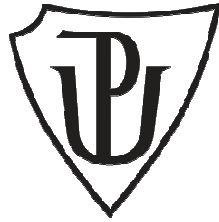


UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Rezistence k fungicidům v populaci padlí tykvovitých
v České republice

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor: Hana Jeřábková

Studijní program: N1501 Biologie

Studijní obor: Botanika

Forma studia: Prezenční

Vedoucí diplomové práce: Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc

Rok obhajoby: 2010

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou práci vypracovala samostatně podle metodických pokynů vedoucího diplomové práce a za použití uvedené literatury.

V Olomouci, 21. 5. 2010

Poděkování:

Děkuji RNDr. Boženě Sedlákové Ph.D. a Prof. Ing. Aleši Lebedovi, DrSc. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost při tvorbě diplomové práce.

Dále děkuji paní V. Zoubkové a D. Vondrákové za ochotu pomoci při pěstování pokusných rostlin a udržování izolátů.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Hana Jeřábková

Název práce: Rezistence k fungicidům v populaci padlí tykvovitých v České republice

Typ práce: Diplomová

Pracoviště: Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71, Olomouc - Holice

Vedoucí práce: Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.

Rok obhajoby práce: 2010

Abstrakt:

V teoretické části byla vypracována rešerše týkající se rezistence padlí tykvovitých, druhů *Golovinomyces cichoracearum* (*Gc*) a *Podosphaera xanthii* (*Px*) vůči fungicidům. Obecná část je zaměřena na identifikaci a význam choroby a jejích původců, historii a charakteristiku používaných fungicidních přípravků, vznik a charakteristiku rezistence vůči těmto přípravkům ve světě a v České republice (ČR) a doporučený způsob ochrany.

V praktické části jsou shrnuty výsledky experimentů z let 2007 - 2008, kdy byla sledována účinnost celkem čtyř syntetických fungicidních přípravků, jednalo se o: RUBIGAN 12 EC (účinná látka - fenarimol), KARATHANE LC (dinocap), TOPSIN M 70WP (thiophanate-methyl) a ORTIVA (azoxystrobin), které jsou registrovány a užívány v ČR proti padlí tykvovitých. Celkem 50 izolátů padlí tykvovitých (28 *Gc* a 22 *Px*) pocházejících ze sběrů realizovaných na území ČR v letech 2007 – 2008 bylo vybráno k testování účinku fungicidů pomocí metody modifikovaných listových disků.

Rubigan 12EC (fenarimol) a Karathane LC (dinocap) byly vysoce účinné. Žádný z testovaných izolátů (*Gc* i *Px*) nebyl rezistentní vůči doporučeným koncentracím těchto dvou přípravků. Pouze v případě přípravku Karathane LC byla pozorována tolerantní reakce 15% izolátů padlí tykvovitých na nižších koncentracích (0,008% a 0,015%). Přípravek Topsin M 70WP (thiophanate-methyl) se jevil v obou sledovaných letech jako zcela neúčinný, většina testované populace (*Gc* i *Px*) vykazovala rezistentní reakci na vyšších koncentracích (0,15% a 0,3%) než optimální (0,075%). Účinnost přípravku Ortiva (azoxystrobin) vůči testovaným izolátům se v obou sledovaných letech snižovala. U druhu *Gc* byl pozorován výrazný posun směrem k nárůstu rezistence vůči tomuto přípravku, u druhu *Px* byl naopak zaznamenán posun směrem k větší citlivosti/toleranci.

Klíčová slova: azoxystrobin, dinocap, fenarimol, *Golovinomyces cichoracearum*, padlí tykvovitých, *Podosphaera xanthii*, rezistence k fungicidům, thiophanate-methyl

Počet stran: 84

Počet příloh: 1

Jazyk: Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Hana Jeřábková

Title: Resistance to Fungicides in Cucurbit Powdery Mildew Populations in the Czech Republic

Type of thesis: Master

Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Šlechtitelů 11, 783 71, Olomouc - Holic

Supervisor: Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.

The year of presentation: 2010

Abstract:

In the theoretical part of the thesis, the literature about fungicide resistance of cucurbit powdery mildews caused by *Golovinomyces cichoracearum* (*Gc*) and *Podosphaera xanthii* (*Px*) was reviewed. This part is focused on the identification and disease impact of their agents, history and features of used fungicides, mechanism of resistance, development of fungicide resistance in the world and in the Czech Republic (CR) and recommended control management.

In the practical part, there were summarized results of experiments from 2007 - 2008. Effectiveness of four syntetic fungicides registered and used for cucurbit powdery mildews control in the CR was screened. Tested fungicides: RUBIGAN 12 EC (effective substance - fenarimol), KARATHANE LC (dinocap), TOPSIN M 70WP (thiophanate-methyl) and ORTIVA (azoxystrobin). A total of 50 cucurbit powdery mildew isolates (28 *Gc* and 22 *Px*) were tested using a modified leaf discs bioassay. These isolates originated from the area of the CR from the years 2007 to 2008.

Rubigan 12EC (fenarimol) and Karathane LC (dinocap) were highly effective. None of the tested isolates (*Gc* and *Px*) overcome the recommended concentrations for these two fungicides. 15% isolates showed the tolerant reaction at lower concentrations (0,008% and 0,015%) of Karathane LC. Topsin M 70WP (thiophanate-methyl) was totally ineffective in both of tested years. Majority of tested population (*Gc* and *Px*) expressed resistant reaction at higher concentrations (0,15% and 0,3%) than optimal (0,075%). Efficacy of fungicide Ortiva (azoxystrobin) towards tested isolates decreased during two years tested period. The substantial shift of azoxystrobin resistance increase was observed within *Gc* population contrary to the increase of tolerant/sensitive reactions within *Px* population.

Key words: azoxystrobin, cucurbit powdery mildew, dinocap, fenarimol, fungicide resistance, *Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*, thiophanate-methyl

Number of pages: 84

Number of appendices: 1

Language: Czech

OBSAH

1. ÚVOD	8
2. CÍL	9
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	10
3.1. Taxonomie původců padlí ř. Erysiphales a jeho postavení v systému	10
3.2. Morfologie řádu Erysiphales	12
3.2.1. Anamorfní stádium	12
3.2.2. Teleomorfní stádium	13
3.3. Biologie a epidemiologie řádu Erysiphales včetně padlí tykvovitých	13
3.3.1. Infekce	13
3.3.2. Příznaky napadení	14
3.3.3. Přezimování padlí	14
3.4. Vliv vnějších faktorů na rozvoj infekce	15
3.4.1. Vliv teploty	15
3.4.2. Vliv vlhkosti	15
3.4.3. Vliv světla	15
3.4.4. Vliv biotických faktorů	16
3.4.5. Fenologie hostitelské rostliny	16
3.5. Patogenní variabilita řádu Erysiphales	16
3.5.1. Patogenní variabilita padlí tykvovitých	17
3.6. Výskyt a rozšíření padlí v rámci Evropy a na území ČR	17
3.6.1. Výskyt padlí tykvovitých ve světě	17
3.6.2. Výskyt padlí tykvovitých v ČR	17
3.7. Hostitelský okruh a zdroje rezistence tykvovitých plodin vůči padlí tykvovitých	18
3.7.1. Hostitelský okruh padlí	18
3.7.2. Zdroje rezistence hostitele	18
3.8. Fungicidy	19
3.8.1. Historie fungicidních přípravků	19
3.8.2. Rozdělení fungicidů	20
3.8.2.1. Kontaktní fungicidy	20
3.8.2.2. Systémové fungicidy	20
3.8.3. Chemické a biologické prostředky užívané proti houbovým chorobám (včetně padlí tykvovitých)	21
3.8.3.1. Chemické přípravky	21
3.8.3.2. Způsob účinku vybraných skupin konvenčních fungicidů	21
3.8.3.2.1. Benzimidazolová skupina	21
3.8.3.2.2. Skupina QoI	22

3.8.3.2.3. Inhibitory biosyntézy sterolů (SBIs).....	22
3.8.3.2.4. Halogenované monocyklické aromatické uhlovodíky.....	23
3.8.3.3. Fungicidy na přírodní bázi	24
3.8.4. Přípravky registrované vůči padlí tykvovitých v ČR.....	26
3.9. Vývoj fungicidních přípravků a jejich uvádění do praxe	26
3.10. Rezistence vůči fungicidům.....	27
3.10.1. Typy rezistence.....	28
3.10.1.1. Kvalitativní rezistence	28
3.10.1.2. Kvantitativní rezistence.....	29
3.10.1.3. Křížová rezistence.....	29
3.10.1.4. Mnohonásobná rezistence.....	29
3.10.2. Molekulární mechanismy rezistence	30
3.10.2.1. Molekulární mechanismy rezistence k vybraným skupinám fungicidů	30
3.10.3. Celosvětově užívané fungicidy proti padlí tykvovitých a vznik rezistence.....	31
3.10.3.1. Benzimidazolová skupina fungicidů	32
3.10.3.2. DMI fungicidy	32
3.10.3.3. QoI fungicidy	33
3.11. Monitoring rezistence a možnosti omezení vzniku rezistence vůči fungicidům	33
4. MATERIÁL A METODY	36
4.1. Rostlinný materiál.....	36
4.2. Původ, charakteristika a uchovávání izolátů padlí tykvovitých použitých k testování	36
4.3. Modifikovaná metoda listových disků a použité fungicidy	39
4.3.1. Testované fungicidy	40
4.4. Hodnocení intenzity sporulace	41
5. VÝSLEDKY	42
5.1. Reakce izolátů z roku 2007 na testované fungicidy	42
5.2. Reakce izolátů z roku 2008 na testované fungicidy	43
5.3. Srovnání reakcí testovaných izolátů pocházejících z let 2007-2008 na testované přípravky...44	44
6. DISKUZE.....	61
7. ZÁVĚR	66
8. POUŽITÁ LITERATURA	68
9. INTERNETOVÉ ZDROJE.....	75
10. PŘÍLOHA	76

1. ÚVOD

Jako téma diplomové práce jsem si zvolila studium rezistence padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum* a *Podosphaera xanthii*) vůči fungicidům.

Padlí tykvovitých je celosvětově rozšířená a závažná choroba tykvovitých zelenin (Cohen et al., 2004; Křístková et al., 2009). Původci této choroby vyvolávají onemocnění napadáním nadzemních orgánů rostlin, především listů, čímž významně nepříznivě ovlivňují stav rostliny a její produkci. Jelikož prošlechtěnost tykvovitých zelenin na rezistenci vůči padlí je nízká, a rovněž i díky značné rasové a patogenní variabilitě patogenu obtížná, používání fungicidů je stále důležitým a nutným prostředkem ochrany.

Rezistence padlí tykvovitých k mnoha celosvětově užívaným fungicidním přípravkům již byla zaznamenána (McGrath, 2001). Také v České republice byl v posledních letech výzkum zaměřen na tuto problematiku s cílem stanovit účinnost vybraných fungicidních přípravků, vůči kterým je známa rezistence (Sedláková a Lebeda, 2008). Studium účinnosti fungicidů napomáhá vyloučit z praktického užívání neúčinné přípravky vůči padlí tykvovitých, čímž se také výrazně omezí vznik a vývoj rezistentních kmenů. Eliminace vzniku a rozvoje padlí tykvovitých pomocí účinných fungicidních látek a určení správného programu jejich managementu zůstává dále v pěstitelské praxi významným úkolem.

2. CÍL

Cílem této práce bylo vypracování literární rešerše týkající se rezistence padlí tykvovitých (druhů *Golovinomyces cichoracearum* - Gc a *Podosphaera xanthii* - Px) vůči fungicidům. Obecná část této práce byla zaměřena především na celosvětové rozšíření a význam choroby, historii a charakteristiku používaných fungicidních přípravků, vznik a charakteristiku rezistence vůči těmto přípravkům ve světě a v České republice a doporučený způsob kontroly této choroby. Tato rešerše byla doplněna o nově publikované poznatky z této oblasti.

Cílem experimentální části bylo sledování účinnosti čtyř vybraných druhů fungicidních přípravků používaných v současnosti i v minulých letech v České republice vůči padlí tykvovitých (Rubigan 12 EC, Karathane LC, Topsin M 70WP, Ortiva). Tyto přípravky reprezentují čtyři odlišné účinné látky (fenarimol, dinocap, thiophanate-methyl, azoxystrobin) vůči nimž byla ve světě zaznamenána v populacích padlí tykvovitých rezistence (McGrath, 2001; Lebeda a Sedláková, 2005).

Dalším úkolem rovněž bylo ověřit vhodnost metodik dosud používaných pro studium rezistence padlí tykvovitých vůči fungicidům. Provedení experimentů by mělo sloužit jako praktická zkušenost s laboratorní prací a jako případný zdroj informací pro další studium této problematiky.

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1. Taxonomie původců padlí ř. Erysiphales a jeho postavení v systému

V taxonomii a fylogenezi řádu Erysiphales vždy hrála významnou roli struktura askomat. V posledních desetiletích je díky technickému pokroku taxonomický systém a jeho fylogenetická interpretace silně ovlivněna výzkumy také na molekulární úrovni (Braun et al., 2002). Charakteristiky anamorfních stádií jsou základem pro taxonomii řádu Erysiphales a odrážejí fylogenetické vztahy této skupiny hub. Naopak teleomorfní stádia poskytují důležité znaky pro druhovou determinaci zástupců tohoto řádu. První komplexní celosvětová monografie o řádu Erysiphales byla publikována Braunem (1987).

Ve většině systémů hub jsou druhy padlí popisovány jako askohymeniální unitunikátní vřeckaté houby (Braun et al., 2002). Avšak podle Nannfeldta (1932) jsou bitunikátní a jsou řazeny do skupiny Pyrenomycetes (s peritheciem) nebo Plectomycetes (plodnice bez otvoru). Během posledních třiceti let bylo publikováno několik návrhů na pojetí tohoto řádu (Braun et al., 2002). Samostatné postavení řádu Erysiphales zdůraznil Braun (1987), podle kterého tento řád nespadá ani do jedné z výše zmiňovaných skupin (Braun et al., 2002). Plodnice, podle něj představují speciální typ, který by neměl být klasifikován ani jako kleistothecia ani jako perithecia. Izolovaná pozice řádu Erysiphales byla potvrzena rovněž i molekulárními výzkumy, které poukázaly na blízkou příbuznost tohoto řádu s primitivními houbami Discomycetes (askomycety s apothecii) a v pozdějších výzkumech na jeho příslušnost k základní skupině apotheciálních a pseudotheciálních hub, která se vyvinula brzy v evoluci euaskomycet (Braun et al., 2002; Saenz a Tailor, 1999).

Podle v současnosti uznávaného systému Erikssona a Hawkswortha (1993) je taxonomie řádu Erysiphales následující (Braun et al., 2002):

oddělení Eumycota
pododdělení: Ascomycotina
třída: Ascomycetes
řád: Erysiphales

Pro čeleď Erysiphaceae byla navržena následující klasifikace, která je podpořena také výsledky molekulárních analýz (Mori et al., 2000; Braun et al., 2002):

čeleď Erysiphaceae

tribus Erysipheae - Brasiliomyces, *Erysiphe emend.* (zahrnuje rody *Microsphaera*, *Uncinula* atd.),
Typhulochaeta

tribus Golovinomyceteae (U. Braun) U. Braun a S. Takamatsu (2000)

subtribus: Golovinomycetinae – Golovinomyces

subtribus: Neoerysiphinae (U. Braun) U. Braun a S. Takamatsu (2000) – *Neoerysiphe*

subtribus Arthrocladiellinae (R.T.A. Cook et al.) U. Braun a S. Takamatsu (2000) – *Arthrocladiella*

tribus: Cystotheceae (Katamoto) U. Braun (1987)

subtribus: Cystothecinae – *Cystotheca*, *Podosphaera emend.* (zahrnující *Sphaerotheca*)

subtribus: Sawadaeinae (U. Braun) U. Braun a S. Takamatsu (2000) – *Sawadaea*

tribus: Phyllactinieae (Palla) R.T.A. Cook et al., v Braun (1999a) – *Leveillula*, *Phyllactinia*, *Pleochaeta*

tribus: Blumerieae R. T. A. Cook et al. (1997) – *Blumeria*

Na základě revize, která byla v posledních letech provedena v systematickém členění řádu Erysiphales (Braun et al., 2002) je druh *Erysiphe cichoracearum* resp. *E. orontii* nově uváděn jako *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V. P. Gelyuta a druh *Sphaerotheca fuliginea* resp. *S. fusca* jako *Podosphaera xanthii* (Castag.) U. Braun & N. Shish. V této práci je použito nejnovější pojmenování zástupců padlí tykvovitých.

3.2. Morfologie řádu Erysiphales

3.2.1. Anamorfní stádium

Anamorfní stádium vřeckovýtrusých hub je charakterizované vznikem pomocných rozmnožovacích útvarů.

Rody *Podosphaera* a *Golovinomyces* jsou řazeny mezi obligátní ektoparazity a jsou vázány na živá pletiva hostitelské rostliny. Na povrchu hostitelské rostliny vytváří epifytické mycelium. Obecně je primární mycelium řádu Erysiphales charakterizováno jako hyalinní, septátní a tenkostěnné s jednojadernými a vakuolizovanými hyfálními buňkami. Hyfy se větví, mohou být rovné, zvlněné, uzlovité, krátkodobé nebo téměř vytrvalé. Většina druhů čeledi Erysiphaceae má pouze bílé primární mycelium, které zůstává stejně zbarvené v průběhu celé sezóny, někdy však může docházet k jeho zešednutí, či zežloutnutí, vzácněji zhnědnutí, jako je tomu např. u *Podosphaera* sect. *Sphaerotheca* – *Podosphaera fuliginea* (*S. fuliginea*), kdy tenkostěnné hyfy zhnědnou v důsledku stáří. U některých rodů se vytváří také silnostěnné více nebo méně pigmentované sekundární mycelium (Braun et al., 2002).

Apresoria a haustoria jsou modifikacemi hyf u řádu Erysiphales a mají rovněž i význam pro taxonomickou determinaci. Apresoria jsou boční výrůstky hyf, které fungují jako struktury, které připojují mycelium k hostiteli a z nichž se pak začínají větvit haustoria. Apresoria se mohou také objevovat na koncích klíčnicích vláken konidií. Řada zástupců rodu *Podosphaera* sect. *Sphaerotheca* (také druh *P. xanthii*) se vyznačuje nezřetelnými apresorii, charakteru rozšířeného vlákna. Naopak apresoria zřetelná, bradavčitého tvaru jsou velmi častá u zástupců čeledi Erysiphaceae, typická např. pro rod *Golovinomyces* a také rod *Podosphaera* – ne však pro *P. xanthii* viz výše (Braun et al., 2002).

Haustoria představují vyživovací orgány a u ektofytických druhů vyrůstají ze středu myceliálního apresoria. Mohou být rovněž různého tvaru, kulovitá nebo hruškovitá s více či méně laločnatou strukturou (Braun et al., 2002).

Z povrchových hyf vyrůstají konidiofory, které se skládají z několika buněk. Po bazální buňce (angl. foot-cell) následují další buňky, většinou jedna až tři. Jejich délka je variabilní a často charakteristická pro jednotlivé druhy. Při konidiogenezi se za bazální buňkou vyvíjí tzv. generativní buňka, která se nejprve prodlužuje a následně pak dělí za vzniku konidií. K přerušení fyziologického spojení mezi dvěma koncovými konidiemi v řetězci dochází vlivem osmotických změn a náhlého vzestupu turgoru (Jarvis et al., 2002). Konidie jsou uvolňovány působením větru nebo na základě elektrostatické teorie Leacha a Appleho (1984), která předpokládá změny napětí vycházející z klesající nebo zvyšující se vlhkosti či působení infračerveného záření u druhu *P. xanthii* (Jarvis et al., 2002).

Konidie čeledi *Erysiphaceae* jsou jednobuněčné, bezbarvé, jednojaderné, vakuolizované a tenkostěnné meristemické arthrospory (Braun et al., 2002) a obsahují olejové kapénky (Yarwood, 1950). Konidie rodu *Podosphaera* a některých dalších rodů, mohou obsahovat lámavé částičky obecně nazývané jako fibrosinová tělíska, složená z uhlovodíků obsahujících dusík nebo kalozy (Homma, 1937), jejich funkce je však stále nejasná.

Konidie klíčí na hostitelské rostlině primárními klíčovými vlákny, které se vyvíjí v mycelium. U rodu *Golovinomyces* vyrůstají klíčoví vlákna apikálně, u rodu *Podosphaera* laterálně. Klíčení konidií závisí na teplotě a vlhkosti (Braun et al., 2002).

3.2.2. Teleomorfní stádium

Teleomorfní stádia se vyznačují tvorbou pohlavních orgánů specializovaných pro tvorbu askospor. Plodnice (askokarpy, chasmothecia) jsou dvouvrstevné, více nebo méně kulovité až zploštělé a uzavřené (bez ostiolu). *P. xanthii* je charakteristická velkými buňkami peridia (stěny plodnice), *G. cichoracearum* má tyto buňky drobnější (Zlochová, 1990). Askokarpy obsahují vytrvalá vřecka, která jsou uvolňována horizontální nebo vertikální štěrbinou v peridiu plodnice, jakmile vřecka dostatečně dozrají a zvětší svoji velikost. Na plodnicích se vytváří dva druhy přívěsků. Primární jsou bazální hyfy, které připevňují mladé askokarpy a slouží k výživě rostoucích plodnic. Sekundární přívěsky vznikají z vnější stěny peridia mladé plodnice.

Askokarpy se většinou objevují na konci vegetačního období hostitelské rostliny, pravděpodobně jako odpověď na vzrůstající nutriční stres stárnoucího houbového organismu.

Vřecka čeledi *Erysiphaceae* jsou většinou unitunikátní a u většiny druhů tenkostěnná. *P. xanthii* má v plodnici pouze jediné vřecko bez stopky, *G. cichoracearum* má v plodnici 7 – 15 stopkatých vřecek (Zlochová, 1990). Obsahují jednobuněčné tenkostěnné askospory, které se vytváří obvykle během sezóny před přezimováním (Braun et al., 2002).

3.3. Biologie a epidemiologie řádu *Erysiphales* včetně padlí tykvovitých

3.3.1. Infekce

Na vhodných substrátech je infekce iniciována klíčením konidií nebo askospor (v menší míře), může být rovněž vyvolána i vytrvalým přezimujícím myceliem, nebo myceliem přežívajícím v dormantních pupenech. Průnik do hostitele přes epidermální nebo stomatární buňky je zajištěn penetračními hroty apresorií (1 – 2 μm široké), která vznikají na klíčících vláknech konidií. Penetrační hroty tvořící v hostiteli haustoria vstupují do epidermálních buněk ve dvou fázích. V první fázi dochází

k narušení kutikuly a buněčné stěny působením enzymů patogena, což umožní vnitrobuněčnou komunikaci (vodní spojení), ve druhé fázi dochází k mechanické penetraci (Jarvis et al., 2002).

Druhy *P. xanthii* a *G. cichoracearum* se liší časovým průběhem a délkou infekčního cyklu. U *P. xanthii* dochází k penetraci 19 – 24 h od inokulace a délka infekčního cyklu je 144 h; u *G. cichoracearum* dochází k průniku do hostitele 10 – 17 hod od inokulace a délka infekčního cyklu je 120 h (Zlochová, 1990).

3.3.2. Příznaky napadení

Padlí napadá u hostitelské rostliny nejčastěji listovou čepel na horní a později také na spodní straně. Pokud jsou vhodné vnější podmínky a tlak infekce je silný, mohou být infikovány i stonky a řapíky listů. Primární infekce se projevuje tvorbou asi 0,5 cm velkých kruhovitých bílých až šedobílých skvrn (pustulí) mycelia. Pustule se postupně zvětšují, až splývají dohromady a celý list je pokryt souvislou vrstvou mycelia, v němž se vytváří velké množství konidií, které se jeví jako bělavé moučné povlaky. Růst mycelia a reprodukce houby vede ke zmenšení asimilační plochy, čímž fyziologicky dochází k omezení fotosyntézy. Mezi viditelné symptomy napadení padlím patří obecně znetvoření a zkroucení listů či stonků a nekrózy. Následkem omezení fotosyntézy je zpomalen růst rostliny, vývoj plodu a při silném napadení může docházet i k usychání rostliny, případně její předčasné senescenci (Jahn et al., 2002).

3.3.3. Přezimování padlí

Úspěch biotrofních rostlinných patogenů, za jaké jsou považováni i původci padlí, je významně určen také jejich schopností přečkat zimní období do další sezóny. Úloha askokarpů v přečkání období absence zelených částí hostitele je stále sporná (Yarwood, 1957; McGrath, 2001), jelikož mnoho druhů není schopno vytvořit askospory schopné vytrvat do období, než bude dostupný další hostitel. Způsob přetrvání životaschopných reprodukčních orgánů závisí na klimatu. V oblastech s horkým, aridním letním obdobím a se studenou suchou zimou nemá patogen možnost aktivně přetrvat a rozšířit se na rozdíl od oblastí s mírnějším podnebím, kde se pěstování a sklizně plodin časově překrývají, takže patogenní aktivita přerušena není (Jarvis et al., 2002). Padlí může dočasně jako svého hostitele využít i jiného, náhradního hostitele, např. *P. xanthii* byla v Izraeli v zimním období pozorována na rostlinách rodu *Senecio* (starček), *Xanthium* (řepaň) a *Papaver* (mák), které mohly sloužit jako náhradní hostitelé pro padlí na tykvovitých rostlinách (Dinoor, 1974).

3.4. Vliv vnějších faktorů na rozvoj infekce

Vývoj padlí je ovlivněn jak genotypem a fenologií rostliny, tak rovněž i vnějšími faktory, a to např. teplotou, vlhkostí a světlem, jejichž účinky se navzájem prolínají (Jarvis et al., 2002).

3.4.1. Vliv teploty

Jak teplota konstantní, tak také její kolísání, ovlivňují vývoj padlí. Zástupci řádu Erysiphales vyžadují specifické teplotní podmínky, které se mohou lišit v různých etapách životního cyklu i mezi jednotlivými druhy. Optimální teplota pro vývoj různých zástupců padlí se pohybuje v rozmezí 11-28°C, minimální teplota v rozmezí 0-17°C a maximální teplota 28-36°C (Schnathorst, 1965). Rozmezí optimálních teplot pro klíčení konidií je většinou širší. Dle Schnathorsta (1965) je procento klíčivosti u *Golovinomyces cichoracearum* stejné při teplotním rozmezí 2-30° a zbrždění klíčení při určitých teplotách se projevovalo pouze v krátkých intervalech po inokulaci. Dále bylo zjištěno, že maximální a minimální teploty pro infekci jsou o pár stupňů nižší resp. vyšší než pro klíčení. Pro druh *Podosphaera xanthii* byla Yarwoodem et al. (1954) na základě 13 nezávislých pozorování stanovena průměrná minimální, optimální a maximální teplota pro klíčení konidií, prodloužování klíčících vláken a rozvoj choroby na 9°C, 22°C a 34°C (Jarvis et al., 2002). Zlochová (1990) uvádí pro klíčení konidií druhu *Golovinomyces cichoracearum* optimální teplotní rozmezí 15-25°C.

3.4.2. Vliv vlhkosti

Dalším faktorem, který se významně podílí na rozvoji infekce, je vlhkost. Reakce jednotlivých druhů padlí na různou vlhkost se opět značně liší. Zlochová (1990) uvádí pro klíčení konidií druhu *G. cichoracearum* optimální relativní vlhkost 90-95%, konidie *P. xanthii* klíčí při relativní vlhkost vyšší tj. 98-100%. Přímý kontakt konidií s vodou může působit na vývoj padlí inhibičně (Jarvis et al., 2002).

3.4.3. Vliv světla

Podle Brauna (1987) je světlo faktorem ovlivňujícím utváření mycelia, konidioforů a konidií. Jednotlivé druhy padlí se opět v míře citlivosti ke světlu liší. Výskyt padlí je obvykle častější ve stinném prostředí než na plném světle (Yarwood, 1957). Negativní vliv na vývoj padlí má vysoká světelná intenzita např. Schnathorst (1965) uvádí vysokou světelnou intenzitu jako inhibitor utváření apesoríí a Aust a Hoyningen-Huene (1986) pozorovali při vysoké intenzitě světla redukci sporulace u *P. xanthii*.

3.4.4. Vliv biotických faktorů

Jedním z biotických faktorů, které mají vliv na rozvoj padlí, jsou jiné druhy hub. V myceliálních koloniích se mohou vyskytovat např. *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium* atd. nebo hyperparazitická houba *Ampelomyces quisqualis*, která vytváří pyknidy uvnitř hyf a reprodukčních orgánů mnohých druhů z řádu Erysiphales a to i na padlí tykvovitých. Infekce může vést až ke zničení celé kolonie padlí (Jarvis et al., 2002; Sedláková a Lebeda, 2009).

3.4.5. Fenologie hostitelské rostliny

Hostitelské rostliny lze rozdělit podle jejich fenologie do tří hlavních skupin ve vztahu k epidemiologii padlí. Do první skupiny řadíme padlí na vytrvalých opadavých dřevinách, kde mycelium přezimuje v dormantních pupenech nebo vytváří plodnice v prasklinách kůry či listů. Druhou skupinou jsou vytrvalé neopadavé rostliny, kde padlí přetrvává na zelených tkáních a napadá různě staré listy. Třetí skupinou jsou jednoleté rostliny s různou fenologickou vnímavostí a s gradientem vnímavosti ve vztahu ke stáří listů. Do této skupiny náleží i tykvovitě rostliny, které jsou napadány druhy *Golovinomyces cichoracearum* a *Podosphaera xanthii*. U druhu *P. xanthii*, který patří do poslední jmenované skupiny, bylo nejtěžší stádium rozvoje choroby pozorováno na listech středního věku až starých listech u okurek pěstovaných ve skleníku (Jarvis et al., 2002).

3.5. Patogenní variabilita řádu Erysiphales

Biotrofní parazitické houby řádu Erysiphales jsou značně variabilní v patogenitě resp. virulenci. I když padlí způsobuje významné choroby mnoha kulturních i planých rostlin, výzkum této choroby na genetické úrovni se v posledních padesáti letech soustředil převážně na padlí travní, *Blumeria graminis* (syn. *Erysiphe graminis*) (Brown, 2002). Výzkum na padlí travním se významně rozvíjel v padesátých letech, kdy byla zkoumána interakce gen proti genu mezi izoláty padlí travního a varietami ječmene a pšenice (Moseman, 1966). Padlí na ječmeni (*B. graminis* f. sp. *hordei*) je dnes díky transformacím, konstrukcím DNA knihoven a rozvojem genetických map založených na DNA markerech jednou z nejlépe prostudovaných houbových chorob rostlin ve vztahu hostitel-patogen na genetické úrovni. Detailně jsou studovány vlastnosti, významné pro adaptaci houby na hostitele, jedná se především o druhově specifickou virulenci a odpovědi na použití fungicidů (Brown, 2002). Padlí ječmene (*B. graminis*) bývá občas považováno za modelový organismus pro výzkum jiných druhů padlí nebo dokonce i chorob způsobených biotrofními houbovými parazity obecně.

U padlí tykvovitých probíhá zásadnější výzkum patogenní variability teprve v posledních přibližně patnácti letech a to hlavně ve Francii, Řecku, Španělsku, Izraeli, Japonsku a USA (Lebeda a Sedláková, 2004; McCreight, 2006).

3.5.1. Patogenní variabilita padlí tykvovitých

Patogenní variabilita původců padlí tykvovitých, druhů *Golovinomyces cichoracearum* a *Podosphaera xanthii* na úrovni jejich hostitelského okruhu je vyjádřena patotypy (Bardin et al., 1997, 1999). Rasy patogena pak představují stupeň virulence na souboru vybraných genotypů jednoho hostitelského druhu (v současnosti pouze *Cucumis melo*) s různými geny rezistence. Byla prokázána vysoká variabilita v patogenitě a virulenci padlí tykvovitých, což lze demonstrovat existencí velkého množství patotypů a ras ve světě i v České republice (Cohen et al., 2004; Jahn et al., 2002; Lebeda a Sedláková, 2005; Lebeda et al., 2008; McGrath, 2006).

3.6. Výskyt a rozšíření padlí v rámci Evropy a na území ČR

3.6.1. Výskyt padlí tykvovitých ve světě

Výskyt druhu *Golovinomyces cichoracearum* je obecně vázán na chladnější a temperátní oblasti, naopak *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*) se častěji vyskytuje v teplejších oblastech, případně na tykvovitých rostlinách pěstovaných v krytých prostorách (Lebeda, 1983; Lebeda et al., 2009a). Tato skutečnost koresponduje i s údaji o rozšíření padlí tykvovitých v Evropě. Na oblast severní a střední Evropy je vázán druh *Golovinomyces cichoracearum*, v oblasti jižní Evropy se vyskytuje *Podosphaera xanthii* (Cohen et al., 2004; Vakalounakis et al., 1994). Z průzkumů realizovaných koncem devadesátých let vyplývá, že *Px* se začíná významně šířit zejména v západní a jižní Evropě (Bardin et al., 1997, 1999; Vakalounakis et al. 1994). V posledních letech je však druh *Px* opakovaně nalézán i v chladnějších oblastech, jak v čistých tak ve směsných kulturách. Z dostupných dat však zatím nelze s jistotou určit, zda jde o trvalý trend, nebo pouze o náhodný jev podmíněný roční fluktuací klimatických podmínek, případně dalšími faktory (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2009a).

3.6.2. Výskyt padlí tykvovitých v ČR

Již ze začátku 20. století, kdy byly zaznamenány první zmínky o sledování chorob zelenin, včetně padlí tykvovitých na území bývalého Československa, existují informace o výskytu a škodách, které padlí tykvovitých vyvolávalo na všech druzích tykvovitých zelenin (Lebeda a Sedláková, 2004).

První mikroskopická vyšetření vzorků padlí pocházejících z většího počtu lokalit bývalého Československa zpochybnila přítomnost *Erysiphe polyphaga* jako opakovaně uváděného původce padlí a potvrdila výskyt dvou druhů padlí patřících ke dvěma odlišným rodům řádu Erysiphales, *Golovinomyces cichoracearum* (Gc) a *Podosphaera xanthii* (Px) (Lebeda, 1983). Koncem 80. let bylo zastoupení Gc více jak 80% a Px 14%. Směsná infekce nebyla zjištěna. Druh Px převažoval hlavně na jižní Moravě a jihu Slovenska (Lebeda, 1983). Pozdějšími studii provedenými na území České republiky byl výskyt těchto druhů opět prokázán. Ukázalo se, že druh Gc dlouhodobě převažuje a podíl druhu Px stoupá, zvláště ve směsných infekcích s Gc (Křístková et al., 2009; Lebeda, 1983; Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2009a).

3.7. Hostitelský okruh a zdroje rezistence tykvovitých plodin vůči padlí tykvovitých

3.7.1. Hostitelský okruh padlí

V České republice napadá padlí tykvovitých prakticky všechny hlavní pěstované druhy tykvovitých (*Cucumis sativus* – okurka setá, *Cucurbita pepo* – tykev obecná, *C. maxima* – tykev obrovská, *Cucumis melo* – meloun cukrový). Vzácně bylo padlí pozorováno i na *Citrullus lanatus* – lubenice vodní/vodní meloun (Křístková a Lebeda, 2000b) popřípadě *Cucurbita moschata* (tykev muškátová). Nebylo naopak zjištěno na planě rostoucích zástupcích čeledi Cucurbitaceae, jako jsou např. posed bílý (*Bryonia alba*), posed dvoudomý (*Bryonia dioica*) a štětinec laločnatý (*Echinocystis lobata*). Dle získaných poznatků nemají tykvovité planě rostoucí rostliny na území ČR větší epidemiologický význam (Lebeda a Sedláková, 2004).

V posledních letech byla nejvyšší frekvence výskytu padlí v ČR zjištěna na *Cucurbita pepo* a *C. maxima*, naopak velmi nízká frekvence výskytu byla zjištěna u polních okurek (Lebeda a Sedláková, 2004). Tento stav se významně liší od situace na konci 70. a počátku let 80. minulého století, kdy polní okurky byly infikovány daleko častěji a intenzivněji (Lebeda, 1983), což může být vysvětleno častějším nástupem infekce plísně okurkové (*Pseudoperonospora cubensis*) (Lebeda a Sedláková, 2005).

3.7.2. Zdroje rezistence hostitele

Poznatky o problematice genetické odolnosti vůči padlí u tykvovitých zelenin byly souhrnně zpracovány Jahnem et al. (2002). Z těchto poznatků vyplývá, že konkrétně u okurky seté (*Cucumis sativus*) byl ve šlechtění na rezistenci k padlí učiněn relativně malý pokrok. Důvodem může být nedostatek kvalitních zdrojů rezistence (Lebeda et al., 2007) a poznatků o interakci hostitel-patogen. U melounu cukrového (*Cucumis melo*) je naproti tomu k dispozici celá řada zdrojů rasově specifické

odolnosti, včetně komerčně pěstovaných odrůd (Lebeda a Křístková, 1994). Ne zcela dořešená zůstává otázka polní rezistence. Významné rozdíly v rezistenci byly nalezeny zejména u polní odolnosti *Cucurbita pepo*, ale i některých dalších druhů (Jahn et al., 2002; Lebeda a Křístková, 1994, 1996).

3.8. Fungicidy

Fungicidy řadíme mezi prostředky na ochranu rostlin před houbovými patogeny. Chemické spektrum přípravků s antifungální aktivitou je různorodé a zahrnuje přípravky s účinnou látkou anorganického i organického původu. Tyto přípravky lze rozdělit na základě chemické povahy i podle způsobu jejich aplikace na přípravky aplikované do půdy nebo na nadzemní části rostlin či aplikované po sklizni chránící skladované plodiny před houbovými chorobami. Podle funkce lze tyto prostředky rozdělit na: 1) protektivní fungicidy, jež zpomalují rozvoj patogenu (působí sporidně nebo na povrchu rostliny vytváří prostředí nepříznivé pro růst patogenu) a 2) kurativní, které působí postinfekčně na rozvíjející se mycelium nebo postsymptomaticky, pronikají do mycelia a spor a inaktivují patogen (Ballantyne, 2004). Podle místa účinku můžeme fungicidy dělit na kontaktní a systémové.

3.8.1. Historie fungicidních přípravků

Fungicidní přípravky jsou používány k ochraně rostlin před houbovými patogeny již více než 200 let. Zpočátku byly používány hlavně k ochraně semen obilnin a vinné révy, postupem času se jejich užití rozšířilo na celou řadu rostlinných druhů a jejich chorob.

V roce 1934 byly objeveny první organické fungicidy a následoval rychlý rozvoj chemických prostředků v boji proti chorobám rostlin. Dalším milníkem na poli ochranných přípravků byl antibiotický griseofulvin. Tato sloučenina nebyla sice v zemědělství nikdy rozsáhleji použita, odhalila však systémový účinek jako možný přístup ke kontrole chorob (Hollomon a Wheeler, 2002). Do šedesátých let 20. století byly vůči padlí používány protektanty a multi-site inhibitory (Hollomon a Wheeler, 2002). Prostředky obsahující dithiokarbamáty, chinomethionát a síru byly využívány často, ale jen na omezené spektrum plodin. Užití těchto fungicidů bylo omezeno jednak potřebou dlouhé prodlevy mezi aplikací a sklizní plodin, jednak i potřebou vysokých dávek na aplikaci a také vysokými náklady, které omezovaly aplikaci fungicidů jen na vysoce ceněné plodiny. Koncem 60. let a v průběhu let 70. se na trhu objevila řada nových přípravků se systémovou aktivitou: 2-aminopyrimidiny, benzimidazoly, karboxanilidy, fosforothioláty, morfoliny, dikarboximidy, fenylamidy a inhibitory demethylace sterolu (DMI). V 80. letech bylo na trh uvedeno několik triazolů, patřících do

skupiny DMI a další dva fungicidy ze skupiny morpholinů a to fenpropimorph a fenpropidin. V devadesátých letech pak bylo vyvinuto několik nových složek obsažených v širokospektrálních QoI fungicidech - strobiluriny (např. azoxystrobin, kresoxim-methyl) a anilinopyrimidiny (cyprodinil), dále primárně na padlí zaměřený spiroxamin a quinoxifen, který je účinný jen proti padlí, ale s širokým spektrem hostitelů (Brent a Hollomon, 2007b). Užitím systémových fungicidů došlo k celkovému zefektivnění produkce, jak účinností, které bylo dosaženo při nižších dávkách fungicidu, tak cenovou dostupností (Hollomon a Wheeler, 2002). V současnosti se celosvětově v zemědělství využívá na 150 různých fungicidních směsí. Součástí správné zemědělské praxe v ochraně rostlin je snaha využívat v menší míře chemické prostředky a kombinovat je s prostředky nechemickými. I přes tuto snahu však fungicidy stále představují významný podíl toxických látek vstupujících do prostředí a bezpečnostní riziko pro jiné, necílové organismy.

3.8.2. Rozdělení fungicidů

3.8.2.1. Kontaktní fungicidy

Kontaktní fungicidy jsou přípravky nesystémové. Jsou určeny převážně k preventivnímu užití, nebo jako doplněk k systémovým fungicidům. Aplikují se na povrch rostliny, kde přímo působí na patogena a inhibují tak jeho rozvoj před vniknutím do pletiva rostliny. Jsou označovány jako tzv. multi-site fungicidy, které působí nespecificky na mnoha místech metabolismu patogena. Kontaktní fungicidy (např. chlorothalonil, dinocap) jsou méně citlivé k vyvinutí rezistence než systémové a translaminární fungicidy se specifickým způsobem účinku (McGrath, 2001; FRAC).

3.8.2.2. Systémové fungicidy

Přípravky se systémovou nebo translaminární aktivitou účinkují v jednom konkrétním bodě metabolické cesty patogena, jsou také označovány jako tzv. single-site fungicidy. K jejich šíření uvnitř rostlinného pletiva dochází apoplastickou (řízeno difúzí a rychlostí transpirace) nebo symplastickou cestou (zahrnuje příjem a distribuci ze zdroje do sinku) (Neumann a Jacob, 1995).

Výhodou systémových přípravků je to, že rostliny nemusí být tak důkladně ošetřeny v porovnání s kontaktními přípravky. Účinná látka systémového přípravku je transportována uvnitř rostliny a může poskytnout ochranu vůči patogenu také v místech, která nebyla zasažena přípravkem přímo. Pomocí systémových fungicidů lze tedy dobře kontrolovat rozvoj i na abaxiální straně listů (McGrath, 2001), kde se kolonie padlí tykvovitých vyskytují s větší hustotou a sporulací, protože zde jsou podmínky pro rozvoj patogena příhodnější než na straně adaxiální. Protože je ale jejich účinek zaměřen pouze na jeden konkrétní bod metabolické dráhy patogena, zvyšuje se riziko vzniku mutace v tomto bodě a tím i vzniku rezistence. Obecně jsou tedy systémové fungicidy spojeny se vznikem

rezistence v mnohem větší míře než nesystémové (protektanty). Existují ale i výjimky. Například dikarboximidy vinclozolin a iprodion nepůsobí téměř nebo vůbec systémově, přesto se u nich problémy s rezistencí vyskytly (Brent a Hollomon, 2007a).

3.8.3. Chemické a biologické prostředky užívané proti houbovým chorobám (včetně padlí tykvovitých)

3.8.3.1. Chemické přípravky

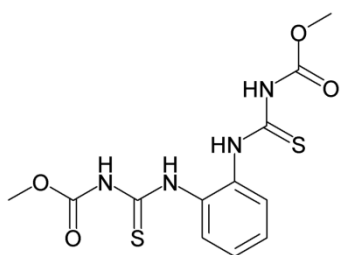
Registrované konvenční chemické prostředky lze rozdělit podle způsobu účinku a podle chemické skupiny na fungicidy se specifickým způsobem účinku (benzimidazoly, DMI fungicidy - inhibitory demethylace, morfoliny, hydroxypyrimidiny, anilinopyrimidiny, fosforothioláty, QoI fungicidy a quinoliny) a na kontaktní fungicidy s multi-site způsobem účinku (chemické prostředky proti padlí viz. Příloha Tab. 30.) (McGrath, 2001).

3.8.3.2. Způsob účinku vybraných skupin konvenčních fungicidů

V následujícím přehledu jsou uvedeny jen skupiny, které reprezentují přípravky vybrané pro testování v této diplomové práci.

3.8.3.2.1. Benzimidazolová skupina

Do této skupiny širokospektrálních fungicidů patří dusíkaté heterocyklické látky odvozené od thiabendazolu nebo benzimidazolu. Hlavním způsobem účinku je inhibice polymerizace mikrotubulů navázáním se na β -tubulin, popřípadě jiné formy tubulinu (Steffens, 1996; Ballantyne, 2004; FRAC, 2009). V současnosti komerčně dostupné přípravky zahrnují tyto aktivní složky: benomyl, karbendazim, thiabendazol, thiophanát, thiophanát-methyl a fuberidazol (Genet, FRAC, 2009). K mnoha účinným složkám z této skupiny byla však prokázána rezistence u mnoha houbových patogenů. Thiophanát-methyl je účinnou látkou v testovaném přípravku TOPSIN M.

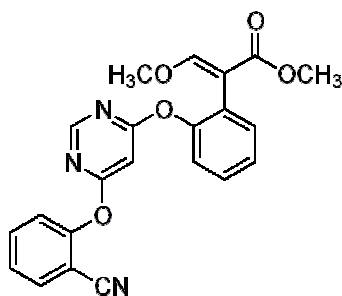


thiophanate-methyl

[1,2-bis-(3-methoxy-karbonylthioureido)-benzen]

3.8.3.2.2. Skupina QoI

QoI fungicidy se systémovou a translaminární aktivitou inhibují mitochondriální respiraci blokováním elektronového transportu komplexem III, kde se váží na tzv. cílové místo, k b-typu cytochromu, blízko Qo centra. Zamezují tak toku protonů, který je generován tímto komplexem a cytochrom c oxidázou, což má za následek sníženou produkci ATP (Gisi et al., 2002; Horne a Hollomon, 2000; Ma a Michailides, 2005). QoI fungicidy také inhibují klíčení spor. Ke QoI fungicidům patří: azoxystrobin, dimoxystrobin, enestroburin, famoxadon, fenamidon, fluoxastrobin, kresoxim-methyl, metominostrobin, orysastrobin, picoxystrobin, pyraclostrobin, pyribencarb, trifloxystrobin (FRAC, 2009). Azoxystrobin je účinnou látkou v testovaném prostředku ORTIVA. Azoxystrobin patří do chemické skupiny β -methoxyakrylátů - strobilurinové deriváty. Strobiluriny jsou látky izolované z dřevokazných hub *Oudemansiella mucida* (slizečka porcelánová) a *Strobilurus tenacelus* (penízovka nahořklá), u nichž byla zjištěna produkce látek, které jim sloužily k omezení konkurenčních hub v okolí. Na bázi těchto látek pak byly vyvinuty účinné látky proti mnoha druhům houbových patogenů (Knight et al., 1997).



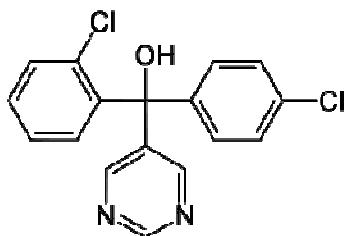
azoxystrobin

(methyl(E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yloxy]phenyl}-3-methoxyacrylate)

3.8.3.2.3. Inhibitory biosyntézy sterolů (SBIs)

Tato skupina zahrnuje celkem čtyři třídy fungicidů, z nichž tři třídy se využívají v zemědělství: DMI fungicidy, aminy (dříve nazývané morpholiny) and hydroxylanilidy. Účinné látky této skupiny znemožňují tvorbu ergosterolu u houbových mikroorganismů inhibicí demethylace sterolů. Inhibice syntézy ergosterolu vede k funkčním a strukturálním poruchám cytoplasmatické membrány. Jednotlivé třídy se liší v konkrétních bodech cílového místa účinku. **DMI fungicidy** působí na sterol C 14-demethylázu (piperaziny, pyridiny, pyrimidiny, imidazoly, triazoly); **aminy** zahrnují morpholiny, látky s účinkem inhibice Δ^{14} sterol reductázy padlí a piperidiny a spiroketalaminy s jinými účinky v dalších krocích biosyntézy sterolů (Hollomon a Wheeler, 2002; FRAC, 2009). Třetí třídou jsou

hydroxyanilidy působící na 3-keto-reduktázu. Do této skupiny náleží účinná látka fenarimol (substituovaný pyrimidin), která je obsažena v testovaném přípravku registrovaném v ČR pod jménem RUBIGAN 12 EC.



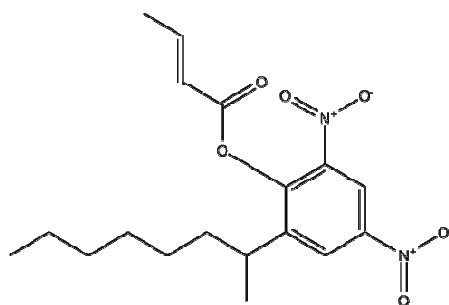
fenarimol

(2-chlorofenyl-4'-chlorofenyl-5-pyrimidinyl-methanol)

3.8.3.2.4. Halogenované monocyklické aromatické uhlovodíky

Účinné látky této skupiny vznikají halogenací různých substituovaných aromatických řetězců a zahrnují deriváty fenolů (Ballantyne, 2004). Chlorothalonil, širokospektrální kontaktní fungicid spadající do této skupiny, ochuzuje buňky patogena o thiolové skupiny, narušuje tak glykolýzu a produkci energie.

Dinocap (účinná látka přípravku KARATHANE LC), odvozený od dinitrofenolu, náleží mezi kontaktní fungicidy s protektivním i kurativním způsobem účinku užívaný ke kontrole padlí na zelenině a ovoci.



dinocap

(2,6-dinitro-4-oktylfenylkrotonát a 2,4-dinitro-6-oktylfenylkrotonát)

3.8.3.3. Fungicidy na přírodní bázi

Alternativu k chemickým přípravkům představují biokompatibilní prostředky s nízkou toxicitou pro životní prostředí a pro zvířata. Nejčastěji jsou využívány výrobky, jejichž účinná látka pochází z výtahů rostlin, různé rostlinné oleje, mléko/syrovátka, dále např. uhličitan sodný nebo křemičitan draselný nebo na bázi mykoparazitických organismů.

V letech 1994–1996 byl v USA proveden výzkum s užitím prostředků AQ10 (hyperparazitická houba *Ampelomyces quisqualis*), JMS Stylet-Oil (minerální středně viskózní olej), M-Pede (draselné soli mastných kyselin) a Kaligreen (82% uhličitan draselný) na padlí tykvovitých způsobené *P. xanthii* (syn. *S. fuliginea*). Rostliny ošetřené těmito prostředky vykazovaly menší míru napadení v porovnání s kontrolními rostlinami, neposkytly však potřebný stupeň celosezónní ochrany, který lze zajistit konvenčními chemickými prostředky. Celkově bylo lepších výsledků dosaženo kombinací biokompatibilních prostředků se systémovými fungicidy (kombinace s fungicidem obsahujícím myclobutanil) nebo kombinací systémových fungicidů (myclobutanil a chlorothalonil). Účinnost kombinací těchto prostředků se lišila také v průběhu sezón, v závislosti na vnějších podmínkách a stupni napadení. U AQ10 se však neosvědčila ani metoda preventivní ochrany (McGrath a Shishkoff, 1999).

Dalším příkladem biologické kontroly padlí tykvovitých je použití sněti *Tilletiopsis minor* Nyland. Účinná kontrola padlí tímto druhem byla zaznamenána jen při vysoké relativní vlhkosti (90% a více). Při snížení relativní vlhkosti pod 80% se nedosáhlo potřebné úrovně ochrany. Podobných výsledků bylo dosaženo i s druhem *Tilletiopsis albescens*. Samotná *T. minor* také nevykazovala potřebnou účinnost, která se zvýšila přidáním parafínového oleje nebo aplikací jen oleje samotného (Hijwegen, 1992).

Bettio et. al. (1999) se ve svých studiích z let 1996–1998 zabývá užitím kravského mléka jako alternativního prostředku proti padlí tykvovitých, který lze uplatnit zvláště v ekologickém zemědělství. Výzkumy byly prováděny na porostech *Cucurbita pepo* pěstovaných ve skleníku. Účinnou látkou kravského mléka je zbytek po fermentaci melasy a produkt mléčného kvašení uvolněný druhem *Lactobacillus*. Salle (1954) uvádí jako přímý efekt proti *S. fuliginea* (syn. *P. xanthii*) germicidní vlastnosti mléka. Někteří autoři také uvádějí uhličitan sodný, oxalát, di- nebo trifosforečnan draselný a jiné soli a aminokyseliny obsažené v mléce jako látky schopné indukovat systémovou rezistenci. Výsledky experimentů provedených Bettiolem et al. (1999) vykazovaly negativní korelaci mezi velikostí infikované plochy listu a koncentrací mléka. Vysoké koncentrace mléka byly účinnější než testované fungicidy (benomyl, fenarimol).

Další relativně nová studie k této problematice uvádí možnost použití směsi **riboflavinu** a **methioninu** (RM). Směs riboflavinu a methioninu disponuje fotodynamickou biocidní schopností. V

rostlinné buňce může generovat aktivní formy kyslíku (superoxid O_2^- , hydroxylový radikál $OH\cdot$, peroxid vodíku) a takto působit biocidně proti mnoha druhům mikroorganismů. Tyto aktivní formy kyslíku hrají důležitou roli v indukci obranných reakcí v interakcích hostitelské rostliny s patogenem. AOS (aktivní formy kyslíku) mohou působit přímo antimikrobiálně nebo jako signální molekula v regulaci aktivity genů zodpovědných za syntézu PR proteinů, fenolických látek, fytoalexinů. Dále se podílejí na zesílení buněčných stěn a hypersenzitivní reakci. Listová aplikace RM byla účinná v omezení rozvoje infekce na tykvovitých rostlinách. Účinek je připisován částečně tvorbě AOS a částečně aktivaci antioxidantních enzymů. Výhody listové aplikace RM směsi jsou především tyto: nízké náklady, jednoduchá příprava, netoxické pro živočichy a životní prostředí (Kang, 2008; Tzeng, 1996).

Mezi alternativními metodami ošetření tykvovitých plodin proti houbovým patogenům/chorobám se objevila řada přípravků s účinnou látkou založenou na rostlinné bázi. Výtažky z listů **křídlatky japonské** (*Reynoutria sachalinensis* L.) - výrobek uveden pod tržním názvem Milsana® - se osvědčily proti padlí tykvovitých. Působí indukci obranných reakcí rostliny a to jak na lokální, tak na systémové úrovni. Opět je zde vyvolána obranná odpověď v podobě produkce peroxidáz, β -1,3-glukanáz a fytoalexinů rostlinnými buňkami (Daayf et al., 1995; Dik a van der Straay, 1995; Fofana et al., 2002). Fytoalexiny ze skupiny flavonoidů byly zjištěny také u tykvovitých rostlin napadených padlím jako odpověď na aplikaci křemíku (Fawe et al, 1998). Dalším příkladem alternativní metody boje proti padlí je užití extraktů z kořenů rostlin rodu **Rheum** (zahrnující např. *Rheum officinale* Baill., *Rheum palmatum* L., *Rheum tanguticum* Maxim Regel, *Rheum emodi* Wall., *Rheum laciniatum* Prain), rodu **Rumex** (*Rumex crispus* L.), **Polygonum** spp., rodu **Cassia** nebo **Rhamnus**. Hlavními aktivními látkami extrahovanými z těchto rostlin jsou physcion a chrysophanol (antrachinonové deriváty), k nimž byla v mnoha studiích potvrzena vysoká citlivost, tedy vysoká účinnost proti padlí a nízké riziko vzniku rezistence. Physcion a chrysophanol působí efektivně kromě padlí také na jiné choroby rostlin jako je např. plíseň šedá na rajčatech, rez pšeničná nebo plíseň okurková (Yang et al. 2007, 2008, 2009).

Efektivita biokompatibilních prostředků závisí do značné míry na způsobu jejich použití, načasování, stupni rozvoje choroby apod. Osvědčily se jako prostředky protektivní, avšak v případě silnějšího napadení se jejich účinnost snižuje. Je tedy třeba určit nejefektivnější způsob užití biokompatibilních prostředků správným aplikačním programem. Obecně se doporučuje jejich střídání s konvenčními fungicidy. Účinné ochrany lze dosáhnout např. kombinací biokompatibilních prostředků s konvenčními systémovými fungicidy v počáteční fázi rozvoje choroby a v pozdější fázi, při silném napadení, užít kontaktní fungicid (Bélanger a Labbé, 2002).

3.8.4. Přípravky registrované vůči padlí tykvoovitých v ČR

V České republice nebyly dlouhou dobu k dispozici žádné experimentální údaje o rezistenci padlí tykvoovitých vůči fungicidům. V minulých letech započal a dosud v ČR probíhá výzkum zaměřený na problematiku rezistence padlí tykvoovitých k fungicidům s cílem zjistit, zda k vybraným skupinám fungicidů, které představují hlavní přípravky nejčastěji používané v ČR k ochraně vůči padlí tykvoovitých, existuje v české populaci padlí rezistence resp. tolerance (Lebeda a Sedláková, 2004, 2005; Lebeda et al., 2009b, 2010; Sedláková a Lebeda, 2008; Sedláková et al., 2009).

Tab. 1. Seznam přípravků povolených v České republice pro rok 2008-2009 proti padlí tykvoovitých (zdroj: Seznam registrovaných přípravků a dalších prostředků na ochranu rostlin 2008, 2009, SRS).

Přípravek	Účinná látka	Dávkování na ha
BIOAN	albumin mléčný, kasein, lecitin	0,5 - 5,0%
BIOBLATT	sojový lecitin	0,9 - 1,8 l
BIOOL	řepkový olej	5,0%
BIOTON	řepkový olej, lecitin	0,5 - 3%
KARATHANE LC	dinocap	0,3 l
KUMULUS WG	síra	2,0 kg
ORTIVA	azoxystrobin	1 l
SULIKOL K	síra	3,0 - 5 kg
TOPSIN M 70 WP	thiophanate-methyl	0,075%
RUBIGAN 12 EC	fenarimol	0,2 l

3.9. Vývoj fungicidních přípravků a jejich uvádění do praxe

Vývoj nových přípravků a jejich zavádění do praxe by měl podléhat přísným kritériím. Zátěž pro životní prostředí, kterou fungicidy, jako jedna z variant chemické ochrany rostlin, představují, je stále nezanedbatelná. Všeobecně se v posledních letech uplatňuje snižování podílu nebezpečných a jedovatých látek. U pesticidů nové generace výrazně pokleslo dávkování na hektar. Novější druhy fungicidů jsou užívány, většinou díky lepší účinnosti, v relativně malých množstvích. Nicméně to často nezaručuje jejich menší vliv na necílové organismy a životní prostředí obecně (Brent a Hollomon, 2007b). Snahou by tedy mělo být snížit vliv prostředků na ochranu rostlin na životní prostředí na minimum. Jedním ze základních kamenů účinného postupu v používání výrobků na ochranu rostlin je i stanovení rizika rezistence a zaznamenání případů jejího vzniku v pěstitelské praxi. Předložení efektivních strategií ve výzkumu a vývoji nových látek, je tedy nezbytné pro prevenci rezistence (Russel, 2004).

Potenciální nový fungicid je testován v laboratoři a skleníku na různých typech houbových patogenů (na „čistých“ neselektovaných a rozsáhlých populacích), následně podléhá také polním pokusům, kdy je testován na celé řadě patogenů napadajících pěstované rostliny v různých regionech a zemích, po dobu několika sezón. Pokud se ve všech studiích prokáže stejná efektivita proti významným patogenům, jsou zahrnuty do dalšího výzkumu (následný monitoring účinnosti může být využit jako indikátor možného vývoje rezistence) a případného uvedení na trh (Brent a Hollomon, 2007a, b).

Registrace nového fungicidu je zdlouhavý proces. Před registrací nového přípravku je určována základní úroveň citlivosti patogena k novému fungicidu, která odhaluje množství odlišností v populaci patogena a poskytuje měřítko pro vyhodnocení následujících zpráv o snížené účinnosti fungicidu (Russel, 2004). Před registrací přípravku ke komerčnímu použití jsou také prováděny experimenty určující potřebnou dávku přípravku. Dávka nového přípravku určená pro registraci je nejnižší dávka poskytující kontrolu při provedených testech na účinnost přípravku. Avšak nejvyšší účinné množství přípravku nemusí být tou nejlepší variantou pro oddálení rozvoje rezistence (kvantitativní, viz níže v textu) u patogena, protože může umožnit druhům se střední rezistencí přežít.

3.10. Rezistence vůči fungicidům

Pokud je intenzivně a opakovaně používán jeden fungicid, nebo fungicidy ze stejné chemické skupiny, je pravděpodobné, že se dříve či později u patogena objeví k těmto látkám rezistence. Podle Kucka (2004) se fungicidy jeví více náchylné ke vzniku rezistence než herbicidy nebo insekticidy a mnoho houbových patogenů napadajících rostliny je známých pro zvláště vysoký potenciál vzniku rezistence. Rezistence vůči fungicidům může být definována jako dědičné a trvalé přizpůsobení patogena fungicidu, s výslednou sníženou citlivostí patogena k fungicidu. Rozvoj rezistence je výsledkem genetické mutace jednoho nebo několika genů současně, která dává patogenu schopnost překonat účinek fungicidu. Za variabilitu citlivosti patogena k fungicidu resp. jeho účinné látky odpovídají vedle major genů také minor geny, které interagují s major geny zodpovědnými za rezistenci (McGrath, 2001).

Populace patogenů mohou k fungicidu kromě citlivosti vykazovat také přirozenou/dědičnou rezistenci, která se považuje za již existující typ rezistence představující jakousi přirozenou bariéru použití fungicidu (Brent a Hollomon, 2007b).

Abychom porozuměli dynamice vzniku rezistentních subpopulací, je důležité sledovat jak citlivost ošetřených a neošetřených populací k přípravku, tak epidemiologické parametry jako je fitness, virulence, distribuce mating-types (párovací typy) a frekvence sexuální rekombinace (Gisi et

al., 2000). Na citlivou část patogenní populace fungicidy působí efektivně, malá část populace patogena nesoucí mutaci zapříčiňující rezistenci ale může přežít, rozmnožit se a stát se pod selekčním tlakem v populaci dominantní. Ekologické fitness rezistentních houbových patogenů pak bude určující pro setrvání selektovaných rezistentních genotypů v populaci. Protože ale rezistentní izoláty mají mnohdy menší fitness než ty vnímavé, nemohou prospívat za nepřítomnosti selekčního tlaku fungicidu. V takovémto případě by se frekvence rezistentních izolátů v patogenních populacích mohla snížit s ukončením aplikace přípravku. Mohou také nastat případy, kdy jsou rezistentní izoláty srovnatelně životaschopné jako ty senzitivní a mohou přetrvat dlouhou dobu i za nepřítomnosti tlaku fungicidu. Jako příklad by se v tomto případě dala uvést rezistence některých fytopatogenních hub (např. oblasti s vysokou frekvencí rezistentních izolátů u polních populací *E. graminis*) k benzimidazolovým nebo strobilurinovým fungicidům (Brent a Hollomon, 2007a; Gisi et al., 2000; Ma a Michailides, 2005; McGrath, 2001). Pokud chceme předpovědět vývoj rezistence u patogenu, je nezbytné uvažovat zpětnou vazbu závislou na hustotě jeho populace (Van den Bosch a Gilligan, 2008). Rychlost s jakou se rezistence vyvíjí, je také spojena s epidemiologickými faktory charakteristickými pro daný patogen/chorobu. Krátký generační čas, schopnost infikovat hostitele ve všech stádiích jeho životního cyklu (což vyžaduje opakovanou aplikaci fungicidu), výskyt pohlavního stádia v životním cyklu, velká míra sporulace a dobrá schopnost spor rozšiřovat se mezi rostlinami/porosty/regiony, vede ke zvýšení rizika vzniku rezistence (Brent a Hollomon, 2007a).

3.10.1. Typy rezistence

3.10.1.1. Kvalitativní rezistence

Rezistence k některým fungicidům může být výsledkem modifikace jediného hlavního genu. Rezistence v tomto případě vede k úplné ztrátě kontroly nad chorobou, které se nedá zamezit ani použitím vyšších dávek, nebo častější aplikací fungicidu. Tento typ rezistence je běžně nazýván jako kvalitativní rezistence. Příkladem je rezistence k benzimidazolovým fungicidům (např. benomyl, thiophanate-methyl), která vyplývá z konformační změny cílového místa u různých patogenů nebo k látkám ze skupiny QoI (azoxystrobin nebo trifloxystrobin u padlí tykvovitých) (McGrath, 2001, 2005; Wyenandt et al., 2008).

3.10.1.2. Kvantitativní rezistence

Pokud rezistence vychází z modifikace několika interagujících genů, patogeny v závislosti na počtu genových změn (mutací) projevují různou citlivost k fungicidu. Variabilita v citlivosti uvnitř populace je kontinuální nebo unimodální a selekce se objevuje v určitém směru. Rezistence v tomto případě narušuje možnost chemické kontroly choroby, ale použitím vyšších dávek nebo častější aplikací fungicidu může být choroba omezena. Až další selekce v genetické výbavě patogenu může následně způsobit úplnou ztrátu kontroly choroby. Jde o tzv. kvantitativní rezistenci. Kvantitativní rezistence vzniká vůči tzv. multi-site fungicidům zasahujícím do více míst metabolismu patogenu, pokud se u patogenu objeví současně několik mutací. Tento typ rezistence je uváděn také v souvislosti s rezistencí k inhibitorům demethylace (DMI)(McGrath, 2001).

3.10.1.3. Křížová rezistence

Způsoby účinku různých fungicidů v rámci každé z uvedených skupin jsou velmi podobné nebo stejné. Patogenní populace, která je rezistentní k jednomu fungicidu v rámci určité skupiny, bude pravděpodobně rezistentní i k jiným přípravkům téže skupiny. Tento problém značně limituje kontrolu rezistence. Jakmile se jednou vyvine rezistence vůči jednomu fungicidu, ostatní přípravky téže skupiny se pravděpodobně stanou méně účinné nebo úplně neúčinné (Brown, 2002; McGrath, 2001). Křížová rezistence může být také ale jen částečná a nové látky z téže skupiny mohou být účinnější než ty starší, ke kterým byla rezistence zaznamenána. Stupeň křížové rezistence se také liší mezi jednotlivými izoláty (Brent a Hollomon, 2007a). Cross-rezistence byla zaznamenána u DMI (např. myclobutanil a triadimefon) i QoI fungicidů (kresoxim-methyl, azoxystrobin) (McGrath, 2001). Může se objevit také tzv. negativní křížová rezistence. Známým příkladem jsou dvě třídy fungicidů – benzimidazoly a phenylkarbamáty, které mají stejný způsob účinku (cílovým místem je β -tubulin), ale významně se liší v efektivitě. Změna aminokyseliny na kodonu 198 v cílovém β -tubulinu způsobuje rezistenci k benzimidazolu, ale zároveň způsobuje citlivost patogenu k phenylkarbamátům. Vystavení patogenu dvěma fungicidům vykazujícím tuto negativní křížovou rezistenci by mělo snížit riziko vzniku rezistence k jejich komponentům, protože posun k rezistenci u jednoho přípravku automaticky způsobuje citlivost ke druhému (Brent a Hollomon, 2007a, b).

3.10.1.4. Mnohonásobná rezistence

Na rozdíl od křížové rezistence, u mnohonásobné rezistence patogenní populace vykazují vznik rezistence k fungicidům více jak jedné chemické skupiny. Intenzivní používání rizikových fungicidů z různých chemických skupin může, pokud nejsou sledovány principy správné kontroly rezistence, vést ke vzniku mnohonásobné rezistence. Např. u padlí tykvovitých byla v Japonsku pouze

po dvou letech intenzivního využívání detekována rezistence ke čtyřem hlavním skupinám fungicidů, včetně QoI fungicidů, benzimidazolů a DMI fungicidů (Gallian et al., 2002).

V literatuře bývá rozlišována ještě tzv. polní rezistence, která popisuje pouhou přítomnost rezistentních variant v polních populacích (o jakékoliv četnosti či stupni napadení) a skutečnou rezistenci („practical resistance“), která popisuje úplnou ztrátu účinnosti (Brent a Hollomon, 2007a; McGrath, 2001).

3.10.2. Molekulární mechanismy rezistence

Jako základní molekulární mechanismy rezistence patogenu k fungicidům se uvádí a) modifikace cílového místa, na které má účinná látka působit, kdy dojde ke snížení schopnosti navázání fungicidu; b) syntéza jiného (zástupného) enzymu, schopného nahradit cílový enzym; c) zvýšená syntéza cílových míst, proti kterým má fungicid působit; d) snížený příjem fungicidu; e) metabolický rozklad fungicidu; f) popř. jiné doposud nepoznané mechanismy (Ma a Michailides, 2005).

3.10.2.1. Molekulární mechanismy rezistence k vybraným skupinám fungicidů

Rezistence k **benzimidazolovým** fungicidům, doposud zjištěna u mnoha skupin houbových patogenů, je ve většině případů spojena s bodovými mutacemi genu pro β -tubulin spojených se změnou sekvencí aminokyselin, přičemž mutace na různých kodonech genu pro β -tubulin nebo různé substituce na stejném kodonu mohou vyústit v různou úroveň rezistence k benzimidazolům (Ma a Michailides, 2005; Steffens et al., 1996). U některých druhů patogenů jsou takové mutace spojeny s pleiotropním efektem zpomalujícím růst mycelia při nízkých nebo vysokých teplotách. V těchto případech by byly rezistentní izoláty selekčně v nevýhodě. Ma et al. (2005) tedy nabízí myšlenku využít informaci o citlivosti rezistentních izolátů vůči teplotě k zavedení příslušné strategie aplikace fungicidu.

Inhibitory demethylace (DMI) inhibují C-14 α -demetylaci 24-methylendihydrolanosterolu, prekursoru ergosterolu u hub. Rezistence k fungicidům této skupiny je u některých hub způsobena mutací genu CYP51 pro 14 α -demetylasu (eburicol 14 α -demetylasu), nebo jeho overexpresí (www.uniprot.org/uniprot/O14442; Kunz et al., 1997; Ma a Michailides, 2005).

Za rezistenci ke **QoI** zodpovídá ve většině případů bodová mutace v genu pro mitochondriální cytochrom b vedoucí ke změně aminokyseliny z fenylalaninu na leucin, glycinu na alanin (G143A) nebo glycinu na serin (zjištěno v laboratorních podmínkách řízenou mutací u QoI rezistentního druhu *Magnaporthe grisea*). Podobně jako u rezistence k benzimidazolům i různé stupně rezistence ke QoI se odvíjí od mutací různých kodonů (Gisi et al., 2002, 2009; Ma a Michailides, 2005). V souvislosti se

značně rozšířeným využíváním QoI fungicidů se mohou objevit také další mechanismy vzniku rezistence, jak dokládá např. Miguez et al. (2004) u druhu *Mycosphaerella graminicola* aktivací alternativní oxidázy.

3.10.3. Celosvětově užívané fungicidy proti padlí tykvovitých a vznik rezistence

Pokud v oblastech s intenzivním pěstováním tykvovitých plodin dochází k silnému napadení padlím, přistupuje se v konvenčním zemědělství většinou k opakovanému použití fungicidů, čímž se výrazně zvyšuje riziko vzniku rezistence. V zahraniční literatuře je opakovaně uváděna rezistence padlí tykvovitých (zejména *Px*) k osmi skupinám fungicidů a přípravků (Tab. 2) na bázi různých účinných látek (nejčastěji rezistence k benzimidazolovým a DMI fungicidům) (McGrath, 2001; Sedláková a Lebeda, 2004).

Tab. 2. Příklady účinných látek, vůči kterým byla zaznamenána rezistence nebo klesající účinnost u původců padlí (převážně *P. xanthii*) v některých zemích (upraveno podle Lebeda a Sedláková, 2004; McGrath, 2001; SRS, 2010).

Chemická skupina	Skupina účinných látek	Účinná látka	Stát
Single-site fungicidy			
Benzimidazol		benomyl	Austrálie, Nizozemsko, Japonsko, USA
		carbendazim	Nizozemsko
DMI, Inhibitory demetylase	imidazol	imazalil	Nizozemsko, Řecko, Španělsko
		triflumizol	Japonsko, Austrálie
	piperazin	triforin	Nizozemsko, Řecko, Španělsko,
	pyrimidin	fenarimol	Austrálie, Brazílie, Česká rep., Izrael, Španělsko, Taiwan
		nuarimol	Španělsko
	triazol	myclobutanil	USA
		penkonazol	USA
		propiconazol	Řecko
		triadimefon	Řecko, Španělsko, Israel, Japonsko, USA
	Morpholin		fenpropiomorf
		tridemorf	USA
Hydroxypyrimidin	pyrimidinol	bupirimát	Španělsko, Řecko, USA
		dimethirimol	Nizozemsko, USA
		ethirimol	
Fosforothiolát	organofosfát	pyrazofos	Španělsko, Nizozemsko
QoI	strobilurin	azoxystrobin	Japonsko, Taiwan
		kresoxim-methyl	Španělsko, Francie

Pokračování Tab. 2.

Ostatní		afugan	Řecko, Taiwan
		ditalimfos	
Kontaktní multi-site fungicidy			
	quinoxalin	quinomethionát	Nizozemsko
	sulfamid	dichlofluamid	Německo
	dinitrifenyly	dinocap	Japonsko, Španělsko, Taiwan

3.10.3.1. Benzimidazolová skupina fungicidů

Benomyl ze skupiny benzimidazolových fungicidů byl prvním fungicidem se specifickým způsobem účinku použitý na padlí tykvovitých, ke kterému je ovšem zároveň také nejdéle známá a nejčastěji zmiňována rezistence. Přestože se první benomyl rezistentní kmeny objevily při experimentech v USA již v roce 1967 (Schroeder, 1969), byl tento přípravek v roce 1972 registrován. Už v následujícím roce byly zaznamenány neúspěchy s jeho použitím. V experimentech realizovaných v průběhu následujících let se účinnost benomyly měnila a to jak v čase, tak v rámci jedné lokality. Na základě tohoto kolísání bylo obtížné předpovědět účinnost benomyly podle frekvence výskytu rezistentních kmenů v předchozím roce. Ještě v první polovině devadesátých let byl benomyl doporučován jako primární prostředek ochrany proti padlí. Situace se v USA významně změnila během 1996–1998, kdy se benomyl-rezistentní kmeny začaly objevovat podstatně častěji a bránily úspěšné kontrole (McGrath, 1996). Další zmínky o rezistenci vůči benomyly pocházejí z 80. let 20. století z Austrálie a z 90. let z Nizozemska a Japonska (McGrath, 2001).

3.10.3.2. DMI fungicidy

Rezistence k DMI fungicidům se vyvíjí pomalu, je relativně proměnlivá a citlivost k přípravkům této skupiny se může znovu objevit po ukončení jejich užívání. V roce 1984 byla v USA proti padlí tykvovitých na trh uvedena z této řady látka triadimefon. Podobně jako u benomyly se nedlouho po zavedení objevil první neúspěch v její účinnosti. První rezistentní kmeny se objevily počátkem 90. let; úroveň výskytu byla tehdy ale nízká (do 3%) (McGrath, 1991). Procento rezistentních kmenů se dle výzkumů opět podstatně rok od roku měnilo a selhání účinku triadimefonu se definitivně potvrdilo v roce 1995, kdy 80% patogenní populace bylo rezistentní před první aplikací. V současnosti již v USA triadimefon není registrovaný k použití na padlí tykvovitých. Výskyt triadimefon-rezistentních kmenů je kromě USA dokladován z 90. let také ze Španělska, Řecka, Izraele a Japonska. V těchto zemích, spolu s Nizozemskem a Austrálií, byl zaznamenán výskyt kmenů rezistentních také vůči fenarimolu, další látkou ze skupiny DMI fungicidů (McGrath a Shishkoff, 2001).

V souvislosti s rezistencí jsou zmiňovány také novější typy DMI fungicidů jako např. triflumizol, který byl v Japonsku až do roku 2000 jediným DMI fungicidem účinným vůči padlí tykvovitých. Takto dlouhá účinnost byla připisována jeho relativně malému faktoru rezistence a vysokým doporučeným dávkám ve srovnání s ostatními DMI fungicidy (Nakazawa, 1995). Rezistence vůči triflumizolu je uváděna také z Austrálie.

Případy křížové rezistence mezi DMI fungicidy byly zaznamenány v USA např. mezi myclobutanilem a triadimefonem (McGrath., 1996), mezi bitertanolem (triazol), fenarimolem, imazalilem a triforinem na izolátech *P. xanthii* z Nizozemska a Izraele (Brown, 2002; Scheppers 1983 a 1985) a mezi triazolovými fungicidy, imidazolovými, pyrimidinovými a piperazinovými fungicidy ve Velké Británii (Kendall, 1986).

3.10.3.3. QoI fungicidy

Ve druhé polovině 90. let se u mnoha hospodářsky významných patogenů objevila rezistence také ke QoI fungicidům (Bartlett et al., 2002, Gisi et al., 2009). V roce 1999, teprve po dvou letech intenzivního využívání, se objevily rezistentní kmeny na okurkách a melounech pěstovaných jak na poli, tak i ve sklenících v jižním Španělsku, v jižní Francii, na Taiwanu a v Japonsku (McGrath, 2001). Rezistence k QoI fungicidům se na některých plochách vyvinula i přes to, že pěstitelé dle doporučení omezili počet aplikací QoI fungicidů a kombinovali je s fungicidy jiné chemické skupiny. Ve srovnání s Asií nebyly v USA ani v Mexiku zjištěny změny v citlivosti vůči azoxystrobinu (QoI fungicid) s možným vysvětlením nižší intenzity využívání QoI fungicidů v těchto oblastech (Heaney et al., 2001; Olaya et al., 2000).

Také u QoI přípravků byl v letech 2002-2004 ve Španělsku pozorován výskyt cross-rezistence a to mezi azoxystrobinem, kresoxim-methylem a trifloxystrobinem testovaných na *P. fusca* (Fernandez et al., 2006).

Hydroxypyrimidiny jsou skupinou dalších přípravků používaných proti padlí tykvovitých, rezistence se u této skupiny objevila vůči dimethirimolu ve Velké Británii (Bent et al., 1971) a v Austrálii (O'Brien, 1994).

3.11. Monitoring rezistence a možnosti omezení vzniku rezistence vůči fungicidům

Stanovení potenciálu vzniku rezistence u sledovaných druhů patogenů, její monitoring a doporučení jak jí předcházet je jedním ze základních podmínek pro využívání chemických ochranných prostředků v praxi. Potřebné informace mohou vycházet z výsledků laboratorních testů, pokusů v terénních podmínkách a zemědělské praxe. Laboratorní pokusy využívající různých technik (mutace UV světlem, chemická) navozují rezistenci a poskytují informace o mechanismu případné rezistence

(FRAC, 2008). Mechanismus vzniku rezistence může být analyzován na několika úrovních: molekulární (klonování a sekvencování cílového genu a identifikace lokusu rezistence), genetické (způsob segregace při křížení rezistentních a vnímavých jedinců), biochemické (působení fungicidu na cílové místo), fyziologické (transport a degradace fungicidu) a populační (četnost a agresivita rezistentních jedinců) (Gisi et al., 2000). Metody detekce rezistentních jedinců jsou založeny na biologických testech citlivosti a molekulárních markerech. Běžně se využívá in vitro a in vivo testování (přenos patogena – mycelium, spory – na fungicidem obohacený agar, nebo na fungicidem ošetřené rostliny). Rozvoj molekulárních metod dovoluje detekci vzácně se vyskytujících mutací způsobujících rezistenci při nejmenších možných frekvencích 10 : 10 000. K detekci bodové mutace může být využita PCR za použití buď „alelově“ specifických primerů nebo příslušných sond ke zkoumání namnožených DNA fragmentů (Brent a Hollomon, 2007b). Pro monitoring rezistence využíváme rovněž i biologické a epidemiologické charakteristiky patogenu jako např. šíření a přežívání patogena mezi vegetačním obdobím. Např. tykvovitě plodiny, které ve většině oblastí nejsou pěstovány celoročně, nemohou být v určitém období hostiteli padlí. Možný zdroj inokula pro další infekci pak představují větrem nesené konidie ze vzdálenějších oblastí produkce, konidie šířené ze zdrojů nákazy lokálně a askokarpy. Patogen může mezivegetační období tykvovitých přečkat na plevelch jako náhradních hostitelích (Jarvis, 2002). Stádium pohlavního rozmnožování, které je považováno za další důležitou charakteristiku houbových patogenů s vysokým potenciálem pro vznik rezistence se v životním cyklu padlí tykvovitých neukázalo jako významné, protože kleistotheция se vyvíjí až na konci vegetační doby. Rostlinné zbytky jsou pak po sklizni zaorány do půdy a další rok jsou tykvovitě rostliny pěstovány na jiném místě. Větší význam jako zdroj počátečního inokula v životním cyklu mají kleistotheция, které vznikají na víceletých hostitelských rostlinách. Např. u druhu *Uncinula necator* přežívajícího zimu pomocí askospor kleistotheциí na vinné révě byla zaznamenána přetrvávající rezistence k DMI fungicidům (Gubler et al., 1996; McGrath a Shishkoff, 2001; Pearson a Gadoury, 1987).

Vznik rezistence vůči fungicidům je mnohdy zaviněn samotnými pěstiteli díky jejich nevhodnému používání výlučně rizikových fungicidů. Cena a účinnost fungicidního přípravku jsou pro pěstitele stále více rozhodující než riziko vzniku rezistence patogenů, protože užití managementu rezistence může být dražší a méně účinné, než užití samotného jediného fungicidu po celou sezónu. Přitom méně nákladné fungicidy jsou pravděpodobně mnohdy užívány intenzivněji, zatímco drahé přípravky jsou užívány v redukováných dávkách nebo v delším časovém rozmezí. Praktický dopad chemických, biochemických, genetických a epidemiologických rizikových faktorů na vývoj rezistence záleží na podmínkách používání fungicidu. Pokud se patogen vyskytuje řídce, např. kvůli nepříznivým klimatickým podmínkám, aplikujeme fungicid také zřídka nebo rotačně či ve směsi s jinými typy fungicidů a používáme také nechemické způsoby ochrany. Pokud můžou první plodiny sloužit jako

zdroj inokula pro následující plodiny, měl by být na následující plodiny použit jako první fungicid z jiné chemické skupiny, než jaký byl fungicid naposledy používán na předchozích plodinách.

Systematické hodnocení všech potenciálních rizikových faktorů a podmínek, za kterých je fungicid užíván jako např. míchání a střídání fungicidů, načasování jejich použití a jak často jsou využívány, umožňuje stanovit stupeň rizika vzniku rezistence a příslušné strategie při používání ochranných přípravků (Brent a Hollomon, 2007b).

4. MATERIÁL A METODY

4.1. Rostlinný materiál

Pro testování byly použity listy okurky seté (*Cucumis sativus*), náchylné odrůdy Stela F1. Semena byla vyseta do plastických kelímků o průměru 7 cm s perlitem. Sazenice s plně vyvinutými děložními listy byly přemístěny do plastových květináčů se zahradní zeminou a zahradnickým substrátem v poměru 2:1. Rostliny *C. sativus*, které sloužily jako materiál pro listové disky, byly pěstovány ve skleníku při teplotě 25°C/15°C (den/noc), s denní zálivkou a hnojením jedenkrát týdně (Kristalon Start – NU3 B. V., Vlaardingem, Nizozemsko). Listy pro přípravu listových disků byly odebírány ze šest až osm týdnů starých rostlin (stádium 3-6 pravého listu) (Lebeda, 1986).

4.2. Původ, charakteristika a uchovávání izolátů padlí tykvovitých použitých k testování

Jako hostitelské rostliny pro udržení kultury jednotlivých izolátů padlí sloužily semenáčky *Cucumis sativus* (cv. Stela F1 - náchylné odrůdy), které byly před inokulací přechovávány v kelímcích s perlitem ve skleníku při teplotě 25°C/15°C (den/noc) a denně zalévány.

Kultury padlí tykvovitých byly udržovány na semenáčcích okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Stela F1 v plastových krabičkách ve fytotronu při teplotě 24°C ve dne a 18°C v noci a 12 hodinové fotoperiodě. Krabičky byly přikryty plastovými víky, aby se zabránilo šíření konidií (viz Příloha obr. 4 a 5 a, b). Vždy zhruba po čtrnácti dnech byly kultury přeočkovány na nové rostliny, konidie byly přeneseny pouhým přiložením listu s udržovanou kulturou izolátu na děložní lístky náchylné odrůdy *C. sativus* cv. Stela.

Na rezistenci/toleranci vůči fungicidům bylo testováno celkem 50 izolátů *Gc* a *Px* z let 2007 a 2008 (13 *Gc* a 12 *Px* 2007; 15 *Gc* a 10 *Px* 2008), které byly získány ze sedmi krajů (17 bývalých okresů) ČR (Tab. 3-6). Izoláty pocházely z nejčastěji pěstovaných druhů tykvovitých zelenin v ČR, tj. tykev obecná (*Cucurbita pepo*) - cuketa, patison a tykev velkoplodá (*Cucurbita maxima*), okurka setá (*Cucumis sativus*) a tykev pižmová (*Cucurbita moschata*), které byly pěstovány jak na poli, tak i v zahradách, a dva izoláty pocházely z porostů ze skleníku. 30 izolátů pocházelo z *Cucurbita pepo*, 16 izolátů z *Cucurbita maxima*, 3 izoláty z *Cucumis sativus* a jeden z *Cucurbita moschata*.

Tab. 3. Izoláty *Podosphaera xanthii* pocházející z různých lokalit ČR v roce 2007.

Px	Číslo izolátu	Kraj	Okres	Lokalita	Místo	Hostitelská rostlina*	Stupeň napadení**
	131/07	MS	NJ	Mořkov	zahrada	CP	2
	132/07	MS	NJ	Mořkov	pole	CM	1
	7/07/1	MS	NJ	Kojetín	zahrada	CP ZU	2
	1/07	OL	OL	Ol-Holice	pole	CP ZU	1
	124/07	OL	OL	Ol-Holice	pole	CM	2
	52/07	OL	OL	Dub nad Moravou-Tučapy	zahrada	CP ZU	4
	23/07	OL	PV	Rozstání	zahrada	CM	2
	66/07	ZL	ZL	Napajedla	zahrada	CP PA	3
	24/07	JM	BK	Lipovec	zahrada	CS	1
	111/07	Králov.	JC	Holovousy	zahrada	CS	3
	102/07/1	Pardub.	UO	Choceň	zahradní	CM	1
	123/07	Středoč	NY	Lysá n L.	zahrada	CP PA	2

Tab. 4. Izoláty *Golovinomyces cichoracearum* pocházející z různých lokalit ČR v roce 2007.

Gc	Číslo izolátu	Kraj	Okres	Lokalita	Místo	Hostitelská rostlina*	Stupeň napadení**
	127/07	MS	NJ	Mořkov	pole	CM	1
	11/07	OL	PV	Smržice	zahrada	CM	2
	22/07	OL	PV	Otinoves	zahrada	CM	1
	57/07	OL	PR	Polkovice	zahrada	CM	2
	26/07	JM	BK	Lipovec	zahrada	CP ZU	2
	33/07	JM	BO	Brno-	pole	CM	3
	37/07	JM	BO	Ořechov	zahrada	CP ZU	3
	40/07	JM	ZN	Moravský	zahrada	CM	1
	47/07	JM	ZN	Prosiměřice	pole	CP ZU	3
	75/07	JM	HO	Vnorovy	pole	CM	3
	87/07	JM	BV	Velké	pole	CP	4
	109/07	Králov.	NA	Jaroměř	zahradnictví	CP	3
	107/07	Králov.	RK	Opočno	zahrada	CP ZU	3

*CP *Cucurbita pepo* ZU (cuketa), PA (patison), CM *Cucurbita maxima*, CS *Cucumis sativus*, C. mosch.-
Cucurbita moschata

**Stupeň napadení: Stupnice viz níže v textu (Lebeda, 1984)

Tab. 5. Izoláty *Podosphaera xanthii* pocházející z různých lokalit ČR v roce 2008.

Px	Číslo izolátu	Kraj	Okres	Lokalita	Místo	Hostitelská rostlina*	Stupeň napadení**
	83/08	MS	NJ	Trojanovice	zahrada	CM	1
	92/08	MS	NJ	NJ-Kojetín	zahrada	<i>C. mosch.</i>	spodní str. SN 1
	13/08/11	OL	PV	Plumlov	zahradní kolonie	CM	1
	20/08	JM	BK	Jedovnice	zahrada	CP ZU	1
	25/08	JM	BO	Želešice	pole	CP ZU	3
	36/08	JM	ZN	Moravský	zahrada	CP ZU	4
	40/08	JM	ZN	Vítonice	pole	CP ZU	3
	44/08	JM	ZN	Práče	pole	CM	3
	54/08	Králov	RK	Voděřady	zahrada,	CS	2
	69/08	Středoč.	MB	Prodašice	zahrada	CP	4

Tab. 6. Izoláty *Golovinomyces cichoracearum* pocházející z různých lokalit ČR v roce 2008.

Gc	Číslo izolátu	Kraj	Okres	Lokalita	Místo	Hostitelská rostlina*	Stupeň napadení**
	1/08/2	JM	BV	Lednice	pole	CP	1
	17/08	JM	BK	Lipovec	zahradní kolonie	CP ZU	3
	26/08	JM	BO	Hajany		CP ZU	3
	48/08	Pardub	SY	Bohuňovice	zahrada	CP ZU	1
	49/08	Pardub	UO	České	zahrada	CP ZU	1
	51/08	Pardub	UO	Choceň	zahradní	CP	3
	53/08	Pardub	UO	Bošín	zahrada	CM	1
	58/08	Králov	RK	Dobruška	zahrada	CP ZU	1
	60/08	Králov	NA	Jaroměř	zahradnictví	CM	1
	61/08	Králov	JC	Hořice	zahrada	CP ZU	3
	62/08	Králov	JC	Holovousy	zahrada	CP ZU	2
	66/08	Králov	JC	Sobotka	zahrada	CP ZU	2
	70/08	Středoč	NY	Seletice	zahrada	CP ZU	1
	71/08	Středoč	NY	Mcely	zahrada	CP ZU	2
	73/08	Středoč	NY	Krchleby	zahrada	CP ZU	4

*CP *Cucurbita pepo* ZU (cuketa), PA (patison), CM *Cucurbita maxima*, CS *Cucumis sativus*, *C. mosch.-Cucurbita moschata*

**Stupeň napadení: Stupnice viz níže v textu (Lebeda, 1984)

4.3. Modifikovaná metoda listových disků a použité fungicidy

Pro zjištění rezistence obou druhů padlí na tykvovitých vůči fungicidům byla použita modifikovaná metoda listových disků (Lebeda a Sedláková, 2004; Sedláková a Lebeda, 2008). Pro přípravu listových disků byly použity zejména starší listy náchylné *C. sativus* cv. Stela F1 (viz Příloha obr. 3). Pro výzkum byly v tomto experimentu vybrány čtyři přípravky používané v ČR k ošetření proti padlí tykvovitých: **Rubigan 12 EC** (účinná látka/ú. l. fenarimol 120 g/l), **Karathane LC** (ú. l. dinocap 350 g/l), **Topsin M 70 WP** (ú. l. thiophanate methyl 700 g/kg) a **Ortiva** (ú. l. azoxystrobin 250 g/l). U každého fungicidu bylo testováno pět koncentrací (Tab. 7), jedna doporučená výrobcem (optimální – 0,03 = 30 μ l/100ml), dvě pod optimem a dvě nad optimem. Destilovaná voda sloužila jako kontrola.

Tab. 7. Testované koncentrace fungicidů.

Fungicid	Koncentrace přípravku pro testování (%)				
	I.	II.	III.*	IV.	V.
Fenarimol	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12
Dinocap	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12
Thiophanate-methyl	0,018	0,037	0,075	0,15	0,3
Azoxystrobin	0,05	0,1	0,2	0,4	0,8

* = koncentrace doporučená výrobcem

Listové disky (přibližně 15 mm v průměru) byly vyříznuty korkovrtem z pravých listů dospělé rostliny *Cucumis sativus*. Pro každou koncentraci jednotlivých fungicidů bylo použito pět disků ve třech opakováních. Listové disky byly na půl hodiny ponořeny do roztoku testovaného fungicidu o příslušné koncentraci v plastových kelímcích (190 × 140 × 65 mm). Jako kontrola sloužily disky neošetřené fungicidem (namočené v destilované vodě). Poté byl roztok fungicidu slit a listové disky byly narovnaný adaxiální stranou do plastových krabiček na navlhčený filtrační papír podložený tenkou vrstvou buničiny. Krabičky byly ponechány asi hodinu otevřené ve sterilní místnosti, aby listové disky oschly a poté byly přikryty víčkem. Po 24 hodinách byly disky inokulovány příslušnými izoláty *Gc* a *Px* přiložením děložního lístku (*C. sativus* Stela F1) pokrytého sporulujícím myceliem. Inkubace probíhala ve stejných podmínkách jako přechovávání izolátů (viz Příloha obr. 4-7).

4.3.1. Testované fungicidy

RUBIGAN 12 EC (výrobce Dow Elanco Ltd., Velká Británie)

Rubigan je postřikový lokálně systemický přípravek s eradikativní účinností (způsob účinku DMI fungicidů viz výše). Účinná látka fenarimol působí na klíčící vlákno klíčící spory, jakmile pronikne skrze pokožku a mycelium houbového patogena. Rubigan lze aplikovat jako protektant i jako kurativní prostředek. Užívá se proti strupovitosti a padlí na okurkách a dále na jádrovínách, padlí na vinné révě, broskvonicích, tabáku a okrasných rostlinách a dalším chorobám rostlin.

KARATHANE LC (výrobce Dow AgroSciences Ltd., Itálie)

Karathane (účinná látka dinocap) je kontaktní fungicid ze skupiny halogenovaných aromatických uhlovodíků vyznačující se kurativním, eradikativním a preventivním účinkem na různé druhy padlí (padlí na jabloních, okurkách, mrkvi, petrželi, tabáku, růžích, vinné révě a americkému padlí na angreštu).

TOPSIN M 70 WP (výrobce Nippon Soda Chemical Co. Ltd., Japonsko)

Topsin M je širokospektrální fungicidní systémový přípravek ze skupiny benzimidazolů, ve formě ve vodě rozpustného dispergovatelného prášku, s kurativní a protektivní činností. Účinná látka thiophanate-methyl je přijímána listy i kořeny. Slouží k ochraně proti houbovým chorobám polních plodin, okurek, olejnin, okrasných rostlin, tabáku, jahodníku a kmínu.

ORTIVA (výrobce Syngenta Limited, Velká Británie)

Ortiva je systémový protektivní širokospektrální fungicid. Účinná látka azoxystrobin působí proti původcům řady chorob zeleniny ze skupin Oomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes a Deuteromycetes. Inhibuje klíčení spor i růst mycélia, působí dlouhodobě a může tak zabránit vzniku nové infekce po dobu 3-8 týdnů.

4.4. Hodnocení intenzity sporulace

Intenzita sporulace na jednotlivých discích byla hodnocena vizuálně ve 2-4 denních intervalech 5. až 14. den po inokulaci. K vyhodnocení byly použity metody kvantitativní, vyjadřující plochu rostlinného pletiva postiženého chorobou a metody kvalitativní, kdy je hodnocena přítomnost nebo absence choroby (Lebeda, 1986).

Kvantitativní metoda hodnocení

Ke kvantitativnímu hodnocení se používá pěti bodová stupnice intenzity sporulace tzn. procento listové plochy pokryté sporulujícím myceliem houby (SN - stupeň napadení) na listových discích škály 0 – 4 (Lebeda, 1984):

0 - bez příznaků	3 – 50 - 75% SN
1 - < 25% stupeň napadení (SN)	4 – >75%
2 - 25 - 50% SN	

Podle Towsenda & Heubergera (1943) byl vyjádřen celkový stupeň infekce pro každý izolát v procentech:

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

P = celkový stupeň napadení,

n = počet disků v každé kategorii napadení,

v = stupeň napadení,

x = maximální stupeň napadení

N = celkový počet hodnocených disků

Kvalitativní metoda hodnocení

Ke kvalitativnímu hodnocení je používána tří bodová stupnice:

- ... senzitivní reakce, stupeň napadení = 0-10%
- (-) ... tolerantní reakce, stupeň napadení = 10,1-34,9%
- + ... rezistentní reakce, stupeň napadení ≥ 35%

5. VÝSLEDKY

5.1. Reakce izolátů z roku 2007 na testované fungicidy

Přípravek **Rubigan 12 EC** (ú. l.: **fenarimol**) byl 100% účinný v roce 2007 (Tab. 8, 9, 12, 13). U žádného z celkem 25 testovaných izolátů (13 *Gc* a 12 *Px*) nebyla pozorována rezistentní ani tolerantní reakce na žádné ze všech pěti testovaných koncentrací tohoto přípravku.

Přípravek **Karathane LC** (ú.l.: **dinocap**) vykazoval rovněž vysoký stupeň účinnosti v roce 2007 (Tab. 8, 9, 14, 15). Žádný z testovaných izolátů obou druhů padlí tykvovitých nepřekonal doporučenou koncentraci tohoto přípravku (0,03%). A rovněž i všechny *Gc* izoláty byly senzitivní vůči všem testovaným koncentracím. U druhu *Px* byla pouze u jednoho izolátu (131/07) zaznamenána tolerantní reakce na koncentracích 1x (0,008%) a 2x (0,015%) nižších než je optimální koncentrace tohoto přípravku (0,03%). U ostatních *Px* izolátů však byla u tohoto přípravku na všech testovaných koncentracích pozorována pouze nulová intenzita sporulace.

Přípravek **Topsin M 70WP** (ú.l.: **thiophanate-methyl**) se ukázal jako zcela neúčinný v roce 2007 (Tab. 8, 9, 16, 17). 92% všech testovaných izolátů (*Gc* i *Px*) vykazovalo rezistentní reakci vůči koncentraci doporučené výrobcem (0,075%). A rovněž i většina (85% *Gc* a 83% *Px*) izolátů vykazovala rezistentní reakci ke všem testovaným koncentracím tohoto přípravku. Pouze u jednoho *Gc* izolátu (109/07) byla pozorována tolerantní reakce na všech testovaných koncentracích. U dvou izolátů padlí tykvovitých (40/07 *Gc* a 7/07/1 *Px*) byla zaznamenána na nejvyšší testované koncentraci (0,3%) pouze omezená sporulace, avšak vůči všem ostatním testovaným koncentracím byly tyto izoláty rezistentní. Jeden *Px* izolát (23/07) omezeně sporuloval na koncentracích 0,075% (povolena výrobcem) a 0,15% (1x vyšší), avšak na nejvyšší testované koncentraci (0,3%) nebyla již sporulace zjištěna.

Přípravek **Ortiva** (ú.l.: **azoxystrobin**) vykazoval v roce 2007 klesající účinnost (Tab. 8, 9, 18, 19). U tohoto přípravku byla pozorována rovněž i odlišnost v reakci u obou druhů padlí tykvovitých. Zatímco 77% *Gc* izolátů a 58% *Px* izolátů bylo kontrolováno doporučenou koncentrací tohoto přípravku (0,2%), 23% *Gc* a 42% *Px* izolátů tuto koncentraci překonalo. U 62% *Gc* izolátů a 25% *Px* izolátů byla zaznamenána nulová sporulace na všech testovaných koncentracích. U jednoho *Gc* (40/07) a tří *Px* (24/07, 52/07, 132/07) izolátů byla zjištěna omezená sporulace pouze na nejnižší testované koncentraci (0,05%), avšak vůči ostatním testovaným koncentracím byly tyto izoláty senzitivní. Naopak jeden *Gc* izolát (127/07) výrazně sporuloval jen na koncentraci 0,05%, na ostatním koncentracích však vykazoval nulovou intenzitu sporulace. Jeden *Px* izolát (66/07) byl tolerantní vůči koncentracím nižším (0,05% a 0,1%) než optimální, vyšší koncentrace však překonat nedokázal. Izolát *Gc* (57/07) byl vůči koncentracím nižším než optimální naopak rezistentní a rovněž i na koncentraci

doporučené (0,2%) a také na koncentraci 1x vyšší (0,4%) byla u tohoto izolátu pozorována tolerantní reakce. U jednoho *Px* izolátu (1/07) byla na všech testovaných koncentracích pozorována pouze omezená sporulace. Naopak 15% *Gc* a 33% *Px* izolátů vykazovalo rezistentní reakci na všech testovaných koncentracích tohoto přípravku.

5.2. Reakce izolátů z roku 2008 na testované fungicidy

Přípravek **Rubigan 12 EC** (ú. l.: **fenarimol**) byl 100% účinný také v roce 2008 (Tab. 10, 11, 20, 22). U žádného z celkem 25 testovaných izolátů (13 *Gc* a 12 *Px*) nebyla zaznamenána rezistentní ani tolerantní reakce na žádné ze všech pěti testovaných koncentrací tohoto přípravku.

Přípravek **Karathane LC** (ú.l.: **dinocap**) vykazoval rovněž vysoký stupeň účinnosti i v roce 2008 (Tab. 10, 11, 21, 23). Žádný z testovaných izolátů obou druhů padlí tykvovitých nepřekonal doporučenou koncentraci tohoto fungicidu (0,03%). Byly však pozorovány odlišnosti u obou druhů padlí tykvovitých v reakci na tento přípravek. U tří *Gc* izolátů (1/08/2, 17/08, 51/08) byla zaznamenána tolerantní reakce pouze na nejnižší testované koncentraci tohoto fungicidu (0,008%) na ostatních testovaných koncentracích byla u těchto izolátů nulová intenzita sporulace. Naopak dva izoláty padlí tykvovitých (53/08 *Gc*, 69/08 *Px*) vykazovaly tolerantní reakci na koncentracích nižších (0,008%, 0,015%) než optimální (0,03%), avšak vyšší testované koncentrace nedokázaly překonat.

Přípravek **Topsin M 70WP** (ú.l.: **thiophanate-methyl**) se ukázal jako zcela neúčinný také v roce 2008 (Tab. 10, 11, 24, 26). 96% všech testovaných izolátů (*Gc* i *Px*) vykazovalo rezistentní reakci vůči koncentraci doporučené výrobcem (0,075%) a koncentraci 1x vyšší (0,15%) než optimální. Pouze u jednoho *Gc* izolátu (66/08) byla pozorována tolerantní reakce na všech testovaných koncentracích. A celkem 5 izolátů (1 *Gc* (70/08), 4 *Px* (20/08, 44/08, 69/08, 92/08)) vykazovalo na nejvyšší testované koncentraci tohoto přípravku (0,3%) jen omezenou sporulaci, avšak všechny nižší testované koncentrace byly těmito izoláty překonány (rezistentní reakce).

Přípravek **Ortiva** (ú.l.: **azoxystrobin**) vykazoval v roce 2008 rovněž klesající účinnost (Tab. 10, 11, 25, 27). U tohoto přípravku byla pozorována také odlišnost v reakci u obou druhů padlí tykvovitých. Zatímco 40% *Gc* izolátů a 60% *Px* izolátů bylo kontrolováno doporučenou koncentrací tohoto přípravku (0,2%), ale 60% *Gc* a 20% *Px* izolátů však tuto koncentraci překonalo a u 20% *Px* izolátů byla na této koncentraci zaznamenána pouze tolerantní reakce. U 33% *Gc* izolátů a 60% *Px* izolátů byla zaznamenána nulová sporulace na všech testovaných koncentracích. U jednoho *Gc* izolátu (61/08) byla zjištěna omezená sporulace pouze na nejnižší testované koncentraci (0,05%), avšak vůči ostatním testovaným koncentracím byl tento izolát senzitivní. Většina *Gc* izolátů (60%) a také 20% *Px* izolátů bylo rezistentních ke všem testovaným koncentracím. U *Px* izolátů byly zaznamenány ještě další odlišné reakce na testované koncentrace tohoto přípravku, tyto reakce však

nebyly zaznamenány u testovaných *Gc* izolátů. U *Px* izolátu (44/08) byla na doporučené koncentraci (0,2%) a také na koncentracích nižších (0,05%, 0,01%) než optimální zaznamenána tolerantní reakce, ale na vyšších koncentracích však byla intenzita sporulace nulová. Jeden *Px* izolát (25/08) vykazoval rezistentní reakci pouze na nejnižší testované koncentraci (0,05%), na ostatních testovaných koncentracích sporuloval pouze omezeně.

5.3. Srovnání reakcí testovaných izolátů pocházejících z let 2007-2008 na testované přípravky

Grafy 1-8 je zachycují srovnání sporulace izolátů padlí tykvovitých v letech 2007-2008. Z dostupných dat je zřejmé, že u testovaných izolátů obou druhů padlí tykvovitých byly pozorovány nejen rozdíly v reakci na některé z testovaných fungicidů mezi druhy *Gc* a *Px* (viz výše kapitoly 5.1, 5.2.), ale rovněž u těchto druhů i v rámci jednotlivých sledovaných let.

U přípravku **Rubigan 12 EC** (ú. l.: **fenarimol**), který byl 100% účinný v obou sledovaných letech, nebyly pozorovány žádné rozdíly v účinnosti (Graf 1 a 2) ani v rámci sledování účinnosti vybraných izolátů padlí tykvovitých, které pocházely ze stejných lokalit/různých lokalit pocházejících ze stejného/různého okresu či stejného kraje ČR (Tab. 28 a 29).

Odlišná situace byla u přípravku **Karathane LC** (ú.l.: **dinocap**) vykazujícího vysoký stupeň účinnosti v letech 2007-2008. Ukázal se rozdíl v reakci mezi oběma druhy padlí tykvovitých (Graf 3 a 4). Reakce *Px* izolátů vůči tomuto přípravku byla v obou sledovaných letech téměř stejná. Což lze demonstrovat tím, že největší počet *Px* izolátů vykazoval senzitivní reakci ke všem testovaným koncentracím tohoto přípravku a pouze méně než 10% izolátů mělo tolerantní reakci na koncentracích nižších (0,008%, 0,015%) než optimální (0,015%). Naopak u druhu *Gc* byl pozorován trend směrem k vyšší virulenci. Tento fakt lze doložit tím, že zatímco v roce 2007 byl tento přípravek 100% účinný vůči *Gc* populaci, tak v roce 2008 se v populaci patogenu objevil větší počet izolátů s tolerantní reakcí vůči nižším koncentracím (0,008%, 0,015%) než optimální (0,03%) a naopak došlo ke snížení počtu senzitivních kmenů vůči všem testovaným koncentracím. Rozdílná reakce na tento fungicid byla pozorována i u izolátů obou druhů padlí tykvovitých pocházejících z opakovaně navštívených lokalit ze stejných/různých okresů či ze stejných krajů. (Tab. 28 a 29). Jednalo se o *Gc* izoláty (26/07 / 17/08) pocházející z lokality: Lipovec (okres: BK, kraj: JM) a (87/07) Velké Bílovice / (1/08/2) Lednice (okres: BV, kraj: JM) a *Px* izoláty z lokalit (123/07) Lysá nad Labem (okres: NY, kraj: Středoč.) / (69/08) Prodašice (okres: MB, kraj: Středoč.). V případě *Px* izolátů (131/07 / 132/07) z lokality Mořkov (okres: NJ, kraj: MS) byla rozdílná reakce vůči tomuto přípravku pozorována i v rámci různých hostitelských rostlin (*C. pepo* (CP) a *C. maxima* (CM)).

Přípravek **Topsin M 70WP** (ú.l.: **thiophanate-methyl**) byl v letech 2007-2008 zcela neúčinný, kdy téměř všechny izoláty padlí tykvoovitých vykazovaly vysoký stupeň rezistence a také se ukázaly odlišnosti v reakci mezi oběma druhy patogenů (viz výše kapitoly 5.1., 5.2.). U tohoto přípravku však byly pozorovány také rozdíly v reakci u druhu *Px* mezi roky 2007-2008 (Graf 5). Oproti tomu testované *Gc* izoláty v obou sledovaných letech reagovaly velmi podobně, kdy přes 80% *Gc* izolátů bylo zcela rezistentních a méně než 10% tolerovalo pouze nejvyšší testovanou koncentraci (0,3%), na všech nižších koncentracích reagovalo rezistentně a stejné procento (<10%) *Gc* izolátů vykazovalo toleranci vůči všem testovaným koncentracím tohoto přípravku (Graf 6). Na rozdíl od druhu *Px*, u něhož byly pozorovány během sledovaného období změny ve frekvenci zastoupení izolátů s tolerantní/rezistentní reakcí na koncentraci optimální (0,075%) a rovněž i na koncentracích 1x (0,15%) a 2x (0,3%) vyšších než optimální. V roce 2007 více než 80% *Px* izolátů vykazovalo rezistenci ke všem testovaným koncentracím, zatímco v roce 2008 došlo k jejich poklesu na 60%. Opačná situace nastala u *Px* izolátů s tolerancí vůči nejvyšší testované koncentraci (0,3%), kdy v roce 2007 jich bylo méně než 10% a naopak v roce 2008 se jejich počet zvýšil na 40%. Výskyt *Px* izolátů s tolerancí doporučené koncentrace (0,075%) a koncentrace 1x vyšší (0,15%) kontrolovaných nejvyšší testovanou koncentrací (0,3%) byl zjištěn pouze v roce 2007 (viz předchozí kapitola 5.1.). V případě *Px* izolátů (23/07 / 13/08/1) pocházejících z lokalit Rozstání / Plumlov z téhož okresu (PV) a kraje (OL) byla zaznamenána výrazně odlišná reakce k tomuto přípravku v obou sledovaných letech. V roce 2007 *Px* izolát 23/07 reagoval na koncentracích nižších (0,018%, 0,037%) než optimální (0,075%) rezistentně, na koncentraci optimální (0,075%) a na koncentraci 1x vyšší (0,15%) tolerantně, nejvyšší testovanou koncentraci však překonat nedokázal. Zatímco v roce 2008 reagoval *Px* izolát 13/08/1 rezistentně na všech testovaných koncentracích. Odlišnost v reakci, avšak pouze u nejvyšší testované koncentrace (0,3%) byla pozorována také u *Px* izolátů (24/07 / 20/08) a to z lokalit: Lipovec / Jedovnice (okres: BK, kraj: JM) a rovněž i u (123/07 / 69/08) Lysá nad Labem (okres: NY, kraj: Středoč) / Prodašice (okres: MB, kraj: Středoč) (Tab. 28). Výrazně odlišná reakce na tento přípravek byla zaznamenána také u *Gc* izolátů (109/07, 60/08) z lokality Jaroměř (okres: NA, kraj: Králov), kdy v roce 2007 reagoval izolát (109/07) tolerantně vůči všem testovaným koncentracím, naopak v roce 2008 izolát (60/08) byl zcela rezistentní.

Přípravek **Ortiva** (ú.l.: **azoxystrobin**) vykazoval v obou sledovaných letech klesající účinnost (viz předchozí kapitoly 5.1., 5.2.). Na tento přípravek se reakce testovaných izolátů obou druhů padlí tykvoovitých z let 2007-2008 lišila nejvýrazněji ve srovnání s ostatními testovanými fungicidy a to jak mezi oběma druhy patogenu, tak i v rámci každého druhu zvlášť. Především byly pozorovány u obou patogenů výrazné rozdíly v četnosti zastoupení izolátů s daným typem reakce mezi oběma sledovanými roky (Graf 7 a 8). Tento fakt lze demonstrovat např. tím, že zatímco v roce 2007 byly v *Px* populaci rovnoměrně zastoupeny kmeny patogenu reprezentující tři typy reakcí: a) rezistentní ke

všem testovaným koncentracím (více než 30%), b) citlivé ke všem testovaným koncentracím (25%), c) tolerující nejnižší testovanou koncentraci (0,05%) a k ostatním koncentracím však citlivé (25%). Frekvence ostatních typů reakcí (viz Graf 7) však nepřesáhla desetiprocentní hranici. V roce 2008 však v *Px* populaci byly nejčastěji (60%) zastoupeny kmeny patogenu citlivé ke všem testovaným koncentracím, naopak *Px* kmeny vysoce rezistentní k tomuto přípravku tolerující pouze nejvyšší koncentraci (0,8%) byly zastoupeny 20% a frekvence ostatních typů reakcí byla nižší než 10%. V případě druhu *Gc* byl pozorován výrazný posun směrem k nárůstu rezistentních kmenů, což lze doložit např. tím, že v roce 2007 v *Gc* populaci výrazně převažoval počet kmenů senzitivních (přesahoval 60%) vůči všem testovaným koncentracím, avšak v roce 2008 došlo k jejich výraznému téměř polovičnímu poklesu a naopak došlo k výraznému nárůstu *Px* kmenů rezistentních ke všem testovaným koncentracím (Graf 8). Změny v rezistenci byly rovněž zaznamenány u obou patogenů na opakovaně navštívených lokalitách/okresech ze stejného kraje ČR v letech 2007-2008 (Tab. 27, 28). Reakce *Gc* izolátů (33/07 / 37/07 / 26/08) pocházejících z lokalit: Brno-Želešice / Ořechov / Hajany (okres: BO, kraj: JM), a také (87/07 / 1/08/2) Velké Bílovice / Lednice (okres: BV, kraj: JM) se výrazně změnila během sledovaného období a to od senzitivní ke všem testovaným koncentracím na zcela rezistentní. Naopak na jedné opakovaně navštívené *Px* lokalitě NJ-Kojetín (izoláty: 7/07/1, 92/08), okres: NJ, kraj: MS) a také u *Gc* izolátů (107/07 / 58/08) z lokalit: Opočno / Dobruška (okres: RK, kraj: Králov) byla pozorována reakce zcela opačná, a to z rezistentní na zcela senzitivní. Dále pak ve dvou *Px* okresech (resp. na čtyřech lokalitách): Mořkov (izoláty: 131/07, 132/07) / Trojanovice (83/08) - obě lokality z okresu: NJ, kraje: MS a Lipovec (24/07) / Jedovnice (20/08) - obě lokality: okres: BK, kraj: JM byla zaznamenána pouze změna v toleranci/senzitivitě na nejnižší testované koncentraci tohoto fungicidu (0,05%) v průběhu sledovaného dvouletého období.

Tab. 8. Intenzita sporulace (%) u izolátů *G. cichoracearum* (2007) ošetřených přípravkem Rubigan 12 EC, (účinná látka fenarimol), Karathane LC (ú. l. dinocap), Topsin M 70 WP(ú. l. thiophanate-methyl) a Ortiva (ú. l. azoxystrobin) 14. den po inokulaci.

Koncentrace testovaných přípravků (%)	Izoláty <i>Gc</i>												
	11/07	22/07	26/07	33/07	37/07	40/07	47/07	57/07	75/07	87/07	107/07	109/07	127/07
Rubigan 12 EC													
K	78,3	63,3	100	63,3	61,6	96	81,6	90	80	80	93,3	80	81,6
0,008	0	0	1,6	0	0	1,6	0	0	0	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0	1,6	0	0	0	0	0	0	0
0,03*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Karathane LC													
K	91,6	96,6	100	83,3	51,6	96,6	80	80	88,3	60	98,3	96,6	66,6
0,008	0	5	1,6	8,3	0	1,6	0	0	0	0	3,3	0	0
0,015	0	0	1,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Topsin M													
K	100	95	100	100	95	85	90	63,3	100	95	91,6	55	96,67
0,018	98,3	95	100	98,3	93,3	76,6	90	55	85	91,6	85	18,3	93,3
0,037	96,6	95	100	96,6	93,3	73,3	78,3	53,3	75	88,3	85	18,3	91,67
0,075*	90	95	90	95	91,6	48,3	70	51,6	58,3	81,6	81,6	13,3	86,67
0,15	88,3	85	75	75	81,6	40	53,3	51,6	58,3	50	68,3	11,6	80
0,30	75	81,6	73,3	70	53,3	30	53,3	50	58,3	38,3	68,3	11,6	68,3
Ortiva													
K	62	97	93	97	98	77	72	100	97	100	97	85	80
0,05	2	2	83	0	7	22	3	73	8	0	93	0	67
0,1	0	0	83	0	7	0	0	47	0	0	72	0	7
0,2*	0	0	83	0	7	0	0	30	0	0	68	0	7
0,4	0	0	78	0	7	0	0	30	0	0	68	0	3
0,8	0	0	77	0	3	0	0	10	0	0	68	0	0

* koncentrace doporučená výrobcem

Tab. 9. Intenzita sporulace (%) u izolátů *P. xanthii* (2007) ošetřených přípravkem Rubigan 12 EC, Karathane LC, Topsin M 70 WP a Ortiva 14. den po inokulaci.

Koncentrace testovaných přípravků (%)	Izoláty Px											
	1/07	7/07/1	23/07	24/07	52/07	66/07	102/07/1	111/07	123/07	124/07	131/07	132/07
Rubigan 12 EC												
K	68	82	48	98	93	93	75	97	78	90	100	92
0,008	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
0,03*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Karathane LC												
K	77	85	57	87	90	77	75	78	53	65	98	100
0,008	0	5	0	0	5	8	0	0	0	0	15	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0
0,03*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Topsin M												
K	100	93	57	100	100	92	97	98	60	100	100	100
0,018	100	80	43	100	100	85	95	97	58	100	100	100
0,037	100	80	40	95	98	85	95	95	55	95	100	95
0,075*	100	77	33	95	97	85	95	85	56	93	100	93
0,15	97	70	17	93	90	77	57	57	35	93	100	92
0,30	95	30	10	93	85	70	52	58	35	92	80	90
Ortiva												
K	80	100	100	100	88	100	92	63	50	97	100	87
0,05	13	87	0	15	20	13	87	0	47	88	0	12
0,1	12	87	0	7	0	13	73	0	45	88	0	0
0,2*	12	63	0	7	0	0	73	0	45	82	0	0
0,4	12	63	0	7	0	0	63	0	45	78	0	0
0,8	12	50	0	7	0	0	60	0	43	78	0	0

* koncentrace doporučená výrobcem

Tab. 10. Intenzita sporulace (%) u izolátů *G. cichoracearum* (2008) ošetřených přípravkem Rubigan 12 EC (účinná látka fenarimol), Karathane LC (ú. l. dinocap) Topsin M 70 WP (ú. l. thiophanate-methyl) a Ortiva (ú. l. azoxystrobin) 14. den po inokulaci.

Koncentrace testovaných přípravků (%)	Izoláty Gc														
	1/08/2	17/08	26/08	48/08	49/08	51/08	53/08	58/08	60/08	61/08	62/08	66/08	70/08	71/08	73/08
Rubigan 12 EC															
K	65	67	92	90	100	83	87	85	100	68	68	87	100	63	65
0,008	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Karathane LC															
K	100	88	90	100	100	97	100	95	100	97	68	98	100	73	98
0,008	13	13	3	0	8	12	20	2	0	2	0	0	0	0	2
0,015	0	0	0	0	8	0	12	0	0	0	0	0	0	0	2
0,03*	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Topsin M															
K	97	97	96	90	100	98	100	100	100	88	97	97	100	72	78
0,018	80	92	93	85	100	90	93	100	98	83	85	27	83	70	73
0,037	80	90	93	75	100	78	90	100	95	78	85	25	57	63	68
0,075*	72	90	93	68	100	73	82	92	93	67	75	23	55	57	63
0,15	68	88	93	45	97	68	72	92	82	62	75	23	40	50	58
0,30	53	78	91	43	97	52	65	83	80	48	57	18	33	35	55
Ortiva															
K	100	100	100	100	100	100	98	100	90	100	98	100	100	95	87
0,05	100	100	100	0	100	100	98	0	0	18	92	93	0	0	92
0,1	98	98	100	0	98	98	98	0	0	8	90	85	0	0	90
0,2*	97	92	100	0	98	98	95	0	0	7	90	85	0	0	90
0,4	90	90	97	0	97	97	90	0	0	5	90	78	0	0	85
0,8	83	85	95	0	95	86	90	0	0	0	85	58	0	0	70

* koncentrace doporučená výrobcem

Tab. 11. Intenzita sporulace (%) u izolátů *P. xanthii* (2008) ošetřených přípravkem Rubigan 12 EC, Karathane LC, Topsin M 70 WP a Ortiva 14. den po inokulaci.

Koncentrace testovaných přípravků (%)	Izoláty Px									
	13/08/1	20/08	25/08	36/08	40/08	44/08	54/08	69/08	83/08	92/08
Rubigan12 EC										
K	62	62	82	92	62	62	62	80	63	90
0,008	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Karathane LC										
K	97	100	98	100	87	68	93	98	97	100
0,008	0	0	5	3	7	3	5	20	3	3
0,015	0	0	0	0	0	0	8	15	0	0
0,03*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Topsin M										
K	98	73	98	100	98	53	100	98	88	97
0,018	95	63	85	98	97	52	95	95	83	80
0,037	90	43	83	95	95	48	93	93	83	77
0,075*	80	40	78	92	85	47	90	78	70	72
0,15	70	38	43	90	78	45	75	45	63	63
0,30	45	33	38	87	68	33	65	27	38	30
Ortiva										
K	67	100	83	90	100	75	98	95	72	92
0,05	0	8	35	85	0	23	0	95	2	3
0,1	0	0	30	85	0	18	0	93	0	0
0,2*	2	0	20	85	0	17	0	85	0	0
0,4	0	0	15	75	0	10	0	72	0	0
0,8	0	0	20	73	0	10	0	65	0	0

* koncentrace doporučená výrobcem

Tab. 12. Reakce izolátů *Golovinomyces cichoracearum* (2007) na ošetření přípravkem RUBIGAN 12 EC.

Izoláty Gc	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
11/07	+	-	-	-	-	-
22/07	+	-	-	-	-	-
26/07	+	-	-	-	-	-
33/07	+	-	-	-	-	-
37/07	+	-	-	-	-	-
40/07	+	-	-	-	-	-
47/07	+	-	-	-	-	-
57/07	+	-	-	-	-	-
75/07	+	-	-	-	-	-
87/07	+	-	-	-	-	-
107/07	+	-	-	-	-	-
109/07	+	-	-	-	-	-
127/07	+	-	-	-	-	-

Tab. 13. Reakce izolátů *Podosphaera xanthii* (2007) na ošetření přípravkem RUBIGAN 12 EC.

Izoláty Px	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
1/07	+	-	-	-	-	-
7/07/1	+	-	-	-	-	-
23/07	+	-	-	-	-	-
24/07	+	-	-	-	-	-
52/07	+	-	-	-	-	-
66/07	+	-	-	-	-	-
102/07/1	+	-	-	-	-	-
111/07	+	-	-	-	-	-
123/07	+	-	-	-	-	-
124/07	+	-	-	-	-	-
131/07	+	-	-	-	-	-
132/07	+	-	-	-	-	-

Tab. 14. Reakce izolátů *Golovinomyces cichoracearum* (2007) na ošetření přípravkem KARATHANE LC.

Izoláty Gc	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
11/07	+	-	-	-	-	-
22/07	+	-	-	-	-	-
26/07	+	-	-	-	-	-
33/07	+	-	-	-	-	-
37/07	+	-	-	-	-	-
40/07	+	-	-	-	-	-
47/07	+	-	-	-	-	-
57/07	+	-	-	-	-	-
75/07	+	-	-	-	-	-
87/07	+	-	-	-	-	-
107/07	+	-	-	-	-	-
109/07	+	-	-	-	-	-
127/07	+	-	-	-	-	-

Tab. 15. Reakce izolátů *Podosphaera xanthii* (2007) na ošetření přípravkem KARATHANE LC.

Izoláty Px	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
1/07	+	-	-	-	-	-
7/07/1	+	-	-	-	-	-
23/07	+	-	-	-	-	-
24/07	+	-	-	-	-	-
52/07	+	-	-	-	-	-
66/07	+	-	-	-	-	-
102/07/1	+	-	-	-	-	-
111/07	+	-	-	-	-	-
123/07	+	-	-	-	-	-
124/07	+	-	-	-	-	-
132/07	+	-	-	-	-	-
131/07	+	(-)	(-)	-	-	-

*Koncentrace fungicidu (%):

Rubigan12 EC, Karathane LC: I.-0,008; II.-0,015; III.-0,03; IV.-0,06, V.-0,12

Topsin M: I.-0,018; II.-0,037; III.-0,075; IV.-0,15; V.-0,3

Ortiva: I.-0,05; II.-0,1; III.-0,2; IV.-0,4; V.-0,8

** Koncentrace doporučená výrobcem

Typy reakcí: -... **senzitivní** reakce, stupeň napadení (SN) = 0-10%; (-) ... **tolerantní** reakce, SN = 10,1-34,9%; + ... **rezistentní** reakce, SN ≥ 35%

Tab. 16. Reakce izolátů *Golovinomyces cichoracearum* (2007) na ošetření přípravkem TOPSIN M.

Izoláty Gc	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
109/07	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
40/07	+	+	+	+	+	(-)
11/07	+	+	+	+	+	+
22/07	+	+	+	+	+	+
26/07	+	+	+	+	+	+
33/07	+	+	+	+	+	+
37/07	+	+	+	+	+	+
47/07	+	+	+	+	+	+
57/07	+	+	+	+	+	+
75/07	+	+	+	+	+	+
87/07	+	+	+	+	+	+
107/07	+	+	+	+	+	+
127/07	+	+	+	+	+	+

Tab. 17. Reakce izolátů *Podosphaera xanthii* (2007) na ošetření přípravkem TOPSIN M.

Izoláty Px	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
23/07	+	+	+	(-)	(-)	-
7/07/1	+	+	+	+	+	(-)
1/07	+	+	+	+	+	+
24/07	+	+	+	+	+	+
52/07	+	+	+	+	+	+
66/07	+	+	+	+	+	+
102/07/1	+	+	+	+	+	+
111/07	+	+	+	+	+	+
123/07	+	+	+	+	+	+
124/07	+	+	+	+	+	+
131/07	+	+	+	+	+	+
132/07	+	+	+	+	+	+

Tab. 18. Reakce izolátů *Golovinomyces cichoracearum* (2007) na ošetření přípravkem ORTIVA.

Izoláty Gc	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
11/07	+	-	-	-	-	-
22/07	+	-	-	-	-	-
33/07	+	-	-	-	-	-
37/07	+	-	-	-	-	-
47/07	+	-	-	-	-	-
75/07	+	-	-	-	-	-
87/07	+	-	-	-	-	-
109/07	+	-	-	-	-	-
40/07	+	(-)	-	-	-	-
127/07	+	+	-	-	-	-
57/07	+	+	+	(-)	(-)	-
26/07	+	+	+	+	+	+
107/07	+	+	+	+	+	+

Tab. 19. Reakce izolátů *Podosphaera xanthii* (2007) na ošetření přípravkem ORTIVA.

Izoláty Px	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
23/07	+	-	-	-	-	-
111/07	+	-	-	-	-	-
131/07	+	-	-	-	-	-
24/07	+	(-)	-	-	-	-
52/07	+	(-)	-	-	-	-
132/07	+	(-)	-	-	-	-
66/07	+	(-)	(-)	-	-	-
1/07	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7/07/1	+	+	+	+	+	+
102/07/1	+	+	+	+	+	+
124/07	+	+	+	+	+	+
123/07	+	+	+	+	+	+

*Koncentrace fungicidu (%):

Rubigan12 EC, Karathane LC: I.-0,008; II.-0,015; III.-0,03; IV.-0,06, V.-0,12

Topsin M: I.-0,018; II.-0,037; III.-0,075; IV.-0,15; V.-0,3

Ortiva: I.-0,05; II.-0,1; III.-0,2; IV.-0,4; V.-0,8

** Koncentrace doporučená výrobcem

Typy reakcí: -... **senzitivní** reakce, stupeň napadení (SN) = 0-10%; (-) ... **tolerantní** reakce, SN = 10,1-34,9%; + ... **rezistentní** reakce, SN ≥ 35%

Tab. 20. Reakce izolátů *Golovinomyces cichoracearum* (2008) na ošetření přípravkem RUBIGAN 12 EC.

Izoláty Gc	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
1/08/2	+	-	-	-	-	-
17/08	+	-	-	-	-	-
26/08	+	-	-	-	-	-
48/08	+	-	-	-	-	-
49/08	+	-	-	-	-	-
51/08	+	-	-	-	-	-
53/08	+	-	-	-	-	-
58/08	+	-	-	-	-	-
60/08	+	-	-	-	-	-
61/08	+	-	-	-	-	-
62/08	+	-	-	-	-	-
66/08	+	-	-	-	-	-
70/08	+	-	-	-	-	-
71/08	+	-	-	-	-	-
73/08	+	-	-	-	-	-

Tab. 21. Reakce izolátů *Golovinomyces cichoracearum* (2008) na ošetření přípravkem KARATHANE LC.

Izoláty Gc	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
26/08	+	-	-	-	-	-
48/08	+	-	-	-	-	-
49/08	+	-	-	-	-	-
58/08	+	-	-	-	-	-
60/08	+	-	-	-	-	-
61/08	+	-	-	-	-	-
62/08	+	-	-	-	-	-
66/08	+	-	-	-	-	-
70/08	+	-	-	-	-	-
71/08	+	-	-	-	-	-
73/08	+	-	-	-	-	-
1/08/2	+	(-)	-	-	-	-
17/08	+	(-)	-	-	-	-
51/08	+	(-)	-	-	-	-
53/08	+	(-)	(-)	-	-	-

Tab. 22. Reakce izolátů *Podospaera xanthii* (2008) na ošetření přípravkem RUBIGAN 12 EC.

Izoláty Px	Koncentrace fungicidu*					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
13/08/1	+	-	-	-	-	-
20/08	+	-	-	-	-	-
25/08	+	-	-	-	-	-
36/08	+	-	-	-	-	-
40/08	+	-	-	-	-	-
44/08	+	-	-	-	-	-
54/08	+	-	-	-	-	-
69/08	+	-	-	-	-	-
83/08	+	-	-	-	-	-
92/08	+	-	-	-	-	-

Tab. 23. Reakce izolátů *Podospaera xanthii* (2008) na ošetření přípravkem KARATHANE LC.

Izoláty Px	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
13/08/1	+	-	-	-	-	-
20/08	+	-	-	-	-	-
25/08	+	-	-	-	-	-
36/08	+	-	-	-	-	-
40/08	+	-	-	-	-	-
44/08	+	-	-	-	-	-
54/08	+	-	-	-	-	-
83/08	+	-	-	-	-	-
92/08	+	-	-	-	-	-
69/08	+	(-)	(-)	-	-	-

*Koncentrace fungicidu (%):

Rubigan12 EC, Karathane LC: I.-0,008; II.-0,015; III.-0,03; IV.-0,06, V.-0,12

Topsin M: I.-0,018; II.-0,037; III.-0,075; IV.-0,15; V.-0,3

Ortiva: I.-0,05; II.-0,1; III.-0,2; IV.-0,4; V.-0,8

** Koncentrace doporučená výrobcem

Typy reakcí: -... **senzitivní** reakce, stupeň napadení (SN) = 0-10%; (-) ... **tolerantní** reakce, SN = 10,1-34,9%; + ... **rezistentní** reakce, SN ≥ 35%

Tab. 24. Reakce izolátů *Golovinomyces cichoracearum* (2008) na ošetření přípravkem TOPSIN M.

Izoláty Gc	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
66/08	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
70/08	+	+	+	+	+	(-)
1/08/2	+	+	+	+	+	+
17/08	+	+	+	+	+	+
26/08	+	+	+	+	+	+
48/08	+	+	+	+	+	+
49/08	+	+	+	+	+	+
51/08	+	+	+	+	+	+
53/08	+	+	+	+	+	+
58/08	+	+	+	+	+	+
60/08	+	+	+	+	+	+
61/08	+	+	+	+	+	+
62/08	+	+	+	+	+	+
71/08	+	+	+	+	+	+
73/08	+	+	+	+	+	+

Tab. 25. Reakce izolátů *Golovinomyces cichoracearum* (2008) na ošetření přípravkem ORTIVA.

Izoláty Gc	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
48/08	+	-	-	-	-	-
58/08	+	-	-	-	-	-
60/08	+	-	-	-	-	-
70/08	+	-	-	-	-	-
71/08	+	-	-	-	-	-
61/08	+	(-)	-	-	-	-
1/08/2	+	+	+	+	+	+
17/08	+	+	+	+	+	+
26/08	+	+	+	+	+	+
49/08	+	+	+	+	+	+
51/08	+	+	+	+	+	+
53/08	+	+	+	+	+	+
62/08	+	+	+	+	+	+
66/08	+	+	+	+	+	+
73/08	+	+	+	+	+	+

Tab. 26. Reakce izolátů *Podospaera xanthii* (2008) na ošetření přípravkem TOPSIN M.

Izoláty Px	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
20/08	+	+	+	+	+	(-)
44/08	+	+	+	+	+	(-)
69/08	+	+	+	+	+	(-)
92/08	+	+	+	+	+	(-)
13/08/1	+	+	+	+	+	+
25/08	+	+	+	+	+	+
36/08	+	+	+	+	+	+
40/08	+	+	+	+	+	+
54/08	+	+	+	+	+	+
83/08	+	+	+	+	+	+

Tab. 27. Reakce izolátů *Podospaera xanthii* (2008) na ošetření přípravkem ORTIVA.

Izoláty Px	Koncentrace fungicidu *					
	K	I.	II.	III.**	IV.	V.
	Reakce					
13/08/1	+	-	-	-	-	-
20/08	+	-	-	-	-	-
40/08	+	-	-	-	-	-
54/08	+	-	-	-	-	-
83/08	+	-	-	-	-	-
92/08	+	-	-	-	-	-
44/08	+	(-)	(-)	(-)	-	-
25/08	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
36/08	+	+	+	+	+	+
69/08	+	+	+	+	+	+

*Koncentrace fungicidu (%):

Rubigan12 EC, Karathane LC: I.-0,008; II.-0,015; III.-0,03; IV.-0,06, V.-0,12

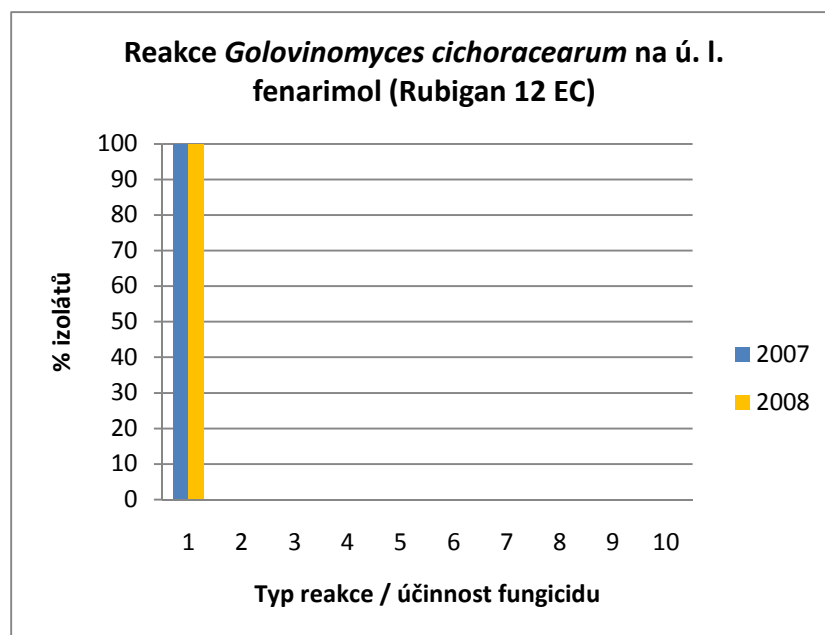
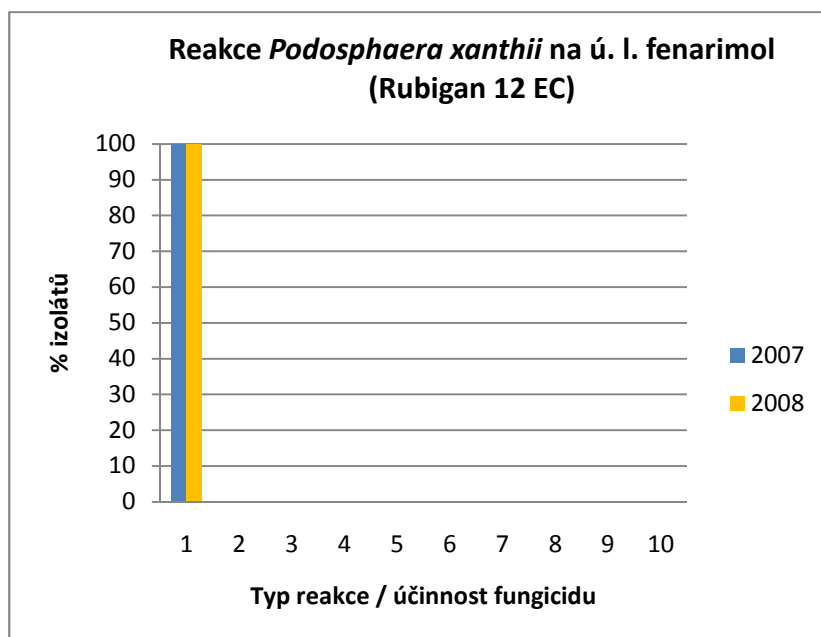
Topsin M: I.-0,018; II.-0,037; III.-0,075; IV.-0,15; V.-0,3

Ortiva: I.-0,05; II.-0,1; III.-0,2; IV.-0,4; V.-0,8

** Koncentrace doporučená výrobcem

Typy reakcí: -... **senzitivní** reakce, stupeň napadení (SN) = 0-10%; (-) ... **tolerantní** reakce, SN = 10,1-34,9%; + ... **rezistentní** reakce, SN ≥ 35%

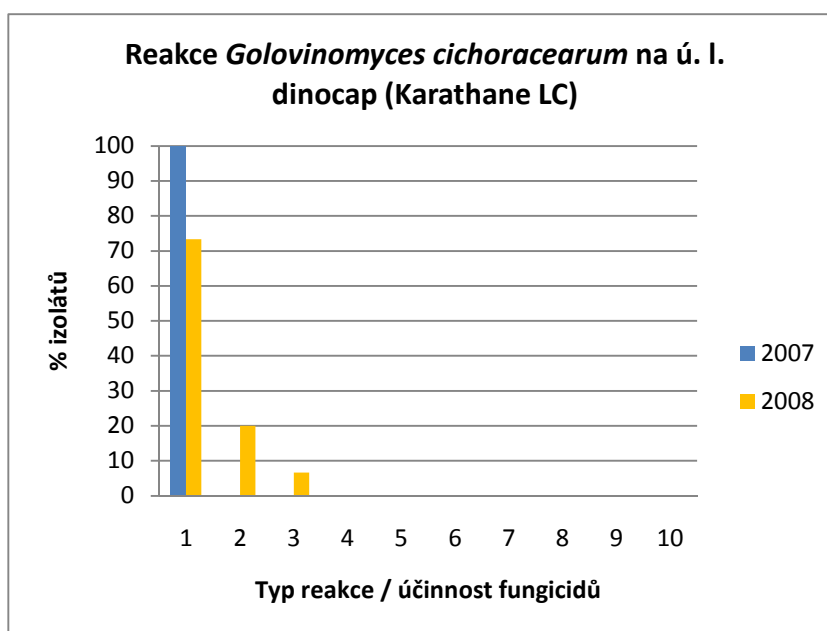
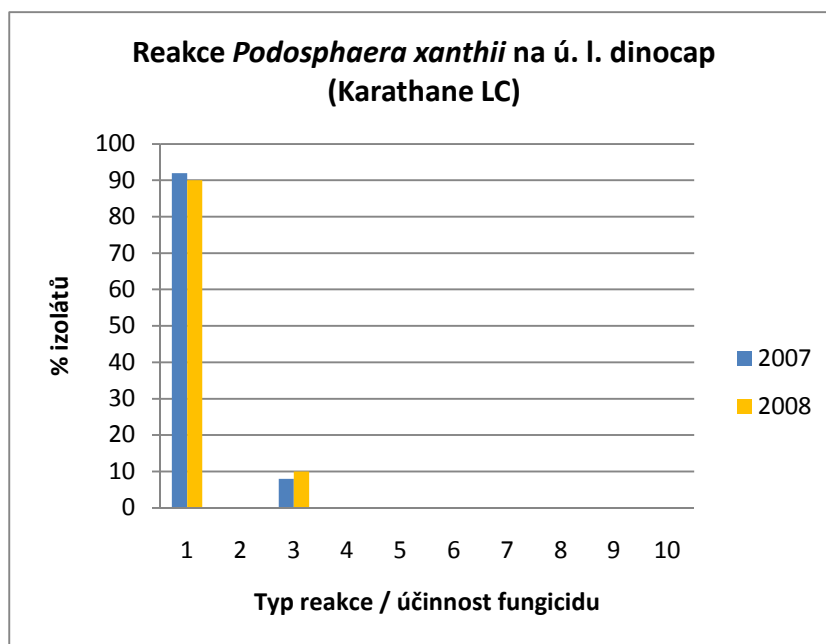
Graf 1 a 2. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Rubigan 12 EC v letech 2007 a 2008.



Koncentrace fungicidu (%):
 Rubigan12 EC, Karathane LC:
 I.-0,008; II.-0,015; III.-0,03; IV.-0,06, V.-0,12
 Topsin M: I.-0,018; II.-0,037; III.-0,075; IV.-0,15;
 V.-0,3
 Ortiva: I.-0,05; II.-0,1; III.-0,2; IV.-0,4; V.-0,8
 * Koncentrace doporučená výrobcem

Typ reakce/ účinnost fungicidu (ú. I.)	Koncentrace fungicidu/reakce					
	K	I.	II.	III.*	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
8	+	+	+	(-)	(-)	-
9	+	+	+	+	+	(-)
10	+	+	+	+	+	+

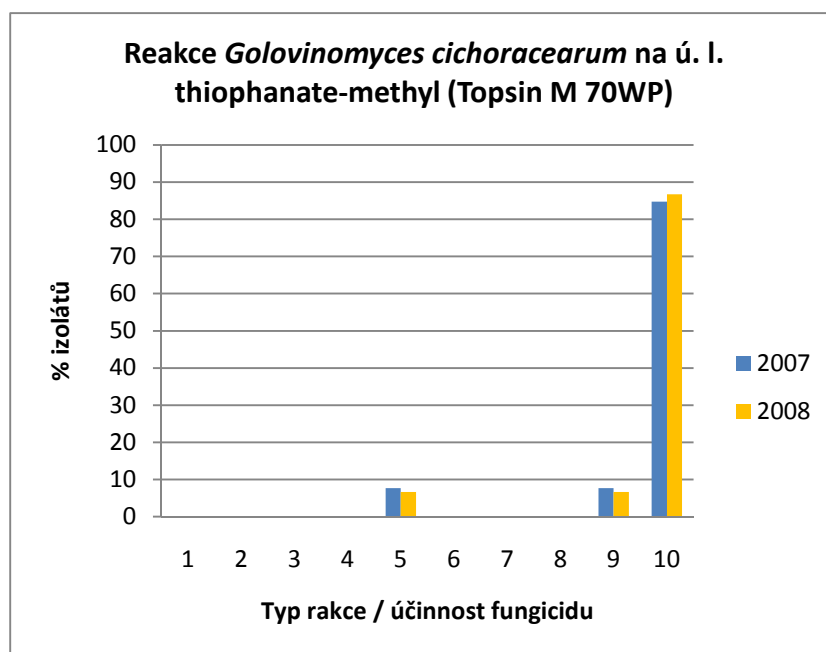
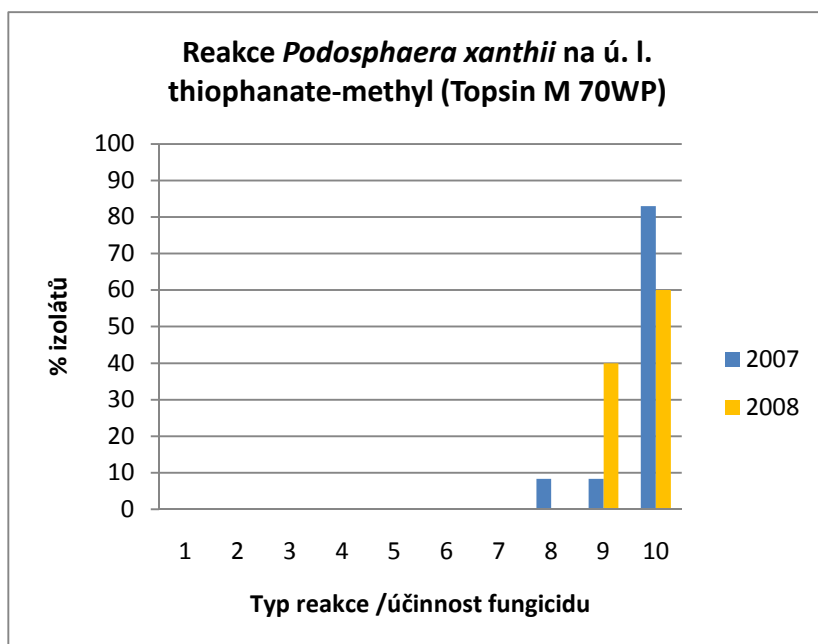
Graf 3. a 4. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Karathane LC v letech 2007 a 2008.



Koncentrace fungicidu (%):
 Rubigan12 EC, Karathane LC:
 I.-0,008; II.-0,015; III.-0,03; IV.-0,06, V.-0,12
 Topsin M: I.-0,018; II.-0,037; III.-0,075; IV.-0,15;
 V.-0,3
 Ortiva: I.-0,05; II.-0,1; III.-0,2; IV.-0,4; V.-0,8
 * Koncentrace doporučená výrobcem

Typ reakce/ účinnost fungicidu (ú. I.)	Koncentrace fungicidu/reakce					
	K	I.	II.	III.*	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
8	+	+	+	(-)	(-)	-
9	+	+	+	+	+	(-)
10	+	+	+	+	+	+

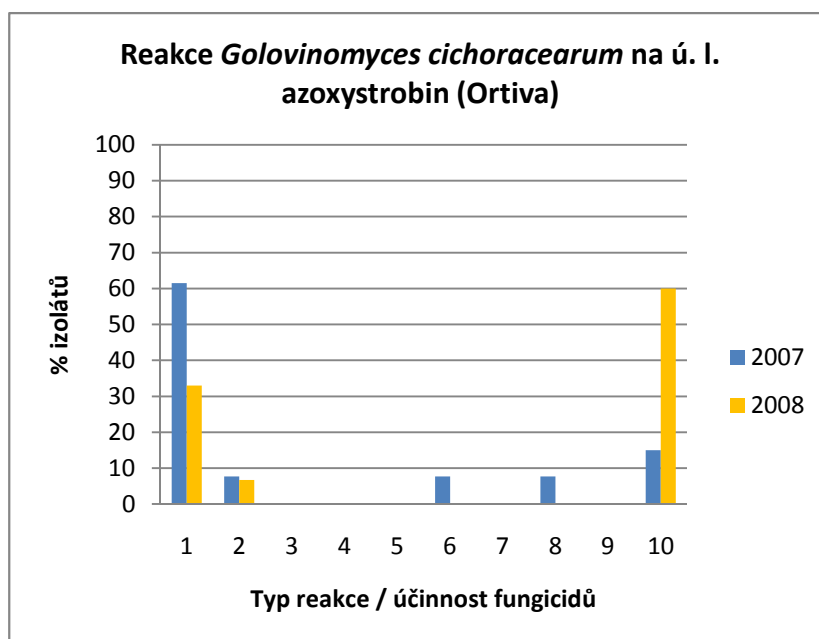
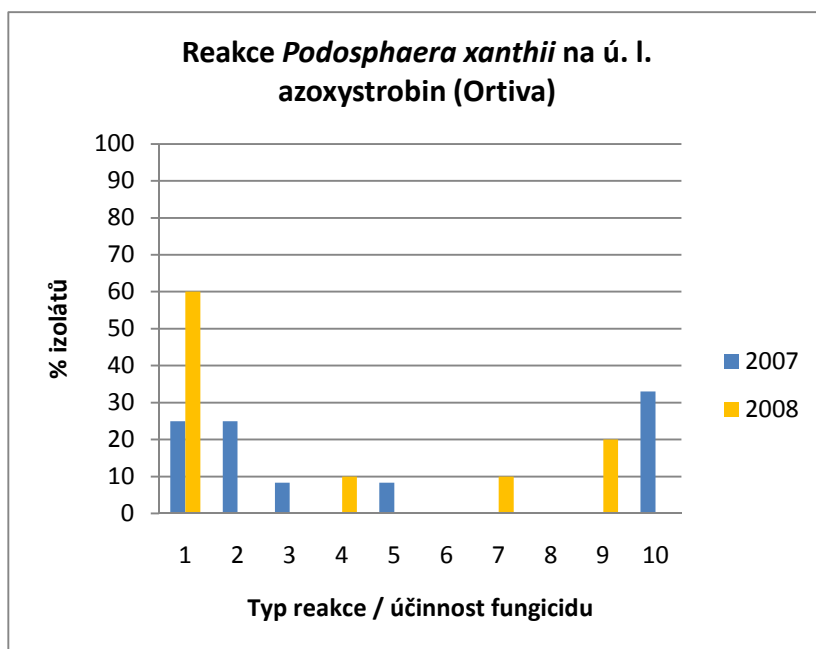
Graf 5. a 6. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Topsin M 70WP v letech 2007 a 2008.



Koncentrace fungicidu (%):
 Rubigan12 EC, Karathane LC:
 I.-0,008; II.-0,015; III.-0,03; IV.-0,06, V.-0,12
 Topsin M: I.-0,018; II.-0,037; III.-0,075; IV.-0,15;
 V.-0,3
 Ortiva: I.-0,05; II.-0,1; III.-0,2; IV.-0,4; V.-0,8
 *Koncentrace doporučená výrobcem

Typ reakce/ účinnost fungicidu (ú. I.)	Koncentrace fungicidu/reakce					
	K	I.	II.	III.*	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
8	+	+	+	(-)	(-)	-
9	+	+	+	+	+	(-)
10	+	+	+	+	+	+

Graf 7. a 8. Srovnání intenzity sporulace izolátů u přípravku Ortiva v letech 2007 a 2008.



Koncentrace fungicidu (%):
 Rubigan12 EC, Karathane LC:
 I.-0,008; II.-0,015; III.-0,03; IV.-0,06; V.-0,12
 Topsin M: I.-0,018; II.-0,037; III.-0,075; IV.-0,15; V.-0,3
 Ortiva: I.-0,05; II.-0,1; III.-0,2; IV.-0,4; V.-0,8
 * Koncentrace doporučená výrobcem

Typ reakce/ účinnost fungicidu (ú. I.)	Koncentrace fungicidu/reakce					
	K	I.	II.	III.*	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
8	+	+	+	(-)	(-)	-
9	+	+	+	+	+	(-)
10	+	+	+	+	+	+

Tab. 28. Srovnání reakcí vybraných izolátů *Podospaera xanthii* (2007 – 2008) podle lokalit* (okresů/krajů).

Izolát	Hostitelská rostlina	K	Koncentrace přípravku (%)																			
			Rubigan 12 EC (fenarimol)					Karathane LC (dinocap)					Topsin M (thiophanate-methyl)					Ortiva (azoxystrobin)				
Kraj/okres - lokalita			0,008	0,015	0,03 ^x	0,06	0,12	0,008	0,015	0,03 ^x	0,06	0,12	0,018	0,037	0,075 ^x	0,15	0,3	0,05	0,1	0,2 ^x	0,4	0,8
OL/PV Rozstání - Plumlov																						
23/07	CM ^y	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	(-)	(-)	-	-	-	-	-	-
13/08/1	CM	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
MS/NJ Kojetín																						
7/07/1	CP ZU	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	(-)	+	+	+	+	+
92/08	<i>C. moschata</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	(-)	-	-	-	-	-
MS/NJ Mořkov - Trojanovice																						
131/07	CP	+	-	-	-	-	-	(-)	(-)	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
132/07	CM	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	(-)	-	-	-	-
83/08	CM	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
JM/BK Lipovec - Jedovnice																						
24/07	CS	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	(-)	-	-	-	-
20/08	CP ZU	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	(-)	-	-	-	-	-
Králov/JC Holovousy - Králov/RK Voděřady																						
111/07	CS	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
54/08	CS	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Středoč/NY Lysá nad Labem - Středoč/MB Prodašice																						
123/07	CP PA	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
69/08	CP	+	-	-	-	-	-	(-)	(-)	-	-	-	+	+	+	+	(-)	+	+	+	+	+

*mapa lokalit viz Příloha obr. 10

^x Koncentrace doporučená výrobcem

^y CP *Cucurbita pepo* ZU (cuketa), PA (patison), CM *Cucurbita maxima*, CS *Cucumis sativus*, C. mosch.-*Cucurbita moschata*

Typy reakcí: -... **senzitivní** reakce, stupeň napadení (SN) = 0-10%; (-) ... **tolerantní** reakce, SN = 10,1-34,9%; + ... **rezistentní** reakce, SN ≥ 35%

Tab. 29. Srovnání reakcí vybraných izolátů *Golovinomyces cichoracearum* (2007 – 2008) podle lokalit* (okresů/krajů).

Izolát	Hostitelská rostlina	K	Koncentrace přípravku (%)																			
			Rubigan 12 EC (fenarimol)					Karathane LC (dinocap)					Topsin M (thiophanate-methyl)					Ortiva (azoxystrobin)				
Kraj/okres - lokalita			0,008	0,015	0,03 ^x	0,06	0,12	0,008	0,015	0,03 ^x	0,06	0,12	0,018	0,037	0,075 ^x	0,15	0,3	0,05	0,1	0,2 ^x	0,4	0,8
JM/BK Lipovec																						
26/07	CP ZU ^y	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17/08	CP ZU	+	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
JM/BO Brno-Želešice – Ořechov – Hajany																						
33/07	CM	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
37/07	CP ZU	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
26/08	CP ZU	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
JM/BV Velké Bílovice – Lednice																						
87/07	CP	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
1/08/2	CP	+	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Králov/RK Opočno – Dobruška																						
107/07	CP ZU	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
58/08	CP ZU	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Králov/NA Jaroměř																						
109/07	CP	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	-	-
60/08	CM	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

*mapa lokalit viz Příloha obr. 10

^x Koncentrace doporučená výrobcem

^y CP *Cucurbita pepo* ZU (cuketa), PA (patison), CM *Cucurbita maxima*, CS *Cucumis sativus*, C. mosch.-*Cucurbita moschata*

Typy reakcí: -... **senzitivní** reakce, stupeň napadení (SN) = 0-10%; (-) ... **tolerantní** reakce, SN = 10,1-34,9%; + ... **rezistentní** reakce, SN ≥ 35%

6. DISKUZE

Výsledky této diplomové práce odpovídají již dříve v České populaci padlí tykvoovitých pozorovaným trendům ve vývoji citlivosti vůči fungicidům (resp. jejich účinným složkám) (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2009, 2010; Sedláková a Lebeda, 2008).

Přípravek **Rubigan 12 EC** (ú. l.: **fenarimol**) vykazoval 100% účinnost v letech 2007-2008 vůči oběma druhům padlí tykvoovitých. U tohoto fungicidu nebyly ve sledovaném období pozorovány žádné rozdíly v účinnosti ani v rámci vybraných izolátů padlí tykvoovitých, které pocházely z opakovaně navštívených lokalit/okresů/krajů. Toto zjištění odpovídá výsledkům dřívějších studií sledování citlivosti/rezistence padlí k této účinné látce z let 2001-2006, kdy účinná látka fenarimol se jevila jako stále efektivní nástroj v ochraně proti padlí tykvoovitých (Lebeda et al., 2010; Sedláková a Lebeda, 2008; Sedláková et al., 2009). Avšak tyto dřívější studie této problematiky v ČR také zaznamenaly v některých sledovaných letech, na rozdíl od výsledků zpracovaných v této diplomové práci, i případy snížené citlivosti vůči tomuto přípravku u některých izolátů padlí tykvoovitých. Tento fakt se také v letech 2001-2004 potvrdil i u *Gc* izolátů pocházejících z některých opakovaně navštívených lokalit (Sedláková a Lebeda, 2008). Tento jev se dá vysvětlit tím, že česká populace padlí tykvoovitých je geneticky vysoce variabilní, např. ve své patogenitě, kdy v ČR byl popsán velký počet nových ve světě dosud nepopsaných patotypů a ras a byly rovněž pozorovány změny ve frekvenci jejich výskytu během let 2001-2007 (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2008; Sedláková a Lebeda, osobní sdělení). Právě případy výskytu fenarimol-tolerantních/resistentních kmenů mohou být potenciálními zdroji zvýšené tolerance/rezistence v případě, že se v populaci udrží. Fenarimol náleží ke skupině DMI fungicidů, které se vyznačují specifickým „single-site“ způsobem účinku. Tento způsob účinku je sice rizikovější pro vznik rezistence, rezistence k DMI fungicidům je ale obecně považována za kvantitativní rezistenci, vznikající modifikací několika interagujících genů (McGrath, 2005; Wyenandt et al., 2008). Pokud se v populaci objeví, nemusí nutně znamenat úplnou ztrátu účinnosti ochranného přípravku, protože patogeny reagují na přípravek s různou citlivostí. Se zvýšením dávky fungicidu nebo počtu aplikací se pak může rozvoj choroby omezit. Obecně je u podobných přípravků doporučováno střídání s kontaktními fungicidy nebo se systémovými fungicidy z jiné chemické skupiny, aby se snížilo riziko vzniku rezistence. Výskyt fenarimol-rezistentních kmenů *Px* byl zaznamenán např. v Řecku, Španělsku, Izraeli, Japonsku, Austrálii a Nizozemsku (Lebeda a Sedláková, 2004; McGrath, 2001). Výskyt křížové rezistence u fenarimol-rezistentních *Px* kmenů k jiným DMI fungicidům je uváděn z Nizozemska, Izraele (Scheppers, 1983; 1985) a Velké Británie (Kendall, 1986).

Přípravek **Karathane LC** (ú.l.: **dinocap**) vykazoval v obou sledovaných letech rovněž vysoký stupeň účinnosti. Všechny testované izoláty byly kontrolovány doporučenou koncentrací tohoto přípravku (0,03%). Avšak mezi oběma druhy padlí tykvovitých se v letech 2007-2008 ukázal rozdíl v reakci na nižší koncentrace tohoto přípravku (0,008%, 0,015%) a to na opakovaně navštívených lokalitách ze stejných/různých okresů či ze stejných krajů. Výskyt tolerantních či dokonce rezistentních kmenů byl zaznamenán v české populaci padlí tykvovitých (*Gc* i *Px*) také v letech 2001-2004 (Sedláková a Lebeda, 2008) a rovněž i v roce 2005 (Sedláková a Lebeda, 2010). V tomto roce byla u tohoto přípravku dokonce zaznamenána tolerantní reakce izolátů obou druhů padlí tykvovitých na koncentraci doporučené výrobcem (0,03%). V letech 2001-2004 byla pozorována rozdílná reakce na tento přípravek izolátů padlí tykvovitých, které pocházely z opakovaně navštívených lokalit ČR (Sedláková a Lebeda, 2008). Výskyt tolerantních kmenů vůči Karathanu LC (resp. ú.l. dinocapu) v české populaci padlí tykvovitých může opět podobně, jak tomu bylo i u Rubiganu 12 EC (ú.l.: fenarimolu), ukazovat na vysokou heterogenitu české populace padlí tykvovitých reprezentovanou vysokým počtem detekovaných patotypů a ras obou patogenů, jejichž frekvence se mění i v čase (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2008; Sedláková a Lebeda, osobní sdělení). Podobně jako fenarimol patří i dinocap mezi látky, u nichž je rezistence založena polygenně, je tudíž menší pravděpodobnost jejího vzniku. Zvýšený výskyt dinocap-tolerantních izolátů v populaci obou patogenů může znamenat potenciální riziko vzniku rezistence k tomuto přípravku (resp. jeho účinné látce). Důvodem může být skutečnost, že tyto kmeny se sníženou citlivostí mohou být v populaci patogenů trvale přítomny za pomoci různých mechanismů např. migrací a genového toku (Sedláková a Lebeda, 2008). Rezistence k dinocapu a k ostatním „multi-site“ kontaktním fungicidům je v zahraniční literatuře velmi málo zmiňována, je uváděna pouze z jižního Španělska, Japonska a Tchaj-wanu (McGrath, 2001; Sedláková a Lebeda, 2008).

Přípravek **Topsin M 70 WP** (ú.l.: **thiophanate-methyl**) se ukázal v obou sledovaných letech jako zcela neúčinný, kdy populace patogenů byly rezistentní k doporučené koncentraci tohoto přípravku (0,075%) a velká část populace rovněž vykazovala rezistentní reakci na vyšších koncentracích (0,15%, 0,3%). Ukázaly se však odlišnosti v reakci k tomuto fungicidu mezi oběma druhy patogenů. U druhu *Px* byly pozorovány i rozdíly v reakci mezi roky 2007-2008. Pouze u dvou izolátů (1*Gc*, 1*Px*) padlí tykvovitých pocházejících z opakovaně navštívených lokalit ze stejných/různých okresů či ze stejných krajů byla zaznamenána výrazně odlišná reakce k tomuto přípravku v obou sledovaných letech. Neúčinnost Topsinu M 70 WP (ú.l.: thiophanate-methylu) byla pozorována v České populaci padlí tykvovitých také v letech 2005-2006 (Lebeda et al., 2009b), s výjimkou roku 2005, kdy menší počet *Px* izolátů vykazoval výraznou nebo omezenou sporulaci na nejvyšší testované koncentraci (0,3%). Data o rezistenci k tomuto přípravku z doby před rokem 2004

z území ČR nejsou z dostupné literatury známa. Rovněž i data o stavu rezistence/tolerance izolátů padlí tykvovitých z let 2005-2006 z území ČR pocházejících z opakovaně navštívených lokalit nejsou dosud podrobně zpracována (Sedláková, osobní sdělení), a tak je nelze srovnat s daty z této diplomové práce. O rezistenci k thiophanate-methylu existuje v zahraniční literatuře jen velmi málo údajů, je uváděna pouze z USA (McGrath, 2005; Lebeda et al., 2010). Avšak rezistence k benomyly, který patří stejně jako thiophanate-methyl do skupiny benzimidazolových fungicidů je ze zahraničí velmi často uváděna např. z USA, Austrálie, Nizozemí a Japonska (Brown, 2002; McGrath, 2001; 2005; McGrath a Shishkoff, 2001; Sedláková a Lebeda, 2008; Lebeda et al., 2009b, 2010). Česká populace padlí tykvovitých se v letech 2001-2008 ukázala jako vysoce rezistentní a pravděpodobně u ní došlo ke vzniku cross-rezistence (křížové rezistence) mezi oběma benzimidazolovými fungicidy, benomylem a thiophanate-methylem (Lebeda a Sedláková, 2004, 2005; Sedláková a Lebeda, 2008; Lebeda et al., 2009b, 2010; Sedláková, osobní sdělení). Právě Fundazol 50 WP (s ú.l.: benomylem) byl v minulosti v ČR hojně používán k ochraně vůči padlí tykvovitých (Lebeda a Sedláková, 2004). Přípravky s benomylem jako účinnou látkou nejsou již několik let v ČR registrovány, thiophanate-methyl stále v registraci zůstává jako přípravek nejen k ošetření tykvovitých, ale i jiných druhů zelenin, polních plodin, okrasných rostlin, tabáku a dalších (Vošlajer a Juroch, 2005; Lebeda et al., 2010). Benzimidazolové fungicidy patří do skupiny systémových fungicidů s vysokým potenciálem vzniku rezistence, která je pro svůj kvalitativní charakter těžko překonatelná zvyšováním dávek nebo počtu aplikací přípravku (McGrath, 2001; 2005).

Účinnost přípravku **Ortiva** (ú.l.: **azoxystrobin**) vůči testovaným izolátům padlí tykvovitých se v obou sledovaných letech snižovala. Reakce těchto izolátů k tomuto fungicidu se lišila nejvýrazněji ve srovnání s ostatními testovanými přípravky a to jak mezi oběma druhy patogenů, tak i v rámci každého druhu zvlášť. Především byly pozorovány jak u druhu *Gc*, tak také u *Px* výrazné rozdíly v četnosti zastoupení izolátů s daným typem reakce mezi oběma sledovanými roky. V případě druhu *Gc* byl pozorován výrazný posun směrem k nárůstu rezistentních kmenů vůči tomuto přípravku, u druhu *Px* byl naopak zaznamenán posun směrem k větší citlivosti. Změny v rezistenci byly rovněž zjištěny u obou patogenů na opakovaně navštívených lokalitách/okresech ze stejného kraje ČR v letech 2007-2008 (část výsledků této diplomové práce publikována v pracích Lebeda et al., 2009b; 2010). Četnost tolerantních/rezistentních kmenů obou druhů patogenů v obou letech byla poměrně vysoká, což by mohlo naznačovat další možný vývoj rezistence. Navíc azoxystrobin se systémovým způsobem účinku patří mezi látky s vyšším rizikem vzniku rezistence u patogenní populace. Rezistence k azoxystrobinu má kvalitativní charakter (McGrath a Shishkoff, 2003; McGrath, 2005; Wyenandt et al., 2008), což výsledky této diplomové práce potvrzují. Jedním z možných vysvětlení by mohla být (již dříve v textu uváděná u ostatních přípravků) vysoká variabilita v patogenicitě a

virulenci českých populací padlí tykvovitých (Lebeda a Sedláková, 2004; Lebeda et al., 2008; Sedláková a Lebeda, osobní sdělení). Podle autorů Hollomona a Wheelera (2002) se rezistence v populacích padlí tykvovitých rozšířila již po prvním roce užívání strobilurinových (QoI) fungicidů v mnoha částech východní Asie a severních oblastech kolem Středozevního moře. Rezistence k azoxystrobinu byla zaznamenána také ve Španělsku (Fernández-Ortuño et al., 2006), Japonsku (Ishii et al., 2001) a USA (McGrath, 2005). Ve všech těchto zmiňovaných zemích se však jednalo o populace *Px*. O rezistenci k azoxystrobinu v *Gc* populaci padlí tykvovitých nejsou dosud v zahraniční literatuře žádné zmínky. I pro Českou republiku jsou současné výsledky nové a z území ČR z dřívějších let neznámé. Pro vysoký potenciál vzniku rezistence u této skupiny strobilurinových (QoI) fungicidů je proto vhodné při ošetřování plodin těmito přípravky dodržovat výrobcem doporučený postup (omezený počet aplikací a střídání s jinými nerizikovými fungicidy) (McGrath, 2005). Podle současných doporučení by QoI fungicidy měly být zahrnuty v jedné ze tří aplikací fungicidu, ovšem bez nepřetržitého používání a s maximem tří aplikací za sezónu (McGrath, 2005). Nakazawa (1995) na základě zkušeností s rezistencí ke skupině QoI fungicidů doporučuje omezení počtu aplikací těchto přípravků na jednu až dvě za sezóny. Strobilurinové fungicidy jsou velmi účinné při prevenci proti klíčení spor, proto by měly být použity v časných fázích vývoje choroby (preventivní ošetření) (McGrath, 2005).

Určení nejvhodnější strategie pro kontrolu vzniku rezistence vůči fungicidům vyžaduje pochopení mechanismu rezistence (kvalitativní, kvantitativní) a způsobu účinku přípravků. Pro snížení rizika vzniku rezistence se v současnosti doporučuje použití chemických prostředků, pokud možno nerizikových pro rozvoj rezistence, v kombinaci s nechemickými prostředky jako např. použití rezistentních kultivarů. Fungicidy by měly být aplikovány v dávkách a intervalech doporučených výrobcem. Dodržováním doporučených dávek se též minimalizuje selekce fenotypů se střední citlivostí k fungicidu. Fungicidy s větším potenciálem ke vzniku rezistence by měly být kombinovány nebo zaměňovány s multi-site fungicidy, u nichž je riziko vzniku rezistence nižší. Pro management rezistence by měl být uvažován i způsob účinku fungicidů. Např. QoI fungicidy inhibující klíčení spor, by proto měly být aplikovány v rozvoji choroby dříve než fungicidy s postinfekční aktivitou, jako jsou DMI přípravky (McGrath, 2005).

Tato diplomová práce je však pouze dílčím příspěvkem ke studiu rezistence resp. tolerance padlí tykvovitých (*G. cichoracearum*, *P. xanthii*) k vybraným fungicidům, kterým se zabývá Fytopatologická laboratoř Katedry botaniky PŘF UP v Olomouci. Tato problematika je rovněž součástí následujících výzkumných projektů, na nichž se Fytopatologická laboratoř v současnosti podílí: Variabilita složek a interakcí v rostlinném patosystému a vliv faktorů prostředí na jejich projev (MSM 6198959215), Diagnostika a metody integrované ochrany proti karanténním a dalším ekonomicky významným patogenům (Mze ČR (NAZV) QH 71229, Biodiverzita rostlin a jejich interakce s prostředím (Prf 2010 001).

7. ZÁVĚR

Tato diplomová práce byla zaměřena na studium rezistence původců padlí tykvovitých (*Podosphaera xanthii* a *Golovinomyces cichoracearum*) k vybraným fungicidním přípravkům v České republice. V návaznosti na předchozí studium této problematiky, byly vybrány tyto fungicidy: Rubigan 12 EC (ú. l. fenarimol), Karathane LC (ú. l. dinocap), Topsin M 70 WP (ú. l. thiophanate-methyl) a Ortiva (ú. l. azoxystrobin). Tyto fungicidy byly testovány s využitím modifikované metody listových disků (Lebeda a Sedláková, 2004; Sedláková a Lebeda, 2008).

Přípravek **Rubigan 12 EC** (ú. l.: **fenarimol**) vykazoval 100% účinnost v letech 2007-2008 vůči oběma druhům padlí tykvovitých. U tohoto fungicidu nebyly ve sledovaném období pozorovány žádné rozdíly v účinnosti v rámci vybraných izolátů padlí tykvovitých, které pocházely z opakovaně navštívených lokalit/okresů/krajů.

Přípravek **Karathane LC** (ú.l.: **dinocap**) byl v obou sledovaných letech rovněž vysoce účinný. Všechny testované izoláty byly kontrolovány doporučenou koncentrací tohoto přípravku (0,03%). Avšak mezi oběma druhy padlí tykvovitých se v letech 2007-2008 ukázal rozdíl v reakci na nižší koncentrace tohoto přípravku (0,008%, 0,015%) a to na opakovaně navštívených lokalitách ze stejných/různých okresů nebo stejných krajů. Výskyt kmenů tolerantních k nižším koncentracím tohoto fungicidu ve sledovaném dvouletém období, by mohl být potenciálním zdrojem rezistence vůči tomuto přípravku v budoucnosti v případě, že se v populaci udrží.

Přípravek **Topsin M 70 WP** (ú.l.: **thiophanate-methyl**) se jevil v obou sledovaných letech jako zcela neúčinný. Populace patogenů překonaly doporučenou koncentraci tohoto přípravku (0,075%) a velká část populace rovněž vykazovala rezistentní reakci na vyšších koncentracích tohoto přípravku (0,15%, 0,3%). Ukázaly se však také odlišnosti v reakci k tomuto fungicidu mezi oběma druhy patogenů a u druhu *Px* byly pozorovány i rozdíly v reakci mezi roky 2007-2008. Pouze u dvou izolátů (*1Gc*, *1Px*) padlí tykvovitých pocházejících z opakovaně navštívených lokalit ze stejných/různých okresů nebo stejných krajů, byla zaznamenána výrazně odlišná reakce k tomuto přípravku v obou sledovaných letech. Přípravek Topsin M, který je jediným přípravkem z benzimidazolové skupiny doporučený k ochraně vůči padlí tykvovitých v České republice, tedy nelze doporučit k ochraně proti této chorobě.

Účinnost přípravku **Ortiva** (ú.l.: **azoxystrobin**) vůči testovaným izolátům padlí tykvovitých se v obou sledovaných letech snižovala. Reakce těchto izolátů k tomuto fungicidu se lišila nejvýrazněji ve srovnání s ostatními testovanými přípravky, a to jak mezi oběma druhy patogenů, tak i v rámci každého druhu zvlášť. Především byly pozorovány jak u druhu *Gc*, tak také u *Px* výrazné rozdíly v četnosti zastoupení izolátů s daným typem reakce mezi oběma sledovanými roky. V případě druhu

Gc byl pozorován výrazný posun směrem k nárůstu rezistentních kmenů vůči tomuto přípravku, u druhu *Px* byl naopak zaznamenán posun směrem k větší citlivosti. Přípravek Ortiva, s účinnou látkou azoxystrobinem, patří mezi látky s vyšším rizikem vzniku rezistence u patogenní populace a existuje tedy reálné nebezpečí ztráty jeho účinnosti v populaci patogenů v ČR. Je proto žádoucí, aby se v zemědělské praxi přistupovalo k ošetření tímto přípravkem obezřetně a podle doporučených postupů.

Teoretické shrnutí v této práci a získané výsledky by mohly přispět k dalšímu studiu rezistence populací padlí tykvovitých vůči fungicidům.

8. POUŽITÁ LITERATURA

- AUST, H. J., HOYNINGEN-HUENE, J. (1986): Microclimate in relation to epidemics of powdery mildew. *Annual Review Phytopathology*. 24: 491-510.
- BALLANTYNE, B. (2004): Toxicology of fungicides. In: Marrs, T. C.; Ballantyne, B. (Eds), *Pesticide Toxicology and International Regulation*. Wiley, England, pp. 193-303.
- BARDIN, M.; NICOT, P. C.; NORMAND, P.; LEMAIRE, J. M. (1997): Virulence variation and DNA polymorphism in *Sphaerotheca fuliginea*, causal agent of powdery mildew of cucurbits. *European Journal of Plant Pathology*. 103: 545-554.
- BARDIN, M.; CARLIER, J.; NICOT, P. C. (1999): Genetic differentiation in the French population of *Erysiphe cichoracearum*, a causal agent of powdery mildew of cucurbits. *Plant Pathology*. 48: 531-540.
- BARTLETT, D. W.; CLOUGH, J. M.; GODWIN, J. R.; HALL, A. A.; HAMER, M.; PARR-DOBZANSKI, B. (2002): The strobilurin fungicides. *Pesticide Management Science*. 58: 649-662.
- BÉLANGER, R. R.; LABBÉ, C. (2002): Control of powdery mildews without chemicals: Prophylactic and biological alternatives for horticultural crops. In: Bélangér, R. R.; Bushnell, W. R.; Dik, A. J. and Carver, L. W. (Eds), *The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise*. APS Press, St. Paul, MN, pp. 256-267.
- BENT, K. J.; COLE, A. M.; TURNER, J. A. W.; WOOLMER, M. (1971): Resistance of cucumber powdery mildew to dimethirimol. In: *Proc. 6th Br. Insectic. Fungic. Conf.*, pp. 274-282.
- BETTIOL, W. (1999): Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in greenhouse conditions. *Crop Protection*. 18: 489-492.
- BOSCH van den, F.; GILLIGAN, Ch. A. (2008): Models of fungicide resistance dynamics. *Annual Review of Phytopathology*. 46/1: 123-147.
- BRAUN, U. (1987): A monograph of the Erysiphales (powdery mildews). *Beih. Nova Hedwigia*. 89: 1-700.
- BRAUN, U.; COOK, R. T. A.; INMAN, A. J.; SHIN, H. D. (2002): The taxonomy of the powdery mildew fungi. In: Bélangér, R. R.; Bushnell, W. R.; Dik, A. J. and Carver, L. W. (Eds), *The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise*. APS Press, St. Paul, MN, pp. 13-55.
- BRENT, K.J. (1995): Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed? *FRAC Monogr.* 1, GIFAP, Brussels.
- BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. (2007a): Fungicide resistance: The assessment of risk. *FRAC Monograph*, No. 2, second (revised) edition.

- BRENT, K. J.; HOLLOWAY, D. W. (2007b): Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed? FRAC Monograph, No. 2 second (revised) edition.
- BROWN, J. K. M. (2002): Comparative genetics of avirulence and fungicide resistance in the powdery mildew fungi. In: Bélanger, R. R.; Bushnell, W. R.; Dik, A. J. and Carver, L. W. (Eds), The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise. APS Press, St. Paul, MN, pp. 56-65.
- COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. (2004): Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: Factors affecting race identification and the importance for research and commerce. *Phytoparasitica*. 32: 174-183.
- DAAYF, F.; SCHMITT, A.; BÉLANGER, R. R. (1995): The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. *Plant Disease*. 79: 577-580.
- DIK, A. J.; van der STRAAY. (1995): The effect of Milsana on cucumber powdery mildew under Dutch conditions. *Mededelingen van de Faculteit der Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit te Gent*. 59: 1027-1034.
- DINOOR, A. (1974): Role of wild and cultivated plants in the epidemiology of plant diseases in Israel. *Annual Review Phytopathology*. 12: 413-436.
- FAWE, A.; ABOU-ZAID, M.; MENZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. (1998): Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology*. 88: 396-401.
- FERNANDEZ, D.-O.; PEREZ, A.-G.; LOPEZ, F.-R.; ROMERO, D.; De VINCENTE, A.; TORES, J. A. (2006): Occurrence and distribution of resistance to QoI fungicides in populations of *Podosphaera fusca* in south central Spain. (Abstr.) *European Journal of Plant Pathology*. 115/2: 215-222.
- FOFANA, B.; McNALLY, D. J.; LABBÉ, C. et al. (2002): Milsana-induced resistance in powdery mildew-infected cucumber plants correlates with the induction of chalcone synthase and chalcone isomerase. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 61: 121-132.
- GALLIAN, J. J.; MILLER, J. S.; NOLTE, P. (2002): Managing fungicide resistance.
- GISI, U.; CHIN, K. M.; KNAPOVA, G.; KÜNG FÄRBER, R.; MOHR, U.; PARISI, S.; SIEROTZKI, H.; STEINFELD, U. (2000): Recent developments in elucidating modes of resistance to phenylamide, DMI and strobilurin fungicides. *Crop Protection*. 19: 863-872.
- GISI, U.; SIEROTZKI, H.; COOK, A.; McCAFFERY, A. (2002): Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Management Science*. 58: 859-867.
- GUBLER, W. D.; YPEMA, H. L.; OUIMETTE, D. G.; BETTIGA, L. J. (1996): Occurrence of resistance in *Uncinula necator* to triadimefon, myclobutanil, and fenarimol in California grapevines. *Plant Dis*. 80: 902-909.

- HEANEY, S. P.; HALL, A. A.; DAVIES, S. A.; OLAYA, G. (2000): Resistance to fungicides in the QoI-STAR cross resistance group: Current perspectives. Proceedings of the BCPC Conference. Pests & Diseases, pp. 755 – 762.
- HIJWEGEN, T. (1992): Biological control of cucumber powdery mildew with *Tilletiopsis minor* under greenhouse conditions. Neth. J. Plant Pathol. 98: 221-225.
- HOLLOMON, D. W.; BUTTERS, J. A.; HARGREAVES, J. A. (1990): Resistance to sterol biosynthesis inhibiting fungicides – Current status and biochemical basis. In: Green, M. B.; LeBaron H. M.; Moberg, W. K. (Eds), Managing Resistance to Agrochemicals: From fundamental research to practical strategies. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 199-214.
- HOLLOMON, D. W.; BUTTERS, J. A.; KENDALL, S. J. (1997): Mechanism of resistance to fungicides. In: Sjut, V. (Ed), Molecular mechanisms of resistance to agrochemicals. Springer Verlag, Berlin, Germany, pp. 1-20.
- HOLLOMON, D. W.; WHEELER, I. E. (2002): Controlling powdery mildews with chemistry. In: Bélangér, R. R.; Bushnell, W. R.; Dik, A. J.; Carver, L. W. (Eds), The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise. APS Press, St. Paul, MN, pp. 249-255.
- HOMMA, Y. (1937): Erysiphaceae of Japan. J. Fac. Agric. Hokkaido Imp. Univ. 38: 183-461.
- HUGGENBERGER, F.; COLLINS, M. A.; SKYLAKAKIS, G. (1984): Decreased sensitivity of *Sphaerotheca fuliginea* to fenarimol and other ergosterol-biosynthesis inhibitors. Crop Protection. 3: 137-149.
- CHIN, K. M. (1987): A simple model for fungicide resistance in plant pathogen populations. Phytopathology. 77: 666-669.
- ISHII, H. (2009): QoI fungicide resistance: Current status and the problems associated with DNA-based monitoring. In: Gisi, U.; Chet, I.; Gullino, M. L. (Eds), Recent developments in management of plant diseases. Springer Netherlands, pp. 37-45.
- JAHN, M.; MUNGER, H. M.; McCREIGHT, J. D. (2002): Breeding cucurbit crops for powdery mildew resistance. In: Bélangér, R. R.; Bushnell, W. R., Dik, A. J.; Carver, L. W. (Eds), The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise. APS Press, St. Paul, MN, pp. 239-248.
- JARVIS, W. R.; GUBLER, W. D.; GROVE, G. G. (2002): Epidemiology of powdery mildews in agricultural pathosystems. In: Bélangér, R. R.; Bushnell, W. R.; Dik, A. J.; Carver, L. W. (Eds), The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise. APS Press, St. Paul, MN, pp. 169-199.
- KANG, N. J. (2008): Inhibition of powdery mildew development and activation of antioxidant enzymes by induction of oxidative stress with foliar application of a mixture of riboflavin and methionine in cucumber. Scientia Horticulturae. 118: 181-188.
- KEINATH, A. P.; DuBose, V. B. (2004): Evaluation of fungicides for prevention and management of powdery mildew on watermelon. Crop Protection. 23: 35-42.

- KENDALL, S. J. (1986): Cross-resistance of triadimenol-resistant fungal isolates to other sterol C-14 demethylation inhibitor fungicides. *Pests Disease*. 2: 539-546.
- KNIGHT, S. C.; ANTHONY, V. M.; BRADY, A. M.; GREENLAND, A. J.; HEANEY, S. P.; MURRAY, D. C.; POWELL, K. A.; SCHULZ, M. A.; SPINKS, C. A., WORTHINGTON, P. A.; YOULE, D. (1997): Rationale and perspectives on the development of fungicides. *Annual Review Phytopathology*. 35: 349-372.
- KŘÍSTKOVÁ, E.; LEBEDA, A. (2000a): Powdery mildew field infection on leaves and stems of *Cucurbita pepo* accessions. *Acta Horticulturae*. 510: 61-66.
- KŘÍSTKOVÁ, E.; LEBEDA, A. (2000b): *Citrullus lanatus* – a potential host of powdery mildew in the Czech Republic. *Cucurbit Genetics Cooperative Report*. 23: 46-48.
- KŘÍSTKOVÁ, E.; LEBEDA, A.; SEDLÁKOVÁ, B. (2009): Species spectra, distribution and host range of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic, and in some other European and Middle Eastern countries. *Phytoparasitica*. 37: 337-350.
- KUCK, K. H. (2005): Fungicide resistance management in a new regulatory environment. In: DEHNE, H. W.; GISI, U.; KUCK, K. H.; RUSSELL, P. E.; LYR, H. (Eds), *Modern fungicides and anti-fungal compounds*, BCPC, Alton UK., pp. 35-43.
- KUNZ, S; DEISING, H; MENDGEN, K. (1997): Acquisition of resistance to sterol demethylation inhibitors by population of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. 87/12: 1272-1278.
- KŮDELA, V. a kol. (1989): *Obecná fytopatologie*, Academia, Praha.
- LEACH, C. M.; APPLE, J. D. (1984): Leaf surface electrostatics. Behaviour of detached leaves of beans, maize and other plants under natural conditions. *Phytopathology*. 74: 704-709.
- LEBEDA, A. (1983): The genera and species spectrum of cucumber powdery mildew in Czechoslovakia. *Phytopathology*. 108: 71-79.
- LEBEDA, A. (1986): Padlí okurkové. *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea* (Cucurbit powdery mildew. *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea*. In: Lebeda, A. (Ed), *Methods of testing vegetable crops for resistance to plant pathogens*. VHI Sempra, Research Institute of Vegetable crops, Olomouc, pp. 87-91.
- LEBEDA, A.; KŘÍSTKOVÁ, E. (1994): Field resistance of *Cucurbita* species to powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum*). *J. Plant Dis. Protec.* 101: 598-603.
- LEBEDA, A.; KŘÍSTKOVÁ, E. (1996): Genotypic variation in field resistance of *Cucurbita pepo* cultivars to powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum*). *Genet. Resour. Crop Evol.* 43: 79-84.
- LEBEDA, A.; KŘÍSTKOVÁ, E.; SEDLÁKOVÁ, B. (2004): Distribution, harmfulness and pathogenic variability of cucurbit powdery mildew in the Czech Republic. *Acta fytotechnica et zootechnica*. 7: 174-176.

- LEBEDA, A.; KŘÍSTKOVÁ, E.; SEDLÁKOVÁ, B.; McCREIGHT, J. D.; COFFEY, M. D. (2008): New concept for determination and denomination of pathotypes and races of cucurbit powdery mildew. In: Pitrat M. (Ed): Cucurbitaceae 2008, IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae. INRA, Avignon, France, May 21-24, 2008, pp. 125-134.
- LEBEDA, A.; SEDLÁKOVÁ, B. (2004): Druhové spektrum, patogenní variabilita a rezistence vůči fungicidům u padlí tykvovitých. Rostlinolékař. 6: 15-19.
- LEBEDA, A.; SEDLÁKOVÁ, B. (2005): Ochrana okurek a dalších tykvovitých zelenin vůči padlí tykvovitých. In: Kocourek F. et al. (Eds): Metodika pro integrovaný systém ochrany polní zeleniny vůči škodlivým organismům (Sborník přednášek), prezentační seminář výsledků řešení výzkumného projektu Mze QD1357 „Systémy ochrany polní zeleniny vůči škodlivým organismům,“ 30.11.2005, Praha, pp. 39-53.
- LEBEDA, A.; SEDLÁKOVÁ, B.; KŘÍSTKOVÁ, E.; VYSOUDIL, M. (2009a): Long-lasting changes in the species spectrum of cucurbit powdery mildew in the Czech republic-Influence of air temperature changes or random effect? Plant Protection Science. 45: S41-S47.
- LEBEDA, A.; SEDLÁKOVÁ, B.; PEJCHAR, M.; JEŘÁBKOVÁ, H. (2009b): Variation for fungicide resistance among cucurbit powdery mildew populations in the Czech Republic. In: The 4th International Cucurbitaceae Symposium, September 20-24, Hunan Agricultural University and International Society for Horticultural Science (ISHS), Changsha, Hunan, China Abstracts, p. 117.
- LEBEDA, A.; SEDLÁKOVÁ, B.; PEJCHAR, M.; JEŘÁBKOVÁ, H. (2010): Variation for fungicide resistance among cucurbit powdery mildew populations in the Czech republic. Acta Horticulturae (v tisku).
- LEBEDA, A.; WIDRLECHNER, M. P.; STAUB, J.; EZURA, H.; ZALAPA, J.; KŘÍSTKOVÁ, E. (2007): Cucurbits (Cucurbitaceae; *Cucumis* spp., *Cucurbita* spp., *Citrullus* spp.). In: Singh, R. (Ed), Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement Series, Volume 3 – Vegetable Crops, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 271-376.
- MA, Z.; MICHAELIDES, T. J. (2005): Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. Crop Protection. 24: 853–863.
- McCreight, D.J. (2006): Melon-powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. J. Amer. Soc. Hortic. Sci. 131: 59-65.
- McGRATH, M. T. (1991): Reduced effectiveness of triadimefon for controlling cucurbit powdery mildew associated with fungicide resistance in *Sphaerotheca fuliginea*. (Abstr.); Phytopathology. 81: 1191.

- McGRATH, M. T. (1996): Successful management of powdery mildew in pumpkin with disease threshold-based fungicide programs. *Plant Disease*. 80: 910-916.
- McGRATH, M. T. (2001): Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and challenges. *Plant Disease*. 85: 236-245.
- McGRATH, M. T. (2004): Protectant fungicides for managing powdery mildew in cucurbits: How do they stack up?
http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Cuc_Cntct_Fcides.htm.
- McGRATH, M. T. (2005): Guidelines for managing cucurbit powdery mildew with fungicides in 2005.
http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Cuc_PM_Update.htm.
- McGRATH, M. T.; SHISHKOFF, N., (1999): Evaluation of biocompatible products for managing cucurbit powdery mildew. *Crop Protection*. 18: 471-478.
- McGRATH, M. T.; SHISHKOFF, N. (2001): Resistance to triadimefon and benomyl: Dynamics and impact on managing cucurbit powdery mildew. *Plant Disease*. 85: 147-154.
- MIGUEZ, M.; REEVE, C.; WOOD, P. M.; HOLLOWAY, D. W. (2004): Alternative oxidase reduces the sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* to QoI fungicides. *Pest Management Science*. 60: 3-7.
- MORI, Y.; SATO, Y.; TAKAMATSU, S. (2000): Evolutionary analysis of the powdery mildew fungi using nucleotide sequences of the nuclear ribosomal DNA. *Mycologia*. 92: 74-93.
- MOSEMANN, J. G. (1966): Genetics of powdery mildews. *Annual Review of Phytopathology*. 4: 269-291.
- NAKAZAWA, Y. (1995): Current status of DMI resistance in powdery mildew of cucurbits in Japan; p 14 In: The International workshop on fungicide resistance: A factor limiting quality food production. Tshukuba, Ibaraki, Japan. In: McGrath, M.T.: Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and challenges. *Plant Disease*. 85: 236-245, 2001, p. 239.
- NEUMANN, S.; JACOB, F. (1995): Principles of uptake and systemic transport of fungicides within plant. In: Lyr, H.; Fischer, G. (Eds), *Modern selective fungicides*. Jena, pp. 53-73.
- O'BRIEN, R. G. (1994): Fungicide resistance in populations of cucurbit powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*). *N.Z. J. Crop Hortic. Sci.* 22: 145-149.
- OLAYA, G.; MORENO, M.; LUM, B.; HEANEY, S. (2000): Azoxystrobin resistance monitoring study for *Sphaerotheca fuliginea* populations collected in the United States and Mexico. (Abstr.) *Phytopathology*. 90: S 57.
- PEARSON, R. C.; GADOURY, D. M. (1987): Cleistothecia, the source of primary inoculum for grape powdery mildew in New York. *Phytopathology*. 77: 1509-1514.
- RUSSELL, P. E. (2004) Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management. *FRAC Monograph No 3*. CropLife International, Brussels, pp. 56.

- SALLE, A. J. (1954): Fundamental principles of bacteriology. Hill Book, New York.
- SAENZ, G. S.; TAYLOR, J. W. (1999): Phylogeny of the Erysiphales (powdery mildews) inferred from internal transcribed spacer (ITS) ribosomal DNA sequences. *Can. J. Bot.* 77: 150-169.
- SEDLÁKOVÁ, B.; LEBEDA, A. (2008): Fungicide resistance in czech populations of cucurbit powdery mildews. *Phytoparasitica.* 36/3: 272-289.
- SEDLÁKOVÁ, B.; LEBEDA, A. (2009): Výskyt hyperparazitické houby *Ampelomyces quisqualis* na původcích padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*) v České republice v letech 2002-2006). In: Česko-slovenská vědecká mykologická konference, Brno 27.-29.8.2009, Abstrakty. Česká vědecká společnost pro mykologii, Praha, pp. 96-97.
- SEDLÁKOVÁ, B.; LEBEDA, A.; PEJCHAR, M.; JEŘÁBKOVÁ, H. (2009): Occurrence of the strains with resistance to fungicides in Czech cucurbit powdery mildew populations. In: Šafránková I. and Šefrová H. (Eds): XVIII. Czech and Slovak Plant Protection Conference, Abstracts supplement; 2.-4. September 2009, Brno, Czech Republic, Abstract, p. 119.
- SCHEPERS, H. T. A. M. (1983): Decreased sensitivity of *Sphaerotheca fuliginea* to fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis. *Neth. J. Plant Pathol.* 89: 185-187.
- SCHEPERS, H. T. A. M. (1984): Persistence of resistance to fungicides in *Sphaerotheca fuliginea*. *Neth. J. Plant Pathol.* 90: 165-171.
- SCHEPERS, H. T. A. M. (1985): Changes during three-year period in the sensitivity to ergosterol biosynthesis inhibitors of *Sphaerotheca fuliginea* in the Netherlands. *Neth. J. Plant Pathol.* 91: 105-118.
- SCHNATHORST, W. C. (1965): Environmental relationships in the powdery mildews. *Annual Review of Phytopathology.* 25/3: 343-366.
- SCHROEDER, W. T.; PROVIDENTI, R. (1969): Resistance to benomyl in powdery mildew of cucurbits. *Plant. Dis. Rep.* 53: 271-275.
- STEFFENS, J. J.; PELL, E. J.; TIEN, M. (1996): Mechanisms of fungicide resistance in phytopathogenic fungi. *Current Opinion in Biotechnology.* 7: 348-355.
- TZENG, D. D. S. (1996): The use of MR formulation as a novel and environmentally safe photodynamic fungicide for the control of powdery mildews. *Crop Protection.* 15/4: 341-347.
- VAKALOUNAKIS, D. J.; KLIRONOMOU, E.; PAPADAKIS, A. (1994): Species spectrum, host range and distribution of powdery mildews on Cucurbitaceae in Crete. *Plant Pathology.* 43: 813-818.
- VOŠLAJER, Z.; JUROCH, J. (2005): Ani v létě nelze ochranu plodin zanedbat. *Rostlinolékař* 16/4: 7-15.
- WYENANDT, Ch. A.; MAXWELL, N.; WARD, D. L. (2008): Fungicide programs affect practical resistance development in cucurbit powdery mildew of pumpkin. *HortScience.* 43/6: 1838-1845.
- YANG, X.; YANG, L.; WANG, S.; YU, D.; NI, H. (2007): Synergistic interaction of phycion and chrysophanol on plant powdery mildew. *Pest Management Science.* 63: 511-515.

- YANG, X.; YANG, L.; ZENG, F.; YU, D.; NI, H. (2008): Distribution in baseline sensitivities to natural product physon among isolates of *Podosphaera xanthii* and *Pseudoperonospora cubensis*. Plant Disease. 92: 1451-1455.
- YANG, X.; MA, X.; YANG, L.; YU, D.; QIAN, Y.; NI, H. (2009): Efficacy of *Rheum officinale* liquid formulation on cucumber powdery mildew. Crop Protection. 28: 1031-1035.
- YARWOOD, C. E. (1950): Water content of fungus spores. Am. J. Bot. 37: 636-639.
- YARWOOD, C. E. (1957): Powdery mildews. Bot. Rev. 33: 235-301.
- ZLOCHOVÁ, K. (1990): Autoreferát dizertácie na získanie vedeckej hodnosti kandidáta biologických vied. Botanický ústav SAV, Bratislava: 17ss.

9. INTERNETOVÉ ZDROJE

- www.regulations.gov, www.agrokrom.cz/texty/pripravky/rubigan_12_ec_doe.pdf
- www.frac.info
- http://www.frac.info/frac/work/work_qolf.htm
- www.uniprot.org/uniprot/O14442

10. PŘÍLOHA

Obr. 1 a – c. Příznaky napadení padlím tykvovitých na porostech *Cucurbita* spp. v polních podmínkách.

Obr. 1 a. Rezistentní (v popředí) a vnímavá (v pozadí) odrůda *Cucurbita* sp. vůči padlí tykvovitých.



Obr. 1 b. *Cucurbita moschata* napadená padlím tykvovitých.



Obr. 1 c. *Cucurbita pepo* silně napadená padlím tykvovitých.



Obr. 2 a, b. *Cucumis* spp. napadený padlím tykvovitých ve skleníku (vlevo) a na poli (vpravo).



Obr. 3. Náchylná odrůda okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Stela F1 pěstovaná ve skleníku použitá na testování rezistence padlí tykvovitých vůči fungicidům.



Obr. 4. Udržování izolátů padlí tykvovitých na semenáčcích okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Stela F1 ve fytotronu.



Obr. 5 a, b. Sporulace padlí tykvovitých na děložních listech náchylné odrůdy okurky seté (*Cucumis sativus*) cv. Stela F1



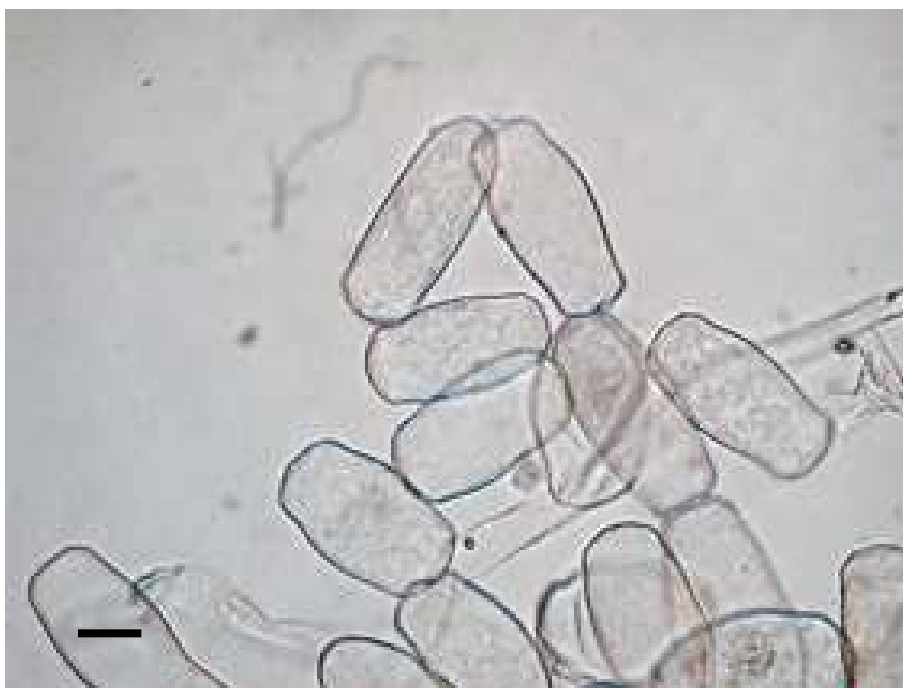
Obr. 6. Plastová krabička s listovými disky ošetřenými fungicidem po inokulaci izolátem padlí tykvovitých.



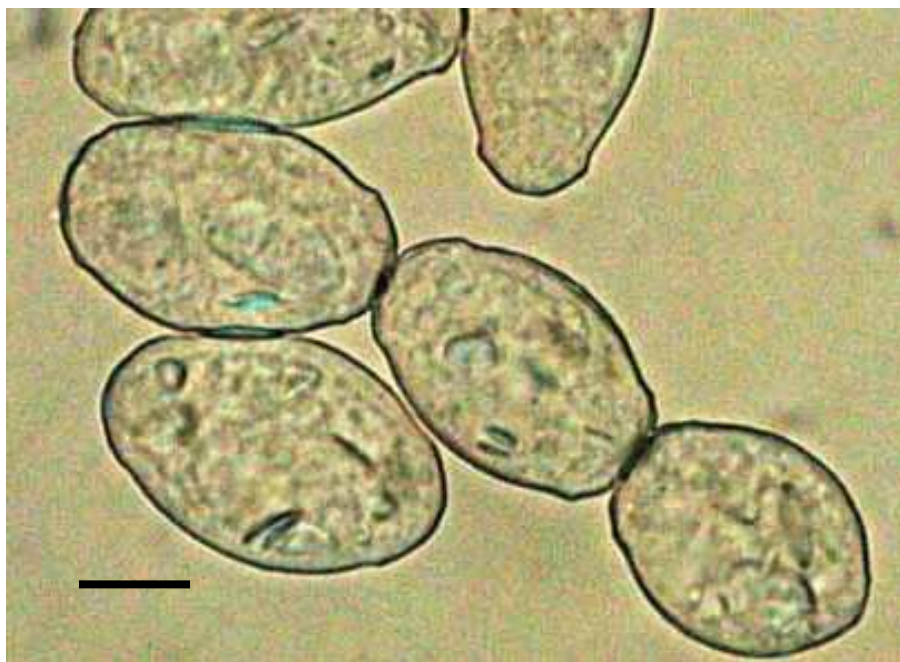
Obr. 7. Sporulace padlí na listových discích (*Cucumis sativus*) cv. Stela F1 ošetřených fungicidem Topsin M (4. a 5. koncentrace – 0,15% a 0,30%) 14. den po inokulaci.



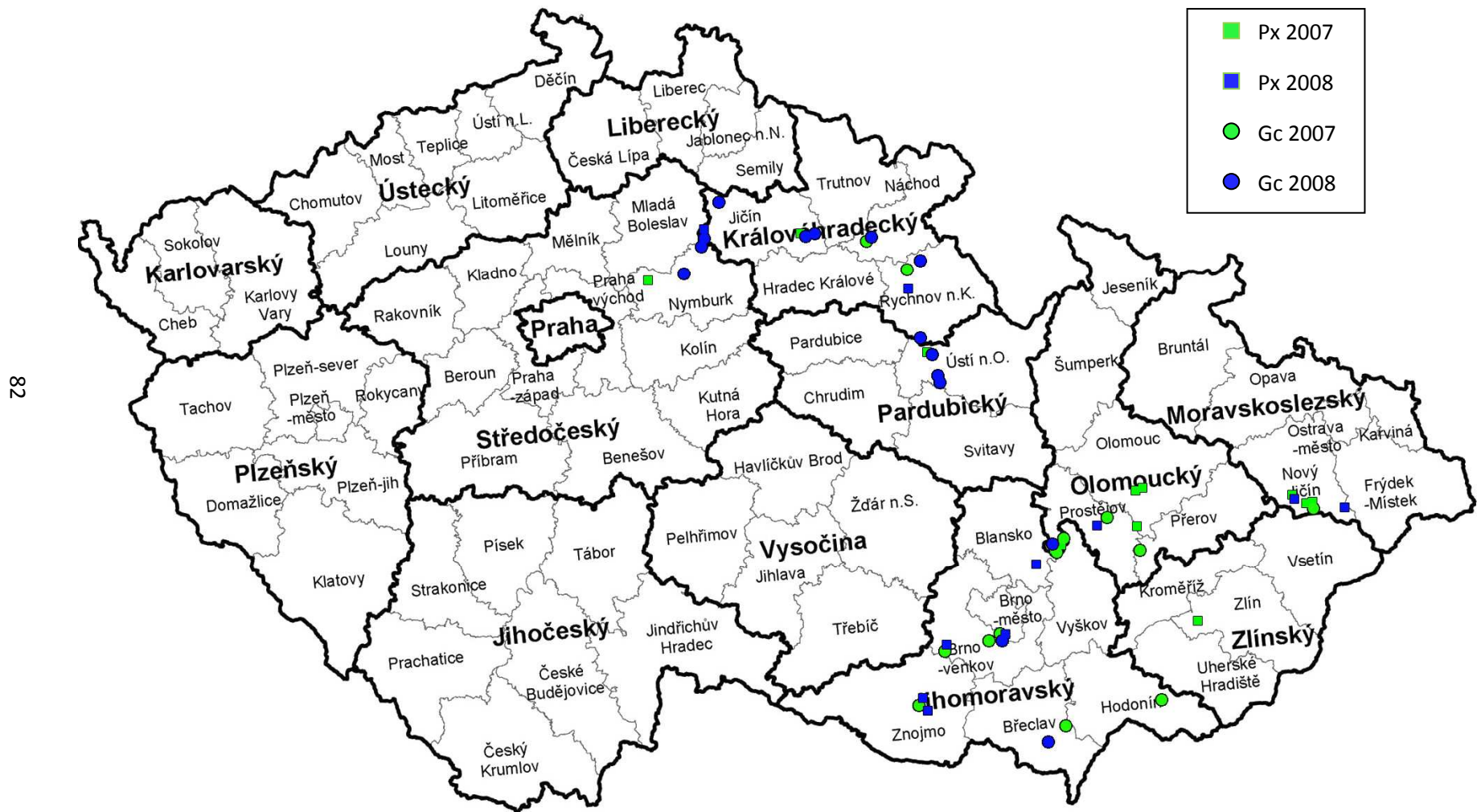
Obr. 8. Konidie *Golovinomyces cichoracearum* (bar = 10 μm).



Obr. 9. Konidie *Podosphaera xanthii* (bar = 10 μm).



Obr. 10. Lokality původu izolátů *Podosphaera xanthii* (Px) a *Golovinomyces cichoracearum* (Gc) získané v letech 2007 - 2008 při sběrech na území ČR.



Tab. 30. Příklady fungicidních přípravků registrovaných proti padlí tykvovitých ve světě (podle McGrath, 2001).

Chemická skupina	Chemický název	Účinná látka	Některé země, kde byl přípravek registrovaný	
Fungicidy se specifickým způsobem účinku, rizikové pro vznik rezistence				
DMI	imidazol	benomyl	Austrálie, Brazílie, Kanada, Česká rep., Taiwan, USA	
		carbendazim	Austrálie	
		thiophanate-methyl	Brazílie, Česká rep., USA	
	piperazin	imazalil	Taiwan	
		prochloraz	Taiwan	
		triflumizol	Izrael, Japonsko, Španělsko, Taiwan	
		triforin	Brazílie, Izrael, Španělsko	
	pyrimidin	fenarimol	Austrálie, Brazílie, Česká rep., Izrael, Španělsko, Taiwan	
		triazol	nuarimol	Španělsko
			bromuconazol	Izrael
			cyproconazol	Španělsko
			diniconazol	Taiwan
			fenbuconazol	Izrael
			hexaconazol	Taiwan
			myclobutanil	Kanada, Izrael, Japonsko, Španělsko, Taiwan, USA
penkonazol			Izrael, Španělsko, taiwan	
propiconazol			Španělsko	
tebukonazol	Brazílie, Izrael, Taiwan			
tetrakonazol	Izrael, Španělsko, Taiwan			

Tab. 30. (Pokračování)

		triadimefon	Austrálie, Brazílie, Španělsko, Taiwan
		triadimenol	Austrálie, Německo, Izrael, Španělsko, Taiwan
Morpholin		tridemorph	Austrálie, Taiwan
Hydroxypyrimidin	pyrimidinol	bupirimát	Austrálie, Španělsko, Taiwan
		dimethirimol	Austrálie
		ethirimol	Taiwan
Anilinopyrimidin		cyprodinil	Taiwan
Fosforothiolát	organo fosfor	pyrazofos	Austrálie, Brazílie, Izrael, Španělsko, Taiwan
Qol	strobilurin	azoxystrobin	Austrálie, Japonsko, USA
		kresoxim-methyl	Brazílie, Izrael, Španělsko, Taiwan
		trifloxystrobin	USA
Quinolin (Chinolin)		quinoxifen	Izrael
ostatní		ditalimfos	Taiwan
Kontaktní multi-site fungicidy			
	chloronitril	chlorothalonil	Austrálie, Brazílie, Japonsko, Kanada, USA
	anorganické prvky	měď	USA
		síra	Brazílie, Česká republika, Izrael, Japonsko, Kanada, Německo, Španělsko, Taiwan, USA
	quinoxalin	quinomethionát	Brazílie, Japonsko, Izrael, Španělsko
	sulfamid	dichlofluanid	Německo
	smíšené	dinocap	Izrael, Španělsko
		olej	Česká rep., Izrael, USA
		uhličitan draselný	Izrael, Taiwan, USA