

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky UP



**Využití esenciálních olejů v biologické kontrole padlí rajčat
(*Pseudoidium neolycopersici*)**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Jan Andreas Dobrovolný

Studijní program: Biologie a geografie pro vzdělávání

Studijní obor: Biologie a geografie pro vzdělávání

Forma studia: Prezenční

Vedoucí práce: doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D.

Olomouc 2023

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: Využití esenciálních olejů v biologické kontrole padlí rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a zdroje byly řádně ocitovány a uvedeny v seznamu použitých pramenů a literatury pod vedením doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D.

V Olomouci dne 1. 5. 2024.....

Podpis: *Dobrovolný*.....

Jan Andreas Dobrovolný

Poděkování

Vřele děkuji své vedoucí bakalářské práce doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D. za pomoc, vstřícnost, ochotu a odborné vedení při vypracování této bakalářské práce. Dále děkuji za podporu své rodině, přátelům a přítelkyni Máji.

BIBLIOGRAFICKÉ ÚDAJE

Jméno a příjmení autora:	Jan Andreas Dobrovolný
Název práce:	Využití esenciálních olejů v biologické kontrole padlí rajčat (<i>Pseudoidium neolyopersici</i>)
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2024

ABSTRAKT

Bakalářská práce se věnuje ochraně rostlin rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*) vůči původci padlí rajčat (*Pseudoidium neolyopersici*), a to s využitím esenciálních olejů. Teoretická část zahrnuje literární rešerši na téma charakteristiky rajčete jedlého (*S. lycopersicum*), čeledi *Solanaceae*, dále historii, taxonomii, geografické rozšíření a využití rajčete jedlého. Další část literární rešerše se zabývá obecnou charakteristikou patogena padlí rajčat (*P. neolyopersici*), řádu *Erysiphales* a čeledi *Erysiphaceae*, dále zmiňuje životní cyklus, hostitelský okruh, metody ochrany a patogenní variabilitu padlí rajčat. Poslední část literární rešerše se zabývá metodami ochrany rostlin vůči padlí (biologická a chemická ochrana), pozornost je věnována také účinku esenciálních olejů. Experimentální část zahrnuje testování a hodnocení účinků 5 esenciálních olejů (citronelový, skořicový, tymiánový, hřebíčkový a kajepuťový) vůči padlí rajčatovému (*P. neolyopersici*). Z experimentální části pokusů (makroskopické a mikroskopické pokusy) vyšlo najevo, že neoptimálnějším esenciálním olejem (EO) je emulze skořice o koncentraci 0,025 %, emulze EO, které vykazovaly minimální inhibiční účinky jsou: emulze EO kajepuťu a citronely. Především emulze citronely způsobila během experimentů silnou reakci fytotoxicity.

Klíčová slova: Esenciální oleje, *Solanum lycopersicum*, *Pseudoidium neolyopersici*, stupeň napadení patogenem, fytotoxicita

Počet stran: 71

Počet příloh: 4

Jazyk: Český

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION

First name and
surname of the author: Jan Andreas Dobrovolný
Title: Use of essential oils in biological control of tomato powdery
mildew (*Pseudoidium neolycopersici*)
Type of thesis: bachelor thesis
Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University in
Olomouc
Supervisor: doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D.
Year of thesis defence: 2024

ABSTRACT

The bachelor thesis is focused to the protection of tomato plants (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur) against the tomato powdery mildew (*Pseudoidium neolycopersici*) using essential oils. The theoretical part includes a literature review on the characteristics of the tomato (*S. lycopersicum*), family Solanaceae, as well as the history, taxonomy, geographical distribution and uses of the tomato. The next part of the literature review deals with the general characteristics of the tomato powdery mildew (*P. neolycopersici*), order Erysiphales and family Erysiphaceae, and mentions the life cycle, host range, control methods and pathogenic variation of tomato powdery mildew. The last part of the literature review deals with methods of plant protection against tomato pathogens (biological and chemical control), attention is also paid to the effect of essential oils. The experimental part includes testing and evaluation of the effects of 5 essential oils (citronella, cinnamon, thyme, clove and cajeput) against tomato powdery mildew (*P. neolycopersici*). The experimental part of the theses (macroscopic and microscopic experiments) showed that the most effective essential oil (EO) was cinnamon emulsion at 0.025 % concentration, the EO emulsions that showed minimal inhibitory effects were: cajeput and citronella EO emulsions. Especially citronella emulsion caused a strong phytotoxicity response during the experiments.

Keywords: Essential oils, *Solanum lycopersicum*, *Pseudoidium neolycopersici*, degree of pathogen infestation, degree of phytotoxicity
Number of pages: 71
Number of
attachments: 4
Language: Czech

Obsah

Seznam symbolů a zkratek	8
1. ÚVOD	9
2. CÍLE PRÁCE	10
3. LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
3.1. Charakteristika čeledi <i>Solanaceae</i> a rajčete jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	11
3.1.1. <i>Solanaceae</i> – obecná charakteristika	11
3.1.2. Rajče jedlé (<i>Solanum lycopersicum</i>)	12
3.1.2.1. Taxonomie a historie taxonomie rajčete jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i>)	13
3.1.2.2. Historie domestikace a využití rajčete jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i>)	14
3.1.2.3. Rozšíření rajčete jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i>)	15
3.1.2.4. Využití rajčete jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i>)	16
3.2. Charakteristika patogena	17
3.2.1. Obecná charakteristika řádu <i>Erysiphales</i> a čeledě <i>Erysiphaceae</i>	17
3.2.2. Životní cyklus <i>padlí</i> (<i>Erysiphaceae</i>)	18
3.2.2.1. Nepohlavní rozmnožování <i>padlí</i> (<i>Erysiphaceae</i>)	19
3.2.2.2. Pohlavní rozmnožování <i>padlí</i> (<i>Erysiphaceae</i>)	20
3.2.3. <i>Padlí</i> (<i>Erysiphaceae</i>) na rajčeti (<i>Solanum lycopersicum</i>)	21
3.2.4. <i>Padlí</i> rajčatové (<i>Pseudoidium neolycopersici</i>)	21
3.2.4.1. Charakteristika druhu <i>Pseudoidium neolycopersici</i>	21
3.2.4.2. Hostitelský okruh druhu <i>Pseudoidium neolycopersici</i>	22
3.2.4.3. Odolnost a zdroje odolnosti u zástupců <i>Solanaceae</i>	23
3.2.4.4. Obranné mechanismy odolnosti rostlin vůči <i>padlí</i>	24
3.2.4.5. Biologická a patogenní variabilita <i>padlí</i>	25
3.3. Metody ochrany rostlin před patogeny	26
3.3.1. Biologické metody ochrany vůči <i>padlí</i>	27
3.3.1.1. Indukovaná rezistence	28
3.3.1.2. Metody založené na parazitizmu	28
3.3.1.3. Antibióza	29
3.3.2. Využití esenciálních olejů v ochraně rostlin	29
3.3.3. Chemické metody ochrany vůči <i>padlí</i>	31
3.3.3.1. Historie použití chemických metod ochrany vůči <i>padlí</i>	31
3.3.3.2. Fungicidy používané jako chemická metoda ochrany proti <i>padlí</i>	32
4. MATERIÁL A METODY	33
4.1. Rostlinný materiál	33
4.2. Pomůcky, přístroje a chemikálie	33

4.3.	Patogenní materiál.....	33
4.4.	Esenciální oleje.....	34
4.4.1.	Příprava emulzí esenciálních olejů.....	34
4.5.	Realizace experimentu (experimentální design).....	35
4.5.1.	Vyhotovení listových disků.....	35
4.5.2.	Testování účinků emulzí EO dle modifikované metody listových disků (Sedláková a Lebeda, 2008).....	35
4.5.3.	Inokulace a inkubace.....	37
4.5.4.	Odběry vzorků a hodnocení.....	38
4.5.4.1.	Vizuální hodnocení procentuálního zasažení listové plochy.....	38
4.5.4.2.	Mikroskopické hodnocení klíčivosti, počtu klíčících vláken na konidíích a počtu konidioforů na listových discích.....	39
5.	VÝSLEDKY.....	41
5.1.	Makroskopické sledování vývoje padlí rajčete (<i>Pseudoidium neolycopersici</i>) na <i>Solanum lycopersicum</i> cv. Amateur.....	41
5.1.1.	Makroskopické sledování stupně napadení listové plochy rajčete padlím a stupně fytotoxicity.....	41
5.1.1.1.	Experiment č.1.....	42
5.1.1.2.	Experiment č.2.....	45
5.1.1.3.	Experiment č.3.....	47
5.2.	Mikroskopické sledování vývoje izolátu padlí rajčete na <i>Solanum lycopersicum</i> cv. Amateur.....	49
5.2.1.	Klíčivost.....	49
5.2.2.	Počet klíčících vláken na konidii.....	50
5.2.3.	Sporulace.....	52
6.	DISKUSE.....	55
7.	ZÁVĚR.....	59
8.	DIDAKTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DANÉHO TÉMATU.....	60
8.1.	Pracovní list na téma rajčete jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	60
	Seznam obrázků a grafů.....	64
	Seznam tabulek.....	65
	Přehled použité literatury.....	66
	Tištěné zdroje.....	66
	Internetové zdroje.....	69
	Přílohy.....	71

Seznam symbolů a zkratk

Atd.	A tak dále
ATP	Adenosintrifosfát
Cv.	Kultivar
DPI	Dny/dnů po inokulaci
EAGRI	Ministerstvo zemědělství
EO	Esenciální oleje/olej
FAOSTAT	Statistická databáze Organizace pro výživu a zemědělství
FYTO.	Fytotoxicita
IOR	Integrovaná ochrana rostlin
MoA	Mechanism of action
Např.	Například
OECD	Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj
Popř.	Popřípadě
SAR	Systemic Acquired Resistance
SD	Směrodatná odchylka
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
SN	Stupeň napadení
SNP	Stupeň napadení patogenem
Spp.	Species
Syn.	Synonymum
SZF	Stupeň zasažení fytotoxicitou
Tzv.	Takzvaně
Z:	Zvětšení

1. ÚVOD

Plodiny celého světa jsou ustavičně ohrožovány mnoha druhy mikrobiálních patogenů, které mohou způsobovat jejich poškození před i po sklizni. Tyto patogeny mohou mít minimální až fatální účinek na rostliny jako takové. Příkladem může být ektoparazitická obligátně biotrofní houba *Pseudodidium neolycopersici* z řádu *Erysiphales* způsobující padlí rajčat. Tento patogen napadá nejčastěji rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*) (Pathak et al., 2020), přičemž vytváří na svrchní straně listů a stonků bílý moučný povlak. Následně tyto postižené části nekrotizují, což může způsobit odumření části či celé rostliny. Je známo, že zástupci řádu *Erysiphales* (kterých je přes 900) mohou v různých formách infikovat mnoho druhů krytosemenných rostlin (až 10 000 druhů). *P. neolycopersici* má celosvětově velký ekonomický dopad na produkci polních a převážně skleníkových rajčat (Pathak et al., 2020; Kiss et al., 2020).

Zdraví pěstovaných rostlin a s ní spojený výnos jsou v dnešní době klíčové. Je nutné plodiny chránit před patogeny z důvodu co největší následné produkce plodů. Historické využívání ochrany před patogeny spočívalo v primitivních metodách ochrany rostlin např. pomocí síry nebo plodů chilli papriček (Pavela, 2020). Pozdější pokročilá ochrana rostlin před patogeny, škůdci a parazity začala vznikat v 1. polovině 20. století na biologické (antibióza, hyperparazitismus, biopesticidy) a chemické (pesticidy) bázi (Lebeda et al., 2017). Přechodnou metodou mezi biologickou a chemickou ochranou je vcelku nové téma využití esenciálních olejů, které mají baktericidní, insekticidní, fungicidní a antioxidační vlastnosti a v budoucnu by mohly fungovat jakožto preventivní, ekologický a udržitelný přípravek doplňující konvenční zemědělství (De-Montijo-Prieto et al., 2021).

Tato bakalářská práce se zaměřuje na studium vlivu esenciálních olejů (skořicový, kajeputový, hřebíčkový, tymiánový, citronelový) různých koncentrací (0,01 až 0,15 %) na vývoj padlí rajčatového (*Pseudodidium neolycopersici*), a to na listech rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*).

2. CÍLE PRÁCE

Cílem teoretické části mé bakalářské práce je vypracování literární rešerše zaměřené na charakteristiku čeledi *Solanaceae*, a rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum L.*), včetně morfologie, taxonomie, historie, rozšíření a využití rajčete jedlého. Dále se zabývá popisem řádu padlí (*Erysiphales*), a konkrétně padlí rajčatového (*Pseudodidium neolycopersici*), včetně životního cyklu, hostitelského okruhu, metod ochrany, a patogenní variability. Posledním tématem je charakteristika metod ochrany rostlin před patogeny, včetně popisu biologických a chemických metod ochrany a využití esenciálních olejů v ochraně rostlin.

Cílem praktické části bakalářské práce byla realizace experimentální části prověřující účinek 5 esenciálních olejů na vývoj padlí rajčatového (*Pseudodidium neolycopersici*) na listech rajčete (*Solanum lycopersicum cv. Amateur*). Dalším cílem bylo zhodnocení získaných dat z experimentální části, včetně tvorby tabulek, grafů a následně diskuse a závěr.

3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1. Charakteristika čeledi *Solanaceae* a rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* L.)

3.1.1. *Solanaceae* – obecná charakteristika

Čeď lilkovitých (*Solanaceae*) je jedna z největších a ekonomicky nejdůležitějších čeledí krytosemenných rostlin na světě, patří zde druhy, využívané jako potraviny, koření a léčivé rostliny. Tato čeď patří evolučně k jedné z nejvíce úspěšných čeledí na světě. Čeď lilkovitých vykazuje vysokou úroveň rozmanitosti, která se projevuje v podobě různých typů adaptací. Druhově se jedná o středně velkou čeď, která obsahuje zhruba 100 rodů a více než 3000 druhů. Čeď je téměř kosmopolitně rozšířena až na oblasti tundry. Lilkovitým se hojně daří v oblasti mírného pásma, ale největší diverzitu čeledi je možno zaznamenat v tropickém pásmu Latinské Ameriky, a subtropickém pásmu Austrálie (Ganaie et al., 2018). Až polovina známých druhů čeledi *Solanaceae* patří do rodu lilek (*Solanum*) (Grulich, 2020).

Solanaceae je morfologicky a strategicky velice rozmanitá čeď dvouděložných rostlin, je možné zde nalézt byliny jednoleté, např. lilek žlutý (*Solanum villosum*), víceleté monokarpické: blín černý (*Hyoscyamus niger*), vytrvalé byliny: rulík zlomocný (*Atropa bella-donna*) i bylinné liány: lilek potměchuť (*Solanum dulcamara*). Čeď lilkovitých zahrnuje nejen byliny, ale také keře, např. *Withania rieberkii* a stromy, např. *Nicotiana glauca* či *Duckeodendron cestroides* (Grulich, 2020). Nejčastěji se u lilkovitých setkáme s typem hlavního a vedlejších kořenů (Rost, 1996). Stonky mohou být přímé, vystoupavé, vyvinuté, větvené, trojúhelníkové, pětiúhelníkové, terestrické, dřevnaté či bylinné se sekundárním tloušťnutím, cylindrické, chlupaté, ostnaté. Stonky mohou dosahovat délky až 20 metrů a průměru až 12 cm (Rodríguez, 2023). Postavení listů je obvykle střídavé a občasně vstřícné, listy jsou řapíkaté, celistvé, členěné, složené, šupinovité a sukulentní. Palisty zcela chybějí. Květy jsou nejčastěji uspořádány do vrcholičnatých květenství, charakteristický je typ vijanu (jednoduchý, složený), např. rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*), méně časté jsou květy jednotlivé např. u: durmanu obecného (*Datura stramonium*). Květy bývají většinou oboupohlavné a velice vzácně jednopohlavné, viz *Solanum dioicum*. Květní obaly bývají rozlišené, nejčastěji pětičetné, vzácněji pak čtyřčetné, vtroušené (6-8 čtené) a isomerické. Kališní lístky mohou srůstat na bázi. Koruna je morfologicky různorodá, nalezneme zde např. korunu kolovitou, zvonkovitou, nálevkovitou, trubkovitou. V květu lilkovitých je nejčastěji 5 tyčinek v jednom kruhu. Gyneceum vzniká srůstem 2 plodolistů (svrchní dvoupouzdrý semeník), mohou být, ale

nalezena i gynecea, která vznikají srůstem 3-5 plodolistů. Plody čeledi *Solanaceae* jsou nejčastěji tobolky, viz blín černý (*Hyoscyamus niger*) a bobule, viz lilek černý (*Solanum nigrum*), velice vzácně se setkáme s peckovicí, viz nerozpadavá peckovice u *Nolana rostrata* (Grulich, 2020).

Nejčastější využití čeledi lilkovitých je v potravinářství, a to jako zelenina a ovoce, např. rajčata, brambory, papriky, lilek, chilli papričky. Určité rody lilkovitých obsahují toxické alkaloidy, které se používají v lékařství, např. hyoscyamin u blínu černého (*Hyoscyamus niger*), který je pro člověka vysoce nebezpečný. Používá se jako medikament na léčbu trávicích potíží, srdce a pomáhá zvyšovat účinek opiátů. Dále alkaloid atropin, který je možno nalézt u rulíku zlomocného (*Atropa bella-donna*). Ten v dávkách nad 100 mg může člověka zabít a způsobuje halucinace a agresi. Nejznámější alkaloid z čeledi lilkovitých je bez pochyby nikotin, který se vyskytuje u tabáku virginského (*Nicotiana tabacum*). Nikotin je prudký jed, který v malých dávkách působí stimulačními a uvolňujícími účinky (Naidoo, 2012).

3.1.2. Rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*)

Rajče jedlé neboli lilek rajče (*Solanum lycopersicum*, syn. *Lycopersicon esculentum*) je jednoletá terofytní bylina z čeledi lilkovitých (*Solanaceae*) rodu lilek (*Solanum*), viz obrázek č.1, která původně pochází ze Střední a Jižní Ameriky, kde nejčastěji roste v horských oblastech. Rajče jedlé je globálně velice důležitou potravní komoditou. Tato zelenina se v mírném podnebném pásmu Evropy (Českou republiku nevyjímaje) pěstuje především v teplejších oblastech, a to v zahradách a zemědělských kulturách (pole, skleníky). Rajče jedlé není v ČR původní, jedná se o neofyt, tedy divoký růst rajčete jedlého je značně omezen. Občasné mohou být planě rostoucí rostliny rajčete jedlého nalezeny na skládkách, rumišťích a podél železničních tratí. Rajče jedlé kvete od června do října (Hoskovec, 2008). Tato rostlina patří mezi jednu z nejvíce šlechtěných druhů zeleniny na světě. Odhaduje se, že na světě je až 10 000 kultivarů rajčete jedlého (Benoit, 2023).

Rostlina rajčete je žláznatě chlupatá a dorůstá až do výšky 200 cm. Lodyha rostliny je přímá a větvená. Listy rajčete jsou střídavé, řapíkaté, v obrysu eliptické až vejčité a přetřhovaně lichožpeřené. Palisty chybějí. Květ má žlutou barvu a je aktinomorfni, květenstvím je vijan o 3-20 květech, kalich je hluboce členěný, koruna je kolovitá a to až 25 mm v průměru. Plodem je kulovitá bobule, která má ve zralosti širokou variabilitu barvy plodů (červené, žluté, zelené, oranžové, černé). Typ kořene je hlavní a vedlejší (Hoskovec, 2008).



Obrázek č.1: Rostliny rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*), zdroj: vlastní foto

3.1.2.1. Taxonomie a historie taxonomie rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*)

O zařazení rajčete jedlého do systému organismů se zasloužil otec moderní taxonomie Carl von Linné, který rajče jedlé odborně popsal ve své první edici *Species Plantarum* (1753). Před vydáním tohoto díla byla většina názvů rostlin popisována latinsky jejími vlastnostmi. Jeden z prvních pokusů o písemný popis rajčete se datuje do roku 1731, kdy anglický botanik a správce Chelsea Physic Garden Phillip Miller použil ve svém díle (*The Gardener's Dictionary*) rodový název *Lycopersicon*, což znamená "vlčí broskev". Tento termín poprvé zavedl Tournefort (1694) a zahrnul do něj řadu taxonů s podobnými plody ("kulaté, měkké, dužnaté plody, které se dělí na dvě části, v nichž je mnoho plochých semen") všech barevných variant pěstovaných

rajčat (*S. lycopersicum*). Miller ve stejném vydání taktéž popsal dnešní lilek vejcoplodý (*Solanum melongena*) a lilek brambor (*Solanum tuberosum*) a určil je jako kultivary lilku rajčete (*S. lycopersicum*). Linné (ve svém 1. vydání *Species Plantarum*, 1753) a Jussieu (1789) zařadili rajčata do rodu lilek (*Solanum*). Miller se zasloužil o vznik rodu *Lycopersicon* (1754), a to z důvodu jeho myšlenky o rozdílných vlastnostech plodů (argumentace oproti rodu *Solanum*). Thomas Martyn po smrti Millera spojil rod *Lycopersicon* a *Solanum* ve prospěch rodu *Solanum*, (in Knapp a Peralta, 2016).

Ve 20. století se botanici a autoři odborných publikací stále dělili do dvou skupin. První skupina uznávala Millerův (1754) rod *Lycopersicon* definovaný na základě morfologie plodů, druhá skupina uznávala Linného rod *Solanum*. Dnes je domestikované rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*) taxonomicky považováno za příslušníka velkého a rozmanitého rodu *Solanum* (jež čítá zhruba 1200 druhů), a to na základě morfologických i molekulárních analýz, viz tabulka č.1. Lilek rajče (*Solanum lycopersicum*) má minimálně 12 blízce příbuzných druhů, spadajících do stejné sekce *Solanum* sect. *Lycopersicon*, které planě rostou na velice omezené lokalitě západního pobřeží Jižní Ameriky (od Ekvádoru po Chile), (Fosberg, 1987, Hawkes, 1990, in Knapp a Peralta, 2016).

Tabulka č.1 – Taxonomie rajčete jedlého kultivar Amateur (*Solanum lycopersicum*)

Taxonomie rajčete jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i>)	
Říše	rostliny (<i>Plantae</i>)
Podříše	cévnaté rostliny (<i>Tracheobionta</i>)
Oddělení	krytosemenné r. (<i>Magnoliophyta</i>)
Třída	vyšší dvouděložné r. (<i>Rosopsida</i>)
Řád	lilkotvaré (<i>Solanales</i>)
Čeleď	lilkovité (<i>Solanaceae</i>)
Rod	lilek (<i>Solanum</i>)
Sekce	(<i>Solanum</i> sect. <i>lycopersicon</i>)
Druh	rajče jedlé (<i>Solanum lycopersicum</i>)
Kultivar	rajče jedlé (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur</i>)

3.1.2.2. Historie domestikace a využití rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*)

Přesné místo domestikace lilku rajčete (*Solanum lycopersicum*) není známo, jako nejpravděpodobnější místo domestikace se uvádí Mexiko. Místem s nejvíce rozmanitým výskytem planě rostoucích rajčat (*Solanum* sect. *Lycopersicon*) je Peru (Pavan et al., 2009). První diskusi o tom, jak a kde bylo rajče přivezeno z Ameriky do Evropy, uvedl de Candolle v

19. století (1886). Rajče bylo poprvé v Evropě popsáno v 16. století v publikaci Della Mandreagorae (Matthiolini, 1544). První publikovanou ilustrací rajčete se stal náčrt v Dodoensově herbáři (1554). Podle následných ilustrací z 16. a 17. století bylo zjištěno, že všechny rostliny byly znázorněny s velkými květy a variabilní velikostí a tvarem plodů, což dokazuje, že rajčata přivezená Španěly se do Evropy dostala už domestikovaná. Tyto ranné kultivary rajčat měly červenou a žlutou barvu plodů (Matthiolini, 1544; Besler 1613 in Knapp a Peralta, 2016). Právě větší plody, ztráta dormance a vyšší míra samoopylení byly následně hlavní znaky poukazující na domestikaci v Jižní Americe a Evropě (Pavan et al., 2009).

Původní výskyt předka dnešních domestikovaných kultivarů rajčat je nejasný, polemizuje se nad Mexikem a Peru. Bylo zjištěno, že maloplodá cherry rajčata jsou považována za plané předky lilku rajče (*Solanum lycopersicum*) (Pavan et al., 2009). Podle výzkumu Blanca et al. (2012) se v peruánských a ekvádorských Andách vyskytovaly ranné domestikované a předšlechtěné rostliny rajčat, tedy původní lokalitou výskytu je označováno území Mexika a Střední Ameriky. Podle Blanca et al. (2012) evropské odrůdy rajčat vykazují na základě molekulárních analýz větší podobnost se středoamerickými rajčaty. Snadné introdukci rajčat v Evropě po roce 1520 údajně mohlo napomáhat podobné klima Mexika a evropského Středomoří.

Hlavním obdobím šlechtění rajčat (především za komerční záminkou) byl začátek 20. století, kterému v té době celosvětově dominovala USA. Jedna z prvních větších změn ve šlechtění rajčat nastala výměnou výsadby homozygotních odrůd za nově vyšlechtěné heterozygotní odrůdy, jelikož heterozygotní odrůdy mají obecně lepší výsledky a vlastnosti než odrůdy homozygotní. Šlechtění rajčat zaměřené na výnos a odolnost probíhalo v 80. letech 20. století, později v 90. letech 20. století se přidaly atributy chuti a nutričních hodnot (Pavan et al., 2009), šlechtění na odolnost vůči patogenům a škůdcům samozřejmě probíhá dál, jelikož se objevují nové hrozby.

3.1.2.3. *Rozšíření rajčete jedlého (Solanum lycopersicum)*

Rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*) je jedním z celosvětově nejvíce konzumovaných druhů zeleniny z důvodu častého využití jako ingredience v kuchyni v syrové či tepelně upravené podobě. K roku 2014 činila celosvětová celková plocha, na které se rajčata pěstují, zhruba 5 miliónů hektarů s výnosností až 171 miliónů tun ročně. Mezi státy produkující nejvíce tun rajčat se sestupně řadí: Čína, Indie, Turecko, USA, Egypt... Rajčata dokáží přežívat ve variabilních podmínkách v závislosti na podnebí, uskladnění, pěstování (skleník, pole), světlo (OECD,

2017). Podle Production quantities of Tomatoes by country FAOSTAT (2022) jsou ve světě státy se zanedbatelným či žádným výskytem a produkcí rajčat. Tedy tyto státy jsou klasifikovány jako státy bez jakékoliv produkce rajčete jedlého, a to např. Mauritánie, Chad, Středoafriická republika a další, viz příloha č.1.

V ČR se podle Němcové a Buchtové (2021) hlavní průmyslové plochy produkce rajčete jedlého soustřeďují na jižní Moravě. Velký úbytek průmyslové plochy produkce rajčat na jižní Moravě zaznamenal rok 2022 z důvodu silných bouřek, tornáda, nízké úrodnosti a odklonu zpracovatelů od tuzemských dodavatelů. K roku 2021 se v ČR vyskytovalo 302 hektarů průmyslové plochy určené k produkci rajčat (Němcová a Buchtová, 2021). K roku 2023 se rozloha pěstování rajčat zmenšila na 156 hektarů, a to ze stejného důvodu silného odklonu zpracovatelů od tuzemských dodavatelů (Němcová a Buchtová, 2023).

3.1.2.4. Využití rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*)

Rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*) je nejčastěji využíváno v gastronomii k přípravě pokrmů či jako samotná potravina. Plod rajčete má vysokou nutriční hodnotu živin a minerálů, podle Doraise et al. (2008) je právě rajče 2. nejdůležitější zeleninou hned po bramborách. Přesto podle Janíkové (2021) je rajče nejoblíbenější a nejvíce konzumovanou zeleninou v ČR, průměrně každý Čech za rok (pro rok 2020) zkonsumuje až 12 kilogramů rajčat (Janíková, 2021). V plodu rajčete jsou vitamíny (A, E, B2), proteiny, tuky, vláknina, antioxidanty, karotenoidy. Z prvků zde můžeme nalézt fosfor, sodík, měď, síru, železo, vápník atd. (Doraise et al., 2008). Právě díky vysokému výskytu prvků, antioxidantů, vitamínů, karotenoidů a dalších důležitých látek jsou rajčata velice prospěšná jakožto prevence před rakovinou a mrtvicí, dále napomáhají správné funkci srdce, mozku, kůže, kostí, očí, ledvin, regulují vysoký tlak, pomáhají udržovat správnou hladinu cukru a údajně pomáhají při hubnutí a útlavu (Shukla et al., 2013). Podle Doraise et al. (2008) má největší vliv na nutriční složku rajčat právě světlo a teplota během pěstování. Průmyslově zpracované zbytky plodů rajčat se dají využít v dalších odvětvích: sušený rajčatový odpad se využívá jako krmivo pro zvířata, semena se mohou použít při výrobě pečiva a rajčatový olej z lisovaných semen se může využívat k výrobě bionafty (Kiralan a Ketenoglu, 2022).

Podle Shukla et al. (2013) je rajče využíváno například jako modelový druh pro studium léčby různých nemocí a zdravotních problémů (revmatismus, chřipka, senná rýma, dyspepsie). Další zajímavostí je např. anthelmintická aktivita listu rajčete, což je proces paralyzující,

usmrcující či inaktivující parazity. Dále extrakty získané z listů rajčat vykazují antimykotickou aktivitu či snižování radioaktivních látek v lidském těle (Shukla et al., 2013).

3.2. Charakteristika patogena

3.2.1. Obecná charakteristika řádu *Erysiphales* a čeledě *Erysiphaceae*

Řád *Erysiphales* obsahuje jedinou čeleď, a to čeleď *Erysiphaceae* (Lebeda et al., 2017). Řád *Erysiphales* (čeleď *Erysiphaceae*) je zařazen do třídy *Leotiomycetes*, oddělení *Ascomycota* a říše *Fungi*. Zástupci řádu *Erysiphales* (padlí) jsou obligátní, vysoce specializovaní ektoparazité krytosemenných rostlin. Počet potenciálních hostitelů, které může padlí napadnout, je okolo 10 000 druhů (cca 9 400 dvouděložných a 600 jednoděložných druhů) rostlin (Braun a Cook, 2012). Podle posledních studií existuje více než 900 druhů padlí (Kiss et al., 2020). Typickým příznakem napadení padlím jsou bílé moučné skvrny na zelených (fotosynteticky aktivních) částech rostlin (listy, stonky), někdy padlí napadá i květy a plody (Braun et al., 2002). Výskyt padlí je globálního charakteru s výrazným rozšířením v mírném pásmu severní polokoule. V Evropě se za centra napadení padlím může považovat Francie, Německo, Rumunsko, Itálie (Weltzein, 1978 in Petřeková, 2018).

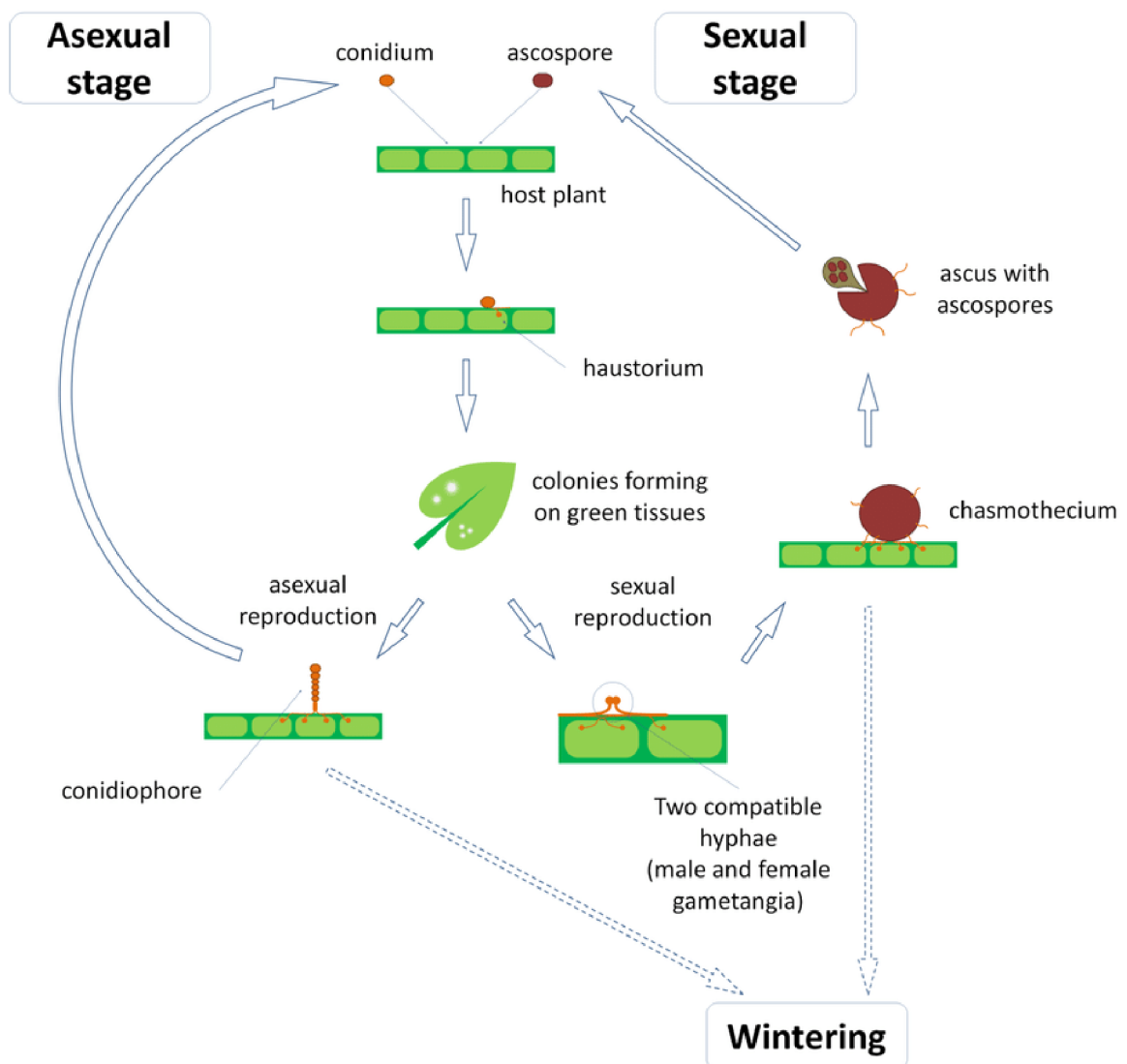
Zástupci řádu *Erysiphales* napadají mnoho ekonomicky významných plodin či okrasných a léčivých rostlin, jako např. chmel, tabák, réva vinná, rajče, dýně, dub, paprika, okurek, divizna, ibišek... (Lebeda et al., 2017). Zástupci padlí patří do skupiny oslabovačů (debilitators), tedy samotné padlí rostlinu neusmrtí, ale způsobí ztrátu vody, živin, zvyšují transpiraci a respiraci, odčerpávají asimiláty a v krajních případech mohou způsobit opad listů (Glawe, 2008). Padlí poprvé popsal švédský přírodovědec Carl von Linné (1753), mezi pozdější autory zabývající se problematikou padlí můžeme řadit: (de Candolle 1815, Leveillé 1851, Salmon 1900, Swanda 1951, Braun, 1987 in Lebeda et al., 2017). V původním taxonomickém členění čeledi *Erysiphaceae* byly důležité znaky teleomorfy, např. počet vřecek v askokarpu či tvar apendixu u chasmothecia (Braun, 1995). Následným výzkumem na základě metody molekulárních analýz a skenovací elektronové mikroskopii (SEM) bylo zjištěno, že charakteristika anamorfy má z taxonomického hlediska větší význam (Braun a Cook, 2012). Na základě fylogenetických analýz nukleotidových sekvencí DNA můžeme čeleď *Erysiphaceae* rozdělit do 5 základních tribů: *Golovinomyceteeae*, *Phyllactinieae*, *Erysiphaceae*, *Blumerieae* a *Cystothecaeae*. Podle nejnovějších výzkumů mají až 3 z 5 tribů čeledi *Erysiphaceae* schopnost parazitovat na dřevinách i bylinách. V rámci těchto tribů bylo zjištěno, že parazité stromů jsou fylogeneticky původnější, a naopak, parazité bylin jsou fylogeneticky

odvozenější. Většina všech zástupců padlí jsou ektoparazité (12 rodů), jen 4 rody jsou endoparazitické (Takamatsu, 2013).

3.2.2. Životní cyklus padlí (*Erysiphaceae*)

Spory a buňky padlí jsou podobné dalším zástupcům vláknitých askomycet. Buňka padlí má vakuoly, buněčné stěny, jádra a další orgány. Životní cyklus zahrnuje sexuální (teleomorfní) či asexuální (anamorfní) stadia, viz obrázek č.2. Existují výjimky, kdy jedno stádium může u různých druhů padlí chybět. Životní cyklus padlí je sladěn s životním cyklem jejich hostitelů, tedy k vytvoření efektivní strategie je zapotřebí znát funkci celého patosystému v daném prostředí (Glawe, 2008).

Nejčastější způsob infekce padlím je pomocí dopadu konidií (primární infekce) na hostitele. Po přenosu konidií na povrch rostliny se začíná vyvíjet klíčící vlákno a apresoria, která vyvolávají produkci penetračních hrotů. Následně tyto hroty pronikají do buněk, a zde tvoří haustoria. Infekce hostitele je také možná pomocí hyf, a to vstupem prostřednictvím průduchů (např. rod *Leveillula*). Pokud jsou splněny všechny náležitosti infekce (virulence patogena, náchylnost rostliny), tak dochází k vývoji hyf, následné sporulaci a tvorbě konidií. Zásadní ovlivnění uvolňování a rozšiřování konidií je způsobeno relativní vlhkostí a prouděním vzduchu (Jarvis et al. 2002). Další způsoby ovlivnění rozšiřování konidií jsou: teplota, množství srážek, sluneční svit a vlhkost listů. Padlí se liší ve specifitě svých interakcí. Existují druhy, které mají velmi úzký hostitelský okruh, ale i druhy jako je *Blumeria graminis*, jehož hostitelský okruh zahrnuje více než 600 rostlinných druhů (Braun a Cook, 2012).



Obrázek č.2: Životní cyklus padlí (*Erysiphaceae*) (Sulima a Zhukov, 2022).

3.2.2.1. Nepohlavní rozmnožování padlí (*Erysiphaceae*)

Po následné infekci hostitelské rostliny dochází k růstu hyf, větvení a dodatečně se formují kruhové kolonie na povrchu orgánů rostlin. Během zrání hyf je možné dokumentovat změnu barvy v závislosti na stáří hyf. Mladé hyfy jsou nejčastěji průhledné a v pozdější fázi zrání získávají šedou, červenou či hnědou barvu. Právě hyfy dokážou iniciovat vznik konidioforů, či začít pohlavní fázi, a to vznikem gametangií (Glawe, 2008).

Nejčastěji se u padlí setkáme s epifytickým typem mycelia. Tento typ mycelia nejčastěji proniká do buňky pomocí přímého enzymatického narušení epidermis a kutikuly. Některé

druhy padlí pronikají do hostitelských listů pomocí protržení epidermis. Rozměr jedné hyfy je přibližně od 20-150 μm na délku a 2-10 μm na šířku (Braun et al., 2002). Hyfy mohou nejčastěji být zvlněné, rovné či uzlovité, co se týče životnosti hyfy, tak zde rozlišujeme na hyfy s krátkou životností a přetrvávající (Braun a Cook, 2012). Existují 2 typy modifikací hyf u čeledi Erysiphaceae, a to apresoria a haustoria (Petřeková, 2018).

Podle Petřekové (2018) můžeme apresoria definovat jako infekční struktury, které vznikají na klíčovém vlákně nebo hyfě, díky čemuž padlí přilne v místě kontaktu k povrchu rostliny. Další funkce apresorií je iniciace vzniku haustorií, což jsou orgány, které zprostředkovávají výživu padlí (Braun a Cook, 2012).

Dále souvisejícím orgánem s nepohlavním rozmnožováním je konidiofor, který vzniká z vegetativních hyf a jeho postavení je kolmé k povrchu hostitele. Délka konidioforů se pro jednotlivé druhy padlí liší. Důležitý určovací znak je tvorba konidií na konidioforech, dozrávání konidií může probíhat jednotlivě (typ *Pseudoidium*) nebo skupinově (typ *Euoidium*). Existuje celá škála tvaru konidií: elipsoidní, vejčitý, kyjovitý, sudovitý... Právě samotné nepohlavní rozmnožování je způsobeno konidiami, jejichž rozšiřování je velice nápadné, a to jako bílý prášivý moučný povlak na listech, stoncích a plodech (Petřeková, 2018).

3.2.2.2. Pohlavní rozmnožování padlí (*Erysiphaceae*)

Druhý typ rozmnožování padlí je typ pohlavní, které je charakterizováno vznikem kulovitých až zploštělých plodnic (askokarpů) (Braun a Cook, 2012). Začátek pohlavního rozmnožování je iniciován vznikem gametangií, a to samčího antheridia a samičího askogonia. Po plasmogamii gametangií se začne jádro pohybovat z antheridia do askogonia, a následuje růst askogenních dikaryotických hyf, které tvoří plodnici, v níž se vyvíjejí vřecka. Karyogamie a meióza nastává v ranných stádiích vývoje vřecka. Počet askospor je od 2 do 8 (Braun et al., 2002). Čeleď *Erysiphaceae* má nejčastěji bitunikátní typ vřecek, síla stěn je specifická v závislosti na druhu padlí. Celkový počet vřecek v chasmotheciu se taktéž podle druhu padlí pohybuje od 1 do 40 (Glawe, 2008). Morfologicky jsou askospory jednobuněčné, cylindrické, obvykle rovné, vejčité, bezbarvé až nažloutlé a bez vakuol. Délka askospory je nejčastěji 10-50 μm a šířka 8-30 μm (Braun a Cook, 2012).

3.2.3. Padlí (*Erysiphaceae*) na rajčeti (*Solanum lycopersicum*)

Na rodu *Solanum* jsou známy celkem 3 druhy padlí, které podle aktuální taxonomie spadají do 3 různých rodů, a to rod *Pseudoidium* (*Pseudoidium neolycopersici*, syn. *Erysiphe neolycopersici*), *Euoidium* (*Euoidium lycopersici*, syn. *Golovinomyces lycopersici*) a *Leveillula* (*Leveillula taurica*) (Braun a Cook, 2012). Po roce 2000 bylo díky odborným studiím zjištěno mnoho neobjasněných informací ohledně taxonomického zařazení a fylogenetického popisu vybraných druhů z rodů *Pseudoidium*, *Euoidium* a *Leveillula* (Jankovics et al., 2008). Druh *Leveillula taurica* je druh, který má velice široký hostitelský okruh, dokáže infikovat až 750 druhů ze 60 čeledí a lze jej lehce odlišit od ostatních druhů padlí parazitujících na rajčeti na základě intramatrikálního mycelia, které prorůstá listovým mezofylem (Zheng et al., 2013 in Lebeda et al., 2017); (Braun, 1995). Druh *L. taurica* se nejčastěji vyskytuje v horkých a xerofytních oblastech. Druh *Euoidium lycopersici* byl poprvé objeven na konci 19. století v Austrálii (Braun et al., 2019). Celosvětová pozornost je však upnuta na nově objevený druh padlí *Pseudoidium neolycopersici*, který se objevil v západní Evropě v polovině 80. let 20. století a způsobil devastující infekce skleníkových rajčat. Původně byly tyto devastace přičteny druhu *Euoidium lycopersici*, následně se však díky komparativním morfologickým a molekulárním studiím ukázalo (Jankovics et al., 2008), že původce této epidemie je druh *Pseudoidium neolycopersici* (Mieslerová a Lebeda, 1999). Později byl výskyt druhu *P. neolycopersici* potvrzen i v Severní Americe a dalších světadílech, např. Africe (Lebeda et al. 2014, 2015). Detailní geografický výskyt padlí *P. neolycopersici* není přímo znám, ale během posledního desetiletí byly publikovány studie pojednávající o nových nálezech v různých zemích a na různých hostitelských rostlinách, viz (Lebeda et al., 2015; Liu et al., 2019).

3.2.4. Padlí rajčatové (*Pseudoidium neolycopersici*)

3.2.4.1. Charakteristika druhu *Pseudoidium neolycopersici*

Druh *Pseudoidium neolycopersici* je jedním ze 3 druhů padlí, které mohou infikovat rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*). Druh *P. neolycopersici* vytváří dobře vyvinuté, bílé mycelium na povrchu listů, řapících a stoncích, které může dále tmavnout. Hyfy jsou hyalinní, větvené, tenkostěnné a hladké, septátní, o šířce 2-8 μm . Apresoria můžeme nalézt na koncích hyf nebo klíčnicích vláken, kde vznikají. Apresoria jsou nejčastěji laločnatá o průměru 3-9 μm . Konidiofory rostou vzpřímeně a jejich délka dosahuje 50-120 μm . Konidie jsou elipsovité-vejčité o rozměrech 25-45 x 12-20 μm (Braun a Cook, 2012). Klíčení konidií probíhá nejčastěji

na vrcholu či výjimečně na boku samotné konidie. Klíčící vlákna jsou rovná nebo mírně zakřivená, dlouhá (25-40 μm x 4-6 μm) a často ukončena laločnatým apresoriem. U druhu *P. neolycopersici* doposud nebylo objeveno pohlavní (teleomorfni) stádium (Mieslerová et al., 2004).

Symptomy napadení padlím rajčete (*Pseudoidium neolycopersici*) na zástupcích rodu *Solanum* lze zaznamenat ve všech vývojových stádiích rostlin; na děložních a prvních pravých listech, řapících, stoncích, listech. Pokud se jedná o silnou infekci, tak se hojná mycelia mohou objevit na obou stranách listů. Jediným rostlinným orgánem, kde infekce nebyla pozorována, jsou plody. Začátek infekce je doprovázen vznikem drobných okrouhlých pustulí o velikosti 2-5 mm. Tyto pustule se spojují a rozrůstají ve větší celek. U náchylných genotypů rostlin rajčat mohou pustule vytvářet souvislé vrstvy vzdušného mycelia. Moučný povlak postupně začíná hnědnout či šednout, je-li rostlina silně napadena, listy žloutnou, hnědnou a nekrotizují. Silně napadené rostliny mohou odumírat. Nejčastěji se s *P. neolycopersici* setkáme u skleníkových kultur rostlin rajčat, není ale vyloučen výskyt i v polních podmínkách (Lebeda et al., 2014, 2017).

Životní cyklus *P. neolycopersici* je doposud málo známý, nikdy nebylo v přirozených podmínkách nalezeno ani uměle indukováno pohlavní stádium patogena (nejspíše chasmothecia). Přežívání patogena je tedy značnou otázkou, předpokládá se, že přežívá formou askospor (v chasmotheciích). Jedná-li se o teplé oblasti nebo oblasti celoročního krytého pěstování rajčat, tak lze předpokládat, že patogen přežívá formou „zeleného mostu“. Tyto zelené mosty (hostitelské rostliny) slouží jako zdroj primárního inokula. Nejčastější způsob přenosu inokula mezi rostlinami je větrem nebo přímým kontaktem infikované rostliny s rostlinou zdravou. Neoptimálnější teploty pro klíčení konidií, vývoj mycelia a klíčících vláken a konidiogeneze je 20-25 °C. Světelné podmínky jsou neméně důležitým faktorem ovlivňující růst a vývin patogena, např. nízká světelná intenzita přispívá klíčivosti konidií a vysoká světelná intenzita napomáhá vzniku konidií, apresorií a sporulaci (Mieslerová a Lebeda, 2010).

3.2.4.2. Hostitelský okruh druhu *Pseudoidium neolycopersici*

Druh padlí *P. neolycopersici* se nejčastěji vyskytuje na rostlinách rajčat (*Solanum lycopersicum*) a dalších zástupcích čeledi *Solanaceae* a druhu *Solanum*. Poslední experimentální studie poukazují na to, že zmíněný patogen je schopný nakazit i některé druhy z čeledí *Linaceae*, *Papaveraceae*, *Apocynaceae*, *Malvaceae*, *Campanulaceae*, *Pedaliaceae*,

Cistaceae, *Crassulaceae*, *Violaceae*, *Valerianaceae* a *Scrophulariaceae*. Patogen naopak nedokáže infikovat některé ekonomicky významné druhy z čeledi bobovitých (*Phaseolus lunatus*, *Pisum sativum*), brukvovitých (*Brassica oleracea* var. *botrytis*, *Brassica oleracea* var. *capitata*), hvězdnicovitých (*Asteraceae*) a lipnicovitých (*Triticum aestivum*, *Zea mays*) (Whipps et al., 1998). V návaznosti na široký areál výskytu je patogen *P. neolycopersici* považován za globální problém pěstovaných rajčat. *P. neolycopersici* se vyskytuje v řadě evropských, asijských, severo – a jihoamerických a afrických států, kde parazituje nejen na rajčeti (*Solanum lycopersicum*), ale i na příbuzných hostitelských rostlinách (Lebeda et al., 2014; 2017).

3.2.4.3. Odolnost a zdroje odolnosti u zástupců *Solanaceae*

Rostliny si během svého vývoje a růstu dokážou vytvořit komplexní obranný systém, který je schopný chránit rostliny před biotickými a abiotickými stresovými vlivy okolního prostředí. Systém zahrnuje fyzické, chemické a molekulární mechanismy obrany (Mostafa et al., 2021).

Nejefektivnější metodou, jak zabránit infekci padlím, je šlechtění a pěstování odolných odrůd. Domestikace a následné šlechtění rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) za účelem navýšení výnosnosti vedlo ke ztrátě důležitých vlastností, a to především odolnosti vůči chorobám a škůdcům. Odrůdy rajčat vyšlechtěné do 80. let 20. století jsou k *P. neolycopersici* náchylné z důvodu vcelku nové introdukce patogena (Mieslerová a Lebeda, 1999). Tato skutečnost vedla k tomu, že po nástupu epidemie tohoto patogena byly hledány nové zdroje rezistence u planých druhů rodu *Solanum* sect. *Lycopersicon* (dříve *Lycopersicon* spp.). Rezistence vůči padlí byla zjištěna u druhu: *Solanum peruvianum*, *Solanum neorickii*, *Solanum pennellii*, *Solanum habrochaites* (Lindhout et al., 1994; Ignatova et al., 1997; Milotay a Dormanns-Simon, 1997 in Lebeda et al., 2017). Daleko méně zdrojů odolnosti bylo zjištěno u druhů *Solanum lycopersicum* (var. *cerasiforme*) a *Solanum pimpinellifolium* (Kumar et al., 1995; Ciccarese et al., 1998 in Lebeda et al., 2017). Následné využití těchto druhů ve šlechtění dalo vzniknout novým odrůdám rezistentním vůči padlí *P. neolycopersici*. Hlavní problém ale vzniká v závislosti na tom, že se jedná o rasově specifickou rezistenci (vertikální rezistence), která může být snadno překonána vznikem nových ras patogena (Lebeda a Mieslerová, 2002).

V chemické obraně vůči padlí lze použít široké škály přípravků. Aktuálně se používají přípravky jako: Kumulus WG, Talent, Zato 50 WG, Bioan, Score 250 EC, Ortiva, Topas 100 EC. S používáním těchto aktivních přípravků proti patogenovi se můžeme setkat s fungicidní

rezistencí, která je u druhu *P. neolycopersici* málo známá a skoro neprozkoumaná (Lebeda et al., 2017).

3.2.4.4. Obranné mechanismy odolnosti rostlin vůči padlím

Padlí jsou obligátně biotrofní parazité, kteří ze svého hostitele čerpají látky pro svoje přežití. Takovýto zásah může nevratně narušit fyziologické pochody rostliny na úrovni změny struktury buněk, pletiv a rostlinných orgánů (Sedlářová a Vinter, 2007). Během evoluce si rostliny vyvinuly komplexní síť strukturních a chemických bariér. Mezi hlavní obranné strategie rostlin proti padlím patří zesílení buněčné stěny (tvorba papil), hypersenzitivní reakce, nekróza napadených buněk a tvorba různých sloučenin (fytoalexiny, PR proteiny) (Ferreira et al., 2006). Klíčovou modifikací rostlin k získání obranného mechanismu je např. vznik kutikuly na povrchu rostliny, která omezuje průnik a klíčení spor patogena (Sedlářová a Vinter, 2007). Některé patogenní organismy se dokážou adaptovat na infekční strategii svého hostitele, který pochází z jiné oblasti (Věchet, 2012).

V závislosti reakce epidermis na napadení padlím je velice důležitým obranným mechanismem tvorba papil, což je definováno jako apozice buněčné stěny v místě penetrace patogenem. Obranný mechanismus papil zahrnuje ukládání kalózy a dalších složek epidermis na vnitřním povrchu buněčné stěny pod apresorii a penetračním hrotem patogena. Vznik papil není podmíněn přímou reakcí na patogena, vytváří se i na zdravých rostlinách. Jsou-li obranné mechanismy (silná buněčná stěna, papily) dostatečně silné, zabrání průniku patogena (vzniku kolonií padlím) (Lebeda, et al., 2017).

Následně po vzniku papil a možného průniku houbového patogena se rostlina může setkat s hypersenzitivní reakcí buňky (většinou spjata s rasově specifickou odolností). Tato reakce buňky na houbového patogena je zodpovědná za obranu prostorového šíření původce nemoci, a to mechanismem řízeného obětování vlastních buněk (nekróza) pro zastavení šíření nemoci (Hückelhoven a Panstruga, 2011). Hypersenzitivní reakce je spojena se ztrátou turgoru (permeability membrány) buňky. Ztráta turgoru je vyvolaná penetrací patogena do epidermis, kde kolem napadené buňky začnou okolní buňky odumírat a tvořit jakousi bariéru. Patogen postupem času začíná hladovět, jelikož je odříznut od zdroje živin, tím pádem nemůže docházet k růstu a vývinu, následně umírá (Lebeda et al., 2017).

Sekundárním účinkem hypersenzitivní reakce je vysílání varovných signálů do zbytku rostliny (nespecifická rezistence). Tento typ rezistence se nazývá systémově získaná rezistence

(SAR – Systemic Acquired Resistance) a zvyšuje obranyschopnosti rostliny oproti dalším patogenům (Prokop, 2009).

Výzkum zaměřený na interakci *Solanum* – padlí rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) odhalil, že výše zmíněný typ rezistence (hypersenzitivní reakce) není účinný ve všech případech. Během některých pokusů byl dokumentován vývoj mycelia v penetrovaných buňkách, které vykazovaly hypersenzitivní reakci (Mieslerová et al., 2004).

3.2.4.5. Biologická a patogenní variabilita padlí

Zástupci řádu *Erysiphales* jsou charakterističtí svoji vyhraněnou biologickou specializací na určité čeledě, rody a druhy rostlin. Druhy padlí můžeme z hostitelského hlediska rozdělit na monofágní, oligofágní a polyfágní (Ale-Agha et al., 2004).

Druhy monofágní parazitují jen na jediném druhu hostitelské rostliny. Tato skupina padlí je nejčastějším typem hostitelského okruhu u čeledi *Erysiphaceae*. Řadíme zde druhy endemické, např. *Podosphaera callicarpae* z Japonska a druhy, které se specializují na globálně rozšířené hostitelské rostliny, např. *Erysiphe catalpae* na rodu *Catalpa* (Ale-Agha et al., 2004).

Dále známe druhy oligofágní, které parazitují na různých rodech a družích jedné čeledi, např. *Blumeria graminis* na 113 rodech čeledi *Poaceae* (Whipps et al., 1998).

A posledním typem jsou druhy polyfágní, které dokáží parazitovat na rodech a družích různých čeledí, např. *Pseudoidium neolycopersici*, jež dokáže infikovat (kromě rodu *Solanum* a dalších zástupců čeledi *Solanaceae*) i zástupce z dalších čeledí: *Linaceae*, *Papaveraceae*, *Apocynaceae*, *Malvaceae*, *Campanulaceae*, *Pedaliaceae*, *Cistaceae*, *Crassulaceae*, *Violaceae*, *Valerianaceae* a *Scrophulariaceae* (Whipps et al., 1998).

Provedené studie dokázaly, že biologická specializace zástupců řádu *Erysiphales* se dále dělí do nižších taxonomických a patogenních úrovní, než je druh hostitelské rostliny, a to např. forma *specialis*, která je považována za nejnižší taxonomickou jednotku hub, dále *patotyp* či *rasa* (Lebeda et al., 2017).

Studium patogenní variability je u *P. neolycopersici* značně omezené, a to z důvodu obtížného získání a udržování definovaných izolátů patogena. Dalším důvodem omezeného studia problematiky je rozdílnost výsledků odborných studií, které nepoužily identické genotypy hostitelských rostlin (Mieslerová and Lebeda, 1999). Na základě studie Lebedy a Mieslerové (2002), která se zabírala vnitrodruhovou variabilitou zástupců *P. neolycopersici*

(z Německa, České republiky, Nizozemska a Anglie) a rozdílů v patogenitě na 35 zástupcích rodu *Lycopersicon* (*Solanum* sect. *Lycopersicon*), může být konstatováno, že byla potvrzena variabilita izolátů (na úrovni ras) druhu *P. neolycopersici* pocházejících z různých států (Lebeda a Mieslerová, 2002).

3.3. Metody ochrany rostlin před patogeny

Ochrana rostlin před patogeny, škůdci, parazity a hmyzem je velice důležitou součástí ochrany zdraví rostlin i člověka. První historické zmínky o ochraně rostlin se datují do období starých Mayů (3000 př.n.l.), kdy k ochraně zásob úrody byly používány pálivé papričky *Capsicu annum* (Pavela, 2020). V dnešní době je známo mnoho účinných mechanismů a přípravků určených k ochraně a prevenci rostlin oproti patogenům. Některé mechanismy obrany dokáže zahájit samotná rostlina, a to např. tvorbu papil, hypersenzitivní reakci, tvorbu fytoalexinů. Další metodou ochrany je šlechtění rostlin, které hraje velice důležitou roli v obraně proti patogenům, jelikož může vylepšovat rezistenci rostlin. Následnou variantou ochrany jsou biologické způsoby ochrany, které spočívají v použití ekologických a udržitelných variant k boji proti patogenovi, např. biopesticidů, parazitů, hyperparazitů, či využití antibiomy. Velice účinnou, nýbrž méně udržitelnou a ekologickou variantou je chemická metoda ochrany, a to např. kontaktní a systémové látky (přípravky) (Lebeda et al., 2017). Přečasnou variantou mezi biologickou a chemickou metodou ochrany je využití esenciálních olejů, které dokážou regulovat infekci patogena na rostlině (De-Montijo-Prieto et al., 2021).

S ochranou rostlin úzce souvisí tzv. integrovaná ochrana rostlin (IOR), což je systém, který reguluje četnost populací škodlivých činitelů, a to při využívání metod s ohledem na ekonomické, toxikologické, ekologické a hygienické požadavky procesu. Hlavním záměrem IOR je udržení populace škodlivých činitelů na tolerovatelné úrovni, tedy zamezení rozptylu a růstu škodlivého činitele v populaci za použití metod monitoringu, identifikace a výběru. Tyto metody ochrany se rozdělují na hlavní složky regulace (agrotechnická, biologická a chemická) (Landa, 2010).

Nejvíce proaktivní složkou IOR je tzv. agrotechnická složka regulace. Tato složka převážně cílí na metody preventivních účinků, patří zde např. správná pěstitelská praxe, důraz na respektování kompenzačních a regeneračních schopností rostlin a směřování regulace na udržitelnost a správnou kondici rostlin (Landa, 2010).

Druhou složkou IOR je tzv. biologická složka regulace, která cílí na udržitelnost a ekologičnost regulace určitého patogena/škůdce/parazita. Největší důraz zde platí na využívání přirozených metod regulace škodlivého činitele, patří zde např. antibiόza, parazitizmus, hyperparazitismus, důraz na biologickou aktivitu půdy (Landa, 2010; EAGRI, 2020).

Poslední složkou regulace, je složka chemická, která cílí na umělou regulaci za použití různých pesticidů a chemických složek. Podle Landy je chemická regulace přípustná, nýbrž jen jako poslední možnost, jelikož dokáže nenávratně poškodit společenstvo či biocenózu (Landa, 2010).

3.3.1. Biologické metody ochrany vůči padlí

Padlí dokáže infikovat širokou škálu hospodářských plodin. Z tohoto důvodu je nutné klást důraz na biologické metody ochrany (Bélanger a Labbé, 2002 in Lebeda et al., 2017). Právě biologické prostředky prevence a léčby by měly být náhradou za chemické prostředky, či aspoň doplněním chemických ochranných metod (Lebeda et al., 2017). Hlavním rozdílem oproti chemické ochraně je ten, že chemické prostředky přesně cílí na jeden druh nebo skupinu parazitujících organismů, které eliminují z daného hostitele. Biologické prostředky mohou cílit na patogena nespecificky, specificky, komplexně a systémově (Bleša et al., 2020).

Co se týče biologické ochrany, nelze jednostranně definovat, že biologické prostředky ochrany nemůžou být chemické látky. Definice prostředků biologické ochrany souvisí se šetrností vůči životnímu prostředí a biologickému původu dané látky. Ukázkovým příkladem látky, která je chemického původu, a přitom splňuje kategorizaci biologického prostředku na ochranu, je síra. Síra se nachází ve volné přírodě a působí fungicidní schopností, která dokáže ničit patogeny padlí šetrně vůči životnímu prostředí. Pokud se ale prostředky na bázi síry používají v krytých prostorách skleníků při vysoké teplotě (27-28 °C), mohou působit fytotoxicky (Bélanger a Labbé, 2002 in Lebeda et al., 2017); (Milling et al., 2012). Existuje celá řada biologických prostředků (látek) určených k ochraně proti padlí: anorganické produkty (vodný roztok draselných solí, vápenné mléko, rozpustný křemík), organické produkty (mléko, oleje, rostlinné extrakty) a živé organismy (houby, bakterie, členovci) (Lebeda et al., 2017).

Velice účinnou biologickou strategií ochrany vůči padlí je použití tzv. biopesticidů, tedy přirozeně se vyskytujících bioaktivních látek, které působí pesticidními účinky. Tyto látky mohou být získány z přírodních zdrojů, např. ze zvířat, hub, rostlin a bakterií. Biopesticidy

získané z rostlin vznikají jako produkt sekundárního metabolismu a rostlinám slouží jako ochrana před patogeny či herbivory. Chemicky můžeme tyto produkty sekundárního metabolismu rozdělit na alkaloidy, fenoly, saponiny, terpeny, peptidy (Bleša et al., 2020).

3.3.1.1. Indukovaná rezistence

Jedním z účinných způsobů biologické ochrany je tzv. indukovaná rezistence. Tento typ ochrany proti padlí je výjimečný tím, že se dále teoreticky nemusí používat fungicidy. Indukovaná rezistence nepůsobí na rostliny léčebně, tedy je spíše chápána jako preventivní nástroj obrany před raným výskytem patogena, jelikož podporuje aktivaci vlastních obranných reakcí rostlin. Intenzivnější výskyty padlí by se však měly řešit biologickými a chemickými přípravky (Elad et al., 1996 in Lebeda et al., 2017).

Mechanismy indukované rezistence, které by měly rostlinu aspoň částečně ochránit před infekcí padlím jsou: tvorba papil, hypersenzitivní reakce, produkce fytoalexinů (Lebeda, et al., 2017).

3.3.1.2. Metody založené na parazitizmu

Většina zástupců řádu *Erysiphales* jsou ektoparazitické druhy hub, které mohou být napadány dalšími druhy hub, které se stanou součástí životního cyklu padlí. Tyto organismy parazitující na parazitech se nazývají sekundární parazité, tzv. hyperparazité. V odborné fytopatologické literatuře zatím není mnoho informací pojednávajících o hyperparazitických druzích obecně, a to nevyjímaje padlí. Existuje však mnoho odborných studií pojednávajících o aplikaci živých organismů jako potenciálních biopesticidů určených k biologické ochraně proti padlí (Lebeda et al., 2017).

Nejvýznamnější zástupce ze skupiny hyperparazitů je houba *Ampelomyces quisqualis* Ces., která parazituje na mnoha zástupcích z řádu *Erysiphales*. Houba *A. quisqualis* byla poprvé popsána ve 30. letech 20. století. Přítomnost houbového hyperparazita byla potvrzena u rodů *Leveillula*, *Erysiphe*, *Uncinula*, *Podospaera*, *Oidium*, atd. a taktéž dokáže parazitovat na mnoha druzích z jiných řádů, např. *Mucorales* a *Peronosporales* (Sedláková a Lebeda, 2010; Kiss, 1997; in Lebeda et al., 2017). Hyperparazit *A. quisqualis* parazituje i na padlí ekonomicky a hospodářsky významných plodin, napadá např. *Golovinomyces orontii* a *Podospaera xanthii* (původci padlí tykvovitých), *Blumeria graminis* a *Erysiphe necator* (Sedláková et al., 2012 in Lebeda et al., 2017). Hyperparazit *A. quisqualis* dokáže napadnout a negativně ovlivnit různá

životní stádia či orgány padlí (mycelium, tvorbu chasmothecií a konidiogenezi), což může vést k úplné destrukci celé kolonie padlí (Jarvis et al., 2002).

Dalším zástupcem skupiny hyperparazitů parazitujících na řádu Erysiphales, ale také například na členovcích či rzích, je polyfágní houba *Lecanicillium lecanii*. Způsob parazitické strategie je od *A. quisqualis* rozdílný. *L. lecanii* působí antagonisticky, tedy svého hostitele silně ochromí či usmrtí, a až následně parazituje na jeho strukturách (Benhamou a Brodeur, 2000 in Lebeda et al., 2017).

3.3.1.3. Antibióza

Proces antibiózy zahrnuje antagonistické soužití mezi dvěma organismy či organismem a metabolickým produktem organismu jiného, a to ke škodě jednoho z těchto organismů (Kúdela a Polák, 2007 in Lebeda et al., 2017). Prvním rodem, u kterého byl antagonistický vztah s padlím zdokumentován, je rod *Tilletiopsis*, který působí na *Podosphaera xanthii*. Mechanismus a způsob účinků tohoto rodu je celkem neprobádaný z důvodu nedostatečného množství studií. Pomocí mikroskopického pozorování a studií kultur *Tilletiopsis* spp. ale může být potvrzeno, že hlavním mechanismem vlivu na padlí je právě antagonismus na bázi produkce hydrolytických enzymů a antibiotik (Urquhart a Punja, 2002 in Lebeda et al., 2017).

Dalším rodem vykazujícím antibiózu je rod *Pseudozyma* spp. (syn. *Sporothrix* spp.) s druhy *Pseudozyma rugulosa* a *Pseudozyma flocculosa* kontrolující padlí, např. na *Podosphaera xanthii* (Kiss, 2003). Hlavní globální pozornost je věnována právě pochopení způsobu účinků druhu *P. flocculosa*, který je specifický tím, že nepenetruje (neproniká) do svého hostitele přímo, nýbrž dochází k zrychlené plazmolýze spor padlí (Hajlaoui et al., 1992). Tedy podle Hajlaoui et al., (1994) se v rámci vztahu patogena *P. flocculosa* s padlím spíše jedná o antagonistické působení než o parazitizmus. Dalším účinným zástupcem rodu je *Pseudozyma aphidis*, který funguje na bázi ektoparazita, jelikož vytváří dlouhé hyfy, kterými dokáže parazitovat na hyfách a konidiích padlí. Paraziticky i antagonisticky reguluje a záporně ovlivňuje padlí *Podosphaera xanthii* (Hajlaoui et al., 1994).

3.3.2. Využití esenciálních olejů v ochraně rostlin

Esenciální oleje či rostlinné silice jsou komplexní sloučeniny, které jsou produktem sekundárního metabolismu rostlin. Tyto sekundární metabolity rostlin mají fyzikální podstatu hydrofobních, různě zbarvených či čirých a těkavých kapalin (Mani-López et al., 2021). Esenciální oleje jsou nejčastěji získávány z rostlin čeledi *Asteraceae*, *Myrtaceae*, *Apiaceae*,

Lauraceae, jsou produkovány ve siličných kanálcích či žláznatých trichomech. Rostlinné silice se skládají z mnoha biologicky aktivních složek, a to z aromatických uhlovodíků, terpenů a terpenoidů, monocyklických alkoholů, esterů, ketonů, kyselin atd., které mají prokazatelně fungicidní, baktericidní a insekticidní účinky (Bleša et al., 2020; Pavela et al., 2020). Esenciální oleje obsahují desítky těchto látek, ale jen menšina z nich (1-3 látky) tvoří v EO majoritní podíl. Samotný poměr látek obsažených v EO vytváří charakteristickou vůni, která je pro každý EO specifická (Bleša et al., 2020). Takováto komplexnost směsi je velice důležitá z důvodu efektivnějšího působení a možného předcházení vzniku rezistence či adaptace u patogenních organismů (Villaverde et al., 2016).

Esenciální oleje dokážou působit na široký okruh patogenů. Jejich žádoucí účinky spočívají v regulaci infekcí a napadení rostlin způsobených hmyzem, bakteriemi a houbovými organismy (De-Montijo-Prieto et al., 2021). Esenciální oleje dokážou působit proti mikrobiálním patogenům i v nízkých dávkách, a to tak, že inhibují životní cyklus patogena (růst, rozmnožování) (Pavela, 2020). Jako nejběžnější mechanismy účinku obrany proti patogenům jsou považovány změny na membránách patogenních organismů. Tyto změny vedou k postupné destrukci (lýze) patogena (De-Montijo-Prieto et al., 2021). Jako obecný příklad může být popsán vliv esenciálních olejů na houbové patogeny (např. padlí), kdy esenciální oleje naruší buněčnou stěnu patogena, a následně do ní proniknou. Posléze zde EO začínají modulovat tyto membrány (i mitochondriální), což má za následek poruchu funkce důležitých organel a životních funkcí patogena, viz: změna v metabolismu proteinů, narušení funkce protonové pumpy v mitochondriích, zástava získávání ATP, porucha rovnováhy elektrolytů a změny v koncentracích vápenatých iontů. Z důvodu narušení mitochondriálních membrán dochází k úniku cytochromu c, což startuje aktivaci apoptotické nebo nekrotické buněčné smrti (Mani-López et al., 2021).

Esenciální oleje jsou využívány hlavně v parfumerii, lékařství, potravinářství, kosmetice a zemědělství. V minulosti byly některé vonné rostliny (např. *Coriandrum sativum*, *Mentha piperita*, *Origanum compactum* či *Rosmarinus officinalis*) využívány v některých asijských a středomořských státech, a to pro ochranu plodin (Pavela, 2020). V dnešní době jsou esenciální oleje podrobovány mnoha výzkumům. Cílem těchto výzkumů a studií je vývin efektivních alternativních přípravků, které by oproti chemickým přípravkům byly v obraně rostlin ekologičtější a udržitelnější. Účinky EO jsou zkoumány hlavně pro odvětví potravinářství a zemědělství, kde by mohlo být využito jejich bioaktivních účinků v prevenci a ochraně rostlin (popř. plodů) před patogeny (Pavela, 2020; De-Montijo-Prieto et al., 2021).

3.3.3. Chemické metody ochrany vůči padlí

Vývoj, produkce a využívání chemické ochrany rostlin (syntetických pesticidů) zaznamenal největšího rozvoje v poválečném období 50. let 20. století. Pesticidy můžeme definovat jako velkou skupinu látek, která slouží k obraně a prevenci před patogeny, škůdci a parazity rostlin. Každý pesticid má svůj charakteristický mechanismus vlivu a účinku, kterými cílí na původce problému, a to např. blokace enzymatického či hormonálního systému, omezení mitózy a buněčného dělení, zamezení buněčného dýchání (Rani et al., 2021; Lebeda et al., 2017).

3.3.3.1. Historie použití chemických metod ochrany vůči padlí

Prvotní zmínky o chemické ochraně vůči různým patogenům postihujícím rostliny (včetně padlí) byly zaznamenány ve starověké řecké a románské literatuře. Zde se nejčastěji jako “pesticid“ používala elementární síra, která se i dnes nachází v pesticidních přípravcích určených pro ochranu a prevenci před padlím. Zásadním milníkem se stal rok 1934, kdy byl poprvé objeven organický fungicid (ziram), jež se i dnes používá ve směsi s dalšími fungicidy k účinné ochraně vůči padlí révy v USA (Schindler, 2011 in Lebeda et al., 2017). Metoda chemické ochrany rostlin vůči padlí spočívala do 60. let 20. století v kontaktní metodě, tzv. multi-site inhibitory (přípravky), které dokázaly účinkovat na více místech rostliny najednou. Můžou zde být zařazeny přípravky s těmito aktivními látkami: oxychlorid mědi, ziram, folpet a polysulfid vápenatý (Lebeda et al., 2017).

Nový nástup systémových přípravků (benzimidazol, benomylem, thiabendazol) pro ochranu rostlin před padlím byl zaznamenán po 60. letech 20. století, kdy v ochraně a prevenci doplnil starší kontaktní metodu, jež byla rozšířena o nové aktivní látky (dichlofluanid a chlorothalonil). Účinné systémové látky (benzimidazol, benomylem, thiabendazol) fungují na ochranné bázi, jež zásadně ovlivní mitózu a buněčné dělení patogena (inhibice polymerizace mikrotubulů na β -tubulin). Během 60. let 20. století byly taktéž objeveny první fungicidy, které vykazovaly ovlivňující reakci biosyntézy sterolu v membránách, tzv. SBI fungicidy (triforin, dodemorf, tridemorf). Od 70. let 20. století tvořilo zhruba 70 % nově objevených ochranných látek proti padlí právě skupina SBI fungicidů (Lebeda et al., 2017).

Během 90. let 20. století vzniklo až 60 % aktivních látek v ochraně proti padlí ze skupiny G1, která zaujímala 16 syntetizovaných látek (především skupina triazolů). Taktéž byly nově použity látky označované jako “strobilurinové fungicidy“, jejichž metoda spočívá v ovlivnění

dýchacích procesů padlí (hub). Mezi strobilurinové fungicidy můžou být zařazeny účinné látky jako: kresoximmethyl, azoxystrobin, trifloxystrobin, atd. (Bellón-Gómez et al., 2015).

Na počátku 21. století bylo mezi aktivní (ochranné) látky proti padlí zařazeno 8 nových prostředků, které dokážou působit na nová místa v životním cyklu padlí, viz: fluopyram, boskalid, meptyldinokap atd. (Lebeda et al., 2017).

3.3.3.2. Fungicidy používané jako chemická metoda ochrany proti padlí

V dnešní době se k celosvětové ochraně vůči padlí (*Erysiphaceae*) používá téměř 70 aktivních látek, které lze díky mechanismu působení (MoA) rozdělit do 14 skupin. Nejčastěji využívanou skupinou přípravků v ochraně a prevenci před patogenem jsou tzv. systémové přípravky, které působí na celý metabolismus původce nemoci, např. pyrazofos, mepanipyrim, boskalid atd. Většina těchto přípravků může být zařazena do skupiny tzv. širokospektrálních fungicidů. Tento typ fungicidů má výhodu v tom, že dokáže úspěšně účinkovat oproti dalším patogenům ze třídy *Ascomycetes* či jiným taxonomickým skupinám (*Basidiomycetes*, *Oomycetes*). V mnohem menší míře se pro ochranu vůči padlí používají kontaktní přípravky (multi-site inhibitory), tento typ ochrany je starší než systémová ochrana. Kontaktní metoda ochrany má lepší preventivní účinnost, je ekonomicky výhodnější a představuje minimální riziko vzniku rezistence oproti systémové ochraně (prostředkům). U účinných látek kontaktní metody ochrany oproti padlí (sulfamidy, ftalimidy, dithiokarbamáty, látky na bázi síry a mědi) nebyl nikdy zaznamenán jediný případ vzniku rezistence padlí vůči těmto látkám (FRAC Pathogen risk list, 2019; Lebeda et al., 2017). Přípravky a aktivní látky kontaktní ochrany fungují jako tzv. širokospektrální fungicidy, působí tedy na zástupce z třídy *Ascomycetes*, ale i třeba *Oomycetes*. Hlavní nevýhodou opakovaného používání kontaktních přípravků ochrany je fytoxicita, která byla dokumentována u přípravků na bázi mědi (Lebeda et al., 2017).

Hlavní nevýhoda chemické metody ochrany vůči padlí spočívá ve možném vzniku rezistence patogena vůči chemickým (systémovým) přípravkům. Původce nemoci si dokáže vytvořit kvalitativní, kvantitativní či křížovou rezistenci, což může být zásadní generační výhodou pro patogena. Hlavní obrana proti vzniku rezistence padlí na rostlinách je: dodržování zásad na etiketách fungicidních přípravků, dodržování zásad integrované ochrany rostlin a doplňování mechanismů ochrany o další varianty, např. využití metod biologické ochrany (hyperparazité, biopesticidy, antibiόza) (Lebeda et al., 2017).

4. MATERIÁL A METODY

4.1. Rostlinný materiál

Všechny experimenty byly realizovány na genotypu *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*. Výsevy semen byly prováděny do vlhkého perlitu, který byl předtím umístěn do květináče o průměru zhruba 8 cm. K výsevu rostlin došlo ve třech nezávislých experimentech: polovina května, začátek srpna a začátek září roku 2023. Ve stáří 3 týdnů byly rostliny přeneseny do samostatných květináčů, které byly naplněny odlehčeným substrátem určeným k výsadbě zahradní zeleniny (Florcom). Vysazené rostliny byly následně umístěny do skleníku při konstantní teplotě 20-25 °C a fotoperiodě odpovídající vnějším podmínkám. Následné experimenty byly prováděny na rostlinách ve stáří přibližně 12 týdnů.

4.2. Pomůcky, přístroje a chemikálie

Pomůcky: dřevěné prkénko, buničina, automatické pipety (10-100 µl, 100-1000 µl), kádinky (50 a 100 ml), filtrační papír, květináče, korkovrt, nůžky, pinzeta, odměrné baňky (50 a 100 ml), perlit, pinzety, plastové misky, Petriho misky (100 mm), zátky, podložní sklíčka, krycí sklíčka

Přístroje: světelný mikroskop (Olympus model BX 60) a digitální mikrofotografický systém (Olympus model DP70)

Chemikálie: destilovaná voda, glycerol, 1% roztok Anilin Blue

4.3. Patogenní materiál

Ve všech experimentech byl použit jediný izolát padlí rajčat *Pseudoidium neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*) UPOC-FUN-193.

Izolát *Pseudoidium neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*) s označením UPOC-FUN-193 byl udržován na rostlinách *S. lycopersicum* cv. *Amateur* ve stáří zhruba 12-15 týdnů. Přeočkování na další rostliny probíhalo nepravidelně v intervalech 2-3 týdny. Patogenní materiál formou infikovaných rostlin byl chráněn igelitovými kryty, aby se zamezilo přenosu konidií do prostoru fytotronu. Tyto infikované rostliny byly uchovávané ve fytotronu při optimální teplotě 18/20 °C a fotoperiodě 12h/12h (světlo/tma).

4.4. Esenciální oleje

Testované esenciální oleje (EO) pochází z pracovní kolekce Katedry kvality a bezpečnosti potravin Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze. Výčet, výrobce (pokud bylo blíže specifikováno poskytovatelem EO) a rostlinný původ EO je uveden v následující tabulce č.2.

Tabulka č.2 – Seznam testovaných esenciálních olejů, původ a výrobce

Esenciální olej	Původ	Výrobce
Hřebíčkový	Hřebíčkovce kořený (<i>Syzygium aromaticum</i>)	nespecifikováno
Skořicový	Skořicovník pravý (<i>Cinnamomum verum</i>)	nespecifikováno
Tymiánový	Tymián obecný (<i>Thymus vulgaris</i>), Španělsko	Saloos naturcosmetic s.r.o. Brněnská 2430/21b 678 01 Blansko, ČR
Kajeputový	Kajeput střídavolistý (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	nespecifikováno
Citronelový	Voňatka citrónová (<i>Cymbopogon citratus</i>), Indonésie	Saloos naturcosmetic s.r.o. Brněnská 2430/21b 678 01 Blansko, ČR

4.4.1. Příprava emulzí esenciálních olejů

Emulze EO k následnému pokusu s patogenními organismy byly připraveny všechny stejným způsobem. Celkově v průběhu celého výzkumu byly emulze s EO připraveny ve třech nezávislých experimentech. Pro každou koncentraci každého EO byla připravena a popsána odměrná baňka o objemu 100 ml. Následně do těchto baněk bylo napipetováno příslušné množství esenciálního oleje. Dále bylo zapotřebí doplnit EO destilovanou vodou až po rysku odměrných baněk. Riziko nadměrného vytěkání kapaliny bylo vyřešeno zašpuntováním odměrných baněk. Před aplikací emulzí EO do plastové nádoby, byly tyto emulze důkladně protřepány a promíchány, aby byla co nejrovnoměrnější distribuce EO při následném pokusu. Jako negativní kontrola při testování sloužila destilovaná voda, a to z důvodu nulového ovlivnění pozdější disperze padlí rajčat na listových discích. Následující tabulka č.2 obsahuje všechny koncentrace emulzí EO, které byly použité při testování vůči padlí rajčat (*P. neolycopersici*) a celkové objemy potřebných látek využitých k přípravě.

Tabulka č.3 – Příprava emulzí EO v příslušných koncentracích

Koncentrace emulze [%]	Objem EO [μ l]	Objem destilované vody [ml]
0 - negativní kontrola	0	100
0,01	10	99,990
0,025	25	99,975
0,05	50	99,950
0,075	75	99,925
0,075	75	49,925
0,15	150	99,850

4.5. Realizace experimentu (experimentální design)

4.5.1. Vyhotovení listových disků

Listové disky byly zhotoveny pro účel testování účinků emulzí EO vůči patogenovi *Pseudoidium neolyopersici* (syn. *Erysiphe neolyopersici*). Pro co nejpřesnější výsledek pokusů byly k vyhotovení listových disků vybrány starší a pevnější listy rostlin *S. lycopersicum* cv. *Amateur*. Celý proces zhotovení listových disků probíhal co nejrychleji a nejopatrněji, kvůli zamezení negativních vlivů, které by mohly listy znehodnotit (vadnutí, deformace). Nejprve byl list opatrně oddělen od rostliny, a následně byl položen na dřevěné prkénko tak, aby abaxiální strana směřovala nahoru. Správně nasměrovaný list byl poté penetrován pomocí korkovrtu s průměrem 12 mm, tím vzniklo potřebné množství listových disků. Místa penetrace listů korkovrtem byla volena mezi nejsilnějšími žilkami, aby došlo k získání co nejrovnějšího povrchu vytvořených disků. Ihned po vytvoření byly listové disky využity k pokusu. Byly provedeny 3 nezávislé experimenty: experimentální varianta č.1 (počátek experimentu 11. 7. 2023), č.2 (počátek experimentu 24. 8. 2023) a č.3 (počátek experimentu 10. 10. 2023). Pro každou experimentální variantu (EO v dané koncentraci) bylo použito 12 (1. a 2. experiment), resp. 15 (3. experiment) listových disků.

4.5.2. Testování účinků emulzí EO dle modifikované metody listových disků (Sedláková a Lebeda, 2008)

K experimentu byly připraveny emulze EO o koncentracích 0,01 až 0,15 %, viz tabulka č.4. Listové disky byly na krátkou dobu (cca 1 sekunda) ponořeny do příslušné koncentrace emulze EO. Ošetřené listové disky byly posléze opatrně vloženy do popsaných Petriho misek s výplní (navlhčené 4 vrstvy buničiny a 1 vrstva filtračního papíru) zvlášť pro každou koncentraci (variantu experimentu), viz obrázek č.3 a č.4.

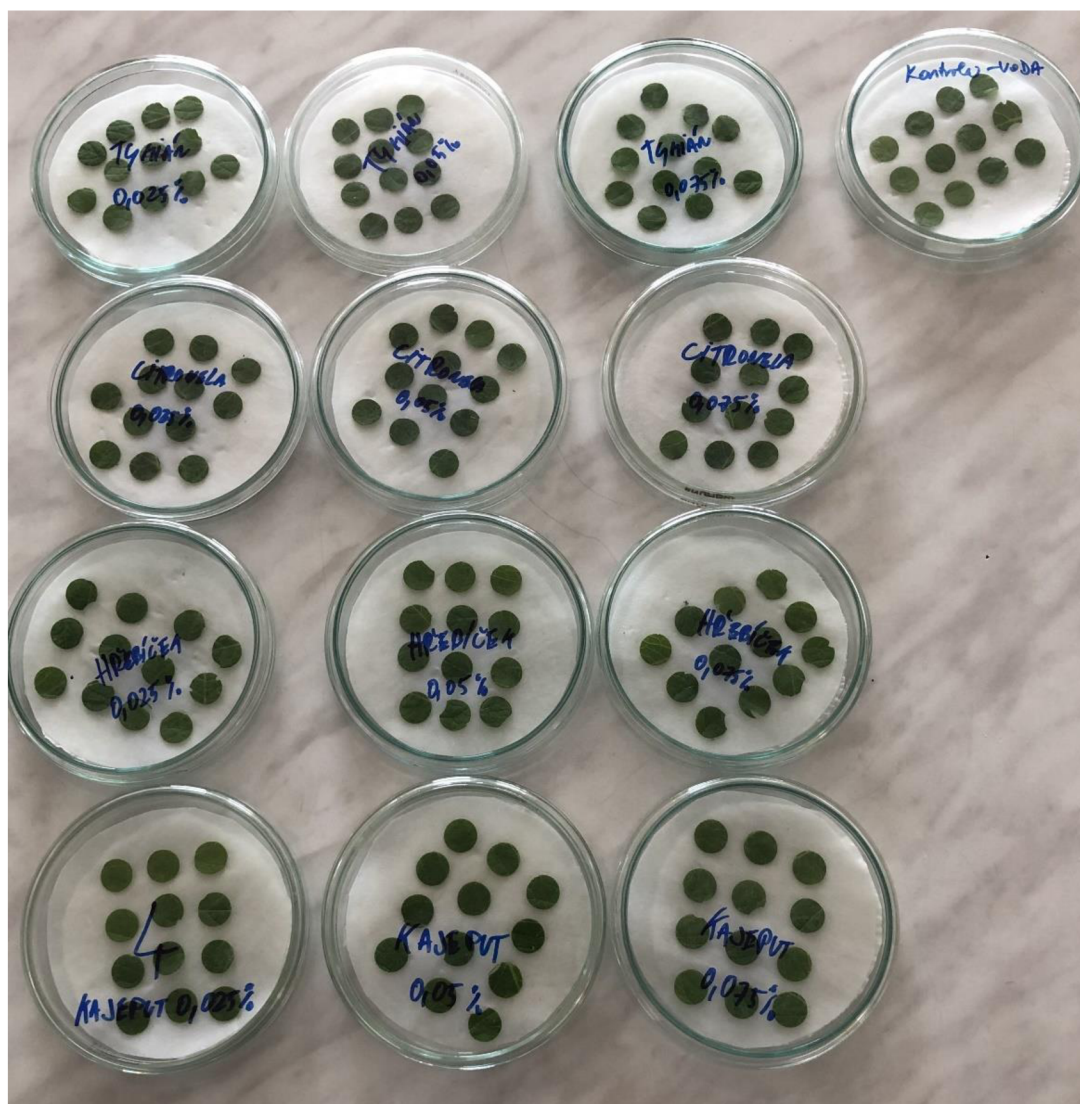
Tabulka č.4 – Seznam použitých emulzí EO a jejich koncentrace

Emulze EO	Koncentrace (%)				
	0,01	0,025	0,05	0,075	0,15
Skořicová	x	x	X	x	
Citronelová	x	x	X	x	
Hřebíčková	x	x	X	x	
Tymiánová	x	x	X	x	
Kajeputová		x	X	x	x

x – značí koncentraci, která byla u dané emulze EO použita, **žluté pozadí** – značí koncentrace emulzí EO využité v 1. experimentu, **zelené pozadí** – značí koncentrace emulzí EO využité v 2. experimentu, **modrá barva** – značí koncentrace emulzí EO využité v 3. experimentu. – 2 pozadí a tučné (3. experiment) – velké tučné X



Obrázek č.3 – Příprava na testování účinků emulzí EO (3. experiment) dle modifikované metody listových disků (Sedláková a Lebeda, 2008), zdroj: vlastní foto



Obrázek č.4 – Ošetřené a inokulované listové disky emulzí EO 1. experimentu, zdroj: vlastní foto

4.5.3. Inokulace a inkubace

Listové disky byly neprodleně po ošetření emulzemi EO inokulovány příslušným izolátem padlí rajčat *Pseudoidium neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*). Inokulace probíhala následovně: každý listový disk byl opatrně inokulován kontaktní metodou otiskem neinfikovaného listového disku s napadeným listem se 80-100 % sporulujícím myceliem izolátu padlí rajčat. Po inokulaci byly listové disky uloženy zpět do Petriho misek. Tyto misky byly následně umístěny do fytotronu o konstantní teplotě (18-20 °C) a fotoperiodě 12h/12h (světlo/tma) po dobu 10 až 12 dnů v závislosti na průběhu experimentu. Během této doby probíhalo pravidelné hodnocení a fotografická dokumentace.

4.5.4. Odběry vzorků a hodnocení

Byly realizovány 3 nezávislé experimenty využívající různé koncentrace esenciálních olejů. Hodnocení probíhalo 2. až 14. den v intervalech 2 až 3 dny.

4.5.4.1. Vizuální hodnocení procentuálního zasažení listové plochy

Infikované listové disky rajčete jedlého byly vizuálně hodnoceny na základě procentuální míry napadení izolátem padlí rajčat *P. neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*) a procentuální míry fytotoxicity způsobené letální koncentrací emulzí EO. Experiment byl hodnocen pro všechny listové disky všech nezávislých experimentů. Hodnocení experimentu probíhalo pravidelně v intervalech 2 až 3 dnů. Hodnocení bylo provedeno upravenou kvantitativní metodou dle Lebedy (1986) a Mieslerové et al., (2000). Vizuálně bylo hodnoceno procentuální zasažení plochy každého listového disku rajčete. Tato metoda hodnocení představuje čtyřbodovou stupnici (0-3) popisující stupeň napadení patogena, uvedeno v tabulce č.5. Stejným způsobem byla hodnocena fytotoxicita (% plochy listového disku, kde došlo k úplné ztrátě chlorofylu), uvedeno v tabulce č.6. Tyto hodnoty byly zaneseny do protokolu. Byla tedy hodnocena plocha, kde padlí rajčat narostlo a plocha, která byla poškozená fytotoxicitou.

Tabulka č.5 – Stupnice pro hodnocení intenzity napadení listového disku padlím *P. neolycopersici* (Mieslerová et al., 2000).

Stupeň intenzity napadení (sporulace)	Míra pokrytí listového disku padlím [%]
0	0 %
1	< 25 %
2	25-50 %
3	50-100 %

Tabulka č.6 – Stupnice pro hodnocení zasažení listového disku fytotoxicitou

Stupeň zasažení fytotoxicitou	Míra ztráty chlorofylu na listovém disku [%]
0	0 %
1	< 25 %
2	25-50 %
3	50-100 %

Kvantitativní hodnocení stupně intenzity napadení (sporulace) zahrnuje výpočet celkového stupně napadení (SN) dle Townsenda a Heubergera (1943), který se vztahuje k danému datu dokumentování jednotlivých experimentů. Výpočet kvantitativního hodnocení byl proveden dle následujícího vzorce: $SN = \frac{\sum (n \cdot v) \cdot 100}{x \cdot N}$; kde n = počet disků v každé kategorii napadení, v = stupeň napadení, x = maximální stupeň napadení N = celkový počet hodnocených disků. Kvalitativní hodnocení citlivosti patogena vůči emulzím EO bylo realizováno dle Urbana a Lebedy (2006). Podle tohoto hodnocení byly rozlišeny 3 typy reakcí: senzitivní reakce (označována jako „-“), kdy stupeň napadení byl ≤ 10 %, tolerantní reakce, kdy stupeň napadení byl 10,1-34,9 % (označována jako „(-)“) a rezistentní reakce, kdy stupeň napadení byl ≥ 35 % (označována „+“). Stupeň zasažení fyto toxicitou byl hodnocen stejným způsobem jako stupeň intenzity napadení (sporulace), a to výpočtem za použití stejného vzorce podle Townsenda a Heubergera (1943).

$$P = \frac{\sum (n \cdot v) \cdot 100}{x \cdot N} ; \text{kde}$$

n = počet disků v každé kategorii napadení/zasažení fyto.

v = stupeň napadení/zasažení fyto.

x = maximální stupeň napadení/zasažení fyto.

N = celkový počet hodnocených disků

% SN je pro všechny experimentální varianty uveden v tabulkách 7-9

4.5.4.2. Mikroskopické hodnocení klíčivosti, počtu klíčících vláken na konidiích a počtu konidioforů na listových discích

U 3. experimentu byl hodnocen vývoj patogena mikroskopicky. Mikroskopické hodnocení zahrnovalo hodnocení klíčivosti, počtu klíčících vláken na konidiích a počtu konidioforů na listových discích. Odebrané listové disky v daných časových intervalech (2 D, 7 D a 10 D) byly po vizuálním hodnocení ponořeny do skleněných lahvíček s kyselinou octovou (99 %) po dobu 48 hodin, pro dosažení odbarvení chlorofylu na listových discích. Následně byly tyto listové disky ponořeny do glycerolu (Lebeda a Reinink, 1994). Před samotným mikroskopickým pozorováním byl vzorek nabarven 1% roztokem Anilin blue pro lepší viditelnost hodnocených struktur. Jednotlivé nabarvené listové disky byly poté pozorovány a dokumentovány pod světelným mikroskopem Olympus model BX 60 při zvětšení 100x a 400x. Pro dokumentaci byl použit mikrofotografický systém Olympus DP70. Tímto modelem byly

pořizovány mikrofotografie (při zvětšení 100x, 200x a 400x) vhodně reprezentující výsledky experimentů.

První mikroskopické hodnocení se vztahovalo na vzorky, které byly inkubovány 2 dny. Tyto vzorky podstoupily hodnocení % klíčivosti a počtu klíčících vláken na konidiích. Procento klíčivosti bylo stanoveno jako počet klíčících konidií na 100 konidií. Každý disk byl hodnocen ze 3 zorných polí, kdy z každého zorného pole byl vypočítán celkový poměr počtu klíčících konidií/ celkový počet konidií v procentech. Tedy z jednoho vzorku bylo získáno 15 procentuálních poměrů (5 disků x 3 zorná pole) počtu klíčících konidií/celkového počtu konidií. Z těchto 15 procentuálních poměrů byl vypočten jeden průměr ze všech 5 disků jedné koncentrace (15 zorných polí). Výpočet klíčivosti byl proveden pro všechny emulze a koncentrace EO. Výpočty byly později vyhodnoceny a zaznačeny do tabulky č.10 a grafu č.11. Počet klíčících vláken na konidiích byl taktéž stanoven pro každý disk a koncentraci EO zvlášť, a to z 20 klíčících konidií, které byly sledovány náhodně na disku. U každé klíčící konidie bylo poznamenáno, zda má 1 až 3 klíčící vlákna. Tedy pro jeden disk jedné koncentrace EO bylo celkově poznamenáno 20 informací o počtu klíčících vláken na konidiích (100 za všechny disky vzorku). Následně byl vypočten procentuální podíl konidií s 1-3 klíčícími vlákny pro každou koncentraci EO. Výpočty byly vyhodnoceny a zaznačeny do tabulky č.11 a grafu č.2.

Druhé mikroskopické hodnocení se vztahovalo na vzorky, které byly inkubovány 7 a 10 dnů. Následující vzorky podstoupily hodnocení počtu konidioforů (intenzita sporulace) na listových discích semikvantitativní metodou pro každou koncentraci a emulzi EO zvlášť. Zjištěné hodnoty z mikroskopování byly rozděleny do 4 kategorií: $< 10^1$, $10^1 - 10^2$, $10^2 - 10^3$, $> 10^3$. Získané výsledky byly poté vyhodnoceny a zaznačeny do tabulky č.12 a 13.

Pro všechna zjištěná data byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka.

5. VÝSLEDKY

V následujících podkapitolách [5.1. (5.1.1.), 5.2. (5.2.1., 5.2.2., 5.2.3.)] jsou popsány výsledky jednotlivých experimentů testujících účinky EO vůči padlí rajčete *Pseudoidium neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*). Následně zde jsou popsány důvody změn a úprav metodik jednotlivých experimentů.

5.1. Makroskopické sledování vývoje padlí rajčete (*Pseudoidium neolycopersici*) na *Solanum lycopersicum* cv. Amateur.

5.1.1. Makroskopické sledování stupně napadení listové plochy rajčete padlím a stupně fytoxicity

Klíčová metoda popsána v kapitole 4.4.2. (Testování účinků emulzí EO dle modifikované metody listových disků – Sedláková a Lebeda, (2008) musela být 2x upravena z důvodu vysoké koncentrace testovaných emulzí. První experiment obsahoval emulze EO (skořice, hřebíčku, kajeputu, tymiánu a citronely) v koncentracích 0,025, 0,05 a 0,075 %. Experiment byl dokumentován 1., 2., 6., 9. a 13. den po inokulaci (DPI), výsledky jsou zaznamenány v tabulce č.7. Druhý experiment obsahoval už pozměněné koncentrace emulzí EO (0,01, 0,025, 0,075 a 0,15 %) a byl dokumentován 4., 5., 7., 8. a 12. den od inokulace, výsledky jsou zaznamenány v tabulce č.8. Oproti 1. experimentu se koncentrace u většiny emulzí EO snížily na hodnoty 0,01 a 0,025 %. Jediná emulze EO kajeputu zaznamenala ve 2. experimentu nárůst na 0,075 a 0,15 %. Vysoké koncentrace různých vzorků emulzí EO (citronela 0,025; 0,05; 0,075, skořice 0,075; 0,05, tymián 0,05; 0,075 a kajeput 0,15 %) z 1. a 2. experimentu působily fytoxicity vůči listovým diskům rajčete jedlého, díky čemuž docházelo k jejich rychlému vadnutí, odbarvování a úhynu. Z tohoto důvodu musely být koncentrace testovaných emulzí EO 2x pozměněny.

Ve 3. experimentu zaměřeném na mikroskopické hodnocení vývoje patogena byly vybrány vzorky emulzí EO v následujících koncentracích: hřebíček (0,025 a 0,05 %), skořice 0,025 % a tymián 0,025 %, které byly dokumentovány 2., 7. a 10. den po inokulaci, viz tabulka č.9.

5.1.1.1. Experiment č.1

Tabulka č.7 – Výsledky testování emulzí EO v koncentraci 0,025 %; 0,05 % a 0,075 % a vzorku kontroly 1. experimentu vůči izolátu padlí *Pseudoidium neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*).

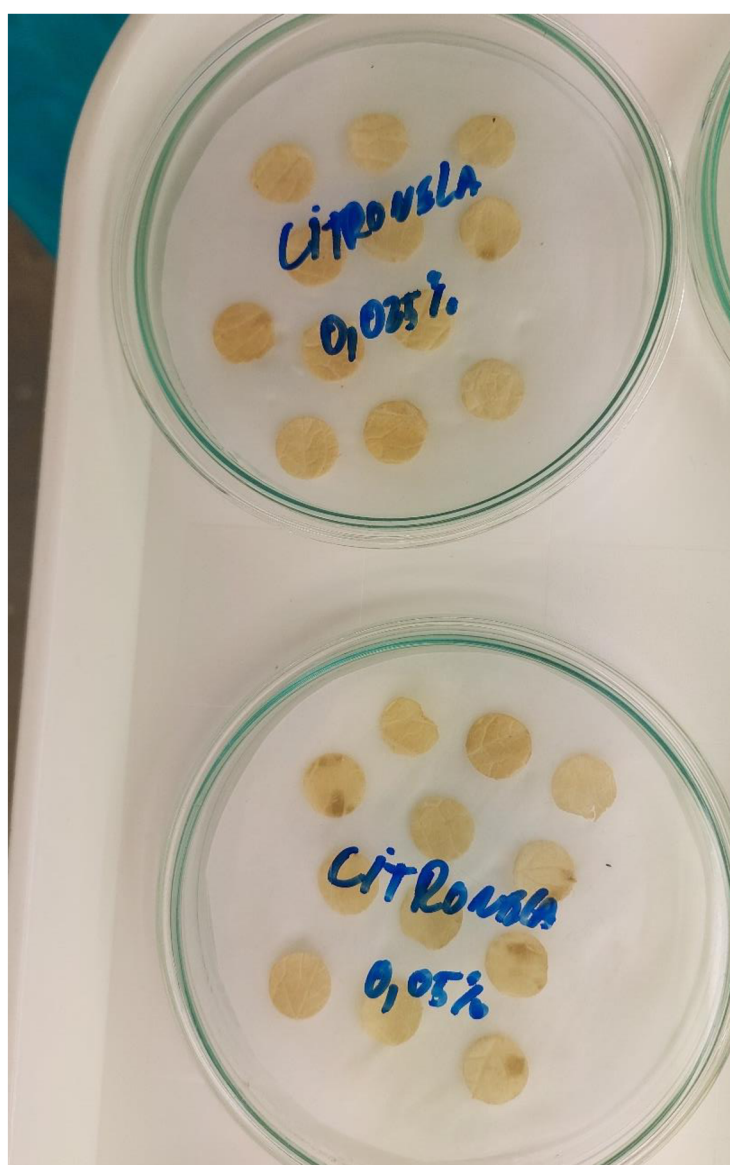
Experiment č.1	Koncentrace emulze EO:	Dny po inokulaci (DPI)				
		1.	2.	6.	9.	13.
Kontrola						
SNP (%)	destilovaná voda	0 %	0 %	86 %	93 %	100 %
Reakce		-	-	+	+	+
Skořice						
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		0 %	8 %	19 %	19 %	19 %
SNP (%)	0,05 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		28 %	61 %	83 %	83 %	83 %
SNP (%)	0,075 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		69 %	88 %	100 %	100 %	100 %
Citronela						
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
SNP (%)	0,05 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
SNP (%)	0,075 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Tymián						
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	0 %	6 %	11 %
Reakce		-	-	-	-	(-)
SZF (%)		14 %	16 %	16 %	16 %	16 %
SNP (%)	0,05 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		97 %	97 %	100 %	100 %	100 %
SNP (%)	0,075 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

Kajeput						
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	77 %	86 %	100 %
Reakce		-	-	+	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	6 %	6 %	6 %
SNP (%)	0,05 %	0 %	0 %	72 %	86 %	100 %
Reakce		-	-	+	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	8,3 %	8,3 %	8,3 %
SNP (%)	0,075 %	0 %	0 %	58 %	70 %	96 %
Reakce		-	-	+	+	+
SZF (%)		0 %	6 %	11 %	11 %	11 %
Hřebíček						
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	0 %	39 %	70 %
Reakce		-	-	-	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	6 %	6 %	6 %
SNP (%)	0,05 %	0 %	0 %	0 %	6 %	6 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		11 %	19 %	19 %	19 %	19 %
SNP (%)	0,075 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		14 %	27 %	27 %	27 %	27 %

SNP (%) – stupeň napadení patogenem, SZF (%) – stupeň zasažení fyto toxicitou, typ reakce patogena– senzitivní („-“), tolerantní („(-)“), rezistentní (+)

Na základě získaných dat 1. experimentu uvedených v tabulce č.7 může být konstatováno, že nejúčinnější emulzí EO ve srovnání s kontrolním vzorkem je vzorek skořice o koncentraci 0,025 %, viz tabulka č.7. Po aplikaci emulze EO skořice o 0,025 % nebyl zaznamenán za celých 13 dnů dokumentace náznak sporulace či výskytu patogena padlí rajčete, tedy patogen byl vůči této EO senzitivní. Stupeň zasažení fyto toxicitou u vzorku skořice v 0,025 % se pohyboval od 8 do 19 %. Ostatní koncentrace skořice (0,05 a 0,075 %) byly moc silné, už 2. dokumentovaný den způsobovaly tyto koncentrace vysokou míru zasažení fyto toxicitou (61-88 %). Vzorek emulze EO hřebíčku 0,075 % zaznamenal podobné výsledky jako vzorek skořice 0,025 %, a to taktéž s nulovým náznakem výskytu padlí, ale horším zasažením listových disků fyto toxicitou (14-27 %). U vzorku hřebíčku o koncentraci 0,05 % byl zaznamenán stupeň napadení patogenem v hodnotě 0 % a to až do 6. dne. K 9. až 12. dni hodnocení se SNP hodnota u vzorku EO hřebíčku v 0,05 % zvýšila na 6 %. V tomto případě padlí bylo citlivé na působení tohoto EO a nebylo zde dokumentováno další napadení patogenem. Stupeň zasažení fyto toxicitou byl v průběhu 12. dní 11-19 %. Podobných výsledků jako emulze EO hřebíčku v koncentraci 0,05 % dosáhla emulze EO tymiánu 0,025 %, a to s rozdílem vyššího stupně

napadení patogenem během 9. až 12. dne (6-11 %) a lehce stabilnějšího stupně zasažení fytotoxicitou (14-16 %). Jako mírně účinné až úplně neúčinné emulze se prokázaly emulze EO kajeputu (0,025 %, 0,05 % a 0,075 %). U všech koncentrací emulze EO kajeputu docházelo během pozdější fáze experimentu (6.-13. den) k intenzivnímu vývoji padlí (58-100 % SNP), což značí rezistentní reakci padlí vůči emulzi EO kajeputu. Emulze citronely byla nejagresivnější, co se týče stupně zasažení fytotoxicitou. Od 1. do 12. dne se na listových discích po aplikaci emulze citronely neobjevil jakýkoliv náznak výskytu padlí, a to patrně nejen z důvodu účinku tohoto EO, ale i z důvodu 100% zasažení listových disků fytotoxicitou (tj. úplné ztráty chlorofylu), viz obrázek č.5.



Obrázek č.5 – 100% stupeň zasažení fytotoxicitou 2. den od inokulace (experiment č.1), zdroj: vlastní foto

5.1.1.2. Experiment č.2

Tabulka č.8 – Výsledky testování emulzí EO v koncentraci 0,01 %; 0,025 %; 0,075 % a 0,15 % a vzorku kontroly 2. experimentu vůči izolátu padlí *Pseudoidium neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*).

Experiment č.2	Koncentrace emulze EO:	Dny po inokulaci (DPI)				
		4.	5.	7.	8.	12
Kontrola						
SNP (%)	destilovaná voda	14 %	63 %	70 %	96 %	100 %
Reakce		(-)	+	+	+	+
Skořice						
SNP (%)	0,01 %	0 %	22 %	36 %	42 %	42 %
Reakce		-	(-)	+	+	+
SZF (%)		36 %	42 %	42 %	50 %	57 %
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		89 %	89 %	89 %	89 %	89 %
Citronela						
SNP (%)	0,01 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		83 %	97 %	100 %	100 %	100 %
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Tymián						
SNP (%)	0,01 %	0 %	50 %	78 %	97 %	100 %
Reakce		-	+	+	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		28 %	36 %	39 %	39 %	39 %
Kajeput						
SNP (%)	0,075 %	0 %	0 %	33 %	63 %	68 %
Reakce		-	-	(-)	+	+
SZF (%)		0 %	6 %	19 %	25 %	30 %
SNP (%)	0,15 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Hřebíček						
SNP (%)	0,01 %	6 %	28 %	56 %	58 %	62 %
Reakce		-	(-)	+	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
SNP (%)	0,025 %	0 %	17 %	46 %	52 %	52 %
Reakce		-	(-)	+	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	0 %	0 %	0 %

SNP (%) – stupeň napadení patogenem, SZF (%) – stupeň zasažení fytotoxicitou, typ reakce patogena – senzitivní („-“), tolerantní („(-)“), rezistentní (+)

Na základě získaných dat 2. experimentu uvedených v tabulce č.8 může být konstatováno, že nejúčinnější emulzí EO ve srovnání s kontrolním vzorkem je vzorek EO tymiánu o koncentraci 0,025 %, viz obrázek č.6. Po aplikaci emulze EO tymiánu 0,025 % nebyly zaznamenány během celého dokumentovaného období 2. experimentu (12 dní) náznaky sporulace či výskytu patogena padlí rajčat, viz tabulka č.8. Stupeň zasažení fytotoxicitou u vzorku emulze EO tymiánu 0,025 % byl v průběhu 4. až 12. dne 28-39 %. Vzorek emulze EO tymiánu v koncentraci 0,01 % byl slabý. Stupeň napadení patogenem byl u vzorku tymiánu 0,01 % vyšší (50-100 %). Stupeň zasažení fytotoxicitou se u vzorku tymiánu 0,01 % vůbec neprojevil. V porovnání nejúčinnějšího vzorku 1. experimentu (skořice 0,025 %) a 2. experimentu (tymián 0,025 %) měl vzorek skořice 0,025 % nižší hodnoty stupně zasažení fytotoxicitou. Výsledky po aplikaci emulze EO skořice 0,025 % nebyly v 2. experimentu optimální. U listového disku po aplikaci EO skořice 0,025 % nebylo zjištěno žádné napadení patogenem padlí, ale zasažení fytotoxicitou dosahovalo od 4. do 12. dne 89 %, což je oproti výsledkům vzorku skořice 0,025 % z 1. experimentu velký rozdíl. Vzorek emulze skořice o koncentraci 0,01 % se ve sledovaném období pohyboval mezi senzitivní (0 %) až rezistentní reakcí (42 %) SNP. Stupeň zasažení fytotoxicitou se pohyboval mezi 36 až 57 %. Je tedy možno usoudit, že vzorek emulze skořice 0,01 % nebyl optimální. Za celé dokumentované období (4. až 12. den po inokulaci) po aplikaci emulze hřebíčku 0,01 % a 0,025 % nebylo zjištěno žádné zasažení listových disků způsobené fytotoxicitou. Stupeň napadení patogenem u emulze EO hřebíčku 0,01 % byl v hodnotách 6-62 % a u vzorku hřebíčku 0,025 % v hodnotách 0-52 %. Dalším dokumentovaným vzorkem byla emulze kajeputu 0,075 %, po jejíž aplikaci byly zjištěny hodnoty SNP 0-68 % a hodnoty SZF 0-30 %. Právě hodnoty stupně zasažení fytotoxicitou se po aplikaci EO kajeputu 0,075 % v 2. experimentu zhoršily oproti stejnému vzorku kajeputu 0,075 % z 1. experimentu (0-11 %). Hodnoty napadení patogenem jsou u emulze EO kajeputu 0,075 % nižší u 2. experimentu (68 %) než v 1. experimentu (96 %). Listové disky po aplikaci emulze EO kajeputu 0,15 % a citronely 0,025 % zaznamenaly od 4. sledovaného dne 100% zasažení fytotoxicitou. Hodnoty stupně napadení patogenem u zmíněných emulzí byly rovny 0 %. Podobné a lehce slabší výsledky zasažení fytotoxicitou byly pozorovány u listových disků po aplikaci EO citronely 0,01 % (83-100 %). Stupeň napadení patogenem u vzorku citronely 0,01 % byl taktéž roven 0 %.



Obrázek č.6 – Vzorek emulze tymiánu 0,025 % 4. den po inokulaci (2. experiment), zdroj: vlastní foto

5.1.1.3. Experiment č.3

Tabulka č.9 – Výsledky testování emulzí EO v koncentraci 0,025 %; 0,05 % a kontrolního vzorku 3. experimentu vůči izolátu padlí *Pseudoidium neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*).

Experiment č.3	Koncentrace emulze EO:	Dny po inokulaci (DPI)		
		2.	7.	10.
Kontrola				
SNP (%)	destilovaná voda	0 %	80 %	100 %
Reakce		-	+	+
Skořice				
SNP (%)	0,025 %	0 %	7 %	41 %

Reakce		-	-	+
SZF (%)		0 %	10 %	10 %
Tymián				
SNP (%)	0,025 %	0 %	89 %	89 %
Reakce		-	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	0 %
Hřebíček				
SNP (%)	0,025 %	0 %	70 %	100 %
Reakce		-	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	0 %
SNP (%)	0,05 %	0 %	52 %	87 %
Reakce		-	+	+
SZF (%)		0 %	10 %	10 %

SNP (%) – stupeň napadení patogenem, SZF (%) – stupeň zasažení fyto toxicitou, typ reakce patogena – senzitivní („-“), tolerantní („(-)“), rezistentní (+)

Na základě získaných experimentálních dat 3. experimentu (hodnoceno 2., 7. a 10. den po inokulaci) uvedených v tabulce č.9 může být konstatováno, že neúčinnější emulzí EO ve srovnání s kontrolním vzorkem je vzorek skořice o koncentraci 0,025 %. Listové disky po aplikaci emulze EO skořice 0,025 % vykazovaly stupeň napadení patogenem padlí v hodnotách 0 až 41 % (senzitivní a rezistentní reakce), viz tabulka č.9. Hodnoty stupně zasažení fyto toxicitou byly nízké (0-10 %). Tento vzorek emulze má oproti stejným vzorkům z 1. a 2. experimentu mnohem menší hodnotu stupně zasažení fyto toxicitou. Po aplikaci emulze EO hřebíčku v koncentraci 0,05 % byly zaznamenány hodnoty stupně napadení patogenem 52-87 %. Zasažení fyto toxicitou je u listových disků po aplikaci EO hřebíčku 0,05 % úplně stejné jako u vzorku skořice 0,025 % (0-10 %). Po aplikaci emulze hřebíčku o koncentraci 0,025 % hodnoty stupně napadení patogenem dosahovaly až 100 %. Po aplikaci emulze EO tymiánu 0,025 % byly zjištěny hodnoty stupně napadení patogenem až 89 %. Po aplikaci EO hřebíčku 0,025 %, hodnota stupně napadení patogenem pro 10. den dosahovala až 100 %. U obou emulzí hřebíčku 0,025 % a tymiánu 0,025 % nebylo v průběhu dokumentace detekováno jakékoliv zasažení fyto toxicitou.

5.2. Mikroskopické sledování vývoje izolátu padlí rajčete *na Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*.

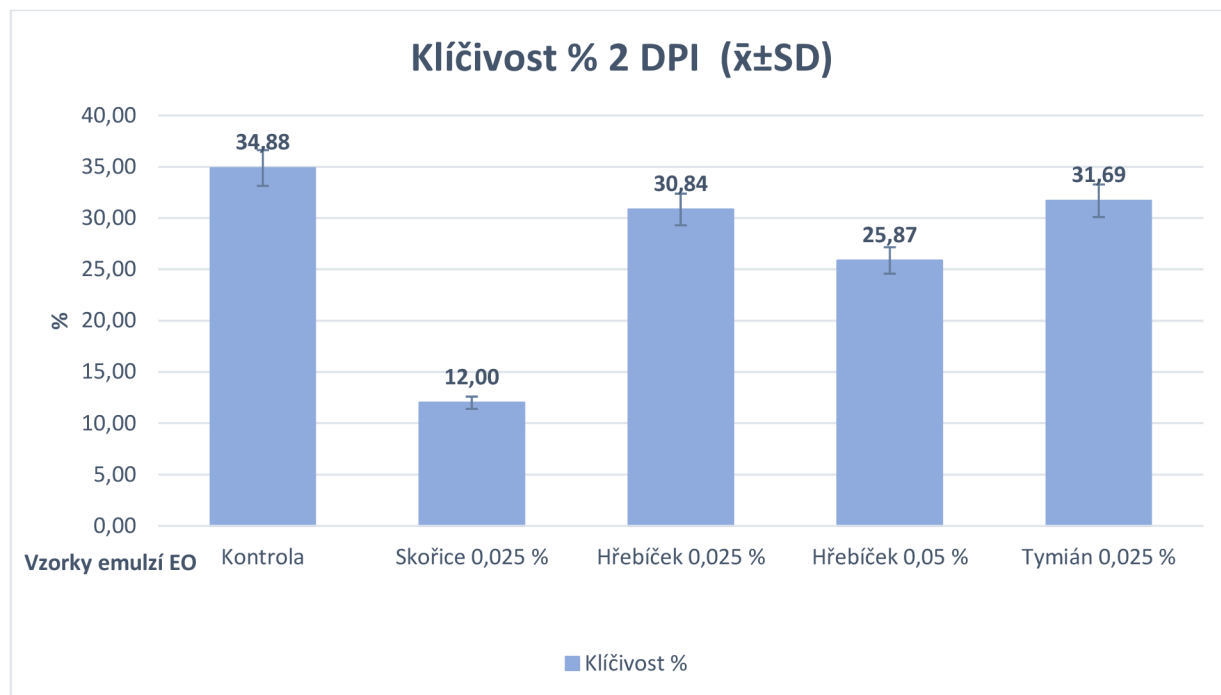
5.2.1. Klíčivost

Procento klíčivosti konidií padlí bylo měřeno na listových discích 2 dny po inokulaci (DPI). V rámci experimentu bylo zaznamenáno nejmenší procento klíčivosti padlí po aplikaci EO skořice v koncentraci 0,025 %, a to s průměrnou hodnotou 12 %. Nejvíce klíčících konidiích bylo zjištěno u kontroly, kde padlí vykazovalo klíčivost 34,88 %. Emulze EO hřebíčku 0,025 % a tymiánu 0,025 % vykazovaly podobné výsledky, a to jak v celkovém % klíčivosti konidií padlí (hřebíček v koncentraci 0,025 % – 31,96 %, tymián v koncentraci 0,025 % – 32,25 %), tak v minimech a maximech. Vzorkem s 2. nejnižší % klíčivosti je hřebíček 0,050 % s hodnotou 27,53 %. Výsledky klíčivosti konidií vzorků emulzí jsou uvedeny v tabulce č.10 a grafu č.1

Tabulka č.10 – Procento klíčivosti konidií padlí rajčatového (*P. neolycopersici*) po aplikaci vybraných emulzí EO 2 D po inokulaci na genotypu *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*

Vzorek emulze	Klíčivost % ($\bar{x}\pm SD$)		
	$\bar{x}\pm SD$	Min	Max
Kontrola	34,88 \pm 5,40	22,97 %	48,28 %
Skořice 0,025 %	12,00 \pm 2,41	6,45 %	17,24 %
Hřebíček 0,025 %	30,84 \pm 3,38	19,44 %	50,00 %
Hřebíček 0,05 %	25,87 \pm 2,69	16,00 %	43,75 %
Tymián 0,025 %	31,69 \pm 6,36	19,05 %	53,33 %

Graf č.1 – Procento klíčivosti konidií padlí (*P. neolycopersici*) na listových discích rajčete *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur* po aplikaci emulzí EO 2 dny po inokulaci (DPI).



5.2.2. Počet klíčících vláken na konidii

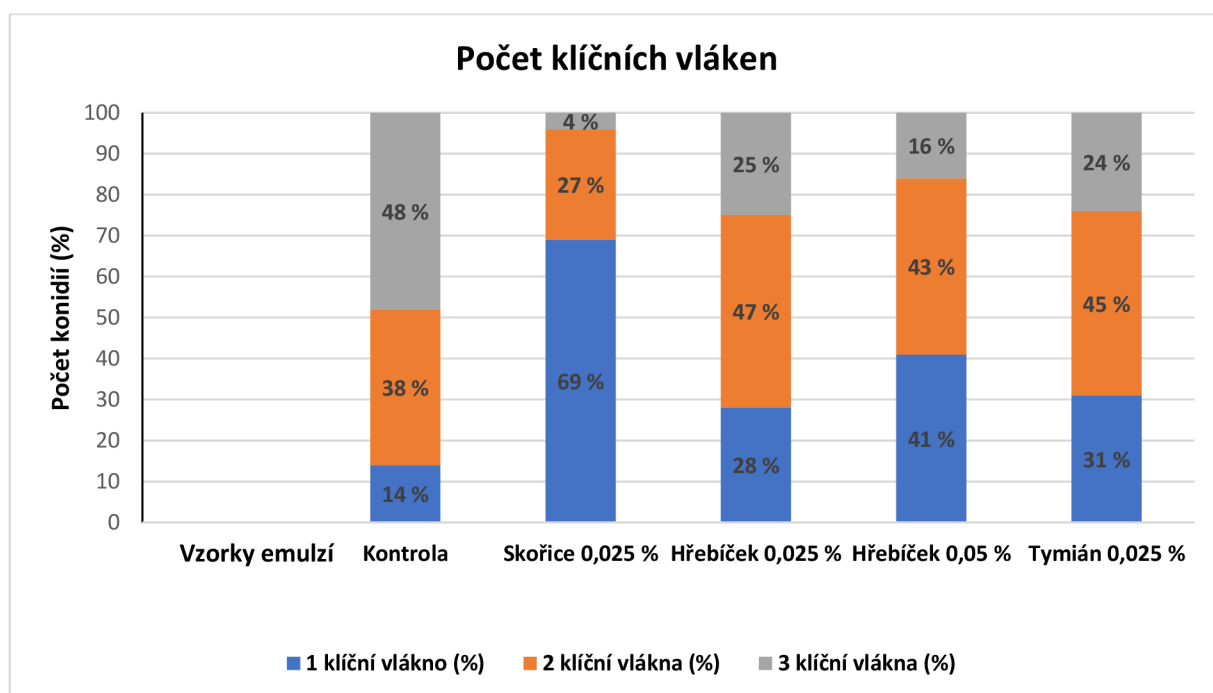
Počet klíčících vláken na jedné konidii padlí byl zjišťován na listových discích 2 dny po inokulaci (DPI). Výsledky počtu klíčících vláken na konidiích jsou formulovány jako průměr počtu klíčících vláken (1-3 klíčící vlákna) a jejich procentuální poměr v zastoupení (0-100 %) po aplikaci jednotlivých vzorků emulzí EO. Největší naměřený průměr počtu klíčících vláken na konidiích byl zdokumentován u vzorku kontroly, a to 2,34, viz obrázek č.7. Klíčící konidie padlí u kontroly (destilovaná voda) taktéž vykazovaly nejmenší % poměr zastoupení 1 klíčícího vlákna (14 %) a největší výskyt 3 klíčících vláken (48 %). Procentuální poměr zastoupení 2 klíčících vláken byl 2. nejmenší z celé datové sady (38 %). Naopak nejmenší naměřený průměr počtu klíčících vláken na konidiích byl zaznamenán po aplikaci EO skořice 0,025 %, a to 1,35. Klíčící konidie padlí po aplikaci emulze EO skořice 0,025 % měly nejvyšší procentuální zastoupení 1 klíčícího vlákna (69 %) a nejnižší procentuální zastoupení 2 (27 %) a 3 (4 %) klíčících vláken ze všech zkoumaných vzorků emulzí EO. Druhý nejnižší průměr za celý vzorek vyšel u konidií po aplikaci emulze EO hřebíček 0,05 %, a to 1,75. Klíčící konidie padlí po aplikaci EO hřebíčku 0,05 % měly skoro stejný procentuální poměr zastoupení 1 (41 %) a 2 (43 %) klíčících vláken. Co se týče 3 klíčících vláken, tak klíčící konidie padlí měly po aplikaci EO hřebíčku 0,05 % z celé datové sady 2. nejmenší procentuální zastoupení (16 %). Po aplikaci

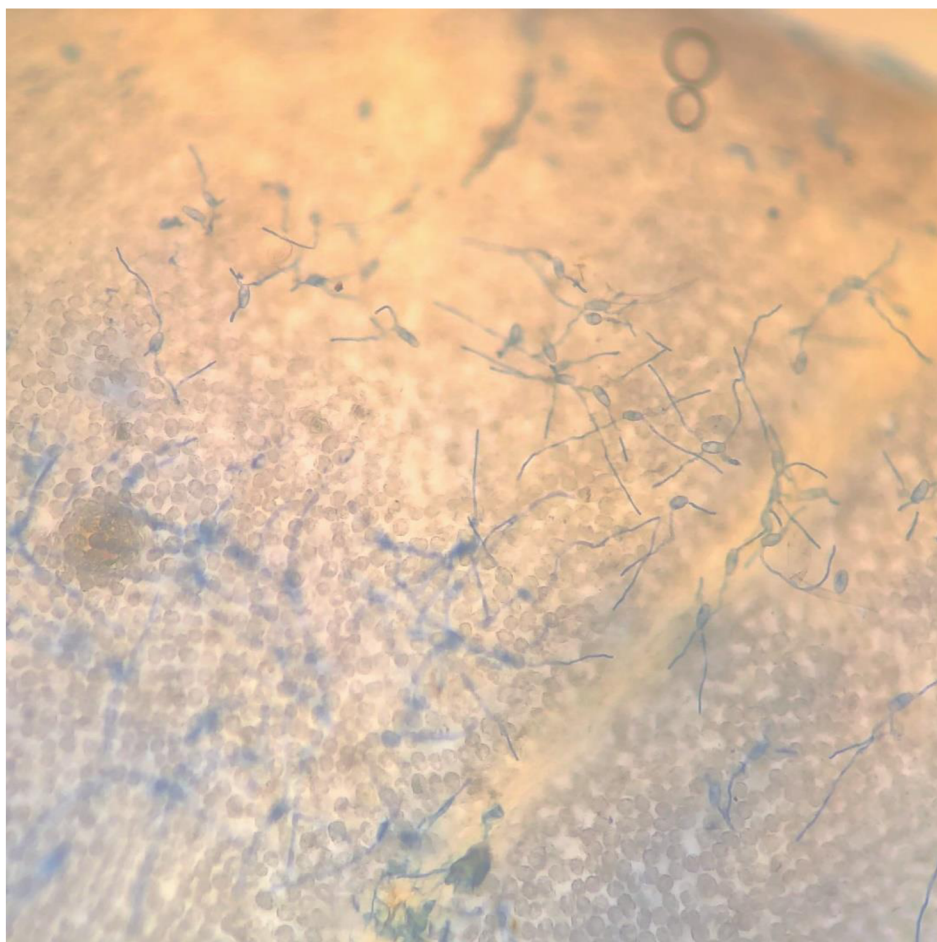
emulzí EO hřebíčku 0,025 % a tymiánu 0,025 % byly pozorovány podobné výsledky. Průměr počtu klíčnicích vláken (1-3) dosáhl u vzorku hřebíčku 0,025 % 1,97 a u vzorku tymiánu 0,025 % 1,93. Po aplikaci emulze hřebíčku 0,025 % byl zjištěn ze všech sledovaných emulzí EO největší procentuální poměr zastoupení 2 klíčnicích vláken, a to 47 %, blíže popsáno v tabulce č.11. Grafické znázornění výsledků experimentu je vyobrazeno v grafu č.2.

Tabulka č.11 – Počet klíčnicích vláken na konidiích padlí rajčete (*P. neolycopersici*) po aplikaci emulzí EO 2 D po inokulaci genotypu *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*.

Počet klíčnicích vláken 2 DPI				
Vzorek emulze EO	1 klíčnicí vlákno (%)	2 klíčnicí vlákna (%)	3 klíčnicí vlákna (%)	Průměr za celý vzorek (1-3)
Kontrola	14	38	48	2,34
Skořice 0,025 %	69	27	4	1,35
Hřebíček 0,025 %	28	47	25	1,97
Hřebíček 0,05 %	41	43	16	1,75
Tymián 0,025 %	31	45	24	1,93

Graf č.2 – Počet klíčnicích vláken na konidiích padlí rajčete (*P. neolycopersici*) po aplikaci emulzí EO 2 D po inokulaci genotypu *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*.





Obrázek č.7 – Klíčící konidie padlí rajčete (*P. neolycopersici*) 2 DPI na genotypu *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur* po aplikaci destilované vody (kontrola), Z:400x, zdroj: vlastní foto

5.2.3. Sporulace

Intenzita sporulace padlí byla sledována na listových discích 7 a 10 dnů po inokulaci (DPI). Po 7 dnech od inokulace byla zdokumentována sporulace u všech vzorků emulzí EO. Nejintenzivnější sporulace padlí byla zjištěna u kontroly (destilovaná voda), viz obrázek č.8, kde byly zaznamenány největší hodnoty minima, maxima a průměru ($>10^3$). Nejmenší sporulace padlí byla zjištěna po aplikaci emulze EO skořice v koncentraci 0,025 %, viz obrázek č.9, kde byly naopak zaznamenány nejnižší hodnoty maxima ($10^1 - 10^2$), minima ($< 10^1$) a průměru ($< 10^1$). Po aplikaci zbylých vzorků emulzí EO (hřebíček 0,025 %, hřebíček 0,05 % a tymián 0,025 %) byly zaznamenány stejné hodnoty sporulace – jak minima ($10^1 - 10^2$), maxima ($10^2 - 10^3$) a průměru ($10^2 - 10^3$). Výsledky jsou blíže popsány v tabulce č.12.

Výsledky sporulace po 10 dnech od inokulace se zásadně nelišily oproti 7 DPI. Jediná změna se týká trojice vzorků emulzí hřebíček 0,025 %, hřebíček 0,05 % a tymián 0,025 %, kdy

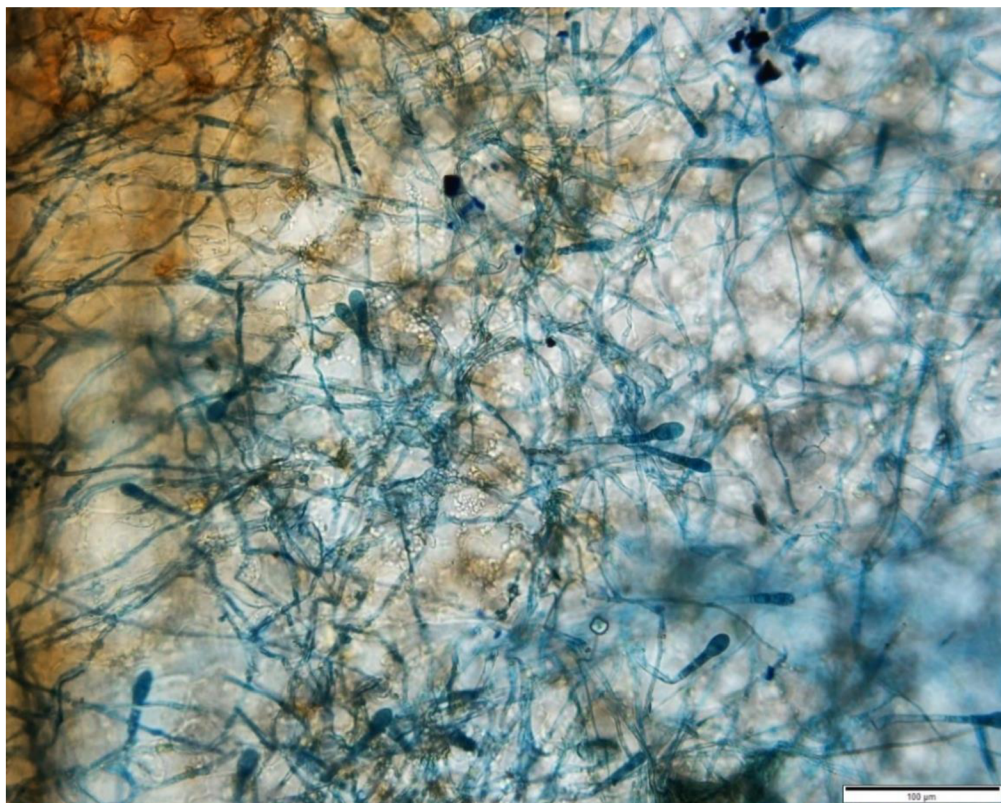
se o jeden stupeň navýšila maxima sporulace padlí z $10^2 - 10^3$ na $>10^3$. Nejintenzivnější sporulace po 10 DPI byla i nadále zjištěna u vzorku kontroly (destilovaná voda), a naopak nejméně sporulovalo padlí po aplikaci emulze EO skořice o koncentraci 0,025 %. Výsledky jsou blíže popsány v tabulce č.13.

Tabulka č.12 - Intenzita sporulace (počet konidioforů vyjádřený semikvantitativně) padlí rajčete (*P. neolycopersici*) po aplikaci emulzí EO 7 dní po inokulaci na genotypu *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*.

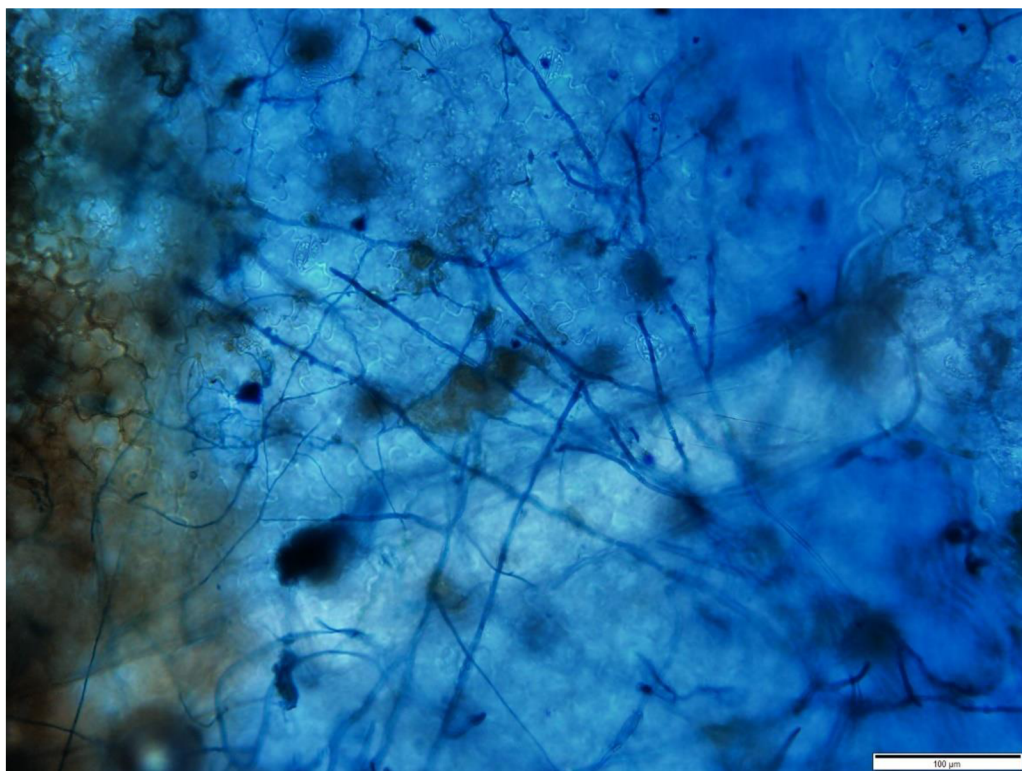
Sporulace 7 DPI			
Vzorek emulze EO	Min	Max	Průměr
Kontrola	$> 10^3$	$> 10^3$	$> 10^3$
Skořice 0,025 %	$< 10^1$	$10^1 - 10^2$	$< 10^1$
Hřebíček 0,025 %	$10^1 - 10^2$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$
Hřebíček 0,05 %	$10^1 - 10^2$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$
Tymián 0,025 %	$10^1 - 10^2$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$

Tabulka č.13 - Intenzita sporulace (počet konidioforů vyjádřený semikvantitativně) padlí rajčete (*P. neolycopersici*) po aplikaci emulzí EO 10 dní po inokulaci na genotypu *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*.

Sporulace 10 DPI			
Vzorek emulze EO	Min	Max	Průměr
Kontrola	$> 10^3$	$> 10^3$	$> 10^3$
Skořice 0,025 %	$< 10^1$	$10^1 - 10^2$	$< 10^1$
Hřebíček 0,025 %	$10^1 - 10^2$	$> 10^3$	$10^2 - 10^3$
Hřebíček 0,05 %	$10^1 - 10^2$	$> 10^3$	$10^2 - 10^3$
Tymián 0,025 %	$10^1 - 10^2$	$> 10^3$	$10^2 - 10^3$



Obrázek č.8 – Sporulace padlí (*P. neolycopersici*) u vzorku kontroly (destilovaná voda) po 7 dnech od inokulace na genotypu *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur.*, Z:400x, zdroj: vlastní foto



Obrázek č.9 – Sporulace padlí (*P. neolycopersici*) u vzorku skořice 0,025 % po 7 dnech od inokulace na genotypu *Solanum lycopersicum* cv. *Amateur.*, Z:400x, zdroj: vlastní foto

6. DISKUSE

Experimentálním cílem předložené práce bylo ověřit účinek 5 esenciálních olejů a kontroly (destilovaná voda) na vývoj padlí rajčatového (*Pseudodinium neolycopersici*), a to na listech rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*) za použití metody testování emulzí EO dle modifikované metody listových disků a metody kvantitativního hodnocení stupně intenzity napadení podle Sedlákové a Lebedy (2008); Lebedy (1986) a Mieslerové et al. (2000). Studium účinků esenciálních olejů mělo stanovené dva hlavní cíle, a to zjistit, který esenciální olej a při jaké koncentraci má nejlepší ochranné vlastnosti na listech rajčat, tedy u jakých vzorků a koncentrací EO aplikovaných na listové disky se objeví nejmenší zasažení infekcí patogenem. Druhým cílem bylo zjistit který, esenciální olej a koncentrace EO způsobuje nejmenší zasažení fytotoxicitou na listových discích rajčat. Tyto hlediska vedou k výběru potenciálně nejvhodnějšího esenciálního oleje a jeho koncentraci.

Experimentální část byla realizována ve 3. nezávislých experimentech s použitím 5 různých emulzí EO (skořicový, hřebíčkový, tymiánový, kajeputový, citronelový) při 5 různých koncentracích (0,01 až 0,15 %), blíže popsáno v tabulce č.4 pro každý jednotlivý experiment 1-3.

Na základě výsledků experimentální části bylo zjištěno, že se esenciální oleje zásadně lišily ve své účinnosti jednak mezi sebou, a také mezi jednotlivými koncentracemi daného vzorku EO. Byly provedeny 3 nezávislé experimenty z důvodu nutné modifikace přípravy/aplikace esenciálních olejů, blíže popsáno v kapitole č. 5.1.1.

V prvním experimentu dopadl celkově nejlépe esenciálního olej skořice v koncentraci 0,025 %, viz tabulka č.7, po jeho aplikaci nebyl zaznamenán jediný náznak sporulace či výskytu patogena na listových discích (senzitivní reakce) a stupeň zasažení fytotoxicitou byl pouze 19 %. Taktéž koncentrace emulzí tymiánu 0,025 % a hřebíčku 0,05 % zaznamenaly uspokojivé výsledky z hlediska stupně napadení patogenem (6-11 %) a stupně zasažení fytotoxicitou (16-19 %). Naopak jako nevhodné vzorky emulzí EO a jejich koncentrace můžeme považovat kajeput (0,025, 0,05 a 0,75 %), a to z důvodu vysokého stupně napadení patogenem (neúčinností), a citronela (0,025, 0,05 a 0,75 %) z důvodu vysokého stupně fytotoxicity. Zbylé esenciální oleje alespoň v jedné koncentraci vykazovaly účinnost vůči patogenovi. Z tohoto důvodu bylo nutné provést modifikaci a úpravu koncentrací EO.

V druhém experimentu dopadl celkově nejlépe EO tymián v koncentraci 0,025 %, viz tabulka č.8, po jeho aplikaci byl zaznamenán 12 DPI nulový stupeň napadení patogenem (senzitivní reakce), ale míra zasažení fyto toxicitou byla ke stejnému dni skoro 40%. Některé výsledky se lišily od prvního experimentu, např. po aplikaci EO skořice v koncentraci 0,025 %, byl 12 DPI zjištěn nulový stupeň napadení patogenem, ale míra zasažení fyto toxicitou ke stejnému dni vzrostla na 89 %. Zbylé koncentrace emulzí EO byly buď jen lehce účinné či neúčinné. Ve třetím experimentu se pracovalo jen s koncentracemi a emulzemi EO, u kterých bylo v prvním a druhém experimentu dokázáno, že mají aspoň částečný účinek na eliminaci patogena a zároveň nezpůsobují velký stupeň fyto toxicity. Ze 3. experimentu byly proto úplně vyřazeny emulze EO citronely a kajeputu, zbylé koncentrace emulzí EO byly modifikovány.

Ve třetím experimentu byly nejlepší výsledky zjištěny po aplikaci EO skořice v koncentraci 0,025 %, viz tabulka č.9, kdy 10 DPI byl zaznamenán přibližně 40% stupeň napadení patogenem na listových discích. Ačkoliv již tato hodnota vyjadřuje rezistentní reakci vůči EO, 7 DPI byl tento stupeň napadení jen 7 %, což je oproti zbylým koncentracím emulzí EO jen minimální SNP. U stejného vzorku skořice 0,025 % byl 10 DPI zjištěn pouze 10% stupeň zasažení fyto toxicitou. Zbylé koncentrace emulzí EO ve 3. experimentu nevykazovaly zásadní účinky vůči patogenovi či byly neúčinné.

Na základě výše popsaných experimentů je možno konstatovat, že nejlepší výsledky byly zjištěny po aplikaci EO skořice 0,025 %, který (s výjimkou 2. experimentu) dominoval jakožto nejvíce účinný vzorek emulze EO. Za tyto 3 experimenty byla průměrná míra SNP po aplikaci vzorku skořice (0,025 %) 14 % a hodnota SZF 39 %. Podobné výsledky, při nichž byla potvrzena účinnost EO skořice vůči padlí potvrzuje i studie Hegaziho a El-Kota (2010), kde pomocí metody rozprašování emulzí EO na listech zjistil, že emulze EO skořice o koncentraci 0,1 % byla považována za druhou nejefektivnější po emulzi EO zázvoru 0,1 % () v boji proti padlí (*Erysiphe cichoracearum*) na rostlinách ostálky sličné (*Zinnia elegans* L.). Dalšími aktivními emulzemi EO vůči padlí v naší studii byly zjištěny: hřebíček v koncentraci 0,05 % a tymián v koncentraci 0,025 %, jež prokázaly inhibiční účinky vůči stupni napadení patogenem. Efektivitu emulze EO tymiánu a hřebíčku potvrzuje i studie Ahameda et al., (2022), jež studoval vliv esenciálních olejů (tymiánový, citronelový, hřebíčkový a neemový) v koncentraci 1, 2, 3, 4, 5 % vůči plísni okurkové (*Pseudoperonospora cubensis*) na okurce seté (*Cucumis sativus* L.) postřikovou metodou. Ahamed et al. (2022) zjistili, že účinnost EO tymiánu o koncentraci 5 % je z datované sady 2. nejlepším EO, a to hned po EO hřebíčku o koncentraci 5 %. Zbylé emulze

EO citronela a kajeput nedosáhly dostatečně efektivních výsledků při možném snížení stupně napadení patogena či listový disk zničily fytotoxicitou.

Některé odborné studie (Poonpaiboonpipat et al., 2013; Mostafa et. al, 2021) poukazují na problém fytotoxicity rostlin při silných či opakujících se dávkách esenciálních olejů. Problém slabší či silnější fytotoxicity po aplikaci esenciálních olejů byl rovněž pozorován v našich experimentech, viz tabulka č.7, 8 a 9, kdy nejvíce fytotoxicky působícím EO byla emulze citronely (0,01 %; 0,025 %; 0,05 % a 0,075 %). Naopak vzorkem emulze EO s nejnižším stupněm zasažení fytotoxicitou je emulze hřebíčku o koncentraci 0,025 %, jejíž průměr SZF za 3 experimenty byl 2 %. Podobné výsledky byly zjištěny po aplikaci hřebíčku v koncentraci 0,05 %. Na druhou stranu však po aplikaci těchto koncentrací EO hřebíčku byl zjištěn vysoký stupeň napadení patogenem, a to 48 % u hřebíčku 0,05 % a 77 % u hřebíčku 0,025 %. Zbylé emulze EO (skořice, tymián a kajeput) působily fytotoxicky v závislosti na navyšující se koncentraci (především 0,05; 0,75 a 0,15 %) samotného EO v roztoku.

Makroskopické hodnocení bylo doplněno ve třetím experimentu mikroskopickým pozorování vývoje struktur patogena. Při sledování % klíčivosti patogena 2 D bylo zjištěno, že nejnižší % klíčení konidií bylo zdokumentováno po aplikaci EO skořice 0,025 %, viz tabulka č.10, a to 12 %. Oproti % klíčivosti kontroly (34,88 %) zaznamenal vzorek skořice 0,025 % značné snížení klíčivosti. Velice významný vliv EO skořice na klíčení houbových patogenů potvrzuje studie Ojaghiana et al., (2014), která pojednává o potenciálně antifungálních rostlinných extraktech získaných ze skořice a rozmarýnu na hlízence hlíznaté (*Sclerotinia sclerotiorum*) v podmínkách *in vivo* a *in vitro*. Studie zjistila, že surový extrakt skořice nanášený na patogena dokázal snížit stupeň klíčení o 68,1 % a růst mycelia o 78,2 %.

Dále byl zjišťován počet klíčících vláken na konidii (1-3 vlákna) 2 DPI, viz tabulka č.11 a graf č.2. Nejnižší průměr počtu klíčících vláken na konidii byl zjištěn po aplikaci EO skořice 0,025 %, a to 1,35 klíčícího vlákna v průměru (1-3), taktéž měl tento vzorek nejvyšší podíl konidií s jedním klíčícím vláknem (69 %). Naopak nejvyšší průměr počtu klíčících vláken byl dokumentován u vzorku kontroly (tedy po aplikaci destilované vody), a to: 2,34 (1-3). U kontroly byl zaznamenán nejvyšší podíl konidií se 3 klíčovými vlákny (48 %).

Poslední sledovanou hodnotou byla intenzita sporulace patogena na listových discích 7 a 10 D (počet konidioforů vyjádřený semikvantitativně), viz obrázek č.8 a 9; tabulka č.12 a č.13. Vzorek s průměrně nejmenší intenzitou sporulace 7 a 10 DPI je emulze skořice 0,025 %, po jehož aplikaci bylo zjištěno $< 10^1$ konidioforů. Nejvyšší intenzita sporulace byla zaznamenána

v kontrolním vzorku, a to $> 10^3$ konidioforů. Zbylé koncentrace emulzí EO (hřebíček 0,025 % a 0,05 %; tymián 0,025 %) vykazují za stejné období stejnou průměrnou míru intenzity sporulace ($10^2 - 10^3$). Výsledky našich pokusů potvrzuje i studie Parikha et al., (2021), v níž se autoři zabývali antifungálními vlastnostmi 38 esenciálních olejů na patogeny luskovin (*Aphanomyces euteiches*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum lentis*, *Didymella pisi*, *Fusarium avenaceum*, *Stemphylium beticola*, *Sclerotinia sclerotiorum* a *Pythium sylvaticum*). Blíže zaměřená část sporulace a klíčení patogena (*B. cinerea*, *D. pisi* a *F. avenaceum*) pracovala se 7 esenciálními oleji (hřebíčkový, skořicový, citronelový, palmový, voňatkový, oreganový a tymiánový) o koncentraci 0,002 % a 0,001 % + 0,1 % Tween 20 na Petriho miskách s bramborovým agarem. Studie popisuje velice uspokojivý vliv esenciálních olejů o koncentraci 0,002 % a 0,001 % (skořice, tymiánu, citronely, palmy olejné a oregana) na inhibici sporulace a klíčení konidií, jež byla u vzorků zmíněných patogenů 100%.

Výsledky získané experimentální částí makroskopických a mikroskopických pokusů jsou zajímavé. Z důvodu absence většího počtu studií na vliv esenciálních olejů vůči padlí rajčat (*P. neolycopersici*) na rajčeti jedlém (*S. lycopersicum*) je zapotřebí dalších výzkumů pro pochopení mechanismů účinků esenciálních olejů jakožto potenciální ochrany před patogeny.

7. ZÁVĚR

První část bakalářské práce zahrnuje literární rešerši, zde je probírána charakteristika rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*), čeledě *Solanaceae*, historie, taxonomie, geografické rozšíření a využití rajčat. Další část literární rešerše je zaměřena na charakteristiku padlí rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*), čeleď *Erysiphaceae*, životní cyklus padlí, hostitelský okruh, metody ochrany a patogenní variabilitu padlí. Poslední část literární rešerše je zaměřena na metody ochrany rostlin před patogeny, a to biologické a chemické metody, využití esenciálních olejů a IOR.

Experimentální část pojednává o účincích 5 esenciálních olejů (skořicový, hřebíčkový, kajeputový, citronelový a tymiánový) při různých koncentracích EO (0,01; 0,025; 0,05; 0,075 a 0,15 %) a kontroly (destilovaná voda) na vývoj padlí rajčatového (*Pseudodidium neolycopersici*), a to na listových discích rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* cv. *Amateur*). Cílem experimentů bylo zjistit, který esenciální olej a při jaké koncentraci má nejlepší ochranné vlastnosti na listech rajčat, tedy u jakých vzorků a koncentrací EO aplikovaných na listové disky se objeví nejmenší zasažení infekcí patogenem. Druhým cílem bylo zjistit, který esenciální olej a koncentrace EO způsobuje nejmenší zasažení fytotoxicitou na listových discích rajčat. Obě hlediska vedou k výběru nejvhodnějšího esenciálního oleje a jeho koncentraci.

Na základě realizovaných experimentů bylo zjištěno, že nejvhodnějším EO je emulze skořice v koncentraci 0,025 % (nejmenší stupeň napadení patogenem a průměrně dobrý výsledek stupně zasažení fytotoxicitou), a to za 3 makroskopické experimenty. Nejnižší stupeň zasažení fytotoxicitou byl zjištěn po aplikaci EO hřebíčku 0,025 % (max 2 %), ale SNP byl zjištěn až 77 %. Obdobný výsledek vyšel u mikroskopických pokusů. Emulze skořice 0,025 % způsobovala nejnižší míru klíčivosti konidií (12,00 % \pm 2,41 % SD), počtu klíčících vláken na konidii (1-3 klíčící vlákna), a to průměr 1,35 klíčících vláken a míry sporulace (tvorbu konidioforů) po 7 a 10 DPI, a to $< 10^1$. Esenciální olej skořice v koncentraci 0,025 % se tak stal nejlepším vzorkem k prevenci a ochraně rostlin rajčat jedlých (*S. lycopersicum*) vůči padlí rajčat (*P. neolycopersici*).

Pro detailní pochopení mechanismu účinnosti esenciálních olejů v ochraně rostlin je zapotřebí dalšího výzkumu tohoto tématu, jelikož se jedná o udržitelný, preventivní, ochranný a ekologický doplněk k chemické ochraně využívané v konvenčním zemědělství, nebo k následnému uplatnění v potravinářství, uskladňování a ochraně plodů.

8. DIDAKTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DANÉHO TÉMATU

8.1. Pracovní list na téma rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*)

Pracovní list na téma rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) pro SŠ

Rajčata patří do čeledi *Solanaceae* (rod *Solanum*), znáte nějaké další zástupce z této čeledi (rodu)? Zkuste vyjmenovat aspoň 3.

Zakroužkuj správnou odpověď:

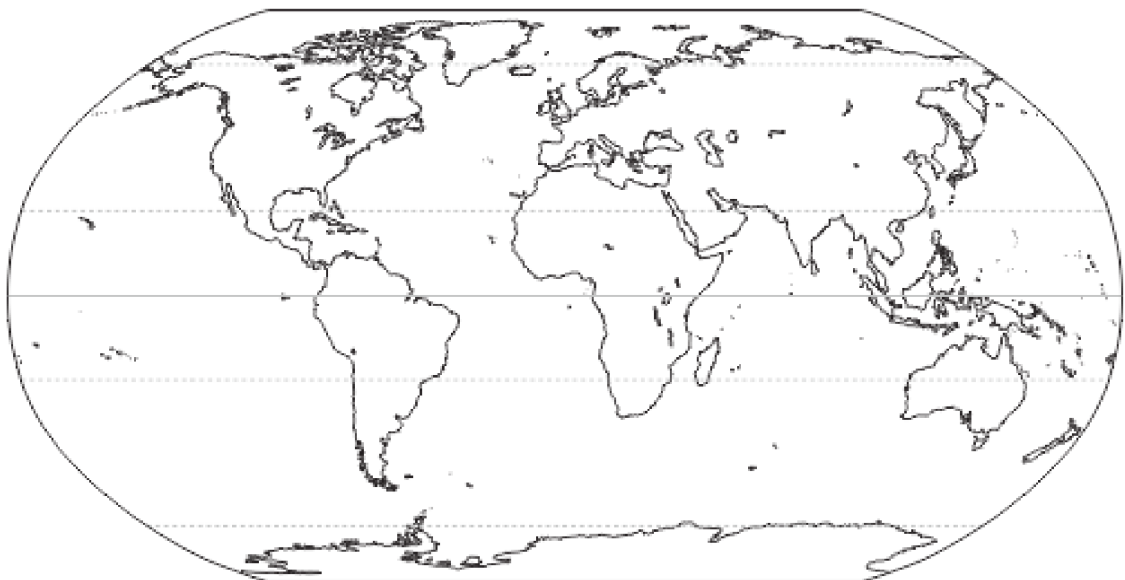
Rajčata jsou v Evropě původní/nepůvodní.

Rostliny rajčat jsou jednoleté/víceleté.

Typ květu rajčete je okolík/vijan.

Rajče je zelenina/ovoce.

Zkus v mapě světa vyznačit původní výskyt planých předchůdců rajčat (odkud rajčata pocházejí).



Zdroj: <https://www.freeprintablepdf.eu/cs/cz-mapa-sveta-kontinenty>

Co způsobuje barevnost plodů rajčat? Napiš barvy plodů, které znáš

Vyber z následujících možností správnou variantu.

Nejtěžší vypěstované rajče vážilo a) 4,6 kg

b) 2,5 kg

c) 5,2 kg

Kdy kvetou rajčata? a) červen-listopad

b) duben-červen

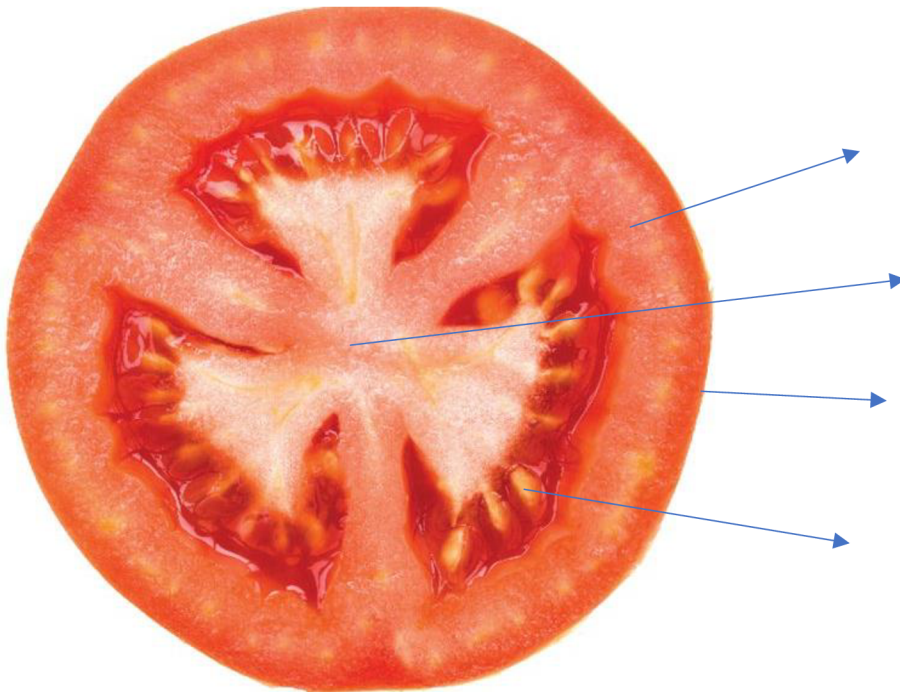
c) červen-říjen

Barva květů rajčat je a) bílá

b) žlutá

c) modrá

Jaký typ plodu má rostlina rajčat? Dokážeš popsat plod rajčete?



Zdroj: <https://whatsupmag.com/dining/fresh-look/fresh-take-tomatoes/>

Znáš nějakou pověst o zelených rajčatech z období raného novověku v Evropě či USA?

Pracovní list na téma rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) pro SŠ

Rajčata patří do čeledi *Solanaceae* (rod *Solanum*), znáte nějaké další zástupce z této čeledi (rodu)? Zkuste vyjmenovat aspoň 3.

Tabák virginský, lilek brambor, lilek vejcoplodý (baklažán), lilek potměchuť, blín černý, rulík zlomocný,

Zakroužkuj správnou odpověď:

Rajčata jsou v Evropě původní/ **nepůvodní**. Rostliny rajčat jsou **jednoleté**/víceleté.

Typ květu rajčete je okolík/ **viřan**. Rajče je zelenina/ **ovoce**.

Zkus v mapě světa vyznačit původní výskyt planých předchůdců rajčat (odkud rajčata pocházejí).



Zdroj: <https://www.freeprintablepdf.eu/cs/cz-mapa-sveta-kontinenty>

Co způsobuje barevnost plodů rajčat? Napiš barvy plodů, které znáš

Karotenoidy a další barviva, červená, žlutá, černá, zelená, fialová

Vyber z následujících možností správnou variantu.

Nejtěžší vypěstované rajče vážilo a) 4,6 kg

b) 2,5 kg

c) 5,2 kg

Kdy kvetou rajčata? a) červen-listopad

b) duben-červen

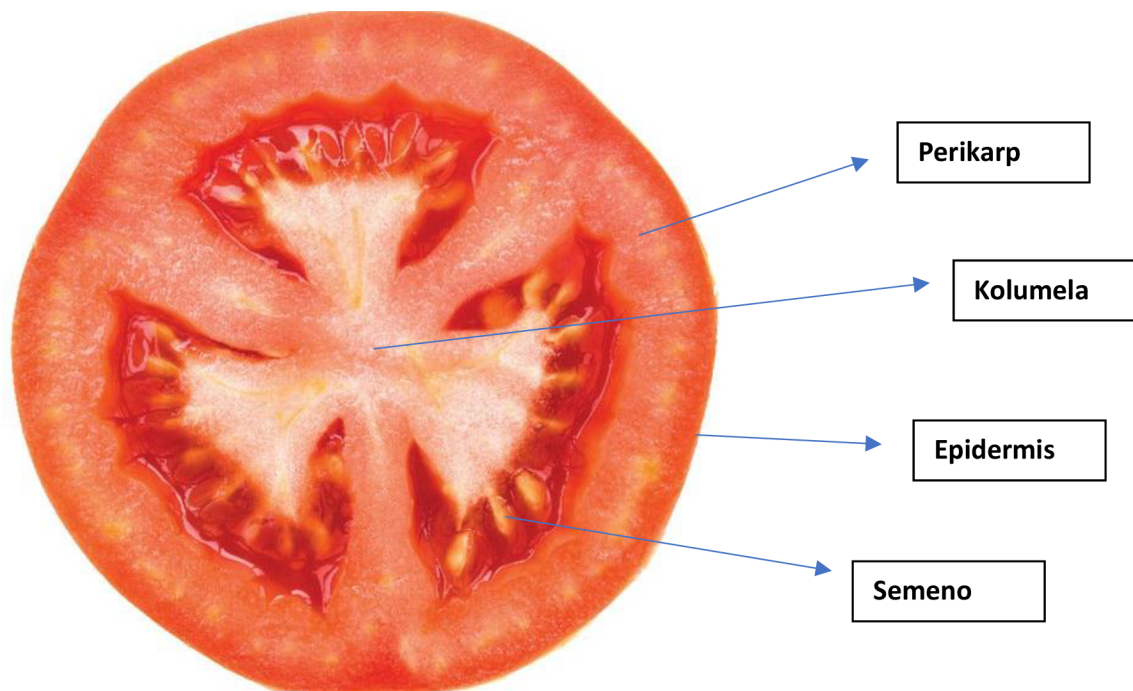
c) červen-říjen

Barva květů rajčat je a) bílá

b) žlutá

c) modrá

Jaký typ plodu má rostlina rajčat? Dokážeš popsat plod rajčete?



Zdroj: <https://whatsupmag.com/dining/fresh-look/fresh-take-tomatoes/>

Znáš nějakou pověst o zelených rajčatech z období raného novověku v Evropě či USA?

Myslelo se, že jsou jedovaté (zelené méně a červené více), lidé se jich báli

Seznam obrázků a grafů

Obrázek č.1 – Rostliny rajčete jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i>)	13
Obrázek č.2 – Životní cyklus padlí (<i>Erysiphaceae</i>), SULIMA, A. S. a ZHUKOV, V. A. <i>General scheme of powdery-mildew life cycle</i> . Online. In: RESEARCHGATE. Researchgate.net. 2022. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/358173794_War_and_Peas_Molecular_Bases_of_Resistance_to_Powdery_Mildew_in_Pea_Pisum_sativum_L_and_Other_Legumes	19
Obrázek č.3 – Příprava na testování účinků emulzí EO (3. experiment) dle modifikované metody listových disků	36
Obrázek č.4 – Ošetřené a inokulované listové disky emulzí EO 1. experimentu	37
Obrázek č.5 – 100% stupeň zasažení fyto toxicitou 2. den od inokulace (experiment č.1).....	44
Obrázek č.6 – Vzorek emulze tymiánu 0,025 % 4. den po inokulaci (2. experiment).....	47
Obrázek č.7 – Klíčící konidie padlí rajčete (<i>P. neolycopersici</i>) na vzorku kontroly (destilovaná voda) 2 D po inokulaci genotypu <i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur.</i> , Z:400x	52
Obrázek č.8 – Sporulace padlí (<i>P. neolycopersici</i>) u vzorku kontroly (destilovaná voda) po 7 dnech od inokulace na genotypu <i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur.</i> , Z:400x	54
Obrázek č.9 – Sporulace padlí (<i>P. neolycopersici</i>) u vzorku skořice 0,025 % po 7 dnech od inokulace na genotypu <i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur.</i> , Z:400x	54
Graf č.1 – Procento klíčivosti konidií padlí (<i>P. neolycopersici</i>) na listových discích rajčete <i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur</i> po aplikaci emulzí EO 2 dny po inokulaci	50
Graf č.2 – Počet klíčících vláken na konidiích padlí rajčete (<i>P. neolycopersici</i>) po aplikaci emulzí EO 2 D po inokulaci genotypu <i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur</i>	51

Seznam tabulek

Tabulka č.1 – Taxonomie rajčete jedlého kultivar <i>Amateur</i> (<i>Solanum lycopersicum</i>)	14
Tabulka č.2 – Seznam testovaných esenciálních olejů, původ a výrobce	34
Tabulka č.3 – Příprava emulzí EO v příslušných koncentracích	35
Tabulka č.4 – Seznam použitých emulzí EO a jejich koncentrace	36
Tabulka č.5 – Stupnice pro hodnocení intenzity napadení listového disku padlím <i>P. neolyopersici</i> (Mieslerová et al., 2000).	38
Tabulka č.6 – Stupnice pro hodnocení zasažení listového disku fytotoxicitou	38
Tabulka č.7 – Výsledky testování emulzí EO v koncentraci 0,025 %; 0,05 % a 0,075 % a vzorku kontroly 1. experimentu vůči izolátu padlí <i>Pseudoidium neolyopersici</i> (syn. <i>Erysiphe neolyopersici</i>).....	42
Tabulka č.8 – Výsledky testování emulzí EO v koncentraci 0,01 %; 0,025 %; 0,075 % a 0,15 % a vzorku kontroly 2. experimentu vůči izolátu padlí <i>Pseudoidium neolyopersici</i> (syn. <i>Erysiphe neolyopersici</i>).....	45
Tabulka č.9 – Výsledky testování emulzí EO v koncentraci 0,025 %; 0,05 % a kontrolního vzorku 3. experimentu vůči izolátu padlí <i>Pseudoidium neolyopersici</i> (syn. <i>Erysiphe neolyopersici</i>).....	47
Tabulka č.10 – Procento klíčivosti konidií padlí rajčatového (<i>P. neolyopersici</i>) vybraných vzorků emulzí EO 2 D po inokulaci na genotypu <i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur</i>	49
Tabulka č.11 – Počet klíčících vláken na konidiích padlí rajčete (<i>P. neolyopersici</i>) po aplikaci emulzí EO 2 D po inokulaci genotypu <i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur</i>	51
Tabulka č.12 – Intenzita sporulace (počet konidioforů vyjádřený semikvantitativně) padlí rajčete (<i>P. neolyopersici</i>) po aplikaci emulzí EO 7 dní po inokulaci na genotypu <i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur</i>	53
Tabulka č.13 – Intenzita sporulace (počet konidioforů vyjádřený semikvantitativně) padlí rajčete (<i>P. neolyopersici</i>) po aplikaci emulzí EO 10 dní po inokulaci na genotypu <i>Solanum lycopersicum</i> cv. <i>Amateur</i>	53

Přehled použité literatury

Tištěné zdroje

- Ahamed, M. A., Soliman D. Z. a El-Habbak, M. H.: Role of Some Essential Plant Oils, Fungicides and Inducer Resistance Elicitors on The Management of Cucumber Downy Mildew. Online. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*. 2022, 14(2): 193-206. ISSN 2090 - 0791. Dostupné z: <https://doi.org/10.21608/EAJBSF.2022.274572>.
- Ale-Agha, N., Bolay, A., Braun, U., Feige, B., Jage, H., Kummer, V., Lebeda, A., Piatek, M., Shin, H. D., Zimmermanová-Pastirčáková: *Erysiphe catalpae* and *Erysiphe elevata* in Europe., *Mycological Progress* 2004, 3: 291-296, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11557-006-0099-3>
- Bellón-Gómez, D., Vela-Corcía, D. Pérez-García, A. a Torés, J.: Sensitivity of *Podosphaera xanthii* populations to anti-powdery-mildew fungicides in Spain. Online. *Pest Management Science*. 2015, 71(10): 1407-13 Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ps.3943>
- Blanc, J., Canizares, J., Cordero, L. a Nuez, F.: Variation Revealed by SNP Genotyping and Morphology Provides Insight into the Origin of the Tomato. Online. *PLoS ONE*. 2012, 7(10): 1-17. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048198>.
- Bleša, D., Matušinský, P., Tvarůžek, L., Svačinová, I., Růžičková, S. a Hambálková, M.: Využití biologické ochrany v produkci rostlin. *Agromanuál*, 2020, 2: 78-81. ISSN: 1801-7673.
- Braun U., Shin, H. D., Takamatsu, S., Meeboon J., Kiss L., Lebeda A. a Kitner M.: Phylogeny and taxonomy of *Golovinomyces orontii* revisited., *Mycological Progress*, 2019, 18: 335–357, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11557-018-1453-y>
- Braun, U., The Powdery Mildews (Erysiphales) of Europe. Online. *Nordic journal of botany*. 1995, 16(2), Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1996.tb00953.x>.
- Braun, U., Cook, R.T, Inman, A., Shin, A.J., Bélanger, R. R., Dik, A. J. a Carver, T. L. W. (ed.): The taxonomy of the powdery mildew fungi. Online. *The powdery mildews: a comprehensive treatise*. 2002,; 13-55. Dostupné z: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20023170351>.
- Braun, U. a Cook, R. T. A., Taxonomic Manual of the Erysiphales (powdery Mildews). Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2012.: ISSN 1571-8859.
- De-Montijo-Prieto S., Razola-Díaz M., Gómez-Caravaca A. M. a Guerra-Hernandez E.J.: Essential Oils from Fruit and Vegetables, Aromatic Herbs, & Spices: Composition, *Antioxidant, and Antimicrobial Activities*, 10(11): 1-22, article number 1091. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biology10111091>.
- Dorais, M., Ehret, D. L. a Papadopoulos, A. P.: Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer. Online. *Phytochemistry Reviews*. 2008, 7: 231–250. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9085-x>.
- Ferreira, R. B., Monteiro, S., Freitas, R., Santos, C. N.: Fungal pathogens: The battle for plant infection., *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2006, 25: 505-524, Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/07352680601054610>
- Ganaie, M.M., Raja, V. a Reshi, Z. A.: Family Solanaceae: Taxonomy and modern trends. Online. *Annals of Plant Science*. 2018, 7(9): 1-12. ISSN 2287-688X. Dostupné z: <https://doi.org/10.21746/aps.2018.7.9.1>
- Glawe, D. A.: The powdery mildews: a review of the world's most familiar (yet poorly known) plant pathogens. Online. *Annual Review of Phytopatholog*. 2008, 46(1): 27-51. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.46.081407.104740>.

- Hajlaoui, M. R., Traquair, J. A., Jarvis, W. R. a Belanger, R. R.: Antifungal activity of extracellular metabolites produced by *Sporothrix flocculosa*. Online. *Biocontrol Science and Technology*. 1994, 4(2): 229-237. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09583159409355331>.
- Hajlaoui, M. R., Benhamou, N. a Bélanger., R. R.: Cytochemical study of the antagonistic activity of *Sporothrix flocculosa* on rose powdery mildew, *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*. Online. *Phytopathology*. 1992, 82: 583-589. Dostupné z: <https://doi.org/10.1094/Phyto-82-583>.
- Hegazi, M. A. a El-Kot, G. A. N.: Efficacy of Some Essential Oils on Controlling Powdery Mildew on Zinnia (*Zinnia Elegans*, L.). Online. *Journal of Agricultural Science*. 2010, 2(4): 63-74. Dostupné z: <https://doi.org/10.5539/jas.v2n4p63>.
- Huckelhoven, R. a Panstruga, R.: Cell biology of the plant-powdery mildew interaction. Online. *Current Opinion in Plant Biology*. 2011, 14(6): 738-746. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.08.002>.
- Jankovics, T., Kovács, G. M. a Bardin, M.: *Oidium neolycopersici*: Intraspecific Variability Inferred from Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis and Relationship with Closely Related Powdery Mildew Fungi Infecting Various Plant Species. Online. *Phytopathology*. 2008, 98(5): 529-540. Dostupné z: <https://doi.org/10.1094/PHTO-98-5-0529>.
- Jarvis, W. R., Gubler, W. D. a Grove, G. G.: Epidemiology of powdery mildews in agricultural pathosystems. Online. *American Phytopathological Society*. 2002,; 169-199. Dostupné z: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20023170355>.
- Kiralan, M. a Ketenoglu, O.: Utilization of Tomato (*Solanum lycopersicum*) by-Products: An Overview. Online. *Mediterranean Fruits Bio-wastes*. 2022, 1(1): 799-818. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-030-84436-3_34.
- Kiss, L. A.: review of fungal antagonists of powdery mildews and their potential as biocontrol agents. Online. *Pest management science*. 2003, 59(4): 475-483. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ps.689>.
- Kiss, L., Vaghefi, N., Bransgrove, K., Dearnaley, J. D. W. a Takamatsu, S.: Australia: A Continent Without Native Powdery Mildews? The First Comprehensive Catalog Indicates Recent Introductions and Multiple Host Range Expansion Events, and Leads to the Re-discovery of *Salmonomyces* as a New Lineage of the Erysiphales. Online. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1-31 article 1571. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01571>.
- Knapp, S. a Peralta, I.: The Tomato (*Solanum lycopersicum* L., *Solanaceae*) and Its Botanical Relatives. Online. In: *The Tomato Genome*. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016, 2016, 7(21): 1-19. Dostupné z: <https://nhm.openrepository.com/handle/10141/622703>.
- Lebeda, A. a Reinink, K.: Expression of different resistance mechanisms by *Lactuca* spp. in early stages of *Bremia lactucae* development. *Czech and Slovak Plant Protection Conference*. 12n. l., roč. 12-15, 1994, č. Proc. XIII, 157-158.
- Lebeda, A., Mieslerová, B., Jankovics, T., Kiss L. a Van Der Linde E. J.: First detection of tomato powdery mildew caused by *Oidium neolycopersici* in South Africa. *South African Journal of Botany*, 2015, 99:153–157, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.03.196>.
- Lebeda, A., Mieslerová, B., Petřivalský, M., Luhová, L., Špundová, M., Sedlářová, M. a Nožková-Hlaváčková V., PINK DAC, Resistance mechanisms of wild tomato germplasm to infection of *Oidium neolycopersici*. *Europ. Journal of Plant Pathology* 138: 569–596.
- Lebeda, A., Mieslerová B.: Variability in pathogenicity of *Oidium neolycopersici* on *Lycopersicon* species., 2002, *Journal of Plant Diseases and Protection* 109: 129–141
- Lebeda, A.: Padlí okurkové. Erysiphe cichoracearum, *Sphaerotheca fuliginea* (Cucumber powdery mildew. Erysiphe cichoracearum, *Sphaerotheca fuliginea*). In: Lebeda, A. (Ed.): *Methods of Testing Vegetable Crops for Resistance to Plant Pathogens*, 1986, VJH Sempra, Research Institute of Vegetable crops, Olomouc, 87-91

- Lebeda, A. a Urban, J., Fungicide resistance in cucurbit downy mildew – methodological, biological and population aspects. *Annals of Applied Biology*. 2006, 149(1): 63-75. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2006.00070.x>.
- Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B., McCreight, J. D. a Coffey, M. D.: Cucurbit powdery mildews: methodology for objective determination and denomination of races., 2016, *European Journal of Plant Pathology* 144: 399-410
- Lebeda, A., Mieslerová, B., Huszár, J. a Sedláková, B.: Padlí kulturních a planě rostoucích rostlin: taxonomie, biologie, ekologie a epidemiologie, mechanismy rezistence, šlechtění na odolnost, metody experimentální práce, diagnostika a ochrana rostlin. Olomouc: Agriprint, 2017. ISBN 978-808-7091-692.
- Liu, Y. X., Cai, Z. Y., Yang, Y., Long, J. M., Li, H. Q. a Zhang, Z. B.: First report of powdery mildew caused by *Pseudoidium neolycopersici* on *Moringa oleifera* in China. 2019, *Plant Disease*, 103: 1768-1768. Dostupné z: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-18-1413-PDN>
- Mani-López, E. a López-Malo, A.: A review of the methods used to determine the target site or the mechanism of action of essential oils and their components against fungi. Online. *Discover applied sciences*. 2021, 3(44): 1-25. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s42452-020-04102-1>.
- Mieslerová, B. a Lebeda, A., Taxonomy, distribution and biology of tomato powdery mildew (*Oidium lycopersici*), 1999, *Journal of Plant Diseases and Protection*, 106: 140–157.
- Mieslerová, B. a Lebeda, A.: Influence of temperature and light conditions on germination, growth and conidiation of *Oidium neolycopersici*., 2010, *Journal of Phytopathology*, 158: 616–627.
- Mieslerová, B., Lebeda, A. a Kennedy, R.: Variation in *Oidium neolycopersici* development on host and non-host plant species and their tissue defence response., 2004, *Annals of Applied Biology*, 144: 237–248.
- Mieslerová, B., Lebeda, A. a Chetelat, R., T.: Variation in Response of Wild Lycopersicon and Solanum spp. against Tomato Powdery Mildew *Oidium lycopersici*. 2000, *Journal of Phytopathology* 148: 303-311.
- Milling, R., Laffranque, J., P. a Orpella, M.: A new bio-fungicide for use in organic and conventional fruit growing in Europe. Online. 2012, *Armicarb*, 5: 264-267. Dostupné z: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20133110070>
- Mostafa, Y. S., Hashem, M., Alshehri, A. M., Alamri, S., Eid E. M., Ziedan E. S. H.E. a Alrumman S. A.: Effective Management of Cucumber Powdery Mildew with Essential Oils, *Agriculture*, 2021, 11(11): 1-16, 1177. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/agriculture11111177>.
- Naidoo, V.: Datura species and related plants. Online. *Veterinary Toxicology (Second Edition)*. 2012, 2: 1152-1160. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385926-6.00116-2>.
- Ojaghian, M.R., Chen, Y., Chen, S. a Cui, Z.: Antifungal and enzymatic evaluation of plant crude extracts derived from cinnamon and rosemary against Sclerotinia carrot rot. Online. *Annals of Applied Biology*. 2014, 164(3): 415-429. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/aab.12111>.
- Parikh, L. O., Aginotan, B. E. a Burrows, M.: Antifungal Activity of Plant-Derived Essential Oils on Pathogens of Pulse Crops. Online. *Plant Disease*. 2021, 105(6): 1692-1701. Dostupné z: <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1401-RE>.
- Pathak, R., Ergon, A., Stensvand, A., Gislerod, H. a Solhaug, K.: Functional Characterization of *Pseudoidium neolycopersici* Photolyase Reveals Mechanisms Behind the Efficacy of Nighttime UV on Powdery Mildew Suppression. Online. *Frontiers in Microbiology*. 2020, 11, 1091: 1-2. ISSN 32547521. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01091>.
- Pavan, S., Heussden, A. W., van a Bai, Y.: *Solanum lycopersicum (Tomato)*. Online. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. 2009.: 1-4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0003686>

- Pavela, R.: Přírodní cestou nejen proti chorobám a škůdcům. České Budějovice: Kurent., 2020. ISBN 978-80-87111-84-0.
- Petřeková, V.: Atlas vybraných druhů padlí (řád *Erysiphales*) v České republice. Studentské práce. Praha: Academia, 2018. ISBN 978-802-0028-006.
- Poonpaiboonpipat, T., Pangnakorn, U., Suvunnamek, U., Teerarak, M., Charoenying, P. a Laosinwaattana, C.: Phytotoxic effects of essential oil from *Cymbopogon citratus* and its physiological mechanisms on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). *Industrial Crops and Products*, 2013,41: 403-407. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.057>.
- Prokop, M.: Jak se rostliny brání napadení houbovými patogeny., 2009, *Živa* 4: 152-153., Dostupné z: <https://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/jak-se-rostliny-brani-napadeni-houbovymi-patogeny>
- Rani, L., Thapa, K. a Kanojia, N.: An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. Online. *Journal of Cleaner Production*. 2021, 283:124657. ISSN 0959-6526. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>.
- Sedláková, B. a Lebeda, A.: Fungicide resistance in Czech populations of cucurbit powdery mildews. *Phytoparasitica*. 2008, 36(3): 272-289. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02980774>
- Sedlářová, M. a Vinter, V.: Rostlinná pletiva pod vlivem houbových chorob.,2007, *Živa* 6: 250-253.
- Shukla, P., Bajpai, K., Tripathi, S., Kumar, S. a Kumar Gautam, G.: A Review on the Taxonomy, Ethnobotany, Chemistry and Pharmacology of *Solanum Lycopersicum* Linn. Online. *International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences*. 2013, 8(1): 521-527. ISSN 2321-3132. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Girendra-Kumar-Gautam/publication/340573929_A_Review_on_the_Taxonomy_Ethnobotany_Chemistry_and_Pharmacology_of_Solanum_Lycopersicum_Linn/links/5e916f934585150839d23b3e/A-Review-on-the-Taxonomy-Ethnobotany-Chemistry-and-Pharmacology-of-Solanum-Lycopersicum-Linn.pdf.
- Takamatsu, S.: Origin and evolution of the powdery mildews (Ascomycota, Erysiphales). Online. *Mycoscience*. 2013, 54(1): 75-86. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.myc.2012.08.004>.
- Towsend, G. R. a Heuberger, J. W.: Methods for estimating losses caused by disease in fungicide experiments. *Plant Dis Reporter*. 1943, 27(17): 340-343.
- Věchet, L.: Mechanismy interakcí hostitel – patogen a základy šlechtění na odolnost., 2012, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, S.66
- Villaverde, J. J., Sandín-Espana, P., Sevilla-Morán, B. a López-Goti C.: Biopesticides from natural products: current development, legislative framework, and future trends. Online. *BioResources*. 2016, 11(2): 5618-5640. Dostupné z: <https://doi.org/10.15376/biores.11.2.Villaverde>.
- Whipps, J. M., Budge, S. P. a Fenlon, J. S.: Characteristics and host range of tomato powdery mildew. Online. *Plant Pathology*. 1998, 47(1): 36-48. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1998.00207.x>.

Internetové zdroje

- Benoit, D. J.: *A History of Tomatoes*. Online. In: EXTENSION MASTER GARDENER UNIVERSITY OF VERMONT. The University of Vermont. 2023. Dostupné z: <https://www.uvm.edu/news/extension/history-tomatoes>.
- EAGRI, PRŮVODCE INTEGROVANOU OCHRANOU ROSTLIN. Online. In: © ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ. Eagri.cz. 2020. Dostupné z: https://eagri.cz/public/portal/-q384419--cKoDw0Fa/pruvodce-ior-2020?_linka=a292665.

- FAOSTAT, Production quantities of Tomatoes by country. Online. In: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Fao.org. 2022. Dostupné z: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- FRAC, Pathogen risk list, 2019 (aktualizace: září 2019)., Dostupné z: <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/frac-pathogen-list-2019.pdf>
- Grulich, V.: *SOLANACEAE Juss. – lilkovité / lulkovité*. Online. In: Botany.cz. 1. 1. 2020. Dostupné z: <https://botany.cz/cs/solanaceae/>
- Hoskovec, L.: *SOLANUM LYCOPERSICUM L. – lilek rajče / rajčiak jedlý*. Online. In: Botany.cz. 2008. Dostupné z: <https://botany.cz/cs/solanum-lycopersicum/>.
- Janíková, S.: Rajčatových skleníků v Česku rychle přibývá, zabírají už 65 hektarů. Online. In: DUDÁK, Tomáš. FARMA BEZDÍNEK, S.R.O. <https://www.farmabezdinek.cz/>. 2021. Dostupné z: <https://www.farmabezdinek.cz/wp-content/uploads/2021/08/hospodarske-noviny-2021-08-19-strana-10.pdf>.
- Landa, Z.: Integrovaná ochrana rostlin. Online. In: JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH. 2010. Dostupné z: <http://rl.zf.jcu.cz/docs/ruzne/ruz-IOR-definice-a-p-cb1a487441.pdf>.
- Němcová, V. a Buchtová, I.: SITUAČNÍ A VÝHLEDOVÁ ZPRÁVA ZELENINA 2021. Online. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2021. ISBN 978-80-7434-630-9. Dostupné z: https://eagri.cz/public/web/file/692977/Zelenina_2021_web.pdf.
- Němcová, V. a Buchtová, I.: SITUAČNÍ A VÝHLEDOVÁ ZPRÁVA ZELENINA 2023. Online. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2023. ISBN 978-80-7434-745-0. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/portal/-a37054---oEZB2q5t/publikace-situacni-a-vyhledova-zprava-zelenina-2023>.
- OECD. Safety Assessment of Transgenic Organisms in the Environment. Online. *Safety Assessment of Transgenic Organisms in the Environment*. 2017, 7, 2: 69-100. Dostupné z: <https://doi.org/10.1787/9789264279728-en>.
- Rodríguez, P. A.: *SOLANACEAE*. Online. In: SMITHSONIAN INSTITUTION. Smithsonian National Museum of Natural History. 2023. Dostupné z: https://naturalhistory.si.edu/sites/default/files/media/file/solanaceae_0.pdf.
- Rost, T.L.: Root Architecture. Online. In: Tomato Anatomy. 1996. Dostupné z: <https://labs.plb.ucdavis.edu/rost/tomato/Roots/taproot.html>.

Přílohy

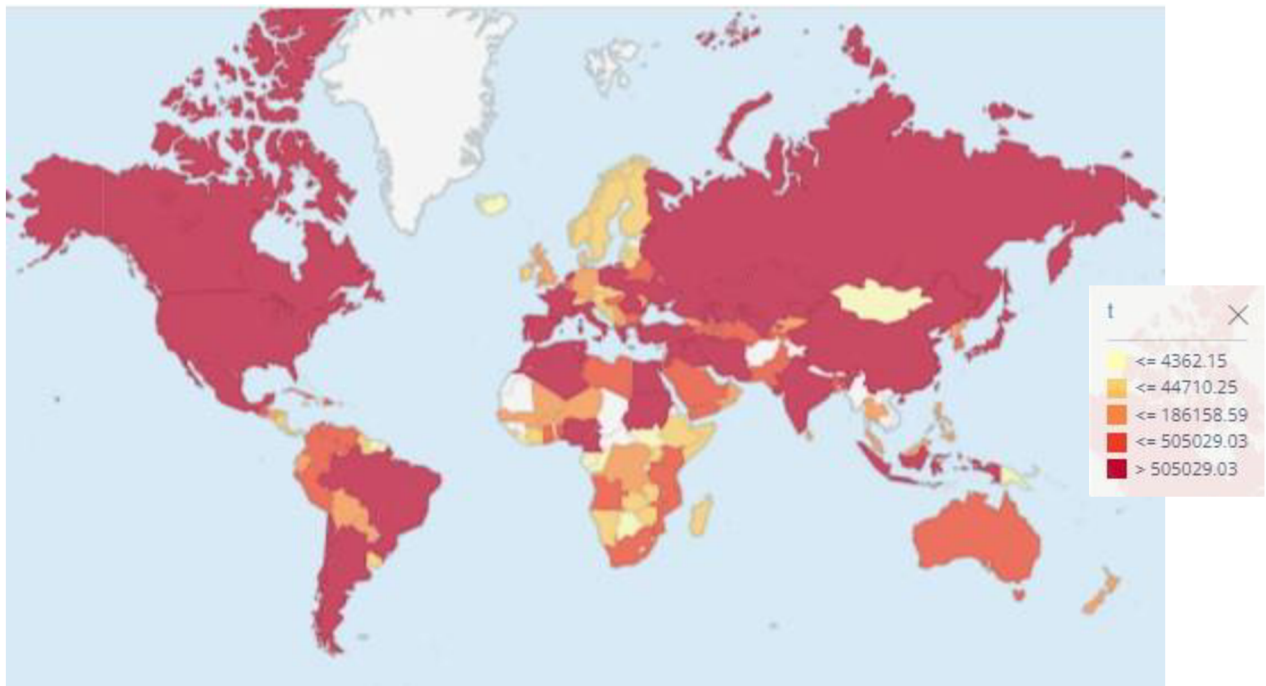
Příloha č.1 – Množství produkce (tuny) rajčat podle zemí (1994–2022) (FAOSTAT, 2022).

Příloha č.2 – Výskyt padlí rajčat (*P. neolycopersici*) na rajčeti jedlém (*S. lycopersicum*).

Příloha č.3 – Petriho misky s inokulovanými a ošetřenými listovými disky 2. experimentu

Příloha č.4 – 100% SNP listových disků vzorku kontroly 1. experimentu 13 DPI

Příloha č.1 - Množství produkce (tuny) rajčat podle zemí (1994–2022) (FAOSTAT, 2022).



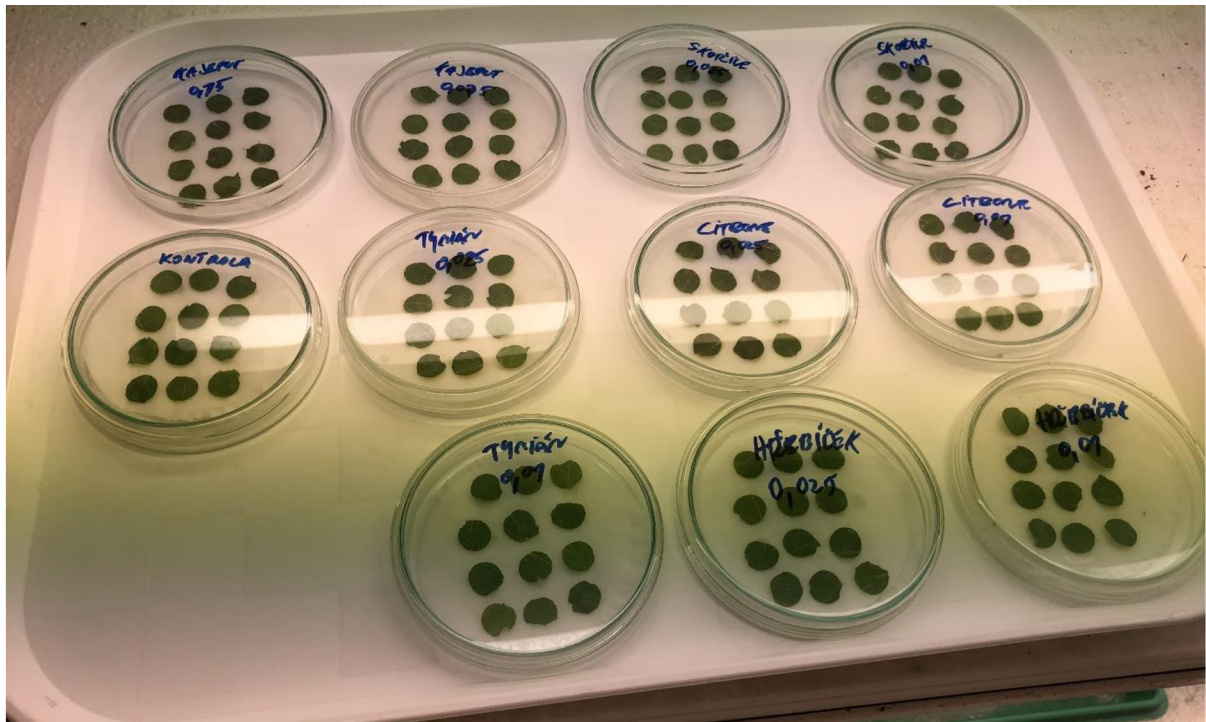
Zdroj: FAOSTAT. *Crops and livestock products: Production quantities of Tomatoes by country (1994-2022)*. Online. In: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION CORPORATE STATISTICAL DATABASE. Fao.org. 2022. Dostupné z: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>.

Příloha č.2 – Výskyt padlí rajčat (*P. neolycopersici*) na rajčeti jedlém (*S. lycopersicum*).



Zdroj: vlastní foto

Příloha č.3 – Petriho misky s inokulovanými a ošetřenými listovými disky 2. experimentu



Zdroj: vlastní foto

Příloha č.4 – 100% SNP listových disků vzorku kontroly 1. experimentu 13 DPI



Zdroj: vlastní foto