



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Laboratoř růstových regulátorů

Studium účinnosti přípravků biologické ochrany vůči padlí

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	Kristýna Tkáčová
Studijní program:	B1501 Experimentální biologie
Studijní obor:	Experimentální biologie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D.
Termín odevzdání práce:	2021

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Kristýna Tkáčová
Název práce	Studium účinnosti přípravků biologické ochrany vůči padlí
Typ práce	Bakalářská
Pracoviště	Laboratoř růstových regulátorů
Vedoucí práce	doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2021
Abstrakt	<p>Předložená bakalářská práce se zabývá studiem účinnosti přípravků biologické ochrany vůči padlí. Teoretická část obsahuje základní informace o rajčeti jedlém (<i>Solanum lycopersicum</i> L.), obecnou charakteristiku padlí a popis padlí rajčatového (<i>Pseudoidium neolycopersici</i>). Druhou polovinu teoretické části tvoří stručný popis chemické a biologické kontroly padlí, s důrazem na hyperparazita padlí <i>Ampelomyces quisqualis</i> a přírodní biologické látky používané ke kontrole.</p> <p>Experimentální část je zaměřena na studium účinnosti čtyř přípravků. První z nich byl přípravek AQ 10 s hyperparazitickou houbou <i>Ampelomyces quisqualis</i>. Zbylé tři fungují na bázi listového hnojiva a obsahují účinné složky, které zvyšují odolnost rostlin. K pokusu byly vybrány FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO.</p>

Klíčová slova	<i>Solanum lycopersicum</i> , biologická ochrana padlí, <i>Erysiphales</i> , <i>Pseudoidium neolycopersici</i> , <i>Ampelomyces quisqualis</i> , FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO
Počet stran	84
Počet příloh	0
Jazyk	Český (anglický)

Bibliographical identification

Author's first name and surname	Kristýna Tkáčová
Title of thesis	Study of the effectiveness of biological protection products against powdery mildew
Type of thesis	Bachelor
Department	Laboratory of Growth Regulators
Supervisor	doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D.
The year of presentation	2021
Abstract	<p>The Bachelor thesis deals with the study of the effectiveness of biological protection products against powdery mildew. The theoretical part contains basic information about tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.), general characteristics of powdery mildew and description of tomato powdery mildew (<i>Pseudoidium neolycopersici</i>). The second part of the theoretical part consists of a brief description of chemical and biological control of powdery mildew, with emphasis on hyperparasite of powdery mildew <i>Ampelomyces quisqualis</i> and natural biological control preparations.</p> <p>The experimental part is focused on study of the effectiveness of four products. The first is AQ 10 containing the hyperparasitic fungus <i>Ampelomyces quisqualis</i>. The other three preparations work on the basis of foliar fertilizers, which contain active ingredients and thus increase the resistance of</p>

plants. FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO were used for the experiment.

Keywords	<i>Solanum lycopersicum</i> , biological control of powdery mildew, <i>Erysiphales</i> , <i>Pseudoidium neolycopersici</i> , <i>Ampelomyces quisqualis</i> , FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO
Number of pages	84
Number of appendices	0
Language	Czech (English)

Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracovala samostatně za použití citované literatury.

V Olomouci dne

Podpis:

Kristýna Tkáčová

Poděkování

Ráda bych poděkovala doc. RNDr. Barboře Mieslerové, Ph.D. za skvělé vedení při laboratorní práci, cenné rady, trpělivost, ochotu mi pomoci a schopnost vést správným směrem při psaní této bakalářské práce. Také jí děkuji za veškerý čas, který mi věnovala. Poděkování patří i mé rodině a blízkým přátelům, kteří byli mojí oporou a dodávali mi velkou motivaci při studiu. V neposlední řadě chci poděkovat i pedagogům, kteří byli součástí mé cesty na vysoké škole.

OBSAH

1	Úvod.....	12
2	Cíle práce	13
3	Teoretická část	14
3.1	<i>Solanum lycopersicum</i> L.....	14
3.1.1	Historie.....	14
3.1.2	Taxonomie	14
3.1.3	Morfologie	15
3.1.4	Genetika	16
3.1.5	Křížení.....	16
3.1.6	Využití.....	17
3.2	Padlí	17
3.2.1	Historie taxonomického studia.....	17
3.2.2	Taxonomie a nomenklatura.....	18
3.2.3	Charakteristika	18
3.2.4	Životní cyklus.....	19
3.2.4.1	Nepohlavní rozmnožování	19
3.2.4.2	Pohlavní rozmnožování.....	20
3.2.5	Hostitelský okruh padlí	21
3.3	<i>Pseudoidium neolycopersici</i>	21
3.3.1	Taxonomie a nomenklatura.....	21
3.3.2	Charakteristika	21
3.3.3	Hostitelský okruh	22
3.3.4	Vliv podmínek prostředí na růst a vývoj.....	22
3.4	Metody ochrany vůči padlí.....	22
3.5	Biologická ochrana.....	23
3.6	Biologická ochrana vůči padlí.....	24
3.6.1	<i>Ampelomyces quisqualis</i>	25
3.6.1.1	Taxonomie	25
3.6.1.2	Charakteristika	25

3.6.1.3	Životní cyklus.....	26
3.6.1.4	Hostitelský okruh	27
3.6.1.5	Vliv podmínek prostředí na růst a vývoj <i>Ampelomyces quisqualis</i>	27
3.6.1.6	Způsob účinku.....	27
3.6.1.7	Komerční využití <i>Ampelomyces quisqualis</i> jako biologické kontroly vůči padlí	28
3.6.2	Listová hnojiva.....	29
3.6.3	Citrusové silice.....	29
3.6.3.1	Způsob účinku.....	29
3.6.3.2	Komerční využití citrusových silic jako biologické kontroly	30
3.6.4	Kokosovník ořechoplodý	31
3.6.4.1	Způsob účinku.....	31
3.6.4.2	Komerční využití kokosového mýdla jako biologické kontroly	32
3.6.5	Křemík	33
3.6.5.1	Způsob účinku.....	33
3.6.6	Fenyklový esenciální olej.....	34
3.6.6.1	Způsob účinku.....	34
3.6.6.2	Komerční využití křemíku a fenyklového oleje jako biologické kontroly	34
4	Experimentální část.....	35
4.1	Použité přístroje	35
4.2	Použité chemikálie a roztoky	35
4.3	Biologický materiál.....	36
4.3.1	Rostlinný materiál	36
4.3.2	Izoláty padlí.....	36
4.3.3	<i>Ampelomyces quisqualis</i>	37
4.3.4	FLORAVITA citro.....	39
4.3.5	FLORAVITA coco.....	40
4.3.6	FLORAVITA SiO.....	41
4.4	Metody	42
4.4.1	Kontrola vitality spor <i>Ampelomyces quisqualis</i>	42

4.4.2	Účinnost přípravku AQ 10 na listových discích rajčete jedlého čerstvě inokulovaných padlím rajčat při různých koncentracích	42
4.4.3	Účinnost přípravku AQ 10 na listových discích rajčete jedlého již napadených padlím rajčat při různých koncentracích	43
4.4.4	Mikroskopické hodnocení účinnosti přípravku AQ 10.....	44
4.4.5	Účinnost přípravků na bázi listového hnojiva (FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO) na listových discích rajčete jedlého čerstvě inokulovaných padlím rajčat při různých koncentracích	45
4.4.6	Účinnost přípravků na bázi listového hnojiva (FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO) na listových discích rajčete jedlého již napadených padlím rajčat při různých koncentracích	47
4.4.7	Mikroskopické hodnocení účinnosti přípravků FLORAVITA	50
5	Výsledky	51
5.1	Kontrola vitality spor <i>Ampelomyces quisqualis</i>	51
5.2	Účinnost přípravku AQ 10 na listových discích rajčete jedlého čerstvě inokulovaných padlím rajčat při různých koncentracích	52
5.2.1	Hodnocení sporulace padlí.....	52
5.2.2	Přítomnost hyperparazita <i>Ampelomyces quisqualis</i>	53
5.3	Účinnost přípravku AQ 10 na listových discích rajčete jedlého již napadených padlím .	53
5.3.1	Hodnocení sporulace padlí.....	53
5.3.2	Přítomnost hyperparazita <i>Ampelomyces quisqualis</i>	55
5.4	Účinnost přípravků na bázi listového hnojiva (FLORAVITA) na listových discích rajčete jedlého čerstvě inokulovaných padlím rajčat při různých koncentracích	56
5.4.1	Hodnocení sporulace padlí.....	56
5.4.2	Interakce přípravků s padlím.....	60
5.5	Účinnost přípravků na bázi listového hnojiva (FLORAVITA) na listových discích rajčete jedlého již napadených padlím.....	60
5.5.1	Hodnocení sporulace padlí.....	60
5.5.2	Interakce přípravků s padlím.....	64
6	Diskuse.....	67
7	Závěr	70
8	Použitá literatura	71

Seznam zkratek

cv.	kultivar
dpi	dnů po inokulaci
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí
ha	hektar
LTR	dlouhé koncové repetice (long terminal repeat)
Mbp	mega párů bází (mega base pairs)
PBI <i>Solanum</i>	Planetary Biodiversity Inventory <i>Solanum</i>
PDA	bramborovo-dextrózový agar (Potato dextrose agar)
pg	pikogram
rDNA	ribozomální deoxyribonukleová kyselina
sp.	species
spp.	species (plurál)

1 Úvod

Rajče jedlé z řádu *Solanales* zaujímá už dlouhá léta důležité místo ve světě jako zemědělská plodina. Jeho využití představuje širokou škálu neomezených nabídek při zpracování. Je zdrojem hlavně vitamínu C, ale i jiných důležitých látek pro lidské tělo. Pěstování není náročné na podmínky, a proto se rajče jedlé stalo rostlinou, kterou většina z nás má na své zahradě.

Jako každý rostlinný organismus je i rajče jedlé napadáno různými patogeny. Jednou z významných hrozeb pro pěstitele je i padlí (zástupce vřeckovýtusných hub z řádu *Erysiphales*). Symptomy této choroby jsou snadno rozpoznatelné. Pro padlí je charakteristická přítomnost bílých moučnatých povlaků na povrchu listů a stonků. Onemocnění má významný ekonomický dopad nejen na rajče, ale i další druhy rostlin. Jelikož se tento obligátní parazit rychle rozšířil po celém světě, je fytopatologů mnoho let vedený výzkum na potlačení příznaků této choroby.

Rostliny mohou být chráněny proti padlí různými prostředky, které jsou na bázi biologické nebo chemické. Vzhledem ke zhoršujícím se podmínkám životního prostředí je zde snaha snížit používání chemických fungicidů a nahradit je biologickými prostředky. Ty tolik neohrožují životní prostředí.

Dnes už je možné využít k biologické kontrole značnou řadu prostředků. Mezi ně patří přípravek AQ 10, který obsahuje spory hyperparazitické houby *Ampelomyces quisqualis*. Ten napadá pohlavní i nepohlavní stadia padlí a vytváří uvnitř nepohlavní spory. Těmi se rozšiřují, a tím zpomalují růst padlí. Další tři následující přípravky jsou zatím stále zkoumány a zjišťuje se úroveň jejich účinku proti padlí. FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO představují přípravky, které fungují na bázi listového hnojiva. Obsahují účinné složky, a tím zvyšují odolnost rostlin proti houbovým chorobám. U typu FLORAVITA citro jsou účinnými látkami citrusové silice. V druhém přípravku je hlavní složkou kokosové mýdlo a u FLORAVITA SiO je obsažen fenyklový olej a křemík.

2 Cíle práce

Cílem mé bakalářské práce bylo testovat účinné látky v biologických přípravcích na ochranu rajčete vůči padlí rajčatovému (*Pseudoidium neolycopersici*). Cílem teoretické části je seznámit čtenáře s testovaným druhem lilek rajče (*Solanum lycopersicum* L.) a padlím *Pseudoidium neolycopersici* (L. Kiss) L. Kiss. Jelikož choroby způsobené padlím jsou závažným problémem v zemědělství i v zahradnictví, jsou rostliny chráněny prostředky, které jsou na bázi biologické nebo chemické. Já jsem se ve své práci zaměřila na biologické prostředky, které tolik neohrožují životní prostředí. Při charakterizaci přípravků biologické ochrany byl kladen velký důraz především na hyperparazita *Ampelomyces quisqualis*.

Cílem experimentální části je mikroskopické hodnocení účinku přípravků biologické ochrany na vývoj padlí na rajčeti. V laboratoři jsem sledovala účinnost čtyř přípravků. Prvním z nich byl AQ 10 obsahující hyperparazitickou houbu *Ampelomyces quisqualis*. Další přípravky, které byly vybrány k pokusu, fungovaly na bázi listového hnojiva. Ta obsahují účinné složky zvyšující odolnost rostlin proti houbovým chorobám. Konkrétně se jednalo o FLORAVITA citro, FLORAVITA coco a FLORAVITA SiO.

3 Teoretická část

3.1 *Solanum lycopersicum* L.

3.1.1 Historie

Rajče jedlé jako plodina má dlouhou historii. Není přesně známé, jak se sem dostalo. Jsou dvě teorie. První z nich říká, že zmínky o jeho pěstování byly už v 5. století před našim letopočtem v Peru. Odtud si ho Španělé v letech 1532–1533 přivezli. Druhou možností, jak se tato rostlina dostala do Evropy, byla cesta Kryštofa Kolumba do Ameriky v roce 1498 (Valšíková *et al.*, 1987).

V Evropě lidé začali pěstovat rajčata jako zdroj potravy až v 19. století. Důvodem pozdního pěstování byly obavy z toho, že se jedná o jedovatou rostlinu a mohla by negativně ovlivnit lidské zdraví (Valšíková *et al.*, 1987).

Od 20. století se pěstování rajčat rychle rozšířilo a začalo vznikat mnoho nových odrůd. Existují kultivary s nejrůznějšími plody, které mohou být malé, velké, protáhlé, hruškovité a různě zbarvené. Nejpopulárnější jsou bobule barvy červené, ale velké zastoupení na trhu dostávají i žluté plody. Kromě těchto dvou oblíbených druhů se pěstují například i odrůdy oranžové nebo bílé. Dnes už se jedná o rostliny, které jsou důležitými dodavateli vitamínů pro tělo. Pěstitelem je téměř každý z nás (Pekárková, 2001).

3.1.2 Taxonomie

Rajče jedlé (*Solanum lycopersicum* L.) je jednoletá rostlina. Patří do řádu lilkotvarých (*Solanales*) a čeledi lilkovitých (*Solanaceae*) (Knapp, 2002). Čeleď *Solanaceae* je druhově velmi bohatá. Za rozmanitost čeledi mohou různé ekologické podmínky, ve kterých rostou jednotliví zástupci. Odlišná stanoviště způsobila nejen morfologické rozdíly, ale také odchylky na úrovni fyziologické a molekulární (Muhammed, 2012).

Čeleď *Solanaceae* zahrnuje mnoho zemědělských plodin. Mezi významné a největší rody patří rod lilek (*Solanum*), kam se řadí i zástupci rajčat. Tento rod je nejvíce druhově rozmanitý z celé čeledi lilkovitých (Knapp, 2002). Rajče jedlé bylo původně zařazeno do rodu *Lycopersicon*, ale po vědeckých výzkumech je momentálně v rodu *Solanum* (Peralta *et al.*, 2008). Druh *Solanum lycopersicum* L. byl dříve nazývaný jako *Lycopersicon esculentum* Mill (Fernández-Ruiz *et al.*, 2010). Tento název získal od Philipa Millera, který přejmenoval původní název od zakladatele systematické nomenklatury Carla Linného *Solanum esculentum* (Ford, 2009).

Dřívější studie, zabývající se rodem *Lycopersicon*, ukazovaly pouze na dva druhové komplexy v rámci původně vyděleného rodu *Lycopersicon*, a to konkrétně komplex *Esculentum* a *Peruvianum*. První byl druhově více rozmanitý. Vyskytovaly se v něm druhy, které byly později přejmenovány a přiřazeny do jiné sekce. Naopak komplex *Peruvianum* obsahoval pouze dva druhy. Ty ale byly později rozděleny celkově na pět. Křížení mezi zástupci těchto dvou druhových komplexů bylo komplikované, zatímco v rámci každého druhového komplexu bylo možné u všech druhů (Lebeda *et al.*, 2014).

Rod *Solanum* (v novém širším pojetí) byl oproti dřívějším studiím diverzifikován na několik dalších podrodů. Dnes tedy rod *Solanum* rozdělujeme do několika podrodů, a to *Bassovia*, *Leptostemonum*, *Lyciosolanum* a *Solanum sensu stricto*. Většina z těchto podrodů je ještě členěna do dalších sekcí. Mnoho podrodů a sekcí nemusí být platných, používají se zde prozatím, protože fylogeneze tohoto rodu ještě není zcela vyřešena a mnoho druhů nebylo přehodnoceno. Druhy původního rodu *Lycopersicon* jsou nyní řazeny do podrodu *Solanum sensu stricto* sekce *Lycopersicon* (Lebeda *et al.*, 2014; Olmstead *et al.*, 2008). *Solanum pimpinellifolium* je považován za předchůdce druhu *Solanum lycopersicum* (Takei *et al.*, 2021).

V současnosti se vědci zabývají projektem, který se nazývá „PBI *Solanum*: a worldwide treatment“. Ten má pomáhat k taxonomickému určení druhů rodu *Solanum*, popisovat je a propojovat taxonomii s genomikou. Obsahuje přibližně 1500 druhů rodu *Solanum*. Řadí se na základě analýz genomu, a vztahu mezi genetickou a biologickou variabilitou (Knapp *et al.*, 2004).

3.1.3 Morfologie

Rajče jedlé má podzemní a nadzemní část. Podzemní část tvoří bohatý nitkovitý kořenový systém. Malé sazeňičky mají kořenovou soustavu. Ta se rozrůstá ve vrchní části půdy. Po přesazení se rozvíjejí adventivní kořeny, které vznikají na bázi lodyhy. Ty pomáhají při výsadbě rostliny šikmo do brázd. Při vhodných podmínkách se kořeny stávají silnější. Mladé semenáčky mají dužnatý stonek, je tenký a slabý. Později dřevnatí a stává se pevnějším (Valšíková *et al.*, 1987). Na povrchu stonku a listů jsou žláznaté trichomy. Ty jsou zakončené hlavičkou, ve které se hromadí sekret. Po prasknutí kutikuly se látka uvolní a dává rostlinám typický zápach (Vinter a Macháčková, 2013). Listy rajčete jsou přetrhovaně lichozpeřené s krátkým řapíkem (Kaplan *et al.*, 2019). Ve stonku a v listech je přítomný toxický alkaloid tomatin, který má antibakteriální účinek (Roddick, 1974).

Květ rajčete má rozlišené květní obaly na korunní a kališní lístky. Korunní lístky jsou žluté barvy, naopak kališní lístky jsou zelené, srostlé a špičaté. Samčí pohlavní orgány (tyčinky) mají buď zkrácené nitky, nebo chybí. Prašníky se skládají ze dvou prašných váčků a srůstají okolo čnělky. Naopak samičí pohlavní orgán (pestík) má bliznu kulovitého tvaru. Květenství rajčete je vijan (Kaplan *et al.*, 2019).

Plody rajčete jsou cenokarpické. Vznikají z cenokarpického gynecea. Konkrétním plodem je bobule (*bacca*) (Vinter a Macháčková, 2013). Podle tvaru a barvy bobule se rozdělují na jednotlivé odrůdy. *Solanum lycopersicum* má nejčastěji kulovité bobule červené nebo žluté barvy o velikosti 2 – 8 cm (Kaplan *et al.*, 2019).

3.1.4 Genetika

Sekvenování genomu přináší důležité informace pro šlechtění rostlin a lepší pochopení původu domestikovaných rostlin (Takei *et al.*, 2021). Genom rajčete jedlého je v porovnání s genomem kvasinek asi 100x větší (Nevins a Jones, 1987). Předpokládaná velikost genomu rajčete jedlého je přibližně 950 Mbp. V genomu dříve došlo k triplikaci a následně velké ztrátě genů. Když by se porovnával genom rajčete (*S. lycopersicum*) s genomem brambor (*S. tuberosum*), došlo by ke zjištění, že se od sebe liší o více než 8 % (Tomato Genome Consortium, 2012).

Množství jaderné DNA u rajčete jedlého je 0,74 pg DNA v haploidní buňce a 10^9 nukleotidových bází v kompletní chromozomové sadě (Nevins a Jones, 1987). Celkový počet genů u druhu *Solanum lycopersicum* je 34 075. To je při porovnání genů obsažených v druzích *Solanum pimpinellifolium* a *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* nejméně (Takei *et al.*, 2021).

Solanum lycopersicum má ve své chromozomové výbavě 12 chromozomů a 2 nepřirazené sekvence (Takei *et al.*, 2021). Chromozomy jsou z pericentrického heterochromatinu. Distální euchromatin obsahuje opakované sekvence koncentrované uvnitř a kolem centromery (Tomato Genome Consortium, 2012).

Plané druhy rodu *Solanum* mají oproti domestikovaným vyšší počet identifikovaných intaktních dlouhých koncových repetíci (LTR - long terminal repeat) (Takei *et al.*, 2021). Genom rajčete jedlého je u krytosemenných rostlin neobvyklý, protože obsahuje malý počet repetitivních sekvencí (Tomato Genome Consortium, 2012).

3.1.5 Křížení

Informace o genetické variabilitě rodu *Solanum* umožňuje lepší využití možností šlechtění (Marefatzadeh-Khameneh *et al.*, 2021). Šlechtění rajčat není jednoduché, protože u tohoto druhu existuje velká genetická variabilita. Stále dochází k sekvenování nových genomů u dalších druhů rodu *Solanum*, které přispívají k doplnění údajů o evoluci, domestikaci, anebo k informaci o genetickém základu vlastností. Tyto znalosti jsou důležité pro další možnosti šlechtění s cílem získat např. odolnost vůči chorobám nebo toleranci k biotickému stresu (Aflitos *et al.*, 2014).

Při šlechtění rajčete jedlého se využívají molekulární markery. Ne všechny se mohou použít ve šlechtitelských programech. Molekulární markery se využívají také k testování čistoty hybridů,

nebo ke screeningu produktů hybridizace na jednotlivé odolnosti vůči chorobám (Foolad a Panthee, 2012).

3.1.6 Využití

Rajče jedlé zaujímá první místo ve světové produkci zeleniny. Kromě zdroje lidské potravy je také modelovým objektem pro studium vývoje plodů. Tato rostlina je za modelový druh považována díky dobré toleranci na abiotické a biotické stresy. Důležitou vlastností pro modelový druh je také vysoká produkce plodů (Muhammed, 2012). Další možností ve výzkumu je využití planých příbuzných rajčete jedlého jako genových zdrojů pro zlepšení vlastností pěstovaných domestikovaných rajčat jedlých (Raduski a Igric, 2021).

Rajče jedlé má největší využití jako zdroj potravy (Valšíková *et al.*, 1987). Tento druh zeleniny se pěstuje pro čerstvou sklizeň nebo pro průmyslové zpracování. Podle toho, za jakým účelem chceme dané plody sklízet, zvolíme vhodnou odrůdu. Tyčková rajčata jsou lepší pro čerstvou sklizeň, naopak keříčková jsou vhodná pro velkovýrobní produkty. Keříčkové odrůdy jsou rané a snadnější pro pěstování (Pekárková, 2001).

Rajče jedlé je zdrojem bioaktivních sloučenin s antioxidačními vlastnostmi. Do takové skupiny patří například lykopen nebo polyfenoly. Díky vysokému podílu těchto antioxidantů se rostlina dá používat jako přírodní léčivo (Pekárková, 2001). Jejich plody tvoří nedílnou část jídelníčku, ze kterého získáváme důležité vitamíny, minerální látky, vlákninu, vodu, kyseliny (například kyselina octová, kyselina citrónová, kyselina jablečná). Dále obsahují důležité prvky, jako je draslík, fosfor a železo (Costa *et al.*, 2019). Z vitamínů se nejvíce v bobulích vyskytuje vitamín C a provitamin A (Pekárková, 2001).

3.2 Padlí

3.2.1 Historie taxonomického studia

Padlí je běžnou chorobou napadající zemědělské plodiny i planě rostoucí rostliny. První zmínky o popisu padlí sahají až do 18. století, kdy dostalo padlí od zakladatele systematické nomenklatury Carla Linného binomický název *Mucor erysiphe* L. S největší pravděpodobností se jednalo o druh *Phyllactinia guttata* (Braun a Cook, 2012).

O přeuspořádání taxonomie se v roce 1851 zasloužil Leveille, který založil systém na tvaru apendixů u chasmothecií a počtu vrčec (Lebeda *et al.*, 2017). V této studii stále chyběla klasifikace anamorfních stadií. Poprvé se objevila o deset let později ve studii od bratrů Tulasneových a následně byla potvrzena de Barym (Petřeková, 2018). Za posledních 20 let došlo ke zlepšení porozumění

taxonomie této skupiny organismů. Důvodem lepšího třídění byly modernější molekulární analýzy, například analýzy rDNA sekvencí (Glawe, 2008).

Dříve přináleželo padlí do skupiny Pyrenomycetes nebo Plectomycetes. Dnes se rozřazuje nejen podle morfologických charakteristik, ale také podle hostitele a fylogenetických vztahů zjištěných molekulárně genetickými studiemi (Glawe, 2008). Nejlépe je popsána taxonomie padlí v knize *Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery mildews)* od Brauna a Cooka (Braun a Cook, 2012).

3.2.2 Taxonomie a nomenklatura

Z výzkumů molekulární fylogenetické analýzy vyplývá, že padlí tvoří monofyletickou skupinu (Mori *et al.*, 2000). Padlí z taxonomického hlediska řadíme do říše hub (Fungi), oddělení vřeckovýtrusných hub (Ascomycota), pododdělení Pezizomycotina, třídy voskovičkoplodé (Leotiomycetes) a řádu Erysiphales (Wang *et al.*, 2006). Řád Erysiphales obsahuje jedinou čeleď Erysiphaceae (Lebeda *et al.*, 2017). Ta má přibližně 16 rodů a 900 druhů. Pro další rozdělení čeledi bylo vymezeno 5 hlavních tribů. Konkrétně se jednalo o Blumerieae, Cystothecae, Erysipheae, Golovinomyceteae a Phyllactinieae. V rámci čeledi je rozlišováno 16 známých rodů, které vytvářejí pohlavní (teleomorfní) i nepohlavní (anamorfní) stadia. Z nich je 12 ektoparazitických. Zbylé 4 rody jsou buď částečně, nebo úplně endoparazitické. Jedná se o rody s názvem *Leveillula*, *Phyllactinia*, *Pleochaeta* a *Queirozia* (Takamatsu, 2013).

3.2.3 Charakteristika

Jak již bylo zmíněno, tak padlí (zástupci řádu Erysiphales) mají téměř celosvětové rozšíření. V dnešní době je známo přibližně 820 druhů této skupiny (Lebeda *et al.*, 2017). Jedná se o obligátní parazity, což znamená, že ke svému růstu a reprodukci vyžadují živého hostitele (Petřeková, 2018).

Pro rostliny infikované touto houbou je charakteristická přítomnost bílých moučnatých povlaků (Petřeková, 2018). Takto zřetelný symptom na rostlině představuje povrchové mycelium, které původně vzniklo pouze z jedné konidie. Skvrny se postupně mohou spojovat a pokrývat celý povrch (Lebeda *et al.*, 2017). Povlaky se především vyskytují na listech a stoncích (Bindschedler *et al.*, 2016). Mohou ale pokrývat i povrch květů, nebo dokonce i plodů. Při silné infekci může dojít až k nekrotizaci listů, nebo k předčasnému opadu listů (Petřeková, 2018).

3.2.4 Životní cyklus

Padlí patří mezi první houby, u kterých byl popsán pleomorfismus. To znamená, že mají ve svém životním cyklu minimálně dvě odlišná stadia (Glawe, 2008).

Životní cyklus padlí obsahuje jak sexuální, tak i asexuální stadium (Obrázek 1). Nepohlavní způsob rozmnožování je nazýván také jako anamorfní a pohlavní způsob rozmnožování se nazývá teleomorfní. Ne všechny druhy padlí mají obě stadia (Glawe, 2008).

3.2.4.1 Nepohlavní rozmnožování

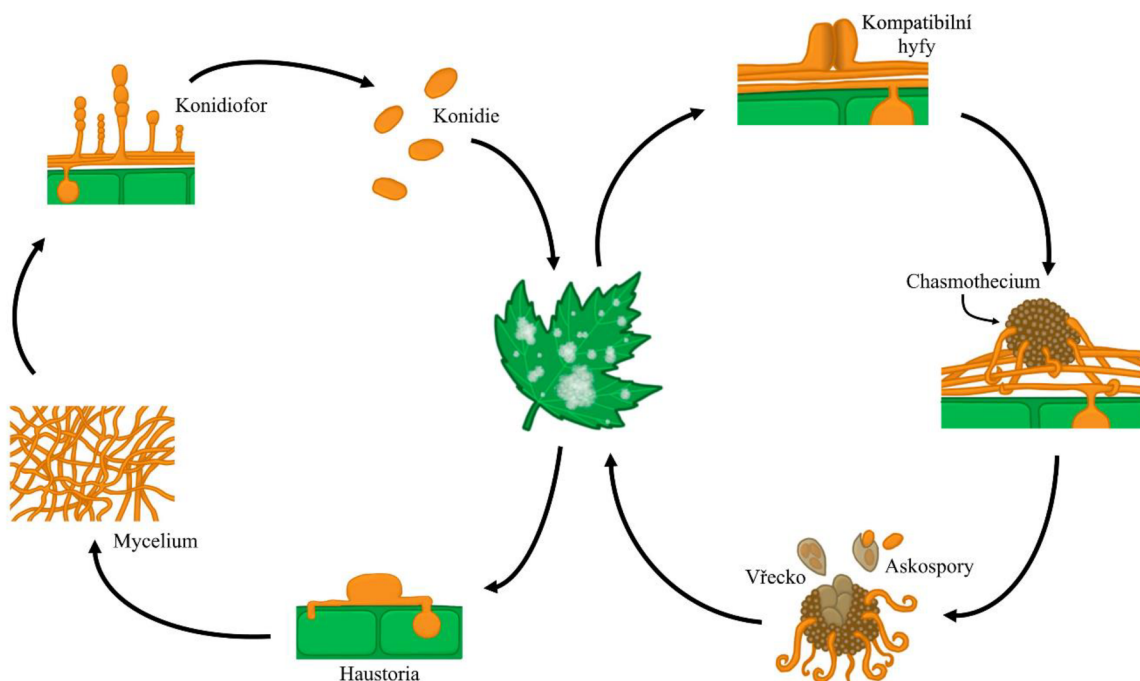
Nepohlavní životní cykly jsou krátké a jsou spojeny s produkcí konidií (Frantzeskakis *et al.*, 2019). Ty jsou produkovány na konidioforech (Glawe, 2008). Konidie a konidiofory jsou důležitým taxonomickým znakem, protože jsou velmi různorodé. Na základě jejich tvaru a velikosti se pak zařazují do určitých skupin (Petřeková, 2018). Po napadení hostitele je životní cyklus padlí synchronizován s životním cyklem hostitele (Glawe, 2008).

Infekce způsobená padlím začíná přisednutím konidií na hostitelskou rostlinnou epidermální buňku a tvorbou infekčních struktur (apresorii) (Sethi *et al.*, 2021). Apresoria umožňují přichycení mycelia na povrch hostitele (Lebeda *et al.*, 2017). Ze spodního povrchu apresoria se vytvoří penetrační hrot. Ten pronikne buněčnou stěnou a napadne hostitelskou epidermální buňku za vzniku intracelulární struktury (haustoria) (Qiu *et al.*, 2015). Padlí většinou neproniká do hlubších rostlinných pletiv, jako jsou buňky mezofylu (Micali *et al.*, 2008). Výjimkou jsou zástupci tribu Phyllactinieae. Zde se padlí dostává až dovnitř pletiva hostitele (Glawe, 2008). Haustoria představují místo kontaktu mezi houbou a hostitelskou buňkou (Sethi *et al.*, 2021). Usnadňují získávání živin patogenem a výměnu látek mezi oběma organismy (Glawe, 2008). Padlí vylučuje proteiny, které mají za účel potlačit obranyschopnost hostitele. Pokud dojde k vytvoření haustoria a příjem živin je úspěšný, houba se dále šíří pomocí hyf (Qiu *et al.*, 2015). Ty se prodlužují a opakovaně se větví. Padlí tak vytváří kruhové kolonie. Jsou ze začátku bělavé, ale později během zrání mění barvu na šedou až hnědou. Z vegetativních hyf vyrůstají konidiofory a rostou kolmo k danému infikovanému povrchu (Glawe, 2008). Houba se dále šíří po povrchu listu, dokončuje svůj cyklus zráním hyfy a sporulací za vzniku konidioforů (Sethi *et al.*, 2021). Tvorbu konidioforů ovlivňují podmínky prostředí a hostitel (Whipps *et al.*, 1998). Na konidioforech vznikají nepohlavní konidie (Qiu *et al.*, 2015). Konidie se vytváří po několika dnech od propuknutí infekce. Jsou jednobuněčné a téměř všechny bezbarvé. Při dozrávání mohou buď vytvářet řetízky, nebo dozrávat postupně po jedné. Pro klíčení konidie nevyžadují volnou vodu (Glawe, 2008). Klíčení zahrnuje sekreci lytických enzymů, jako jsou lipázy, esterázy a kutinázy. Zralé konidie se uvolňují a přenáší se pomocí větru na další rostliny, kde začíná nový cyklus (Qiu *et al.*, 2015).

3.2.4.2 Pohlavní rozmnožování

Pro pohlavní rozmnožování je typická tvorba plodnic (askokarpů). Uzavřený askokarp u této skupiny se nazývá chasmothecium (Lebeda *et al.*, 2017). Chasmothecium pomáhá patogenům přežít nevhodné podmínky prostředí (chlad, ale i vysoké teploty) nebo nepřítomnost hostitele (Pirondi *et al.*, 2015).

Sexuální reprodukce začíná tvorbou gametangií. Samčí gametangia se nazývají anteridia nebo androgamocysty. Samičí jsou askogonia nebo gynogamocysty. Po vytvoření cytoplasmatického kontaktu se jádro pohybuje z antheridia do askogonia. Jedná se o dikaryotizaci. Z dikaryotických (dvoujaderných) buněk se vytváří chasmothecium, které podle druhu může obsahovat dvě nebo více věček. Zralé chasmothecium je buď trvale ukotveno k podkladu, nebo oddělitelné od rodičovského mycelia (Glawe, 2008). Trvalá chasmothecia jsou přichycena k podkladu pomocí přívěsků (apendixů) nebo hyfami. Oddělená chasmothecia mají apendixy tvarově variabilní (Lebeda *et al.*, 2017). Ve věcku následně probíhá karyogamie a meióza. Tím dochází ke vzniku haploidních pohlavních výtrusů (askospor). Vřecka mají na vrcholu tenčí stěnu, kterou uvolňují askospory do okolí (Glawe, 2008).



Obrázek 1: Životní cyklus padlí (Upraveno podle Vielba-Fernández *et al.*, 2020).

3.2.5 Hostitelský okruh padlí

Padlí (zástupci skupiny Erysiphales) napadají široký okruh rostlin po celém světě. Parazitují na více než 10 000 druzích krytosemenných rostlin. Mezi významné infikované plodiny patří například pšenice, ječmen, vinná réva, dále různé druhy zeleniny, okrasné rostliny i druhy planých rostlin (Kiss, 2003; Lebeda *et al.*, 2017).

Existují druhy padlí, které parazitují pouze na jednom hostiteli. Vyskytují se však i druhy s širokým hostitelským okruhem bez parazitické specializace (Ale-Agha *et al.*, 2008). *Blumeria graminis* (padlí travní) je druh padlí, který zaujímá první místo v počtu hostitelů. Parazituje na 609 hostitelských druzích, převážně na travinách a obilovinách (Lebeda *et al.*, 2017).

3.3 *Pseudoidium neolycopersici*

3.3.1 Taxonomie a nomenklatura

Pseudoidium neolycopersici (padlí rajčatové) je druh z řádu Erysiphales (Kiss *et al.*, 2001). Doposud bylo nalezeno pouze nepohlavní stadium tohoto patogena. Na základě molekulárně biologických studií bylo zjištěno, že je fylogeneticky blízký druhu *Erysiphe aquilegiae* var. *ranunculi* (Lebeda *et al.*, 2014).

Dnes je známý pod názvem *Pseudoidium neolycopersici*, ale dříve se nazýval *Oidium lycopersicum*. Anamorfní stadium u padlí rajčat se poprvé objevilo v roce 1987 ve Velké Británii. Od té doby došlo k jeho rychlému šíření (nejprve v Evropě, pak po celém světě) a vyvolalo mnoho otázek u fytopatologů, mykologů a biologů ohledně původu, hostitelského okruhu, taxonomického zařazení a variability (Whipps *et al.*, 1998).

3.3.2 Charakteristika

Infekce způsobená *P. neolycopersici* se vyskytuje převážně na plodinách skleníkových rajčat. První zmínky o této epidemii byly zaznamenány v 80. letech 20. století, ale mnoho aspektů interakce hostitel a patogen není stále dobře známých (Lebeda *et al.*, 2014).

Tento obligátní parazit napadá povrchy listů, řapíků a kališní lístky. Avšak plody jsou bez známky infekce (Jones *et al.*, 2001). Napadenou rostlinu poznáme pouhým okem, a to viditelnými bílými moučnatými povlaky na povrchu. Kolonie padlí jsou zpočátku malé, ale postupně se rozšiřují a mohou pokrýt až celý list. Nejvíce jsou příznaky onemocnění viditelné na svrchní straně listů, avšak při silné infekci mohou být po obou stranách listů. Bílé mycelium v průběhu stáří postupně šedne

a hnědne (Lebeda *et al.*, 2014). Při infekci dochází k oslabení rostliny a v závažnějších případech může vést až ke smrti (Jacob *et al.*, 2007).

Jelikož u *P. neolycopersici* není dosud známo pohlavní stadium, tak se vědci domnívají, že přežívá formou konidií (Fletcher *et al.*, 1988).

3.3.3 Hostitelský okruh

Pseudoidium neolycopersici má poměrně široký hostitelský okruh. Dokáže osídlit širokou škálu zástupců taxonomicky vzdálených skupin. Vyskytuje se hlavně na rajčeti a dalších zástupcích rodu *Solanum*. Kromě čeledi Solanaceae dokáže tento druh padlí infikovat i některé druhy z čeledí Apocynaceae, Campanulaceae, Crassulaceae, Cistaceae, Cucurbitaceae, Linaceae, Malvaceae, Papaveraceae, Pedaliaceae, Scrophulariaceae, Valerianaceae a Violaceae (Whipps *et al.*, 1998; Lebeda *et al.*, 2014).

3.3.4 Vliv podmínek prostředí na růst a vývoj

Pseudoidium neolycopersici způsobuje silné napadení na všech nadzemních částech rostlin, kromě plodů. Jeho vývoj a růst na hostitelském organismu ovlivňují podmínky prostředí, ve kterém se nachází. Studie Jacoba *et al.* (2008) prokázala, že nejvyšší rychlost klíčení *P. neolycopersici* byla pozorována při teplotě 25 °C, 99% relativní vlhkosti a minimální přítomnosti světla. Naopak pro tvorbu a vývoj aporesoria je nutná intenzita osvětlení 1 750 luxů. Teplota prostředí zůstává stejná jako pro tvorbu konidií, ale relativní vlhkost má širší rozmezí, konkrétně od 33 do 99%. Kromě hledání těch nejprůzračnějších podmínek pro infekci se vědci snažili zjistit, při jakých podmínkách prostředí je choroba méně závažná. Tuto odpověď našli při kombinaci vysokých teplot, ale nízké relativní vlhkosti.

3.4 Metody ochrany vůči padlí

Choroby způsobené padlím jsou závažným problémem v zemědělství i v zahradnictví po celém světě. Patří mezi nejškodlivější nemoci rostlin (Glawe, 2008). Proto je důležité potlačit příznaky houbových chorob, a tak zachovat výnosnost a kvalitu produkce jednotlivých plodin (Oerke, 2006).

K potlačení příznaků choroby se používají dvě hlavní metody, jednak pomocí fungicidních přípravků, jednak použitím kultivarů, které jsou buď rezistentní, nebo tolerantní k padlí. Rostliny mohou být chráněny různými prostředky na bázi chemické nebo biologické (Kiss, 2003). Chemická

ochrana rostlin je v dnešní době nejpoužívanější metodou proti chorobám, škůdcům a plevelům (Lebeda *et al.*, 2017). Důvodem, proč je na prvním místě v použití, je snadná aplikace ve formě postřiku přímo na postižená místa patogenem (Brent a Hollomon, 2007). Fungicidy na chemické bázi jsou syntetizovány z organických nebo anorganických chemikálií. Naopak biofungicidy obsahují živé mikroorganismy. V těch se uplatňují různé interakce, například soupeření s parazitem (Rouabhi, 2010).

Používání chemických fungicidů má negativní vliv na životní prostředí (Angeli *et al.*, 2012). Proto některé integrované systémy na ochranu plodin omezují používání chemických fungicidů, které škodí životnímu prostředí a lidskému zdraví (Drody *et al.*, 2009). Toto omezení podpořilo vznik alternativnějších metod kontroly padlí. Takovým příkladem jsou nefungicidní produkty, které obsahují například rozpustný křemík, oleje, soli a rostlinné extrakty. Přípravky vyvolávají rezistenci u rostlin infikovaných padlím (Kiss, 2003). Alternativnější metody pro kontrolu padlí snižují nebezpečí hromadění toxických sloučenin. Ty mohou být potenciálně nebezpečné jak pro přírodu, tak i člověka (Angeli *et al.*, 2012). Chemické fungicidy nepředstavují negativní vlastnosti jen pro životní prostředí a zdraví lidí, ale také mohou způsobit vytvoření rezistence u padlí na danou látku. Tato odolnost znemožní danému fungicidu úspěšnou ochranu (McGrath, 2001).

3.5 Biologická ochrana

Rostliny nedokáží správně rozpoznat patogenní mikroorganismy, a proto neumí samy zastavit jejich růst. Aby nedocházelo k případnému úhynu rostliny, jsou aplikovány různé přípravky na jejich ochranu. Jak již bylo zmíněno výše, tak jsou buď na bázi chemické, anebo biologické. První pomyslnou příčku užívání stále drží chemické fungicidy (Pal a McSpadden Gardener, 2006). Chemické fungicidy sice patogeny vyhubí, ale jejich dopady na životní prostředí jsou znatelné. Kvůli zhoršené enviromentální situaci ve světě by bylo potřeba přejít na alternativnější biologickou kontrolu (Bale *et al.*, 2008).

Přechod z chemických fungicidů na biologické fungicidy umocnily také předpisy o používání pesticidů v zemědělství. Použití biologických látek umožňuje účelné využití živých organismů. Ty potlačují aktivitu dané populace různých druhů škůdců a rostlinných patogenů (Pal a McSpadden Gardener, 2006). Přípravky, které se používají k biologické kontrole, obsahují převážně mikroorganismy vyskytující se v přírodě (Yamamoto *et al.*, 2015).

Biologická kontrola je výsledkem všech interakcí mezi jednotlivými organismy, se kterými se rostliny i jejich patogeny v průběhu svého života setkávají. Vzájemné působení pak může ovlivnit jak pozitivně, tak i negativně zdraví organismu i jeho biologickou kontrolu. Mezi tyto interakce patří

například mutualismus, protokooperace, komenzalismus, antagonismus, kompetice a parazitismus (Pal a McSpadden Gardener, 2006).

Mutualismus představuje vzájemné soužití mezi dvěma nebo více druhy, ze kterého mají všechny zúčastněné organismy prospěch. Takový vztah se vyskytuje mezi rostlinou a mykorrhizními houbami (Pal a McSpadden Gardener, 2006). Příkladem mutualismu jsou saprofytické bakterie r. *Rhizobacterium*. Bakterie kolonizují kořenový systém a následně rostlině přináší zlepšenou výživu. Kromě toho produkují antimikrobiální látky, které nepřímo indukují systémovou rezistenci a posilují rostliny. Tím dochází ke snížení počtu lézí, které jsou produkovány patogeny (Silva *et al.*, 2004). Mezi další symbiotický vztah patří protokooperace, kde mají organismy vzájemný prospěch, ale není nezbytný k přežití. Mnoho prostředků na bázi biologické kontroly využívá této interakce. Naopak komenzalismus představuje vztah mezi dvěma druhy, kdy jeden z organismů prospívá a druhý není ovlivněn. Antagonismus mezi organismy negativně ovlivňuje jednoho nebo oba partnery. Tato interakce je hojně využívána v biologické kontrole, protože představuje určitou imunitní obranu vůči parazitům. Při kompetici dochází mezi organismy k soutěžení o živiny a místo na hostitelské rostlině. Parazitismus je způsob soužití dvou organismů, kdy parazit negativně ovlivňuje hostitele. V biologické kontrole se nejčastěji využívá v podobě hyperparazitismu. Do této kategorie patří například *Ampelomyces quisqualis*. Jedná se o přímý antagonismus, který je výsledkem vzájemného fyzického kontaktu mezi antagonistou a patogenem. Tento vztah se vyznačuje vysokou selektivitou (Pal a McSpadden Gardener, 2006).

Podle výzkumů je zřejmé, že chemická kontrola je oproti biologické účinnější. Biologická sice sníží riziko infekce, ale neposkytuje dostatečnou ochranu. Proto je spíše využívána jako preventivní nástroj v prvních fázích rozvoje choroby (Vielba-Fernández *et al.*, 2020).

3.6 Biologická ochrana vůči padlí

Jelikož padlí z řádu Erysiphales napadá i široké spektrum člověkem využívaných plodin, tak byla výzkumu ochrany rostlin vůči padlí věnována velká pozornost (Angeli *et al.*, 2012). Dříve byla převážně používána chemická hnojiva a pesticidy. Ty sice přispěly ke zlepšení produktivity a kvality plodin, ale měly negativní dopady na životní prostředí (Pal a McSpadden Gardener, 2006). Kvůli tomu se začalo více pozornosti zaměřovat na alternativnější řešení, jako je biologická kontrola. Ta nepředstavuje riziko pro životní prostředí. Je k němu šetrná, používá především látky biologického původu (Angeli *et al.*, 2012).

V ochraně proti padlí jsou biofungicidy rozděleny na dvě větší skupiny. První z nich jsou látky nebo mikroorganismy, které chrání danou rostlinu proti případné infekci způsobené houbovým organismem. Naopak druhá skupina funguje na bázi parazitismu nebo antibiόzy. Tyto

mikroorganismy jsou přirozenými nepřáteli padlí (Lebeda *et al.*, 2017). Jednotlivé druhy mikroorganismů by měly snížit sporulaci padlí a zamezit dalšímu šíření choroby (Kiss, 2003).

Další metodou využití biologické ochrany je použití přírodních produktů, které jsou extrahovány nebo fermentovány z různých zdrojů (Pal a McSpadden Gardener, 2006). Takovým příkladem jsou kompostované čaje. Kompostované čaje mají antagonistický účinek podobný antibiotikům (Pane *et al.*, 2012). Studie Segarra *et al.* (2009) potvrdila, že u ošetřených listů rajčete je mycelium padlí (*Erysiphe polygoni*) stěží vidět a výskyt onemocnění se snižuje o 19 % ve srovnání s neošetřenými infikovanými listy. Ochranu vůči padlí pomocí antibiotik představují i grampozitivní bakterie rodu *Bacillus* (Yamamoto *et al.*, 2015).

3.6.1 *Ampelomyces quisqualis*

3.6.1.1 Taxonomie

Ampelomyces quisqualis byl poprvé popsán jako houbový organismus italským botanikem Cesatim v roce 1852 (Kiss *et al.*, 2004). Taxonomicky zařadit druh *Ampelomyces quisqualis* je velmi obtížné. Studie Kisse a Nakasono (1998) zjistila, že v rámci rodu *Ampelomyces* se vyskytuje více než jeden druh. *Ampelomyces quisqualis* patří do říše Fungi, oddělení Ascomycota, pododdělení Pezizomycotina, třídy Dothideomycetes, řádu Pleosporales a rodu *Ampelomyces* (Zhang *et al.*, 2009).

V dnešní době ho známe jako *Ampelomyces quisqualis*, ale dříve nesl taxonomický název *Cicinnobolus cesatii* (Clare, 1964).

3.6.1.2 Charakteristika

Ampelomyces quisqualis je vřecovýtrusná houba (Kiss *et al.*, 2004). Zástupci tohoto rodu jsou považováni za přirozeně se vyskytující mykoparazity z řádu Erysiphales (Sucharzewska *et al.*, 2012). *Ampelomyces* parazituje jak na pohlavních, tak i nepohlavních strukturách padlí, kde vytváří své pyknidy (Angeli *et al.*, 2012). Jelikož se jedná o parazita jiných primárních parazitů rostlin, mluvíme o něm jako o hyperparazitovi (Tollenaere *et al.*, 2014). Poprvé byl *A. quisqualis* popsán jako sekundární parazit padlí ve 30. letech 20. století (Yarwood, 1932).

Přítomnost rodu *Ampelomyces* na rostlině je možné pozorovat pouhým okem. Infikovaný list padlím představuje bílé moučnaté povlaky. Po napadení hyperparazita se v bílém myceliu objeví hnědé skvrny, které představují nepohlavní pyknidy (Ranković, 1997).

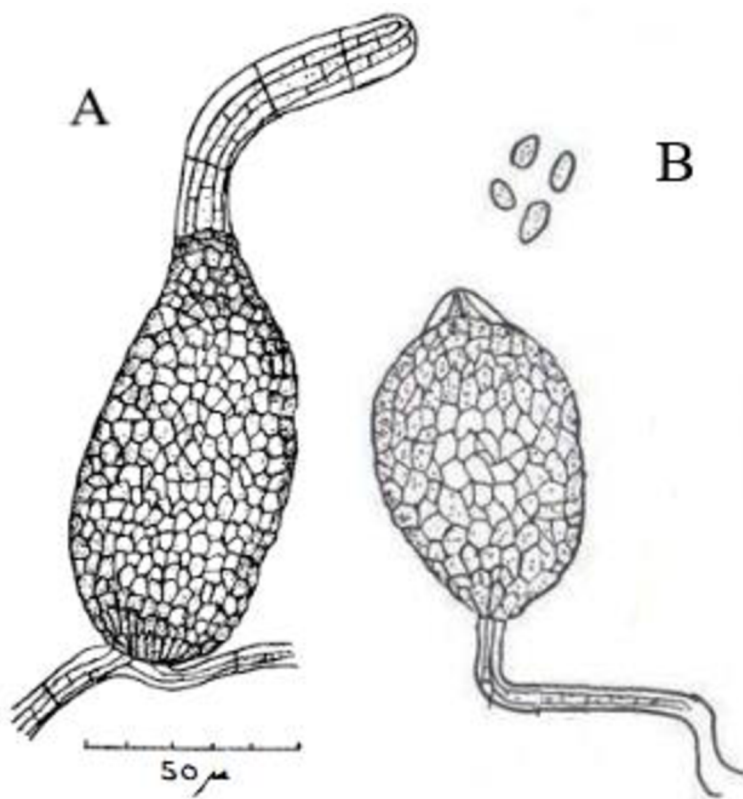
Ampelomyces quisqualis dokáže přežít až 21 dní na povrchu rostliny bez přítomného padlí. Po napadení dojde k přímému proniknutí hyperparazita do hostitelského organismu a k rychlému zničení cytoplazmy. Velkou výhodou při potlačení negativních vlivů padlí na infikovanou rostlinu je, že při celém procesu nedochází ke vzniku toxických metabolitů (Angeli *et al.*, 2009; Kiss, 2008).

3.6.1.3 Životní cyklus

Ampelomyces je schopen v nepříznivých podmínkách přežít ve formě konidií a pyknid (Obrázek 2) uvnitř chasmothecií houbového hostitele. Spory nebo části hyf mohou být přenášeny na velké nebo krátké vzdálenosti pomocí větru a deště. Za přítomnosti vysoké relativní vlhkosti vzduchu dochází k uvolnění životaschopných konidií, které začnou klíčit (Ranković, 1997).

Hyperparazit nejdříve infikuje hyfy padlí a následně prostupuje vegetativním myceliem (Kiss, 1998). Proniknutím dovnitř buněk padlí dojde k inhibici dalšího rozvoje infekce a oba paraziti začínají soutěžit o rostlinné substráty a živiny (Sucharzewska *et al.*, 2012). *Ampelomyces quisqualis* prorůstá jak do nepohlavních konidioforů s konidiemi, tak i do pohlavních stadií, jako jsou askogonium, antheridium nebo nezralé chasmothecium. V nich vytváří struktury zvané pyknidy (Kiss, 1998). Pyknidy produkují jednobuněčné, hyalinní konidie, které jsou uloženy v extracelulárním slizovitém matrixu (Clare, 1964).

Velikost i tvar pyknid a konidií je velmi proměnlivý. Závisí na místě jejich vzniku a druhu (Ranković, 1997). Konidie představují jednobuněčné, hyalinní, elipsoidní až válcovité útvary dlouhé 4–9 μm a široké 2–4 μm . Pyknidy jsou světle hnědé až tmavě hnědé barvy různého tvaru (kulaté, oválné, vejčité, elipsoidní nebo válcovité), dlouhé 33–105 μm a široké 23–53 μm (Clare, 1964; Ranković, 1997). Pohlavní rozmnožování u *A. quisqualis* nebylo dosud pozorováno (Kiss, 2008).



Obrázek 2: Nepohlavní struktury hyperparazita padlí *Ampelomyces quisqualis*; (A) pyknida, (B) konidie (upraveno podle Clare, 1964).

3.6.1.4 Hostitelský okruh

Jednotlivé druhy rodu *Ampelomyces* jsou hyperparaziti širokého hostitelského okruhu houbového řádu Erysiphales (Sucharzewska *et al.*, 2012). Celosvětově je rozšířený v oblastech mírného a tropického pásma (Elad *et al.*, 1996). Mykoparazit byl zaznamenán na padlí převážně u ekonomicky významných hospodářských plodin (Angeli *et al.*, 2009). Byl potvrzen u více než 64 druhů padlí v rodech *Brasiliomyces*, *Erysiphe*, *Leveillula*, *Microsphaera*, *Phyllactinia*, *Podosphaera*, *Sphaerotheca* a *Uncinula* (Falk *et al.*, 1995a).

3.6.1.5 Vliv podmínek prostředí na růst a vývoj *Ampelomyces quisqualis*

Aby mohl patogen vyklíčit a infikovat hostitelský organismus, potřebuje k tomu příznivé podmínky prostředí. Takovými je vysoká vlhkost, teplota a dostatek vody (Falk *et al.*, 1995a). Z pohledu pH se jedná o organismy s širokou ekologickou valencí. Jednotlivé kmeny dokáží účinkovat v rozmezí pH 3 – 8. Ale nejlepší podmínky pro růst a sporulaci má při pH 5,5 až 7 (Arena *et al.*, 2017).

Za vhodných podmínek jsou konidie uvolňovány ze zralých pyknid a jsou rozptýleny deštěm do kolonií padlí (Falk *et al.*, 1995b). K vyklíčení a k infikování parazita je zapotřebí dostatek vody a přítomnost vyšší teploty v rozmezí 20 – 30 °C. Za těchto příznivých podmínek může dojít k infekci méně než za 24 hodin (Angeli *et al.*, 2009).

Ampelomyces quisqualis proniká přímo stěnami hyf, konidioforů a nezralých chasmothecií a šíří se v hyfách kolonií padlí, aniž by jej zabil. Uvnitř se začnou tvořit pyknidy, které produkují konidie a celý proces je dokončen během 2 až 4 dnů (Falk *et al.*, 1995b). V přítomnosti vody dojde k prasknutí pyknid a konidie se začnou uvolňovat v podobě cirrhu (prosakující kapky) (Kiss, 2008). Infikované buňky padlí odumírají brzy po zahájení tvorby pyknid (Kiss *et al.*, 2004).

3.6.1.6 Způsob účinku

Ampelomyces quisqualis je sekundární parazit, který potlačuje pohlavní i nepohlavní životní cyklus svého hostitele (Kiss, 2008). K přímému proniknutí do hostitelského organismu mu pomáhají lytické enzymy. Ty se podílejí na zničení buněčné stěny (Angeli *et al.*, 2012). Nejvýznamnějším enzymem uplatňujícím se při mykoparazitismu je exo- β -1,3-glukanáza (Rotem *et al.*, 1999). Tento extracelulární enzym patří do skupiny glykosid hydroláz (Cutfield *et al.*, 1999). Je kódovaný genem *exgA*. K expresi genu dochází v pozdní fázi napadení ještě před tím, než se vytvoří zralé pyknidy (Rotem *et al.*, 1999). Tento objev potvrdili ve svém výzkumu i Angeli *et al.* (2012) a dodali, že kromě glukanázové aktivity má *A. quisqualis* i proteázovou aktivitu.

Studie Angeli *et al.* (2012) potvrdila, že napadením padlí *A. quisqualis* opravdu redukuje počet konidií na ošetřených listech, které byly infikovány padlím. Tím potvrdila jeho antagonickou aktivitu vůči padlí.

3.6.1.7 Komerční využití *Ampelomyces quisqualis* jako biologické kontroly vůči padlí

Ampelomyces quisqualis je předmětem mnoha výzkumů biologické kontroly padlí už více než 50 let (Falk *et al.*, 1995b). Jako první jeho potenciál ukázal Yarwood (1932). Zájem o tohoto hyperparazita byl vzbuzen hlavně kvůli své specifčnosti vůči padlí a jeho schopnosti se sám rozšiřovat. Kromě těchto výhod disponuje svojí snadnou výrobou v *in vitro* podmínkách. *Ampelomyces quisqualis* sice dokáže napadat hostitele a potlačovat jeho pohlavní i nepohlavní životní cyklus, ale při svém účinku neprodukuje žádné toxické metabolity, které by mohly mít potenciální dopad na životní prostředí (Angeli *et al.*, 2012).

Nikdy nemůže mít organismus jen plusové body. Jeho negativní stránkou je variabilita jednotlivých kmenů, které se mezi sebou liší jednak úrovní parazitování na hostitelích, ale i v různých podmínkách pro růst a vývoj (Carbó *et al.*, 2021b). Studie provedená Carbó *et al.* (2021b) se zaměřila na podpoření jeho účinnosti. Zjistili, že když vytvoří fluidní vrstvu na rostlině, zlepši se přilnavost k povrchu a přípravek je účinnější.

Bylo provedeno mnoho studií zkoumajících jednotlivé kmeny mykoparazita. Snahou bylo najít nejvhodnější kmen k biologické kontrole proti padlí (Kiss *et al.*, 2004). Nejlepší výsledky ukázal kmen AQ 10 (izolát M-10) izolovaný z *Oidium* sp. (Sztejnberg, 1993). V roce 1995 byl schválen Agenturou pro ochranu životního prostředí (EPA) a začal být komerčně prodáván pod názvem AQ 10 (Kiss *et al.*, 2004).

Přípravek AQ 10 obsahuje konidie houbového organismu *A. quisqualis* ve formě rozpustných granulí, které jsou snadno rozložitelné ve vodě. V 1 gramu přípravku je nejméně 5×10^9 životaschopných spor. AQ 10 se aplikuje na infikovaná místa ve formě postřiku v raných stádiích vývoje padlí. K docílení co největší úspěšnosti by se měl postřik opakovat v intervalech po 6–8 dnech za přítomnosti vysoké vlhkosti prostředí (Biogard, [b. r.]).

Jednotlivé výsledky studií o účinnosti tohoto přípravku jsou protichůdné. V některých případech je potvrzena jeho účinnost a *Ampelomyces quisqualis* opravdu reguluje populaci padlí (Tollenaere *et al.*, 2014), ale v jiných nedošlo k cílenému účinku a padlí rostlo dál (Shishkoff a McGrath, 2002). Podle studie Kisse (2003) tento biofungicid neposkytuje dobré výsledky. V práci se snažili srovnat přípravek AQ 10 s jinými antagonisty. Výzkumy potvrdily jeho nižší účinnost. Vědci se domnívají, že rozdíly jsou způsobeny odlišnými podmínkami prostředí.

Ampelomyces quisqualis je svými požadavky velmi náročný na prostředí. K vyklíčení potřebuje mít vysokou vlhkost, přítomnost vody nebo pomalý vývoj kolonií padlí (Kiss, 2003;

Romero *et al.*, 2007). Proto se pro zvýšení účinnosti doporučuje aplikovat postřik ve skleníku, kde je kontrolované prostředí (Paulitz a Bélanger, 2001). Kromě výše zmíněných podmínek se doporučuje použít AQ 10 s adjuvantní látkou AddQ. Ta má vytvořit lepší podmínky a podpořit aktivitu mykoparazita, a tím umožnit vyšší schopnost hyperparazita kolonizovat padlí (Kiss, 2003).

3.6.2 Listová hnojiva

Listová hnojiva se poslední dobou stávají více upřednostňovanou a důležitou metodou hnojení rostlin. Avšak aplikaci hnojiv na půdu nelze zatím touto metodou nahradit. Podaná listová výživa proniká do rostlinného pletiva dvěma způsoby. Buď živiny prochází přes průduchy, anebo přes hydrofilní póry, které se vyskytují v kutikule. Listová hnojiva obsahují kromě účinných složek také pomocné látky. Těmi jsou povrchově aktivní látky. Ty jsou nutné k zajištění přilnavosti a rovnoměrnému rozmístění přípravku na listové ploše (YanTing *et al.*, 2009).

Listové hnojivo je voleno díky rychlejšímu způsobu dopravy živin do pletiv. Produkty obsahují směs makro a mikroživin, která kromě zvýšené výnosnosti a zlepšení kvality plodin chrání i před případnými chorobami (Horvat *et al.*, 2014). Mimo jiné přispívají ke zmírnění znečištění půdy a vody. To je v dnešní době žádoucí (Alexander a Schroeder, 2008).

3.6.3 Citrusové silice

Citrusy jsou plody rostlin z čeledi routovitých (Rutaceae), které zná každý člověk díky jejich výrazné kyselé chuti. Citrusové plody obsahují velké množství vitamínů a minerálů, které mohou pomoci předějit mnoha zdravotním problémům. Objevuje se v nich například kyselina askorbová, kyselina citronová, provitamin A, vitamin B, flavonoidy nebo hořčík. Není divu, že se vědci snažili jejich pozitivní vliv na lidskou populaci přesměřovat i do té rostlinné (Aishawarya Reddy *et al.*, 2018).

3.6.3.1 Způsob účinku

Výzkum vedený Aishawarya Reddy *et al.* (2018) se zabýval studiem biologicky aktivních látek, které jsou obsažené v sekundárních metabolitech rostlin a mají širokou škálu léčivých vlastností. Sekundární metabolické látky slouží jako ochrana proti predátorům, parazitům a chorobám. Mezi fytochemikálie patří například fenoly, antioxidanty a protizánětlivé látky. Všechny tyto látky mají ochranný účinek a jsou schopny vhodně zamezit propuknutí choroby (Zhang *et al.*, 2015).

Extrakt z citrusové silice obsahuje vysoký podíl alkaloidů, saponinu, fenolové kyseliny a flavonoidů. Flavonoidní sloučeniny, které se v plodech vyskytují, vykazují antifungální vlastnosti.

Mechanismus účinku většiny antifungálních látek spočívá ve zvýšení permeability buněčných stěn hub (Ehiobu *et al.*, 2021). Další významnou látkou podílející se na ochraně rostliny proti patogenům je saponin. Jedná se o heteroglykosidickou sloučeninu izoprenového původu. Její přítomnost vyvolává inhibiční účinek proti zánětlivým chorobám (Oikeh *et al.*, 2016). Díky těmto látkám vykazuje extrakt antibakteriální, protiplísňové a protizánětlivé vlastnosti (Ehiobu *et al.*, 2021). Takových vlastností se využívá i při účelné ochraně rostlin proti patogenům ve formě hnojiva (Harlinda *et al.*, 2019).

Další negativní vliv na rostlinu má oxidační stres. Ten je způsobený nerovnováhou volných radikálů vzniklých při látkových výměnách. Systém nemá dostatečné množství látek k neutralizaci, a proto se postupně začínají hromadit volné radikály, které mají za následek stárnutí buněk nebo příznivé podmínky pro patogeny (Oikeh *et al.*, 2016). Výzkum provedený Ehiobou *et al.* (2021) potvrdil, že citrusové silice mají silné antioxidační vlastnosti. Kromě toho mají tyto silice potenciální využití jako biofungicidy pro zlepšení trvanlivosti plodů.

Studie Oikeho *et al.* (2016) se snažila změřit vliv působení ovocných šťáv proti některým grampozitivním a gramnegativním bakteriím. Významnější účinky byly zjištěny vůči grampozitivním bakteriím. Antifungální aktivita u citrusové šťávy byla nejvíce účinná u kvasinky *Candida albicans* a inhibovala například bakterie *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* a *Salmonella* sp.. Jejich výzkum poukázal na to, že při použití nižší koncentrace má koncentrát mikrobiostatické účinky, brání růstu mikroorganismů. Naopak při vyšší koncentraci je jeho účinek mikrobiocidní, tedy zabíjí mikroorganismy. Jejich výsledky potvrzuje i studie z roku 2020, která jednoznačně stvrdila, že citrusové silice mají antioxidační, antibakteriální a antifungální vlastnosti (Oikeh *et al.*, 2020).

Studie provedená Ramlim (2019) se zaměřila na stanovení antioxidační aktivity extraktů zachycujících lipidové peroxylové radikály. Zjistil, že pokud použije antioxidanty, tak rostlinu ochrání před případným poškozením membrány, která by vedla k rozvoji chorob.

3.6.3.2 Komerční využití citrusových silic jako biologické kontroly

K biologické ochraně se využívá pozitivních vlastností citrusových silic. Ty se aplikují na listy ve formě postřiku. Jejich účinek omezuje výskyt škůdců a houbových chorob. Komerční přípravek s těmito vlastnostmi má název FLORAVITA citro. FLORAVITA citro funguje na bázi dusíkatého listového hnojiva a obsahuje kromě silic také dusík v amidické formě. V ní může rostlina rychle prvek přijmout. Kromě těchto složek obsahuje ještě povrchově aktivní látku, která způsobí lepší přilnavost a rovnoměrné rozmístění přípravku na listu. Výrobce je doporučeno pro lepší úspěšnost opakovat postřik po 7 denních intervalech a při teplotě 20 °C až 21 °C (FLORASERVIS (c) [b. r.]).

S tímto preparátem zatím nebyly realizovány experimenty, které by dokazovaly potlačení infekce padlí.

3.6.4 Kokosovník ořechoplodý

Kokosový ořech je plod kokosovníku ořechoplodého (*Cocos nucifera* L.) z čeledi arekovitých (Arecaceae). Obsahuje silnou hnědou skořápku, pod ní je kokosové jádro z tvrdé bílé dužiny s kokosovou vodou. Pěstování této palmy má mnohostranné využití díky svým nutričním a léčivým složkám. Má antivirové a protiplísňové účinky, jelikož obsahuje vitamin C, železo, selen, měď, vápník a vitamíny řady B. Z rostliny se vyrábí různé produkty. Například sladké pochutiny, kokosový olej a máslo. Svě využití nachází i v kosmetice díky svým blahodárným účinkům na pokožku (Hooda *et al.*, 2012).

Kromě zdroje minerálních látek a živin pro lidský organismus jsou produkty z kokosového plodu používány v oblasti zdraví a prevence nemocí. Jako první se snažili vědci jeho pozitivní účinky ukázat na lidské populaci. Studie měly dobré výsledky. Ať už testy prokázaly úspěšnost při léčbě nervových nemocí, ztrátě paměti nebo při onemocnění pokožky, rozhodli se biologové využít produkty z kokosové palmy proti houbovým parazitům rostlin. Například ve formě kokosového substrátu, který je vyrobený z drcených kokosových vláken. V nich se vyskytuje houba rodu *Trichoderma*, která podporuje odolnost kořenového systému. Kromě substrátů jsou k dispozici i prostředky k biologické ochraně, například výluh z kokosového mýdla (DebMandal a Mandal, 2011; Hasan *et al.*, 2020).

3.6.4.1 Způsob účinku

Studie provedená Ushaim Ranim *et al.* (2011) si dala za cíl zjistit potenciál rostlinného extraktu z listů kokosovníku ořechoplodého (*Cocos nucifera* L.) k biologické kontrole vůči škůdcům. Výsledky ukázaly vysokou toxicitu pro veškerý hmyz a poprvé byly extrakty označeny jako ideální kandidáti na přirozený způsob hubení škůdců. Kromě toho byl v experimentu objeven vysoký obsah monoterpenů, které se mimo jiné uplatňují v obranných mechanismech a rostlině slouží jako detoxikační faktory. Tato sloučenina se řadí mezi bioaktivní látky a svými antibakteriálními účinky pomáhá také chránit rostlinu před případnými patogeny. Tím se kokosovník ořechoplodý zařazuje jako potenciální biologický prostředek na ochranu proti mikroorganismům.

Kromě monoterpenů se podílí na snížení intenzity onemocnění způsobené mikroorganismy, jako je *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp. nebo *Escherichia coli*, i další sloučeniny. Například flavonoidy a fenolové sloučeniny. I ony podporují antioxidační aktivitu. Flavonoidy jsou sekundární rostlinné metabolity, které při oxidačním stresu pomáhají deaktivovat vznik volných radikálů. Ty by mohly způsobit poškození tkáně (Lima *et al.*, 2015).

Podle studie Theba *et al.* (2016) obsahuje kokosová skořápka fenolové sloučeniny. Ve své práci testovali využití na mykózy kůže, které byly způsobeny lidskými patogenními houbami. Například *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton rubrum* a *Microsporum canis*. Když byla kokosová skořápka rozemleta a podána ve formě prášku na postižená místa, došlo ke snížení onemocnění. Výsledky tak potvrdily antimikrobiální a antioxidační aktivitu fenolových sloučenin. Také Sinsinwary *et al.* (2018), který se zaměřil na přítomnost fenolových látek v extraktu kokosového plodu, došel ke stejnému závěru.

V plodu je přítomná i volná aminokyselina L-arginin, která také snižuje množství volných radikálů (DebMandal a Mandal, 2011).

Kromě fenolových sloučenin obsahuje plod kokosovníku ořechoplodého (*Cocos nucifera* L.) kyselinu kávovou, 4-hydroxybenzoovou, chlorogenovou, epikatechin a katechin. Přítomnost všech těchto látek potvrdila studie Silva *et al.* (2013). Katechiny jsou silné antioxidanty, které také chrání rostlinu před poškozením volnými radikály.

Díky prokázaným antivirovým a protiplísňovým účinkům se biologové rozhodli využít těchto vlastností a vyrobit přípravky z kokosového plodu, které budou chránit rostlinu před houbovými parazity. Studie provedená Hasanou *et al.* (2020) měla za úkol otestovat vliv kokosových vláken na infikované rajče jedlé (*Solanum lycopersicum* L.) saprofytickými houbami rodu *Fusarium*. Výsledky ukázaly snížení symptomů, ošetřená rostlina měla zdravé listy a vysoký obsah živin v plodech.

Dalším produktem je draselné mýdlo vyrobené z kokosového tuku. Hlavní složkou je kokosový olej. Draselné mýdlo má velmi dobré emulgační účinky, kromě toho rostlině dodává potřebný draslík k výživě. Kokosový olej má vysoký obsah antioxidantů, které zvyšují obranyschopnost a mají hojivé účinky. Je v něm obsažený vysoký podíl kyseliny laurové. Ta narušuje lipidové membrány a ničí například houbové organismy (Hooda *et al.*, 2012; Sari, 2018).

3.6.4.2 Komerční využití kokosového mýdla jako biologické kontroly

Komerční přípravek FLORAVITA coco představuje biologickou ochranu proti houbovým chorobám. Obsahuje draselné kokosové mýdlo, které na povrchu listů vytváří ochranný film. Ten pomáhá smáčet povrch rostliny a umožní smytí mycelia patogenu. Dalšími účinnými prvky jsou dusík v amidické formě a draslík v bezchloridové formě. Všechny výše jmenované složky se podílí na zvýšení odolnosti rostliny.

FLORAVITA coco se aplikuje na infikovaná místa ve formě postřiku. Při použití dojde jak k zastavení vývoje choroby, tak funguje i jako případná ochrana před napadením. Kromě toho zlepšuje celkovou odolnost rostlin proti stresovým podmínkám, přispívá ke kvalitě plodů, k lepšímu

růstu, vzhledu a vitality. Výrobce je doporučeno pro lepší úspěšnost opakovat postřik po 14-ti denních intervalech (FLORASERVIS (a) ([b. r.])).

S tímto preparátem zatím nebyly realizovány experimenty, které by dokazovaly potlačení infekce padlím.

3.6.5 Křemík

Křemík je druhým nejhojnějším prvkem vyskytujícím se v zemské kůře. Jeho hlavní výhodou je snadná vstřebatelnost pro rostlinu. Posiluje buněčnou stěnu, ovlivňuje růst buněk, zvyšuje odolnost vůči houbovým chorobám a pomáhá rostlinám lépe zvládat stresové podmínky. Ačkoliv má pozitivní vliv, tak není definovaný jako základní prvek nepostradatelný pro rostlinnou výživu. Jedinou výjimku tvoří přesličky z řádu Equisetales (Epstein, 1994).

3.6.5.1 Způsob účinku

Křemík v rostlině reguluje absorpci různých živin, a tak zlepšuje kvalitu plodin. Dokáže snížit znečištění těžkými kovy (Cd, Mn, Cr, Pb, Cu a Zn), které se dostanou do pletiv. Mimo jiné také snižuje transpirační rychlost, tím reguluje ztráty vody a zvyšuje odolnost vůči suchu. Zlepšuje světelnou adsorpční schopnost rostlin, čímž podporuje fotosyntézu (Rao *et al.*, 2019). Studie Kulikové *et al.* (2020) potvrzuje, že přípravky obsahující křemík opravdu zlepšují výnosy plodin a jejich kvalitu. Všechny tyto pozitivní vlastnosti přispěly k jeho využití v alternativnějších metodách kontroly rostlin.

Buněčná stěna je často napadána a oslabována různými vlivy, patogeny nebo škůdci. Křemík pomáhá vytvářet tzv. fyzickou bariéru, kdy se aktivně podílí v reakcích na vytvoření signální kaskády směrem dovnitř buňky (Luyckx *et al.*, 2017). Studie Woźniaka *et al.* (2020) zjistila, že při spojení propolisového extraktu s křemíkem dojde na ošetřených místech k omezené aktivitě houbových patogenů. Kromě toho potvrdila, že křemík zvyšuje odolnost pevnosti buněčné stěny.

Do popředí se dostávají nanočástice křemíku. Na prozkoumání jejich vlastností je soustředěno mnoho studií. Mezi ně patří i ta od Rastogiho *et al.* (2019). Nanočástice mají specifické fyziologické vlastnosti, které umožňují lépe vstupovat do rostlinného organismu a v něm ovlivňují metabolické aktivity. Nanočástice křemíku vytvoří film na stěně epidermálních buněk. Ten funguje jako zpevňující materiál a působí jako prostředek k prevenci houbové, plísňové i bakteriální infekce. Také studie García-Gaytánym *et al.* (2019) potvrdila, že nanočástice křemíku pomáhají snižovat stres a chrání rostlinu před škodlivými vlivy.

Na padlí byly aplikovány formou listového hnojiva různé komerční přípravky obsahující křemík. Výsledky byly velmi přínosné, jelikož u všech ošetřených míst byl pozorován nižší vývoj infekce (Wolff *et al.*, 2012).

3.6.6 Fenyklový esenciální olej

Ke zlepšení účinku daného prvku se využívá spojení s fenyklovým esenciálním olejem. Fenykl je krytosemenná rostlina z řádu Apiales. K výrobě oleje se používají semena, která mají antimikrobiální a antioxidantní vlastnosti. Obsahují také velké množství polyfenolů a flavonoidů, které by mohly být potenciálně využity pro biologickou kontrolu proti houbovým chorobám (Abdesslem *et al.*, 2020; Lo Cantore *et al.*, 2004; Maghami *et al.*, 2019).

3.6.6.1 Způsob účinku

Studie Kara *et al.* (2020) prokázala, že fenyklový esenciální olej snižuje symptomy houbových chorob. Ty mohou být způsobeny například vláknitou houbou *Fusarium* spp. nebo *Pestalotiopsis* spp. z oddělení vřeckovýtrusných hub. Na antimikrobiálních vlastnostech fenyklového oleje se kromě fenolových sloučenin podílí i terpenoidy. Těkávé složky napadají membrány houby a změní jeho morfologii. Dojde ke sevrvnutí mycelia hub a k usmrcení patogena.

3.6.6.2 Komerční využití křemíku a fenyklového oleje jako biologické kontroly

Biologickou ochranu proti houbovým chorobám představuje komerční přípravek FLORAVITA SiO. Obsahuje biogenní prvky, jako je křemík, fosfor, draslík, dusík a fenyklový olej. Hlavní prvek křemík se vyskytuje v roztoku ve formě oxidu křemičitého. Směs jednotlivých elementů zvyšuje obranyschopnost rostliny proti případné infekci. Způsob ochrany spočívá ve vytvoření ochranného filmu na povrchu listů. Ten zpevní buněčnou stěnu a vytvoří bariéru, kterou patogeny hůře překonávají, tím chrání rostlinu před případným napadením.

Produkt funguje na bázi listového hnojiva tak, že se aplikuje na rostlinu ve formě postřiku. Při použití dojde k zaschnutí parazitického mycelia a k redukcí viditelných symptomů. Kromě vyšší odolnosti rostlin vůči houbovým chorobám příznivě působí na příjem a transport kyslíku nebo jiných živin, ovlivňuje syntézu ligninu a mnoho dalších. Výrobce je doporučeno pro lepší úspěšnost opakovat postřik po 14-ti denních intervalech a při teplotě 20 °C až 21 °C (FLORASERVIS (b) [b. r.]).

S tímto preparátem zatím nebyly realizovány experimenty, které by dokazovaly potlačení infekce padlí.

4 Experimentální část

4.1 Použité přístroje

Analytické váhy (Sartorius)

Mikroskop OLYMPUS BX60 s digitální CCD kamerou DP73

Světelný mikroskop OLYMPUS CHK

Software OLYMPUS CellSens

4.2 Použité chemikálie a roztoky

Anilinová modř 1% roztok (Sigma-Aldrich) (1g anilinové modři bylo rozpuštěno ve 100 ml destilované vody)

PDA – Potato dextrose Agar (Sigma Aldrich)

Destilovaná voda

Glycerol bezvodý (PENTA)

Kyselina octová 99% (PENTA)

4.3 Biologický materiál

4.3.1 Rostlinný materiál

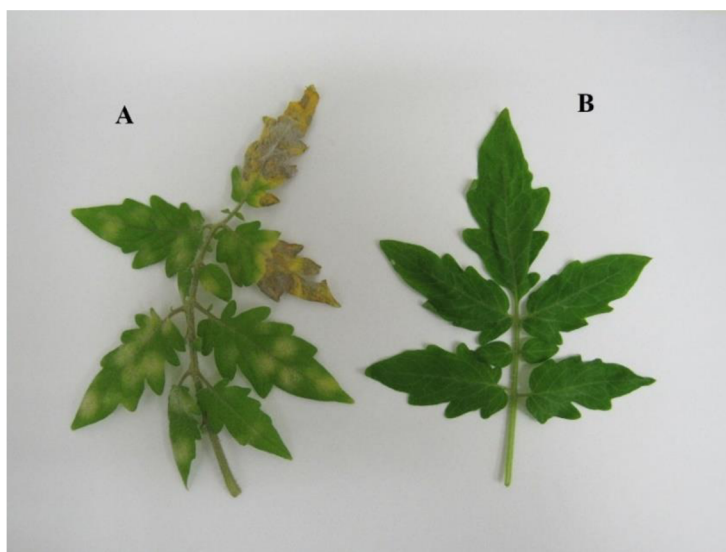
K experimentu byl vybrán jeden rostlinný genotyp, konkrétně rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*) cv. Amateur (Obrázek 3).

Semena rajčete jedlého byla vyseta do malého plastového květináče, který byl naplněn navlhčeným perlitem. Květináč byl přenesen do fytotronu, kde byla udržována fotoperioda 12h/12h (den/noc) a teplota 20/18 °C (den/noc). Jakmile došlo k dosažení stadia dvou pravých listů, byly semenáčky přesazeny do květináčů se zahradním substrátem smíchaným se zeminou (1:1). Květináče byly umístěny do skleníku s fotoperiodou shodnou s venkovními světelnými podmínkami a teplotou 25/20 °C (den/noc). Po osmi týdnech byly rostliny připraveny k experimentu.

4.3.2 Izoláty padlí

K inokulaci rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur) bylo vybráno padlí rajčat (*Pseudoidium neolyopersici* UPOC-FUN-193) (Obrázek 3). Padlí bylo pěstováno na rostlinách rajčete jedlého, které byly umístěny ve fytotronu. Tam byla udržována fotoperioda 12h/12h (den/noc) a teplota 20/18 °C (den/noc). Aby padlí neinfikovalo ostatní rostliny, muselo být překryto igelitovými kryty.

Pro zajištění dostatečného množství inokula padlí bylo potřeba inokulovat další rostliny padlím. Inokulace probíhala pomocí kontaktní metody. To znamená, že infikovaný list byl přiložen ke zdravému listu rostliny.



Obrázek 3: Listy rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur) napadené padlím *Pseudoidium neolyopersici* (A) a listy zdravého rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur (B)). Foto: K. Tkáčová.

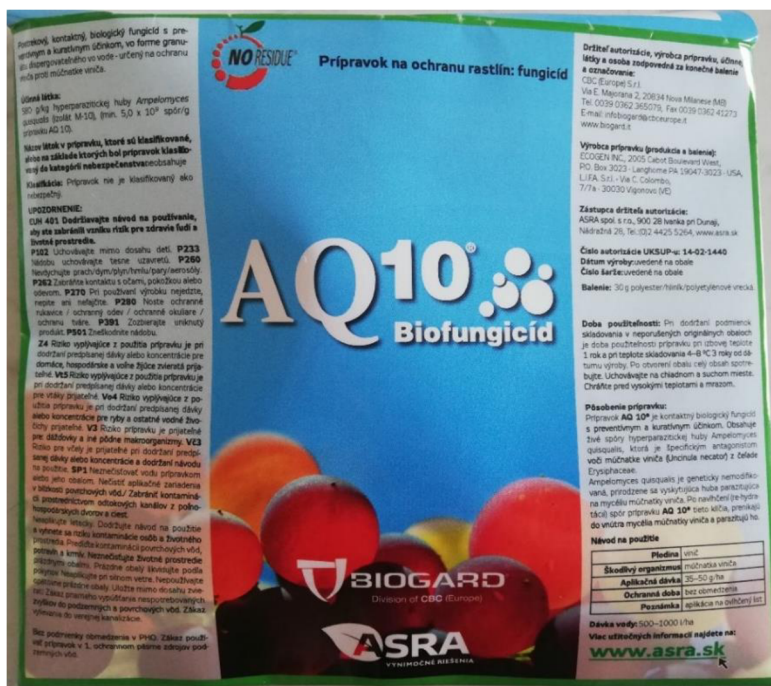
4.3.3 *Ampelomyces quisqualis*

K experimentu byl použit přípravek AQ 10 od firmy Biogard (Obrázek 4). Ten není registrovaný v České republice, ale na Slovensku. Přípravek obsahuje spory hyperparazitické houby *Ampelomyces quisqualis* (izolát M-10). Je prodáváný ve formě rozpustných granulí ve vodě (Obrázek 5). V 1 gramu těchto granulí je obsaženo 5×10^9 spor.

Pro aplikaci postřiku výrobce doporučuje rozpustit 35–50 g granulí v 500–1000 l vody na 1 ha plochy. Tyto hodnoty byly použity pro další výpočty k vytvoření suspenze o objemu 500 ml (viz výpočet níže).

$$\text{Hmotnost AQ 10 pro objem vody } 0,5 \text{ l} = \frac{\text{hmotnost AQ 10 (1 ha)} \times 0,5 \text{ l}}{\text{objem vody (1 ha)}}$$

K experimentu byly vybrány postřiky v normální, dvojnásobné a pětinasobné koncentraci. Pro pokus byly připraveny suspenze o objemu 500 ml. Pro normální koncentraci bylo rozpuštěno 50 mg granulí přípravku AQ 10 v 500 ml destilované vody. U dvojnásobné koncentrace bylo rozpuštěno 100 mg granulí přípravku AQ 10 v 500 ml destilované vody a u pětinasobné bylo rozpuštěno 250 mg granulí přípravku AQ 10 v 500 ml destilované vody. Roztoky byly připraveny za stálého míchání po dobu 30 minut. Suspenze byla na infikované rostliny padlím aplikovaná pomocí postřiku.



Obrázek 4: Komerční přípravek AQ 10 od firmy Biogard s hyperparazitickou houbou *Ampelomyces quisqualis*. Foto: K. Tkáčová.



Obrázek 5: Ve vodě rozpustné granule přípravku AQ 10 od firmy Biogard s hyperparazitickou houbou *Ampelomyces quisqualis*. Foto: K. Tkáčová.

4.3.4 FLORAVITA citro

K experimentu byl použit přípravek FLORAVITA citro od firmy FLORASERVIS (Obrázek 6). Ten je registrovaný na Slovensku. Jedná se o dusíkaté hnojivo obsahující citrusové silice. Přípravek je vyrobený ve formě roztoku, který je neomezeně mísitelný s vodou. Výrobce pro aplikaci doporučuje dát 50 ml roztoku FLORAVITA citro do 10 l vody.

$$\text{Objem FLORAVITA citro pro objem vody } 0,05 \text{ l} = \frac{\text{objem FLORAVITA citro (1 ha)} \times 0,05 \text{ l}}{\text{objem vody (1 ha)}}$$

K experimentu byly vybrány postřiky v normální, dvojnásobné a pětinásobné koncentraci. Pro pokus byly připraveny roztoky o objemu 50 ml. Pro normální koncentraci bylo napipetováno do 50 ml destilované vody 250 µl přípravku FLORAVITA citro. U dvojnásobné koncentrace bylo napipetováno 500 µl přípravku FLORAVITA citro do 50 ml destilované vody a u pětinásobné bylo napipetováno 1250 µl přípravku FLORAVITA citro do 50 ml destilované vody. Roztoky byly promíchány a aplikovány na infikované rostliny padlím pomocí postřiku.



Obrázek 6: Komerční přípravek FLORAVITA citro s citrusovými silicemi od firmy FLORASERVIS. Foto: K. Tkáčová.

4.3.5 FLORAVITA coco

K experimentu byl použit přípravek FLORAVITA coco od firmy FLORASERVIS (Obrázek 7). Ten je registrovaný na Slovensku. Jedná se o listové hnojivo, které obsahuje kokosové mýdlo, prvky dusík a draslík. Přípravek je vyrobený ve formě roztoku neomezeně mísitelného s vodou. Výrobce pro aplikaci doporučuje dát 50 ml roztoku FLORAVITA coco do 10 l vody.

$$\text{Objem FLORAVITA coco pro objem vody } 0,05 \text{ l} = \frac{\text{objem FLORAVITA coco (1 ha)} \times 0,05 \text{ l}}{\text{objem vody (1 ha)}}$$

K experimentu byly vybrány postřiky v normální, dvojnásobné a pětinasobné koncentraci. Pro pokus byly připraveny roztoky o objemu 50 ml. Pro normální koncentraci bylo napipetováno do 50 ml destilované vody 250 µl přípravku FLORAVITA coco. U dvojnásobné koncentrace bylo napipetováno 500 µl přípravku FLORAVITA coco do 50 ml destilované vody a u pětinasobné bylo napipetováno 1250 µl přípravku FLORAVITA coco do 50 ml destilované vody. Roztoky byly promíchány a aplikovány na infikované rostliny padlím pomocí postřiku.



Obrázek 7: Komerční přípravek FLORAVITA coco s kokosovým mýdlem od firmy FLORASERVIS. Foto: K. Tkáčová.

4.3.6 FLORAVITA SiO

K experimentu byl použit přípravek FLORAVITA SiO od firmy FLORASERVIS (Obrázek 8). Ten je registrovaný na Slovensku. Jedná se o listové hnojivo, které obsahuje fenyklový olej a prvek křemík. Přípravek je vyrobený ve formě roztoku neomezeně mísitelného s vodou. Výrobce pro aplikaci doporučuje dát 50 ml roztoku FLORAVITA SiO do 10 l vody.

$$\text{Objem FLORAVITA SiO pro objem vody } 0,05 \text{ l} = \frac{\text{objem FLORAVITA SiO (1 ha)} \times 0,05 \text{ l}}{\text{objem vody (1 ha)}}$$

K experimentu byly vybrány postřiky v normální, dvojnásobné a pětinasobné koncentraci. Pro pokus byly připraveny roztoky o objemu 50 ml. Pro normální koncentraci bylo napipetováno do 50 ml destilované vody 250 µl přípravku FLORAVITA SiO. U dvojnásobné koncentrace bylo napipetováno 500 µl přípravku FLORAVITA SiO do 50 ml destilované vody a u pětinasobné bylo napipetováno 1250 µl přípravku FLORAVITA SiO do 50 ml destilované vody. Roztoky byly promíchány a aplikovány na infikované rostliny padlím pomocí postřiku.



Obrázek 8: Komerční přípravek FLORAVITA SiO s křemíkem a fenyklovým olejem od firmy FLORASERVIS. Foto: K. Tkáčová.

4.4 Metody

4.4.1 Kontrola vitality spor *Ampelomyces quisqualis*

Kontrola vitality spor hyperparazita padlí *Ampelomyces quisqualis* obsažených v komerčním přípravku AQ 10 byla provedena inokulací suspenze do Petriho misky, která obsahovala Potato dextrose agar (PDA, Sigma Aldrich). Návod přípravy suspenze je popsán výše.

Pomocí Pausteurovy pipety byl 1 ml připravené suspenze přípravku AQ 10 nanesen na tuhý PDA agar v Petriho misce. Pomalým kroužením Petriho misky byla suspenze rozprostřena po celé ploše agaru. Následně byla Petriho miska umístěna do fytotronu s fotoperiodou 12h/12h (den/noc) a s teplotou 20/18 °C (den/noc).

Makroskopická i mikroskopická kontrola vitality spor byla provedena po 14 dnech od inokulace.

4.4.2 Účinnost přípravku AQ 10 na listových discích rajčete jedlého čerstvě inokulovaných padlím rajčat při různých koncentracích

K experimentu bylo použito rajče jedlé (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur) ve stáří 8 týdnů a izolát padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici* UPOC-FUN-193).

Byly nachystány 4 skleněné Petriho misky, do kterých bylo vloženo 8 vrstev buničité vaty a jedna vrstva filtračního papíru. Všechny takto připravené misky byly poté navlhčeny destilovanou vodou. Následně byly použity listové disky, které byly získány z vypěstovaných rostlin rajčete jedlého. Z listů byly pomocí korkovrtu vyseknuty kruhové listové disky o průměru 12 mm. Celkově bylo vyseknuto 40 disků, přičemž do každé Petriho misky bylo položeno 10 disků.

Na všech listových discích proběhla inokulace padlím rajčat pomocí kontaktní metody a to tak, že ke zdravému listovému disku byl přiložen list již padlím napadený.

Následovala příprava suspenze přípravku AQ 10 ve třech různých koncentracích – normální, dvojnásobné a pětinasobné koncentraci. Na listové disky ve 3 Petriho miskách byla aplikována suspenze AQ 10 v jednotlivých koncentracích. Poslední Petriho miska sloužila ke kontrole a bylo využito postřiku destilovanou vodou.

Všechny Petriho misky byly umístěny do fytotronu s fotoperiodou 12h/12h (den/noc) a s teplotou 20/18 °C (den/noc).

Listové disky byly po pěti odebirány po 7 dnech (168 hodin) a 11 dnech (264 hodin). Schéma experimentu je uvedeno v tabulce 1. Po odběru byly listové disky ihned vloženy do předem nachystaných skleněných lahvíček s 99% kyselinou octovou, která odbarvila chlorofyl. V kyselině octové byly listové disky ponechány 2 dny (48 hodin). Poté byly přeneseny do 85% glycerolu.

Tabulka 1: Schéma experimentu s listovými disky rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po inokulaci padlím rajčat (*Pseudoidium neolyopersici*) a aplikaci přípravku AQ 10.

Experimentální varianta	Doba odběru po aplikovaném postřiku [h]	Počet odebraných listových disků
Kontrola (aplikace destilované vody)	168	5
	264	5
Aplikace AQ 10 (normální koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace AQ 10 (dvojnásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace AQ 10 (pětinásobná koncentrace)	168	5
	264	5

4.4.3 Účinnost přípravku AQ 10 na listových discích rajčete jedlého již napadených padlím rajčat při různých koncentracích

K experimentu bylo použito rajče jedlé (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur) již napadené padlím rajčatovým (*Pseudoidium neolyopersici* UPOC-FUN-193). Jednalo se o rostliny ve stáří 10 týdnů, které byly plně napadené padlím, přibližně 2 týdny od inokulace.

Bylo nachystáno 5 skleněných Petriho misek, do kterých bylo vloženo 8 vrstev buničité vaty a jedna vrstva filtračního papíru. Všechny takto připravené misky byly poté navlhčeny destilovanou vodou. Následně byly použity listové disky, které byly získány z rostlin rajčete jedlého napadených padlím. Z listů byly pomocí korkovrtu vyseknuty kruhové listové disky o průměru 12 mm. Celkově bylo vyseknuto 45 disků, přičemž do jedné Petriho misky bylo položeno 5 disků a do zbylých čtyř Petriho misek bylo vloženo 10 disků.

Následovala příprava suspenze přípravku AQ 10 ve třech různých koncentracích – normální, dvojnásobné a pětinásobné koncentraci. Na listové disky byla aplikována suspenze AQ 10 v jednotlivých koncentracích. Normální koncentrace komerčního přípravku byla aplikována na listové disky ve dvou Petriho miskách, z toho u jedné Petriho misky byl postřik v normální koncentraci opakován po 7 dnech. Poslední Petriho miska sloužila ke kontrole a bylo využito postřiku destilovanou vodou.

Všechny Petriho misky byly umístěny do fytotronu s fotoperiodou 12h/12h (den/noc) a s teplotou 20/18 °C (den/noc).

Listové disky byly po pěti odebrány po 7 dnech (168 hodin), 11 dnech (264 hodin) a 14 dnech (336 hodin). Schéma experimentu je uvedeno v tabulce 2. Po odběru byly listové disky ihned vloženy do předem nachystaných skleněných lahvíček s 99% kyselinou octovou. Ta odbarvila

chlorofyl. V kyselině octové byly listové disky ponechány 2 dny (48 hodin). Poté byly přeneseny do 85% glycerolu.

Tabulka 2: Schéma experimentu s listovými disky rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) již napadenými padlím rajčat (*Pseudoidium neolyopersici*) a aplikaci přípravku AQ 10.

Experimentální varianta	Doba odběru po aplikovaném postřiku [h]	Počet odebraných listových disků
Kontrola (aplikace destilované vody)	168	5
	264	5
Aplikace AQ 10 (normální koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace AQ 10 (dvojnásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace AQ 10 (pětinásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace AQ 10 (normální koncentrace s opakovaným postřikem po 7 dnech)	336	5

4.4.4 Mikroskopické hodnocení účinnosti přípravku AQ 10

Listové disky uchovávané ve skleněné lahvičce v glycerolu byly přeneseny pomocí pinzety na podložní sklo svrchní stranou nahoru. Pomocí Pausterovy pipety byly zakápnuty 1% roztokem anilinové modři, který se nechal působit přibližně 3 minuty. Anilinová modř proniká do chitinových struktur houbových organismů a umožňuje zviditelnění pro mikroskopické hodnocení. Poté byly listové disky překryty krycím sklíčkem, barvivo bylo vymyto pomocí destilované vody a následně odsáto filtračním papírem z druhé strany.

Připravené preparáty byly pozorovány pod mikroskopem při zvětšení 100x a 400x. Na listových discích byl hodnocen počet konidioforů padlí a přítomnost, nebo nepřítomnost hyperparazita padlí *Ampelomyces quisqualis*. Hodnocení sporulace padlí bylo určeno semikvantitativní metodou podle následujících kategorií:

- 0 konidioforů na disku
- 1–10¹ konidioforů na disku
- 10¹–10² konidioforů na disku
- 10²–10³ konidioforů na disku
- > 10³ konidioforů na disku

4.4.5 Účinnost přípravků na bázi listového hnojiva (FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO) na listových discích rajčete jedlého čerstvě inokulovaných padlím rajčat při různých koncentracích

K experimentu bylo použito rajče jedlé (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur) ve stáří 8 týdnů a izolát padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici* UPOC-FUN-193).

Pro každý přípravek byly nachystány 4 skleněné Petriho misky, do kterých bylo vloženo 8 vrstev buničité vaty a jedna vrstva filtračního papíru. Všechny takto připravené misky byly poté navlhčeny destilovanou vodou. Následně byly použity listové disky, které byly získány z vypěstovaných rostlin rajčete jedlého. Z listů byly pomocí korkovrtu vyseknuty kruhové listové disky o průměru 12 mm. Celkově bylo vyseknuto 40 disků, přičemž do každé Petriho misky bylo položeno 10 disků.

Na všech listových discích proběhla inokulace padlím rajčat pomocí kontaktní metody a to tak, že ke zdravému listovému disku byl přiložen list již padlím napadený.

Následovala příprava roztoků jednotlivých přípravků pro každý samostatně ve třech různých koncentracích – normální, dvojnásobné a pětinásobné koncentraci. Na listové disky ve 3 Petriho miskách byl aplikován roztok listového hnojiva v jednotlivých koncentracích. Poslední Petriho miska sloužila ke kontrole a bylo využito postříku destilovanou vodou.

Všechny Petriho misky byly umístěny do fytotronu s fotoperiodou 12h/12h (den/noc) a s teplotou 20/18 °C (den/noc).

Listové disky byly po pěti odebrány po 7 dnech (168 hodin) a 11 dnech (264 hodin). Schéma experimentu je uvedeno v tabulce 3, 4 a 5. Po odběru byly listové disky ihned vloženy do předem nachystaných skleněných lahvíček s 99% kyselinou octovou, která odbarvila chlorofyl. V kyselině octové byly listové disky ponechány 2 dny (48 hodin). Poté byly přeneseny do 85% glycerolu.

Tabulka 3: Schéma experimentu s listovými disky rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po inokulaci padlím rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) a po aplikaci přípravku FLORAVITA citro.

Experimentální varianta	Doba odběru po aplikovaném postřiku [h]	Počet odebraných listových disků
Kontrola (aplikace destilované vody)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA citro (normální koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA citro (dvojnásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA citro (pětinásobná koncentrace)	168	5
	264	5

Tabulka 4: Schéma experimentu s listovými disky rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po inokulaci padlím rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) a po aplikaci přípravku FLORAVITA coco.

Experimentální varianta	Doba odběru po aplikovaném postřiku [h]	Počet odebraných listových disků
Kontrola (aplikace destilované vody)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA coco (normální koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA coco (dvojnásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA coco (pětinásobná koncentrace)	168	5
	264	5

Tabulka 5: Schéma experimentu s listovými disky rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po inokulaci padlím rajčat (*Pseudoidium neolyopersici*) a po aplikaci přípravku FLORAVITA SiO.

Experimentální varianta	Doba odběru po aplikovaném postřiku [h]	Počet odebraných listových disků
Kontrola (aplikace destilované vody)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA SiO (normální koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA SiO (dvojnásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA SiO (pětinásobná koncentrace)	168	5
	264	5

4.4.6 Účinnost přípravků na bázi listového hnojiva (FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO) na listových discích rajčete jedlého již napadených padlím rajčat při různých koncentracích

K experimentu bylo použito rajče jedlé (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur) již napadené padlím rajčatovým (*Pseudoidium neolyopersici* UPOC-FUN-193). Jednalo se o rostliny ve stáří 10 týdnů, které byly plně napadené padlím, přibližně 2 týdny od inokulace.

Pro každý přípravek bylo nachystáno 5 skleněných Petriho misek, do kterých bylo vloženo 8 vrstev buničité vaty a jedna vrstva filtračního papíru. Všechny takto připravené misky byly poté navlhčeny destilovanou vodou. Následně byly použity listové disky, které byly získány z rostlin rajčete jedlého napadených padlím. Z listů byly pomocí korkovrtu vyseknuty kruhové listové disky o průměru 12 mm. Celkově bylo vyseknuto 45 disků, přičemž do jedné Petriho misky bylo položeno 5 disků a do zbylých čtyř Petriho misek bylo vloženo 10 disků.

Následovala příprava roztoků jednotlivých přípravků pro každý samostatně ve třech různých koncentracích – normální, dvojnásobné a pětinásobné koncentraci. Na listové disky byl aplikován roztok v jednotlivých koncentracích. Normální koncentrace komerčního přípravku byla aplikována na listové disky ve dvou Petriho miskách, z toho u jedné Petriho misky byl postřik v normální koncentraci opakován po 7 dnech. Poslední Petriho miska sloužila ke kontrole a bylo využito postřiku destilovanou vodou.

Všechny Petriho misky byly umístěny do fytotronu s fotoperiodou 12h/12h (den/noc) a s teplotou 20/18 °C (den/noc).

Listové disky byly po pěti odebrány po 7 dnech (168 hodin), 11 dnech (264 hodin) a 14 dnech (336 hodin). Schéma experimentu je uvedeno v tabulce 6, 7 a 8. Po odběru byly listové disky

ihned vloženy do předem nachystaných skleněných lahvíček s 99% kyselinou octovou, která odbarvila chlorofyl. V kyselině octové byly listové disky ponechány 2 dny (48 hodin). Poté byly přeneseny do 85% glycerolu.

Tabulka 6: Schéma experimentu s listovými disky rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) již napadenými padlím rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) a po aplikaci přípravku FLORAVITA citro.

Experimentální varianta	Doba odběru po aplikovaném postřiku [h]	Počet odebraných listových disků
Kontrola (aplikace destilované vody)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA citro (normální koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA citro (dvojnásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA citro (pětinásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA citro (normální koncentrace s opakovaným postřikem po 7 dnech)	336	5

Tabulka 7: Schéma experimentu s listovými disky rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) již napadenými padlím rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) a po aplikaci přípravku FLORAVITA coco.

Experimentální varianta	Doba odběru po aplikovaném postřiku [h]	Počet odebraných listových disků
Kontrola (aplikace destilované vody)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA coco (normální koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA coco (dvojnásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA coco (pětinásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA coco (normální koncentrace s opakovaným postřikem po 7 dnech)	336	5

Tabulka 8: Schéma experimentu s listovými disky rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) již napadenými padlím rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) a po aplikaci přípravku FLORAVITA SiO.

Experimentální varianta	Doba odběru po aplikovaném postřiku [h]	Počet odebraných listových disků
Kontrola (aplikace destilované vody)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA SiO (normální koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA SiO (dvojnásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA SiO (pětinásobná koncentrace)	168	5
	264	5
Aplikace FLORAVITA SiO (normální koncentrace s opakovaným postřikem po 7 dnech)	336	5

4.4.7 Mikroskopické hodnocení účinnosti přípravků FLORAVITA

Listové disky, které byly uchovávané ve skleněné lahvičce v glycerolu, byly přeneseny pomocí pinzety na podložní sklo svrchní stranou nahoru. Pomocí Pausterovy pipety byly zakápnuty 1% roztokem anilinové modři, nechal se inkubovat přibližně 3 minuty. Anilinová modř proniká do chitinových struktur houbových organismů a umožňuje zviditelnění pro mikroskopické hodnocení. Po skončení inkubace byly listové disky překryty krycím skličkem, barvivo bylo vymyto pomocí destilované vody a následně odsáto filtračním papírem z druhé strany.

Připravené preparáty byly pozorovány pod mikroskopem při zvětšení 100x a 400x. Na listových discích byl hodnocen počet a tvar konidioforů padlí. Hodnocení sporulace bylo určeno semikvantitativní metodou podle následujících kategorií:

- 0 konidioforů na disku
- 1–10¹ konidioforů na disku
- 10¹–10² konidioforů na disku
- 10²–10³ konidioforů na disku
- > 10³ konidioforů na disku

V preparátech byla také hodnocena interakce konidioforů padlí s anilinovou modří.

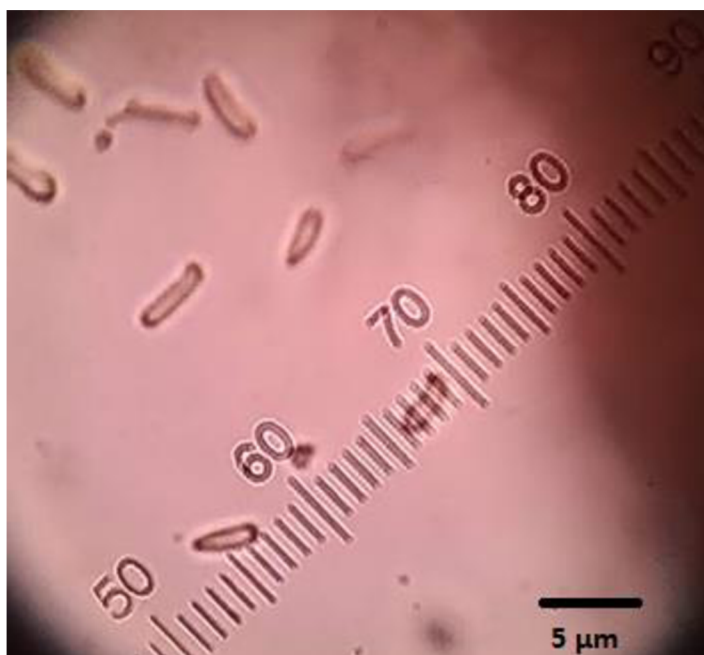
5 Výsledky

5.1 Kontrola vitality spor *Ampelomyces quisqualis*

Kontrola vitality spor hyperparazita padlí *Ampelomyces quisqualis* byla provedena inokulací suspenze spor na Potato dextrose agaru (PDA). Petriho miska byla uložena do fytotronu s fotoperiodou 12h/12h (den/noc) a s teplotou 20/18 °C (den/noc).

Makroskopické hodnocení bylo prováděno po 7 a 14 dnech od inkubace. Při poslední kontrole byl v Petriho misce pozorován na agaru hnědý povlak rostoucího hyperparazita *Ampelomyces quisqualis*, obsahující pyknidy. Pod mikroskopem při celkovém zvětšení 200x byly po uvolnění z pyknid pozorovány konidie hyperparazitické houby (Obrázek 9).

Touto kontrolou došlo k ověření funkčnosti přípravku AQ 10 (izolát M-10) od firmy Bioagard. Potvrdilo se, že AQ 10 obsahuje životaschopné spory hyperparazitické houby *Ampelomyces quisqualis*. Ty dokáží růst v podmínkách, které udává fytotron, mohou kromě klíčení rozvíjet mycelium a vytvářet pyknidy.



Obrázek 9: Konidie hyperparazita *Ampelomyces quisqualis* na Potato dextrose agaru (PDA) pozorované při zvětšení 200x, 14 dní od inkubace. Foto: K. Tkáčová.

5.2 Účinnost přípravku AQ 10 na listových discích rajčete jedlého čerstvě inokulovaných padlím rajčat při různých koncentracích

5.2.1 Hodnocení sporulace padlí

Preparáty k mikroskopickému hodnocení byly barveny anilinovou modří a pozorovány při zvětšení 100x a 400x. Jestli daný přípravek funguje, či ne se hodnotí semikvantitativní metodou. Na připravených listových discích byl zhodnocen počet konidioforů padlí (intenzita sporulace) po 7 a 11 dnech od inokulace. V rámci jedné experimentální varianty, která obsahuje 5 replikátů, byla určena maximální a minimální hodnota v počtu konidioforů a spočítán průměr.

Počet konidioforů padlí rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) byl stanoven na všech listových discích. Sporulace byla velmi vysoká. V průměru se u experimentálních variant pohybovala v té nejvyšší kategorii ($> 10^3$ konidioforů na disku). Z následujících tabulek 9 a 10 je patrné, že padlí nebylo poškozené a vytvářelo velké množství konidioforů, i když byl aplikován přípravek s hyperparazitickou houbou *Ampelomyces quisqualis* v té nejvyšší koncentraci (pětinásobné).

Tabulka 9: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na čerstvě inokulovaných listových discích rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku AQ 10 ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku AQ 10 (kontrola) s intervalem 7 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + AQ 10 v normální koncentraci	$>10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + AQ 10 v dvojnásobné koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + AQ 10 v pětinásobné koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$

Tabulka 10: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolyopersici*) na čerstvě inokulovaných listových discích rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku AQ 10 ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná a pětinasobná) a bez aplikace přípravku AQ 10 (kontrola) s intervalem 11 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	>10 ³	>10 ³	>10 ³
Padlí + AQ 10 v normální koncentraci	>10 ³	10 ² — 10 ³	>10 ³
Padlí + AQ 10 v dvojnásobné koncentraci	>10 ³	10 ² — 10 ³	>10 ³
Padlí + AQ 10 v pětinasobné koncentraci	>10 ³	>10 ³	>10 ³

5.2.2 Přítomnost hyperparazita *Ampelomyces quisqualis*

Při mikroskopickém hodnocení listových disků po 7 a 11 dnech od inokulace padlím nebyly pozorovány žádné struktury hyperparazita padlí *Ampelomyces quisqualis*. Jeho pyknidy se neobjevily ani při té nejvyšší (pětinasobné) podané koncentraci.

5.3 Účinnost přípravku AQ 10 na listových discích rajčete jedlého již napadených padlím

5.3.1 Hodnocení sporulace padlí

Listové disky určené k mikroskopickému hodnocení byly obarveny anilínovou modří a pozorovány při zvětšení 100x a 400x. Počet konidioforů padlí rajčat byl hodnocen semikvantitativní metodou po 7, 11 a 14 dnech od inokulace. V rámci jedné experimentální varianty, která obsahuje 5 replikátů, byla určena maximální a minimální hodnota v počtu konidioforů a spočítán průměr.

Počet konidioforů padlí rajčat (*Pseudoidium neolyopersici*) byl stanoven na všech listových discích. Všechny experimentální varianty měly sporulaci velmi vysokou. Konkrétně se počet konidioforů nacházel v té nejvyšší kategorii (> 10³ konidioforů na disku). Z následujících tabulek 11, 12 a 13 je patrné, že padlí nebylo poškozené a vytvářelo velké množství konidioforů, i když byl aplikován přípravek s hyperparazitickou houbou *Ampelomyces quisqualis* v té nejvyšší koncentraci

(pětinásobné). Také bylo zjištěno, že rostoucí doba inkubace nebo opakovaný postřík přípravkem AQ 10 po 7 dnech od inokulace nesnížil počet konidioforů padlí na listovém disku.

Tabulka 11: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku AQ 10 ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku AQ 10 (kontrola) s intervalem 7 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + AQ 10 v normální koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + AQ 10 v dvojnásobné koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + AQ 10 v pětinásobné koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$

Tabulka 12: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku AQ 10 ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku AQ 10 (kontrola) s intervalem 11 dpi.

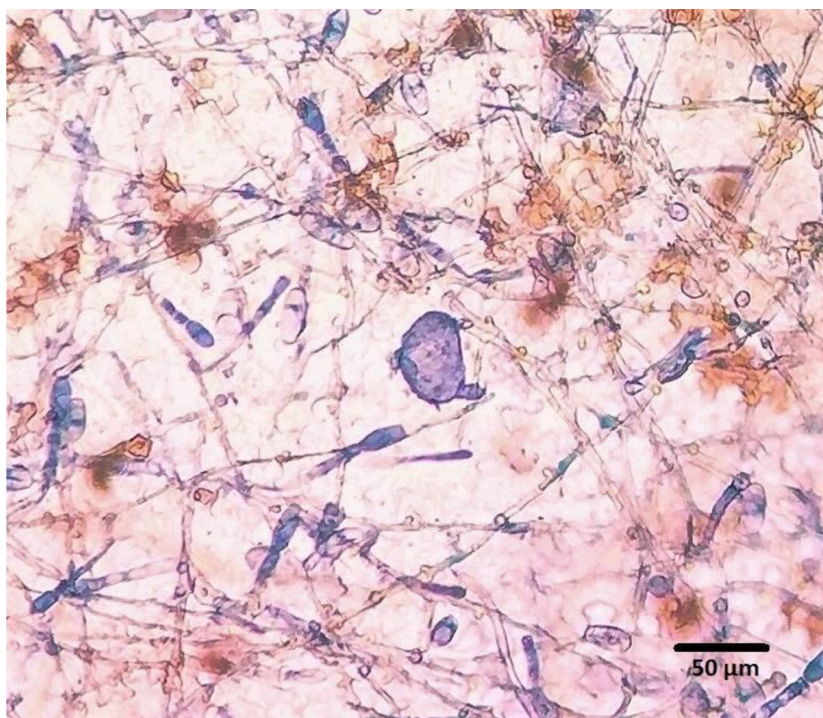
Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + AQ 10 v normální koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + AQ 10 v dvojnásobné koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + AQ 10 v pětinásobné koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$

Tabulka 13: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku AQ 10 v normální koncentraci s opakovaným postřikem po 7 dpi s celkovým intervalem 14 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	>10 ³	>10 ³	>10 ³
Padlí + AQ 10 v normální koncentraci + opakovaný postřik	>10 ³	>10 ³	>10 ³

5.3.2 Přítomnost hyperparazita *Ampelomyces quisqualis*

Přítomnost hyperparazita *Ampelomyces quisqualis* byla pozorována ze všech 45 vzorků pouze jednou. Konkrétně u listového disku, kde byla aplikace přípravku AQ 10 použita v pětinasobné koncentraci 7 dní po inokulaci (Obrázek 10).



Obrázek 10: Nepohlavní struktura hyperparazita padlí *Ampelomyces quisqualis* v konidioforech padlí rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) 7 dní po aplikaci přípravku AQ 10 v pětinasobné koncentraci, pozorované při zvětšení 400x. Foto: K. Tkáčová.

5.4 Účinnost přípravků na bázi listového hnojiva (FLORAVITA) na listových discích rajčete jedlého čerstvě inokulovaných padlím rajčat při různých koncentracích

K testování účinnosti přípravků na bázi listového hnojiva byly vybrány tři komerčně dostupné produkty obsahující účinné složky proti houbovým chorobám. Konkrétně se jednalo o FLORAVITA citro, FLORAVITA coco a FLORAVITA SiO.

5.4.1 Hodnocení sporulace padlí

Preparáty k mikroskopickému hodnocení byly barveny anilinovou modří a pozorovány při zvětšení 100x a 400x. Intenzita sporulace padlí byla posuzována semikvantitativní metodou. Na připravených listových discích byl zhodnocen počet konidioforů padlí po 7 a 11 dnech od inokulace. V rámci jedné experimentální varianty, která obsahuje 5 replikátů, byla určena maximální a minimální hodnota v počtu konidioforů a spočítán průměr.

Počet konidioforů padlí rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) byl stanoven na všech listových discích. Po 7 dnech od aplikace postřiku byl nejvíce účinný přípravek z kokosového mýdla s názvem FLORAVITA coco (Tabulka 15). Při jeho použití byla snížena sporulace padlí už při dvojnásobné koncentraci. S průměrným počtem konidioforů se řadila do kategorie $10^2 - 10^3$ konidioforů na disku. Z tabulky 16 je patrné, že křemík s fenyklovým olejem (FLORAVITA SiO) také potlačuje sporulaci. K výraznější redukci došlo až u pětinasobné koncentrace, i když minimální počet konidioforů na disku $10^2 - 10^3$ byl zaznamenán na jednom replikátu při dvojnásobné koncentraci. Naopak FLORAVITA citro (Tabulka 14) snížil sporulaci padlí až v pětinasobné koncentraci. Z tabulek 14, 15 a 16 je patrné, že vyšší koncentrací použitých přípravků, než je doporučeno výrobcem, dochází ke snižování počtu konidioforů padlí.

U výsledků po 11 dnech od inokulace došlo ke snížení sporulace oproti kontrole (postřik s destilovanou vodou). Nejlepší účinnost byla pozorována u přípravku, který obsahoval citrusové silice (FLORAVITA citro). U něho došlo v pětinasobné koncentraci k poklesu konidioforů do kategorie $10^1 - 10^2$ (Tabulka 17). U přípravků FLORAVITA coco a FLORAVITA SiO došlo také ke snížení sporulace padlí. Při porovnání s aplikací po 7 dpi s 11 dpi však zůstaly hodnoty stejné. Konkrétně bylo pozorováno $10^2 - 10^3$ konidioforů na disku; u přípravku FLORAVITA coco (Tabulka 18) byl počet konidioforů v této kategorii při aplikaci roztoku s dvojnásobnou koncentrací. Naopak u FLORAVITA SiO (Tabulka 19) došlo ke snížení do kategorie $10^2 - 10^3$ při pětinasobné koncentraci.

Tabulka 14: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na čerstvě inokulovaných listových discích rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA citro ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA citro (kontrola) s intervalem 7 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v normální koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v dvojnásobné koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v pětinásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^1 — 10^2$	$10^2 — 10^3$

Tabulka 15: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na čerstvě inokulovaných listových discích rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA coco ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA coco (kontrola) s intervalem 7 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA coco v normální koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA coco v dvojnásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA coco v pětinásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$

Tabulka 16: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na čerstvě inokulovaných listových discích rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA SiO ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA SiO (kontrola) s intervalem 7 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA SiO v normální koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA SiO v dvojnásobné koncentraci	$>10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA SiO v pětinásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$

Tabulka 17: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na čerstvě inokulovaných listových discích rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA citro ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA citro (kontrola) s intervalem 11 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v normální koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v dvojnásobné koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v pětinásobné koncentraci	$10^1 — 10^2$	$10^1 — 10^2$	$10^1 — 10^2$

Tabulka 18: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na čerstvě inokulovaných listových discích rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA coco ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA coco (kontrola) s intervalem 11 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA coco v normální koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA coco v dvojnásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA coco v pětinásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$

Tabulka 19: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na čerstvě inokulovaných listových discích rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA SiO ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA SiO (kontrola) s intervalem 11 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA SiO v normální koncentraci	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA SiO v dvojnásobné koncentraci	$>10^3$	$10^2 — 10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA SiO v pětinásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^1 — 10^2$	$10^2 — 10^3$

5.4.2 Interakce přípravků s padlím

Při mikroskopickém pozorování z velké většiny nebylo padlí poškozené. Vytvářelo velké množství konidioforů a na discích byly pozorovány i tenčí a podlouhlé konidiofory. Naopak u některých anilínová modř slaběji obarvila konidiofory. Může se jednat buď o odumřelé struktury, nebo přípravky ovlivňují prostoupení barviva do chitínových struktur houbových organismů.

5.5 Účinnost přípravků na bázi listového hnojiva (FLORAVITA) na listových discích rajčete jedlého již napadených padlím

K testování účinnosti přípravků na bázi listového hnojiva byly vybrány tři komerčně dostupné produkty obsahující účinné složky proti houbovým chorobám. Konkrétně se jednalo o FLORAVITA citro, FLORAVITA coco a FLORAVITA SiO.

5.5.1 Hodnocení sporulace padlí

Listové disky určené k mikroskopickému hodnocení byly obarveny anilínovou modří a pozorovány při zvětšení 100x a 400x. Počet konidioforů padlí rajčat byl hodnocen semikvantitativní metodou po 7, 11 a 14 dnech od inokulace. V rámci jedné experimentální varianty, která obsahuje 5 replikátů, byla určena maximální a minimální hodnota v počtu konidioforů a spočítán průměr.

Počet konidioforů padlí rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) byl stanoven na všech listových discích. Při aplikaci přípravků nebyly výsledky tolik rozdílné. Jednoznačně ukázaly, že při postupném zvyšování koncentrace studovaných přípravků a délky inkubace dochází ke snižování sporulace padlí. Pro všechny tři přípravky (FLORAVITA citro, FLORAVITA coco, FLORAVITA SiO) byla nejvíce úspěšná aplikace po 14 dnech od inokulace s normální koncentrací a s opakovaným postřikem po 7 dnech. Průměrný počet konidioforů padlí v této experimentální variantě po použití všech přípravků byl $10^1 - 10^2$ konidioforů na disk (Tabulka 26).

U výsledků po 7 dnech od inokulace sice došlo ke snížení sporulace oproti kontrole (postřik destilovanou vodou), ale při porovnání s 11 dpi a 14 dpi byla aplikace nejméně účinná. Průměrný počet konidioforů v normální koncentraci byl u všech tří přípravků $10^2 - 10^3$ (Tabulky 20, 21, 22).

Po 11 dnech od aplikace byla největší úspěšnost zaznamenána u přípravků FLORAVITA citro (Tabulka 23) a FLORAVITA coco (Tabulka 24). Po jejich použití byla zjištěna sporulace v kategorii $10^1 - 10^2$ konidioforů na disk. Naopak přípravek FLORAVITA SiO byl méně účinný, konkrétně disky průměrně obsahovaly $10^2 - 10^3$ konidioforů na disk (Tabulka 25).

Tabulka 20: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA citro ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA citro (kontrola) s intervalem 7 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v normální koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v dvojnásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^1 — 10^2$	$10^2 — 10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v pětinásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^1 — 10^2$	$10^2 — 10^3$

Tabulka 21: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA coco ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA coco (kontrola) s intervalem 7 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA coco v normální koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^1 — 10^2$	$10^2 — 10^3$
Padlí + FLORAVITA coco v dvojnásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^1 — 10^2$	$10^2 — 10^3$
Padlí + FLORAVITA coco v pětinásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^1 — 10^2$	$10^2 — 10^3$

Tabulka 22: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA SiO ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA SiO (kontrola) s intervalem 7 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA SiO v normální koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$
Padlí + FLORAVITA SiO v dvojnásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^1 — 10^2$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA SiO v pětinásobné koncentraci	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$	$10^2 — 10^3$

Tabulka 23: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA citro ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA citro (kontrola) s intervalem 11 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v normální koncentraci	$10^1 — 10^2$	$10^1 — 10^2$	$10^1 — 10^2$
Padlí + FLORAVITA citro v dvojnásobné koncentraci	$10^1 — 10^2$	$10^0 — 10^1$	$10^2 — 10^3$
Padlí + FLORAVITA citro v pětinásobné koncentraci	$10^1 — 10^2$	$10^1 — 10^2$	$10^2 — 10^3$

Tabulka 24: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA coco ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA coco (kontrola) s intervalem 11 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	>10 ³	>10 ³	>10 ³
Padlí + FLORAVITA coco v normální koncentraci	10 ¹ — 10 ²	10 ⁰ — 10 ¹	10 ¹ — 10 ²
Padlí + FLORAVITA coco v dvojnásobné koncentraci	10 ¹ — 10 ²	10 ¹ — 10 ²	10 ² — 10 ³
Padlí + FLORAVITA coco v pětinásobné koncentraci	10 ¹ — 10 ²	10 ¹ — 10 ²	10 ¹ — 10 ²

Tabulka 25: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravku FLORAVITA SiO ve třech různých koncentracích (normální, dvojnásobná, pětinásobná) a bez aplikace přípravku FLORAVITA SiO (kontrola) s intervalem 11 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	>10 ³	>10 ³	>10 ³
Padlí + FLORAVITA SiO v normální koncentraci	10 ² — 10 ³	10 ² — 10 ³	10 ² — 10 ³
Padlí + FLORAVITA SiO v dvojnásobné koncentraci	10 ² — 10 ³	10 ¹ — 10 ²	10 ² — 10 ³
Padlí + FLORAVITA SiO v pětinásobné koncentraci	10 ² — 10 ³	10 ¹ — 10 ²	10 ² — 10 ³

Tabulka 26: Počet konidioforů (intenzita sporulace) padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) na již napadené rostlině rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*) po aplikaci přípravků FLORAVITA v normální koncentraci a s opakovaným postřikem po 7 dpi s celkovým intervalem 14 dpi.

Experimentální varianta	Počet konidioforů padlí		
	Průměr	Min	Max
Padlí + destilovaná voda	>10 ³	>10 ³	>10 ³
Padlí + FLORAVITA citro v normální koncentraci + opakovaný postřik	10 ¹ — 10 ²	10 ⁰ — 10 ¹	10 ¹ — 10 ²
Padlí + FLORAVITA coco v normální koncentraci + opakovaný postřik	10 ¹ — 10 ²	10 ¹ — 10 ²	10 ¹ — 10 ²
Padlí + FLORAVITA SiO v normální koncentraci + opakovaný postřik	10 ¹ — 10 ²	10 ¹ — 10 ²	10 ¹ — 10 ²

5.5.2 Interakce přípravků s padlím

Při mikroskopickém pozorování padlí vytvářelo velké množství konidioforů na discích a byly pozorovány i tenčí a podlouhlé konidiofory. Při aplikaci přípravku FLORAVITA citro zůstaly konidiofory dobře obarveny anilínovou modří (Obrázek 11). Naopak u některých anilínová modř slaběji obarvila konidiofory (Obrázek 12 a 13).



Obrázek 11: Konidiofory padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) po aplikaci přípravku FLORAVITA citro v normální koncentraci, zvětšení 400x. Foto: K. Tkáčová.



Obrázek 12: Konidiofory padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) po aplikaci přípravku FLORAVITA coco v pětinasobné koncentraci, zvětšení 400x. Foto: K. Tkáčová.



Obrázek 13: Konidiofory padlí rajčatového (*Pseudoidium neolycopersici*) po aplikaci přípravku FLORAVITA SiO v normální koncentraci, zvětšení 400x. Foto: K. Tkáčová.

6 Diskuse

Cílem bakalářské práce bylo testovat účinné látky v komerčně dostupných biologických přípravcích na ochranu rostlin vůči padlí rajčatovému (*Pseudoidium neolyopersici* UPOC-FUN-193) na rajčeti jedlém (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur). K experimentu byly vybrány čtyři přípravky, konkrétně AQ 10, FLORAVITA citro, FLORAVITA coco a FLORAVITA SiO. Všechny se testovaly ve třech různých koncentracích, a to v normální, dvojnásobné a pětinasobné. AQ 10 obsahuje hyperparazitickou houbu *Ampelomyces quisqualis* ve formě spor. Přípravky FLORAVITA fungují na bázi listového hnojiva a obsahují účinné složky, které zvyšují odolnost rostlin proti houbovým chorobám. Všechny výše jmenované produkty byly aplikovány na listové disky rajčete jedlého současně s inokulací padlím a na listové disky již napadené padlím.

Jako první byl k experimentu vybrán přípravek AQ 10. Ve všech experimentálních variantách byla zaznamenána vysoká sporulace padlí, v průměru $> 10^3$ konidioforů na disk. Ani rostoucí doba inkubace nebo zvyšující se koncentrace nesnížila počet konidioforů na disku. Přítomnost *A. quisqualis* se hůře hodnotí. Na jednom listovém disku, kde byl aplikován postřik v pětinasobné koncentraci suspenze, byla pozorována struktura podobající se pyknidě hyperparazita.

Tyto výsledky byly podpořeny studií autorů Shishkoff a McGrath (2002). Ti sledovali vliv biofungicidu AQ 10 na padlí (*Podosphaera xanthii*) na infikovaných listech tykve obecné (*Cucurbita pepo* L.). Při aplikaci se nesnížila velikost populace a padlí rostlo dál. Ani při použití adjuvantní látky AddQ nedošlo ke snížení počtu konidioforů. V práci Niederlové (2019) také nebyla pozorována přítomnost hyperparazita na listových discích po aplikaci přípravku s hyperparazitickou houbou. Ani u ní AQ 10 nevykazoval žádné známky snížení sporulace padlí nebo parazitický efekt.

Naopak ve studii Tollenaere *et al.* (2014) při zkoumání hyperparazita došli k závěru, že padlí (*Podosphaera plantaginis*), napadající hostitelskou rostlinu *Plantago lanceolata* (jitrocel kopinatý), po aplikaci sekundárního parazita *Ampelomyces quisqualis* je regulováno. Mé výsledné hodnoty jsou v rozporu i s experimentem, který realizovala Nováková (2017). V její práci se podařilo pozorovat nepohlavní struktury (pyknidy) hyperparazita *A. quisqualis* 8 dní od inokulace padlím rajčat. Listové disky měla uložené ve fytotronu s teplotní variantou 20/18 °C (den/noc).

Na základě celkových výsledků mé práce se jeví přípravek AQ 10 jako neúčinný. V experimentálních variantách nedošlo ke snížení počtu konidioforů padlí, ani v té nejvyšší (pětinasobné) aplikované koncentraci. Nepohlavní struktury hyperparazita *A. quisqualis* nebyly, kromě jedné, nalezeny. O jeho účinnosti je doposud napsáno mnoho publikací, jejichž výsledky jsou protikladné. Na odlišných výsledcích se mohou podílet rozdíly v podmínkách prostředí, přičemž *A. quisqualis* potřebuje dostatek vody, vysokou relativní vlhkost a teplotu mezi 20–30 °C. Další výzkumy s tímto konkrétním kmenem *A. quisqualis* (izolát M-10) by se proto měly zaměřit na

testování různých podmínek vlhkosti a teploty na vývoj a účinnost této hyperparazitické houby. Bylo by vhodné, kdyby se výzkum zaměřil na testování dalších kmenů této houby, případně usnadnil jeho přípravu, aby se snížil čas rozpustnosti spor *A. quisqualis*.

Nové výzkumy se už začaly zaměřovat na studium potlačení infekce padlí jinými kmeny *Ampelomyces*. Némethem *et al.* (2021) testovali *Ampelomyces* kmene Xs-q proti padlí rajčatovému (*Pseudoidium neolycopersici*). Na vyrostlé konidioforory padlí aplikovali postřík hyperparazita *Ampelomyces* (kmen Xs-q). K aplikaci vybrali roztok obsahující 5×10^5 spor v 1 ml, jelikož při koncentraci vyšší než 10^6 spor v 1 ml klesá jejich klíčivost. Po použití pozorovali degradaci a zúžení hyf padlí a tvorbu pyknid v padlí. Další nově zkoumaný kmen je CPA-9. Ten byl zatím testován na *Podosphaera xanthii* a vykazoval dobré výsledky (Carbó *et al.*, 2021b). Jejich studie poukazuje, že tento kmen má potenciál k dalšímu zkoumání a k využití k biologické kontrole.

Dalšími testovanými přípravky byly FLORAVITA citro, FLORAVITA coco a FLORAVITA SiO. Ty byly aplikovány také na listové disky rajčete jedlého po inokulaci padlím rajčat. Účinnost byla hodnocena po 7 a 11 dnech od inokulace. U experimentální varianty 7 dpi byl nejúčinnější přípravek obsahující výluh z kokosového mýdla. Ke snížení intenzity sporulace došlo už při aplikování dvojnásobné koncentrace. Naopak u 11 dpi došlo k výrazné redukci konidioforů u FLORAVITA citro a jeho pětinasobné koncentraci.

Při aplikaci přípravků na listové disky rajčete jedlého již napadené padlím došlo ke snížení intenzity sporulace už při aplikaci normální koncentrace. Nejvýraznější snížení počtu konidioforů bylo zaznamenáno u listových disků, které byly 14 dní od inokulace a byl u nich zopakován postřík po 7 dnech od inokulace. Bylo prokázáno, že postupné zvyšování koncentrace a délka inkubace snižuje intenzitu sporulace. Vizually byly konidiofory scvrknuté a byly hůře obarveny v porovnání s kontrolou. Dá se předpokládat, že scvrknuté konidiofory představují vyschnutí, které způsobily účinné látky v testovaných přípravcích a vedou k zaschnutí parazitického mycelia. To má za následek snížení počtu konidioforů.

Velkou škodou je, že doposud nebyly publikovány studie testující tyto přípravky na potlačení padlí rajčat, i když vykazují příznivé výsledky u jiných původců chorob.

Podle Ehioba *et al.* (2021) a Oikeho *et al.* (2016) se v citrusových silicích vyskytuje vysoký podíl saponinu a flavonoidních sloučenin, které pomáhají zvyšovat permeabilitu buněčných stěn hub, a také vyvolávat inhibiční účinek proti potenciálním chorobám.

Pozitivní účinky přírodních látek na rostliny podpořila i studie Hasana *et al.* (2020). Ta potvrdila, že dochází ke snížení lézí vyskytujících se na listech rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* L.) způsobených saprofytickými houbami rodu *Fusarium* po použití látek, které obsahují kokosové plody.

Studie provedená Wolff *et al.* (2012) dokazuje, že přípravky na bázi listového hnojiva obsahující křemík snižují vývoj infekce padlím (*Podosphaera xanthii*) na skleníkových okurkách (*Cucumis sativus*). Tato práce je však v rozporu se studií Cerkauskas a Ferguson (2014). Oni také hodnotili produkty biologické kontroly z přírodních látek. Jejich experiment ukázal, že při aplikaci oxidu křemičitého na postižená místa způsobené padlím (*Podosphaera xanthii*) nedojde k účinné ochraně a zastavení choroby.

Všechny tyto tři přípravky na bázi listového hnojiva se jeví jako vhodná biologická kontrola vůči padlí rajčatovému (*Pseudoidium neolycopersici*). Podle mnou dosažených výsledků došlo ve všech experimentálních variantách ke snížení počtu konidioforů padlí. Kromě jejich potvrzené funkčnosti mezi přednosti testovaných přípravků patří také jednoduchá příprava, která usnadní uživateli snadnou aplikaci. V neposlední řadě roztoky obsahují výtažky vonících silic. Bylo by vhodné více se zajímat o tyto přírodní produkty a zjistit, jestli při jiných podmínkách (různá vlhkost, teplota) nevykazují vyšší účinnost.

7 Závěr

V rámci předložené bakalářské práce byly zkoumány účinné látky v biologických přípravcích. Ty se využívaly k biologické kontrole vůči padlí rajčatovému (*Pseudoidium neolycopersici* UPOC-FUN-193) na rajčeti jedlém (*Solanum lycopersicum* cv. Amateur). Účinnost byla testována na listových discích rajčete jedlého inokulovaného padlím rajčat a na listových discích již napadených padlím. Na nich byl zhodnocen počet konidioforů padlí a přítomnost, nebo nepřítomnost hyperparazita padlí *Ampelomyces quisqualis*.

V prvé řadě se práce zabývala využitím přípravku AQ 10 obsahujícím hyperparazitickou houbu *A. quisqualis*. Ošetření tímto přípravkem nemělo v žádné z variant za následek snížení počtu konidioforů na discích a jeho pyknidy nebyly pozorovány. Z těchto důvodů se přípravek AQ 10 jeví jako neúčinný.

V druhé části experimentu byly studovány přípravky na bázi listového hnojiva. Ty obsahují účinné složky, kterými zvyšují odolnost rostlin proti houbovým chorobám. U FLORAVITA citro jsou účinnými látkami citrusové silice. V druhém přípravku (FLORAVITA coco) je hlavní složkou kokosové mýdlo a u FLORAVITA SiO je obsažen fenýklový olej a křemík. Všechny tyto přípravky dokázaly snížit intenzitu sporulace padlí ve všech experimentálních variantách a jeví se jako velmi vhodnou možností biokontroly vůči padlí.

8 Použitá literatura

Abdesslem S. B., Boulares M., Elbaz M., Moussa O. B., St-Gelais A., Hassouna M., Aider M. (2020): Chemical composition and biological activities of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) essential oils and ethanolic extracts of conventional and organic seeds. *Journal of Food Processing and Preservation* 2, 1-13.

Aflitos S., Schijlen E., Jong H., *et al.* (2014): Exploring genetic variation in the tomato (*Solanum* section *Lycopersicon*) clade by whole-genome sequencing. *The Plant Journal* 80, 136-148.

Aishwarya Reddy B., Vishnu Priya V., Gayathri R. (2018): Comparative phytochemical analysis and total phenolic content of citrus seed extract (*Citrus sinensis* and *Citrus limon*). *Drug Invention Today* 10, 2038-2040.

Ale-Agha N., Boyle H., Braun U., Butin H., Jage H., Kummer V., Shin H. D. (2008): Taxonomy, host range and distribution of some powdery mildew fungi (Erysiphales). *Schlechtendalia* 17, 39-54.

Alexander A., Schroeder M. (2008): Modern trends in foliar fertilization. *Journal of Plant Nutrition* 10, 1391-1399.

Angeli D., Pellegrini E., Pertot I. (2009): Occurrence of *Erysiphe necator* chasmothecia and their natural parasitism by *Ampelomyces quisqualis*. *Phytopathology* 99, 704-710.

Angeli D., Puopolo G., Maurhofer M., Gessler C., Pertot I. (2012): Is the mycoparasitic activity of *Ampelomyces quisqualis* biocontrol strains related to phylogeny and hydrolytic enzyme production?. *Biological Control* 63, 348-358.

Arena M., Auteri D., Barmaz S., Bellisai G., Brancato A., Brocca D., Bura L., Byers H., Chiusolo A., Court Marques D., Crivellente F., De Lentdecker C., Egsmose M., Erdos Z., Fait G., Ferreira L., Goumenou M., Greco L., Ippolito A., Istace F., Jarrah S., Kardassi D., Leuschner R., Lythgo C., Magrans J. O., Medina P., Miron I., Molnar T., Nougadere A., Padovani L., Parra Morte J. M., Pedersen R., Reich H., Sacchi A., Santos M., Serafimova R., Sharp R., Stanek A., Streissl F., Sturma J., Szentes C., Tarazona J., Terron A., Theobald A., Vagenende B., Verani A., Villamar-Bouza L. (2017): Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Ampelomyces quisqualis* strain AQ10. EFSA Journal 15, 1–17.

Bale J. S., van Lenteren J. C., Bigler F. (2008): Biological control and sustainable food production. Philosophical Transactions of the Royal Society B 363, 761–776.

Bindschedler L., Panstruga R., Spanu P. (2016): Mildew-Omics: How Global Analyses Aid the Understanding of Life and Evolution of Powdery Mildews. Frontiers in Plant Science 7, 1-11.

Biogard [b. r.]. [online] [navštíveno 25. 7. 2021] Dostupné z <https://www.biogard.it/index.php/en/plantprotection/fungicides/275-aq-10-en>

Braun U., Cook R. T. A. (2012): Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews). CBS Biodiversity Series No. 11, 1-707s. ISBN 978-90-70351-89-2.

Brent K. J., Hollomon D. W. (2007): Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed?. Fungicide Resistance Action Committee, 2nd (revised) Edition, 60s.

Carbó A., Teixidó N., Usall J., Solsona C., Torres R. (2021a): Formulated *Ampelomyces quisqualis* CPA-9 applied on zucchini leaves: influence of abiotic factors and powdery mildew mycoparasitization. European Journal of Plant Pathology 161, 37-48.

Carbó A., Torres R., Usall J., Marin A., Contreras C., Chiralt A., Teixidó N. (2021b): Dehydration of *Ampelomyces quisqualis* CPA-9 conidia by adding biodegradable coatings: Biocontrol activity against powdery mildew and physical characterization of the formulated product. Biological Control Available online 7, 1-8.

Cerkauskas R. F., Ferguson G. (2014): Management of powdery mildew (*Podosphaera xanthii*) on greenhouse cucumber in Ontario. *Canadian Journal of Plant Pathology* 36, 22-37.

Clare B. G. (1964): *Ampelomyces quisqualis* (*Cicinnobolus cesatii*) on Queensland Erysiphaceae. *Department of Botany* 4, 145-149.

Costa V. M. M., Garcia M. C., Caliari M., Soares Júnior M. S., Vieira D. A. P., Damiani C. (2019): Morphological, mechanical and chemical aspects of processing tomatoes produced in Brazilian savanna. *Food Science and Technology, Campinas*, 39, 13-18.

Cutfield S. M., Davies G. J., Murshudov G., Anderson B. F., Moody P. C., Sullivan P. A., Cutfield J. F. (1999): The structure of the exo-beta-(1,3)-glucanase from *Candida albicans* in native and bound forms: relationship between a pocket and groove in family 5 glycosyl hydrolases. *Journal of Molecular Biology* 294, 771-783.

DebMandal M., Mandal S. (2011): Coconut (*Cocos nucifera* L.: Areaceae): In health promotion and disease prevention. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 4, 241-247.

Droby S., Wisniewski M., Macarasin D., Wilson Ch. (2009): Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm?. *Postharvest Biology and Technology* 52, 137-145.

Ehiobu J. M., Idamokoro M. E., Afolayan A. J. (2021): Phytochemical content and antioxidant potential of leaf extracts of *Citrus limon* (L.) Osbeck collected in the Eastern Cape Province, South Africa. *South African Journal of Botany* 141, 480-486.

Elad Y., Malathrakis N. E., Dik A. J. (1996): Biological control of *Botrytis*-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops. *Crop Protection* 15, 229-240.

Epstein E. (1994): The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 91, 11-17.

Falk S. P., Gadoury D. M., Cortesi P., Pearson R. C., Seem R. C. (1995a): Parasitism of *Uncinula necator* cleistothecia by the mycoparasite *Ampelomyces quisqualis*. *Phytopathology* 85, 794-800.

Falk S. P., Gadoury D. M., Pearson R. C., Seem R. C. (1995b): Partial control of grape powdery mildew by the mycoparasite *Ampelomyces quisqualis*. *Plant Disease* 79, 483-490.

Fernández-Ruiz V., Olives A. I., Cámara M., Sánchez-Mata M. C., Torija M. E. (2010): Mineral and trace elements content in 30 accessions of tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L.) and wild relatives (*Solanum pimpinellifolium* L., *Solanum cheesmaniae* L. Riley, and *Solanum habrochaites* S. Knapp & D.M. Spooner). *Biological Trace Element Research* 141, 329-339.

Fletcher J. T., Smewin B. J., Cook R. T. A. (1988): Tomato powdery mildew. *Plant Pathology* 37, 594-598.

FLORASERVIS (a) [b. r.]. [online] [navštíveno 26. 7. 2021] Dostupné z <https://www.floraservis.sk/-floravita-coco.php>

FLORASERVIS (b) [b. r.]. [online] [navštíveno 26. 7. 2021] Dostupné z <https://www.floraservis.sk/-floravita-sio.php>

FLORASERVIS (c) [b. r.]. [online] [navštíveno 26. 7. 2021] Dostupné z <https://www.floraservis.sk/-flora-vita-citro.php>

Foolad M. R., Panthee D. R. (2012): Marker-Assisted selection in tomato breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences* 31, 93-123.

Ford B. J. (2009): The Microscope of Linnaeus and His Blind Spot. *Microscope* 57, 65-72.

Frantzeskakis L., Németh M. Z., Barsoum M., Kusch S., Kiss L., Takamatsu S., Panstruga R. (2019): The *Parauncinula polyspora* draft genome provides insights into patterns of gene erosion and genome expansion in powdery mildew fungi. *mBio* 10, 1-17.

García-Gaytán V., Bojórquez-Quintal E., Hernández-Mendoza F., Tiwari D. K., Corona-Morales N., Moradi-Shakoorian Z. (2019): Polymerized silicon (SiO₂.nH₂O) in *Equisetum arvense*: potential nanoparticle in crops. *Journal of the Chilean Chemical Society* 64, 4298-4302.

Glawe D. A. (2008): The powdery mildews: A review of the world's most familiar (yet poorly known) plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 46, 27-51.

Harlinda K., Indah W., Agmi S. P., Sabeti Y. T., Irawan W. K. (2019): Phytochemical, antioxidant and antimicrobial properties of *Litsea angulata* extracts. *F1000 Research* 7, 1-11.

Hasan Z. A. E., Mohd Zainudin N. A. I., Aris A., Ibrahim M. H., Yusof M. T. (2020): Biocontrol efficacy of *Trichoderma asperellum*-enriched coconut fibre against Fusarium wilts of cherry tomato. *Journal of Applied Microbiology* 129, 991-1003.

Hooda V., Sharma G. N., Tyagi N., Hooda A. (2012): Phytochemical and pharmacological profile of *Cocos nucifera*: an overview. *International Journal of Pharmacy & Therapeutics* 3, 130-135.

Horvat T., Poljak M., Lazarević B., Svečnjak Z., Hanaček K. (2014): Effect of foliar fertilizers on physiological characteristics of potato. *Romanian agricultural research* 31, 159-165.

Jacob D., Rav David D., Elad Y. (2007): Biology and biological control of tomato powdery mildew (*Oidium neolycopersici*). *Biological control of fungal and bacterial plant pathogens* 30, 329-332.

Jacob D., Rav David D., Sztjenberg A., Elad Y. (2008): Conditions for development of powdery mildew of tomato caused by *Oidium neolycopersici*. *Phytopathology* 98, 270-281.

Jones H., Whipps J. M., Gurr S. J. (2001): The tomato powdery mildew fungus *Oidium neolycopersici*. *Molecular plant pathology* 2, 303-309.

Kaplan Z., Danihelka J., Chrtěk J. jun., Kirschner J., Kubát K., Štech M. & Štěpánek J. (eds) (2019): Klíč ke květeně České republiky. Ed. 2., 1 – 1168s., Academia, Praha.

Kara M., Soylu S., Türkmen M., Kaya D. A. (2020): Determination and antifungal activities of laurel and fennel essential oils against fungal disease agents of cypress seedlings. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty* 17, 264-275.

Kiss L. (1998): Natural occurrence of *Ampelomyces* intracellular mycoparasites in mycelia of powdery mildew fungi. *New Phytologist* 140, 709–714.

Kiss L. (2003): A review of fungal antagonists of powdery mildews and their potential as biocontrol agents. *Pest Management Science* 59, 475–483.

Kiss L. (2008): Intracellular mycoparasites in action: Interactions between powdery mildew fungi and *Ampelomyces*. *British Mycological Society Symposia Series* 27, 37-52.

Kiss L., Cook R. T. A., Saenz G. S., Cunnington J. H., Takamatsu S., Pascoe I., Bardin M., Nicot P. C., Sato Y., Rossman A. Y. (2001): Identification of two powdery mildew fungi *Oidium neolycopersici* sp. nov. and *O. lycopersici* infecting tomato in different parts of the world. *Mycological Research* 105, 684-697.

Kiss L., Nakasone K. K. (1998): Ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences do not support the species status of *Ampelomyces quisqualis*, a hyperparasite of powdery mildew fungi. *Current Genetics* 33, 362–367.

Kiss L., Russell J. C., Szentiványi O., Xu X., Jeffries P. (2004): Biology and biocontrol potential of *Ampelomyces* mycoparasites, natural antagonists of powdery mildew fungi. *Biocontrol Science and Technology* 14, 635-651.

Knapp S. (2002): Tobacco to tomatoes: a phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. *Journal of Experimental Botany* 53, 2001-2022.

Knapp S., Bohs L., Nee M., Spooner D. M. (2004): "Solanaceae—A model for linking genomics with biodiversity". *International Journal of Genomics* 5, 285-291.

Kulikova A., Isaichev V., Yashin E., Saidyasheva G. (2020): The effectiveness of silicon-containing preparations as fertilizers for sugar beet. *E3S Web of Conferences* 224, 1-7.

Lebeda A., Mieslerová B., Huszár J., Sedláková B. (2017): *Padlí kulturních a planě rostoucích rostlin*. Agriprint, s.r.o., Olomouc, 1-368s. ISBN 978-80-87091-69-2.

Lebeda A., Mieslerová B., Petřivalský M., Luhová L., Špundová M., Sedlářová M., Nožková-Hlaváčková V., Pink D.A.C. (2014): Resistance mechanisms of wild tomato germplasm to infection of *Oidium neolycopersici*. *European Journal of Plant Pathology* 138, 569–596.

Lima E. B. C., Sousa C. N. S., Meneses L. N., Ximenes N. C., Santos Júnior. M. A., Vasconcelos G. S., Lima N. B. C., Patrocínio M. C. A., Macedo D., Vasconcelos S. M. M. (2015): *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 48, 953-964.

Lo Cantore P., Iacobellis N. S., De Marco A., Capasso F., Senatore F. (2004): Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller Var. *vulgare* (Miller) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 7862-7866.

Luyckx M., Hausman J-F., Lutts S., Guerriero G. (2017): Silicon and plants: current knowledge and technological perspectives. *Frontiers in Plant Science* 8, 1-8.

Maghami M., Motalebi A. A., Anvar S. A. A. (2019): Influence of chitosan nanoparticles and fennel essential oils (*Foeniculum vulgare*) on the shelf life of *Huso huso* fish fillets during the storage. *Food Science & Nutrition* 7, 3030-3041.

Marefatzadeh-Khameneh M., Fabriki-Ourang S., Sorkhilalehloo B., Abbasi-Kohpalekani J., Ahmadi J. (2021): Genetic diversity in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) germplasm using fruit variation implemented by tomato analyzer software based on high throughput phenotyping. *Genetic Resources and Crop Evolution* 68, 2611–2625.

McGrath M. T. (2001): Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: experiences and challenges. *Plant Disease* 85, 236–245.

Micali C., Göllner K., Humphry M., Consonni C., Panstruga R. (2008): The Powdery Mildew Disease of Arabidopsis: A Paradigm for the Interaction between Plants and Biotrophic Fungi. *Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 1-20.

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.

Muhammed A. (2012): *Genetic Diversity in Plants*. Springer Science & Business Media, 1-506 s.

Németh M. Z., Mizuno Y., Kobayashi H., Seress D., Shishido N., Kimura Y., Takamatsu S., Suzuki T., Takikawa Y., Kakutani K., Matsuda Y., Kiss L., Nonomura T. (2021): *Ampelomyces* strains isolated from diverse powdery mildew hosts in Japan: Their phylogeny and mycoparasitic activity, including timing and quantifying mycoparasitism of *Pseudoidium neolycopersici* on tomato. *PLOS ONE*, 1-20.

Nevins D. J., Jones R. A. (1987): Plastid and nuclear gene expression during tomato fruit formation. *Plant Biology* 4, 239-249.

Niederlová N. (2019): Studium biologie hyperparazita padlí *Ampelomyces quisqualis*. Bakalářská práce. Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci.

Nováková E. (2017): Studium účinku hyperparazita *Ampelomyces quisqualis* (přípravek AQ 10) na vývoj padlí. Bakalářská práce. Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci.

- Oerke E. C. (2006): Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science* 144, 31–43.
- Oikeh E. I., Ayeubomwan M., Irabor F., Oikeh A. O., Oviasogie F. E., Omoregie E. S. (2020): Evaluation of the phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of oil and non-oil extracts of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck seeds. *Preventive Nutrition and Food Science*, 280-285.
- Oikeh E. I., Omoregie E. S., Oviasogie F. E., Oriakhi K. (2016): Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. *Food Science & Nutrition* 4, 103–109.
- Olmstead R., Bohs L., Migid H. A., Santiago-Valentin E. (2008): Molecular phylogeny of the Solanaceae. *Plant Systematics and Classification* 54, 1159-1181.
- Pal K. K., McSpadden Gardener B. (2006): Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor* 2, 1117–1142.
- Pane C., Celano G., Vilecco D., Zaccardelli M. (2012): Control of *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* and *Pyrenochaeta lycopersici* on tomato with whey compost-tea applications. *Crop Protection* 38, 80-86.
- Paulitz T. C., Bélanger R. R. (2001): Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology* 39, 103-133.
- Pekárková E. (2001): Pěstujeme rajčata, papriky a další plodové zeleniny. Praha: Grada, Česká zahrada. 1-68s. ISBN 80-247-0170-7.
- Peralta I. E., Spooner D. M., Knapp S. (2008): Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*: Solanaceae). *Systematic Botany Monographs* 84, 1-186.

Petřeková V. (2018): Atlas vybraných druhů padlí (řád *Erysiphales*) v České republice. Praha: Academia, Studentské práce. 1-317s. ISBN 978-80-200-2800-6.

Pirondi A., Pérez-García A., Portillo I., Battistini G., Turan C., Brunelli A., Collina M. (2015): Occurrence of chasmothecia and mating type distribution of *Podosphaera xanthii*, a causal agent of cucurbit powdery mildew in northern Italy. *Journal of Plant Pathology*, 97, 307-313.

Qiu W., Feechan A., Dry I. (2015): Current understanding of grapevine defense mechanisms against the biotrophic fungus (*Erysiphe necator*), the causal agent of powdery mildew disease. *Horticulture Research* 2, 1-9.

Raduski A. R., Igric B. (2021): Biosystematic studies on the status of *Solanum chilense*. *American Journal of Botany* 108, 520-537.

Ramli S. (2019): Comparison of lipid peroxy radical scavenging activity and total phenolic content of four selected citrus species leaves extract. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 12, 1590-1594.

Ranković B. (1997): Hyperparasites of the genus *Ampelomyces* on powdery mildew fungi in Serbia. *Mycopathologia* 139, 157-164.

Rao B., Gao L., Dai H., Hong Z., Xie H. (2019): An efficient and sustainable approach for preparing silicon fertilizer by using crystalline silica from ore. *JOM* 71, 3915-3922.

Rastogi A., Tripathi D. K., Yadav S., Chauhan D. K., Živčák M., Ghorbanpour M., El-Sheery N. I., Brestic M. (2019): Application of silicon nanoparticles in agriculture. *3 Biotech Journal*, 1-11.

Roddick J.G. (1974): The steroidal glycoalkaloid α -tomatine. *Phytochemistry* 13, 9-25.

Romero D., de Vicente A., Zerriouh H., Cazorla F. M., Fernández-Ortuño D., Torés J. A., Pérez-García A. (2007): Evaluation of biological control agents for managing cucurbit powdery mildew on greenhouse-grown melon. *Plant Pathology* 56, 976-986.

Rotem Y., Yarden O., Szejnberg A. (1999): Mycoparasite *Ampelomyces quisqualis* expresses exgA encoding an exo- β -1,3-glucanase in culture and during mycoparasitism. *Phytopathology* 89, 631–638.

Rouabhi R. (2010): Introduction and toxicology of fungicides. In: Carisse, O. (ed.): *Fungicides*, 363–382, InTech, Rijeka.

Sari M. (2018): The utilization of VCO (Virgin coconut oil) in manufacturing of solid soap with red betel leaf extract addition (Paper Crotum Ruiz & Pav). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 335, 1-6.

Segarra G., Reis M., Casanova E., Trillas M. I. (2009): Control of powdery mildew (*Erysiphe polygoni*) in tomato by foliar applications of compost tea. *Journal of Plant Pathology* 91, 683-689.

Sethi A., Sharaff M., Sahu R. (2021): Deciphering common temporal transcriptional response during powdery mildew disease in plants using meta-analysis. *Plant Gene* 27, 1-12.

Shishkoff N., McGrath M. T. (2002): AQ 10 biofungicide combined with chemical fungicides or AddQ spray adjuvant for control of cucurbit powdery mildew in detached leaf culture. *Plant Disease* 86, 915-918.

Silva D. O., Martins G. R., Silva A. J. R., Alviano D. S., Nascimento R. P., Kaplan M. A. C., Alviano C. S. (2013): Chemical and antimicrobial analysis of husk fiber aqueous extract from *Cocos nucifera* L.. *African Journal of Biotechnology* 12, 2478-2483.

Silva H. S. A., Romeiro R. S., Macagnan D., Halfeld-Vieira B. A., Pereira M. C. B., Mounteer A. (2004): Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. *Biological Control* 29, 288-295.

Sinsinwar S., Sarkar M. K., Suriya K. R., Nithyanand P., Vadivel V. (2018): Use of agricultural waste (coconut shell) for the synthesis of silver nanoparticles and evaluation of their antibacterial activity against selected human pathogens. *Microbial Pathogenesis* 124, 30-37.

Sucharzewska E., Dynowska M., Kubiak D., Ejdyś E., Biedunkiewicz A. (2012): *Ampelomyces hyperparasites* – occurrence and effect on the development of ascomata of *Erysiphales* species under conditions of anthropopressure. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 81, 147-152.

Sztejnberg A. (1993): U.S. Patent No. 5,190,754. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Takamatsu S. (2013): Molecular phylogeny reveals phenotypic evolution of powdery mildews (Erysiphales, Ascomycota). *Journal of General Plant Pathology* 79, 218–226.

Takei H., Shirasawa K., Kuwabara K., Toyoda A., Matsuzawa Y., Iioka S., Ariizumi T. (2021): De novo genome assembly of two tomato ancestors, *Solanum pimpinellifolium* and *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, by long-read sequencing, *DNA Research* 28, 1-9.

Thebo N. K., Simair A. A., Mangrio G. S., Ansari K. A., Bhutto A. A., Lu C., Sheikh W. A. (2016): Antifungal potential and antioxidant efficacy in the shell extract of *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae) against pathogenic dermal mycosis. *Medicines* 3, 2-12.

Tollenaere C., Pernechele B., Mäkinen H. S., Parratt S. R., Németh M. Z., Kovács G. M., Kiss L., Tack A. J. M., Laine A.-L. (2014): A hyperparasite affects the population dynamics of a wild plant pathogen. *Molecular Ecology* 23, 5877-5887.

Tomato Genome Consortium. (2012): The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature* 485, 635–641.

Usha Rani P., Venkateshwaramma T., Devanand P. (2011): Bioactivities of *Cocos nucifera* L. (Arecales: Arecaceae) and *Terminalia catappa* L. (Myrtales: Combretaceae) leaf extracts as post-harvest grain protectants against four major stored product pests. *Journal of Pest Science* 84, 235–247.

Valšíková M., Duda M., Kopec K., Prusová H., Zacha V. (1987): *Papriky, rajčiaky a baklažány*. Bratislava: *Príroda*, 1-155s.

Vielba-Fernández A., Polonio Á., Ruiz-Jiménez L., Vicente A., Pérez-García A., Fernández-Ortuño D. (2020): Fungicide Resistance in Powdery Mildew Fungi. *Microorganisms* 8, 1-34.

Vinter V., Macháčková P. (2013): *Přehled morfologie cévnatých rostlin: studijní opora e-learningových vzdělávacích modulů projektu Botaska*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 1-198s.

Wang Z., Johnston P. R., Takamatsu S., Spatafora J. W., Hibbett D. S. (2006): Toward a phylogenetic classification of the Leotiomycetes based on rDNA data. *Mycologia* 98, 1065–1075.

Whipps J. M., Budge S. P., Fenlon J. S. (1998): Characteristics and host range of tomato powdery mildew. *Plant Pathology*, 47, 36-48.

Wolff S., Karoliussen I., Rohloff J., Strimbeck R. (2012): Foliar applications of silicon fertilisers inhibit powdery mildew development in greenhouse cucumber. *Journal of Food Agriculture & Environment* 10, 355-359.

Woźniak M., Kwaśniewska-Sip P., Krueger M., Roszyk E., Ratajczak I. (2020): Chemical, biological and mechanical characterization of wood treated with propolis extract and silicon compounds. *Forests* 11, 1-17.

Yamamoto S., Shiraishi S., Kawagoe Y., Mochizuki M., Suzuki S. (2015): Impact of *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3 on control of bacterial wilt and powdery mildew in tomato. *Pest Management Science* 71, 722-725.

YanTing L., XiuYing L., Yan X., BingQiang Z., LiXia W. (2009): Advances in study on mechanism of foliar nutrition and development of foliar fertilizer application. *Scientia Agricultura Sinica* 42, 162-172.

Yarwood C. E. (1932): *Ampelomyces quisqualis* on clover mildew. *Phytopathology* 22, 31.

Zhang Y. J., Gan R. Y., Li S., Zhou Y., Li A. N., Xu D. P., Li H. B. (2015): Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. *Molecules* 20, 211138–221156.

Zhang Y., Schoch C. L., Fournier J., Crous P. W., de Gruyter J., Woudenberg J. H. C., Hirayama K., Tanaka K., Pointing S. B., Spatafora J. W., Hyde K. D. (2009): Multi-locus phylogeny of *Pleosporales*: a taxonomic, ecological and evolutionary re-evaluation. *Studies in Mycology* 64, 85–102.