaznamenán u silice skořice (0,25 %), zatímco silice tea tree (-13,38 %) neprokázalo žádný účinek. Silice hřebíčku pak nevykazovala žádný účinek potlačení růstu kolonie po 4 dnech inkubace.

V závěru hodnocení míry inhibice vybraných rostlinných silic vůči vybraným kmenům hub jsme zjistili, že esenciální oleje z hřebíčku, skořice, citronové trávy, oregana, tymiánu a tea tree projeví inhibiční účinek na kmeny V11/6AB *Scedosporium apiospermum*, V11/6CA *Entoleuca* sp., V11/7CA *Cephalotrichum stemonitis* a V11/13CA *Botryosphaeria dothidea*. Tímto jsme potvrdili schopnost těchto esenciálních olejů potlačit růst vybraných kmenů hub a jejich potenciál jako možného prostředku k boji proti nim.

8 Seznam literatury a použitých zdrojů

Agarwala RK, Sharma VC. 1996. White root-rot disease of apple in Himachal Pradesh. Indian Phytopathol. Pages **29**: 82–86.

Aimi T, Taguchi H, Morinaga T. 2002, Anastomosis formation and detection of cell death by using fluorescence microscopy **42**: 147-155. in R. necatrix. J Basic Microb.

Aly AH, Debbab A, Proksch P. 2011. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. – Applied Microbiology and Biotechnology **90**: 1829-1845

Bamisile BS; Dash CK; Akutse KS; Qasim M.; Ramos Aguila LC; Wang F.; Keppanan R.; Wang L. 2019. Endophytic *Beauveria bassiana* v listových rostlinách citrusových limonů působících jako supresor růstu tří po sobě jdoucích generací diaphorina citri kuwayama (Hemiptera: Liviidae). *Hmyz*, *10*, 176.

Bártová E. 2011. PCR (polymerázová řetězová reakce). Molekulární biologie VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat. Dostupné z https://cit.vfu.cz/opvk2011/?title=popis_metod-pcr&lang=cz

Baumgartner K and Rizzo. 2015. Armillaria Root Rot. P. 19-22 in Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edite by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Bohatá A, JČU. 2024. Mykoparazitické houby, *Clonostachys* spp. ÚKZUZ. Rostlinolékařský portál. Dostupné z https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22b004bc0d0cb1691c3484f52bc7ca6600%22#r|p|uzitorg|detail:b004bc0d0cb1691c3484f52bc7ca6600|popis

Booth C. 1966. The genus *Cylindrocarpon*. Mycological Papers **104**: 1–56.

Brayford D. 1993. *Cylindrocarpon*. In: Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. (Singleton LL, Mihail JD, Rush M, eds). APS Press, St. Paul, U.S.A.: 103–106.

Brook PJ. 1973. Epidemiology of grapevine anthracnose caused by *Elsinoë ampelina*. 333–342. New Zealand Journal of Agricultural Research *11*.

Browne GT, Latorre BA. 2015. Phytophthora Crown and Root Rot. P. 73-75. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edite by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A

Bublíková L. MZe. 2023. Situační a výhledová zpráva za rok 2022, soubor generovaný z informačního systému SFC (Vinná réva, eAGRI). Dostupné z https://eagri.cz/public/portal/-a20156---NGm_hesx/publikace-situacni-a-vyhledova-zprava-reva-vinna-a-vino-2022?_linka=a491788

Cortesi P in memory of M. Bisiach. 2015. White Rot. P. 92-94. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Davison EM, Tay CS. 1983. Twig, branch and upper trunk cankers of Eucalyptus marginate. Plant Dis. **67**, 1285-1287.

Dean, R., van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., and Foster, G. D. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Mol. Plant Pathol.** 13:414-430. Available from <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>

Dohnal T, Kraus V. 1972. Pěstování révy a zužitkování hroznů. 2., upr. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství.

Dubos B. & Larignon P. (1998): Esca and Black Measles. P. 34–35. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Eskalen A, Wilcox WF, Walter DG, Uyemoto JK. 2015. Verticillium Wilt. P. 90-91. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Fischer M & Kassemeyer H-H. 2003. Vitis 42 (3), 109–116. Fungi associated with Esca disease of grapevine in Germany. Available from <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=c590aedd83d4404a2f088ce308dd7ed8e73f04fa>

Frolec V, Pošvář J, Pubal V. 1973. Vinohradnictví: kapitoly z dějinného vývoje od minulosti do současnosti na Moravě a v Čechách. Blok. Brno. 297 s. Obr. příl., xx s. barev.

Gadoury DM. 2015. Historical Significance of Grapevine Diseases. P. 15-16. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Gall J. 2023. Aktuální přehled ochrany zahrad, sadů a **vinic – Srpen a září 2023**. Dostupné z <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/aktualni-prehled-ochrany-zahrad-sadu-a-vinic-srpen-a-zari-2023>

Galet P. 1998. Grape varieties and rootstock varieties. OENOPLURIMEDIA, 315 s.

Goffinet MC and Pratt C, Wilcox F, Walter D Gubler, Uyemoto JK. 2015. Grapevine structure and growth Stages. P. 5-15. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition, Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Granett J, Omer AD, Pessereau P, and WALKER MA. 1998. Fungal infections of grapevine roots in phylloxera-infested vineyards. *Vitis* **37** (1), 39-42. Available from <https://core.ac.uk/download/pdf/235692043.pdf>

Grasso S. 1984. Infezioni di *Fusarium oxysporum* e di *Cylindrocarpon destructans* associate a una moria di giovani piante di vite in Sicilia. *Informatore Fitopatologico* **1**: 59–63.

Gubler WD, Mugnai L and Surico G. 2015. Esca, Petriho, and Grapevine Leaf Stripe Diseases. Pages 52-57. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Halasů V. 2022. *Roesleria subterranea* (Weinm.) Redhead, Nahuby.sk. Dostupné z <https://www.nahuby.sk/atlas-hub/Roesleria-subterranea/-/ID16646>

Hluchý M et al., 2008. Ochrana ovocných dřevin a révy v ekologické a integrované produkci. Brno: Biocont Laboratory. Str. 498. ISBN 978-80-901874-7-4.

Höfer M. 1992. Untersuchungen über *Roesleria hypogea* Thüm. & Pass. als Erreger des Wurzelschimmels der Weinrebe. *Geisenheimer Berichte*; **13**:1–137.

Hoskovec L. 2018. VITIS VINIFERA subsp. SYLVESTRIS (C. C. Gmel.) Hegi – réva vinná lesní / vinič lesný. BOTANY.cz. Dostupné z <https://botany.cz/cs/vitis-sylvestris/>

Huber L, Eisenbeis G, Hoffmann M, Rühl EH, Neuhauser S, Porten M. 2006. Wurzelschimmelerreger *Roesleria subterranea* (Weinm.) Redhead: Absterberscheinungen und Kümmerwuchs—Gefahr im Verborgenen. *Das Deutsche Weinmagazin*; **6**:25–31.

Husain S, Muñoz P, Forrest G, Alexanderová BD, Somani J, Brennanová K, Wagenerová MM, Singh N. 2005. Infections Due to *Scedosporium apiospermum* and *Scedosporium prolificans* in Transplant Recipients: Clinical Characteristics and Impact of Antifungal Agent Therapy on Outcome. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 40, Issue 1, 1 January 2005, Pages 89–99. Available from <https://doi.org/10.1086/426445>

Kenfaoui J, Lahlali R., Laasli SE, Goura K, Fardi M, Tahiri A, Ghadraoui LE, Amiri Ř. 2023. The potency and effectiveness of six essential oils in controlling grapevine trunk diseases in Morocco. Journal of Natural Pesticide Research. ScienceDirect. Volume 6. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2773078623000341#bib56>

Kovář L. 2008. VITIS VINIFERA L. – réva vinná / vinič hroznorodý, BOTANY.cz. Dostupné z <https://botany.cz/cs/vitis-vinifera/>

Kraus V a Kraus V ml. 2003. Pěstujeme révu vinnou. Str.96. Praha: Grada. ISBN 80-247-0562-1.

Kraus V, Hubáček V. a Ackermann P. 2004. Rukověť vinaře. Str. 268. Praha: Brázda. ISBN80-209-0327-5.

Kraus V, Foffová Z, Vurum B a Krausová D. 2005. Nová encyklopedie českého a moravského vína, sv. 1 Praha: Praga Mystica, s. 306. ISBN 80-86767-00-0.

Kulišová M, Vrublevskaja M, Lovecká P, Vrchotová B, Stránská M, Kolařík M, Kolouchová I. 2021. Plísňové endofyty *Vitis vinifera* — Faktory na podporu růstu rostlin. MDPI. Dostupné z <https://www.mdpi.com/2077-0472/11/12/1250>

Lampíř L a Rubešová H, 2018, Ampelografie révy vinné. V Praze: Česká zemědělská univerzita, ISBN 978-80-213-2887-7a.

Loskill, Rosswog K, Kappes E, Berkelmann-Loehnertz B.2006. Investigations on the control of ESCA disease by means of stem injection, Integrated Protection in Viticulture IOBC/wprs Bulletin Vol. 29(11), pp. 119-122. Dostupné z https://www.researchgate.net/profile/EwaldKappes/publication/319008056_Investigations_on_the_control_of_ESCA_disease_by_means_of_stem_injection/links/598aef5caca27243585999e9/Investigations-on-the-control-of-ESCA-disease-by-means-of-stem-injection.pdf#page=131

Ludvíková I.2019. METODIKA ZKOUŠEK UŽITNÉ HODNOTY-RÉVA. Dostupné z https://eagri.cz/public/web/file/112448/Priloha_23_ZUH23_2019_Reva_revize_2021.pdf

Maluta DR, Larignon P.1991. Pied-noir: mieux vaut prévenir. Viticulture **11**: 71–72.

McBride S, Appel D. 2015. Phymatotrichopsis Root Rot. p.72-73. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.

Naher, L., S. Tan, C. Ho, U. Yusuf, S. Ahmad and F. Abdullah, 2012. mRNA Expression of EgCHI1, EgCHI2, and EgCHI3 in Oil Palm Leaves (*Elaeis guineensis* Jacq.) after Treatment with *Ganoderma boninense* Pat. and *Trichoderma harzianum* Rifai. The Scientific World Journal, Volume 2012, Article ID 647504, pp. 1-6.

NEGRUL AM. 1946. Origin of cultivated grapevine and its classification. P. 159–216

Ampelographia SSSR, Moskva, I. díl

Olivain C and Alabouvette C. 1999. Process of tomato root colonization by a pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in comparison with a non-pathogenic strain. **New Phytol.** 141:497-510. Available from <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00365.x>

Palovčiková D. 6.12. 2023. Plíseň buková (*Phytophthora cactorum*). Rostlinolékařský portál. Dostupné z https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c8aeecd%22#rlp|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c8aeecd|popis

Pavloušek P. 2011. Pěstování révy vinné: Moderní vinohradnictví. Grada Publishing Praha. 336 s. ISBN: 978-80-247-3314-2.

Pavloušek P. 2023. Pěstování révy vinné: Moderní vinohradnictví. Druhé, rozšířené vydání. 528 s. ISBN 978-80-271-3166-2

Pavloušek P, Lampíř L a kolektiv. 2016. Réva vinná pro malopěstitele. ISBN 978-80-87091-65-4 (váz.).

Petit E. 2015. Black Foot Disease. P. 26-28. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Pladias.2014-2023. *Vitis vinifera* subsp. *vinifera* – réva vinná pravá. Databáze české flóry a vegetace. Dostupné z <https://pladias.cz/taxon/data/Vitis%20vinifera%20subsp.%20vinifera#13>

Planchon JE. 1887. Monographie des Ampélideae vraies. Monographia Phanerogamerum 5. S. 305–364.

Raabe RD.2015, Dematophora Root Rot. P. 45-46. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Réblová M. 2014. Historie révy: Odkud pochází ušlechtilá vinná réva? Část 3. Mojelahve.c. Dostupné online: <https://mojelahve.cz/clanek/historie-revy-odkud-pochazi-uslechtila-vinna-reva-cast-3-186>

Renuka S, Ramanujam B, Poornesha B. 2016. Endofytická schopnost různých izolátů entomopatogenních hub *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin ve tkáních stonků a listů kukuřice (*Zea mays* L.). *Indian J. Microbiol.*, **56**, 126–133.

Rego C, Oliveira H, Carvalho A & Phillips A. 2000. Involvement of *Phaeoacremonium* spp. and *Cylindrocarpon destructans* with grapevine decline in Portugal. – *Phytopathol. Mediterr.* **39**: 76-79.

Rego C, Nascimento T, Oliveira H. 2001. Characterisation of *Cylindrocarpon destructans* isolates from grapevines in Portugal. *Phytopathologia Mediterranea* **40**: S343– S350.

Ridings WH and Clayton CN. 1970. *Melanconium fuligineum* and the bitter rot disease of grape. *Phytopathology* **98**:347-348

Rod J.2017. Choroby a škůdci na zahradě, identifikace, prevence a ochrana. ISBN 978-80-271-0239-6 (print)

Rodriguez R.J, White J F Jr, Arnold AE., Redman RS. 2008. Fungal endophytes: diversity and functional roles. – *New Phytologist* **182**: 314-330.

Rolshausen P, Sosnowski M, Trouillas FP, Gubler WD. 2015. *Eutypa Dieback*. P.57-61. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Seifert KA, McMullen CR, Yee D, Reeleder RD, Dobinson KF. 2003b. Molecular differentiation and detection of ginseng-adapted isolates of the root rot fungus *Cylindrocarpon destructans*. *Phytopathology* **93**: 1533–1542.

Shear C. 1929. The life history of *Sphaceloma ampelina* de Bary. *Phytopathology* **19**: 673-9.

Schuster A and Schmoll M. 2010. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied Microbiology Biotechnology*, **87**: 787-799.

Sosnowski MR, Shtienberg D, Creaser ML, Wicks TJ, Lander R, and Scott ES. 2007. The influence of climate on foliar symptoms of *Eutypa dieback* in grapevines. *Phytopathology* **97**:1284-1289.

Stavenson T. Světová encyklopedie vín. Bratislava: Gemini, 1993, s. 483. ISBN 80-7161-005-4.

Sutton TB. 2015. Bitter Rot. P. 24-26 *Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests*, second edition. Edited by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Svobodová L. 2012. *Vinohradnictví*, ISBN 978-80-904782-4-4

Sweetingham M. 1983. Studies on the nature and pathogenicity of soilborne *Cylindrocarpon* spp. Ph.D. Thesis, University of Tasmania

Šafránková I, Víchová J. 6.12.2023. Šedá hniloba. Rostlinolékařský portál. Dostupné z https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c2785f9%22#rlp|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c2785f9|popis

ÚKZUZ. 2023 17.3. Černá skvrnitost révy. Rostlinolékařský portál Dostupné z https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0cb4ebe6%22#rlp|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0cb4ebe6|popis

ÚKZUZ 2022. Pěstování révy vinné v České republice v roce 2022. 27.1.2023. Rostlinolékařský portál. Dostupné z https://eagri.cz/public/web/ukzuz/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/x2023_pestovani-revy-vinne-v-CR-2022.html

ÚKZUZ 2024, Chřadnutí a odumírání révy, *Phaeomoniella chlamydospora* Rostlinolékařský portál. Dostupné z https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0cae46d1%22#rlp|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0cae46d1|popis

ÚKZUZ.2024. Rostlinolékařský portál. Anonymus. Antraknóza révy, Dostupné z https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%225c7b9247ccff050415e6990865f54765%22#rlp|so|choroby|detail:5c7b9247ccff050415e6990865f54765|popis

Úrbez-Torres JR, Phillips AJL, Gubler WD. 2015. Botryosphaeria Dieback. P. 33-39. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edite by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Vega Fernando E, Mark SG, Blackwell M, Chandler D, Jackson MA, Keller S, Koike M. , Nguya K. Maniania, Monzón A, Ownley BH, Pell JK, Drauzio EN Rangel , Roy HE. 2009. Plísňové entomopatogeny: nové poznatky o jejich ekologii. Strany 149-159. ScienceDirect. Dostupné z <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1754504809000610>

Vinale FK. Sivasithamparam EL, Ghisalberti RM, Woo RSL and Lorito M. 2008. Trichoderma-plant-pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry, **40**: 1–10.

Walker MA. 2015. The genus *Vitis*, Its species, and Its rootstocks. P. 3-5. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edite by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Weindling R. 1934. Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopathology. **24**: 1153–1179.

Wilcox WF, Rumbolz J, and Gubler WD. 2015. Powdery Mildew. P. 75-83. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edite by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Wilcox WF, Mahaffe W, Gubler WD. 2015. Botrytis Bunch Rot and Blight, p. 39-44. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, second edition. Edite by Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK. St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.

Zare, R., Gams, W., Schroers, H.-J., 2004. The type species of *Verticillium* is not congeneric with the plant-pathogenic species placed in *Verticillium* and it is not the anamorph of 'Nectria' inventa. *Mycol. Res.*, 108576-582.

Záruba, F. 1985. Vinohradnictvo. Příroda. Bratislava. 384 s.

9 Seznam obrázků, tabulek a grafů

Obrázky

Obrázek č. 1 uhynulý keř autor: Natálie Koudelková	27
Obrázek č. 2 Odebraný vzorek autor: Natálie Koudelková.....	27
Obrázek č. 3 Příprava vzorků autor: Natálie Koudelková.....	27
Obrázek č. 4 Příprava agaru autor: Natálie Koudelková.....	28
Obrázek č. 5 Složky k přípravě malt extrakt agaru autor: Natálie Koudelková.....	28
Obrázek č. 6 Připravený malt extrakt agaru v Petriho miskách autor: Natálie Koudelková...28	
Obrázek č. 7 Sterilní odebírání kousků pletiv z kořenů ve flow-boxu autor: Natálie Koudelková.....	28
Obrázek č. 8 Kousky vzorků položené na malt extrakt agaru autor: Natálie Koudelková.....	29
Obrázek č. 9 Kolonie hub na 2% malt extrakt agaru v Petriho miskách po14 dnech inkubace autor: Natálie Koudelková.....	29
Obrázek č. 10 Kolonie hub na 2% malt extrakt agaru v Petriho miskách po14 dnech inkubace autor: Natálie Koudelková.....	29
Obrázek č. 11 Centrifuganční zkumavky s vzorky kultur jednotlivých získaných izolátů hub mycelium v pufru (Dilution Buffer) autor: Natálie Koudelková.....	30
Obrázek č. 12 Laboratoř s flow-boxem autor: Natálie Koudelková.....	30
Obrázek č. 13 Příprava na elektroforézu autor: Natálie Koudelková.....	30
Obrázek č. 14 Připravený 2% malt extrakt s přidavkem jednotlivých silic agar v Petriho miskách autor: Natálie Koudelková.....	32
Obrázek č. 15 Jednobodově za očkovaný bloček s dvanácti starou kulturou rostoucí na 2% malt extrakt s přidavkem vybraných silic autor: Natálie Koudelková.....	32
Obrázek č. 16 V11/13CA (černošedá), (<i>Botryosphaeria</i>) autor: Natálie Koudelková.....	33
Obrázek č. 17 V11/6AB (bílá synematózní), (<i>Scedosporium</i>) autor: Natálie Koudelková.....	33
Obrázek č. 18 V11/6CA (bílá sterilní), (<i>Entoleuca</i>) autor: Natálie Koudelková.....	33
Obrázek č. 19 V11/7CA (šedá kolonie), (<i>Cephalotrichum</i>) autor: Natálie Koudelková.....	33

Tabulky

Tabulka č. 1 – Výsledky molekulární analýzy.....	35
Tabulka č. 2– Procenta segmentů kolonizovaných houbami ze studovaných 450 segmentů..	36
Tabulka č. 3– Míra inhibice kmene V11/6AB <i>Scedosporium apiospermum</i>	37

Tabulka č. 4– Míra inhibice kmene V11/6CA <i>Entoleuca</i> spp.....	38
Tabulka č. 5– Míra inhibice kmene V11/7CA <i>Cephalotrichum stemonitis</i>	39
Tabulka č. 6 – Míra inhibice kmene V11/13CA <i>Botryosphaeria dothidea</i>	40

Grafy

Graf č. 1 – Míra inhibice kmene V11/6AB <i>Scedosporium</i> sp. po 9 dnech inkubace při teplotě 22 °C.....	37
Graf č. 2– Míra inhibice kmene V11/6CA <i>Entoleuca</i> spp. po 4 dnech inkubace při teplotě 22 °C.....	38
Graf č. 3– Míra inhibice kmene V11/7CA <i>Cephalotrichum stemonitis</i> po 9 dnech inkubace při teplotě 22 °C.....	39
Graf č. 4– Míra inhibice kmene V11/13CA <i>Botryosphaeria dothidea</i> po 4 dnech inkubace při teplotě 22 °C.....	40

