

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Variabilita účinnosti fungicidů vůči populacím

Pseudoperonospora cubensis

Diplomová práce

Autor:	Bc. Marie Kadlecová
Studijní program:	N1407 Chemie
Studijní obor:	Chemie-Biologie, učitelství pro SŠ
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.
Rok obhajoby:	2012

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala sama a že uvádím veškerou použitou literaturu.

V Olomouci dne

Bc. Marie Kadlecová

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce Prof. Ing. Aleši Lebedovi, DrSc. za cenné rady a ochotu pomoci mi během vypracování mé diplomové práce.

Chtěla bych dále poděkovat paní D. Vondrákové a V. Zoubkové za ochotu a pomoc při pěstování pokusných rostlin a udržování izolátů.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Bc. Marie Kadlecová
Název práce:	Variabilita účinnosti fungicidů vůči populacím <i>Pseudoperonospora cubensis</i>
Typ práce:	Diplomová práce
Pracoviště:	Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc - Holice
Vedoucí práce:	Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.
Rok obhajoby práce:	2012

ABSTRAKT

Plíseň okurky, způsobená houbovým organismem *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov., je jednou z nejzávažnějších chorob postihující tykvovitě rostliny. Od 80. let 20. st. se každoročně v České republice vyskytuje epidemie, proto je studie kontroly nad tímto patogenem velice důležitá. Chemické látky (fungicidy) tvoří nejefektivnější a ekonomicky nejlepší metodu ochrany tykvovitých plodin proti *P. cubensis*.

Tato diplomová práce byla zaměřena na testování účinnosti vybraných fungicidů (Ridomil Gold MZ 68 WP, Ridomil Plus 48 WP, Acrobat MZ, Curzate K, Previcur 607 SL a Aliette 80 WP) vůči plísni okurkové. Během vegetační sezóny v roce 2009 a 2010 bylo získáno 44 izolátů (22/2009; 22/2010) na různých lokalitách České republiky. Použita byla modifikovaná metoda plovoucích listových disků (Anonymous, 1982; Lebeda, 1986).

Účinnost testovaných fungicidů se značně lišila. Ridomil Gold MZ 68 WP (ú. l. metalaxyl-M) byl zcela neúčinný v doporučené koncentraci (100 µg ú. l. /ml) i při nejvyšší testované koncentraci (400 µg ú. l./ml) bylo rezistentních 36 % izolátů. V roce 2010 na koncentraci (100 µg ú. l. /ml) byla účinnost 68 %. Ridomil Plus 48 WP (ú. l. metalaxyl) projevoval také rezistentní reakci v doporučené koncentraci od výrobce (200 µg ú. l./ml), avšak při použití vyšší koncentrace (400 µg ú. l./ml) vykazovalo 90 % izolátů senzitivní reakci. Přípravky Acrobat MZ (ú. l. dimethomorph) a Curzate K (ú. l. cymoxanil) reagovaly obdobně. V optimálních hodnotách koncentrací (450 µg ú. l./ml dimethomorph a 120 µg ú. l./ml cymoxanil) byla účinnost vyšší jak 80 %. Avšak v roce 2010 byl Curzate K neúčinný. Vysoký stupeň efektivity dosáhly přípravky Previcur 607 SL (ú. l. propamocarb) a Aliette 80 WP (ú. l. fosetyl-AI). U obou přípravků byla v doporučené koncentraci od výrobce (2428 µg ú. l./ml propamocarb a 1600 µg ú. l./ml fosetyl-AI) zjištěna senzitivní reakce. Tolerantní či rezistentní reakce byla prokázána u propamocarbu v nejnižší koncentraci (607 µg ú. l./ml) pouze u dvou izolátů. Fosetyl-AI byl 100 % účinný téměř ve všech koncentracích, kromě nejnižší koncentrace (400 µg ú. l./ml), kde byl průměrný stupeň napadení 0,7 %.

Klíčová slova:	<i>Cucumis sativus</i> , cymoxanil, dimethomorph, fosetyl-AI, metalaxyl, metalaxyl-M, propamocarb
Počet stran:	84
Počet příloh:	1
Jazyk:	Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Bc. Marie Kadlecová
Title: Variability of fungicide effectiveness against populations of *Pseudoperonospora cubensis*
Type of thesis: Master work
Workplace: Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc
Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc - Holice
Supervisor: Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.
The year of presentation: 2012

ABSTRACT

Cucurbit downy mildew, caused by fungal organism *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov., is one of the most important disease which affects Cucurbitaceae plants. Since 80th the 20th century epidemic has occurred yearly in the Czech Republic, therefore study of control of the pathogen is very important. Chemical agents (fungicides) forms the most effective and economically best method of the protection of cucurbitaceous products against *P. cubensis*.

This master work was focused on testing of chosen fungicides effectivity against cucurbit downy mildew. Six fungicides Ridomil Gold MZ 68 WP, Ridomil Plus 48 WP, Acrobat MZ, Curzate K, Previcur 607 SL a Aliette 80 WP and 44 isolates (collected during vegetative season in 2009 and 2010 on different localities in the Czech Republic) were obtain for testing. The floating leaf discs bioassay was used (Anonymous, 1982; Lebeda, 1986).

The effectivity of tested fungicides was considerably different. Ridomil Gold MZ 68 WP (a. i. metalaxyl-M) was quite ineffective in recommended concentration (100 µg a. i./ml) even at the highest concentration (400 µg a. i./ml) was rezistatnt 36 % isolates. At a concentration (100 µg a. i. /ml) was effectivity 68 %, in 2010. Ridomil Plus 48 WP (a. i. metalaxyl) displayed also resistant reaction in recommended concentrations by the producer (200 µg a. i./ml), however while using higher concentration (400 µg a. i./ml) 50 % of isolate embody sensitive reaction. Fungicides Acrobat MZ (a. i. dimethomorph) and Curzate K (a. i. cymoxanil) showed similar effectivity. The optimal of concentration values (450 µg a. i./ml dimethomorph and 120 µg a. i./ml cymoxanil) was effectivity more than 80 %. However Curzate K was ineffective in 2010. Fungicides Previcur 607 SL (a. i. propamocarb) and Aliette 80 WP (a. i. fosetyl-Al) achieved high degree of effectivity. Sensitive reaction was observed in recommended concentration by the producer (2428 µg a. i./ml propamocarb and 1600 µg a. i./ml fosetyl-Al). Tolerant or resistant reaction was demonstrated in lowest concentration (607 µg a. i./ml) of propamocarb only at two isolate. Fosetyl-Al was 100 % effective (totally efficient) in almost all concentrations, except the lowest concentration (400 µg a. i./ml), where ordinary degree of infection was 0,7 %.

Keywords: *Cucumis sativus*, cymoxanil, dimethomorph, fosetyl-Al, metalaxyl, metalaxyl-M, propamocarb
Number of pages: 84
Number of appendices: 1
Language: Czech

OBSAH

1. ÚVOD.....	7
2. CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	8
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	9
3. 1. <i>Pseudoperonospora cubensis</i>	9
3. 1. 1. Taxonomické zařazení <i>P. cubensis</i>	9
3. 1. 2. Zeměpisné rozšíření <i>P. cubensis</i>	10
3. 1. 3. Hostitelský okruh.....	11
3. 1. 4. Biologie a ekologie <i>P. cubensis</i>	12
3. 1. 5. Zasažené části rostlin a symptomatologie <i>P. cubensis</i>	15
3. 2. Cucurbitaceae	16
3. 2. 1. Taxonomické zařazení čeledi Cucurbitaceae.....	16
3. 2. 2. Původ a charakteristika <i>Cucumis sativus</i>	17
3. 2. 3. Vzájemná interakce mezi Cucurbitaceae a <i>P. cubensis</i>	18
3. 3. Příklady ochrany kultur čeledi Cucurbitaceae vůči <i>P. cubensis</i>	19
3. 3. 1. Šlechtění na rezistenci.....	20
3. 3. 2. Preventivní a agrotechnická opatření.....	20
3. 3. 3. Biologická ochrana.....	21
3. 3. 4. Chemická ochrana porostů Cucurbitaceae vůči <i>P. cubensis</i>	22
3. 3. 5. Fungicidy.....	22
3. 3. 5. 1. Kontaktní fungicidy.....	23
3. 3. 5. 2. Systémové fungicidy.....	24
3. 3. 6. Rezistence vůči fungicidům.....	28
4. MATERIÁL A METODY	33
4. 1. Rostlinný materiál.....	33
4. 2. Charakteristika izolátů <i>P. cubensis</i>	33
4. 3. Metoda plovoucích listových disků a testované fungicidy.....	33
4. 4. Testované účinné látky.....	34
4. 5. Hodnocení intenzity sporulace	35
4. 5. 1. Kvantitativní metoda hodnocení.....	35
4. 5. 2. Kvalitativní metoda hodnocení účinnosti fungicidů.....	36
4. 6. Stanovení hodnoty ED ₅₀	36
5. VÝSLEDKY	42
5. 1. Reakce izolátů z roku 2009 na testované fungicidy.....	42
5. 2. Reakce izolátů z roku 2010 na testované fungicidy.....	43
5. 3. Hodnota ED ₅₀ v roce 2009 a 2010.....	44
6. DISKUZE	61
7. ZÁVĚR	65
8. POUŽITÁ LITERATURA	67
9. INTERNETOVÉ ZDROJE	80
10. OBRAZOVÁ PŘÍLOHA	81

1. ÚVOD

Plíseň okurková, způsobená houbovým organismem *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov., je jednou z nejzávažnějších chorob postihujících tykvovité rostliny. Roku 1868 byla poprvé popsána Berkeleym na rostlinném materiálu na Kubě. Patogen byl nazván *Peronospora cubensis*. V roce 1903 vedl Rostovzew studii v Rusku a zaznamenal podobnost s rody *Peronospora* a *Plasmopara*. Rostovzew navrhoval nový rod *Pseudoperonospora* a díky kompletnímu popisu na živých rostlinách byl název přijat (Waterhouse a Brother, 1981).

Cucurbitaceae, velká čeleď a heterogenní skupina rostlin, pochází z Ameriky, Afriky a Asie (Bates a kol., 1990; Lebeda a kol, 2007). Dnes se ale pěstují v mnoha zemích světa, především v teplejších a mírnějších oblastech. Tato skupina je hospodářsky velice významná, především pro druhy s jedlými plody (Robinson a Decker-Walters, 1997). V našich podmínkách je nejčastějším hostitelem *P. cubensis* okurka setá (*Cucumis sativus*), která v České republice patří mezi tradiční a oblíbenou pěstovanou zeleninu (Moravec a kol., 2004).

Nicméně od roku 1984 je pro pěstování *C. sativus* charakteristický každoroční výskyt epidemie *P. cubensis* s velkým ekonomickým dopadem v nejen České republice, ale i celé střední Evropě (Urban, 2006). Genetická kontrola nad tímto patogenem je však velice obtížná kvůli vysoké citlivosti okurek (Lebeda, 1990). Z tohoto důvodu fungicidní chemické přípravky zůstávají i přes negativní účinky nejdůležitější ochranou proti tomuto patogenu. Zavedení těchto fungicidů však s sebou nese vysoké riziko rezistence (např. metalaxyl), které je známo z mnoha zemí, i České republiky (Ackermann, 1990).

Cílem výzkumníků a pěstitelů je v posledních letech pěstování vysoce odolných druhů, jejich šlechtění na rezistenci a také nalezení přírodních antagonistů a biologická ochrana. To vše spojeno ve vysoce efektivní integrovaný systém s chemickými látkami (Urban a Lebeda, 2006).

2. CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo prostudování a zpracování odborné literatury. Literární rešerše byla zaměřena na biologii a epidemiologii *Pseudoperonospora cubensis* a problematiku rezistence k fungicidům v populacích patogenních organismů. Vlastní experimentální část byla zaměřena na přípravu rostlinného materiálu, izolaci patogena, jeho kultivaci a testování rezistence k vybraným fungicidům; zpracování experimentálních výsledků a jejich interpretace.

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3. 1. *Pseudoperonospora cubensis*

3. 1. 1. Taxonomické zařazení *P. cubensis*

Tradičně byla *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & Curt.) Rostov. řazena do oddělení Oomycota (houby vaječné), třídy Oomycetes, čeledi Peronosporaceae, řádu Peronosporales. Skupina Peronosporales byla v původním členění nejodvozenější, další řády byly Saprolegniales, Leptomitales a Lagenidiales (Urban a Kalina, 1980; Kalina a Váňa, 2005). Peronosporaceae stojí vývojově na přechodu mezi primitivnějšími Pythiaceae a zástupci Albuginaceae, kteří zřejmě tvoří konečný článek evoluce řádu. Tato klasifikace odráží vývojovou tendenci přechodu z vodního prostředí přes vlhkou půdu do suchozemského prostředí. (Urban a Kalina, 1980; Lebeda a Schwinn, 1994).

V současnosti se *P. cubensis* systematicky zařazuje (Dick, 2002a):

říše Chromista
pododdělení Peronosporomycotina
třídy Peronosporomycetes
podtřídy Peronosporomycetidae
řádu Peronosporales

Toto nové systematické zařazení vychází ze shodné morfologie sekundárních zoospor se zoosporami řasových předků. Zástupci řádu Peronosporales jsou považováni za vývojově primitivnější, tvoří v životním cyklu pouze jeden typ zoospor (tzv. monomorfismus). Saprolegniales a Leptomitales tvoří v životním cyklu dva morfologicky odlišné typy zoospor (primární a sekundární). Tyto dva řády jsou odvozenější (Dick, 2002a).

Řád Peronosporales (tzv. „nepravá padlí“, anglicky downy mildews) je polyfyletickou skupinou obligátních parazitů dvouděložných rostlin (Dick, 2001). Významné škody na kulturních plodinách způsobují i další zástupci čeledě Peronosporaceae, jako je *Peronospora*, *Bremia* a *Plasmopara* (Lebeda a kol., 2006a; Lebeda a Schwinn, 1994). Pro rozlišování jednotlivých druhů Peronosporaceae byly nejdůležitějšími diagnostickými znaky morfologie reprodukčních struktur, přítomnost papily na sporangích či způsob klíčení zoospor. Z fytopatologického hlediska je pro charakteristiku využíván hostitelský okruh, tento znak je nejvýznamnější a je základem pro vymezení vnitrodruhových jednotek (Lebeda a Schwinn, 1994). Z hlediska diferenciací větvení představuje *Pseudoperonospora* spp. přechodný typ mezi

Plasmopara spp. (laterálně větvené sporangiofory s tupě zakončenými větévkami) a *Peronospora* spp. (větévky zašpičatělé) (Dick, 2001; 2002a, b).

3. 1. 2. Zeměpisné rozšíření *P. cubensis*

P. cubensis zasahuje všechny světadíly, kde jsou pěstovány rostliny rodu Cucurbitaceae (Lebeda, 1990). Vyskytuje se zejména v oblastech s vlhkým a teplým klimatem (tropy a subtropy) (Cohen, 1981), kde jsou roční srážky vyšší jak 300 - 350 mm (Lebeda, 1986a; 1990). Odtud se potom sporangia patogenu šíří do severnějších oblastí, kde hostitelské rostliny nejsou schopné přezimovat a kde tudíž patogen nemůže celoročně přežívat (Cohen, 1981; Holmes a kol., 2004). Do většiny evropských zemí se *P. cubensis* rozšířila ze Středomoří, a zasáhla i území, kde to lze považovat za atypické (např. Skandinávie) (Lebeda, 1990). Rychlé a intenzivní šíření patogenu je přisuzováno vysoké schopnosti adaptace *P. cubensis* na nové ekologické podmínky prostředí a geografii (Lebeda a Schwinn, 1994).

V oblasti střední Evropy byl patogen pozorován od počátku 20. století (Lebeda, 1991a). V Československu je dokládán první výskyt rovněž od počátku 20. století, potom v letech 1924 a 1925 (Lebeda, 1986a, b; Rod, 1988). V roce 1984 se projevilo významnější napadení, kdy díky pozdnímu příchodu epidemie (konec července, srpen) nebyly hostitelské rostliny tolik zničeny (Lebeda, 1986a, b). V následujícím roce 1985 už byly ztráty okurek ničivé, po celém území byly doloženy úbytky až 90 % (Lebeda, 1991a). Tento rok byl zlomový pro celou střední Evropu, epidemie plísně okurkové na porostech *C. sativus* se rozšířila například v Polsku, Německu, Rakousku, Švýcarsku, Maďarsku. Významné ztráty byly zaznamenány i v dalších zemích celé Evropy (Jugoslávie, Bulharsko, Rumunsko, Moldávie, Ukrajina, Bělorusko) (Lebeda, 1990). Destruktivní výskyty *P. cubensis* na polních či skleníkových kulturách *C. melo* nebo *Cucurbita* spp. nejsou známy (Lebeda a Gadasová, 2002).

V současné době se výskyt a nákaza napadení *P. cubensis* vyskytuje každoročně, a to nejen v hlavních šlechtitelských oblastech, ale i v místech o vyšší nadmořské výšce. Rychlost šíření a intenzita choroby značně závisí na klimatických podmínkách, hustotě a kvalitě původního inokula, proto lze nový výskyt často zaznamenat i ve značné vzdálenosti od posledního předcházejícího místa výskytu (Rod, 1988). Do České republiky se patogen přesunuje pravděpodobně z Maďarska přes jižní Slovensko na jižní a střední Moravu a dále do východních a středních Čech, poslední jsou napadány porosty v západních a jižních Čechách (Lebeda, 1986a, b; Rod, 1988).

3. 1. 3. Hostitelský okruh

P. cubensis zahrnuje široké spektrum rostlin z čeledi Cucurbitaceae. Patogen se vyznačuje výraznou hostitelskou specializací uvnitř této čeledi (Palti a Cohen, 1980). Uvádí se, že člověkem je pěstováno 12 druhů Cucurbitaceae, z toho převážná část (9 druhů) může být postižena plísní okurkovou (Cohen, 1981). Avšak na základě zkoumání v přirozeném i umělém prostředí bylo zjištěno, že kulturních hostitelů může být daleko více, a to cca 60 druhů z 20 rodů, jak planých tak kulturních (Lebeda, 1990; 1999). Významné rozdíly můžeme sledovat také v rámci vztahu rozšíření patogenu na jednotlivých hostitelských druzích (Lebeda, 1990). Nejvýznamnějším hostitelem je rod *Cucumis*, ze třiceti planých druhů je jako hostitelských uváděno osm. Na *C. sativus* byl výskyt potvrzen ve více než 80 zemích světa a *C. melo* ve více než 50 zemích (Lebeda, 1990). První napadení na okurkách lze pozorovat koncem června a začátkem července (v nížinách), vlastní epidemii pak v druhé polovině července a začátkem srpna. Výskyt a napadení *P. cubensis* je závislý na proměnlivých podmínkách prostředí (Lebeda a Urban, 2004a). Rod *Cucurbita* spp. je další možný hostitel *P. cubensis*, ovšem typické rozšíření je spíše lokálního charakteru (asi 40 zemí světa s centrem ve Střední Americe a karibské oblasti, v Evropě byl výskyt doložen v Jugoslávii a v bývalém SSSR). Uváděno je pět hostitelských druhů *C. argyrosperma*, *C. ficifolia*, *C. maxima*, *C. moschata* a *C. pepo*.

V laboratorních testech bylo dokázáno, že *P. cubensis* může napadat i řadu planě rostoucích a plevelných druhů. Rod *Citrullus* je ve svém geografickém rozšíření patogenu více limitován jak *Cucurbita* spp., jde asi o 25 zemí, přičemž hlavní centrum leží ve Střední Americe. Z Evropy není přirozený výskyt patogenu na rodu *Citrullus* prokázán (Lebeda, 1990). Hostitelskými jsou dva druhy, *C. colocynthis* a *C. lanatus*. Dalšími významnými hostitelskými rody jsou *Lagenaria* spp. (*L. siceraria* a *L. sphaerica*), *Benincasa hispida* a *Luffa* spp. (*L. acutangula* a *L. aegyptica*) (Lebeda a Widrechner, 2003).

V posledních dekádách se hostitelský okruh *P. cubensis* mění a rozšiřuje v řadě zemí. V 60. letech 20. st se v Izraeli zdálo, že přírodními hostiteli *P. cubensis* jsou pouze okurka a meloun (Cohen, 1981; Palti a Cohen, 1980). Nedávno však byla zaznamenána infekce i na jiných druzích čeledi Cucurbitaceae (*Cucurbita moschata* a *C. pepo*) (Cohen a kol., 2003). V jižní Číně, roku 1999, byla epidemie pozorována na kulturách *Luffa acutangula* (Cohen a kol., 2003). Infekce na druhu *Luffa* spp. byla zaznamenána i v polních podmínkách v Indii (Furgo a kol., 1997; Mahrishi a Siradhana, 1988). V USA byla *P. cubensis* považována za nejzávažnější chorobu rodu *C. sativus* ve 40. letech minulého století. Díky rezistentním odrudám ('Palmeto' a 'Poinsett') byly ekonomické ztráty výrazně sníženy, ovšem v roce 2004 se výskyt choroby na okurkách

dramaticky změnil. Objevily se nové, mnohem agresivnější kmeny patogenu a dosud rezistentní kultivary nebyly náhle dostatečné pro prevenci významných ztrát v produkci (Colucci a kol., 2006). V roce 2005 byla epidemie zaregistrována na *Lagenaria siceraria* v Korei (Choi a Shin, 2006), na *Sechium edule* v Taiwanu 2005 (Ko a kol., 2008) a Indii 2008 (Baiswar a kol., 2010). Symptomy plísně okurkové byly také hlášeny v Malajsii v roce 2008 na *Trichosanthes cucumerina* (Salati a kol., 2010). První zprávy o rozšíření hostitelského okruhu mimo čeleď Cucurbitaceae přišla z Kamerunu v roce 2007. Zde byla pozorována infekce na *Impatiens irvingii* z čeledi Balsaminaceae (Voglmayer a kol., 2009).

V České republice je *Cucumis sativus* jediným pravidelným přirozeným hostitelem *P. cubensis*, přesto se i zde v posledních letech hostitelský okruh rozšiřuje. Sporadicky se výskyt *P. cubensis* objevil na *C. melo* a *Citrullus lanatus* (Křístková a kol., 2007; Lebeda, 1986b; Lebeda a kol., 2007; Lebeda a Urban, 2004c; Urban a Lebeda, 2007). Naprosto výjimečná je infekce *C. moschata* v roce 2009 (Lebeda a Hübschová, 2010). Plané druhy tykvovitých v České republice zřejmě nejsou hostiteli *P. cubensis* (Lebeda a Urban, 2004a, b).

3. 1. 4. Biologie a ekologie *P. cubensis*

Parazitace hostitele *P. cubensis* primárně nevede k usmrcení napadeného pletiva, ale naopak, zpočátku dochází k podpoře růstu a zvyšování počtu organel v buňkách hostitele (Lebeda a Schwinn, 1994). V případě kompatibilní reakce hostitele zůstávají jádra buněk v infikovaném pletivu funkční. Nekrózy se objevují jako obranné reakce rezistentních hostitelů (charakter hypersenzitivní reakce) (Lebeda, 1989a). Rychlá kolonizace nových zdravých částí listu patogenem je způsobena vážným poškozením již napadeného rostlinného pletiva. Nekrotizace začíná v centru léze, sporulace je typicky lokalizována do přechodné zóny na okraji této léze, kde se patogen dostává do živoucího pletiva hostitele (Spencer, 1981). Jako obligátní, biotrofní parazit využívá *P. cubensis* pouze živá pletiva hostitele, ze kterých čerpá potřebné živiny pomocí haustorií (Lebeda, 1989c). Haustoria vysílají do jednotlivých buněk hyalinní coenocytické mycelium, rychle se rozrůstající uvnitř mezofylu napadených listů. Buněčná stěna ale není porušena, podobně jako plazmatická membrána. Mezi buněčnou stěnou haustoria a cytoplazmatickou membránou rostlinné buňky zůstává mezera, v níž se hromadí živiny vstřebávané parazitem. Z hlediska lokalizace infekčních struktur v hostitelském pletivu je *P. cubensis* intercelulární endoparazit (Lebeda a Schwinn, 1994).

Životní cyklus *P. cubensis* do značné míry odpovídá ostatním patogenům z čeledi Peronosporaceae. V průběhu vegetační sezóny se vyskytuje opakovaná

infekce, tvorba několika nepohlavních generací, tzv. polycyklická infekce (Lebeda, 1990). Patogen může přezimovat pomocí pohlavních spor (oospor), případně je populace *P. cubensis* na daném území obnovována každoročním přísunem inokula z oblastí, kde je výskyt patogenu celoroční (Lebeda, 1986a; 1990).

Pohlavní fáze není v životním cyklu tak častá jako nepohlavní a v řadě zemí nebyla dosud prokázána. Výskyt oospor byl potvrzen na kulturách *P. cubensis* v Izraeli na izolátech *Cucumis sativum*, *Cucumis melo* a *Cucurbita moschata*, velmi málo na *Cucurbita pepo* či *Citrullus lanatus*, a žádný na izolátech *Cucurbita maxima* (Cohen a Rubin, 2011). Probíhá na konci vegetační sezóny s odumíráním hostitelských rostlin (Bedlan, 1989; Lebeda, 1990). Na vegetativních hyfách se vytvoří mnohojaderná gametangia - samčí anteridia a samičí oogonia. Oosporogeneze je centripetální a za normálních okolností tenkostěnné oogonium obsahuje jednu oosporu (Lebeda, Mieslerová, 2006). Splynutím oosféry a samčího jádra z anteridia (oogametangiogamie) vzniká tlustostěnná odpočívající oospora (20 - 45 μm) schopná přezimování (Rod, 1988; Kalina a Váňa, 2005). Oospora klíčí vláknem, na němž se vytvoří zoosporangium, pouze však za příznivých podmínek a poté většinou následuje nepohlavní fáze životního cyklu (Urban a Kalina, 1980; Kalina a Váňa, 2005). Tvorba oospor je ale velmi vzácná, v Evropě byly nalezeny například v Rakousku, Itálii, dále jsou dostupné studie z Ruska, Číny, Japonska, Indie (Bains a kol., 1977; Bedlan, 1989; D'Ercole, 1975; Hiura a Kawada, 1933; Lange a kol., 1989a, b; Palti a Cohen, 1980; Waterhouse and Brothers, 1981). Nicméně, v České republice zatím nebyl výskyt oospor potvrzen (Lebeda a Urban, 2007). U pravých hub meióza probíhá při klíčení zygoty. Touto skutečností jsou odlišné Peronosporomycota. Při tvorbě gametangií dochází k meiotickému dělení, splývající jádra jsou haploidní a vzniklá oospora diploidní. Nepohlavní fáze, která většinou následuje po vyklíčení oospor, je ale také diploidní (Dick, 2002a; Kalina a Váňa, 2005).

V nepohlavní fázi životního cyklu se na myceliu (průměr hyf 5,4 - 7,2 μm) vytváří specializované hyfy (sporangiofory) nesoucí primární infekční jednotky, vejčitého až eliptického tvaru, šedavě až černofialově zbarvená zoosporangia (konidiosporangia) (15 - 25 x 20 - 35 μm) (Palti, 1975; Palti a Cohen, 1980). Ta se formují na koncích větévky sporangioforů (až 20 zoosporangií na jednom sporangioforu; Obr. 8), velmi snadno se odlamují a jsou rozšiřována větrem (anemochorie). Klíčení probíhá v několika krocích, po kontaktu s vodou se uvolňují vejčité dvoubičíkaté zoospory (2 - 15 v jednom zoosporangiu o velikosti 8 - 12 μm ; jeden bičík hladký, druhý péřitý) (Cohen, 1981; Lange a kol., 1989a; Lebeda, 1990; Palti, 1975; Palti a Cohen, 1980; Rod, 1988; Waterhouse, 1973). Pomocí bičíků se zoospory pohybují směrem ke stomatům (průduchům), zde ztrácí na své pohyblivosti, odvrhují bičíky

a v průduchových štěrbinách se encystují (Cohen, 1981). Z cysty posléze vyrůstá klíčící vlákno (délka 50 - 95 μm), vytváří se apresorium, ze kterého vyroste penetrační hyfa a pronikne průduchovou štěrbinou do vnitřního pletiva listu (Lebeda, 1989b; Palti, 1975; Plati a Cohen, 1980; Sedlářová a Lebeda, 2002). V mezofylu se následně rozrůstá intercelulární mycelium, které vytváří primární a sekundární vezikuly a nakonec i haustoria (Lebeda, 1989b). Za několik dnů po invazi patogenu na spodní straně listů začínají vyrůstat z průduchů nové sporangiofory (Cohen, 1981).

Infekční cyklus *P. cubensis* prakticky odpovídá nepohlavní fázi životního cyklu. Jeho fáze jsou: tvorba sporangioforů a zoosporangií, diseminace (uvolňování, šíření a depozice zoosporangií) a infekce (klíčení, penetrace a kolonizace) (Lebeda, 1989b).

Ekologické nároky *P. cubensis* mají zásadní význam ve vztahu k různým fázím infekčního cyklu, v některých ohledech mohou být i protikladné (Lebeda, 1986c). Sporangia a sporangiofory jsou vysoce ovlivněny změnami teploty a vlhkosti. Za ideálních podmínek (optimální teploty a přítomnosti vody na listech) probíhá klíčení během 2 - 3 hodin a penetrace asi 5 hodin po inokulaci. Není-li list navlhčen po určitou dobu (optimum 6 hodin), k infekci vůbec nemusí dojít. Při testování v umělých podmínkách se udává průměrné množství inokula dostačující pro napadení infekcí 10^5 spor ml^{-1} (Lebeda, 1986c). Navlhčení listu tvoří malé kapénky, ze kterých se nesmí vytvořit souvislá vrstva vody (film). V takovém případě dochází na listu k inhibici růstu sporangioforů (Cohen, 1981). Suché a teplé počasí, především v časných ranních hodinách, způsobuje zkroucení sporangioforů, což může být velmi důležité při uvolňování sporangií (Lange a kol., 1989a). Symptomy sporulace lze pozorovat nejdříve 4 - 5 den po inokulaci na spodní straně napadeného listu, rozsáhlá sporogeneze probíhá hlavně za tmy (v umělých podmínkách se proto vzorky na prvních 24 hodin po inokulaci přikrývají tmavou plachtou) (Lebeda, 1990). Ovšem při vyšším osvětlení v době inkubace dochází k rozvoji hyf a haustorií v pletivu, zde přijímají nepostradatelné živiny pro přežití (Palti, 1975; Waterhouse, 1973), nové sporangiofory se objevují po jednom v trsech (Waterhouse, 1973) a napadená plocha listu se rozšiřuje. Naopak při nižším osvětlení dochází k redukci lézí způsobených slabým rozvojem hyf a haustorií (Cohen, 1981). Největší sporulační kapacitu mají rostliny se žlutými lézemi, optimální teplota pro sporulaci je 15 °C a ovlhčení listů musí trvat minimálně 6 hodin. Sporulační kapacita pouze nekrotických lézí je nízká a u lézí žlutě nekrotrofních je střední, optimální teplota pro sporulaci je zde 20 °C (Cohen a Rotem, 1969). Optimální teplota pro rozvoj choroby se udává v rozmezí 9 - 30 °C (Cohen, 1981). Významným předpokladem souvisejícím s teplotou a slunečním svitem je střídání dne a noci. V počátečních fázích se považuje za ideální pro vývoj choroby

25 - 30 °C (den): 20 °C (noc), později pak 20 - 25 °C (den): 10 - 15 °C (noc) (Lebeda, 1990).

Dopad infekce na hostitelskou rostlinu ovlivňují nejenom vnější podmínky popsané výše, ale např. i kvalita listu hostitele (stáří a odrůda, genotyp). Jako optimální se zdají vyzrálé listy mladé rostliny, kde se choroba rozvíjí rychleji a sporulace dosahuje vyšší intenzity než na starších listech (*Cucumis sativus* 7000 sporangii cm⁻²) (Cohen, 1981). Výzkum, který provedli Reuveni a Ravin (1997), o vlivu různých absorpcí světla s použitím 6 polyethylenových folií s nebo bez modrého pigmentu, může mít důsledky na sporangiofory a sporangia. Fólie má vrchol pohlcení v žluté části spektra (580 nm), v kombinaci se třemi úrovněmi UVB záření (280 až 320 nm) absorbancí, byly zkoumány pro jejich účinky na produkci zoosporangii a kolonizaci *P. cubensis* na okurkách v růstových komorách. Přidáním modrého barviva k filmům mělo za následek významnou inhibici kolonizace (Reuveni a Ravin, 1997).

P. cubensis a její nepohlavní spory nejsou schopny dlouhodobě přežít (max. 24 - 72 hodin). Po uvolnění spory ze sporangioforu se během této doby musí zachytit na zdravé, infekce schopné hostitelské rostlině, jinak umírá. Přežívání, respektive uchovávání spor je možné pouze za nízkých teplot (-18 °C), pro dlouhodobé přežití (více než jeden rok) až extrémně nízké teploty (-60 °C) (Lebeda, 1990). Nepříznivé podmínky překonává *P. cubensis* tvorbou tlustostěnných oospor, případně využívá tzv. „zeleného mostu“, kdy přežívá na chráněných hostitelských kulturách. V některých oblastech (Indie, USA) přežívá jako aktivní mycelium v kulturních i planých družích hostitelských rostlin (Bains a Jhooty, 1976; Cohen, 1981; Doran, 1932; Holmes a kol., 1998; Lebeda, 1990). V České republice se tvorba oospor předpokládá, ale zatím nebyla potvrzena, neúspěšná byla i snaha vyprodukovat oospory experimentální cestou (Lebeda a Urban, 2004a). V oblastech, kde není přezimování patogenu možné, má největší význam přísun inokula anemochorními přenosy spor na velké vzdálenosti (několik set kilometrů) (v ČR z jihovýchodní Evropy) (Lebeda, 1990).

3. 1. 5. Zasažené části rostlin a symptomatologie *P. cubensis*

P. cubensis je typický folikolní patogen, proto téměř výlučně napadá listovou čepel tykvovitých rostlin, a to převážně v období před sklizňovou zralostí, infekce mladých, vyvíjejících se listů je spíše vzácná (Lebeda, 1990). Výskyt na stoncích, stopkách květů a řapících listů byl pouze výjimečně zaznamenán na rodu *C. melo* (Van Haltern, 1933), stejně jako přítomnost infekce na plodech hostitelských rostlin (D'Ercole, 1975; Lebeda, 1990).

Počátek infekce se projevuje 4 - 12 den po inokulaci na vrchní straně pravých listů jako nažloutlá skvrna ohraničená listovou žilnatinou, tzv. angulární skvrnitost

(v laboratorních podmínkách se angulární skvrnitost nemusí vyskytovat) (Lebeda, 1990). První symptomy se většinou objevují na starších listech a postupně se rozšiřují po celé hostitelské rostlině. Základní symptomy napadení mají velikost 3 - 10 mm, později mohou i splývat. V místech primárních lézí na spodní straně napadeného listu se vytváří šedavý až černofialový poprašek sporangioforů (Lebeda, 1990). Léze začínají od středu nekrotizovat, zhnědnou a uschnou. Ztráta listů zvyšuje výskyt různých nemocí na plodech, což má za následek snížení kvality i množství prodejného výnosu (Thomas, 1996). Extrémní expanze patogenu, kdy nekrotizuje celá listová plocha porostu, vede až k odumírání celých rostlin (během 1 - 2 týdnů) (Lebeda, 1990; Taler a kol., 2004).

P. cubensis tedy způsobuje typické lokalizované infekce, naopak pro některé jiné zástupce Peronosporaceae je příznačné systémové napadení celé rostliny (Lebeda a Schwinn, 1994). Výskyt a projevy infekce mohou být značně variabilní, díky vlivu ekologických podmínek, nebo odrůdové specificitě některých hostitelských genotypů. Za extrémně vysoké vzdušné vlhkosti se mohou vytvářet atypické příznaky, jako jsou vodnaté skvrny na listech (Lebeda, 1986a; 1990). Na listech melounů se objevují okrouhlé skvrny bez výrazného ohraničení listovou žilnatinou (Lebeda, 1990).

3. 2. Cucurbitaceae

3. 2. 1. Taxonomické zařazení čeledi Cucurbitaceae

Čeleď Cucurbitaceae, česky tykvovité, patří do řádu Cucurbitales. Čeleď je rozdělena na dvě podčeledi (Jeffrey, 1989), z nichž všechny hospodářsky důležité plodiny zahrnuje podčeleď Cucurbitoideae. Pro střední Evropu jsou významné tribusy Melothrieae - kam patří *Cucumis* spp. a Cucurbitae - *Cucurbita* spp.

Čeleď zahrnuje okolo 118 rodů a asi 825 převážně tropických druhů, část obývá aridní oblasti Afriky a Severní Ameriky (Robinson a Decker - Walters, 1997; Whitaker a Davis, 1962). Původ jednotlivých druhů je ze tří hlavních oblastí Afrika a Madagaskar, Střední a Jižní Amerika, jihovýchodní Asie a Malajsie (*Cucumis* spp. mají primární genové centrum v jižní Africe, *C. sativus* pochází z indického genového centra; *Cucurbita* spp. pochází ze Střední Ameriky; *Lagenaria* spp. z Afriky; *Benincasa* spp. z jihovýchodní Číny, *Luffa* spp. z tropické Asie a *Citrullus* spp. z přední a jižní Afriky). Zástupci z řad bylin, polokeřů i malých stromků se sympodiálním větvením mívají svá pletiva často zpevněna cystolity (CaCO_3) a díky specifickému metabolismu terpenů, končícímu produkcí hořčin, neboli cucurbitacinů (tetracyklických triterpenoidů)

mohou u lidí i zvířat způsobovat zdravotní obtíže, až otravy (Křístková a Lebeda, 1995; Křístková a kol., 2003).

V České republice je druhové zastoupení čeledi Cucurbitaceae poměrně úzké. Z hospodářsky významných zástupců této čeledi jsou nejčastěji pěstovány okurka setá (*Cucumis sativus*), meloun cukrový (*Cucumis melo*), tykev velkoplodá (*Cucurbita maxima*), tykev obecná (*Cucurbita pepo*) a meloun vodní (*Citrullus lanatus*). Z předchůdců dnešních typů okurek a melounů (pocházející z Afriky, Asie i Ameriky) se objevují v zahrádkách, případně zplaňují, druhy: posed (*Bryonia*, druh původem z Evropy), kolokvinta (*Colocynthis*), štetinovka (*Echinocysthis*), libenka (*Sicyos*) (Křístková a kol., 2007; Lebeda a Gadasová, 2002).

Čeleď Cucurbitaceae patří mezi nejdůležitější čeledi rostlin díky jedlým plodům poskytujícím nezbytnou vlákninu. A ačkoli nejsou ve světovém měřítku důležité tak jako obilniny či luskoviny, v tropech, subtropích a mírném pásmu je jejich význam mimořádný (Whitaker a Davis, 1962). Jen 7 druhů je běžných na obou polokoulích (Whitaker a Davis, 1962).

3. 2. 2. Původ a charakteristika *Cucumis sativus*

Cucumis sativus, zahradní okurka, je asijského původu. *C. sativus* var. *hardwickii*, divoká okurka, byla poprvé nalezena v Himalájích v Nepálu (Robinson a Decker - Walters, 1997; Whitaker a Davis, 1962). Nález zbytku okurky se datuje do 3000 let před naším letopočtem. Ve 14. st. se pěstovaly okurky ve Velké Británii, odtud je Kolumbus přivezl do „Nového Světa“, výsadba na Haiti je datována roku 1494 (Robinson a Decker - Walters, 1997).

C. sativus je jednoletá bylina, původně jednodomá. Má většinou pětičetné, často jednopohlavné květy s květním obalem rozlišeným na kalich a korunu (Rosypal, 2003). Tyčinky navzájem srůstají, pestík se spodním semeníkem (Rosypal, 2003). Listy jsou trojúhelníkovité, chlupy a trichomy se vyskytují na řapíku i čepeli (Robinson a Decker - Walters, 1997). Plodem je obvykle bobule, kulatého či protáhlého, válečkovitého tvaru. Povrch může být hladký nebo pokrytý malými bradavičkami s trichomy. Semena jsou malá a bílá (Robinson a Decker - Walters, 1997).

Použití okurek je především pro kuchařské účely. Dále však mohou být uplatněny jako přísada do produktů v kosmetice a mýdlech. Domorodci používali kořeny, listy, stonky a semena ve směsích používaných pro lékařské účely (Robinson a Decker-Walters, 1997).

3. 2. 3. Vzájemná interakce mezi Cucurbitaceae a *P. cubensis*

Zástupci čeledi Peronosporaceae, do které patří *P. cubensis*, vytvářejí složité vztahy se svými hostiteli na různých úrovních biologické organizace. Stupeň hostitelské specifity, lišící se pro jednotlivé zástupce Peronosporaceae, je nejspíš dán specializací na jeden druh nebo širší spektrum hostitelských druhů a rodů v rámci určité čeledi rostlin (Lebeda a Schwinn, 1994). *P. cubensis* je oligofágní systematický patogen, který napadá jen omezený počet příbuzných druhů a rodů v rámci celé čeledi Cucurbitaceae (Lebeda, 1990). Charakter hostitele i patogenu je indikátor pro determinaci většiny vztahů. *P. cubensis* je s většinou zástupců tykvovitých ve vztahu inkompability (interakce nehostitel - nepatogen) (Lebeda, 1988). S hostitelskými rostlinami je ve vztahu základní kompatibility. O vzájemném vztahu rostliny a patogenu (kompatibilita/inkompatibilita) se rozhoduje v tzv. procesu rozpoznání, tj. krátce po penetraci infekčních struktur do rostlinného pletiva (Lebeda a Schwinn, 1994). Infekční struktura inkompatibilního patogenu, která má jedinečnou strukturu, je po navázání rozpoznávána specifickými molekulami napadené rostliny. Hostitel rozpozná „cizí“ struktury a zabrání patogenu v dalším růstu řadou biochemických procesů. Je-li interakce kompatibilní, rostlina nerozpozná „cizí“ molekuly a patogen se může rozmnožovat a prorůst napadené pletivo (Lebeda, 1989a). U rezistentních odrůd tykvovitých vůči *P. cubensis* dochází u reagujících buněk k nevratnému poškození plazmatické membrány. Nakonec dochází k destrukci membrán buněčných organel. Výsledkem je ztráta turgoru buněk, celkový kolaps a nekrotizace (Lebeda a Schwinn, 1994).

V rámci základní kompatibility pak mají interakce *P. cubensis* s hostitelským druhem charakter specificky diferencované kompatibility/inkompability (Lebeda, 1988), na niž se podílí jednak vnitrodruhová variabilita hostitele, jednak variabilita v patogenních vlastnostech *P. cubensis*. Variabilita patogenu napadajícího jen omezený počet druhů v rámci čeledi je spjata s velkou taxonomickou a genetickou diverzitou rostlin. Nejčastější hostitel *P. cubensis* je *Cucumis sativus*, který je však málo geneticky variabilní, s tím úzce souvisí i nízká variabilita v interakcích hostitel - patogen a tedy i náchylnost k *P. cubensis*. Testování dvaceti planých druhů neprokázalo zřetelné rozdíly v reakcích (Lebeda, 1991b; 1992; Lebeda a Widrlechner, 2003; Lebeda a Urban, 2004a, b; Lebeda a kol., 2006a). Druh *C. melo* je naproti tomu vysoce variabilní (morfologicky, geneticky, molekulárně) (Lebeda a Widrlechner, 2003), přičemž se všechny formy snadno kříží (Thomas a kol., 1987). Jedná se o jediný druh s relativně dobře prozkoumanou rasovou specifičností a s dostupnými efektivními zdroji rezistence (Lebeda a kol., 2006a, b; Lebeda a Widrlechner, 2003). Vnitrodruhové jednotky a genotypy projevují základní rozdíly v rezistenci/náchylnosti vůči *P. cubensis*

(Lebeda a kol., 2006a). Velmi variabilní jsou také druhy rodu *Cucurbita*, je zde hojně rozšířena rasově specifická rezistence (Lebeda a kol., 2006a, b; Lebeda a Widrlechner, 2003), u řady genotypů byl zjištěn vysoký stupeň rezistence/náchylnosti s jednoznačnou expresí rasové specifčnosti (Lebeda a Widrlechner, 2004). Nejvýznamnější a nejvíce prostudovaný druh je *C. pepo*. Jedná se o vysoce polymorfní druh s dobře prostudovanou rasovou specifčností vyjádřenou na úrovni poddruhů, botanických variant kultivarů (Lebeda a Widrlechner, 2003). Rozdíly v rezistenci/náchylnosti k *P. cubensis* byly zjištěny i mezi morfotypy (skupiny genotypů s určitým typickým tvarem plodů) (Lebeda a Křístková, 2000). Pro *C. pepo*, *C. maxima* a *C. moschata* byla popsána patotypová specifita (Lebeda a Widrlechner, 2003). U ostatních tykvovitých je poznání o specifčnosti interakcí značně omezené. Výrazná odrůdová variabilita, patotypová i rasová specifita byla popsána u rodu *Citrullus lanatus* (Lebeda a kol., 2006a). Podobně je tomu u druhů rodů *Benincasa*, *Luffa* a *Lagenaria* (Lebeda a Gadasová, 2002; Lebeda a Widrlechner, 2003; Lebeda a kol., 2006a; Thomas a kol., 1987).

Pro poznání vzájemného genetického vztahu hostitele a patogenu jsou nezbytné paralelní studie genetiky rezistence hostitele a genetiky virulence patogenu (Crute, 1986). Rezistence hostitelských rostlin vůči *P. cubensis* vykazuje mendelistickou dědičnost (Lebeda a Schwinn, 1994). Monogenní (oligogenní) i polygenní rezistence se předpokládá ve vztahu *P. cubensis* - *C. sativus* i *C. melo* (Lebeda a Schwinn, 1994). Avšak poznatky o genetické podstatě patogenní variability plísňě okurkové jsou značně omezené (Lebeda a kol., 2006).

3. 3. Příklady ochrany kultur čeledi Cucurbitaceae vůči *P. cubensis*

P. cubensis způsobuje významné ekonomické ztráty v produkci tykvovitých na celém světě, i přesto stále chybí účelná opatření. Pro snížení ztrát jsou nejčastěji používány fungicidní přípravky. Nicméně jejich účinnost je závislá na kombinování s jinými způsoby ochrany porostů; jako je užití méně náchylných odrůd, vyrovnaná výživa, prognóza a signalizace. Základem účelné integrované ochrany pro produkci tykvovitých je také znalost patogenní variability a fungicidní rezistence v populacích *P. cubensis* (Lebeda a Urban, 2004a; 2007; Urban a Lebeda, 2004a, b; 2006). Výsledkem spojování všech známých preventivních a ochranných metod je možnost snižování použitých dávek fungicidů, tedy i zvýšení ekonomického výnosu produkce (Holmes a kol., 2004).

3. 3. 1. Šlechtění na rezistenci

Rozsáhlá variabilita patogenity *P. cubensis* je závažný problém a komplikuje rezistenci šlechtění. Předpoklad úspěšného šlechtění na rezistenci je znalost zdrojů odolnosti a patřičné metody testování odolnosti. Nejvíce informací se podařilo nashromáždit u rodu *Cucumis sativus* a *Cucumis melo*, pouze okrajově u rodů *Cucurbita* a *Citrullus* (Lebeda 1990; 1999).

Systematické hledání zdrojů rezistence vůči *P. cubensis* se zavedlo ve 30. letech 20. století v Portoriku. Znamka rezistence se projevila v polních podmínkách na rostlinách v Číně a Indii. Z těchto výsledků vycházelo USA při šlechtění okurek na rezistenci vůči *P. cubensis*. Rezistence nicméně nevykazovala úplnou inkompatibilitu a projevovala se pouze sníženou sporulací. Tyto výzkumy dokázaly pouze rozdíly v polní rezistenci (Lebeda, 1990).

Šlechtění na rezistenci probíhalo i v dalších zemích, např. Japonsko, Kuba, Krym (zde zkoumáno téměř 1650 genotypů okurek) (Lebeda, 1990).

V Československu probíhaly studie od roku 1985 hlavně na Šlechtitelské stanici Semo Smržice. Všechn rostlinný materiál byl studován v podmínkách umělé inokulace. Dosud nebyly objeveny genotypy *C. sativus*, které by mohly být spolehlivými zdroji rezistence a nepodařilo se vyšlechtit odrůdu s geneticky vázanou rezistencí (Lebeda, 1990; Lebeda a Urban, 2004a; Lebeda a kol., 2006a).

3. 3. 2. Preventivní a agrotechnická opatření

Podstatou všech ochranných preventivních opatření proti *P. cubensis* je co nepřesnější prognóza a signalizace, zakládající se na monitorování výskytu a pohybu patogenu. Tyto informace umožňují včasnou přípravu vlastních ochranných opatření na výskyt plísňě okurkové v dané oblasti. Porosty by měly být pravidelně a pečlivě kontrolovány (Rod, 1990).

Agrotechnická opatření vychází z poznání biologie a ekologie. Základním biotickým faktorem rozvoje infekce je orosení listů. Povrch listů by neměl být orosen déle než 2 - 3 hodiny a preventivní opatření směřuje k eliminaci volné vody na listech (Cohen, 1981). V polních podmínkách bývají kontroly omezené, u krytých porostů jsou používány spodní závlahy. K eliminaci lze také přispět dřívějším výsevem dané plodiny a snížením hustoty rostlin, ta zvyšuje riziko intenzivnějšího napadení. V našich podmínkách není možné výsev podstatně uspíšit; toto opatření se dá výrazněji uplatnit spíše v tropických a subtropických oblastech (Lebeda, 1990).

3. 3. 3. Biologická ochrana

Alternativním prostředkem k chemickým přípravkům je biologická ochrana. Existuje jen několik mikroorganismů plně komerčně využívaných vůči listovým chorobám (Fravel a kol., 1999). Do systému ochranných opatření má být zahrnována hned od počátku (Lebeda a kol., 2007).

Na jednu z biologických metod upozornil Korbel (1990), kdy se mykoparazitickou houbou *Pythium oligandrum* (Veselý, 1977) mořilo osivo okurek, případně byla houba stříkána na listy pěstovaných rostlin. Ošetřením se zpomaloval nástup patogenu a porost se udržoval déle vitálnější (Korbel, 1990).

Jedním z nejvíce prostudovaných komerčně využívaných biokontrolních činitelů je *Trichoderma harzianum*, resp. její izolát T39 (Elad, 2000a). Na využití tohoto izolátu může být pohlíženo jako na modelové znázornění kontroly folikolních patogenů v komerčních podmínkách a dále také jako na ukázkou fungování mechanismů biologické ochrany. Již dříve bylo popsáno užití *T. harzianum* na révě vinné vůči *Botrytis cinerea* (Elad, 1994; O'Neill a kol., 1996). Dále byl tento činitel využit při ochraně rajčat a okurek v komerčních sklenících (Elad, 2000b; Elad a Shtienberg, 2000). Poslední studií byla potvrzena účinnost vůči *Botrytis cinerea*, *P. cubensis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Podospaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fusca*) na okurkách pěstovaných ve sklenících (Elad, 2000a).

Další možností biologické ochrany rostlin je použití postřiku výtažkem z některých rostlin. Ošetření výtažky z *Paeonia suffruticosa* (pivoňka dřevitá) a *Hedera helix* (břečťan popínavý) se ukázalo být inhibující vůči *P. cubensis*. Oba extrakty 1 - 4 den po aplikaci snížily tvorbu sporangioforů (Röhner a kol., 2004). Testován byl i výtažek z česneku, obsahující allicin (těkavá antimikrobiální substance produkovaná v česneku při destrukci pletiva, kdy se allicin smíchává s enzymem alliin-lyazou). Postřikem na list byla snížena škodlivost a omezen rozvoj *Phytophthora infestans* na rajčatech o 45 - 100 %. V případě plísňě okurkové (*P. cubensis*) došlo ke snížení dopadu choroby o 50 - 100 %. Tyto výsledky vypovídají o potenciálu rozvoje preparátů z česneku pro užití ve specifických podmínkách organického zemědělství (např. pro redukci produkce patogenního inokula), případně komerčního využití na skleníkových porostech okurek (Portz a kol., 2008).

V rámci biologické ochrany byla testována kontrola plísňě okurkové pomocí antitranspirantů (Haggag, 2002). Byly použity antitranspiranty Kaolin, Nu-Film, Bio-Film, Folicote a Polyacrylamid Anti-Stress 550 aplikací vrstvy, která vytvořila film na listech *C. sativus*, ošetření bylo velice efektivní a dopad choroby byl eliminován. Metoda byla používána na okurkách pěstovaných ve sklenících (Haggag, 2002).

3. 3. 4. Chemická ochrana porostů Cucurbitaceae vůči *P. cubensis*

P. cubensis, patří mezi ty zástupce řádu Peronosporales, u kterých je ve snaze uniknout vysokým ztrátám v produkci, nutné užití ochranných prostředků. I přes různé možnosti v rámci agrotechnických a preventivních opatření, případně šlechtění na rezistenci, či biologické ochraně, je pro efektivní ochranu produkce stále nezbytné užití poměrně vysokých dávek fungicidních přípravků. Dostupné jsou rozličné třídy fungicidů s různými vlastnostmi, specifitami, dobou působení a s různým stupněm rizika vzniku rezistence. Mezi hlavní specificky působící fungicidy patří QoI skupina, fenylamidy, amidy kyseliny karboxylové a kyanoacetamid oximy (acylmočoviny). Ze skupiny „multi-site“ fungicidů jsou využívány hlavně mancozeb, polpet, chorothalonil a různé formulace mědi (Gisi a Sierotzki, 2008).

Význam jednotlivých původců chorob záleží na pěstební ploše ošetřené fungicidy. Gisi a Sierotzki (2008) uvádí, že v roce 2006 zaujímal největší podíl *Plasmopara viticola* (54 %) na révě vinné, následována *P. cubensis* (12 %) na tykvovitých (zástupci řádu Pythiales nebyli zahrnuti). V případě chemických produktů uvádí Gisi (2002) v roce 1996 šest skupin podílejících se z 90 % na celkovém obchodě. Jedná se o fenylamidy (ve směsi s jinými komponenty - nejčastěji s kontaktními fungicidy), dále o dithiokarbamáty (hlavně mancozeb, thiram, propineb a maneb). Další důležitou skupinou jsou produkty obsahující cymoxanil (nejčastěji s dithiokarbamáty). Široce jsou rozšířeny i měďnaté fungicidy. Významnou skupinou jsou také produkty obsahující kontaktní chlorothalonil a systémový fosetyl-AI. Menší zastoupení mají produkty s hymexazolem, fentiny, dimethomorphem, propamocarpem, fluazinamem nebo ftalimidy. Toto rozložení se v průběhu let různě mění, stoupá význam nově zavedených fungicidních látek (Gisi, 2002).

3. 3. 5. Fungicidy

Fungicidy jsou pesticidy, které se používají na ochranu rostlin před houbovými patogeny. Jedná se o prostředky s různou chemickou strukturou, účinné látky mohou být anorganického i organického původu. Především pro vytvoření správné strategie aplikace je nutné znát biologický způsob účinku na životní cyklus patogenu. Fungicidní látka může být účinná buď v širokém spektru různých plodin, nebo je primárně zaměřena vůči jedné chorobě. Doba antifugální aktivity by se měla rovnat délce jednoho infekčního cyklu patogenu.

Rozdělovány jsou například dle způsobu jejich aplikace (do půdy, na nadzemní části rostlin, k ošetření osiva, hlíz a cibulí, posklizňové ošetření). Nejčastěji se fungicidy rozdělují dle biochemického způsobu účinku. Pokud kontrolují rozvoj patogenu dříve než penetruje do hostitelského pletiva, jde o preventivní aplikaci (protektanty). Pokud

fungicidy účinkují i v pozdějších stádiích infekčního cyklu, jde buď o kurativní látky (účinné mezi penetrací a objevením se prvních symptomů na hostiteli), nebo o eradikativní (aktivní po objevení prvních symptomů, tzn. účinné vůči sporulaci a následnému myceliálnímu růstu patogenu). Kurativní a eradikativní způsob účinku je přičítán pouze fungicidům, které jsou přijímány hostitelskými pletivy a vykazují určitý stupeň systemicity v rostlině (fenylamidy, cymoxanil, fosetyl-Al). Naopak fungicidy, které nepronikají do pletiv a jsou nesystémové, účinkují preventivně (dithiokarbamáty) (Gisi, 2002).

Historicky jsou fungicidní přípravky k ochraně rostlin vůči houbovým patogenům používány již 200 let. Od počátku, kdy se aplikovaly jen k ochraně obilnin a hroznů révy vinné, se počet plodin a ošetření vůči houbovým chorobám, stejně jako rozsah dostupných chemikálií, oblastí a četnosti užití, jejich účinnosti, enormě zvýšil, zvláště v období druhé světové války. V průběhu 60. a 70. let začaly být užívány účinnější fungicidní látky s novou chemickou strukturou, obvykle systémové; 2-aminopyrimidiny, benzimidazoly, karboxanilidy, fosforothiolaty, morfoliny, dikarboximidy, fenylamidy a inhibitory demetylace sterolu (DMI). V 80. letech byly zaváděny přípravky analogické k již existujícím. V posledních dekádách byly objeveny nové látky, které začaly být komerčně využívány, případně byl rozšířen stávající stupeň vývoje (fenylpyrroly, anilinopyrimidiny, QoI skupina, benzamidy a CAA fungicidy) (Brent a Hollomon, 2007).

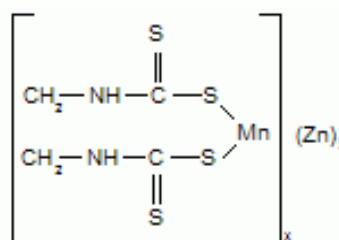
V současnosti se celosvětově v zemědělství využívá na 150 různých fungicidních směsí. Překvapivě jsou stále široce a účinně používány dvě tradiční skupiny (přípravky na bázi mědi a síry). Mnohé, v druhé polovině 20. století zavedené fungicidy (ftalimidy, dithiokarbamáty, dinitrofenoly, chlorophenyly) jsou nepřetržitě používány 40 let. Dithiokarbamáty (např. mancozeb), ftalimidy (folpet), chloronitrily (chlorothalonil) a měďnaté formulace stále zabírají 50 % trhu s fungicidy účinnými vůči zástupcům Peronosporaceae (Brent a Hollomon, 2007; Gisi a Sierotzki, 2008).

3. 3. 5. 1. Kontaktní fungicidy

Kontaktní fungicidy byly po dlouhou dobu jedinými látkami dostupnými pro ochranu vůči „downy mildews“. Jedná se o nesystémové přípravky, působící nesespecificky v mnoha bodech metabolismu patogenu („multi-site inhibitory“). Většinou se používají do směsí s jinými sloučeninami, kde slouží k zajištění preventivního ošetření porostů díky účinnosti před náletem či v průběhu náletu zoospor (Urban a Lebeda, 2006). Aplikují se na list, do půdy, případně k ochraně osiva, sadby či plodů. Po aplikaci nepronikají do rostliny, tvoří souvislou vrstvu na povrchu ošetřených pletiv. Mechanicky zabraňují klíčení zoospor a jejich průniku do stomat, některé působí přímo na spory a klíčící vlákna (Gisi, 2002). Měď v anorganických měďnatých

kontaktních fungicidů (oxychlorid mědi $\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{OH})_3$ a hydroxid mědi $\text{Cu}(\text{OH})_2$) se hromadí v senzitivních patogenech a tvoří komplexy s enzymy. V důsledku toho jsou enzymy inaktivovány a nemohou narušit metabolismus rostliny (Gisi, 2002). K organickým kontaktním fungicidům účinným vůči „downy mildews“ patří dithiokarbamáty, ftalimidy, chloronitrily, sulfamidy, dinitroaniliny a fentiny (Frac code list, 2010; Gisi, 2002). V roce 1995 mancozeb (Obr. 1), směs s mědí a chlorthalonil představovali asi 25 % z celkového prodeje fungicidů (Gisi, 2002). Nová preventivní fungicidní látka zoxamid (skupina benzamidy) byla zavedena pro ošetření zeleniny a révy vinné na list. Vykazuje dlouhotrvající preventivní aktivitu srovnatelnou s dimethomorphem a při intervalech postřiků 7 - 10 dní vykazuje shodnou úroveň ochrany jako ostatní kontaktní fungicidy (mancozeb, fluazinam, chlorthalonil a folpet). Potlačuje prodlužování klíčného vlákna, myceliální růst a penetraci do hostitelských pletiv (Gisi, 2002).

Chemický vzorec:
 $(\text{C}_4\text{H}_6\text{MnN}_2\text{S}_4)_x (\text{Zn})_y$



Obr. 1. Mancozeb

3. 3. 5. 2. Systémové fungicidy

Systémové fungicidy působí specificky na určité metabolické procesy v infekčním cyklu patogenu („single-site inhibitory“). Jejich zavedení lze označit jako mezník v chemické kontrole *P. cubensis* (Cohen a Coffey, 1986). Systemicita zajišťuje, že se tyto fungicidní látky dostávají do celého systému rostlin, tedy i do částí, které nebyly fungicidem přímo ošetřeny (Urban a Lebeda, 2006). S ohledem na intenzitu systemicity v hostitelské rostlině mohou být fungicidní látky plně systémové [např. cymoxanil (Obr. 2), fosetyl-Al (Obr. 3), fenylamidy, propamocarb (Obr. 4)], částečně systémové [lokálně systémové, dimethomorph (Obr. 5)], či mesostemické (trifloxystrobin; Margot a kol., 1998). Tyto fungicidy mají vysokou afinitu k rostlinnému povrchu, kde jsou absorbovány voskovými vrstvami a jsou redistribuovány. Penetrují do rostlinných pletiv, vykazují translaminární aktivitu (šíření fungicidních látek z povrchu listu do listových buněk protilehlé strany), ale ne transport pomocí vaskulárního systému rostliny (Gisi, 2002).

Z hlediska translokace (pohybu) fungicidů v rostlině po aplikaci vykazují systémové fungicidy buď apoplastickou (akropetální) pohyblivost (tzn. k šíření dochází

pasivně v rámci mezibuněčných prostorů, buněčných stěn a xylémovými elementy, částečně i difúzí pomocí transpirace), nebo symplastickou (basipetální, výjimečně i akropetální) pohyblivost (tzn. aktivní translokace pomocí floému, skrz plasmodesmata z buňky do buňky) (Neumann a Jacob, 1995). Konečným bodem transpirace je povrch listů, proto jsou látky pohyblivé pomocí xylému akumulovány ve vrcholcích a na okrajích listů. V případě pohybu látek pomocí floému dochází k šíření z vyzrálých listů do všech orgánů, včetně kořenů. U některých systémových fungicidů se uplatňuje tzv. redistribuce výparem. Malé, ale významné množství molekul účinné látky je z depozit přemísťováno vzduchem. Tyto molekuly nejsou absorbovány sousedními rostlinami a chrání tak jejich pletiva.

Lokální systémové fungicidy pronikají do rostlinných pletiv částečně, tzn. pouze do povrchových pletiv rostlin. Mají eradikativní účinky, působí na patogen mezi penetrací a prvními symptomy nemoci. Plně systematické fungicidy pronikají hluboko nebo do celé rostliny, kde se dostávají do styku s patogenem. Mají kurativní účinky, tzn. dokáží zastavit rozvíjející se chorobu i v určité době po infekci (má vliv na růst hyf a tvorbu zoospor) (Gisi, 2002).

Mezi plně systémové fungicidy účinné vůči „downy mildews“ patří skupiny: fenylamidy karbamáty, kyanoacetamid oximy, fosfonáty, aminoacidamidy karbamáty ze skupiny CAA fungicidů (iprovalicarb). Fenylamidy jsou velice účinné fungicidní látky vůči rodům *Bremia*, *Peronospora*, *Plaspomara*, *Pseudoperonospora* a dalším. Inhibují ribozomální RNA a působí na její syntézu (Tab. 1). Fenylamidy působí velmi silně preventivně a kurativně, ovlivňují zejména hyfální růst, formování haustorií a zoospor. Mají rychlý nástup účinku a apoplastickou cestou se dostávají do listů (prokázána i symplastická translokace). Dále jsou silně eradikativní a působí jako antisporelární činitel v infekčním cyklu patogenu. Neinhibují raná stádia v infekčním cyklu (uvolňování zoospor, klíčení spor a penetraci hostitelských pletiv). Poskytují dlouhotrvající tlumení rozvoje choroby. V rámci fenylamidů jsou nejdůležitější metalaxyl (Obr. 6) a metalaxyl-M. Metalaxyl-M je R-enantiomer metalaxylu, v jeho poloviční dávce má stejnou účinnost a v půdě se rozkládá mnohem snadněji než metalaxyl (Gisi, 2002).

Spektrum účinnosti karbamátů (propamocarb a prothiocarb) je široké, ale zahrnuje pouze zástupce třídy Peronosporomycetes (rody *Phytophthora* a *Phythium*, *Peronospora*, *Bremia*, *Pseudoperonospora*, *Aphanomyces*). Propamocarb je velmi dobře rozpustný ve vodě a je snadno přijímán kořeny, apoplasticky je pak translokován do listů. Je tedy považován za plně systémový fungicid (Gisi, 2002). Propamocarb ovlivňuje propustnost plazmatické membrány, zvláště citlivá se zdá syntéza lipidů (za přítomnosti propamocarbu se zvyšuje syntéza neutrálních lipidů, naopak syntéza některých komponent fosfolipidů je minimalizována) (Reiter a kol., 1996). Primárně

je ovlivněn myceliální růst v pletivu a prodlužování klíčného vlákna spor (Viranyi a Oros, 1991) a stejně tak i sporulace (Reich a kol, 1992; Reiter a kol., 1996).

Dalším významným systémovým fungicidem působícím pouze na patogeny ze třídy Peronosporomycetes je cymoxanil ze skupiny kyanoacetamid oximy (Gisi, 2002). Díky rychlému rozkladu v půdě nepůsobí cymoxanil na půdní patogeny (*Phytophthora* spp. a *Pythium* spp.) (Klopping a Delp, 1980). Cymoxanil je rychle degradován na glycin v rostlinném pletivu (a houbovém mycelium), proto je většinou používán v kombinaci s „multi-site“ fungicidy (např. mancozeb, maneb a další) s cílem zlepšit preventivní účinky prostřednictvím vzájemného působení. Výrazný je kurativní účinek cymoxanilu, zatím co eradikativní ošetření se příliš nedoporučuje (Gisi, 2002).

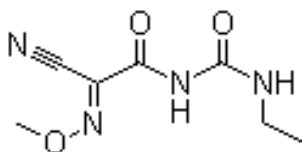
Fosetyl-AI, v rámci skupiny fosfonáty, je plně systémový fungicid, který je translokován v rostlině symplasticky (pomocí floému) oběma směry (akropetálně a basipetálně) z kořenů i listů (Gisi, 2002). Inhibuje tvorbu sporangií, oospor a chlamydospor, dále uvolňování, pohyb, encystaci zoospor a klíčení cyst, méně intenzivně blokuje vývoj mycelia. Nicméně ještě stále nebylo určeno přímé a cílové místo působení v cílových patogenních organismech. Fosetyl-AI, zdá se, stimuluje produkci fytoalexinu (např. stilbeny, flavonoidy, fenolické látky) a tak zvyšuje ochranu rostlin vůči patogenům (kumulací fytoalexinů dochází k hypersenzitivním obranným reakcím na ošetřených listech) (Gisi, 2002).

Mezi částečně systémové fungicidy patří skupiny: amidy kyseliny skořicové ze skupiny CAA fungicidů, QoI fungicidy, heteroaromatické fungicidy. Dimethomorph ze skupiny amidy kyseliny skořicové je účinný výlučně vůči patogenům čeledi Peronosporaceae (*Bremia*, *Peronospora* spp., *Plasmopara* spp., *Pseudoperonospora*) a Pythiaceae (např. *Phytophthora* spp.) s výjimkou celého rodu *Pythium* (Gisi, 2002). Velmi citlivé na dimethomorph jsou tyto pochody v infekčním cyklu patogenu: encystace zoospor, klíčení cyst, tvorba sporangií a oospor a apikální růst hyf (Albert a kol., 1991; Cohen a kol., 1995). Zasažena jsou všechna stadia zvyšující tvorbu buněčné stěny. Je jasné, že dimethomorph inhibuje biosyntézu a současně fibrilární komponenty v cílových patogenech (Albert a Heinen, 1996). Aplikace na list vede k translaminárnímu a slabě akropetálnímu pohybu na listu, ale ne pohybu z listu na list. Dimethomorph vykazuje dlouhotrvající preventivní, částečnou kurativní a silnou antisporulační účinnost (Albert a kol., 1988; Cohen a kol., 1995).

Fungicidy inhibující mitochondriální dýchání v enzymovém komplexu III jsou seskupeny jako komplex inhibitorů respirace komplexu III (Hewitt, 1998). Antifungální potenciál pro účinnou ochranu v zemědělství je významný, protože spektrum aktivit může pokrýt všechny důležité třídy rostlinných patogenů (Peronosporomycetes, Ascomycetes, Deuteromycetes, Basidiomycetes) (Gisi, 2002). Tomuto popisu

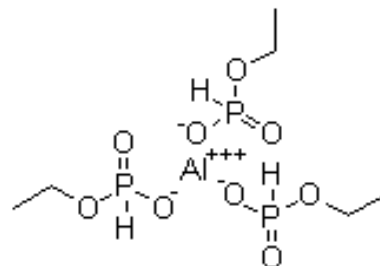
odpovídají nejvíce azoxystrobin (Obr. 7), trifloxystrobin, kresoxim-methyl, pyraclostrobin (Tab. 1). Nejlepších výsledků je dosaženo při preventivním použití, jelikož patogen je nejcitlivější při klíčení zoospor a jejich pohybu. Pozdější fáze nejsou těmito fungicidními látkami dostatečně kontrolovány a jejich kurativní účinek je tedy zeslaben. Výraznější kurativní účinek se projevuje pouze u patogenů, které pronikají jen do svrchních vrstev hostitelského pletiva (jako padlí). V rostlině jsou translokovány pouze akropetálně do stonků a mezi listy, také vykazují silný translaminární pohyb (Gisi, 2002). Silná translaminární aktivita azoxystrobinu může vysvětlit značný antisporulační účinek vůči *P. viticola* (Godwin a kol, 1997). Mesostemické vlastnosti vykazuje kresoxim-methyl (Ypema a Gold, 1999).

Chemický vzorec: $C_7H_{10}N_4O_3$



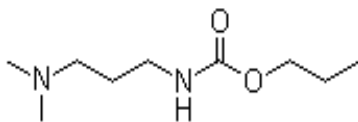
Obr. 2. Cymoxanil

Chemický vzorec: $C_6H_{18}AlO_9P_3$



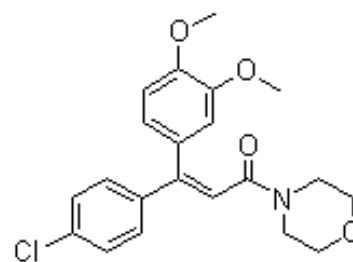
Obr. 3. Fosetyl-Al

Chemický vzorec: $C_9H_{20}N_2O_2$



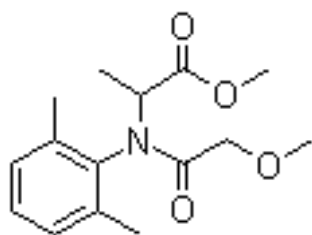
Obr. 4. Propamocarb

Chemický vzorec: $C_{21}H_{22}ClNO_4$



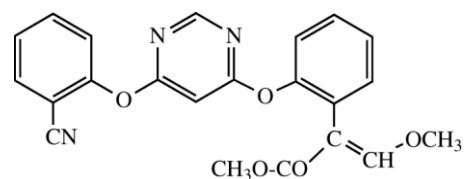
Obr. 5. Dimethomorph

Chemický vzorec: $C_{15}H_{21}NO_4$



Obr. 6. Metalaxyl

Chemický vzorec $C_{22}H_{17}N_3O_5$



Obr. 7. Azoxystrobin

3. 3. 6. Rezistence vůči fungicidům

Při dlouhodobém používání jednoho fungicidu může dojít v populaci patogenu ke snížení citlivosti vůči tomuto fungicidu a vzniká tak rezistence vůči danému fungicidu. Populace patogenu vykazuje dědičné přizpůsobení se k fungicidu. Vznik rezistence rostlinných patogenů vůči fungicidům není novinkou. Ačkoli první potvrzení vzniku rezistence přišlo již v roce 1960, více se tato situace prohloubila v roce 1970. Od té doby těchto jevů stále přibývalo, zvláště po zavedení systémových fungicidů (1969 dodine, 1970 benzimidazoly, 1980 fenylamidy) (Fishel, 2009; Urban a Lebeda, 2006). Bohužel účinek celé řady existujících fungicidních látek (obsažených v množství přípravků) je zaměřen na stejnou metabolickou cestu infekčního cyklu patogenu (mají stejný způsob účinku). Důvodem je omezený počet cílových metabolických procesů (asi 20) ovlivnitelných těmito fungicidy (Fishel, 2009). Bohužel rezistence patogenů je již široce rozšířena a účinnost mnoha moderních fungicidů je tím do určité míry ovlivněna, nicméně situace by se mohla stát ještě horší. Všechny typy fungicidů jsou stále v mnoha situacích účinné. Stávající protiopatření nejsou perfektní, ale je prověřené, že jsou nutné a prospěšné (Brent a Hollomon, 2007).

Typy rezistence z hlediska vzniku rozdělujeme na vrozenou (přírodní) a získanou. Rezistence získaná patogenem po použití fungicidu se nazývá křížová (cross-) rezistence. V tomto případě rezistence k jednomu fungicidu buduje současně rezistenci k dalším látkám se stejným mechanismem účinku. Vážnější formou získané rezistence je multi-rezistence (mnohonásobná), kdy je patogen rezistentní ke dvěma či více fungicidům s různým mechanismem účinku (Fishel, 2009). Odolnost vůči fenylamidům např. metalaxylu vytváří cross-rezistenci s jinými systémovými fungicidy jako např. propamocarb a fosetyl-Al (Cohen a Samoucha, 1984). U českých izolátů nebyla tato situace zatím potvrzena (Lebeda a Urban, 2004a). Dalším příkladem je cross-rezistence mezi zástupci skupiny inhibitorů respirace v komplexu III (QoI), azoxystrobinem a kresoxim-methylem (McGrath, 2001). Kvalitativní rezistence

je podmíněna monogenně (na základě mutace jednoho genu = major genu) a tato se pak rychle a plošně šíří. Kvantitativní rezistence je podmíněna polygenně (mutací více genů) šíří se pozvolna a lokálně a vznikají kmeny s různou citlivostí. Pokud má nová rezistentní populace nižší fitness než původní populace, může dojít bez selekčního tlaku poměrně rychle k návratu do původního stavu (Brent a Hollomon, 2007).

Předpokladem vzniku rezistence je přítomnost rezistentních jedinců a jejich selekce. Existují v populaci před použitím fungicidů (nízké fitness, fenylamidy, fenhexamid 5 %). Vznikají genetickou změnou (především mutací) a vyznačují se vysokou patogenitou i fitness. Vznik rezistentních jedinců adaptací má menší význam. Selekční tlak urychlí selekci i genetické změny. Selekcce rezistentních jedinců v populaci patogenu je tím rychlejší, čím větší je variabilita patogenní populace. Dalšími faktory je vysoká reprodukce, rychlý vývoj a tvorba více generací. Z hlediska použitého fungicidu jsou hlavními vlivy variabilita a specifické působení fungicidu (tzn. systémové nebo hloubkové a dlouhodobé působení fungicidu) (Brent a Hollomon, 2007).

Mezi nejčastější mechanismy vzniku rezistence se řadí pozměnění cílů, které snižují vázání fungicidů; syntézu alternativních enzymů schopných zastoupit cílové enzymy; vývoj alternativní metabolické cesty překlenutím cílového místa; nadprodukcí vazebných míst pro fungicidy; aktivní odtok pomocí transportních proteinů nebo redukovanou absorpcí fungicidů; metabolický rozklad fungicidů (Ma a Michailides, 2005).

Zásady k oddálení vzniku rezistence jsou: regulovat použití rizikových fungicidů limitováním počtu ošetření za vegetaci, střídání fungicidů s odlišným působením (odstup umožní obnovení citlivosti populace), kombinování (ready-mix, tank-mix) s účinnými látkami s odlišným mechanismem působení (časté rozšíření účinnosti), dodržování doporučeného dávkování, minimalizace použití fungicidů v systému integrované ochrany rostlin (Gisi, 2002).

V České republice byl počátkem 21. století zahájen intenzivní výzkum rezistence k fungicidům u populací *P. cubensis*. První poznatky ukázaly rozsáhlou variabilitu v tomto znaku (Urban a Lebeda, 2004b; 2006; 2007).

Tab. 1. Přehled fungicidů používaných proti *P. cubensis* a některým dalším patogenům z třídy Peronosporomycetes (Frac code list, 2010; Gisi, 2002; Urban a Lebeda, 2006).

Systemicita	Způsob účinku	Název skupiny	Chemická skupina	Běžně užívaný název	Cílové místo působení	Typ aktivity/translokace uvnitř rostlin	Poznámka
Plně systémové	Působí na syntézu jaderných kyselin	fenylamidy PA – fungicides (PhenylAmides)	acylalaniny	metalaxyl metalaxyl-M benalaxyl furalaxyl	Inhibice syntézy rRNA (RNA polymerasa I)	Preventivní, kurativní, eradikativní/ apoplastická, symplastická, translaminární	Rezistence a křížová rezistence je dobře známa u různých zástupců
			oxazolidinony	oxadixyl			Peronosporomycetes, ale není známý její mechanismus
			butyrolaktony	ofurace			High risk
Plně systémové	Působí na syntézu lipidů a membrán	amidy kyseliny karboxylové CAA-fungicides (Carboxylic Acid Amides)	karbamáty	iprovalicarb	Postihuje metabolismus aminokyselin (?)	Preventivní, kurativní, eradikativní/ apoplastická, symplastická	Rezistence známa u <i>Plasmopara viticola</i> ale ne u <i>Phytophthora infestans</i> , křížová rezistence mezi všemi zástupci CAA skupiny.
			karbamáty	karbamáty	propamocarb prothiocarb	Multisite inhibitor, postihuje membránovou permeabilitu a syntézu lipidů	Preventivní, eradikativní/ apoplastická
Plně systémové	Neznámý	fosfonáty	etyl-fosfonáty	fosetyl-Al	Neznámým způsobem inhibuje klíčení spor, blokuje vývoj mycelia a sporulaci, indukuje hostitelskou rezistenci	Preventivní, kurativní, eradikativní/ apoplastická, symplastická	Rezistence známa u několika patogenů
							Low risk

	Neznámý	kyanoacetamid oximy	kyanoacetamid oximy	cymoxanil	Neznámý	Preventivní, kurativní/apoplastická, symplastická, translaminární	Požadavky pro vznik rezistence jsou popsány Low to medium risk
Částečně systémové	Působí na syntézu jaderných kyselin	heteroaromatické fungicidy	isoxazoles	hymexazole	Syntéza DNA/RNA		Rezistence není známa
	Působí na syntézu lipidů a membrán	amidy kyseliny karboxylové CAA-fungicides (Carboxylic Acid Amides)	amidy kyseliny skořicové	dimethomorph	Biosyntéza fosfolipidů a inhibice syntézy buněčné stěny	Preventivní, kurativní, eradikativní/ hlavně translaminární	Rezistence známa u <i>Plasmopara viticola</i> ale ne u <i>Phytophthora infestans</i> , křížová rezistence mezi všemi zástupci CAA skupiny Low to medium risk
	Dýchání	Inhibitory respirace v Komplexu III	methoxy-akryláty methoxy-karbamáty oximino acetáty	azoxystrobin pyraclostrobin trifloxystrobin kresoxim-methyl	Inhibice mitochondriální respirace v enzymovém komplexu III cytochomu bc 1 (ubiquinol oxidáza) (Qo místo)	Preventivní/ translaminární, apoplastická (azoxystrobin, fenamid), "mesostemická" (trifloxystrobin), "quasi-systemická" (kresoxim-methyl)	Rezistence známa u různých houbových organismů Křížová rezistence se vykytuje mezi všemi členy QoI skupiny High risk
		QoI-fungicides (Quinone outside Inhibitors)	oximino-acetamidy oxazolidine-diony imidazolinony	metominostrobin famoxadone fenamidone			
		Inhibitory respirace v Komplexu III QiI - fungicides (Quinone inside Inhibitors)	cyanoimidazoly	cyazofamid	Inhibice mitochondriální respirace v enzymovém komplexu III cytochomu bc 1 (ubiquino-neredukráza) (Qi místo)	Preventivní, kurativní, eradikativní/ translaminární	Riziko vzniku rezistence není známo blo odhadnuto na Medium to high (dle mutací v cílovém místě známé u modelových organismů)

Nesystémové (kontaktní)	Dýchání		dinitroaniliny	fluazinam	Inhibice produkce ATP	Preventivní/-	Low risk Ní méně resistance byla potvrzena u <i>Botrytis</i> v Japonsku
		organo tin sloučeniny	tri-fenyl-tin- sloučeniny	fentin acetát fentin chlorid fentin hydroxid	Inhibitory oxidativní fosforylace a syntézy ATP	Preventivní/-	Doloženy některé případy vzniku resistance Low to medium risk
	Působí na mitózu a dělení buněk	benzamidy	toluamidy	zoxamide	β-tubulin soustředěné při mitóze	Preventivní/-	Low to medium risk
		anorganické	anorganické	fungicidy na bázi mědi Cu-oxychloride Cu-hydroxide	Multisite inhibitor	Preventivní/-	
	Multi-site kontaktní účinek	dithiokarbamáty	dithiokarbamáty	ferbam mancozeb maneb propineb metiram thiram zinek ziram	Multisite inhibitor	Preventivní/-	Všeobecně je tato skupina považována za nízkorizikovou ve vztahu ke vzniku resistance (i křížové) v populaci houbových patogenů
		chloronitrily	chloronitrily	chlorothalonil	Multisite inhibitor	Preventivní/-	
		ftalimidy	ftalimidy	captan captafol folpet	Multisite inhibitor	Preventivní/-	
	sulfamidy	sulfamidy	dichlofluamid				

4. MATERIÁL A METODY

4. 1. Rostlinný materiál

Pro množení patogenu a pro testování účinnosti či neúčinnosti vybraných fungicidů byla používána vysoce citlivá odrůda *Cucumis sativus* 'Marketer 430' (EVIGEZ H39 – 0121). Rostliny byly pěstovány ve skleníku za optimálních podmínek (teplota den/noc 25° /15 °C; denní závlivka; týdně přihnojování Kristalon Start). Chemické prostředky nebyly aplikovány po celou dobu vegetace (Obr. 9). Pro testování byly používány rostliny 6. - 8. týden od výsevu, ve stádiu 3. - 4. pravého listu (Lebeda, 1986; Lebeda a Widrlechner, 2003).

4. 2. Charakteristika izolátů *P. cubensis*

Během rozsáhlého sledování rozšíření, škodlivosti a hostitelského okruhu *P. cubensis* v České republice, byly sbírány vzorky listů z napadených rostlin z různých oblastí v celé České republice. Z celkového množství nasbíraných listů bylo použito pro testování účinnosti vybraných fungicidů celkem 22 izolátů z roku 2009 (Tab. 2) a 22 izolátů z roku 2010 (Tab. 3). Získané vzorky byly inkubovány 1 - 2 dny (Lebeda, 1986) na vlhkém filtračním papíře v plastových krabičkách (110 × 85 × 45 mm), umístěných v růstové komoře za standardních podmínek (teplota den/noc 25° /15 °C; dvanáctihodinová světelná perioda). Poté byly vzorky převedeny na čisté kultury *P. cubensis* (Obr. 10) a udržovány zamražené při -80 °C. V těchto podmínkách je udržena životaschopnost spor přibližně 6 měsíců (Lebeda a Urban, 2004).

4. 3. Metoda plovoucích listových disků a testované fungicidy

Pro stanovení účinnosti fungicidů byla použita modifikovaná metoda plovoucích listových disků (Anonymous, 1982, Lebeda 1986). Listové disky byly připraveny z vyzrálých listů vysoce citlivého kultivaru *C. sativus* 'Marketer 430' (stádium 3. - 4. pravého listu). Pro testování bylo vybráno 6 fungicidů Ridomil Plus 48 WP (účinné látky: 40 % Cu-oxychloride, 8 % metalaxyl), Ridomil Gold MZ 68 WP (ú. l.: 64 % mancozeb, 4 % metalaxyl-M), Previcur 607 SL (ú. l.: 607 g/l propamocarb), Aliette 80 WP (ú. l.: 80 % fosetyl-Al), Curzate K (ú. l.: 77,3 % Cu-oxychloride, 4 % cymoxanil) a Acrobat MZ (ú. l.: 600 g/l mancozeb, 90 g/l dimethomorph) o pěti různých koncentracích (Tab. 4). Jako kontrola byla použita destilovaná voda.

Připravené koncentrace byly napipetovány do testovacích destiček (Obr. 11, 12) tak, aby každá koncentrace daného fungicidu byla připravena pro 4 listové disky (*C. sativus*) ve třech opakováních. Do testovacích destiček byly abaxiální stranou nahoru umístěny listové disky (v průměru 15 mm), které byly vyřízuty korkovrtem

(Anonymous, 1982;). Po 24 hodinách byly všechny disky naočkovány suspenzí spor (1×10^5 spor/ml) pomocí skleněného rozprašovače (Lebeda, 1986; 1990). Následně byly testovací destičky přemístěny na 24 hodin do tmy. Poté byly inkubovány v růstové komoře, kde se udržovala 12 hodinová fotoperioda a stabilní teploty 18 °C/15 °C (den/noc). První sporulace se nejčastěji objevuje na kontrolních listových discích 5. - 6. den po naočkování (Lebeda, 1986c).

4. 4. Testované účinné látky

Oxychlorid mědi

Jedná se o anorganický fungicid, který rozrušuje mycelium, zabraňuje klíčení spor a zpevňuje rostlinná pletiva. Působí jako kontaktní složka na povrchu rostliny.

Metalaxyl

Plně systematická fungicidní látka, patřící do skupiny fenylamidy - podskupina acylalaniny. Proniká po aplikaci hluboko do hostitelských pletiv. Kurativní, akropetální i bazipetální translokace, pohyb fungicidu do nových přírůstků rostliny (pro metalaxyl-M preventivní, kurativní (3 - 4 dny) a eradikativní). Inhibuje růst a rozmnožování patogenu [inhibice syntézy RNA (RNA polymerase I)].

Mancozeb

Kontaktní složka fungicidu, náležící do skupiny dithiocarbamáty - podskupina ethylen bis-dithiocarbamáty = „multi - site“ action. Film na povrchu listu inhibuje klíčení spor.

Propamocarb

Plně systémová preventivní fungicidní látka, je členem skupiny karbamátů. Účinky fungicidu na rostlině jsou kurativní s akropetálním pohybem. Propamocarb má specifický, trojnásobný mechanismus účinku. Ovlivňuje permeabilitu membrán, mastné kyseliny (prop.)*. Rezistence není prokázána, ale je předpokládána.

* (prop.) – putative target site (předpokládané cílové místo)

Fosetyl-AI

Patří do skupiny fosfonátů - podskupina ethyl-fosfonáty. Plně systematická fungicidní látka, rychle přijímána zelenými částmi rostliny i kořeny, s preventivním, akropetálním i bazipetálním pohybem látky v rostlině (symplasticky). Způsob účinku není přesně znám, předpokládá se stimulace obranných mechanismů rostlin, inhibice klíčení spor, blokáce rozvoje mycelia a sporulace. Rezistence není předpokládána.

Cymoxanil

Plně systémová fungicidní látka, spadající do skupiny acylmočoviny (cyano acetamide oximes). Akropetální, bazipetální i translaminární translokace v rostlině, ale jen omezeně. Po nějakou dobu lokálně chrání rostlinu před průnikem patogenů. Kurativní účinnost fungicidu pouze krátkodobá (1 - 2 dny) poté je rostlinnou metabolizován. Proto se používá v kombinaci s kontaktními fungicidy (např. oxychlorid mědi). Prodlužuje se tím reziduální účinnost. Způsob účinku cymoxanilu není zatím přesně znám.

Dimethomorph

Lokálně systémová fungicidní látka ze skupiny morfolinů (Carboxylic Acid Amides = CAA fungicides). Fungicid se šíří z povrchu listu translaminárním pohybem do listových buněk protilehlé strany. Částečně i akropetální pohyb, ale ne z listu na list. Dimethomorph jako derivát morfolinu způsobuje morfogenezní změny, vedoucí k přerušování vývoje a tvorby buněčné stěny. Není známa cross - rezistence s fenylamidy, rezistence není ani není předpokládána.

4. 5. Hodnocení intenzity sporulace

Hodnocení intenzity sporulace probíhalo ve dvoudenních intervalech 6. - 14. den po inokulaci. K hodnocení byly použity kvantitativní metody, vyjadřující plochu rostlinného pletiva postiženého chorobou a metody kvalitativní, kdy je hodnocena přítomnost nebo absence choroby (Lebeda, 1986c; Lebeda a Widrechner, 2003):

4. 5. 1. Kvantitativní metoda hodnocení

Pro hodnocení byla použita pětibodová stupnice (Obr. 13), vyjadřující procentové pokrytí plochy disku sporangiofory (Lebeda, 1986c):

0 = žádná sporulace;

1 = ≤ 25 % plochy disku je pokryto sporangiofory;

2 = > 25 % až ≤ 50 % plochy disku je pokryto sporangiofory;

3 = > 50 % až ≤ 75 % plochy disku je pokryto sporangiofory;

4 = > 75 % plochy disku je pokryto sporangiofory.

Pro každý izolát byl stanoven celkový stupeň napadení P (degree of infection, DI), který byl vyjádřen v procentech (Towsend a Heuberger, 1943):

$$P = \sum \frac{(n.v).100}{x.N},$$

P = celkový stupeň napadení (%); n = počet disků napadených v jednotlivých kategoriích stupnice (0 - 4); v = stupeň infekce; x = maximální stupeň sporulace; N = celkový počet listových disků hodnocených ve všech třech opakováních.

4. 5. 2. Kvalitativní metoda hodnocení účinnosti fungicidů

Na základě hodnot P byly stanoveny 3 typy reakcí (Urban a Lebeda, 2004a, b; 2007):

- = senzitivní reakce ($P = \leq 10 \%$);
- (-) = tolerantní reakce ($P = > 10 \%$ až $\leq 35 \%$);
- + = rezistentní reakce ($P = > 35 \%$).

Hodnocení senzitivní reakce bylo u účinných fungicidů rozšířeno:

Ssp-, senzitivní reakce bez sporulace ($P = 0 \%$);

Ssp+, senzitivní reakce s limitovanou sporulací ($0 < P \leq 10 \%$).

4. 6. Stanovení hodnoty ED₅₀

Kromě toho byly stanoveny hodnoty ED₅₀ (koncentrace fungicidu inhibující sporulaci o 50 %) pro každý izolát v intervalu koncentrací fungicidu (Urban a Lebeda, 2004a).

Tab. 2. Původ testovaných izolátů v roce 2009.

Číslo izolátu	Kraj	Okres	Lokalita	Stanoviště	HR	CHO + pozn.	SN	Termín sběru
1/2/09	Jihomoravský	BV	Lednice	pole	CS	+	3	15.7.2009
9/09	Olomoucký	PV	Mostkovice	zahrada -kolonie	CS	?	4	11.8.2009
13/09	Jihomoravský	BK	Lipovec	zahrada - kolonie	CS	?	3	11.8.2009
18/09	Jihomoravský	BO	Silůvky	zahrada	CS	?	2	11.8.2009
24/09	Jihomoravský	ZN	Dobelice	pole	CS	+	3	11.8.2009
35/09	Jihomoravský	HO	Ratiškovice	pole	CS	?	4	13.8.2009
40/09	Zlínský	UH	Uherský Ostroh	zahrada	CS	?	2-3	13.8.2009
42/09	Zlínský	ZL	Napajedla	zahrada	CS	?	3-4	13.8.2009
46/09	Zlínský	KM	Postoupky	pole	CS	?	4	13.8.2009
48/09	Olomoucký	PR	Tovačov-Anín	zahrada	CS	?	3	13.8.2009
51/09	Pardubický	SY	Sedliště	zahrada	CS	?	3	20.8.2009
56/2/09	Pardubický	UO	Choceň	zahrada (kolonie u Osevy)	CS	sviluška	4	20.8.2009
61/09	Královehradecký	HK	Třebechovice pod Orebem	zahrada	CS	?	4	20.8.2009
63/09	Královehradecký	RK	Očelice	zahrada	CS	?	3	20.8.2009

66/09	Královéhradecký	NA	Bohuslavice	pole	CS	?	4	20.8.2009
68/09	Královehradecký	NA	Velichovka - Hustířany	pole	CS	?	1	20.8.2009
69/09	Královehradecký	TU	Vilantice	zahrada	CS	?	4	20.8.2009
70/09	Královehradecký	JC	Hořice	zahrada - foliovník	CS	?	4	20.8.2009
75/09	Středočeský	MB	Dolní Bousov	zahrada	CS	?	3	20.8.2009
79/09	Středočeský	NB	Mcely	zahrada	CS	sviluška	3	20.8.2009
85/09	Olomoucký	OL	Olomouc-Holice	pole	CS	?	4	20.8.2009
86/09	Moravskoslezský	BR	Dolní Moravice	zahrada	CS	?	4	20.8.2009

HR = hostitelská rostlina, CHO = chemická ochrana, SN = stupeň napadení, CS = *Cucumis sativus*, + = provedena CHO, ? = nebyla získána data

Tab. 3. Původ testovaných izolátů v roce 2010.

Číslo izolátu	Kraj	Okres	Lokalita	Stanoviště	HR	CHO + pozn.	SN	Termín sběru
2/10	Olomoucký	OL	Olomouc-Lutín	zahrada	CS	?	1	10.8.2010
8/10	Jihomoravský	BK	Lipovec	zahrada	CS	?	1	10.8.2010
11/10	Jihomoravský	BO	Silůvky	zahrada	CS	?	1	10.8.2010
13/10/2	Jihomoravský	BO	Moravské Bránice	pole	CS	?	1	10.8.2010
15/10	Jihomoravský	ZN	Moravský Krumlov	zahrada	CS	?	1	10.8.2010
16/10	Jihomoravský	ZN	Rybníky	pole	CS	sviluška	1	10.8.2010
18/10	Jihomoravský	ZN	Hostěřadice-Míšovice	zahrada	CS	?	1	10.8.2010
21/10	Jihomoravský	ZN	Lechovice	pole	CS	?	4	10.8.2010
23/10	Pardubický	SY	Bohuňovice	zahrada	CS	?	1	16.8.2010
24/10	Pardubický	UO	České Heřmanice	zahrada	CS	?	2	16.8.2010
26/10	Pardubický	UO	Vračovice-Orlov	zahrada	CS	?	2	16.8.2010
30/10	Pardubický	UO	Choceň	zahrad. kolonie, u Osevy	CS	?	1	16.8.2010
31/10	Pardubický	UO	Choceň	zahrad. kolonie, u Osevy	CS	?	3	16.8.2010
34/10	Královéhradecký	HK	Ledce	zahrada	CS	?	1	16.8.2010

35/10	Královéhradecký	RK	Očelice	zahrada	CS	?	3	16.8.2010
43/10	Královehradecký	JC	Holín	zahrada	CS	+	3	17.8.2010
45/10	Středočeský	MB	Dolní Bousov	zahrada	CS	?	1	17.8.2010
47/10	Středočeský	MB	Ujkovice	zahrada	CS	?	1	17.8.2010
49/10	Středočeský	NY	Mcely	zahrada	CS	?	1	17.8.2010
51/10	Středočeský	NY	Lysá nad Labem	zahradky, bytovky	CS	?	3	17.8.2010
56/10/2	Jihomoravský	HO	Čejč	pole	CS	?	2	24.8.2010
68/10	Zlínský	UH	Ostrožská Nová Ves-Chylice	pole	CS	?	3	24.8.2010

HR = hostitelská rostlina, CHO = chemická ochrana, SN = stupeň napadení, CS = *Cucumis sativus*, + = provedena CHO, ? = nebyla získána data

Tab. 4. Koncentrace testovaných fungicidů.

Účinná látka / Zdrojový přípravek	Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / koncentrace zdrojového přípravku (%)				
	1	2	3*	4	5
Metalaxyl / Ridomil Plus 48 WP	50 / 0.0630	100 / 0.125	200 / 0.250	400 / 0.500	800 / 1.000
Metalaxyl-M / Ridomil Gold MZ 68 WP	25 / 0.0630	50 / 0.125	100 / 0.250	200 / 0.500	400 / 1.000
Propamocarb / Previcur 607 SL	607 / 0.1000	1214 / 0.200	2428 / 0.400	4856 / 0.800	9712 / 1.600
Fosetyl-AI / Aliette 80 WP	400 / 0.0500	800 / 0.100	1600 / 0.200	3200 / 0.400	6400 / 0.800
Cymoxanil / Curzate K	30 / 0.0750	60 / 0.150	120 / 0.300	240 / 0.600	480 / 1.200
Dimethomorph / Acrobat MZ	112.5 / 0.125	225 / 0.250	450 / 0.500	900 / 1.000	1800 / 2.000

* koncentrace doporučená výrobcem přípravku (Minář, 2008)

5. VÝSLEDKY

5. 1. Reakce izolátů z roku 2009 na testované fungicidy

Přípravek **Ridomil Gold MZ 68 WP** s účinnou látkou metalaxyl-M se v roce 2009 jevil jako zcela neúčinný (Tab. 5; Graf 1). Vůči koncentraci doporučené od výrobce 100 µg ú. l./ml byly všechny reakce testovaných izolátů rezistentní, kromě izolátu 46/09, který v této koncentraci vykazoval tolerantní reakci (25 %). Účinnost toho fungicidu byla pozorována až při dvojnásobné koncentraci, t. j. 200 µg ú. l./ml, kdy dva izoláty měly senzitivní reakci a pět izolátů reakci tolerantní. Reakce rezistentní se v nejvyšší testované koncentraci projevovala z 36 %.

Přípravek **Ridomil Plus 48 WP** s účinnou látkou metalaxyl se v roce 2009 projevil neúčinně (Tab. 6; Graf 2). Z testovaných 22 izolátů z různých území České republiky projevovalo 21 izolátů intenzitu sporulace 80 %. Pouze u izolátu 9/09 v koncentraci doporučené výrobcem 200 µg ú.l./ml byl celkový stupeň napadení 29,2 %, jedná se tedy o tolerantní reakci. Při testování vyšších koncentrací fungicidního přípravku se sporulace objevovala méně často. Reakce senzitivní, tedy stupeň napadení menší než 10%, byla pozorována zejména na koncentraci 800 µg ú. l./ml. Pouze jeden izolát 61/09 vykazoval reakci tolerantní.

Přípravek **Acrobat MZ** s účinnou látkou dimethomorph byl účinný z 50 % v doporučené koncentraci (450 µg ú. l./ml) (Tab. 7). Z grafu 3 je zřejmé, že při zvyšující se koncentraci toho přípravku se senzitivní reakce vyskytovala velice často, a to v 96 % na koncentraci 4krát vyšší než doporučené. Na koncentraci nižší než doporučená od výrobce převažovaly z velké části reakce tolerantní či rezistentní. Avšak pouze tři izoláty dokonce výrazně sporulovaly (> 50 %) na koncentracích 112,5 µg ú. l./ml a 225 µg ú. l./ml. Na izolátu 42/09 se sporulace vyskytovala při všech 5 testovaných koncentracích. Izoláty 79/09 (Středočeský kraj) a 56/2/09 (Pardubický kraj) byla senzitivní reakce přítomna po celou dobu testování ke všem testovaným koncentracím.

Přípravek **Curzate K** s účinnou látkou cymoxanil v roce 2009 vykazoval obdobnou účinnost jako Acrobat MZ (Tab. 8; Graf 4). V nižších testovaných koncentracích (30 µg ú. l./ml, 60 µg ú. l./ml) než je koncentrace doporučená výrobcem (120 µg ú. l./ml) výrazně převládala rezistentní reakce. Nicméně už na koncentraci 120 µg ú. l./ml (doporučená koncentrace od výrobce), bylo 68 % izolátů senzitivních, s průměrným stupněm napadení 2,8 %. Jediný izolát 42/09 vykazoval rezistentní reakci až do koncentrace 240 µg ú. l./ml. V nejvyšší testované koncentraci (480 µg ú. l./ml) u tohoto izolátu byla však zaznamenána pouze tolerantní reakce.

Přípravek **Previcur 607 SL** s účinnou látkou propamocarb (Tab. 9) se ukazoval jako účinný s průměrným stupněm napadení 0,3 % v koncentraci doporučené od výrobce (2428 µg ú. l./ml). Senzitivní reakce výrazně převažovala na všech testovaných koncentracích. Vyjímkou byly tři izoláty (24/09, 35/09 a 40/09), které v nejnižší koncentraci (607 µg ú. l./ml) byly rezistentní vůči tomuto fungicidu (Graf 5). Pro podrobnější analýzu bylo hodnocení senzitivní reakce rozšířeno na senzitivní reakci bez sporulace (Ssp-) a senzitivní reakci s limitovanou sporulací (Ssp+). Senzitivní reakci s limitovanou sporulací vykazovalo 40 % testovaných izolátů a 27 % izolátů senzitivní reakci bez sporulace.

Přípravek **Aliette 80 WP** s účinnou látkou fosetyl-Al byl jako jediný v roce 2009 100 % účinný u všech izolátů ve všech koncentracích. U žádného izolátu nebyla pozorována tolerantní ani rezistentní reakce (Tab. 10; Graf 6). Přesto, u některých izolátů byla pozorována senzitivní reakce s limitovanou sporulací (Ssp+) v nejnižší koncentraci (400 µg ú. l./ml). Celkový stupeň napadení byl 2,1 %, což odpovídá senzitivní reakci s limitovanou sporulací.

5. 2. Reakce izolátů z roku 2010 na testované fungicidy

Přípravek **Ridomil Gold MZ 68 WP** s účinnou látkou metalaxyl-M v roce 2010 lze považovat za účinný (Tab. 11; Graf 7). Průměrný celkový stupeň napadení činil 11,5 % na koncentraci doporučené od výrobce (100 µg ú. l./ml). Pouze tři izoláty na této koncentraci projevovaly reakci rezistentní a čtyři izoláty tolerantní reakci. U většiny izolátů v koncentraci nižší než doporučená (50 µg ú. l./ml a 25 µg ú. l./ml) nepřesáhla sporulace 35 % (tolerantní reakce). Na vyšších koncentracích měla výhradně převahu reakce senzitivní, s výjimkou izolátů 13/10/2 a 11/10, kde se objevila reakce tolerantní. Průměrný stupeň napadení v nejvyšší testované koncentraci (400 µg ú. l./ml) byl 2,7 %.

Přípravek **Ridomil Plus 48 WP** s účinnou látkou metalaxyl v roce 2010 měl 55 % účinnost (Tab. 12; Graf 8). Na koncentraci doporučené od výrobce (400 µg ú. l./ml) byl průměrný stupeň napadení 27,3 %, což sice odpovídá tolerantní reakci, ale u jednotlivých izolátů si lze všimnout značných rozdílů. U 6 izolátů nebyla na žádné z testovaných koncentrací pozorována sporulace vyšší jak 50 % a pouze u 8 izolátů na koncentraci doporučené výrobce (400 µg ú. l./ml) se vyskytovala rezistentní reakce. Vyšší koncentrace (800 µg ú. l./ml) již byla zcela účinná vůči testovanému souboru izolátů s průměrným stupněm napadení (P) 0,4 % a na koncentraci 800 µg ú. l./ml nebyla pozorována žádná sporulace.

Přípravek **Acrobat MZ** s účinnou látkou dimethomorph v roce 2010 lze považovat za vysoce účinný (Tab. 13). Doporučená koncentrace tohoto fungicidu

(450 µg ú. l./ml) byla plně účinná, kdy pouze dva izoláty (11/10 a 2/10) vykazovaly nepatrnou sporulaci. Pro hodnoty znázorněné v grafu číslo 9 bylo použito podrobnější hodnocení intenzity sporulace, kdy tyto dva izoláty dosáhly P 2,1 % a 6,3 %, tudíž senzitivní reakce s limitovanou sporulací (Ssp+). Na vyšších koncentracích nebyly zaznamenány žádné sporulace, fungicidní přípravek byl 100 % účinný. U izolátu 2/10 se pouze v koncentraci 2krát nižší jak doporučená vyskytla tolerantní reakce s celkovým stupněm napadení 10,4 % a u 12 izolátů reakce senzitivní s limitovanou sporulací (Ssp+).

Přípravek **Curzate K** s účinnou látkou cymoxanil v roce 2010 byl neúčinný (se sporulací přesahující 50 %) (Tab. 14; Graf 10). 77 % izolátů na doporučené koncentraci (120 µg ú. l./ml) projevovalo rezistentní reakci a 100 % neúčinný byl při nižších koncentracích (60 µg ú. l./ml a 30 µg ú. l./ml). Při nejvyšší koncentraci (640 µg ú. l./ml) fungicidu měly výraznou převahu senzitivní reakce, pouze u dvou izolátů (2/10 a 11/10) se vyskytla reakce tolerantní. Tento fungicidní přípravek lze považovat za účinný až při vysokých koncentracích oproti doporučené.

Přípravek **Previcur 607 SL** s účinnou látkou propamocarb byl účinný u všech izolátů z roku 2010 (Tab. 15; Graf 11). Ani u jednoho testovaného izolátu se v koncentraci doporučené od výrobce (2428 µg ú. l./ml) nevyskytla sporulace. Jenom u koncentrace nižší (1214 µg ú. l./ml) byla zpozorována senzitivní reakce s limitovanou sporulací (Ssp+). U nejnižší koncentrace (607 µg ú. l./ml) byla ve 45 % pozorována omezená sporulace, která přesáhla 2 %. Pouze jediný izolát 47/10 měl v nejnižší koncentraci reakci tolerantní se stupněm napadení 10,4 %.

Přípravek **Aliette 80 WP** s účinnou látkou fosetyl-Al byl v roce 2010 100 % účinný ve všech koncentracích a u všech izolátů (Tab. 16; Graf 12). Vůči tomuto přípravku byly všechny izoláty vysoce senzitivní.

5. 3. Hodnota ED₅₀ v roce 2009 a 2010

Kromě hodnocení intenzity sporulace byly stanoveny hodnoty **ED₅₀** (koncentrace fungicidu inhibující sporulaci patogena o 50 %). Z uvedených výsledků vyplývá, že neúčinné přípravky (ú. l. metalaxyl a metalaxyl-M) měly hodnotu ED₅₀ v intervalu vyšších koncentrací. Zatímco přípravky, účinné v koncentraci doporučené výrobcem (cymoxanil a dimethomorph), měly hodnoty ED₅₀ v intervalu nejnižších koncentrací. Z grafu 13 plyne, že v roce 2009 u metalaxylu byla hodnota ED₅₀ ze 77 % v intervalu 3 - 4 (200 - 400 µg ú. l./ml). U metalaxylu-M se hodnoty ED₅₀ nejčastěji vyskytovaly v intervalu 3 - 4 (100 - 200 µg ú. l./ml) 32 %, z 27 % v intervalu 4 - 5 (200 - 400 µg ú. l./ml) a z 27% v intervalu > 5 (> 400 µg ú. l./ml) . Cymoxanil měl

u 46 % hodnotu ED_{50} v intervalu 2 - 3 (60 - 120 μg ú. l./ml). U dimethomorphu bylo u 91 % izolátů hodnota ED_{50} v intervalu 1 - 2 (112,5 - 225 μg ú. l./ml).

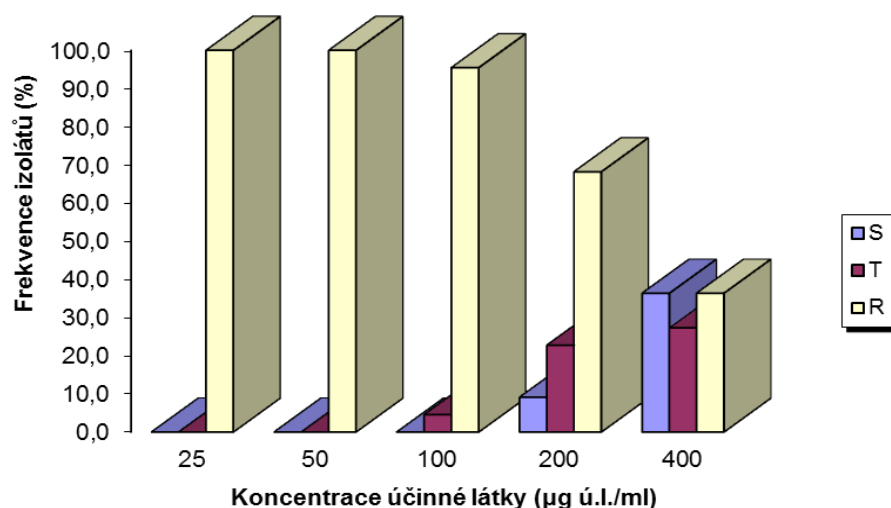
V roce 2010 byla hodnota ED_{50} v intervalu 1 – 2 u tří účinných látek (metalaxyl, metalaxyl-M a dimethomorph) (Graf 14): metalaxyl 77 % (50 - 100 μg ú. l./ml); metalaxyl-M 86 % (25 - 50 μg ú. l./ml) a dimethomorph 100 % (112,5 - 225 μg ú. l./ml). Účinná látka cymoxanil měla zastoupení izolátů v intervalu 3 - 4 (120 - 240 μg ú. l./ml) 41 %.

Srovnáním hodnoty ED_{50} u účinných látek (metalaxyl-M a metalaxyl) v roce 2009 a 2010 u přípravků Ridomil Gold MZ 68 WP a Ridomil Plus 48 WP (Graf 15, 16) bylo zjištěno, že pro oba tyto fungicidy došlo ke snížení hodnoty ED_{50} (interval 3 - 4 na 1 - 2). Ridomil Gold MZ 68 WP měl v roce 2009 32 % zastoupení izolátu v koncentracích 100 - 200 μg ú. l./ml a v roce 2010 vysoké 86 % zastoupení v intervalu 25 - 50 μg ú. l./ml. U Fungicidu Ridomil Plus 48 WP mělo 77 % izolátů hodnotu ED_{50} v roce 2009 v intervalu 200 - 400 μg ú. l./ml a v roce 2010 stejné procentové zastoupení izolátů v intervalu 50 - 100 μg ú. l./ml. Přípravek Acrobat MZ v roce 2009 i v roce 2010 měl hodnotu ED_{50} v intervalu 1 - 2 (112,5 - 250 μg ú. l./ml), a to ze 100 % v roce 2010 (Graf 17). Pouze u přípravku Curzate K s účinnou látkou cymoxanil došlo u testovaného souboru ke zvýšení hodnoty ED_{50} během dvouletého sledování (Graf 18): 46 % izolátů v intervalu 60 - 120 μg ú. l./ml v roce 2009 a v intervalu 120 - 240 μg ú. l./ml v roce 2010 (41 %).

Tab. 5. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Ridomil Gold MZ 68 WP v roce 2009 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml) / typ reakce				
	25	50	100*	200	400	25	50	100*	200	400
9/09	100,0	89,6	100,0	6,3	2,1	+	+	+	-	-
56/2/09	93,8	66,7	43,8	0,0	0,0	+	+	+	-	-
46/09	91,7	43,8	25,0	16,7	2,1	+	+	(-)	(-)	-
61/09	72,9	37,5	39,6	33,3	6,3	+	+	+	(-)	-
68/09	100,0	83,3	68,8	25,0	2,1	+	+	+	(-)	-
85/09	97,9	100,0	72,9	29,2	4,2	+	+	+	(-)	-
86/09	100,0	100,0	87,5	31,3	10,4	+	+	+	(-)	(-)
48/09	68,8	93,8	89,6	75,0	2,1	+	+	+	+	-
63/09	97,9	97,9	62,5	41,7	8,3	+	+	+	+	-
75/09	100,0	100,0	97,9	70,8	29,2	+	+	+	+	(-)
79/09	100,0	93,8	85,4	50,0	12,5	+	+	+	+	(-)
70/09	100,0	100,0	100,0	58,3	12,5	+	+	+	+	(-)
66/09	100,0	100,0	85,4	68,8	31,3	+	+	+	+	(-)
69/09	100,0	93,8	56,3	41,7	27,1	+	+	+	+	(-)
51/09	95,8	75,0	97,9	83,3	37,5	+	+	+	+	+
1/2/09	100,0	100,0	100,0	100,0	60,4	+	+	+	+	+
13/09	100,0	100,0	97,9	100,0	70,8	+	+	+	+	+
18/09	100,0	100,0	95,8	97,9	77,1	+	+	+	+	+
24/09	100,0	100,0	100,0	95,8	66,7	+	+	+	+	+
35/09	100,0	100,0	100,0	100,0	89,6	+	+	+	+	+
40/09	100,0	100,0	100,0	100,0	50,0	+	+	+	+	+
42/09	100,0	100,0	100,0	95,8	70,8	+	+	+	+	+
Průměr	96,3	89,8	81,4	60,7	30,6					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



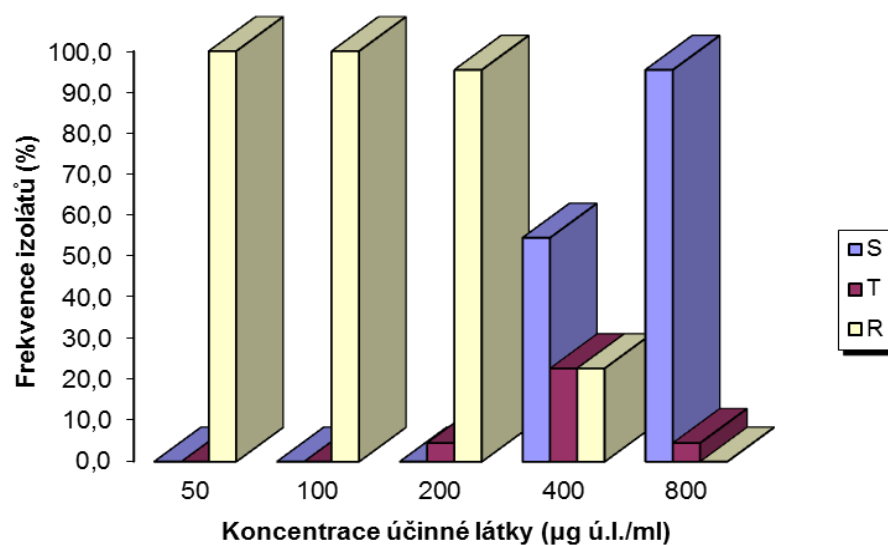
Graf 1. Reakce izolátů *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Ridomil Gold MZ 68 WP v roce 2009.

(S = senzitivní reakce; T = tolerantní reakce; R = rezistentní reakce)

Tab. 6. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Ridomil Plus 48 WP v roce 2009 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / typ reakce				
	50	100	200*	400	800	50	100	200*	400	800
9/09	100,0	91,7	29,2	2,1	0,0	+	+	(-)	-	-
6/09	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	+	+	+	-	-
70/09	100,0	100,0	91,7	0,0	0,0	+	+	+	-	-
66/09	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	+	+	+	-	-
69/09	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	+	+	+	-	-
85/09	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	+	+	+	-	-
75/09	100,0	100,0	100,0	6,3	0,0	+	+	+	-	-
79/09	100,0	100,0	100,0	2,1	0,0	+	+	+	-	-
56/2/09	97,9	100,0	95,8	0,0	0,0	+	+	+	-	-
51/09	97,9	100,0	91,7	0,0	0,0	+	+	+	-	-
24/09	100,0	100,0	100,0	4,2	0,0	+	+	+	-	-
40/09	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	+	+	+	-	-
42/09	100,0	100,0	95,8	14,6	0,0	+	+	+	(-)	-
18/09	100,0	100,0	100,0	25,0	0,0	+	+	+	(-)	-
86/09	100,0	100,0	100,0	29,2	0,0	+	+	+	(-)	-
48/09	75,0	100,0	97,9	12,5	0,0	+	+	+	(-)	-
46/09	95,8	95,8	89,6	12,5	2,1	+	+	+	(-)	-
1/2/09	100,0	100,0	100,0	72,9	0,0	+	+	+	+	-
13/09	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	+	+	+	+	-
35/09	100,0	100,0	100,0	93,8	6,3	+	+	+	+	-
68/09	100,0	100,0	100,0	62,5	0,0	+	+	+	+	-
61/09	97,9	100,0	100,0	43,8	14,6	+	+	+	+	(-)
Průměr	98,4	99,4	95,1	21,9	1,0					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem

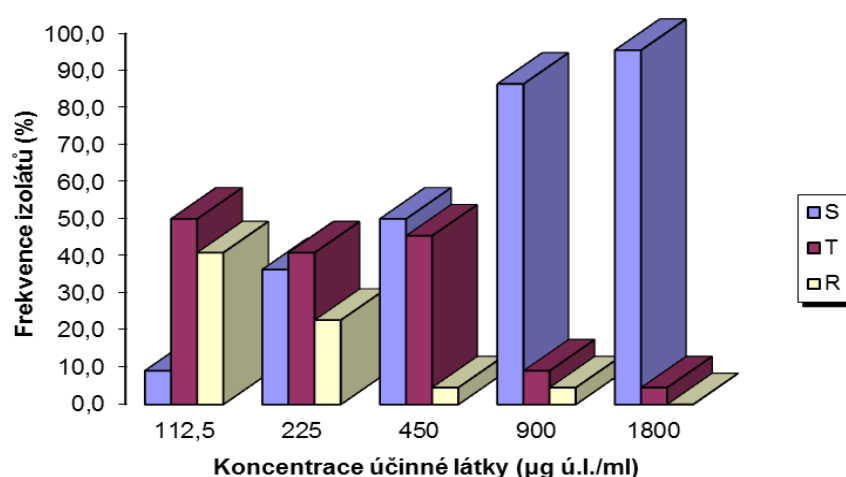


Graf 2. Reakce izolátu *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Ridomil Plus 48 WP v roce 2009. (S = senzitivní reakce; T = tolerantní reakce; R = rezistentní reakce)

Tab. 7. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Acrobat MZ v roce 2009 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml) / typ reakce				
	112,5	225	450*	900	1800	112,5	225	450*	900	1800
79/09	8,3	6,3	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
56/2/09	2,1	0,0	2,1	0,0	0,0	-	-	-	-	-
51/09	10,4	4,2	6,3	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
61/09	14,6	6,3	4,2	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
86/09	20,8	4,2	6,3	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
48/09	16,7	2,1	2,1	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
46/09	33,3	8,3	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
9/09	27,1	4,2	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
68/09	14,6	16,7	0,0	0,0	0,0	(-)	(-)	-	-	-
85/09	16,7	20,8	2,1	2,1	0,0	(-)	(-)	-	-	-
66/09	10,4	14,6	4,2	0,0	0,0	(-)	(-)	-	-	-
70/09	25,0	20,8	10,4	0,0	0,0	(-)	(-)	(-)	-	-
75/09	20,8	22,9	18,8	0,0	0,0	(-)	(-)	(-)	-	-
18/09	47,9	20,8	29,2	2,1	2,1	+	(-)	(-)	-	-
69/09	35,4	14,6	16,7	8,3	0,0	+	(-)	(-)	-	-
63/09	35,4	31,3	18,8	0,0	0,0	+	(-)	(-)	-	-
13/09	50,0	29,2	22,9	22,9	0,0	+	(-)	(-)	(-)	-
1/2/09	66,7	43,8	25,0	4,2	0,0	+	+	(-)	-	-
24/09	35,4	39,6	12,5	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
35/09	56,3	37,5	25,0	4,2	0,0	+	+	(-)	-	-
40/09	64,6	52,1	31,3	14,6	0,0	+	+	(-)	(-)	-
42/09	93,8	62,5	62,5	47,9	33,3	+	+	+	+	(-)
Průměr	31,5	21,6	13,6	4,8	1,6					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



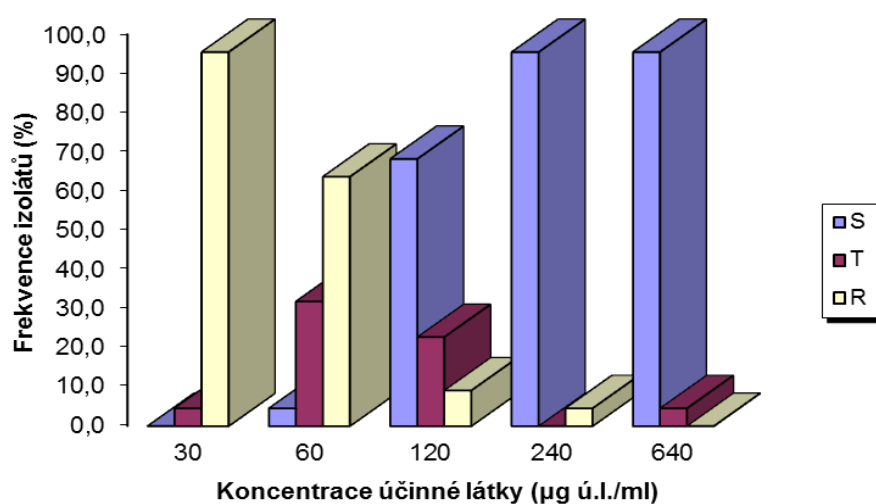
Graf 3. Reakce izolátu *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Acrobat MZ v roce 2009.

(S = senzitivní reakce; T = tolerantní reakce; R = rezistentní reakce)

Tab. 8. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Curzate K v roce 2009 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / typ reakce				
	30	60	120*	240	480	30	60	120*	240	640
56/2/09	16,7	16,7	2,1	0,0	0,0	(-)	(-)	-	-	-
9/09	62,5	0,0	0,0	0,0	0,0	+	-	-	-	-
68/09	87,5	31,3	0,0	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
75/09	91,7	29,2	0,0	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
66/09	43,8	29,2	4,2	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
46/09	66,7	16,7	0,0	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
1/2/09	87,5	31,3	2,1	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
51/09	93,8	33,3	2,1	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
13/09	83,3	85,4	8,3	0,0	0,0	+	+	-	-	-
85/09	100,0	68,8	8,3	0,0	0,0	+	+	-	-	-
86/09	95,8	43,8	2,1	0,0	0,0	+	+	-	-	-
48/09	89,6	52,1	0,0	0,0	0,0	+	+	-	-	-
18/09	85,4	60,4	2,1	0,0	0,0	+	+	-	-	-
24/09	83,3	41,7	6,3	0,0	0,0	+	+	-	-	-
40/09	97,9	56,3	4,2	2,1	0,0	+	+	-	-	-
35/09	52,1	52,1	16,7	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
79/09	91,7	52,1	16,7	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
61/09	72,9	60,4	10,4	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
69/09	97,9	87,5	27,1	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
63/09	100,0	89,6	20,8	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
70/09	100,0	81,3	58,3	2,1	0,0	+	+	+	-	-
42/09	100,0	100,0	100,0	70,8	20,8	+	+	+	+	(-)
Průměr	81,8	50,9	13,3	3,4	0,9					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



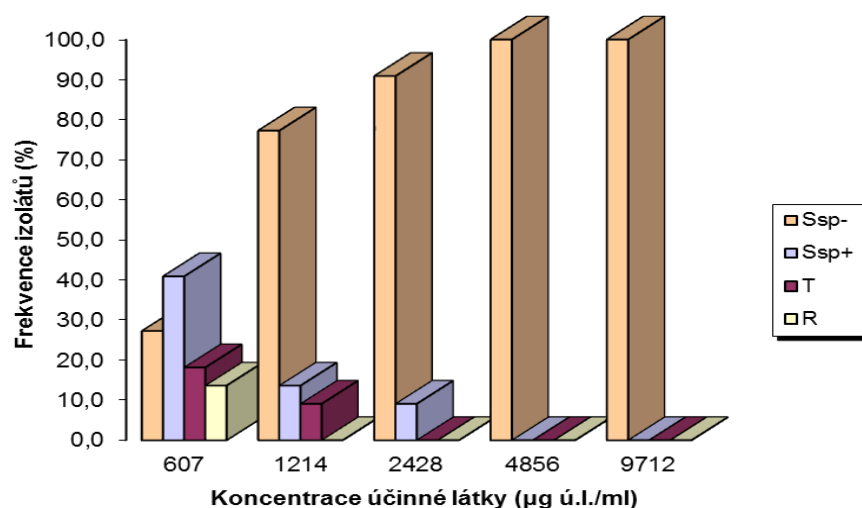
Graf 4. Reakce izolátu *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Curzate K v roce 2009.

(S = senzitivní reakce; T = tolerantní reakce; R = rezistentní reakce)

Tab. 9. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Previcur 607 SL v roce 2009 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / typ reakce				
	607	1214	2428*	4856	9712	607	1214	2428*	4856	9712
48/09	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
46/09	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
9/09	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
63/09	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
70/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
66/09	8,3	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
69/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
85/09	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
86/09	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
68/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
75/09	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
79/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
61/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
56/2/09	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
51/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
18/09	14,6	0,0	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
42/09	31,3	4,2	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
13/09	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
1/2/09	20,8	10,4	4,2	0,0	0,0	(-)	(-)	-	-	-
24/09	37,5	4,2	0,0	0,0	0,0	+	-	-	-	-
35/09	37,5	6,3	0,0	0,0	0,0	+	-	-	-	-
40/09	45,8	20,8	2,1	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
Průměr	11,2	2,1	0,3	0,0	0,0					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



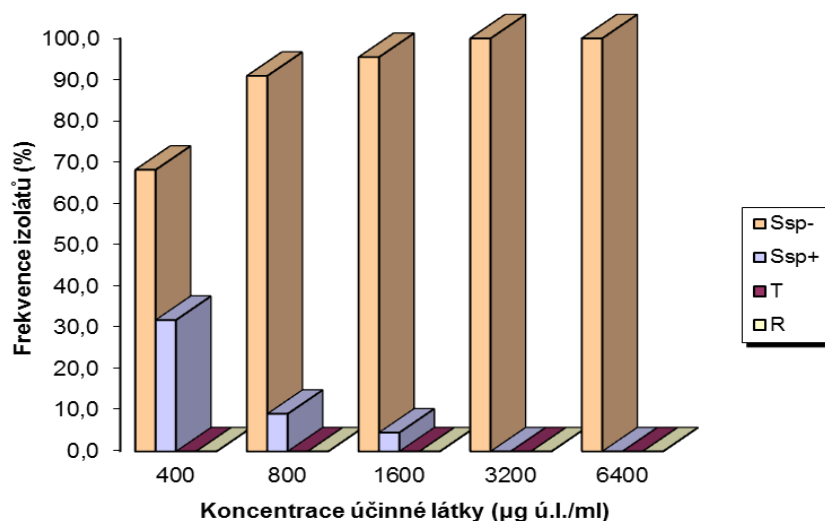
Graf 5. Reakce izolátu *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Previcur 607 SL v roce 2009.

(Ssp- senzitivní reakce bez sporulace; Ssp+ senzitivní reakce s limitovanou sporulací).

Tab. 10. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Aliette 80 WP v roce 2009 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml) / typ reakce				
	400	800	1600*	3200	6400	400	800	1600*	3200	6400
48/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
9/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
63/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
70/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
66/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
85/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
86/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
68/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
75/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
79/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
61/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
56/2/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
1/2/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
40/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
42/09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
46/09	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
69/09	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
51/09	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
18/09	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
24/09	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
13/09	2,1	2,1	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
35/09	2,1	2,1	2,1	0,0	0,0	-	-	-	-	-
Průměr	0,7	0,2	0,1	0,0	0,0					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



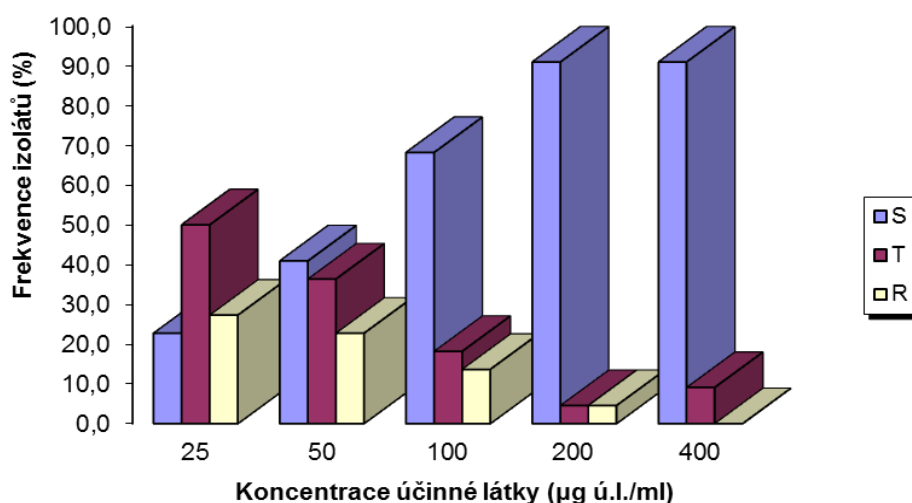
Graf 6. Reakce izolátů *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Aliette 80 WP v roce 2009.

(Ssp- senzitivní reakce bez sporulace; Ssp+ senzitivní reakce s limitovanou sporulací).

Tab.11. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Ridomil Gold MZ 68 WP v roce 2010 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / typ reakce				
	25	50	100*	200	400	25	50	100*	200	400
45/10	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
16/10	4,2	2,1	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
15/10	4,2	2,1	6,3	0,0	0,0	-	-	-	-	-
21/10	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
24/10	8,3	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
47/10	14,6	4,2	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
43/10	14,6	8,3	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
8/10	20,8	2,1	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
56/10/2	33,3	4,2	2,1	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
18/10	33,3	10,4	2,1	0,0	0,0	(-)	(-)	-	-	-
31/10	14,6	10,4	4,2	0,0	0,0	(-)	(-)	-	-	-
49/10	25,0	14,6	0,0	0,0	0,0	(-)	(-)	-	-	-
34/10	33,3	12,5	4,2	0,0	0,0	(-)	(-)	-	-	-
23/10	10,4	33,3	10,4	2,1	0,0	(-)	(-)	(-)	-	-
26/10	22,9	18,8	10,4	2,1	0,0	(-)	(-)	(-)	-	-
30/10	31,3	22,9	12,5	0,0	0,0	(-)	(-)	(-)	-	-
68/10	37,5	10,4	8,3	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
51/10	39,6	35,4	8,3	0,0	0,0	+	+	-	-	-
35/10	35,4	37,5	25,0	4,2	0,0	+	+	(-)	-	-
2/10	75,0	66,7	60,4	8,3	6,3	+	+	+	-	-
13/10/2	87,5	52,1	41,7	20,8	29,2	+	+	+	(-)	(-)
11/10	85,4	60,4	56,3	35,4	25,0	+	+	+	+	(-)
Průměr	29,1	18,6	11,5	3,3	2,7					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



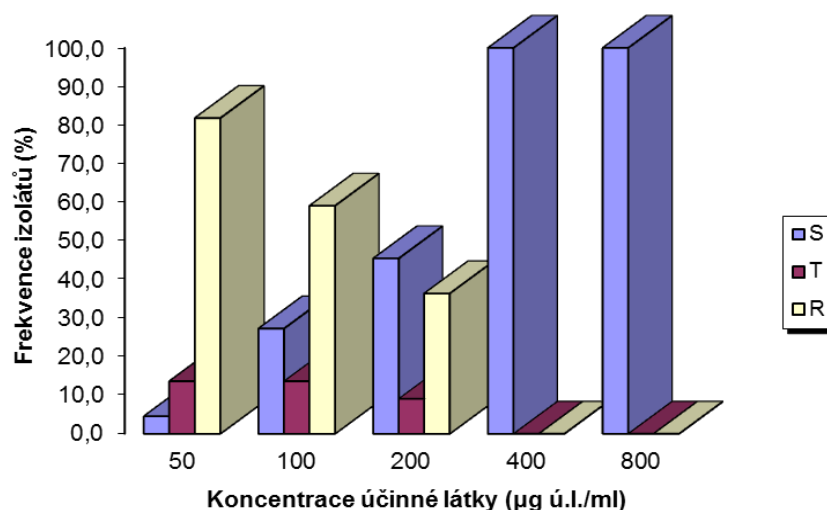
Graf 7. Reakce izolátu *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Ridomil Gold MZ 68 WP v roce 2010.

(S = senzitivní reakce; T = tolerantní reakce; R = rezistentní reakce)

Tab. 12. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Ridomil Plus 48 WP v roce 2010 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / typ reakce				
	50	100	200*	400	800	50	100	200*	400	800
24/10	6,3	6,3	2,1	0,0	0,0	-	-	-	-	-
45/10	27,1	0,0	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
15/10	33,3	4,2	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
16/10	12,5	4,2	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
21/10	35,4	0,0	0,0	0,0	0,0	+	-	-	-	-
30/10	41,7	0,0	0,0	0,0	0,0	+	-	-	-	-
31/10	60,4	10,4	0,0	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
43/10	60,4	14,6	0,0	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
56/10/2	60,4	16,7	0,0	0,0	0,0	+	(-)	-	-	-
23/10	45,8	47,9	6,3	0,0	0,0	+	+	-	-	-
34/10	77,1	35,4	0,0	0,0	0,0	+	+	-	-	-
8/10	62,5	52,1	8,3	0,0	0,0	+	+	-	-	-
18/10	60,4	66,7	14,6	2,1	0,0	+	+	(-)	-	-
51/10	91,7	83,3	31,3	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
68/10	100,0	35,4	39,6	0,0	0,0	+	+	+	-	-
35/10	100,0	93,8	66,7	0,0	0,0	+	+	+	-	-
49/10	100,0	95,8	47,9	0,0	0,0	+	+	+	-	-
47/10	95,8	93,8	60,4	0,0	0,0	+	+	+	-	-
2/10	100,0	97,9	89,6	0,0	0,0	+	+	+	-	-
13/10/2	100,0	97,9	64,6	0,0	0,0	+	+	+	-	-
11/10	100,0	100,0	85,4	2,1	0,0	+	+	+	-	-
26/10	100,0	83,3	83,3	4,2	0,0	+	+	+	-	-
Průměr	66,9	47,3	27,3	0,4	0,0					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



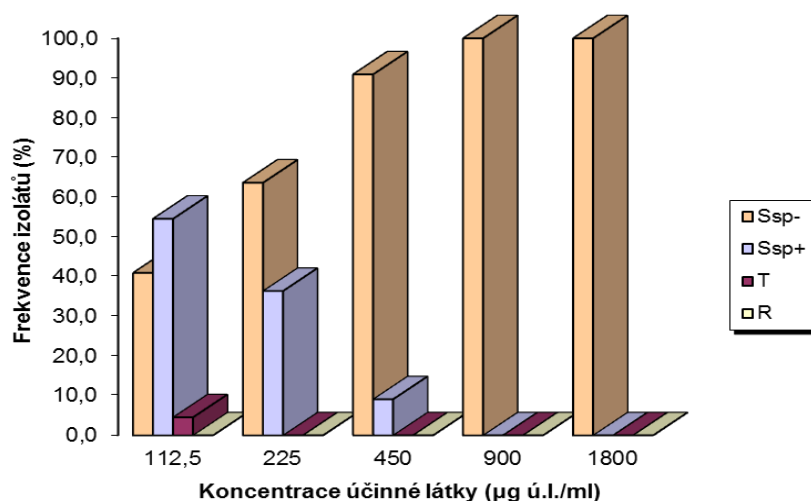
Graf 8. Reakce izolátů *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Ridomil Plus 48 WP v roce 2010.

(S = senzitivní reakce; T = tolerantní reakce; R = rezistentní reakce)

Tab. 13. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Acrobat MZ v roce 2010 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (µg ú.l./ml) / typ reakce				
	112,5	225	450*	900	1800	112,5	225	450*	900	1800
18/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
56/10/2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
51/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
43/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
15/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
23/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
49/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
47/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
26/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
45/10	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
24/10	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
35/10	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
31/10	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
16/10	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
21/10	2,1	2,1	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
68/10	2,1	2,1	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
34/10	2,1	2,1	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
13/10/2	6,3	2,1	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
30/10	2,1	4,2	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
8/10	4,2	2,1	2,1	0,0	0,0	-	-	-	-	-
11/10	6,3	2,1	6,3	0,0	0,0	-	-	-	-	-
2/10	10,4	8,3	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
Průměr	2,5	1,1	0,4	0,0	0,0					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



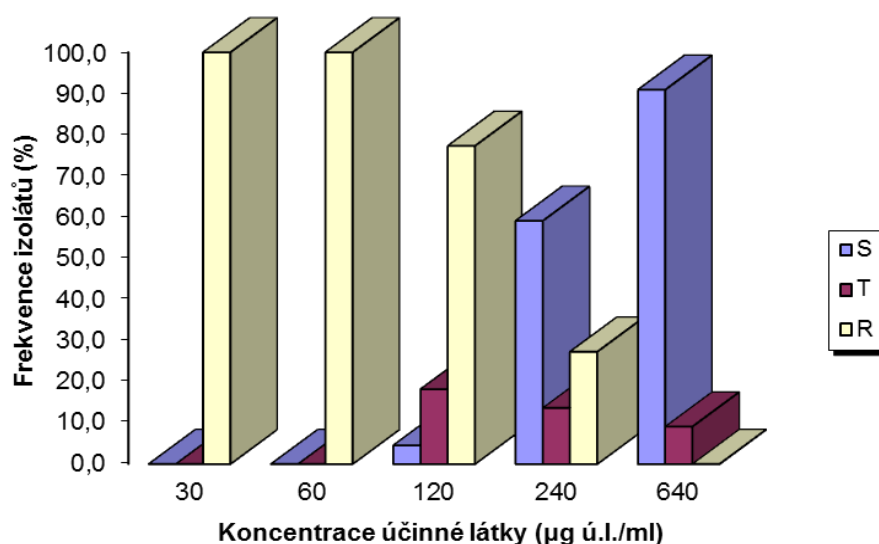
Graf 9. Reakce izolátů *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Acrobat MZ v roce 2010.

(Ssp- senzitivní reakce bez sporulace; Ssp+ senzitivní reakce s limitovanou sporulací).

Tab. 14. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Curzate K v roce 2010 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / typ reakce				
	30	60	120*	240	480	30	60	120*	240	640
24/10	77,1	52,1	6,3	0,0	0,0	+	+	-	-	-
51/10	89,6	41,7	10,4	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
18/10	50,0	64,6	25,0	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
21/10	66,7	64,6	29,2	0,0	0,0	+	+	(-)	-	-
15/10	93,8	54,2	25,0	2,1	0,0	+	+	(-)	-	-
45/10	93,8	47,9	39,6	0,0	0,0	+	+	+	-	-
56/10/2	100,0	77,1	43,8	0,0	0,0	+	+	+	-	-
16/10	87,5	68,8	47,9	2,1	0,0	+	+	+	-	-
31/10	97,9	91,7	60,4	8,3	0,0	+	+	+	-	-
30/10	91,7	81,3	64,6	6,3	0,0	+	+	+	-	-
43/10	95,8	77,1	79,2	6,3	0,0	+	+	+	-	-
8/10	91,7	89,6	62,5	6,3	0,0	+	+	+	-	-
23/10	95,8	62,5	39,6	8,3	2,1	+	+	+	-	-
68/10	100,0	100,0	100,0	12,5	0,0	+	+	+	(-)	-
34/10	100,0	87,5	60,4	16,7	0,0	+	+	+	(-)	-
35/10	97,9	89,6	50,0	33,3	0,0	+	+	+	(-)	-
49/10	95,8	93,8	39,6	50,0	0,0	+	+	+	+	-
47/10	97,9	89,6	58,3	43,8	8,3	+	+	+	+	-
26/10	100,0	100,0	64,6	43,8	4,2	+	+	+	+	-
13/10/2	100,0	91,7	91,7	52,1	8,3	+	+	+	+	-
2/10	100,0	100,0	85,4	68,8	14,6	+	+	+	+	(-)
11/10	100,0	100,0	100,0	75,0	20,8	+	+	+	+	(-)
Průměr	92,0	78,4	53,8	19,8	2,7					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



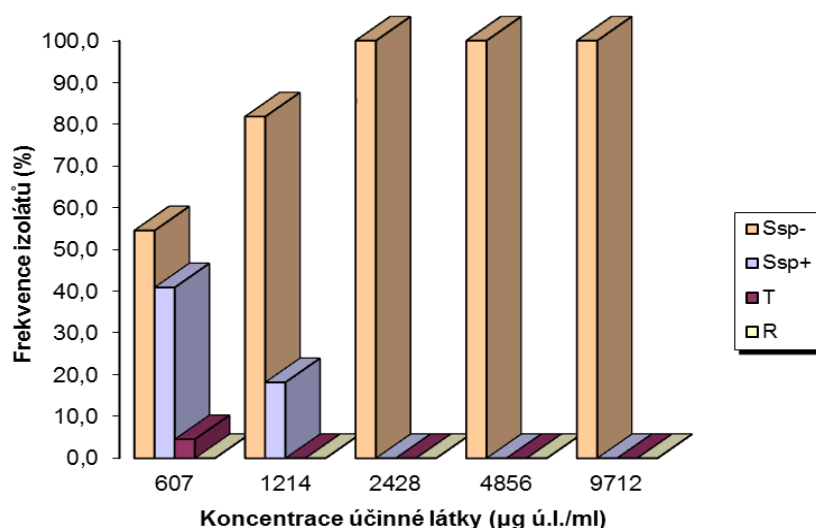
Graf 10. Reakce izolátu *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Curzate K v roce 2010.

(S = senzitivní reakce; T = tolerantní reakce; R = rezistentní reakce)

Tab. 15. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Previcur 607 SL v roce 2010 14. den po inokulaci.

Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / typ reakce				
	607	1214	2428*	4856	9712	607	1214	2428*	4856	9712
18/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
56/10/2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
51/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
8/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
43/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
15/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
16/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
45/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
21/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
24/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
23/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
31/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
11/10	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
34/10	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
35/10	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
13/10/2	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
68/10	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
26/10	6,3	2,1	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
49/10	4,2	2,1	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
2/10	4,2	6,3	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
30/10	6,3	4,2	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
47/10	10,4	0,0	0,0	0,0	0,0	(-)	-	-	-	-
Průměr	2,2	0,7	0,0	0,0	0,0					

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem



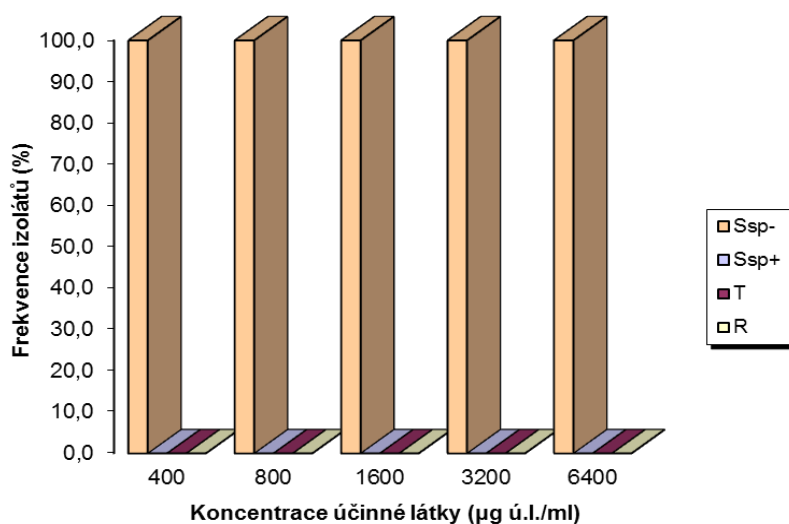
Graf 11. Reakce izolátu *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Previcur 607 SL v roce 2010.

(Ssp- senzitivní reakce bez sporulace; Ssp+ senzitivní reakce s limitovanou sporulací).

Tab. 16. Celkový stupeň napadení (P) listových disků a typ reakce izolátů *P. cubensis* ošetřených fungicidem Aliette 80 WP v roce 2010 14. den po inokulaci.

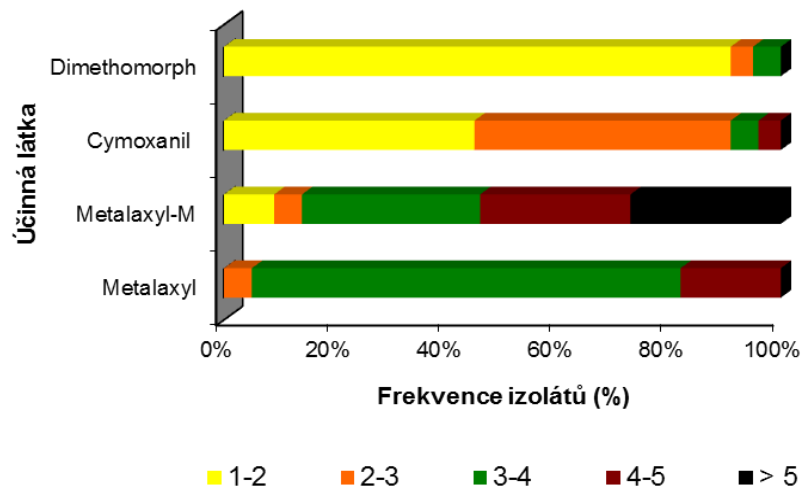
Číslo izolátu	Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / P (%)					Koncentrace účinné látky (μg ú.l./ml) / typ reakce				
	400	800	1600*	3200	6400	400	800	1600*	3200	6400
2/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
18/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
56/10/2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
51/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
8/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
13/10/2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
11/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
43/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
15/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
16/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
45/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
21/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
24/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
68/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
23/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
31/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
30/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
34/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
35/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
49/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
47/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
26/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-
Průměr	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-	-

- = senzitivní reakce (P = 0-10 %); (-) = tolerantní reakce (P = 10- 35 %); + = rezistentní reakce (P > 35 %); * = koncentrace doporučená výrobcem

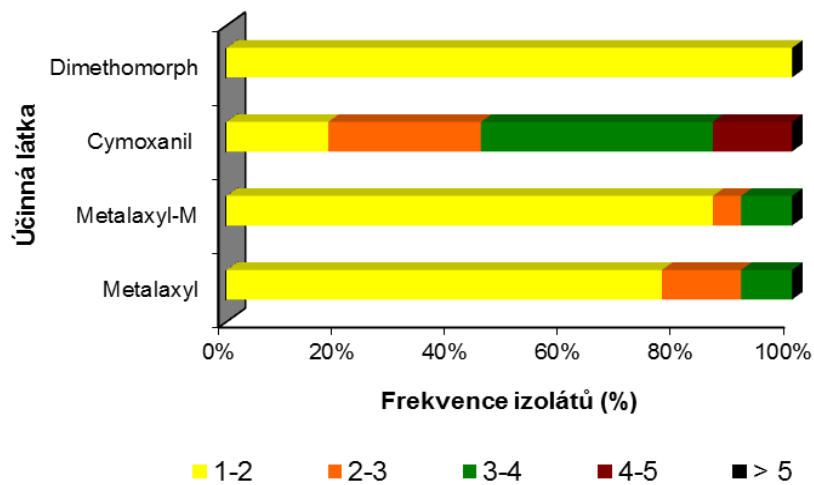


Graf 12. Reakce izolátu *P. cubensis* při testovaných koncentracích fungicidu Aliette 80 WP v roce 2010.

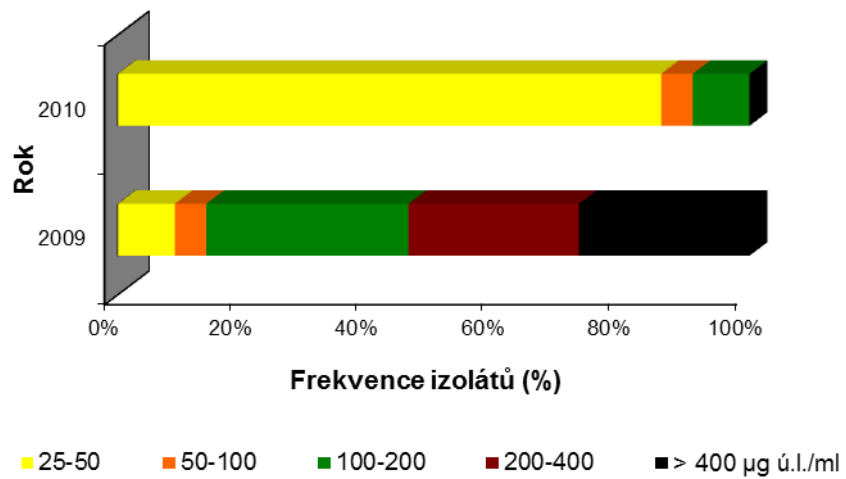
(Ssp- senzitivní reakce bez sporulace; Ssp+ senzitivní reakce s limitovanou sporulací)



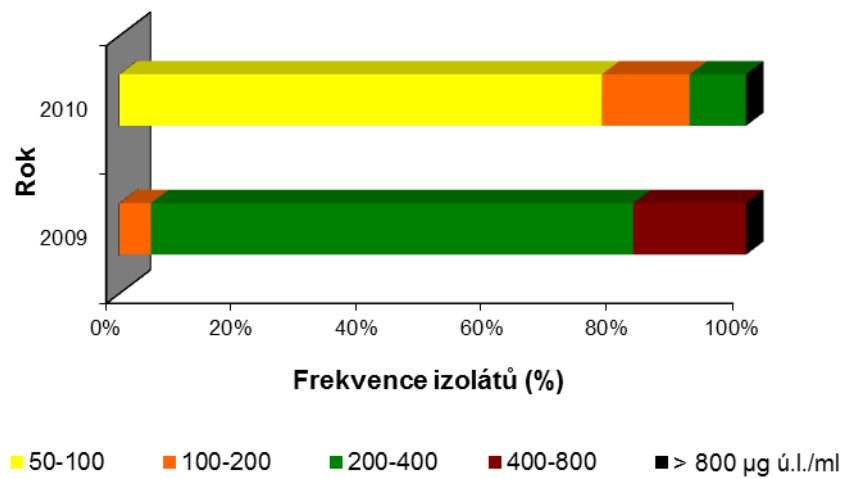
Graf 13. Hodnoty ED₅₀ pro dimethomorph, cymoxanil, metalaxyl-M a metalaxyl v roce 2009 (hodnoty 1 až 5 viz. Tab.).



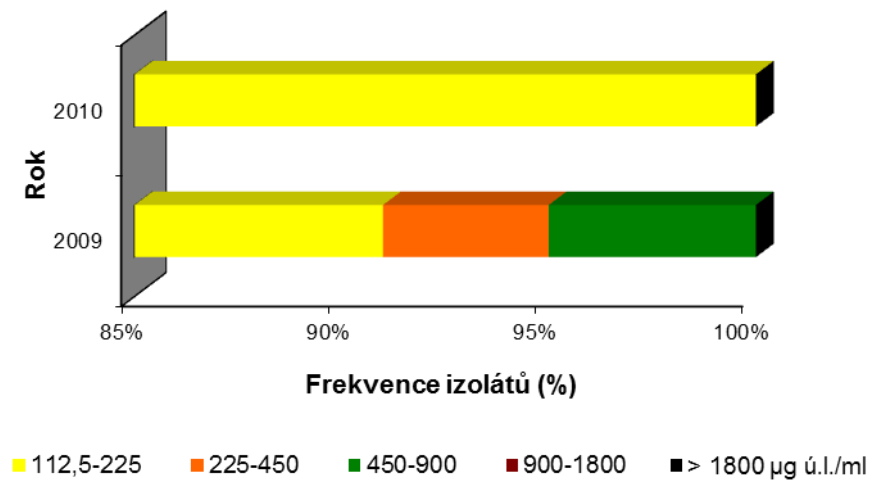
Graf 14. Hodnoty ED₅₀ pro dimethomorph, cymoxanil, metalaxyl-M a metalaxyl v roce 2010 (hodnoty 1 až 5 viz. Tab.).



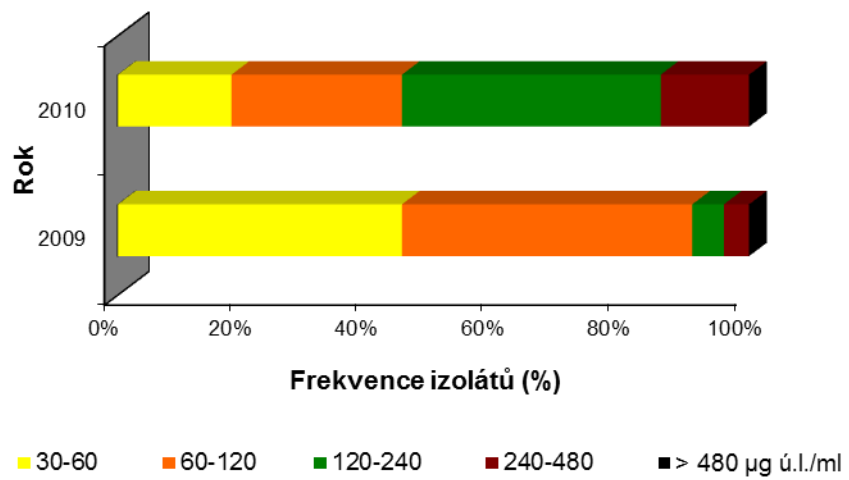
Graf 15. Hodnoty ED₅₀ fungicidu Ridomil Gold MZ 68 WP v roce 2009 a 2010.



Graf 16. Hodnoty ED₅₀ fungicidu Ridomil Plus 48 WP v roce 2009 a 2010.



Graf 17. Hodnoty ED₅₀ fungicidu Acrobat MZ v roce 2009 a 2010.



Graf 18. Hodnoty ED₅₀ fungicidu Curzate K v roce 2009 a 2010.

6. DISKUZE

V průběhu let 2009 a 2010 byla účinnost vybraných fungicidů testováno celkem u 44 izolátů *P. cubensis* sesbíraných na *Cucumis sativus* z různých lokalit České republiky (22/2009; 22/2010). K testování byla použita modifikovaná metoda listových disků (Anonymous, 1982; Lebeda 1986c). Detekce a intenzita napadení plísní okurkovou byla pozorována na listových discích citlivého kultivaru *C. sativus* 'Marketer 430' 6. - 14. den po inokulaci. Účinnost se ve sledovaném období lišila.

Přípravek **Ridomil Gold MZ 68 WP** s účinnou látkou metalaxyl-M se jevil jako neúčinný v roce 2009. Téměř všechny testované izoláty *P. cubensis* vykazovaly rezistentní reakci (81,4 %) na sledované hodnotě koncentrace 100 µg ú. l./ml. Z uvedených hodnot je tedy zřejmé, že tento fungicid byl v roce 2009 zcela neúčinný, kdy v populaci patogenu převažují vysoce rezistentní kmeny s výraznou sporulací. Tato skutečnost souhlasí s dřívějším pozorováním (Hübschová a Lebeda, 2010), kdy od roku 2005 docházelo ke zvyšování rezistence (stejný poměr senzitivních, tolerantních a rezistentních reakcí), v roce 2006 bylo už 90 % izolátů rezistentních a tento fakt se potvrdil v letech 2007 a 2008 (výsledky z těchto dvou let prezentovány v diplomové práci M. Němcové, 2012; Hübschová a Lebeda, 2010). Avšak výsledky v roce 2010 naznačily opačnou tendenci. Účinnost přípravku Ridomil Gold MZ 68 WP stoupla, průměrný stupeň napadení činil 11,5 % a pouze 3 izoláty vykazovaly rezistentní reakci. Při koncentracích vyšších než je doporučeno (200 µg ú. l./ml a 400 µg ú. l./ml) převažovala reakce senzitivní. Počátek testování toho přípravku započal v České republice v roce 2005, z toho důvodu údaje o rezistenci do roku 2005 nejsou známy.

Přípravek **Ridomil Plus 48 WP** s účinnou látkou metalaxyl byl v roce 2009 zcela neúčinný. Všechny izoláty vykazovaly rezistentní reakci, z toho pouze jeden izolát reagoval tolerantně. Se zvyšující se koncentrací toho přípravku v populaci patogena docházelo k nárůstu senzitivních a tolerantních kmenů, přičemž na nejvyšší testované koncentraci (800 µg ú. l./ml) převažovaly senzitivní reakce. Na možný vznik a existenci rezistence k metalaxylu v populacích *P. cubensis* na území České republiky pravděpodobně poprvé upozornil Ackermann (1990), ale výskyt metalaxyl-rezistentních kmenů byl potvrzen v české populaci *P. cubensis* až v roce 1995. Do roku 2000 v ČR převládaly senzitivní kmeny (Urban a Lebeda, 2004b). Výskyt rezistentních kmenů v populacích *P. cubensis* na přípravek Ridomil Plus 48 WP (ú. l. metalaxyl) byl poté poprvé zaznamenán v roce 2001, tedy na počátku výzkumu této problematiky na Katedře botaniky PřF UP v Olomouci, a rovněž v následujících letech (Hübschová a Lebeda, 2010; Němcová, 2012). První zmínky ve světě pocházejí již z 80. let 20. st., kdy jsou příkladem informace získané na základě testování rezistence *P. cubensis* vůči

metalaxylu v Izraeli v letech 1980 - 1984, po jeho selhání v roce 1979 (Samoucha a Cohen, 1985). Do roku 2010 již byly výskyty rezistence potvrzeny i z Řecka, Itálie, USA a Ruska (Lebeda a Cohen, 2012). Avšak z okolních zemí nejsou výsledky o rezistenci známe (Gisi, 2002; Urban a Lebeda, 2007). V roce 2010 však účinnost toho přípravku stoupla, obdobně jak u přípravku Ridomil Gold MZ 68 WP. V hodnotách testovaných koncentrací doporučených od výrobce (200 µg ú. l./ml) se vyskytují u 12 izolátů senzitivní reakce a u 2 izolátů reakce tolerantní. Se zvyšující se koncentrací se podíl tolerantních a senzitivních reakcí zvyšuje. Při koncentraci nejvyšší nebyly sporulace zaznamenány vůbec.

Jeden z důvodů rezistence k metalaxylu je časté použití přípravku v naší populaci a dá se předpokládat i rezistence k metalaxylu-M, který je součástí stejné chemické skupiny.

Přípravek **Acrobat MZ** s účinnou látkou dimethomorph, z jeho výsledků z roku 2009 je zřejmé, že 50 % z 22 testovaných izolátů vykazuje reakci senzitivní, 10 izolátů reakci tolerantní a pouze jeden izolát rezistentní reakci. Větší počet tolerantních reakcí se vyskytovala i při koncentracích 225 µg ú. l./ml a 112,5 µg ú. l./ml. Značný nárůst účinnosti v roce 2010 byl pozorován i v nižší koncentraci než je doporučená od výrobce (225 µg ú. l./ml), kde došlo k nárůstu senzitivní reakce. V nejnižší koncentraci byla pozorována pouze nízká sporulace. Při koncentraci doporučené od výrobce 450 µg ú. l./ml a vyšší byl fungicid účinný na 100 %. Od roku 2005 se efektivita u tohoto přípravku při koncentraci doporučené od výrobce mění. V roce 2005 z 68 % vykazoval rezistentní reakci, v roce 2006 byl poměr tolerantních a rezistentních reakcí zhruba stejný. V následujícím roce už ovšem tolerantní reakce byla na 85 % a rezistentní pouze 15 % a v roce 2008 byl fungicid Acrobat MZ u všech testovaných fungicidů z 55 % senzitivní (Hübschová a Lebeda, 2010; Němcová, 2012). Ze zahraničí je výskyt rezistentních/tolerantních kmenů vůči *P. cubensis* znám pouze z roku 2006 v Izraeli (Urban a Lebeda, 2006; Lebeda a Cohen, 2011).

Přípravek **Curzate K** s účinnou látkou cymoxanil můžeme v roce 2009 považovat za účinný, převažovala u všech izolátů reakce senzitivní. Nicméně v roce 2010 byla v koncentraci 120 µg ú. l./ml zaznamenána rezistence u 77 % izolátů, celkový stupeň napadení přesahoval 50 %. Při snížené koncentraci na rozdíl od doporučené již byly ve 100 % přítomny pouze reakce rezistentní. Účinnost toho přípravku byla potvrzena v roce 2005, kdy bylo v doporučené koncentraci (120 µg ú. l./ml) přibližně 60 % izolátů rezistentních. V letech 2006 - 2008 již byla rezistence u patogenu zaznamenána u všech izolátů (Hübschová a Lebeda, 2010; Němcová, 2012).

Během studovaných let se účinky těchto přípravků Acrobat MZ a Curzate K měnil. Populace *P. cubensis* je heterogenní v patogenitě, frekvence jejich kmenů se v průběhu let mění. V Evropě se vysoce rezistentní kmeny vyskytují převážně v centrální oblasti, zde však nejsou oospory známe, a dochází k velkému mísení a kombinaci populací v důsledku transportu spor na dlouhé vzdálenosti (Lebeda, 1990).

Přípravek **Previcur 607 SL** s účinnou látkou propamocarb byl v obou testovaných letech 2009 a 2010 účinný. V koncentraci doporučené výrobcem (2428 µg ú. l./ml) všechny izoláty vykazovaly senzitivní reakci. Rozdíl v testovaných izolátech byl až při nižších koncentracích. V roce 2009 se v koncentraci nejnižší (1214 µg ú. l./ml) vyskytovaly i reakce tolerantní a 3 izoláty měly senzitivní reakci s limitovanou sporulací (Ssp+). Nicméně při koncentraci 607 µg ú. l./ml se vyskytly i rezistentní reakce. Oproti tomu v roce 2010 se pouze u jednoho izolátu objevila tolerantní reakce a to při nejnižší koncentraci, celkový stupeň napadení činil 10,4 %. Průměrný celkový stupeň napadení nepřesáhl u fungicidního příptavku Previcur 607 SL více jak 2,2 % u všech izolátů při všech koncentracích. Porovnáme-li hodnoty účinnosti v těchto dvou letech, účinnější byl tento přípravek v roce 2010. Tento výzkum byl započat v ČR v roce 2001, kdy do roku 2003 vykazovaly testované izoláty citlivost ke všem použitým koncentracím. Výsledky této diplomové práce potvrdily trend posledních let, kdy v nejnižších koncentracích se u patogena vyskytovaly i tolerantní reakce (Hübschová a Lebeda, 2010; Němcová, 2012).

Přípravek **Aliette 80 WP** s účinnou látkou fosetyl-Al vykazoval nejvyšší účinnost ze všech 6 fungicidů, které byly použity pro tuto práci. V letech 2009 i 2010 byly při všech koncentracích u všech izolátů zaznamenány pouze senzitivní reakce. V roce 2009 byla u nejnižší koncentrace z 5 možných zaznamenána senzitivní reakce s limitující sporulací, avšak žádná nepřekročila hodnotu celkového stupně napadení 2,1 %. V roce 2010 už byla u všech 22 izolátů dokázána senzitivní reakce bez sporulace (Ssp-). Publikované výsledky z předešlých let z území ČR prokázaly vysokou efektivitu přípravku Aliette 80 WP (Urban a Lebeda, 2004a,b). Nicméně existence rezistence reakce v populaci *P. cubensis* na našem území byla potvrzena v roce 2001 v nejnižší koncentraci (400 µg ú.l./ml) (Urban a Lebeda, 2004a,b). Tato skutečnost nebyla potvrzena v následujících letech (Lebeda a Urban, 2005; Hübschová a Lebeda, 2010; Němcová, 2012).

Ačkoli byla vůči *P. cubensis* potvrzena vysoká fungicidní účinnost k oběma výše jmenovaným látkám propamocarbu (Previcur 607 SL) a fosetylu-Al (Aliette 80 WP) z minulých let (Urban a Lebeda, 2006; 2007), existuje zde velké riziko postupné ztráty účinnosti a posun směrem k vývoji fungicidní rezistence, vzhledem k detekci kmenů se

zvýšenou sporulací v nižších koncentracích těchto účinných látek v průběhu let (Hübschová a Lebeda, 2010). Jistým varováním pro účinnost těchto látek by mohla být skutečnost, že se prokázala rezistence k fungicidům z různých chemických skupin (mezi metalaxylem-M, propamocarbem a fosetylem-Al) (Cohen a Samoucha, 1984). Nadále však tyto chemické látky přetrvávají jako vysoce efektivní kontrola nad napadením *P. cubensis*. Pro zlepšení situace jsou rozhodující studie zaměřené na geografickou distribuci a dynamiku fungicidní rezistence v populaci *P. cubensis*.

Výsledky prezentované v této diplomové práci ukázaly, že účinnost vybraných fungicidů vůči testovaným izolátům *P. cubensis* z let 2009 a 2010, se lišila. Získané informace přispěly k rozšíření tolerance/rezistence v české populaci *P. cubensis* a mohou tak být přínosné k dalšímu studiu této problematiky, která je součástí výzkumu, prováděný Fytopatologickou laboratoří Katedry botaniky PřF UP v Olomouci. Tento výzkum je podporován granty QH 71229, MSM 6198959215, PrF 2010 001, PrF 2011 001 a PrF 2012 001. Získané informace proto přispěly ke studiu rozšíření rezistence/tolerance vůči fungicidům v populaci *P. cubensis* a dále mohou být přínosné při dalším studiu této problematiky.

7. ZÁVĚR

Tato diplomová práce byla zaměřena na sledování účinnosti vybraných fungicidů vůči populaci *P. cubensis*. V návaznosti na předchozí studie (Urban a Lebeda, 2006; Hübschová a Lebeda, 2009) byly použity fungicidy Ridomil Gold MZ 68 WP (ú. l. metalaxyl-M), Ridomil Plus 48 WP (ú. l. metalaxyl), Acrobat MZ (ú. l. dimethomorph), Curzate K (ú. l. cymoxanil), Previcur 607 SL (ú. l. propamocarb) a Aliette 80 WP (ú. l. fosetyl-AI). Testování bylo prováděno s využitím modifikované metody listových disků (Anonymous, 1982; Lebeda 1986c). Testovány byly izoláty *P. cubensis* z různých okresů ČR, získaných během vegetační sezóny 2009 a 2010, celkem 44 (22/2009; 22/2010).

Během dvouletého období se účinnost vybraných fungicidů lišila. Na koncentraci doporučené výrobcem Ridomil Gold MZ 68 WP a Ridomil Plus 48 WP byly v roce 2009 naprosto neúčinné fungicidy. Ale v roce 2010 jejich účinnost stoupala, kdy Ridomil Gold MZ 68 WP byl účinný z 68 % a Ridomil Plus 48 WP z 55 % na doporučených koncentracích. Při zvýšení koncentrace byla jejich efektivita ještě větší. Přípravky Acrobat MZ a Curzate K byly v roce 2009 v doporučené koncentraci taktéž účinné. U přípravku Acrobat MZ došlo v roce 2010 ke zvýšení účinnosti, kdy se na žádné testované koncentraci nevyskytla rezistentní reakce. Populace vůči přípravku Curzate K vykazoval v roce 2010 rezistenci. Za vysoce účinné lze označit přípravky Previcur 607 SL a Aliette 80 WP. U těchto přípravků byla v nižších koncentracích zaznamenána senzitivní reakce s limitovanou sporulací, případně tolerantní či dokonce rezistentní reakce. To by mohlo znamenat, že existuje velké riziko postupné ztráty účinnosti a posun směrem k vývoji fungicidní rezistence.

Hodnoty ED₅₀ měly neúčinné přípravky Ridomil Gold MZ 68 WP a Ridomil Plus 48 WP (ú. l. metalaxyl a metalaxyl-M) v intervalu vyšších koncentrací. Účinné přípravky Acrobat MZ a Curzate K (ú. l. dimethomorph a cymoxanil) měly hodnoty ED₅₀ v intervalu nejnižších koncentrací.

Ošetření porostů fungicidy je a do budoucna zůstane rozhodujícím opatřením pro uchování zdraví plodin, spolehlivé a vysoce kvalitní sklizně. Fungicidy jsou jedním z klíčových komponent integrované ochrany rostlin, jejich účinnost musí být udržena tak dlouho, jak je jen možné (Brent a Hollomon, 2007). *P. cubensis* se řadí mezi patogeny značně adaptabilní na podmínky prostředí, a také mezi patogeny s vysokým evolučním potenciálem, které jsou schopné rychle překonávat hostitelskou rezistenci a efektivitu některých fungicidů. Kontaktní fungicidy používané dříve nahradily systémové fungicidy, které byly zavedeny na trh v průběhu posledních desetiletí. Přístupné výzkumy dokazují, že účinnosti vůči *P. cubensis* klesá a velmi rychle se

zvyšuje výskyt rezistentních subpopulací. Většina těchto informací pochází z 80. a 90. let (Gisi, 2002; Urban a Lebeda, 2006). Trend zvyšování rezistence vůči tomuto fungicidu se projevil i v České republice (Urban a Lebeda, 2004a, b; Urban 2006). V posledních letech hojně využívané systémové přípravky jsou svým způsobem účinku předurčeny k vysoké náchylnosti na vznik rezistence v patogenní populaci (Urban, 2006). Proto je nutné provádět další studie a vývoj dlouhodobě sledovat. Zajímavá tendence je sledována u ostatních, v minulých letech naprosto neúčinných, fungicidů. V posledních letech se zdá, že jejich účinnost mírně stoupá, protože počet rezistentních reakcí, především u koncentrace doporučené výrobcem se snižuje.

8. POUŽITÁ LITERATURA

- Albert, G., Curtze, J., Drandarevski, C. A.: Dimethomorph (CME 151): A novel curative fungicide, *Brighton Crop Protection Conference*, 1988, 17-24.
- Albert, G., Thomas, A., Gühne, M.: Fungicidal activity of dimethomorph on different stages in the life cycle of *Phytophthora infestans* and *Plasmopara viticola*. ANPP: 3rd International Conference on Plant Disease, Bordeaux, 1991, 887-894.
- Anonymous: FAO Metod No. 30. FAO Plant Protection Bulletin, 30/2, 1982, 39-50.
- Bains, S. S., Jhooty, J. S.: Host-range and possibility of pathological races in *Pseudoperonospora cubensis* - caused of downy mildew of muskmelon. *Indian Phytopatology* 29, 1976, 214-216.
- Bains, S. S., Sokhi, S. S., Jhooty, J. S.: *Melothria maderaspatana* - a new host of *Pseudoperonospora cubensis*. *Indian J. Mycol. Pl. Path.*, 7, 1977, 86.
- Baiswar, P., Chandra, S., Ngachan, S. V.: *Pseudoperonospora cubensis* on *Sechium edule* in India. *Australasian Plant Disease Notes* 5, 2010, 3-4.
- Bedlan, G.: Erstmaliger Nachweis von Oosporen von *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rost. an Gewächshausgurken in Österreich. *Pflanzenschutzberichte* 3, 1989, 119-120.
- Berkeley, M. S., Curtis, A.: *Peronospora cubensis*. *J. Linn. Soc. Bot.* 10, 1868, 363.
- Brent, K. J., Hollomon, D. W.: Fungicide Resistance: The Assessment of Risk, *FRAC Monograph No. 2*, Global Crop Protection Federation, Brussels, 1998, 48.
- Cappelli, C., Buonauro, R., Stravato, V. M.: Occurrence of *Pseudoperonospora cubensis* Pathotype 5 on Squash in Italy. *Plant Disease* 87, 2003, 449.
- Choi, Y. J., Shin, H. D.: First record of downy mildew cause by *Pseudoperonospora cubensis* on bottle gourd in Korea. *Plant Pathology* 57, 2008, 371.

- Cohen, Y.: The combined effects of temperature, leaf wetness, and inoculum concentration on infection of cucumbers with *Pseudoperonospora cubensis*. Can. J. Bot. 55, 1977, 1478-1487.
- Cohen, Y.: Downy mildew of cucurbits. In: Spencer, D. M. (ed.): The Downy Mildews. Academic Press, London, 1981, 341-354.
- Cohen, Y., Rotem, J.: The effects of lesion development, air temperature and duration of moist periods on sporulation of *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber. Israel J. Bot. 18, 1969, 135-140.
- Cohen, Y., Rubin, A. E.: Mating type and sexual reproduction of *Pseudoperonospora cubensis*, the downy mildew agent of cucurbits. Eur J Plant Pathol (2012) 132, 2011, 577–592.
- Cohen, Y., Samoucha, Y.: Cross-resistance to four systemic fungicides in metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* and *Pseudoperonospora cubensis*. Plant Dis. 68, 1984, 137-139.
- Cohen Y., Coffey, M. D.: Systemic fungicides and the control of Oomycetes. Annu. Rev. Phytopathol. 24, 1986, 311-338.
- Cohen, Y., Eyal, H., Hanania, J., Malik, Z.: Ultrastructure of *Pseudoperonospora cubensis* in muskmelon genotype susceptible and resistant to downy mildew. Physiol. Mol. Plant Pathol. 34, 1989, 27-40.
- Cohen, Y., Baider, A., Cohen, B.: Dimethomorph activity against oomycetes fungal plant pathogens. Phytopathology 85, 1995, 1500-1506.
- Cohen, Y., Meron, I., Mor, N., Zuriel, S.: A new pathotype of *Pseudoperonospora cubensis* causing downy mildew in cucurbits in Izrael. Phytoparasitica 31, 2003, 458-466.
- Colucci, S. J., Wehner, T. C., Holmes G. J.: The downy mildew epidemic of 2004 and 2005 in the eastern United States. In: Holmes, G. J. (ed.): Proc. Cucurbitaceae 2006, 2006, 403-411.

- Crute, I. R.: Investigations of gene-for-gene relationships: the need for genetic analyse of both host and parasite. *Plant Pathol*, 35, 1986,15-17.
- D'Ercole, N.: La peronoospora del cetriolo in coltura protetta. *Inftore Fitopath*, 25, 1975, 11-13.
- Dick, M. W.: The Peronosporomycetes. In: McLaughlin, D. J., McLaughlin, E. G., Lemke, P. A. (eds.): *The Mycota VII Part A: Systematics and Evolution*. Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 2001, 39-72.
- Dick, M. W.: *Straminipilous Fungi: Systematics of the Peronosporomycetes, Including Accounts of the Marine Straminipilous Protists, the Plasmodiophorids, and Similar Organisms*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002a, 670p.
- Dick, M. W.: The Peronosporomycetes and other flagellate fungi. In: Howard, D. H. (ed): *Fungi Pathogenic for Humans and Animals: Second Edition, Revised and Expanded*. Washington, USA: American Society for Microbiology. Marcel Dekker, Inc., 2002b, 17-66.
- Doran, W. L.: Downy mildew of cucumbers. *Mass. Agric. Exper. Stat. Bull. No. 283*, 1932.
- Elad, Y.: Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. *Crop Protect.*, 13, 1994, 35-38.
- Elad, Y.: Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. Elsevier science, *Crop Protection*, 19, 2000a, 709-714.
- Elad, Y.: *Trichoderma harzianum* T39 preparation for biocontrol of plant diseases - control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. *Biocontrol Sci. Technol*, 10, 2000b, 499-507.
- Elad, Y., Shtienberg, D.: Management of humidity-promoted diseases in non - heated greenhouses by means of fenhexamide, *Trichoderma harzianum* T39 and integrated control according to GREENMAN. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 2000.

- Épinat, C., Pitrat, M.: Inheritance of resistance to downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) in muskmelon (*Cucumis melo*). II. Generation means analysis of 5 genitors. *Agronomie* 14, 1994, 249-257.
- Fravel, D.R., Rodes, D.J., Larkin, P.R.,: Production and commercialization of biocontrol products. In: Albajes, R., Gullino, M.L., van Lenteren, J.C., Elad, Y. (eds.): Integrated pest and disease management in greenhouse crops, Kluwer Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, 1999, 365-376.
- Furgo, P. A., Rajput, J. C., Mandokhot, A. M.: Source of resistance to downy mildew in ridge gourd and chemical kontrol. *Indian Phytopathol*, 50, 1997, 125-126.
- Gisi, U.: Chemical control of downy mildews. In: Spencer-Phillips P. T. N., Gisi, U., Lebeda, A. (eds.): Advances in doxny mildew research. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht (Netherlands), 2002, 119-159.
- Gisi, U., Sierotzki, H.: Fungicide modes of action and rezistence in downy mildews. *Eur. J. Plant Pathol.*, 122, 2008, 157-167.
- Godwin, J. R., Young, J. E., Woodward, D. J., Hart, C. A.: Azoxystrobin: effects on the development of grapevine downy mildew (*Plasmopara viticola*), ANPP: 5th International Conference on Plant Diseases, Tours, 1997, 871-878.
- Haggag, W. M.: Application of epidermal coating antitranspirants for controlling cucumber downy mildew in greenhouse. *Plant Patology Bulletin*, 11, 2002, 69-78.
- Hewitt, H. G.: Fungicides in Crop Protection. CAB International, Wallingford, 1998.
- Hiura, M., Kawada, S.: On the overwintering of *Peronoplasmopara cubensis*. *Jap. J. Bot.* 6, 1933, 507-513.
- Holmes, G. J., Main, C. E., Kever, III Z. T.: Forecasting long-distance movement of cucurbit downy mildew. In: Proceedings of Cucurbitaceae 1998, Pacific Grove, Calif., 1998, 186-188.

- Holmes, G. J., Main, C. E., Keever, III Z. T.: Cucurbit downy mildew: A unique pathosystem for disease forecasting. In: Spencer-Phillips P. T. N., Jeger, M. (eds.): *Advances in Downy Mildew Research*, Vol. 2. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands, 2004, 69-80.
- Hübschová, J., Lebeda, A.: Fungicide effectiveness on Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. In: Sun, X. (ed.): *Proceedings of the Fourth International Symposium on Cucurbits*. Acta Horticulturae 871, 2010, 457-463.
- Jeffrey, C.: Systematics of the Cucurbitaceae: An overview. In: Bates, D. M., Robinson, R. W., Jeffrey, C. (eds.): *Biology and Utilization of the Cucurbitaceae*. Ithaca and London, Comstock Publishing Association, Cornell University Press, 1989, 3-9.
- Kalina, T., Váňa, J.: *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Karolinum, Praha, 2005, 606.
- Klopping, H. L., Delp, C. J.: 2-Cyano-N-[(ethylamino)carbonyl]-2-(methoxyimino)acetamide, a new fungicide, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 28, 1980, 467-468.
- Ko, Y., Chen, C. Y., Liu, C. W., Chen, S. S., Maruthasalam, S., Lin, C. H.: First report of downy mildew by *Pseudoperonospora cubensis* on chayote (*Sechium edule*) in Taiwan. *Plant Disease* 92, 2008, 1706.
- Korbel, E.: Možnost použití biologické ochrany proti plísni okurkové. In: Lebeda, A. (ed.): *Plíseň okurková (Cucurbit downy mildew)*. Československá vědecká společnost pro mykologii při ČSAV, Praha, 1990, 62-64.
- Křístková, E., Lebeda, A.: Genetické zdroje zelenin čeledi Cucurbitaceae. *Zahradnictví*, 22, 1995, 123-128.
- Křístková, E., Lebeda, A., Vinter, V., Bohoušek, O.: Genetic resources of the genus *Cucumis* and their morphological description (English-Czech vision). *Hort. Sci.*, 30, 2003, 14-42.

- Křístková, E., Lebeda, A., Sedláková, B.: Temporal and spatial dynamics of powdery mildew species on cucurbits in the Czech Republic. *Acta Hort.* 731, 2007, 381-388.
- Lange, L., Eden, U., Olson, L. W.: Zoosporogenesis of *Pseudoperonospora cubensis*, the causal agent of cucurbit downy mildew. *Nord. J. Bot.* 8, 1989a, 497-504.
- Lange, L., Eden, U., Olson, L. W.: The zoospore of *Pseudoperonospora cubensis*, the causal agent of cucurbit downy mildew. *Nord. J. Bot.* 8, 1989b, 511-516.
- Lebeda, A.: Plíseň okurková a její epidemický výskyt v roce 1985. *Záhradnictvo* 11, 1986a, 21-22.
- Lebeda, A.: Epidemic occurrence of *Pseudoperonospora cubensis* in Czechoslovakia. *Temperate Downy Mildews Newsletter* 4, 1986b, 15-17.
- Lebeda, A.: *Pseudoperonospora cubensis*. In: Lebeda, A. (ed.): *Metody testování rezistence zelenin vůči rostlinným patogenům*. VJH Sempra, VŠÚZ Olomouc, 1986c, 81-85.
- Lebeda, A.: Molekulární determinanty specifčnosti interakce rostlin a mikroorganismů (Molecular determinants of interaction specificity between plants and microorganisms). *Biologické listy* 53, 1988, 178-200.
- Lebeda, A.: Patogenismus (Patogenism). In Kůdela, V. (ed.): *Obecná fytopatologie (General Plant Pathology)*. Academia, Praha, 1989a, 77-82.
- Lebeda, A.: Infection cycle (Infekční cyklus). In Kůdela, V. (ed.): *General Plant Pathology (Obecná fytopatologie)*. Academia, Praha, 1989b, 114-161.
- Lebeda, A.: Parazitismus. In: Kůdela, V. (ed.): *Obecná fytopatologie*. Academia, Praha, 1989c, 69-76.
- Lebeda, A.: Biologie a ekologie plísně okurkové. In: Lebeda, A. (ed.): *Plíseň okurková (Cucurbit downy mildew)*. Československá vědecká společnost pro mykologii při ČSAV, Praha, 1990, 13-45.

- Lebeda, A.: Resistance in muskmelons to Czechoslovak isolates of *Pseudoperonospora cubensis* from cucumbers. *Scientia Hort.*, 45, 1991a, 255-260.
- Lebeda, A.: Máme okurky s polní rezistencí vůči plísni okurkové. *Zahradnictvo*, 3, 1991b, 72-73.
- Lebeda, A.: Susceptibility of accessions of *Cucumis sativus* to *Pseudoperonospora cubensis*. *Test of Agrochem. and Cult. No. 13* (Ann. appl. Biol., 120 Suppl.), 1992, 102-103.
- Lebeda, A.: *Pseudoperonospora cubensis* on *Cucumis* spp. and *Cucurbita* spp. - resistance breeding aspects. *Acta Hort.* 492, 1999, 363-370.
- Lebeda, A., Cohen, Y.: Cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*)-biology, ecology, epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Europ. J. Plant Pathol.*, 129, 2011, 157-192.
- Lebeda, A. Cohen, Fungicide Resistance in *Pseudoperonospora cubensis*, the Causal Pathogen of Cucurbit Downy Mildew. *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management* (ed. T.S. Thind), 2012, 44-63.
- Lebeda, A., Gadasová, V.: Pathogenic variation of *Pseudoperonospora cubensis* in the Czech Republic and some other European countries. *Acta Hort.*, 588, 2002, 137-141.
- Lebeda, A., Hübschová, J.: Distribution and harmfulness of *Pseudoperonospora cubensis* populations in the Czech Republic. *Acta Horticulturae*, 2010.
- Lebeda, A., Křístková, E.: Interactions between morphotypes of *Cucurbita pepo* and obligate biotrophs (*Pseudoperonospora cubensis*, *Erysiphe cichoracearum* and *Sphaerotheca fuliginea*). *Acta Hort.*, 510, 2000, 219-225.

- Lebeda, A., Mieslerová, B.: Charakteristika a význam říše Chromista, se zaměřením na třídu Peronosporomycetes. In: Lebeda, A., Mazáková, J., Táborský, V. (eds.): Protozoa a Chromista – Taxonomie, biologie a hospodářský význam, ČFS, Praha, 2006, 22-46.
- Lebeda, A., Schwinn, F. J.: The downy mildews – an overview of recent research progress. J. Plant Dis. Protect. 101, 1994, 225-254.
- Lebeda, A., Sedláková, B., Křístková, E.: Temporal changes in pathogenicity structure of cucurbit powdery mildew populations. Acta Hort., 731, 2007, 381-388.
- Lebeda, A., Urban, J.: Nové poznatky o plísni okurkové. Rostlinolékař 4, 2004a, 20-23.
- Lebeda, A., Urban, J.: Disease impact and pathogenicity variation in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. In: Lebeda, A., Paris, H. S. (eds.): Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proceedings of Cucurbitaceae 2004, the 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. Palacký University in Olomouc, Olomouc (Czech Republic), 2004b, 267-273.
- Lebeda, A., Urban, J.: Distribution, harmfulness and pathogenic variability of cucurbit downy mildew in the Czech Republic. Acta fytotech. et zootech., 7, 2004c, 170-173.
- Lebeda, A., Urban, J.: Temporal changes in pathogenicity and fungicide resistance in *Pseudoperonospora cubensis* populations. Acta Horticulturae, 731, 2007, 327-336.
- Lebeda, A., Urban, J.: Screening for resistance to cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*); Chapter, 18, 285-294. In: Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Disease. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria, 2010.
- Lebeda, A., Widrlechner, M. P.: A set of Cucurbitaceae taxa for differentiation of *Pseudoperonospora cubensis* pathotypes. J. Plant Dis. Protect., 110, 2003, 337-349.

- Lebeda, A., Widrechner, M. P.: Response of wild and weedy *Cucurbita* L. to pathotypes of *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov. (Cucurbit downy mildew). In: Spencer-Phillips, P. et Jeger, M. (eds.): Advances in Downy Mildew Research, Vol. 2. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2004, 203-210.
- Lebeda, A., Widrechner, M. P., Staub, J., Ezura, H., Zalapa, J., Křístková, E.: Cucurbits (Cucurbitaceae; *Cucumis* spp., *Cucurbita* spp., *Citrullus* spp.), Chapter 8. In: Singh, R. (ed.): Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement Series, Volume 3 – Vegetable Crops. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2007, 271-376.
- Lebeda, A., Widrechner, M. P., Urban, J.: Individual and population aspects of interactions between cucurbits and *Pseudoperonospora cubensis*: pathotypes and races. Holmes, G. J. (ed.): Proceeding of Cucurbitaceae 2006. Universal Press, Raleigh, North Carolina, USA, 2006a, 453-467.
- Lebeda, A., Widrechner, M. P., Staub, J., Ezura, H., Zalapa, J., Křístková, E.: Cucurbits (Cucurbitaceae; *Cucumis* spp., *Cucurbita* spp., *Citrullus* spp.), Chapter 8. In: Singh, R. J. (ed.): Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement Series, Volume 3 – Vegetable Crops. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2006b, 273-377.
- Ma, Z., Michailides, T. J.: Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Protection.*, 24, 2005, 853–863.
- Mahrishi, R. P., Siradhana, B. S.: Studies on downy mildews of cucurbits in Rajasthan: incidence distribution, host range and yield losses in muskmelon. *Ann. Arid Zone*, 27, 1988, 67-70.
- Margot, P., Huggenberger, F., Amrein, J., Weiss, B.: CGA 279202: a new broad-spectrum strobilurin fungicide, Brighton Crop Protection Conference, 1998, 375-382.
- McGrath, M. T.: Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and challenges. *Plant Disease*, 85, 2001, 236-245.

- Minář, P. (ed.): Seznam registrovaných přípravků na ochranu rostlin 2008 (List of registered preparations for plant protection 2008). Státní rostlinolékařská správa, Praha, 2008.
- Moravec, J., Lebeda, A., Křístková, E.: History of growing and breeding of cucurbitaceous vegetables in Czech Lands. In: Lebeda A, Paris HS. (eds) Progress in cucurbit genetics and breeding research, Proceedings of Cucurbitaceae 2004. The 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding, Palacký University in Olomouc, Olomouc, Czech Republic, 2004, 21-38.
- Neumann, St., Jacob, F.: Principles of uptake and systemic transport of fungicides within the plant. In: H. Lyr (ed): Modern Selective Fungicides, 2nd (ed): Gustav Fischer, Jena, 1995, 53-73.
- Němcová, M.: Porovnání účinnosti vybraných fungicidů vůči plísni okurkové (*Pseudoperonospora cubensis*) v České republice, Diplomová práce, 90. (Obhájeno na Katedře botaniky PřF UP v Olomouci v roce 2012)
- O'Neil, T. M., Elad, Y., Shtienberg, D., Cohen, A.: Control of grapevine grey mould with *Trichoderma harzianum* T39. Biocontrol Sci. Technol., 6, 1996, 139-146.
- Palti, J.: *Pseudoperonospora cubensis*. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, no. 457. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, 1975.
- Palti, J., Cohen, Y.: Downy mildew of cucurbits (*Pseudoperonospora cubensis*): The fungus and its hosts, distribution, epidemiology and control. Phytoparasitica 8, 1980, 109-147.
- Portz, D., Koch, E., Slusarenko, A.J.: Effects of garlic (*Allium sativum*) juice containing allicin on *Phytophthora infestans* and downy mildew of cucumber caused by *Pseudoperonospora cubensis*. Eur. J. Plant. Pathol., 122, 2008, 197-206.
- Reich, B., Buchenauer, H., Buschhaus, H., Wenz, M.: Wirkungsweise von Propamocarb gegenüber *Phytophthora infestans*, Mitteilungen Biologische Bundesanstalt Land - und Forstwirtschaft, 226, 1992, 423.

- Reiter, B., Wenz, M., Buschhaus, H., Buchenauer, H.: Action of propamocarb against *Phytophthora infestans* causing late blight of potato and tomato. In: H. Lyr, P. E. Russell and H.D. Sisler. (eds): Modern Fungicides and Antifungal Compounds, Intercept, Andover, 1996, 147-156.
- Reuveni, R., Ravin, M.: Control of downy mildew in greenhouse-grown cucumbers using blue photosensitive polyethylene sheets. Plant Dis. 81, 1997, 999-1004.
- Robinson, R. W., Decker - Walters, D. S.: Cucurbits. CAB International, NY, 1997.
- Rod, J.: Plíseň okurková. Zahradnické aktuality, 60, 1988, 9 p.
- Rod, J.: Principy chemické ochrany. In: Lebeda, A. (ed.): Plíseň okurková (Cucurbit downy mildew). Československá vědecká společnost pro mykologii při ČSAV, Praha, 1990, 46-50.
- Röhner, E., Carabet, A., Buchenauer, H.: Effectiveness of plant extracts of *Paeonia suffruticosa* and *Hegera helix* against diseases cause by *Phytophthora infestans* in tomato and *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber. Journal of Plant Diseases and Protection, 2004, 83-95.
- Rosypal, S.: Nový přehled biologie. Scientia, Praha, 2003, 288.
- Salati, M., Wong, M. Y., Sariah, M., Nik Masdek, H.: First report of *Pseudoperonospora cubensis* causing downy mildew of *Trichosanthes cucumerina* in Malaysia. Plant Disease 94, 2010, 642.
- Samoucha, Y., Cohen, Y.: Occurrence of metalaxyl-resistant isolates of *Pseudoperonospora cubensis* in Israel. Bulletin OEPP/EPPO, 15, 1985, 419-422.
- Sedlářová, M., Lebeda, A.: Cytologické aspekty interakce rostlin a patogenů (Cytological aspects of host-pathogen interactions). Biologické listy 67, 2002, 59-73.

- Skalický, V.: Plíseň okurková – *Peronosplasmopora cubensis*. In: Benada, J. et Špaček, J. (eds.): Zemědělská fytopatologie. Díl III. Choroby zeleniny. SZN, Praha, 1961, 390-393.
- Spencer, D. M. (ed.): The downy mildews. Academic Press, London, 1981.
- Taler, D., Galperin, M., Benjamin, I., Cohen, Y., Kenigsbuch, D.: Plant eR genes that encode photorespiratory enzymes confer resistance against disease. *The Plant Cell* 16, 2004, 172-184.
- Thomas, C. E.: Downy mildew. In: Compendium of cucurbit diseases. T. A. Zitter, D. L. Hopkins and C. E. Thomas, (eds.): APS Press, St. Paul, MN, 1996, 24-26.
- Thomas, C. E., Inaba, T., Cohen, Y.: Physiological specialization in *Pseudoperonospora cubensis*. *Phytopathology*, 77, 1987, 1621-1624.
- Townsend, G. R. et Heuberger, W.: Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Dis. Rep.* 27, 1943, 340-343.
- Urban, J.: Biology and variability of interactions between cucurbitaceous plants and *Pseudoperonospora cubensis*. Autoreferát disertace k získání vědecké hodnosti doktor. Olomouc 2006.
- Urban, J., Lebeda, A.: Differential sensitivity to fungicides in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. In: Lebeda, A., Paris, H. S. (eds.): Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proceedings of Cucurbitaceae 2004, the 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. Palacký University in Olomouc, Olomouc (Czech Republic), 2004a, 275-280.
- Urban, J., Lebeda, A.: Resistance to fungicides in population of cucurbit downy mildew in Czech Republic. *Acta fyto-technica et zootechnica* 7, 2004b, 327-329.
- Urban, J., Lebeda, A.: Fungicide resistance in cucurbit downy mildew – methodological, biological and population aspects. *Ann. Appl. Biol.* 149, 2006, 63-75.

- Urban, J., Lebeda, A.: Variation for fungicide resistance in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. J. Phytopathol. 155, 2007, 143-151.
- Urban, Z., Kalina, T.: Systém a evoluce nižších rostlin. SPN, Praha, 1980, 416 p.
- Van Haltern, F.: Spraying cantaloups for the control of downy mildew and other diseases. Bull. Ga. Exp. St. 175, 1933.
- Veselý, D.: Potential biological control of damping-off pathogens in emerging sugar beet by *Pythium oligandrum* Drechsler. Phytopath. Z. 94, 1977, 113-115.
- Viranyi, F., Oros, G.: Developmental stage response to fungicides of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). Mycological Research, 92, 1991, 199-205.
- Voglmayer, H., Piatek, M., Mossebo, D. C.: *Pseudoperonospora cubensis* causing downy mildew disease on *Impatiens irvingii* in Cameroon: a new host for the pathogen. Plant Pathology 58, 2009, 394.
- Waterhouse, G. M.: *Peronosporales*. In: The fungi an advanced treatise. Vol 4B. G. C. Ainsworth, F. K. Sparrow and A. S. Sussman, eds. Academic Press. New York, 1973, 165-183.
- Waterhouse, G. M., Brothers, M. P.: The taxonomy of *Pseudoperonospora*. Mycological Papers No. 148, 1981, 1-28.
- Whitaker, T. W., Davis, G. N.: Cucurbits: Botany, Cultivation and Utilization. Interscience Publishers, Inc. New York, 1962, 250.
- Ypema, H. L., Gold, R. E.: Kresoxim-methyl: modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide, Plant Disease, 83, 1999, 4-19.
- Zhang, Yan-ju, Qin, Zhi-wei, Zhou, Xiu-yan: Study on the over-wintering of cucumber downy mildew in Heilongjiang province of China. Abstracts, 27th International Horticultural Congress and Exhibition, August 13-19, 2006, COEX (Convention and Exhibition), Seoul, Korea; ISHS and KSHS, S11-P-51, 2006, 376.

9. INTERNETOVÉ ZDROJE

Brent, J.K., Hollomon D.W.: Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? Published by the Fungicide Resistance Action Committee. (second, revised edition) Brussels, Belgium. 2007

http://www.frac.info/frac/publication/ahang/FRAC_Mono1_2007_100dpi.pdf (srpen 2010)

Fishel, F. M.: Fungicide Resistance Action Committee's (FRAC) Classification Scheme of Fungicides According to Mode of Action. University of Florida, IFAS, Florida, 2009.

<http://edis.ifas.ufl.edu/pi131> (srpen 2010)

Frac code list. Fungicides sorted by mode of action. Published by the Fungicide Resistance Action Committee, 2010.

http://www.frac.info/frac/publication/ahang/FRAC_Code_List_2010.pdf (srpen 2010)

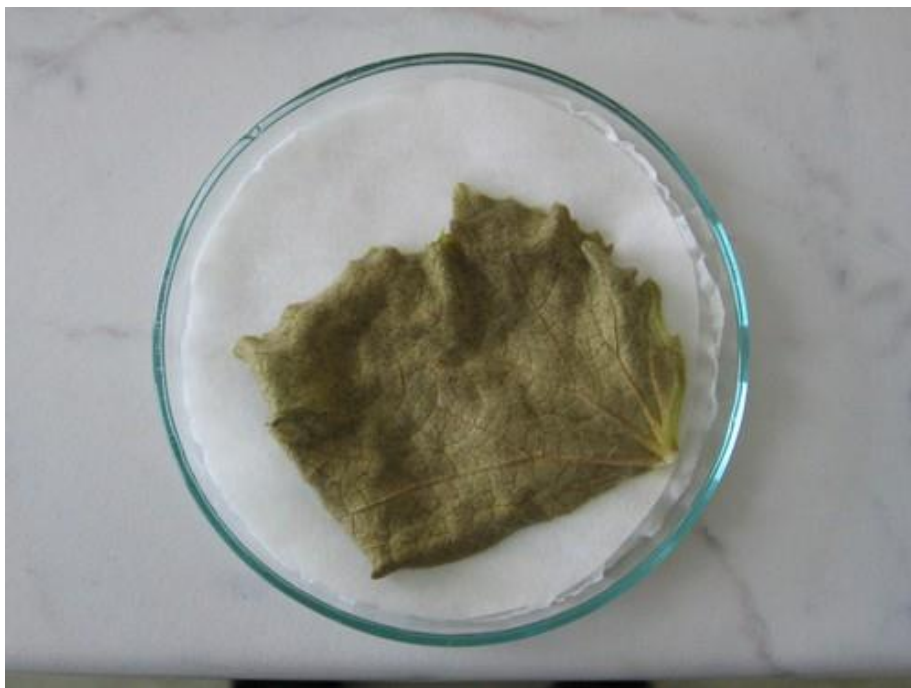
10. OBRAZOVÁ PŘÍLOHA



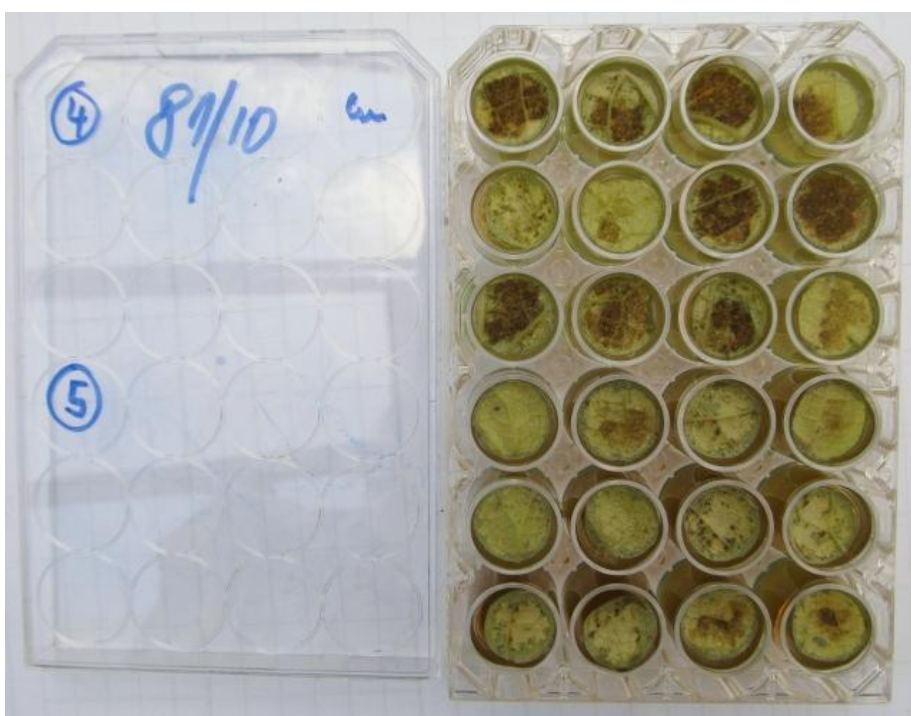
Obr. 8. Sporangiofor *P. cubensis* (J. Urban).



Obr. 9. Vysoce citlivá odrůda *Cucumis sativus* 'Marketer 430' použita v testech (EVIGEZ H39 - 0121) (M. Kadlecová).



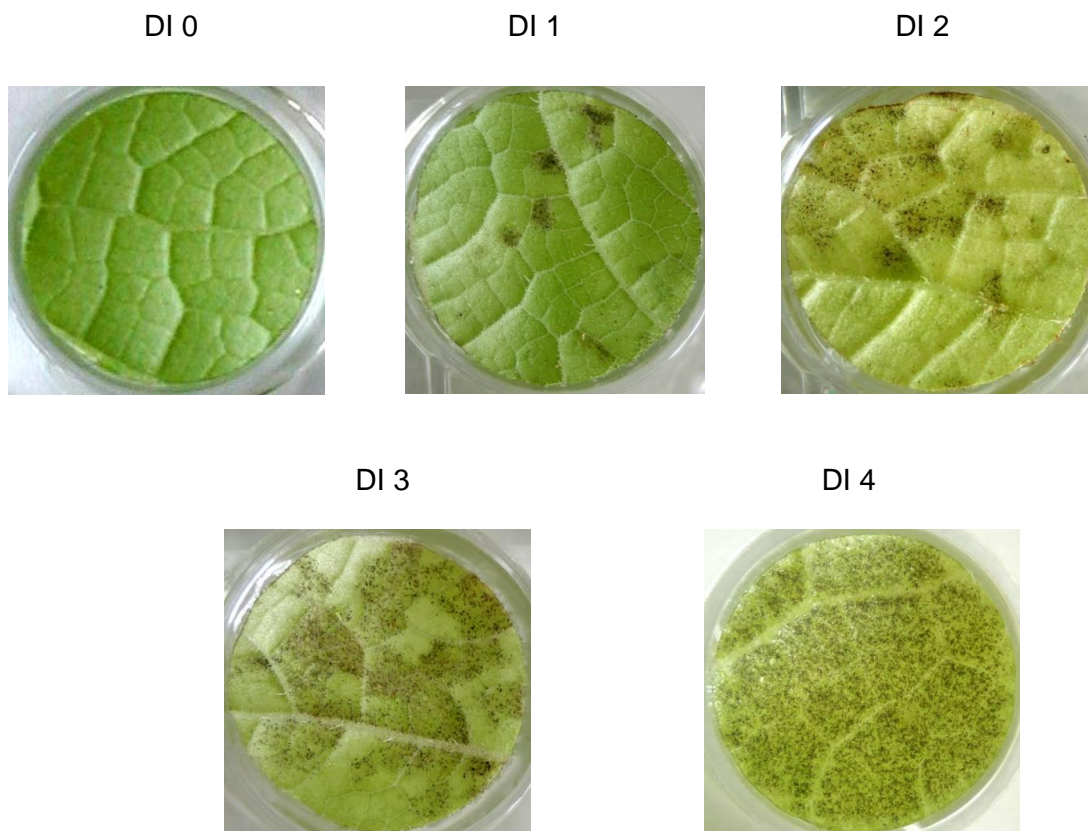
Obr. 10. Sporulace *P. cubensis* na spodní straně listu náchylné odrůdy *Cucumis sativus* 'Marketer 430' (M. Kadlecová).



Obr. 11. Listové disky náchylné odrůdy *Cucumis sativus* 'Marketer 430' ošetřeny fungicidním přípravkem Curzate K 14. den po inokulaci (M. Kadlecová).



Obr. 12. Testovací destička s listovými disky náchylné odrůdy *Cucumis sativus* 'Marketer 430' před inokulací (M. Kadlecová).



Obr. 13. Pětibodová stupnice používaná k hodnocení intenzity sporulace *P. cubensis*, vyjadřuje procentové pokrytí plochy disku sporangiofory (Lebeda, 1986a; Lebeda a Urban, 2010).

DI 0 = žádná sporulace;

DI 1 = ≤ 25 % plochy disku je pokryto sporangiofory;

DI 2 = > 25 % až ≤ 50 % plochy disku je pokryto sporangiofory;

DI 3 = > 50 % až ≤ 75 % plochy disku je pokryto sporangiofory;

DI 4 = > 75 % plochy disku je pokryto sporangiofory.