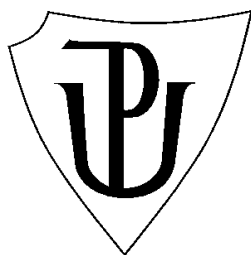


Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Biologické přípravky v ochraně vůči padlí dýňovitých

Diplomová práce

Bc. Věra Loubová

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika

Forma studia: Prezenční

Vedoucí práce: RNDr. Božena Sedláková, Ph.D.

Olomouc 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Boženy Sedlákové s použitím uvedených zdrojů.

V Olomouci 2022

.....

podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala své vedoucí diplomové práce RNDr. Boženě Sedlákové PhD. za odborné vedení, konzultaci, trpělivost, vstřícnost, ochotu a množství času, které mi věnovala. Chtěla bych poděkovat svým rodičům za podporu v mém studiu.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení: Bc. Věra Loubová

Název práce: Biologické přípravky v ochraně vůči padlí dýňovitých

Typ práce: Diplomová práce

Pracoviště: Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

Vedoucí práce: RNDr. Božena Sedláková PhD.

Rok obhajoby práce: 2022

Abstrakt

V teoretické části byla vypracována literární rešerše týkající se charakteristiky padlí (Erysiphales) včetně padlí dýňovitých, chemické ochrany vůči padlí, integrované ochrany rostlin, biologické kontroly a jiných metod ochrany rostlin vůči padlí. Experimentální část se zabývala testováním účinných látek: fosfonát draselný, lecitin, síra, hydrogenuhličitan draselný a tymiánový olej, pomocí modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) na souboru izolátů *Podosphaera xanthii* z České republiky (ČR). Nově byla testována metoda celých rostlin. Fosfonát draselný ukázal nízkou míru efektivity vůči izolátům *P. xanthii* z roku 2016 z ČR, a naopak zvýšenou účinnost vůči sbírkovým a pracovním izolátům *P. xanthii* z ČR. Metodou celých rostlin byla potvrzena také jeho neúčinnost vůči *P. xanthii*. Lecitin byl neúčinný vůči izolátům *P. xanthii* u obou testovaných metod. Síra se ukázala jako částečně efektivní vůči izolátům *P. xanthii* z roku 2016 z ČR s využitím modifikované metody listových disků. Hydrogenuhličitan draselný byl zcela neúčinný vůči sbírkovým a pracovním izolátům *P. xanthii* z České republiky u obou použitých metod. Tymiánový olej vykazoval nejvýraznější rozdíl mezi oběma použitými metodami. Při použití modifikované metody listových disků se ukázala fytotoxicita. Mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného potvrdilo neúčinnost aplikované účinné látky.

Klíčová slova: padlí dýňovitých, *Podosphaera xanthii*, hydrogenuhličitan draselný, lecitin, fosfonát draselný, tymiánový olej, síra, integrovaná ochrana

Počet stran: 124

Počet příloh: 18

Bibliographic identification

Author's first name and surname: Bc. Věra Loubová

Title of thesis: Biological agents at protection against cucurbit powdery mildew

Type of thesis: Master

Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacky University

Supervisor: RNDr. Božena Sedláková PhD.

The year of presentation: 2022

Abstract

The theoretical part of thesis contains of the review about powdery mildew (Erysiphales) within cucurbit powdery mildew, chemical protection against powdery mildew, integrated pest management (IPM), biological control and other methods. In the practical part screening of active ingredients: potassium phosphonate, lecithin, sulphur, potassium bicarbonate and thyme oil according to a modified leaf discs method by Lebeda and Sedláková (2010); Sedláková and Lebeda (2008) on a set of *Podosphaera xanthii* isolates from the Czech Republic (CR). The method of whole plants was screened newly. Potassium phosphonate showed a low rate of efficiency against *P. xanthii* isolates from 2016 from the CR, however increased efficiency against *P. xanthii* isolates from working collections from the CR. The method of whole plants confirmed its ineffectiveness against *P. xanthii*. Lecithin and potassium bicarbonate were ineffective against *P. xanthii* isolates using both tested methods. Sulphur showed partially effectiveness. Thyme oil showed the most evident differences between both screened methods. Phytotoxicity effect appeared using the modified leaf discs method. Microscopical examination of *P. xanthii* development after potassium bicarbonate application verified ineffectiveness of used active ingredients.

Keywords: cucurbit powdery mildew, *Podosphaera xanthii*, potassium bicarbonate, lecithin, potassium phosphonate, thyme oil, sulphur and integrated pest management

Number of pages: 124

Number of appendices: 18

Languages: Czech

Obsah

1. Úvod	8
2. Cíle práce	10
3. Literární rešerše	11
3.1. Charakteristika padlí (Erysiphales) včetně padlí dýňovitých	11
3.1.1. Hostitelský okruh padlí dýňovitých.....	12
3.1.2. Popis patogena.....	13
3.1.3. Symptomy padlí dýňovitých.....	13
3.1.4. Vývojový cyklus a epidemiologie padlí dýňovitých.....	14
3.1.5. Rozšíření a ekonomický význam padlí dýňovitých.....	14
3.1.7. Patogenní variabilita padlí dýňovitých	15
3.2. Chemická ochrana vůči padlí.....	17
3.2.1. Rezistence padlí k fungicidům.....	18
3.2.2. Rezistence padlí dýňovitých vůči fungicidům v České republice	26
3.3. Integrovaná ochrana rostlin	30
3.3.1. „Zelená dohoda“	32
3.4. Biologické a jiné metody ochrany vůči padlí	32
3.4.1. Popis vybraných účinných látek	37
3.4.2. Metody založené na iniciaci obranných mechanismů.....	43
3.4.3. Metody založené na parazitismu nebo antibióze	45
3.5. Metody detekce rezistence padlí k fungicidům	48
4. Materiál a metody	54
4.1. Zpracování dat testování rezistence vybraných účinných látek vůči izolátům <i>P. xanthii</i> ČR z roku 2016.....	54
4.2. Testování účinnosti vybraných látek vůči izolátům <i>P. xanthii</i>	57
4.2.1. Původ, charakteristika a uchování izolátů padlí dýňovitých.....	57
4.2.2. Rostlinný materiál.....	59
4.2.3. Charakteristika testovaných přípravků.....	59
4.2.4. Metody	62
Modifikovaná metoda listových disků.....	64
Metoda celých rostlin.....	65
4.2.5. Hodnocení intenzity sporulace.....	66
4.3. Mikroskopické sledování vývoje <i>P. xanthii</i> po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného	68
4.4. Statistické zpracování	69
6. Výsledky	70

6.1. Testování rezistence vybraných účinných látek vůči izolátům <i>P. xanthii</i> ČR z roku 2016	70
6.2. Testování rezistence vybraných účinných látek vůči sbírkovým a pracovním izolátům <i>P. xanthii</i>	82
6.3. Metoda celých rostlin.....	93
6.4. Porovnání obou metod.....	103
6.5. Mikroskopické sledování vývoje <i>P. xanthii</i> po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného	106
7. Diskuze	112
8. Závěr.....	115
9. Seznam použitých zdrojů.....	117
10. Přílohy	125
10.1. Statistické zpracování dat	125
10.2. Fotografie.....	136
(pořízené autorkou DP).....	136

1. Úvod

Padlí je jedním z nejvíce rozšířených patogenů, napadá celou řadu rostlin a způsobuje značné ztráty výnosu po celém světě. (Lebeda et al., 2017) V České republice se na tykvovitých rostlinách vyskytují dva původci padlí dýňovitých: *Podosphaera xanthii* (*P. xanthii*) a *Golovinomyces orontii* (*G. orontii*), přičemž z dlouhodobého hlediska se zdá, že druh *G. orontii* v České republice dlouhodobě převažuje. S globálním oteplováním je možné, že se druh *P. xanthii*, který je ve srovnání s *G. orontii* teplomilnější, časem se dostane i do oblastí, kde se dříve nevyskytoval. (Křístková et al., 2009; Lebeda et al., 2021) Padlí dýňovitých je považováno za nebezpečného patogena. Velmi problematická se ukazuje genetická variabilita patogenity obou druhů, jak na úrovni patotypů, tak na úrovni ras. (Lebeda et al., 2017; Lebeda et al., 2021) Jedním z hlavních nástrojů současnosti v ochraně proti padlí dýňovitých je chemická ochrana. Byla vyvinuta řada chemických pesticidů, zároveň však vůči mnohým z nich se vyvinula rezistence. (Lebeda et al., 2017; Sedláková a Lebeda, 2008). Nyní je snaha od aplikace chemických pesticidů upustit a přejít na alternativní ochranu rostlin, která by neměla mít negativní vliv na životní prostředí, a také by nedocházelo k možnému vzniku rezistence k daným pesticidům. (Caffi et al., 2017, Strassemeier, 2017) Vznikla řada studií zabývajících se právě vznikem rezistence vůči daným fungicidům. (Lebeda et al., 2010; Sedláková a Lebeda, 2008) Z těchto a mnoha dalších důvodů je snaha o vyvinutí biologické kontroly. Po celém světě se vytváří řada výzkumných týmů, jenž se zabývá ochranou rostlin vůči padlí, popřípadě testováním použití vhodné biologické ochrany a její vliv na výskyt padlí, ale také na stav celé rostliny (růst rostliny, obsah chlorofylu). (Hafez et al., 2018; Moyer, 2007)

V České republice se problematikou padlí dýňovitých zabývá tým prof. Lebedy a Dr. Sedlákové na Katedře botaniky Přírodovědecké Fakulty Univerzity Palackého v Olomouci již řadu let. A byly v minulosti nebo jsou v současnosti řešeny v rámci několika grantů (QH 71229; MSM 6198959215; QK 21010064; IGA PrF 2020-003; IGA PrF 2021-001; IGA PrF 2022-002)

Toto téma řeší také tato diplomová práce, jenž je zaměřena v teoretické části především na biologickou ochranu rostlin a v experimentální části sleduje účinnost vybraných přípravků vůči izolátům padlí dýňovitých (*P. xanthii*) pocházející z České republiky a jednoho izolátu *P. xanthii* pocházejícího z Německa. Problematikou ochrany rostlin vůči padlí dýňovitých se zabývala již řada studentů Katedry botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého.

Tato diplomová práce tak navazuje i na bakalářskou práci Vladislavy Valné (2019). Výsledky by tak mohly přispět k detailnějšímu poznání rezistence padlí dýňovitých vyskytující se v České republice k vybraným účinným látkám.

2. Cíle práce

Teoretická část této diplomové práce měla za cíl vypracování literární rešerše na téma charakteristika padlí (Erysiphales) včetně padlí dýňovitých, chemickou ochranu vůči padlí včetně rezistence padlí dýňovitých vůči fungicidům v České republice. Dále se tato diplomová práce zabývá také integrovanou ochranou rostlin, především biologickou kontrolou a jinými metodami ochrany rostlin vůči padlí.

Experimentální část zahrnuje tři hlavní cíle:

1. zpracování protokolů z testování účinnosti fosfonátu draselného, lecitinu a síry vůči souboru izolátů *P. xanthii* pocházejících z roku 2016 z České republiky, testovaných modifikovanou metodou listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008).
2. testování účinnosti čtyř účinných látek fosfonátu draselného, lecitinu, hydrogenuhličitanu draselného a tymiánu vůči izolátům *P. xanthii* pocházející ze sbírkové a pracovní kolekce UPOL včetně jednoho izolátu *P. xanthii* pocházejícího z Německa testované metodou listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) a nově metodou celých rostlin.
3. mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* na *C. sativus* odrůdě Perzeus F1 po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného.

3. Literární rešerše

3.1. Charakteristika padlí (Erysiphales) včetně padlí dýňovitých

Padlí (řád Erysiphales) zahrnuje řadu patogenů, kteří jsou původci chorob rostlin. Jedná se o obligátní parazity, nelze je proto zkoumat na umělých médiích, pro svůj růst a vývoj potřebují živý organismus. (Lebeda et al., 2017; Moyer, 2007) Jejich výskyt je velmi častý. Padlí napadá až 10 000 druhů krytosemenných rostlin po celém světě, např. révu vinnou, ovocné stromy, obilniny, chmel, ale také okrasné rostliny. (Lebeda et al., 2017)

Řád Erysiphales patří do skupiny vřeckovýtrusých hub (oddělení: Ascomycota). Poprvé padlí (Erysiphales) popsal Carl Linné, který ho obohatil vědeckým jménem. V současné době je popsáno okolo 820 druhů padlí. (Lebeda et al., 2017)

Taxonomická klasifikace padlí (řád Erysiphales): (Lebeda et al., 2017)

Říše: **Fungi**

Oddělení: **Ascomycota**

Pododdělní: **Pezizomycotina**

Třída: **Leotiomycetes**

Řád: **Erysiphales**

Čeleď: **Erysiphaceae**

Vývoj pojmenování hlavních původců padlí dýňovitých:

Golovinomyces orontii (Castagne) Heluta s. lat.

syn. *Erysiphe orontii* Castagne

syn. *Erysiphe cichoracearum* (DC)

Golovinomyces cucurbitacearum (R. Y. Zheng & G. Q. Chen.) Vokal & Kliron.

syn. *Erysiphe cucurbitacearum* R. Y. Zheng & G. Q. Chen.

Podosphaera xanthii (Castagne) U. Braun & Shishkoff

syn. *Erysiphe xanthii* (Castagne)

syn. *Sphaerotheca xanthii* (Castagne) L. Junell

syn. *Sphaerotheca fusca emend.* (s.lat.) (Braun, 1987)

syn. *Sphaerotheca fuscata* (Berk. & M. A. Curtis) Serbinow

syn. *Sphaerotheca fuliginea* f. *cucurbitae* Jacz,

Leveillula taurica (Lév.) G. Arnaud

syn. *Erysiphe taurica* Lév.

syn. *Oidiopsis taurica* (Lév.) E. S. Salmon

(Braun a Cook, 2012)

Na okurce seté a dalších tykvovitých rostlinách byly popsány tři různé druhy padlí. Tyto druhy se dle současné taxonomie řadí do tří rodů (*Golovinomyces*, *Podosphaera*, *Leveillula*). *G. orontii* (*Go*) a *P. xanthii* (*Px*) jsou běžně se vyskytující druhy, a proto i hospodářsky významné. Zatímco *L. taurica* se vyskytuje méně často, a to převážně v suchých a horských oblastech, jedná se hospodářsky málo významný druh. (Lebeda et al., 2017)

3.1.1. Hostitelský okruh padlí dýňovitých

Oba druhy (*G. orontii* a *P. xanthii*) mají širokou škálu hostitelů. Hostitelskými rostlinami u druhu *G. orontii* je mnoho čeledí od Asteraceae po Vitaceae, ale také značné množství rodů a druhů rostlin. Velmi významnou hostitelskou skupinou je čeleď Cucurbitaceae s řadou rodů kulturních i planě rostoucích rostlin např. *Bryonia*, *Citrullus*, *Cucumis*, *Cucurbita*, *Echinocystis*. Nicméně, hostitelská specifická a možnost křížového přenosu u *G. orontii* na hostitelské rostliny, které jsou taxonomicky vzdálenější jsou doposud málo známy. *P. xanthii* má také mnoho hostitelských rostlin od Asteraceae po Solanaceae a Verbenaceae. Významnou hostitelskou čeledí jsou i také Cucurbitaceae zahrnující např. *Citrullus*, *Lagenaria*, *Trichosanthes*, *Cucumis*, *Cucurbita*, *Luffa*, *Benincasa*, (Lebeda et al., 2017)

3.1.2. Popis patogena

Oba druhy padlí (*Golovinomyces*, *Podosphaera*) jsou významné pro čeled' Cucurbitaceae. Pomocí symptomů ani za použití lupy je nelze od sebe rozlišit. Můžeme je spolehlivě identifikovat pomocí mikroskopu pozorováním konidií při použití 3% KOH zvýrazněním fibrozinových tělísek. (Lebeda et al., 2017)

G. orontii má mycelium povrchové, tenkostěnné, septátní a bíle zbarvené. Hyfy má zprohýbané a větvené do pravého úhlu. Konidiofory bývají centrálně umístěny. Konidie jsou tvořeny krátkými řetězci. Konidie nemají fibrozinová tělíska. Na koncích konidií se vytváří klíční vlákna, která jsou nevětvená a jsou zakončena kyjovitým apresoriem typu Euoidium. Plodnice je chasmothecium, které má kulovitý tvarem a je hnědé až černě zbarven. Lze ho nalézt na povrchu napadených pletiv. V plodnici se nachází 5-14 věceček, která jsou kyjovitého, pytlovitého nebo stopkovitého tvaru. Vřečka obsahují bezbarvé až nažloutlé 2-4 askospory, které mají elipsovité-vejčitý tvar. (Lebeda et al., 2017; Braun a Cook, 2012)

P. xanthii má mycelium povrchové, septátní, tenkostěnné a bíle zbarvené. Mycelium tvoří husté povlaky. Z horní části mateřské hyfální buňky se vytvářejí konidiofory. Tvoří se řetězce konidií. Na konidiích se vytváří klíční vlákna. Plodnice je chasmothecium. V chasmotheciu se vyskytuje pouze jedno vřečko. Vřečka mají široce elipsovité-vejčitý až subglobózní tvar. Nachází se v nich 6-8 askospor. Askospory jsou bezbarvé a mají široce elipsovité-vejčitý až subglobulózní tvar. (Lebeda et al., 2017; Braun a Cook, 2012)

3.1.3. Symptomy padlí dýňovitých

Na výskyt symptomů má především vliv geografická oblast, ve které se padlí nachází. Ve střední Evropě lze první symptomy zaznamenat od začátku léta do začátku podzimu. Oba druhy (*Golovinomyces oronithii*, *Podosphaera xanthii*) se vyvíjí na horní straně listů ve formě pustulí. Pustule jsou drobná okrouhlá ložiska. Postupně dochází k jejich kolonizaci a při velmi silném napadení se spojují a vzniká tak souvislý bílý povlak. (obrázek 29) Avšak infekce se může objevit i na spodní straně listů. U některých druhů (*Cucurbita pepo*) má na napadení velký vliv morfortyp a habitus hostitelské rostliny. Napadení padlím bylo zaznamenáno i na květech, pupenech či kališních lístcích. U některých rostlin může dojít k napadení řapíků stonků. V Holickém areálu PřF UP v Olomouci bylo v roce 2014 padlí viděno i na plodech *Citrullus lanatus*, což bývá pozorováno ojediněle. Listy, které jsou brzy a silně napadeny časem žloutnou až dojde k jejich nekrotizaci. Ke konci vegetace mohou odumírat. Intenzita napadení porostů ovlivňuje výnos plodů a nutriční kvalitu. (Lebeda et al., 2017) Při smíšeném

výskytu infekce (*Golovinomyces orontii*, *Podosphaera xanthii*) se příznaky mohou na hostitelských rostlinách vyskytovat déle. (Lebeda et al., 2021)

3.1.4. Vývojový cyklus a epidemiologie padlí dýňovitých

Oba druhy (*Golovinomyces orontii*, *Podosphaera xanthii*) mají odlišné ekologické nároky, z toho důvodu je ovlivněno jejich geografické rozšíření, životní cyklus i epidemiologie. *G. orontii* je druh chladnomilnější, zatímco *P. xanthii* je teplomilnější. Oba druhy jsou heterothalické houby. V pohlavní fázi dochází ke vzniku chasmothecií s vřecy a v nepohlavním procesu se tvoří na konidioforech konidie. Ale mají rozdílné teplotní nároky na konidiogenezi, klíčení konidií a jejich penetraci. (Lebeda et al., 2017) Na vývoj epidemie mají kromě patogenu, hostitelské rostliny, vliv i podmínky prostředí jimiž jsou teplota, vlhkost a světlo. (Moyer, 2007)

Hlavními disperzními propagulemi jsou konidie, chasmothecia a askospory. Přenos bývá větrem, nebo jiným způsobem např. člověkem, hmyzem, pomocí zemědělské techniky. Konidie se pomocí větru mohou přenášet na velké vzdálenosti (desítky až stovky km). (Lebeda et al., 2017)

Pokud se CPM (cucurbit powdery mildew) vyskytuje na začátku vegetačního období rostliny může snížit fotosyntetickou kapacitu a má negativní vliv na růst a vývoj rostlin a kvalitu plodin. (Lebeda et al., 2021)

Frekvence padlí se může v průběhu let měnit důsledkem klimatické změny. Studie v Severní Itálii ukázala časový posun ve výskytu druhů Go a Px. To lze vysvětlit vlivem sezónních změn teplot a vlhkosti. (Lebeda et al. 2021)

3.1.5. Rozšíření a ekonomický význam padlí dýňovitých

Tykvovitá zelenina je oblíbená a patří mezi důležité plodiny pěstované po celém světě, jedná se např. o okurku (*Cucumis sativus*), meloun cukrový (*Cucumis melo*), vodní meloun (*Citrullus lanatus*), dýně a tykve (*Cucurbita sp.*). (Khalaf a Ralzada, 2018) Pro tykvovité rostliny je padlí nebezpečným patogenem, neboť oslabuje rostlinu. Rostlina může být napadena dalšími více škodlivými patogeny. (Lebeda et al., 2017) Všechny ekonomicky významné tykvovité plodiny jsou schopné být hostiteli obou druhů CPM, vyznačují se velkou fenotypovou a genetickou variabilitou. Jedná se o jedny z nejstarších domestikovaných rostlin, patřící mezi první zeleninové plodiny před 8000-1200 lety ve Starém i Novém světě. (Lebeda et al., 2021) Vznikly a byly domestikovány v tropech a vlhkých subtropích napříč

kontinenty. (Khalaf a Ralzada, 2018) Intenzivní šlechtění tykvovitých rostlin na základě vědeckých principů začal asi před 100 lety. V roce 1920-1930 byla snaha o zlepšení produkce a kvality plodin, o dosažení rezistence rostlin vůči padlí, neboť se zdá, že se jedná o nejlepší možnost moci zabránit výskytu CPM. (Lebeda et al., 2021)

G. orontii, ale také i *G. cucurbitacearum* se často vyskytují v temperátních oblastech, kde je lze najít na řadě zástupců čeledi *Cucurbitaceae*. *G. orontii* na hostitelských rostlinách v Evropě, Severní a Jižní Americe, Africe, Asii a na Novém Zélandu, jak na kulturních rostlinách, tak i na planých rostlinách. Jedná se o patogena s globálním rozšířením. Převažuje v podmínkách, kde je chladnější klima. Jeho „biologická struktura“ je komplexní a málo známá. Převažuje ve střední a severní Evropě na dýňovitých rostlinách. (Křístková et al., 2009; Lebeda et al., 2017)

Zatímco *P. xanthii* se vyskytuje v sušších a teplejších a humidnějších oblastech a také v krytých kulturách. Díky klimatickým změnám se nachází i v temperátních oblastech. Napadá tykvovité rostliny v Jižní Evropě, Kalifornii, Izraeli, asijských zemí, ale jeho výskyt byl zaznamenán také ve Švédsku. (Lebeda et al., 2017; Rur et al., 2018)

V přírodě lze *G. orontii* a *P. xanthii* nalézt i přímo na jedné rostlině, popřípadě na jednom listu. Oba tyto druhy mohou způsobovat při silném napadení velmi vážné škody. (Lebeda et al., 2017)

Golovinomyces orontii (Go) (*syn. Erysiphe cichoracearum s.l.*) a *Podosphaera xanthii* (Px) (*syn. Sphaerotheca fuliginea*) mají vysoký evoluční potenciál. (Lebeda et al., 2010) Lze je považovat za rizikové patogeny. (Sedláková a Lebeda, 2008) U populace patogenu s vysokým evolučním potenciálem je větší pravděpodobnost, že překoná genetickou odolnost rostlin anebo vyvine rezistenci na fungicidy, než je tomu u populace patogenu s nižším evolučním potenciálem. Druhy CPM vykazují vysokou variabilitu v patogenitě a virulenci. Existuje velké množství různých patotypů a ras. (Lebeda et al., 2010) To bude předmětem následující kapitoly.

3.1.7. Patogenní variabilita padlí dýňovitých

Patotyp lze považovat za pomocnou fytopatologickou kategorii patogenity, jenž upřesňuje a popisuje pomocí určitého označení hostitelský okruh daného izolátu určitého druhu padlí. Patotyp charakterizuje patogenní variabilitu z hlediska hostitelského okruhu daného patogena. Patotypy lze rozlišit pouze podle patogenity na přesně definovaném souboru diferenciačních genotypů hostitele, jenž je tvořen různými rody, nikoli podle morfologie. Byla vytvořena

dlouhodobá studie patogenní variability na úrovni patotypů týkající se původců padlí dýňovitých (*G. orontii* a *P. xanthii*) v České republice. Tato studie potvrdila existenci velkého množství patotypů obou patogenů, které jsou v čase a prostoru variabilní. (Lebeda et al., 2011; Lebeda et al., 2017) (tabulka 1)

Tabulka 1: Přehled patotypů padlí dýňovitých (*Golovinomyces orontii*, *Podosphaera xanthii*) determinovaných ve světě a v České republice v letech 2000-2009 (převzato z Lebeda et. al., 2017)

Stát	Druh patogena		Literatura **
	Počet determinovaných patotypů		
	<i>Golovinomyces orontii</i>	<i>Podosphaera xanthii</i>	
Francie	4	3	Bertrand (1991), Bertrand et al. (1992)
Španělsko	-	4	del Pino et al. (2002)
Česká republika 2000-2009	13 (12/1)*	7 (6/1)*	Lebeda a Sedláková (2004, 2006), Sedláková a Lebeda (2010)
Celkem	17	14	

*počet patotypů determinovaných pouze v České republice / počet patotypů známých také z jiných zemí

** citace převzaty z Lebeda et al. (2011)

Stupeň virulence na souboru vybraných genotypů určitého hostitelského druhu představují **rasy**. (Lebeda et al. 2011) Rasy lze definovat jako biotyp, popřípadě skupinu biotypů uvnitř druhu, jenž se od druhů jiných liší fyziologickými charakteristikami a primárně virulencí. Rasy lze také definovat jako populace patogena, ve které mají jedinci stejnou kombinaci genů (faktorů) virulence. Rasy nelze rozlišit morfologicky. Rasy se liší fyziologickou specializací izolátů patogena a virulencí na odrůdách téhož hostitelského druhu nebo blízkce příbuzných druhů. Rasy jsou rozlišovány převážně u houbových organismů a bakterií. Determinace ras je pomocí biologického testu, tzn. inokulací čisté kultury patogena na soubor přesně definovaných genotypů hostitele, které se liší přítomností rasově specifických genů rezistence. K popisu ras je používáno alfabetické, alfanumerické až numerické systému. Nicméně jejich nejednotnost vede ke zmatkům a není možnost rasy srovnávat, je mezinárodní komunikace je také zkomplikována. Proto je snaha o užití numerických kódů, jenž jsou akceptovány i ve světě. Pro populační studie se využívá vyjadřování virulence ras pomocí tzv. v-fenotypu neboli fenotypu virulence. Fenotyp virulence popisuje každý izolát patogena z hlediska nepřítomnosti (přítomnosti) faktorů virulence. Poté je možné pomocí populačně genetických metod zpracovat a interpretovat získané výsledky. Padlí je velice variabilní ve virulenci. (Lebeda et al., 2017) Výsledky dlouhodobého studia variability virulence

u populací padlí dýňovitých (*G. orontii* a *P. xanthii*) České republiky ukázaly, že populace obou patogenů mají vysokou variabilitu ras a rozsáhlou variabilitu v prostoru a čase. (Lebeda et al. 2011; Lebeda et al., 2021) U druhu *P. xanthii* byla velká variabilita na úrovni ras potvrzena i v jiných zemích. (Lebeda et al., 2017) (tabulka 2)

Tabulka 2: Přehled ras padlí dýňovitých (*Golovinomyces orontii*, *Podosphaera xanthii*) determinovaných ve světě a v České republice v letech 2000-2009 (převzato z Lebeda et al. 2017)

Stát	Druh patogena		Literatura **
	Počet determinovaných patotypů		
	<i>Golovinomyces orontii</i>	<i>Podosphaera xanthii</i>	
Celosvětově	2	31	McCreight et al. (2012)
Česká republika 2000-2009	90 (90/0)*	61 (57/4)*	Lebeda et al. (2007), Sedláková a Lebeda (2010)

*počet ras determinovaných pouze v České republice / počet ras známých také z jiných zemí

** citace převzaty z Lebeda et al. (2011)

3.2. Chemická ochrana vůči padlí

V současné době se po celém světě používá téměř 70 různých účinných látek vůči padlí (Erysiphales). Dle mechanismu působení (Mode of Action = MoA) je lze rozdělit do 14 skupin a dále do 21 chemických skupin označených kódem v databázi FRAC z roku 2015 (Fungicide Resistance Action Committee). (Lebeda et al., 2017) Dá se předpokládat, že v současnosti s vývojem nových fungicidů počet těchto účinných látek narůstá.

Chemická ochrana pomocí fungicidů je nejvíce užívanou a efektivní metodou vůči padlí. Celosvětově nejvíce používané účinné látky proti patogenním organismům z čeledi Erysiphaceae jsou součástí tzv. systémových přípravků. Jedná se o fungicidy s účinnými látkami, které zasahují do celkového metabolismu hub. (Lebeda et al., 2017) Systémové fungicidy poskytují ochranu abaxiálních listových ploch, kde jsou podmínky příznivější pro vývoj chorob než na adaxiálních plochách. (Moyer, 2007). Tyto fungicidy mají specifický režim působení na jednom místě, jsou tedy aktivní v jednom bodě jedné metabolické dráhy patogenu, a proto jsou obecně více ohroženy vývojem rezistence než jiné fungicidy. (Lebeda et al., 2010; Sedláková a Lebeda, 2008) Velká část těchto přípravků patří mezi tzv. širokospektrální fungicidy. Tyto fungicidy působí na padlí, ale i na jiné patogeny ze třídy Ascomycetes, nebo i na patogeny u jiných taxonomických skupin, například: Oomycetes, Basidiomycetes. (Lebeda et al., 2017) Avšak jsou mezi nimi i takové, které byly vyvinuty přímo pro padlí, tedy jsou používány jen proti patogenům z řádu Erysiphales. Tyto účinné látky byly vyvinuty již v 80. letech minulého století, ze skupin A2 (FRAC 8)

se jedná o: bupirimát, ethirimol a dimethirimol, ze skupiny G1 (FRAC 3): diclobutrazol, buthiobát, etaconazol. Ovšem diclobutrazol (FRAC 11) dle FRAC 2021 není součástí skupiny G1. V 90. letech byla vyvinuta účinná látka quinoxifen, která se řadí do skupiny E1 (FRAC 13). V 21. století se řada firem snažila o vyvinout nové přípravky, které by působily proti padlí. Vzniklo několik účinných látek, u nichž se dosud neví, jak působí v houbovém organismu. V klasifikaci FRAC jsou tyto účinné látky zařazeny do skupiny látek s neznámým způsobem účinku tzv. Unknown mode of action (U.) Jsou to účinné látky cyflufenamid (U06), pyriofenon, metrafenon (B6, FRAC 50), flutianil (U13). Ve skupině C patří fungicidy s účinnými látkami fluopyram (C2, FRAC 7), používané pouze proti padlí. Jedná se o látky ovlivňující dýchací procesy hub. (Lebeda et al, 2017; FRAC 2015; FRAC 2021; University of Hertfordshire)

V ochraně proti padlí se používají i tzv. kontaktní fungicidy neboli multi-sites inhibitory. Tyto přípravky mají více cílových míst působení patogena, nepůsobí tedy specificky, a tudíž je zde nízké riziko vzniku rezistence. (Lebeda et al., 2017). Tvoří 12 % všech účinných látek, které jsou v současnosti vůči padlí používány. Tyto přípravky mají dobrou preventivní účinnost a jsou méně finančně nákladné než systémové fungicidy. Do současnosti nebyla ve světě zaznamenána rezistence k účinným látkám kontaktních přípravků u patogenů z řádu Erysiphales a peronosporálních hub. Podle způsobu účinku (MoA) klasifikace FRAC tyto přípravky proti padlí patří do 12 skupin (M1-M12). U CPM je zatím známa rezistence u multi-sites inhibitorů pouze u dvou skupin. (quinoxaline (M10), miscellaneous). (Lebeda et al., 2017; Sedláková a Lebeda, 2008; FRAC 2015; FRAC 2021; University of Hertfordshire)

Přestože fungicidy jsou účinné, jejich opakované používání v průběhu let může mít za následek vznik negativních vlivů, např.: vznik rezistence. Nebo v případě kontaktních fungicidů mohou působit fytotoxicky. (Lebeda et al., 2017; Ma et. al., 2017)

3.2.1. Rezistence padlí k fungicidům

Systémové fungicidy jsou rizikovější ke vzniku rezistence než kontaktní fungicidy. Je to dáno i typem rezistence u dané skupiny fungicidů, zda se jedná o rezistenci kvalitativní nebo kvantitativní. (Lebeda et al., 2017)

Kvantitativní rezistence - vychází z modifikace jediného hlavního genu, to vede k úplné ztrátě kontroly nad chorobou. Nedá se to omezit ani použitím vyšších dávek, ani častější

aplikací fungicidů. Například vznik rezistence k benzimidazolovým fungicidům (B1, FRAC 1).

Kvalitativní rezistence - vychází z modifikace několika interagujících genů. Patogen projevuje různou citlivost na fungicidy. Rezistence narušuje možnost chemické kontroly, ale choroba může být omezena použitím vyšších dávek nebo častější aplikací fungicidu. Úplnou ztrátu kontroly choroby může být způsobena až další selekcí v genetické výbavě patogena. Kvantitativní rezistence vzniká vůči multi-site fungicidům. Tento typ rezistence se také uvádí u rezistence k inhibitorům demethylace (DMI) (G1, FRAC 3).

Může dojít k tzv. **křížové rezistenci** – patogenní populace rezistentní vůči určitému fungicidu v rámci určité skupiny má velkou pravděpodobnost, že bude rezistentní i k jiným přípravkům téže skupiny. Pokud dojde k vývinu rezistence vůči jednomu fungicidu, poté ostatní přípravky, které se vyskytují v téže skupině pravděpodobně budou méně účinné nebo se stanou zcela neúčinné. Nicméně křížová rezistence může být i jen částečná a nové látky ze stejné skupiny mohou být více účinné než starší látky, u kterých byla zaznamenána rezistence. Mezi jednotlivými izoláty daného patogena se stupeň křížové rezistence liší. (Lebeda et al., 2017)

Aby se vyhnulo snížení rezistence fungicidů je potřeba dodržet následující:

- Použití nechemické metody IPM
- Nepoužívat 1 účinnou látku, ale například směs účinných látek
- Používání fungicidů s více mechanismy působení
- Použít fungicidy, když je to opravdu nutné
- Použití doporučené dávky fungicidu
- Dobré pokrytí rostliny postřikem
- Monitorování

(Vielba-Fernández et al., 2020)

Dle seznamu rizikových patogenních organismů klasifikace FRAC (FRAC Pathogen risk list 2020, tabulka 3) je u patogenů z čeledi Erysiphaceae (padlí) možnost nalézt druhy ve všech třech možných kategoriích:

- patogeny s nízkým rizikem,
- patogeny se středním rizikem
- patogeny s vysokým rizikem

Dle Brenta a Hollona (2007) lze fungicidy rozdělit dle výskytu rezistentních nebo tolerantních kmenů k danému druhu fungicidu do tří kategorií dle typu rizika na nízké, střední a vysoké riziko. (Lebeda et al., 2017)

Pokud se dají obě kategorie - riziko fungicidu a riziko patogena do vzájemného stavu, poté vyjde tzv. kombinace rizika (tabulka 4). (Lebeda et al., 2017)

Dle FRAC a The European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) jsou původci padlí dýňovitých (*Go* a *Px*) považovány za vysoce rizikové patogeny.

(Vielba-Fernández et al., 2020)

Tabulka 3: FRAC seznam patogenních organismů z čeledi Erysiphales, které jsou rezistentní k účinným fungicidním látkám, jenž jsou používány v ochraně vůči nim (Lebeda et al., 2017; upraveno FRAC list 2020)

MOA kód*	FRAC kód	ZPŮSOB ÚČINKU			
		Cílové místo působení, název chemické skupiny			
Kód**		Patogen***	Plodina	Literatura****	Poznámky*****
A		SYNTÉZA NUKLEOVÝCH KYSELIN			
A2	8	Adenosin-deamináza, hydroxy-(2amino)-pyrimidiny:			
		<i>Erysiphe graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>	Ječmen	Hollomon (1978)	pole
		<i>Podosphaera xanthii</i> (syn. <i>Sphaeroteca fuliginea</i>)	Tykvovitá zelenina	Scheppers (1984); O'Brien et al. (1988)	pole
B		MITÓZA A BUNĚČNÉ DĚLENÍ			
B1	1	Shlukování β -tubulinu při mitóze, Methylbenzimidazolové karbamáty = MBC fungicidy, methyl benzimidazole carbamates			
		<i>Erysiphe cichoracaerum</i>	Tykvovitá zelenina	Abelentsev a Savchenko (1980)	pole
		<i>Erysiphe graminis</i>	Obiloviny	Vargas (1973)	pole
		<i>Erysiphe necator</i>	Vinná réva	Naegler et al. (1977); Pearson (1980); Pearson a Taschenber (1980)	pole
		<i>Erysiphe polygoni</i>	Vigna čínská	Rodriguez a Melendez (1984)	pole
		<i>Leveillula taurica</i>	Rajče	Jones a Thompson (1982)	pole
		<i>Oidiopsis taurica</i>	Artičok		
		<i>Oidium begonia</i>	Begonie		
		<i>Podosphaera leucotricha</i>	Ovocné stromy	Suta a Radulescu (1986)	laboratoř
		<i>Golovinomyces orontii</i> , <i>Podosphaera xanthii</i>	Okurky	Sedláková a Lebeda (2008); Lebeda et al. (2010)	laboratoř ČR
		<i>Podosphaera xanthii</i> (syn. <i>Sphaeroteca fuliginea</i>)	Tykvovitá zelenina	Schroeder a Providenti (1971); Naegler et al. (1977), Lebeda et al. (2010)	pole
			Vigna	Rodriguez a Melendez (1984)	pole
			Vodní meloun	Keinath (2015)	pole
<i>Podosphaera macularis</i>	Okrasné rostliny	Iida (1975)	pole		
<i>Podosphaera pannosa</i>	Růže/Meruňka	Jarvis a Slibgsby (1975)	pole		

Tabulka 3 (pokračování)

B6	47	Kyanoakryláty: Aktin/Myosin/Fimbrin/Funkce			
		Aryl-fenyl-ketony: Aktin/Myosin/Fimbrin/Funkce			
		<i>Blumeria graminis</i>	Pšenice	Top Agrar, Dec. 2009, Felsenstein et al. 2010 (as above)	pole, Německo
C		DÝCHÁNÍ			
C2	7	Komplex II: inhibitory sukcinátdehydrogenázy - SDHI Succinate dehydrogenase inhibitors Complex II: succinate-dehydrogenase			
		<i>Podosphaera xanthii</i>	Tykvovitá zelenina	FRAC (2007)	pole
			Tykvovitá zelenina	<i>Lebeda et al. (2010)</i>	pole
			Vodní meloun	Miaymoto et al. (2010a)	pole (Japonsko, skleníky)
			Vodní meloun	<i>Keinath (2015)</i>	pole
C3	11	Komplex III: cytochrom bc1 (ubichinoloxidáza v poloze Qo), analogy strobilurinu/chinol. (QoI) - fungicidy, quione outside inhibitros			
		<i>Erysiphe graminis tritici</i>	Pšenice	Heaney et al. (2000); Sierotzki et al. (2000a)	pole mechanismus rezistence
		<i>Erysiphe graminis hordei</i>	Ječmen	Heaney et al. (2000)	pole
		<i>Podosphaera xanthii</i> (syn. <i>Podosphaera fusca</i>)	Okurka	Ishii et al. 2001; Fernandez-Ortuno et al. (2006) Fernandez-Ortuno et al. (2008)	pole mechanismus rezistence
		<i>Podosphaera xanthii</i> (syn. <i>Sphaeroteca fuliginea</i>)	Okurka	Heaney et al. (2000); Ishii et al. (2001)	pole
		<i>Podosphaera xanthii</i>	Vodní meloun	Keinath (2015)	pole
		<i>Podosphaera xanthii</i>	Tykvovitá zelenina	McGarth a Shiskoff (2003a,2003b)	pole
		<i>Golovinomyces orontii, Podosphaera xanthii</i>	Okurka	<i>Lebeda et al. (2010)</i>	pole
		<i>Podosphaera aphanis</i> var. <i>Aphanis</i>	Jahoda	Ishii (2008)	pole
		<i>Erysiphe necator</i>	Vinná réva	Wilcox et al. (2003)	pole
C5	29	Rozpojovače oxidační fosforylace			
		<i>Golovinomyces orontii, Podosphaera xanthii</i>	Okurka	<i>Sedláková a Lebeda (2008), Lebeda et al. (2010)</i>	laboratoř (ČR) posun v citlivosti

Tabulka 3 (pokračování)

E					
E1	13	TRANSDUKCE SIGNÁLU			
		Azanaftaleny. Transdukce signálu. Neznámý mechanismus působení			
		<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	Obiloviny	Genet a Jaworska (2009)	studium křížové rezistence (nalezena u <i>E. necator</i> nikoli u <i>B. graminis</i>)
		<i>Erysiphe necator</i>	Vinná réva		
		<i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>Hordei</i>	Ječmen	Hollomon et al. (1997)	mutace
<i>Podopshaera xanthii</i>	Tykvovitá zelenina	<i>Lebeda et al. (2010)</i>	pole		
G					
BIOSYNTÉZA STEROLU v MEMBRÁNÁCH (SBI FUNGICIDY)					
G1	3	C14-demetyláza v biosyntéze sterolu (erg11/cyp51), inhibitory demethylace = DMI - fungicidy (DeMethylation Inhibitors) SBI - třída I			
		<i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>Hordei</i>	Ječmen	Fletcher a Wolfe (1981)	pole
		<i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>Tritici</i>	Pšenice	De Waard et al. (1986)	pole
		<i>Erysiphe necator</i>	Vinná réva	Steva et al. (1990); Reidi a Steinkellner (1996); Miller a Gubler (2003)	pole
		<i>Podosphaera xanthii</i>	Okurka	Schepers (1983, 1985a, 1985b)	pole
			Tykvovitá zelenina	<i>Lebeda et al. (2010)</i>	pole
			Vodní meloun	<i>Keinath (2015)</i>	pole
		<i>Golovinomyces orontii</i> , <i>Podosphaera xanthii</i>	Okurka	<i>Sedláková a Lebeda (2008), Lebeda et al. (2010)</i>	laboratoř (ČR) posun v citlivosti
		<i>Podosphaera mors-uvae</i>	Černý rybíz	Goszcynski et al. (1988)	pole
<i>Podosphaera pannosa</i>	Nektarinka	Reuveni (2001)	pole		
G2	5	reduktáza a isomeráza v biosyntéze sterolu (erg24/erg2), aminy (morfoliny) - SBI třída II			
		<i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>Tritici</i>	Pšenice	Nepier et al. (2000)	posun v citlivosti
		<i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>Hordei</i>	Ječmen	Nepier et al. (2000)	posun v citlivosti
U					
LÁTKY S NEZNÁMÝM ZPŮSOBEM ÚČINKU					
U	U06	Fenylacetamidy			
		<i>Podosphaera xanthii</i>	Okurka	Hosokawa et al. (2006)	skleníky (Japonsko)
			Tykvovitá zelenina	<i>Lebeda et al. (2010)</i>	pole

*MoA (Mode of Action) – mechanismus působení

**kód cílového místa účinku (Target Site Code)

***názvosloví podle Braun a Cook (2012)

****citace z www.frac.info, FRAC List of first confirmed cases of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents (aktualizace: květen 2020)

*****poznámky: laboratoř – laboratorní pokusy, pole – komerčně ošetřované pole, polní pokusy – pokusy na limitované ploše

Ostatní citace (v tabulce *kurzívou*): (převzaty z Lebeda et al., 2017)

Keinath A. P. (2015): Efficacy of fungicides against powdery mildew on watermelon caused by *Podosphaera xanthii*. *Crop protection* 75: 70-76.

Lebeda A., Sedláková B., Pejchar M., Jeřábková H. (2010): Variation for fungicide resistance among cucurbit powdery mildew populations in the Czech republic. *Acta Horticulturae* 871: 465-475.

Sedláková B., Lebeda A. (2008): Fungicide resistance in Czech populations of cucurbit powdery mildews. *Phytoparasitica*, 36 (3): 272-289.

Tabulka 4: Diagram, který ilustruje interakce mezi rizikem používaných fungicidů na padlí a rizikem vzniku rezistence vybraných patogenů z řádu Erysiphales k danému fungicidu (podle Bent a Hollomon, 2007; FRAC, 2014, 2015; Lebeda et al., 2017; aktualizováno podle FRAC 2021)

Riziko fungicidu Chemická skupina	MoA*	FRAC code**	Riziko fungicidu (číselný kód)	Kombinace rizika*** (0,5-1,5 = nízké, 2,6 = střední, 9 = vysoké)		
Vysoké			vysoké = 3	3	6	9
MBC-fungicidy	B1	1				
N-fenylkarbamáty	B2	10				
QoI-fungicidy	C3	11				
SDHI-fungicidy	C2	7	střední → vysoké			
Střední			střední = 2	2	4	6
hydroxy-(2-amino)- pyrimidiny	A2	8				
AP-fungicidy (anilinpyrimidiny)	D1	9				
Azanaftaleny	E1	13				
DMI-fungicidy (SBI: třída I)	G1	3				
Fenylacetamidy	U	U06				
Arylfenylketony	B6	50				
Fosforothioláty aminy (SBI: třída III)	F2 G2	6 5	nízké → střední			
Nízké			nízké = 0,5 ^A	0,5	1	1,5
multi-site kontaktní	M	M1-M12				
Dinitrofenolkrotonáty	C5	29				
Thiazolidiny	U	U13				
				nízké = 1	střední = 2	vysoké = 3
				nízké	střední	vysoké
				<i>Podosphaera leucotricha</i>	<i>Erysiphe necator</i> ***** <i>Leiveilula taurica</i> <i>Podosphaera aphanis</i> var. <i>aphanis</i>	<i>Blumeria graminis</i> <i>G. orontii</i> <i>P. xanthii</i>

*MoA (Mode of Action) – mechanismus působení podle FRAC 2021

**kód cílového místa účinku (Target Site Code) podle FRAC 2021

^Arezistence není dosud známá

***barevně jsou zvýrazněny různé kombinace rizika, kdy jeho výsledná hodnota je dána součinem číselného kódu rizika fungicidu v příslušné kategorii (nízké, střední, vysoké) a daného číselného kódu rizika patogenu v dané kategorii (nízké, střední, vysoké)

****příklady patogenů z řádu Erysiphales s různým stupněm rizika vzniku rezistence k fungicidům (podle EPPO, 2012; FRAC, 2014; Russell, 2014)

*****zařazení podle FRAC Pathogen list 2014 v kontrastu s doporučením EPPO (2012), kde je *E. necator* řazen mezi vysoce rizikové patogeny

3.2.2. Rezistence padlí dýňovitých vůči fungicidům v České republice

Problémem rezistence padlí dýňovitých v České republice se od roku 2001 intenzivně zabýval tým prof. Lebedy a Dr. Sedlákové z katedry botaniky PřF UPOL. A také byly součástí několika bakalářských nebo diplomových prací obhájených studenty na tomto pracovišti, například o Hanu Jeřábkovou (DP 2010), Romana Paulíka (BP 2011 a DP 2014) a Martina Šrajbra (DP 2017).

Vznik rezistentních kmenů vůči některým účinným látkám byl opakovaně prokázán u obou původců padlí dýňovitých (*P. xanthii* a *G. oronhii*). (Sedláková a Lebeda, 2008) Důležitou roli tedy hraje i monitorování účinnosti fungicidů v populacích padlí. (Lebeda et al., 2017)

Při dlouhodobé studii (2001-2007), která byla provedena na populaci padlí dýňovitých v ČR byly testovány účinné látky fenarimol, dinocap, benomyl, thiophanát-methyl, azoxystrobin. K testování byla použita modifikovaná metoda listových disků podle Lebedy et al., 2017 a Sedlákové a Lebedy, 2008). Během výzkumu bylo zjištěno, že nejvíce účinný fungicid pro populaci padlá dýňovitých v ČR je fenarimol. Fenarimol patří do skupiny DMI inhibitorů demethylace (FRAC 3), patří mezi single-site inhibitory, u nichž se jedná o kvantitativní typ rezistence. (Lebeda et al. 2010) Další studii provedla Jeřábková H. na souboru izolátů padlí dýňovitých z let 2007-2008, kdy fenarimol byl rovněž vysoce účinný. Ke stejnému závěru došel i Roman Paulík při studii na souboru izolátů z roku 2009 a 2010-2011. Výskyt kmenů Px, vykazující rezistenci k fenarimolu byla zaznamenána i z jiných zemí, např. z Řecka, Španělska, Izraele a Japonska, Austrálie a Nizozemska. (Jeřábková, 2010; Lebeda et al. 2010; Lebeda et al., 2017; Paulík, 2011 a 2014; Sedláková a Lebeda, 2008)

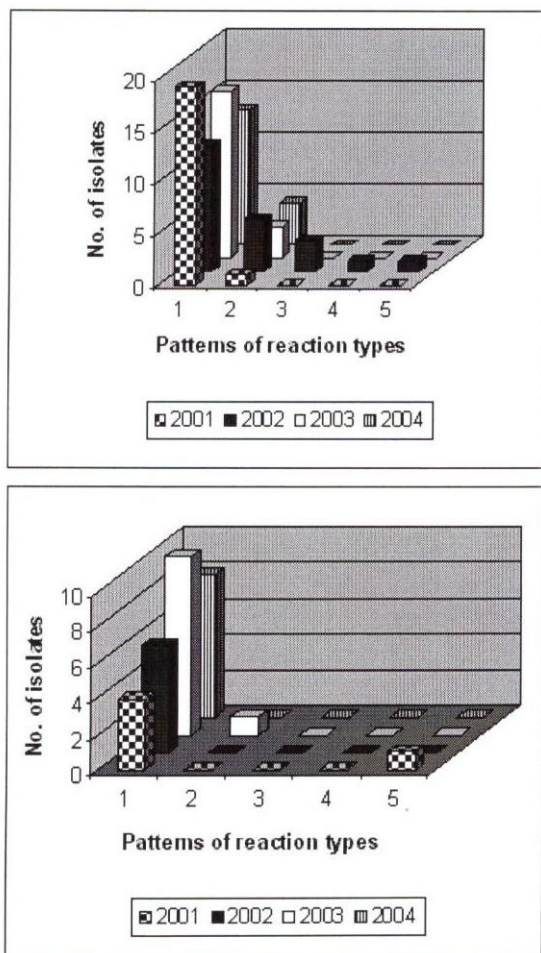


Fig. 2. A (upper). Effectiveness of fenarimol against *Golovinomyces cichoracearum* isolates from the years 2001–2004. B (lower). Effectiveness of fenarimol against *Podosphaera xanthii* isolates from the years 2001–2004.

Obrázek 1: Účinnost fenarimolu vůči izolátům *Golovinomyces cichoracearum* (A) a *Podosphaera xanthii* (B) z let 2001-2004. (převzato z Sedláková a Lebeda, 2008)

Další účinnou látkou, která byla během sedmileté studie zkoumána byl dinocap ze skupiny C5, rozpojovače oxidativní fosforylace (uncouplers of oxidative phosphorylation) (FRAC 29). Jedná se o multi-site fungicidy s kontaktním účinkem a menším rizikem vzniku rezistence. Dinocap v letech 2001-2004 vykazoval snižující účinnost, kdy některé izoláty *Go* i *Px* vykazovaly středně rezistentní reakci na nižších koncentracích. (Sedláková a Lebeda, 2008). V letech 2005-2008 byl dinocap vysoce účinný, ale ojediněle se vyskytovaly izoláty se středně rezistentní reakcí na nižších koncentracích. (Lebeda et al., 2010 a Jeřábková 2010) Podobnému závěru došli také Paulík u izolátů z roků 2009-2011 a Šrajbr u izolátů z let 2014-2015. Avšak u některých izolátů z roku 2015 upozornil na možný vznik rezistence. (Šrajbr, 2017) V podmínkách ČR je dinocap stále považován za vysoce účinný, což bylo

potvrzeno také v Holandsku, Indii, Jižním Španělsku, Taiwanu i Japonsku. Celosvětových zmínek o rezistenci *Px* k dinocapu existuje velmi málo, pouze z jihu Španělska, Tchajwanu a Japonska. (Jeřábková 2010; Lebeda et al. 2010; Lebeda et al., 2017; Paulík 2011 a 2014; Sedláková a Lebeda, 2008; Šrajbr 2017)

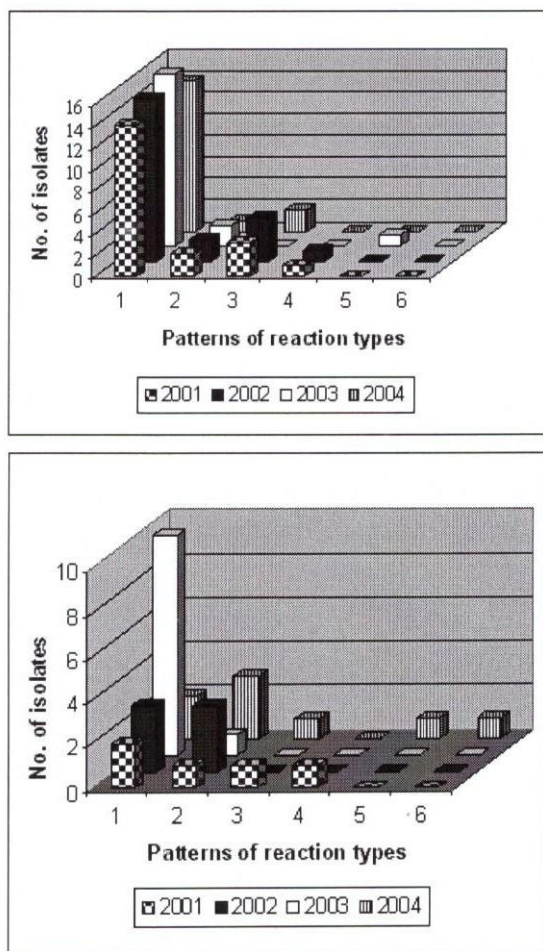


Fig. 3. A (upper). Effectiveness of dinocap against *Golovinomyces cichoracearum* isolates from the years 2001–2004. B (lower). Effectiveness of dinocap against *Podosphaera xanthii* isolates from the years 2001–2004.

Obrázek 2: Účinnost dinocapu vůči izolátům *Golovinomyces cichoracearum* (A) a *Podosphaera xanthii* (B) z let 2001-2004. (převzato z Sedláková a Lebeda, 2008)

Dalšími účinnými látkami testovanými během let 2001-2007 byly benomyl a thiphanát-methyl ze skupiny MBC (methyl benzimidazolkarbamáty) (FRAC 1). Tyto fungicidy patří mezi single-site inhibitory, mají vysoké riziko vzniku rezistence, jedná se o kvalitativní typ rezistence. Oba se ukázali jako neúčinné. (Sedláková a Lebeda, 2008; Lebeda et al., 2010) Tento fakt potvrdila i studie Jeřábkové u izolátů z roku 2008, v případě thiphanát-methylu

a rovněž Paulík u izolátů 2009-2011. Registrace benomyly byla již v roce 2004 zrušena. (Jeřábková, 2010; Lebeda et al. 2010; Lebeda et al., 2017, Paulík, 2011 a 2014; Sedláková a Lebeda, 2008)

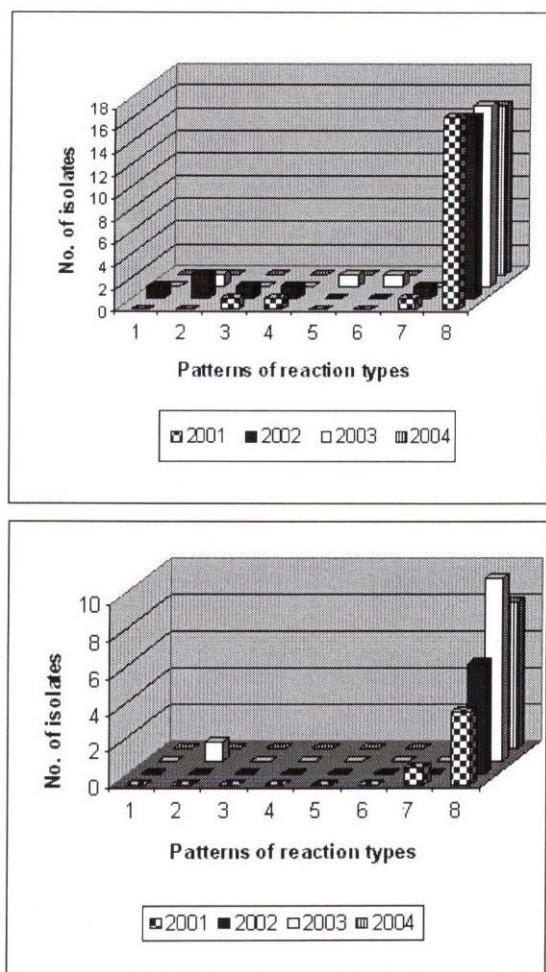


Fig. 4. A (upper). Effectiveness of benomyl against *Golovinomyces cichoracearum* isolates from the years 2001–2004. B (lower). Effectiveness of benomyl against *Podosphaera xanthii* isolates from the years 2001–2004.

Obrázek 3: Účinnost benomyly vůči izolátům *Golovinomyces cichoracearum* (A) a *Podosphaera xanthii* (B) z let 2001-2004. (převzato z Sedláková a Lebeda, 2008)

Posledním testovanou účinnou látkou byl azoxystrobin. Azoxystrobin ze skupiny QoI strobilurinových fungicidů (FRAC 11), které patří mezi single-site inhibitory a typem rezistence je kvalitativní. Azoxystrobin vykazoval snižující účinnost v letech 2007-2008 především pro druh *Go*, naopak pro *Px* byl zaznamenán posun směrem k větší citlivosti. Snižující se účinnost potvrdil také Paulík v letech 2009-2011 a velmi nízkou účinností Šrajbr v letech 2014-2015. Ukázalo se tedy, že azoxystrobin není vhodným prostředkem v ochraně

padlí dýňovitých v ČR. Rezistence k azoxystrobinu je jednou z nejčastěji zmiňovaných rezistencí u padlí dýňovitých ve světě, např. Východní Asii a Středomoří, Velké Británie, Japonska, USA, Španělska. (Jeřábková 2010; Lebeda et al. 2010; Lebeda et al., 2017; Paulík 2011 a 2014; Šrajbr 2017)

3.3. Integrovaná ochrana rostlin

Globální zemědělství je v ochraně rostlin velmi závislé na pesticidech, které mají negativní vliv na životní prostředí. Zmírnění negativního dopadu na životní prostředí je možné omezením jejich aplikace, nechemickou alternativou a podporou principů Integrované ochrany rostlin (IPM) v zemědělství. (Strassemeyer et al., 2017) Koncept IPM vznikl již v roce 1970 prostřednictvím ekologického hnutí. (National Institute of Food and Agriculture) Programy IPM využívají aktuální informace o škůdcích, jejich životních cyklech a interakci s životním prostředím. Přístupy IPM mohou být aplikovány na zemědělské i nezemědělské prostředí. (United States of Environmental Protection Agency) Jejich cílem je zlepšit ochranu rostlin s minimálními vlivy na životní prostředí. Základní strategií IPM je minimalizace používání pesticidů, pouze pokud je to nezbytně nutné nebo v kombinaci s jiným přístupem kontroly škůdce. (Caffi et al., 2017) IPM doporučuje prevenci a potlačení škodlivých organismů, například střídáním plodin a dalších preventivních agronomických strategií, které mohou vést ke snížení ohnisek škůdců a potřebu ochrany rostlin. (Furlan et al., 2017)

Politika EU je zaměřena na významné snížení používání pesticidů v blízké budoucnosti. Vznikla řada právních předpisů, jejichž cílem je zákaz nebo omezení používání konvenčních pesticidů, zejména v EU. Velké množství dříve používaných konvenčních pesticidů již není na evropském trhu dostupných, což vedlo k tomu, že mnozí pěstitelé přechází na alternativu v ochraně jejich plodin. (Bruce et al., 2017; Lamichhane, 2017) Od 1. ledna 2014 jsou zásady IPM ve směrnici EU o udržitelném používání pesticidů (2009/128 / ES) povinné pro všechny profesionální uživatele pesticidů v evropských členských státech. Nicméně, přijetí pokynů IPM je v Evropě dobrovolné. (Vasileiadis V. P. et al., 2017a) Systémy IPM vyžadují větší zapojení pracovní síly, a to vede k vyšší zaměstnanosti. Také je snaha o zvyšování znalostí zemědělců o udržitelném používání pesticidů a snaha o větší přijetí IPM pěstiteli. (Vasileiadis et al., 2017b, Buurma a Van der Velden, 2017) Podnikatelé mají různé finanční možnosti, někteří mohou investovat do pěstování, někteří nikoli. (Buurma a Van der Velden, 2017). V České republice vstoupila v platnost v roce 2014 vyhláška č. 205/2012 Sb. o obecných zásadách integrované ochrany rostlin. Díky této vyhlášce by zemědělci měli v praxi využívat

obecné zásady IPM. Zároveň je zde možnost uložení sankce, pokud by bylo prokázáno jejich neplnění. (ÚKZÚZ, 2020)

Navrhování a testování řešení IPM bylo úkolem PURE (Pesticide Use-and-risk Reduction in European farming systems with Integrated Pest Management). Jednalo se o první IPM projekt financovaný Evropskou Unií. (Lescourret, 2017; Lamichhane et al., 2017) Tento projekt kladl důraz na potřebu inovací v oblasti ochrany plodin. PURE poskytoval řešení IPM a praktický soubor nástrojů, aby mohly být provedeny v klíčových evropských zemědělských systémech (roční orná půda a zelenina, chráněné plodiny a trvalé plodiny). Pro každý vybraný systém PURE kombinoval stávající metodu s novými nástroji nebo technologiemi. Nová řešení IPM jsou zaměřena na biologickou, agronomickou a ekologickou rozmanitost v Evropě. (CORDIS: EU research results) V průběhu jeho čtyřletého období mezi lety 2011 až 2015 projekt navrhl, otestoval a posoudil inovativní řešení v široké škále pěstování plodin a zmobilizoval 310 vědců ze 23 institucí napříč deseti evropskými zeměmi. (Lamichhane et al., 2017, Lescourret, 2017) PURE také vyvinul modely a metody, které by mohly pomoci předpovědět poškození škůdcem nebo navrhnout strategii ochrany proti škůdci. Výsledky PURE by mohly pomoci ke snížení užívání pesticidů v Evropě. (Lescourret, 2017)

Pro hodnocení udržitelnosti IPM lze využít model DeXiPM. Jedná se o nástroj, který hodnotí udržitelnost IPM pomocí vícekritérií. Byl zaveden společností ENDURE a přizpůsobený PURE ke všem studovaným zemědělským systémům. (Lescourret, 2017) Uživatelé DeXiPM jsou výzkumní pracovníci a poradci, kteří se podílejí na inovativním systému pěstování plodin založené na IPM. (Angevin et al., 2017)

Holb et al. 2017 v rámci výzkumu srovnával různé přístupy (conventional, standard and advanced Integrated Pest management – CON (konvenční), IPM1 (standardní integrovaná ochrana), IPM2 (pokročilá integrovaná ochrana) u chorob jablek (strupovitosti a padlí, jejíž původci jsou *Venturia inaequalis* a *Podosphaera leucotricha*). CON - používá obecně platné konvenční postupy pro hubení škůdců. IPM1 používá obecně aplikovanou integrovanou ochrany v praxi proti škůdcům. IPM2 používá pokročilou integrace známých nechemických postupů. Celkový výnos jablek se u těchto tří postupů moc nelišil. Množství ovoce první třídy však bylo nejvyšší v CON a IPM1, které byly výrazně vyšší než v IPM2. Množství ovoce druhé třídy bylo nejvyšší v IPM2, označující nižší kvalitu ovoce v IPM2 než v CON nebo IPM1. Výsledky výzkumu IPM1 by mohly být využity pro pěstování jablek. (Holb et al., 2017)

3.3.1. „Zelená dohoda“

Evropskou komisí byla přijata tzv. Zelená dohoda (The European Green Deal), jejíž cíl je, aby se Evropa do roku 2050 stala prvním klimaticky neutrálním kontinentem. (Salava, 2021; Vrliška, 2020) EU slibuje snížit emise skleníkových plynů, reformu lesnictví, dopravy, zemědělství, podporu obnovitelných zdrojů energie a rozsáhlejší recyklaci. (Vrliška, 2020) Téměř čtvrtina veškerých zemědělských ploch by do roku 2030 měla být obhospodařována ekologicky. Plánují snížit používání umělých hnojiv o 20 % a pesticidů o 50 %. Avšak tyto cíle se týkají pouze území Evropy, nikoli jejich obchodních partnerů. Avšak do Evropy se miliony tun potravin ročně dováží, a to ze zemí, kde právní předpisy týkající se životního prostředí nejsou tak přísné jako v Evropě. Každý stát si udržitelnost zemědělství definuje jinak. Vědci z KIT (Karlsruhe Institute of Technology) v Německu, tvrdí, že tato dohoda může být pro planetu špatná. Kvůli dovozu by tak EU poškodila planetu na jiném místě na zemi. Vědci doporučují, aby se omezilo používání hnojiv, pesticidů, zabránilo odlesňování a došlo k harmonizaci standardy udržitelnosti. Avšak EU nemůže své normy zavádět do jiných zemí, může pouze požadovat, aby produkty, které budou na evropský trh dováženy splňovaly určité požadavky EU. (Salava, 2021)

3.4. Biologické a jiné metody ochrany vůči padlí

Zástupci řádu Erysiphales jsou velmi rozmanitou a druhově bohatou skupinou hub. Tato skupina hub je velmi variabilní. Z tohoto důvodu nelze předpokládat, že účinnou ochranu vůči všem zástupcům tohoto řádu poskytne pouze jeden nebo několik fungicidů a jedna metoda. Z tohoto důvodu je věnována velká pozornost biologickým prostředkům, resp. metodám ochrany vůči těmto patogenům. (Lebeda et al., 2017)

Biologická ochrana je soubor technologií, postupů a principů, které jsou zaměřeny na využívání přírodních nebo přirozených mechanismů v ochraně rostlin. Vědní obor zabývající se problematikou biologické ochrany vznikl v 1. polovině 20. století. (Bleša et al. 2020) Termín "biocontrol", který se používá v rostlinné patologii, zahrnuje použití antagonistického mikroorganismu k potlačení chorob rostlin. Také použití druhově specifických patogenů na redukci plevele. (Moyer, 2007; Bleša et al., 2020) Organismy, které potlačují škůdce nebo rostlinné patogeny jsou označovány jako činidla biologické kontroly (BCA). (Moyer, 2007) „Biocontrol agent“, případně „bioagens“ (BCA) - organismus potlačující škůdce nebo patogen, v širším pojetí lze tak označit i jakýkoliv produkt metabolismu zahrnující i jeho fermentovanou podobu. (Bleša et. al., 2020). Biocontrol agents

snižují pravděpodobnost vzniku rezistence patogenů k těmto činitelům. (Gafni et al., 2015) Mechanismy zapojené do biologické kontroly zahrnují antibiόzu, konkurenci, křížovou ochranu a parazitismus. BCA byly použity pro kontrolu padlí. (Moyer, 2007) Hlavním omezením BCA je jejich požadavek na vysokou vlhkost (Moyer, 2007) a náklady na jeho výrobu, jenž mnohdy převyšují zájem na trhu. (Ruocco et al., 2011; Blum et al., 2011) Další nevýhodou biologických činidel je, že některé nejsou dostatečně stabilní a mají krátkou dobu účinnosti. Je snaha o prodloužení jejich účinnosti, ale zároveň je kladen důraz na to, aby byly šetrné k životnímu prostředí. (Ruocco et al., 2011)

Funkce biologické ochrany je v inhibici růstu, snižování množství infekčních částic, omezení rozmnožování a šíření jednoho organismu (patogenu) druhým (bioagens). Působí zde produkce metabolitů, indukce rezistence hostitele, ale také vnášení avirulentních, inkompatibilních nebo nepatogenních mikroorganismů. (Bleša et al., 2020)

Metody ochrany, které lze považovat za biologické, jsou takové, u kterých by měla být látka šetrná k životnímu prostředí, nebo by se mělo jednat o látku biologického původu a měly by být alternativou k chemické ochraně. (Lebeda et al., 2017; Bleša et al., 2020) Díky tomu je biologická ochrana kladně přijímána veřejností. Nicméně produkty zemědělství, u kterých byly použity biologické přípravky ještě společností přijaty nejsou. Biologická ochrana působí systémově a nespecificky. (Bleša et al., 2020) Biologická ochrana je součástí IPM a lze do ní zařadit i agrotechnické postupy, jako např. rotace plodin, výsadba odolných kultivarů, setí apod. (Bleša et al., 2020)

Dva hlavní způsoby ochrany rostlin vůči patogenům, které se týkají živých organismů:

- 1) vnášení nepůvodních organismů, podpora složek přirozené populace bioagens
- 2) rozdělení na biologicky aktivní látky, redukce škůdců pomocí bezobratlých a obratlovců, a bioagens (houby a bakterie)

Biologicky aktivní látky jsou látky, jenž vznikly působením živých organismů, rostlin nebo mikroorganismů, jsou to tedy sekundární metabolity nebo produkty fermentace. V přípravcích bývají obsaženy silice a specifické látky. Aplikace může být např. postřiky nebo prášky, pasty. Patří sem i feromonové lapače, leповé desky, které jsou pokryty atraktanty. (Bleša et al., 2020)

Dle typů lze biologicky aktivní látky rozdělit na: saponiny, alkaloidy, terpeny, fenoly, peptidy, trísloviny, ad. (Bleša et al., 2020)

Pro kontrolu padlí byly vyrobeny tzv. biofungicidy, které jsou více šetrné k životnímu prostředí. Jejich účinnou látkou je mikroorganismus (nebo jeho derivát) nebo biochemický produkt získaný ze zvířat, rostlin, bakterií a některých minerálů. Jsou úzkospektrální, rychle se rozkládají, díky tomu mají krátkou trvanlivost. mají menší dopad na životní prostředí. Tyto produkty mohou přímo ovlivnit houbové organismy nebo mohou vést ke stimulaci vlastní obrany rostliny. Nejsou často vyvinuty jako komerční fungicidy. (Pertot et al., 2017a)

Na účinnost biofungicidů má vliv doba použití, přírodní podmínky, ve kterých je daný biofungicid využit. Na živé organismy má vliv teplota a UV světlo. Obvyklá aplikace měla ve večerních hodinách nebo během období s mírnými teplotami. Důležitá je koncentrace a rovnoměrnost postřiku. Avšak jsou méně efektivní než některé chemikálie. (Pertot et al., 2017a)

Příklady látek přírodního a biologického původu a živých organismů používaných jako prostředky biologické kontroly jsou zobrazeny v tabulce 4. V následujících podkapitolách budou podrobně rozebrány skupiny vybraných účinných látek z této tabulky.

Tabulka 5: Přehled látek přírodního a biologického původu, které se používají jako prostředky biologické kontroly vůči patogenním organismům z čeledi Erysiphaceae. (převzato z Lebeda et al., 2017)

Účinná látka	Způsob účinku*	Literatura
Anorganické produkty		
Hydrogenuhlíčan draselný	F	Millig et al. (2012); Reuveni et al. (1995)
Hydrogenuhlíčan sodný	F	Horst et al. (2012)
Křemík v rozpustné formě	IR	Bélenger et al. (2003); Datnoff et al. (2006)
^a Síran hlinitý tetradekahydrát + látky rostlinného/houbového původu	IR	Kloutvorová et al. (2011)
Vápenaté mléko nebo jíl	Fyzikální IR	Marco et al. (2011)
Vodný roztok draselných solí (K ₂ HPO ₄ , KHPO ₄ , KOH, KNO ₃) a sodných solí (NaHCO ₃)	IR	Reuveni et al. (1995, 1996)
Organické produkty (syntetické/přírodní)		
Parafínový olej	PR	Martin et al. (2005)
Detergenty	PR/F	Cohen et al. (1996)
Benzothiadiazol (BTH)	IR	Faoro et al. (2008); Luo et al. (2013); Salmeron et al. (2002)
Antitranspirant	PR	Clement et al. (1994)
Mléko		
Mléko a syrovátka	F/IR	Bettioli et al. (2008)
Oleje		
Azadirachtinový olej	F	Caldwell et al. (2013)
Pomerančový olej lisovaný za studena a bór (ethanolamin boritý / 2 % rozpustného bóru)	Vedlejší účinek přírodních terpenů pomerančového oleje – IR	www stránky společnosti BIOCONT LABORATORY, spol. s.r.o.
Směs výtažků a olejů fenyklu	F	
Rostlinné extrakty		
Extrakt ze semen tropické rostliny <i>Azadirachta indica</i>	IR	Pasini et al. (1997)
	F	

Tabulka 4 (pokračování)

<i>Reynoutria sachaliensis</i>	IR	Konstantinidou-Doltsinsis et al. (2006)
^a Suchý přesličkový extrakt + suchý šalvějový extrakt + komplex dalších látek	IR	www stránky výrobce produktu; Kloutvorová et al. (2011)
Extrakt z kompostu		
Extrakt z vermikompostu kalifornských žížal (pomocný rostlinný prostředek)	IR	www stránky společnosti BIOCONT LABORATORY, spol. s.r.o.
Živé organismy (biologické)		
Bakterie		
<i>Bacillus</i> spp. BS061	F	Young-Sook et al. (2013)
<i>Streptomyces lydicus</i>	F/P/PA/IR	Caldwell et al. (2013)
Houby		
<i>Acremonium</i> spp.	P?	Kiss (2003)
<i>Ampleomyces quisqualis</i>	P	Angeli et al. (2013)
<i>Cladosporium</i> spp.	P	Kiss (2003)
Deaktivované sušené kvasnice + komplex dalších látek	IR	Kloutvorová et al. (2011)
<i>Pseudozyma aphidis</i> kmen L12	P/A	Gafni et al. (2015)
<i>Pseudozyma regulosa</i>	A	Verhaar et al. (1996)
<i>Pythium oligandrum</i> (oospory)	P/IR/RS	Meszka a Bielenin (2010)
<i>Tilletiopsis</i> spp.	A/PA ^b	Ng et al. (1997); ^b Urquartha Punja (2002)
<i>Trichoderma</i> spp.	P/A ^e /IR ^f	^e Elad et al. (1988); ^f Elad (2000); Lorito et al. (2010)
<i>Verticillium lecanii</i> (suspenze spor) s přídavkem araširového oleje	P/A	Verhaar et al. (1999)
Členovci		
<i>Orthyotrydeus lambi</i>	P	English-Loeb et al. (2007)

*Způsob účinku: A – antibióza, F – fungicidní, IR – indukovaná rezistence, P – parazitismus, PA – produkce antibiotik, PR – protektivní, RS – růstový stimulant

3.4.1. Popis vybraných účinných látek

Následující text se vztahuje k vybraným účinným látkám z předchozí tabulky 4.

Anorganické produkty

Hydrogenuhlíčan draselný, Hydrogenuhlíčan sodný

Hydrogenuhlíčan draselný je šetrný k životnímu prostředí, jedná se o fungicid, který lze použít na ochranu vůči padlí. (Lebeda et al., 2017; Heilig et al., 2011; Moyer, 2007) Při použití hydrogenuhlíchanu draselného je nutné dodržet určité množství, jinak by mohlo dojít k fytotoxicitě. V kombinaci s oleji byla prokázána lepší účinnost proti padlí. (Caldwell et al., 2013) Ostatní produkty hydrogenuhlíchanu, jako je hydrogenuhlíčan sodný (NaHCO_3) lze použít proti padlí vinné révy, manga, nektarinky a růže. (Moyer, 2007). Zmínka o použití jedlé sody jako fungicidu byla popsána již v roce 1933 Alfredem Hottesem, kde byla jedlá soda použita na kontrolu padlí u popínavých růží. Nápad autor připisuje ruskému rostlinnému patologovi A. de Yaczenskiému. Při použití těchto účinných látek, dochází k tomu, že iont draslíku nebo sodíku naruší rovnováhu v buňce houby, protože dojde ke zřícení buněčných stěn. (Caldwell et al., 2013)

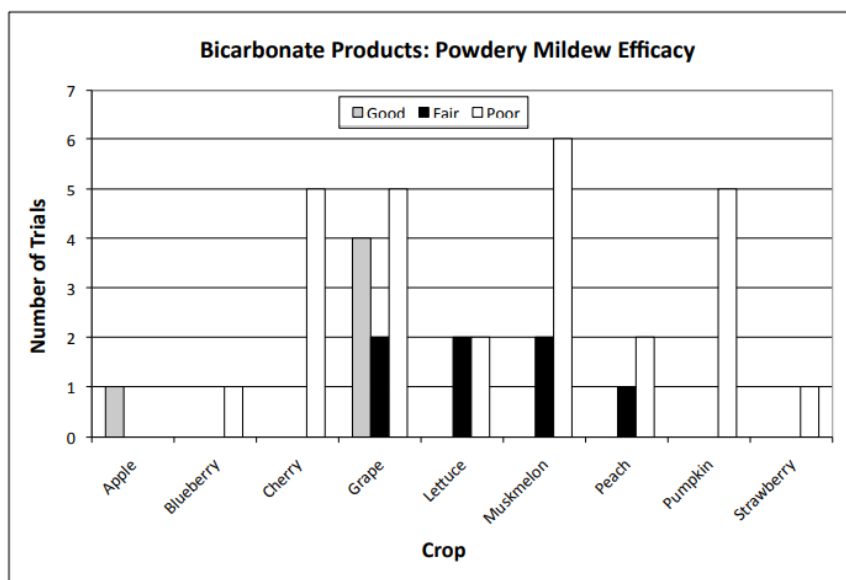


Figure 1. Efficacy of bicarbonates against powdery mildew in different crops.

Obrázek 4: Účinnost bikarbonátů vůči padlí na různých plodinách (převzato z Caldwell et al., 2013)

Organické produkty (syntetické/přírodní)

Oleje

Rostlinné oleje potlačují některá houbová onemocnění, zejména padlí. Mohou také zvýšit odolnost hostitelských rostlin. Často se přidávají k jiným pesticidním produktům, aby se zlepšila jejich účinnost. Rostlinné oleje jsou chemicky klasifikovány jako lipidy obsahující uhlovodíky s dlouhým řetězcem. Lipidy zahrnují mastné kyseliny, některé alkoholy, glyceridy a steroly. Chemické a fyzikální vlastnosti jsou do určité míry určeny strukturou mastných kyselin. Rostlinné oleje jsou primárně získávány ze semen. (Caldwell et al., 2013) Jsou efektivní při kontrole vůči padlí. (Moyer, 2007) Kvůli možné fytotoxicitě je nutné postupovat podle doporučení na štítku, aby byla minimalizována fytotoxicita. Oleje, které se vypařují pomalu, mají větší pravděpodobnost fytotoxicity. Z toho důvodu se aplikace olejů nedoporučuje ve velmi vlhkých dnech. Negativní účinek rostlinných olejů na životní prostředí není známý, také jsou šetrné pro pracovníky, kteří s nimi manipulují, a proto je známá dlouhá historie jejich použití na ovocných sadech. (Caldwell et al., 2013)

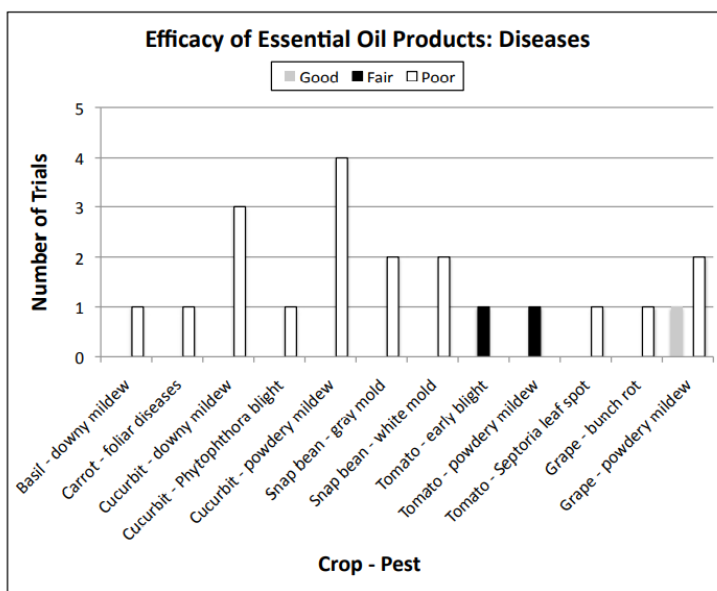


Figure 5. Efficacy of essential oil products against plant diseases.

Obrázek 5: Účinnost esenciálních olejů vůči chorobám rostlin

Saponiny a esenciální oleje jsou látky získávané nebo odvozené z rostlin. **Saponiny** jsou sekundární metabolity a mají velkou strukturní a funkční rozmanitost, byla u nich prokázána antimikrobní, antiparazitické a insekticidní účinnost. **Esenciální oleje** se nachází v siličných nebo žláznatých trichomech. Jsou tvořeny směsí diterpenů, fenolů, monoterpenů a seskviterpenů. Obsahují 1-3 látky, které převažují a jsou pro daný rostlinný druh typické. (Bleša D. et. al., 2020) Esenciální oleje mají jiný mechanismus působení. Jsou to též oleje vyskytující se v některých rostlinách, jsou silné aromatické a dodávají rostlině výraznou chuť nebo vůni. Při pokojové teplotě jsou kapalné, při vyšší přechází do plynného skupenství. Produkty esenciálních olejů jsou směsí dvou nebo více esenciálních olejů, mnohdy se jedná o rozmarýn, mátu peprná, hřebíček nebo tymiánové oleje. Obvykle se spíše, než ze semen lisují z listů, stonků nebo květů. Mechanismus účinku proti houbovým patogenům není znám, ale může souviset s obecnou schopností esenciálního oleje narušit integritu buněčných stěn a membrán. (Caldwell et al. 2013)

V následujícím textu budou uvedeny příklady olejů, které lze k biologické kontrole použít.

Fenyklový olej je fungicid, používán v prostředcích proti padlí, například zástupcům těchto rodů: *Oidium spp.*, *Sphaerotheca spp.*, *Erysiphe*, *Podosphaera spp.*, *Leveillula taurica*. Aplikuje se na tyto plodiny: dýně, rajče, maliny, ostružiny, okurky, squash, lilek, jahody, réva. Působí na buněčnou membránu hub. (Gwynn, 2014)

Tymiánový olej (thymol) je fungicid, který se používá proti *Botrytis spp.*, běžně se vyskytuje v přírodě, používá se na vinnou révu, má kontaktní účinek. Narušuje buněčné stěny, membrány nebo orgány nežádoucímu organismu. (Gwynn, 2014)

Ozonizovaný slunečnicový olej (oleozon) je účinným prostředkem proti padlí napadající okurky a ostatní dýňovitou zeleninu. Ozonizované nenasycené mastné kyseliny přítomné v triglyceridech rostlinných olejů mají antibakteriální, fungicidní, antivirové a regenerační vlastnosti. Slunečnicový olej obsahuje kyselinu linolovou (48%-74%) a kyselinu olejovou (14% - 39%). Oleozon může být obohacen o okysličené produkty (ozonidy, hydroperoxydy, aldehydy, peroxydy, diperoxydy a polyperoxydy), které působí na patogenní mikroorganismy bez negativního vlivu na člověka. Mohl by být dobrou alternativou v ochraně plodin. Má řadu dobrých vlastností jako například nízkou cenu, dobrou stabilitu a dosud nebyla zaznamenána žádná rezistence patogenních kmenů vůči němu. Jeho účinky závisí na použité dávce. Oleozon byl zkoušen na patogenu *Podosphaera xanthii*, jednom z původců padlí dýňovitých. Klíčící konidie, hyfy a konidiofory patogenu byly oleozonem poškozeny. Na okurce nebyl

pozorován fytotoxický účinek a neměl vliv na růst a vývoj okurek. Výsledky výzkumu ukázaly, že slunečnicový olej má nižší účinnost vůči padlí než oleozon. Léčebné účinky oleozonu se zvyšovaly s jeho koncentrací. Oleozon byl účinnější než triadimefon (G1, FRAC 3). (Ma et al. 2017)

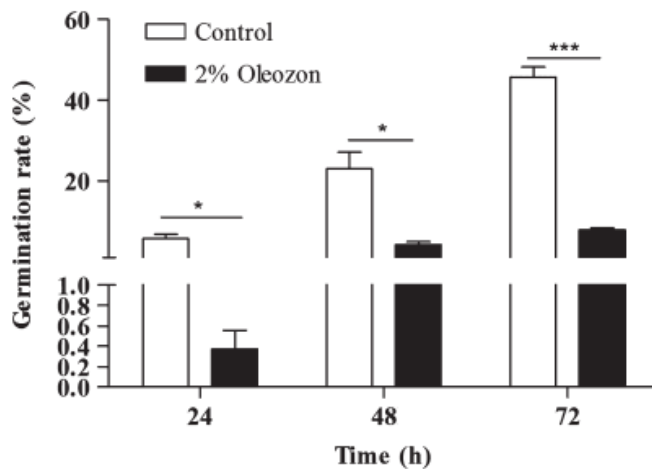


FIGURE 1 Inhibition effects of 2% oleozon on the spore germination of *P. xanthii*. First, 2% oleozon (■) was sprayed on the upper surface of each plant, and fresh conidial suspensions of *P. xanthii* were inoculated on the treated seedlings. Distilled water was used as a control (□). Spore germination rates were calculated at 24, 48 and 72 hr after inoculation. Spores were considered to have germinated when a germ tube was observed. Three experiments replicated three times represent each value. Error bars indicate the SEM. Compared with the water spray, * $p < .05$; *** $p < .001$

Obrázek 6: Inhibiční účinek 2% oleozonu na klíčení spor *P. xanthii* (převzato z Ma et al., 2017)

Pomerančový olej působí fungicidně, je získáván z citrusové rostliny (*Citrus aurantium*), působí proti padlí (*Oidium spp.*) na zelenině. (Gwynn R. L., 2014)

Proti padlí lze použít i **pongamový olej**, jedná se o olej získaný ze semene indického stromu *Pongamia pinnata* (kaleda lysá), šetrným listováním za studena. Tento olej se používá proti houbovým chorobám, jako je padlí na angreštu, rybízu, plíseň šedá na révě. Aplikuje se formou postřiku nebo rosení. Zvyšuje odolnost a obranyschopnost rostlin. (Agronatura.cz)

Rostlinné extrakty

Botanicals jsou rostlinné látky, které vznikly jednoduchým zpracováním rostlin, lisováním nebo extrakcí, jedná se např. o tyto látky: **kyselinu giberelovou a gibberelin**, působí na růst rostlin stejně jako **mátový olej** a **extrakt z mořských řas (laminarin)**. **Fytohormon ethylen** se přirozeně vyskytuje v rostlinách a v půdě. Mezi botanicals lze zařadit i **karvon (carvone)**, což je terpen, který je produkován aromatickými rostlinami, zejména mátou. V rostlinné ochraně má uplatnění jako regulátor růstu. (Heilig, 2011).

Extrakt semen tropické rostliny *Azadirachta indica* se získává tzv. **neem oil**. Používá se jako fungicid, akaricid, insekticid. *Azadirachta* pochází z Indie, Pákistánu, Bangladéše. Působí proti molícím, roztočům a houbovým chorobám např. *Botrytis spp.*, *Erysiphales* (padlí), *Peronosporaceae*, *Mycosphaerella citri*, *Pucciniales*, *Colletatrichum acutatum*, *Alternaria spp.* Lze použít na velké množství plodin. (Gwynn, 2014; Caldwell et al., 2013)

Extrakt z *Reynoutria sachalinensis* (křídlatky sachalinské) působí fungicidně a lze jej použít proti padlí, *Botrytis spp.*, a dalším chorobám. Používá se na okurku, meloun, rajče, pepř, révu. Funguje tak, že zvyšuje obranyschopnost rostliny, posiluje buněčné stěny a tím se stává rostlina odolnější vůči chorobám. (Gwynn, 2014) Ve Švédsku se využívá proti padlí dýňovitých (*P. xanthii* a *Golovinomyces oronhii*). Byl prokázán zvýšený efekt v kombinaci výtažku křídlatky a juky (*Yucca schidigera*) vůči padlí dýňovitých. (Rur et al., 2018)

Suchý přesličkový extrakt + suchý šalvějový extrakt + komplex dalších látek

Extrakt z přesličky slouží jako fungicid, působí proti hnědé skvrnitosti a septorióze rajčat, padlí okurky, révy a padlí jabloňovém, padání klíčnic rostlin zeleniny, černé skvrnitosti a rzi růže, kadeřavosti listů, monilióze, strupovitosti jabloně, plíseň révy. Používá se na rajče, okurku, okrasné dřeviny (slivoně, růže), ovocné stromy (jabloň, broskvoň) a révu. (eAgri.cz)

Živé organismy (biologické)

Ve výzkumu Elkota a Derbalaha (2011) byly kultury vybraných mikroorganismů (*Epicoccum nigrum*, *Epicoccum minitans*, *Epicoccum sp.*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* a *Bacillus pumilus*) vypěstované v laboratorních podmínkách použity jak samostatně, tak i v kombinaci s fungicidem penkonazol ke kontrole padlí dýňovitých (*Podosphaera xanthii*) v polních podmínkách. Kultury mikroorganismů byly účinnější než fungicid penkonazol. Efektivita testovaných látek byla díky antifungálním sloučeninám, které obsahovaly. Představují tak alternativu v ochraně proti padlí místo fungicidů nebo v kombinaci s nimi. (Elkot a Derbalah, 2011)

Bakterie

Bacillus subtilis jedná se o biokontrolní agents, které lze použít proti rostlinným patogenním houbám a bakteriím, například proti padlí na melounu a cuketě. (Carbo et al., 2020; Heilig et al., 2011) Výhodou kmenů *Bacillus* je jejich odolnost vůči nepříznivým vlivům prostředí a dlouhá životaschopnost. (Moyer, 2007) Existují studie zabývající se užitím *Bacillus* ke kontrole padlí, např. autoři Hafez et al. (2018) a Tanaka et al. (2017) ve svém výzkumu prokázali, že druhy rodu *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. chitinosporus*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. polymexa*) inhibují klíčení konidií druhu *Podosphaera xanthii* na tykvi (*Cucurbita pepo* L.). Druhy *Bacillus* působí také na další patogeny (*B. cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Streptomyces sp.*). Tanaka et al. (2017) rovněž zjistil, že účinnost *Bacillus amyloliquefaciens* SD-32, spočívá v produkci látky prumycin, která výrazně potlačí růst padlí (*P. xanthii*) na okurkách tím, že inhibuje klíčení spor. Prumycin byl poprvé izolován z rodu *Streptomyces* sp. Hatou et al. v roce 1971. (Tanaka et al., 2017)

Endofyty

Endofyty jsou symbionti vyskytující se uvnitř rostlinných tkání a semen a mohou vést ke zlepšení růst rostlin. Semena mohou sloužit jako vektory pro přenos endofytů napříč hostitelským generacím rostlin. Byl prokázán antagonismus endofytů vůči některým druhům fytopatogenů. Většina endofytů, které potlačují patogeny patří do rodů *Bacillus* a *Paenibacillus*. Khalaf a Ralzada (2018) ve své studii prokázali působení kmene *Lactococcus* proti oomycetám a antagonistický efekt endofytů rodů *Pediococcus* a *Pantoea* vůči *Podosphaera xanthii*. (Khalaf a Ralzada, 2018)

Houby

Trichoderma spp. má antagonistický potenciál a působí proti houbovým patogenům např. z rodu *Fusarium*, *Pythium*. Pomáhá rozkládat organickou hmotu a zpřístupnit rostlině mnoho prvků. Hafez et al. (2018) ve své studii prokázal, že dva zástupci rodu *Trichoderma* spp. (*Trichoderma harzianum* a *Trichoderma viridi*) potlačily růst *P. xanthii* na tykvi obecné (*Cucurbita pepo* L.). K podobnému závěru došel také ve své studii EL-Naggar et al. (2012), který použil pouze kmen *T. viridi*. Nicméně Hafez et al. (2018) zjistil, že listy tykve obecné (*Cucurbita pepo* L.) ošetřené *B. subtilis* a *T. harzianum* měly morfologické anomálie. Ošetření mělo vliv na obsah chlorofylu a růst rostliny. (Hafez et al., 2018)

Nechemické prostředky, které jsou používány na ochranu vůči padlí lze rozdělit do dvou skupin:

- a) Látky nebo mikroorganismy chránící rostlinu vůči infekci padlím prostřednictvím iniciace obranných mechanismů rostliny (indukovaná rezistence)
- b) Mikroorganismy, které jsou přirozenými nepřáteli padlí a napadají jejich různá vývojová stádia (parazitismus/antibióza)

(Lebeda et al., 2017)

3.4.2. Metody založené na iniciaci obranných mechanismů

Indukovaná rezistence je účinný preventivní nástroj boje s ranými vývojovými fázemi patogena. V pozdějších vývojových stádiích by měla být nahrazena biologickými nebo chemickými prostředky. To platí především u rostlin pěstovaných ve skleníku, neboť jsou zde konstantní podmínky prostředí vhodné pro rychlý nárůst infekce padlí. (Lebeda et al., 2017)

Výsledkem indukované rezistence je iniciace obranných mechanismů rostlin, které mají za úkol ochránit rostlinu před infekcí padlím. Tyto mechanismy lze shrnout do několika skupin:

- Tvorba papil
- Produkce hydrolytických enzymů (chitináz)
- Hypersenzitivní reakce
- Produkce fytoalexinů

Tvorba papil

Papily se vyskytují na vnitřním povrchu stěn rostlinných buněk, v místech, kam pronikla houba, jedná se o lokalizované ztluštění. Díky jejich tvorbě dochází k vytvoření fyzické bariéry, která zabraňuje penetraci hyf patogena. Papily jsou typické pro Mlo rezistence ječmene vůči padlí. S tvorbou papil se můžeme více setkat u jednoděložných rostlin než rostlin dvouděložných.

Hydrolytické enzymy

Z mnoha druhů rostlin byly izolovány tzv. PR proteiny (pathogenesis-related proteins), kam patří např. β -1,3-glukanázy a chitinázy. U těchto proteinů byla popsána účast na obranných mechanismech, což bylo potvrzeno mnoha autory, kdy docházelo k inhibici růstu nebo lýzi buněk. Studie byly provedeny *in vivo* i *in vitro*.

Hypersenzitivní reakce

Je projev nespecifické Mlo rezistence ječmene k padlí. Hypersenzitivní reakce je spjata se SAR. Avšak jako jako obranný mechanismus rostliny vůči patogenům, jenž je indukován látkami, které jsou biologického původu se mezi hospodářky významnými plodiny, které jsou náchylné k padlí moc nevyskytuje. (Lebeda et al., 2017) Hypersenzitivní reakce byla pozorována také u některých genotypů melounu cukrového (*Cucumis melo*) v reakci na vybrané izoláty padlí dýňovitých. (Sedlářová et al., 2009)

Fytoalexiny

Fytoalexiny do 90. let 20.stol. u okurek nebyly brány za součást obranných mechanismů k padlí. (Lebeda et al., 2017) První, kdo si všiml, že mají nějakou souvislost fenologické látky a poškození haustorií byly Menzies et al. (1991) avšak ještě nevěděli, že se jedná o fytoalexiny. První důkaz, že se jedná o produkci těchto látek u okurek, který má vliv na redukci výskytu padlí byli Daayf et al. (1997a). Následně se jim podařilo izolovat a identifikovat fenolické látky, např. metylestery kyseliny p-kumarové, kyseliny kávové, kyseliny felurovou, které byly v okurkách přítomny jako reakce na infekci padlím a ošetření extraktem z listů *Reynoutria sachaliensis*. (Daayf et al., 1997b, 2000). Fawe et al. (1998) použili jako induktor rezistence křemík v rozpustné formě a identifikovali flavonoidy a fenolické látky. Důležitou roli fenolických látek na poškození haustorií padlí, poté co došlo k ošetření látkou s funkcí elicitoru potvrdil Wurms et al. (1999).

V přírodě se většina rostlin brání proti patogenům pomocí bariéry nebo aktivací ochranných mechanismů, tedy indukovanou rezistencí. Obranné reakce jsou souborem metabolických změn, které se nejen hromadí lokálně v místě infekce, ale jsou také indukovány systémově, jako je vývoj systémové získané rezistence (SAR) nebo indukované systémové rezistence (ISR). Indukovaná systémová rezistence zabraňuje dalším útokům hub, bakterií a virů. ISR je aktivován rhizobakteriemi, například kmeny *Pseudomonas*. SAR může být vyvolána mikroorganismy nebo přírodními nebo syntetickými chemikáliemi, jako je kyselina salicylová. (Moyer, 2007)

3.4.3. Metody založené na parazitismu nebo antibiíze

V řádu Erysiphales se nachází mnoho zástupců ektoparazitických druhů hub. Některé z nich mohou být napadeny jinou parazitickou houbou a stát se tzv. **hyperparazitem**. (Lebeda et al., 2017) **Mykoparazitismus** je forma hyperparazitismu. Patogen je atakován specifickým bioagens, které poškozují mycelium nebo infekční částice. Mezi hyperparazity patří tzv. hypoviry, fakultativní paraziti, obligátní bakteriální patogeny, částečně predátoři. Mezi mykoparazitismus můžeme řadit i mikrobiální predaci, příkladem může být *Pythium oligandrum*, *Trichoderma harzianum*. (Bleša et. al., 2020)

Mykoparazitismus je rozdělen do dvou typů, rozdělených podle agresivity parazitů vůči hostiteli. Nekrotrofní mykoparazitismus vede ke smrti hostitelského organismu. V biotrofním mykoparazitismu je vývoj parazitů zajištěn přežíváním hostitele spíše než jejich smrtí. (Zaki et al., 2020)

Jednou z takových hub je *Ampleomyces quisqualis* (Aq). Jedná se o intracelulární pyknidiální hyperparazitickou houbu, která se vyskytuje na zástupcích řádu Erysiphales a patří do oddělení Ascomycota, z čeledi Phaeosphaeriaceae. (Lebeda et al., 2017) Tento parazit se nachází u více než 64 druhů rodů *Brasiliomyces*, *Erysiphe*, *Sphaerotheca*, *Leveillula*, *Uncinula*, *Microsphaera*, *Podosphaera*, *Phyllactinia*, *Oidium*, *Oidiopsis*. Parazituje i na jiných řádech, např. Mucorales, Peronosporales. Hostiteli Aq jsou i patogeny hospodářsky významných plodin, jimiž jsou *Podophaera xantii*, *Golovinomyces orontii*, *Erysiphe necator*, *Blumeria graminis*. *Ampleomyces quisqualis* má negativní vliv na vývoj mycelia, konidiogenezi, omezuje počet haustorií, tvorbu chasmothecií a může vést až ke zničení kolonie padlí. Uvnitř stélek padlí vytváří pyknidy. Je využíván jako biologický prostředek vůči padlí ve formě preparátu AQ10™. (Angeli et al., 2017; Carbo et al., 2020; Lebeda et al., 2017) Vyznačuje se velkou tolerancí vůči fungicidům. Avšak tento hyperparazit

má velmi specifické ekologické nároky. Vyžaduje velkou vzdušnou vlhkost, množí se pomalu a pouze v přítomnosti konidií padlí, což má vliv na účinek použitého biopreparátu, a proto se v praxi příliš nepoužívá. (Lebeda et al. 2017) Je bezpečný pro člověka, nevykazuje toxicitu vůči hostitelské rostlině. První pokusy o růst *A. quisqualis* pochází z roku 1977, kdy byla dobrá sporulace hyperparazitu prokázána na bramborovém dextrózovém agaru (PDA). (Angeli et al., 2017) Byla dokázána účinnost Aq kmenu CPA-9 vůči padlí dýňovitých (*P. xanthii*), kdy došlo ke snížení vývoje infekce padlí. (Carbo et al., 2020) Také Moyer (2007) potvrdila stejnou účinnost Aq a komerčního fungicidu dodemorf (G2, FRAC 3) na padlí růže.

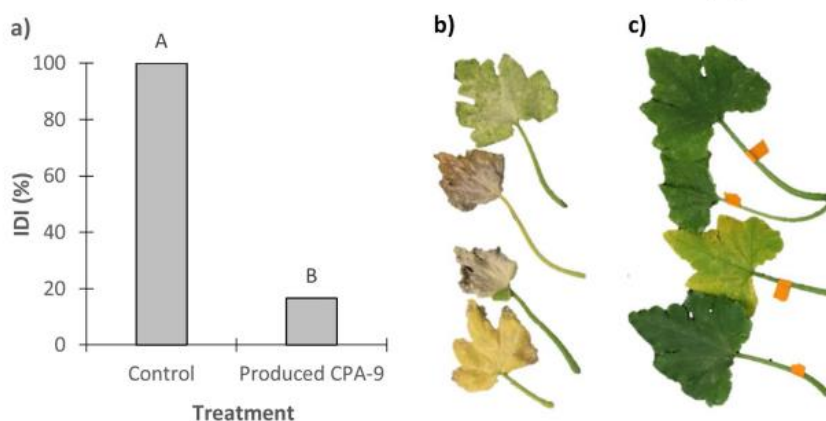


Fig. 5. Efficacy of produced *A. quisqualis* CPA-9 on zucchini plants (variety "Black beauty") artificially infected with powdery mildew (*P. xanthii*): (a) Efficacy represented as IDI (incidence disease index); (b) leaves treated with water (control) after six days of the treatment; and (c) leaves treated with *A. quisqualis* CPA-9 at 10^7 conidia/mL after six days of the treatment. Both treatments were applied seven days after the infection. Columns with different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) according to Student's *t* test.

6

Obrázek 7: Účinnost *A. quisqualis* kmenu CPA-9 na listy cukety odrůdy „Black beauty“ po inokulaci *P. xanthii*

Verticillium lecanii (nově *Lecanicillium lecanii*). Je polyfágní houba, která parazituje na řádu Erysiphales, rzích a členovcích. Má specifický způsob parazitismu. Nejdříve působí jako antagonist a svého hostitele usmrtí, popřípadě oslabí a následně na jeho strukturách parazituje. Avšak ke svému růstu potřebuje vysokou relativní vzdušnou vlhkost. (Lebeda et al., 2017)

Výsledky výzkumu Askaryho et al. (1998) zabývajících se účinky několika kmenů *V. lecanii* vůči druhům mšice (*Macrosiphium euphorbiae*) a padlí dýňovitých (*P. xanthii*) ukázaly, že kmen 198499 druhu *V. lecanii* byl ve srovnání s *Pseudozyma floculosa* stejně účinný vůči oběma druhům. Byla také prokázána dobrá účinnost *V. lecanii* v polních podmínkách vůči padlí jahodníku (*Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae* dříve *Podosphaera aphanis* var. *aphanis*). Nevýhodou je, že *V. lecanii* ke svému růstu vyžaduje vysokou relativní vzdušnou vlhkost. V současné době není registrován žádný přípravek obsahující tohoto

parazita, proto je v současnosti věnována velká pozornost výzkumu *V. lecanii*. (Lebeda et al., 2017)

Další zástupci mykoparazitů

Mezi další zástupce mykoparazitů můžeme řadit i např. některé druhy rodu *Cladosporium* spp., jedná se o parazity vyskytující se například na morušovníku bílém (*Morus alba*) nebo také druhy rodu *Acremonium*. Příkladem může být *Acremonium alternatum*, který parazituje na *Leveillula taurica* patogenu rajčat často se vyskytující ve Středomoří. Jedná se o indukci rezistence. Tyto druhy pro svůj růst potřebují vysokou vzdušnou vlhkost, což omezuje jejich použití mimo laboratoř. (Lebeda et al., 2017)

Dalším zástupcem může být *Orthotydeus lambi*. Jedná se o mykofágní druh mšice. Patří do čeledi Tydeidae. Napadá kolonie *Erysiphe necator*, které jsou původce padlí révy vinné. Byla prokázána redukce infekce tímto patogenem na révě vinné. (Lebeda et al., 2017)

Antibióza

Antibióza je antagonistický vztah mezi dvěma organismy nebo jedním organismem a metabolickým produktem jiného organismu ke škodě jednoho z těchto organismů. Do této skupiny můžeme řadit i dva rody hub, patřící mezi sněti. (Lebeda et al., 2017)

Jedním z těchto rodů je *Tilletiopsis* spp. U *Tilletiopsis* spp. byl zaznamenán antagonistický vztah mezi *Tilletiopsis* a *Podosphaera xanthii*. Bylo pozorováno, že různé druhy rodu *Tilletiopsis* spp. mají odlišnou produkci hydrolytických enzymů a antibiotik. *T. pallescens* působí na *Podosphaera pannosa*, která je původcem padlí růže. (Lebeda et al., 2017)

Dalším rodem je *Pseudozyma* spp. (syn. *Sporothix* spp.). Rod *Pseudozyma* je malá skupina kvasinkových hub, patřící do řádu Ustilaginales. Jsou většinou epifytické nebo saprofytické a nepatogenní pro rostliny, zvířata a hmyz. Epifytické druhy kolonizují různé povrchy rostlin. Předpokládá se jejich využití v biokontrolě, protože poskytují přirozenou bariéru vůči určitým patogenům rostlin. (Gafni et al., 2015; Lebeda et al., 2017)

Druhy *Pseudozyma regulosa* a *Pseudozyma flocculosa* působí antagonisticky na různé druhy padlí, např.: *Podosphaera xanthii*, *Podosphaera pannosa*, *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. *P. flocculosa* je náročnější na vlhkost a teplotu než druhy *P. regulosa* a *Tilletiopsis washingtonensis*. *P. flocculosa* působí na hostitele tak, že dochází k rychlé plazmolýze spor padlí. Konidie *P. flocculosa* jsou obsaženy v přípravku, který se nazývá Sporodex a je

ve formě smáčitelného prášku určený k ošetření plodin pěstovaných ve skleníku vůči padlí. Tento přípravek vykazuje vysokou účinnost. (Lebeda et al. 2017)

Pseudozyma aphidis je parazit, ale zároveň i antagonist a vůči *P. xanthii* a chová se jako ektoparazit, který parazituje na konidiích a hyfách padlí. (Lebeda et al., 2017) *P. aphidis* působí proti *Botrytis cinerea* na rajčatech a *Arabidopsis thaliana*. Byla zde pozorována antibióza a indukovaná rezistence. (Gafni et al., 2015)

3.5. Metody detekce rezistence padlí k fungicidům

Zástupci řádu Erysiphales jsou obligátní biotrofní organismy, je nutné při jejich testování pracovat s živým rostlinným materiálem, jenž je hostitelská rostlina. (Lebeda et al., 2017)

Metody používané při studiu rezistence k fungicidům lze rozdělit do 2 skupin:

1) **metody *in vivo*** - lze provádět v laboratorních nebo polních podmínkách. Z hostitelských rostlin mohou být připraveny listové segmenty nebo disky, popřípadě mohou být použity celé listy ze stádia 3-5 pravého listu, nebo se mohou použít mladé rostliny, je to v závislosti na typu testu, popřípadě druhu patogena. Fungicid o příslušné koncentraci může být aplikován na povrch listů nebo mohou být listové disky dány do roztoku fungicidu, jedná se o tzv. metodu plovoucích disků. Poté dochází k inokulaci daným patogenem. Vývoj se hodnotí vizuálně a vyjadřuje se v procentech pokrytí listové plochy nebo celého listu s použitím hodnotící stupnice. Metody *in vivo* jsou rozšířeny u řady padlí, např. u druhů *Erysiphe necator*, *Podosphaera leucotricha*, *Podosphaera xanthii*, *Golovinomyces oronhii*, *Blumeria graminis* f.sp. *tricitis* a f.sp. *hordei*. (Lebeda et al. 2017)

U rostlin v polních podmínkách se při testech používá metoda, kdy se nejprve nanese přípravek o příslušné koncentraci na rostlinu a poté je rostlina vystavena infekci patogena. Následně je na listech hodnocen stupeň napadení. Může být použita i kombinace obou metodických přístupů, laboratorní i polní. *In vivo* metody jsou limitovány časovou, pracovní náročností, sběrem vzorků, převedením do *in vitro* kultur, uchováním a realizací testu. (Lebeda et al., 2017)



Fig. 8. Fungicide-treated *Cucurbita pepo* seedlings left with non-treated seedlings for at least 4 hours in a squash crop affected by powdery mildew for an in-field fungicide sensitivity bioassay

Obrázek 8: Polní pokus hodnocení citlivosti k fungicidům v porostu tykve obecné (*Cucurbita pepo*), převzato z Lebeda et al., (2010).



Fig. 9. Leaves from in-field bioassay seedlings eleven days after exposure to a cucurbit powdery mildew pathogen population (treatments clockwise from severely-affected non-treated control leaf at left: 50 ppm thiophanate-methyl, 80 ppm myclobutanil, 100 ppm boscalid, 1 ppm quinoxyfen, 80 ppm triflumizole, and 50 ppm trifloxystrobin)

Obrázek 9: Listy z tykve obecné (*Cucurbita pepo*) z polního pokusu hodnocení citlivosti k fungicidům, převzato z Lebeda et al., (2010).

metody molekulární – kdy, jsou využívány kvalitativní metody (PCR, RFLP) a kvantitativní metody (real-time, PCR, pyrosekvenování atd.). Díky těmto metodám lze detekovat mutaci konkrétního genu a pomocí specifických molekulárních metod lze kvantifikovat frekvenci dané mutace v populaci patogena, také mohou objasnit mechanismus rezistence ke strobilurinovým fungicidům. Molekulární metody jsou rychlejší a expeditivnější než metody *in vivo*. Pomocí těchto metod se podařilo detekovat mutaci genu CYP51 (Y136F) pro 14 α -demethylázu, jenž v populacích mnoha patogenů (např. u druhů *Podosphaera leucotricha*

nebo *B. grammis* f. sp. *hordei*) způsobuje rezistenci k DMI fungicidům. (Jones et al., 2014) Také se podařilo detekovat mutaci genu CYP51 (K147Q) u původců padlí trav na pšenici a ječmeni. (Wyand a Brown, 2005). Díky těmto metodám se podařilo objasnit mechanismus rezistence ke strobilurinovým fungicidům u velkého množství druhů padlí. (tabulka 5) Příčina této rezistence je bodová mutace genu řídicího komplex mitochondriálního cytochromu bc1, díky kterému dochází ke změně aminokyseliny glycinu na alanin (G143A). (Fraaije et al., 2000). Vela-Corcía et al., 2014 vyvinuli metodu (allele-specific PCR) pro detekci rezistence padlí k methyl-2-benzimidazolovým karbamátům (MBC) na základě korelace mezi záměnou jedné aminokyseliny (E198A) v β -tubulinu a fenotypovým projevem MBC rezistence. (Lebeda et al., 2017)

Přesné informace o chování populací padlí z hlediska jejich rezistence k fungicidům lze získat pouze kombinací obou metodických přístupů *in vivo* a molekulárních metod. (Lebeda et al., 2017) (tabulka 6)

Pro výzkum byla použita metoda *in vivo*. Použila se kombinace obou metodických přístupů laboratorního i polního. (Lebeda et al. 2017)

Tabulka 6: Příklady metod, které se používají pro testování rezistence k fungicidům různých patogenů z řádu Erysiphales (podle FRAC, 2012; Klappach, 2015; a doplněno o aktuální poznatky k dané problematice, převzato z Lebeda et al., 2017)

Patogen (hostitel)	L/P ^a /M ^b	Typ testu	Použití pro danou skupinu fungicidů ^c					Literatura/FRAC (autor metody) ^d
			AZN	SBI	SDHI	QoI	Ostatní	
<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>hordei</i> (ječmen)	L	listové segmenty	x	x		x	x	FRAC (Felsenstein)
<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> (pšenice)	L	listové segmenty	x	x		x	x	FRAC (Felsenstein)
				x		x	x	FRAC (Stammler/ Klappach)
			x					Genet a Jaworska (2009)
	M	detekce mutace genu <i>CYP51</i> (Y136F), qRT-PCR		x				Delye et al. (1998), Yan et al. (2009)
		allele-specific PCR				x		Fraaije et al. (2000)
<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>hordei</i> (ječmen), f. sp. <i>tritici</i> (pšenice)	L	listové segmenty					x (MF)	Stammler et al. (2004)
				x	x		x	Klappach (2015)
	M	detekce G143A mutace PCR + NaCl, qPCR (Taq polymeráza), pyrosekvenování				x		Fraaije et al. (2000); Klappach (2015)
		detekce dvou mutací genu <i>CYP51</i> (Y136F, K147Q) PCR + sekvence <i>CYP51</i> genu						Wyand a Brown (2005)
		detekce mutace genu <i>CYP51</i> (Y136F)						Jones et al. (2014)
<i>Erysiphe necator</i> (réva vinná)	L	listové disky	x	x		x	x	FRAC (Felsenstein)
			x					Genet a Jaworska (2009)
				x	x		x	Klappach (2015)
	M	detekce mutace genu <i>CYP51</i>		x				Delye et al. (1997)
	M	detekce G143A mutace qRT-PCR (scorpion probe technology), pyrosekvenování				x		Klappach (2015)
	L	růst mycelia, sporulace					x (MF)	Kunova et al. (2016)
	P	listy (3.-5. pravý list) + hrozny					x (MF)	

^dFRAC Monitoring Methods Status: January 2012. Method Overview (<http://www.frac.info/docs/default-source/monitoring-methods/method-list-status-jan-20128475CE308358.pdf?sfvrsn=2>)

Autor/autoři dané metody. Pracoviště (stát). Rok zařazení metody do FRAC Monitoring Methods. Patogen:

Felsenstein F. G. Epilogic GmbH (Německo). 2006. *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*, *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, *Erysiphe necator*

Blumeria graminis f. sp. *hordei* (<http://www.frac.info/docs/default-source/monitoring-methods/approved-methods/erysgh-leaf-segment-monitoring-method-epil-2006-v1.pdf?sfvrsn=4>)

Blumeria graminis f. sp. *tritici* (<http://www.frac.info/docs/default-source/monitoring-methods/approved-methods/erysgt-leaf-segment-monitoring-method-epil-2006-v1.pdf?sfvrsn=4>)

Erysiphe necator (<http://www.frac.info/docs/default-source/monitoring-methods/approved-methods/uncine-leaf-disc-monitoring-method-epil-2006-v1.pdf?sfvrsn=4>)

Stammler G., Klappach K. BASF-AG (Německo) 2006. *Blumeria graminis* f. sp. (<http://www.frac.info/docs/default-source/monitoring-methods/approved-methods/erysgt-in-vivo-basf-2006-v1.pdf?sfvrsn=4>)

4. Materiál a metody

4.1. Zpracování dat testování rezistence vybraných účinných látek vůči izolátům *P. xanthii* ČR z roku 2016

V důsledku covidu 2019 nebylo možné realizovat experimentální část DP podle původního zadání, proto byla do DP zařazena tato kapitola. Data z testování izolátů *P. xanthii* z roku 2016 mi byla poskytnuta Dr. Sedlákovou z Katedry botaniky PřF v Olomouci. Jednalo se o soubor 24 izolátů *P. xanthii* pocházejících z České republiky z roku 2016. Byla testována účinnost tří látek: fosfonátu draselného, lecitinu a síry. (tabulka 7,8)

Tabulka 7: Seznam použitých izolátů padlí dýňovitých pro testování rezistence k vybraným účinným látkám

sběry ČR							
číslo izolátu	Kraj	okres	lokality	místo	hostitelská rostlina	SN	datum sběru
3/16 Px	Olomoucký	Olomouc	Olomouc – Holice	Pole	CM	3	08.08.2016
6/16 Px	Olomoucký	Prostějov	Olšany u Prostějova	Zahrada	CP Zu	2	09.08.2016
7/16 Px	Olomoucký	Prostějov	Plumlov	zahrada kolonie	CP	1-2	09.08.2016
10/16 Px	Jihomoravský	Brno-venkov	Ořechov	Pole	CP	1	09.08.2016
12/16 Px	Jihomoravský	Brno-venkov	Ivančice	Zahrada	CP Zu	4	09.08.2016
15/16 Px	Jihomoravský	Znojmo	Dobelice	Pole	CM	1	09.08.2016
18/16 Px	Jihomoravský	Znojmo	Prosiměřice	Zahrada	CP Zu	4	09.08.2016
23/16 Px	Jihomoravský	Hodonín	Mutěnice	Pole	CP	2	10.08.2016
25/16 Px	Jihomoravský	Hodonín	Ratíškovice	Pole	CP Zu	3	10.08.2016
27/16 Px	Jihomoravský	Hodonín	Vnorovy	Pole	CP	2	10.08.2016
29/16 Px	Zlínský	Kroměříž	Kvasice	Zahrada	CP Zu	4	10.08.2016
30/16 Px	Zlínský	Kroměříž	Postoupky	Zahrada	CM	1	10.08.2016
33/16 Px	Olomoucký	Přerov	Tovačov – Annín	zahrada kolonie	CM	1	10.08.2016
36/16 Px	Pardubický	Ústí nad Orlicí	Zálší	Zahrada	CM	1	11.08.2016
37/16 Px	Pardubický	Ústí nad Orlicí	Choceň	Zahrada	CM	1	11.08.2016
41/16 Px	Královehradecký	Jičín	Konecchlumí	Zahrada	CM	1	11.08.2016
42/16 Px	Královehradecký	Jičín	Sobotka	zahrada	CP Zu	1	11.08.2016
44/16 Px	Středočeský	Nymburk	Lysá nad Labem	Zahrada	CP Zu	3	11.08.2016
46/16 Px	Moravskoslezský	Nový Jičín	Nový Jičín - Kojetín	Zahrada	C. mosch	1	13.08.2016
47/16 Px	Moravskoslezský	Nový Jičín	Nový Jičín - Kojetín	Zahrada	CP Zu	4	13.08.2016
49/16 Px	Olomoucký	Šumperk	Loštice	zahrada, foliovník	CS	3	12.09.2016
51/16 Px	Moravskoslezský	Nový Jičín	Starý Jičín – Jičina	Zahrada	CS	2	18.09.2016
52/16 Px	Moravskoslezský	Nový Jičín	Starý Jičín – Jičina	Zahrada	CM	2	18.09.2016
53/16 Px	Moravskoslezský	Nový Jičín	Starý Jičín – Jičina	Zahrada	C. mosch	2-3	18.09.2016

SN = stupeň napadení (0-4), podle Lebedy (1986); hostitelská rostlina: CM - *Cucurbita maxima*, CP – *Cucurbita pepo*, CP Zu – cuketa, C. mosch – *Cucurbita moscha*, CS – *Cucumis sativus*; patogen: Px = *Podosphaera xanthi*

Tabulka 8: Seznam izolátů *P. xanthii* pocházející z roku 2016 z České republiky testovaných modifikovanou metodou listových disků na vybraných účinných látkách

číslo izolátu	fosfonát draselný	lecitin	Síra
3/16 Px	-	√	-
6/16 Px	√	√	√
7/16 Px	√	√	√
10/16 Px	√	√	√
12/16 Px	√	√	√
15/16 Px	√	√	-
18/16 Px	√	√	√
23/16 Px	√	√	√
25/16 Px	√	√	√
27/16 Px	√	√	√
29/16 Px	-	√	√
30/16 Px	√	√	√
33/16 Px	-	√	-
36/16 Px	√	√	√
37/16 Px	√	√	√
41/16 Px	√	√	√
42/16 Px	-	√	√
44/16 Px	√	√	√
46/16 Px	√	-	-
47/16 Px	-	√	√
49/16 Px	√	√	√
51/16 Px	√	√	√
52/16 Px	√	√	√
53/16 Px	√	√	√
celkem	19	23	20

4.2. Testování účinnosti vybraných látek vůči izolátům *P. xanthii*

4.2.1. Původ, charakteristika a uchování izolátů padlí dýňovitých

Soubor izolátů padlí dýňovitých pro testování účinnosti vybraných látek zahrnoval 9 izolátů *P. xanthii* pocházející ze sbírkové kolekce UPOC a 5 izolátů *P. xanthii* pocházející z pracovní kolekce Dr. Sedlákové. (tabulka 9) Všechny tyto izoláty mi byly poskytnuty k experimentu.

Hostitelskou rostlinou pro uchování izolátů byla okurka setá (*Cucumis sativus*), náchylná odrůda Perseus F1. Semenáčky byly před inokulací uchovávány ve fytotronu při teplotě 24 °C ve dne a 18 °C v noci a denně zalévány. Kultury padlí dýňovitých byly uchovávány na semenáčcích okurky seté (*Cucumis sativus*) náchylné odrůdy Perseus F1, které byly dány do plastových boudiček, aby se zabránilo šíření konidií mezi jednotlivými izoláty. Následně byly tyto boudičky uloženy do fytotronu při teplotě 24 °C ve dne a 18 °C v noci, při 12 hodinové fotoperiodě. (obrázek 30) Zhruba po 14 dnech bylo nutné přeočkování těchto izolátů (kultur) na nové rostliny. Přeočkování proběhlo přenesením konidií pomocí přiložení listu s udržovanou kulturou padlí na děložní lístky nové rostliny. (Lebeda et al., 2017; Lebeda a Sedláková, 2010) (obrázek 31)

V tabulce je přiložen seznam použitých izolátů pro testování rezistence padlí dýňovitých vůči vybraným biologickým účinným látkám.

Tabulka 9: Seznam použitých izolátů padlí dýňovitých pro testování rezistence k vybraným účinným látkám

sběry ČR							
číslo izolátu	kraj	okres	lokalita	Místo	hostitelská rostlina	SN	datum sběru
13/08 Px	Olomoucký	Prostějov	Plumlov	zahradní kolonie	CM	1	12.08.2008
10/10 Px	Jihomoravský	Brno-venkov	Ořechov	Zahrada	CP ZU	1	10.08.2010
52/11 Px	Olomoucký	Přerov	Tovačov-Annín	zahradní kolonie	CP PA	2	23.08.2011
60/11 Px	Zlínský	Kroměříž	Kvasice, za bytovkami	Zahrada	CP ZU	4	23.08.2011
42/16 Px	Královehradecký	Jičín	Sobotka	zahrada	CP Zu	1	11.08.2016
12/18 Px	Jihomoravský	Znojmo	Prosiměřice	Zahrada	CP	1	06.08.2018
19/18 Px	Zlínský	Kroměříž	Postoupky	zahrada	CS	1	07.08.2018
22/18 Px	Olomoucký	Olomouc	Babice	zahrada, skleník	CS	1	07.08.2018
30/18 Px	Jihomoravský	Hodonín	Čejč	Pole	CP	2	07.08.2018
31/18 Px	Jihomoravský	Břeclav	Velké Bílovice	Pole	CP	2	07.08.2018
Německo							
Ger 1/12 Px	spolk. republika Durynsko		Erfurt, Ringelberg	zahradní kolonie Galgenberg	CP	2	30.07.2012

SN = stupeň napadení (0-4), podle Lebedy (1986); hostitelská rostlina: CM - *Cucurbita maxima*, CP – *Cucurbita pepo*, CP PA – patizon, CP Zu – cuketa,

CS – *Cucumis sativus*; patogen: Px = *Podosphaera xanthii*

4.2.2. Rostlinný materiál

Padlí nemůže být kultivováno na syntetických mediích. Proto pro testování rezistence vůči padlí dýňovitých byla vybrána okurka setá (*Cucumis sativus*). Náchylná odrůda Perseus F1.

Semena okurky seté byla nejprve vyseta do malých plastových květináčků o průměru 7 cm s perlitem. Květináčky byly uloženy do fytotronu ve dne při teplotě 24°C a v noci při teplotě 18°C.

Poté nárůstu děložních lístků byly sazenice přesázeny do velkých květináčů po čtyřech. Květináče obsahovaly substrát pro balkonové rostliny 0018 FLORCOM SB. Tyto květináče byly uloženy ve skleníku, při teplotě 22-26 °C, kde byly řádně zalévány. (obrázek 32)

Pro tvorbu listových disků byly odebrány listy z rostliny staré 6-8 týdnů (ve stádiu 3-6 pravého listu). (Lebeda et. al. 2017).

4.2.3. Charakteristika testovaných přípravků

V experimentální části této diplomové práce byly pro testování rezistence souboru izolátů *P. xanthii* použity dva pasivní pomocné přípravky obsahující účinné látky: mléčný albumin + kasein + lecitin, tymiánový olej a dva fungicidní přípravky obsahující účinné látky: fosfonáty draselné, hydrogenuhličitan draselný. (tabulka 10)

Přípravek s látkami mléčný albumin + kasein + lecitin – jedná se o postřikovou kapalinu, působí proti padlí na angreštu, révě vinné, okurkách, okrasných rostlinách, růžím, rybízu. Působí jako fungicid. Podporuje zdravotní stav rostliny. Působí dotykově. Je dobré aplikovat na večer nebo za oblačnosti. Je platný v registru přípravků. (Agromanualshop.cz; Ošetřeno.cz)

Tymiánový olej – jedná se o fungicid, využívá se proti *Botrytis* spp. na vinné révě. Běžně se vyskytuje v přírodě. Působí tak, že narušuje buněčné stěny, membrány nebo orgány nežádoucímu organismu. Má kontaktní účinek. (Gwynn R. L., 2014)

Přípravek obsahující fosfonáty draselné – jedná se o rozpustný koncentrát, výrobce: Tilco-Alginure GmbH, Německo, distributor v ČR: BIOCONT LABORATORY, spol. s r.o., Modřice, teplota skladování: +5 - +25 °C. Lze použít na révu vinnou proti plísni révy nebo proti plísni chmelu. Po aplikaci dochází u rostlin k aktivaci obranných biochemických mechanismů, k indukované rezistenci. Lze použít max. 6krát za rok, jako postřik nebo rosení. Měl by se aplikovat preventivně nebo na počátku výskytu choroby. (Biocont laboratory, 2018; Agromanual.cz).

Přípravek obsahující hydrogenuhličitan draselný – jedná se o ve vodě rozpustný prášek. Výrobce: Biofa GA, Německo, distributor v ČR: BIOCONT LABORATORY, spol. s r.o., Modřice. Patří mezi kontaktní fungicidy. Účinek je preventivní a kurativní. Skladuje se při teplotě: +5-+30 °C. Po aplikaci dochází ke změně pH na listech (kyselé pH), omezuje růst mycelií hub a brání klíčení spor. Působí proti plísní, padlí, houbovým chorobám, dochází k posílení odolnosti rostlin. Lze použít jako postřik nebo rosení na celou řadu plodin: na révu vinnou, tykev, rajče, chmel, okrasné rostliny, jahodník, čekanka, kozlíček, kořenová zelenina, peckoviny, drobné ovoce, jabloň. V kombinaci s přípravky obsahujícími pomerančový, fenyklový olej dosahuje vyšší účinnosti. (Biocont Laboratory, 2018; Agromanual.cz; Agromanualshop.cz; eAgri.cz)

Tabulka 10: Zařazení vybraných účinných látek použitých pro testování rezistence padlí *Podosphaera xanthii* do skupin dle FRAC (FRAC CodeList © 2021)

SUBSTANCES	MoA*	TARGET SIZE	GROUP NAME	CHEMICAL OR BIOLOGICAL GROUP	COMMON NAME	FRAC CODE
fosfonát draselný hydrogenuhličitan draselný lecitin, mléčný albumin, kasein	Not specified	Unknown	Diverse	diverse	mineral oils, organic oils, inorganic oils, material of biological origin	NC
Síra	M: Chemicals with multi-site activity	Multi-site contact aktivity	inorganic (electrophiles)	inorganic	sulphur	MO2
tymiánový olej	BM: Biologicals with multiple modes of action: Plants extracts	Cell membrane disruption, cell wall, induced plant defense mechanism	Plant extract	terpene hydrocarbons, terpene alcohols and terpene phenols	Plant oils (mixtures): eugenol, geraniol, thymol	BM01

*MoA (Mode of Action) – mechanismus působení

4.2.4. Metody

Pro zjištění rezistence padlí dýňovitých vůči vybraných účinným látkám byly použity dvě metody. První metodou byla modifikovaná metoda listových disků. (Lebeda et al., 2017; Sedláková a Lebeda, 2008) Druhou metodou byla metoda celých rostlin, která byla realizovaná u části izolátů *P. xanthii*. (tabulka 10) Následně se obě metody porovnávaly z hlediska vhodnosti použití pro testy rezistence.

Pro testování byly vybrány čtyři přípravky s těmito účinnými látkami: mléčný albumin + kasein + lecitin, tymiánový olej, fosfonát draselný, hydrogenuhličitan draselný, a také u izolátů 2016 byla testována účinnost na síru. Všechny tyto přípravky se testovaly v pěti koncentracích. (obrázek 33) Vždy byla jedna koncentrace navržena výrobcem a pak dvě, které byly nad a pod touto doporučenou koncentrací. (tabulka 11)

Tabulka 11: Koncentrace testovaných účinných látek

účinná látka	koncentrace účinné látky (%/μg·ml ⁻¹ /μl·ml ⁻¹)				
	1	2	3**	4	5
fosfonát draselný	0,4 % (1368 μg·ml ⁻¹)	0,6 % (2052 μg·ml ⁻¹)	0,8 % (2736 μg·ml ⁻¹)	1 % (3420 μg·ml ⁻¹)	1,2 % (4104 μg·ml ⁻¹)
lecitin (L)* mléčný albumin (MA)* kasein (K)*	0,25 % (200 μl·ml ⁻¹ (L) (18,5 μl·ml ⁻¹) (MA) (81,5 μl·ml ⁻¹) (K)	0,5 % (400 μl·ml ⁻¹ (L) (37 μl·ml ⁻¹) (MA) (163 μg·ml ⁻¹) (K)	0,75 % (600 μl·ml ⁻¹ (L) (55,5 μl·ml ⁻¹) (MA) (244,5 μl·ml ⁻¹) (K)	1 % (600 μl·ml ⁻¹ (L) (74 μl·ml ⁻¹) (MA) (326 μl·ml ⁻¹) (K)	1,25 % (1000 μl·ml ⁻¹ (L) (92,5 μl·ml ⁻¹) (MA) (407,5 μl·ml ⁻¹) (K)
Síra	0,1 % (800 μg·ml ⁻¹)	0,2 % (1600 μg·ml ⁻¹)	0,4 % (3200 μg·ml ⁻¹)	0,6 % (4800 μg·ml ⁻¹)	0,8 % (6400 μg·ml ⁻¹)
tymiánový olej	0,20 %	0,30 %	0,4 %	0,50 %	0,60 %
hydrogenuhlíčitán draselný	622 μg·ml ⁻¹	1244 μg·ml ⁻¹	2487,5 μg·ml ⁻¹	3731,5 μg·ml ⁻¹	4975 μg·ml ⁻¹

*všechny tři látky byly součástí jednoho testovaného přípravku, a také procentuální koncentrace patří pro všechny tři látky

** koncentrace doporučená výrobcem

Modifikovaná metoda listových disků

Pro metodu byly použity listy okurky seté (*Cucumis sativus*), náchylné odrůdy Perzeus F1 ve stádiu 3-6 pravého listu. Nejprve byla z listů pomocí korkovrtu (obrázek 34) vyřezány disky o průměru cca. 15 mm. Přípravky byly testovány v pěti koncentracích. Kontrolou byla destilovaná voda. Pro každou koncentraci bylo vytvořeno 15 disků (5 disků ve třech opakování). Následně by jednotlivé koncentrace nalily do plastových misek, které bylo nutno řádně popsat, aby nedošlo k jejich záměně. Do každé misky byly poté dány disky, a to tak aby byly všechny ponořeny. Po 30 minutách byl přípravek slit. Poté se chystaly plastové krabičky s víčky na testy. Ty byly předem řádně vymyty a vydezinfikovány pomocí ethanolu a byla do nich vložena buničina a filtrační papír, které byly navlhčeny destilovanou vodou. Následně byly do nich pokládaly listové disky svrchní stranou nahoru ve třech řadách po pěti. Poté byly inokulovány izoláty padlí přiložením děložního lístku se sporulujícím myceliem k listovému disku. Plastové krabičky byly uzavřeny plastovými víčky, uloženy do fytotronu a byly kultivovány za stejných podmínek jako uchovávané izoláty padlí. (tabulka 12) (obrázek 35)

Tabulka 12: Seznam účinných látek testovaných vůči izolátům *P. xanthii* pocházející ze sbírkové a pracovní kolekce UPOL včetně jednoho izolátu *P. xanthii* pocházejícího z Německa testované metodou listových disků

kód izolátu**	číslo izolátu	fosfonát draselný	lecitin	hydrogenuhlíčan draselný	tymiánový olej
UPOC_FUN_128	13/08 Px	√	√	√	√
UPOC_FUN_129	10/10 Px	√	√	√	√
UPOC_FUN_131	52/11 Px	√	√	√	√
UPOC_FUN_132	60/11 Px	-	-	√	√
UPOC_FUN_130	Ger 1/12 Px	√	√	√	√
	42/16 Px	√*	√*	√	√
	12/18 Px	√	√	√	√
	19/18 Px	√	√	√	√
UPOC_FUN_307	22/18 Px	√	√	√	√
	30/18 Px	√	√	√	√
	31/18 Px	√	√	√	√
	celkem	9	9	11	11

*fosfonát draselný a lecitin zpracován v rámci roku 2016

√ = testováno, - = netestováno

**kód izolátu zařazeného do databáze sbírky mikroorganismů v rámci

Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu <https://old.vurv.cz/collections/vurv.exe/search>

Metoda celých rostlin

Pro metodu celých rostlin byla použita okurka setá (*Cucumis sativus*), náchylná odrůda Perzeus F1. Tato metoda se od metody listových disků lišila tím, že nejprve byly na listy okurky aplikovány přípravky, a až poté byly z listů pomocí kovkovrtu vytvořeny disky. Poté se postupovalo stejným způsobem jako u metody listových disků. (tabulka 13) (obrázek 36)

Tato metoda byla zkoušena několika způsoby. Jedním ze způsobů byla aplikace přípravku na listy celé rostliny s přidáním kapky jaru jako smáčedla. Z toho důvodu, aby účinná látka vydržela déle na listech. Dalším způsobem aplikace přípravků bylo použití igelitového sáčku pro zakrytí listu po aplikaci přípravkem. (obrázek 37) Obě modifikace této metody se však ukázaly jako nevhodné pro experiment, z důvodu omezené sporulaci padlí, což mělo vliv na hodnocení. Proto se od přidávání jaru i použití igelitových sáčků v experimentech upustilo.

Tabulka 13: Seznam účinných látek testovaných vůči izolátům *P. xanthii* pocházející ze sbírkové a pracovní kolekce UPOL včetně jednoho izolátu *P. xanthii* pocházejícího z Německa testované metodou celých rostlin

kód izolátů**	číslo izolátu	fosfonát draselný	lecitin	hydrogenuhličitan draselný	tymiánový olej
UPOC_FUN_130	Ger 1/12 Px	-	√	-	-
UPOC_FUN_194	3/16 Px	-	√	-	-
UPOC_FUN_195	18/16 Px	-	√	-	-
UPOC_FUN_196	41/16 Px	√	-	-	-
	42/16 Px	-	-	√	√
	12/18 Px	-	√	-	-
	30/18 Px	√	-	-	-
	31/18 Px	√	-	-	-
	Celkem	3	4	1	1

√ = testováno, - = netestováno

* kód izolátu zařazeného do databáze sbírky mikroorganismů v rámci

Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu <https://old.vurv.cz/collections/vurv.exe/search>

4.2.5. Hodnocení intenzity sporulace

Hodnocení intenzity sporulace bylo prováděno v intervalu od 5 do 14 dne od inokulace disků izoláty padlí. Interval mezi hodnoceními byl 2-4 dny. Hodnocení bylo provádělo vizuálně s pomocí lupy. Pro hodnocení byla využita kvantitativní i kvalitativní metoda.

Kvantitativní metody

Pro hodnocení byla použita pětibodová stupnice (0-4) intenzity sporulace. Stupně značí přítomnost mycelia na povrchu pletiva. (Lebeda et al., 2017)

0 - bez příznaků

1 - < 25 % stupeň napadení (SN)

2 - 25 - 50 % SN

3 - 50 - 75 % SN

4 - > 75 % SN

Pro určení celkového stupně infekce pro každý izolát v %, byla použita metoda dle Towsenda a Heubergera, která vychází ze vzorce:

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

P = celkový stupeň napadení

n = počet disků v každé kategorii napadení

v = stupeň napadení

x = maximální stupeň napadení

N = celkový počet hodnocených disků

(Lebeda et. al., 2017)

Kvalitativní metody

Ke kvalitativnímu hodnocení byla použita tříbodová stupnice (Lebeda et al., 2017, Sedláková a Lebeda, 2008)

- ... senzitivní reakce, stupeň napadení = 0-10 %

(-) ... středně rezistentní reakce, stupeň napadení = 10,1-34,9 %

+ ... rezistentní reakce, stupeň napadení \geq 35 %



Fig. 6. Three types of assigned reactions: a - sensitive (degree of infection, DI = 0-10%), b - tolerant (DI = 10.1-34.9%), c - resistant (DI \geq 35%)

Obrázek 10: Tři typy hodnocených reakcí: a – senzitivní, b – středně rezistentní, c – rezistentní, převzato z Lebeda et al., (2010).

Stanovení hodnoty ED 50

Pro jednotlivé izoláty bylo stanoveno ED 50 (koncentrace fungicidu, která inhibuje sporulaci houby o \geq 50 %) v intervalu testovaných koncentrací fungicidu. (Sedláková a Lebeda 2008)

4.3. Mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného

Pro mikroskopické sledování vývoje *Podosphaera xanthii* po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného byla použita stejná modifikovaná metoda listových disků jako v předchozím experimentu viz. kapitola 4.2.4.

Byl použit izolát 12/18 Px. Po inokulaci byly disky v přesných časových intervalech odebírány (7. den, 10. den, 14. den, což odpovídá 168 hodin, 240 hodin, 336 hodin). Odebrané listové disky (5 disků od každé koncentrace ve třech opakováních) byly vkládány do lahviček naplněných 99% kyselinou octovou, aby došlo k odbarvení chlorofylu. (obrázek 38) Po 48 hodinách byly přemístěny do 85% glycerolu. (Lebeda a Reinink, 1994) (obrázek 39) Následně byly listové disky pomocí pinzety přeneseny na podložní sklíčko, a to svrchní stranou listu nahoru. Pomocí kapátka byly zakápnuty 1% anilinovou modří, která se dostává do chitinových struktur houbových organismů, a díky tomu je umožněno jejich lepší pozorování pro hodnocení pod mikroskopem. (Lebeda et al., 2017) Listové disky se nechaly inkubovat asi 3 minuty. Poté byly překryty krycím sklíčkem a pomocí destilované vody bylo barvivo vymyto a filtračním papírem byl odsátý její přebytek z druhé strany krycího sklíčka. (obrázek 40) Takovéto preparáty byly již připraveny k pozorování pod mikroskopem při zvětšení 100x a 400x. Na listových discích byl hodnocen počet konidioforů padlí a přítomnost konidií. Pro hodnocení sporulace padlí byla použita semikvantitativní metoda podle následujících kategorií:

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

4.4. Statistické zpracování

Byly statisticky srovnávány jednotlivé izoláty *P. xanthii* v rámci sporulace u jednotlivých účinných látek. A také porovnávány vybrané izoláty v rámci sporulace mezi oběma použitými metodami. U mikroskopického sledování vývoje *P. xanthii* po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného bylo u každého odběru statisticky srovnávána sporulace v rámci jednotlivých koncentrací. Pro statistické zpracování byl použit Kruskal-Wallis test a pairwise test v programu R verze 4.1.3. (příloha 10.1.)

6. Výsledky

6.1. Testování rezistence vybraných účinných látek vůči izolátům *P. xanthii* ČR z roku 2016

Výsledky testování účinnosti izolátů *P. xanthii* z roku 2016 pomocí modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) ukázaly rozdíly v účinnosti vybraných účinných látek.

V následující kapitole této práce jsou pak komentovány podobnosti či rozdíly v reakci izolátů *P. xanthii* na testované účinné látky.

Fosfonát draselný

Fosfonát draselný vykazoval na testovaném souboru izolátů *P. xanthii* nízkou míru účinnosti, kdy 63 % izolátů mělo rezistentní reakci na všech testovaných koncentracích a u 16 % izolátů byla zaznamenána výrazná sporulace (rezistentní reakce) na všech testovaných koncentracích kromě nejvyšší koncentrace ($4104 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), kde byla středně rezistentní. U 5 % izolátů byla pozorována rezistentní reakce pouze u nejnižší testované koncentrace ($1368 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), na všech ostatních se jednalo o středně rezistentní reakci. Pro 16 % testované populace byla zaznamenána zcela odlišná reakce na fosfonát draselný ve srovnání se zbývajících částí populace patogenu. Pro tuto část populace se testovaná účinná látka jevila jako zcela účinná, kdy u všech izolátů byla pozorována pouze senzitivní reakce na všech testovaných koncentracích. Hodnota ED 50 se u 47 % izolátů pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací tohoto přípravku tedy $> 4104 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, zatímco pro 26 % izolátů bylo ED 50 pod nejnižší testovanou koncentrací ($< 1368 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Pro 10 % izolátů se hodnota ED 50 pohybovala v intervalu $1368\text{-}2052 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Zastoupení izolátů v intervalech ED 50 $2052\text{-}2736 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $2736\text{-}3420 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $3420\text{-}4104 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ bylo 5 % u každého z nich. (tabulka 14, graf 1)

Variabilita mezi testovanými izoláty Px z České republiky z roku 2016 na účinnou látku fosfonát draselný byla statisticky průkazná. (viz. příloha 10.1.)

Tabulka 14: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* z roku 2016 ošetřených účinnou látkou fosfonát draselný

číslo izolátu	intenzita sporulace (%)						ED 50
	koncentrace účinné látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)						
	K	1368	2052	2736*	3420	4104	
6/16 Px	100	6,67	6,67	3,33	3,33	3,33	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
7/16 Px	100	78,33	45	41,67	43,53	26,67	1368-2052 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
10/16 Px	100	93,33	58,33	90	58,33	65	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
12/16 Px	100	93,33	61,67	70	76,67	45	3420-4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
15/16 Px	95	78,33	66,67	66,67	76,67	51,67	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
18/16 Px	93,33	88,33	86,67	83,33	81,67	76,67	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
23/16 Px	93,33	35	35	35	36,67	13,33	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
25/16 Px	98,33	85	90	81,67	90	86,67	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
27/16 Px	96,67	83,33	85	83,33	65	60	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
30/16 Px	85	66,67	60	68,33	65	56,67	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
36/16 Px	100	95	76,67	45	46,67	20	2052-2736 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
37/16 Px	96,67	6,67	6,67	5	5	5	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
41/16 Px	83,33	68,33	63,33	65	48,33	36,67	2736-3420 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
44/16 Px	100	8,33	8,33	0	0	0	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
46/16 Px	78,33	85	78,33	83,33	65	63,33	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
49/16 Px	100	81,67	85	75	83,33	68,33	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
51/16 Px	90	41,67	43,33	41,67	41,67	43,33	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
52/16 Px	100	66,67	30	26,67	23,53	15	1368-2052 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
53/16 Px	100	90	76,67	63,33	73,33	63,33	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

*doporučená koncentrace výrobcem; K – kontrola (destilovaná voda)

patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

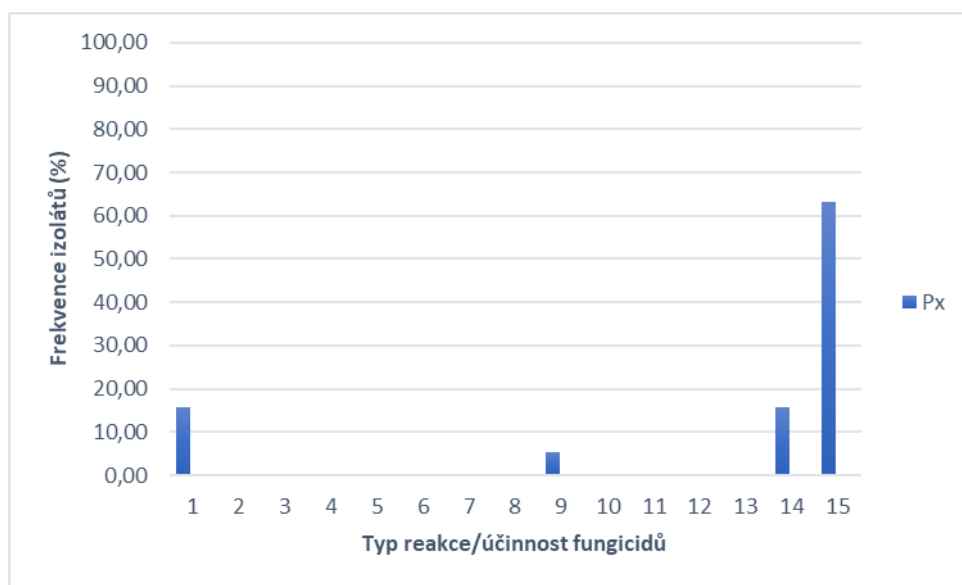
Typ reakce / účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 1: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházejících z roku 2016 z České republiky na účinnou látku fosfonát draselný

Lecitin + mléčný albumin + kasein

Přípravek obsahující účinné látky lecitin, mléčný albumin a kasein byl vůči testovanému souboru izolátů *P. xanthii* zcela neúčinný, kdy všechny izoláty měly rezistentní reakci na všech testovaných koncentracích. Hodnota ED 50 se u 96 % izolátů pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací tohoto přípravku tedy $> 1000 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (lecitin), $> 92,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (mléčný albumin), $> 407,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (kasein). Pouze u 4 % izolátu se hodnota ED 50 pohybovala v intervalu $800 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (lecitin), $92,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (mléčný albumin), $407,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (kasein). (tabulka 15, graf 2)

Variabilita mezi testovanými izoláty Px z České republiky z roku 2016 na účinné látky lecitin, mléčný albumin a kasein byla statisticky průkazná. (viz. příloha 10.1.)

Tabulka 15: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* z roku 2016 ošetřených účinnou látkou lecitinem

číslo izolátu	intenzita sporulace (%)						ED 50
	koncentrace účinné látky						
	K	I.	II.	III.*	IV.	V.	
3/16 Px	83,33	75	81,67	88,33	58,33	71,67	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
6/16 Px	90	86,67	88,33	86,67	90	85	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
7/16 Px	98,33	83,33	88,33	70	93,33	93,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
10/16 Px	100	100	100	100	100	100	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
12/16 Px	96,67	91,67	91,67	91,67	88,33	91,67	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
15/16 Px	85	63,33	68,33	81,67	83,33	68,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
18/16 Px	86,67	80	78,33	66,67	80	66,67	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
23/16 Px	100	100	100	100	100	100	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
25/16 Px	100	100	100	100	96,67	68,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
27/16 Px	100	100	93,33	75	80	78,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
29/16 Px	100	93,33	95	93,33	95	95	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
30/16 Px	93,33	86,67	83,33	78,33	85	80	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
33/16 Px	88,33	85	86,67	81,67	90	90	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
36/16 Px	98,33	96,67	96,67	96,67	95	95	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
37/16 Px	100	91,67	86,67	83,33	95	65	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
41/16 Px	96,67	96,67	96,67	96,67	95	90	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
42/16 Px	83,33	80	60	50,67	50	41,67	800 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
44/16 Px	100	100	98,33	98,33	98,33	98,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
47/16 Px	83,33	78,33	93,33	88,33	93,33	91,67	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
49/16 Px	100	100	100	100	100	100	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
51/16 Px	70	60	68,33	75	91,67	96,67	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
52/16 Px	100	100	90	78,33	76,67	75	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)
53/16 Px	100	100	98,33	98,33	91,67	95	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (L), > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (MA), > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (K)

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

L – lecitin, MA – mléčný albumin, K – kasein

I. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 200 (L), 18,5 (MA), 81,5 (K);

II. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 400 (L), 37 (MA), 163 (K);

III.* koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 600 (L), 55,5 (MA), 244,5 (K);

IV. Koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 800 (L), 75 (MA), 326 (K);

V. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 1000 (L), 92,5 (MA), 407,5 (K)

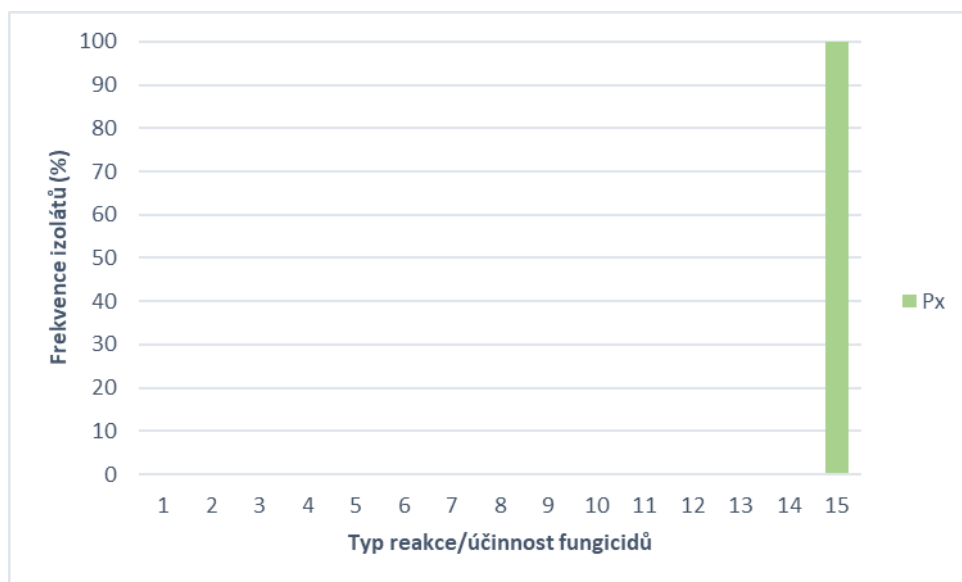
Typ reakce /účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 2: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházejících z roku 2016 z České republiky na účinnou látku lecitin

Síra

Přípravek obsahující síru byl vůči testovanému souboru *P. xanthii* částečně účinný, kdy 40 % populace, bylo kontrolováno doporučenou koncentrací (3200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Zatímco 60 % izolátů bylo na této koncentraci středně rezistentních nebo rezistentních. Na nižších testovaných koncentracích (800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 1600 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) než byla doporučená koncentrace byla u většiny testované populace pozorována středně rezistentní, případně rezistentní reakce. Na koncentracích vyšších než doporučená koncentrace (4800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 6400 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) bylo 30% testované populace patogenu středně rezistentních a u 10 % izolátů byla tato reakce zaznamenána jen na koncentraci 4800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. 5 % izolátů byla rezistentních vůči všem testovaným koncentracím. Naopak oproti 15 % izolátům, u kterých byla zjištěna zcela opačná reakce (senzitivní) na všech testovaných koncentracích. Hodnota ED 50 se u většiny testované populace (85 %) pohybovala pod nejnižší testovanou koncentrací (< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Pouze pro 10 % izolátů byla hodnota ED 50 v intervalu 800-1600 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ a pro 5 % izolátů 3200-4800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. (tabulka 16, graf 3)

Variabilita mezi testovanými izoláty Px z České republiky z roku 2016 na účinnou látku síru byla statisticky průkazná. (viz. příloha 10.1.)

Tabulka 16: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* z roku 2016 ošetřených účinnou látkou sírou

číslo izolátu	intenzita sporulace (%)						ED 50
	koncentrace účinné látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)						
	K	800	1600	3200*	4800	6400	
6/16 Px	61,67	43,33	43,33	45	30	5	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
7/16 Px	100	28,53	25	33,33	31,67	13,53	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
10/16 Px	96,67	30	26,67	10	5	5	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
12/16 Px	100	40	30	30	18,33	1,67	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
18/16 Px	95	13,33	3,33	0	0	0	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
23/16 Px	93,33	60	36,67	11,67	11,67	11,67	800-1600 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
25/16 Px	100	45	33,33	11,67	6,67	6,67	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
27/16 Px	96,67	18,33	11,67	15	10	1,67	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
29/16 Px	100	38,33	10	5	6,67	0	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
30/16 Px	93,33	8,33	5	1,67	0	0	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
36/16 Px	88,33	26,67	15	15	15	13,33	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
37/16 Px	93,33	36,67	36,67	15	5	6,67	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
41/16 Px	100	10	8,33	5	5	0	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
42/16 Px	98,33	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
44/16 Px	100	45	8,33	8,33	3,33	1,67	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
47/16 Px	86,67	75	40	45	46,67	36,67	800-1600 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
49/16 Px	100	41,67	3,33	6,67	6,67	5	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
51/16 Px	70	25	18,33	18,33	18,33	15	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
52/16 Px	100	61,67	61,67	56,67	30	20	3200-4800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
53/16 Px	65	18,33	18,33	20	18,33	11,67	< 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

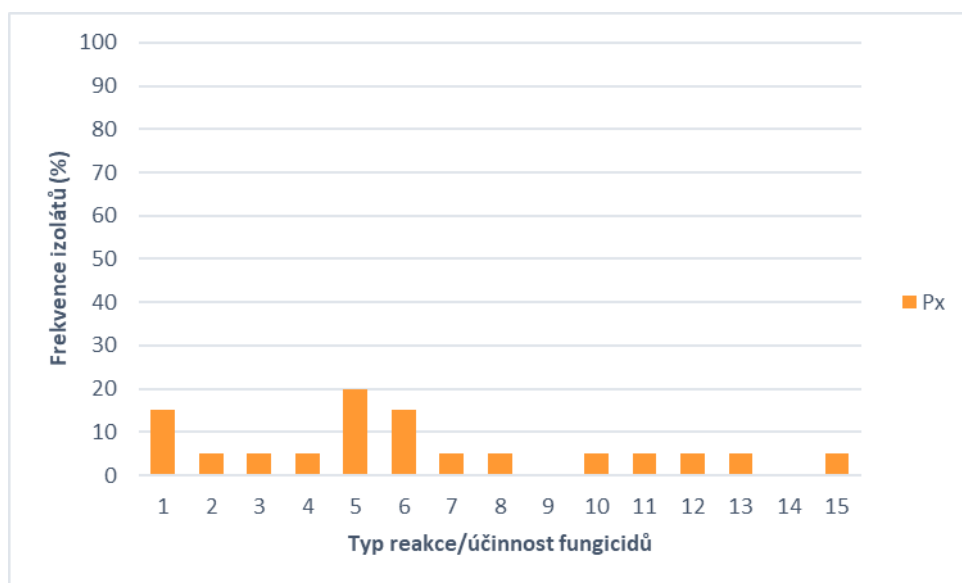
Typ reakce / účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 3: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházející z roku 2016 z České republiky na účinnou látku síru

Porovnání testovaných účinných látek vůči izolátům *P. xanthii* z ČR z roku 2016

Testované účinné vykazovaly rozdíly v účinnosti na souboru testovaných izolátů *P. xanthii*. Jako zcela neúčinný se ukázal lecitin vůči 100 % izolátů. Nízkou míru účinnosti také vykazoval fosfonát draselný pro více než 60 % testované populace a pouze 15 % testovaných izolátů bylo kontrolováno všemi testovanými koncentracemi. Přípravek obsahující síru byl vůči testovanému souboru *P. xanthii* částečně účinný, kdy 40 % populace mělo na doporučené koncentraci ($3200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) pouze senzitivní reakci. Středně rezistentní reakce na vyšší testovaných koncentracích síry než doporučená koncentrace ($3200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) bylo pozorováno u 30 % izolátů. Pouze 5 % testované populace bylo rezistentních vůči všem testovaným koncentracím síry. (graf 4)

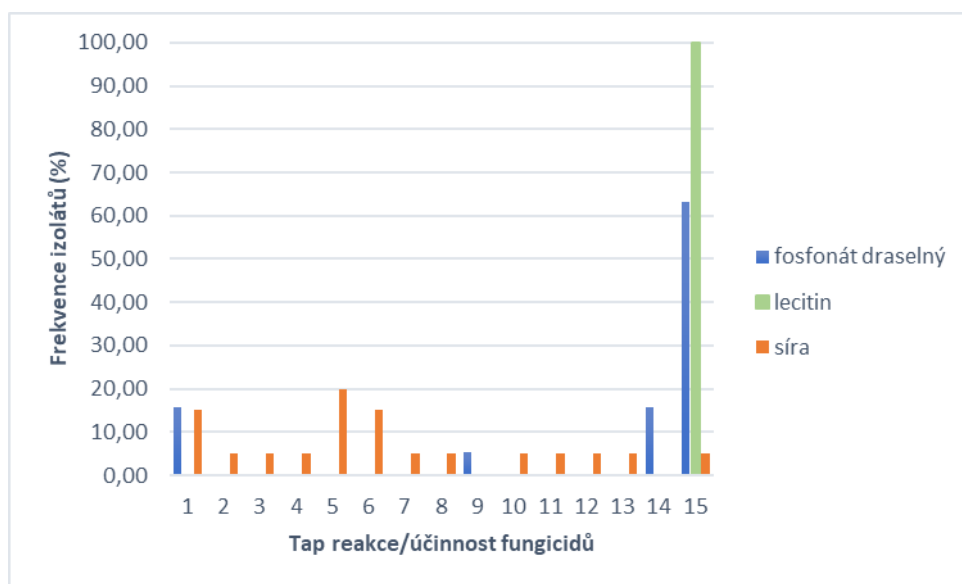
Typ reakce / účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 4: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházející z roku 2016 z České republiky na vybrané účinné látky

6.2. Testování rezistence vybraných účinných látek vůči sbírkovým a pracovním izolátům *P. xanthii*

Výsledky testování izolátů *P. xanthii* pocházející ze sbírkové kolekce a pracovních sbírek na vybrané účinné látky pomocí modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) ukázaly rozdíly v účinnosti.

V následující kapitole této práce jsou pak komentovány podobnosti či rozdíly v reakci izolátů *P. xanthii* na testované účinné látky.

Fosfonát draselný

Fosfonát draselný byl na testovaném souboru *P. xanthii* částečně účinný. 75 % populace bylo kontrolováno doporučenou koncentrací ($2736 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), z nichž pouze 12 % izolátů bylo středně rezistentních na nižších testovaných koncentracích než doporučená koncentrace ($2736 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) a stejné procento izolátů bylo středně rezistentních pouze na nejnižší testované koncentraci ($1368 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Polovina testované populace (50 %) vykazovala senzitivní odpověď vůči všem testovaným koncentracím. Naopak 25 % testovaných izolátů *P. xanthii* bylo rezistentních vůči všem testovaným koncentracím. Hodnota ED 50 se u 75 % izolátů pohybovala pod nejnižší testovanou koncentrací ($< 1368 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), na rozdíl od 25 % testované populace, u které byla hodnota ED 50 nad nejvyšší testovanou koncentrací ($> 4104 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). (tabulka 17, graf 5)

Variabilita mezi testovanými izoláty Px z České republiky pocházející ze sbírkové kolekce a pracovních sbírek na účinnou látku fosfonát draselný byla statisticky průkazná. (viz. příloha 10.1.)

Sbírkový izolát pocházející z Německa (Ger 1/12 Px) se ukázal jako zcela rezistentní vůči všem testovaným koncentracím fosfonátu draselného a také hodnota ED 50 se u něj pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací ($> 4104 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). (tabulka 17)

Tabulka 17: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* ošetřených účinnou látkou fosfonátem draselným

intenzita sporulace (%)							ED 50
číslo izolátu	koncentrace účinné látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)						
Česko	K	1368	2052	2736*	3420	4104	
13/08 Px	100	26,67	21,67	1,67	5	1,67	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
10/10 Px	98,33	0	0	0	0	0	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
52/11 Px	100	0	0	0	0	0	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
12/18 Px	96,67	20	8,33	0	0	0	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
19/18 Px	96,67	98,33	90	96,67	91,67	86,67	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
22/18 Px	100	0	0	0	0	0	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
30/18 Px	100	96,67	96,67	96,67	95	88,33	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
31/18 Px	95	0	0	0	0	0	< 1368 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
Německo							
Ger 1/12 Px	100	100	100	100	98,33	98,33	> 4104 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

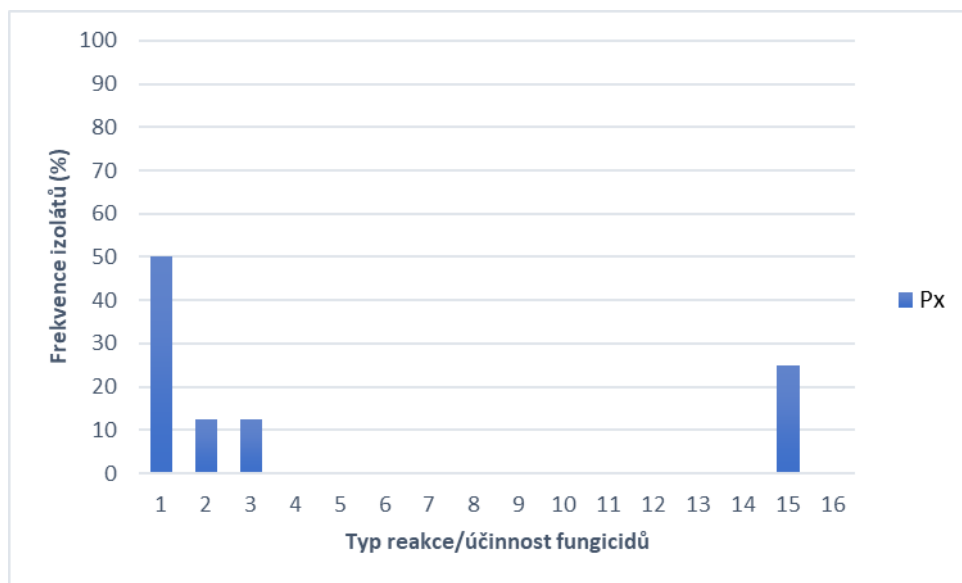
Typ reakce /účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 5: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházejících ze sbírkové kolekce PřF UP

Olomouc a pracovních sbírek Katedry Botaniky z České republiky na účinnou látku fosfonát draselný

Lecitin + mléčný albumin + kasein

Přípravek obsahující účinné látky lecitin, mléčný albumin a kasein byl vůči testovanému souboru izolátů *P. xanthii* zcela neúčinný, kdy všechny izoláty měly rezistentní reakci na všech testovaných koncentracích. Hodnota ED 50 se u 100 % izolátů pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací tohoto přípravku tedy $> 1000 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (lecitin), $> 92,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (mléčný albumin), $> 407,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (kasein). (tabulka 18, graf 6)

Variabilita mezi testovanými izoláty Px z České republiky pocházející ze sbírkové kolekce a pracovních sbírek na vybrané účinné látky lecitin, mléčný albumin a kasein byla statisticky průkazná. (viz. příloha 10.1.)

Sbírkový izolát pocházející z Německa (Ger 1/12 Px) se ukázal jako zcela rezistentní vůči všem testovaným koncentracím lecitinu, mléčnému albuminu a kaseinu. Hodnota ED 50 se u něj pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací ($> 1000 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (lecitin), $> 92,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (mléčný albumin), $> 407,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (kasein)). (tabulka 18)

Tabulka 18: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* ošetřených účinnou látkou lecitinem

intenzita sporulace (%)							ED 50
číslo izolátu	koncentrace účinné látky						
Česko	K	I.	II.	III.*	IV.	V.	
13/08 Px	96,67	96,67	88,33	83,33	93,33	91,67	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
10/10 Px	100	86,67	80	80	80	78,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
52/11 Px	91,67	95	88,33	91,67	98,33	98,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
12/18 Px	100	100	100	100	98,33	98,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
19/18 Px	100	100	93,33	98,33	95	93,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
22/18 Px	100	98,33	96,67	96,67	83,33	95	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
30/18 Px	100	100	100	100	100	100	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
31/18 Px	98,33	98,33	98,33	96,67	95	78,33	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
Německo							
Ger 1/12 Px	100	100	100	98,33	100	100	> 1000 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 92,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, > 407,5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

I. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 200 (L), 18,5 (MA), 81,5 (K); II. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 400 (L), 37 (MA), 163 (K); III. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 600 (L), 55,5 (MA), 244,5 (K)*; IV. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 800 (L), 75 (MA), 326 (K); V. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 1000 (L), 92,5 (MA), 407,5 (K)

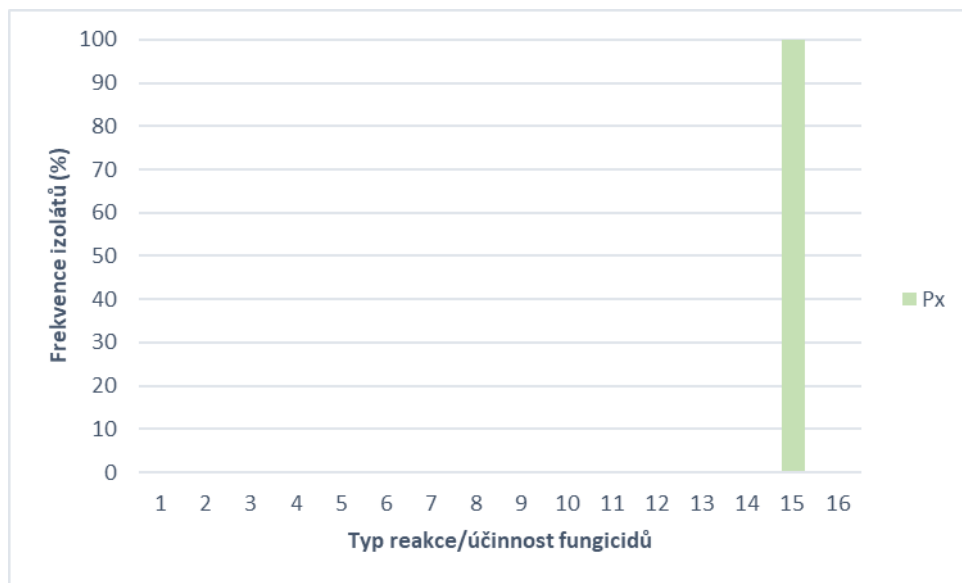
Typ reakce / účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 6: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházejících z České republiky na účinnou látku lecitin

Hydrogenuhlíčan draselný

Přípravek obsahující hydrogenuhlíčan draselný byl vůči testovanému souboru izolátů *P. xanthii* zcela neúčinný, kdy všechny izoláty měly rezistentní reakci na všech testovaných koncentracích. Hodnota ED 50 se u všech izolátů pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací tohoto přípravku ($> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). (tabulka 19, graf 7)

Variabilita mezi testovanými izoláty Px z České republiky pocházející ze sbírkové kolekce a pracovních sbírek na účinnou látku hydrogenuhlíčan draselný byla statisticky průkazná. (viz. příloha 10.1.)

Sbírkový izolát pocházející z Německa (Ger 1/12 Px) se ukázal jako zcela rezistentní vůči všem testovaným koncentracím lecitinu, mléčnému albuminu a kaseinu. Hodnota ED 50 se u něj pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací ($> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). (tabulka 19)

Tabulka 19: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* ošetřených účinnou látkou hydrogenuhlíčanem draselným

intenzita sporulace (%)							ED 50
číslo izolátu	koncentrace účinné látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)						
Česko	K	622	1244	2487,5*	3731,5	4975	
13/08 Px	100	100	100	100	78,33	90	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
10/10 Px	100	100	100	100	100	100	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
52/11 Px	100	100	100	95	95	91,67	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
60/11 Px	100	100	100	100	100	100	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
42/16 Px	100	98,33	63,33	53,33	100	98,33	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
12/18 Px	96,67	96,67	93,33	96,67	95	96,67	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
19/18 Px	95	100	100	98,33	100	100	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
22/18 Px	96,67	95	88,33	93,33	83,33	98,33	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
30/18 Px	100	100	90	100	100	98,33	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
31/18 Px	96,67	91,67	95	96,67	95	88,33	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
Německo							
Ger 1/12 Px	96,67	100	100	100	100	100	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

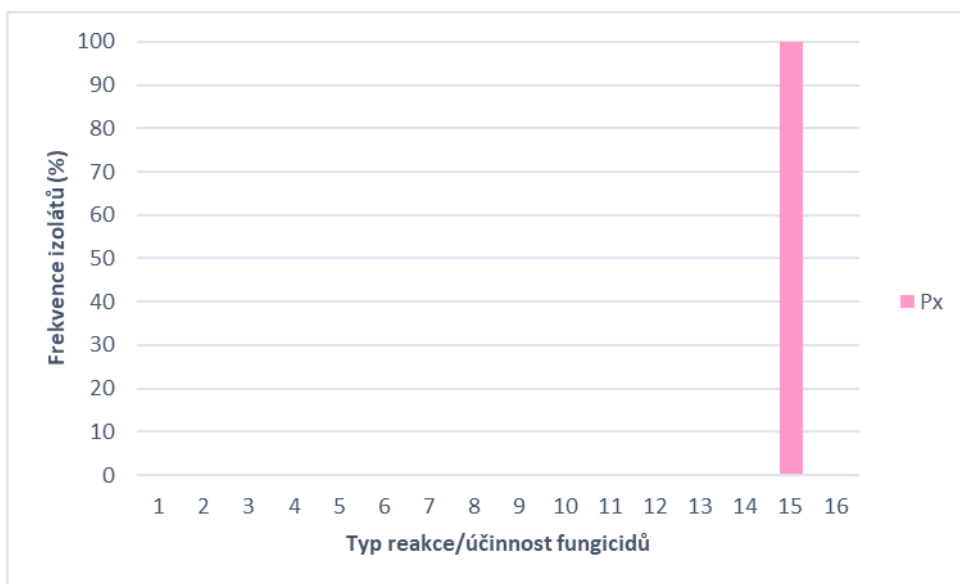
Typ reakce / účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 7: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházející z České republiky na účinnou látku hydrogenuhličitan draselný

Tymiánový olej

Přípravek obsahující tymiánový olej vykazoval na testovaném souboru *P. xanthii* toxicitu na listových discích u všech testovaných koncentracích, včetně neošetřené kontroly (destilovaná voda). Z tohoto důvodu nebylo možné experiment s tymiánovým olejem hodnotit, a proto se modifikovaná metoda listových disků pro testování tymiánového oleje ukázala jako nevhodná. Stejně tomu bylo i v případě izolátu *P. xanthii* pocházejícího z Německa (Ger 1/12 Px). (tabulka 20)

Tabulka 20: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* ošetřených účinnou látkou tymiánovým olejem

intenzita sporulace						
Číslo izolátu	koncentrace účinné látky (%)					
Česko	K	0,2	0,3	0,4*	0,5	0,6
13/08 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10/10 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
52/11 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
60/11 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
42/16 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12/18 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19/18 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
22/18 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30/18 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
31/18 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Německo						
Ger 1/12 Px	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

Porovnání testovaných účinných látek vůči sbírkovým a pracovním izolátům izolátům *P. xanthii* z ČR

Testované účinné vykazovaly rozdíly v účinnosti na souboru testovaných izolátů *P. xanthii*. Jako zcela neúčinné se ukázaly lecitin a hydrogenuhličitan draselný vůči 100 % izolátů. Naopak fosfonát draselný byl částečně účinný. 75 % populace bylo kontrolováno doporučenou koncentrací ($2736 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Naopak 25 % testovaných izolátů *P. xanthii* bylo rezistentních vůči všem testovaným koncentracím fosfonátu draselného. (graf 8)

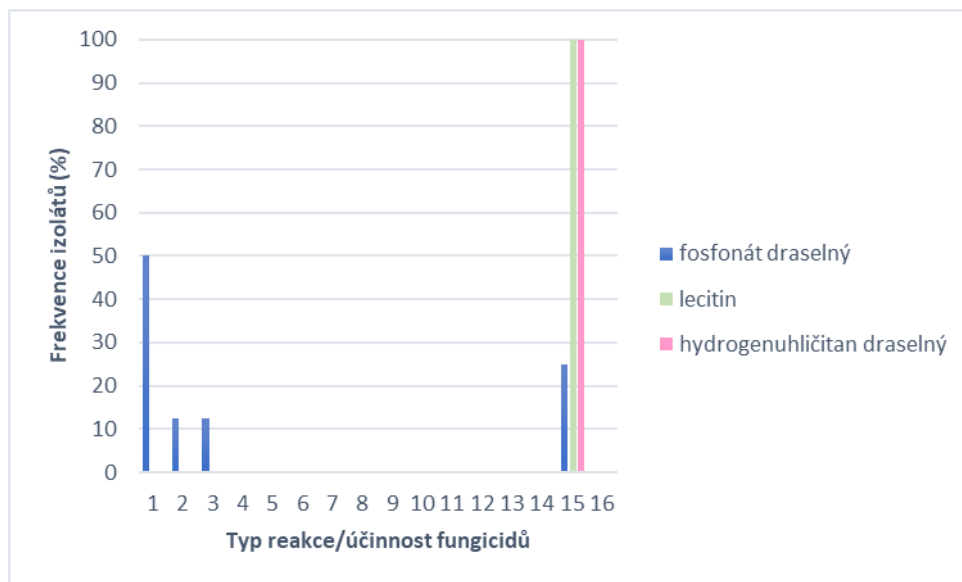
Typ reakce /účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 8: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházející z České republiky na vybrané účinné látky

6.3. Metoda celých rostlin

Výsledky testování účinnosti vybraných izolátů *P. xanthii* pomocí metody celých rostlin ukázaly neúčinnost všech testovaných účinných látek (fosfonátu draselného, lecitinu, mléčného albuminu a kaseinu, hydrogenuhličitanu draselného a tymiánového oleje).

Fosfonát draselný

Přípravek obsahující účinnou látku fosfonát draselný byl vůči všem třem izolátům *P. xanthii* zcela neúčinný. Všechny izoláty měly rezistentní reakci na všech testovaných koncentracích a hodnota ED 50 se u nich pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací tohoto přípravku ($> 4104 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) (tabulka 21, graf 9)

Tabulka 21: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* ošetřených účinnou látkou fosfonátem draselným testovaných metodou celých rostlin

číslo izolátu	intenzita sporulace (%)						ED 50
	koncentrace účinné látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)						
	K	1368	2052	2736*	3420	4104	
41/16 Px	90	98,33	96,67	93,33	90	98,33	$> 4104 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
30/18 Px	100	100	100	93,33	95	81,67	$> 4104 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
31/18 Px	91,67	100	96,67	93,33	96,67	98,33	$> 4104 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

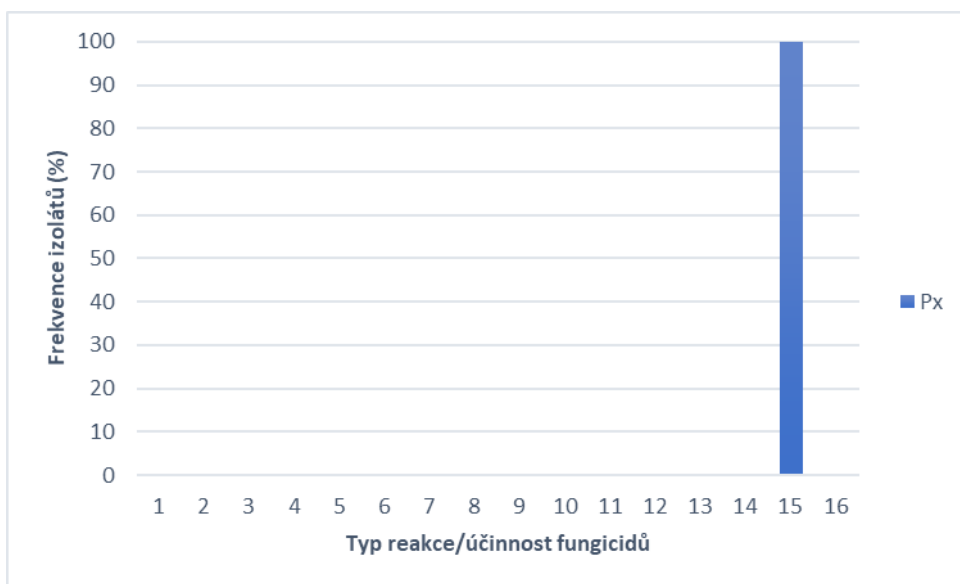
Typ reakce / účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 9: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházející z České republiky na účinnou látku fosfonát draselný

Lecitin + mléčný albumin + kasein

Přípravek obsahující účinné látky lecitin, mléčný albumin a kasein byl vůči všem izolátům *P. xanthii* zcela neúčinný, kdy vykazovaly rezistentní reakci na všech testovaných koncentracích. Hodnota ED 50 se u testovaných izolátů *P. xanthii* lišila, u dvou z nich (18/16 Px a 12/18 Px) se pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací tohoto přípravku tedy $> 1000 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (lecitin), $> 92,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (mléčný albumin), $> 407,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (kasein). Pouze u jednoho izolátu (3/16 Px) byla hodnota ED 50 $600 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$. (tabulka 22, graf 10)

Sbírkový izolát pocházející z Německa (Ger 1/12 Px) se ukázal jako zcela rezistentní vůči všem testovaným koncentracím lecitinu, mléčnému albuminu a kaseinu. Hodnota ED 50 se u něj pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací ($> 1000 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (lecitin), $> 92,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (mléčný albumin), $> 407,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ (kasein)). (tabulka 22)

Tabulka 22: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podospheara xanthii* ošetřených účinnou látkou lecitinem testovaných metodou celých rostlin

číslo izolátu	intenzita sporulace (%)						ED 50
	koncentrace účinné látky ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$)						
Česko	K	I.	II.	III.*	IV.	V.	
3/16 Px	83,33	68,33	66,67	50	41,67	41,67	$600 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
18/16 Px	75	90	100	73,33	83,33	66,67	$> 1000 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, $92,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, $> 407,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
12/18 Px	100	100	100	100	98,33	98,33	$> 1000 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, $92,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, $> 407,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$
Německo							
Ger 1/12 Px	100	100	100	100	100	86,67	$> 1000 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, $92,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, $> 407,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podospheara xanthii*

I. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 200 (L), 18,5 (MA), 81,5 (K); II. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 400 (L), 37 (MA), 163 (K); III.* koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 600 (L), 55,5 (MA), 244,5 (K)*; IV. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 800 (L), 75 (MA), 326 (K); V. koncentrace ($\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$): 1000 (L), 92,5 (MA), 407,5 (K)

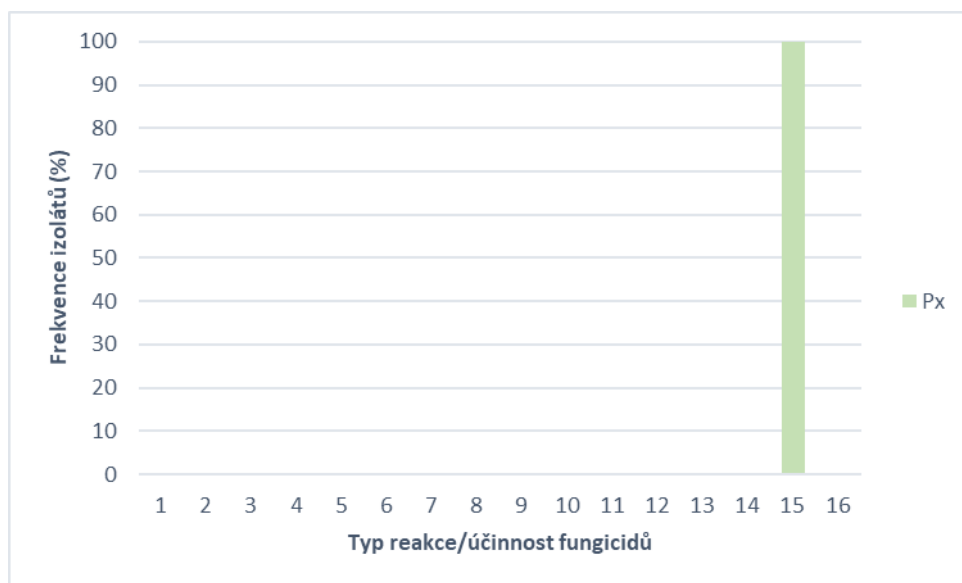
Typ reakce /účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 10: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházející z České republiky na účinnou látku lecitin

Hydrogenuhlíčan draselný

Přípravek obsahující hydrogenuhlíčan draselný byl vůči testovanému izolátu *P. xanthii* (42/16 Px) zcela neúčinný, kdy byla pozorována rezistentní reakce na všech testovaných koncentracích. Hodnota ED 50 se u něj pohybovala nad nejvyšší testovanou koncentrací ($> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) (tabulka 23, graf 11)

Tabulka 23: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* ošetřených účinnou látkou hydrogenuhlíčanem draselným testovaných metodou celých rostlin

číslo izolátu	intenzita sporulace (%)						ED 50
	koncentrace účinné látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)						
	K	622	1244	2487,5*	3731,5	4975	
42/16 Px	100	100	100	96,67	98,33	88,33	$> 4975 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

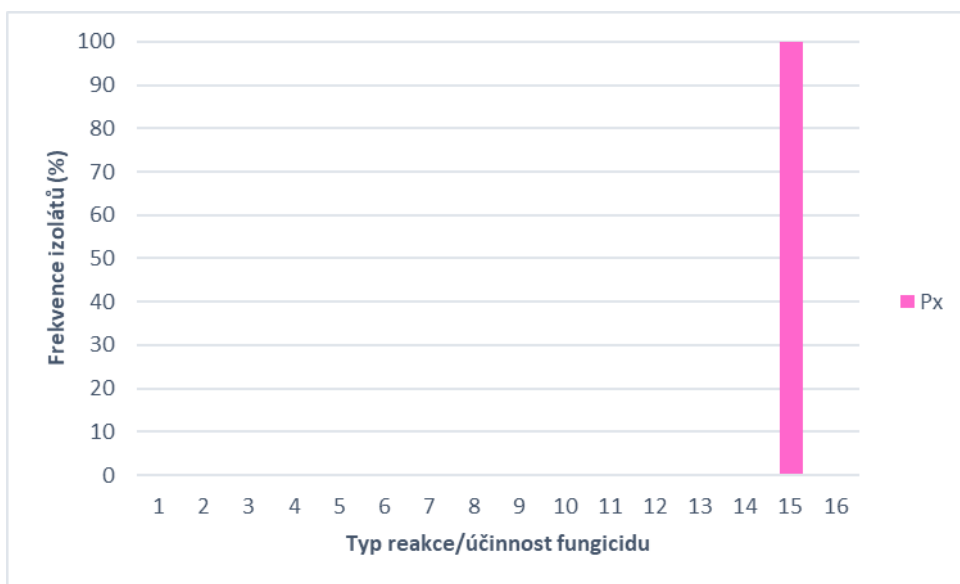
Typ reakce /účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 11: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházející z České republiky na účinnou látku hydrogenuhličitan draselný

Tymiánový olej

Přípravek obsahující tymiánový olej byl vůči testovanému izolátu *P. xanthii* (42/16 Px) neúčinný na koncentracích 0,2 %, 0,3 %, 0,4 %, na nichž byla pozorována rezistentní reakce. Na vyšších testovaných koncentracích (0,5 %, 0,6 %) však byla zaznamenána pouze senzitivní reakce. Dá se tedy říci, že tymiánový olej byl pro testovaný izolát účinný při vyšších koncentracích. (tabulka 24, graf 12)

Tabulka 24: Celkový stupeň napadená listových disků (vyjádřený v %) izolátů *Podosphaera xanthii* ošetřených účinnou látkou tymiánovým olejem metodou celých rostlin

intenzita sporulace						
číslo izolátu	koncentrace účinné látky (%)					
	K	0,2	0,3	0,4*	0,5	0,6
42/16 Px	100,00	100,00	98,33	83,33	8,33	8,33

*koncentrace doporučená výrobcem; patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

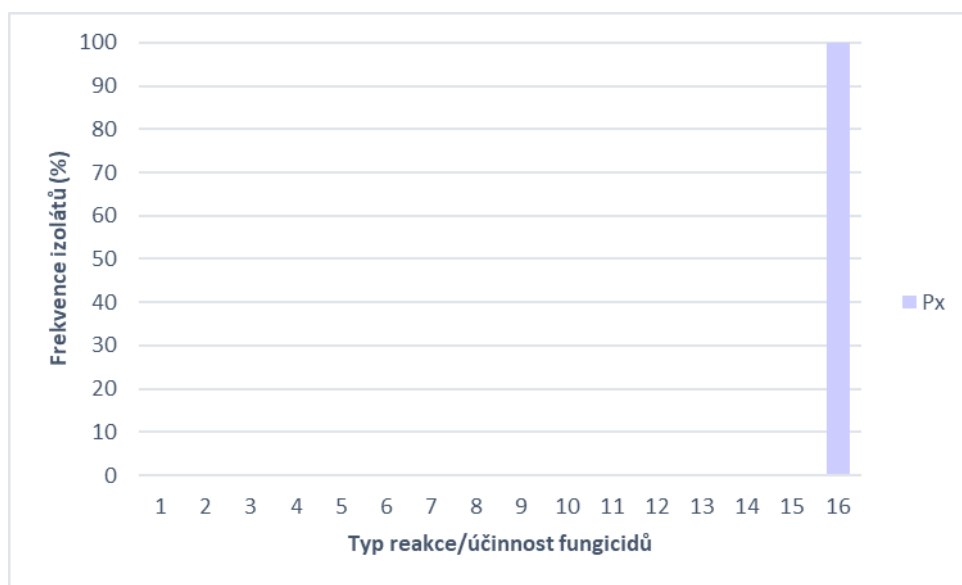
Typ reakce /účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 12: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházející z České republiky na účinnou látku tymiánový olej

Porovnání testovaných účinných látek

Účinné látky: fosfonát draselný, hydrogenuhličitan draselný a lecitin, mléčný albumin a kasein na testovaných izolátech *P. xanthii* metodou celých rostlin zcela neúčinné. Tymiánový olej se ukázal jako účinný při vyšších testovaných koncentracích. A navíc se metoda celých rostlin u tymiánového oleje ukázala být vhodnou metodou pro testování. (graf 12)

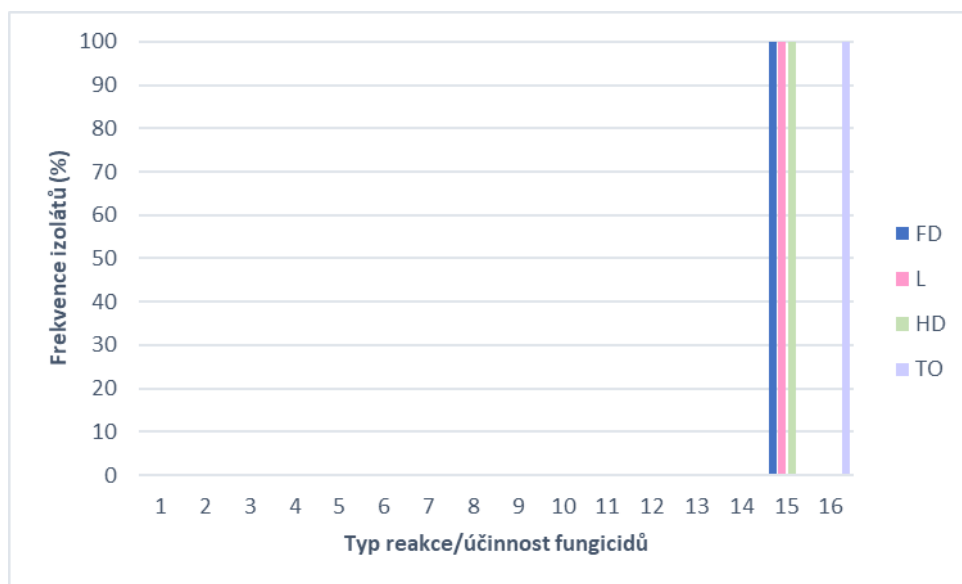
Typ reakce / účinnost fungicidů (ú.l.)	Koncentrace fungicidů/reakce					
	K	I.	II.	III.	IV.	V.
1	+	-	-	-	-	-
2	+	(-)	-	-	-	-
3	+	(-)	(-)	-	-	-
4	+	(-)	(-)	(-)	-	-
5	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	(-)	(-)	-	-
8	+	+	(-)	(-)	(-)	-
9	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
10	+	+	+	(-)	-	-
11	+	+	+	(-)	(-)	(-)
12	+	+	+	+	(-)	-
13	+	+	+	+	(-)	(-)
14	+	+	+	+	+	(-)
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-

III. koncentrace doporučená výrobcem

- senzitivní reakce (stupeň napadení SN 0-10 %);

(-) středně rezistentní reakce (SN 10,1-34,9 %);

+ rezistentní reakce (SN \geq 35 %)



Graf 12: Reakce testovaného souboru izolátů *P. xanthii* pocházející z České republiky na vybrané účinné látky

FD – fosfonát draselný, L – lecitin, HD – hydrogenuhličitan draselný, TO – tymiánový olej

6.4. Porovnání obou metod

V rámci experimentu byla porovnávána účinnost dvou metod: modifikovaná metoda listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) a metoda celých rostlin, jež se dosud v experimentech nepoužívala. Metody byly srovnávány u účinných látek: fosfonátu draselného, lecitinu, mléčného albuminu, kaseinu a hydrogenuhličitanu draselného.

V následující kapitole této práce jsou srovnávány reakce testovaných izolátů na vybrané účinné látky mezi oběma metodami. Podle hodnot intenzity sporulace na jednotlivých koncentracích. Také byly obě metody porovnávány statisticky v rámci každého testovaného izolátu u jednotlivých účinných látek. (příloha 10.1.)

Fosfonát draselný

Byly testovány tři izoláty *P. xanthii* (41/16 Px, 30/18 Px, 31/18 Px) pro obě metody. Pro izoláty 41/16 Px a 31/18 Px byla intenzita sporulace nižší při použití metody listových disků, což se potvrdilo také statisticky. (příloha 10.1.) Proto se metoda listových disků ukázala jako vhodnější metodou. U izolátu 30/18 Px při srovnání metod nebyl statisticky významný rozdíl ve sporulaci.

Izolát 41/16 Px

90	98.33	96.67	93.33	90	98.33
	1.092556	1.074111	1.037	1	1.092556
83.33	68.33	63.33	65	48.33	36.67
	0.819993	0.75999	0.780031	0.579983	0.440058
cele	1.092556	1.074111	1.037	1	1.092556
disky	0.819993	0.75999	0.780031	0.579983	0.440058

Izolát 30/18 Px

100	100	100	93,33	95	81,67
	1	1	0.933	0.950000	0.816700
100	96,67	96,67	96,67	95	88,33
	0.966700	0.966700	0.966700	0.950000	0.883300
cele	1	1	0.933	0.950000	0.816700
disky	0.966700	0.966700	0.966700	0.950000	0.883300

Izolát 31/18 Px

91,67	100	96,67	93,33	96,67	98,33
	1.090869	1.054543	1.018108	1.054543	1.054543
95	0	0	0	0	0
	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
cele	1.090869	1.054543	1.018108	1.054543	1.054543
disky	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000

Lecitin + mléčný albumin + kasein

Byly testovány čtyři izoláty (3/16 Px, 18/16 Px, 12/18 Px a Ger 1/12 Px). Pro izolát 18/16 Px byla intenzita sporulace nižší při použití metody listových disků, to se potvrdilo také statisticky. Proto se metoda listových disků ukázala jako vhodnější metodou. Na rozdíl od izolátu 3/16 Px, kdy byla intenzita sporulace nižší při použití metody celých rostlin. Pro izoláty 12/18 Px a Ger 1/12 Px při srovnání metod nebyly statisticky významné rozdíly ve sporulaci. (příloha 10.1.)

3/16 Px

83,33	68,33	66,67	50	41,67	41,67
	0.819993	0.800072	0.600024	0.500060	0.500060
83,33	75	81,67	88,33	58,33	71,67
	0.900036	0.980079	1.060002	0.699988	0.860074
cele	0.819993	0.800072	0.600024	0.500060	0.500060
disky	0.900036	0.980079	1.060002	0.699988	0.860074

18/16 Px

75	90	100	73,33	83,33	66,67
	1.200000	1.333333	0.977733	1.111067	0.888933
86,67	80	78,33	66,67	80	66,67
	0.923041	0.903773	0.769240	0.923041	0.769240
cele	1.200000	1.333333	0.977733	1.111067	0.888933
disky	0.923041	0.903773	0.769240	0.923041	0.769240

12/18 Px

100	100	100	100	98,33	98,33
	1.000000	1.000000	1.000000	0.983300	0.983300
100	100	100	100	98,33	98,33
	1.000000	1.000000	1.000000	0.983300	0.983300
cele	1.000000	1.000000	1.000000	0.983300	0.983300
disky	1.000000	1.000000	1.000000	0.983300	0.983300

Ger 1/12 Px

100	100	100	100	100	86,67
	1.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.866700
100	100	100	98,33	100	100
	1.000000	1.000000	0,9833	1.000000	1.000000
cele	1.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.866700
disky	1.000000	1.000000	0.983300	1.000000	1.000000

Hydrogenuhlíčan draselný

Byl testován jeden izolát (42/16 Px), u kterého při srovnání metod nebyl statisticky zaznamenán významný rozdíl ve sporulaci. (příloha 10.1.)

42/16 Px

100	100	100	96,67	98,33	88,33
	1.000000	1.000000	0.966700	0.983300	0.883300
100	98,33	63,33	53,33	100	98,33
	0.983300	0.633300	0.533300	1.000000	0.983300
cele	1.000000	1.000000	0.966700	0.983300	0.883300
disky	0.983300	0.633300	0.533300	1.000000	0.983300

Tymiánový olej

U této účinné látky se ukázal nejvýraznější rozdíl mezi oběma použitými metodami. U metody listových disků se objevila fytoxicita na všech testovaných koncentracích včetně kontroly, a nebylo možné disky hodnotit. Z tohoto důvodu byla vhodnější metoda celých rostlin, u které nedocházelo k fytoxicitě disků a bylo možné je hodnotit při všech testovaných koncentracích. Otázkou je, zda při metodě celých rostlin nedošlo na otevřeném prostoru k vypařování oleje do ovzduší, a proto se sice fytoxicita neprojevila, ale zároveň to mohlo mít vliv na intenzitu sporulace.

Izolát 42/16 Px

100	100	98,33	83,33	8,33	8,33
	1.000000	0.983300	0.833300	0.083300	0.083300
0	0	0	0	0	0
	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
cele	1.000000	0.983300	0.833300	0.083300	0.083300
disky	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000

6.5. Mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného

Pro mikroskopické sledování vývoje *Podosphaera xanthii* po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného byla použita modifikovaná metoda listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008). Byl testován izolát 12/18 Px. (tabulka 25, 26) Listové disky byly mikroskopovány, hodnoceny a fotografovány po inokulaci tímto izolátem odebrané v přesných časových intervalech (7. den, 10. den, 14. den, což odpovídá 168 hodin, 240 hodin, 336 hodin) po pěti od každé koncentrace ve třech opakováních odbarvené anilinovou modří. U každého odebraného disku bylo semikvantitativní metodou hodnocena sporulace. (tabulka 27, obrázky 11-28) Výsledky byly statisticky zpracovány. Při mikroskopickém pozorování a hodnocení všech listových disků byly pozorovány konidiofory. Což potvrdilo neúčinnost hydrogenuhličitanu draselného. Na discích odebíraných 10. a 14. den (240 h a 336 h) byly také často pozorovány volné konidie. Na discích při prvním (168 h) a třetím (336 h) odběru nebyly rozdíly ve sporulaci statisticky průkazné, ale na discích z druhého odběru (240 h) ano. (přílohy 10.1.)

Tabulka 25: Celkový stupeň napadení listových disků (vyjádřený v %) izolátu *Podosphaera xanthii* ošetřených účinnou látkou hydrogenuhličitanem draselným

intenzita sporulace (%)						
Číslo izolátu	koncentrace účinné látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)					
Česko	K	622	1244	2487,5*	3731,5	4975
12/18 Px	96,67	96,67	93,33	96,67	95,00	96,67

*koncentrace doporučená výrobcem, patogen: Px – *Podosphaera xanthii*

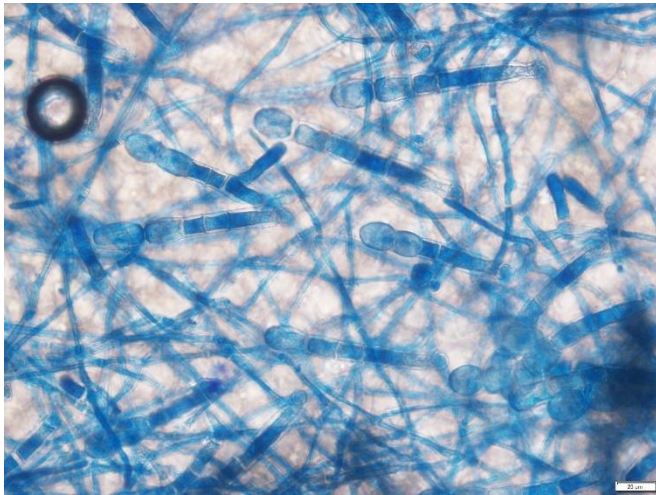
Tabulka 26: Typ reakce izolátu *Podosphaera xanthii* ošetřeného účinnou látkou hydrogenuhličitan draselným

Účinnost fungicidu/typ reakce						
Číslo izolátu	koncentrace účinné látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)					
Česko	K	622	1244	2487,5*	3731,5	4975
12/18 Px	+	+	+	+	+	+

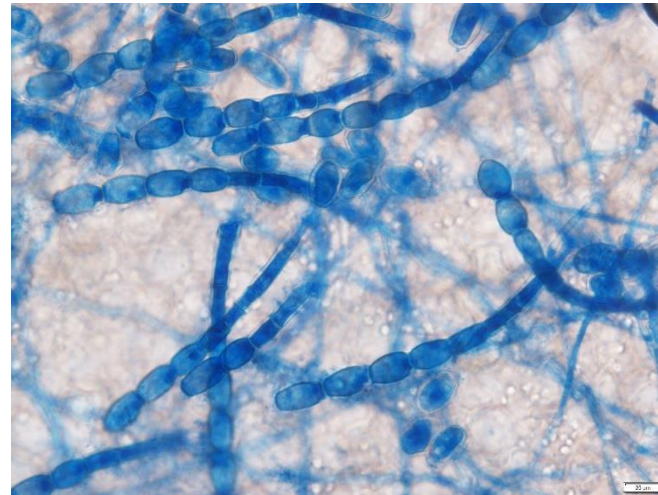
*koncentrace doporučená výrobcem, patogen: Px – *Podosphaera xanthii*, + rezistentní reakce

Tabulka 27: Počet konidioforů neboli intenzita sporulace izolátu 12/18 Px na listových discích po aplikaci přípravku s účinnou látkou hydrogenuhličitanem draselným.

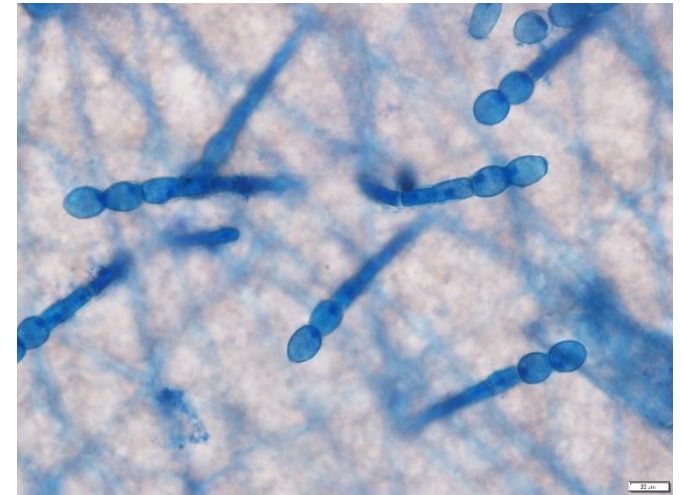
Počet odebraných listových disků	Koncentrace přípravku	Doba odběru po aplikovaném přípravku [den, h]		
		7. den (168 h)	10. den (240 h)	14. den (336 h)
$\Sigma 5$	Kontrola	sporulace		
	1	10^1-10^2	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	2	10^2-10^3	10^2-10^3	10^1-10^2
	3	10^1-10^2 + volné konidie	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	4	10^2-10^3	10^2-10^3	10^1-10^2
	5	10^1-10^2	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
$\Sigma 5$	I.			
	1	10^1-10^2	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	2	10^1-10^2	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	3	10^2-10^3	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	4	$1-10^1$ + volné konidie	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	5	10^2-10^3	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
$\Sigma 5$	II.			
	1	10^1-10^2	10^2-10^3 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie
	2	10^1-10^2	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	3	10^2-10^3	10^2-10^3 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie
	4	10^2-10^3 + volné konidie	10^2-10^3 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie
	5	10^1-10^2 + volné konidie	10^2-10^3 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie
$\Sigma 5$	III.			
	1	10^1-10^2	10^1-10^2 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie
	2	10^1-10^2 + volné konidie	10^1-10^2	$1-10^1$ + volné konidie
	3	10^1-10^2 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie
	4	10^1-10^2	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	5	10^1-10^2	10^1-10^2	10^1-10^2 + volné konidie
$\Sigma 5$	IV.			
	1	10^1-10^2	10^1-10^2 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie
	2	10^1-10^2 + volné konidie	10^1-10^2	$1-10^1$ + volné konidie
	3	10^1-10^2 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie	10^1-10^2 + volné konidie
	4	10^1-10^2	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	5	10^1-10^2	10^1-10^2	10^1-10^2 + volné konidie
$\Sigma 5$	V.			
	1	10^1-10^2	10^1-10^2 + volné konidie	$1-10^1$ + volné konidie
	2	10^2-10^3	10^2-10^3	10^1-10^2 + volné konidie
	3	10^1-10^2	10^2-10^3	$1-10^1$ + volné konidie
	4	10^1-10^2 + volné konidie	10^1-10^2	10^1-10^2 + volné konidie
	5	10^1-10^2	10^1-10^2	$1-10^1$



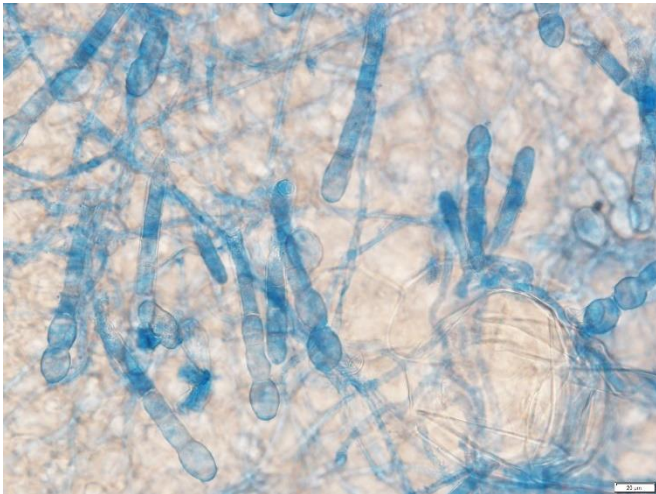
Obrázek 11: Kontrola, (7. den odběru)



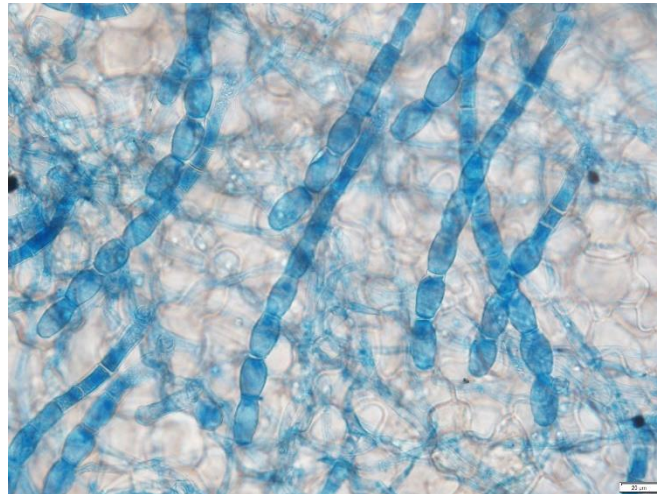
Obrázek 12: Kontrola, (10. den odběru)



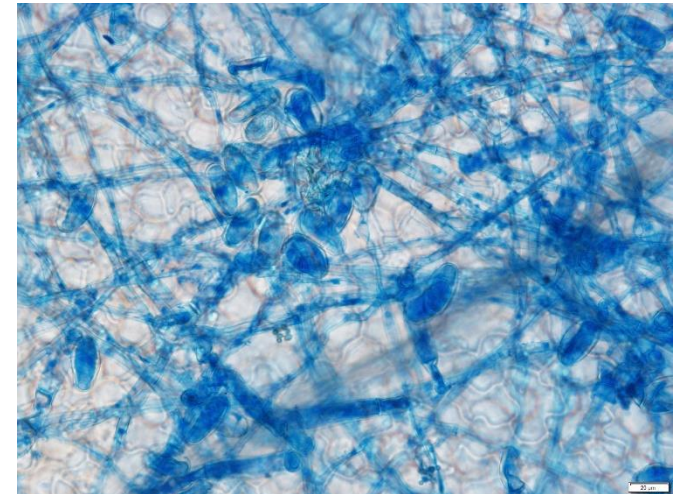
Obrázek 13: Kontrola, (14. den odběru)



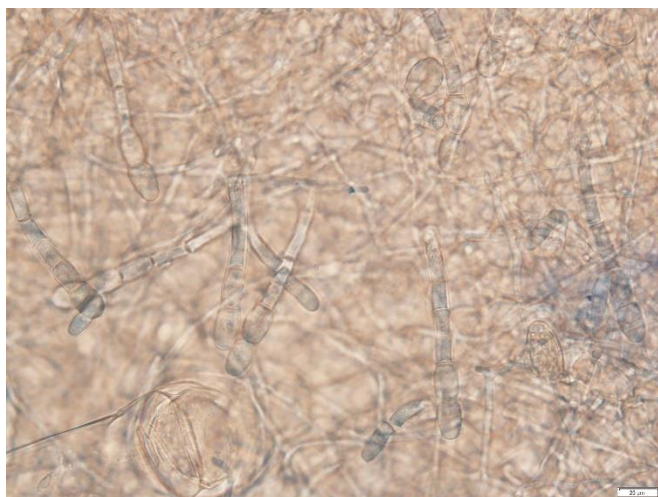
Obrázek 14: 1. koncentrace, (7. den odběru)



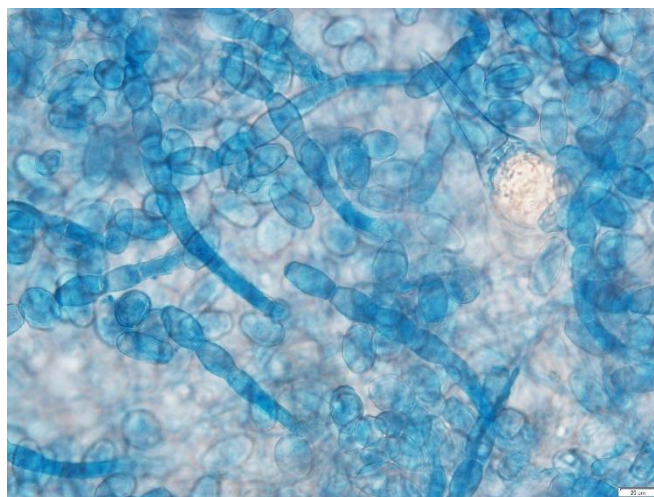
Obrázek 15: 1. koncentrace, (10. den odběru)



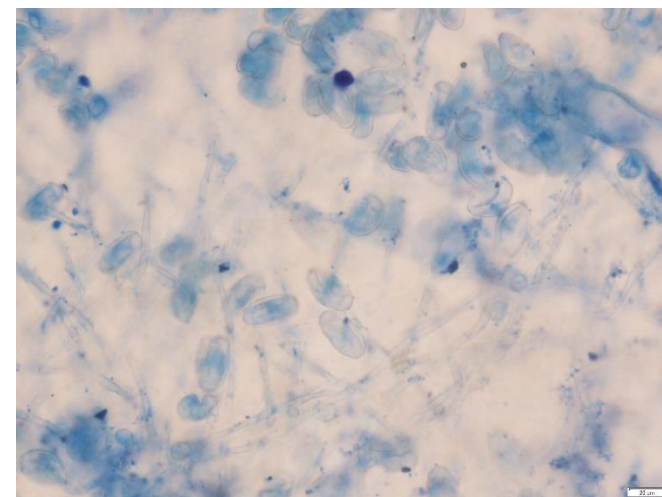
Obrázek 16: 1. koncentrace, (14. den odběru)



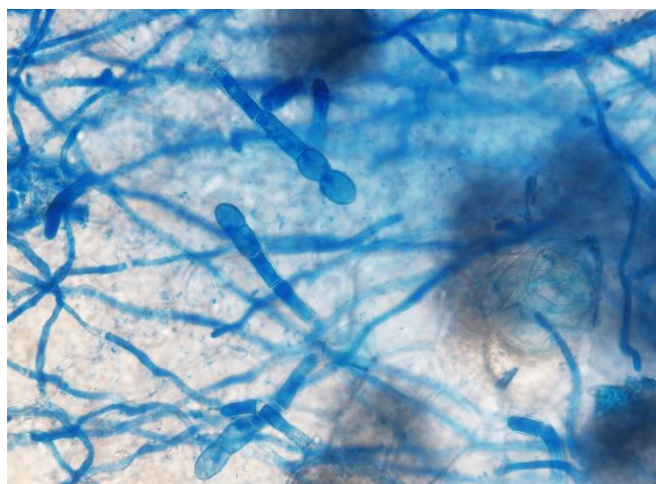
Obrázek 17: 2. koncentrace, (7. den odběru)



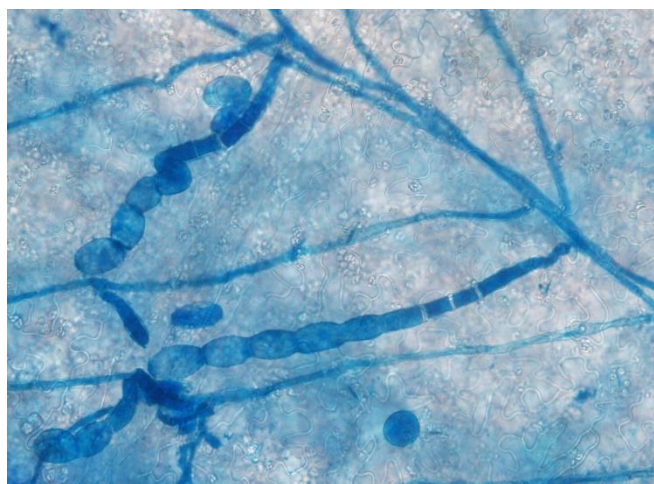
Obrázek 18: 2. koncentrace, (10. den odběru)



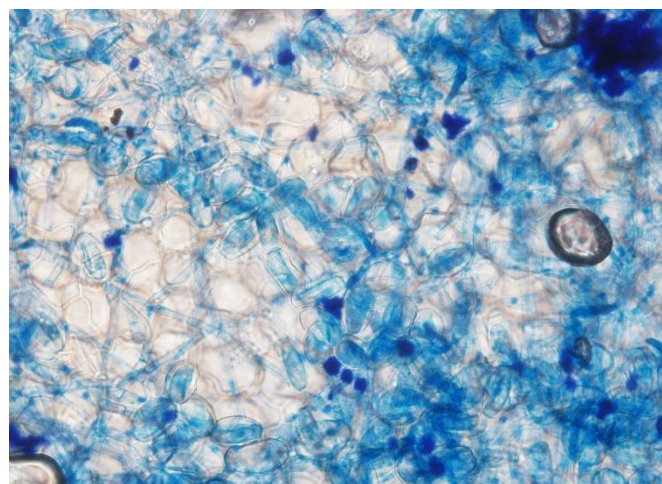
Obrázek 19: 2. koncentrace, (14. den odběru)



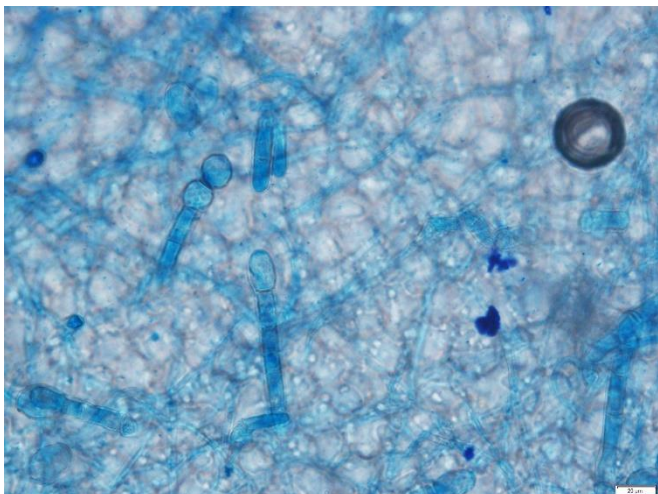
Obrázek 20: 3. koncentrace, (7. den odběru)



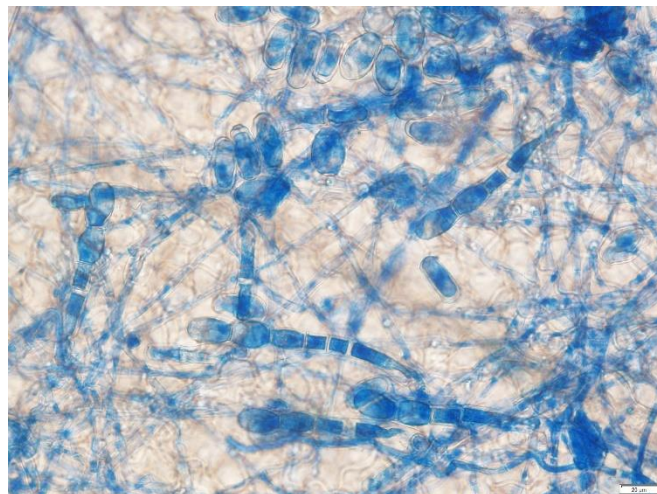
Obrázek 21: 3. koncentrace, (10. den odběru)



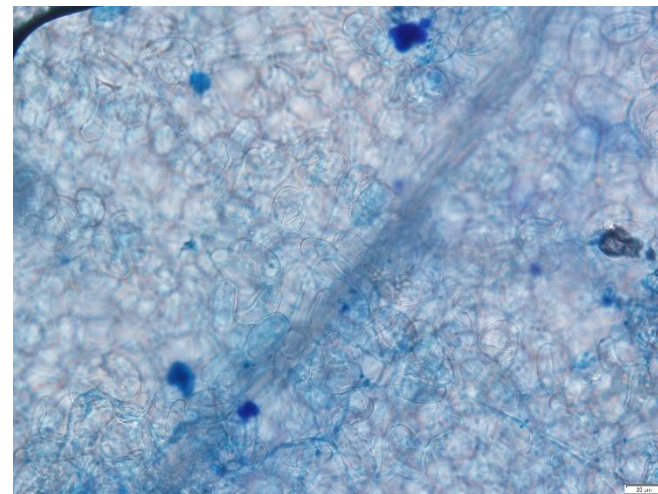
Obrázek 22: 3. koncentrace, (14. den odběru)



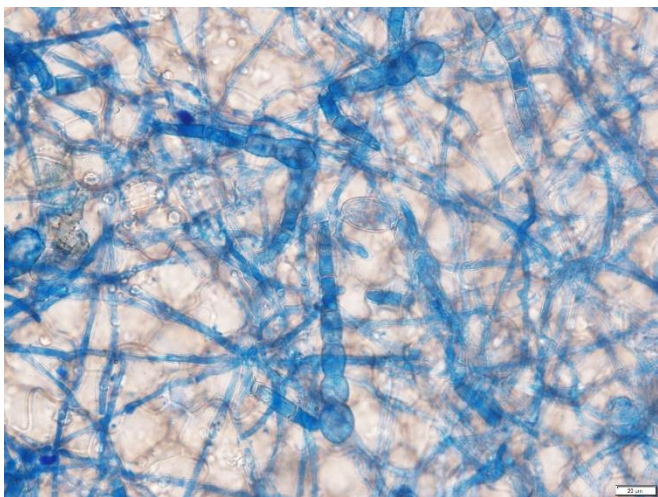
Obrázek 23: 4. koncentrace, (7. den odběru)



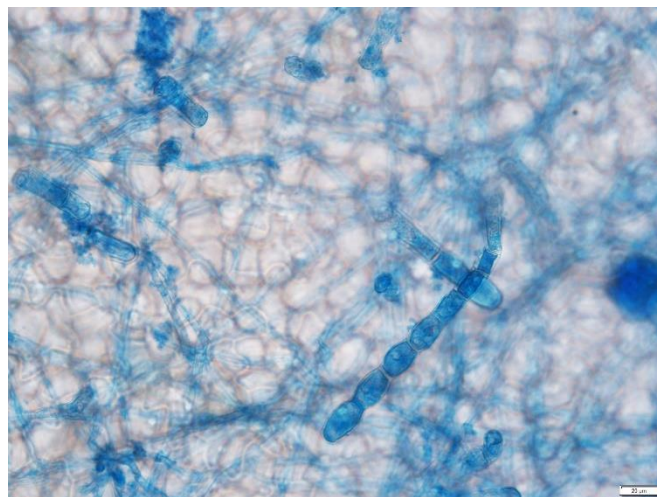
Obrázek 24: 4. koncentrace, (10. den odběru)



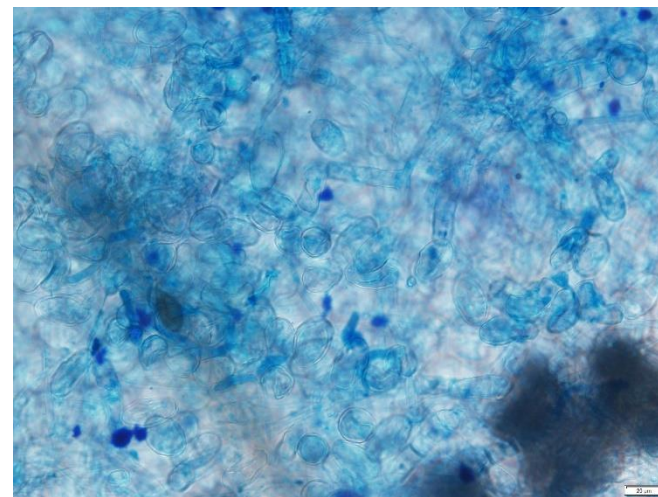
Obrázek 25: 4. koncentrace, (14. den odběru)



Obrázek 26: 5. koncentrace (7. den odběru)



Obrázek 27: 5. koncentrace (10. den odběru)



Obrázek 28: 5. koncentrace (14. den odběru)

7. Diskuze

Výsledky zpracované v experimentální části této diplomové práce mohou přispět k dlouhodobému studiu padlí dýňovitých v České republice, který je dlouhodobě řešen týmem Prof. Lebedy a Dr. Sedlákové na Katedře botaniky PřF UP v Olomouci. V následujícím textu budou rozebrány výsledky experimentální části DP a dány do souvislosti s dosud publikovanými údaji na toto téma.

Testované účinné látky (fosfonát draselný, lecitin, mléčný albumin, kasein, síra, hydrogenuhlíčan draselný, tymiánový olej) vykazovaly rozdíly v účinnosti na souboru testovaných izolátů *P. xanthii* pocházejících z České republiky. U izolátu Ger 1/12 Px, u kterého byla také sledována účinnost k fosfonátu draselného lecitinu, mléčnému albuminu, kaseinu a hydrogenuhlíchanu draselného byly také zaznamenány rozdíly v účinnosti testovaných látek. Při porovnání modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) a nově testované metody celých rostlin se ukázaly rovněž rozdíly v účinnosti u některých testovaných látek.

Mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* po aplikaci hydrogenuhlíchanu draselného byla použita modifikovaná metoda listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008). Potvrdilo neúčinnost hydrogenuhlíchanu draselného.

Fosfonát draselný

Výsledky testování účinnosti fosfonátu draselného vůči izolátům *P. xanthii* z roku 2016 z České republiky pomocí modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) ukázaly nízkou míru jeho efektivity a jsou ve shodě s výsledky testování izolátů z ČR z roku 2017 zpracované v BP Vladislavy Valné (2019). Avšak výsledky testování fosfonátu draselného vůči sbírkovým a pracovním izolátům *P. xanthii* z ČR, které zahrnovaly izoláty z let (2008, 2010, 2011, 2018), naopak ukázaly zvýšenou účinnost ve srovnání s výsledky z roku 2016 a 2017 (Valná, 2019). Výsledky testování efektivity fosfonátu draselného vůči vybraným izolátům *P. xanthii* metodou celých rostlin ukázaly jeho neúčinnost. V odborné literatuře existuje jen málo prací zabývajících se účinností fosfonátu draselného na houbové patogeny. Např. Boček et al. (2012) ve dvouletém výzkumu nepotvrdil pozitivní vliv aplikace přípravku Alginure (obsahující fosfonát draselný) na potlačení výskytu *Botrytis cinerea* a *Mycosphaerella fragariae* v porostech jahod. Na rozdíl od výsledků polního hodnocení účinnosti přípravků na ochranu

rostlin včetně Alginuru na plíseň dýňovitých (*Pseudoperonospora cubensis*) prováděným Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským. Výsledky této studie ukázaly dobrou účinnost Alginuru samostatně aplikovaného a nejlepší účinnost v kombinaci s přípravkem Kocide 2000 (kontaktní fungicid na bázi mědi). (ÚKZÚZ, 2014)

Lecitin + mléčný albumin + kasein

Výsledky testování účinnosti lecitinu, mléčného albuminu a kaseinu vůči izolátům *P. xanthii* z roku 2016 a také sbírkových a pracovních izolátů *P. xanthii* z České republiky pomocí modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) ukázaly jeho neúčinnost a jsou ve shodě s výsledky testování izolátů z ČR z roku 2017 zpracované v BP Vladislavy Valné (2019) a také s výsledky BP Ivety Bělicové (2014), která studovala účinnost lecitinu na padlí na salátu. Výsledky testování efektivity lecitinu, mléčného albuminu a kaseinu vůči vybraným izolátům *P. xanthii* metodou celých rostlin ukázaly jeho neúčinnost. V odborné literatuře nejsou zmínky prací o účinnosti lecitinu, mléčného albuminu a kaseinu na houbové patogeny ani o případné rezistenci.

Síra

Výsledky testování účinnosti síry vůči izolátům *P. xanthii* z roku 2016 z České republiky pomocí modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) ukázaly její částečnou účinnost. Výsledky jsou ve shodě testování izolátů z ČR z roku 2017 zpracované v BP Vladislavy Valné (2019) a také s výsledky BP Ivety Bělicové (2014), která studovala účinnost síry na padlí na salátu. Síra patří mezi tzv. kontaktní fungicidy neboli multi-sites inhibitory, které mají nízké riziko vzniku rezistence. (Lebeda et al., 2017). Z tohoto důvodu existuje v odborné literatuře jen velmi málo zmínek o rezistenci k síře u houbových patogenů. Výsledky polního hodnocení účinnosti přípravků na ochranu rostlin včetně síry na padlí dýňovitých (*Sphaerotheca fuliginea* (nově *Podosphaera xanthii*), *Erysiphe cichoracearum* (nově *Golovinomyces cichoracearum*)), prováděným Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským doporučily použití přípravku obsahující síru v ochraně porostu tykvovitě zeleniny na padlí dýňovitých. Testy vykazovaly 40% účinnost síry. (ÚKZÚZ, 2014) Také Bělíková et al., (2019), která zkoumala účinek síry na strupovitost jabloní (původce *Venturia inaequalis*) potvrdila její dobrou účinnost, která se zvyšovala s aplikací kombinace síry a fungicidu bez obsahu síry. Caldwell et al., 2013 také zmiňuje přípravky obsahující síru jako jedni z nejúčinnějších prostředků používaných na ochranu řady chorob ovoce a zeleniny.

Hydrogenuhlíčitan draselný

Výsledky testování účinnosti hydrogenuhlíčitanu draselného vůči sbírkovým a pracovním izolátům *P. xanthii* z České republiky pomocí modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) ukázaly jeho neúčinnost a stejně tomu bylo u metody celých rostlin. Výsledky z testování účinnosti hydrogenuhlíčitanu draselného k izolátům padlí dýňovitých zpracované v této DP jsou nové, protože se dosud žádný ze studentů v rámci svých prací tímto tématem nezabýval, a také dosud nebyla zkoumána týmem prof. Lebedy a Dr. Sedlákové. Caldwell et al., (2013) ve svém výzkumu zmiňuje pouze částečnou účinnost hydrogenuhlíčitanu draselného proti padlí na ovoci a zelenině.

Tymiánový olej

Výsledky testování účinnosti tymiánového oleje vůči sbírkových a pracovních izolátů *P. xanthii* z České republiky pomocí modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) ukázaly fytotoxicitu na všech testovaných koncentracích a nevhodnost použití této metody k testování. Z tohoto důvodu byla vhodnější metoda celých rostlin, u které nedocházelo k fytotoxicitě disků a byla prokázána účinnost při vyšších testovaných koncentracích (0,5 % a 0,6 %). Bude však potřeba tuto metodu dále ověřovat. Protože se dosud žádný ze studentů v rámci svých prací tímto tématem ve vztahu k padlí dýňovitých nezabýval, nelze je s nikým porovnat. Vysokou účinnost tymiánového oleje prokázal také Mostafa et al., (2021), který se zabýval účinkem sedmi typům esenciálních olejů vůči padlí. Matušinský et al., (2015) potvrdil vysokou účinnost tymiánového oleje na tyto patogeny obilovin (*Oculimacula yallundae*, *Microdochium navile*, *Zymoseptoria tritici*, *Pyrenophora teres a Fusarium culmorum*).

Mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* po aplikaci hydrogenuhlíčitanu draselného

Při mikroskopickém pozorování a hodnocení všech listových disků ve všech variantách pokusu po aplikaci hydrogenuhlíčitanu draselného a inokulace izolátu 12/18 Px byly pozorovány konidiofory. Tím byla potvrzena neúčinnost hydrogenuhlíčitanu draselného. Potvrdila se tak vhodnost zařazení mikroskopického sledování vývoje pro celkové hodnocení účinnosti/neúčinnosti testovaného přípravku. To ve svém výzkumu využívá řada autorů i u padlí dýňovitých jako např.: Elkot et al. (2011); Ma et al., (2017); Tanaka et al., (2017); Hafez et al., (2018).

8. Závěr

Tato diplomová práce byla zaměřena na biologické přípravky v ochraně vůči padlí dýňovitých. Teoretická část se zabývala charakteristikou padlí (Erysiphales) včetně padlí dýňovitých, chemickou ochranou vůči padlí, integrovanou ochranou rostlin, biologickou kontrolou a jinými metodami ochrany rostlin vůči padlí. Experimentální část této DP se zabývala testováním účinných látek (fosfonát draselný, lecitin, mléčný albumin, kasein, síra, hydrogenuhličitan draselný a tymiánový olej) pomocí modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008) na souboru izolátů *P. xanthii* z ČR a jednoho izolátu pocházejícího z Německa. Nově byla testována metoda celých rostlin, která byla porovnávána s modifikovanou metodou listových disků. Také bylo provedeno mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného.

Fosfonát draselný ukázal nízkou míru efektivity vůči izolátům *P. xanthii* z roku 2016 z České republiky s využitím modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008). A naopak vůči sbírkovým a pracovním izolátům *P. xanthii* z ČR měl zvýšenou účinnost. Metodou celých rostlin byla potvrzena také jeho neúčinnost *P. xanthii*.

Lecitin + mléčný albumin + kasein byl neúčinný vůči izolátům *P. xanthii* z roku 2016 a také sbírkových a pracovních izolátů *P. xanthii* z České republiky s využitím modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008). Stejně tomu bylo u metody celých rostlin.

Síra byla částečně účinná vůči izolátům *P. xanthii* z roku 2016 z České republiky s využitím modifikované metody listových disků podle Lebedy a Sedlákové (2010); Sedlákové a Lebedy (2008).

Hydrogenuhličitan draselný byl zcela neúčinný vůči sbírkovým a pracovním izolátům *P. xanthii* z České republiky u obou použitých metod.

Tymiánový olej vykazoval nejvýraznější rozdíl mezi oběma použitými metodami. Při použití modifikované metody listových disků se ukázala fytotoxicita. Metodou celých rostlin nedocházelo k fytotoxicitě a byla prokázána jeho účinnost při vyšších testovaných koncentracích (0,5 % a 0,6 %).

Mikroskopické sledování vývoje *P. xanthii* po aplikaci hydrogenuhličitanu draselného potvrdilo neúčinnost aplikované účinné látky. Potvrdila se tak vhodnost zařazení mikroskopického sledování vývoje pro celkové hodnocení účinnosti/neúčinnosti testovaného přípravku.

9. Seznam použitých zdrojů

Angeli D., Saharan K., Segarra G., Sicher C., Pertot I. (2017): Production of *Ampelomyces quisqualis* conidia in submerged fermentation and improvements in the formulation for increased shelf-life. *Crop Protection* 97: 135-144. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.012>

Angevin F., Fortino G., Bockstaller Ch., Pelzer E., Messéan A. (2017): Assessing the sustainability of crop production systems: Toward a common framework? *Crop Protection* 97:18-27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.018>.

Askary H., Carrière Y., Bélanger R. R., Brodeur J. (1998): Pathogenicity of the fungus *Vericillium lecanii* to aphids and powdery mildew. *Biocontrol Science and Technology* 8: 23-32.

Bělicová I. (2014): Studium účinků fungicidů vůči padlí čekankovému (*Golovinomyces civehoracearum*). Bakalářská práce. (Bc.) PřF UP Olomouc, 57 pp.

Bělíková H., Mészáros M., Varga L., Árvay J., Wiśniowska-Kielian B., Gondek K., Antonkiewicz J., Torma M., Lazarević B., Von Bennowitz E., Lošák T. (2019): The effect of different forms of sulphur on incidence of apple scab on apple tree (*Malus x domestica* BORKH) Gloster CV. *Scienco. Ecological Chemistry and Engineering S.* 26 (1): 199-208. <http://dx.doi.org/10.1515/eces-2019-0015>

Bleša D., Matušinský P., Tvarůžek L., Svačinová I., Růžková S., Hambálková M. (2020): Využití biologické ochrany v produkci rostlin. *Agromanuál* 2:78-81.

Blum B., Nicot P. C., Köhl J. and Ruocco M. (2011): Identified difficulties and conditions for field success of biocontrol. 3. Economic aspects: cost analysis. In: Nicot P. C. (Eds.): *Classical and augmentative biological control against diseases and pests: critical status analysis and review of factors influencing their success.* IOBC/WPRS, Chapter 7, pp. 58-61 ISBN 978-92-9067-243-2.

Boček S., Salaš P., Sasková H., Mokričková J. (2012): Effect of Alginure® (seaweed extract), Myco-Sin®VIN (sulfuric clay) and Polyversum® (*Pythium oligandrum* Drechs.) on yield and disease control in organic strawberries. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis*, LX, 8, 19–28.

Braun U., Cook R. T. A. (2012): Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews). *CBS Biodiversity Series No. 11*: 1-707.

- Bruce T. A., Smart L. E., Birch A. N. E., Block A. V., MacKenzie K., Guerrieri E., Cascone P., Luna E., Ton J. (2017): Prospects for plant defence activators and biocontrol in IPM e Concepts and lessons learnt so far. *Crop Protection* 97:128-134. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.10.003>.
- Buurma J. S., Van der Velden N.J.A. (2017): New approach to Integrated Pest Management research with and for horticulture. A vision from and beyond economics. *Crop Protection* 97:94-100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.013>.
- Caffi T., Helsen H. H. M., Rossi V., Holb I. J., Strassemeyer J., Buurma J. S., Capowiez Y., Simon S., Alaphilippe A. (2017): Multicriteria evaluation of innovative IPM systems in pome fruit in Europe. *Crop Protection* 97:101-108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.12.009>.
- Caldwell B., Sideman E., Seaman A., Shelton A., Smart Ch. (2013): Resource guide for organic insect and disease management, second edition. New York State Agricultural Experiment Station (NYSAES), Cornell University, 210 pp. ISBN 0-9676507-8-X.
- Carbó A., Torres R., Usall J., Ballesta J., Teixidó N. (2020): Biocontrol potential of *Ampelomyces quisqualis* strain CPA-9 against powdery mildew: Conidia production in liquid medium and efficacy on zucchini leaves. *Scientia Horticulturae* 267:109337, 8pp. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109337>.
- Daayf F., Bel Rhild R., Bélanger R. R. (1997a): Methyl ester of p-coumaric acid, a phytoalexin-like compound from long English cucumber leaves. *Journal of Chemical Ecology* 23: 1517-1526.
- Daayf F., Schmidt A., Bélanger R. R. (1997b): Evidence of phytoalexins in cucumber leaves infected with powdery mildew following treatment with leaf extracts of *Reynoutria sachaliensis*. *Plant Physiology* 113: 719-727.
- Daayf F., Ongena M., Boulanger R., El Hadrami I., Bélanger R. R. (2000): Induction of phenolic compounds in two cultivars of cucumber by treatment of healthy and powdery mildew-infected plants with extracts of *Reynoutria sachalinses*. *Journal of Chemical Ecology* 26: 1579-1593.
- Elkot G. A. E., Derbalah A. S. H. (2011): Use of cultural filtrates of certain microbial isolates for powdery mildew control in squash. *Journal of Plant Protection Research* 51(3): 252-260.

Fawe A., Abouzaid M., Menzies H. G., Bélanger R. R. (1998): Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopatology* 88: 396-401.

Fraaije B. A., Butters J. A., Hollomon D. W. (2000): In planta genotyping of *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* isolates for strobilutin resistance using a fluorometric allele-specific PCR assay. In: Proceedings of Brighton Crop Protection Conference, pests and diseases 2000, 13.-16. 11. 2000, Brighton, UK, BCPC, UK, pp. 401-465.

Furlan L., Vasileiadis V. P., Chiarini P., Huiting H., Leskovšek L., Razinger J., Holb I. J., Sartori E., Urek G., Verschwele A., Benvegnù I., Sattin M. (2017): Risk assessment of soil-pest damage to grain maize in Europe within the framework of Integrated Pest Management. *Crop Protection* 97:52-59. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.029>.

Gafni A., Calderon C. E., Harris R., Buxdorf K., Dafa-Berger A., Zeilinger-Reichert E., Levy M. (2015): Biological control of the cucurbit powdery mildew pathogen *Podosphaera xanthii* by means of the epiphytic fungus *Pseudozyma aphidis* and parasitism as a mode of action. *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/flps.2015.00132>.

Gwynn R. L.(2014): The manual of biocontrol agents: a world compendium. 5th ed. Alton: BCPC, ISBN: 9781901396874

Hafez Y. M., El-Nagar A. S., Elzaawely A. A., Kamel S., Maswada H. F. (2018): Biological control of *Podosphaera xanthii* the causal agent of squash powdery mildew disease by upregulation of defense-related enzymes. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 28:57 <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0058-8>.

Heilig U., Delval P., Blum B. (2011): Registered biocontrol products and their use in Europe, In: Nicot P. C. (Eds.): Classical and augmentative biological control against diseases and pests: critical status analysis and review of factors influencing their success. IOBC/WPRS, Chapter 4, s. 34-41. ISBN 978-92-9067-243-2.

Holb J., Abonyi F., Buurma J., Heijne B. (2017): On-farm and on-station evaluations of three orchard management approaches against apple scab and apple powdery mildew. *Crop Protection* 97:109-118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.023>.

Jeřábková H. (2010): Rezistence k fungicidům v populaci padlí tykvovitých v České republice. Diplomová práce (Mgr.). PřF UP Olomouc, 84 pp.

Jones L., Riaz S., Morales-Cruz A., Amrine K. Ch., McGuire B., Gubler W. D., Walker M. A., Cantu D. (2014): Adaptive genomic structural variation in the grape powdery mildew pathogen, *Erysiphe necator*. *BMC Genomics* 15:1081.

Khalaf E. M., Raizada M. N. (2018) - Bacterial seed endophytes of domesticated cucurbits antagonize fungal and oomycete pathogens including powdery mildew. *Frontiers in Microbiology*, 9:42. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00042>.

Křístková E., Lebeda A., Sedláková B. (2009): Species spektra, distribution and host range of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic, and in come other European and Middle Eastern countries. *Phytoparasitica* 37: 337-350.

Lamichhane J. R. (2017): Pesticide use and risk reduction in European farming systems with IPM: An introduction to the special issue. *Crop Protection* 97:1-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2017.01.017>.

Lebeda A. (1986): Padlí okurkové. *Erysiphe cichoracearum* a *Sphaerotheca fuliginea*, pp. 87-91. In: Lebeda A. (Ed.): *Metody testování rezistence zelenin vůči rostlinným patogenům*. VHI Sempra, VŠÚZ Olomouc, 286 pp.

Lebeda A., Reinink K. (1994): Histological characterization of resistance in *Lactuca saligna* to lettuce downy mildew (*Bremia lacucae*). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 44: 125-139.

Lebeda A., McGrath M. T., Sedláková B. et al. (2010): Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew fungi. In: Carisse, O. (Ed): *Fungicides. InTech Publishers, Vienna, Austria*, Chapter 11, s. 221-246.

Lebeda A., Sedláková B. (2010): Screening for resistance to cucurbit powdery mildew races in Czech populations. In: G. J. Holmes (Ed.): *Cucurbitaceae 2006, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA*, s. 444-452.

Lebeda A., Křístková E., Sedláková B., Coffey M. D., McCreight J. D. (2011): Gaps and perspectives of pathotype and race determination in *Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*. *Mycoscience* 52: 159-164.

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

Lebeda A., Sedláková B., Křístková E., Widrlechner M. P., Kosman E. (2021): Understanding pathogen population structure and virulence variation for efficient resistance breeding to control cucurbit powdery mildews. *Plant Pathology*. 00:1–14. <https://doi.org/10.1111/ppa.13379>.

Lescourret F. (2017): Toward a reduced use of pesticides in European farming systems: An introduction to the PURE project. *Crop Protection* 97:7-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.12.004>.

Ma Y., Ke Y., Zhu H., Li B., Li B., Zhang F., Li Y. (2017): Oleozon: A novel control strategy against powdery mildew in cucumber. *Willay. Journal of Phytopathology* 165:841–847. <http://doi.org/10.1111/jph.12624>.

Matušínský P., Zouhar M., Pavela R., Nový P. (2015): Antifungal effect of five essential oils against important pathogenic fungi of cereals. *Industrial Crops and Products* 67:208-215. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.022>.

Menzies J. G., Ehret D. L., Glass A. D. M., Helmer T., Koch C., Seywerd F. (1991a): Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. *Phytopathology* 81: 84-88.

Moyer C. (2007): Evaluation of silicon and biofungicide products for managing powdery mildew caused by *Podosphaera fusca* in gerbera daisy (*Gerbera jamesonii*). University of Florida, 83pp.

Paulík R. (2011): Porovnání účinnosti vybraných fungicidů vůči padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*) v České republice. Bakalářská práce (Bc.). PřF UP Olomouc, 82 pp.

Paulík R. (2014): Výskyt kmenů s rezistencí vůči fungicidům v populacích padlí tykvovitých v České republice. Diplomová práce (Mgr.). PřF UP Olomouc, 123 pp.

Pertot I., Caffi T., Rossi V., Mugnai L., Hoffman C., Grando M. S., Gary C., Lafond D., Duso C., Thiery D., Mazzoni V., Anfora G. (2017a): A critical review of plant protection tools for reducing pesticide use on grapevine and new perspectives for the implementation of IPM in viticulture. *Crop Protection* 97:70-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.025>.

Ruocco M., Woo S., Vinale F., Lanzuise S., Lorito M. (2011): Identified difficulties and conditions for field success of biocontrol. 2. Technical aspects: factors of efficacy. In: Nicot

P. C. (Eds.): Classical and augmentative biological control against diseases and pests: critical status analysis and review of factors influencing their success. IOBC/WPRS, Chapter 6, 45-57 pp. ISBN 978-92-9067-243-2.

Rur M., Rämert B., Hökerberg M., Vetukuri R. R., Grenville-Brigs L., Liljeroth E. (2018): Screening of alternative products for integrated pest management of cucurbit powdery mildew in Sweden. *European Journal of Plant Pathology*, 150:127–138. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1258-x>.

Sedláková B., Lebeda A. (2008): Fungicide resistance in Czech populations of cucurbit powdery mildews. *Phytopathology, Phytoparasitica* 36(3):272-289.

Sedlářová M., Lebeda A., Mikšíková P., Duchoslav M., Sedláková B., McCreight J. D. (2009): Historical aspect of *Cucumis melo* PI 313970 resistance to *Podosphaera xanthii* and *Golovinomyces cichoracearum*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 116(4): 169-176. ISSN: 1861-3829.

Strassemeyer J., Daehmlow D., Dominic A. R., Lorenz S., Golla B. (2017): SYNOPSIS-WEB, an online tool for environmental risk assessment to evaluate pesticide strategies on field level. *Crop Protection* 97:28-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.036>.

Šrajbr M. (2017): Porovnání účinnosti vybraných fungicidů vůči českým populacím padlí dýňovitých v letech 2014-2015. Diplomová práce. (Mgr.). PřF UP Olomouc, 115 pp.

Tanaka K., Fukunda M., Amaki Y., Sakaguchi T., Inai K., Ishihara A., Nakajima H. (2017): Importance of prumycin produced by *Bacillus amyloliquefaciens* SD-32 in biocontrol against cucumber powdery mildew disease. Society of Chemical Industry, (wileyonlinelibrary.com) <http://doi.org/10.1002/ps.4630>.

Valná V. (2019): Porovnání účinnosti vybraných prostředků biologické a chemické ochrany v české populaci padlí dýňovitých. Bakalářská práce (Bc.). PřF UP Olomouc, 68 pp.

Vasileiadis V. P., Veres A., Loddo D., Masin R., Sattin M., Furlan L. (2017a): Careful choice of insecticides in integrated pest management strategies against *Ostrinia nubilalis* (Hübner) in maize conserves *Orius* spp. in the field. *Crop Protection* 97:45-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.003>.

Vasileiadis V. P., Dachbrodt-Saaydeh S., Kudsk P., Colnenne-David C., Leprince F., Holb I. J., Kierzek R., Furlan L., Loddo D., Melander B., Jørgensen J. N., Newton A. C., Toque C.,

van Dijk W., Lefebvre M., Benezit M., Sattin M. (2017b): Sustainability of European winter wheat- and maize-based cropping systems: Economic, environmental and social ex-post assessment of conventional and IPM-based systems. *Crop Protection* 97: 60-69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.002>.

Vela-Corcía D., Bellón-Góez D., López-Ruiz F., Torés J. A., Pérez-García A. (2014): The *Podosphaera fusca* TUB2 gene, a molecular „Swiss Army Knife“ with multiple applications in powdery mildew research. *Fungal Biology* 118: 228-241.

Vielba-Fernández A., Polonio Á., Ruiz-Jiménez L., de Vicente A., Pérez-García A., Fernández-Ortuño D. (2020): Fungicide resistance in powdery mildew fungi. *Microorganisms* 8, 1431. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091431>.

Wurms K., Labbé C., Benhamou N., Bélanger R. R. (1999): Effects of Milsana and benzothiadiazole on the ultrastructure of powdery mildew haustoria. *Phytopathology* 89: 728-736.

Wyand R. A., Brown J. K. M. (2005): Sequence variation in the CYP51 gene of *Blumeria graminis* associated with resistance to sterol demethylase inhibiting fungicides. *Fungal Genetics and Biology* 42: 726-735.

Zaki O., Weekers F., Thonart P., Tesch E., Kuenemann P., Jacques P. (2020): Limiting factors of mycopesticide development. *Biological Control* 144:104220. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104220>

Internetové zdroje

Algisure, *Agromanual.cz* [online]. [cit. 2022-04-19]. Dostupné z: www.agromanual.cz

Bioan 200 ml, *Agromanualshop.cz*[online]. [cit. 2021-10-31]. <https://agromanualshop.cz>

Bioan Forestina 200 ml koncentrát proti padlí, *Ošetřeno.cz* [online]. [cit. 2021-10-31]. www.osetreno.cz

Biocont Laboratory (2008): VitiSan®: Přípravek na ochranu rostlin. <http://biocont.cz>

Biocont Laboratory (2008): Algisure: Přípravek na ochranu rostlin. <http://biocont.cz>

FRAC Code List ©2015 (aktualizace: únor 2015): Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). <http://www.frac.info/>

FRAC Code List ©2021 (aktualizace: březen 2021): Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action (including coding FRAC Groups on products labels)

<http://www.frac.info/>

FRAC Pathogen Risk List ©2020 (aktualizace: květen 2020): List of first confirmed cases of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents. <http://www.frac.info/>

Integrated Pest Management Program (IPM). *National Institute of Food and Agriculture: United States Department of Agriculture* [online]. [cit. 2022-04-17].

<http://www.nifa.usda.gov/grants/programs>

Integrated Pest Management (IPM) Principles, *United States of Environmental Protection Agency* [online]. [cit. 2022-04-17]. <http://epa.gov/>

Pesticide Use-and-risk Reduction in European farming systems with Integrated Pest Management. *CORDIS: EU research results* [online]. [cit. 2022-04-17].

<https://cordis.europa.eu/>

Rock effect, *NATURA agro* [online]. [cit. 2022-04-19]. <https://agronatura.cz>

Salava, J. (2021): Okénko do zahraničí: Green Deal - dobré pro Evropu, ale špatné pro Zemi. *Agromanál.cz* [online]. [cit. 2022-04-17]. <https://agromanual.cz>

University of Hertfordshire <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/search.htm>

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) (2014): Hodnocení účinnosti chemických a biologických přípravků na ochranu rostlin, okurka a plíseň.

<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal>

ÚKZÚZ (2014): Hodnocení účinnosti chemických a biologických přípravků na ochranu rostlin, tykev a padlí. <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal>

ÚKZÚZ (2020): Průvodce integrovanou ochranou rostlin. <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal>

Vitisan, *Agromanual.cz* [online]. [cit. 2022-04-19]. <https://agromanual.cz>

VitiSan 1kg, *Agromanualshop.cz*[online]. [cit. 2022-04-19]. <https://agromanualshop.cz>

Vitisan, *EAGRI* [online]. [cit. 2022-04-19]. <http://eagri.cz>

Vrtiška O. (2020): Jak zelená je Zelená dohoda pro Evropu? *Vesmír* [online]. (99): 687 [cit. 2022-04-17].

10. Přílohy

10.1. Statistické zpracování dat

Zpracování dat 2016 disky

Fosfonát draselný

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by izolát

Kruskal-wallis chi-squared = 68.372, df = 17, p-value = 4.105e-08

Lecitin

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by izolát

Kruskal-wallis chi-squared = 68.107, df = 22, p-value = 1.309e-06

Síra

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by izolát

Kruskal-wallis chi-squared = 59.141, df = 19, p-value = 5.286e-06

Vlastní experiment metoda listových disků

Fosfonát draselný

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by izolát

Kruskal-wallis chi-squared = 35.426, df = 7, p-value = 9.301e-06

Lecitin+mléčný albumin+kasein

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by izolát

Kruskal-wallis chi-squared = 24.042, df = 7, p-value = 0.00112

Hydrogenuhlíčitán draselný

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by izolát

Kruskal-wallis chi-squared = 24.034, df = 9, p-value = 0.004249

Zpracování dat 2016 disky

Fosfonát draselný

Pairwise comparisons using wilcoxon rank sum test with continuity correction

data: tab\$sporulace and tab\$izolát

	10_16_Px	12_16_Px	15_16_Px	18_16_Px	23_16_Px	25_16_Px	27_16_Px	30_16_Px	36_16_Px	37_16_Px	41_16_Px	44_16_Px
12_16_Px	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15_16_Px	1.000	0.743	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18_16_Px	0.399	0.150	0.042	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23_16_Px	0.024	0.024	0.024	0.024	-	-	-	-	-	-	-	-
25_16_Px	0.508	0.210	0.024	0.743	0.024	-	-	-	-	-	-	-
27_16_Px	0.874	0.628	0.508	0.149	0.024	0.149	-	-	-	-	-	-
30_16_Px	0.743	0.645	1.000	0.024	0.024	0.024	0.628	-	-	-	-	-
36_16_Px	0.508	0.743	0.508	0.218	0.149	0.210	0.399	0.523	-	-	-	-
37_16_Px	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	-	-	-
41_16_Px	0.628	1.000	0.874	0.024	0.024	0.024	0.293	0.749	0.749	0.024	-	-
44_16_Px	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.743	0.024	-
49_16_Px	0.743	0.523	0.399	0.059	0.024	0.065	0.743	0.408	0.408	0.024	0.408	0.024
51_16_Px	0.024	0.206	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	1.000	0.024	0.206	0.024
52_16_Px	0.100	0.059	0.042	0.024	0.628	0.024	0.042	0.024	0.309	0.024	0.059	0.024
53_16_Px	0.953	0.811	1.000	0.100	0.024	0.100	0.874	0.743	0.567	0.024	0.874	0.024
6_16_Px	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.278	0.024	0.743
7_16_Px	0.100	0.181	0.100	0.024	0.149	0.024	0.065	0.099	0.567	0.024	0.218	0.024
	49_16_Px	51_16_Px	52_16_Px	53_16_Px	6_16_Px							
12_16_Px	-	-	-	-	-							
15_16_Px	-	-	-	-	-							
18_16_Px	-	-	-	-	-							
23_16_Px	-	-	-	-	-							
25_16_Px	-	-	-	-	-							
27_16_Px	-	-	-	-	-							
30_16_Px	-	-	-	-	-							
36_16_Px	-	-	-	-	-							
37_16_Px	-	-	-	-	-							
41_16_Px	-	-	-	-	-							
44_16_Px	-	-	-	-	-							
49_16_Px	-	-	-	-	-							
51_16_Px	0.024	-	-	-	-							
52_16_Px	0.024	0.206	-	-	-							
53_16_Px	0.508	0.024	0.065	-	-							
6_16_Px	0.024	0.024	0.024	0.024	-							
7_16_Px	0.059	0.206	0.248	0.149	0.024							

Lecitin

Pairwise comparisons using wilcoxon rank sum test with continuity correction

data: tab\$sporulace and tab\$izolát

	10_16_Px	12_16_Px	15_16_Px	18_16_Px	23_16_Px	25_16_Px	27_16_Px	29_16_Px	3_16_Px	30_16_Px	33_16_Px	36_16_Px
12_16_Px	0.057	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15_16_Px	0.057	0.767	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18_16_Px	0.057	0.092	0.880	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23_16_Px	-	0.057	0.057	0.057	-	-	-	-	-	-	-	-
25_16_Px	0.269	0.220	0.297	0.220	0.269	-	-	-	-	-	-	-
27_16_Px	0.078	0.290	0.880	0.880	0.078	0.449	-	-	-	-	-	-
29_16_Px	0.057	0.512	0.767	0.057	0.057	0.220	0.292	-	-	-	-	-
3_16_Px	0.214	0.767	0.767	0.880	0.214	0.767	0.774	0.767	-	-	-	-
30_16_Px	0.057	0.077	0.767	0.880	0.057	0.221	0.774	0.057	0.774	-	-	-
33_16_Px	0.767	0.185	0.140	0.057	0.767	0.880	0.189	0.220	0.405	0.077	-	-
36_16_Px	0.057	0.057	0.096	0.057	0.057	0.519	0.220	0.057	0.405	0.057	1.000	-
37_16_Px	0.057	0.290	1.000	1.000	0.057	0.189	1.000	0.154	0.685	0.880	0.077	0.057
41_16_Px	0.269	0.185	0.096	0.057	0.269	0.941	0.204	0.220	0.297	0.057	1.000	0.519
42_16_Px	0.057	0.220	0.140	0.222	0.057	0.096	0.189	0.220	0.189	0.236	0.077	0.057
44_16_Px	0.077	0.057	0.057	0.057	0.077	0.941	0.203	0.057	0.220	0.057	0.767	0.057
47_16_Px	0.214	0.185	0.096	0.057	0.214	0.189	0.077	0.139	0.121	0.057	0.189	0.220
49_16_Px	-	0.057	0.057	0.057	-	0.269	0.078	0.057	0.214	0.057	0.767	0.057
51_16_Px	0.767	0.220	0.140	0.140	0.767	0.405	0.139	0.220	0.317	0.189	0.523	0.523
52_16_Px	0.078	0.220	0.880	0.667	0.078	0.449	0.839	0.220	0.685	0.542	0.140	0.220

53_16_Px	0.078	0.185	0.189	0.096	0.078	0.732	0.267	0.331	0.405	0.077	0.767	0.767
6_16_Px	0.078	0.185	0.189	0.057	0.078	0.573	0.214	0.139	0.523	0.057	0.880	0.405
7_16_Px	0.057	0.767	1.000	0.880	0.057	0.220	0.880	0.189	0.767	0.880	0.096	0.057
	37_16_Px	41_16_Px	42_16_Px	44_16_Px	47_16_Px	49_16_Px	51_16_Px	52_16_Px	53_16_Px	6_16_Px		
12_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37_16_Px	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41_16_Px	0.077	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42_16_Px	0.317	0.077	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44_16_Px	0.057	0.941	0.057	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47_16_Px	0.077	0.189	0.077	0.220	-	-	-	-	-	-	-	-
49_16_Px	0.057	0.269	0.057	0.077	0.214	-	-	-	-	-	-	-
51_16_Px	0.139	0.667	0.075	0.767	1.000	0.767	-	-	-	-	-	-
52_16_Px	0.880	0.155	0.189	0.203	0.077	0.078	0.139	-	-	-	-	-
53_16_Px	0.096	0.573	0.096	0.529	0.189	0.078	0.523	0.214	-	-	-	-
6_16_Px	0.077	0.449	0.077	0.203	0.222	0.078	0.405	0.214	0.942	-	-	-
7_16_Px	0.880	0.096	0.302	0.057	0.096	0.057	0.140	0.880	0.096	0.096	-	-

Síra

Pairwise comparisons using wilcoxon rank sum test with continuity correction

data: tab\$sporulace and tab\$izolát

	10_16_Px	12_16_Px	18_16_Px	23_16_Px	25_16_Px	27_16_Px	29_16_Px	30_16_Px	36_16_Px	37_16_Px	41_16_Px	42_16_Px
12_16_Px	0.645	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18_16_Px	0.154	0.113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23_16_Px	0.317	1.000	0.154	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25_16_Px	0.542	1.000	0.154	0.418	-	-	-	-	-	-	-	-
27_16_Px	0.962	0.317	0.200	0.317	0.885	-	-	-	-	-	-	-
29_16_Px	0.645	0.418	0.356	0.154	0.418	0.563	-	-	-	-	-	-
30_16_Px	0.200	0.154	0.885	0.051	0.113	0.154	0.418	-	-	-	-	-
36_16_Px	0.645	0.542	0.051	0.751	0.751	0.240	0.240	0.051	-	-	-	-
37_16_Px	0.542	0.885	0.113	0.751	1.000	0.645	0.317	0.139	0.885	-	-	-
41_16_Px	0.200	0.200	0.465	0.051	0.200	0.200	0.751	0.645	0.051	0.200	-	-
42_16_Px	0.051	0.240	0.751	0.051	0.051	0.051	0.240	0.751	0.051	0.051	0.240	-
44_16_Px	0.645	0.608	0.317	0.200	0.608	0.542	1.000	0.418	0.240	0.645	0.885	0.240
47_16_Px	0.051	0.051	0.051	0.200	0.079	0.051	0.051	0.051	0.051	0.051	0.051	0.051
49_16_Px	0.645	0.645	0.240	0.200	0.317	0.645	1.000	0.317	0.240	0.418	0.885	0.051
51_16_Px	0.542	1.000	0.051	0.751	0.645	0.051	0.240	0.051	0.200	0.751	0.051	0.051
52_16_Px	0.154	0.240	0.051	0.418	0.200	0.051	0.113	0.051	0.113	0.200	0.051	0.051
53_16_Px	0.317	0.885	0.051	0.751	0.751	0.079	0.240	0.051	0.200	0.751	0.051	0.051
6_16_Px	0.154	0.200	0.079	0.317	0.154	0.200	0.113	0.079	0.240	0.154	0.113	0.051
7_16_Px	0.240	1.000	0.079	0.751	0.725	0.113	0.251	0.051	0.418	0.885	0.051	0.051
	44_16_Px	47_16_Px	49_16_Px	51_16_Px	52_16_Px	53_16_Px	6_16_Px					
12_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
18_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
23_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
25_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
27_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
29_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
30_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
36_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
37_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
41_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
42_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
44_16_Px	-	-	-	-	-	-	-					
47_16_Px	0.079	-	-	-	-	-	-					
49_16_Px	0.962	0.051	-	-	-	-	-					
51_16_Px	0.240	0.051	0.240	-	-	-	-					
52_16_Px	0.113	1.000	0.113	0.317	-	-	-					
53_16_Px	0.240	0.051	0.240	0.645	0.240	-	-					
6_16_Px	0.154	0.885	0.079	0.240	0.542	0.240	-					
7_16_Px	0.240	0.051	0.240	1.000	0.317	0.751	0.240					

Vlastní experiment metoda listových disků

Fosfonát draselný

Pairwise comparisons using Wilcoxon rank sum test with continuity correction

data: tab\$sporulace and tab\$izolát

	10_10_Px	12_18_Px	13_08_Px	19_18_Px	22_18_Px	30_18_Px	31_18_Px
12_18_Px	0.198	-	-	-	-	-	-
13_08_Px	0.014	0.213	-	-	-	-	-
19_18_Px	0.014	0.016	0.016	-	-	-	-
22_18_Px	-	0.198	0.014	0.014	-	-	-
30_18_Px	0.014	0.016	0.016	1.000	0.014	-	-
31_18_Px	-	0.198	0.014	0.014	-	0.014	-
52_11_Px	-	0.198	0.014	0.014	-	0.014	-

Lecitin + mléčný albumin + kasein

Pairwise comparisons using Wilcoxon rank sum test with continuity correction

data: tab\$sporulace and tab\$izolát

	10_10_Px	12_18_Px	13_08_Px	19_18_Px	22_18_Px	30_18_Px	31_18_Px
12_18_Px	0.061	-	-	-	-	-	-
13_08_Px	0.070	0.132	-	-	-	-	-
19_18_Px	0.061	0.165	0.671	-	-	-	-
22_18_Px	0.070	0.070	0.700	1.000	-	-	-
30_18_Px	0.061	0.261	0.071	0.071	0.061	-	-
31_18_Px	0.157	0.351	0.484	0.700	0.616	0.134	-
52_11_Px	0.061	0.326	0.107	0.107	0.126	0.366	0.214

Hydrogenuhlíčan draselný

Pairwise comparisons using wilcoxon rank sum test with continuity correction

data: tab\$sporulace and tab\$izolát

	10_10_Px	12_18_Px	13_08_Px	19_18_Px	22_18_Px	30_18_Px	31_18_Px	42_16_Px	52_11_Px
12_18_Px	0.344	-	-	-	-	-	-	-	-
13_08_Px	0.344	0.937	-	-	-	-	-	-	-
19_18_Px	0.047	0.047	0.047	-	-	-	-	-	-
22_18_Px	0.307	0.468	1.000	0.047	-	-	-	-	-
30_18_Px	0.344	1.000	0.965	0.047	0.564	-	-	-	-
31_18_Px	0.084	0.404	1.000	0.047	0.943	0.485	-	-	-
42_16_Px	0.084	0.485	0.485	0.047	1.000	0.404	1.000	-	-
52_11_Px	0.207	0.446	1.000	0.047	0.965	0.894	0.965	0.894	-
60_11_Px	-	0.344	0.344	0.047	0.307	0.344	0.084	0.084	0.207

Porovnání obou metod

Fosfonát draselný

Izolát 41/16 Px

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by metoda

Kruskal-wallis chi-squared = 6.8598, df = 1, p-value = 0.008816

Izolát 30/18 Px

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by metoda

Kruskal-wallis chi-squared = 0, df = 1, p-value = 1

Izolát 31/18 Px

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by metoda

Kruskal-wallis chi-squared = 7.8125, df = 1, p-value = 0.005189

Lecitin

Izolát 3/16 Px

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by metoda

Kruskal-wallis chi-squared = 4.8402, df = 1, p-value = 0.0278

Izolát 18/16 Px

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by metoda

Kruskal-wallis chi-squared = 3.9865, df = 1, p-value = 0.04587

Izolát 12/16 Px

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by metoda

Kruskal-wallis chi-squared = 0, df = 1, p-value = 1

Ger 1/12 Px

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by metoda

Kruskal-wallis chi-squared = 0.022222, df = 1, p-value = 0.8815

Hydrogenuhlíčitán draselný

Izolát 42/16 Px

Kruskal-wallis rank sum test

data: sporulace by metoda

Kruskal-wallis chi-squared = 0.56178, df = 1, p-value = 0.4535

Mikroskopické sledování vývoje

1.odběr

	Koncentrace	Sporulace
1	Kontrola	55.0
2	Kontrola	550.0
3	Kontrola	55.0
4	Kontrola	550.0
5	Kontrola	55.0
6	I.	55.0
7	I.	55.0
8	I.	550.0
9	I.	5.5
10	I.	550.0
11	II.	55.0
12	II.	55.0
13	II.	550.0
14	II.	550.0
15	II.	55.0
16	III.	55.0
17	III.	55.0
18	III.	55.0
19	III.	55.0
20	III.	55.0
21	IV.	55.0
22	IV.	55.0
23	IV.	55.0
24	IV.	55.0
25	IV.	55.0
26	V.	55.0
27	V.	550.0
28	V.	55.0
29	V.	55.0
30	V.	55.0

Kruskal-wallis rank sum test

data: Sporulace by koncentrace

Kruskal-wallis chi-squared = 3.6891, df = 5, p-value = 0.595

2. odběr

Koncentrace Sporulace		
1	Kontrola	550.0
2	Kontrola	550.0
3	Kontrola	550.0
4	Kontrola	550.0
5	Kontrola	550.0
6	I.	550.0
7	I.	550.0
8	I.	550.0
9	I.	550.0
10	I.	550.0
11	II.	550.0
12	II.	550.0
13	II.	550.0
14	II.	550.0
15	II.	550.0
16	III.	55.0
17	III.	55.0
18	III.	55.0
19	III.	550.0
20	III.	55.0
21	IV.	55.0
22	IV.	55.0
23	IV.	55.0
24	IV.	550.0
25	IV.	55.0
26	V.	55.0
27	V.	550.0
28	V.	550.0
29	V.	55.0
30	V.	55.0

Kruskal-wallis rank sum test

data: Sporulace by Koncentrace

Kruskal-wallis chi-squared = 17.344, df = 5, p-value = 0.003891

Rozdíly jsou průkazné

	I.	II.	III.	IV.	Kontrola
II.	-	-	-	-	-
III.	0.040	0.040	-	-	-
IV.	0.040	0.040	1.000	-	-
Kontrola	-	-	0.040	0.040	-
V.	0.089	0.089	0.655	0.655	0.089

3. odběr

	Koncentrace	Sporulace
1	Kontrola	55.0
2	Kontrola	55.0
3	Kontrola	55.0
4	Kontrola	55.0
5	Kontrola	55.0
6	I.	55.0
7	I.	55.0
8	I.	55.0
9	I.	55.0
10	I.	55.0
11	II.	55.0
12	II.	55.0
13	II.	55.0
14	II.	55.0
15	II.	55.0
16	III.	55.0
17	III.	5.5
18	III.	55.0
19	III.	55.0
20	III.	55.0
21	IV.	55.0
22	IV.	5.5
23	IV.	55.0
24	IV.	55.0
25	IV.	55.0
26	V.	5.5
27	V.	55.0
28	V.	5.5
29	V.	55.0
30	V.	5.5

Kruskal-wallis rank sum test

data: Sporulace by Koncentrace

Kruskal-wallis chi-squared = 9.512, df = 5, p-value = 0.0903

10.2. Fotografie

(pořízené autorkou DP)



Obrázek 29: List tykve velkoplodé (*Cucurbita maxima*) napadený padlím dýňovitých



Obrázek 30: Uchovávání izolátů padlí dýňovitých ve fytotronu



Obrázek 31: Přeočkování izolátů *P. xanthii*



Obrázek 32: Rostliny okurky seté (*Cucumis sativus*) náchylné odrůdy Perzeus F1 pěstované ve skleníku používané k experimentu



Obrázek 33: Koncentrace účinných látek



Obrázek 34: Korkovrt na vykrajování listových disků z listů okurky seté (*Cucumis sativus*), náchylné odrůdy Perzeus F1 používané v experimentu



Obrázek 35: Modifikovaná metoda listových disků – testovaná účinná látka lecitin (vlevo) před inokulací padlím (vpravo) 14 den po inokulaci



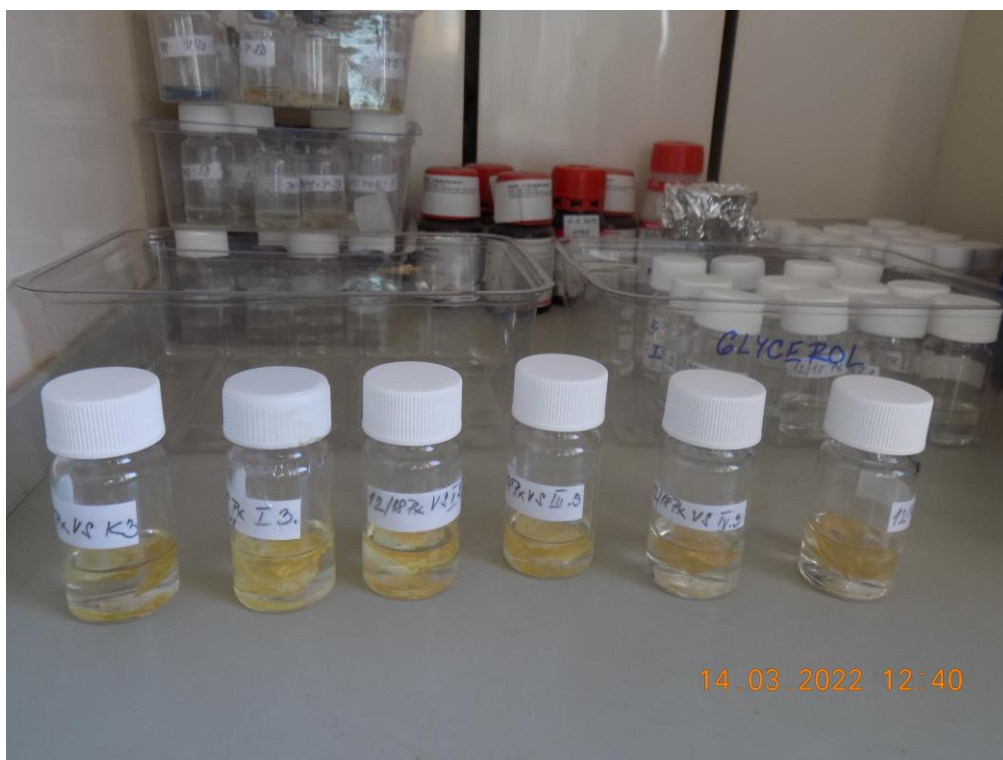
Obrázek 36: Metoda celých rostlin bez sáčků



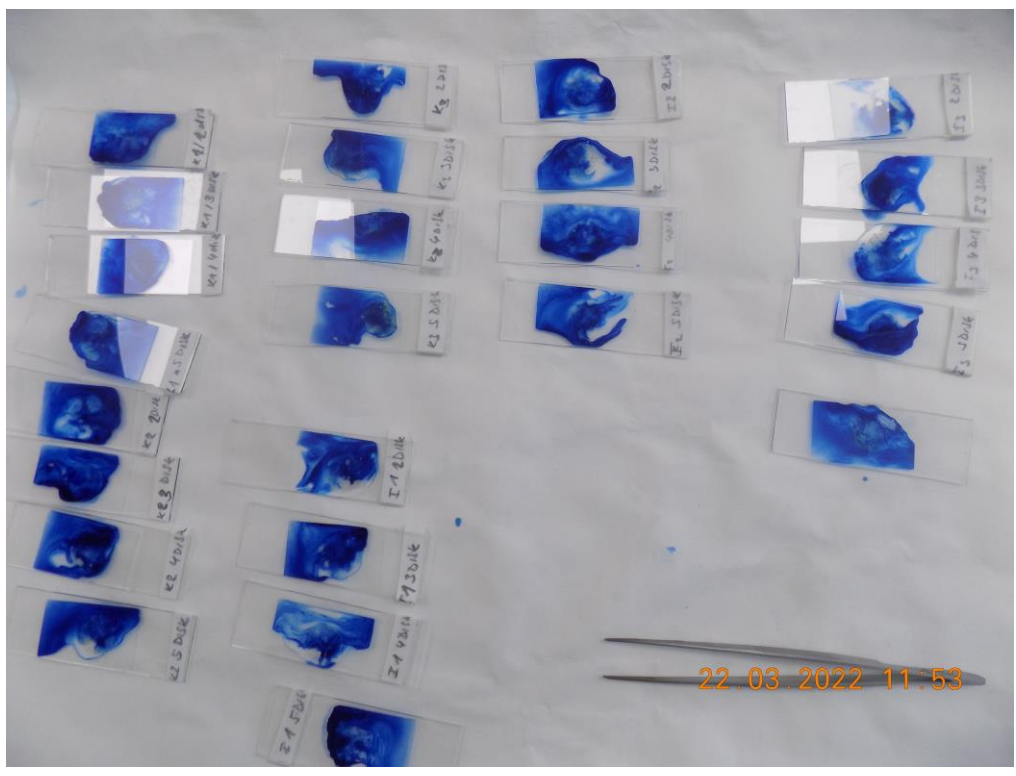
Obrázek 37: Metoda celých rostlin s použitím sáčků



Obrázek 38: Listové disky po aplikaci hydrogenuhlčitanu draselného a inokulaci izolátem 12/18 Px pro mikroskopické pozorování umístěny do 99 % kyseliny octové



Obrázek 39: Listové disky po aplikaci hydrogenuhlčitanu draselného a inokulaci izolátem 12/18 Px pro mikroskopické pozorování umístěny do 85% glycerolu



Obrázek 40: Mikroskopické preparáty s listovými disky obarvenými 1% anilinovou modří