

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Citlivost izolátů patogena *Phytophthora cactorum*
k vybraným fungicidním látkám**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Veronika Baudyšová

Obor studia: Rostlinolékařství

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

estné prohlá-ení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Citlivost izolát *Phytophthora cactorum* k vybraným 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 těchto osob.

V Praze dne 12. 4. 2019

Podkování

Ráda bych touto cestou podkovala vedoucí diplomové práce Ing. Jan Mazákové, Ph.D. za odborné vedení, vstřícný přístup, cenné rady, ochotu a trpělivost. Velice také děkuji Ing. Ivan Štífkové (VÚRV, v.v.i.) za poskytnutí izolát *P.cactorum* k experimentální části práce. Podkování patří i celé mé rodině, která mě po celý čas studia i při psaní diplomové práce podporovala.

Citlivost izolát *Phytophthora cactorum* k vybraným fungicidním látkám

Souhrn

Phytophthora cactorum je polyfágním patogenem způsobujícím onemocnění u více než 200 druhů rostlin. To může omezit produkci mnoha ekonomicky důležitých plodin, jako jsou jablona, hrušně, rododendrony, azalky a jahodníky. Cílem této diplomové práce bylo zjistit úroveň citlivosti jednotlivých izolátů *P. cactorum* k vybraným fungicidním látkám. Z 11 různých lokalit pěstování jahodníku byly získány vzorky rostlinných pletiv s příznaky způsobenými *P. cactorum*. Experimenty zkoumající citlivou/rezistentní reakci získaných izolátů byly prováděny na živném médiu a zahrnovaly kontrolní variantu (bez fungicidní látky) a varianty s postupně zvyšujícími se koncentracemi fungicidní látky. Testy byly provedeny ve třech opakováních.

U fungicidní látky metalaxyl-M pro 100% inhibici růstu patogena u většiny izolátů (95%) bylo zapotřebí vyšší koncentrace (> 10 g/ml) fungicidní látky. U dimethomorphu pro 100% inhibici růstu patogena u většiny izolátů bylo zapotřebí koncentrace v rozmezí 10-100 g/ml fungicidní látky. Pouze u jednoho izolátu byla minimální inhibiční koncentrace vyšší než 10 g/ml fungicidní látky. U fungicidních látek propamocarb, cymoxanil, azoxystrobin a fenamidone nebylo možné vypočítat hodnoty EC₅₀ pro jednotlivé izoláty *P. cactorum*, jelikož žádná z použitých koncentrací fungicidní látky neinhibovala u žádného izolátu růst patogena z 50%. Minimální inhibiční koncentrace nebylo možné také vzhledem k charakteru růstu mycelia izolátů stanovit, respektive hodnota MIC se nacházela vždy nad hodnotou nejvyšší použité koncentrace (10 g/ml). U izolátů 17_4_1a, 17_57_P2b, 17_12_5a a 17_99_1 byla stanovena minimální inhibiční koncentrace účinné látky fosetyl-Al v přípravku Alliete 80 WG v rozmezí 10-100 g/ml fungicidu. U izolátů 17_24_5b, 17_24_26, 17_12_12, 17_12_18b, 17_23_1b, 17_45_1b a 17_27_2 byla minimální inhibiční koncentrace této látky v rozmezí 10-100 g/ml fungicidu. U ostatních izolátů se minimální inhibiční koncentrace pohybovala jinde v rozmezí koncentrací 0,1-1 g/ml, to vypovídá o tom, že z použitých fungicidních látek tento přípravek nejvíce inhiboval růst mycelia izolátů.

Klíčová slova: *Phytophthora cactorum*, jahodník, fungicidy, citlivost

Sensitivity of *Phytophthora cactorum* isolates to some fungicide substances

Summary

Phytophthora cactorum is a polyphagous pathogen causing diseases in more than 200 plant species. This can limit the production of many economically important crops, such as apple trees, pear trees, rhododendrons, azaleas and strawberries. The aim of this thesis is to determine the level of sensitivity of individual *P. cactorum* isolates to selected fungicide substances. From 11 different strawberry growing sites, plant tissue samples were obtained with symptoms caused by *P. cactorum*. Experiments investigating the sensitive/resistant reaction of the obtained isolates were performed on the nutrient medium and included a control variant (no fungicidal substances) and variants with gradually increasing concentrations of fungicide substances. Tests were performed in three replicates.

A higher concentration ($> 10\mu\text{g} / \text{ml}$) of fungicidal substance was required for the 100% inhibition of pathogen growth in metalaxyl-M fungicidal substance. For dimethomorph for 100% pathogen growth inhibition in most isolates, a concentration of 1-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ fungicidal substance was required. Only one isolate had a minimum inhibitory concentration greater than 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ fungicidal substance. For the fungicidal substances propamocarb, cymoxanil, azoxystrobin and fenamidone, it was not possible to calculate EC_{50} values for individual *P. cactorum* isolates since none of the fungicidal concentrations used inhibited 50 % pathogen growth in any isolate. Also, due to the growth pattern of the mycelia isolates, the minimum inhibitory concentration could not be determined, in other words the MIC value was below the highest concentration used (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$). For isolates 17_4_1a, 17_57_P2b, 17_12_5a and 17_99_1, the minimum inhibitory concentration of the active substance fosetyl-Al Alliete 80 WG fungicide was determined in the range of 10-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of fungicide. For isolates 17_24_5b, 17_24_26, 17_12_12, 17_12_18b, 17_23_1b, 17_45_1b and 17_27_2, the minimum inhibitory concentration ranged from 1-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ fungicide. For the other isolates, the minimum inhibitory concentration was already in the range of 0.1-1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ fungicide, suggesting that from the fungicidal agents used, this preparation inhibited the growth of the mycelium of the isolates the most.

Keywords: *Phytophthora cactorum*, strawberry, fungicides, sensitivity

Obsah

1	Úvod	8
2	Cíl práce	9
3	Literární re-er-e.....	10
3.1	Taxonomické za azení.....	10
3.2	P vod a historie patogena	10
3.3	Biologie patogena	10
3.4	fiivotní cyklus patogena	12
3.5	P íznaky choroby	14
3.6	Metody ochrany.....	15
3.6.1	Agrotechnická opat ení	16
3.6.2	Biologická ochrana.....	17
3.6.3	Chemická ochrana	18
3.6.4	Prognóza a signalizace výskytu	19
3.7	Rezistence hostitelského druhu k patogenu <i>P. cactorum</i>	19
3.8	Rezistence patogena k fungicidním látkám	21
3.9	Antirezistentní strategie	22
4	Materiál a metody	23
4.1	Materiál	23
4.2	Popis poufítých fungicidních látek	25
4.2.1	Metalaxyl-M	25
4.2.2	Propamocarb	25
4.2.3	Dimethomorph	25
4.2.4	Cymoxanil	25
4.2.5	Azoxystrobin.....	26
4.2.6	Fenamidone.....	26
4.2.7	Alliete 80 WG.....	26
4.3	P íprava fiivného média	26
4.3.1	P íprava fiivného média pro izolaci a uchování izolát	26
4.3.2	P íprava fiivného média pro fungicidní testy	27
4.4	O kování, kultivace a uchování patogena	27
4.5	Testy citlivosti/rezistence k fungicidním látkám	28
4.6	Ode ítání r stu mycelia a zhodnocení výsledk	29
5	Výsledky	30
5.1	Sb r infikovaného rostlinného materiálu	30
5.2	Testy ú innosti fungicidních látek	31
5.2.1	Metalaxyl-M	31
5.2.2	Propamocarb	32

5.2.3	Dimethomorph.....	33
5.2.4	Cymoxanil	34
5.2.5	Azoxystrobin.....	35
5.2.6	Fenamidone.....	36
5.2.7	Alliete 80 WG.....	36
6	Diskuze	39
7	Záv r	42
8	Literatura.....	43
9	Samostatné p ílohy	50

1 Úvod

Druhy rodu *Phytophthora* způsobují celosvětové ekonomické škody na ztráty mnoha miliard dolarů a patří mezi nejcitovanější patogeny rostlin vůbec. Druhy způsobující hniloby kořenů jsou zodpovědné například za svou ekologickou katastrofu v Austrálii (*P. cinnamomi*), masové odumírání mnoha taxonů dřevin v různých částech světa včetně Evropy a České republiky (*P. alni*, *P. lateralis*, *P. austrocedrae*, *P. plurivora*, *P. cambivora* a další) a mnohé další závažné problémy. Z důvodu snadného šíření se svými hostiteli patří zároveň mezi nejvíce invazní organismy světa.

Phytophthora cactorum je polyfágním patogenem způsobujícím onemocnění u více než 200 druhů rostlin. To může omezit produkci mnoha ekonomicky důležitých plodin, jako jsou jablona, hrušna, rododendrony, azalky a jahodníky.

P. cactorum je původcem fytoftorové hniloby kořenů a plodů jahodníku. Nepříjemnou vlastností tohoto fytopatogenního druhu je to, že dovede během krátké doby skladování úplně znehodnotit plody, a byly sklizeny jako zdánlivě zdravé. Napadení rostliny se projevuje náhlým vadnutím listů i celé rostliny, která postupně zasychá. Zákeřnost choroby spočívá i ve schopnosti přetrvávat jako chronická bezpříznaková infekce v mnohletém materiálu i o odnožích.

Vzhledem k nebezpečnosti patogena *P. cactorum* a potenciálně velkým škodám je vždy vhodné nezanedbávat preventivní opatření a také používat vhodnou chemickou ochranu.

Pozornost by měla být upřena také na možnost vzniku rezistence patogena k fungicidům, která může výrazně ztížit, ve výjimečných případech i znemožnit ochranu vůči tomuto patogenu.

2 Cíl práce

Hypotéza diplomové práce je založena na tvrzení, že v populaci patogena *Phytophthora cactorum* existují izoláty vyznačující se různou úrovní citlivosti k fungicidním látkám.

Cílem této diplomové práce bylo zjistit úroveň citlivosti jednotlivých izolátů *Phytophthora cactorum* k vybraným fungicidním látkám.

3 Literární re-er-e

3.1 Taxonomické za azení

Taxonomické za azení patogena *Phytophthora cactorum* (Lebert et Cohn) J. Schröt., 1886 bylo provedeno podle webových stránek National Center for Biotechnology Information (2019).

Doména: *Eukaryota*

Kmen: *Stramenopiles*

Tída: *Oomycetes*

ád: *Peronosporales*

eled: *Peronosporaceae*

Rod: *Phytophthora*

Druh: *Phytophthora cactorum*

3.2 P vod a historie patogena

Patogen *P. cactorum* byl poprvé popsán v eskoslovensku v roce 1870 pod názvem *Peronospora cactorum* zp sobující ko enovou hnilobu kaktus (Lebert & Cohn 1870). Fytoftorová kr ková hniloba jahodníku, zp sobená patogenem *P. cactorum*, je d lefitým onemocn ním na jahodnicích v Evrop a i v dal-ích mírných afl subtropických oblastech. Onemocn ní je z ejm zp sobeno rozdílným patotypem *P. cactorum*. Izoláty z napadených kr k jahodník jsou patogenní pouze pro jahodníky a izoláty z jiných rostlin nejl jahodník nemohou být patogenní pro jahodníky (Lederer & Seemüller 1992; Lilja et al. 1998; Maas 1998). Práv tento patotyp, který zp sobuje toto onemocn ní, byl poprvé zaznamenán v N mecku v roce 1954 (Deutschmann 1954).

3.3 Biologie patogena

Hyfy jsou -tíhlé, asto nepravideln nab hlé a n kdy rozv tvené do pravého úhlu (Maas 1998). Rozv tvené hyfy jsou u báze mírn ten í. Bun né jádro nové hyfy se nachází v blízkosti báze, dal-í jádra jsou umíst na po celé délce hyfy v intervalech cca 10-20 m od

sebe. Starší hyfy mají buněnou stěnu lemovanou pouze vrstvou protoplazmy, zatímco stěna mladých hyf je vyplněna vakuolou. U mladých hyf se periplazma tvoří pouze na bázi reprodukčních orgánů, u starších hyf se mohou objevit i další. Morfologie mycelia se mění v závislosti na kultivačním médiu. Hyfy jsou v tloušťce tenčí, delší a méně rozvětvené ve vodním agaru než v médiu s vyšším obsahem potravních látek, kde jsou rozvětvené, kratší a silnější (Blackwell 1943).

P. cactorum obvykle tvoří terminální nebo interkalární sporangium s oválnou až globózní papilou. Tvar sporangia je široce oválný až hrubokovitý, vejčitý nebo sférický. Septum odděluje sporangia od sporangioforu. Zralá sporangia se oddělují s 3-4 μm dlouhým pediklem. Sporangiofory nejčastěji rostou odděleně nebo v sympodiu a mohou mít menší průměr než hlavní hyfy (Erwin & Ribeiro 1996). Erwin a Ribeiro (1996) dále ve své práci uvádějí, že sporangia dosahují rozměrů $31,4 \pm 4,8 \times 26,4 \pm 4,0$ μm. Podle Maas (1998) každé sporangium může obsahovat více než 50 zoospor.

Zoospory se uvolňují ze sporangia jako mononukleární buňky bez buněné stěny. Zoospory mají dva postranní bičíky, které umožňují aktivní pohyb. Tyto dva bičíky se liší svou délkou. Bičík orientovaný ve směru pohybu je kratší s mastigonematy, bičík orientovaný na opačnou stranu je hladký (Erwin & Ribeiro 1996).

Chlamydozoospory se tvoří ojedinelé, nebo jen u některých izolátů, a to je jejich tvorba ovlivněna takovými podmínkami, jako je izolace z určitého hostitele, pouflití specifického média, nebo teploty při kultivaci (například se netvoří na bramborovém nebo hrachovém médiu). Jejich velikost je velmi variabilní (25-39,5 μm), a proto se při identifikaci patogena nepoužívají (Krátká et al. 2008).

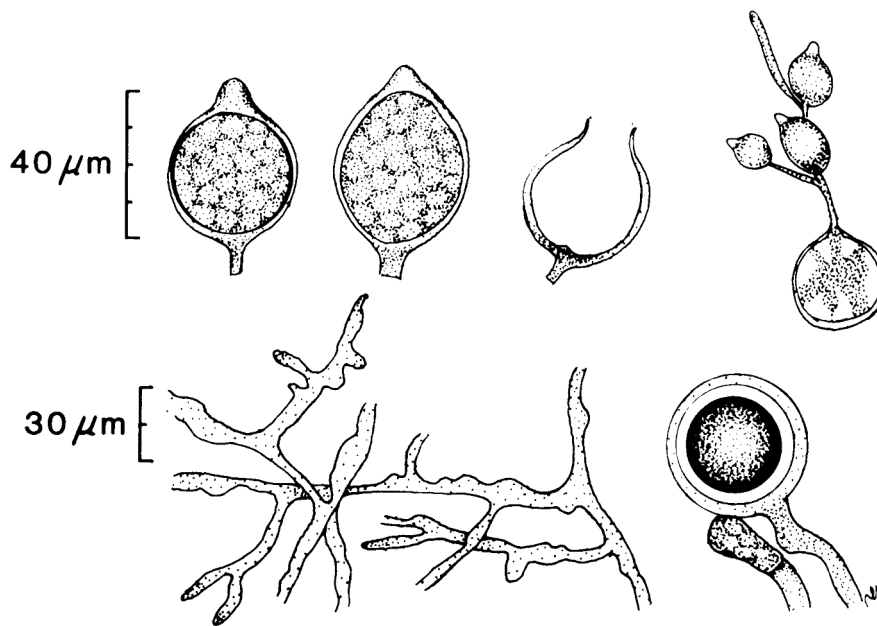
P. cactorum je homothalický druh, takže jeho izoláty produkují gametangia: antheridia a oogonia v rámci jedné kolonie (jedince) a jejich splynutím vznikají oospory. Gametangia se vytvářejí v pletivech infikovaných rostlin nebo spontánně v *in vitro* kulturách za laboratorních podmínek (Erwin & Ribeiro 1996).

Oospory *P. cactorum* jsou sférické obvykle v průměru 24-30 μm široké, a mají hladkou, dvouvrstvou, flutulozní stěnu. Antheridia jsou typicky paragenní a bývají obvykle spojena s oogoniem (Maas 1998). Rozměry antheridia dosahují podle Waterhouse (1963) $8,5621 \times 12,621$ μm.

Oogonia mají hladkou stěnu, jejich tloušťka je 2 μm, jsou hyalinní, kulovitá, o velikosti 18-40 μm. Následně vytvořené oospory vyplní celé oogonium, což je znázorněno na Obrázku 1 (Krátká et al. 2008).

Erwin & Ribeiro (1996) uvádí, že *P. cactorum* roste v širokém rozsahu teplot a také má různé požadavky na teplotu rostoucí v terénu a laboratorních podmínkách. Minimální teplota pro růst je 2 °C, optimální teplota 25 °C a maximum 31 °C.

Podle Maas (1998) se patogen snadno kultivuje na bramborovo dextrózovém agaru, na kterém tvoří bílou, matnou kolonii.



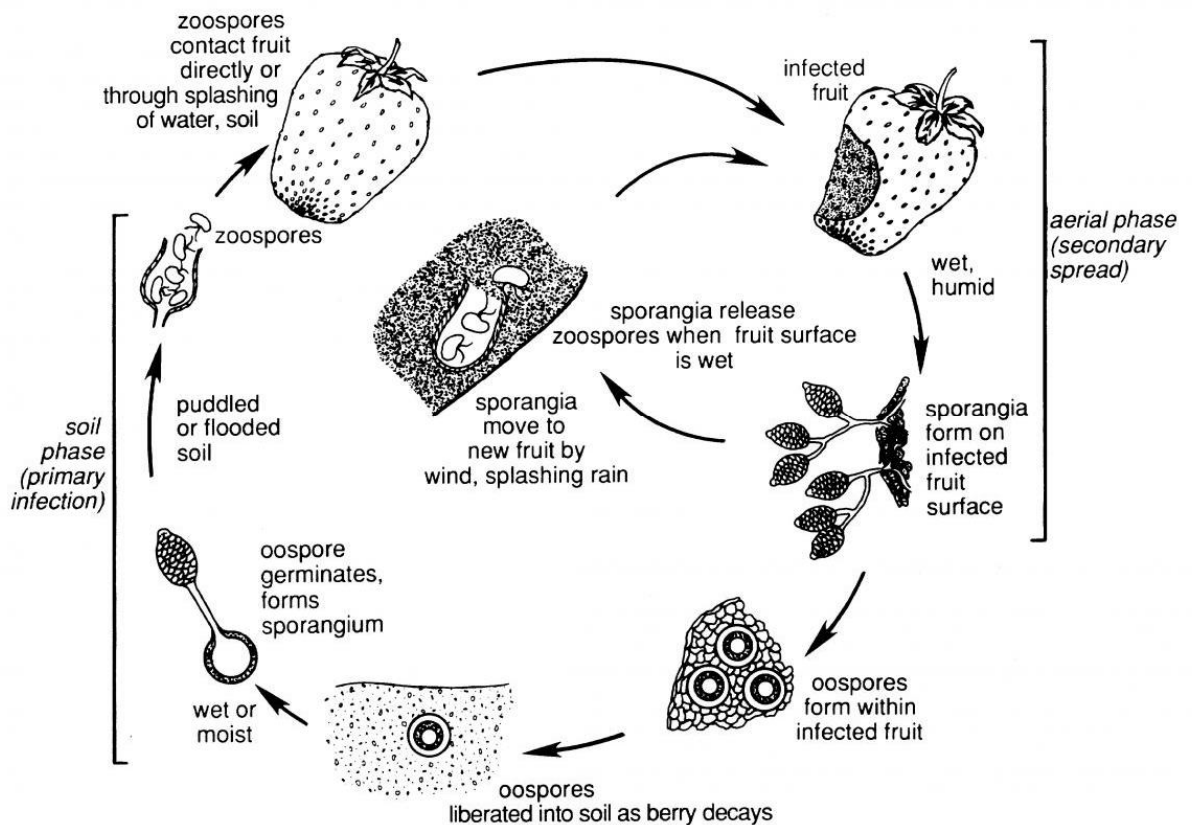
Obrázek . 1. *Phytophthora cactorum*: Sporangium s papilou, klíčící oospora produkující sporangia, mycelium, oogonium s oosporou a antheridiem (kresba dle A. Vizari)

3.4 životní cyklus patogena

P. cactorum přežívá zimu ve formě oospor, které se tvoří v mumifikovaném ovoci, také dlouhodobě přežívají v půdě, na zbytcích napadených rostlin a v infikovaných rostlinách na poli a sazenicích. Na jaře, když je půda nasycena vodou, oospory klíčí a produkují sporangia. Ze sporangií se uvolní zoospory, které se dostávají do půdní vody. Při ovhnutí povrchu plodu mohou klíčit zoospory a infikovat zralé i nezralé plody (Obrázek . 2). Při vysokém infekčním tlaku onemocní a za vyšší vlhkosti vzduchu může dojít k napadení rostliny při teplotě 17–25 °C za pouhé 2 hodiny nebo i méně. Optimální teplota pro infekci je 21 °C. Při vyšší vzdušné vlhkosti (za rosy nebo deště) se na povrchu infikovaných plodů tvoří sporangia

přibližně po 5 dnech po infekci. Produkce sporangií se zvětšuje exponenciálně a je výrazně ovlivněna teplotou. Nejproduktivnější teploty pro tvorbu sporangií jsou mezi 15 a 25 °C. Optimální teplota je přibližně 20 °C a plodná sporangia se nevytvářejí při 10 a 30 °C. Sporangia jsou rozptýlena na jiné ovocné plochy rozstříkáním dešťových kapek nebo kapkovým zavlažováním, myceliální fragmenty a zoospory jsou také rozptýleny tímto způsobem. Za vhodných podmínek se nemoc šíří rychle. Zoospory se uvolňují v kalužích vody kapkové závlahy, a pokud se voda pohybuje směrem po řádcích, rozšíří se infekční propagule na plody, které se dotýkají půdy. Nakafleňené plody, které se neodstraní, vyschnou, mumifikují a nakonec spadnou na zem. Dále se mumifikované plody rozpadnou, čímž se uvolní zoospory dostanou do půdy, kde mohou přežívat po dlouhou dobu (Maas 1998).

Zoospory také pronikají do jiných rostlinných pletiv. Vstupní branou je pro ně obvykle první poranění kořenů způsobené při výsadbě. U frigidní sadby dochází k infekci především poraněními kořenů nového krámu, ale infekce může vzniknout i jako důsledek oslabení sazenice při nízké teplotě (Kocourek et al. 2015).



Obrázek . Životní cyklus Phytophthora cactorum jako p vodce fytoftorové hniloby jahodníhu - Oospory, které se vytvářejí v pletivu napadených částí, se uvolí do pody. Na ja e oospory po zvlh ení klí í a vytvá í se zoosporangia. V zoosporangiu se diferenciují zoospory, uvolí ují se a infikují vnímavé části rostlin. K infekci je nezbytné ovlh ení. Za vlhka se tvo í sporangia na napadených plodech. Sporangia se roz-í ují p edev-ím vodou a jsou zdrojem dal-ích infekcí. V napadených pletivech se tvo í oospory. Po rozkladu se dostávají do pody, kde p etrvávají po adu let. Zdroj: (Ellis 2008)

Výskyt p íznak choroby je také ovlivn n dobou výsadby nového porostu. U výsadeb založených koncem léta se z ídka projeví p íznaky choroby tentýfl rok, protože patogen p í nízkých teplotách omezuje svoji aktivitu. Nejv t-í -kody u t chto výsadeb proto zp sobuje afl na ja e a v lét následujícího roku (Kloutvorová et al. 2018).

3.5 P íznaky choroby

P íznaky onemocnění se mohou objevit na rostlinách v jakékoliv vývojové fázi rostliny. Na nezralých plodech jsou napadené oblasti obvykle tmav hn dé, n které z stávají zelené a mají hn dý okraj. Postupn plody celé hn dnou, jejich povrch zhrubne, afl zkořfovatí. Na napadených zralých plodech m fle onemocnění zp sobit malou zm nu barvy nebo m fle zap í inít rozsáhlej-í zm nu barvy od hn dé afl po tmav fialovou (Maas 1998).

Chang (1988) uvádí, fle infikované, áste n zralé plody málokdy zcela dozrávají. Napadené pletivo plod gumovatí a plody zakr ují. Hn dé zabarvení plod se vyskytuje jak uvnit , tak i zven í, a a koli samotné plody m flou být mírn m kké, nejsou nikdy ka-ovité nebo vodnaté. Plody získávají charakteristickou ho kou chu a nep íjemný zápach asto vychází z napadené výsadby.

P ílefitostn se v podmínkách s vysokou vlhkostí vytvá í jemný bílý povlak mycelia na povrchu infikovaného ovoce. Nezralé i zralé plody nakonec vyschnou a scvrknou do mumifikované podoby (Madden et al. 1991).

Listy napadených rostlin i celé rostliny, náhle vadnou a postupn zasychají. P í pokusu o vytažení nemocné sazenice z pody se asto odlomí nadzemní ást, zatímco odum elé ko eny z stávají v p d (Kloutvorová et al. 2018). U napadených rostlin p í podélném roz íznutí ko enového kr ku bývají viditelné hn dé nekrotické léze, které se mohou objevit na bázi í ve

st edu kr ku. Infekce kr ku vede afl k dysfunkci cévních svazk a k odumírání ko en (Meszka & Michalecka 2016).



Obrázek . 3 ó U rostlin napadených patogenem *P. cactorum* bývají p i podélném roz íznutí ko enového kr ku viditelné nekrotické léze (Zdroj: Frank J. Louws)

Maas (1998) ve své publikaci zmi uje, fle ve v t-in p ípad se p íznaky objevují nejprve v horní ásti rostliny a roz-í ují se bazipetáln nebo za ínají od stolonu. Nov napadené pletivo ko ene se na pohled zdá být vodnaté a sv tle hn dé. Pozd ji se kr ek rostliny zabarvuje do intenzivní hn dé barvy. V n kterých p ípadech se hnilobný proces v kr ku zastaví, cofl vede bu k regeneraci rostliny nebo k více i mén výraznému omezení r stu, p edev-ím v závislosti na rozsahu po-kození cévních svazk .

Kloutvorová et al. (2018) ve své publikaci uvád jí, fle p íznaky vadnutí, zasychání list a úhyny rostlin mohou být zam nitelné s podobnými symptomy zp sobenými dal-ími patogeny, jako nap . *Verticillium* ssp., *Phytophthora fragariae*, *Pythium ultimum*, *Colletotrichum acutatum*, *Rhizoctonia* spp. aj. Pro p esn j-í determinaci bývá asto nezbytné poufít dal-í mikroskopické, biologické, imunochemické nebo molekulární detek ní metody.

3.6 Metody ochrany

Inokulum patogena p efvá v rostlinných zbytcích, v p d , v infikovaných rostlinách a sazenicích i ve vod , a tudífl ochrana proti n mu je pom rn sloflitá. Chemické látky nebo organické materiály na zlep-ení fyzikálních vlastností p dy p idané do p dy jsou vystaveny r zným biochemickým reakcím v závislosti na teplot , vlhkosti a pH p dy. Proto na ochranu

proti fytoftorové kr kové hnilob , musí být dodržovány různé strategie zahrnující metody jako použití správných agrotechnických postup , biologické ochrany, chemické ochrany i odolnost hostitele (Sharma et al. 2005).

3.6.1 Agrotechnická opatření

Prvním a možná nejdůležitějším rozhodnutím, které má být provedeno, je snížit pravděpodobnost epidemie tím, že omezí nebo odstraní plochy stojaté vody v porostu. Místo výsadby by mělo mít vynikající odvod vody. Zvýšené vyfukování drenážních dlaždic, výsadba na hrbcích nebo zvýšených řídkách, vyhýbání se agrotechnickým operacím, které vedou k vytvoření kolejí v meziřádkách, a orientace řádků pro usnadnění odtoku povrchové vody by měly být prioritní (Madden et al. 1991). Významné je také stínění pro stovány plodin, na rizikových pozemcích nevysazovat náchylné odrůdy (např. odrůda 'Elsanta', 'Dagmar'). Významným opatřením je vysazování zdravých sazenic (Kocourek et al. 2015).

Místo pro výsadbu by mělo mít dobrou cirkulaci vzduchu a mělo by být plně vystaveno slunečnímu záření, aby byla snížena doba ovlhčení plodu. Mulčování slámou je velmi prioritní agrotechnická ochrana proti fytoftorové kr kové hnilob (Maas 1998). Slámový mulč brání plodům, aby se dotýkaly povrchu a stojaté vody, a také je sníženo riziko rozstříkání vodních kapek obsahující sporangia a zoospory (Rebollar-Alviter et al. 2010). Madden a Ellis (1990) ve své práci uvedli, že nejúčinnější ochrany proti chorobám (83% účinnosti) bylo dosaženo mulčováním slámy, následně pískem (64%), potlačením (53%) a mulčem z umělé hmoty (21%). Mulč z umělé hmoty má ve skutečnosti zesílit výskyt onemocnění tím, že se na plastickém povrchu zachytává voda, a tím se zvyšuje riziko dalšího sekundárního rozstříkání vodních kapek (Maas 2004).

Vzhledem k tomu, že plevele v jahodové výsadbě mohou snížit cirkulaci vzduchu a prodloužit ovlhčení plodu, hubení plevelů také může pomoci při ochraně proti výskytu choroby. Nadměrné hnojení (zejména dusíkem) stimuluje tvorbu nových listů, a tudíž i hustotu výsadby, která vede opět k delší době ovlhčení (Madden et al. 1991).

Ošetření povrchu slunečním zářením je nechemický přístup k potlačení chorob prořezávaných potlačením, kde teplota povrchu vystoupá natolik, že zabíjí a zabraňuje šíření patogenů. To lze dosáhnout pouze použitím tenké prohledné polyetylenové fólie i polyetylenového mulče, který propouští v tělnu slunečních paprsků, které ohřívají potlačením (Katan et al. 1976). Během léta potlačování potlačením prohlednými polyetylenovými fóliemi vytváří vhodné teplo, které pomáhá při potlačování potlačením prohledných potlačením onemocnění (Katan et al. 1976; Khandar & Bhowmik 1990).

Hartz et al. (1993) ve své práci uvádí, že ošetření před sklizením provedené od konce srpence do začátku pro říjnové výsadby jahod, snižuje populaci *P. cactorum* a *P. citricola* v porovnání s nepřevládáním patogenů v neošetřeném před sklizením zregulovalo jednoleté plevele v jahodových výsadbách a zvýšil se výnos jahod o 12 % ve srovnání s výnosem neošetřených pozemků.

3.6.2 Biologická ochrana

Biologická ochrana představuje cílené využití živých antagonistických organismů v regulaci výskytu škodlivých organismů kulturních rostlin (Kocourek et al. 2015).

Polyversum je první biofungicid, který byl vyvinut a vyrábí se v České republice. Jedná se o přípravek, který léčí choroby kořenů a kořenového krčku, mimo to indukuje zvýšenou odolnost rostlin k houbovým chorobám. Účinnou látkou tohoto přípravku je mikroorganismus *Pythium oligandrum*, který je původním obyvatelům před. Přípravek obsahuje klíčivé oospory umístěné na minerálním nosiči. Základním mechanismem účinku aktivní složky přípravku Polyversum mikroorganismu *P. oligandrum* je mykoparazitismus. *P. oligandrum* napadá další fytopatogenní houby, enzymaticky rozkládá jejich mycelia a na které rozmnožovací orgány (sklerocia) a takto získané živiny využívá pro vlastní výživu. Kromě tohoto účinku produkuje *P. oligandrum* v symbióze s kořenovým systémem ošetřovaných rostlin nízkomolekulární protein oligandrin vyznačující se i systemickými a translokátními vlastnostmi. Tato půrodní substance indukuje v rostlinách původní rezistenci proti foliárním houbovým chorobám. Tato rezistence se projevuje jak aktivní inhibicí klíčení spor patogena a potlačováním růstu jeho mycelia, tak i pasivní ztlumením buněčných stěn ošetřované rostliny. Prokazují se také efekty rostové stimulace, které jsou podobné jako u strobilurinových přípravků. To rostlinám umožní lépe přežít nepříznivé podmínky prostředí (Prochazkova-Rulfova 2009).

Gulati et al. (2001) ve své práci uvádí, že rhizobakterie podporující růst rostlin snižují výskyt fytoftorové krčkové hniloby jahodníku. Dokonce bylo prokázáno, že bakterie *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas fluorescens* a *Raoultella terrigena* mají vliv na rostlinné patogeny srovnatelný s použitím chemického fungicidu (Anandhakumar & Zeller 2008).

Agusti et al. (2011) uvádí, že kombinace různých kmenů *P. fluorescens* výrazně posílila stabilitu biologické regulace proti patogenu *P. cactorum* ve sklenicích.

3.6.3 Chemická ochrana

Fungicidy byly popsány jako vysoce účinné v ochraně proti fytoftorové krkavé hnilobě (Ellis et al. 1998; Rebollar-Alviter et al. 2005). Kontaktní fungicidy nebo spíše účinné látky jako jsou captan a thiram, byly po mnoho let používány proti fytoftorové krkavé hnilobě, avšak pod vysokým tlakem onemocnění poskytují špatnou ochranu (Wedge et al. 2007).

Ellis et al. (1998) uvádí, že zavedení systémových a účinných fungicidů výrazně zlepšilo chemickou ochranu proti fytoftorové krkavé hnilobě. V současné době jsou azoxystrobin, fosforitan draselný a mefenoxam (metalaxyl-M) registrovány v USA na ochranu proti fytoftorové krkavé hnilobě jahodníku. Podle etikety na obalu přípravku se mefenoxam doporučuje pro aplikace v období před kvetením a 30 dní před sklizní. Tyto aplikace se doporučuje pro doplňkovou ochranu v průběhu sklizně. Předchozí experimenty s mefenoxanem ukázaly, že jedna aplikace během květu může poskytnout dostatečnou ochranu po celou sezónu proti fytoftorové krkavé hnilobě.

Některá studia byla založena na mechanismu účinku QoI fungicidů (strobiluriny) u azoxystrobinu (Rebollar-Alviter et al. 2007a). Rebollar-Alviter (2007a) uvedl, že azoxystrobin poskytuje ochranu proti fytoftorové krkavé hnilobě po dobu až 7 dnů před inokulací, ale má pouze nepatrné kurativní účinky při aplikaci po 13 hodinách po inokulaci.

Strobilurinové fungicidy představují významnou složku v současné době používaných fungicidů na ochranu proti fytoftorové krkavé hnilobě. Kromě toho, že poskytují vynikající ochranný účinek proti *P. cactorum*, jsou také v jiné chemické kategorii než mefenoxam a fosfitové fungicidy. Použití střídavého postupu s mefenoxamem a fosfitovými fungicidy, by mohlo mít za výhodu prevenci nebo oddálení vývoje rezistence vůči fungicidům u *P. cactorum* (Gisi 2002).

Mefenoxam vykazuje silný preventivní a kurativní účinek proti známým patogenům třídy Oomycetes, které infikují listy rostlin i semena (Gisi 2002). Kurativní účinky mefenoxamu a kyseliny fosforité je jinými potenciálně použitelnými v postinfekčních fungicidních ošetřeních, kde se fungicidy aplikují v odezvě na zaznamenané nebo předpokládané období infekce (Reynolds et al. 1987).

V Ohiu je v současné době chemická ochrana fytoftorové krkavé hniloby založena na postřikovém plánu založeném na kalendáři, kde jsou profylaktické aplikace fungicidů prováděny na základě 567denním postřikovém plánu bez ohledu na výskyt onemocnění. Předchozí experimenty ve skleníku za účelem zkoumání fyzikálního mechanismu působení mefenoxamu a kyseliny fosforité ukázaly, že oba fungicidy poskytují vynikající ochranu proti

fytoftorové kr kové hnilob po dobu nejmén 7 dn , stejn jako vynikající postinfek ní (kurativní) ú inek po dobu afl 36 hodin po inokulaci *P. cactorum* (Rebollar-Alviter et al. 2007a).

V eské republice pro chemickou ochranu jahodníku v í *P. cactorum* je registrován p ípravek s ú innou látkou fosetyl-Al (Aliette 80 WG), který se poufívá k namá ení ko en sazenic p ed výsadbou, nebo se aplikuje jako pásová zálivka po zako en ní sazenic (Kloutvorová et al. 2018).

3.6.4 Prognóza a signalizace výskytu

Vliv prom nlivosti po así na sporulaci, infekci a í ení *P. cactorum* a na pr b h onemocn ní byl d íve zkoumán v pracích autor Grove et al. (1985), Reynolds et al. (1988). Na základ t chto informací Reynolds et al. (1987) vyvinuli prototypový systém prognózy fytoftorové kr kové hniloby pomocí diskrimina ní analýzy. Tento systém klasifikoval pov trnostní podmínky do kategorií odpovídajících nízkému, st ednímu a vysokému riziku onemocn ní.

Na základ této analýzy, auto i dosp li k záv ru, že je možné p edvídat rizika nebezpe í infekce spojené s jednotlivými de– ovými sráfkami s vysokým stupn m spolehlivosti na základ mnofství sráfek, odhadu p edchozího výskytu choroby, indexu sporulace a í ení inokula. Vzhledem k tomu, že *P. cactorum* pot ebuje velmi krátkou dobu ovlh ení a dokáffe zp sobit v írokém rozmezí teplot infekci plodu (za p edpokladu, že jsou propagule v kontaktu s ovocem), stanovení výskytu infek ních období (nezávislé na í ení a rychlosti a po tu sporulací) by nebylo dosta ující pro p esné p edvídání periody infekce poufívané k naplánování postinfek ních aplikací fungicidu. Vysoké riziko, které je ur eno individuálními de– ovými bou kami a mnofstvím sráfek v kritických obdobích, je spí-e lep-ím ukazatelem nutnosti aplikovat fungicid, protože bere v úvahu í ení propagulí do náchylných odr d ovoce (za podmínek výskytu infek ního tlaku). Nicmén , k infekci ovoce by jifl do-lo (nebo za alo), pokud by fungicidy byly pouflity pouze po vysoce rizikovém období infek ního tlaku, vzhledem k velmi krátké dob pot ebné pro infekci plodu b hem vlhkých podmínek (Grove et al. 1985).

3.7 Rezistence hostitelského druhu k patogenu *P. cactorum*

Odolnost k chorobám je d di n zalofená schopnost hostitelské rostliny zastavit nebo zpomalit innost patogena, která m že mít mnoho forem (Goodman et al. 1986). Rezistenci,

kteřá je kvantitativní nebo kvalitativní povahy, je třeba uvažovat ve vztahu k virulenci patogena. Viditelným výsledkem vzájemného vztahu hostitelské rostliny a patogena je reakce rostliny, ale také změny ve vývoji patogena. Interakce hostitele a patogena se tedy projevuje změnami u obou antagonistů. Rostliny jsou rezistentní k virulentnímu patogenu v jejich prostředí, protože nejsou hostitelskými rostlinami pro konkrétní patogeny nebo jsou hostitelskými rostlinami, ale mají geny rezistence, které jim dovolují rozpoznat specificky odlišné rasy (i patotypy) patogena (Scheel D. 1998).

Jednotný systém pojmů z hlediska genetiky rezistence vytvořil Van der Plank (1968) a rozdělil rezistenci na vertikální a horizontální. Vertikální rezistence je rasově specifická a je uvažována s určitou rasou nebo určitými rasami patogena.

Horizontální rezistence, nebo také rasově nespecifická rezistence, je účinná zpravidla proti širokému spektru ras (i patotyp) parazita. Tato odolnost má vlastnosti typického polygenně založeného znaku. Projevuje se u ní silná interakce genotypu s prostředím. Podstatou rezistence je, že rostlina je schopna dokončit svůj životní cyklus dříve, než se patogen dostane na rozšíření.

Vertikální rezistence je rezistence rasově specifická. Odolnost tohoto typu je řízena jedním nebo několika málo geny s velkým účinkem (majorgeny) a týká se jediného genotypu patogena. Každá alela určitého lokusu odolnosti u hostitele zabezpečuje odolnost pouze v určitém jedinému genotypu patogena. Tyto různé genotypy patogena se fenotypově projevují jako tzv. fyziologické rasy i patotypy (Agrios 2005).

Odolnost odrůd jahodníku proti fytoftorové krkavé hnilobě byla dobře studována a úroveň rezistence mnoha dřívějších odrůd je známa (Eikemo et al. 2003; Pérez-Jiménez et al. 2012; Schafleitner et al. 2013). Existuje vysoká míra variability v náchylnosti mezi odrůdami a je zde potřeba identifikovat nové zdroje rezistence pro používání jahodníku. Skutečné mechanismy rezistence proti fytoftorové krkavé hnilobě nejsou známy, nicméně bylo prokázáno, že kromě variability mezi odrůdami se rezistence mění také s ročním obdobím a s typem rostliny (Pettitt & Pegg 1994; Parikka 2009). Na druhou stranu, rezistence vůči fytoftorové krkavé hnilobě mezi odrůdami jahodníku není ve většině případů známa a existuje pouze několik publikovaných zpráv o rezistenci odrůd vůči původci choroby (Olcott-Reid & Moore 1995; Golebniak et al. 2006).

Eikemo a Stensvand (2015) zmiňují, že žádná z těchto studií neuvádí úplnou rezistenci vůči fytoftorové krkavé hnilobě u žádné odrůdy. Příkladem náchylné odrůdy je odrůda 'Polka', která je považována za velmi náchylnou k fytoftorové krkavé hnilobě mezi pěstiteli.

V Norsku je tato odrda nejastji p stovanou odrdou pro zpracování a spotřebu v první stavu.

Fytoftorová krkovaná hniloba je ménasto detekována v dalších dřevitých odrdách pro zpracování, například v odrdách 'Senga Sengana', která je také známá jako jedna z nejvíce odolných proti chorobám (Eikemo et al. 2003; Schafleitner et al. 2013).

3.8 Rezistence patogena k fungicidním látkám

Z hlediska praktického použití označuje termín rezistence škodlivých organismů k pesticidům ztrátu účinnosti přípravku na ochranu vlivem změny v citlivosti škodlivých organismů. Ke ztrátě citlivosti škodlivých organismů k pesticidům dochází po dlouhodobém používání přípravku se stejným mechanismem účinku. Rezistentní jedinci k jedné účinné látce pesticidu se buď ve velmi malé frekvenci přirozeně vyskytují v populacích, nebo rezistence vzniká novými mutacemi nebo rekombinací genů. V populacích škodlivých organismů se postupně zvyšuje podíl rezistentních jedinců, ať dosáhne hodnot, kdy se i po opakovaných aplikacích ztrácí účinnost přípravku (Kocourek et al. 2015).

Rezistence může být buďto vrozená, která představuje dědičně fixovanou odolnost patogenu k fungicidní účinné látce (například fenylamidy a amidy kyseliny karboxylové nejsou účinné proti houbám; inhibitory biosyntézy sterolů, včetně inhibitorů demethylace nejsou účinné proti oomycetám apod.) nebo získaná následkem aplikování fungicidu, kdy patogen byl dříve k rizikové účinné látce citlivý. Pokud jde o rezistenci získanou, jsou velmi významné termíny cross-rezistence a multiple(multi)-rezistence (Ackermann 2013).

Cross-rezistence vyjadřuje situaci, kdy vznik rezistence k jedné účinné látce současně vyvolá i rezistenci k jiným účinným látkám, které ale mají stejný princip působení (Kazda et al. 2010). Skupiny účinných látek (fungicidů), u nichž je známa cross-rezistence jsou definovány, mají svůj kód a jejich znalost je základním předpokladem uplatnění antirezistentních strategií.

Multiple-rezistence vyjadřuje situaci, kdy vznikne současně rezistence ke dvěma nebo více účinným látkám s různým mechanismem působení (například rezistence plísně vůči k benzimidazolům a dikarboximidům). Příčinou jsou dvě na sobě nezávislé mutace, kterým došlo v důsledku opakovaného aplikování přípravků z obou skupin fungicidů (Ackermann 2013).

Fungicidní látky mají různý mechanismus působení na patogena. Různé látky působí různě: jako inhibitory tvorby životně důležitých stavebních látek buněk, působí

rozpad buněčných stěn, blokuje dýchání patogena, inaktivují enzymy, způsobují srážení bílkovin. Různé mechanismy působení fungicidů byly objevovány postupně tak, jak byly postupně nacházeny nové účinné látky (Kazda et al. 2010).

3.9 Antirezistentní strategie

Cílem antirezistentních strategií je zabránit vzniku, resp. oddálit vznik rezistence. Z toho důvodu by měla být doporučená opatření uplatňována dříve, než se rezistence projeví, a pokud možno předem. Významné je průběžné sledování účinnosti rizikových fungicidů a v případě odvodnění podezření na sníženou citlivost patogenu laboratorní ověření citlivosti (Ackermann 2014).

Kocourek et al. (2015) ve své práci uvádí, že pro zabránění nebo alespoň oddálení vzniku a vývoje rezistence je třeba při provádění ochrany proti plísním houbových chorob ovoce dodržovat následující zásady:

- Střídat fungicidy s různými mechanismy účinku.
- Vyhnout se opakovaným a sólovým aplikacím přípravků ze stejné chemické skupiny.
- Omezit počet aplikací fungicidů s vysokým rizikem rezistence za sezónu (maximálně 2×).
- Fungicidy aplikovat ve směsi (tank-mix, ready-mix kombinace) nebo ve vzájemném vystřídaní s jiným vhodným partnerským fungicidem, který má odlišný mechanismus účinku, u něhož není dosud rezistence známá.
- Omezit nebo při výskytu rezistence se zcela vyhnout eradikačnímu použití fungicidů.
- Dodržovat doporučené dávkování přípravku.
- Integrovat opatření s nechemickými metodami.

4 Materiál a metody

4.1 Materiál

Pomůcky k očkování a kultivaci patogena:

- plastové Petriho misky (Ø 90 mm)
- sterilní ddH₂O
- očkovací (injekční) jehla
- korkovrt
- Petriho misky s V8 juice agarem
- parafilm
- plynový kahan
- flow box ESCO Class II type A2
- termostat Lovibond Liebherr FKU 1800

Pomůcky k přípravě živného média:

živné médium:

- V8 juice
 - CaCO₃
 - agar
 - destilovaná voda
-
- kádinka k rozmíchání směsi o objemu 3000 ml, válečky, lžička, analytické váhy, magnetická tepelná kádka, magnetické míchadlo, Papinův hrnec i autokláv, 500 ml skleněná láhev s těsněním a víčkem (typ Duran) i Erlenmayerovy baňky, odměrný váleček, Petriho misky (Ø 90 mm)

Pomůcky k založení fungicidních testů:

- V8 juice agar
- Petriho misky (Ø 90 mm)
- parafilm

- DMSO (dimethylsulfoxid)

Následující účinné látky (Sigma-Aldrich) byly vybrány z toho důvodu, že i když nejsou v ČR vůči patogenu *P. cactorum* registrovány, jsou registrovány ve světě nebo jsou zmíněny v publikacích. Příkladně jde o látky, které jsou používány na jiné druhy patogenů pocházející ze skupiny Oomycetes.

fungicidní látky:

- METALAXYL-M
- PROPAMOCARB
- DIMETHOMORPH
- CYMOXANIL
- AZOXYSTROBIN
- FENAMIDONE

V ČR je registrován pouze jediný fungicid proti *P. cactorum* na jahodníku, jehož účinná látka fosetyl-Al jífl není u firmy Sigma-Aldrich k zakoupení, proto byl použít formulovaný přípravek.

- ALLIETE 80 WG (účinná látka fosetyl-Al)
- kádinka k rozmíchání směsí, válečky, lžička, analytické váhy, magnetická tesařka (IKA RCT basic), magnetické míchadlo, centrifuga, Papinův hrnec i autokláv, 500 ml skleněná láhev s těsněním a víčkem (typ Duran) o případně Erlenmayerovy baňky, odměrný válec, pipeta, pístky, mikrozkuřavky

Pomůcky k odečítání výsledků :

- digitální posuvné měřítko Mitutoyo 0-150/0,01 mm
- počítač s tabulkovým procesorem (Microsoft Office Excel)

4.2 Popis poufítých fungicidních látek

V této kapitole bylo erpáno z webových stránek agromanual.cz.

4.2.1 Metalaxyl-M

Metalaxyl-M (mefenoxam) je systemická fungicidní látka ze skupiny fenylamid inhibující syntézu protein . Látka je velmi rychle p íjímána zelenými ástmi rostlin (do 30 minut) a transportována do list . Inhibuje r st a rozmnofování fytopatogenních organism z hospodá sky významné skupiny Oomycetes.

4.2.2 Propamocarb

Ú inná látka propamocarb p sobí lokáln systémov , v rostlinách je akropetáln rozvád na. Reaguje v ad fází syntézy fosfolipid a mastných kyselin, ímfl je naru-ována tvorba bun ných membrán fytopatogenních hub (FRAC kód 28, mechanismus ú inku F4, karbamáty). Na bun né úrovni ú inkuje na r st mycelia, produkci a klí ení spor. Stimuluje vývoj ko en , r st a kvetení rostlin a zvy-uje jejich flivotní energii. Vyzna uje se preventivním a kurativním ú inkem.

4.2.3 Dimethomorph

Dimethomorph je systémov ú inný fungicidní derivát morfolinu s odli-ným mechanismem ú inku ve srovnání s dosud poufívanými fungicidy. Ni í-íroké spektrum hub t ídy Oomycetes. Ú inná látka proniká do list a stonk a-í í se z horní strany listu sm rem k dolní stran listu (translaminárn). U o-et ených citlivých druh hub zp sobuje dimethomorph morfogenezní zm ny bun né st ny, které zp sobí p eru-ení vývoje houby. U dimethomorphu neexistuje cross-rezistence s fenylamidy. Rezistentní kmeny nebyly zji-t ny a ani se nep edpokládají.

4.2.4 Cymoxanil

Ú inná látka cymoxanil ze skupiny acetamid potla uje mnohé flivotn d leflité funkce houbových organism jako je bun né dýchání, syntéza aminokyselin a permeabilita bun né st ny. Cymoxanil p sobí lokáln systémov , zabra uje klí ení spor, r stu mycelia a zaji-uje rovn fl kurativní ú inek krátce po infekci. Po aplikaci rychle proniká do rostlinného pletiva a rovnom rn se v rostlin rozmis uje.

4.2.5 Azoxystrobin

Úinná látka azoxystrobin patří do chemické skupiny β - methoxyakrylát (strobilurinové deriváty) má systemické a translaminární vlastnosti, zastavuje transport elektronů při dýchání mitochondrií mezi cytochromem b a cytochromem c1. Úinek je především preventivní, a proto musí být použit před nebo na počátku infekce. Azoxystrobin působí dlouhodobě, může tak zabránit vzniku nové infekce po dobu 3-8 týdnů. Ošetřené porosty jsou delší dobu zelené.

4.2.6 Fenamidone

Fenamidone je translaminárně působící úinná látka ze skupiny imidazolin (skupina QoI), zastavuje transport elektronů v rámci dýchacího řetězce probíhajícího v mitochondriích. Při preventivním použití zabráňuje klíčení oospor, uvolňování a pohybu zoospor a vytváření zárodků mycelia. Kurativně působí proti rozvoji mycelia uvnitř listů, vytváření sporangioforů a klíčení sporangií.

4.2.7 Alliete 80 WG

ALIETTE 80 WG obsahující úinnou látku fosetyl-Al je systémově působící fungicidní přípravek ze skupiny ethyl-fosfonátů. Ovlivňuje metabolismus aminokyselin a skladbu bílkovin. Je velmi rychle přijímán jak nadzemními částmi rostlin, tak i kořeny. V rostlině se pohybuje akropetálně a bazipetálně, je postupně rozváděn xylémem a floémem. Optimálně působí při preventivním způsobu použití v době aktivního růstu rostlin, má dlouhodobé působení. Preventivně ochraňuje i nově přistávané části rostlin mezi aplikacemi.

4.3 Příprava živného média

4.3.1 Příprava živného média pro izolaci a uchování izolátů

Pro 1 l V8 agarů:

- Do plastové nádoby o objemu 3000 ml bylo přidáno 800 ml destilované vody a 200 ml V8 juice.
- Byly naváženy 2 g CaCO_3 na laboratorních digitálních váhách a toto množství bylo přidáno do směsi destilované vody a V8 juice.

- Jelikož se CaCO_3 špatně rozpouští, bylo následně do této směsi vloženo magnetické míchadlo a po dobu 15 minut byla směs s míchána na magnetické míchačce (IKA RCT basic).
- Do skleněných uzavíratelných láhví či Erlenmayerových baňek o objemu 500 ml byly přidány 4 g agarů. Do každé baňky bylo odměřeno 250 ml hotové směsi.
- Láhve byly uzavřeny víčkem, Erlenmayerovy baňky byly překryty alobalem.
- Láhve s V8 juice agarem byly vloženy do Papinových hrnců či autoklávu s vodou a byly minimálně 20 minut (u autoklávu při 121 °C) sterilizovány.
- Po 20 minutách byly hrnce sundány z varné desky a byly ponechány samovolnému vychladnutí.
- Po několika minutách byly láhve s agarem vyjmuty, promíchány a ochlazeny vodou.
- Připravený V8 juice agar byl rozlit do připravených sterilizovaných Petriho misek o průměru 90 mm.

4.3.2 Příprava živného média pro fungicidní testy

- Pro testy citlivosti izolátů patogena *P. cactorum* bylo připraveno živné médium podle výše uvedeného postupu.
- Do připraveného vychlazeného stále tekutého agarů bylo přidáno určité množství fungicidního přípravku pipetou, poté byl hotový agar i s fungicidní látkou dostatečně promíchán.
- Připravený V8 juice agar byl rozlit do připravených sterilizovaných Petriho misek o průměru 90 mm.

4.4 Odkování, kultivace a uchování patogenu

Izoláty *P. cactorum* byly laskavě poskytnuty Ing. Ivanou Štífkovou (VÚRV, v.v.i.)

- Izoláty byly odkovány v dostatečném množství pro následující testy.
- Pomocí skalpelu ořehnutého nad plamenem byla přenesena část mycelia spolu s agarem ve tvaru tverce z izolátu na povrch agarů v Petriho misce.
- Od každého izolátu toto bylo zopakováno třikrát.

- Každá Petriho miska byla pomocí parafilmového pásku zabalena a popsána (kód izolátu a datum o kování).
- Izoláty byly kultivovány v termostatu při teplotě cca 20 °C ve tmě.

4.5 Testy citlivosti/rezistence k fungicidním látkám

- Účinné fungicidní látky byly nejprve rozpuštěny v DMSO, čímž byl získán zásobní roztok o koncentraci 10 mg/ml. Z něj tohoto roztoku byl připraven zásobní roztok o koncentraci 0,1 mg/ml. Do mikrozkušavek byly odměněny pomocí pipety rovné objemy těchto zásobních roztoků a DMSO tak, aby byly připraveny koncentrace fungicidních látek podle tabulky 1.

Tabulka 1. Koncentrace použitých fungicidních látek

ú. l. – účinná látka, K – kontrola

		zásobní roztok ú. l. (10 mg/ml)		zásobní roztok ú. l. (0,1 mg/ml)	
		na 250 ml agaru		na 250 ml agaru	
varianty	cílová koncentrace ú. l. v agaru [g/ml]	ú. l. [l]	DMSO [l]	ú. l. [l]	DMSO [l]
K	0	0	250	-	-
1.	0,001	-	-	2,5	247,5
2.	0,01	-	-	25	225
3.	0,1	-	-	250	0
4.	1	25	225	-	-
5.	10	250	0	-	-

- Formulovaný přípravek Aliette byl rozpuštěn ve sterilní ddH₂O a postupným přidáním ve vodě byly připraveny jeho roztoky tak, aby výsledné koncentrace jeho účinné látky fosetyl-Al v agaru byly 0,01; 0,1; 1; 10; 100 g/ml.
- V8 juice agar byl připraven tak, jak je uvedeno v předchozí kapitole a po jeho zchladnutí do něj byla přidána fungicidní látka o objemu 250 l.
- Testy byly provedeny ve třech opakováních. V případě testů s účinnými látkami byl do agaru kontrolní varianty přidán DMSO.

- Pomocí korkovrtu ofehnutého nad plamenem byly vyříznuty disky agarů s myceliem (Ø 9 mm) testovaného izolátu a tyto byly přeneseny na povrch agarů v Petriho misce u jednotlivých testovaných variant.
- Každá Petriho miska byla pomocí parafilmového pásku zabalena a popsána (kód izolátu a datum otkování).
- Izoláty byly kultivovány v termostatu při teplotě cca 20 °C ve tmě.

4.6 Odeřítání růstu mycelia a zhodnocení výsledků

- Odeřítání růstu mycelia izolátu *P. cactorum* bylo provedeno po 14 dnech a po 3 týdnech po otkování v závislosti na tom, kdy růst mycelia izolátu na kontrolní variantě dosáhl okraje Petriho misky.
- Růst mycelia byl měřen digitálním posuvným měřítkem.
- Byly odeřítány průměry narostlého mycelia a to vždy v křížích (kolmo na sebe) a tyto dvě hodnoty byly pro každé opakování vzájemně rovány.
- Petriho misky byly nafoceny pro následnou dokumentaci.
- Získaná data pro každý izolát a účinnou látku i fungicid byla použita pro výpočet % inhibice růstu mycelia (IR) a pro stanovení efektivní koncentrace fungicidní látky inhibující růst mycelia z 50 % (EC₅₀). Hodnoty EC₅₀ byly vypočítány pomocí regresní analýzy probitu procenta inhibice růstu ku logaritmu koncentrace fungicidní látky.
- Dále byla stanovena minimální inhibiční koncentrace (MIC) fungicidní látky, která inhibuje růst mycelia ze 100 %.

$$IR (\%) = 100 - \left(\frac{dT}{dK} \times 100 \right)$$

- dT = průměr mycelia (mm) testovaného izolátu na variantě s fungicidní látkou
- dK = průměr mycelia (mm) testovaného izolátu na kontrolní variantě

5 Výsledky

V předkládané práci jsou prezentovány výsledky získané v rámci monitoringu citlivosti 20 izolátů patogena *Phytophthora cactorum* pocházejících z 11 lokalit v České republice k 7 vybraným fungicidním látkám. Účinnost vybraných účinných látek na růst mycelia izolátů *P. cactorum* byla sledována pomocí *in vitro* testu na agaru.

5.1 Sběr infikovaného rostlinného materiálu

Z různých lokalit pěstování jahodníku byly získány vzorky rostlinných pletiv s příznaky způsobenými *P. cactorum*. V následující tabulce 2 jsou uvedeny lokality, kde byl proveden odběr vzorků.

Tabulka 2: Lokality odběru vzorků infikovaných *P. cactorum* a označení izolátů

izolát	lokality	kraj
17_4_1a	Praha – ok. Kunratice	hlavní město Praha
17_7_1_1_1	Pedimice nad Jizerou	Středočeský
17_57_P2a	Vraný	Středočeský
17_57_P2b	Vraný	Středočeský
17_9_12	Oskošek	Středočeský
17_8_1_1_17a	elákovice – ok. Sedlčany	Středočeský
17_26_1_1_3	elákovice – ok. Sedlčany	Středočeský
17_24_3a	Slaný	Středočeský
17_24_4a	Slaný	Středočeský
17_24_5b	Slaný	Středočeský
17_24_26	Slaný	Středočeský
17_12_5a	Plzeň – ok. Doudlevice	Plzeňský
17_12_12	Plzeň – ok. Doudlevice	Plzeňský
17_12_18b	Plzeň – ok. Doudlevice	Plzeňský
17_23_1a	Lomeč	Plzeňský
17_23_1b	Lomeč	Plzeňský
17_23_4a	Lomeč	Plzeňský
17_45_1b	Veselá u Semil	Liberecký
17_27_2	Turnov	Liberecký
17_99_1	Ostrovec – ok. Josefínská Huť	Vysočina

5.2 Testy účinnosti fungicidních látek

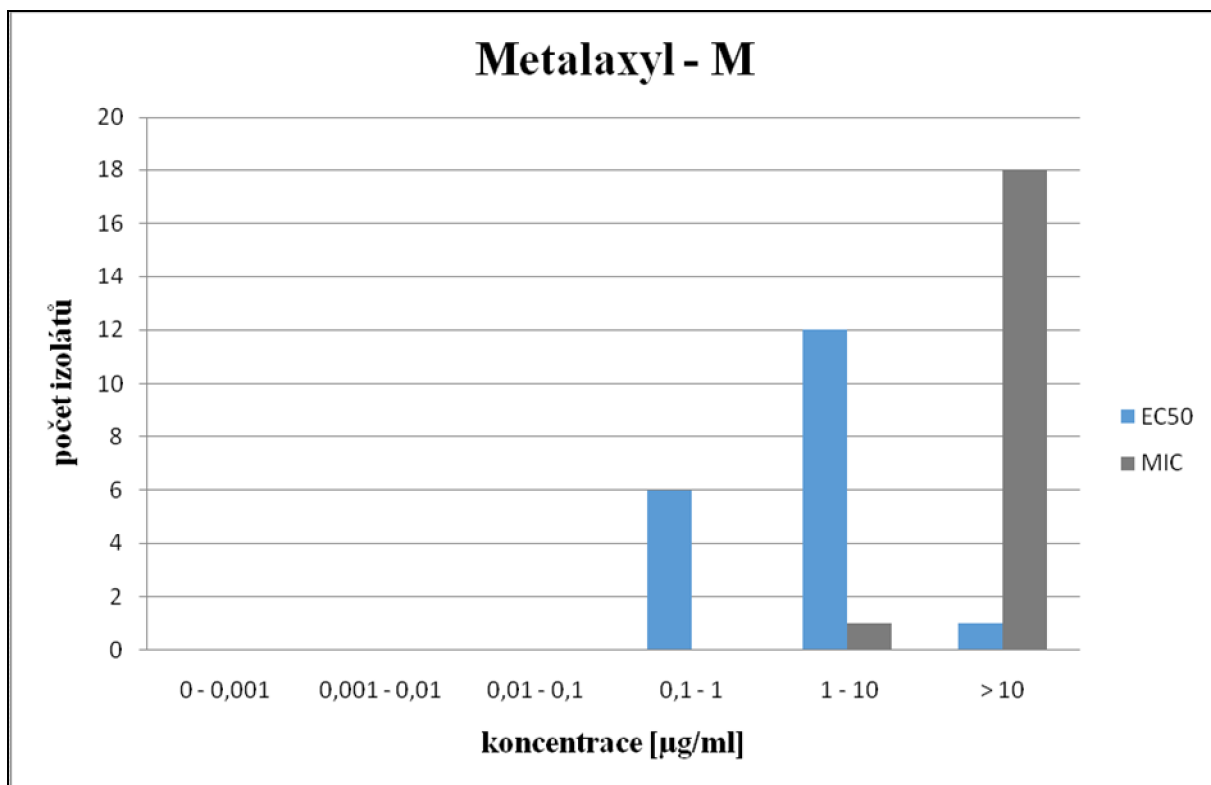
5.2.1 Metalaxyl-M

V tabulce 3 jsou uvedeny naměřené hodnoty EC_{50} a MIC fungicidní látky metalaxyl-M. U izolátu 17_4_1a nebylo možné spočítat EC_{50} , protože žádná použitá koncentrace neinhibovala růst patogena z 50 % i více %. Z naměřených výsledků vyplývá, že nejúčinnější fungicidní látkou byl inhibován izolát 17_57_P2b, protože již při koncentraci 0,347 g/ml metalaxylu-M bylo mycelium inhibováno z 50 %. Naopak nejméně byl inhibován fungicidní látkou již zmíněný izolát 17_4_1a. Nejvyšší hodnoty EC_{50} byly zaznamenány u izolátů 17_12_5a a 17_24_5b. U izolátu 17_24_4a byla stanovena minimální inhibiční koncentrace v rozmezí 1610 g/ml fungicidní látky. U ostatních izolátů minimální inhibiční koncentrace byla již nad 10 g/ml fungicidní látky.

Tabulka 3. Naměřené hodnoty EC_{50} a MIC u fungicidní látky metalaxyl-M

izolát	EC_{50} [g/ml]	MIC [g/ml]
17_4_1a	×	×
17_7_1_1_1	1,271	> 10
17_57_P2a	0,662	> 10
17_57_P2b	0,347	> 10
17_9_12	0,425	> 10
17_8_1_1_17a	0,705	> 10
17_26_1_1_3	1,148	> 10
17_24_3a	1,442	> 10
17_24_4a	0,504	1610
17_24_5b	5,693	> 10
17_24_26	3,120	> 10
17_12_5a	>10	> 10
17_12_12	2,479	> 10
17_12_18b	4,597	> 10
17_23_1a	1,239	> 10
17_23_1b	2,555	> 10
17_23_4a	2,343	> 10
17_45_1b	0,465	> 10
17_27_2	4,034	> 10
17_99_1	2,476	> 10

Graf . 1 ó Srovnání citlivosti izolát k fungicidní látce metalaxyl ó M



Z Grafu . 1 zachycujícího porovnání hodnot EC_{50} a MIC u fungicidní látky metalaxyl-M vyplývá, že pro 100% inhibici r stu patogena u v t-iny izolát (95 %) bylo zapotřebí vyšší koncentrace (> 10 µg/ml) fungicidní látky. Tato koncentrace inhibovala r st mycelia izolát z 68,7 %.

5.2.2 Propamocarb

U fungicidní látky propamocarb nebylo možné vypočítat hodnoty EC_{50} pro jednotlivé izoláty *P. cactorum*, jelikož žádná z použitých koncentrací fungicidní látky neinhibovala u žádného izolátu r stu patogena z 50 %. Minimální inhibiční koncentrace nebylo možné také vzhledem k charakteru r stu mycelia izolát stanovit, respektive hodnota MIC se nachází až za hodnotou nejvyšší použité koncentrace (10 µg/ml), která průměrně inhibovala r st všech izolát o 10,3 %.

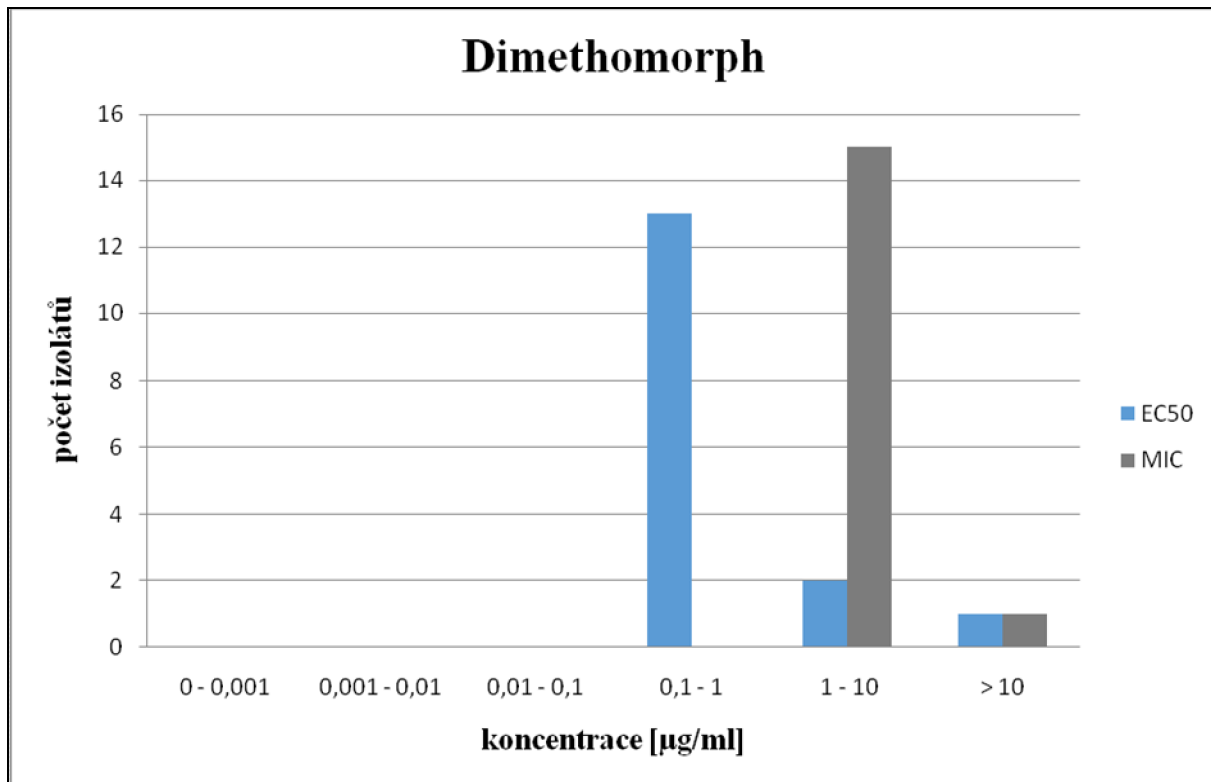
5.2.3 Dimethomorph

V tabulce . 4 jsou uvedeny naměřené hodnoty EC_{50} a MIC fungicidní látky dimethomorph. U izolát 17_7_1_1_1, 17_24_5b, 17_23_1b a 17_27_2 nebyly vypočítány hodnoty EC_{50} , protože žádná použitá koncentrace neinhibovala růst patogena z 50 %. Růst těchto izolátů byl v průměru inhibován z 13,35 % nejvyšší koncentrací (10 g/ml). Z naměřených výsledků vyplývá, že nejúrodněji byl fungicidní látkou inhibován izolát 17_9_12, protože již při koncentraci 0,463 g/ml dimethomorphu bylo mycelium inhibováno z 50 %. Naopak nejméně byl inhibován fungicidní látkou izolát 17_23_1a. U izolátu 17_23_1a byla stanovena minimální inhibiční koncentrace nad 10 g/ml fungicidní látky. U 70 % izolátů nejvyšší koncentrace způsobila 100% inhibici jejich růstu a minimální inhibiční koncentrace byla stanovena v rozmezí 1-10 g/ml fungicidní látky.

Tabulka . 4 Měřené hodnoty EC_{50} a MIC u fungicidní látky dimethomorph

izolát	EC_{50} [g/ml]	MIC [g/ml]
17_4_1a	0,689	1-10
17_7_1_1_1	×	×
17_57_P2a	0,875	1-10
17_57_P2b	1,076	1-10
17_9_12	0,463	1-10
17_8_1_1_17a	0,573	1-10
17_26_1_1_3	0,753	1-10
17_24_3a	0,880	1-10
17_24_4a	0,877	1-10
17_24_5b	×	×
17_24_26	0,502	1-10
17_12_5a	0,820	1-10
17_12_12	0,928	1-10
17_12_18b	0,811	1-10
17_23_1a	>10	> 10
17_23_1b	×	×
17_23_4a	0,671	1-10
17_45_1b	0,494	1-10
17_27_2	×	×
17_99_1	2,013	1-10

Graf . 2 - Srovnání citlivosti izolát k fungicidní látce dimethomorph



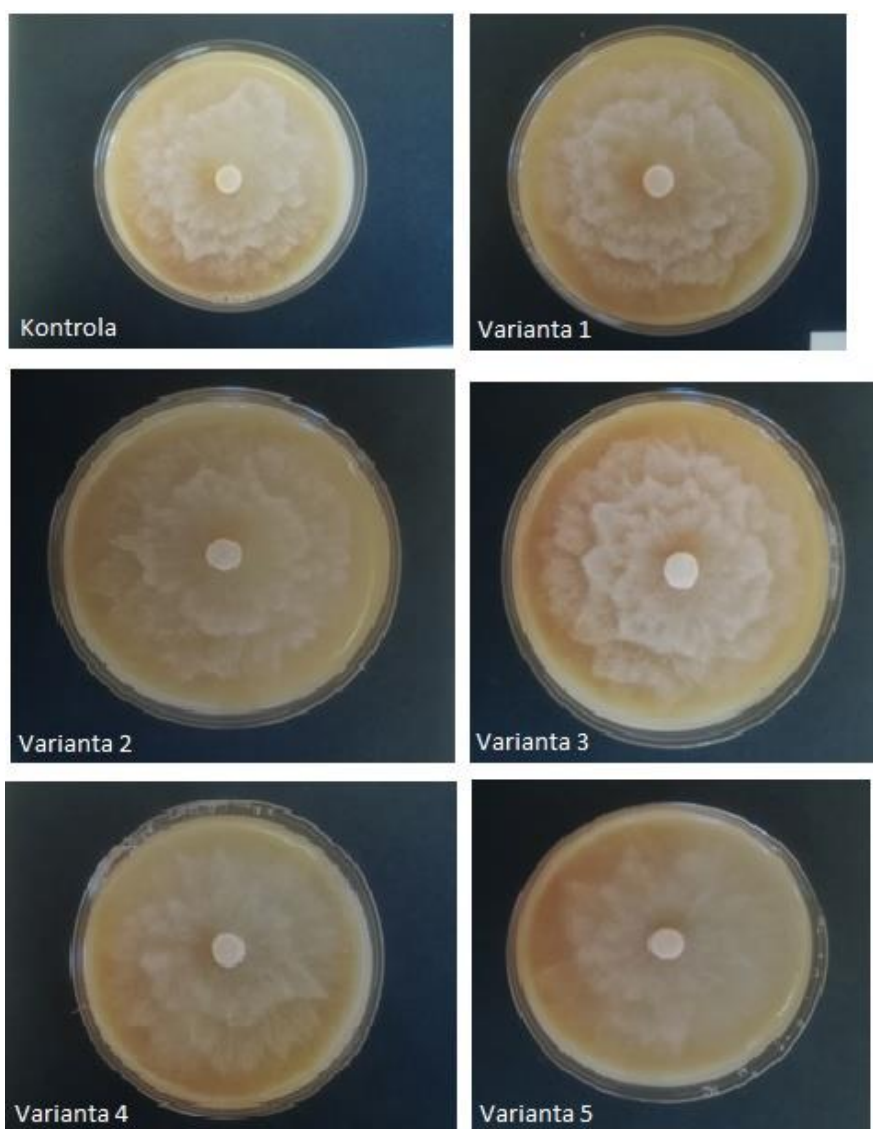
Z Grafu . 2 zachycujícího porovnání hodnot EC_{50} a MIC u fungicidní látky dimethomorph vyplývá, že pro 100% inhibici růstu patogena u většiny izolátů bylo zapotřebí koncentrace v rozmezí 1-10 µg/ml fungicidní látky. Pouze u jednoho izolátu byla minimální inhibiční koncentrace vyšší než 10 µg/ml fungicidní látky.

5.2.4 Cymoxanil

U fungicidní látky cymoxanil nebylo také možné vypočítat EC_{50} , jelikož žádná z použitých koncentrací fungicidní látky neinhibovala u žádného izolátu růst patogena z 50 %. Minimální inhibiční koncentrace nebylo možné rovněž stanovit, nebo ani nejvyšší koncentrace látky cymoxanil v agaru neomezila růst izolátů ze 100 %, pouze v průměru o 7,7 %.

5.2.5 Azoxystrobin

U fungicidní látky azoxystrobin jako v případě předchozích účinných látek rovněž nebylo možné stanovit EC_{50} , jelikož žádná z použitých koncentrací fungicidní látky neinhibovala u fládného izolátu r st patogena z 50 %. 100% inhibice r stu tedy rovněž nebyla pozorována u žádné z testovaných koncentrací. Nejvyšší koncentrace (10 g/ml) účinné látky azoxystrobin v průměru inhibovala r st všech izolátů o 20,6 %. Příklad inhibice r stu mycelia je demonstrována na Obrázku . 4.



Obrázek . 4 - Příklad nár st mycelia izolátu 17_23_1a pro všechny zkoušené koncentrace fungicidní látky azoxystrobin v porovnání s kontrolou

5.2.6 Fenamidone

U fungicidní látky fenamidone jako v případě předchozích účinných látek rovněž nebylo možné stanovit EC_{50} , jelikož žádná z použitých koncentrací fungicidní látky neinhibovala u žádného izolátu rost patogena z 50 %. 100% inhibice rost tedy rovněž nebyla pozorována u žádné z testovaných koncentrací. Nejvyšší koncentrace (10 g/ml) účinné látky fenamidone v průměru inhibovala rost všech izolátů o 27,5 %.

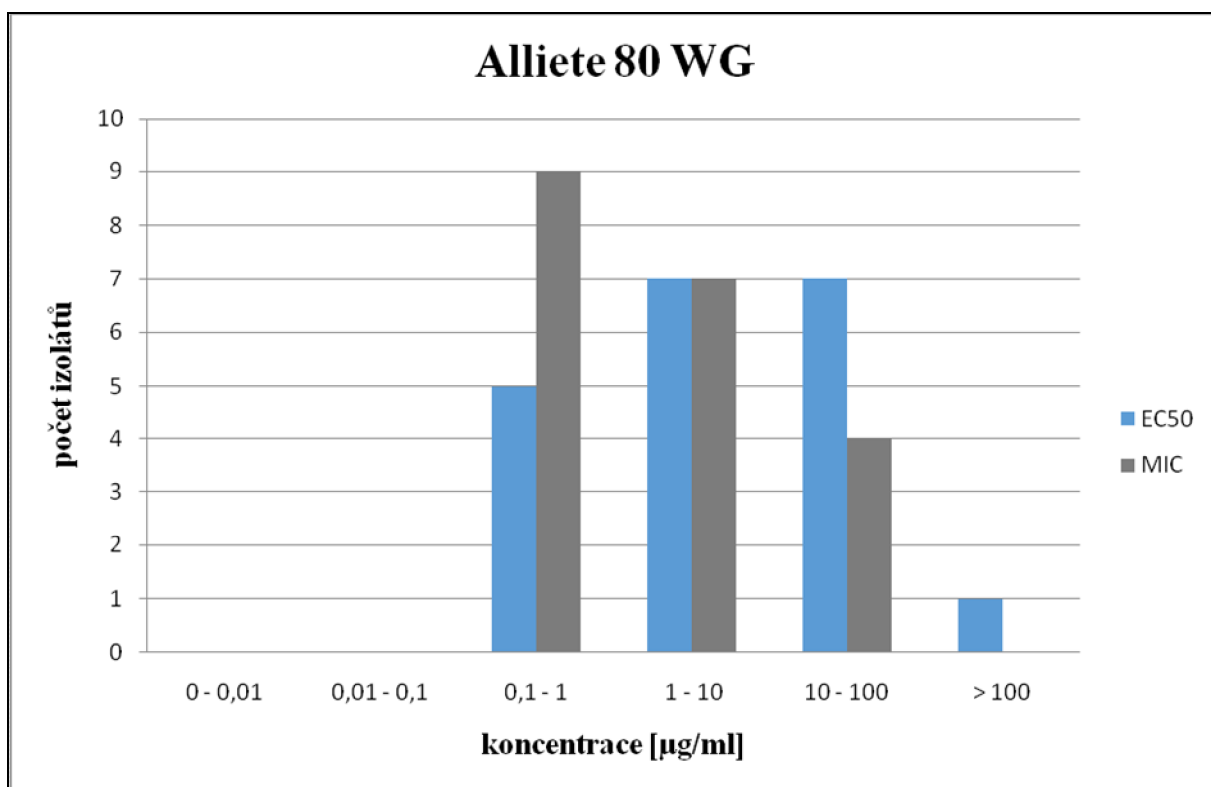
5.2.7 Alliete 80 WG

V tabulce 5 jsou uvedeny naměřené hodnoty a MIC účinné látky fosetyl-Al fungicidu Alliete 80 WG. Z naměřených výsledků vyplývá, že nejúčinněji byl fungicidní látkou inhibován izolát 17_57_P2a, protože již při koncentraci 0,002 g/ml účinné látky bylo mycelium inhibováno z 50 %. Naopak z naměřených hodnot byl nejméně inhibován fungicidní látkou izolát 17_57_P2b. U izolátů 17_4_1a, 17_57_P2b, 17_12_5a a 17_99_1 byla stanovena minimální inhibiční koncentrace v rozmezí 10-100 g/ml fungicidu. U izolátů 17_24_5b, 17_24_26, 17_12_12, 17_12_18b, 17_23_1b, 17_45_1b a 17_27_2 minimální inhibiční koncentrace fosetyl-Al byla v rozmezí koncentrací 1-10 g/ml. U ostatních izolátů se minimální inhibiční koncentrace pohybovala v rozmezí 0,1-1 g/ml.

Tabulka . 5 - Naměřené hodnoty EC_{50} a MIC u fungicidní látky fosetyl-Al p přípravku Alliete 80 WG

izolát	EC_{50} [g/ml]	MIC [g/ml]
17_4_1a	0,556	106100
17_7_1_1_1	0,006	0,161
17_57_P2a	0,002	0,161
17_57_P2b	1,433	106100
17_9_12	0,005	0,161
17_8_1_1_17a	0,012	0,161
17_26_1_1_3	0,005	0,161
17_24_3a	0,030	0,161
17_24_4a	0,022	0,161
17_24_5b	0,267	1610
17_24_26	0,059	1610
17_12_5a	0,615	106100
17_12_12	0,097	1610
17_12_18b	0,170	1610
17_23_1a	0,013	0,161
17_23_1b	0,090	1610
17_23_4a	0,003	0,161
17_45_1b	0,145	1610
17_27_2	0,114	1610
17_99_1	0,971	106100

Graf . 3 - Srovnání citlivosti izolát k fungicidní látce fosetyl-Al p úpravku Alliete 80 WG



V Grafu . 3 je znázorněno porovnání hodnot EC_{50} a MIC u fungicidu Alliete 80 WG, resp. jeho účinné látky fosetyl-Al. K 100% inhibici růstu patogena došlo u poloviny izolátů (45 %) již při koncentraci v rozmezí 0,1-1 µg/ml fungicidní látky.

6 Diskuze

Vývoj rezistence vůči fungicidům u rodu *Phytophthora* spp. představuje značný problém pro účinnou ochranu proti těmto celosvětově významným patogenům zejména proto, že vznik rezistence může být relativně rychlý proces (Ellis et al. 1998). Pravděpodobnost vzniku rezistence k některým chemickým látkám závisí na frekvenci kontaktu mezi patogenem a chemickou látkou nebo na časté aplikaci koncentracemi fungicidů, které jsou příliš nízké na to, aby byly účinné (Utkhede & Gupta 1988).

V této předkládané práci byla sledována citlivost 20 izolátů patogena *Phytophthora cactorum* pocházejících z 11 lokalit v České republice k 7 vybraným fungicidním látkám. Při testování byly použity konkrétně tyto fungicidní látky: metalaxyl-M, propamocarb, dimethomorph, cymoxanil, azoxystrobin, fenamidone a Alliete 80 WG s účinnou látkou fosetyl-Al.

Rezistence u některých kmenů i populací *P. cactorum* vůči metalaxylu byla dokumentována již od roku 1988 (Utkhede & Gupta 1988). Odhaduje se, že podíl rezistentních populací dosahuje v některých oblastech až 80 %, a to především tam, kde je účinná látka metalaxyl často používána (Utkhede & Gupta 1988; Jeffers et al. 2004; Reeleder et al. 2007; Hill & Hausbeck 2008). V této práci u většiny testovaných izolátů byla stanovena minimální inhibiční koncentrace účinné látky metalaxyl-M až nad nejvyšší použitou koncentraci 10 g/ml. Dokonce u izolátu 17_4_1a nebylo možné spočítat EC₅₀, protože žádná použitá koncentrace neinhibovala růst patogena z 50 i více % Měme tedy předpokládat, že zde existuje riziko rezistence k použité fungicidní látce.

Ve studii Englander et al. (1980) byl propamocarb úspěšně použit proti hnilobě kořenů rododendronů způsobené *P. cactorum*, účinná koncentrace byla ale výrazně vyšší než u metalaxylu. U fungicidní látky propamocarb nebylo možné vypočítat hodnoty EC₅₀ pro jednotlivé izoláty *P. cactorum*, jelikož žádná z použitých koncentrací fungicidní látky neinhibovala u žádného izolátu růst patogena z 50 %. Minimální inhibiční koncentrace nebylo možné také vzhledem k charakteru růstu mycelia izolátů stanovit, respektive hodnota MIC se nachází až za hodnotou nejvyšší použité koncentrace (10 g/ml). Tato skutečnost může být zapříčiněna nízkými použitými koncentracemi fungicidní látky.

Rezistence k účinné látce dimethomorph byla popsána u různých druhů rodu *Phytophthora*, například *P. nicotianae* (Chabane et al. 1996), *P. capsici* (Keinath 2007) a *P. infestans* (Stein & Kirk 2004; Rekanović et al. 2012). Naproti tomu dimethomorph byl považován za účinnou látku proti *P. cactorum* než metalaxyl, protože nebylo doloženo, že *P.*

cactorum je rezistentní vůči této látce (Hill & Hausbeck 2008). Z hlediska účinnosti fungicidní látky dimethomorph byla pozorována poměrně vysoká variabilita, která vyplývá z rozdílné reakce izolátů na použití této látky. U izolátů 17_7_1_1_1, 17_24_5b, 17_23_1b a 17_27_2 nebyly vypočítány hodnoty EC₅₀, protože žádná použitá koncentrace neinhibovala růst patogena z 50 %. Růst těchto izolátů byl v průměru inhibován z 13,35 % nejvyšší koncentrací (10 g/ml). U 70 % izolátů nejvyšší koncentrace způsobila 100% inhibici jejich růstu a minimální inhibiční koncentrace byla stanovena v rozmezí 1-10 g/ml fungicidní látky.

Cymoxanil byl používán ve fungicidních směsích, jako prevence vzniku rezistence vůči fungicidům skupiny fenylamidů u rodu *Phytophthora* (Samoucha & Gisi 1987). Thomidis (2003) testoval účinek této látky proti *P. cactorum* na broskvonicích. V jeho práci uvedl, že cymoxanil nemá žádnou fungicidní aktivitu proti *P. cactorum* v žádném jeho provedeném testu. U fungicidní látky cymoxanil nebylo také možné vypočítat EC₅₀, jelikož žádná z použitých koncentrací fungicidní látky neinhibovala u žádného izolátu růst patogena z 50 %. Minimální inhibiční koncentrace nebylo možné rovněž stanovit, nebo ani nejvyšší koncentrace látky cymoxanil v agaru neomezila růst izolátů ze 100 %, pouze v průměru o 7,7 %. V ČR není doposud tato fungicidní látka registrována na chemické ošetření jahodníku proti *P. cactorum*. Tato skutečnost by mohla vypovídat i o tom, že by na našem trhu s chemickými prostředky na ochranu jahodníku neměla uplatnění.

Citlivost k účinné látce azoxystrobin byla studována u řady různých druhů hub a oomycetů s použitím *in vitro* i *in vivo* metod (Gisi et al. 1997; Wong & Wilcox 2000; Mavroudi & Shaw 2005). Informace týkající se citlivosti druhů *Phytophthora* k látce azoxystrobin jsou značně omezené. Studie prováděné *in vitro* s myceliem a encystovanými zoosporami pro stanovení citlivosti k této fungicidní látce ukázaly, že *P. capsici*, *P. citrophthora* a *P. nicotianae* nebyly k této látce senzitivní (Matheron & Porchas 2000). V této předkládané práci u fungicidní látky azoxystrobin jako v případě předchozích účinných látek rovněž nebylo možné stanovit EC₅₀, jelikož žádná z použitých koncentrací fungicidní látky neinhibovala u žádného izolátu růst patogena z 50 %. 100% inhibice růstu tedy rovněž nebyla pozorována u žádné z testovaných koncentrací. Nejvyšší koncentrace (10 g/ml) účinné látky azoxystrobin v průměru inhibovala růst všech izolátů o 20,6 %. Rebollar-Alviter et al. (2005) ve své práci uvádí, že azoxystrobin se ukázal jako velmi účinný fungicid na ochranu proti hnilobě na plodech napadených *P. cactorum* na ošetřených pozemcích, ale nebyl plně hodnocen z hlediska účinnosti proti krkavé hnilobě. Rebollar-Alviter et al. (2007b) také uvádí, že testy citlivosti jednotlivých izolátů *P. cactorum* k fungicidní látce azoxystrobin na základě růstu mycelia ukázaly širokou variabilitu hodnot ED₅₀. Velká variabilita zjištěná v

testech citlivosti může být výsledkem velké genetické diverzity izolátů *P. cactorum*, které se nacházejí v Severní Americe.

U fungicidní látky fenamidone jako v případě předchozích účinných látek rovněž nebylo možné stanovit EC_{50} , jelikož žádná z použitých koncentrací fungicidní látky neinhibovala u žádného izolátu patogena z 50 %. 100% inhibice růstu tedy rovněž nebyla pozorována u žádné z testovaných koncentrací. Nejvyšší koncentrace (10 g/ml) účinné látky fenamidone v průměru inhibovala růst všech izolátů o 27,5 %. Rebollar-Alviter et al. (2007b) v jejich práci zmiňují, že citlivost mycelia k účinné látce je značně odlišná od citlivosti zoospor, alespoň za podmínek použitých v této studii. Tento nedostatek korelace je pravděpodobně způsoben vnitřními fyziologickými a morfologickými rozdíly mezi těmito dvěma životními stadii a schopností mycelia *P. cactorum* bránit se proti účinku QoI fungicidů použitím alternativní respirační dráhy *in vitro*. Jejich výsledky ukazují, že zoospory jsou citlivější než mycelium k fungicidům QoI, a proto mohou být lepším indikátorem citlivosti *P. cactorum* k těmto fungicidům.

Rebollar-Alviter et al. (2007b) ve své práci tvrdí, že v současné době jsou nejúčinnějšími fungicidními látkami na ochranu proti fytoftorové krávkové hnilobě jahodníku mefenoxam, fosetyl-Al a několik různých sloučenin na bázi fosforových kyselin. Obě tyto fungicidy byly široce používány na jahodnicích a jejich mechanismus účinku je dle vodem obavy z vývoje rezistence. Dosud nebyla publikována žádná zpráva o rezistenci k fungicidní látce fosetyl-Al u patogena *P. cactorum*.

Z naměřených výsledků fungicidu Alliete 80 WG, resp. jeho účinné látky fosetyl-Al vyplývá, že nejúčinněji byl fungicidní látkou inhibován izolát 17_57_P2a, protože již při koncentraci 0,002 g/ml bylo mycelium inhibováno z 50 %. Naopak z naměřených hodnot je patrné, že nejméně byl inhibován fungicidní látkou izolát 17_57_P2b. U izolátů 17_4_1a, 17_57_P2b, 17_12_5a a 17_99_1 byla stanovena minimální inhibiční koncentrace fosetyl-Al v rozmezí 106100 g/ml. U izolátů 17_24_5b, 17_24_26, 17_12_12, 17_12_18b, 17_23_1b, 17_45_1b a 17_27_2 minimální inhibiční koncentrace byla zaznamenána v rozmezí koncentrací 1610 g/ml. U ostatních izolátů se minimální inhibiční koncentrace pohybovala v rozmezí již při 0,161 g/ml této látky, což vypovídá o tom, že z použitých fungicidních látek tento přípravek nejvíce inhiboval růst mycelia izolátů.

Nesmíme také opomenout, že důležitou roli v zamezení vzniku rezistence k fungicidním látkám hraje antirezistentní strategie. Z čehož by měla být doporučená opatření uplatňována dříve než se rezistence projeví a pokud možno plošně (Kocourek et al. 2015).

7 Záv r

Celkem bylo získáno 20 izolát z rostlin infikovaných *P. cactorum* z 11 různých lokalit, u kterých byla testována citlivost k vybraným fungicidním látkám v *in vitro* podmínkách.

V práci bylo testováno 7 fungicidních látek (metalaxyl-M, propamocarb, dimethomorph, cymoxanil, azoxystrobin, fenamidone a fungicid Alliete 80 WG s úinnou látkou fosetyl-Al). Tyto látky byly vybrány, z toho důvodu, že i když v t-ina není v R k ochran jahodníku před *P. cactorum* registrována, jsou registrovány ve sv t nebo jsou zmín ny v publikacích.

U fungicidních látek propamocarb, cymoxanil, azoxystrobin a fenamidone bylo mofné vypo ítat hodnoty EC₅₀ a MIC pro jednotlivé izoláty *P. cactorum*, jelikož ani nejvyšší pouflitá koncentrace (10 g/ml) těchto úinných látek neinhibovala r st mycelia izolát z 50 i 100 %.

Hodnoty EC₅₀ úinné látky metalaxyl byly pro jednotlivé izoláty *P. cactorum* stanoveny v rozmezí 0,347 až >10 g/ml. U 19 izolát byla stanovena MIC úinné látky metalaxyl-M >10 g/ml a u jednoho izolátu v rozmezí 10 až 10 g/ml. Nejvyšší pouflitá koncentrace inhibovala r st mycelia izolát z 68,7 %.

Hodnota EC₅₀ úinné látky dimethomorph byla vypo ítána pro 16 izolát v rozmezí 0,463 až >10 g/ml. U 70 % izolát byla MIC stanovena v rozmezí 10 až 10 g/ml fungicidní látky. R st zbývajících izolát byl v pr m ru inhibován z 13,35 % až nejvyšší koncentrací (10 g/ml).

Jako nejúinnější fungicidní látka se jeví p ípravek Alliete 80 WG, u jehož úinné látky fosetyl-Al byly stanoveny nejnižší hodnoty EC₅₀ pro jednotlivé izoláty *P. cactorum* (0,0026 až 1,433 g/ml), a to v pr m ru 0,23 ± 0,37 g/ml. Hodnoty MIC této látky byly zaznamenány v širokém rozmezí 0,10 až 100 g/ml.

8 Literatura

- Ackermann P. 2013. Problematika rezistence oomycet a houbových patogen révy k fungicid m a antirezistentní strategie. Available from http://www.ekovin.cz/uploads/Soubory/rezistence_2013_11_03.pdf.
- Ackermann P. 2014. Omezení rizika vzniku rezistence. *Vina ský obzor* **107**:3086310.
- Agrios GN. 2005. *Plant pathology*. Elsevier Academic Press.
- agromanual.cz. 2019. Ú inné látky. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/pripravky/ucinne-latky> (accessed March 27, 2019).
- Agusti L, Bonaterra A, Moragrega C, Camps J, Montesinos E. 2011. Biocontrol of root rot of strawberry caused by *Phytophthora cactorum* with a combination of two *Pseudomonas fluorescens* strains. *Journal of Plant Pathology* **93**:3636372.
- Anandhakumar J, Zeller W. 2008. Biological control of red stele (*Phytophthora fragariae* var. *fragariae*) and crown rot (*P. cactorum*) disease of strawberry with rhizobacteria. *Journal of Plant Diseases and Protection* **115**:49656.
- Blackwell E. 1943. The life history of *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schroet. *Transactions of the British Mycological Society* **26**:71689.
- Chabane K, Leroux P, Bompeix G, Maia N. 1996. Dimethomorph and metalaxyl sensitivity in somatic hybrids of *Phytophthora parasitica* obtained by protoplast fusion. *Phytopathologia Mediterranea* **35**:1116116.
- Chang HS. 1988. *Phytophthora* species associated with strawberry fruit rot in Taiwan. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **29**:61667.
- Deutschmann VF. 1954. Eine Wurzelfäule an Erdbeeren, hervorgerufen durch *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* **6**:769.

- Eikemo H, Stensvand A. 2015. Resistance of strawberry genotypes to leather rot and crown rot caused by *Phytophthora cactorum*. *European Journal of Plant Pathology* **143**:4076-413.
- Eikemo H, Stensvand A, Davik J, Tronsmo AM. 2003. Resistance to crown rot (*Phytophthora cactorum*) in strawberry cultivars and in offspring from crosses between cultivars differing in susceptibility to the disease. *Annals of Applied Biology* **142**:836-89.
- Ellis MA. 2008. Leather Rot of Strawberry | Ohioline. Available from <https://ohioline.osu.edu/factsheet/plpath-fru-09> (accessed April 4, 2019).
- Ellis MA, Wilcox WF, Madden L V. 1998. Efficacy of metalaxyl, fosetyl-aluminum, and straw mulch for control of strawberry leather rot caused by *Phytophthora cactorum*. *Plant Disease* **82**:3296-332.
- Englander L, Merlino JA, McGuire JJ. 1980. Efficacy of two new systemic fungicides and ethazole for control of *Phytophthora* root rot of rhododendron, and spread of *Phytophthora cinnamomi* in propagation benches. *Phytopathology* **70**:1175-61179.
- Erwin DC, Ribeiro OK. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. APS Press, American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Gisi U. 2002. Chemical control of downy mildews. Pages 119-6159 in P. T. N. Spencer-Phillips, U. Gisi, and A. Lebeda, editors. *Advances in Downy Mildew Research*. Springer Netherlands.
- Gisi U, Hermann D, Ohl L, Steden C. 1997. Sensitivity profiles of *Mycosphaerella graminicola* and *Phytophthora infestans* populations to different classes of fungicides. *Pesticide Science* **51**:290-6298.
- Golebniak B, Jarosz A, Olechnowicz J. 2006. Susceptibility of strawberry cultivars to leather rot (*Phytophthora cactorum* and *P. citricola*). *Phytopathologia Polonica* **39**:149-6153.

- Goodman RN, Király Z, Wood KR. 1986. The Biochemistry and Physiology of Plant Disease. University of Missouri Press, Columbia.
- Grove GG, Madden L V., Ellis MA. 1985. Influence of temperature and wetness duration on sporulation of *Phytophthora cactorum* on infected strawberry fruit. *Phytopathology* **75**:7006703.
- Gulati MK, Koch E, Sikora RA, Zeller W. 2001. Biological control of *Phytophthora* diseases on strawberry with rhizobacteria. *IOBC WPRS BULLETIN* **24**:51656.
- Hartz TK, DeVay JE, Elmore CL. 1993. Solarization is an effective soil disinfestation technique for strawberry production. *HortScience* **28**:1046106.
- Hill SN, Hausbeck MK. 2008. Virulence and fungicide sensitivity of *Phytophthora cactorum* isolated from American ginseng gardens in Wisconsin and Michigan. *Plant Disease* **92**:118361189.
- Jeffers SN, Schnabel G, Smith JP. 2004. First report of resistance to mefenoxam in *Phytophthora cactorum* in the United States and elsewhere. *Plant Disease* **88**:576.
- Katan J, Greenberger A, Alon H, Grinstein A. 1976. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soil-borne pathogens. *Phytopathology* **66**:6836688.
- Kazda J, Mikulka J, Prokinová E. 2010. Encyklopedie ochrany rostlin. Profi Press, Praha.
- Keinath AP. 2007. Sensitivity of populations of *Phytophthora capsici* from South Carolina to mefenoxam, dimethomorph, zoxamide, and cymoxanil. *Plant Disease* **91**:7436748.
- Khandar RR, Bhowmik TP. 1990. Effect of different types of plastic tarp on the viability of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* Sacc. a soil borne plant pathogen. Proceedings of the the XI International Congress on the use of plastics in agriculture:1276133.
- Kloutvorová J, Skalský M, Ou ední ková J, Jaklová P, Valentová L. 2018. Integrovaná ochrana jahodníku. Výzkumný a –lechtitelský ústav ovocná ský Holovousy s.r.o.

- Kocourek F et al. 2015. Integrovaná ochrana ovocných plodin. Profi Press, s.r.o., Praha.
- Krátká J, Křížková I, Novotný D. 2008. Detekce *Phytophthora cactorum* a *P. cambivora* v pletivech jabloní klasickými a imunochemickými metodami. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.
- Lebert H, Cohn F. 1870. Über die Fäule der Cactusstämme. Beitr. Biol. Pflanz **1**:51657.
- Lederer W, Seemüller E. 1992. Investigations on the predisposition of strawberry plants to crown rot (*Phytophthora cactorum*). Journal of Plant Diseases and Protection **99**:2256-233.
- Lilja A, Karjalainen R, Parikka P, Kammiovirta K, Nuorteva H. 1998. Pathogenicity and genetic variation of *Phytophthora cactorum* from silver birch and strawberry. European Journal of Plant Pathology **104**:5296535.
- Maas JL. 1998. Compendium of Strawberry Diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Maas JL. 2004. Strawberry Disease Management. Pages 441-483 in S. A. M. H. Naqvi, editor. Diseases of Fruits and Vegetables: Volume II. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Madden L V., Ellis MA. 1990. Effect of ground cover on splash dispersal of *Phytophthora cactorum* from strawberry fruits. Journal of Phytopathology **129**:1706174.
- Madden L V., Ellis MA, Grove GG, Reynolds KM, Wilson LL. 1991. Epidemiology and control of leather rot of strawberries. Plant Disease **75**:4396446.
- Matheron ME, Porchas M. 2000. Impact of azoxystrobin, dimethomorph, fluazinam, fosetyl-Al, and metalaxyl on growth, sporulation, and zoospore cyst germination of three *Phytophthora* spp. Plant Disease **84**:4546458.

- Mavroeidi VI, Shaw MW. 2005. Sensitivity distributions and cross-resistance patterns of *Mycosphaerella graminicola* to fluquinconazole, prochloraz and azoxystrobin over a period of 9 years. *Crop Protection* **24**:2596266.
- Meszka B, Michalecka M. 2016. Identification of *Phytophthora* spp. isolated from plants and soil samples on strawberry plantations in Poland. *Journal of Plant Diseases and Protection* **123**:29636.
- National Center for Biotechnology Information. 2019. Taxonomy Browser. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=29920> (accessed April 10, 2019).
- Olcott-Reid B, Moore JN. 1995. Field reactions of strawberry cultivars and selections to anthracnose fruit rot, leather rot and gray mold in Arkansas. *Fruit Varieties Journal* **49**:4613.
- Parikka P. 2009. Screening plant resistance to *Phytophthora cactorum* with the dipping test. *Acta Horticulturae* **842**:3116314.
- Pérez-Jiménez RM, De Cal A, Melgarejo P, Cubero J, Soria C, Zea-Bonilla T, Larena I. 2012. Resistance of several strawberry cultivars against three different pathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research* **10**:5026512.
- Pettitt TR, Pegg GF. 1994. Sources of crown rot (*Phytophthora cactorum*) infection in strawberry and the effect of cold storage on susceptibility to the disease. *Annals of Applied Biology* **125**:2796292.
- Prochazkova-Rulfova J. 2009. Polyversum - Biological Fungicide for Plants Protection. Pages 1106112 in V. Svachula, M. Vach, and D. Tun, editors. PROSPEROUS OIL CROPS 2009. Prague.
- Rebollar-Alviter A, Madden L V., Ellis MA. 2005. Efficacy of azoxystrobin, pyraclostrobin, potassium phosphite, and mefenoxam for control of strawberry leather rot caused by *Phytophthora cactorum*. *Plant Health Progress* **6**:17.

- Rebollar-Alviter A, Madden L V., Ellis MA. 2007a. Pre- and Post-Infection Activity of Azoxystrobin, Pyraclostrobin, Mefenoxam, and Phosphite Against Leather Rot of Strawberry, Caused by *Phytophthora cactorum*. Plant Disease **91**:5596564.
- Rebollar-Alviter A, Madden L V., Jeffers SN, Ellis MA. 2007b. Baseline and differential sensitivity to two QoI fungicides among isolates of *Phytophthora cactorum* that cause leather rot and crown rot on strawberry. Plant Disease **91**:162561637.
- Rebollar-Alviter A, Wilson LL, Madden L V., Ellis MA. 2010. A comparative evaluation of post-infection efficacy of mefenoxam and potassium phosphite with protectant efficacy of azoxystrobin and potassium phosphite for controlling leather rot of strawberry caused by *Phytophthora cactorum*. Crop Protection **29**:3496353. Elsevier.
- Reeleder RD, Miller J, Capell B, Schooley J. 2007. Mefenoxam sensitivity and the impact of fumigation on *Pythium* species and *Phytophthora cactorum* in ginseng soils. Canadian Journal of Plant Pathology **29**:4276436.
- Rekanovi E, Poto nik I, Milija-evi -Mar i S, Stepanovi M, Todorovi B, Mihajlovi M. 2012. Toxicity of metalaxyl, azoxystrobin, dimethomorph, cymoxanil, zoxamide and mancozeb to *Phytophthora infestans* isolates from Serbia. Journal of Environmental Science and Health, Part B **47**:4036409.
- Reynolds KM, Ellis MA, Madden L V. 1987. Progress in development of a strawberry leather rot forecasting system. Adv. Strawberry Prod. **6**:18622.
- Reynolds KM, Madden L V., Ellis MA. 1988. Effect of weather variables on strawberry leather rot epidemics. Phytopathology **78**:8226827.
- Samoucha Y, Gisi U. 1987. Use of two- and three-way mixtures to prevent buildup of resistance to phenylamide fungicides in *Phytophthora* and *Plasmopara*. Phytopathology **77**:140561409.
- Schafleitner S, Bonnet A, Pedepirat N, Rocca D, Chartier P, Denoyes B. 2013. Genetic

- variation of resistance of the cultivated strawberry to crown rot caused by *Phytophthora cactorum*. Journal of Berry Research **3**:79691.
- Scheel D. 1998. Resistance response physiology and signal transduction. Current opinion in plant biology **1**:3056310.
- Sharma A, Bhardwaj LN, Gupta M. 2005. Leather rot of strawberry and its management ó A review. Agricultural Reviews **26**:59666.
- Stein JM, Kirk WW. 2004. The generation and quantification of resistance to dimethomorph in *Phytophthora infestans*. Plant Disease **88**:9306934.
- Thomidis T. 2003. A rapid method for in vitro evaluation of systemic fungicides against *Phytophthora* crown rot of fruit trees. Australasian Plant Pathology **32**:347.
- Utkhede RS, Gupta VK. 1988. In vitro selection of strains of *Phytophthora cactorum* resistant to metalaxyl. Journal of Phytopathology **122**:35644.
- Van der Plank JE. 1968. Disease resistance in plants. Academic Press, New York.
- Waterhouse GM. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycological Papers **92**:1622.
- Wedge DE, Smith BJ, Quebedeauxc JP, Constantinc RJ. 2007. Fungicide management strategies for control of strawberry fruit rot diseases in Louisiana and Mississippi. Crop Protection **26**:144961458.
- Wong FP, Wilcox WF. 2000. Distribution of baseline sensitivities to azoxystrobin among isolates of *Plasmopara viticola*. Plant Disease **84**:2756281.

9 Samostatné p ílohy

P íloha . 1 ó P ehled hostitel patogena *P. cactorum* (Erwin & Ribeiro 1996)

Host	Disease
<i>Abies</i> Mill.	Seedling rot
<i>Abies amabilis</i> Dougl. ex. J. Forbes	Root rot, necrosis, chlorosis
<i>Abies procera</i> Rehd.	Crown rot
<i>Abies procera</i> Rehd.	Root rot, necrosis, chlorosis
<i>Acacia</i> Mill.	Seedling rot
<i>Acer macrophyllum</i> Pursh.	Stem canker
<i>Acer palmatum</i> Thunb.	?
<i>Acer platanoides</i> L.	Stem canker, seedling rot
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	Bleeding canker
<i>Acer rubrum</i> L. (<i>A. sanguineum</i> Spach.)	Bleeding canker
<i>Acer saccharum</i> Marsh. (<i>A. saccharophorum</i> C. Koch)	Bleeding canker
<i>Acer saccharinum</i> L. (<i>A. dasycarpum</i> J. F. Ehrh.)	Bleeding canker
<i>Acer</i> spp.	Seedling rot
<i>Actinidia chinensis</i> Planch.	Root rot
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Bleeding canker
<i>Aesculus</i> sp.	Gummosis, stem canker
<i>Agonis flexvosa</i> Schav.	Root rot
<i>Alnus oregona</i> Nutt. (<i>A. rubra</i> Bong.)	Stem canker
<i>Anemone coronaria</i> L.	Root rot
<i>Ananas comosus</i> L.	Fruit rot
<i>Annona cherimola</i> Mill.	
<i>Antirrhinum majus</i> L.	Stem girdling, root rot
<i>Aquilegia</i> L.	Stem blight
<i>Arbutus menziesii</i> Pursh.	Stem canker
<i>Aster</i> L.	Stem blight
<i>Banksia dryandroides</i> Bayt. and Sweet.	Root rot
<i>Banksia hookerana</i> Meissn.	Root rot
<i>Banksia laricina</i> Gardn.	Root rot
<i>Banksia occidentalis</i> R. Br.	Root rot
<i>Banksia praemorsa</i> Andrews.	Root rot
<i>Bayera sesiflora</i> F. Muell.	Root rot
<i>Begonia</i> L.	Seedling rot
<i>Beta vulgaris</i> var. <i>crass</i> Alef.	Seedling damping-off
<i>Betula</i> L.	Bleeding stem canker
<i>Boehmeriae nivea</i> (L.) Gaud.-Beaup.	Leaf blight

<i>Brachychiton populineus</i> (Schott. and Endl.)	Stem canker
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>bullata</i> D. C.	Leaf blight
<i>Bryophyllum pinnatum</i> (L. Am.) Kurz.	
<i>Cactus</i> sp.	Root rot
<i>Calceolaria integrifolia</i> J. Murr. (<i>C. rugosa</i> Ruiz. and Pav.)	Stem canker
<i>Callistephus chinensis</i> (L.)	
<i>Calytrix angulata</i> Lindl.	Root rot
<i>Capsicum annum</i> L.	Seedling rot
<i>Capsicum frutescens</i> L.	Fruit rot
<i>Caragana arborescens</i> Lam. (<i>C. sibirica</i> Medic.)	Stem canker, seedling damping-off
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	Root and stem rot
<i>Carya illinoensis</i> (Wangenheim) K. Koch.	Shuck and kernel rot
<i>Castanea sativa</i> Mill. (<i>C. vesca</i> Gaertn.)	Stem canker
<i>Castanea</i> spp.	
<i>Cattleya</i> Lindl. sp.	Leaf blight
<i>Ceanothus thyrsiflorus</i> Eschsch.	Blight
<i>Cedrus deodara</i> (D. Don) G. Don	Seedling rot
<i>Centaurea</i> L.	Wilt
<i>Ceratonia siliqua</i> L.	
<i>Cereus giganteus</i>	Tissue rot
<i>Cereus martianus</i> Zucc.	Tissue rot
<i>Cereus peruvianus</i> (L.) Mill.	Tissue rot
<i>Cereus speciosus</i> (Cav.)	Tissue rot
<i>Chrysalidocarpus lutescens</i> Wendl. (<i>Areca lutescens</i> Bary)	
<i>Chrysanthemum cinerarifolium</i> (Trevir.) Vis.	Stem canker
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. f.	Fruit rot
<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merrill. (<i>C. grandis</i> (L.) Osbeck)	Stem canker
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Stem canker, fruit rot
<i>Citrus</i> spp.	Stem canker, fruit rot
<i>Citrullus vulgaris</i> Schrad.	Fruit rot
<i>Clarkia elegans</i> Dougl.	Stem and foot rot
<i>Clarkia pulchella</i> Pursh.	
<i>Cleome violacea</i> L.	Stem and foot rot
<i>Cleome viscosa</i> L.	Stem and foot rot
<i>Cornus</i> L.	Stem canker
<i>Cornus florida</i> L.	Crown rot
<i>Cornus nuttallii</i> Aud.	Stem canker

<i>Corylus avellana</i> L.	Fruit rot
<i>Corylus cornuta</i> var. <i>californica</i> (A. DC.) Sharp	Stem canker
<i>Cotoneaster horizontalis</i> Decne.	Fruit rot
<i>Crataegus</i> L.	
<i>Crowea saligna</i> Andr.	Root rot
<i>Cucumis melo</i> L. var. <i>inodorus</i> Naud.	Fruit rot
<i>Cucumis sativus</i> L.	Fruit rot
<i>Cydonia oblonga</i> Mill. (<i>C. vulgaris</i> Pers.)	
<i>Dahlia</i> spp.	Damping-off
<i>Daphne</i> spp.	Root rot
<i>Daucus carota</i> L.	Soft rot
<i>Dianthus caryophyllus</i> L.	Stem blight
<i>Diospyros kaki</i> L. f. (<i>D. chinensis</i> Blume)	
<i>Echinopsis eyriesii</i> Zucc.	Tissue rot
<i>Elaeagnus angustifolia</i> L.	Canker
<i>Epilobium</i> L.	
<i>Erica hyemalis</i> Nichols.	Stem canker
<i>Eriobotrya japonica</i> Lindl.	Crown rot
<i>Escallonia</i> Multis. ex L.f. sp.	Blight
<i>Eschscholtzia californica</i> Cham.	Foot and stem rot
<i>Eucalyptus</i> L. Her.	Root rot
<i>Euphorbia resinifera</i> Berger.	
<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench (<i>F. vulgare</i> Nees)	Seedling rot
<i>Fagopyrum fagopyri</i> Takm.	Root rot
<i>Fagopyrum tataricum</i> Gaertn.	Foot and stem rot
<i>Fagus grandifolia</i> Ehrh.	Bleeding canker
<i>Fagus</i> spp.	Seedling damping-off
<i>Fatsia japonica</i> (Thunb.) Decne and Planch.	Stem canker
<i>Feijoa sellowiana</i> O. Berg	Brown rot of fruit
<i>Forsythia</i> Vahl.	
<i>Fragaria vesca</i> L. × <i>ananassa</i> Duch.	Leather rot of fruit; stem, root, and crown rot
<i>Fraxinus</i> L.	Seedling rot
<i>Fremontodendron californicum</i> (Torr.) Cov.	Seedling rot, stem canker
<i>Fremontodendron mexicanum</i> Davids.	Seedling rot, stem canker
<i>Glycine max</i> (L.) Merrill (<i>G. soja</i> Hort.)	Seedling and root rot
<i>Godelia willdenowiana</i> Spach.	Foot and stem rot
<i>Gossypium herbaceum</i> L.	Pod rot

<i>Grammatophyllum</i> Blume.	Leaf blight
<i>Grevillea drummondii</i> Meissn.	Root rot
<i>Hakea francisiana</i> F. Muell.	Root rot
<i>Hakea platysperma</i> Hook.	Root rot
<i>Hebe speciosa</i> Lock. and Al.	
- <i>Buxifolia</i> ø	Root rot
<i>Heteromeles arbutifolia</i> (Ait.) Roem.	
(<i>Photinia arbutifolia</i> (Ait.) Lindl.)	Crown rot
<i>Hevea brasiliensis</i> Muell. Arg.	Leaf fall, stem canker, black stripe, root rot
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.	Foot rot
<i>Hibiscus schizopetalus</i> L.	Foot rot
<i>Humulus lupulus</i> L.	Black root rot
<i>Hydrastis</i> Ellis	Root and stem rot
<i>Hypocalyma angustifolium</i> Endl.	Root rot
<i>Incarvillea</i> Juss.	
<i>Iris</i> L.	
<i>Jasminum</i> L.	
<i>Juglans</i> L.	Black disease
<i>Juglans californica</i> Wats.	Crown rot
<i>Juglans hindsii</i> Jep.	Crown rot
<i>Juglans nigra</i> L.	Seedling rot
<i>Juglans pyriformis</i> Liebm.	Stem canker
<i>Juglans regia</i> L.	
(<i>J. regia</i> var. <i>sinensis</i> C. DC.)	Stem canker
<i>Juniperus procera</i> Hochst. ex. Endl.	Stem canker
<i>Kalanchoe</i> Adans. (<i>Bryophyllum</i> Salisb.)	Collar and stem rot
<i>Kalanchoe blossfeldiana</i> Poelln.	Stem rot
<i>Larix decidua</i> Mill.	Seedling rot
<i>Lathyrus</i> L. (<i>Orobus</i> L.)	Root rot
<i>Lepidium sativum</i> L.	Seedling rot
<i>Ligustrum</i> L. (<i>Parasyringa</i> W. W. Sm.)	
<i>Lilium</i> L.	Foot and stem rot
<i>Lilium candidum</i> L.	Foot rot
<i>Lilium dauricum</i> Ker-Gawl.	
<i>Lilium pyrenaicum</i> Gouan	Basal stem rot
<i>Linum usitatissimum</i> L.	Seedling rot, root rot
<i>Liquidamber styraciflua</i> L.	Bleeding stem canker
<i>Liriodendron</i> L.	Seedling rot
<i>Lycopersicon esculentum</i> L.	Fruit rot
<i>Malus pumila</i> Mill.	Fruit rot, crown and collar rot, sour sap, Moutere dieback
<i>Mammillaria</i> Haw.	Tissue rot
<i>Melocactus nigrotomentosus</i> L.	Tissue rot

<i>Melilotus alba</i> Medik.	Root rot
<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Lam.	Root rot
<i>Myristica fragrans</i> Hout.	
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Root rot
<i>Nyssa silvatica</i> Marsh (<i>N. multiflora</i> Wangenh.)	Seedling rot
<i>Oenothera biennis</i> L. (<i>O. muricata</i> L.)	Seedling rot
<i>Olea europaea</i> L.	Canker
<i>Ostrya</i> Scop.	Stem canker
<i>Paeonia albiflora</i> Pallas.	Bud, leaf and stem blight, downy mildew blight
<i>Panax</i> L.	Root rot
<i>Panax quinquefolium</i> L.	Mildew, stem canker, root rot, leaf blight, Koshi-ore
<i>Pelargonium radens</i> Moore. (<i>P. radula</i> (Cav.))	Stem rot
<i>Pelargonium tomentosum</i> Jacq.	Stem rot
<i>Persea americana</i> Mill.	Bark canker
<i>Photinia</i> <i>arbutifolia</i> (see <i>Heteromeles</i> above)	Crown rot
<i>Picea</i> L.	Seedling blight
<i>Picea abies</i> (L.) Karst. (<i>P. excels</i> Link)	Seedling disease
<i>Pimilea ferruginea</i> Labill.	Root rot
<i>Pinus coulteri</i> D. Don.	Seedling root rot
<i>Pinus mugo</i> Turra (<i>P. montana</i> Mill.)	
<i>Pinus muricata</i> D. Don. (<i>P. remorata</i> Mason)	Seedling rot
<i>Pinus nigra</i> Arnold. (<i>P. labrico</i> Poir)	Seedling root rot
<i>Pinus ponderosa</i> Dougl. ex P. Laws and C. Laws.	Seedling root rot
<i>Pinus resinosa</i> Ait.	Seedling root rot
<i>Pinus strobus</i> L.	Seedling root rot
<i>Pinus sylvestris</i> L.	Seedling disease
<i>Pisum sativum</i> L.	Root rot
<i>Platanus occidentalis</i>	Seedling blight
<i>Primula japonica</i> Gray	Stem canker
<i>Primula obconica</i> Hance	
<i>Prunus americana</i> Marsh	Stem canker
<i>Prunus armeniaca</i> L.	Bark canker, fruit rot
<i>Prunus avium</i> (L.) L.	Crown and trunk canker
<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh. (<i>P. myrobalana</i> (L.) Loisel)	Stem canker
<i>Prunus domestica</i> L.	Stem canker

<i>Prunus dulcis</i> Mill. D. Webb (<i>Prunus amygdalus</i> Batsch.)	Bark canker, collar rot, foot rot
<i>Prunus ilicifolia</i> (Nutt. ex Hook and Arnott) Walp.	Stem canker
<i>Prunus mahaleb</i> L.	Stem canker
<i>Prunus mume</i> Siebold and Zucc.	
<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	Bark canker, seedling blight
<i>Prunus</i> sp.	
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco	Crown rot
<i>Psidium guajava</i> L.	Fruit rot, storage rot
<i>Pyrus communis</i> L.	Collar rot, stem canker, fruit rot
<i>Quercus agrifolia</i> Nee	Trunk canker
<i>Quercus lobata</i> Nee	Seedling rot
<i>Rheum rhaponticum</i> L.	Crown rot
<i>Rhododendron</i> L.	Tuber, stem, and seedling rot
<i>Ribes grossularia</i> L.	Twig and flower blight
<i>Ribes</i> spp.	Leaf scorch wilt
<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	Seedling blight
<i>Robinia</i> sp.	Seedling blight
<i>Rosa laevigata</i> Michx.	Root rot
<i>Saintpaulia ionantha</i> Wendl. (<i>S. kewensis</i> Clarke)	
<i>Salix scoulerana</i> Barrett	Stem canker
<i>Salix scoulerana</i> Brtt. ex. Hook	Seedling blight
<i>Salix</i> sp.	Bleeding stem canker
<i>Salpiglossis sinuata</i> Ruiz and Pav.	Stem canker
<i>Schizanthus pinatus</i> Ruiz	Stem canker
<i>Schinus molle</i> L.	Stem canker
<i>Sempervivum glaucum</i> Schmittsp. and Lehm.	Stem, leaf, and flower rot
<i>Sempervivum</i> spp.	Root rot
<i>Sempervivum tectorum</i> L.	Stem, leaf, and flower rot
<i>Sesamum indicum</i> L. (<i>S. orientale</i> L.)	Stem canker, fruit canker
<i>Sinningia speciosa</i> (Lodd.) Hiern.	Stem canker
<i>Solanum capiscastrum</i> Link ex. Schauer.	
<i>Solanum melongena</i> L.	Seedling blight
<i>Solanum tuberosum</i> L.	Root rot
<i>Syringa vulgaris</i> L.	Leaf and twig blight
<i>Theobroma cacao</i> L.	Pod rot
<i>Tsuga orientalis</i> L.	Stem canker
<i>Tilia</i> sp.	Bleeding stem canker
<i>Tulipa</i> L.	Blossom blight, stem canker
<i>Ulmus</i> sp.	Bleeding stem canker

<i>Vanda coerulea</i> Griff. Ex Lindl.	Stem canker
<i>Verbena</i> L. (<i>Glandularia</i> . Gmel.)	Wilt
<i>Vicia faba</i> L.	Blight
<i>Vicia</i> sp.	Black rot
<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp.	Red stem canker
(<i>V. sinensis</i> (L.) Savi ex Hassk.)	
<i>Viola</i> sp.	Collar rot, stem canker