Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin

Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů

Testování populací vybraných houbových patogenů obilnin na rezistenci k fungicidním látkám

Diplomová práce

Bc. Martina Čapková

Rostlinolékařství

Ing. Jana Mazáková, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Testování populací vybraných houbových patogenů obilnin na rezistenci k fungicidním látkám" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21. 04. 2024 _____

Poděkování

Nejprve bych chtěla vyjádřit svou hlubokou vděčnost svému partnerovi a mé rodině za jejich neustálou podporu, trpělivost a pochopení během celého studia. Bez vaší lásky a podpory by tato práce nebyla možná.

Chtěla bych vyjádřit velkou vděčnost paní Ing. Janě Mazákové, Ph.D. za její odborné vedení této diplomové práce. Vaše znalosti, trpělivost a podpora mi byly inspirací a vaše vedení mi pomohlo překonat mnoho výzev, kterým jsem během psaní práce čelila.

Dále bych ráda poděkovala všem zaměstnancům Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s.r.o., kteří se podíleli na sběru a přípravě vzorků jmenovitě paní Evě Švarcové. Vaše precizní práce a ochota pomoci byly pro mě neocenitelné. Bez vašeho profesionálního přístupu bych nedosáhla takových výsledků.

Velké díky patří také panu Mgr. Dominiku Blešovi za jeho odborné konzultace a cenné rady, které mi poskytl během tvorby této práce. Vaše znalosti a ochota sdílet je s ostatními jsou obdivuhodné.

Panu Mgr. Pavlovi Matušinskému, Ph.D. bych chtěla vyjádřit svůj vděk za jeho precizní determinaci patogenů, která byla klíčová pro úspěšné zpracování dat a interpretaci výsledků.

Nakonec bych ráda poděkovala panu Dr. Ing. Ludvíku Tvarůžkovi za umožnění spolupráce se Zemědělským výzkumným ústavem Kroměříž, s.r.o., bez kterého by tato práce nemohla být vůbec uskutečněna.

Děkuji všem za jejich přínos, podporu a ochotu. Vaše pomoc byla pro mě neocenitelná a já jsem nesmírně vděčná za vaši účast na tomto projektu.

Testování populací vybraných houbových patogenů obilnin na rezistenci k fungicidním látkám

V současné době je zásadní zajistit účinnou ochranu pěstovaných obilnin před houbovými patogeny, které představují jedny z hlavních faktorů omezujících výnosy a kvalitu sklizně obilnin po celém světě. Ekonomický dopad ztrát způsobených výskytem rezistentních populací patogenů k fungicidním látkám je významný, a proto je nezbytné hledat efektivní strategie ochrany před tvorbou a výskytem rezistentních populací.

V rámci této studie byla provedena analýza citlivosti houbových patogenů k různým fungicidním látkám. Výsledky ukázaly variabilitu v účinnosti fungicidních látek vůči patogenům a naznačují potřebu přehodnotit používání některých látek v ochraně plodin. Byla testována účinnost celkem pěti fungicidních účinných látek (fluxapyroxad, azoxystrobin, fenpikoxamid, prothiokonazol, mefentriflukonazol) v různých koncentracích na celkem 236 izolátech patogenů *Monographella nivalis*, *Oculimacula yallundae*, *Zymoseptoria tritici* a *Ramularia collo-cygni*.

Hypotéza této práce, založená na předpokladu existence variace v citlivosti patogenů k fungicidům, byla potvrzena. Cílem bylo zjistit úroveň citlivosti jednotlivých izolátů vybraných houbových patogenů obilnin k běžně používaným fungicidním látkám.

Fungicidní látkou s nejvyšším podílem jedinců vykazujících nižší citlivost (EC_{50} > 0,5 µg/ml) byl azoxystrobin. Přičemž hodnotou EC_{50} je myšlena efektivní koncentrace fungicidní látky inhibující růst mycelia z 50 %. Většina izolátů *Monographella nivalis* (94,83 %) projevovala rezistenci vůči azoxystrobinu, zatímco nevykazovala rezistenci vůči prothiokonazolu a pouze 6,78 % izolátů bylo rezistentních k fenpikoxamidu. Izoláty patogenu *Oculimacula yallundae* nevykazovaly rezistenci ani vůči prothiokonazolu, ani vůči fluxapyroxadu. Patogen *Zymoseptoria tritici* projevoval nejvyšší míru variability v rezistenci vůči fungicidním látkám, kdy izoláty nevykazovaly žádnou rezistenci vůči fenpikoxamidu, zatímco 85,51 % izolátů projevovalo rezistenci vůči azoxystrobinu. Patogen *Ramularia collo-cygni* vykazoval nejvyšší míru rezistence vůči všem testovaným fungicidním účinným látkám.

Celkově lze říci, že studie poskytuje důležité poznatky pro optimalizaci strategií ochrany obilnin a snížení rizika vzniku rezistence houbových patogenů k fungicidním látkám. Je však nutné stále monitorovat výskyt rezistentních izolátů v populacích patogenů a zkoumat nové metody ochrany a adaptovat je na měnící se podmínky v zemědělství.

Klíčová slova: pšenice, ječmen, choroby, ochrana, fungicidy, rezistence k fungicidům, monitoring

Testing of populations of selected fungal pathogens of cereals for resistance to fungicides

Today, it is essential to ensure effective protection of cultivated cereal crops against fungal pathogens, which are one of the main factors limiting the yield and quality of cereal crops worldwide. The economic impact of losses caused by the emergence of resistant pathogen populations to fungicides is significant and it is therefore essential to seek effective strategies to protect against the establishment and emergence of resistant populations.

In this study, the susceptibility analysis of fungal pathogens to different fungicidal agents was carried out. The results showed variability in the efficacy of fungicidal agents against the pathogens and suggest the need to reconsider the use of certain agents in crop protection. The efficacy of a total of five fungicidal active ingredients (fluxapyroxad, azoxystrobin, fenpicoxamid, prothioconazole, mefentrifluconazole) was tested at different concentrations on a total of 236 isolates of the pathogens *Monographella nivalis*, *Oculimacula yallundae*, *Zymoseptoria tritici* and *Ramularia collo-cygni*.

The hypothesis of this work, based on the assumption of the existence of variation in the susceptibility of pathogens to fungicides, was confirmed. The aim was to determine the level of susceptibility of the selected fungal pathogen isolates of cereal crops to commonly used fungicidal agents.

The fungicide with the highest proportion of individuals showing lower susceptibility (EC_{50} > 0.5 μg/ml) was azoxystrobin. The EC_{50} value refers to the effective concentration of the fungicidal agent inhibiting mycelial growth by 50%. Most of the *Monographella nivalis* isolates (94.83%) showed resistance to azoxystrobin, while they did not show resistance to prothioconazole and only 6.78% of the isolates were resistant to fenpicoxamide. Isolates of the pathogen *Oculimacula yallundae* showed resistance neither to prothioconazole nor to fluxapyroxad. The pathogen *Zymoseptoria tritici* showed the highest level of variability in fungicide resistance, with isolates showing no resistance to fenpicoxamide, while 85.51% of the isolates showed resistance to azoxystrobin. The pathogen *Ramularia collo-cygni* showed the highest level of resistance to all the fungicidal active ingredients tested.

Overall, the study provides important insights for optimising cereal crop protection strategies and reducing the risk of fungal pathogen resistance to fungicides. However, it is necessary to continuously monitor the occurrence of resistant isolates in pathogen populations and to investigate new control methods and adapt them to changing agricultural conditions.

Keywords: wheat, barley, diseases, protection, fungicides, fungicide resistance, monitoring

Obsah

h**1 Úvod** **12**

2 Vědecká hypotéza a cíle práce **14**

2.1 Hypotéza diplomové práce **14**

2.2 Cíle diplomové práce **14**

3 Literární rešerše **15**

3.1 Význam obilnin **15**

3.2 Patogeny obilnin **17**

3.2.1 *Monographella nivalis* 18

3.2.1.1 Taxonomie a infekční cyklus *Monographella nivalis* 19

3.2.1.2 Symptomy choroby a diagnostika *Monographella nivalis* 20

3.2.1.3 Ochrana proti *Monographella nivalis* 21

3.2.2 *Oculimacula yallundae* a *Oculimacula acuformis* 22

3.2.2.1 Taxonomie a infekční cyklus *Oculimacula yallundae* 23

3.2.2.2 Symptomy choroby a diagnostika *Oculimacula yallundae* 24

3.2.2.3 Ochrana proti *Oculimacula yallundae* 24

3.2.3 *Zymoseptoria tritici* 26

3.2.3.1 Taxonomie a infekční cyklus *Zymoseptoria tritici* a symptomy choroby 27

3.2.3.2 Ochrana proti *Zymoseptoria tritici* 28

3.2.4 *Ramularia collo-cygni* 29

3.2.4.1 Taxonomie a infekční cyklus *Ramularia collo-cygni* 29

3.2.4.2 Symptomy choroby a diagnostika *Ramularia collo-cygni* 31

3.2.4.3 Ochrana proti *Ramularia collo-cygni* 32

3.3 Fungicidy **33**

3.3.1 Fluxapyroxad 35

3.3.2 Azoxystrobin 37

3.3.3 Fenpikoxamid 40

3.3.4 Prothiokonazol 42

3.3.5 Mefentriflukonazol 44

3.4 Rezistence k fungicidním látkám **45**

3.4.1 Kvalitativní rezistence 46

3.4.2 Kvantitativní rezistence 46

3.4.3 Mechanismy účinku fungicidů 48

3.4.4 Mechanismy rezistence 49

3.4.4.1 Změny v cílových místech fungicidu 49

3.4.4.2 Zvýšená detoxikace/metabolizace fungicidu 49
3.4.4.3 Nadměrná exprese cílového místa houbovým organismem 49
3.4.4.4 Aktivní vylučování fungicidu z buňky 50
3.5 Strategie prevence vzniku rezistence 51
3.5.1 Fluxapyroxad 51
3.5.2 Azoxystrobin 52
3.5.3 Fenpikoxamid 52
3.5.4 Prothiokonazol 53
3.5.5 Mefentriflukonazol 53
4 Metodika 54
4.1 Technické vybavení laboratoře a chemikálie 54
4.1.1 Přístroje 54
4.1.2 Nástroje a materiál 54
4.1.3 Chemikálie 54
4.2 Pracovní postup tvorby izolátů 55
4.2.1 Proces sběru vzorků 55
4.2.2 Příprava roztoků a živných médií 56
4.2.2.1 Bramboro-dextrózový agar (PDA) – izolace a kultivace 56
4.2.2.2 Příprava koncentrací a média s fungicidními účinnými látkami 56
4.2.2.3 Roztok chlornanu sodného (Savo) – sterilizace napadených bází stébel 57
4.2.3 Příprava vzorků pro izolaci patogenu z napadeného rostlinného pletiva 58
4.2.4 Izolace a kultivace patogenu z napadeného rostlinného pletiva 60
4.2.5 Testování citlivosti/rezistence patogenů k fungicidům 62
4.3 Vyhodnocení testů citlivosti 63
4.4 Statistické vyhodnocení 64
5 Výsledky 65
5.1 *Monographella nivalis* 66
5.2 *Oculimacula yallundae* 68
5.3 *Zymoseptoria tritici* 69
5.4 *Ramularia collo-cygni* 71
6 Diskuze 73
7 Závěr 78
8 Literatura 79
9 Seznam použitých zkratek a symbolů 90

Seznam grafů

Graf 1: Celosvětová produkce pšenice (upraveno podle Shahbandeh 2024) 15
Graf 2: Předpokládaný prodej fungicidů po celém světě (upraveno podle Statista Research Department 2023) 33
Graf 3: Rozdělení a počet jednotlivých izolátů vybraných patogenů testovaných k vybrané účinné látce. Vnitřní prstenec popisuje jednotlivé názvy patogenů: *Monographella nivalis* (Mn), *Oculimacula yallundae* (Oy), *Zymoseptoria tritici* (Zt), *Ramularia collo-cygni* (Rcc).Vnější prstenec znázorňuje jednotlivé účinné látky a počet izolátů dané účinné látky. Každá účinná látka má poté totožnou barvu s patogenem. 65
Graf 4: Hodnoty EC_{50} vybraných fungicidních látek inhibující růst patogenu *Monographella nivalis*. Sloupce vyjadřují průměry na logaritmické škále, úsečky značí střední chybu průměru; n = 58–59; Rozdílné písmeno značí statistickou významnost na základě post-hoc neparametrického vícenásobného porovnání p-hodnot na hladině významnosti 0,05. 67
Graf 5: Hodnoty EC_{50} vybraných fungicidních látek inhibující růst patogenu *Oculimacula yallundae*. Sloupce vyjadřují průměry, úsečky značí střední chybu průměru; n = 24; Rozdílné písmeno značí statistickou významnost na základě t-testu logaritmicky transformovaných dat. 68
Graf 6: Hodnoty EC_{50} vybraných fungicidních látek inhibující růst patogenu *Zymoseptoria tritici*. Sloupce vyjadřují průměry na logaritmické škále, úsečky značí střední chybu průměru; n = 69–76. Rozdílné písmeno značí statistickou významnost na základě post-hoc neparametrického vícenásobného porovnání p-hodnot na hladině významnosti 0,05. 69
Graf 7: Hodnoty EC_{50} vybraných fungicidních látek inhibující růst patogenu *Ramularia collo-cygni*. Sloupce vyjadřují průměry na logaritmické škále, úsečky značí střední chybu průměru; n = 77; Rozdílné písmeno značí statistickou významnost na základě post-hoc neparametrického vícenásobného porovnání p-hodnot na hladině významnosti 0,05. 71

Seznam tabulek

Tabulka 1: Taxonomické zařazení *Monographella nivalis* (National Center for Biotechnology Information 2024a).....19
Tabulka 2: Taxonomické zařazení *Oculimacula yallundae* (National Center for Biotechnology Information 2024b).....23
Tabulka 3: Taxonomické zařazení Zymoseptoria tritici (National Center for Biotechnology Information 2024c).....27
Tabulka 4: Taxonomické zařazení *Ramularia collo-cygni* (National Center for Biotechnology Information 2024d).....29
Tabulka 5: Přehled zařazení testovaných účinných látek do systému MOA – biochemický způsob účinku (MOA) v biosyntetických drahách rostlinných patogenů FRAC – Skupiny fungicidů rozlišeny dle křížové rezistence. SDHI – inhibitory sukcinát-dehydrogenázy QoI – Quinone outside Inhibitors fungicidy DMI – (DeMethylation Inhibitors) (SBI: třída I) SBI – inhibitory stereolové biosyntézy (CropLife International/FRAC 2024).....34
Tabulka 6: Doplňující informace k testovaným účinným látkám FRAC – Skupin y fungicidů rozlišeny dle křížové rezistence DMI – inhibitory demetylace (SBI: třída I) SBI – inhibitory stereolové biosyntézy (CropLife International/FRAC 2024).....45
Tabulka 7: Výsledné koncentrace fungicidních látek pro založení testů citlivosti.....57
Tabulka 8: Ředění účinných látek na požadovanou koncentraci.....57
Tabulka 9: Součet a průměr pořadí hodnot EC_{50} vybraných fungicidů inhibující růst *Monographella nivalis* (Kruskal-Wallisův test).....66
Tabulka 10: Podíl citlivých a rezistentních izolátů patogenu *Monograaphaella nivalis* k vybraným účinným látkám.....67
Tabulka 11: Podíl citlivých a rezistentních izolátů patogenu *Oculimacula yallundae* k vybraným účinným látkám.....68
Tabulka 12: Součet a průměr pořadí hodnot EC_{50} vybraných fungicidů inhibující růst *Zymoseptoria tritici* (Kruskal-Wallisův test).....69
Tabulka 13: Podíl citlivých a rezistentních izolátů patogenu *Zymoseptoria tritici* k vybraným účinným látkám.....70
Tabulka 14: Součet a průměr pořadí hodnot EC_{50} vybraných fungicidů inhibující růst patogenu *Ramularia collo-cygni* (Kruskal-Wallisův test).....71
Tabulka 15: Podíl citlivých a rezistentních izolátů patogenu *Ramularia collo-cygni* k vybraným účinným látkám.....72

Seznam obrázků

Obrázek 1: Mycelium *Monographella nivalis* (rážovka sněžná) (Horák 2004).....18
Obrázek 2: Zjednodušený infekční cyklus *Monographella nivalis* (upraveno podle Agriculture and Horticulture Development Board 2024).....20
Obrázek 3: Symptomy stéblolamu na různých odrůdách ozimé pšenice (Palicová et al. 2020) 22
Obrázek 4: Zjednodušený infekční cyklus *Oculimacula yallundae* (upraveno podle Agriculture and Horticulture Development Board 2024b).....23
Obrázek 5: *Zymoseptoria tritici* na pšenici – pyknidy s pyknidiosporami (10× zvětšeno) 26
Obrázek 6: Zjednodušený infekční cyklus *Zymoseptoria tritici* (upraveno podle Agriculture and Horticulture Development Board 2024c) 28
Obrázek 7: List ječmene s typickými příznaky způsobenými patogenem *Ramularia collo-cygni* (Matušinsky et al. 2011) 29
Obrázek 8: Zjednodušený infekční cyklus *Ramularia collo-cygni* (upraveno podle Agriculture and Horticulture Development Board 2024d).....30
Obrázek 9: Konidiofory *Ramularia collo-cygni* s konidiemi pozorované pomocí světelného mikroskopu (Matušinsky et al. 2011) 31
Obrázek 10: 3D conformer fluxapyroxadu (National Center for Biotechnology Information 2024e).....35
Obrázek 11: 3D conformer Azoxystrobinu (National Center for Biotechnology Information 2024f).....37
Obrázek 12: 3D conformer fenpikoxamidu (National Center for Biotechnology Information 2024g) 40
Obrázek 13: 3D conformer prothiokonazolu (National Center for Biotechnology Information 2024h).....42
Obrázek 14: 3D conformer mefentriflukonazolu (National Center for Biotechnology Information 2024i).....44
Obrázek 15: Vývoj rezistence vůči fungicidům Vývoj rezistence vůči fungicidům je proces, jehož selekčním mechanismem je fungicid. Při kvalitativní rezistenci (A) se selektují necitlivé kmeny díky mutacím v genomu jedince a selekčnímu tlaku fungicidů a kmeny jsou buď citlivé, nebo rezistentní vůči látce. Při kvantitativní rezistenci (B) mají jedinci, kteří exprimují geny vedoucí ke snížené citlivosti k fungicidům, větší pravděpodobnost, že přežijí ošetření fungicidem. Subletální fungicidní stres vede k další indukci genů, které pomáhají odolávat následnému ošetření účinnou látkou. V důsledku toho dochází k posunu populace směrem k rostoucí rezistenci a objevuje se stále větší počet jedinců s vyšším stupněm rezistence (upraveno podle Deising et al. 2008). 47
Obrázek 16: Pokusná maloparcelka, z které byly odebírány infikované rostliny. 55
Obrázek 17: Vzorek pšenice č. 134 před rozebráním na segmenty pro analýzu k výskytu patogenů.....58
Obrázek 18: Sterilizace bází stébel obilnin.....59
Obrázek 19: Čištění listů obilnin.....59
Obrázek 20: Izolace patogenů bází stébel obilnin.....60
Obrázek 21: Odebírání konidií *Z. tritici*.....61
Obrázek 22: Pyknidy a uvolněné masy pyknidiospor patogenu *Zymoseptoria tritici* na pšenici 61

Obrázek 23: Zakládání testů citlivosti k účinné látce fluxapyroxad u patogenu *Zymoseptoria tritici* 62
Obrázek 24: Test citlivosti na účinnou látku prothiokonazol u patogenu *Zymoseptoria tritici* 63

1 Úvod

V dnešní době se v zemědělství stále více projevuje problém nesprávného užívání přípravků na ochranu rostlin. Tyto přípravky jsou nadměrně využívány, snižuje se jejich efektivní dávka a často jsou používány látky, které již nejsou schopné zajistit účinnou ochranu nebo na ně patogeny vyvinuly rezistenci. Dalším aktuálním problémem v zemědělství je postupné zužování spektra účinných látek, což bude i nadále představovat výzvu v ochraně plodin proti plevelům, škůdcům i patogenům.

Houbové patogeny, jako *Monographella nivalis, Oculimacula yallundae, Zymoseptoria tritici, Ramularia collo-cygni* a další představují zásadní hrozbu pro produkci obilnin po celém světě. Jejich nekontrolovaný výskyt může způsobit značné ekonomické ztráty a ohrozit potravinovou bezpečnost. Vzhledem k narůstajícímu riziku vývoje rezistence patogenů vůči běžně používaným fungicidům je nezbytné provádět pravidelné monitorování a testování citlivosti populací těchto patogenů.

Tato diplomová práce se zaměřuje na testování účinných látek (fluxapyroxad, azoxystrobin, fenpikoxamid, prothiokonazol, mefentriflukonazol) s různými mechanismy účinku na patogeny, které způsobují ročně značné škody na výnosech obilnin. Předpokládáme, že v populaci patogenů způsobujících významné choroby obilnin existují izoláty s různou úrovní citlivosti k fungicidním látkám, jež se používají při ochraně obilnin proti nim. Cílem této práce je zjištění úrovně citlivosti jednotlivých izolátů vybraných houbových patogenů obilnin k běžně používaným fungicidním látkám.

Klíčovým přínosem této práce je poskytnutí uceleného pohledu na problematiku rezistence houbových patogenů obilnin vůči fungicidům a zhodnocení dostupných strategií pro řízení rezistence, včetně vyhodnocení účinnosti používaných látek. Na základě našich výsledků můžeme identifikovat klíčové oblasti, ve kterých je třeba provádět další výzkum, a navrhnout opatření pro efektivní ochranu úrody obilnin proti původcům houbových chorob v budoucnosti.

Tato práce je strukturována do více částí: literární rešerše, metodika, výsledky, diskuze a závěr. Každá část má svůj specifický cíl a zaměření.

Hlavním cílem literární rešerše je poskytnout ucelený přehled o problematice rezistence houbových patogenů obilnin vůči fungicidům. Tato část se zabývá patogeny, jejich infekčním cyklem, fungicidy a jejich vlivem na životní prostředí, rezistencí, mechanismy jejího vzniku a strategiemi pro řízení této rezistence. Důraz je kladen na poskytnutí teoretického rámce, který umožní porozumění praktickým aspektům testování rezistence houbových patogenů.

Hlavním cílem metodiky je popsat postupy a techniky použité při testování citlivosti/rezistence houbových patogenů obilnin k fungicidům. Tato část se zabývá detailním popisem experimentálního designu, výběrem testovaných látek, metodami testování citlivosti patogenů a interpretací výsledků. Důraz je kladen na poskytnutí praktických informací pro provedení testů a jejich správného vyhodnocení.

Výsledky této diplomové práce prezentují data získaná během testování citlivosti/resistence populací houbových patogenů k různým fungicidním látkám.

Diskuze se zaměřuje na interpretaci a analýzu výsledků získaných během výzkumu. Reflektuje a porovnává klíčové poznatky experimentů ve světě a diskutuje o jejich významu a dopadu v kontextu zemědělské praxe a ochrany rostlin.

Tímto rozdělením je zajištěno, že práce pokrývá jak široký teoretický kontext problematiky rezistence houbových patogenů, tak i konkrétní postupy a techniky používané při testování rezistence patogenů v praxi.

Tato práce má potenciál přispět ke zlepšení strategií ochrany plodin a udržitelného zemědělství prostřednictvím lepšího porozumění rezistenci houbových patogenů vůči fungicidům a optimalizace strategií prevence jejího vzniku.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Hypotéza diplomové práce

V populaci patogenů způsobujících významné choroby obilnin existují izoláty vyznačující se různou úrovní citlivosti k fungicidním látkám, které se používají při ochraně obilnin proti těmto patogenům.

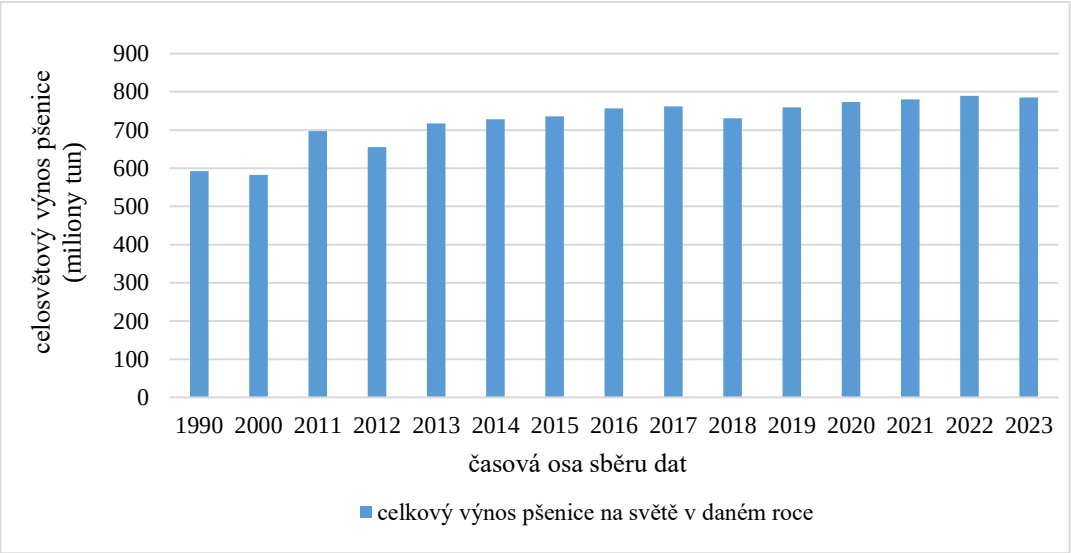
2.2 Cíle diplomové práce

Zjistit úroveň citlivosti jednotlivých izolátů vybraných houbových patogenů obilnin k běžně používaným fungicidním látkám.

3 Literární rešerše

3.1 Význam obilnin

Pšenice je nejčastěji pěstovanou obilninou na světě (viz Graf 1), v roce 2023 dosahovala její celková produkce 784,91 milionů tun. Mezi přední producenty pšenice patří Čína, státy Evropské unie a Indie, kteří ročně vyprodukují 384,5 milionů tun pšenice, což je téměř polovina světové produkce. Pro porovnání Česká republika v roce 2023 vyprodukovala 5 262 361 tun pšenice (World Agricultural Production 2024a; Shahbandeh M 2024).



Graf 1: Celosvětová produkce pšenice
(upraveno podle Shahbandeh 2024)

Z botanického hlediska patří pšenice i ječmen, který je pátou nejvíce produkovanou obilninou na světě, do čeledi Poaceae. Pšenice se vyznačuje tím, že má na článku klasového vřeténka jeden vícekvětý klásek, zatímco ječmen má jednokvěté klásky (Wiese 1987; Mathre 1997).

Obě obilniny jsou nedílnou součástí každodenního života. Pšeničné zrno obsahuje sacharidy, bílkoviny, vitamíny a minerální látky esenciální pro fyziologický vývoj a zachování tělesného zdraví. Lepek, který je obsažen v pšeničném zrnu, je bílkovina schopná zachytit oxid uhličitý při kvašení těsta a má tedy vliv na konzistenci a tvar výsledného pekárenského produktu. Přestože se hlavně konzumuje ve formě chleba, je také důležitou součástí mnoha dalších potravinářských a průmyslových výrobků a krmiva pro hospodářská zvířata. Zbytky pšenice slouží jako podestýlka či organická hmota pro hnojení (Wiese 1987; World Agricultural Production 2024b).

Obilniny, stejně jako jiné plodiny, jsou ohroženy celou řadou patogenů. Některé z patogenů mohou být nebezpečné, jak pro člověka, tak pro zvířata. Problémovým patogenem při porušení správné zemědělské a technologické praxe během pěstování a zpracování obilnin může být například paličkovice nachová (*Claviceps purpurea*), která produkuje v klasech obilnin sklerocia (námel) obsahující tzv. námelové alkaloidy (klavinové a peptidových alkaloidy a deriváty kyseliny lysergové). Tyto alkaloidy ovlivňují nervovou soustavu živočichů a způsobují nemoc známou jako ergotismus. Přítomnost námele u obilnin způsobuje snížení množství obilek v klasu, což má za následek pokles výnosu. Avšak hlavní problém spočívá v negativním dopadu na kvalitu sklizeného zrna, neboť sklerocia námele obsahují vysoké koncentrace toxických alkaloidů. Napadená rostlina a její výsledný produkt je tak zcela nepoužitelný pro další zpracování (Tudzynski & Scheffer 2004; Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž 2021).

Dalšími významnými houbovými patogeny, kteří snižují celkový výnos a kvalitu pšenice jsou původci listových chorob jako je například braničnatka pšeničná a rzi. Problém tvoří také původci chorob pat stébel, jako jsou patogeni způsobující černání pat stébel, stéblolam obilnin či houby rodu *Fusarium* (Tudzynski & Scheffer 2004; Figueroa et al. 2018; Palma-Guerrero et al. 2021; Luo et al. 2021; Singh et al. 2023).

Pšenice a ječmen mohou být dále napadány i jinými skupinami patogenů, jako jsou viry či bakterie. Co se týče hmyzích škůdců, jedni z nejvýznamnějších škůdců pšenice jsou mšice, jejichž výskyt je větší v zapleveleném porostu. Nejčastěji jde o mšici broskvoňovou, mšici střemchovou, ale může se objevovat i mšice zhoubná (Bajwa et al. 2020).

Ječmen ozimý se v České republice využívá jako krmivo pro hospodářská zvířata. Odrůdy jarního ječmene se však v České republice pěstují hlavně pro sladovnické účely. V minulém roce bylo sklizeno 1 764 205 tun ječmene z čehož 950 399 t činily jarní odrůdy. Je zde však klesající trend v pěstování ječmene jarního, na rozdíl od upotřebení ječmene v cereáliích, kde je trend opačný. Jedná se totiž o kvalitní alternativu k oblíbené pšenici a ovsu, neboť odrůdy ječmene mají vysoký obsah beta-glukanů, které hrají roli v podpoře činnosti lidského zažívacího systému a zdraví obecně (Český statistický úřad – veřejná databáze 2024).

Ječmen je pěstován většinou v mírném podnebném pásu, kdy jeho celosvětový výnos činil v roce 2023 141,77 milionů tun z čehož 48,65 milionů tun bylo vypěstováno v Evropské unii. Největších výnosů lze dosáhnout, pokud je pěstován v pro něj ideálních podmínkách, které zabezpečí, že může dlouze dozrávat za chladnějšího počasí a středních srážek na odvodněné půdě. Jelikož je ječmen jednou z nejspolehlivějších plodin tam, kde je problémem sucho, letní mráz, zásadité půdy a podobně, je hojně pěstován v zemích jako Rusko, Austrálie, Turecko a podobně. Mezi nejznámější choroby ječmene patří choroby pat stébel způsobené patogeny *Oculimacula yallundae, Fusarium* spp. aj. Z listových chorob to jsou tmavohnědá skvrnitost ječmene, hnědá rzivost ječmene, černě, sněti, padlí aj. Stejně jako u pšenice, tak i u ječmene tvoří největší problém z hmyzích škůdců mšice, a to zejména mšice střemchová a kyjatka osenní, které přenášejí virus žluté zakrslosti ječmene (Mathre 1997; Gangwar et al. 2019; Różewicz et al. 2021; Ababa et al. 2023; Český statistický úřad – veřejná databáze 2024; World Agricultural Production 2024c).

3.2 Patogeny obilnin

Patogeny, organismy vyvolávající onemocnění u svých hostitelů, jsou problémem v oblasti zemědělství a potravinářství. Onemocnění vznikne, pokud nastanou vhodné podmínky.

Tyto podmínky zahrnují virulentní patogen, náchylného jedince k patogenu a příhodné prostředí. Termín virulence se používá k vyjádření kvalitativních rozdílů v patogenitě. S nárůstem výskytu rostlinných parazitů, včetně virů, bakterií a hub, se zvyšují ekonomické ztráty. Pro efektivní ochranu hostitelské rostliny je nezbytné pochopit biologii těchto patogenů a jejich mechanismy virulence (Kheyrodin 2011; Al-Ani & Furtado 2020).

Houby z hlediska patogenů představují nejvýznamnější skupinu eukaryotických heterotrofních organismů, tedy organismů, kteří nejsou schopni samy syntetizovat potřebné látky a čerpají je proto z jiných organismů. Podle mykologů existuje na světě mezi půl milionu až 10 milionů druhů hub, avšak popsáno bylo prozatím kolem 120 000 druhů. Houby jsou klíčovou skupinou v ekosystémech, neboť se významně podílejí na dekompozici a jsou součástí biotických interakcí, jako je například symbióza (L & Robert 2017).

Některé houbové patogeny rostlin produkují mykotoxiny. Mykotoxiny jsou sekundární metabolity vytvářené houbami, schopné způsobit onemocnění nebo dokonce mortalitu u lidí i zvířat. Mykotoxiny jsou nejen toxické pro lidi a zvířata, ale hrají také významnou roli v patologii rostlin. Mnoho sekundárních metabolitů produkovaných houbami, včetně mykotoxinů, působí jako faktory patogenity nebo virulence a přispívají k rozvoji chorob rostlin. Například mykotoxiny vytvářené houbovými patogeny rodů, jako jsou *Cochliobolus* sp. a *Alternaria* sp., mají prokázanou roli v rozvoji chorob. Podobně mykotoxiny produkované druhy rodu *Fusarium* mají zásadní význam v patogenezi rostlin. Až čtvrtina světových potravin a krmiva může být kontaminována mykotoxiny, což má značný dopad na zdraví konzumentů i ekonomiku (Bennett & Klich 2003; Cheli et al. 2017).

Významným problémem obilnin jsou zejména houbové patogeny jako *Monographella nivalis, Oculimacula yallundae, Zymoseptoria tritici* a *Ramularia collo*-cygni, které každoročně patří mezi hlavní původce ztrát na výnosu a kvalitě světové produkce obilnin. Tyto patogeny byly vybrány jako vhodný pokusný materiál pro tuto studii, neboť jejich výzkum přispěje k nalezení účinnějších způsobů ochrany. Pochopení životních a infekčních cyklů, patogenity a virulence těchto patogenů je klíčové pro vypracování strategií na ochranu plodin a zajištění potravinové bezpečnosti (Fisher & Denning 2023; National Center for Biotechnology Information 2024a, 2024b, 2024c, 2024d).

3.2.1 *Monographella nivalis*

Monographella nivalis ((Schaffnit) E. Müll.) (viz Obrázek 1) neboli rážovka sněžná je fakultativní fytopatogenní houba (Tabulka 1) způsobující plíseň sněžnou (sněžnou plísňovitost obilnin). Tuto chorobu najdeme na poli zejména během zimního období, kde díky přizpůsobení houby na nízké teplotní podmínky má pod vrstvou sněžné pokrývky ideální podmínky a způsobuje poškození porostů. Pro správný vývoj patogenu je zapotřebí téměř úplná tma, vysoká vlhkost a konstantní teploty mezi -3 C až 1°C. Dále tento patogen působí problémy na golfových trávnících, kde se objevuje zejména v podobě lokalizovaných kruhových či nepravidelných ohnisek (Mathre 1997).

Patogen *M. nivalis* postihuje obilniny, zejména pšenici a ječmen. Ječmen ozimý je méně odolný vůči zimním podmínkám, a proto i více náchylný k napadení *M. nivalis,* v důsledku čehož jsou v oblastech s dlouhotrvající sněhovou pokrývkou značné ztráty na výnosech. Při extrémním tlaku patogenu a nízké teplotě půdy dochází k odumírání mladých rostlinek (Mathre 1997).

Obrázek 1: Mycelium *Monographella nivalis* (rážovka sněžná) (Horák 2004)

3.2.1.1 Taxonomie a infekční cyklus *Monographella nivalis*

V Tabulce 1 je uvedeno taxonomické zařazení patogenu *M. nivalis*.

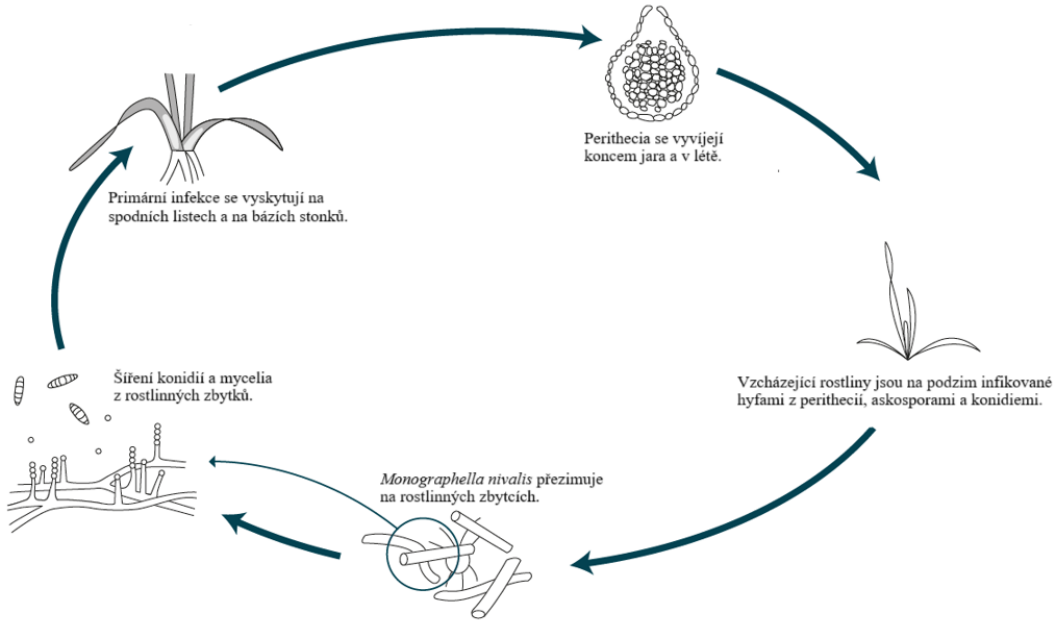
Tabulka 1: Taxonomické zařazení *Monographella nivalis* (National Center for Biotechnology Information 2024a)

Taxonomická jednotka	**Název**
Nadříše	Eukaryota
Říše	Fungi
Podříše	Dikarya
Kmen	Ascomycota
Podkmen	Pezizomycotina
Třída	Sordariomycetes
Podtřída	Xylariomycetidae
Řád	Xylariales
Čeleď	Hyponectriaceae
Rod	*Monographella*
Druh	*Monographella nivalis*

K primární infekci dochází především z mycelia, které přežívá saprofyticky v půdě, dále na napadených posklizňových zbytcích a v malé míře i v množitelském materiálu. K správnému rozvoji choroby je zapotřebí příznivých podmínek jako například nízké teploty, dlouhotrvající sněhové pokrývky atd. Pokud jsou primárním zdrojem infekce rostlinné zbytky, s klesajícími teplotami na přelomu léta a podzimu začíná patogen intenzivně produkovat na myceliu velké množství spor, známých jako konidie. Tyto konidie jsou následně rozptýleny prostřednictvím větru a vody a zahajují infekci rostlin. V lokalitách, kde dochází k tvorbě perithecií na nekrotických lézích, mohou askospory přenášené větrem představovat také hlavní zdroj inokula (Iriki et al. 2001; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).

Konidie přistávají především v bazálních částech porostu trav a obilnin, kde se často nachází rozkládající se rostlinný materiál. Za příznivých podmínek, jako jsou nízké teploty a zvýšená vlhkost, konidie klíčí a infekční hyfy pronikají do listů a dalších částí rostlinných pletiv, čímž zahajují proces infekce. Následně dochází ke kolonizaci rostlinných pletiv houbou. Dochází k tvorbě mycelia, které se rozrůstá v rámci rostliny a způsobuje tak poškození. V severských oblastech je často mycelium déle chráněno sněhovou pokrývkou, což houbě poskytuje příznivé mikroklima pro déle trvající aktivitu (Iriki et al. 2001; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).

V souvislosti s nástupem jarního zvýšení teplot dochází k postupnému tání sněhu, což má za následek odhalení infikovaných rostlin. V tomto období je houba aktivní v produkci konidií, které se následně šíří na sousední rostliny. Tento mechanismus představuje klíčový faktor v kontextu šíření patogenu s potenciálem výrazně ovlivnit další hostitelské rostliny (Iriki et al. 2001; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).



Obrázek 2: Zjednodušený infekční cyklus *Monographella nivalis* (upraveno podle Agriculture and Horticulture Development Board 2024)

3.2.1.2 Symptomy choroby a diagnostika *Monographella nivalis*

Symptomy napadení obilniny patogenem *M. nivalis* jsou nejvíce patrné při jarním tání sněhové pokrývky. V sněhových údolích a v místech, kde sníh přetrvává delší dobu ve větším množství, se příznaky napadení projevují v podobě rostlin pokrytých bílým myceliem, které s postupem času mění svou barvu na různé odstíny růžové. Při extrémním napadení patogenem může dojít v jarním období i k úhynu rostliny v důsledku destrukce pletiv houbou. Je zde možná záměna s poškozením rostliny v důsledku nízkých teplot, které najdeme na vyvýšených místech, kde již vítr sníh odvál. Rostliny zasychají během jarního odnožování (CABI 2022; Temirbekova et al. 2022; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).

Typickým projevem výskytu choroby jsou oválné, nepravidelně ohraničené šedohnědé skvrny s nazelenalým středem na listových čepelích horních listových pater. Na málo infikovaných listech se mohou vyvinout menší nekrotické léze, na nichž se hojně vyvíjejí perithecia (CABI 2022; Temirbekova et al. 2022; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).

Obilniny však mají schopnost regenerace meristematickým pletivem. Napadené rostliny však již budou mít omezený jarní růst, a tudíž budou mít i nižší výnosy. Tyto výnosy mohou být nižší i z důvodu běloklasosti ječmene, kterou tento patogen také může způsobit (CABI 2022; Temirbekova et al. 2022; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).

Přítomnost mycelia na živých i odumřelých částech rostliny slouží jako diagnostický ukazatel napadení původcem plísně sněžné (CABI 2022; Temirbekova et al. 2022; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).

Konidie mají růžovo-oranžovou barvu a mohou tvořit souvislé povlaky sporodochií na povrchu listů. Z odebraného vzorku se konidie velmi snadno kultivují a vytvářejí kolonie na živném médiu, kde přítomnost charakteristických makrokonidií (10–30 × 2,5–5 µm) s jednou či třemi přepážkami slouží jako diagnostický rys tohoto patogenu (CABI 2022; Temirbekova et al. 2022).

Monographella nivalis je homothallický organismus, což znamená, že jedinec pocházející z jedné spory je schopen se pohlavně rozmnožovat bez potřeby přítomnosti jedince opačně laděného pohlavního typu (pocházejícího z jiné spory), a to z toho důvodu, že se alely nutné pro pohlavní rozmnožování (MAT) nacházejí v jednom genomu. *M. nivalis* kdykoli během vegetační sezóny vytváří perithecia (viz Obrázek 2) v pochvách spodních listů (i v klasu) v reakci na chladné a vlhké počasí. Tato perithecia představují další diagnostický znak. Jsou oválné až kulovité, tmavě hnědé, o velikosti 100–150 × 120–180 µm. Tvoří hyalinní apikální papilu, která prorůstá na povrch hostitele, kde však již netvoří stroma. Vřecka (6–9 × 60–70 µm) jsou hyalinní, kyjovité, tenkostěnné struktury, v nichž vznikají askospory. Vřecko obvykle obsahuje šest až osm askospor. Jakmile askospory dozrají, jsou hyalinní, elipsoidní, tří či čtyřbuněčné, o velikosti 3,5–4,5 × 10–17 µm (Wilson et al. 2015; CABI 2022; Temirbekova et al. 2022; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).

3.2.1.3 Ochrana proti *Monographella nivalis*

V kontextu ochrany proti plísni sněžné se zdůrazňuje strategie nepřímé ochrany. Nepřímá opatření jsou široce známé a běžně využívané agrotechnické strategie. Zaměřují se na vytváření optimálního prostředí pro růst a vývoj rostlin a současně na vytváření nepříznivých podmínek pro vznik infekcí a šíření choroby (Iriki et al. 2001; CABI 2022; Temirbekova et al. 2022; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).

Dostatečně účinná preventivní ochrana proti původci plísně sněžné v zemědělství vyžaduje komplexní přístup, který zahrnuje několik klíčových opatření. Je nezbytné pěstovat rezistentní odrůdy rostlin, které jsou schopné odolávat patogenům. Dále je důležité podporovat rychlou regeneraci porostů, což lze dosáhnout přihnojením dusíkem na jaře a optimální výživou. Stejně tak je důležitý výběr vhodného stanoviště a termínu pro výsev. To zahrnuje vyhýbání se výsevu hostitelských rostlin na místech s hlubokým a dlouhotrvajícím sněhem a brzký výsev (CABI 2022; Temirbekova et al. 2022).

Je nutné důsledně zapravit posklizňové zbytky a podporovat jejich rozklad v půdě, což snižuje zdroje infekce pro další vegetační sezónu. Včasné ničení rostlin z výdrolu a rotace plodin (tj. nevysévat ozimy po ozimech) jsou další důležitá opatření, která přispívají k prevenci vzniku infekcí. Konečně, správně provedený výsev zdravého osiva a vyhýbání se příliš vysokému výsevku jsou klíčové pro minimalizaci rizika infekce při založení porostu (ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024a).

Chemická ochrana obilnin je nezbytnou součástí ochrany proti *M. nivalis*. Jako preventivní ochrana se využívá moření osiva, které je také nejúčinnější metodou ochrany rostlin proti tomuto patogenu. Nicméně, je důležité zdůraznit, že při užívání systémových fungicidů, zejména QoI fungicidů, které jsou známé jako strobiluriny, a triazolů, hrozí riziko vývoje rezistence u tohoto patogenu (viz Tabulka 5). Náchylnost k vzniku rezistence k QoI fungicidům byla prokázána u populací *M. nivalis* v Německu, Polsku, Litvě, Rumunsku a Velké Británii. Tato situace vyžaduje pečlivou pozornost při výběru a rotaci fungicidů s cílem minimalizovat toto riziko a zajistit dlouhodobou udržitelnost strategií ochrany rostlin. Všechna tato opatření společně tvoří integrovaný a efektivní přístup k prevenci vzniku této choroby (CABI 2022; Temirbekova et al. 2022; Sierotzki et al. 2023).

3.2.2 *Oculimacula yallundae* a *Oculimacula acuformis*

Původci stéblolamu obilnin *Oculimacula yallundae* ((Wallwork & Spooner) Crous & W. Gams) a *O. acuformis* ((Nirenberg) Y. Marín & Crous) jsou fytopatogenní heterothalické houby, což znamená že jedinec je v populaci schopen pohlavního rozmnožování pouze tehdy, pokud se setká s jiným jedincem, který je geneticky odlišný (jiného pohlavního typu). Oba patogeny (viz Obrázek 3, Tabulka 2), se spolu s *Gaeumannomyces graminis* ((Sacc.) Arx & Oliver), *Fusarium* spp. (Link), *Ceratobasidium cereale* (D. I. Murray & Burpee) a dalšími patogeny řadí do skupiny patogenů způsobující tzv. choroby pat stébel (Dumalasová et al. 2017; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024b).

Choroby pat stébel obilnin jsou každoročně problémem, zejména v oblastech s intenzivním pěstováním obilovin, a to i během suchých ročníků. Původci těchto chorob mohou způsobit ztráty až 40 % na výnosech, zvláště pokud patogeny přežívají v půdě déle než 3 roky. Při infekci patogeny pronikají do stébla, což spolu s nekrózou pletiv oslabuje rostlinu a způsobuje její poléhání. Tento proces zároveň brání transportu živin a vody cévním svazkem, což má za následek předčasné dozrávání rostlin (běloklasost) (Dumalasová et al. 2017; Palicová et al. 2018, 2020; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024b).

Původci stéblolamu, jakožto jedni z hlavních původců chorob pat stébel, nejzávažněji postihují pšenici, ale stejně závažně mohou napadat i tritikále. Ječmen ozimý je relativně odolný k napadení, kdežto jarní odrůdy ječmene jsou intenzivně napadány původci stéblolamu již v raných fázích ontogeneze. Méně často dochází k infekci u žita (Palicová et al. 2020; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024b).

Houba *O. yallundae* je v České republice dominantní na pšenici, ale ve světě se vyskytuje variabilita v zastoupení obou druhů, což může být ovlivněno použitím fungicidů s různou účinností proti *O. yallundae* a *O. acuformis* (Palicová et al. 2020; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024b).

Obrázek 3: Symptomy stéblolamu na různých odrůdách ozimé pšenice (Palicová et al. 2020)

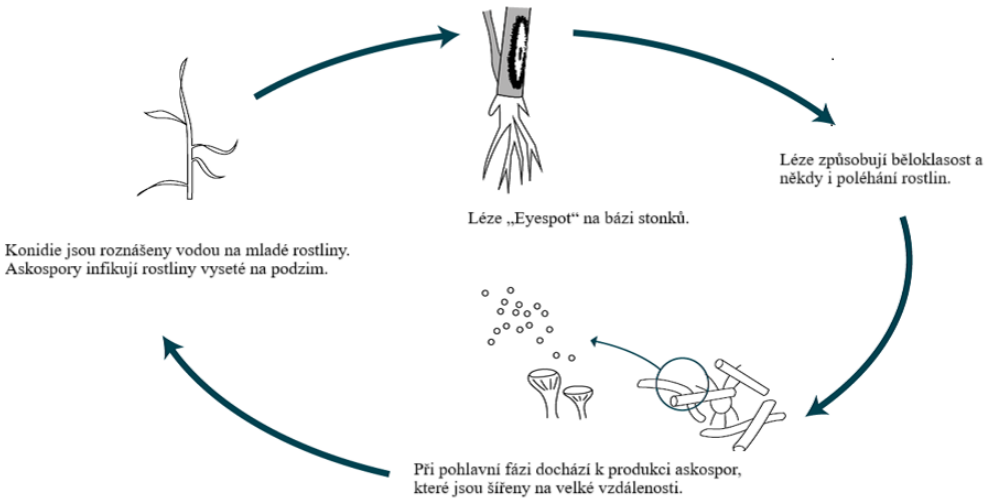
3.2.2.1 Taxonomie a infekční cyklus *Oculimacula yallundae*

V Tabulce 2 je uvedeno taxonomické zařazení patogenu *O. yallundae*.

Tabulka 2: Taxonomické zařazení *Oculimacula yallundae* (National Center for Biotechnology Information 2024b)

Taxonomická jednotka	**Název**
Nadříše	Eukaryota
Říše	Fungi
Podříše	Dikarya
Kmen	Ascomycota
Podkmen	Pezizomycotina
Třída	Leotiomycetes
Podtřída	Leotiomycetidae
Řád	Helotiales
Čeleď	Ploettnerulaceae
Rod	*Oculimacula*
Druh	*Oculimacula yallundae*

Primární zdroj infekce jsou infikované rostlinné zbytky, kde původci přežívají myceliem, které za vhodných podmínek sporuluje a konidie, které se šíří v porostu deštěm, jsou tak hlavním zdrojem inokula. Pohlavní rozmnožování probíhá díky přítomnosti kompatibilních (opačně pohlavně laděných) jedinců rozdílných pohlavních typů MAT-1 a MAT-2 za vzniku apothecií s askosporami (viz Obrázek 4). Tento typ pohlavního rozmnožování stéblolamu není tak významný z hlediska intenzity infekce ve srovnání s infekcí způsobenou konidiemi, avšak hraje důležitou roli například při vzniku rezistence stéblolamu vůči fungicidům nebo při přenosu askospor větrem na větší vzdálenosti (Lucas et al. 2000; Dumalasová et al. 2017; Palicová et al. 2020; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024b).



Obrázek 4: Zjednodušený infekční cyklus *Oculimacula yallundae* (upraveno podle Agriculture and Horticulture Development Board 2024b)

3.2.2.2 Symptomy choroby a diagnostika *Oculimacula yallundae*

Výskyt příznaků stéblolamu na bázích stébel se objevuje od konce odnožování do začátku sloupkování. Klíčovým faktorem ovlivňujícím míru škodlivosti jsou srážky a průměrné teploty v dubnu a v květnu. Proces pronikání hub do pletiv hostitele je urychlován vlhkým počasím a teplotou pohybující se od 4–10 °C, s optimem 10 °C. Na pochvách spodních listů se koncem odnožování až počátkem sloupkování objevují protáhlé hnědě zabarvené difuzní skvrny. V některých letech může dojít k infekci již na podzim. V pozdějších fázích růstu rostliny jsou viditelné charakteristické eliptické skvrny ve tvaru oka. Skvrny mohou být světle hnědé s difuzními tmavohnědými okraji nebo má skvrna tmavě zbarvený střed a je světlejší směrem k okrajům. Tento symptom dal název, jak latinskému názvu rodu *Oculimacula,* tak i anglickému názvu choroby tzv. „eyespot“. Na stoncích se může objevit i více skvrn. Ve středu stonku mohou být viditelné černé „tečky“, struktury původce. Při intenzivním napadení je ve stéble dobře pozorovatelné šedavé vatovité mycelium. Dochází také k oslabení pevnosti paty stébla, což může vést k lámání stébel a poléhání porostu. Rostliny, které nepoléhají, mají tendenci předčasně dozrávat (běloklasost) (Dumalasová et al. 2017; Palicová et al. 2020; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024b).

3.2.2.3 Ochrana proti *Oculimacula yallundae*

Stejně jako u výše zmíněného patogenu *M. nivalis* je u stéblolamu nejdůležitější preventivní ochrana. Cílem je používat nepřímá opatření, tak aby vedla k zajištění optimálních podmínek pro růst a vývoj rostlin a současně k podmínkám zamezujícím vznik a šíření patogenu (Dumalasová et al. 2017; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024b).

Pěstovány by měly být rezistentní odrůdy obilnin. Žádoucí je také pravidelné střídání obilnin s jinými plodinami v rámci osevního sledu, přičemž obilniny by měly být opětovně vysety nejdříve po 3 letech. Redukce inokula v půdě může být ovlivněna zařazením vhodné předplodiny do osevního sledu. Žádoucí je zapravit posklizňové zbytky do půdy, podporovat jejich rozklad a zamezit vzcházení rostlin z výdrolu (Dumalasová et al. 2017; Palicová et al. 2020; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024b).

Důležitý je také jarní monitoring výskytu stéblolamu, který se provádí koncem odnožování až začátkem sloupkování ve fázi BBCH 30–32 (až do objevení 2. kolénka). Stupnice BBCH je mezinárodně používaný systém k určení fenologických vývojových stadií rostlin. V této fázi nejsou symptomy plně rozvinuté, což znamená, že není možné pouhým okem rozpoznat původce choroby a jeho determinaci je potřeba provést vhodnými laboratorními metodami (Dumalasová et al. 2017).

Součástí integrované ochrany rostlin je i chemická ochrana, kdy se osivo proti původci choroby moří. Již od fáze 3 až 4 listů (BBCH 13–14) mohou být na napadených rostlinách viditelné primární symptomy v podobě zahnědnutí bází stébel těsně nad povrchem půdy. Proto je v oblastech intenzivního pěstování obilnin doporučováno provést první aplikaci fungicidů na začátku fáze sloupkování (BBCH 30–32) (Dumalasová et al. 2017; Palicová et al. 2020; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024b).

V případně pozdního výskytu infekce je potřeba aplikovat systémový listový fungicid na bázi QoI fungicidů či triazolů. Důležité je zde užít konkrétní účinnou látku stanovenou

výrobcem, aby nedocházelo k vzniku rezistence. V Německu, Polsku, Litvě, Rumunsku, Lotyšsku a Velké Británii byla u *O. yallundae* potvrzena rezistence na k QoI fungicidům. Podle Sierotzki (2023) je *O. yallundae* považován za patogen se středním rizikem vzniku rezistence.

3.2.3 *Zymoseptoria tritici*

Zymoseptoria tritici ((Desm.) Quaedvl. & Crous) neboli braničnatka pšeničná (viz Obrázek 5, Tabulka 3) je teleomorfní stadium listového hemibiotrofního polycyklického houbového patogenu, tedy patogenu, který může během jednoho vegetačního období projít několika infekčními cykly. Patogen způsobuje chorobu zvanou septoriová skvrnitost pšenice (starší název braničnatka pšeničná). Jedná se o nejrozšířenějšího původce listových skvrnitostí pšenice v České republice, a současně i v Evropě. Výrazně snižuje výnos prostřednictvím redukce aktivní asimilační plochy (Orton et al. 2011; Věchet et al. 2013; Šíp et al. 2014; National Center for Biotechnology Information 2024c; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024c).

Houba napadá zejména pšenici, ale může se také objevit na tritikále, ovsu, některých druzích trav jako jsou jílek či medyněk (ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024c).

Pro optimální rozvoj choroby je nezbytná vysoká vlhkost listového povrchu, která trvá minimálně 20 hodin a teplotní podmínky kolem 20–25 °C jsou ideální pro vznik a rozvoj infekce. Brzký termín setí vede k včasné infekci patogenem a jejímu následnému šíření (ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024c).

Obrázek 5: *Zymoseptoria tritici* na pšenici – pyknidy s pyknidiosporami (10× zvětšeno)

3.2.3.1 Taxonomie a infekční cyklus *Zymoseptoria tritici* a symptomy choroby

V Tabulce 3 je uvedeno taxonomické zařazení patogenu *Z. tritici*.

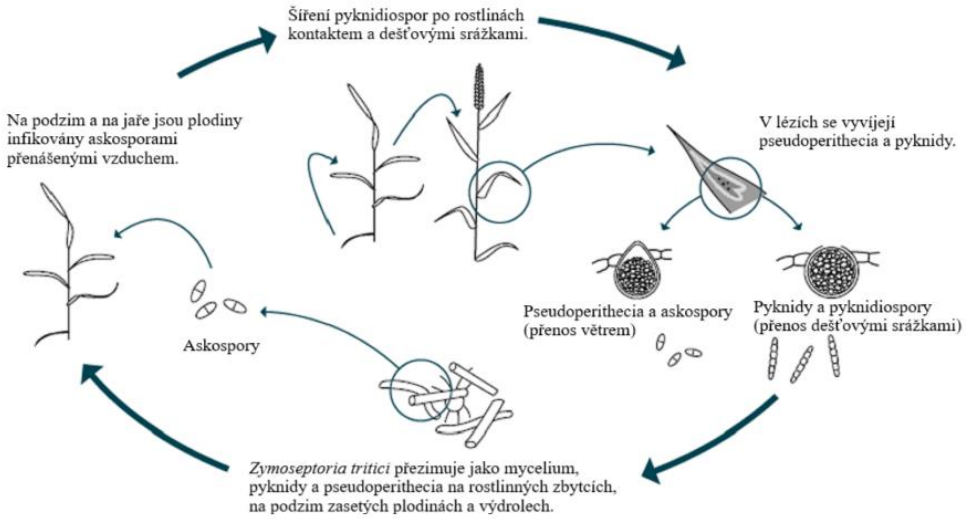
Tabulka 3: Taxonomické zařazení Zymoseptoria tritici (National Center for Biotechnology Information 2024c)

Taxonomická jednotka	**Název**
Nadříše	Eukaryota
Říše	Fungi
Podříše	Dikarya
Kmen	Ascomycota
Podkmen	Pezizomycotina
Třída	Dothideomycetes
Podtřída	Dothideomycetidae
Řád	Mycosphaerellales
Čeleď	Mycosphaerellaceae
Rod	*Zymoseptoria*
Druh	*Zymoseptoria tritici*

Primární infekce nastává na podzim (viz Obrázek 6). Z dozrávajících pseudoperithecií na napadených rostlinných zbytcích se od srpna do října uvolňují askospory. Askospory zachycené na listu klíčí klíční hyfou, na které se vytváří struktura podobná apresoriu, pomocí níž patogen proniká skrze listové průduchy dovnitř hostitele. Následně hyfy patogenu prostupují mezofylemem v listech, prorůstají paralelně s cévními svazky pod epidermálními buňkami (Orton et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024c).

Patogen se rozrůstá uvnitř hostitele po dobu až čtyř týdnů, ale první symptomy jsou patrné již po 10–14 dnech na listech spodních pater. Jedná se nejprve o malé nepravidelné chlorotické skvrnky, které s postupem času šednou, rozrůstají se a mění v nepravidelné eliptické hnědé skvrny vymezené žilnatinou. Viditelné jsou i listové nekrózy. Determinačním znakem jsou pravidelně rozmístěná nepohlavní konidiomata – pyknidy, které se zakládají v dutině pod průduchy. Pyknidy jsou na pohled patrné především proti světlu. Po jejich dozrání se z nich uvolňují pyknidiospory (nepohlavní konidie) (Orton et al. 2011; Šíp et al. 2014; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024c).

Sekundární infekce se objevuje na jaře. Pyknidiospory jsou smývány deštěm z pyknid z napadených spodních pater listů, či jsou šířeny větrem do vyšších listových pater (Orton et al. 2011; Šíp et al. 2014; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024c).



Obrázek 6: Zjednodušený infekční cyklus *Zymoseptoria tritici* (upraveno podle Agriculture and Horticulture Development Board 2024c)

3.2.3.2 Ochrana proti *Zymoseptoria tritici*

Preventivní opatření jsou klíčovou součástí ochrany obilnin před braničnatkou pšeničnou. Jedním z důležitých aspektů je vyvarování se příliš časného termínu setí v podzimním období, což může výrazně snížit riziko napadení a zlepšit výslednou kvalitu sklizně. Současně je třeba být obezřetný ohledně intenzivního přísunu dusíku, který může na podzim přispět k rychlejšímu růstu rostlin a zvýšit jejich náchylnost k napadení patogenem. Vysévány by měly být odrůdy s vysokou mírou rezistence proti *Z. tritici*, což by mělo omezit riziko vzniku epidemie. V neposlední řadě je nezbytné dodržovat správný osevní sled a nepěstovat po sobě pšenici. Likvidovat rostlinné zbytky a zapravit je do země, aby došlo k redukci primárního inokula (ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024c).

Kvůli dlouhé inkubační době patogenu je nezbytné zakládat fungicidní ochranu na systému monitoringu vhodných podmínek pro rozvoj epidemie. Je klíčové sledovat jak úhrn srážek, tak dobu ovlhčení listů. Aplikace fungicidů by měla být provedena podle signalizace nebo pokud hrozí nebezpečí napadení obilniny braničnatkou v době od objevení posledního listu (BBCH 37) do počátku metání (BBCH 51). Stejně jako u stéblolamu, tak i u braničnatky pšeničné se v oblastech časného infekčního tlaku doporučuje ošetřit celý porost již od počáteční fáze sloupkování (BBCH 32). Aplikuje se komplexní fungicidní ošetření proti všem listovým chorobám, podle pokynů prodejce, tak aby se zamezilo vzniku rezistence k použité fungicidní účinné látky (ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024c).

V posledních letech se v populacích patogenu rozšířily izoláty rezistentní k QoI a DMI fungicidům (triazolům). Rezistence k strobilurinům je způsobena jednobodovou mutací G143A, což je označováno jako kvalitativní změna, která však nezpůsobuje ztrátu fitness (vitality) izolátů. Naopak rezistence k triazolům je kvantitativního charakteru, kde dochází k hromadění více bodových mutací v genu *CYP51*, a některé izoláty vykazují známky ztráty vitality (Tvarůžek et al. 2021).

3.2.4 *Ramularia collo-cygni*

Tmavohnědá skvrnitost ječmene je název houbové choroby (viz Tabulka 4) způsobené listovým patogenem *Ramularia collo-cygni* (B. Sutton & J.M. Waller) (National Center for Biotechnology Information 2024d).

Patogen napadá převážně jarní i ozimý ječmen v jeho pozdních fázích růstu. Nalézt jej však můžeme i na tritikále, žitu, pšenici, ovsu, kukuřici, konopí a planých druzích trav jako je pýr. Zdroj infekce je osivo, výdrol, ozimy a trávy (Matušinsky et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).

Největší problémy působí u jarních odrůd sladovnického ječmene, jelikož snižuje kvalitu zrna a jeho výnos. Závažnost choroby spočívá v jejím velmi rychlém rozvoji, který vede ke skvrnitosti listů (viz Obrázek 7). Skvrny vznikají díky toxinům (rubeliny), které patogen vytváří. Tyto toxiny mohou způsobit odumření listů během několika dnů (Matušinsky et al. 2011; Erreguerena et al. 2024; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).

Obrázek 7: List ječmene s typickými příznaky způsobenými patogenem *Ramularia collo-cygni* (Matušinsky et al. 2011)

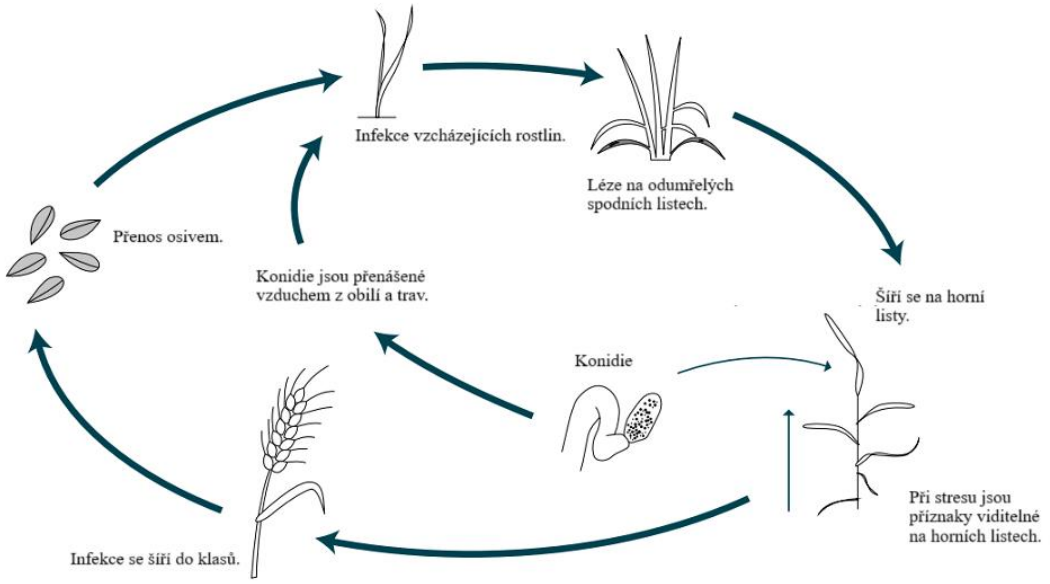
3.2.4.1 Taxonomie a infekční cyklus *Ramularia collo-cygni*

V Tabulce 4 je uvedeno taxonomické zařazení patogenu *R. collo-cygni*.

Tabulka 4: Taxonomické zařazení *Ramularia collo-cygni* (National Center for Biotechnology Information 2024d)

Taxonomická jednotka	**Název**
Nadříše	Eukaryota
Říše	Fungi
Podříše	Dikarya
Kmen	Ascomycota
Podkmen	Pezizomycotina
Třída	Dothideomycetes
Podtřída	Dothideomycetidae
Řád	Mycosphaerellales
Čeleď	Mycosphaerellaceae
Rod	*Ramularia*
Druh	*Ramularia collo-cygni*

Primární infekce se objevuje již na podzim, kdy ozimý ječmen je napadán patogenem skrze osivo. Patogen poté na ozimém ječmeni či na jiných jednoděložných rostlinách přezimuje. V této fázi je důležitý monitoring závažnosti napadení patogenem pomocí molekulárních metod, neboť v této fázi je projev choroby asymptomatický. Jelikož se jedná o listový patogen, příznaky jsou viditelné až v pozdních růstových fázích od metání, kvetení, ale většinou až později v červnu v období dozrávání. Na spodních stranách listů jsou rovněž za vhodných podmínek viditelné konidiofory s konidiemi (viz Obrázek 8), které jsou rozšiřovány větrem na okolní rostliny. Dochází k velmi rychlé infekci a šíření patogena v porostu hostitele. Objevují se typické symptomy v podobě skvrn a jednotlivé části rostliny postupně zasychají. Rozvoji choroby napomáhají toxiny patogenu, známé jako rubeliny. Jedná se o polycyklické aromatické sloučeniny, které vykazují fotodynamickou aktivitu, což znamená, že působením světla vznikají reaktivní formy kyslíku, které jsou pro rostlinná pletiva velmi toxické. Pletiva nekrotizují, je redukována asimilační plocha a proces fotosyntézy. Rovněž může docházet k běloklasosti, tedy předčasnému dozrávání, v důsledku čehož se sníží výnos a kvalita zrna. Projev symptomů tmavohnědé skvrnitosti ječmene souvisí s postupným stárnutím napadené obilniny (Matušinsky et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).



Obrázek 8: Zjednodušený infekční cyklus *Ramularia collo-cygni* (upraveno podle Agriculture and Horticulture Development Board 2024d)

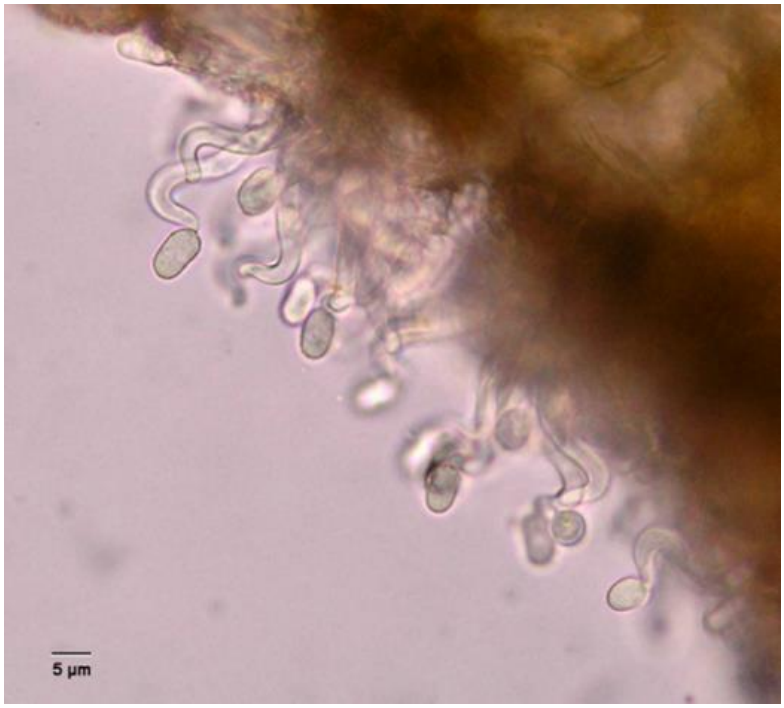
3.2.4.2 Symptomy choroby a diagnostika *Ramularia collo-cygni*

Ramularia collo-cygni je nepohlavní stadium houbového patogenu, který postihuje především praporcové listy vyšších listových pater ječmene, ale také listy pater nižších, listové pochvy, stébla, osiny, a to v pozdním vegetačním období ječmene (Matušinsky et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).

V raných fázích infekce se na listech objevují malé tmavě hnědé až černé skvrny o průměru přibližně 1 mm se žlutým ohraničením. Zpočátku mohou být tyto skvrny snadno zaměnitelné s fyziologickými skvrnami způsobenými stresem z oslunění, ale liší se v tom, že symptomy způsobené patogenem *R. collo-cygni* jsou viditelné z obou stran listu, přičemž projev je intenzivnější na straně osluněné a skvrny mají žluté ohraničení. Postupem času se tyto skvrny rozšiřují a přibývají typické skvrny obdélníkového typu podél nervatury listu. Na listech s výrazným spirálovitým ohnutím lze pozorovat charakteristickou hranici mezi oblastí s výraznějším projevem symptomů na vrchní, intenzivně osluněné části listu a méně postiženou spodní částí (Matušinsky et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).

Na starších listech a v pokročilejších stadiích onemocnění lze na spodní straně listů pozorovat bílé shluky konidioforů, které jsou uspořádané do řad (Matušinsky et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).

Symptomy způsobené *R. collo-cygni* jsou tedy charakterizovány postupným vývojem od raných tmavých skvrnek až po pozdější stadium s obdélníkovitými skvrnami podél nervatury listů a přítomností bílých shluků konidioforů na spodní straně listů. Konidiofory jsou vymezovány strukturou průduchů, z nichž vyrůstají. Obrázek 9 znázorňuje jednotlivé konidiofory s charakteristickým esovitým tvarem, podobným krku labutě, což vedlo k vytvoření latinského názvu druhu (*collum* – krk, *cygnus* – labuť) (Matušinsky et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).



Obrázek 9: Konidiofory *Ramularia collo-cygni* s konidiemi pozorované pomocí světelného mikroskopu (Matušinsky et al. 2011)

3.2.4.3 Ochrana proti *Ramularia collo-cygni*

Nejdůležitější ochranou proti původci tmavohnědé skvrnitosti ječmene je preventivní ochrana, jejíž součástí jsou správná agrotechnická opatření. Zabránění hromadění infekčního materiálu je klíčové pro snížení infekčního tlaku. Toho lze dosáhnout prostřednictvím časného a pečlivého odstranění posklizňových zbytků zapravením do půdy a okamžitého zaorání vzešlých výdrolů ječmene. Zcela nevhodné je pěstování odrůd ječmene v oblastech s nadměrnou vlhkostí, která zvyšuje infekční tlak a rozvoj choroby v porostu, a tím zvyšuje riziko vzniku rezistence patogenu k fungicidům. Doporučováno je nepěstovat ozimý ani jarní ječmen v těsné blízkosti či pěstování obilnin za sebou v osevním sledu, jelikož je zde riziko šíření infekce mezi sousedními hony (Matušinsky et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).

V oblasti chemické ochrany rostlin se osvědčuje aplikace fungicidů v období nadouvání pochvy praporcového listu (BBCH 45–49). Nicméně v některých letech či regionech s vysokým infekčním tlakem může být ochrana provedená v jediném aplikačním termínu neefektivní a z hlediska ochrany proti celému komplexu listových chorob ječmene nedostatečná. Nejlepších výsledků a zvýšení výnosů je dosaženo pomocí aplikace fungicidů z různých skupin s různými místy účinku ve dvou termínech. Tato kombinace je vhodná i z hlediska antirezistentní strategie (Matušinsky et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).

První aplikace je prováděna v období sloupkování (BBCH 32–37), zatímco druhá aplikace je doporučena těsně před metáním (BBCH 45–49) nebo na konci metání až na začátku kvetení (BBCH 59–65). Takovýto přístup se ukázal jako nejefektivnější z hlediska ochrany plodin a zvýšení jejich výnosů (Matušinsky et al. 2011; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).

Z dlouhodobého hlediska je nejefektivnější preventivní ochranou vývoj a pěstování rezistentních odrůd ječmene. Potenciální budoucnost nově představuje francouzská předběžně doporučená sladovnická odrůda jarního ječmene od firmy Limagrain Europe S.A.S. nazvaná LG Rhapsody, která vykazuje střední odolnost proti původcům listových skvrnitostí ječmene (ÚKZUZ – komise pro seznam doporučených odrůd ječmene 2024; ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál 2024d).

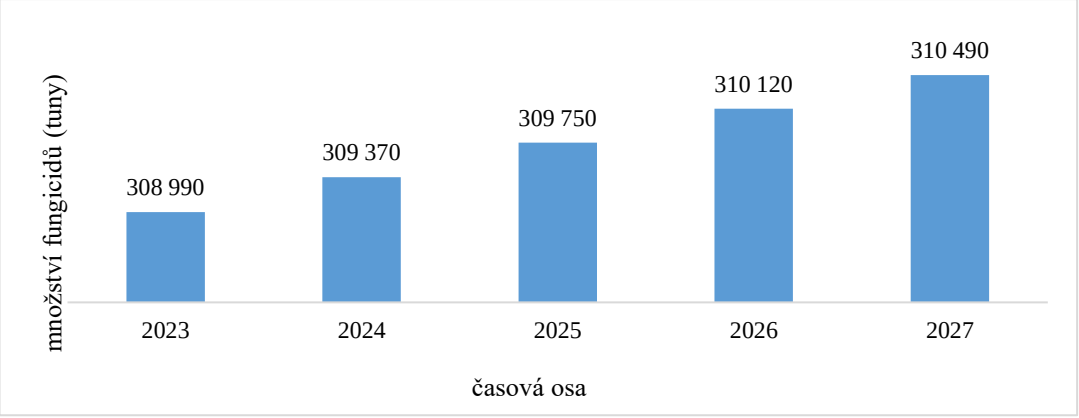
3.3 Fungicidy

Fungicidy jsou chemické látky, které mají za úkol regulovat či plně zamezit růst a vývoj nežádoucích houbových organismů. Jelikož termín fungicidy zahrnuje do své množiny značné spektrum přípravků s různými účinnými látkami, dochází tak k rozdílům v jejich povolení, užívání a aplikaci mezi státy. Ročně se ve světě aplikuje na 309,37 tisíc tun fungicidů, přičemž tento počet má rostoucí trend (viz Graf 2). Jedním ze základních možných způsobů dělení fungicidů je na biologické a chemické. Toto dělení se zakládá na tom, zdali je účinná látka tvořena živými organismy jako bakteriemi, houbami či jinými organismy nebo chemickou látkou. Různé druhy fungicidů ovšem zanechávají i negativní účinky na životní prostředí například na ekosystémy potoků, ryby ale i včely a tak dále. Společnost proto často užívání fungicidů negativně přijímá (Goswami et al. 2018; Donley 2019; Cornejo et al. 2020; Zhang et al. 2020; Belsky & Joshi 2020; Huang et al. 2022; Statista Research Department 2023).

Druhým způsobem dělení fungicidů je dělení na systémové a kontaktní fungicidy v závislosti na místě působení daného fungicidu. Kontaktní fungicidy působí v místě dotyku s pokožkou rostliny. Systémové fungicidy jsou těmi nejpoužívanějšími fungicidy ve světě a jejich vývoj započal již v 60. letech 20. století. Na rozdíl od kontaktních fungicidů, systémové fungicidy jsou po vstupu do rostliny rozváděny nejčastěji xylémem do místa zacílení fungicidu (site-specific fungicides) a ovlivňují většinou pouze jednu biochemickou cestu patogenu. Takzvané „multi-site“ fungicidy zasahují po vstupu do rostliny do vícero metabolických procesů v organismu (Finch et al. 2014).

Fungicide Resistance Action Committee (FRAC) dále dělí fungicidy do skupin označených velkými písmeny či písmeny s čísly dle výše zmíněného biochemického způsobu účinku na škodlivý organismus, tzv. mode of action (MOA) v biosyntetických drahách rostlinných patogenů. MOA testovaných účinných látek je v této práci uvedeno v Tabulce 5 (CropLife International/RAC 2023).

V neposlední řadě se fungicidy dělí v závislosti na jejich chemické struktuře dle FRAC, která se řídí Mezinárodní unií pro čistou a užitou chemii neboli International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Mezi známé skupiny patří pyrazol-4-karboxamidy, methoxyakryláty, pikolinamidy, triazoly, triazolinthiony (CropLife International/FRAC 2024).



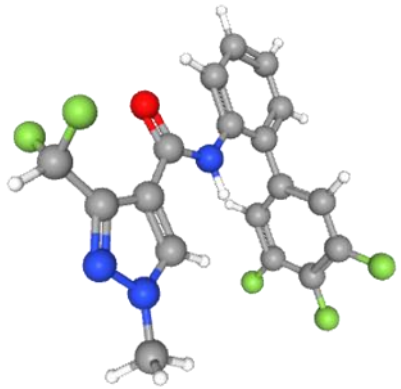
Graf 2: Předpokládaný prodej fungicidů po celém světě
(upraveno podle Statista Research Department 2023)

Tabulka 5: Přehled zařazení testovaných účinných látek do systému
MOA – biochemický způsob účinku (MOA) v biosyntetických drahách rostlinných patogenů
FRAC – Skupiny fungicidů rozlišeny dle křížové rezistence.
SDHI – inhibitory sukcinát-dehydrogenázy
QoI – Quinone outside Inhibitors fungicidy
DMI – (DeMethylation Inhibitors) (SBI: třída I)
SBI – inhibitory stereolové biosyntézy
(CropLife International/FRAC 2024)

Název	MOA	Kód a cílové místo účinné látky	Název skupiny	Chemická nebo biologická skupina	FRAC kód
fluxapyroxad	C: respirace	C2; komplex II: sukcinát-dehydrogenáza	SDHI fungicidy	pyrazol-4-karboxamidy	7
azoxystrobin		C3; komplex III: cytochrom bc1 (ubichinoloxidáza) v místě Qo (gen cyt b)	QoI fungicidy	methoxyakryláty	11
fenpicoxamid		C4; komplex III: cytochrom bc1 (ubichinonreduktáza) v místě Qi	QoI fungicidy	pikolinamidy	21
prothioconazol	G: biosyntéza sterolů v membránách	G1; C14-demetyláza v biosyntéze sterolů (erg11/cyp51)	DMI fungicidy	triazolinthiony	3
mefentrifluconazol				triazoly	

3.3.1 Fluxapyroxad

Fluxapyroxad neboli 3-(difluoromethyl)-1-methyl-N-(3′,4′,5′-trifluorobiphenyl-2-yl)pyrazole-4-carboxamide (viz Obrázek 10) je chemická účinná látka vyvinutá společností BASF Corporation používaná v různých typech fungicidů pro regulaci širokého spektra houbových patogenů jako jsou braničnatka pšeničná (*Z. tritici*), rez pšeničná (*Puccinia triticina*), rez plevová (*Puccinia striiformis*), padlí travní (*Blumeria graminis*), původce ramulariové skvrnitosti ječmene (*R. collo-cygni*) a další . Na trh byla uvedena v USA roku 2012 (U.S. Environmental Protection Agency 2012; Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin 2024a; National Center for Biotechnology Information 2024e).



Obrázek 10: 3D conformer fluxapyroxadu (National Center for Biotechnology Information 2024e)

Fluxapyroxad patří do třídy karboxamidových látek a jeho mechanismem účinku je inhibice sukcinátdehydrogenázy (sukcinát-ubichinon oxidoreduktáza) v komplexu II mitochondriálního respiračního řetězce, což má za následek inhibici klíčivosti spor, respektive inhibici tvorby klíční hyfy a myceliálního růstu v rámci cílových druhů hub (U.S. Environmental Protection Agency 2012).

Lze jej použít pro velké spektrum plodin, a to jak na ošetření listového pletiva, tak na ošetření osiva. Fluxapyroxad bývá obvykle aplikován v počátcích vzrůstu plodiny, nejčastěji ovšem, když se rostliny zapojují do porostu (U.S. Environmental Protection Agency 2012).

Fluxapyroxad najdeme například ve fungicidech od společnosti BASF SE. Například pro ochranu ječmene jsou to tyto: Imtrex XE, Kinto Plus, Lentyma, Librax, Mizona, Pioli, Priaxor EC, Revystar XL, Revytrex, Systiva (U.S. Environmental Protection Agency 2012; Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin 2024a, 2024b).

Koncentrace fluxapyroxadu v přípravku se mění v závislosti na tom, zdali je fluxapyroxad jedinou účinnou látkou či zdali je v přípravku účinných látek více. Například ve fungicidu Systiva, který se používá jako mořidlo pro pšenici, ječmen, tritikále, žito i oves je toto množství 333 g/l. Tedy při použití budeme aplikovat dávku 0,1–0,15 l/100 kg osiva. U emulgovaného koncentrátu Revystar XL je to 50 g/l fluxapyroxadu a 100 g/l mefentriflukonazalu. Ochranná lhůta je poté dána odstupem mezi termínem aplikace a sklizní (U.S. Environmental Protection Agency 2012; Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin 2024a, 2024c).

Technický fluxapyroxad je pro člověka málo toxický a je nepravděpodobné, že by byl karcinogenní. Toxický je pro psy, myši a potkany, u nichž kromě jater působí negativně i na štítnou žlázu, kde byly nalezeny i nádory. Toxický je také pro ptáky i jiné malé savce a obojživelníky. Prakticky netoxický je i pro bezobratlé, včetně včely medonosné (*Apis mellifera*). Ovšem kombinace s jinými fungicidy zvyšuje toxicitu fluxapyroxadu. Například přípravky obsahující fluxapyroxad v kombinaci s pyraklostrobinem působí negativně na vývoj včelího plodu (U.S. Environmental Protection Agency 2012; Zhao et al. 2023).

Použití fluxapyroxadu k ošetření osiva může způsobit riziko vodním a jiným rostlinám napojeným na vodní ekosystém. Toxický je i pro vodní živočichy, jako například pro rybu dánio pruhovaný (Lin et al. 2021; Yanicostas & Soussi-yanicostas 2021).

Pro životní prostředí je fluxapyroxad nebezpečný, protože se v půdním i vodním prostředí rozkládá pomalu. Je odolný k fotolytickému rozkladu v půdě i ve vodě a odolává hydrolýze při slabě kyselém až slabě zásaditém pH. Fluxapyroxad neprochází snadno aerobním nebo anaerobním rozkladem v půdě, poločas rozpadu zde činí od 213 do 1827 dnů v závislosti na půdním prostředí. Ve vodních systémech je poločas rozpadu v rozmezí od 420 do 731 dnů (U.S. Environmental Protection Agency 2012).

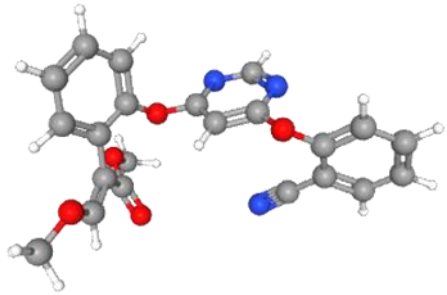
Díky tomu, že je fluxapyroxad mírně až středně pohyblivý v půdním roztoku, má lehký potenciál dostat se do vodního prostředí, včetně povrchových a podzemních vod. To může být způsobeno díky smývání, erozi půdy, průsaku do podzemní vody. Může se tak dít i po dobu několika měsíců po provedení aplikace (U.S. Environmental Protection Agency 2012).

Jak již bylo zmíněno výše účinná látka fluxapyroxad patří do karboxamidových látek, speciálně do pyrazol-4-karboxamidů, která spadá do skupiny SDHI fungicidů, které soustřeďují látky inhibující dýchání jako například boskalid, karboxin, fenfuram, inpyrfluxam, mepronil, oxykarboxin, penflufen, sedaxane, thifluzamide atd. První SDHI fungicid karboxin byl na trh uveden v roce 1969 a postupně během 20. a 21. století byly a jsou zaváděny další nové SDHI fungicidy (Klappach 2023a).

Cílovým enzymem všech inhibitorů SDH je sukcinátdehydrogenáza neboli komplex II v mitochondriálním respiračním řetězci. SDH je funkční součástí trikarboxylového cyklu a je navázána na mitochondriální elektronový transportní řetězec. Skládá se z podjednotek A, B, C, D. Přičemž ubichinonové vazebné místo SDHI je tvořeno podjednotkami B, C, D. SDHI fungicidy jsou náchylné k vytvoření křížové rezistence. Mutace cílového místa (Target site mutations) vznikající u podjednotek B, C, D tuto náchylnost ještě zvyšují (Klappach 2023a).

3.3.2 Azoxystrobin

Azoxystrobin neboli methyl(E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy) pyrimidin-4- yloxy]phenyl}-3-methoxyacrylate (viz Obrázek 11) je systémový fungicid (účinná látka) působící proti širokému spektru rostlinných patogenů na celé řadě kulturních plodin, například na pšenici proti braničnatce plevové (*Parastagonospora nodorum*) a pšeničné (*Z. tritici*) či na bramboru proti kořenomorce bramborové (*Rhizoctonia solani*) (U.S. Environmental Protection Agency 1997; Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin 2024d; National Center for Biotechnology Information 2024f).



Obrázek 11: 3D conformer Azoxystrobinu (National Center for Biotechnology Information 2024f)

Azoxystrobin patří do skupiny QoI inhibitorů (Quinone outside Inhibitors), což jsou inhibitory působící na vnějším vazebném místě (Qo) komplexu III = cytochromu bc1 = ubichinol-cytochrom c oxidoreduktáza. Tato skupina se nadále dělí na dvě podskupiny (FRAC 11 a FRAC 11A). Účinné látky obou skupin jsou efektivní v prevenci klíčení spor (Sierotzki 2022).

Azoxystrobin je první účinnou uvedenou látkou třídy pesticidních sloučenin zvaných ß-methoxyakryláty, které jsou odvozeny z přirozeně se vyskytujících strobilurinů. Jejich biochemický způsob účinku spočívá v inhibici elektronového transportu. Tato účinná látka byla na trh uvedena pod názvem Amistar, firmami Syngenta and BASF, které se podílely na jeho vzniku v roce 1996 (Leadbeater 2014; Sierotzki 2023).

Nejznámější fungicid, kde je účinnou látkou pouze azoxystrobin je právě Amistar. Jedná se o suspenzní koncentrát, který může profesionální uživatel aplikovat pro ochranu proti braničnatce plevové, rzi pšeničné, rzi plevové. Proti braničnatce pšeničné se aplikuje v mísitelné dávce 0,8 l/ha a 200–300 l vody/ha. Ochranná lhůta mezi posledním termínem aplikace fungicidu a sklizní je 35 dní (Konopíková 2023; Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin 2024d).

QoI fungicidy inhibují rostlinné patogeny tím, že brání buněčnému dýchání v mitochondriích. Tato skupina fungicidů blokuje schopnost patogenů produkovat energii (ATP), neboť brání přenosu elektronů v místě oxidace ubichinolu mimo (outside) místo enzymového komplexu bc1, tedy mezi cytochromem b a cytochromem c1 (komplex III v elektronovém transportním řetězci). V komplexu III jsou další dvě cílová místa fungicidu, a to Qi (Quionone inside) místo a QoS (Quinone outside Stigmatellin binding) (Sierotzki 2023).

Účinné látky skupiny QoI fungicidů si jsou navzájem křížově rezistentní mezi účinnými látkami ze skupiny FRAC 11. Ovšem FRAC 11 a FRAC 11A si navzájem samy sobě křížově rezistentní nejsou díky mutaci G143A. Tato mutace je součástí dalších tří aminokyselinových substitucí zjištěných v genu cytochromu b, který řídí rezistenci k Qo inhibitorům u rostlinných patogenů. Oproti rostlinným patogenům s mutacemi F129L a G137R, které jsou málo rezistentní, jsou patogeny s mutací G143A vysoce rezistentní až plně rezistentní. Všechny tři mutace jsou založeny na jednonukleotidových polymorfismech v genu cytochromu b, přičemž selekční proces je kvalitativní. Patogeny s mutací G143A, která je založená na změně z glycinu na alanin na pozici 143 v cytochromu b jsou například *M. nivalis, M. graminicola, R. collo-cygni*. Mutaci F129L založenou na změně fenylalaninu na leucin na pozici 129 v cytochromu b mohou nést *Alternaria solani* napadající brambor, *Rhizoctonia solani* na rýži atd. Zatím existuje pouze jeden známý patogen *Pyrenophora tritici-repentis*, který je schopen nést mutaci G137R, která je založena na změně glycinu na arginin na pozici 137 v cytochromu b. Patogen s mutací G137R může zároveň nést i obě výše uvedené mutace (Fungicide Resistance Action Committee 2006, 2012b; Sierotzki 2023).

V některých případech, i přes to, že bylo na ochranu plodiny proti vybraným rzím, či patogenu *Alternaria solani* a dalším použito velké množství QoI fungicidu, nebyla u těchto druhů pozorována mutace G143A. Tedy v tomto případě mutace G143A, kde nedošlo k substituci aminokyseliny glycin za aminokyselinu alanin. Grasso et al. (2006) uvádějí, že existuje katalytický intron typu I (nekódující oblast DNA) hned po trojici GGT (kodonu), která kóduje glycin. Autoři článku předpokládají, že pokud se tato mutace objeví, tak bude fatální, jelikož substituce silně ovlivní proces sestřihu RNA. Sestřih RNA je proces, který odstraňuje nekódující sekvence genů (introny) z pre-mRNA a spojuje sekvence kódující proteiny (exony) dohromady, aby umožnil překlad mRNA do proteinu. V případě, že dojde k narušení tohoto procesu, výsledný protein může být nefunkční. Vzhledem k čemuž je nepravděpodobné, že by si druhy nesoucí intron byly v budoucnu schopné vytvořit rezistenci k QoI fungicidům pomocí tohoto druhu mutace (Parker 2001; Miessner & Stammler 2010; Luo et al. 2010; Fungicide Resistance Action Committee 2011; Jurica & Roybal 2013; Konopíková 2023).

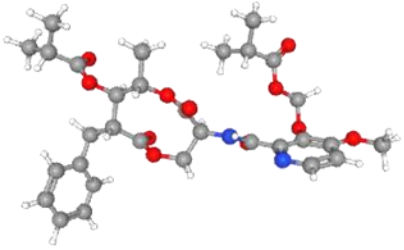
Pro člověka je azoxystrobin zdraví škodlivý při vdechování, dále může vyvolat alergickou reakci. Prakticky netoxický je pro ptáky jako křepel virginský, dále pro krysy, žížaly a včely. Vysoce toxický je však pro vodní živočichy jako ryby, ústřice, bezobratlé atd. U ryby dánio pruhované azoxystrobin způsobuje mimo jiné například reprodukční toxicitu, vrozenou imunitní reakci, dále programovanou buněčnou smrt u larválních stadií. Toxický je ale i pro ryby, jako je pstruh duhový, jeleček velkohlavý, halančíkovec diamantový a kapry, u kterých přítomnost azoxystrobinu zvyšuje možnost nákazy virem *Rhabdovirus carpio*. Toxický je poté pro hrotnatky, klanonožce a další bezobratlé včetně pestřenek, kdy přítomnost azoxystrobinu snižuje počet vyprodukovaných larev. Toxický je také pro zooplankton i fytoplankton brakických vod. Z těchto důvodů se v České republice nesmí používat v ochranném pásmu II. stupně zdrojů povrchové vody. Není známo, že by azoxystrobin byl karcinogenní (U.S. Environmental Protection Agency 1997; Gustafsson et al. 2010; Zafar et al. 2012; Kunz et al. 2017; Cao et al. 2018, 2019; Liu et al. 2021; Konopíková 2023).

Azoxystrobin středně dlouze přetrvává v půdě při nedostatku světla. Může být středně mobilní v půdách hrubozrnných, stejně tak může i potencionálně proniknout do podzemních vod. Je stabilní vůči hydrolýze ve vodním prostředí. Fotodegradace azoxystrobinu ve vodním

prostředí je stanovena na 11 až 17 dní a v půdním prostředí na 11 dní. Zároveň však může v půdě přetrvávat až 164 dní. Azoxystrobin se v půdě rozkládá na další látky, které se mohou potenciálně nacházet i v hlubších vrstvách půdy a to až 371 dní po posledním použití fungicidu (U.S. Environmental Protection Agency 1997; Konopíková 2023).

3.3.3 Fenpikoxamid

Fenpikoxamid též známý jako [2-[[(3R,7R,8R,9S)-7-benzyl-9-methyl-8-(2 methylpropanoyloxy)-2,6-dioxo-1,5-dioxonan-3-yl]-carbamoyl]-4-methoxypyridin-3-yl]oxymethyl 2-methylpropanoate (viz Obrázek 12) je foliární fungicid, jehož mechanismus účinku spočívá v inhibici mitochondriálního komplexu III s cílem narušit klíčení spor (Low & Moretto 2018; Crop protection network – A Product of Land Grant Universities 2023; National Center for Biotechnology Information 2024g).



Obrázek 12: 3D conformer fenpikoxamidu (National Center for Biotechnology Information 2024g)

Fenpikoxamid patří do skupiny QiI fungicidů (Quinone inside Inhibitors), které narušují transport elektronů v mitochondriálním dýchání. Jedná se tedy o inhibitory, které působí na vnitřním vazebném místě (Qi) komplexu III = cytochromu bc1 = ubichinol-cytochrom c oxidoreduktáza. V této FRAC 21 skupině nadále najdeme spolu s pikolinamidy i sulfamoyl-triazoly a kyano-imidazoly (Low & Moretto 2018; Arena et al. 2018; Crop protection network – A Product of Land Grant Universities 2023; CropLife International/RAC 2023).

V České republice je tato účinná látka registrována od 18.10.2023 pouze pro přípravek Questar, vydávaný na trh firmou Corteva Agriscience Czech s.r.o. Jedná se o fungicid používaný na ochranu proti rzi žitné (*Puccinia dispersa*), původci rynchosporiové skvrnitosti u žita (*Rhynchosporium secalis*), braničnatce pšeničné (*Z. tritici*), rzi pšeničné (*Puccinia triticina*) a rzi plevové (*Puccinia striiformis*) na pšenici a pro tritikále taktéž na ochranu proti braničnatce pšeničné (*Parastagonospora nodorum*) a rzi plevové (*Puccinia striiformis*), a to v mísitelné dávce 2 l/ha a 200–300 l vody/ha. Ochranná lhůta je dána odstupem mezi posledním termínem aplikace fungicidu a sklizní (Váňová 2023; Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin 2024e).

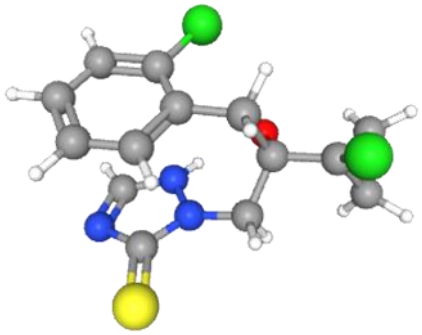
Fenpikoxamid je málo mobilní až nemobilní v půdě, ovšem jeho metabolity jsou považovány za více mobilní. Přičemž jak samotná účinná látka, tak její metabolity nevykazují adsorbci závislou na konkrétní hodnotě pH. Studie zaměřené na rozptyl fenpikoxamidu v půdě prokázaly nízkou až střední perzistenci. Stejně jako u mobility, i u perzistence jsou metabolity fenpikoxamidu více perzistentní. Za tmy je tato účinná látka, spolu s některými jejími metabolity ve vodním prostředí, velmi málo až málo perzistentní (Arena et al. 2018).

Při expozici fenpikoxamidu je dietární akutní i dlouhodobé riziko pro ptáky a savce velmi malé. Například pro potkany má fenpikoxamid nízkou akutní toxicitu při orálním podání, dále je málo dermálně toxický a mírně toxický je po inhalaci. Fenpikoxamid není považován za karcinogenní fungicid. Při vystavení vodních organismů účinkům fenpikoxamidu, vzniká vysoké akutní riziko pro vodní bezobratlé a ryby. Ryby se mohou potýkat také s nízkým chronickým rizikem (Arena et al. 2018).

Při vystavení fenpikoxamidu vzniká malé riziko pro necílové členovce, žížaly a půdní mikro a makro organismy. Ovšem vzniká zde vysoké riziko pro savečku ostnitou (*Hypoaspis aculeifer*). Savečka ostnitá je druh dravého roztoče používaného v biologické ochraně proti larvám z čeledi Sciaridae a třásněnce západní. V České republice je tento fungicid považován za zvláště nebezpečný pro včely (Psota & Kopta 2010; Arena et al. 2018; Váňová 2023).

3.3.4 Prothiokonazol

Prothiokonazol (2-(2-(1-chlorocyclopropyl)-3-(2-chlorophenyl)-2-hydroxypropyl)-1,2-dihydro-3H1,2,4-triazole-3-thione) (viz Obrázek 13) je nejvíce prodávaný fungicid ze skupiny triazolinthinů. Jedná se o synteticky vyrobenou chemickou sloučeninu využívanou v rostlinolékařském odvětví jako širokospektrální systémový fungicid na ochranu proti rostlinným patogenům. O jeho vývoj se zapříčinila firma Bayer CropScience v roce 2004. Lze jej aplikovat samostatně jako širokospektrální post-emergentní fungicid, případně v tank-mix kombinaci s jinými pesticidy (U.S. Environmental Protection Agency 2007; Pang et al. 2023; National Center for Biotechnology Information 2024h).



Obrázek 13: 3D conformer prothiokonazolu (National Center for Biotechnology Information 2024h)

Prothiokonazol spadá do pracovní skupiny takzvaných SBI fungicidů. Jedná se o fungicidy, která fungují na bázi inhibice biosyntézy sterolů hub a zastřešují pod sebe 4 další podskupiny. Skupina inhibitorů demethylace (DMI) – G1, aminy (dříve nazývané morfoliny) – G2, inhibitory keto-reduktázy (KRI) – G3 a G4 skupina sdružující fungicidy používané v lékařství. G1, G2 a G3 se používají v zemědělství na ochranu před houbovými patogeny. Všechny tři skupiny inhibují biosyntézu sterolů hub, ale liší se v místě cílové inhibice. Všechny účinné látky v rámci jedné podskupiny jsou křížově rezistentní. To platí pro G1, G2 i G3 skupinu. Ovšem jednotlivé skupiny si navzájem křížově rezistentní nejsou (Goertz 2023).

Prothiokonazol spadá do skupiny G1; C14-demetyláza v biosyntéze sterolů (erg11/cyp51) (viz Tabulka 5). Tato skupina (DMI) sdružuje fungicidy, které inhibují 14α-demethylasu, která zprostředkovává demetylaci lanosterolu C14. Najdeme zde fungicidy z odlišných chemických skupin, nejčastěji jsou to triazoly, imidazoly, dále například pyridiny a pyrimidiny (Goertz 2023).

Všechny DMI fungicidy jsou si navzájem křížově rezistentní, jelikož cílí na stejné místo, C14-demethylázu (ERG11/CYP51/cytochrom P450), a tím inhibují biosyntézu sterolu (Goertz 2023).

Rezistence k SBI fungicidům obvykle vzniká díky nahromadění většího počtu na sobě nezávislých mutací na jednom místě. Každá jedna mutace sníží citlivost pouze o malou část, ovšem při vyšším počtu poté dochází k synergismu. Rezistence patogenu k DMI fungicidům se projevuje pomalým, postupným snižováním účinnosti přípravku v průběhu času. Ke snížení citlivosti může vést i nadměrná exprese genu *cyp51* nebo přemístění fungicidu mimo cílové místo působení pomocí ABC transportérů. Všechny tyto způsoby možného pomalého vzniku rezistence však mohou působit společně a vznik rezistence tak uspíšit. Míra rizika vzniku rezistence je nízká až střední pro aminy a KRI inhibitory a střední pro DMI fungicidy včetně prothiokonazolu (Goertz 2023).

Prothiokonazol ve většině prostředí rychle degraduje. Je stabilní vůči hydrolýze, ve vodním prostředí je rychle fotodegradován na prothiokonazol-desthio. Ten je stabilní vůči fotodegradaci v půdě spolu s prothiokonazolem. Poločas fotolýzy je delší jak jeden týden. Dále je poměrně stabilní v aerobním metabolismu půdy, kdy poločas rozpadu je 2–3 týdny. Co se týče mobility v půdním prostředí je prothiokonazol mobilní, při polních testech vykázal mobilitu až do 45 cm, stejně jako jeho produkt degradace prothiokonazol-desthio. Na druhou stranu metabolit prothiokonazol-S-methyl je málo až mírně pohyblivý. Mobilita je vyšší v hrubozrnných půdách a v odvodněných půdách. Bylo zjištěno, že prothiokonazol je schopen se rozptýlit z vrchní vrstvy půdy na hranici DT50 během 2–3 dní. Ve vodním prostředí se jeho rozptyl zvyšuje až na 204 dní. Díky výše uvedeným poznatkům, spolu s tím, že není těkavý, může prothiokonazol způsobit kontaminaci podzemních vod (U.S. Environmental Protection Agency 2007).

Prothiokonazol a prothiokonazol-desthio jsou, co se týče akutní toxicity, fakticky netoxické pro ptáky, savce a včelu medonosnou a pouze mírně toxické pro sladkovodní ryby a bezobratlé. Na základě provedených testů na potkanech bylo stanoveno, že prothiokonazol a jeho metabolity nejsou karcinogenní. Toxický je pro vodní rostliny, bezobratlé a vodní organismy žijící v mořském prostředí a v ústí řek. Více toxické pro organismy jsou produkty degradace prothiokonazolu. Z hlediska chronické toxicity je prothio-desthio toxický pro vybrané savce, kdy snižuje životaschopnost a tělesnou hmotnost potomků. V případě akutního vystavení je jeho toxicita velmi vysoká pro mořské rostliny a živočichy žijící v ústí řek. Výzkum ukázal, že pozemní aplikace fungicidu snižuje jeho expozici do okolního prostředí o 8 až 27 % ve srovnání s leteckou aplikací, která je v České republice zakázána (Kashuba & Salice 2006; U.S. Environmental Protection Agency 2007).

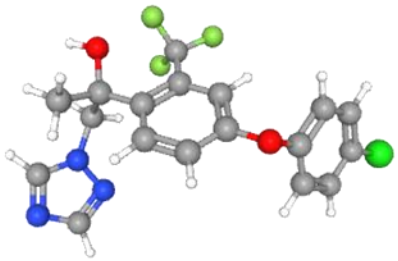
3.3.5 Mefentriflukonazol

Mefentriflukonazol chemickým názvem (2RS)-2-[4-(4-chlorophenoxy)-a,a,a-trifluoro-o-tolyl]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (viz Obrázek 14) je účinná látka ze skupiny triazolů používána proti houbovým patogenům v zemědělství, jako je braničnatka pšeničná, rez pšeničná, padlí travní a další. V České republice je tento fungicid nabízen pod názvem Revystar firmou BASF SE a to v mísitelné dávce 1,5 l/ha a 100–300 l vody/ha (Jung et al. 1985; Fletcher et al. 2010; Desta & Amare 2021; National Center for Biotechnology Information 2024i).

Mefentriflukonazol vykazuje v půdě za tmy v aerobních laboratorních podmínkách vysokou až velmi vysokou perzistenci v půdě. Zatímco v anaerobních podmínkách degraduje mefetriflukonazol pomalu. Mírnou mobilitu má tato účinná látka v půdě, avšak její metabolit 1,2,4-T je v půdě vysoce až velmi vysoce mobilní. Adsorpce mefentriflukonazolu i jeho metabolitu není závislá na pH (EFSA) et al. 2018).

Akutní toxicita je nízká pro vodní organismy. Výjimku tvoří daphnie a ryby v rámci chronické toxicity, kdy bylo zjištěno vysoké riziko toxicity. Všechny metabolity mefentriflukonazolu představují pro organismy nízké riziko. Kromě metabolitu M750F005, který představuje pro ryby vysoké riziko (EFSA) et al. 2018).

Při podání či styku mefentriflukonazolu perorálně, dermálně nebo inhalačně má tato účinná látka nízkou akutní toxicitu pro savce. Mefentriflukonazol může vyvolat alergickou reakci na kůži, je považován za nekarcinogenní a netoxický ((EFSA) et al. 2018).



Obrázek 14: 3D conformer mefentriflukonazolu (National Center for Biotechnology Information 2024i)

Stejně jako prothiokonazol, tak i mefentriflukonazol spadá do pracovní skupiny takzvaných SBI fungicidů do podskupiny G1, ovšem na rozdíl od prothiokonazolu patří do mnohem větší chemické skupiny triazolů. Triazoly jsou známy a hojně používány v zemědělství, kromě fungicidní účinnosti totiž působí i jako regulátory růstu (Jung et al. 1985; Fletcher et al. 2010; Desta & Amare 2021).

Platí pro něj stejné riziko vzniku rezistence jako pro prothiokonazol (viz Tabulka 6), kterému se bráníme používáním účinných antirezistentních strategií (Goertz 2023b).

3.4 Rezistence k fungicidním látkám

Termín rezistence patogenu k fungicidům je získané, dědičné snížení citlivosti houby, či houbového organismu na specifické antimykotické činidlo (fungicid) (Goertz & Derpmann 2023).

Fungicidní rezistence se dělí na dva hlavní typy. Jedním z nich je kvalitativní fungicidní rezistence. Jedná se o typ rezistence způsobené mutacemi genů kódujících fungicidní cíle. Naopak kvantitativní fungicidní rezistence je způsobována mechanismy, které jsou vyvolávány subletálním fungicidním stresem majícím vliv na různou úroveň rezistence (Deising et al. 2008; Goertz & Derpmann 2023).

Tabulka 6: Doplňující informace k testovaným účinným látkám
FRAC – Skupiny fungicidů rozlišeny dle křížové rezistence
DMI – inhibitory demetylace (SBI: třída I)
SBI – inhibitory stereolové biosyntézy
(CropLife International/FRAC 2024)

Název	Informace
fluxapyroxad	Rezistence známá u několika druhů hub v polních populacích a laboratorních mutací hub.
	Mutace cílového místa v genu *Sdh*, např. H/Y (nebo H/L) na 257, 267, 272 nebo P225L.
	Střední až vysoké riziko vzniku rezistence.
azoxystrobin	Rezistence známá u různých druhů hub.
	Mutace cílového místa v genu *cyt b* (G143A, F129L) a další mechanismy.
	Křížová rezistence prokázána mezi všemi členy skupiny FRAC 11.
	Vysoké riziko vzniku rezistence.
fenpikoxamid	Riziko rezistence není známo.
	Mutace v cílovém místě jsou známy u modelových organismů.
	Předpokládá se střední až vysoké riziko vzniku rezistence.
	Nebyla prokázána křížová rezistence mezi členy FRAC 21 z jiných chemických skupin.
prothiokonazol	Existují velké rozdíly ve spektrech aktivity DMI fungicidů.
	Rezistence je známa u různých druhů hub, je známo několik mechanismů rezistence.
	Mutace cílového místa v genu *cyp51* (*erg 11*), např. V136A, Y137F, A379G, I381V; promotor cyp51; ABC transportéry atd.
mefentriflukonazol	Mezi DMI fungicidy účinnými proti stejné houbě existuje křížová rezistence.
	Součástí třídy I. SBI fungicidů.
	Křížová rezistence nebyla prokázána mezi ostatními třídami SBI.
	Střední riziko vzniku rezistence.

3.4.1 Kvalitativní rezistence

Kvalitativní rezistence (viz Obrázek 15A), známá též jako monogenní rezistence, představuje formu rezistence patogena vůči konkrétnímu fungicidu (účinné látce) založenou na genetických mutacích. Tyto mutace jsou často indukovány faktory jako je UV záření nebo mutace genu, který kóduje cílovou bílkovinu. Dochází k substituci aminokyselin nezbytných pro vazbu fungicidu, čímž dochází k narušení jeho účinnosti (Deising et al. 2008).

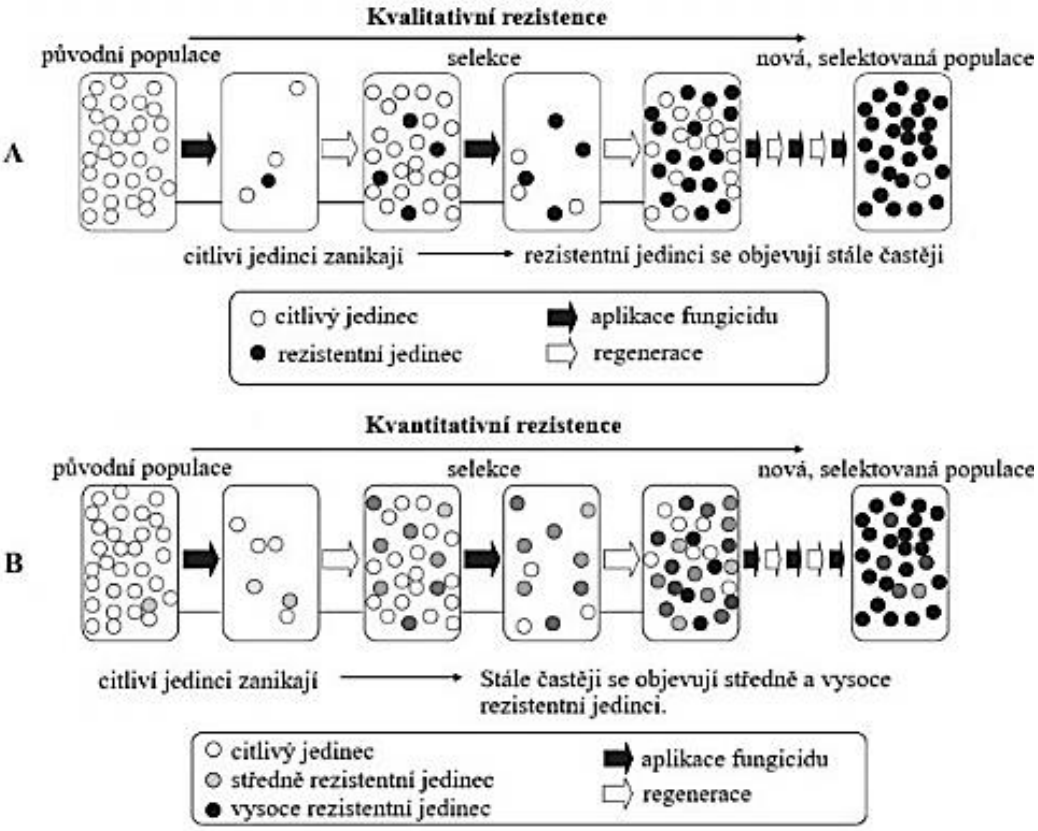
Takovéto jedince poté poznáme dle toho, že jejich hodnoty EC_{50} jsou výrazně nad průměrem referenční hodnoty EC_{50}. Přičemž hodnota EC_{50} představuje efektivní koncentraci fungicidní látky inhibující růst mycelia z 50 %. Pokud je v populaci patogenu silný selekční tlak, může se rychle vyvinout tento druh rezistence (Rana et al. 2020; Goertz & Derpmann 2023; Wang et al. 2023).

3.4.2 Kvantitativní rezistence

Kvantitativní rezistence vůči fungicidům (viz Obrázek 15B) se může vyvinout z několika různých mechanismů, z nichž jeden zahrnuje udržování nízké koncentrace fungicidu uvnitř buněk. Tento mechanismus může být důsledkem různých procesů, které fungují tak, aby omezily množství fungicidu, které vstupuje nebo zůstává uvnitř buněk.

Mechanismy udržující koncentraci systémových fungicidů pod kritickou prahovou hodnotou zahrnují: efluxní pumpy, které vylučují molekuly látky do extracelulárního prostoru, modifikace plazmatických membrán způsobující sníženou propustnost fungicidů; dále syntézu enzymů, které rozkládají molekuly fungicidů: v neposlední řadě nadměrná exprese genu kódujícího cílové místo fungicidů nebo využití alternativních metabolických cest (Deising et al. 2008).

U organismů s kvantitativní rezistencí postupem času klesá účinnost fungicidů, díky čemuž se v populaci patogenu posouvá průměrná hodnota EC_{50} a je potřeba zvýšit dávku fungicidů, aby ochrana byla dostatečná. Hodnotou EC_{50} je myšlena dávka, která zajišťuje 50 % inhibici izolátu v porovnání s kontrolou bez fungicidu (Parlevliet 2002; Corwin & Kliebenstein 2017; Pilet-Nayel et al. 2017; Rana et al. 2020; Goertz & Derpmann 2023; Wang et al. 2023).



Obrázek 15: Vývoj rezistence vůči fungicidům
Vývoj rezistence vůči fungicidům je proces, jehož selekčním mechanismem je fungicid. Při kvalitativní rezistenci (A) se selektují necitlivé kmeny díky mutacím v genomu jedince a selekčnímu tlaku fungicidů a kmeny jsou buď citlivé, nebo rezistentní vůči látce. Při kvantitativní rezistenci (B) mají jedinci, kteří exprimují geny vedoucí ke snížené citlivosti k fungicidům, větší pravděpodobnost, že přežijí ošetření fungicidem. Subletální fungicidní stres vede k další indukci genů, které pomáhají odolávat následnému ošetření účinnou látkou. V důsledku toho dochází k posunu populace směrem k rostoucí rezistenci a objevuje se stále větší počet jedinců s vyšším stupněm rezistence (upraveno podle Deising et al. 2008).

3.4.3 Mechanismy účinku fungicidů

Fungicidy potlačují růst hub tím, že interferují s klíčovými buněčnými procesy patogenů. Mechanismus účinku neboli MOA vycházející z anglického mode of action, označuje konkrétní buněčný proces, který je potlačen určitým fungicidem, tedy se jedná o biochemický způsob účinku v biosyntetických drahách rostlinných patogenů (Goertz & Derpmann 2023).

FRAC momentálně udává 11 známých mechanismů účinku a další mechanismy s neznámým mechanismem účinku (Goertz & Derpmann 2023).

Pro každý mechanismus účinku existuje specifické místo účinku. Tato místa účinku, známá též jako cílová místa, představují konkrétní specifické enzymy v buněčném procesu, na něž se fungicidy navazují. Například fungicidy ze skupin QoI a SDHI fungicidů sice mají stejný mechanismus účinku (inhibice buněčného dýchání), ale mají různá místa účinku v respirační dráze. Zatímco SDHI fungicidy inhibují komplex II, QoI fungicidy inhibují komplex III. Fungicidy se stejným mechanismem účinku jsou slučovány do skupin. Například prothiokonazol i mefentriflukonazol inhibují biosyntézu sterolů v membránách, proto oba spadají do skupiny FRAC s kódem 3, ovšem každý do jiné chemické podskupiny (viz Tabulka 5) (Goertz & Derpmann 2023).

Pro lepší porozumění biochemické interakce fungicidu s konkrétním cílovým místem můžeme použít analogii s použitím zámku a klíče k otevření dveří. Zde je cílovým místem enzymu zámek a klíč je přirozený substrát s nímž enzym interaguje k provedení běžných buněčných procesů (analogicky k odemknutí dveří). Fungicid, či fungicidy působící v tomto cílovém místě jsou „klíči“, které se také mohou vejít do zámku. Pokud je jeden z těchto „umělých“ klíčů v zámku, normální klíč nebo substrát se již nemůže do zámku vejít, což blokuje biochemický proces houbového organismu (dveře nelze odemknout) (Goertz & Derpmann 2023).

Uvnitř buňky fungicid a substrát soutěží o tento zámek/cílové místo. Jak se fungicid hromadí v buňce, normální substrát již nemůže přistupovat k cílovému místu a normální buněčné procesy mohou dosáhnout nízké úrovně nebo mohou být zcela zablokovány, což má za následek nepříznivé účinky pro patogeny. Ačkoliv jsou fungicidy podobné houbovému substrátu, liší se ve své trojrozměrné struktuře. Proto může dojít ke vzniku mutací na cílovém místě neboli „zámku“, které umožní houbovému substrátu se navázat, a tak dokončit normální buněčný proces. Avšak fungicid se již není schopen navázat, tedy zámek může být změněn tak, že původní klíč stále funguje a odemyká dveře, ale „umělý“ klíč v podobě fungicidu již do zámku nesedí. Tato situace se poté nazývá v cílovém místě účinku (Goertz & Derpmann 2023).

Fungicidy, které působí na stejném cílovém místě (tedy ty, které jsou zařazeny pod stejný kód FRAC, jsou obvykle považovány za vzájemně křížově rezistentní. Křížová rezistence je jev, kdy houba či houbový organismus, která si již vyvinula rezistenci vůči jedné účinné látce, bude křížově rezistentní i k jiné účinné látce ze stejné FRAC skupiny. Rezistentní bude i když tento fungicid proti konkrétnímu organismu ještě nikdy nebyl použit. Výjimečně se tento druh rezistence může vyskytnout i mezi fungicidy z jiných FRAC skupin (vícenásobná rezistence, multi-drug rezistence) (Goertz & Derpmann 2023).

Může také dojít k jevu negativní křížové rezistence, kdy změna vede ke snížení citlivosti k jednomu fungicidu a současně k navýšení citlivosti k jinému fungicidu (Goertz & Derpmann 2023).

3.4.4 Mechanismy rezistence

Houby mohou vyvinout rezistenci vůči fungicidům prostřednictvím čtyř hlavních mechanismů. Tyto mechanismy mohou fungovat samostatně nebo se mohou kombinovat, což vede k různým úrovním rezistence u různých druhů hub a houbových organismů (Goertz & Derpmann 2023).

3.4.4.1 Změny v cílových místech fungicidu

Jedná se o nejběžnější mechanismus rezistence. Funguje na principu změny cílového místa za účelem snížení citlivosti k fungicidu. Cílové místo fungicidu je specifické místo v buňce houbového organismu, kde fungicid vyvolává svůj účinek. Změnou cílového místa je poté myšleno změna struktury či funkce tohoto cílového místa (Goertz & Derpmann 2023).

Během růstové fáze (množení) houbových organismů dochází tvorbě nových buněk a replikaci DNA. Při tomto procesu dochází k chybám, známým jako mutace. Jelikož DNA slouží jako kód pro produkci enzymů v buňce, některé mutace vedou ke změnám sekvence aminokyselin v cílovém místě působení fungicidu. Tyto mutace poté mění tvar „zámku“ neboli cílového místa. „Klíč“ v podobě fungicidu se v jejich důsledku nemůže správně, nebo vůbec vejít do „zámku“ v podobě cílového místa. Díky čemuž může dojít k snížení citlivosti houbového organismu k fungicidu, a tudíž k mírnému až vysokému snížení účinnosti fungicidu (Goertz & Derpmann 2023).

3.4.4.2 Zvýšená detoxikace/metabolizace fungicidu

Rezistence může být dosaženo zvýšením schopnosti houby metabolizovat. Rychlejší metabolismus je poté schopen efektivněji rozložit fungicid do formy, která není pro buňku toxická (Goertz & Derpmann 2023).

Některé fungicidy se aplikují ve formě neaktivních látek, které vyžadují další metabolické procesy v buňce houby k jejich aktivaci. Pokud je metabolismus houby změněn tak, že aktivující krok nenastane, nedojde k vytvoření aktivní formy fungicidu (Goertz & Derpmann 2023).

3.4.4.3 Nadměrná exprese cílového místa houbovým organismem

Nadměrná exprese cílového místa spočívá v tom, že fungicid takzvaně „soutěží“ s přirozeným substrátem o přístup k cílovému místu viz výše. S postupným zvyšováním množství fungicidu v buňce dochází k jeho převaze nad přirozeným substrátem v cílovém místě působení fungicidu. V důsledku čehož dochází k terminaci kritických buněčných procesů. Houbový organismus se následně brání nadměrnou expresí cílového enzymu, díky čemuž se zvýší šance, že přirozený houbový substrát se bude schopen navázat na cílový enzym a obnovit tak kritické buněčné procesy jako dýchání, biosyntézu sterolů a podobně. Proti tomuto mechanismu vzniku rezistence se můžeme bránit zvýšením dávek fungicidu, což ovšem vede k zacyklení procesu (Goertz & Derpmann 2023).

3.4.4.4 Aktivní vylučování fungicidu z buňky

Buňky mají vnitřně efluxní pumpy, které slouží k vylučování nebo odstraňování cizorodých látek a exportu endogenních látek. U hub jsou nejčastějšími efluxními pumpami transportéry ABC pumpy (ATP-binding cassette) a facilitátory MFS pumpy (Major Facilitator Superfamily). Navzdory těmto efluxním pumpám může většina fungicidů dosáhnout účinných koncentrací uvnitř buňky a inhibovat buněčné procesy. Občas se transportéři uplatňují úspěšně při vylučování dostatečného množství fungicidu, což vede k snížené citlivosti houbového izolátu. Fungicidy vylučované specifickým transportérem nemusí nutně působit na stejném cílovém místě; to znamená, že neexistuje přímý vztah mezi transportérem, který vylučuje specifický fungicid, a cílovým místem fungicidu. Multi-drug (mnohočetná) rezistence nastane, když je specifický transportér schopen vyloučit více fungicidů z různých cílových míst. Používání těchto fungicidů může vytvořit dostatečný selekční tlak pro rozšíření izolátů obsahujících tyto transportéry s multi-drug rezistencí (Cowen et al. 2015; Víglaš & Olejníková 2021; Goertz & Derpmann 2023).

3.5 Strategie prevence vzniku rezistence

V základním přístupu k prevenci vzniku rezistence k fungicidům platí obecné principy, které zahrnují různorodost používaných přípravků, omezení počtu aplikací během vegetační sezóny, dodržování doporučených dávek a aplikace stanovených výrobcem, minimalizaci použití fungicidů kurativně a spíše je využívat k prevenci, a zaměření se na integrovaný přístup k ochraně rostlin (Goertz & Derpmann 2023).

Je nezbytné provádět rotaci účinných látek při používání fungicidů (Goertz & Derpmann 2023).

3.5.1 Fluxapyroxad

Fungicidy skupiny SDHI, kam patří i skupina pyrazole-4-carboxamidy, do níž patří účinná látka fluxapyroxad, jsou náchylné ke vzniku takzvané křížové rezistence. K zabránění jejímu vzniku je vhodné aplikovat fungicidy v intervalech a dávkách dle doporučení výrobce a omezit počet dávek v rámci používaných fungicidů v celé SDHI skupině. Použití přípravků v rámci tank-mix směsi je zvláště vhodné pro obiloviny (Klappach 2023b).

Při foliární aplikaci fungicidů musí být zajištěno, že druhý komponent je schopen regulovat patogen v uspokojivé míře a musí mít zcela odlišné místo účinku než fungicid ze SDHI skupiny. Je však nutné brát na zřetel, že tato kombinace nezajišťuje obranu proti rezistenci. Dále je nezbytné užití maximálně dvou SDHI postřiků na jedné ploše. Nevhodné je také vícenásobná aplikace a ředění postřiků. Fluxapyroxad společně se všemi fungicidy patřícími do SDHI by měl být používán preventivně v raných stadiích vývoje cílové rostliny. Mutace v houbových organismech například u *M. graminicola* atd. mohou ovlivňovat náchylnost SDHI ke křížové rezistenci (Skinner et al. 1998; Honda et al. 2000; Ito et al. 2004; Stammler 2008; Shima et al. 2009; Avenot et al. 2009; Yin et al. 2011; Fungicide Resistance Action Committee 2012a; Sierotzki & Scalliet 2013; Vielba-Fernández et al. 2021; Klappach 2023a).

Při ošetření osiva obilnin SDHI fungicidy je nutné se řídit seznamem rizikových patogenů dle FRAC. V případě, že cílený listový patogen je na seznamu patogenů s nízkým rizikem, případně se aplikace SDHI fungicidu řídí pokyny výrobce, není žádné doporučené omezení v aplikaci. Ovšem pokud se jedná o patogen se střední či vysokou mírou rizika, musíme ošetření osiva obilnin SDHI fungicidy připočítat k celkovému počtu užitých ošetření touto skupinou v rámci osevní plochy (Klappach 2023b).

3.5.2 Azoxystrobin

Obecné základy prevence vzniku rezistence, které platí pro všechny druhy fungicidů, byly u QoI fungicidů ještě více zpřísněny, aby se předešlo případnému vzniku rezistence. Jelikož účinné látky QoI fungicidů inhibují klíčení spor hub a zároveň je efektivně ničí, měly by být používány pro preventivní ošetření, nebo v případě napadení, co nejdříve po zjištění infekce (Sierotzki 2022; Song et al. 2022; Konopíková 2023).

Základním principem, jak předejít vzniku rezistence je zamezit použití nevhodné aplikace QoI fungicidů, jako je opakovaná snížená aplikační dávce, neboť jsou fungicidy této skupiny navzájem k sobě křížově rezistentní. Příkladem takovéto nevhodné aplikace je opakované ošetření porostu postřikem se sníženým množstvím účinné látky (Sierotzki 2022).

Je vhodné střídat účinné látky ze skupiny FRAC 11 s účinnou látkou metyltetraprol (FRAC 11 A), neboť si nejsou u patogenů s mutací G143A navzájem křížově rezistentní (Sierotzki 2022).

Jako u všech typy fungicidů, tak i u QoI fungicidů je nezbytné aplikovat fungicidy ve správných dávkách, intervalech mezi aplikacemi a v růstovém stadiu plodiny dle doporučení výrobce. Počet aplikací všech přípravků z této skupiny by neměl překročit stanovenou mez dvou aplikací, a to ať se jedná o přípravky aplikované samostatně či v tank-mix směsích. Pokud se pro chemickou ochranu plodin použijí, jak účinné látky z podskupiny FRAC 11, tak z podskupiny FRAC 11 A, zvyšuje se hranice maximálního počtu povolených postřiků o jeden. Nesmíme však tuto kombinaci brát za opatření proti vzniku rezistence (Sierotzki 2022; Konopíková 2023).

V tank-mix směsích by měla být vedle účinné látky ze skupiny QoI fungicidů i látka, která k ní není křížově rezistentní a je schopna případného samostatného využití (Sierotzki 2022).

Pokud ovšem bude na postřik využit pouze přípravek obsahující 100 % QoI fungicidů, musí být použit jednorázově či blokově. Musí být také střídán s postřikem z jiné skupiny, která není s QoI fungicidy navzájem křížově rezistentní např. SBI fungicidy. Takovýto postřik by neměl mít stejné místo účinku jako již použitý postřik z QoI skupiny. Dále by měl rozšířit spektrum působení a zvýšit kurativní schopnost a měla by být preferována možnost jeho samostatného využití. Toto opatření má za cíl zajistit oddálení vzniku rezistencí (Sierotzki 2022; Konopíková 2023).

3.5.3 Fenpikoxamid

FRAC neuvádí žádné oficiální známé riziko vzniku rezistence pro fenpikoxamid (viz Tabulka 6). Uvádí však střední až vysoké riziko rezistence u kyazofamidu a amisulbromu. Jelikož se také jedná o QiI fungicidy, patřící do skupiny FRAC 21, stejně jako fenpikoxamid, má se za to, že riziko rezistence je střední až vysoké (Goertz 2021; CropLife International/RAC 2023).

3.5.4 Prothiokonazol

Aby se zabránilo vzniku nechtěné rezistence patogenů k SBI fungicidům, nemělo by v jedné sezóně docházet k opakované aplikaci pouze DMI fungicidů na stejnou plodinu. Zvláště je to důležité v případech výskytu patogenů s vysokým potenciálem vzniku rezistence, jako je tomu u původců spály žita (*Rhynchosporium graminicola*), síťové skvrnitosti ječmene (*Pyrenophora teres*) nebo padlí travní (*Blumeria graminis*). Tento přístup je klíčový zejména v oblastech s vysokým tlakem patogenu (Goertz 2023b).

Pokud je na daném území nutné opakovat aplikaci postřiku, mělo by tak být činěno postřikem, který nemá křížovou rezistenci k DMI fungicidům a má tedy jiný způsob účinku. Takovými postřiky mohou být přípravky s účinnou látkou ze skupiny fungicidů tzv. aminů. V případě, že není možnost tyto fungicidy využít, DMI fungicidy by měly být aplikovány pouze ve významné části sezóny, kdy rostliny čelí tlaku patogenu, případně na vhodná růstová stadia plodiny (Goertz 2023b).

Problém, díky kterému může vzniknout rezistence, je nedodržování doporučeného způsobu užívání od výrobců, to se týká především nedodržení termínů aplikace fungicidů a snižování dávky. Právě snižování dávky může vést k tomu, že vznikne resistence k DMI fungicidům. V případě použití DMI fungicidů v kombinaci s jinou skupinou fungicidů, musí být i zde zachována doporučená účinná dávka (Goertz 2023b).

Dále je žádoucí dodržovat vhodné agrotechnické preventivní opatření vzniku resistence, jako je použití rezistentních odrůd, správný osevní postup a podobně (Goertz 2023b).

3.5.5 Mefentriflukonazol

Stejně jako prothiokonazol, tak i mefentriflukonazol patří do skupiny DMI fungicidů, platí pro něj tedy stejné užívání antirezistentní strategie, jaká je popsána výše (Goertz 2023b).

4 Metodika

4.1 Technické vybavení laboratoře a chemikálie

4.1.1 Přístroje

- stolní autokláv
- laboratorní váhy
- flowbox
- inkubátor
- lednička (+4 °C)
- světelný mikroskop
- binokulární lupa
- počítač ke zpracování výsledků
- digitální fotoaparát pro dokumentaci

4.1.2 Nástroje a materiál

- Petriho misky – 60, 90 mm
- odměrné válce
- Šroubovací láhve (Simax) – 500 ml
- jednorázová váženka (lodička)
- navažovací lžička
- pinzety
- kádinky
- nůžky
- sterilní inokulační kličky a jehly z polypropylenu
- podložní sklo
- buničitá vata
- celofán
- časovač

4.1.3 Chemikálie

- denaturovaný líh
- Savo
- streptomycinsulfát – širokospektrální bakteriostatické antibiotikum
- Bramborovo-dextrózový agar (PDA)
- fluxapyroxad
- azoxystrobin
- fenpikoxamid
- prothiokonazol
- mefentriflukonazol

4.2 Pracovní postup tvorby izolátů

4.2.1 Proces sběru vzorků

V roce 2023 byl v České republice prováděn sběr vzorků v termínech odpovídajících očekávanému výskytu patogenů (viz Příloha č. I–IV). Pro získání rostlinných vzorků napadených patogenem *M. nivalis* a *O. yallundae* byl sběr realizován od poloviny března do poloviny dubna z pšenice a ječmene. Pro izolaci patogenu *Z. tritici* byly vzorky odebírány v dubnu z pšenice a ječmene. Vzorky pro izolaci patogenu *R. collo-cygni* byly odebrány v období od června do začátku července z ječmene. Celkem bylo odebráno 236 vzorků, z nichž byly dále izolovány patogeny: 59× *M. nivalis*, 24× *O. yallundae*, 76× *Z. tritici* a 77× *R. collo-cygni*.

Plocha, z které byly odebírány infikované vzorky se lišila podle toho, zda rostliny byly odebírány z maloparcelkových pokusů (Obrázek 16A, 16B) nebo z polí pěstitelů.

Z každé plochy bylo vždy náhodně vybráno 50 rostlinných jedinců sledované obilniny se symptomy nemoci. Pro izolaci patogenu *M. nivalis* a *O. yallundae* byly odebírány vzorky kořenů a bází stébel rostlin, zatímco pro listové nemoci tmavohnědou skvrnitost ječmene způsobenou patogenem *R. collo-cygni* a braničnatku pšeničnou (patogen *Z. tritici*) byly odebírány především ještě zelené listy vrchních pater s typickými symptomy.

Každý vzorek byl následně umístěn do sáčku, bylo mu přiřazeno evidenční číslo a vyplněn průvodní list.

Průvodní list neboli „průvodka vzorku“ vždy obsahoval informace o druhu plodiny, evidenčním čísle vzorku, původu vzorku, firmě, odrůdě atd. (viz Obrázek 17). Všechny vzorky byly následně převezeny do laboratoře pro následnou analýzu.

Obrázek 16: Pokusná maloparcelka, z které byly odebírány infikované rostliny.

4.2.2 Příprava roztoků a živných médií

4.2.2.1 Bramboro-dextrózový agar (PDA) – izolace a kultivace

Nejprve bylo zapotřebí připravit bramboro-dextrózový agar (PDA) pro izolaci a kultivaci patogenů a pro testy citlivosti. PDA agar od firmy Carl Roth GmbH byl předem vytvořen dle návodu v dávce 39 g PDA/l. Do dvou šroubovacích lahví Simax bylo nalito 400 ml deionizované vody a na jednorázovou váženku (lodičku) odváženo pomocí navažovací lžičky 15,6 g PDA agaru. Vše bylo důkladně promícháno a sterilizováno v autoklávu při 120 °C po dobu 30 minut.

Takto připravené médium bylo zchlazeno na teplotu 40–45 °C. Pro zabránění růstu bakterií bylo do média před nalitím do Petriho misky přidáno antibiotikum streptomycinsulfát (400 µl). Zchlazené živné médium (PDA) bylo postupně ve flowboxu naléváno do jednotlivých Petriho misek.

4.2.2.2 Příprava koncentrací a média s fungicidními účinnými látkami

Fungicidní účinné látky potřebné k založení testů citlivosti byly rozředěny dle přiloženého schématu (viz Tabulka 8), aby splnily požadované koncentrace (viz Tabulka 7).

Pracovní místo a nástroje potřebné k aplikaci účinných látek do živného média byly sterilizovány. Pracovní plocha flowboxu byla ošetřena denaturovaným ethanolem. Na sterilní povrch byl dále vložen stojan s rozředěnými účinnými látkami včetně bramboro-dextrózového agaru zchladlého na 40–45 °C. Vyšší teplota je nežádoucí, neboť by při pipetování fungicidních látek do horkého PDA agaru došlo k degradaci látek, a tudíž i změně koncentrace účinné látky. Účinná látka o požadované koncentraci byla pipetována do šroubovací láhve Simax s PDA agarem označené stejnou koncentrací. Směs byla následně důkladně promíchána a ponechána do ustálení hladiny z důvodu zamezení tvorby bublin při lití.

Médium s fungicidní látkou bylo pomalu rozléváno do předem připravených Petriho misek o průměru 90 mm. Pro snadnou orientaci a zamezení záměny vzorků byla každá Petriho miska popsána datem zpracování, názvem a koncentrací účinné látky.

Tabulka 7: Výsledné koncentrace fungicidních látek pro založení testů citlivosti

Fungicidní látka	**Finální koncentrace (µg/ml)**				
fluxapyroxad	0	0,01	0,1	1	10
azoxystrobin					
fenpikoxamid					
prothiokonazol					
mefentriflukonazol					

Tabulka 8: Ředění účinných látek na požadovanou koncentraci

Finální koncentrace účinné látky v PDA agaru (µg/ml)	**Zásobní roztok účinné látky**				
	fluxapyroxad (62,5 g/l)	azoxystrobin (250 g/l)	fenpikoxamid (50 g/l)	prothiokonazol (250 g/l)	mefentriflukonazol (100 g/l)
	Množství (µl)/400 ml PDA agaru				
0	0	0	0	0	0
0,01	0,064	0,016	0,08	0,016	0,04
0,1	0,64	0,16	0,8	0,16	0,4
1	6,4	1,6	8	1,6	4
10	64	16	80	16	40

4.2.2.3 Roztok chlornanu sodného (Savo) – sterilizace napadených bází stébel

Pro na sterilizaci napadených bází stébel bylo potřeba připravit 1,5% roztok chlornanu sodného. Odměrným válcem byly odměřeny 2 díly sterilní destilované vody a nality do větší kádinky. Následně byl odměřen 1 díl přípravku Savo (4,7% chlornan sodný), který byl postupně přiléván do kádinky se sterilní destilovanou vodou, tak aby bylo docíleno výsledného poměru 1:3 a požadované koncentrace.

4.2.3 Příprava vzorků pro izolaci patogenu z napadeného rostlinného pletiva

Každý vzorek s evidenčním číslem byl rozebrán na jednotlivá stébla, mechanicky očištěn, rozebrán na menší části, zaznamenány byly základní údaje (viz Obrázek 17). Báze jednotlivých stébel byly rozděleny na 5 dílků o velikosti 0,5 cm a vloženy do zkumavek s korespondujícím evidenčním číslem.

Jednotlivé segmenty bází stébel byly pečlivě zkontrolovány na jakékoliv zjevné symptomy napadení, a v případě potřeby byla horní vrstva nebo vrstvy báze stébla odstraněny pomocí laboratorních pinzet. Všech 5 dílků bylo po jednom přeneseno pomocí pinzet do předem připravené vysoké kádinky s výlevkou o objemu 150 ml se 100 ml 1,5% roztoku chlornanu sodného (Obrázek 18A). Zde probíhala sterilizace napadených bází stébel po dobu 3 minut. Následně byly vzorky třikrát přemístěny do kádinek se sterilní destilovanou vodou, kde byly ponechány po stejnou dobu jako v případě roztoku chlornanu sodného (Obrázek 18B). Přemisťování vždy probíhalo odpovídajícími novými laboratorními pinzetami, aby nedošlo ke kontaminaci vzorků. Po třetí finální oplachové fázi byl vzorek přemístěn na filtrační papír a ponechán ve flowboxu do plného oschnutí.

Obrázek 17: Vzorek pšenice č. 134 před rozebráním na segmenty pro analýzu k výskytu patogenů

Obrázek 18: Sterilizace bází stébel obilnin

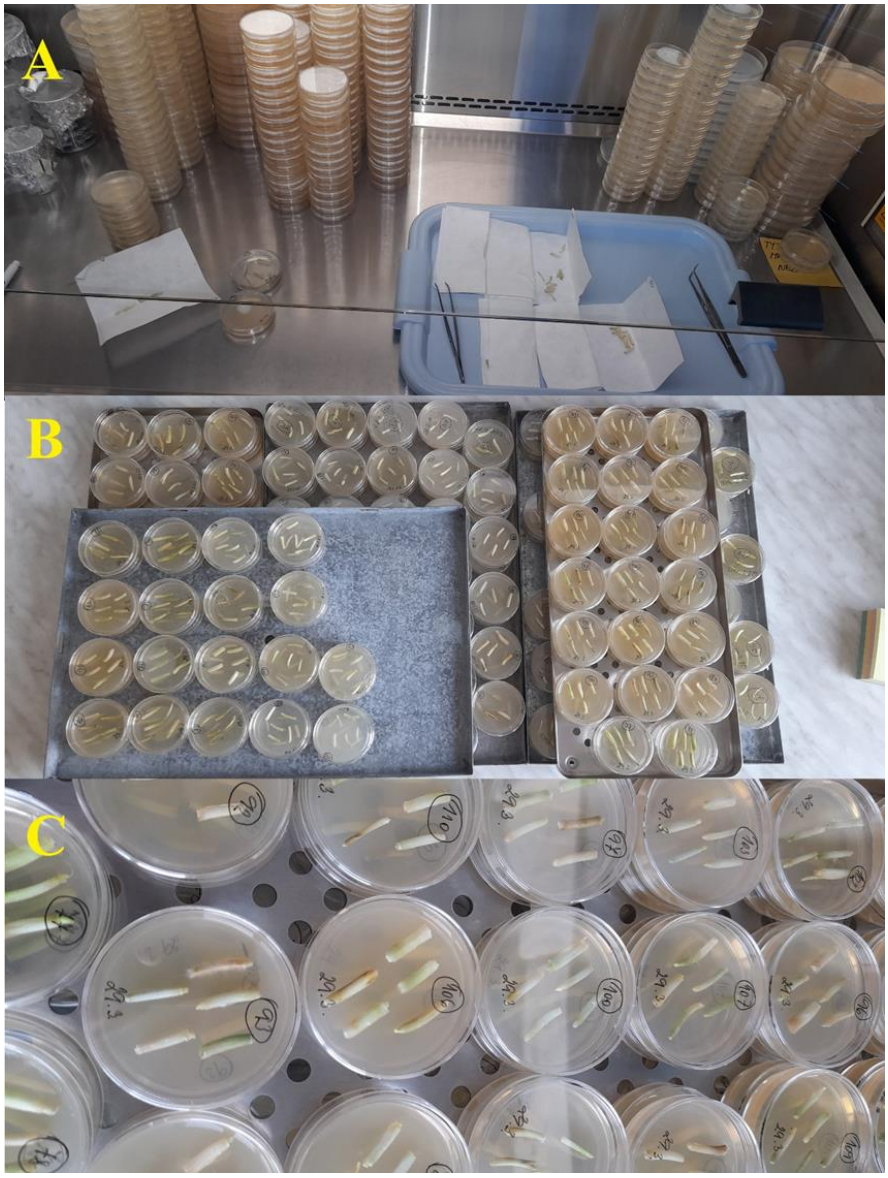
Při přípravě vzorků pro izolaci listových patogenů z napadeného rostlinného pletiva bylo nejprve nutné listy očistit od mechanických nečistot. Listy byly vkládány pomocí sterilní pinzety postupně do sterilní destilované vody, kde byly třikrát promyty (Obrázek 19). Po třetí finální oplachové fázi byl vzorek přemístěn na filtrační papír a osušen.

Obrázek 19: Čištění listů obilnin

4.2.4 Izolace a kultivace patogenu z napadeného rostlinného pletiva

U patogenů byla izolace a kultivace provedena dvěma metodami.

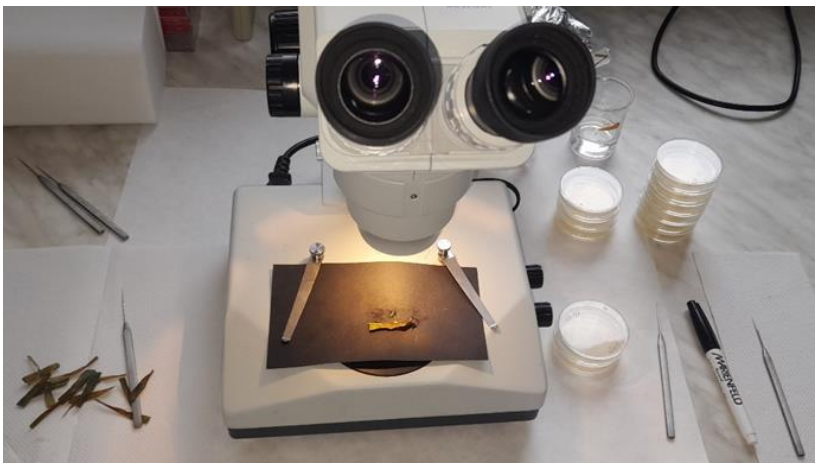
V rámci první metody izolace použité pro patogeny bází stébel byly sterilizované segmenty bází stébel (viz Obrázek 20A) umístěny na Petriho misky o průměru 60 mm s PDA médiem (viz Obrázek 20B, C). Kultivace probíhala ve tmě po dobu čtyř dní až třech týdnů při laboratorní teplotě (20 °C) v závislosti na růstu patogenu na agaru, neboť je běžné, že napadené stéblo velmi často obsahuje více druhů patogenů a rychleji rostoucí druhy patogenů (*M. nivalis* – 4 dny) přerůstají pomaleji rostoucí druhy (*O. yallundae* – 3 týdny). Po čtyřech až sedmi dnech po přenesení segmentů na agar v Petriho miskách byla vyhodnocena míra výskytu patogenu. To bylo provedeno na základě morfologického pozorování patogenu a diskuse s odborníky ze Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s.r.o. Kolonie houby *M. nivalis* mají světle růžovou až lososovou barvu na PDA médium, zatímco pomaleji rostoucí houba *O. yallundae* tvořila spíše tmavé kolonie (Dumalasová et al., 2017). Po potvrzení druhové příslušnosti patogenů, byly izoláty přeočkovány na nový PDA agar.



Obrázek 20: Izolace patogenů bází stébel obilnin

V rámci druhé metody izolace použité pro listové patogeny byly očištěné listy (viz Obrázek 19) vloženy do předem připravené sterilní vlhké komůrky (Petriho miska s navlhčeným filtračním papírem), v níž probíhala kultivace po dobu jednoho až dvou dní na světle při 15 °C. Determinace a rozlišení listových patogenů bylo provedeno pod binokulární lupou, kdy byly rozlišovány konidiofory s konidiemi patogenu *R. collo-cygni*, který má esovitě zakřivené konidiofory (labutí krk, viz Obrázek 9) v souvislých řadách, zatímco u *Z. tritici* bylo možné pozorovat pyknidy s pyknosporami (viz Obrázek 22).

V případě patogenu *Z. tritici* byly z pyknid na listech odebírány pod binokulární lupou uvolněné masy pyknidiospor a ty následně očkovány sterilní očkovací jehlou do PDA agaru (viz Obrázek 21 a 22). V případě patogenu *R. collo-cygni* byly na PDA agar přeneseny konidie tvořící se na konidioforech. Pro následnou lepší manipulaci mycelia patogenu byl povrch agaru před naočkováním patogenem překryt sterilním celofánem. Takto přichystané izoláty byly označeny datem, evidenčním číslem a kultivovány ve tmě při 20 °C po dobu dvou až tří týdnů. Po uplynutí doby potřebné ke kultivaci patogenů bylo možné vidět PDA médium různých barev (viz Příloha č. XII., XIII.), což je zapříčiněno produkcí rubelinů typických pro patogen *R. collo-cygni*.



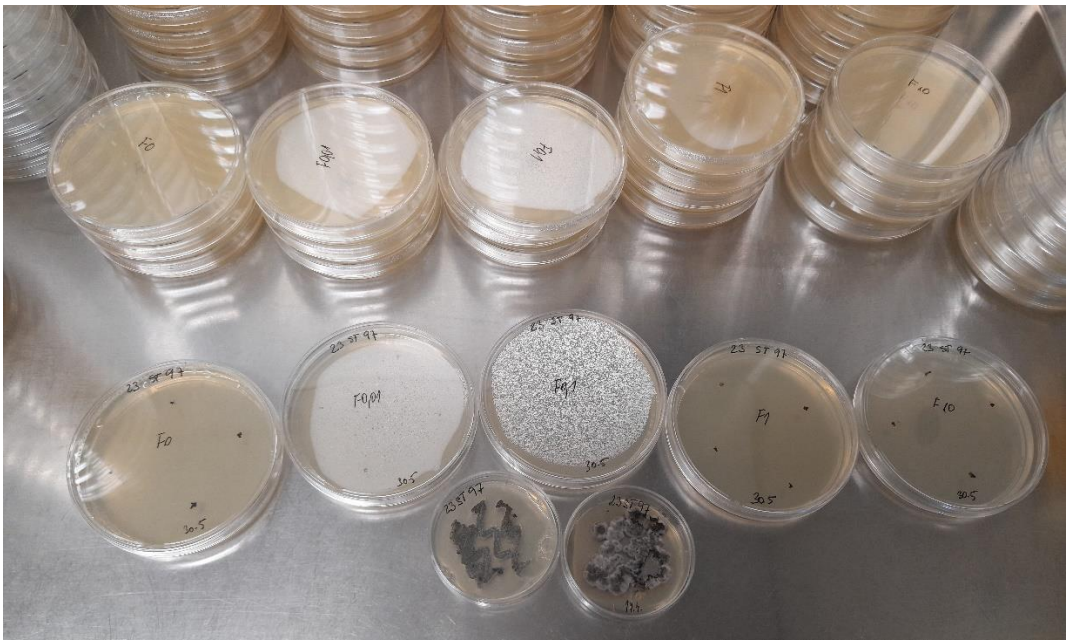
Obrázek 21: Odebírání konidií *Z. tritici*

Obrázek 22: Pyknidy a uvolněné masy pyknidiospor patogenu *Zymoseptoria tritici* na pšenici

4.2.5 Testování citlivosti/rezistence patogenů k fungicidům

Před založením testů citlivosti bylo sterilizováno pracovní místo, nachystány potřebné pomůcky a připraveny chemikálie a živná média (viz kapitola 4.2.2 Příprava roztoků a živných médií). Jednotlivé patogeny (viz Příloha XIX.) byly rozočkovány pomocí sterilních inokulačních laboratorních kliček na nové samostatné Petriho misky o průměru 90 mm (viz Obrázek 23), aby v případě kontaminace původního vzorku existoval i vzorek nekontaminovaný, sloužily tedy jako zpětná kontrola.

Z namnožených izolátů byly vyříznuty pomocí sterilní inokulační kličky z polypropylenu 4 čtvercové segmenty o průměru 2 mm a přeočkovány na nové médium obsahující účinnou látku fungicidu o různé koncentraci (viz Tabulka 8). Každá Petriho miska obsahovala pouze agar s jednou variantou koncentrace a 4 segmenty, které na misce vytvořily pomyslný čtverec. Každý test byl proveden pouze jednou.



Obrázek 23: Zakládání testů citlivosti k účinné látce fluxapyroxad u patogenu *Zymoseptoria tritici*

4.3 Vyhodnocení testů citlivosti

Vyhodnocení testů citlivosti bylo prováděno měřením radiálního růstu mycelia na ploše Petriho misky na PDA agaru (viz Obrázek 24, Příloha č. V. – XIII.). Byla sledována míra inhibice růstu mycelia v důsledku přítomnosti určité koncentrace fungicidní látky. Měření bylo vždy provedeno po uplynutí cca 21 dní a v případě patogenu *M. nivalis* dříve (4 dny). Každý izolát měl 4 naměřené hodnoty pro 5 různých koncentrací pro každou testovanou fungicidní účinnou látku.

Naměřené hodnoty byly zapisovány do tabulky do sešitu. Po doměření byly následně tyto hodnoty přepsány do souboru v tabulkovém softwaru Microsoft Office Excel (viz Příloha č. I – IV).

Na základě dlouhodobých pozorování na pracovišti byla stanovena hodnota EC_{50} 0,5 µg/ml jako rozhodující hranice pro zařazení izolátu do citlivé či do rezistentní skupiny (EC_{50} > 0,5 µg/ml).

Obrázek 24: Test citlivosti na účinnou látku prothiokonazol u patogenu *Zymoseptoria tritici*

4.4 Statistické vyhodnocení

Hodnoceným znakem byla efektivní koncentrace fungicidní látky (EC_{50}). inhibující růst mycelia z 50 %. Tyto hodnoty byly vypočteny pomocí probitové analýzy v programu Biostat 6 (AnalystSoft; USA) z hodnot růstu mycelia na Petriho miskách. Porovnávána byla účinnost fungicidních látek pro každý patogen. Data byla testována na splnění vstupních předpokladů analýz rozptylu – homogenitu rozptylů (kombinovaný Cochranův-Hartleyův-Bartlettův test) a na normalitu reziduálů (Shapiro-Wilkův test). Hodnoty účinnosti fungicidů vůči růstu mycelia *Oculimacula* yallundae byly transformovány logaritmickou transformací a vliv fungicidů hodnocen pomocí *t*-testu. Data účinností fungicidů u ostatních patogenů (*Monographella nivalis, Ramularia collo-cygni* a *Zymoseptoria tritici*) výrazně nesplňovala podmínky parametrických testů, a tedy byla hodnocena pomocí Kruskal-Wallisova testu. Rozdíly mezi skupinami byly hodnoceny pomocí post-hoc neparametrického vícenásobného porovnání *p*-hodnot na hladině významnosti 0,05. Data jsou prezentována ve formátu průměr + Střední chyba průměru (*SE*). Tyto výpočty byly provedeny v programu Statistica 14 (TIBCO Software Inc, USA).

5 Výsledky

V této práci byla zjišťována úroveň citlivosti čtyř běžně se vyskytující houbových patogenů obilnin k pěti fungicidním účinným látkám užívaných v zemědělství (viz Graf 3). Celkem bylo testováno 236 izolátů, které byly izolovány z infikovaných pletiv různých odrůd pšenice seté a ječmene setého, které byly sbírány v různých lokalitách ČR (viz Příloha č. I–IV).

Graf 3: Rozdělení a počet jednotlivých izolátů vybraných patogenů testovaných k vybrané účinné látce. Vnitřní prstenec popisuje jednotlivé názvy patogenů: *Monographella nivalis* (Mn), *Oculimacula yallundae* (Oy), *Zymoseptoria tritici* (Zt), *Ramularia collo-cygni* (Rcc).Vnější prstenec znázorňuje jednotlivé účinné látky a počet izolátů dané účinné látky. Každá účinná látka má poté totožnou barvu s patogenem.

5.1 *Monographella nivalis*

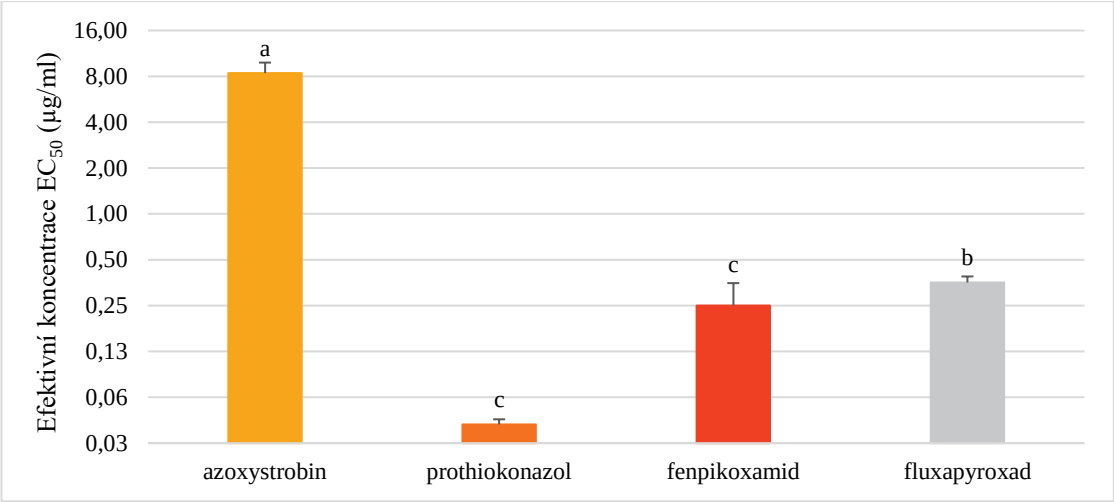
Pro získání dat souvisejících s účinností fungicidů bylo testováno 59 izolátů *M. nivalis* získaných především z různých lokalit Moravy (viz Příloha č. I.). Citlivost jednotlivých izolátů k dané fungicidní látce byla vyhodnocena dle vypočítaných hodnot EC_{50}. Porovnání hodnot EC_{50} pro jednotlivé fungicidy bylo statisticky průkazné na základě Kruskal-Wallisova testu ($H = 168,12$; $p < 0,001$; $n = 235$; Tabulka 9).

Nejnižší efektivní koncentrace fungicidní látky inhibující růst mycelia z 50 % byla zaznamenána u účinné látky fenpicoxamid u izolátu 23Mn162 ($EC_{50} \doteq 0,0001$ (µg/ml), Příloha č. I.). Nejvyšší míru rezistence vykazoval izolát 23Mn88 vůči azoxystrobinu ($EC_{50} \doteq 80,5158$ (µg/ml), Příloha č. I.). U vzorku 23Mn2 však z důvodu kontaminace nebylo možné stanovit tuto hodnotu pro azoxystrobin.

Tabulka 9: Součet a průměr pořadí hodnot EC_{50} vybraných fungicidů inhibující růst *Monographella nivalis* (Kruskal-Wallisův test).

Fungicid	*N*	Součet	Průměr
azoxystrobin	58	11705	201,81
prothiokonazol	59	3235	54,83
fenpikoxamid	59	4488	76,07
fluxapyroxad	59	8302	140,71

U účinných fungicidních látek byla vyhodnocena statistická významnost pomocí neparametrického vícenásobného porovnání *p*-hodnot. Porovnání hodnot EC_{50} testovaných látek u patogenu *M. nivalis* prokázalo, že azoxystrobin byl účinnou látkou, dosahující nejvyšších hodnot EC_{50}, byla tedy potřeba vyšší koncentrace fungicidu pro redukci růstu mycelia izolátů. Taktéž měl největší podíl rezistentních izolátů (94,83 %, viz Tabulka 10). Naopak inhibitor demetylace (DMI) prothiokonazol působil na izoláty patogenu nejefektivněji (viz Graf 4). Účinnost, respektive hodnoty EC_{50} účinných látek fenpikoxamid a prothiokonazol se od sebe navzájem statisticky nelišily a již při nízkých koncentracích výrazně redukovaly růst patogenu.



Graf 4: Hodnoty EC_{50} vybraných fungicidních látek inhibující růst patogenu *Monographella nivalis*. Sloupce vyjadřují průměry na logaritmické škále, úsečky značí střední chybu průměru; n = 58–59; Rozdílné písmeno značí statistickou významnost na základě post-hoc neparametrického vícenásobného porovnání p-hodnot na hladině významnosti 0,05.

Tabulka 10: Podíl citlivých a rezistentních izolátů patogenu *Monograaphaella nivalis* k vybraným účinným látkám.

Název účinné látky	Citlivé izoláty (%)	Rezistentní izoláty (%)
azoxystrobin	5,17	94,83
prothiokonazol	100	0
fenpikoxamid	93,22	6,78
fluxapyroxad	64,41	35,59

5.2 *Oculimacula yallundae*

Z lokalit v ČR bylo získáno 24 izolátů *O. yallundae* (viz Příloha č. II). U těchto izolátů byla testována citlivost k účinným látkám prothiokonazol a fluxapyroxad. Porovnání hodnot EC_{50} těchto fungicidů bylo statisticky průkazné na základě *t*-testu ($t = 10{,}09$; $p<0{,}001$). Analýza hodnot EC_{50} prokázala, že účinnější fungicidní látkou byl fluxapyroxad, kdy jeho maximální zaokrouhlená hodnota EC_{50} nepřesáhla koncentraci 0,1301 µg/ml (viz Graf 5, Příloha č. II.), ovšem obě látky nevykazovaly žádné rezistentní izoláty (viz Tabulka 11).

Graf 5: Hodnoty EC_{50} vybraných fungicidních látek inhibující růst patogenu *Oculimacula yallundae*. Sloupce vyjadřují průměry, úsečky značí střední chybu průměru; n = 24; Rozdílné písmeno značí statistickou významnost na základě t-testu logaritmicky transformovaných dat.

Tabulka 11: Podíl citlivých a rezistentních izolátů patogenu *Oculimacula yallundae* k vybraným účinným látkám.

Název účinné látky	Citlivé izoláty (%)	Rezistentní izoláty (%)
prothiokonazol	100	0
fluxapyroxad	100	0

5.3 *Zymoseptoria tritici*

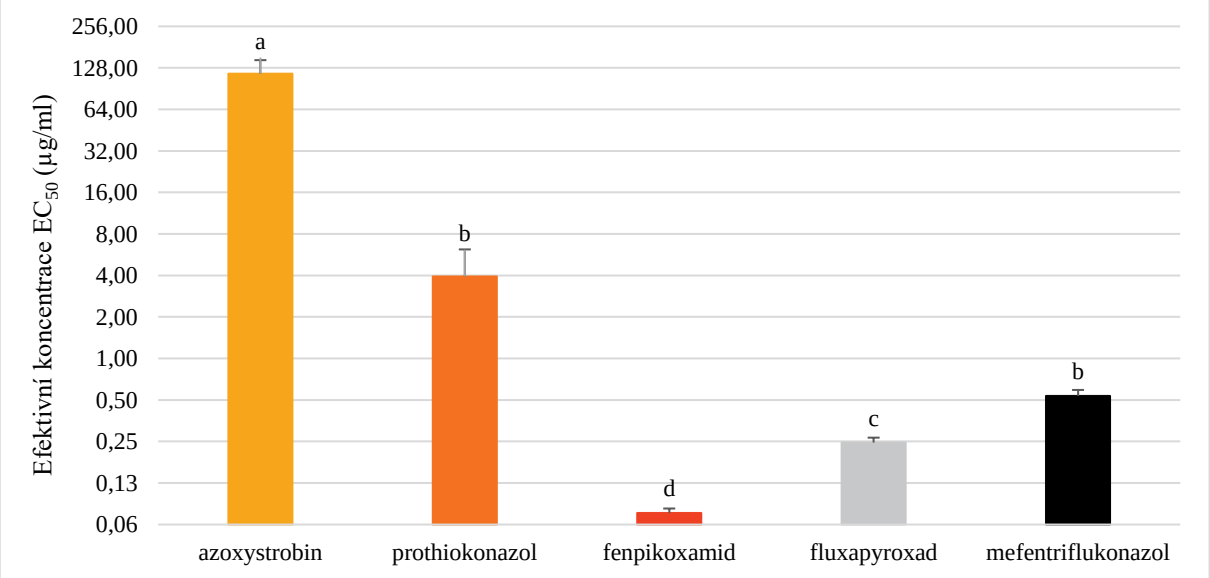
Z odebraných vzorků pšenice bylo získáno celkem 76 izolátů *Z. tritici* (Příloha č. III.). Tento patogen byl následně podroben sérii testů se všemi uvedenými fungicidními látkami. Porovnání hodnot EC_{50} pro jednotlivé účinné látky bylo statisticky průkazné na základě Kruskal-Wallisova testu (H = 233,37; p =0,001; n = 361; Tabulka 12).

Tabulka 12: Součet a průměr pořadí hodnot EC_{50} vybraných fungicidů inhibující růst *Zymoseptoria tritici* (Kruskal-Wallisův test).

Fungicid	*N*	Součet	Průměr
azoxystrobin	69	21055	305,14
prothiokonazol	70	15234	217,63
fenpikoxamid	76	4067	53,51
fluxapyroxad	75	10619	141,59
mefentriflukonazol	71	14366	202,34

Z Grafu 6 i z Tabulky 13 vyplývá, že největší míru rezistence vykazovaly izoláty vůči azoxystrobinu, naopak fungicid fenpikoxamid způsoboval inhibici růstu i při nižších koncentracích.

U účinných fungicidních látek byla vyhodnocena statistická významnost pomocí neparametrického vícenásobného porovnání *p*-hodnot. Z Grafu 6 je vidět, že existují statisticky významné rozdíly mezi testovanými fungicidy s výjimkou fluxapyroxadu a mefentriflukonazolu, které se od sebe vzájemně statisticky neliší.



Graf 6: Hodnoty EC_{50} vybraných fungicidních látek inhibující růst patogenu *Zymoseptoria tritici*. Sloupce vyjadřují průměry na logaritmické škále, úsečky značí střední chybu průměru; n = 69–76. Rozdílné písmeno značí statistickou významnost na základě post-hoc neparametrického vícenásobného porovnání p-hodnot na hladině významnosti 0,05.

Tabulka 13: Podíl citlivých a rezistentních izolátů patogenu *Zymoseptoria tritici* k vybraným účinným látkám.

Název účinné látky	Citlivé izoláty (%)	Rezistentní izoláty (%)
azoxystrobin	14,49	85,51
prothiokonazol	41,43	58,57
fenpikoxamid	100	0
fluxapyroxad	89,33	10,67
mefentriflukonazol	61,97	38,03

5.4 *Ramularia collo-cygni*

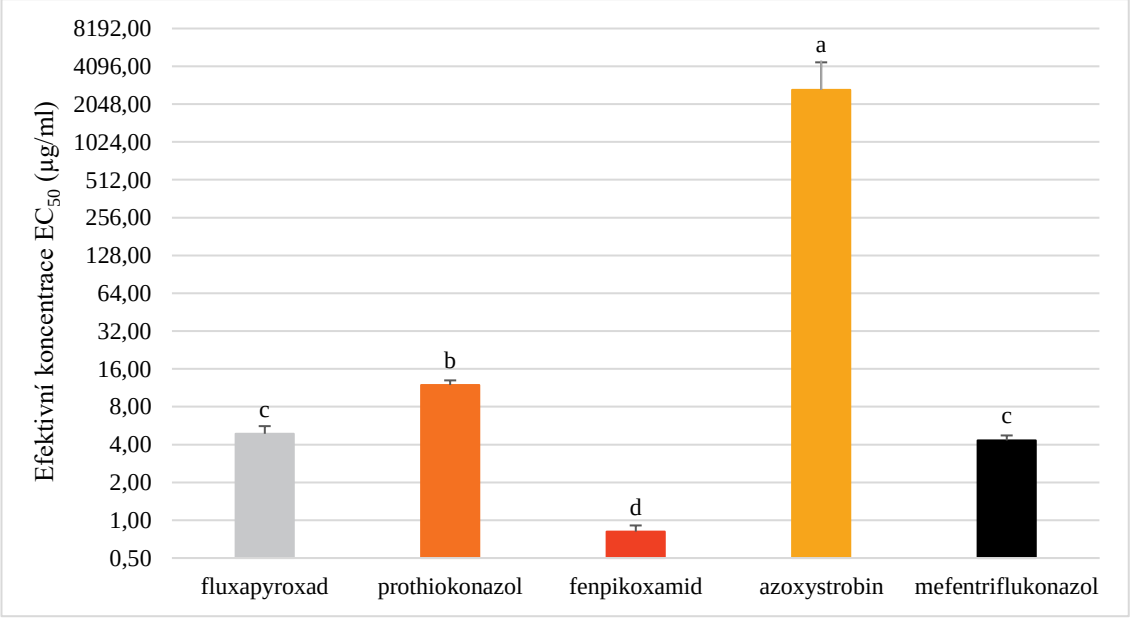
Patogen *R. collo-cygni* byl nalezen na 77 vzorcích infikovaných obilnin odebraných z různých lokalit především na jihu Moravy (viz Příloha č. IV.). Izoláty získané z těchto vzorků byly testovány na citlivost/rezistenci k pěti účinným látkám: fluxapyroxadu, prothiokonazolu, fenpikoxamidu, azoxystrobinu, mefentriflukonazolu. Vliv těchto fungicidů na redukci růstu patogenu byl statisticky průkazný na základě Kruskal-Wallisova testu (H = 293,53; p <0,001; n = 385; Tabulka 14).

Tabulka 14: Součet a průměr pořadí hodnot EC_{50} vybraných fungicidů inhibující růst patogenu *Ramularia collo-cygni* (Kruskal-Wallisův test).

Fungicid	*N*	Součet	Průměr
fluxapyroxad	77	12576	163,32
prothiokonazol	77	18811	244,30
fenpikoxamid	77	3943	51,21
azoxystrobin	77	26454	343,56
mefentriflukonazol	*77*	12521	162,61

Z dat vyplývá, že testované izoláty *R. collo-cygni* vykazovaly největší citlivost vůči fenpikoxamidu (viz Graf 7, Tabulka 15).

U účinných fungicidních látek byla vyhodnocena statistická významnost pomocí neparametrického vícenásobného porovnání *p*-hodnot. Z Grafu 7 je vidět, že existují statisticky významné rozdíly mezi fungicidy s výjimkou prothiokonazolu a mefentriflukonazolu, které se od sebe vzájemně statisticky neliší.



Graf 7: Hodnoty EC_{50} vybraných fungicidních látek inhibující růst patogenu *Ramularia collo-cygni*. Sloupce vyjadřují průměry na logaritmické škále, úsečky značí střední chybu průměru; n = 77; Rozdílné písmeno značí statistickou významnost na základě post-hoc neparametrického vícenásobného porovnání p-hodnot na hladině významnosti 0,05.

Tabulka 15: Podíl citlivých a rezistentních izolátů patogenu *Ramularia collo-cygni* k vybraným účinným látkám.

Název účinné látky	Citlivé izoláty (%)	Rezistentní izoláty (%)
azoxystrobin	0	100
prothiokonazol	0	100
fenpikoxamid	31,17	68,83
fluxapyroxad	7,79	92,21
mefentriflukonazol	2,60	97,40

6 Diskuze

V současné době je klíčové zajistit účinnou ochranu pěstovaných obilnin před houbovými patogeny. Choroby, které tyto patogeny způsobují, patří mezi hlavní faktory omezující výnosy a kvalitu sklizně obilnin po celém světě, což má významný ekonomický dopad v zemědělství (Ray et al. 2012; Liliane et al. 2020; Davies et al. 2021; Różewicz et al. 2021; Laidig et al. 2022).

Nepřímá preventivní ochrana by měla vždy převažovat. V případě obilnin je hlavním cílem vytvoření optimálního prostředí pro růst a vývoj rostlin a současně vytvoření nepříznivých podmínek pro vývoj a šíření patogenu. To zahrnuje správné hnojení, volbu vhodného termínu výsevu, příhodnou lokalitu a další faktory (Maywald et al. 2023).

Další efektivní nepřímou metodou ochrany je šlechtění rostlin s odolností vůči původcům chorob. Tímto přístupem lze snížit ztráty na výnosech a potřebu používání chemických látek. Maywald et al. (2023) zdůrazňuje úspěch ve šlechtění rostlin s odolností vůči *Blumeria graminis f.* sp. *hordei,* patogenu, který způsobuje padlí travní u ječmene. Za tuto odolnost je zodpovědný gen Mlo (Mildew locus O) s recesivními alelami (El-Baky & Amara 2021; Ayaz et al. 2023).

Když selžou všechny nepřímé metody ochrany, je nutné přistoupit k přímým metodám. Podle vyhlášky č. 205/2012 Sb. o obecných zásadách integrované ochrany rostlin by měla být vždy dávána přednost biologické ochraně rostlin nebo jiným alternativním metodám před chemickými prostředky. V České republice je k dispozici biologický přípravek Polyversum, obsahující organismus z oddělení Oomycota *Pythium oligandrum* M1, který je možné použít proti původci stéblolamu na obilninách. Proti původcům plísni sněžné, braničnatce plevové a ramulariové skvrnitosti ječmene lze využít přípravek Serenade s účinnou látkou, což je kmen bakterie *Bacillus subtilis* str. QST 713. Matzen et al. (2019) ve své studii uvádějí, že tato kombinace přípravku Serenade s prothiokonazolem je účinná proti *B. graminis* na pšenici ozimé a jarním ječmeni. Avšak žádné z těchto ošetření nevedlo k výraznému zlepšení kontroly původce choroby ve srovnání s použitím samotného prothiokonazolu.

Nejefektivnější přímou metodou ochrany je chemická ochrana. Klíčové pro zachování její účinnosti je dodržování antirezistentní strategie. Nesprávná aplikace chemických, zejména fungicidních prostředků, zvyšuje riziko vzniku rezistence patogenů. S rozvojem rezistence houbových patogenů vůči dostupným fungicidům se jejich kontrola stává stále obtížnější (Matzen et al. 2019; Goertz 2023b).

Současný trend směřuje k redukci používání chemických látek v zemědělství, včetně fungicidů, což vyžaduje optimalizaci jejich aplikace. Všeobecně je známo, že mezi populací patogenů způsobujících vážné choroby obilnin existují izoláty s různou mírou citlivosti k fungicidům používaným k ochraně těchto plodin. Nedodržení antirezistentní strategie, adaptace patogenu k chemickým látkám a jejich nadužívání mohou být faktory, které přispívají k riziku vzniku a rozvoje rezistence v populacích patogenů. Cílem této práce bylo zjistit úroveň citlivosti jednotlivých izolátů vybraných houbových patogenů obilnin k běžně používaným fungicidním látkám (Deising et al. 2008; Goertz & Derpmann 2023; Amezrou et al. 2024).

Byla provedena analýza citlivosti čtyř běžně se vyskytujících houbových patogenů obilnin (*Monographella nivalis,* Oculimacula *yallundae, Zymoseptoria tritici, Ramularia collo--cygni*) vůči pěti různým fungicidním látkám (fluxapyroxad, azoxystrobin, fenpikoxamid, prothiokonazol, mefentriflukonazol) pomocí *in vitro* testu na PDA agaru. Tato metoda byla zvolena pro svoji relativní jednoduchost a opakovatelnost, a také pro možnost provádět testy v relativně velkém měřítku s možností zkoušet více účinných látek a více subjektů stejnou metodou. Celkem bylo testováno 236 izolátů, které byly rozděleny do skupin (viz Graf 3). Tato metoda má výhodu v tom, že je již relativně optimalizovaná a dlouhodobě využívaná, což umožňuje přidávat nové látky k těm již testovaným.

Existuje několik potenciálních omezení při testování populace vybraných houbových patogenů obilnin na jejich rezistenci vůči fungicidům. Jedním z nich může být omezená dostupnost materiálu. V nepříznivých podmínkách pro vznik patogenu může být nedostatečný počet reprezentativních vzorků. Populace patogenů se mohou v průběhu času adaptovat, a v budoucnu může být potřeba upravit již standardizované testy. Další nevýhodou může být časově náročná kultivace patogenů, což může vést k tomu, že výsledky nebudou k dispozici v aktuálním vegetačním období, a budou použitelné až v následujícím roce, kdy se situace s rezistencí může změnit.

Přítomnost izolátů rezistentních k fungicidům v populacích patogenů představuje každoroční problém jak v České republice, tak ve světě. Fraaije et al. (2005) uvádějí, že populace *Z. tritici* rezistentní k QoI fungicidům (strobilurinům) byly poprvé identifikovány již v roce 2002 a rezistence *B. graminis* na pšenici byla zaznamenána ještě o dva roky dříve (Sierotzki et al. 2000). Je proto zásadní, aby tento fenomén byl zkoumán, neboť je nezbytné zajistit dostatečnou produkci potravy pro stále se zvyšující lidskou populaci a minimalizovat ztráty na výnosech způsobené rezistencí houbových patogenů vůči chemickým látkám.

Figueroa et al. (2018) a Singh et al. (2023) ve svých pracích uvádějí, že významnými houbovými patogeny jsou zástupci, kteří způsobují choroby listů obilnin, ale i zástupci způsobující choroby pat stébel. České republice jsou problematické především původci braničnatky pšeničné, ramulárioé skvrnitosti obilnin a stéblolamu obilnin. Tyto houbové patogeny způsobují v ČR ztráty na výnosech, a proto byly vybrány pro monitorování jejich citlivosti k vybraným fungicidním látkám.

Ve studii byly zkoumány fungicidní látky zastupující dvě nejběžněji používané třídy skupiny fungicidů: DMI fungicidy: triazoly (mefentriflukonazol, prothikonazol) a QoI fungicidy: methoxy-akryláty (azoxystrobin). Dále byl zahrnut fenpikoxamid (QiI) fungicidy: pykolinamidy) a fluxapyroxad (SDHI fungicidy: pyrazol-4- karboxamidy). Prothiokonazol (triazolinthiny) byl vybrán pro testování, protože je hojně zastoupen v Registru přípravků na ochranu rostlin. Fenpikoxamid, který byl povolen v České republice od 18. října 2023 (Bayer Crop Science US 2020; Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin 2024a, 2024b, 2024c, 2024d, 2024e), byl zahrnut do studie s očekáváním, že nebude existovat významný počet rezistentních izolátů a bude tedy v budoucnu široce využíván.

Výsledky studie ukázaly variabilitu v účinnosti zkoumaných fungicidních látek vůči jednotlivým patogenům, což má klíčový význam pro strategie ochrany plodin. Z grafů 4, 6 a 7 vyplývá, že fungicidní látkou s nejvyšším podílem jedinců vykazujících nižší citlivost (EC_{50} > 0,5 μg/ml) byl azoxystrobin.

To by mohlo být způsobeno skutečností, že patogeny citlivé ke vzniku rezistence k azoxystrobinu jsou ovlivňovány pouze jedním dominantním genem v cytochromu b, což naznačuje kvalitativní rezistenci (viz Obrázek 15). Naopak u všech ostatních testovaných účinných látek se jedná o rezistenci kvantitativní, což znamená, že je ovlivňována více geny. Druhým možným vysvětlením může být fakt, že azoxystrobin je dlouhodobě používán na trhu, a patogeny tak měly dostatek času vyvinout mechanismy rezistence (Leadbeater 2014).

U patogenu *M. nivalis* bylo zjištěno, že azoxystrobin vykazoval nejvyšší hodnoty EC_{50}, zatímco inhibitor demetylace (DMI) prothiokonazol vykazoval nejnižší hodnoty EC_{50} a byl tedy nejúčinnější. U patogenu *M. nivalis* bylo zaznamenáno 94,83 % izolátů s vysokou úrovní rezistence vůči azoxystrobinu. Porovnáním výsledků monitoringu provedeného společnostmi vyrábějícími pesticidy v roce 2022 bylo prokázáno, že existují populace *M. nivalis* náchylné k vzniku rezistence k QoI fungicidům v Německu, Polsku, Litvě, Rumunsku a Velké Británii. Toto tvrzení je v souladu s předchozími studiemi, které naznačovaly, že azoxystrobin může být méně účinný než jiné fungicidní látky v ochraně obilnin proti *M. nivalis* (Inoue et al. 2012; Hahn 2014; Sierotzki et al. 2023).

Tato informace má klíčový význam pro volbu vhodného fungicidu při ochraně pšenice seté a ječmene setého. Je preferován inhibitor biosyntézy sterolu – prothiokonazol, v rámci testování citlivosti k této účinné látce nebyly nalezeny izoláty vykazující nižší citlivost k této látce. Část izolátů (35,59 %) jen mírně překročila stanovenou hranici pro sníženou citlivost k fluxapyroxadu. Nejnovější látka na trhu fenpikoxamid velmi dobře inhibovala izoláty *M. nivalis* v růstu mycelia. Pouze nízké procento (6,78 %) izolátů, bylo k této látce rezistentní.

Z výsledků studie vyplývá, že u patogenu *O. yallundae* by mohl být fluxapyroxad účinnější než prothiokonazol, protože dosahoval obecně nižších hodnot EC_{50}. Toto může být způsobeno tím, že fluxapyroxad inhibuje sukcinátdehydrogenázu v komplexu II mitochondriálního respiračního řetězce, což vede k inhibici tvorby klíčních hyf a patogen nemůže proniknout do buněk rostliny. Naopak prothiokonazol inhibuje biosyntézu sterolů, což znamená, že jeho účinek nastupuje pomaleji (viz Tabulka 5). Studie provedená Palicová & Matušinsky (2019) naznačuje, že nejvyšší účinnost proti tomuto patogenu vykazovala kombinace účinných látek epoxikonazol + fluxapyroxad + pyralostrobin, zatímco nejnižší účinnost byla zaznamenána po aplikaci látkami prothiokonazol + trifloxystrobin.

I když byl vznik rezistence u *O. yallundae* hlášen v některých zemích včetně Německa, Polska, Litvy, Rumunska, Lotyšska a Velké Británie, v naší studii žádný z 24 testovaných izolátů nevykázal rezistenci vůči žádné z testovaných látek (Sierotzki et al. 2023).

U izolátů *Z. tritici* byla zjištěna vysoká míra rezistence vůči azoxystrobinu (85,51 % izolátů). Zároveň 100 % izolátů bylo citlivých k účinné látce fenpikoxamid. Tyto výsledky naznačují potřebu přehodnotit používání azoxystrobinu jako hlavní fungicidní látky pro boj proti *Z. tritici*. Více než polovina izolátů (58,57 %) byla méně citlivá k prothiokonazolu. U 38,03 % izolátů byla snížená účinnost k mefentriflukonazolu a pouze 10,67 % izolátů bylo rezistentních k fluxapyroxadu. Zajímavým zjištěním je, že u dvou fungicidů s místem biochemického účinku v respiračním cyklu nebyla prokázána žádná (fenpikoxamid) nebo jen malá míra rezistence (fluxapyroxad). Naopak u azoxystrobinu byla zjištěna velká míra rezistentních izolátů, což je pravděpodobně způsobeno jeho častým využíváním v zemědělství (U.S. Environmental Protection Agency 1997; Inoue et al. 2012; National Center for Biotechnology Information 2024f).

Rezistentní populace *Z. tritici* k QoI fungicidům, včetně azoxystrobinu, byly identifikovány v roce 2022 v Dánsku, Švédsku, Německu, Francii, Nizozemsku, Velké Británii a Irsku, přičemž počet rezistentních izolátů zde zůstal neměnný po dobu čtyř let (Sierotzki et al. 2023). V České republice, Slovensku a Polsku byl zaznamenán mírný až vysoký stupeň rezistence *Z. tritici* k této látce v letech 2021 a 2022, což představuje zlepšení oproti roku 2020, kdy byla úroveň rezistence v těchto zemích klasifikována jako střední až vysoká (Sierotzki et al. 2023). V Itálii také izoláty *Z. tritici* vykazovaly mírný až vysoký stupeň rezistence, přičemž míra rezistence v porovnání s předchozími lety vzrostla. V roce 2022 země jako Španělsko, Rumunsko a Ukrajina hlásily střední úroveň rezistence, ačkoliv tyto úrovně vykazovaly v rámci těchto zemí vysokou variabilitu. Naopak v roce 2020 Rusko, Maďarsko a Bulharsko hlásily nízkou až střední úroveň rezistence tohoto patogenu (Sierotzki et al. 2023). V Bulharsku si tuto nižší hranici rezistence patogen *Z. tritici* udržuje již několik let.

V případě porovnání hodnot EC_{50} všech účinných látek u patogenu *R. collo-cygni* bylo zjištěno, že fenpikoxamid vykazoval nejnižší potenciál pro vznik rezistence, kdy rezistentních izolátů bylo 68,83 %. Z tohoto hlediska by fenpikoxamid nebyl vhodným kandidátem pro dlouhodobou ochranu plodin před tímto patogenem. Jelikož se jedná o QoI fungicid, mohla hrát roli potenciální křížová rezistence, která dosud nebyla prokázána žádnou studií, neboť v rámci této práce 100 % izolátů bylo rezistentní k azoxystrobinu, který patří také do této skupiny fungicidů. Všechny izoláty byly rovněž rezistentní k prothiokonazolu, avšak v porovnání s azoxystrobinem nebylo potřeba takové množství účinné látky pro potenciální 50% inhibici. Většina izolátů byla rovněž citlivá k účinným látkám mefentriflukonazol (97,40 %) a fluxapyroxad (92,21 %) (Hoheneder et al. 2021; CropLife International/FRAC 2024).

Monitoring rezistence izolátů *R. collo-cygni* rezistentních k fungicidním látkám provedený v letech 2019 až 2022 prokázal výskyt rezistentních populací v několika evropských zemích. V roce 2022 byla vysoká úroveň rezistence ke QoI fungicidům zaznamenána ve Francii, Irsku, Německu, Nizozemsku, Polsku, Španělsku a Švédsku. Tato rezistence je způsobena bodovou mutací v mitochondriálním genu cytochromu b v kodonu 143, která způsobuje substituci aminokyseliny glycinu za alanin. Střední úroveň rezistence byla zjištěna v Chorvatsku, Itálii, Rakousku a Švýcarsku. V roce 2021 byla potvrzena vysoká úroveň rezistence v České republice, Francii, Irsku, Německu, Nizozemsku, Španělsku a Velké Británii a střední úroveň rezistence v Chorvatsku, Itálii a Rakousku. V roce 2020 byla vysoká úroveň rezistence zaznamenána v České republice, Dánsku, Irsku, Lotyšsku, Maďarsku, Slovensku, Švédsku a Velké Británii, s různou frekvencí ve Francii a Německu, střední úrovní

ve Švýcarsku a nízkou úrovní ve Španělsku. Zkoumání genové mutace G143A odhalilo vysokou úroveň rezistence v Dánsku, Francii, Irsku, Maďarsku, Španělsku a Velké Británii, střední úroveň v Itálii, Německu a Rumunsku a nižší míru v Rakousku, Švýcarsku a v menší míře i v dalších zemích (Sierotzki et al. 2023).

Obecně lze konstatovat, že míra rezistence je poměrně vysoká nejen v České republice, ale i ve světě. Výsledky této studie představují důležitý příspěvek k pochopení citlivosti houbových patogenů k různým fungicidním látkám, což může vést k optimalizaci strategií ochrany plodin a snížení rizika vzniku rezistence. Nicméně je třeba vzít v úvahu, že citlivost patogenů může být ovlivněna různými faktory, jako je genetická variabilita a environmentální podmínky. Tyto faktory by měly být zohledněny při plánování ochranných opatření.

7 Závěr

V současné době je klíčové zajistit účinnou ochranu pěstovaných obilnin před houbovými patogeny, které patří mezi hlavní faktory omezující výnosy a kvalitu sklizně obilnin po celém světě. Ekonomický dopad v zemědělství je významný, a proto je nezbytné hledat efektivní strategie ochrany.

V rámci studie byla provedena analýza citlivosti houbových patogenů k různým fungicidním látkám. Výsledky ukázaly variabilitu v účinnosti fungicidů vůči patogenům a naznačují potřebu přehodnotit používání některých látek v ochraně plodin. Pokusy byly provedeny na PDA agaru v Petriho miskách na získaných izolátech patogenů *Monographella nivalis, Oculimacula yallundae, Zymoseptoria tritici, Ramularia collo-cygni*. Testována byla účinnost celkem pěti účinných látek fluxapyroxad, azoxystrobin, fenpikoxamid, prothiokonazol, mefentriflukonazol v rozdílných koncentracích.

Vědecká hypotéza této diplomové práce byla založena na tvrzení, že v populaci patogenů způsobujících významné choroby obilnin existují izoláty vyznačující se různou úrovní citlivosti k fungicidním látkám, které se používají při ochraně obilnin proti těmto patogenům. Hypotéza je na základě výsledků z předchozích kapitol potvrzena. Stejně tak jako je splněn cíl práce, ve kterém měla být zjištěna úroveň citlivosti jednotlivých izolátů vybraných houbových patogenů obilnin k běžně používaným fungicidním látkám.

Fungicidní látkou, která vykazovala nejnižší účinnost, což se projevilo vysokým zastoupením rezistentních izolátů u všech patogenů byl azoxystrobin.

Většina izolátů *M. nivalis* byla rezistentní vůči azoxystrobinu, zatímco vůči prothiokonazolu a fenpikoxamidu byly izoláty citlivé.

Žádný z testovaných izolátů patogenu *O. yallundae* nevykazoval rezistenci vůči prothiokonazolu, ani vůči fluxapyroxadu.

Patogen *Z. tritici* projevoval nejvyšší míru variability v rezistenci vůči fungicidním látkám, kdy izoláty nevykazovaly žádnou rezistenci vůči fenpikoxamidu, zatímco více než 85,51 % izolátů projevovalo rezistenci vůči azoxystrobinu.

Patogen *R. collo-cygni* vykazoval nejvyšší míru rezistence ze všech testovaných patogenů vůči všem testovaným fungicidním účinným látkám.

Celkově lze říci, že studie poskytuje důležité poznatky pro optimalizaci strategií ochrany plodin a snížení rizika vzniku rezistence houbových patogenů k fungicidním látkám. Je tedy nutné kontinuálně monitorovat a vyhodnocovat přítomnost izolátů rezistentních i vůči účinným látkám v populaci významných patogenů obilnin a zkoumat nové metody ochrany a adaptovat je na měnící se podmínky v zemědělství.

8 Literatura

Ababa G, Kesho A, Tadesse Y, Amare D. 2023. Reviews of taxonomy, epidemiology, and management practices of the barley scald (*Rhynchosporium graminicola*) disease. Heliyon 9. Elsevier. Available from /pmc/articles/PMC10018571/ (accessed February 28, 2024).

Agriculture and Horticulture Development Board. 2024a. Symptoms of (pink) snow mould disease in cereals | AHDB. Available from https://ahdb.org.uk/knowledge-library/symptoms-of-pink-snow-mould-disease-in-cereals (accessed March 26, 2024).

Agriculture and Horticulture Development Board. 2024b. Eyespot in cereals and risk assessment in wheat | AHDB. Available from https://ahdb.org.uk/knowledge-library/eyespot-in-cereals-and-risk-assessment-in-wheat (accessed March 26, 2024).

Agriculture and Horticulture Development Board. 2024c. *Septoria tritici* in winter wheat | AHDB. Available from https://ahdb.org.uk/knowledge-library/*septoria-tritici*-in-winter-wheat (accessed March 26, 2024).

Agriculture and Horticulture Development Board. 2024d. *Ramularia* leaf spot management in barley | AHDB. Available from https://ahdb.org.uk/knowledge-library/*ramularia*-leaf-spot-management-in-barley (accessed March 26, 2024).

Al-Ani LKT, Furtado EL. 2020. The effect of incompatible plant pathogens on the host plant. Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture:47–57. Academic Press.

Amezrou R et al. 2024. Quantitative pathogenicity and host adaptation in a fungal plant pathogen revealed by whole-genome sequencing. Nature Communications 15:1933. Available from https://doi.org/10.1038/s41467-024-46191-1.

Arena M et al. 2018. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fenpicoxamid (XDE-777). EFSA Journal 16:e05146. John Wiley & Sons, Ltd. Available from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2018.5146 (accessed November 15, 2023).

Avenot H, Sellam A, Michailides T. 2009. Characterization of mutations in the membrane-anchored subunits AaSDHC and AaSDHD of succinate dehydrogenase from *Alternaria alternata* isolates conferring field resistance to the fungicide boscalid. Plant Pathology 58:1134–1143.

Ayaz M et al. 2023. Bacterial and Fungal Biocontrol Agents for Plant Disease Protection: Journey from Lab to Field, Current Status, Challenges, and Global Perspectives. Molecules 28. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). Available from /pmc/articles/PMC10537577/ (accessed April 5, 2024).

Bajwa AA, Farooq M, Al-Sadi AM, Nawaz A, Jabran K, Siddique KHM. 2020. Impact of climate change on biology and management of wheat pests. Crop Protection 137:105304. Elsevier.

Bayer Crop Science US. 2020, January 8. Disease Management in Cereal Crops. Available from https://www.cropscience.bayer.us/articles/cp/disease-management-in-cereal-crops (accessed April 5, 2024).

Belsky J, Joshi NK. 2020. Effects of Fungicide and Herbicide Chemical Exposure on Apis and Non-*Apis* Bees in Agricultural Landscape. Frontiers in Environmental Science 8. Frontiers Media S.A.

Bennett JW, Klich M. 2003. Mycotoxins. Clinical Microbiology Reviews 16:497–516. American Society for Microbiology. Available from https://doi.org/10.1128/cmr.16.3.497-516.2003.

CABI. 2022. *Monographella nivalis* (foot rot of cereals). PlantwisePlus Knowledge BankDOI: 10.1079/pwkb.species.33977. CABI International. Available from https://doi.org/10.1079/pwkb.species.33977.

Cao F, Li H, Zhao F, Wu P, Qian L, Huang L, Pang S, Martyniuk CJ, Qiu L. 2019. Parental exposure to azoxystrobin causes developmental effects and disrupts gene expression in F1 embryonic zebrafish (*Danio rerio*). Science of The Total Environment 646:595–605. Elsevier.

Cao F, Wu P, Huang L, Li H, Qian L, Pang S, Qiu L. 2018. Short-term developmental effects and potential mechanisms of azoxystrobin in larval and adult zebrafish (*Danio rerio*). Aquatic Toxicology 198:129–140. Available from https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.02.023 (accessed October 31, 2023).

Český statistický úřad – veřejná databáze. 2024. Vývoj ploch, hektarových výnosů a sklizní zemědělských plodin. Available from https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/index.jsf?page=vystup-objekt&z=T&f=TABULKA&skupId=386&katalog=30840&pvo=ZEM02G&pvo=ZEM02G&evo=v1442_!_ZEM02G-celek_1#w= (accessed February 28, 2024).

Cheli F, Pinotti L, Novacco M, Ottoboni M, Tretola M, Dell'Orto V. 2017. Mycotoxins in Wheat and Mitigation Measures. Wheat Improvement, Management and Utilization DOI: 10.5772/67240. IntechOpen. Available from https://www.intechopen.com/chapters/53908 (accessed January 16, 2024).

Cornejo A, Pérez J, Alonso A, López-Rojo N, Monroy S, Boyero L. 2020. A common fungicide impairs stream ecosystem functioning through effects on aquatic hyphomycetes and detritivorous caddisflies. Journal of Environmental Management 263:110425. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479720303595.

Corwin JA, Kliebenstein DJ. 2017. Quantitative Resistance: More Than Just Perception of a Pathogen. The Plant Cell 29:655. Oxford University Press. Available from /pmc/articles/PMC5435431/ (accessed October 31, 2023).

Cowen LE, Sanglard D, Howard SJ, Rogers PD, Perlin DS. 2015. Mechanisms of antifungal drug resistance. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine 5. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Crop protection network – A Product of Land Grant Universities. 2023. Fungicide Use in Field Crops Web Book. Available from https://cropprotectionnetwork.org/web-books/fungicide-use-in-field-crops?section=21-frac-codes-1-21 (accessed November 15, 2023).

CropLife International/FRAC. 2024. FRAC Code List ©* 2024: Fungal control agents sorted by cross-resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels).

CropLife International/FRAC. 2023. FRAC Code List ©* 2023: Fungal control agents sorted by cross-resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels).

Davies CR, Wohlgemuth F, Young T, Violet J, Dickinson M, Sanders J-W, Vallieres C, Avery S V. 2021. Evolving challenges and strategies for fungal control in the food supply chain. Fungal Biology Reviews 36:15–26. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1749461321000038.

Deising HB, Reimann S, Pascholati SF. 2008. Mechanisms and significance of fungicide resistance. Brazilian Journal of Microbiology 39:286–295.

Desta B, Amare G. 2021. Paclobutrazol as a plant growth regulator. Chemical and Biological Technologies in Agriculture 8:1. Available from https://doi.org/10.1186/s40538-020-00199-z.

Donley N. 2019. The USA lags behind other agricultural nations in banning harmful pesticides. Environmental Health: A Global Access Science Source 18:1–12. BioMed Central Ltd. Available from https://ehjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12940-019-0488-0 (accessed November 1, 2023).

Dumalasová V, Palicová J, Hanzalová A, Bartoš P. 2017. Metodika diagnostiky a postupů ochrany proti chorobám pat stébel pšenice. Praha 6 – Ruzyně.

(EFSA) EFSA et al. 2018. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance BAS 750 F (mefentrifluconazole). EFSA Journal 16:e05379. John Wiley & Sons, Ltd. Available from https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5379.

El-Baky NA, Amara AAAF. 2021. Recent Approaches towards Control of Fungal Diseases in Plants: An Updated Review. Journal of Fungi 2021, Vol. 7, Page 900 7:900. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from https://www.mdpi.com/2309-608X/7/11/900/htm (accessed April 5, 2024).

Erreguerena IA, Hoebe PN, Carmona MA, Guillín E, Havis ND. 2024. Comparative analysis of Argentinian and European populations of *Ramularia collo-cygni* on barley. Plant PathologyDOI: 10.1111/PPA.13872. John Wiley & Sons, Ltd. Available from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ppa.13872 (accessed March 6, 2024).

Figueroa M, Hammond-Kosack KE, Solomon PS. 2018. A review of wheat diseases—a field perspective. Molecular Plant Pathology 19:1523. Wiley-Blackwell. Available from /pmc/articles/PMC6638159/ (accessed February 27, 2024).

Finch HJS, Samuel AM, Lane GPF. 2014. 6 - Diseases of farm crops. Pages 119–157 in Finch HJS, Samuel AM, Lane GPF, editors. Lockhart & Wiseman's Crop Husbandry Including Grassland (Ninth Edition)Ninth Edition. Woodhead Publishing. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781782423713500060.

Fisher MC, Denning DW. 2023. The WHO fungal priority pathogens list as a game-changer. Nature Reviews Microbiology 21:211–212. Available from https://doi.org/10.1038/s41579-023-00861-x.

Fletcher R, Gilley A, Sankhla N, Davis T. 2010. Triazoles as Plant Growth Regulators and Stress Protectants. Pages 55–138 Hort Rev.

Fraaije BA, Cools HJ, Fountaine J, Lovell DJ, Motteram J, West JS, Lucas JA. 2005. Role of Ascospores in Further Spread of QoI-Resistant Cytochrome b Alleles (G143A) in Field Populations of *Mycosphaerella graminicola*. Phytopathology 95:933–941. Phytopathology. Available from https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18944416/ (accessed April 5, 2024).

Fungicide Resistance Action Committee. 2006. Mutations associated with QoI-resistance. Available from www.frac.info (accessed November 1, 2023).

Fungicide Resistance Action Committee. 2011. Impact of Position 143 Intron on Resistance Risk to QoI Fungicides in Some Pathogens. Available from www.frac.info (accessed November 1, 2023).

Fungicide Resistance Action Committee. 2012a. List of fungal species with resistance reports towards SDHI fungicides and mutations in the succinate dehydrogenase geneDOI: 10.1111/j.1364-3703.2011.00746.x. Available from www.frac.info (accessed October 31, 2023).

Fungicide Resistance Action Committee. 2012b. List of pathogens with field resistance towards QoI fungicides. Available from www.frac.info (accessed November 1, 2023).

Gangwar OP, Chander Bhardwaj S, Singh GP, Prasad P, Kumar S. 2019. Barley diseases and their management- an Indian perspective. Wheat and Barley Research 10. Society for Advancement of Wheat and Barley Research. Available from https://www.researchgate.net/publication/332124040_Barley_diseases_and_their_management-_an_Indian_perspective (accessed February 28, 2024).

Goertz A. 2021. Resistance management recommendations and proposals for Fungicides not included in current working groups as requested by manufacturers.

Goertz A. 2023a. FRAC | Introduction and General Information to SBI Working Group. Available from https://www.frac.info/frac-teams/working-groups/sbi-fungicides (accessed November 23, 2023).

Goertz A. 2023b. FRAC | Recommendations for SBI. Available from https://www.frac.info/frac-teams/working-groups/sbi-fungicides/recommendations-for-sbi (accessed November 22, 2023).

Goertz A, Derpmann J. 2023. FRAC | Fungicide resistance management/backround. Available from https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/background (accessed November 4, 2023).

Goswami SK, Singh V, Chakdar H, Choudhary P. 2018. Harmful Effects of Fungicides-Current Status. International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology Citation: IJAEB:1025–1033.

Grasso V, Palermo S, Sierotzki H, Garibaldi A, Gisi U. 2006. Cytochrome b gene structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. Pest Management Science 62:465–472. John Wiley & Sons, Ltd. Available from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ps.1236 (accessed October 31, 2023).

Gustafsson K, Blidberg E, Elfgren IK, Hellström A, Kylin H, Gorokhova E. 2010. Direct and indirect effects of the fungicide azoxystrobin in outdoor brackish water microcosms. Ecotoxicology 19:431–444. Available from https://doi.org/10.1007/s10646-009-0428-9.

Hahn M. 2014. The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. Journal of Chemical Biology 7:133–141. Springer Verlag. Available from https://link.springer.com/article/10.1007/s12154-014-0113-1 (accessed April 5, 2024).

Hoheneder F, Hofer K, Groth J, Herz M, Heß M, Hückelhoven R. 2021. *Ramularia* leaf spot disease of barley is highly host genotype-dependent and suppressed by continuous drought stress in the field. Journal of Plant Diseases and Protection 128:749–767. Available from https://doi.org/10.1007/s41348-020-00420-z.

Honda Y, Matsuyama T, Irie T, Watanabe T, Kuwahara M. 2000. Carboxin resistance transformation of the homobasidiomycete fungus Pleurotus ostreatus. Current Genetics

37:209–212. Springer Verlag. Available from https://link.springer.com/article/10.1007/s002940050521 (accessed October 31, 2023).

Huang T, Zhao Y, He J, Cheng H, Martyniuk CJ. 2022. Endocrine disruption by azole fungicides in fish: A review of the evidence. Science of The Total Environment 822:153412. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969722005046.

Inoue K, Tsurumi T, Ishii H, Park P, Ikeda K. 2012. Cytological evaluation of the effect of azoxystrobin and alternative oxidase inhibitors in *Botrytis cinerea*. FEMS Microbiology Letters 326:83–90. Oxford Academic. Available from https://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02438.x (accessed April 5, 2024).

Iriki N, Gaudet D, Tronsmo AM, Matsumoto N, Yoshida M, Hsiang T, Okuyama H, Nakajima T. 2001. Low temperature diseases caused by *Microdochium nivale*.

Ito Y, Muraguchi H, Seshime Y, Oita S, Yanagi SO. 2004. Flutolanil and carboxin resistance in Coprinus cinereus conferred by a mutation in the cytochrome b 560 subunit of succinate dehydrogenase complex (Complex II). Molecular Genetics and Genomics 272:328–335. Available from https://doi.org/10.1007/s00438-004-1060-2.

Jung J, Rentzea C, Rademacher W. 1985. Plant growth regulation with triazoles of the dioxanyl type. Journal of Plant Growth Regulation 4:181–188. Available from https://doi.org/10.1007/BF02266956.

Jurica MS, Roybal GA. 2013. RNA Splicing. Pages 185–190 in Lennarz WJ, Lane MD, editors. Encyclopedia of Biological Chemistry (Second Edition). Academic Press, Waltham. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123786302006745.

Kashuba R, Salice C. 2006. Environmental Fate and Ecological Risk Assessment for the Registration of Prothioconazole.

Kheyrodin H. 2011. Crop Rotations for Managing Soil-borne Plant Diseases. African Journal of Food Science and Technology 2:1–009. Available from http://www.interesjournals.org/AJFST (accessed January 22, 2024).

Klappach K. 2023a. FRAC | Introduction and General Information to SDHI Working Group. Available from https://www.frac.info/frac-teams/working-groups/sdhi-fungicides (accessed November 1, 2023).

Klappach K. 2023b. FRAC | Recommendations for SDHI fungicides. Available from https://www.frac.info/frac-teams/working-groups/sdhi-fungicides/recommendations-for-sdhi (accessed November 4, 2023).

Konopíková L. 2023. Další informace o použití – Amistar (4247-1) SYL. Brno. Available from www.ukzuz.cz.

Kunz JL, Ingersoll CG, Smalling KL, Elskus AA, Kuivila KM. 2017. Chronic toxicity of azoxystrobin to freshwater amphipods, midges, cladocerans, and mussels in water-only exposures. Environmental Toxicology and Chemistry 36:2308–2315. Wiley Periodicals Inc. on. Available from https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/etc.3764 (accessed October 31, 2023).

L HD, Robert L. 2017. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. Microbiology Spectrum 5:10.1128/microbiolspec.funk-0052–2016. American Society for Microbiology. Available from https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0052-2016.

Laidig F, Feike T, Klocke B, Macholdt J, Miedaner T, Rentel D, Piepho HP. 2022. Yield reduction due to diseases and lodging and impact of input intensity on yield in variety trials in

five cereal crops. Euphytica 218:150. Available from https://doi.org/10.1007/s10681-022-03094-w.

Lamondia J. 2012. Efficacy of azoxystrobin fungicide against sore shin of shade tobacco caused by Rhizoctonia solani. Tobacco Science 49:1–3.

Leadbeater AJ. 2014. Plant Health Management: Fungicides and Antibiotics. Encyclopedia of Agriculture and Food Systems:408–424. Academic Press.

Liliane TN, Charles MS, Liliane TN, Charles MS. 2020. Factors Affecting Yield of Crops. Agronomy - Climate Change and Food SecurityDOI: 10.5772/INTECHOPEN.90672. IntechOpen. Available from https://www.intechopen.com/chapters/70658 (accessed April 5, 2024).

Lin H, Lin F, Yuan J, Cui F, Chen J. 2021. Toxic effects and potential mechanisms of Fluxapyroxad to zebrafish (*Danio rerio*) embryos. Science of The Total Environment 769. Available from https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144519 (accessed October 31, 2023).

Liu L, Wang H, Xu M, Qiu T-X, Chen J. 2021. Azoxystrobin increases the infection of spring viraemia of carp virus in fish. Chemosphere 285:131465. Available from https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131465 (accessed October 31, 2023).

Low K, Moretto A. 2018. FENPICOXAMID.

Lucas J, Dyer P, Murray T. 2000. Pathogenicity, host-specificity, and population biology of *Tapesia* spp., causal agents of eyespot disease of cereals. Advances in Botanical Research 33:225–258.

Luo C, Hu M-J, Jin X, Yin L-F, Bryson P, Schnabel G. 2010. An intron in the cytochrome b gene of *Monilinia fructicola* mitigates the risk of resistance development to QoI fungicides. Pest management science 66:1308–1315.

Luo K, Ouellet T, Zhao H, Wang X, Kang Z. 2021. Wheat–*Fusarium graminearum* Interactions Under Sitobion avenae Influence: From Nutrients and Hormone Signals. Frontiers in Nutrition 8:703293. Frontiers Media SA. Available from /pmc/articles/PMC8455932/ (accessed February 27, 2024).

Mathre DE. 1997. Compendium of Barley Diseases: Second Edition. American Phytopathological Society, Bozeman.

Matušinsky P, Mařík P, Leišová – Svobodová L, Minaříková V, Stemberková L, Hanusová M, Tvarůžek L. 2011. Metodika determinace endofytické tmavohnědé skvrnitosti ječmene a ochrany proti této chorobě. Kroměříž.

Matzen N, Heick TM, Jørgensen LN. 2019. Control of powdery mildew (*Blumeria graminis* spp.) in cereals by Serenade®ASO (*Bacillus amyloliquefaciens* (former subtilis) strain *QST 713*). Biological Control 139:104067. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964419302932.

Maywald NJ, Francioli D, Mang M, Ludewig U. 2023. Role of Mineral Nitrogen Nutrition in Fungal Plant Diseases of Cereal Crops. Critical Reviews in Plant Sciences 42:93–123. Taylor & Francis. Available from https://doi.org/10.1080/07352689.2023.2196100.

Miessner S, Stammler G. 2010. *Monilinia laxa*, *M. fructigena* and *M. fructicola*: Risk estimation of resistance to QoI fungicides and identification of species with cytochrome b gene sequences. Journal of Plant Diseases and Protection 117:162–167. Available from https://doi.org/10.1007/BF03356354.

Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin. 2024a. Vyhledávání v registru přípravků – Revystar XL. Available from https://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Detail.aspx?id=1039684&stamp=638453503388987770 (accessed November 1, 2023).

Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin. 2024b. Vyhledávání v registru přípravků – fluxapyroxad. Available from https://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx (accessed November 1, 2023).

Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin. 2024c. Vyhledávání v registru přípravků – Systiva. Available from https://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Detail.aspx?id=37904&stamp=638324551914254574 (accessed November 1, 2023).

Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin. 2024d. Vyhledávání v registru přípravků – Amistar. Available from https://eagri.cz/public/app/eagriapp/por/Detail.aspx?id=38386&stamp=638325474800404261 (accessed November 1, 2023).

Ministerstvo zemědělství – Registr přípravků na ochranu rostlin. 2024e. Vyhledávání v registru přípravků – Questar. Available from https://eagri.cz/public/app/eagriapp/por/Detail.aspx?id=1039377&stamp=638356486042144184 (accessed November 15, 2023).

National Center for Biotechnology Information. 2024a. Taxonomy browser (*Monographella nivalis*). Available from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=101483&lvl=3&p=has_linkout&p=blast_url&p=genome_blast&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock (accessed March 2, 2024).

National Center for Biotechnology Information. 2024b. Taxonomy browser (*Oculimacula yallundae*). Available from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi (accessed March 4, 2024).

National Center for Biotechnology Information. 2024c. Taxonomy browser (*Zymoseptoria tritici*). Available from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=1047171&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock (accessed March 5, 2024).

National Center for Biotechnology Information. 2024d. Taxonomy browser (*Ramularia collo-cygni*). Available from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=112498&lvl=3&p=has_linkout&p=blast_url&p=genome_blast&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock (accessed March 5, 2024).

National Center for Biotechnology Information. 2024e. Fluxapyroxad | PubChem. Available from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fluxapyroxad#section=3D-Conformer (accessed March 6, 2024).

National Center for Biotechnology Information. 2024f. Azoxystrobin | PubChem. Available from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Azoxystrobin#section=3D-Conformer (accessed March 7, 2024).

National Center for Biotechnology Information. 2024g. Fenpicoxamid | PubChem. Available from

https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fenpicoxamid#section=Structures (accessed March 7, 2024).

National Center for Biotechnology Information. 2024h. Prothioconazole | PubChem. Available from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Prothioconazole#section=3D-Conformer (accessed March 7, 2024).

National Center for Biotechnology Information. 2024i. Mefentrifluconazole | PubChem. Available from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mefentrifluconazole#section=3D-Conformer (accessed March 7, 2024).

Orton ES, Deller S, Brown JKM. 2011. *Mycosphaerella graminicola*: from genomics to disease control. Molecular Plant Pathology 12:413. Wiley-Blackwell. Available from /pmc/articles/PMC6640266/ (accessed March 5, 2024).

Palicová J, Matušinsky P. 2019. Reaction of Eyespot Causal Agents to some Active Ingredients of Fungicides In Vitro. Cereal Research Communications 47:88–97. Available from https://doi.org/10.1556/0806.46.2018.059.

Palicová J, Matušinský P, Dumalasová V, Hanzalová A, Bížová I. 2018. Resistance of Winter Wheat Cultivars to Eyespot and Characterisation of Causal Agents of the Disease. Plant Protection Science 54.

Palicová J, Matušinsky P, Dumalasová V, Hanzalová A, Svačinová I, Chrpová J. 2020. Metodika využití Real-time PCR pro testování rezistence pšenice k původcům stéblolamu. Praha 6 – Ruzyně.

Palma-Guerrero J, Chancellor T, Spong J, Canning G, Hammond J, McMillan VE, Hammond-Kosack KE. 2021. Take-All Disease: New Insights into an Important Wheat Root Pathogen. Trends in Plant Science 26:836–848. Elsevier Current Trends.

Pang X, Li J, Xu P, Yang W, Huang L, Zhang S, Yu Z, Ye Q. 2023. Environmental fate and metabolism of the systemic triazolinthione fungicide prothioconazole in different aerobic soils. Journal of Hazardous Materials 445:130583. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389422023779.

Parker J. 2001. Gene Expression. Pages 780–782 in Brenner S, Miller JH, editors. Encyclopedia of Genetics. Academic Press, New York. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0122270800005061.

Parlevliet JE. 2002. Durability of resistance against fungal, bacterial and viral pathogens; present situation. Euphytica 124:147–156.

Pilet-Nayel ML, Moury B, Caffier V, Montarry J, Kerlan MC, Fournet S, Durel CE, Delourme R. 2017. Quantitative resistance to plant pathogens in pyramiding strategies for durable crop protection. Frontiers in Plant Science 8:295209. Frontiers Media S.A.

Psota V, Kopta T. 2010. Draví roztoči. Brno.

Rana KL, Kour D, Yadav N, Yadav AN. 2020. Endophytic microbes in nanotechnology: Current development, and potential biotechnology applications. Microbial Endophytes: Prospects for Sustainable Agriculture:231–262. Woodhead Publishing.

Ray DK, Ramankutty N, Mueller ND, West PC, Foley JA. 2012. Recent patterns of crop yield growth and stagnation. Nature Communications 3:1293. Available from https://doi.org/10.1038/ncomms2296.

Różewicz M, Wyzińska M, Grabiński J. 2021. The Most Important Fungal Diseases of Cereals—Problems and Possible Solutions. Agronomy 2021, Vol. 11, Page 714 11:714. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from https://www.mdpi.com/2073-4395/11/4/714/htm (accessed February 28, 2024).

Shahbandeh. 2024, January. Production of wheat worldwide 2023/24 | Statista. Available from https://www.statista.com/statistics/267268/production-of-wheat-worldwide-since-1990/ (accessed February 27, 2024).

Shima Y, Ito Y, Kaneko S, Hatabayashi H, Watanabe Y, Adachi Y, Yabe K. 2009. Identification of three mutant loci conferring carboxin-resistance and development of a novel transformation system in *Aspergillus oryzae*. Fungal Genetics and Biology 46:67–76. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1087184508002119.

Sierotzki H. 2022, September. FRAC | Recommendations for QoI fungicides. Available from https://www.frac.info/frac-teams/working-groups/qol-fungicides/recommendations-for-qoi (accessed November 1, 2023).

Sierotzki H. 2023. FRAC | Introduction and General Information to Qo inhibitor fungicides (QoI). Available from https://www.frac.info/frac-teams/working-groups/qol-fungicides/information (accessed November 1, 2023).

Sierotzki H et al. 2023. Protocol of the discussions and use recommendations of the QoI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). Available from www.frac.info.

Sierotzki H, Scalliet G. 2013. A Review of Current Knowledge of Resistance Aspects for the Next-Generation Succinate Dehydrogenase Inhibitor Fungicides. Phytopathology 103:880–887. Available from https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-13-0009-RVW.

Sierotzki H, Wullschleger J, Gisi U. 2000. Point Mutation in Cytochrome b Gene Conferring Resistance to Strobilurin Fungicides in *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* Field Isolates. Pesticide Biochemistry and Physiology 68:107–112.

Singh J, Chhabra B, Raza A, Yang SH, Sandhu KS. 2023. Important wheat diseases in the US and their management in the 21st century. Frontiers in Plant Science 13:1010191. Frontiers Media S.A. Available from https://quickstats.nass.usda.gov/results/9A1899AA-E4AB-3E6F-B578-CD70E8143352. (accessed February 27, 2024).

Šíp V, Chrpová J, Palicová J, Hanzalová A, Čejka L. 2014. Metodika testování rezistence pšenice k původcům hnědých listových skvrnitostí v polních podmínkách – metodika pro praxi. Praha 6 – Ruzyně.

Skinner W, Bailey A, Renwick A, Keon J, Gurr S, Hargreaves J. 1998. A single amino-acid substitution in the iron-sulphur protein subunit of succinate dehydrogenase determines resistance to carboxin in *Mycosphaerella graminicola*. Current Genetics 34:393–398. Available from https://doi.org/10.1007/s002940050412.

Song J, Wang Z, Zhang S, Wang Y, Liang Y, Dai Q, Huo Z, Xu K. 2022. The Toxicity of Salicylhydroxamic Acid and Its Effect on the Sensitivity of *Ustilaginoidea virens* to Azoxystrobin and Pyraclostrobin. Journal of Fungi 8:1231.

Stammler G. 2008. Mode of action, biological performance and latest monitoring results of boscalid sensitvity. Page Abstracts of the 18th Symposium of Research Committee on Fungicide Resistance.

Statista Research Department. 2023, August 22. Fungicides global sales volume 2023-2027 | Statista. Available from https://www-statista-com.infozdroje.czu.cz/statistics/1406502/global-sales-volume-of-fungicides/ (accessed March 6, 2024).

Temirbekova SK et al. 2022. Evaluation of Wheat Resistance to Snow Mold Caused by *Microdochium nivale* (Fr) Samuels and I.C. Hallett under Abiotic Stress Influence in the Central Non-Black Earth Region of Russia. Plants 2022, Vol. 11, Page 699 11:699. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from https://www.mdpi.com/2223-7747/11/5/699/htm (accessed April 7, 2024).

Tudzynski P, Scheffer J. 2004. *Claviceps purpurea*: Molecular aspects of a unique pathogenic lifestyle. Molecular Plant Pathology 5:377–388.

Tvarůžek L, Svačinová I, Blažková K, Matušinsky P, Hambálková M. 2021. Hodnocení úrovně rezistence *Zymoseptoria tritici* a *Ramularia collo-cygni* k strobilurinům, azolům, SDHI a picolinamidovým fungicidům na území ČR. Obilnářské listy XXIX:66–69.

ÚKZUZ – komise pro seznam doporučených odrůd ječmene. 2024. Seznam doporučených odrůd pro rok 2024 pro ječmen jarní. Available from www.ukzuz.cz (accessed March 6, 2024).

ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál. 2024a. Sněžná plísňovitost obilnin. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%221d717fd390a3896993e5fa66fb1bf239%22#rlp|so|choroby|detail:1d717fd390a3896993e5fa66fb1bf239|popis (accessed March 2, 2024).

ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál. 2024b. Stéblolam obilnin. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c8df7ef%22#rlp|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c8df7ef|popis (accessed March 4, 2024).

ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál. 2024c. Septoriová skvrnitost pšenice. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0ca9b374%22#rlp|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0ca9b374|popis (accessed March 5, 2024).

ÚKZUZ – Rostlinolékařský portál. 2024d. Tmavohnědá skvrnitost ječmene. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%221d717fd390a3896993e5fa66fb291cd9%22#rlp|so|choroby|detail:1d717fd390a3896993e5fa66fb291b81|popis (accessed March 5, 2024).

U.S. Environmental Protection Agency. 1997. Pesticides Fact Sheet for Azoxystrobin.

U.S. Environmental Protection Agency. 2007. Pesticides Fact Sheet for Prothioconazole.

U.S. Environmental Protection Agency. 2012. Pesticide Fact Sheet for Fluxapyroxad.

Váňová L. 2023. Další informace o použití – Questar (5701-0) DOW. Brno.

Věchet L, Hanzalová J, Drabešová J, Palicová J, Hanzalová A, Martinek P. 2013. Uplatnění nových poznatků o braničnatce pšeničné (*Mycosphaerella graminicola*) ve šlechtění na rezistenci – metodika pro praxi. Praha 6 – Ruzyně.

Vielba-Fernández A, Polonio Á, Ruiz-Jiménez L, de Vicente A, Pérez-García A, Fernández-Ortuño D. 2021. Resistance to the SDHI Fungicides Boscalid and Fluopyram in *Podosphaera xanthii* Populations from Commercial Cucurbit Fields in Spain. Journal of Fungi

2021, Vol. 7, Page 733 7:733. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from https://www.mdpi.com/2309-608X/7/9/733/htm (accessed October 31, 2023).

Víglaš J, Olejníková P. 2021. An update on ABC transporters of filamentous fungi – from physiological substrates to xenobiotics. Microbiological Research 246:126684. Urban & Fischer.

Wang K, Miettinen I, Jaber EH, Asiegbu FO. 2023. Anatomical, chemical, molecular, and genetic basis for tree defenses. Forest Microbiology: Tree Diseases and Pests: Volume 3:33–57. Academic Press.

Wiese MV. 1987. Compendium of Wheat Diseases: Second Edition, 2nd edition. American Phytopathological Society.

Wilson AM, Wilken PM, van der Nest MA, Steenkamp ET, Wingfield MJ, Wingfield BD. 2015. Homothallism: an umbrella term for describing diverse sexual behaviours. IMA Fungus 6:207–214. Available from https://doi.org/10.5598/imafungus.2015.06.01.13.

World Agricultural Production. 2024a. World Wheat Production 2023/2024. Available from http://www.worldagriculturalproduction.com/crops/wheat.aspx (accessed February 27, 2024).

World Agricultural Production. 2024b. World Agricultural Production Information 2023/2024 | Barley, Corn, Palm Oil, Rapeseed, Rice, Sorghum, Soybean, Sunflower and Wheat. Available from http://www.worldagriculturalproduction.com/default.aspx (accessed February 28, 2024).

World Agricultural Production. 2024c. Barley Production by Country | World Agricultural Production 2023/2024. Available from http://www.worldagriculturalproduction.com/crops/barley.aspx (accessed February 28, 2024).

Yanicostas C, Soussi-yanicostas N. 2021. SDHI Fungicide Toxicity and Associated Adverse Outcome Pathways: What Can Zebrafish Tell Us? International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol. 22, Page 12362 22:12362. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from https://www.mdpi.com/1422-0067/22/22/12362/htm (accessed October 31, 2023).

Yin YN, Kim YK, Xiao CL. 2011. Molecular Characterization of Boscalid Resistance in Field Isolates of *Botrytis cinerea* from Apple. Phytopathology 101:986–995. Available from https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-11-0016.

Zafar MI, Belgers JDM, Van Wijngaarden RPA, Matser A, Van Den Brink PJ. 2012. Ecological impacts of time-variable exposure regimes to the fungicide azoxystrobin on freshwater communities in outdoor microcosms. Ecotoxicology 21:1024–1038. Springer. Available from https://link.springer.com/article/10.1007/s10646-012-0856-9 (accessed October 31, 2023).

Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž. 2021. Námel – problém minulosti i současnosti.

Zhang C, Zhou T, Xu Y, Du Z, Li B, Wang J, Wang J, Zhu L. 2020. Ecotoxicology of strobilurin fungicides. Science of The Total Environment 742:140611. Available from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720341334.

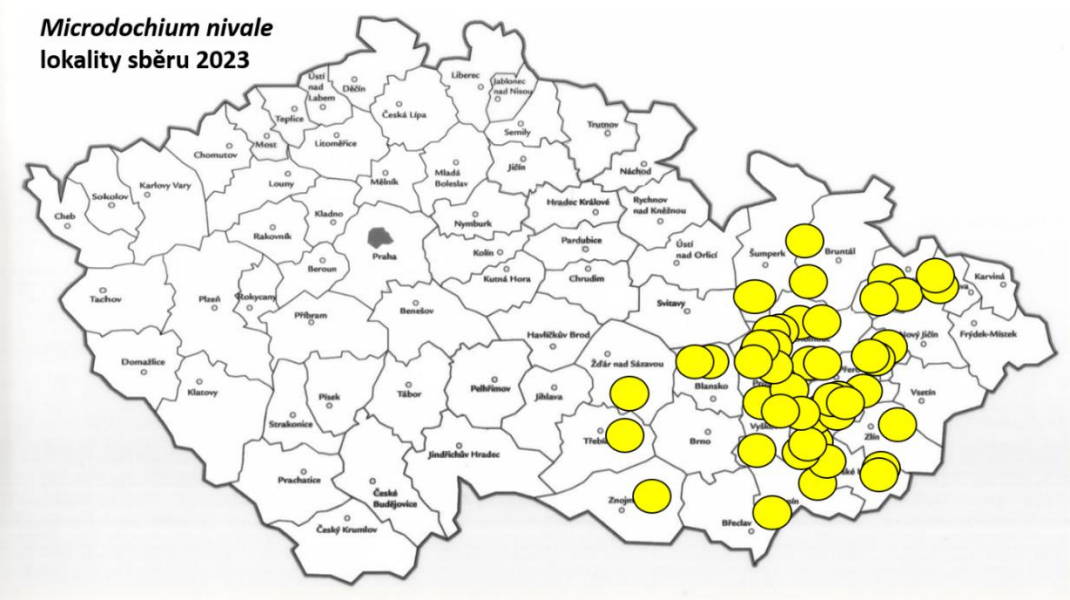
Zhao Y, Jiao F, Tang T, Wu S, Wang F, Zhao X. 2023. Adverse effects and potential mechanisms of fluxapyroxad in *Xenopus laevis* on carbohydrate and lipid metabolism. Environmental Pollution 332:121710. Elsevier.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

tj. – to jest
tzv – takzvaně
FRAC – Fungicide Resistance Action Committee
MOA – Mode Of Action, biochemický způsob účinku v biosyntetických drahách rostlinných patogenů
IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry, Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
pH – potential of hydrogen, vodíkový exponent
ABC – ATP-binding cassette superfamily
MFS – major facilitator superfamily
VUKROM – Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o.
BBCH – Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und CHemische Industrie
ppm – parts per million
cm – centimetr
mm – milimetr
µm – mikrometr
ml – mililitr
µl – mikrolitr
µg/ml – mikrogram na mililitr
°C – stupně celsia
Sb. – sborník
ÚKZUZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
s. r. o. – společnost s ručením omezeným
spp. – species, druhy
DMI – (DeMethylation Inhibitors) (SBI: třída I)
SBI – inhibitory stereolové biosyntézy
MOA – biochemický způsob účinku v biosyntetických drahách rostlinných patogenů
FRAC – skupiny fungicidů rozlišeny dle křížové rezistence.
SDHI – inhibitory sukcinát-dehydrogenázy
QoI – Quinone outside Inhibitors
QiI – Quinone inside Inhibitors
Mn nebo *M. nivalis* – *Monographella nivalis*
Oy nebo *O. yallundae* – *Oculimacula yallundae*
Zt nebo *Z. tritici* – *Zymoseptoria tritici*
Rcc nebo *R. collo-cygni* – *Ramularia collo-cygni*
EFSA – European Food Safety Authority
EC_{50} – (median effective concentration) efektivní koncentrace fungicidní látky inhibující růst mycelia z 50 %.
atd. – a tak dále
aj. – a jiné

10. Samostatné přílohy

PŘÍLOHA Č. I: MÍSTA SBĚRU IZOLÁTŮ *M. NIVALIS* A ZJIŠTĚNÝCH HODNOT EC_{50} ČTYŘ ÚČINNÝCH LÁTEK U JEDNOTLIVÝCH IZOLÁTŮ



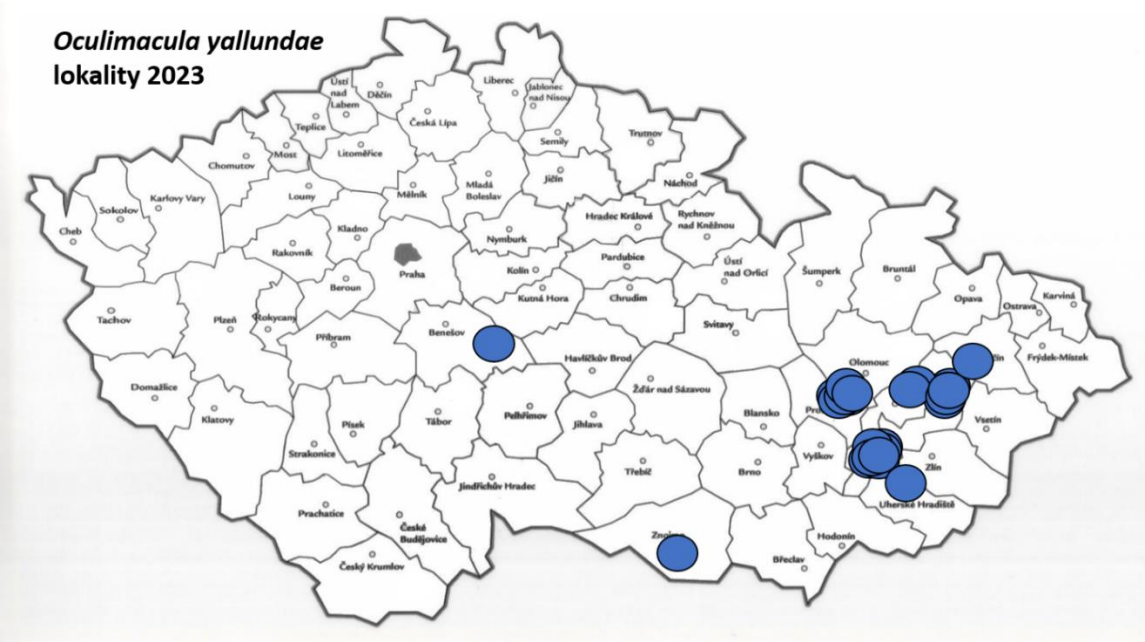
Jedná se o upravenou přehledovou tabulku hodnot EC_{50} z programu Biostat 6 pro jednotlivé izoláty druhu *M. nivalis*. V tabulce není zaznamenán přehled lokalit sběru vzorků, neboť část vzorků byla odebírána z polí soukromých zemědělců.

Izolát	Odrůda	EC_{50} (µg/ml)			
		azoxystrobin	prothiokonazol	fenpikoxamid	fluxapyroxad
23Mn2	Matchball	kontaminace	0,0612	0,0649	1,0034
23Mn7	Pallas	9,5883	0,0996	0,0736	0,6394
23Mn8	LG Mocca	10,9643	0,0906	0,0412	1,0721
23Mn19	Solehio	5,6919	0,0525	0,1475	0,6859
23Mn27	Solehio	12,3314	0,0437	0,0023	0,1287
23Mn30	LG Mocca	9,4996	0,0759	0,0995	0,5465
23Mn31	Brokat	4,1874	0,0198	0,0711	0,1602
23Mn32	Balitus	5,1083	0,0162	0,2715	0,1629
23Mn35	LG Mondial	17,6225	0,0224	0,0915	0,0669
23Mn40	LG Mocca	6,0838	0,0198	0,0937	0,1022
23Mn41	Matchball	3,2899	0,0462	0,0265	0,3661
23Mn43	Sakramento	6,8802	0,0338	0,1664	0,7760
23Mn56	Centurion	4,1133	0,0696	0,1082	0,3167
23Mn59	Hymalaya	5,7821	0,0613	0,0102	0,1977

23Mn60	LG Gita	7,1260	0,0385	0,0494	0,1259
23Mn61	Sofru	0,2116	0,0116	2,4082	0,1523
23Mn64	KWS Higgins	3,3533	0,0315	0,4425	0,7274
23Mn65	Sofru	8,4781	0,0212	0,0047	0,7732
23Mn66	Novira	0,1362	0,0115	2,1843	0,1361
23Mn69	Viriato	3,0515	0,0038	0,7611	0,1448
23Mn70	Fenomen	5,3060	0,0369	0,0602	0,5288
23Mn73	LG Mocca	7,0677	0,0172	0,0061	0,0452
23Mn76	LG Mocca	5,6313	0,0038	0,0412	0,1396
23Mn81	Julie	16,1665	0,0221	0,0901	0,1326
23Mn82	Julie	4,8121	0,0449	0,0046	0,5139
23Mn84	Julie	4,9352	0,0367	0,0394	0,5308
23Mn85	Solindo CS	4,0492	0,0416	0,0924	0,2510
23Mn88	Moschus	80,5158	0,0138	0,3253	0,1390
23Mn93	Julie	5,6514	0,0313	0,0876	0,1596
23Mn95	RGT Depot	18,1729	0,0290	0,0537	0,1221
23Mn97	Centurion	0,0290	0,0529	5,1740	0,1385
23Mn101	Fenomen	3,1776	0,0467	0,0110	0,1685
23Mn103	Keitum	12,4112	0,0547	0,1046	0,2065
23Mn106	KWS Higgins	3,5163	0,0377	0,0384	0,3755
23Mn108	Askaban	4,2527	0,0389	0,2278	0,2045
23Mn109	Johnson	5,8103	0,0616	0,0398	0,5061
23Mn110	Sofru	5,8719	0,0206	0,0046	0,1392
23Mn112	RGT Reform	3,6773	0,0492	0,0920	0,2137
23Mn114	KWS Kosmos	6,5976	0,1327	0,0026	0,4463
23Mn116	Genius	7,6189	0,0075	0,0431	0,1042
23Mn120	Viriato	4,8281	0,0265	0,0669	0,6619
23Mn121	Viriato	4,3999	0,0129	0,0450	0,1090
23Mn126	Julie	0,6065	0,0078	0,0033	0,0613
23Mn129	Ponticus	9,7409	0,0495	0,3334	0,6205
23Mn142	RGT Sacramento	15,1618	0,0189	0,0457	0,1596
23Mn159	Wintergold	6,0327	0,0463	0,0038	0,6584
23Mn160	RGT Reform	4,2950	0,0492	0,0573	0,5034
23Mn161	RGT Reform	5,9673	0,0766	0,0027	0,4065
23Mn162	Sambadur	3,8080	0,0488	0,0001	0,6832
23Mn163	RGT Reform	3,9630	0,0411	0,0813	0,6509
23Mn164	RGT Reform	10,8827	0,0580	0,0018	0,2915

23Mn165	Wintergold	11,9302	0,0531	0,0306	0,1271
23Mn166	RGT Venezio	5,6675	0,0335	0,0031	0,6155
23Mn168	RGT Reform	6,3197	0,0637	0,1917	0,7151
23Mn178	Registam	7,8474	0,0877	0,0061	0,3691
23Mn182		8,5316	0,0676	0,0064	0,1053
23Mn186	Elementary	5,2278	0,0627	0,0660	0,1603
23Mn192	Keitum	33,6518	0,0148	0,0402	0,1492
23Mn195	Fenomen	9,7475	0,0169	0,1124	0,5207

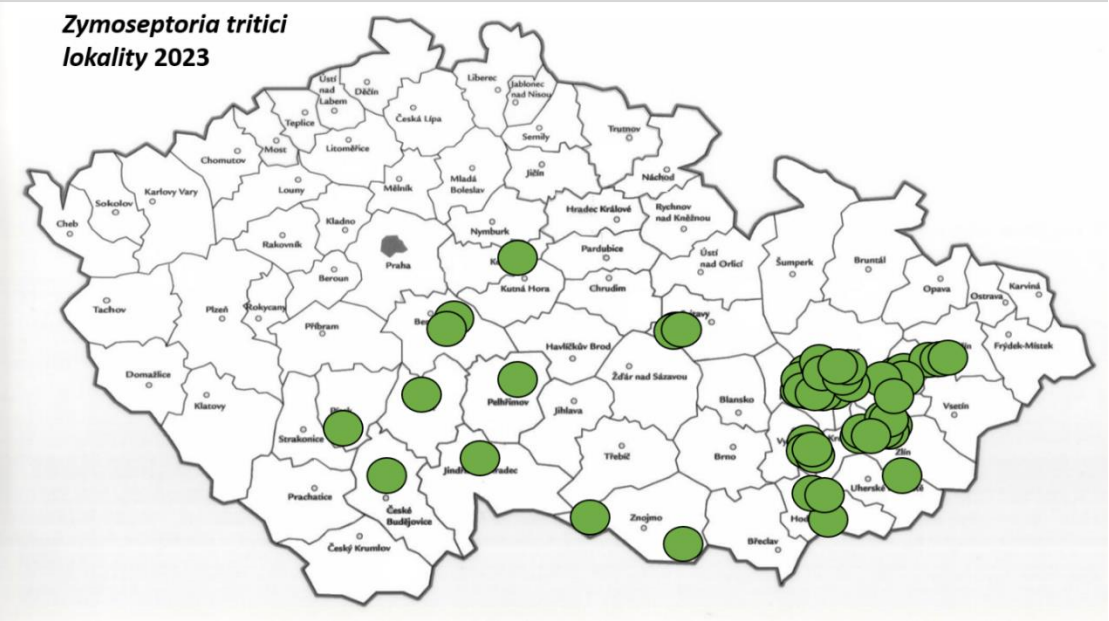
PŘÍLOHA Č. II: MÍSTA SBĚRU IZOLÁTŮ *O. YALLUNDAE* A ZJIŠTĚNÝCH HODNOT EC_{50} DVOU ÚČINNÝCH LÁTEK U JEDNOTLIVÝCH IZOLÁTŮ



Jedná se o upravenou přehledovou tabulku hodnot EC_{50} z programu Biostat 6 pro jednotlivé izoláty druhu *O. yallundae*. V tabulce není zaznamenán přehled lokalit sběru vzorků, neboť část vzorků byla odebírána z polí soukromých zemědělců.

Izolát	Odrůda	EC_{50} (µg/ml)	
		prothiokonazol	fluxapyroxad
23Oy10	Patras	0,2839	0,0854
23Oy15	Patras	0,2438	0,0650
23Oy15/1	Patras	0,3183	0,0658
23Oy16	Patras	0,2396	0,1296
23Oy21	Solehio	0,1820	0,1301
23Oy30	LG Mocca	0,0844	0,0993
23Oy30/1	LG Mocca	0,1564	0,0691
23Oy31	Brokat	0,2350	0,0858
23Oy34	Megan	0,2066	0,0591
23Oy34/1	Megan	0,2823	0,0883
23Oy41	Matchball	0,1079	0,1135
23Oy41/1	Matchball	0,2723	0,1165
23Oy83		0,2030	0,0737
23Oy90	Keramik	0,1346	0,0739
23Oy91	Eternity	0,1895	0,0540
23Oy96	Fenomen	0,1508	0,0469
23Oy97	Centurion	0,1589	0,0386
23Oy97/1	Centurion	0,1450	0,0499
23Oy112	RGT Reform	0,1720	0,0877
23Oy116	Genius	0,1764	0,0725
23Oy118	LG Absolon	0,2439	0,0597
23Oy121	Viriato	0,1688	0,0859
23Oy123		0,1910	0,0802
23Oy138	LG Zoro	0,2725	0,0771

PŘÍLOHA Č. III.: MÍSTA SBĚRU IZOLÁTŮ *Z. TRITICI* A ZJIŠTĚNÝCH HODNOT EC_{50} PĚTI ÚČINNÝCH LÁTEK U JEDNOTLIVÝCH IZOLÁTŮ



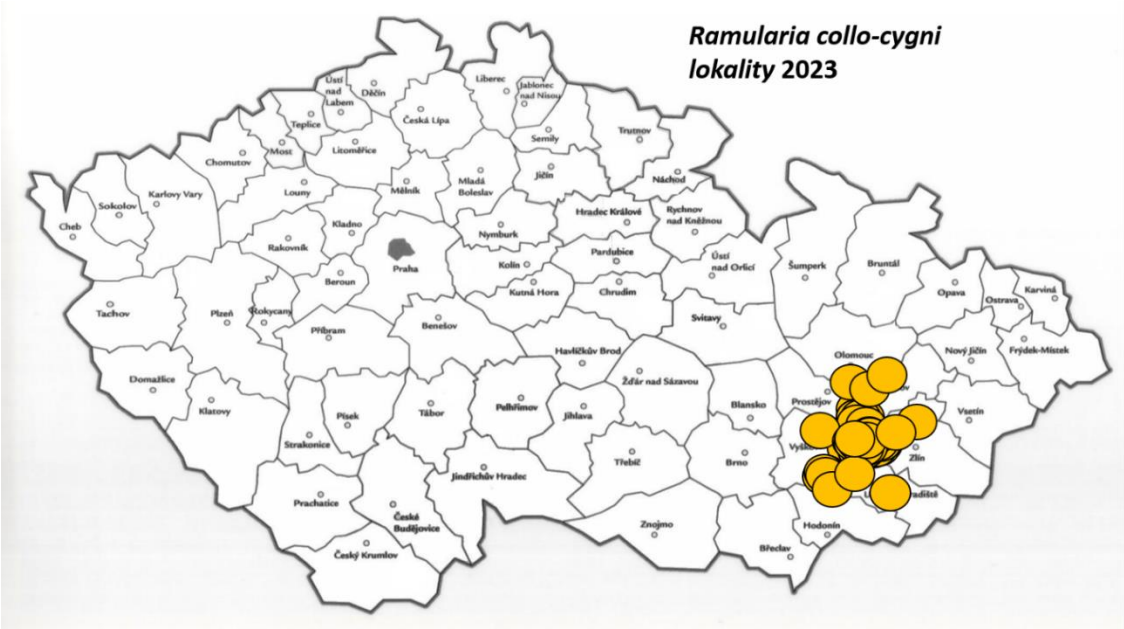
Jedná se o upravenou přehledovou tabulku hodnot EC_{50} z programu Biostat 6 pro jednotlivé izoláty druhu *Z. tritici*. V tabulce není zaznamenán přehled lokalit sběru vzorků, neboť část vzorků byla odebírána z polí soukromých zemědělců. Pojem Kluky značí název obce, z které byla část vzorků odebrána.

Izolát	Odrůda	EC_{50} (µg/ml)				
		azoxystrobin	prothiokonazol	fenpikoxamid	fluxapyroxad	mefentriflukonazol
23St4	Sofru	29,0278	0,7078	0,0351	0,0710	0,5878
23St5	Ponticus	24,9861	7,9610	0,1258	0,1282	2,0021
23St6	Matchball	kontaminace	kontaminace	0,0420	0,0303	kontaminace
23St7	Pallas	kontaminace	kontaminace	0,1408	0,2003	kontaminace
23St8	LG Mocca	kontaminace	0,1014	0,0155	0,1758	kontaminace
23St13	Patras	47,3650	0,1460	0,0730	0,1228	0,4721
23St23	Solehio	kontaminace	kontaminace	0,1371	0,4031	0,2679
23St32	Balitus	kontaminace	1,5234	0,1161	0,3099	0,6225
23St41	Matchball	4,6051	0,5082	0,0316	0,2852	0,4038
23St42	Matchball	58,1269	kontaminace	0,1110	0,3200	kontaminace
23St43	Sakramento	21,2396	0,1611	0,0738	0,1051	0,2331
23St45	Proteus	185,1207	0,6628	0,0847	0,3182	0,6589
23St46	LG Dita	4,2330	0,7747	0,0547	0,1612	0,6539
23St47	Kalbex	1040,2634	0,3887	0,0955	0,6834	0,4708
23St48	LG Mocca	11,6769	0,1287	0,1433	0,2836	1,2765
23St49	Eternity	6,7488	0,1826	0,0476	0,0507	0,4979
23St50	Elementary	20,9764	0,0780	0,0615	0,0936	0,5002
23St51	Fakir	13,2360	0,1767	0,0749	0,6991	0,1381
23St52	Silverstone	48,0718	156,9448	0,1577	0,2427	0,7071

23St56	Centurion	497,6002	11,7005	0,1060	0,3888	0,5569
23St57	RGT Reform	93,8435	1,6455	0,0538	0,1711	0,4148
23St60	LG Gita	5,7325	0,0880	0,0800	0,1507	0,3143
23St61	Sofru	11,605.5557	0,1550	0,0745	0,1028	0,4138
23St62	LG Absolon	0,2232	0,8896	0,1438	0,1606	0,0814
23St65	Sofru	0,2219	7,4938	0,1588	0,1331	0,1121
23St74	Ponticus	22,7793	0,4427	0,0800	0,7534	0,3184
23St76	LG Mocca	51,3474	0,2748	0,0966	0,1883	0,5244
23St78	Fenomen	40,2398	0,3755	0,0569	0,1724	0,1319
23St79	Keramik	156,3885	0,1013	0,0758	0,1100	0,3665
23St80	Asory	643,3133	0,3896	0,0711	0,3622	0,4465
23St82	Suttaroca	650,3756	0,0752	0,0486	0,2071	0,4120
23St84	Julie	220,1372	0,4056	0,1039	0,2337	0,4251
23St90	Keramik	131,3970	0,5033	0,0730	0,3168	0,5722
23St91	Eternity	233,2415	0,9863	0,0352	0,2121	0,2557
23St93	Julie	1001,8032	0,0759	0,0410	0,1518	0,3347
23St94	RGT Depot	1,1590	0,0167	0,0095	0,0806	0,1309
23St96	Fenomen	1,9811	2,8283	0,1015	0,1385	0,4461
23St97	Centurion	1133,7602	0,2433	0,0325	0,1265	0,2938
23St101	Fenomen	3,8819	0,6393	0,0353	0,4385	0,1427
23St104	Donovan	238,2706	0,2358	0,0864	0,0873	0,6373
23St105	KWS Ariane	8,5917	4,1155	0,0812	0,2857	0,7381
23St108	Askaban	0,1667	12,7920	0,1059	0,1388	0,0592
23St110	Sofru	0,1286	1,0353	0,1155	0,0345	0,4509
23St116	Genius	10,1196	1,0931	0,0806	0,1821	0,6311
23St119	RGT Depot	125,7234	0,3550	0,0260	0,1258	0,3887
23St121	Viriato	4,9492	6,0140	0,1610	0,2657	1,0891
23St122	Ponticus	213,9931	1,5404	0,3559	0,4096	2,5190
23St123		215,0541	1,1710	0,0604	0,1988	1,6316
23St126	Julie	371,5508	3,1865	0,1424	0,7079	0,5110
23St127	Safari	2,8242	0,3488	0,0331	0,1992	0,2046
23St128	Adina	5,4469	1,1236	0,0266	0,5903	0,3321
23St130	Tonnage	7,0320	kontaminace	0,0519	0,1489	0,4186
23St132	Dagmar	6,8078	0,8440	0,0290	0,3128	0,3966
23St133	Ponticus	11,0316	1,2307	0,1361	0,1427	0,4603
23St134	RGT Reform	8,7496	0,6470	0,1383	0,0829	0,5125
23St136	RGT Revolver	19,6690	1,3756	0,0413	0,0601	0,1642
23St143	LG Mondial	17,4519	0,9767	0,0505	0,1400	0,1860
23St146	Agilis	7,2383	0,5498	0,0527	0,3187	0,5307
23St150	Sofru	12,6857	2,2051	0,0549	0,4522	0,5352
23St175	Sacramento	7,2592	0,9845	0,0228	0,7812	0,4479
23St177	Sacramento	31,2540	1,0035	0,0238	0,1725	0,3994
23St178	Registam	3,2834	0,1740	0,0584	0,2664	0,2820
23St185	Elementary	0,2174	0,1234	0,0539	kontaminace	0,2876
23St186	Elementary	5,2115	0,0738	0,0488	0,1264	0,5020
23St188	Fenomen	47,5216	0,4882	0,0595	0,2267	0,1030

23St194	Donovan	33,9133	0,6226	0,0489	0,1287	0,2783
KLUKY						
23St1		0,4816	2,6435	0,0760	0,4385	1,0009
23St2		19,7388	0,3386	0,0209	0,2365	0,9699
23St3		kontaminace	kontaminace	0,0897	0,0853	kontaminace
23St4		0,3045	0,7557	0,0601	0,6330	0,7010
23St5		kontaminace	7,9610	0,0469	0,0936	0,6436
23St6		20,2596	4,0869	0,0176	0,5469	2,5100
23St7		0,4032	0,8389	0,0564	0,1568	0,2215
23St8		0,0915	0,0816	0,0307	0,1100	0,4681
23St9		27,6829	1,5726	0,0455	0,1276	0,2974
23St10		118,0764	13,0009	0,0737	0,1243	0,3093

PŘÍLOHA Č. IV. MÍSTA SBĚRU IZOLÁTŮ *R. COLLO-CYGNI* A ZJIŠTĚNÝCH HODNOT EC_{50} PĚTI ÚČINNÝCH LÁTEK U JEDNOTLIVÝCH IZOLÁTŮ



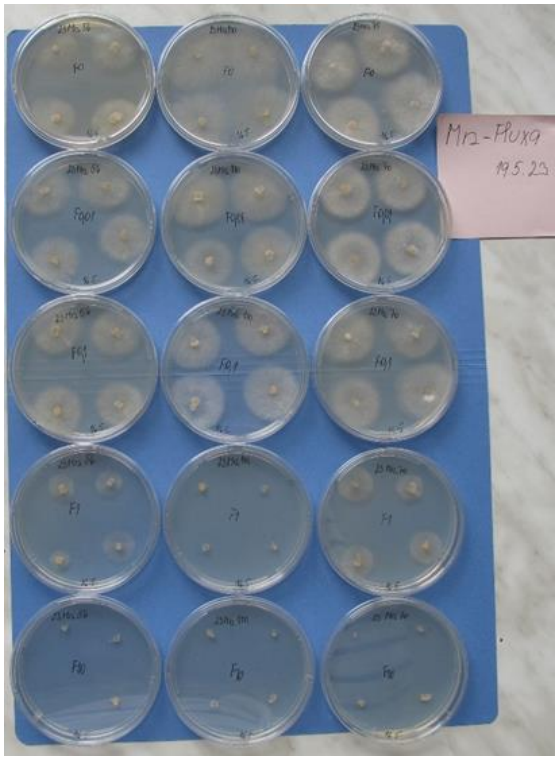
Jedná se o upravenou přehledovou tabulku hodnot EC_{50} z programu Biostat 6 pro jednotlivé izoláty druhu *R. collo-cygni*. V tabulce není zaznamenán přehled lokalit sběru vzorků, neboť část vzorků byla odebírána z polí soukromých zemědělců.

Izolát	EC_{50} (µg/ml)				
	fluxapyroxad	**prothiokonazol**	**fenpikoxamid**	**azoxystrobin**	**mefentriflukonazol**
CZRCC 1/1/1	3,0128	9,1366	0,1250	4,0009	0,7161
CZRCC 1/1/2	25,3725	5,6751	0,3690	79,6003	2,8220
CZRCC1/2/1	3,4305	17,4218	0,9322	142,4738	2,2516
CZRCC1/2/2	3,9934	5,6708	0,7434	576,0915	10,4928
CZRCC1/3/1	0,2447	12,9594	0,5410	1262,6258	5,0097
CZRCC2/1/1	2,6472	3,3710	0,6046	87,9027	1,6132
CZRCC2/2/1	5,8471	16,1548	0,2979	25,2150	18,0021
CZRCC2/3/1	1,1614	4,8017	0,2986	83,0507	3,2269
CZRCC2/4/1	4,9197	17,5682	1,3934	2769,1908	3,2836
CZRCC2/4/2	15,0513	25,3355	0,2902	196,8793	1,3509
CZRCC2/5/1	3,9027	14,4269	0,7220	1188,4110	1,7691
CZRCC2/5/2	48,4065	9,9780	0,5428	94,2395	2,5613
CZRCC2/5/3	1,4618	20,0481	0,1388	5,1222	1,7122
CZRCC3/1/2	14,4720	7,9133	0,2005	154,4601	5,3137
CZRCC4/1/1	3,7467	5,5691	0,5786	26,0432	11,7003
CZRCC4/1/2	4,1923	42,5939	0,4246	2101,1111	1,5269
CZRCC4/2/1	5,2127	18,4887	0,7432	384,4316	2,4159
CZRCC4/2/2	4,7137	18,4887	0,7457	3059,6785	1,8917
CZRCC4/2/3	3,6197	10,5543	0,7233	134039,4691	5,3136

CZRCC4/2/4	3,9568	27,8516	0,8549	14404,3790	6,1124
CZRCC4/2/5	4,8851	20,2292	1,0522	2561,6813	8,1058
CZRCC5/1/1	3,4825	22,4938	0,8136	2697,2796	3,1869
CZRCC7/1/1	16,6813	19,6150	7,1287	2457,2628	18,4115
CZRCC7/1/2	2,0414	9,5192	0,8377	304,7980	1,8555
CZRCC7/2/1	3,9113	7,6641	0,4316	154,6732	5,3287
CZRCC7/2/2	4,0103	10,5461	2,0482	134,8558	5,7916
CZRCC7/2/3	3,9114	34,5669	1,3101	519,1155	4,3196
CZRCC7/2/4	3,5598	10,6174	0,4924	3569,1379	1,2372
CZRCC11/1/1	5,0501	55,2964	0,3474	17,6259	3,2439
CZRCC11/1/2	4,1526	3,6376	0,4538	166,3951	1,5122
CZRCC11/1/3	4,1178	9,9482	0,6139	70,0575	6,3755
CZRCC15/1/1	4,5343	19,4612	0,6804	107,6631	8,2844
CZRCC15/1/2	4,8784	11,6279	1,4015	305,2800	6,0276
CZRCC15/1/3	3,7425	18,9597	0,9138	509,9207	7,3493
CZRCC16/1/1	2,9602	14,1715	0,5221	3602,7552	2,0164
CZRCC16/1/2	4,3559	12,0562	0,8825	827,5119	1,9264
CZRCC16/1/3	4,8828	7,0664	0,6778	1629,6249	5,6755
CZRCC16/1/4	2,3322	7,6978	1,2191	127,4441	5,6061
CZRCC18/1/1	2,4870	6,1858	1,5573	89,0625	3,1769
CZRCC18/1/2	2,0865	3,7878	0,7268	48,3434	1,2493
CZRCC18/1/3	2,7667	8,6914	0,7148	80,1383	11,5642
CZRCC18/1/4	1,3867	9,0453	,441.7489	65,4613	1,1122
CZRCC18/1/5	1,8027	16,0314	0,5511	67,5941	1,9921
CZRCC18/1/6	2,0921	3,6040	1,9102	144,2993	6,5578
CZRCC18/1/7	1,9152	4,2704	0,8023	49,0757	7,0791
CZRCC18/1/8	2,5156	5,2982	1,0106	70,8114	9,1204
CZRCC18/1/9	1,7988	4,2642	0,7007	163,4271	5,0083
CZRCC18/1/10	2,9308	5,6370	0,9254	82,4399	2,6415
CZRCC18/1/11	2,8858	3,3722	1,6005	118,3867	2,7131
CZRCC19/1/1	2,4727	15,6446	0,6472	106,2465	1,5978
CZRCC19/1/2	1,9071	3,5121	1,6308	172,7024	3,8402
CZRCC19/1/3	2,6044	17,2614	0,4051	231,9163	1,8108
CZRCC19/1/4	1,7689	26,8180	0,7954	649,5748	3,2695
CZRCC19/1/5	1,9436	6,7454	1,6108	63,3973	1,3805
CZRCC19/1/6	3,2025	14,5363	1,4367	88,8051	2,2919
CZRCC19/1/7	2,7703	8,9302	0,5144	1082,1449	1,0727
CZRCC19/1/8	2,7757	23,6825	1,0886	637,1223	4,5564
CZRCC19/3/1	0,2606	9,5161	1,5984	431,1681	10,3608
CZRCC19/4/1	4,8733	1,6987	0,2445	1400,9616	10,360.7988
CZRCC19/4/2	11,7814	1,2159	0,2838	468,8130	1,6739
CZRCC19/4/3	6,3507	2,1351	0,2479	326,8965	0,6027
CZRCC19/4/4	7,2418	2,0039	0,2466	117,1034	1,0505
CZRCC19/4/5	10,5119	1,4401	0,3535	96,6440	1,5210
CZRCC20/1/1	0,2472	12,7711	0,5738	2132,7077	5,6563
CZRCC20/1/2	0,1745	9,8397	0,6695	171,3810	5,8722

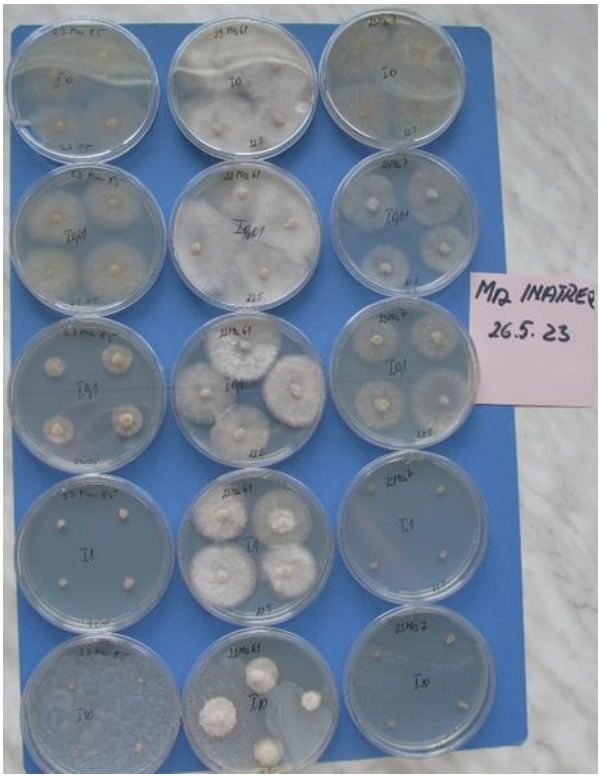
CZRCC20/1/3	0,2901	10,4872	0,5303	346,2903	6,1039
CZRCC20/1/4	0,2074	6,6212	0,7566	9880,9741	4,2564
CZRCC20/2/1	2,7904	7,6609	0,5519	178,2751	1,7774
CZRCC22/1/1	3,4613	12,2571	0,7137	100,2867	0,9966
CZRCC22/1/2	7,2118	3,2542	0,1522	98,2045	0,8850
CZRCC22/1/3	10,1109	4,3469	0,1544	58,7546	0,2901
CZRCC22/1/4	4,5913	9,3093	0,7733	169,8614	2,9003
CZRCC22/1/5	3,9560	5,2276	0,2734	121,8968	2,5433
CZRCC23/1/1	3,7420	8,9633	0,2108	193,8655	1,9367
CZRCC23/1/2	2,8931	13,1837	0,3742	196,4080	3,6789
CZRCC23/1/3	2,2386	8,5638	0,5325	682,7878	7,1198
CZRCC23/2/1	5,4528	9,7874	1,0612	3234,9751	5,3137

PŘÍLOHA Č. V: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE FLUXAPYROXAD U PATOGENU *M. NIVALIS*

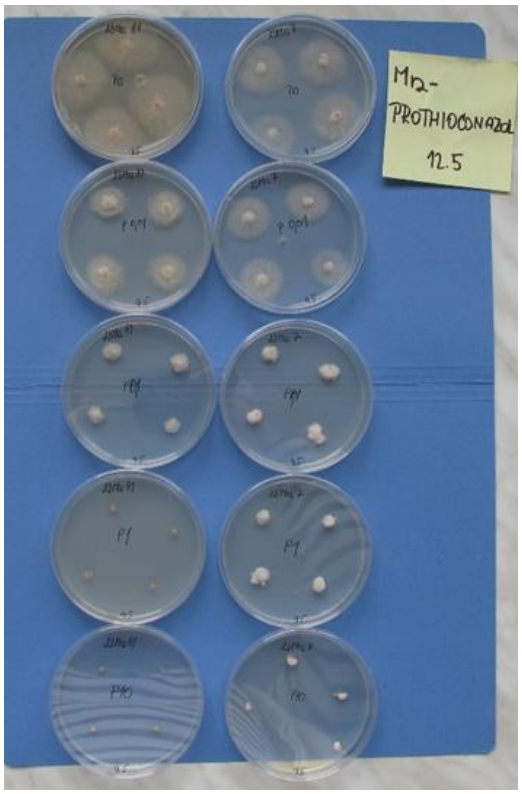


PŘÍLOHA Č. VI: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE AZOXYSTROBIN U PATOGENU *M. NIVALIS*

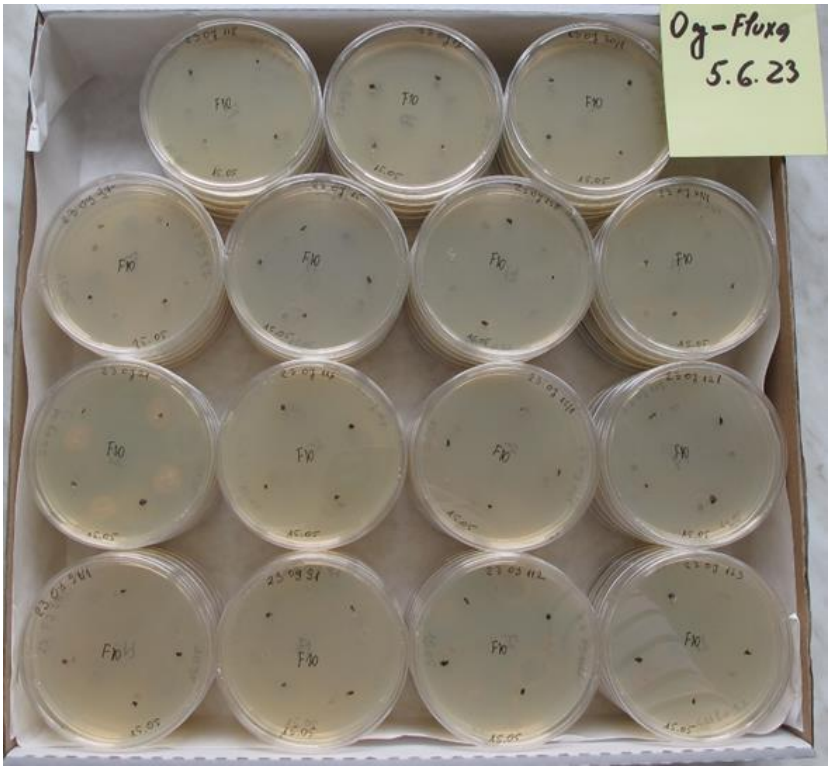
PŘÍLOHA Č. VII: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE FENPIKOXAMID U PATOGENU *M. NIVALIS*



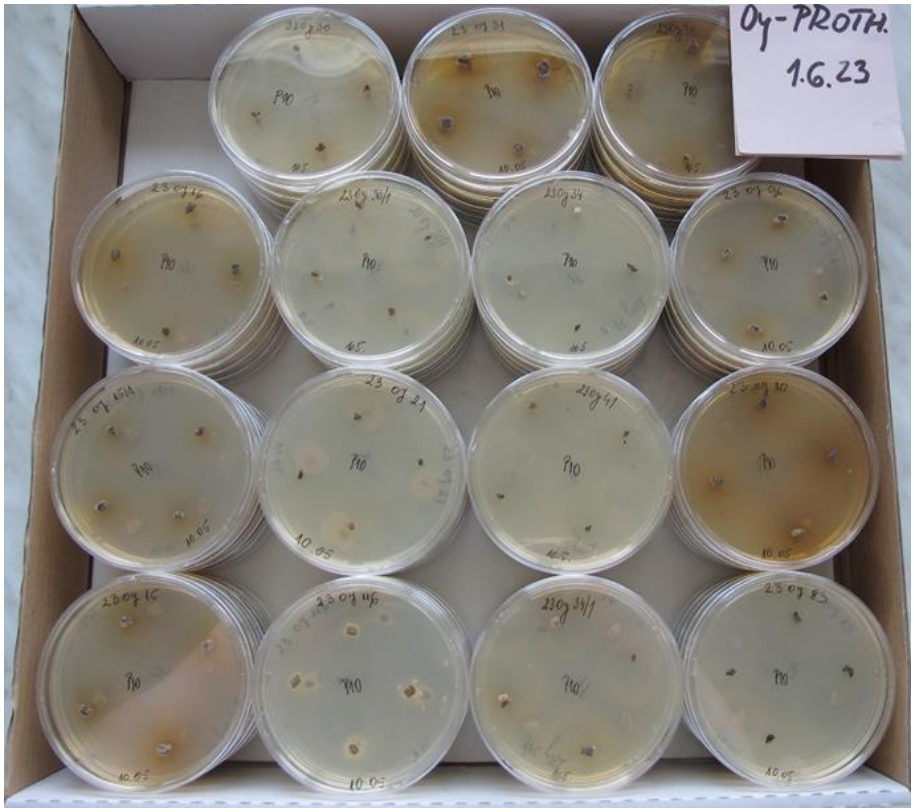
PŘÍLOHA Č. VIII: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE PROTHIOKONAZOL U PATOGENU *M. NIVALIS*



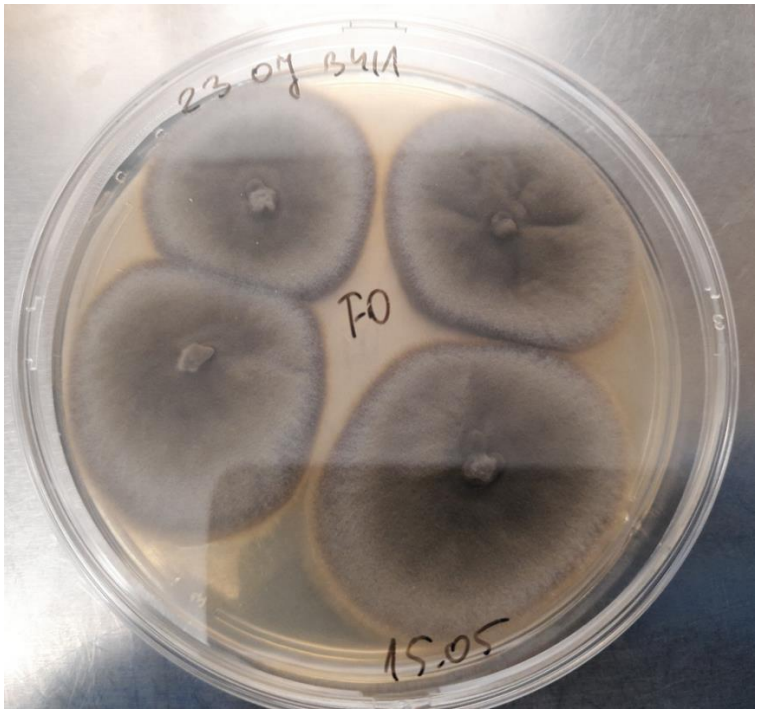
PŘÍLOHA Č. IX: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE FLUXAPYROXAD U PATOGENU *O. YALLUNDAE*



PŘÍLOHA Č. X: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE PROTHIOKONAZOL U PATOGENU *O. YALLUNDAE*

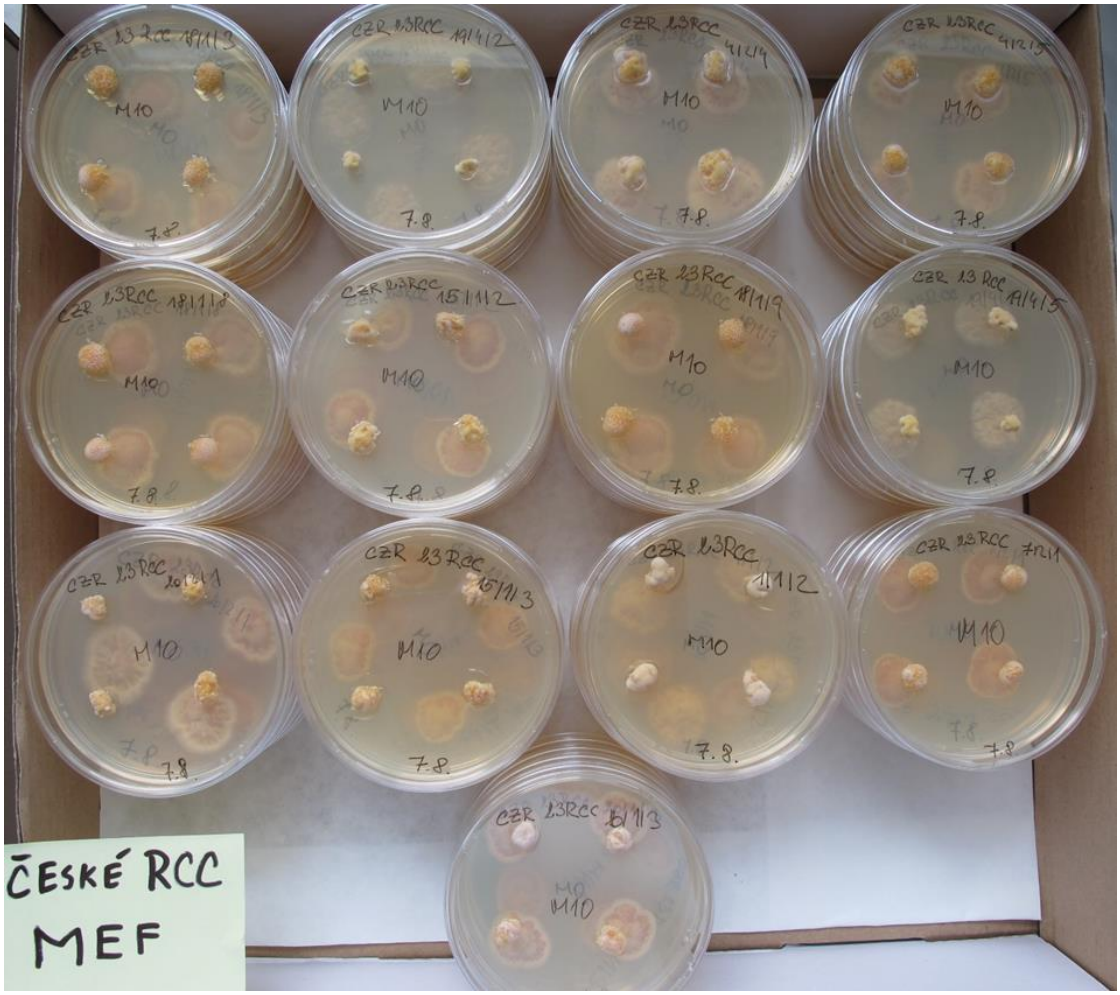


PŘÍLOHA Č. XI: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE FLUXAPYROXAD U PATOGENU *O. YALLLUNDAE*

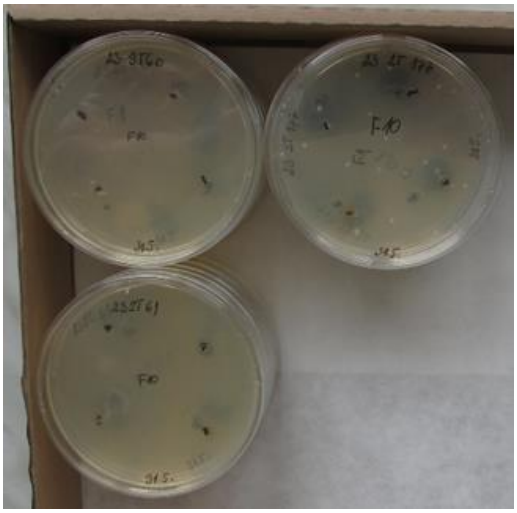


PŘÍLOHA Č. XII: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE FLUXAPYROXAD U PATOGENU *R. COLLO-CYGNI*

PŘÍLOHA Č. XIII: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE MEFENTRIFLUKONAZOL U PATOGENU *R. COLLO-CYGNI*



PŘÍLOHA Č. XIV: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE FLUXAPYROXAD U PATOGENU *Z. TRITICI*

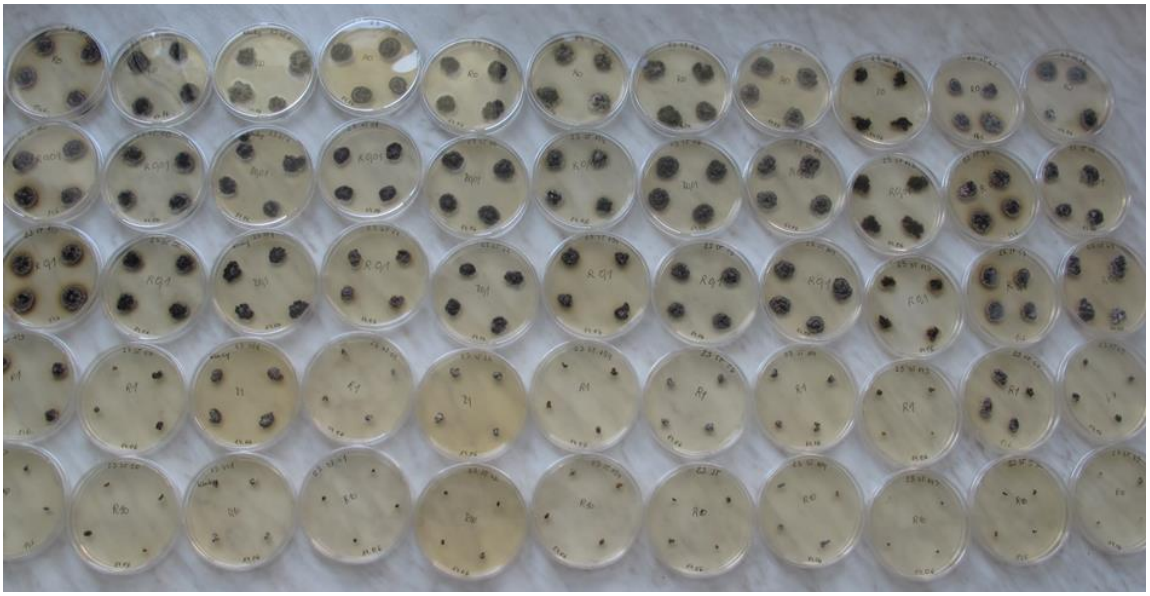


PŘÍLOHA Č. XV: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE AZOXYSTROBIN U PATOGENU *Z. TRITICI*

PŘÍLOHA Č. XVI: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE FENPIKOXAMID U PATOGENU *Z. TRITICI*

PŘÍLOHA Č. XVII: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE PROTHIOKONAZOL U PATOGENU *Z. TRITICI*

PŘÍLOHA Č. XVIII: TEST CITLIVOSTI/REZISTENCE K ÚČINNÉ LÁTCE MEFENTRIFLUKONAZOL U PATOGENU *Z. TRITICI*



PŘÍLOHA Č. XIX: PŮVODNÍ IZOLÁTY *Z. TRITICI*