

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin (FAPPZ)



Účinnost esenciálních olejů na původce plísně bramboru

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor práce: Tereza Baťová

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

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci Účinnost esenciálních olejů na původce plísňě bramboru jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13. dubna 2015

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala všem členům Katedry ochrany rostlin a zvláště Ing. Janě Mazákové, Ph.D. za čas, který mi věnovala, za její odborné rady, pomoc při provádění laboratorních pokusů a při závěrečném zpracování bakalářské práce. Mé poděkování patří také všem mým blízkým za jejich velkou podporu.

Účinnost esenciálních olejů na původce plísně bramboru

Souhrn

Solanum tuberosum (lilek brambor) je velmi důležitá plodina hlavně v potravinářském průmyslu. Dle obsahových látek se zpracovává v lihovarech, škrobárnách nebo slouží pro přímý konzum.

Brambory trpí fyziologickými, virovými, bakteriálními a houbovými chorobami. Plíseň bramboru je nejobávanější chorobou, kterou způsobuje původce *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Napadá rostliny z čeledi *Solanaceae*, u kterých způsobuje závažné ztráty. Ztráty nejsou způsobené jen při pěstování, ale i během skladování a následném zpracování. Plíseň se objevuje každoročně a intenzita napadení porostů závisí hlavně na klimatických podmínkách a způsobu ochrany. Příznaky infekce se projevují na nadzemních i podzemních částech rostliny a způsobují jejich znehodnocení až zánik.

Existují dva způsoby, jak se patogen *P. infestans* může rozmnožovat. Nepohlavní rozmnožování je kritičtější pro rozvoj a šíření choroby v porostu, jelikož vzniká mycelium, které přežívá v infikované sadbě a na poli v nesklizených infikovaných hlízách, sporangia a zoospory, která způsobují sekundární infekce rostlin. Při pohlavním rozmnožování vznikají rekombinace, díky kterým se tvoří nové geneticky variabilní kmeny a ty mohou být rezistentní vůči přípravkům na ochranu rostlin. Existují dva pohlavní typy (A1 a A2), které společně dokážou vytvořit vitální oospory, ty přežijí v půdě i několik let a poté se stávají zdrojem primární infekce.

Tato bakalářská práce měla objasnit hypotézu, jestli existují esenciální oleje, které mají inhibiční účinek na růst patogenu *Phytophthora infestans* a jejich potenciální využití v ochraně hostitelských rostlin před tímto patogenem. Cílem bylo otestovat účinek vybraných esenciálních olejů na růst patogenu *Phytophthora infestans*.

Výsledky pozorování účinných látek jednotlivých esenciálních látek ukazují, že esenciální silice z rostlin *Eucalyptus citriodora* (EC), *Foeniculum vulgare* (FV), *Lavandula angustifolia* (LA), *Pimpinella anisum* (PA), *Salvia officinalis* (SO) a *Rosmarinus officinalis* (RO) vykazovaly alespoň u některého izolátu částečné omezení růstu patogenu. Nejméně účinná byla silice z rostliny *Pimpinella anisum* (PA), *Salvia officinalis* (SO) a *Rosmarinus officinalis* (RO). Naopak esenciální silice z rostlin *Cymbopogon winterianus* (CW), *Litsea*

cubeba (LC), *Mentha spicata* (MS), *Pelargonium graveolens* (PG), *Syzygium aromaticum* (SA) a *Thymus vulgaris* (TV) vykazovaly stoprocentní inhibici růstu patogenu *P. infestans*.

Rezistence patogenu *P. infestans* k fungicidním látkám se rok od roku zvyšuje a proto se musí hledat stále účinnější ochrana i přesto, že v dnešní době již existuje velká škála fungicidních účinných látek. V ekologickém zemědělství by esenciální látky v budoucnu mohly představovat jednu z možností, jak chránit rostliny proti patogenu *P. infestans*.

Klíčová slova: *Phytophthora infestans*, esenciální látky, silice, antifungální účinek, *in vitro* testy

Effectiveness of essential oils on causal agent of late blight

Summary

Solanum tuberosum (a potato) is a very important crop especially in the food industry. According to the substances it contains it is processed in distilleries, starch factories or it is used for direct consumption.

Potatoes suffer from physiological, viral, bacterial and fungal diseases. Potato blight is the most feared disease which is caused by originator *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. It attacks plants of the family *Solanaceae* in which it causes serious losses. The losses are caused not only during the cultivation but also during the storage and following processing. The blight appears every year and intensity of infestation stands depends on the climate and a way of protection. The symptoms of the infection show on overground and underground parts of the plant and cause its depreciation or even extinction.

There are two ways how pathogen *P. infestans* can duplicate. Asexual reproduction is critical for development and spreading of the disease in vegetation, because there is mycelium created which survives in infected seedlings and in the field in nonharvested infected tubers, sporangia and zoospores which cause secondary plant infections. During sexual reproduction there are recombinations created which creates new genetically variable tribes and these can be resistant against plant protection products. There are two sexual types (A1 and A2) which can create vital oospores which can survive in the soil for many years and after that they become a source of primary infection.

This bachelor thesis should clarify a hypothesis whether there are essential oils which have inhibitory effect on the growth of pathogen *Phytophthora infestans* and their potential usage in protection of host plants against this pathogen. The aim was to test the effect of chosen essential oils on the growth of pathogen *Phytophthora infestans*.

The results of observation of the individual active substances show that essential oils from plants *Eucalyptus citriodora* (EC), *Foeniculum vulgare* (FV), *Lavandula angustifolia* (LA), *Pimpinella anisum* (PA), *Salvia officinalis* (SO) a *Rosmarinus officinalis* (RO) showed at least one isolate partial restriction of pathogen growth. The least effective was an essential oil from *Pimpinella anisum* (PA), *Salvia officinalis* (SO) a *Rosmarinus officinalis* (RO). On

the other hand essential oils from *Cymbopogon winterianus* (CW), *Litsea cubeba* (LC), *Mentha spicata* (MS), *Pelargonium graveolens* (PG), *Syzygium aromaticum* (SA) a *Thymus vulgaris* (TV) showed one hundred percent inhibition of growth of the pathogen *P. infestans*.

P. infestans pathogen resistance to antifungal agents is increasing every year and therefore we have to search more efficient protection despite the fact that nowadays there is a wide range of fungicides. In organic farming essential ingredients could represent one of the ways to protect plants against pathogen *P. infestans*.

Keywords: *Phytophthora infestans*, the essential oils, the essences, the antifungal activity, *in vitro* tests

OBSAH

| | |
|--|----|
| 1 ÚVOD | 10 |
| 2 CÍL PRÁCE | 11 |
| 3 LITERÁRNÍ REŠERŠE | 12 |
| 3.1 Plíseň bramboru a její hostitelé | 12 |
| 3.2 Historie pěstování brambor | 12 |
| 3.3 Původ a taxonomické zařazení <i>P. infestans</i> | 14 |
| 3.4 Biologie <i>P. infestans</i> | 15 |
| 3.5 Příznaky plísně bramboru | 16 |
| 3.6 Rozmnožování <i>P. infestans</i> | 18 |
| 3.7 Ochrana brambor proti <i>P. infestans</i> | 19 |
| 3.7.1 Agrotechnická opatření | 19 |
| 3.7.2 Aplikace fungicidních přípravků | 22 |
| 3.7.3 Ukončení vegetace likvidací natě | 24 |
| 3.8 Šlechtění na rezistenci proti plísni bramboru | 24 |
| 3.9 Esenciální oleje | 25 |
| 4 MATERIÁL A METODY | 26 |
| 4.1 Sběr vzorků | 26 |
| 4.2 Izolace patogenu <i>P. infestans</i> | 26 |
| 4.3 Stanovení účinku esenciálních olejů | 27 |
| 5 VÝSLEDKY | 29 |
| 5.1 Sběr a izolace patogenu <i>P. infestans</i> | 29 |
| 5.2 Testy účinnosti esenciálních olejů | 30 |

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| 6 DISKUZE | 40 |
| 7 ZÁVĚR | 42 |
| 8 SEZNAM LITERATURY | 43 |
| 9 SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY | 46 |

1 ÚVOD

Solanum tuberosum (lilek brambor) je velmi důležitá plodina hlavně v potravinářském průmyslu. Dle obsahových látek se zpracovává v lihovarech, škrobárnách nebo slouží pro přímý konzum.

Brambory trpí fyziologickými, virovými, bakteriálními a houbovými chorobami. Plíseň bramboru je nejobávanější chorobou, kterou způsobuje původce *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Napadá rostliny z čeledi *Solanaceae*, u kterých způsobuje závažné ztráty. Ztráty nejsou způsobené jen při pěstování, ale i během skladování a následném zpracování. Plíseň se objevuje každoročně a intenzita napadení porostů závisí hlavně na klimatických podmínkách a způsobu ochrany. Příznaky infekce se projevují na nadzemních i podzemních částech rostliny a způsobují jejich znehodnocení až zánik.

Existují dva způsoby, jak se patogen *P. infestans* může rozmnožovat. Nepohlavní rozmnožování je kritičtější pro rozvoj a šíření choroby v porostu, jelikož vzniká mycelium, které přežívá v infikované sadbě a na poli v nesklizených infikovaných hlízách, sporangia a zoospory, která způsobují sekundární infekce rostlin. Při pohlavním rozmnožování vznikají rekombinace, díky kterým se tvoří nové geneticky variabilní kmeny a ty mohou být rezistentní vůči přípravkům na ochranu rostlin. V populacích patogenu byl nejdříve zaznamenán pouze pohlavní typ A1, který se rozmnožuje jen nepohlavně. Později byl objeven pohlavní typ A2, který v přítomnosti pohlavního typu A1 umožňuje patogenu *P. infestans* rozmnožovat se pohlavním způsobem a vytvářet tak vitální oospory, které přežijí v půdě i několik let a poté se stávají zdrojem primární infekce.

Důležitým faktorem ochrany brambor před původcem plísně bramboru jsou preventivní agrotechnická opatření, použití fungicidních přípravků a likvidace natě chemicky či mechanicky. Je třeba sledovat průběh počasí, ranost a odolnost odrůdy k původci plísně bramboru.

2 CÍL PRÁCE

Tato bakalářská práce má objasnit hypotézu, jestli existují esenciální oleje, které mají inhibiční účinek na růst patogenu *Phytophthora infestans* a jejich potenciální využití v ochraně hostitelských rostlin před tímto patogenem. Cílem práce bylo otestovat účinek vybraných esenciálních olejů na růst patogenu *Phytophthora infestans*.

3 LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 Plíseň bramboru a její hostitelé

Plíseň bramboru je nejslavnější, nejzávažnější a pravděpodobně nejzásadnější chorobou brambor (Franc et al., 2001). Jméno rodu *Phytophthora* je odvozeno z řečtiny, což znamená *phyto* - rostlina a *phthora* - ničitel (Erwin and Ribeiro, 1996). Jsou napadány rostliny z čeledi *Solanaceae*, závažné ztráty způsobuje jen na *Solanum tuberosum* a *Solanum lycopersicum* (Hausvater a kol., 2011a). Původcem je hemibiotrofní parazit *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (Erwin and Ribeiro, 1996). Jedná se o přizpůsobivý organismus, jehož populace se neustále mění. V České republice se vyskytuje každým rokem a škody mohou být až desítky procent a to i přes neustálé pokroky v ochraně, používání účinnějších fungicidů a práci genetiků a šlechtitelů (Hausvater a kol., 2011b). Jen jednou až dvakrát za desetiletí se objevují ročníky, které jsou bez plísně (Hausvater a kol., 2011a). Původce plísně bramboru napadá nať i hlízu a může dojít k totálnímu poškození (Hamouz, 2008). Dochází ke snížení fotosyntézy a napadené hlízy mohou být snadno napadeny sekundárními patogeny (*Erwinia carotovora*, *Fusarium sp.*), kteří radikálně snižují výnos i kvalitu na poli i ve skladovacích prostorech (Mazáková a Táborský, 2005).

Solanum tuberosum L. (brambor hlíznatý) a *Solanum lycopersicum* L. (rajče jedlé) z čeledě *Solanaceae* jsou nejvýznamnější hostitelé patogena *P.infestans* a druhotným hostitelem může být *Capsicum annuum* (paprika roční). Mnoho dalších hostitelů jsou planě rostoucí druhy z rodů *Datura*, *Lycium*, *Lycopersicum*, *Nicandra*, *Nicotiana*, *Petunia*, *Physalis*, *Salpiglossis*, *Schizanthus* a *Solanum*, které pocházejí také z čeledě *Solanaceae*. Na těchto rostlinách byl zjištěn původce plísně bramboru a to v různých oblastech světa, především na rostlinách uměle inokulovaných (Erwin and Ribeiro, 1996).

3.2 Historie pěstování brambor

V průběhu věků se vyvinuly dva základní botanické druhy brambor, kterými jsou *Solanum andigenum* (rozšířil se po celých oblastech And) a *Solanum tuberosum*. Domorodci sbírali hlízy jako pokrm z divokých rostlin i kultivovaných druhů. Evropané dobyvatelé a mořeplavci se s bramborami poprvé setkali na začátku 16. století v dnešním Peru. Ve střední Evropě se brambory začaly polně pěstovat od první poloviny 18. století. Brambory se poprvé staly polní plodinou v Irsku v roce 1640 a v Anglii v roce 1667 (Kutnar, 2005).

V letech 1771 – 1773 nastala katastrofální neúroda obilí v důsledku vytrvalých dešťů, kterou následovala dražota, bída a zhoubný hladomor. I díky tomu se podařilo překonat nedůvěru v pěstování brambor, začaly se objevovat návody, jak je pěstovat a brambory se postupně rozšiřovaly (Kutnar, 2005).

V roce 1781 podal Ignác Bóhm návrh, ve kterém popisuje výhody krmení hovězího a vepřového dobytka bramborami – je to levnější a zároveň vydatnější než výkrm ječným šrotem a dobytek dává tučnější maso. Začne se toho využívat ve 20. a 30. letech, ovšem pro tažné koně se brambory považují za málo vydatné krmivo. Brambory se podávaly vařené nebo syrové, mačkaly se a míchaly s řezankou, senem nebo obilním šrotem. Pokud se usušily, považovaly se za vydatnější krmivo (Kutnar, 2005).

Bramborářství v Česku dosáhlo velkých úspěchů před polovinou 19. století. Brambory zabíraly asi 6 % obdělávané půdy, z toho necelá polovina plochy spadala na Českomoravskou vysočinu a severovýchodní Čechy (Kutnar, 2005).

V polovině 19. století napadla evropské bramborářství suchá a mokrá hniloba. Nejdříve se objevila suchá hniloba, následována mokrou hnilobou, která se rozvinula infekcí hlíz hnilobnými bakteriemi. Ve 30. letech se objevila v Irsku, Skotsku, Anglii a poté v Německu, pronikala dále na východ a projevovala se ještě v letech 50. a 60. U nás se rozšířila ve 40. a 50. letech. Brambory začaly hnit na poli, napadení podlehlly ve vlhkých sklepech a sklizně poklesly o 50 až 70 %. Největší vlna rozvoje hniloby byla v letech 1846 – 1847, poté mírně polevila a v druhé vlně (1851 – 1853) propukla hniloba ve větší míře, která byla ještě více zhoubná (Kutnar, 2005).

Boj proti chorobě byl náročný, jelikož nebyly ještě známé příznaky a podmínky, za kterých se hnilobě daří. Začala se rozvíjet agrotechnika, zlepšovaly se agrotechnické postupy, zavedlo se střídání plodin a způsoby hnojení. Lidé se domnívali, že se choroba objevuje díky tomu, že se hnojí chlévskou mrvou, která má vysoký obsah dusíku (Kutnar, 2005).

Důležitým mezníkem v historii brambor byl hladomor v Irsku, který měl katastrofální následky. Trval od roku 1845 do roku 1849 a byl způsoben velmi vlhkým počasím, které podpořilo rozšíření *P.infestans*. Došlo k totální neúrodě brambor, které byly jediným zdrojem potravy většiny obyvatelstva v té době (Dowley and O'Sullivan, 1995). Sociální důsledky v Irsku, kde byl počet obyvatel silně závislý na úrodě brambor, byly závažné a emigrace v průběhu příštích pěti let vedla k výraznému poklesu počtu obyvatel (Gunn, 1990).

3.3 Původ a taxonomické zařazení *P. infestans*

Existují dvě teorie o místě původu parazita *P. infestans* a jeho prvotním zdroji. Jsou jimi andská a mexická teorie (Mazáková a kol., 2010).

Andská teorie je založená na tom, že parazit *P. infestans* pochází ze stejné oblasti jako jeho hostitel, čímž je Jižní Amerika (dnešní Peru a Bolívie). Tento názor byl akceptován do 50. let 20. století, kdy došlo k objevu obou pohlavních typů A1 a A2 ve středním Mexiku (Mazáková a kol., 2010).

Mexická teorie předpokládá, že pravděpodobným centrem původu *P. infestans* je střední Mexiko. V Mexiku (přesně v regionu Toluca) byl poprvé zaznamenán společný výskyt pohlavních typů A1 a A2 (Franc et al., 2001).

Největší roli v pěstování brambor sehrály dvě etapy migrace *P. infestans*. V průběhu první migrace *P. infestans* došlo ke spojení parazita s jeho hostitelem, čímž se z něj stal významný patogen nově se rozšiřující jedlé plodiny bramboru. Předpokládá se, že byl globálně rozšířen jeden jediný genotyp patogenu označený US-1, představitel pohlavního typu A1 (Mazáková a kol., 2010).

Druhá migrace *P. infestans* z Mexika zvýšila genetickou diverzitu populace patogenu na většině kontinentů (Franc et al., 2001). V ostatních zemích byl znám pohlavní typ A1, což se změnilo v roce 1976, kdy bylo z Mexika do Evropy přivezeno 25 000 tun infikovaných sadbových brambor. V roce 1981 byl pohlavní typ A2 zaznamenán i v jiných zemích Evropy a Asie a byl mnohem agresivnější než pohlavní typ A1 (Mazáková a Táborský, 2005). Výskyt pohlavního typu A2 byl zjištěn v Mexiku, Brazílii, Severní Americe (v USA i Kanadě), Evropě, severní Africe, jižní a jihovýchodní Asii (Franc et al., 2001).

V roce 1845 patogen popsal Dr. Montagne a pojmenoval jej *Botrytis infestans* (Mont.). O 16 let později Anton de Bary prokázal, že tento organismus je zodpovědný za vznik plísně bramboru na rostlinách bramboru a přejmenoval jej na *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (Drenth, 1994). Taxonomické zařazení dle indexfungorum (Roy, 1876).

Říše: *Chromista*

Kmen: *Oomycota*

Třída: *Oomycetes*

Řád: *Peronosporales*

Čeleď: *Peronosporaceae*

Rod: *Phytophthora* (Mont.) de Bary

3.4 Biologie *P. infestans*

Infekce - infekční vlákno se vytváří dvěma způsoby. Může vyklíčit přímo ze sporangia při teplotě okolo 24 °C nebo vyklíčí nepřímo při teplotě okolo 13 °C - ze sporangií se uvolňují zoospory, které se aktivně pohybují v kapkách vody, usadí se a vytvářejí se stěny buňky. Každá zoospora vytváří infekční vlákno. Klíčení nastane jen za předpokladu, že na listech jsou přítomny kapky vody. Infekční vlákno pronikne přes kutikulu nebo průduch listu do pletiv hostitele, které infikuje (Musil a Šenfěld, 1971).

Růst mycelia - vegetativní růst mycelia je závislý na stupni rezistence a teplotě. Optimální teplota je 20 – 23 °C (Musil a Šenfěld, 1971).

Inkubační období - inkubační období je časový interval od vzniku infekce až do doby, kdy se objeví její příznaky. Délka inkubačního období závisí na stupni rezistence a teplotě. Nejkratší inkubační období 66 – 77 hodin bylo zjištěno při 24 °C. Pokud je teplota nízká, inkubační období je delší (Musil a Šenfěld, 1971).

Fruktifikace - fruktifikace zahrnuje tvorbu sporangioforů (vzdušného mycelia) a sporulaci (tvorba sporangií) uvedeno v příloze č. 1. Aby fruktifikace mohla nastat, musí být relativní vzdušná vlhkost vyšší než 90 %. Teplota pro vznik vzdušného mycelia musí být v rozmezí 3 – 26 °C, avšak teploty pod 10 °C jsou charakteristické tím, že vzniká málo sporangií (Musil a Šenfěld, 1971).

Let sporangií - určitou dobu po vytvoření jsou sporangia ještě vázána na sporangiofory. Sporangia, která se vytvoří v noci, jsou roznášena až během dne, kdy je teplota vzduchu vyšší a relativní vzdušná vlhkost klesá. Když dojde k oddělení sporangií od

sporangioforů, sporangia jsou unášena atmosférou pomocí vzdušných proudů (Musil a Šenfeld, 1971).

Přezimování - původce plísně bramboru přezimuje na infikovaných hlízách ve formě mycelia. Zdrojem je infikovaná sadba (Musil a Šenfeld, 1971).

Šíření původce plísně bramboru během vegetace - *P. infestans* se šíří za teplého a vlhkého léta, v noci, kdy je vyšší relativní vzdušná vlhkost vzduchu, během podmráčního odpoledne, kdy sluneční svit nepřekročí dvě hodiny, při dešti a ovlhčení listu, které trvá déle než 13 hodin (Musil a kol., 1971). Plíseň bramborová se vyskytuje od června do října závisle na povětrnostních podmínkách (Musil a kol., 1965). V naší zemi dochází k největšímu výskytu od konce července do konce srpna a šíří se kruhovitě v podobě hnízd (Musil a Šenfeld, 1971).

3.5 Příznaky plísně bramboru

Primární infekce – mycelium, které přezimuje v sadbových hlízách, prorůstá přes stonky a řapíky do vrcholových lístků rostliny. Na těchto listech se vytváří mycelium se sporangii, které se šíří na další rostliny (Musil a Šenfeld, 1971). Na vegetačním vrcholu hnědnou, černají, lámou se a odumírají lístky, listy a stonky (Rasocha a kol., 2008). Infekce se šíří po řapících (Rasocha a Doležal, 2004).

Sekundární infekce

Projevy na listech - mycelium prorůstá mezibuněčnými prostory, tvoří haustoria, která pronikají do buněk a vysávají z nich buněčný obsah, následně dochází k odumírání buněk (Musil a Šenfeld, 1971). Projeví se na nejspodnějších (vegetativně nejstarších) listech, protože se zde nejdéle drží voda. Tvoří se žluté, hnědé až černé vodnaté nekrotizující skvrny, které se objevují na okraji listů a postupně se zvětšují. Infikována je celá rostlina i veškerý porost (Čepl a kol., 2009) uvedeno v příloze č. 2. Podoba skvrn se liší v závislosti na stáří listu (Fry et al., 2001). Při delším působení vlhkých podmínek vzniká na rubu listů a na okrajích skvrn bělavý povlak mycelia, který je tvořený sporangiofory a později je napadena celá rostlina, která odumírá (Erwin and Ribeiro, 1996). Příznaky se mohou objevit za 5 – 6 dní po infekci, obvykle ale později v závislosti na teplotě a vlhkosti (Rasocha a Doležal, 2004).

Mycelium vyžaduje vlhko a teplo, aby se mohlo šířit. Vzniká při vysoké relativní vzdušné vlhkosti. Ke konci léta už se myceliový povlak objevuje na obou stranách listů a při suchém létě povlak mizí. Zhnědlé části listů zaschnou a drolí se (Musil a Hruška, 1965). Mycelium může růst v rostlině měsíce, aniž by se vytvářely sporangia. Jakmile bude prostředí vhodné, na rostlině se vyskytne mycelium se sporangii (Musil a Šenfeld, 1971). Díky trvale teplému a vlhkému počasí může být během pár dní celá listová plocha zničena a v porostu zůstanou pouze hnědé vzpřímené stonky, na kterých jsou zbytky odumřelých listů. Zvláště velmi rané, rané a polorané odrůdy brambor mohou být zničeny za krátkou dobu při působení příznivých povětrnostních podmínek (Musil a Hruška, 1965).

V místě vážného napadení rostliny je zřejmý charakteristický dráždivý pach, který se line na velké vzdálenosti (Franc et al., 2001). Příznaky způsobené patogenem *P.infestans* u rajčat jsou velmi podobné příznakům na bramboru. Symptomy jsou často podobné těm, které jsou způsobené mrazem (Erwin and Ribeiro, 1996).

Projevy na porostech - plíseň se objevuje nejdříve ojediněle v určitých místech a za příznivých podmínek se rozšiřuje na celý porost (Musil a kol., 1965). Všechny části rostliny jsou náchylné k infekci (Franc et al., 2001).

Projevy na hlízách - v souvislosti s plísní se na hlízách objevuje hnědá hniloba (Musil a Hruška, 1965). *P. infestans* se nejlépe šíří na těžkých a nepropustných půdách, kde se voda hromadí alespoň 13 hodin (Musil a Šenfeld, 1971). Hlízy bývají postiženy později než nadzemní části rostliny (Erwin and Ribeiro, 1996). Plíseň může vzniknout už v době, kdy mají hlízy ještě slabou slupku (Musil a Šenfeld, 1971). První příznaky lze zpozorovat v době sklizně (Rasocha a kol., 2008). Infekce na hlízách se nejprve jeví navenek, ale poškození se mohou rozšířit i několik centimetrů do hlízy (Franc et al., 2001). Objevují se suché, nepravidelné, propadlé, olivově šedé skvrny, které mají různou velikost. Dužnina brambor je u slupky rezavě hnědě zbarvená. Skvrny se rozrůstají od slupky ke středu hlízy (Musil a Hruška, 1965). Hranice mezi symptomatickou a bezpříznakovou tkání není plynulá, kontinuálně ohraničená. Na místo toho se poškození mohou rozšiřovat do různých hloubek a blednou (Franc et al., 2001). Často se objevuje sekundární infekce bakteriální nebo fusariovou hnilobou a hlízy hnijí již v půdě nebo později ve skládkách (Rasocha a kol., 2008).

3.6 Rozmnožování *P. infestans*

Nepohlavní rozmnožování je kritičtější a podílí z větší části na infekcích než pohlavní rozmnožování (Franc et al., 2001) uvedeno v příloze č. 3. Vzniká mycelium, které přežívá v infikované sadbě a na poli v nesklizených infikovaných hlízách (Mazáková a kol., 2010). Mycelium prorůstá do klíčků, do stonku a šíří se i do vrcholových částí rostliny a zde se objevují primární příznaky ve formě ložisek sporangioforů (Mazáková a Táborský, 2005).

Sporangiofory se tvoří na rubu listů, na stonku nebo v úžlabí řapíků (Mazáková a kol., 2010). Sporangia, která jsou mnohoaderná, typická citrónovým tvarem a velikostí 21 – 23 x 21 – 38 µm, mohou ve vzduchu za oblačného počasí přežít až několik hodin, naopak za slunného počasí přežijí jen jednu hodinu a jsou roznášena prouděním vzduchu a deštěm na jiné rostliny, s tím souvisí důležitost vlhkostních a teplotních charakteristik (Franc et al., 2001). Minimální teplota pro tvorbu sporangií je 4 °C, optimálních je 20 °C a maximálních je 26 °C. Vývoj choroby je nejlepší při teplotách 16 - 21 °C, za oblačna a vlhka, kdy se nepřetržitě vytváří nová sporangia (Erwin and Ribeiro, 1996). Pokud nastanou ideální podmínky, čímž jsou téměř 100% vzdušná vlhkost a teplota kolem 20 °C, začne sporangium klíčit přímo v infekčním hyfu a způsobuje další infekce. Za deště, nižší teploty a při rose ve sporangiu vznikne 2 – 7 pohyblivých zoospor ledvinovitého tvaru, které přispívají k rychlému šíření houby. Infekční hyfy proniknou do mezibuněčných prostor a za pomoci haustorií proniknou do hostitelské buňky, ze které si odebírají potřebné živiny (Mazáková a Táborský, 2005). Zoospory jsou jednojaderné a mají 2 bičíky různé délky. Bičík, který směřuje dopředu je vodící, zadní bičík je pohánějící (Franc et al., 2001). Sporangia neztratí klíčivost ani při teplotě - 8,5 °C, nižší teploty již ale nesnesou (Mazáková a kol., 2010). Náchylnější tkáně mohou být infikované v průběhu 2 hodin po kontaktu hostitelem s patogenem, ale většina infekcí vzniká až po více než 2 hodinách (Franc et al., 2001).

Pokud hlízy navážou kontakt s *P. infestans*, dojde k infekci hlíz. Výskyt infekce na konkrétním místě je vysoce variabilní rok od roku a velmi záleží na zvolené odrůdě brambor. Infekce se může objevit během sklizně, při manipulaci i následném skladování (Franc et al., 2001).

Patogen *P. infestans* se **pohlavně rozmnožuje** pouze za předpokladu, že se v bezprostřední blízkosti vyskytují hyfy opačných pohlavních typů, kterými jsou pohlavní typ A1 a A2 (Mazáková a kol., 2010). Interakcí hyf A1 a A2 pohlavních typů vznikají samčí a samičí gametangia, která spolu splývají a tvoří oospory (Drenth, 1994). Ty mají velikost kolem 24 – 46 µm v průměru a klíčí pomocí klíčícího vlákna, které je zakončeno terminálním

sporangiem (Franc et al., 2001). Jestliže dojde k interakci obou pohlavních typů, vytvoří se specifické feromony, které indukují tvorbu samičích pohlavních orgánů - oogonia a samčích pohlavních orgánů - antheridia (Mazáková a Táborský, 2005). Funkce obou pohlavních typů souvisí s hybridizací, která se v potomstvu projeví jako rekombinace (Mazáková a kol., 2010). Oospory mají silnou buněčnou stěnu, díky které přežijí nepříznivé podmínky, kterými jsou sucho a mrazy (Franc et al., 2001).

V České republice byl první výskyt oospor prokázán v roce 2003 u izolátů, které pocházely z ranobramborářské oblasti (Mazáková a Táborský, 2005).

Experimenty dokázaly, že oospory mohou přežít nízké teploty do $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a vysoké teploty do $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, ale jen krátkodobě. Infekce může nastat v přítomnosti hostitele kdykoli během vhodných podmínek pro rozvoj patogenu. Oospory napadají listy ve spodních patrech a tím jsou chráněny před fungicidy. Za nepříznivého počasí mohou oospory přežít v listech a stoncích (Mazáková a kol., 2010). Jakmile nastanou optimální podmínky, čímž je chladné a vlhké počasí, dojde k infekci (Erwin and Ribeiro, 1996). Díky pohlavnímu rozmnožování vznikají geneticky variabilnější populace, které jsou zkoumány na základě genetických markerů (Mazáková a kol., 2010).

3.7 Ochrana brambor proti *P. infestans*

Důležitým faktorem jsou preventivní agrotechnická opatření, použití fungicidních přípravků a likvidace natě chemicky či mechanicky (Hausvater a kol., 2011a). Důležité je sledovat průběh počasí, ranost a odolnost odrůdy k původci plísní bramboru (Hausvater a kol., 2011b). Při intenzivním pěstování brambor se musí používat fungicidy, jelikož neexistuje biologická ochrana, která by byla dostatečně účinná. Výskyty infekce se liší každým rokem a odvíjí se v závislosti na průběhu počasí a množství infekčních zdrojů v oblasti. Rozhodují meteorologické a půdní faktory v mikrolokalitě a daném porostu a neméně důležitý faktor je náchylnost pěstované odrůdy (Hausvater a Doležal, 2014).

3.7.1 Agrotechnická opatření

Těmito opatřeními se oddaluje napadení porostů a omezuje se další šíření choroby (Hausvater a kol., 2011a). Rovněž je podpořena účinnost přímé fungicidní ochrany nebo snížena její náročnost (Hausvater, 2000). Mezi agrotechnická opatření patří výběr lokality pozemku, výběr odrůd, osevní sledy, biologická příprava sadby a včasná výsadba, likvidace

infekčních zdrojů, vyrovnaná výživa, hloubka výsadby, tvar a nahrnutí hrůbků, připravenost porostu na sklizeň, sklizeň a posklizňová úprava a skladování (Hausvater a kol., 2011a).

Výběr lokality pozemku - původci plísně bramboru nevyhovují k šíření otevřená stanoviště s častým prouděním vzduchu a lehká půda. Nevhodná (riziková) jsou uzavřená stanoviště u lesa a vodních ploch, kde je vysoká hladina spodních vod a půda je těžká, pomalu vysychající. Dlouhodobé vlhko vytváří ideální podmínky pro šíření plísně v porostu. Je nezbytné na takováto stanoviště použít nejodolnější odrůdy (Hausvater a kol., 2011a).

Výběr odrůd - platí, že na rizikové lokality se využívají odrůdy odolnější k plísni v natí a na hlízách. Odrůdy, které mají vyšší odolnost hlíz k infekci, se hodí k dlouhodobějšímu skladování (Hausvater a kol., 2011a). Obvykle jsou velmi rané a rané odrůdy náchylnější k plísni (Hausvater, 2000). Náchylné odrůdy vyžadují důslednější ochranu a měly by se vysazovat nejdříve (Musil, 1971). U odolných odrůd lze omezit fungicidní ochranu nebo použít méně účinné a levnější přípravky (Hausvater a Doležal, 2014).

Osevní sledy - osevní postup je velmi důležitý, protože pohlavní rozmnožování patogenu a zjištění výskytu oospor v pletivech přirozeně infikovaných rostlin znamená, že v půdě může být přítomen zdroj infekce a proto by se brambory na stejném stanovišti měly pěstovat nejdříve za 4 roky (Hausvater a kol., 2011a).

Biologická příprava sadby a včasná výsadba - náchylnější k infekci jsou mladé porosty, které ještě nejsou vyvinuté (Hausvater, 2000). Výnos hlíz u fyziologicky mladých a nevyvinutých porostů je velmi redukován (Hausvater a kol., 2011a). Naopak čím je porost v pozdějším stadiu vývoje, tím nižší jsou ztráty způsobené chorobou (Hausvater, 2000). Naklíčením nebo narašením sadby ve správnou dobu lze urychlit vývoj porostu, aby v období nástupu infekce byl porost v pokročilém stadiu vývoje a ztráty byly menší (Hausvater a kol., 2011a).

Hlízy se naraší různými způsoby dle možností a podmínek zemědělského závodu a doba závisí na výši teploty. Při teplotě 12 °C trvá předklíčování 5 – 6 týdnů a při teplotě 15 °C trvá 4 – 5 týdnů. Poslední týden se musí hlízy otužit a tak je nutné větrat a teplotu snížit na 6 – 8 °C (Musil a Hruška, 1965).

Narašení na rozptýleném světle – hlízy, které se vytřídily, se 20 dnů před výsadbou rozprostřou ve vrstvě silné 50 cm do vhodných prostor, které lze dobře chránit před nočními mrazy a deštěm. Pokud jsou příznivé teplotní podmínky, využívá se rozptýlené světlo

otevíráním vrat, která se v noci uzavírají. Po 8 – 10 dnech dochází k převrstvení, aby i hlízy ve spodní části byly vystaveny účinkům světla. Na světle hlízy zelenají, vytvoří základy klíčků a otuží se (Musil a Hruška, 1965).

Narašení s omezeným přístupem světla – jednodušší metoda, kdy se přetříděná sadba vyrovná 10 – 14 dní před výsadbou na mlatech (jiných vhodných prostorech nebo v krechtech), hlízy se vyrovnají do vrstvy silné 50 cm, zakryjí se starými pytli a nechají se narašit. Pokud se zvýší denní teplota, musí se hlízy odkrýt, aby klíčky nepřerostly. Do krechtu se sadba zakládá ve vrstvě silné 50 cm, přikryje se pytli a vrstvou slámy, případně starými prkny (ochrana proti dešti). Pět dní před výsadbou se sadba otužuje pomocí větrání (Musil a Hruška, 1965).

Předklíčování na denním světle – je účinnější metoda, při které se může výnos zvýšit až o 10 %. Využívají se všechny vhodné prostory s dostatečným přístupem denního světla, které jsou dobře větratelné. Nejvhodnější teplota je 10 – 15 °C a relativní vzdušná vlhkost by měla být 80 – 90 % (Musil a Hruška, 1965).

Předklíčování při umělém světle – k osvětlení se používají zářivky, které nejsou opatřeny stínidly a jsou umístěny na stojanech nebo objímkách upevněných u stropů a na přenosných objímkách, položených na zemi. Hlízy se musí osvětlovat 6 – 8 hodin denně (Musil a Hruška, 1965).

Předklíčování pod plastickou fólií – využívá se při nedostatku vhodných prostor. Vyžaduje rovné a závětrné místo, chráněné před povrchovou vodou. Lísky, které se plní hlízami, se kladou na sebe. Devět lísek se plní hlízami a poslední 10. líska se naplní řezanou slámou, která slouží jako izolační vrstva. Využívají se polyamidové fólie, které chrání hlízy (Musil a Hruška, 1965).

Předklíčování v polyetylenových hadicích (sáčcích) – hlízy se plní do sáčků, které jsou perforované. Je to výhodnější i levnější metoda než když se hlízy plní do dřevěných lísek, přičemž jsou hlízy dostatečně osvětleny a větrány. Proces předklíčování trvá 4 týdny v uzavřených prostorech a 6 týdnů venku (Musil a Hruška, 1965).

Likvidace infekčních zdrojů - pro správný vývoj plodiny je důležité kontrolovat, jestli se v blízkosti porostu nenachází skládky odpadních brambor a plevelné brambory v jiných plodinách, jelikož by mohly ovlivnit první výskyty plísňe. Je to velmi důležité zvláště u citlivých odrůd (Hausvater a kol., 2011a).

Vyrovnaná výživa - je důležité, aby všechny základní živiny byly ve správném a vyrovnaném poměru (Hausvater a kol., 2011a). Takovéto porosty jsou poté napadány později a ochrana není tak náročná (Hausvater, 2000). Brambory vyžadují dostatečné množství přijatelného hořčíku, aby se zvýšila jejich odolnost. Pokud dojde k nadbytku dusíku, pletiva nejsou vyzrálá a podporuje se šíření původce plísně (Rasocha, 2008).

Hloubka výsadby, tvar a nahrnutí hrůbků - napadení hlíz se může omezit silnější vrstvou půdy nad hlízkami a tvarem hrůbků (Rasocha a kol., 2004). Hrůbky působí jako mechanický a biologický filtr, aby spory patogenu nepronikaly k hlízkám. K vyššímu stupni napadení dochází při mělké výsadbě, nevhodnému tvaru hrůbků a jejich nedostatečnému nahrnutí (Hausvater a kol., 2011a).

Připravenost porostu na sklizeň - hlízy mohou být infikovány, pokud dojde ke styku s napadenou natí, zvláště pokud jsou hlízy mechanicky poškozeny. Napadená nat' by měla být před sklizní odstraněna (Hausvater a kol., 2011a). U velmi raných odrůd, které jsou plísní napadeny, může být sklizeň problematická (Hausvater, 2000).

Sklizeň - důležitá je šetrná sklizeň bez mechanického poškození, čímž se snižuje infekce hlíz (Hausvater a kol., 2011a). Pokud se nachází plíseň na hlízkách, odloží se termín sklizně na pozdější dobu, aby se napadené hlízy rozložily v půdě (Rasocha a kol., 2004). Nevylácí se sklízet porosty, které nejsou na sklizeň připravené, u kterých nebyla provedena desikace nebo rozbití natě, protože k infekci hlíz může dojít i na sklizeň (Hausvater a Doležal, 2014).

Posklizňová úprava a skladování - hlízy, které jsou infikovány plísní, se nehodí k dlouhodobému skladování. Hlízy, pokud je to nutné, se třídí až po 3 týdnech od sklizně po vyhojení mechanických poškození a projevení příznaků choroby (Hausvater a kol., 2011a). Ve skladech je primárním úkolem větrat, aby nedošlo k rozvoji sekundární měkké hniloby způsobené bakteriemi a pokud dojde k výskytu plísně nad 5 %, je třeba vše zužitkovat (Hausvater, 2000).

3.7.2 Aplikace fungicidních přípravků

Fungicidy ochraňují listovou plochu před infekcí a mohou omezit, případně zcela zastavit šíření infekce v rostlině (Hausvater a kol., 2011a). Bez fungicidů se v dnešní době často neobejdou ani malopěstitelé, ani zahrádkáři. Pokud použijeme fungicidy v souladu s návodem, nehrozí kontaminace hlíz rezidui fungicidů (Hausvater, 1998). V České republice

se na trhu nachází 56 přípravků určených proti plísni bramboru a další 2 fungicidy, uvedeno v příloze č. 4. Účinnou látku mancozeb obsahuje 26 fungicidů (samostatně nebo v kombinaci s jinou účinnou látkou) a 13 fungicidů obsahuje účinnou látku cymoxanil. Dohromady se v České republice ve fungicidech vyskytuje 21 účinných látek buď samostatně nebo v kombinaci s jinou účinnou látkou (Hausvater a Doležal, 2014).

Je zcela zásadní provést první (preventivní) ošetření včas, protože předchází infekci porostu (Hausvater a kol., 2011b). První ošetření nastává před zapojením porostu mezi řádky (Rasocha a kol., 2008). Fungicidy se začínají používat v závislosti na povětrnostních podmínkách, výskytu a infekčním tlaku choroby, vývoji porostu a náchylnosti odrůdy (Hausvater a kol., 2011a). Pro zahájení ochrany se využívá metoda negativní prognózy plísně bramboru, která vymezuje období bez nebezpečí infekce (Rasocha a kol., 2008).

V bramborářské oblasti se první postřiky provádějí od poloviny června do začátku července (Hausvater, 1998). Ovšem u velmi náchylných odrůd se postřiky provádějí ještě dříve (Hausvater a kol., 2011b). Opakování postřiků závisí na účinnosti přípravku, na průběhu počasí (za deštivého počasí se postřikuje v kratších intervalech), infekčním tlaku choroby a na náchylnosti odrůdy (Hausvater a kol., 2011a).

Kontaktní fungicidy se využívají na preventivní postřiky, při slabém napadení a v období bez srážek, naopak před epidemií a na začátku epidemie, při silnějším napadení a za deštivého počasí se využívají fungicidy se systémovou a lokálně systémovou složkou, které jsou nejúčinnější. V druhé polovině sezóny, kdy se provádějí postřiky, a v závěru vegetace, se aplikují přípravky, které omezují infekci hlíz (Hausvater, 1998). Aplikují se přípravky, které obsahují účinné látky fluazinam nebo cyazofamid, ovšem částečnou ochranu hlíz zaručí fungicidy s účinnými látkami dimethomorph, propamocarb, hydrochloride a fenamidone. V období bez intenzivních srážek se postřik opakuje po 7 – 10 dnech, při deštivé počasí, silném infekčním tlaku a u náchylných odrůd postřik opakujeme po 5 – 7 dnech a po intenzivních srážkách se musí postřik obnovit (Hausvater a kol., 2011a).

Množitelské porosty mají zkrácenou vegetaci povinným ukončením desikací z důvodu regulace velikosti hlíz a ochrany proti chorobám a vystačí si se 4 – 6 ošetřeními (Hausvater a Doležal, 2014). Rané brambory jsou nakličovány, aby se urychlila vegetace, protože plíseň se vyskytuje časněji (Hausvater a kol., 2011a). Mohou se pěstovat úplně bez ošetření nebo si vystačí s 1 – 2 postřiky. Brambory konzumní ostatní jsou nejnáročnější na ošetřování, protože jsou kladeny vysoké požadavky na výnos i kvalitu hlíz. Náchylné odrůdy vyžadují 8, 10 nebo

až 12 postřiků. U brambor, které se pěstují pro výrobu škrobu, je důležitým parametrem maximální výnos škrobu (Hausvater a Doležal, 2014).

Ačkoli je metalaxyl (nejznámější účinná látka ze skupiny fenylamidů) jednou z nejeftivnějších účinných látek, vývoj rezistence v populacích *P. infestans* k této látce se stal limitujícím faktorem při použití tohoto fungicidu (Franc et al., 2001). Vývoj rezistence k metalaxylu byl zmírněn do jisté míry tím, že se rozšiřuje kombinace fungicidů (mancozeb s metalaxylem) a omezuje se počet případů, kdy jsou pole postřikována metalaxylem (Erwin and Ribeiro, 1996).

Ze skupiny účinných látek byl jeden z prvních komerčně dostupným přípravkem, který byl účinný proti houbám třídy Oomycetes, metalaxyl. Metalaxyl je methylester N-(2,6-dimethylfenyl)-N-(methoxyacetyl)-DL-alaninu (Patentový spis CZ 287915 B6, 2001).

3.7.3 Ukončení vegetace likvidací natě

Aby se omezil zdroj infekce pro hlízy, kdy by se sporangia dostala smyvem do půdy, likviduje se nať mechanicky zničením natě nebo chemicky desikací (Hausvater a Doležal, 2014). V České republice je registrováno několik přípravků, které jsou určeny k desikaci bramborové natě (Hausvater a Doležal, 2014) uvedeno v příloze č. 5.

Pokud chceme ukončit vegetaci, je důležité znát, jaké je procento napadení natě a očekávaný vývoj infekce, průběh počasí, výnos hlíz, náchylnost odrůdy k plísni na hlízách a půdní podmínky (Hausvater a Doležal, 2014). Nať by se měla likvidovat tehdy, kdy je napadena v rozmezí od 5 do 20 %, ale je lepší dodržet nižší hranici 5 %, pokud je předpoklad rychlého šíření plísně v porostu, před intenzivními srážkami a v lokalitě s těžší půdou (Rasocha a kol., 2004). Nať brambor se nemusí odstraňovat, pokud není plísní napadena a je tak možné přirozené dozrávání porostu (Hausvater, 2000).

3.8 Šlechtění na rezistenci proti plísni bramboru

Je to velice obtížný proces, který spočívá ve zvyšování odolnosti natě i hlíz (odolná odrůda na nati nemusí znamenat, že bude odolná i na hlízách) a je závislý na variabilitě *P. infestans*, kdy dochází k rychlému rozšiřování nových genotypů patogenu z místa jejich vzniku do míst, kde se nikdy nevyskytovaly. Cílem šlechtění nových odrůd je zvýšit relativní odolnost - umožňuje infekci hlíz, ale mycelium houby prorůstá pletivy pomaleji a tvoří se méně sporangií a přecitlivělostní odolnost - nesnášenlivost mezi buňkou bramboru a

myceliem určitého genotypu patogenu, pokud pronikne infekční vlákno do pletiva rostliny, tak odumře a plíseň se již nemůže šířit (Musil a Šenfeld, 1971).

3.9 Esenciální oleje

Esenciální olej je koncentrovaná hydrofobní kapalina obsahující těžké aromatické látky z rostlin. Esenciální oleje tvoří výraznou kategorii pro jakýkoliv lékařský, farmakologický nebo kulinářský účel a nejsou nezbytná pro udržení zdraví. Esenciální oleje jsou obecně extrahovány destilací, často za použití páry. Jiné způsoby zahrnují expresi nebo extrakci rozpouštědlem. Používají se v parfémtech, kosmetice, mýdlech a jiných výrobcích, k ochucení jídla a pití, a pro přidávání vůně do vonných tyčinek a čisticích prostředků (Essential oil, 2014).

Jelikož se v ekologickém zemědělství nesmějí používat fungicidy, musí vědci vynalézt alternativní metodu. Je prokázáno, že esenciální oleje mají inhibiční účinky proti skládkovým chorobám u *Solanaceae*. Většina esenciálních olejů, které byly laboratorně testovány, prokázaly, že mohou nějakým způsobem ovlivnit patogen, uvedeno v příloze č. 6. Po 15 dnech, kdy na patogen působily esenciální oleje, byl jasně pozorován vliv na růst mycelia. Nejintenzivnější inhibiční účinky mají silice, které pocházejí z *Thymus vulgaris* (tymián obecný), *Melissa officinalis* (meduňka lékařská) a *Mentha piperita* (máta peprná). Po 22 dnech se přeměřilo mycelium u tymiánu, oregana, meduňky a máty. Tyto EO vykazovaly průměrnou inhibiční zónu mycelia od 63 do 89 %. Nejvyšší inhibiční účinek vykazuje tymián (89 %), naopak oregano jen 63 %. Oleje yzopu, řebříčku, koriandru a břízy pýřité produkovaly v průměru inhibiční zónu alespoň na 40 %. Naopak oleje z kmínu kořeného, smrku ztepilého, zlatobýlu obecného a kopretiny řimbaby, které byly izolovány, neprokázaly jakoukoli houbovou inhibiční aktivitu. Kmín silně inhibuje růst patogenu jen v průběhu prvních 15 dnů. Z hlediska chemického složení esenciálních olejů, se zdá, že některé z monoterpenů v několika esenciálních olejích mají silné fungicidní vlastnosti, zatímco některé ze seskviterpenů stimulují růst houby (Quintanilla et al., 2002).

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Sběr vzorků

Vzorky rostlin byly odebrány z bramborových natí, které byly napadeny *P. infestans*. Vzorky byly pořízeny v roce 2014 v kraji Vysočina a Středočeském kraji. Sběr vzorků probíhal náhodně a infikované natě bramboru byly jednotlivě umístěny do mikrotenových sáčků, aby nedošlo ke kontaminaci. Sáčky byly důkladně označeny, převezeny do laboratoře a ihned zpracovány.

4.2 Izolace patogenu *P. infestans*

Izolace i následné přeočkovávání vzorků bylo prováděno ve flowboxu, který umožňuje práci ve sterilním prostředí a zamezuje kontaminaci vzorků.

Příprava média - pro izolaci patogenu *P. infestans* byly použity Petriho misky, které mají rozměr 90 mm a 60 mm a do nich byl aplikován žitný agar A (živné médium).

Žitný agar byl vyroben z 60 g žitných obilek, které byly povrchově desinfikovány 70% etanolem a 20% Savem a poté musely být pečlivě promyty dvakrát destilovanou vodou (dále ddH₂O). Když byly obilky připravené tímto způsobem, byly vloženy do misky a zality dostatečným množstvím ddH₂O, aby mohly začít klíčit. Po 36 hodinách byla z obilek slita okolní tekutina, která se uchovala pro pozdější využití a mixérem byly rozmělněny obilky v 350 ml ddH₂O. Tato směs byla přelita do nádoby, kde byla tři hodiny inkubována ve vodní lázni při teplotě 50 °C a poté byla provedena filtrace směsi pomocí dvou vrstev gázy a získaný filtrát byl smíchán s uchovanou tekutinou. Dalším krokem bylo doplnění ddH₂O na jeden litr a kompletace s 20 g sacharózy a 15 g agaru. V posledním kroku byl agar sterilizován po dobu 20 minut při teplotě 121 °C v autoklávu a ve flow boxu byl rozlit do připravených Petriho misek.

Sporulace *P. infestans* na listu rostlin - listy, které byly napadeny *P. infestans*, byly uštířeny a přeneseny do vlhkých komůrek, což je obrácená skleněná Petriho miska (průměr 90 mm) s 1,5 - 2% vodním agarem. Infikované listy se do Petriho misky umístily svrchní stranou dolů a byly inkubovány při teplotě 15 – 18 °C. Při této teplotě dochází ke sporulaci patogenu, kdy se sporangiofory dostatečně rozrostou (za 24 hodin). Následuje přeočkování patogenu na živné médium.

Izolace patogenu *P. infestans* na živné médium - byl využit stereomikroskop, jehož zvětšení umožnilo injekční jehlou odebírat jednotlivá sporangia *P. infestans* z infikovaného pletiva ve vlhké komůrce. Jehla musí být sterilní, což je možné ožehnutím v plameni a následným zchlazením v živném médiu, přičemž dojde k zachycení malého množství živného média na hrotu jehly, které napomůže zachycení sporangií patogenu na špičce jehly. Ulpěné živné médium se sporangii patogenu bylo přeneseno na živné médium v Petriho misce a jedna miska byla naočkována třikrát ve tvaru trojúhelníku. Po 10 dnech bylo provedeno přeočkování izolátů, kdy byla vyříznuta část živného agaru s myceliem patogenu o velikosti asi 5 x 5 mm, která byla přenesena na nové živné médium v Petriho misce. Tímto způsobem se izoláty udržovaly zhruba každé 4 týdny. Patogen byl kultivován a udržován v termostatu ve tmě při teplotě v rozmezí 15 - 18 °C.

4.3 Stanovení účinku esenciálních olejů

Pro stanovení účinnosti esenciálních olejů byla zvolena metoda *in vitro* na agarovém médiu.

Pro tento pokus byly použity esenciální oleje z následujících rostlin:

Cymbopogon winterianus (CW) - citronová tráva pravá

Eucalyptus citriodora (EC) - blahovičnick citroníkový

Foeniculum vulgare (FV) - fenykl obecný

Lavandula angustifolia (LA) - levandule lékařská

Litsea cubeba (LC) - vavřín kubébový

Mentha spicata (MS) - máta klasnatá

Pelargonium graveolens (PG) - muškát vonný

Pimpinella anisum (PA) - bedrník anýz

Rosmarinus officinalis (RO) - rozmarýn lékařský

Salvia officinalis (SO) - šalvěj lékařská

Syzygium aromaticum (SA) - hřebíčkovec kořený

Thymus vulgaris (TV) - tymián obecný

Bylo použito 12 esenciálních olejů, které byly zakoupeny od firmy Salus. Esenciální oleje byly připraveny jako zásobní roztoky rozpuštěním technické látky v DMSO (dimethylsulfoxid) 1:1 a byly použity v koncentraci 0,1 % (1 ml esenciální látky/1 l agaru). Esenciální oleje rozpuštěné v DMSO byly přidány pomocí pipety do agaru po jeho zchlazení cca na teplotu 50 °C. Po důkladném rozmíchání esenciální látky byl agar rozlit do 90 mm Petriho misek.

Za sterilních podmínek byl vyříznut špalíček (5 x 5 mm) živného média s myceliem patogenu *P. infestans* ze zkoumaných izolátů a poté byl umístěn na nové živné médium s přídavkem esenciálního oleje v Petriho misce. Každý test byl proveden ve třech opakováních. Inkubace probíhala ve tmě při 16 °C zhruba tři týdny. Dále byl změřen pomocí digitálního posuvného měřítka průměr (v cm ve dvou rovinách na sebe kolmých) rozrostlého mycelia patogenu *P. infestans* v miskách s obsahem esenciálních olejů a byl porovnán s růstem patogenu v kontrolní Petriho misce, kde oleje přítomny nebyly.

Pro výpočet inhibice růstu esenciálním olejem byl použit následující vzorec:

$$\text{Inhibice růstu [\%]} = 100 - \left(\frac{P_{EO}}{P_K} \times 100 \right)$$

P_{EO} nárůst mycelia na agaru s esenciálním olejem [\varnothing v mm]

P_K nárůst mycelia na neošetřené kontrolní variantě [\varnothing v mm]

5 VÝSLEDKY

5.1 Sběr a izolace patogenu *P. infestans*

Vzorky infikovaných pletiv byly získány v kraji Vysočina (Veselý Žďár, Valečov, Modlíkov, Nové Dvory a Pohled) a Středočeském kraji (Semice a Čelákovice). Pro testování účinku esenciálních olejů bylo použito 10 izolátů *P. infestans*.

Tabulka č. 1: Původ izolátů *P. infestans*

| izolát | původ izolátů | | |
|----------|-----------------|----------------|--|
| | rostlina/odrůda | rostlinná část | místo |
| VŽ 7/14 | B/N | list | Veselý Žďár, kraj Vysočina, sběr 21.7.2014 |
| VŽ 14/14 | B/N | list | Veselý Žďár, kraj Vysočina, sběr 21.7.2014 |
| V1 1/14 | B/Flavia | list | Valečov, kraj Vysočina, sběr 21.7.2014 |
| V3 1/14 | B/Žofie | list | Valečov, kraj Vysočina, sběr 18.8.2014 |
| M 1/14 | B/N | list | Modlíkov, kraj Vysočina, sběr 21.7.2014 |
| ND 1/14 | B/N | list | Nové Dvory, kraj Vysočina, sběr 21.7.2014 |
| P 1/14 | B/N | list | Pohled, kraj Vysočina, sběr 21.7.2014 |
| S 1/14 | B/výdrol | list | Semice, Středočeský kraj, sběr 3.11.2014 |
| S 10/14 | B/výdrol | list | Semice, Středočeský kraj, sběr 3.11.2014 |
| Č 1/14 | B/výdrol | list | Čelákovice, Středočeský kraj, sběr 3.11.2014 |

5.2 Testy účinnosti esenciálních olejů

V pokusu byla testována účinnost 12 esenciálních silic z rostlin *Cymbopogon winterianus* (CW), *Eucalyptus citriodora* (EC), *Foeniculum vulgare* (FV), *Lavandula angustifolia* (LA), *Litsea cubeba* (LC), *Mentha spicata* (MS), *Pelargonium graveolens* (PG), *Pimpinella anisum* (PA), *Rosmarinus officinalis* (RO), *Salvia officinalis* (SO), *Syzygium aromaticum* (SA) a *Thymus vulgaris* (TV) na růst mycelia patogenu *P. infestans*.

Tabulka č. 2: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Rosmarinus officinalis*

| izolát | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|----------|---|--------------|--------------|
| | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| S 10/14 | 0 | 0 | 0 |
| V1 1/14 | 62 | 55 | 42 |
| V3 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| VŽ 7/14 | 57 | 0 | 0 |
| VŽ 14/14 | 0 | 0 | 0 |
| M 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| ND 1/14 | 70 | 0 | 0 |
| P 1/14 | 49 | 38 | 27 |
| Č 1/14 | 0 | 0 | 0 |

Silice *Rosmarinus officinalis* vykazovaly u 4 izolátů částečnou inhibici růstu mycelia a u ostatních 6 izolátů silice vůbec neovlivnily růst patogenu *P. infestans*.

Tabulka č. 3: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Foeniculum vulgare*

| izolát | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|-----------------|---|--------------|--------------|
| | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 0 | 44 | 0 |
| S 10/14 | 0 | 0 | 36 |
| V1 1/14 | 58 | 67 | 85 |
| V3 1/14 | 0 | 31 | 28 |
| VŽ 7/14 | 39 | 38 | 39 |
| VŽ 14/14 | 26 | 53 | 31 |
| M 1/14 | 0 | 0 | 45 |
| ND 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| P 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| Č 1/14 | 0 | 0 | 0 |

Esenciální olej z *Foeniculum vulgare* vykazuje u 7 izolátů částečnou inhibici růstu patogenu *P. infestans* a u 3 izolátů neprojevily vzorky vůči esenci žádnou reakci.

Tabulka č. 4: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Lavandula angustifolia*

| Izolát | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|-----------------|---|--------------|--------------|
| | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 79 | 69 | 0 |
| S 10/14 | 0 | 0 | 0 |
| V1 1/14 | 36 | 71 | 0 |
| V3 1/14 | 71 | 0 | 0 |
| VŽ 7/14 | 0 | 0 | 0 |
| VŽ 14/14 | 0 | 0 | 0 |
| M 1/14 | 72 | 52 | 40 |
| ND 1/14 | 0 | 66 | 69 |
| P 1/14 | 67 | 61 | 74 |
| Č 1/14 | 0 | 0 | 0 |

Silice z *Lavandula angustifolia* vykazuje u 6 izolátů částečnou inhibici růstu patogenu *P. infestans* a u 4 izolátů vzorky vůči esenci neprojevily žádnou reakci.

Tabulka č. 5: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Pimpinella anisum*

| izolát | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|-----------------|---|--------------|--------------|
| | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 0 | 0 | 42 |
| S 10/14 | 0 | 0 | 0 |
| V1 1/14 | 63 | 41 | 87 |
| V3 1/14 | 0 | 43 | 29 |
| VŽ 7/14 | 0 | 0 | 28 |
| VŽ 14/14 | 0 | 0 | 0 |
| M 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| ND 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| P 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| Č 1/14 | 0 | 26 | 0 |

U 5 izolátů byla pozorována částečná inhibice růstu patogenu *P. infestans* způsobená olejem *Pimpinella anisum* a u 5 izolátů nevykazovalo mycelium žádnou reakci k této látce.

Tabulka č. 6: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje ze *Salvia officinalis*

| izolát | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|----------|---|--------------|--------------|
| | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 0 | 0 | 86 |
| S 10/14 | 0 | 0 | 0 |
| V1 1/14 | 54 | 55 | 73 |
| V3 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| VŽ 7/14 | 0 | 0 | 0 |
| VŽ 14/14 | 0 | 0 | 0 |
| M 1/14 | 0 | 0 | 0 |
| ND 1/14 | 0 | 0 | 53 |
| P 1/14 | 61 | 40 | 0 |
| Č 1/14 | 0 | 0 | 0 |

Esenciální oleje ze *Salvia officinalis* způsobily u 4 izolátů částečnou inhibici růstu patogenu a u 6 izolátů nebyla zaznamenána žádná reakce k této látce.

Tabulka č. 7: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Eucalyptus citriodora*

| izolát | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|-----------------|---|--------------|--------------|
| | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 0 | 0 | 100 |
| S 10/14 | 71 | 63 | 75 |
| V1 1/14 | 0 | 89 | 57 |
| V3 1/14 | 0 | 64 | 29 |
| VŽ 7/14 | 0 | 0 | 0 |
| VŽ 14/14 | 0 | 0 | 0 |
| M 1/14 | 79 | 0 | 25 |
| ND 1/14 | 24 | 67 | 0 |
| P 1/14 | 29 | 32 | 50 |
| Č 1/14 | 0 | 25 | 86 |

Esence z *Eucalyptus citriodora* způsobila u 8 izolátů částečnou inhibici růstu patogenu *P. infestans*, u 1 izolátu se projevila 100% inhibice růstu mycelia a u 2 izolátů silice neovlivnila růst mycelia.

Tabulka č. 8: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Cymbopogon winterianus*

| izolát | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|----------|---|--------------|--------------|
| | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| S 10/14 | 100 | 100 | 100 |
| V1 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| V3 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 7/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 14/14 | 100 | 100 | 100 |
| M 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| ND 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| P 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| Č 1/14 | 100 | 100 | 100 |

Silice z *Cymbopogon winterianus* vykazovaly 100% inhibici na růst všech 10 izolátů patogenu *P. infestans*.

Tabulka č. 9: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Litsea cubeba*

| izolát | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|----------|---|--------------|--------------|
| | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| S 10/14 | 100 | 100 | 100 |
| V1 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| V3 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 7/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 14/14 | 100 | 100 | 100 |
| M 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| ND 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| P 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| Č 1/14 | 100 | 100 | 100 |

Silice z *Litsea cubeba* vykazovaly 100% inhibici na růst všech 10 izolátů patogenu *P. infestans*.

Tabulka č. 10: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Mentha spicata*

| | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|----------|---|--------------|--------------|
| izolát | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| S 10/14 | 100 | 100 | 100 |
| V1 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| V3 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 7/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 14/14 | 100 | 100 | 100 |
| M 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| ND 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| P 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| Č 1/14 | 100 | 100 | 100 |

Silice z *Mentha spicata* vykazovaly 100% inhibici na růst všech 10 izolátů patogenu *P. infestans*.

Tabulka č. 11: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Pelargonium graveolens*

| | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|----------|---|--------------|--------------|
| izolát | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| S 10/14 | 100 | 100 | 100 |
| V1 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| V3 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 7/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 14/14 | 100 | 100 | 100 |
| M 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| ND 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| P 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| Č 1/14 | 100 | 100 | 100 |

Silice z *Pelargonium graveolens* vykazovaly 100% inhibici na růst všech 10 izolátů patogenu *P. infestans*.

Tabulka č. 12: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Syzygium aromaticum*

| | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|----------|---|--------------|--------------|
| izolát | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| S 10/14 | 100 | 100 | 100 |
| V1 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| V3 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 7/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 14/14 | 100 | 100 | 100 |
| M 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| ND 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| P 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| Č 1/14 | 100 | 100 | 100 |

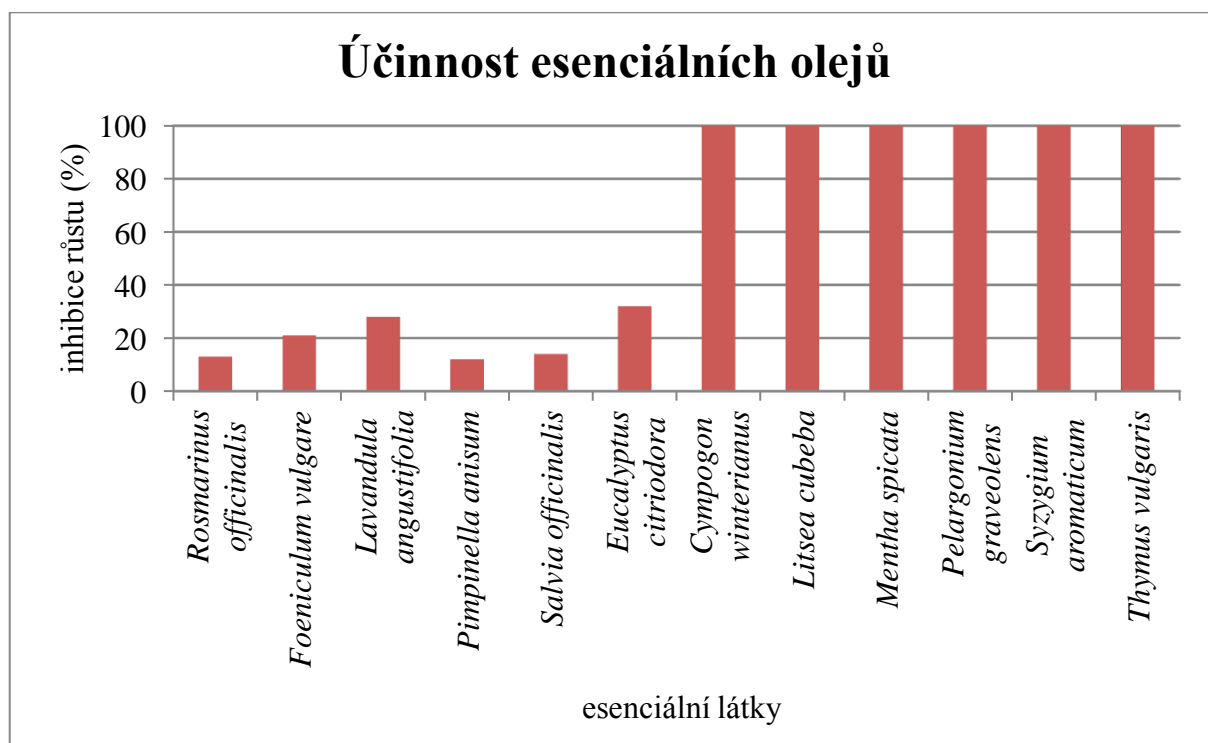
Silice z *Syzygium aromaticum* vykazovaly 100% inhibici na růst všech 10 izolátů patogenu *P. infestans*.

Tabulka č. 13: Výsledky testování účinnosti esenciálního oleje z *Thymus vulgaris*

| | % inhibice růstu patogenu <i>P. infestans</i> | | |
|----------|---|--------------|--------------|
| izolát | 1. opakování | 2. opakování | 3. opakování |
| S 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| S 10/14 | 100 | 100 | 100 |
| V1 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| V3 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 7/14 | 100 | 100 | 100 |
| VŽ 14/14 | 100 | 100 | 100 |
| M 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| ND 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| P 1/14 | 100 | 100 | 100 |
| Č 1/14 | 100 | 100 | 100 |

Silice z *Thymus vulgaris* vykazovaly 100% inhibici na růst všech 10 izolátů patogenu *P. infestans*.

Graf č. 1: Účinnost 12 esenciálních látek na růst mycelia patogenu *P. infestans*



Z grafu vyplývá, že nejméně účinnými látkami jsou silice z následujících rostlin – *Pimpinella anisum*, *Rosmarinus officinalis* a *Salvia officinalis*. Oleje z *Cymbopogon winterianus*, *Litsea cubeba*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Syzygium aromaticum* a *Thymus vulgaris* vykazovaly 100% účinnost na růst mycelia patogenu *P. infestans*.

6 DISKUZE

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou účinnosti esenciálních silic na růst patogenu *P. infestans*.

Quintanilla et al. (2002) v pokusech prokázaly, že některé esenciální oleje inhibují růst patogenu v rozmezí 63 až 89 %. Při použití esenciálních silic z *Origanum vulgare* byla zaznamenána inhibice 63 % a 89% inhibice byla zaznamenána u izolátů, u nichž byla testována silice *Thymus vulgaris*. Nejintenzivnější inhibiční účinky byly zaznamenány u silic, které pocházely z *Thymus vulgaris*, *Melissa officinalis* a *Mentha piperita*. Testy inhibice růstu, které byly prováděny v roce 2014 – 2015 v rámci této bakalářské práce potvrzují, že některé esenciální oleje získané z vybraných rostlin jsou schopny inhibovat růst patogenu *P. infestans*. Silice z těchto rostlin *Cymbopogon winterianus*, *Litsea cubeba*, *Mentha spicata*, *Pelargonium graveolens*, *Syzygium aromaticum* a *Thymus vulgaris* 100% inhibovaly růst mycelia patogenu *P. infestans*.

Keskitalo et al. (2005) se domnívá, že esenciální silice z kmínu kořenného jsou schopny oddálit nástup patogenu *P. infestans* asi o 10 až 14 dnů. Dle Quintanilla et al. (2002) kmín silně inhibuje růst patogenu jen v průběhu prvních 15 dnů a poté již nevykazuje jakoukoli houbovou inhibiční aktivitu.

Olanya and Larkin (2006) zkoumali růst patogenu při použití esenciálních olejů z levandule, tymiánu, tymiánu borneol a oregana. Více než 90% inhibice růstu patogenu byla dosažena za použití oregana. Při použití tymiánu nebo tymiánu borneol došlo k 50% snížení růstu mycelia, avšak oleje z levandule byly nejméně účinné. V mém pokusu u EO pocházející z levandule také nebyl zaznamenán výrazný účinek na inhibici růstu patogenu, zatímco EO z tymiánu 100% potlačovala růst.

Soylu et al. (2006) zkoumali účinky esenciálních silic z následujících rostlin - oregáno (*Origanum syriacum* var. *bevanii*), tymián (*Thymbra spicata* subsp. *spicata*), levandule (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas*), rozmarýn (*Rosmarinus officinalis*), fenykl (*Foeniculum vulgare*) a vavřín (*Laurus nobilis*). Všechny esenciální oleje způsobily určitou inhibici růstu patogenu *P. infestans* v závislosti na jejich aplikované dávce. Esenciální oleje z rozmarýnu, levandule a vavřínu inhibovaly patogen při relativně vyšších koncentracích, zato esenciální oleje z tymiánu a oregana při relativně nízké koncentraci. V této práci všechny esenciální oleje vykazovaly určitou úroveň inhibice růstu mycelia patogenu alespoň u některého z izolátů. V mé práci byl druhým nejméně účinným olejem rozmarýn, fenykl a

levandule výrazně neinhibovaly růst mycelia a jedním z nejúčinnějších olejů se ukázal být tymián.

7 ZÁVĚR

V průběhu řešení této bakalářské práce bylo získáno 10 izolátů patogenu *P. infestans*, u nichž byl testován účinek 12 esenciálních olejů na růst mycelia tohoto významného patogenu.

Z výsledků testování jednotlivých esenciálních látek bylo zjištěno, že esenciální látky z rostlin *Cymbopogon winterianus* (CW), *Litsea cubeba* (LC), *Mentha spicata* (MS), *Pelargonium graveolens* (PG), *Syzygium aromaticum* (SA) a *Thymus vulgaris* (TV) vykazují 100% inhibici na růst patogenu *P. infestans*. Ostatní silice (*Eucalyptus citriodora*, *Foeniculum vulgare* a *Lavandula angustifolia*) vykazovaly alespoň u některého izolátu částečné omezení růstu patogenu. Nejméně účinná byla silice z rostliny *Pimpinella anisum* (PA), *Salvia officinalis* (SO) a *Rosmarinus officinalis* (RO).

Několik esenciálních látek, které účinně zamezovaly růstu mycelia *P. infestans* by mohly být potencionálně využity v ochraně rostlin proti tomuto patogenu. Aby mohly být tyto látky využity, je třeba provést další testování přímo na hostitelských rostlinách.

V ekologickém zemědělství by esenciální látky v budoucnu mohly představovat jednu z možností, jak chránit rostliny proti *P. infestans*.

8 SEZNAM LITERATURY

Agrios, G. N. 1997. Plant pathology. Fourth edition. Academic Press. San Diego. p. 635. ISBN: 0-12-044564-6.

Čepl, J., Čížek, M., Doležal, P., Domkářová, J., Hamouz, K., Hausvater, E., Kasal, P., Lachman, J., Rasocha, V., Urbancová, M., Vokál, B. 2009. Konzumní brambory na poli, zahradě a v kuchyni. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 206 s. ISBN: 978-80-86940-23-0.

Česko. Patentový spis číslo CZ 287915 B6. Fungicidní prostředek a způsob kontroly nebo prevence houbového napadení. 2001. In: Věstník úřadu průmyslového vlastnictví ČR. 2001. 3. WO96/01559. Dostupné také z <http://spisy.upv.cz/Patents/FullDocuments/287/287915.pdf>

Dowley, L. J., O'Sullivan, E. 1995. Late blight and the potato in Ireland : A short history of the potato, the famine, late blight and Irish research on *Phytophthora infestans*. Plant pathology and entomology department, Oak Park research centre. Carlow. p. 32.

Drenth, A. 1994. Molecular genetic evidence for a new sexually reproducing population of *Phytophthora infestans* in Europe: Proefschrift. Thesis Wageningen. The Netherlands. p. 150. ISBN: 90-5485-216-X.

Erwin, D. C., Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora* Disease Worldwide. APS Press. St. Paul Minnesota. p. 562. ISBN 0-89054-212-0.

Essential oil [online]. 2014. Dostupné z <http://en.wikipedia.org/wiki/Essential_oil>.

Franc, G. D., Loria, R., Stevenson, W. R., Weingartner, D. P. 2001. Compendium of potato diseases. APS Press. St. Paul Minnesota. p. 106. ISBN 0-89054-275-9.

Gunn, J. S. 1990. Crop protection handbook – potatoes. BCPC Registered Office. Farnham. p. 192. ISBN: 0-948404-34-5.

Hamouz, K. 2008. Jak vyzrát na plíseň bramboru. Zahrádkář. 40 (7). 44 – 45.

Hausvater, E. 2000. Metodika ochrany proti plísni bramborové. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 11 s. ISBN: 80-902567-2-4.

Hausvater, E. 1998. Jak neprohrát v boji s plísní bramborovou. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 6 s. ISBN: 80-902567-0-8.

Hausvater, E., Doležal, P. 2014. Integrovaná ochrana proti plísni bramboru. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 23 s. ISBN: 978-80-86940-57-1.

Hausvater, E., Doležal, P., Mazáková, J., Táborský, V. 2011a. Metodika ochrany proti plísni bramboru podle náchylnosti odrůd. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 31 s. ISBN: 978-80-86940-27-4.

Hausvater, E., Doležal, P., Dejmalová, J. 2011b. Plíseň bramboru. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 11 s. ISBN: 978-80-86940-34-2.

Keskitalo, M., Fabritius, A-L., Hakala, K., Hannukkala, A., Ketoja, E., Lehtinen, A., Mikkonen, P., Vuorema, A. 2005. Control of potato late blight by caraway oil in organic fading. Nordic Association of Agricultural Scientists. p. 5.

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

Mazáková, J., Táborský, V. 2005. Plíseň bramborová – složení populací patogenu *Phytophthora infestans*. Rostlinolékař. 16 (4). 23 - 24.

Mazáková, J., Táborský, V., Doležal, P. 2010. Patogen *Phytophthora infestans* způsobující plíseň bramboru a jeho variabilita. Rostlinolékař. 21 (5). 13 – 14.

Musil, J., Hruška, L. 1965. Komplexní ochrana proti plísni bramborové. Ústav vědeckotechnických informací MZLVH. Praha. 26 s.

Musil, J., Šenfeld, B. 1971. Ochrana proti plísni bramborové. Ústav vědeckotechnických informací. Praha. 21 s.

Olanya, O. M., Larkin, R. P. 2006. Efficacy of essential oils and biopesticides on *Phytophthora infestans* suppression in laboratory and growth chamber studies. Biocontrol Science and Technology. 901-917.

Quintanilla, P., Rohloff, J., Iversen, T. H. (2002): Influence of essential oils on *Phytophthora infestans*. *Potato Research*, 45: 225-235.

Rasocha, V., Hausvater, E., Doležal, P. 2008. Škodliví činitelé bramboru. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 161 s. ISBN: 978-80-86940-12-0.

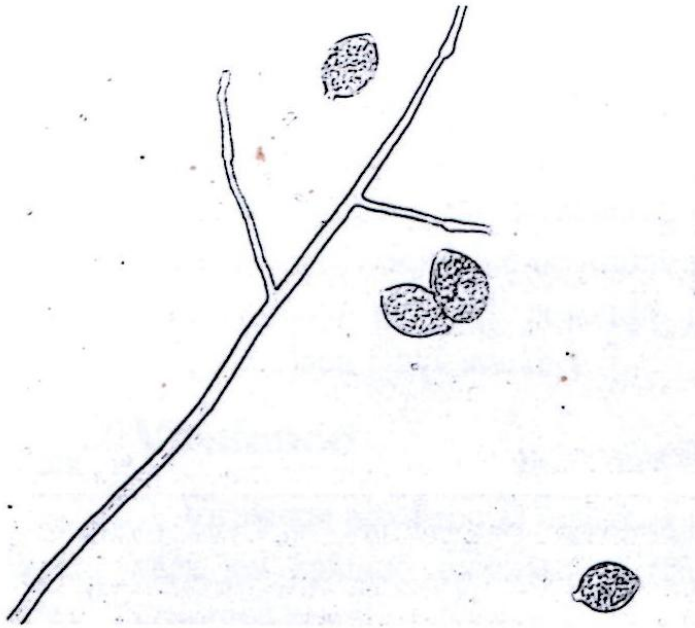
Rasocha, V., Hausvater, E., Doležal, P. 2004. Choroby, škůdci a abionózy bramboru. ORIN spol. s.r.o. České Budějovice. 74 s.

Roy, J. *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary [online]. *Agric. Soc. England*. 2nd Decembre 1876. Dostupné z <www.speciesfungorum.org/names/names.asp>.

Soylu, E. M., Soylu, S., Kurt, S. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Department of Plant Protection*. 161: 119–128.

9 SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Sporangiofor se sporangiiemi patogenu *P. infestans*



(převzato z Mazáková a kol. 2010. Patogen *Phytophthora infestans* způsobující plíseň bramboru a jeho variabilita. Rostlinolékař. 21 (5). 13 – 14.)

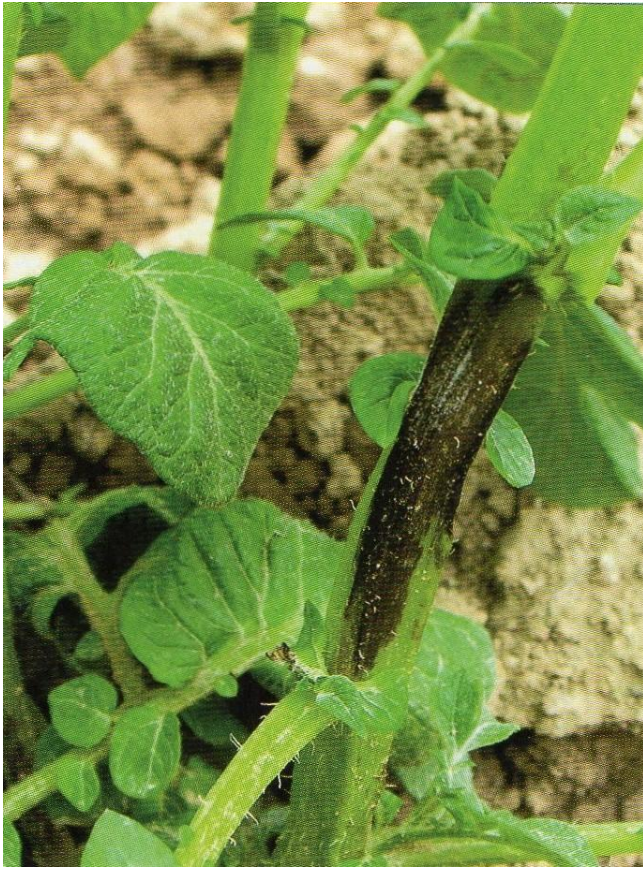
Příloha č. 2: Příznaky napadení patogenu *Phytophthora infestans* na rostlině

a) listy



(převzato z Hausvater a kol. 2011a. Metodika ochrany proti plísni bramboru podle náchylnosti odrůd. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 31 s.)

b) stonek



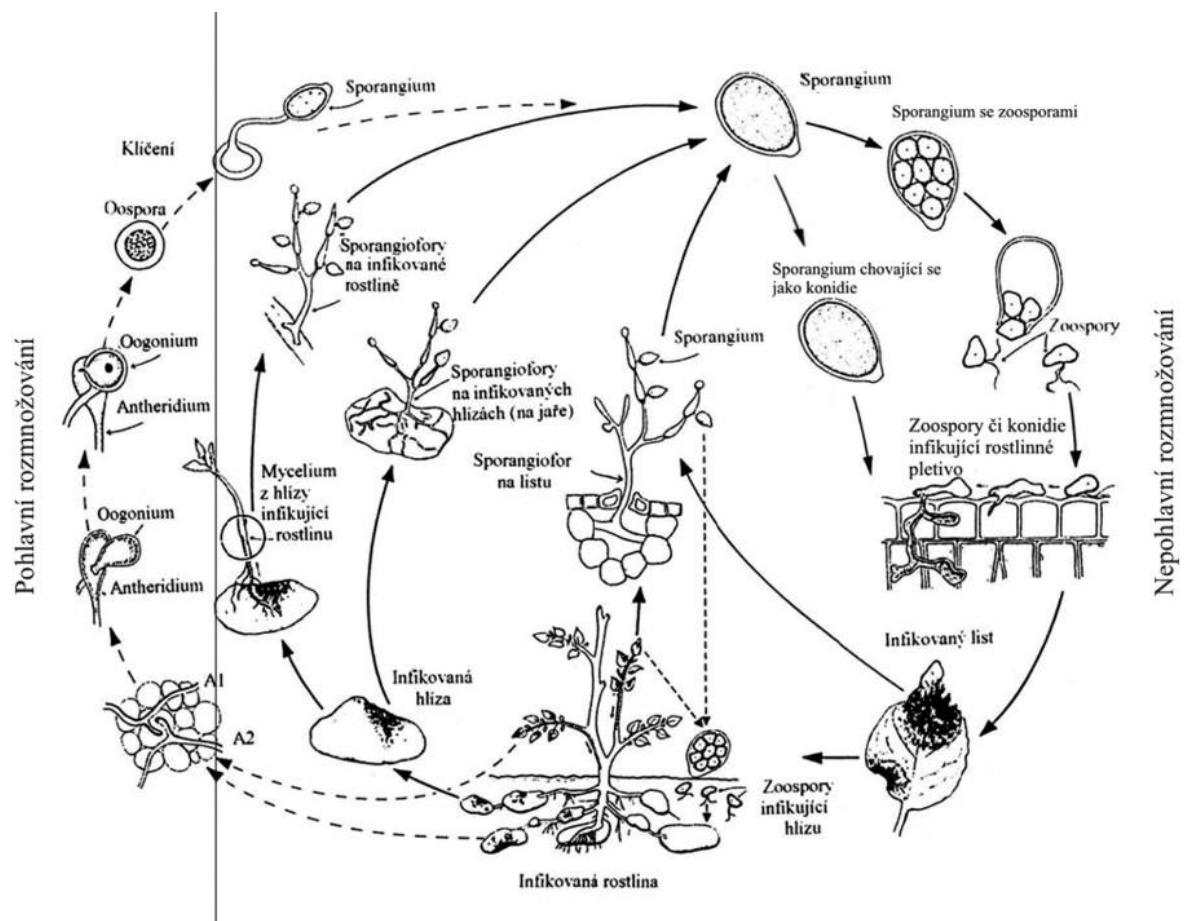
(převzato z Hausvater a kol. 2011a. Metodika ochrany proti plísni bramboru podle náchylnosti odrůd. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 31 s.)

c) hlízy



(převzato z Hausvater a kol. 2011b. Plíseň bramboru. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 11 s.)

Příloha č. 3: Životní cyklus patogenu *Phytophthora infestans*



Životní cyklus patogenu *Phytophthora infestans* (podle Agrios, G. N. (1997): Plant pathology. Fourth edition, Academic Press, 635 p.).

(převzato z Agrios, G. N. 1997. Plant pathology. Fourth edition. Academic Press. p. 635)

Příloha č. 4: Fungicidní přípravky registrované v ČR proti plísni bramboru v roce 2014

| Přípravek | Účinná látka | Dávka na 1 ha | Způsob účinku | Použití | OL (dny) |
|----------------------|--|--|-------------------------------|--|----------|
| Acrobat MZ WG | <i>dimethomorph, mancozeb</i> | 2 kg | lokálně systémový a kontaktní | Po celou vegetaci, přednostně v druhé polovině postřikové sezóny | 14 |
| Altima 500 SC | <i>fluozinam</i> | 0,3–0,4 l | kontaktní | Po celou vegetaci, přednostně závěrečná ošetření, dobře chrání hlízy | 14 |
| Antre 70 WG | <i>propineb</i> | 2,5 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku, mimo posledních ošetření | 14 |
| Banko 500 SC | <i>chlorothalonil</i> | 2 l | lokálně systémový | V první polovině vegetace | 8 |
| Bukanyr (malobalení) | <i>oxichlorid měďnatý</i> | 0,6–0,8 % (60–80 ml/10 l vody) | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku v druhé polovině postřikové sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 7 |
| Consento | <i>fenamidone + propamocarb-hydrochloride</i> | 1,6–2 l | lokálně systém. | Po celou vegetaci, přednostně na začátku a v druhé polovině postřikové sezóny | 7 |
| Criterion | <i>benalaxyl, mancozeb</i> | 2,5 kg | systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně a silném infekčním tlaku, v deštivém počasí, před výskytem plísně v porostu, maximálně 2–3 ošetření | 7 |
| Cuprocaffaro | <i>oxichlorid mědi</i> | 4–5 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku v druhé polovině postřikové sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 7 |
| Cuprozin Progress | <i>hydroxid měďnatý</i> | 2 l | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku v druhé polovině postřikové sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 14 |
| Curzate Gold | <i>cymoxanil, mancozeb</i> | 2–2,5 kg | lokálně systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | 7 |
| Curzate M | <i>cymoxanil, mancozeb</i> | 2–2,5 kg | lokálně systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | 7 |
| Curzate M WG | <i>cymoxanil, mancozeb</i> | 2–2,5 kg | lokálně systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | 7 |
| Cymbal | <i>cymoxanil</i> | 0,2–0,25 kg/ha + Dithane DG Neotec-TM | lokálně systémový | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | AT |
| Dauphin 45 | <i>cymoxanil</i> | 0,22 kg/ha + Dithane DG Neotec-TM | lokálně systémový | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | 7 |
| Dithane DG Neotec | <i>mancozeb</i> | 2 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku mimo posledních ošetření | 7 |
| Dithane M 45 | <i>mancozeb</i> | 2 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku, mimo posledních ošetření | 7 |
| Drago | <i>cymoxanil, mancozeb</i> | 2 kg | lokálně systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | 7 |
| Electis | <i>zoxamide, mancozeb</i> | 1,8 kg | kontaktní | Po celou vegetaci, mimo posledních ošetření, maximálně 3× za sezónu | 7 |
| Emendo | <i>valifenalát, mancozeb</i> | 2,5 kg | lokálně systémový a kontaktní | Po celou vegetaci mimo posledních ošetření, maximálně 3 ošetření | 7 |
| Fantic M | <i>benalaxyl-M, mancozeb</i> | 2,5 kg | systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně a silném infekčním tlaku, v deštivém počasí, před výskytem plísně v porostu, maximálně 2–3 ošetření | 14 |
| Flowbrix | <i>oxichlorid mědi</i> | 2,7–3,3 l | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku v druhé polovině postřik. sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 7 |
| Funguran-OH 50 WP | <i>hydroxid měďnatý</i> | 4–5 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku v druhé polovině postřik. sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 7 |
| Galben M | <i>benalaxyl, mancozeb</i> | 2–2,5 kg | systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně a silném infekčním tlaku, v deštivém počasí, před výskytem plísně v porostu, maximálně 2–3 ošetření | 7 |
| Champion 50 WP | <i>hydroxid měďnatý</i> | 4–5 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku v druhé polovině postřik. sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 7 |
| Infinito | <i>fluopicolide, propamocarb-hydrochloride</i> | 1,2–1,6 l | lokálně systémový, systémový | Při silném infekčním tlaku uprostřed postřikové sezóny, maximálně 4 ošetření | 7 |

| Přípravek | Účinná látka | Dávka na 1 ha | Způsob účinku | Použití | OL (dny) |
|---|--|--------------------------|------------------------------------|---|----------|
| Kocide 2000 | hydroxid měďnatý | 3,75 kg | kontaktní | Při slabém infekčním tlaku v druhé polovině postřik. sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 7 |
| Korzar (malobalení) | oxichlorid měďnatý | 0,8-1% (40-50 g/5l vody) | kontaktní | Při slabém infekčním tlaku v druhé polovině postřikové sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 7 |
| Kunshi | cymoxanil, fluazinam | 0,4-0,5 kg | lokálně systémový a kontaktní | Po celou vegetaci, mimo posledních ošetření | 7 |
| Kuprikol 250 SC | oxichlorid měďnatý | 6-8 l | kontaktní | Při slabém infekčním tlaku v druhé polovině postřikové sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 7 |
| Kuprikol 50 | oxichlorid měďnatý | 4-5 kg | kontaktní | Při slabém infekčním tlaku v druhé polovině postřikové sezóny a v systémech ekologického zemědělství | 7 |
| Manfil 75 WG | mancozeb | 2,1 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku, mimo posledních ošetření | 7 |
| Manfil 80 WP | mancozeb | 2 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku, mimo posledních ošetření | 7 |
| Manzate 75 WG | mancozeb | 2 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku, mimo posledních ošetření | 7 |
| Mastana SC | mancozeb | 3,2 l | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku, mimo posledních ošetření | 7 |
| Mixanil | chlorothalonil, cymoxanil | 2 l | lokálně systémový | V 1. polovině postřikové sezóny | 35 |
| Maximate 725 WG | cymoxanil, mancozeb | 2,5 kg | lokálně systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | 7 |
| Nando 500 SC | fluazinam | 0,3-0,4 l | kontaktní | Po celou vegetaci, přednostně závěrečná ošetření, dobře chrání hlízy | 14 |
| Novozir MN 80 New | mancozeb | 2 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku, mimo posledních ošetření | 7 |
| Ohayo | fluazinam | 0,3-0,4 l | kontaktní | Po celou vegetaci, přednostně závěrečná ošetření, dobře chrání hlízy | 14 |
| Penncozeb 75 DG | mancozeb | 2 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku, mimo posledních ošetření | 7 |
| Polyram WG | metiram | 2 kg | kontaktní | Při slabším infekčním tlaku, mimo posledních ošetření | 7 |
| Polyversum (v systémech ekologického zemědělství) | Pythium oligandrum-oospory 1 milion ks/g | 0,1-0,2 kg | biopreparát | Preventivně od BBCH 14, maximálně 8x, v intervalu 7-14 dnů | AT |
| Polyversum-Biogarden (v systémech ekologického zemědělství) | Pythium oligandrum-oospory 1 milion ks/g | 0,1-0,2 kg | biopreparát | Moření suché nebo nástrík na hlízy + 2-10 l vody/t sadby, v systémech ekologického zemědělství | AT |
| Polyversum-Polygandron (v systémech ekologického zemědělství) | Pythium oligandrum-oospory 1 milion ks/g | 0,1-0,2 kg | biopreparát | Moření suché nebo nástrík na hlízy + 2-10 l vody/t sadby, v systémech ekologického zemědělství | AT |
| Profilux | cymoxanil, mancozeb | 2-2,5 kg | lokálně systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | 7 |
| Ranman + Ranman Activator | cyazofamid | 0,2 l/ha + 0,15 l/ha | kontaktní s omezeným syst. účinkem | Při silném infekčním tlaku, po celou dobu vegetace včetně ochrany hlíz, maximálně 3 ošetření | 7 |
| Ranman TOP | cyazofamid | 0,5 l | kontaktní s omezeným syst. účinkem | Při silném infekčním tlaku, po celou dobu vegetace včetně ochrany hlíz, maximálně 3 ošetření | 1 |
| Revus | mandipropamid | 0,5-0,6 l | lokálně systémový | V plné vegetaci a při silném infekčním tlaku | 3 |
| Revus MZ | mandipropamid, mancozeb | 2-2,5 kg | lokálně systémový, kontaktní | V plné vegetaci a při silném infekčním tlaku | 7 |
| Revus TOP | mandipropamid, difenoconazole | 0,6 l | lokálně systémový, systémový | V plné vegetaci a při silném infekčním tlaku | 3 |

| Přípravek | Účinná látka | Dávka na 1 ha | Způsob účinku | Použití | OL (dny) |
|------------------------|------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|--|----------|
| Ridomil Gold MZ Pepite | metalaxyl- M, mancozeb | 2,5 kg | systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně a silném infekčním tlaku, v deštivém počasí, před výskytem plísně v porostu, maximálně 2-3 ošetření | 7 |
| Sacron WG | cymoxanil | 0,22 kg/ha + Dithane DG Neotec-TM | lokálně systémový | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | 7 |
| Sereno | fenamidone, mancozeb | 1,0-1,5 kg | lokálně systémový a kontaktní | Po celou vegetaci, přednostně na začátku a v druhé polovině postřikové sezóny | 7 |
| Tanos 50 WG | cymoxanil, famoxadone | 0,6-0,7 kg | lokálně systémový a kontaktní | Po celou vegetaci mimo posledních ošetření | 14 |
| Unikat Pro | zoxamide, mancozeb | 1,8 kg | kontaktní | po celou vegetaci, mimo posledních ošetření, maximálně 3x za sezónu | 7 |
| Valis M | valifenalát, mancozeb | 2-2,5 kg | lokálně systémový a kontaktní | Po celou vegetaci mimo posledních ošetření, maximálně 3 ošetření | 7 |
| Zetanil WG | cymoxanil, mancozeb | 2-2,4 l | lokálně systémový a kontaktní | Při akutním nebezpečí plísně, silném infekčním tlaku, při napadení porostu, v 1. polovině postřikové sezóny | 7 |
| Zignal 500 SC | fluazinam | 0,3-0,4 l | kontaktní | Po celou vegetaci, přednostně závěrečná ošetření, dobře chrání hlízy | 7 |

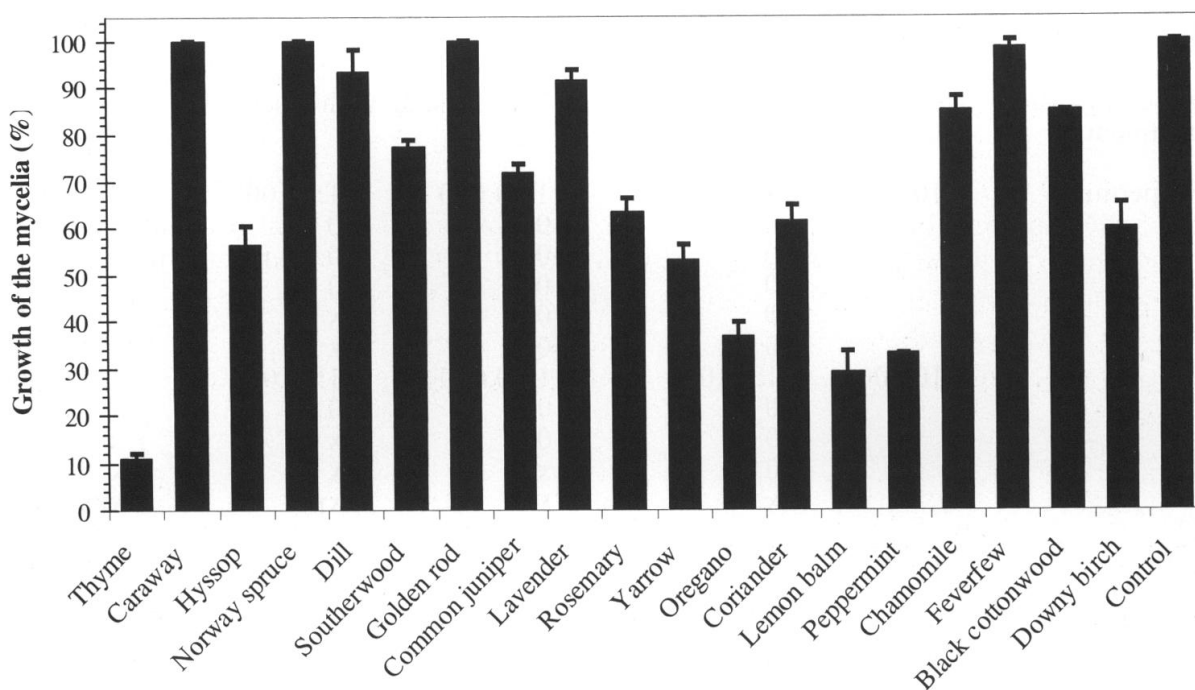
(převzato z Hausvater a Doležal. 2014. Integrovaná ochrana proti plísní bramboru. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 23 s.)

Příloha č. 5: Přípravky registrované v ČR určené k desikaci bramborové natě

| Obchodní jméno přípravku | Účinná látka | Dávkování na 1 ha | Aplikační poznámky | OL (dny) |
|--------------------------|------------------------|--|--|----------|
| Barclay D-Quat | diquat | 4 l/ha 200-400l vody /ha jednorázově - nebo děleně 5 l/ha 200-400l vody /ha (1-2 a 2-3 l/ha) | maximálně 2* | 14 |
| Basta 15 | glufosinate - ammonium | 2,5-3 l/ha 300-600l vody /ha | porosty konzumních a průmyslových brambor, velmi dobrá plevelohubná účinnost | 14 |
| Basta 15 | glufosinate - ammonium | 1,5 l/ha 300-600l vody /ha | porosty konzumních a průmyslových brambor, 3-5 dní před desikací se mechanicky zničí natě | 14 |
| Basta 15 | glufosinate - ammonium | 1,25 l/ha 125l vody/ha řádková aplikace | množitelské porosty, max. 2*, po mechanickém rozdrčení natě | 14 |
| Desiq | diquat dibromide | 4 l/ha 200-500l vody /ha | maximálně 1* desikace brambor v dávce 4 l/ha může následovat po předchozí aplikaci na plevele v dávce 2 l/ha | 7-10 |
| Dessicash 20% SL | diquat dibromide | 4 l/ha 200-500l vody /ha | maximálně 1* desikace brambor v dávce 4 l/ha může následovat po předchozí aplikaci na plevele v dávce 2 l/ha | 7-10 |
| Diqua | diquat dibromide | 4 l/ha 200-500l vody /ha | maximálně 1* desikace brambor v dávce 4 l/ha může následovat po předchozí aplikaci na plevele v dávce 2 l/ha | 7-10 |
| Dragon | diquat dibromide | 5 l/ha 200-600l vody /ha 3 l/ha 200-600l vody /ha + 1,5 l/ha Alimo nebo Istroekol (TM) | maximálně 1* aplikace na počátku dozrání porostu | 7-14 |
| IT Diquat | diquat | 4 l/ha 5 l/ha | aplikace jednorázová | 14 |
| Maxima | diquat dibromide | 4 l/ha 200-500l vody /ha | aplikace dělená 0,5-2 l/ha + 2-4 l/ha do celkové dávky 5 l/ha | 14 |
| QUAD-GLOB 200 SL | diquat dibromide | 4 l/ha 200-500l vody /ha | maximálně 1* desikace brambor v dávce 4 l/ha může následovat po předchozí aplikaci na plevele v dávce 2 l/ha | 7-10 |
| QUAD-GLOB 200 SL | diquat dibromide | 5 l/ha 200-600l vody /ha | maximálně 1* | 4 |
| Reglone | diquat dibromide | 3 l/ha 200-600l vody /ha + 1,5 l/ha Alimo nebo Istroekol (TM) | maximálně 1* | 7-4 |

(převzato z Hausvater a Doležal. 2014. Integrovaná ochrana proti plísní bramboru. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův Brod. 23 s.)

Příloha č. 6: In vitro test ukazuje účinek 19 různých esenciálních olejů proti *P. infestans*



(převzato z Quintanilla et al. 2002. Influence of essential oils on *Phytophthora infestans*. Potato Research. p. 225-235.)

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1: Sporangiofor se sporangiiemi patogenu *P.infestans*

Příloha č. 2: Příznaky napadení patogenu *Phytophthora infestans* na rostlině

Příloha č. 3: Životní cyklus patogenu *Phytophthora infestans*

Příloha č. 4: Fungicidní přípravky registrované v ČR proti plísni bramboru v roce 2014

Příloha č. 5: Přípravky registrované v ČR určené k desikaci bramborové natě

Příloha č. 6: *In vitro* test ukazuje účinek 19 různých esenciálních olejů proti *P. infestans*