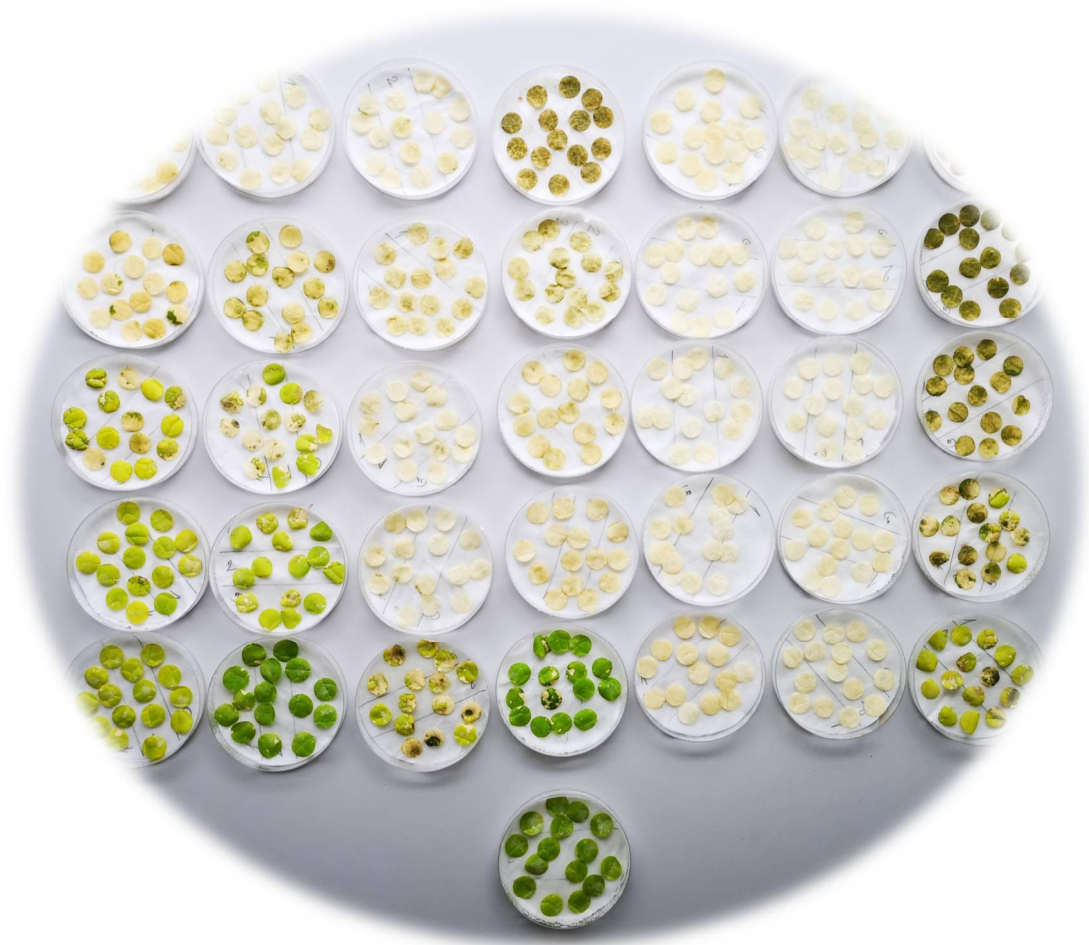




CERTIFIKOVANÁ METODIKA PRO PRAXI

Metodika testování účinnosti esenciálních olejů na biotrofních patogenech plodové zeleniny

Božena Sedláková, Anna Lebdušková, Barbora Mieslerová, Aleš Lebeda



v y d á v á

OSVĚDČENÍ

UKZUZ 007448/2025

o uznání metodiky v souladu s podmínkami Metodiky hodnocení výzkumných organizací a programů účelové podpory výzkumu, vývoje a inovací, schválené usnesením vlády dne 8. února 2017, číslo 107 a její samostatné přílohy č. 4 schválené usnesením vlády dne 29. listopadu 2017 č. 837.

Název metodiky: **Metodika testování účinnosti esenciálních olejů na biotrofních patogenech plodové zeleniny**

Autor/autoři: **RNDr. Božena Sedláková, Ph.D.; Mgr. Anna Lebdušková;
doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D.; prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.**

Název organizace/cí:
Univerzita Palackého v Olomouci

Místo vydání: **Olomouc**
Rok vydání: **2025**

Metodika byla vypracována v rámci výzkumného projektu č. QK21010064 s názvem „Využití biologicky aktivních látek rostlinného původu při skladování zemědělských produktů“.

Brno 20.1.2025

Dokument je podepsán elektronickým podpisem	
Podepisující:	Ing. Daniel Jurečka
Organizace:	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
Sériové č. cert.:	23490181
Vydavatel cert.:	PostSignum Qualified CA 4
Datum a čas:	20.01.2025 13:15:04
Dávod:	
Místo:	

Ing. Daniel Jurečka.
ředitel ústavu

.....
podpis/elektronický podpis
zástupce odborného útvaru státní správy

Souhlas ředitele Odboru precizního zemědělství, výzkumu a vzdělávání MZe ČR:

V dne

Mgr. Jan
Radoš

Digitálně podepsal
Mgr. Jan Radoš
Datum: 2025.03.24
08:29:21 +01'00'

.....
podpis/elektronický podpis
ředitele/ředitelky
Odboru precizního zemědělství,
výzkumu a vzdělávání

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

**Metodika testování účinnosti esenciálních olejů
na biotrofních patogenech plodové zeleniny**

CERTIFIKOVANÁ METODIKA PRO PRAXI

BOŽENA SEDLÁKOVÁ, ANNA LEBDUŠKOVÁ, BARBORA MIESLEROVÁ, ALEŠ LEBEDA

2025

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu č. QK21010064 s názvem „Využití biologicky aktivních látek rostlinného původu při skladování zemědělských produktů“.

Vedoucí autorského kolektivu: RNDr. Božena Sedláková, Ph.D.

Autorský kolektiv:

RNDr. Božena Sedláková, Ph.D.

Mgr. Anna Lebdušková

doc. RNDr. Barbora Mieslerová, Ph.D.

prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.

Oponenti:

Mgr. Martin Pastirčák, Ph.D. – NPPC Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, Odbor aplikovanej biológie a genetiky, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovenská republika, martin.pastircak@nppc.sk

prof. Ing. Radovan Pokorný, Ph.D., (emeritus) - Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Zemědělská 1752, 613 00 Brno – Černá Pole, rapo@post.cz

RNDr. Jan Juroch - Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, oddělení metod monitoringu a prognóz výskytu ŠO, Zemědělská 1752/1a, Černá Pole, 61300 Brno, jan.juroch@ukzuz.gov.cz

Metodiku schválil Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský pod č. j. UKZUZ 007448/2025

© Univerzita Palackého v Olomouci, 2025

ISBN 978-80-244-6615-6 (print)

ISBN 978-80-244-6616-3 (online: iPDF)

OBSAH

I. Cíl metodiky	4
II. Teoretický základ.....	5
1. Úvod	5
2. Přehled mykóz a oomycetóz na plodové zelenině použitých v metodice	5
3. Biologická ochrana rostlin	9
III. Postup práce s patogenem <i>Podosphaera xanthii</i>	14
IV. Postup práce s patogenem <i>Pseudoperonospora cubensis</i>	19
V. Postup práce s patogenem <i>Pseudoidium neolycopersici</i>	22
VI. Případové studie.....	25
VII. Srovnání novosti postupů.....	41
VIII. Popis uplatnění certifikované metodiky.....	42
IX. Ekonomické aspekty	43
X. Seznam použité literatury.....	44
XI. Obrazové přílohy.....	51
Poznámky:	64

I. CÍL METODIKY

Současným trendem v pěstování polních plodin a zeleniny je snižování množství pesticidů a prosazování technik a postupů šetrných k životnímu prostředí. Omezení nepříznivého vlivu chemických přípravků používaných v ochraně rostlin na lidské zdraví a na životní prostředí je legislativně ukotveno ve směrnici 2009/128/EC a je cílem „Národního akčního plánu ke snížení používání pesticidů v ČR“ (MZe ČR 2012) a systémů integrované ochrany rostlin. Aktuálně je tato otázka řešena v rámci tzv. Zelené dohody (European Green Deal). Cílem metodiky je optimalizovat a sjednotit dříve známé metody a zejména navrhnout nové metody testování účinnosti esenciálních olejů na biotrofní patogeny plodové zeleniny. Dále pak otestovat tyto navrhované metody a sestavit případové studie a vytvořené metody předat pro praktické využití.

II. TEORETICKÝ ZÁKLAD

1. Úvod

Používání látek na přírodní bázi v ochraně vůči patogenům rostlin je důležitou součástí integrované ochrany rostlin a představuje významnou alternativu k metodám chemické ochrany vzhledem k její šetrnosti k životnímu prostředí. Z tohoto důvodu by mělo být věnováno velké úsilí k vytvoření vhodné metodiky pro testování účinnosti esenciálních olejů na biotrofních patogenech plodové zeleniny, která by našla široké uplatnění v praktické ochraně napadených porostů zelenin. Je potřeba využít velký potenciál obsahových látek esenciálních olejů rostlin, který dosud na poli praktické ochrany porostů zelenin vůči rostlinným patogenům nebyl zcela doceněn.

2. Přehled mykóz a oomycetóz na plodové zelenině použitých v metodice

Plíseň dýňovitých

(Cucumber downy mildew)

Původce: *Pseudoperonospora cubensis*, náleží do oddělení Oomycota, řádu Peronosporales, čeledi Peronosporaceae (Lebeda a Cohen, 2011; Savory et al., 2011). Jedná se skupinu vydělenou z původní říše Fungi (houby) a nyní spadající pod kmen Stramenopila (a superskupinu SAR) (<https://lifemap-ncbi.univ-lyon1.fr/>).

Hostitelský okruh: V našich podmínkách napadá tento patogen převážně rod *Cucumis* (tj. všechny druhy a typy okurek a cukrové melouny). V posledních letech však byla infekce tímto patogenem v České republice zaznamenána také i na další rodech (*Cucurbita* a *Citrullus*), jednalo se o výskyt sice ojedinělý, ale opakovaný v průběhu dlouholetého monitorování naším pracovištěm (Lebeda et al., 2011; Pavelková et al., 2011). Naopak jinde ve světě (např. v Izraeli, Číně, Indii, severní a střední Americe), je *P. cubensis* často pozorována také na jiných druzích tykvovitých zelenin, nejen na okurce (Lebeda et al., 2011). U nás však tato choroba nabyla většího významu až od roku 1984, kdy se v Evropě začaly vyskytovat každoroční epidemie (Lebeda, 1986a, 1990).

Příznaky: Jedná se o typického foliolárního patogena (Lebeda, 1990), který napadá především listovou čepel tykvovitých zelenin, ostatní rostlinné orgány jen vzácně. Na horní straně plně vyvinutých (většinou starších) listů se objevují světle zelené nebo žlutozelené skvrny výrazně ohraničené listovou žilnatinou, tzv. angulární skvrnitost (Lebeda, 1986a). Během vývoje tohoto patogenu tyto skvrny postupně splývají a vytvářejí větší plošky. V pozdějších fázích infekce dochází zejména na spodní straně listů k vytváření tmavě šedého až černého poprašku, sporangioforů se sporangii, a to v místě už existujících lezí (skvrn). Na náchylných kultivarech může docházet k velmi rychlému průběhu infekce, kdy během 4-10 dnů může dojít k úhynu

celých rostlin (Lebeda, 1990; Lebeda a Urban, 2004). Na ostatních tykvovitých plodinách (zástupcích rodu *Cucurbita*, *Citrullus*, *Lagenaria* aj.) jsou příznaky napadení odlišné od příznaků na listech okurky, např. dochází k tvorbě vodnatých skvrn na listech nebo k velmi rychlé nekrotizaci skvrn na napadených listech (Lebeda, 1986a, 1990).

Biologie: *P. cubensis* je velmi citlivá na podmínky prostředí a na jejich změny, které mohou zásadním způsobem ovlivňovat průběh infekčního cyklu, patogenezi a symptomy infekce způsobené tímto patogenem (Lebeda, 1986a, 1990). K infekci rostlin může dojít pouze při ovlhčení rostlin (rosa, dešťové kapky) a při vyšších teplotách (15 až 25 °C). Patogen se k nám šíří vzdušnými proudy z oblastí, kde přezimuje (převážně JV Evropa a Blízký Východ) na hostitelských druzích (tzv. „zelený most“) (Lebeda a Cohen, 2011). Lze však předpokládat, že v posledních dekádách u nás i přežívá (Lebeda a Cohen, 2011; Spring et al., 2018).

Jedná se o patogena, který je velmi variabilní ve své patogenitě a virulenci a rezistenci k fungicidům, což dokládá i řada studií ze světa i z České republiky (Kitner et al., 2015; Lebeda a Cohen, 2011, 2012; Pavelková et al., 2014; Quesada-Ocampo et al., 2012; Urban a Lebeda, 2006, 2007).

Padlí dýňovitých (Cucurbit powdery mildew)

Původce: Na okurce seté, ale i na mnoha dalších kulturních i planě rostoucích dýňovitých (tykvovitých) rostlinách, bylo podle nejnovějších taxonomických studií (Lebeda et al., 2024; Wu a Kirschner, 2017) popsáno sedm různých druhů padlí patřících do pěti různých rodů (*Golovinomyces*, *Podosphaera*, *Leveillula*, *Neoerysiphe*, *Erysiphe*). Padlí náleží do oddělení Ascomycota, třídy Leotiomycetes, řádu Erysiphales, čeledi Erysiphaceae, říše Fungi (houby) (<https://lifemap-ncbi.univ-lyon1.fr/>).

V rámci charakteristiky padlí dýňovitých se v tomto oddíle budeme v textu věnovat pouze dvěma ektofytickým druhům, a to *Golovinomyces orontii* a *Podosphaera xanthii*, které řadíme mezi běžné a hospodářsky významné. V posledních letech se koncepce těchto druhů velmi výrazně změnila a dotklo se to rovněž i jejich hostitelského okruhu (Braun a Cook, 2012; Braun et al., 2019; Bradshaw et al., 2022; Lebeda et al., 2024; Wu a Kirschner, 2017). Endofytní *L. taurica* je na dýňovitých relativně málo běžný druh padlí, většinou je vázána na horké a suché oblasti (Braun a Cook, 2012), z hospodářského hlediska není považována za významnou.

Hostitelský okruh: V současném taxonomickém pojetí mají druhy *G. orontii* (včetně *G. tabaci*, *G. bolayi*) a *P. xanthii* poměrně velmi široký hostitelský okruh, který zahrnuje mnoho čeledí (počínaje Asteraceae a konče Vitaceae), ale i desítky rodů a stovky druhů rostlin. Čeleď Cucurbitaceae je velmi významnou hostitelskou skupinou s řadou rodů kulturních i planě rostoucích rostlin (např. *Bryonia*, *Benincasa*, *Citrullus*, *Cucumis*, *Cucurbita*, *Echinocystis*, *Lagenaria*, *Luffa*, *Trichosanthes* atd.) (Braun a Cook, 2012; Lebeda et al., 2024; Paulech, 1995).

Příznaky: Výskyt symptomů napadení *G. orontii* a *P. xanthii* závisí primárně na geografické oblasti. V podmínkách střední Evropy se první symptomy objevují na kulturních i planě rostoucích hostitelích od časného léta (červen nebo počátek července) až do časného podzimu (konec září a říjen). Oba druhy patogenů se primárně vyvíjejí na horní straně listů ve formě drobných okrouhlých ložisek (pustulí), postupně dochází ke kolonizaci listů, splývání pustulí v souvislý bílý povlak. Infekce může přecházet i na spodní stranu listů. Vzácně může docházet i k napadení květů (Braun a Cook, 2012), pupenů, kališních lístků, plodů. Časně a silně napadené listy žloutnou, postupně nekrotizují a ke konci vegetace mohou i odumírat. U takto napadených porostů může docházet i ke snížení výnosu plodů, případně projevu jejich nižší nutriční kvality.

Biologie: Oba druhy padlí, jež jsou významné pro čeleď Cucurbitaceae, nelze rozlišit na základě symptomů (příznaků), ale poměrně snadno je lze determinovat mikroskopicky pomocí konidií při použití 3 % KOH, který v nich zvýrazňuje přítomnost fibrozinových tělísek. Konidie *G. orontii* neobsahují fibrozinová tělíska, jsou podlouhlé, rovné nebo zahnuté, klíčí nevětveným dlouhým vláknem obvykle z apikální části spory. Konidie *P. xanthii* mají přítomná fibrozinová tělíska, jsou oválné, konidie klíčí vidličnatě se větvicím vláknem v laterální části spory (Lebeda, 1983; Křístková, 1999; Zlochová, 1990). Zlochová (1990) ve své studii uvádí, že teplotní rozmezí pro správné klíčení konidií zástupců padlí dýňovitých je pro druh *G. orontii* 15-25°C a pro druh *P. xanthii* 20-30°C. Dalším důležitým faktorem ovlivňujícím klíčení konidií je vzdušná vlhkost. Oba druhy padlí dýňovitých potřebují pro klíčení vysokou relativní vlhkost, přičemž druh *P. xanthii* je mnohem citlivější na změny vlhkosti než *G. orontii* (Lebeda et al., 2009). S nároky na podmínky prostředí obou druhů úzce souvisí i jejich geografická distribuce. Obecně je známo, že *P. xanthii* se vyskytuje převážně v teplejších oblastech mírného pásma, případně na dýňovitých rostlinách v krytých prostorech. Naopak *G. orontii* se objevuje zejména v chladnějších oblastech mírného pásma (Křístková et al., 2007, 2009; Lebeda a Sedláková, 2004a, 2004b; Trecate et al., 2019; Zlochová, 1990).

Oba patogeny vykazují vysokou patogenní variabilitu, a doposud bylo identifikováno mnoho patotypů a ras (Lebeda et al., 2011, 2016; Lebeda et al., 2024). Byl také zaznamenán výskyt fungicidní rezistence padlí dýňovitých vůči některým přípravkům chemické ochrany; v této oblasti probíhá intenzivní výzkum (Lebeda et al., 2010).

Padlí rajčete

(Powdery mildew of tomato/tomato powdery mildew)

Původce: *Erysiphe neolycopersici* (teleom.) - *Pseudoidium neolycopersici* (ana.) náleží do oddělení Ascomycota, třídy Leotiomycetes, řádu Erysiphales, čeledi Erysiphaceae, říše Fungi (houby)(<https://lifemap-ncbi.univ-lyon1.fr/>).

Hostitelský okruh: Kromě rajčat může napadat i lilky, tabáky, durmany a petúnie. Tento druh padlí je schopen infikovat i některé druhy z čeledí Apocynaceae, Campanulaceae,

Crassulaceae, Cistaceae, Linaceae, Malvaceae, Papaveraceae, Pedaliaceae, Scrophulariaceae, Valerianaceae a Violaceae (Whipps et al., 1998).

Příznaky: Především na vrchní straně listů, řapících a stoncích se objevují bílé moučnaté skvrny (mycelium s konidiofory), které se zvětšují, až vytvářejí souvislé povlaky; napadené části rostou pomaleji, žloutnou a při silnějším napadení usychají a odumírají. Ve výjimečných případech může uhynout i celá rostlina. Pohlavní stadium (asi chasmodectia) není z přírodních podmínek dosud známo (Lebeda et al., 2014) a nepodařilo se je indukovat ani v experimentálních podmínkách (Mieslerová a Lebeda, nepubl.)

Biologie: Konidie patogena jsou přenášeny zejména větrem, případně přímým kontaktem mezi rostlinami. Nejvhodnější teploty pro klíčení konidií a vývoj klíčnic vláken a mycelia jsou 20–25 °C (Fletcher et al., 1988; Jacob et al., 2008). Rovněž pro proces konidiogeneze jsou optimální teploty 20–25 °C (Mieslerová a Lebeda, 2010). Pro šíření tohoto padlí je optimální nižší nebo střídavá vzdušná vlhkost. Chorobu omezuje jemné, ale časté rosení listů.

Původce škodí především na rychlených rajčatech ve skleníku, ale může se vyskytovat i v polních podmínkách (Lebeda et al. 2014). V teplejších oblastech, případně v oblastech celoročního pěstování rajčat v krytých prostorách lze předpokládat přežívání prostřednictvím tzv. „zeleného mostu“, tedy na hostitelských rostlinách, které mohou sloužit jako zdroj primárního inokula (Lebeda et al., 2017).

3. Biologická ochrana rostlin

Biologickou ochranou se rozumí využívání přirozených přírodních procesů a mechanismů pro ochranu rostlin. Zahrnuje mechanismy založené na poznatcích především z oborů fytofarmacie, etologie a ekologie (Bleša et al., 2020). Tento přístup není nový, příkladem může být již dříve uváděná aplikace dravých mravenců v boji proti housenkám v citrusových sadech starověké Číny (Banaszkiewicz, 2010). Až v první polovině 20. století, kdy se změnil pohled na ideální pesticidní přípravek, se začal významně vyvíjet vědní obor zaměřující se na tuto oblast ochrany rostlin. Ideální pesticidní přípravek by měl tedy, podle posledních standardů, být vysoce selektivní, minimálně toxický pro necílové organismy, vysoce účinný již při nízkých koncentracích a málo perzistentní, čímž je minimalizována akumulace v životním prostředí a zajištěna prevence vzniku rezistence. Dodnes se tento obor zabývá vývojem technologií a postupů biologické ochrany, dále se snaží pochopit principy nutné pro její aplikaci v praxi (Bleša et al., 2020; Villaverde et al., 2016).

Pochopení vztahů mezi organismy je v oblasti biologické ochrany rostlin klíčové (Stenberg et al., 2021). Na rozdíl od chemické ochrany, která by měla cílit přímo na jeden druh nebo skupinu organismů a tím ho z dané biocenózy eliminovat, biologická ochrana působí komplexně, systémově a nespecificky. Nedochozí tedy ke kompletnímu vyhubení škůdce či patogenu, ale pouze k regulaci jeho populace a omezení infekčních forem (Bleša et al., 2020). Využívá se zde přirozených ekologických vztahů, jako jsou kompetice, symbióza, predace, parazitismus nebo herbivorie, které se objevují mezi různými organismy (Bleša et al., 2020; Stenberg et al., 2021). Těmito organismy mohou být například bezobratlí (roztoči *Typhlodromus pyri* nebo vosičky *Encarsia formosa*), obratlovci (ptáci), některé mikroorganismy, viry a houbové organismy. Jejich přímým nebo nepřímým zaváděním (např. poskytování úkrytů, domečků) se do prostředí místní biocenózy vnáší také diverzita, která podporuje uplatňování ekologických vztahů mezi organismy (Bleša et al., 2020; Pavela, 2020). Jako obecný příklad lze uvést potlačování růstu patogenu (případně plevelu nebo škůdce) aplikací jiného organismu, který je s nežádoucím patogenem v určitém vztahu a je schopen na něj působit antagonisticky (např. svými metabolity; Bleša et al., 2020; Stenberg et al., 2021).

Další strategií biologické ochrany je aplikace přirozeně se vyskytujících bioaktivních látek, jinak nazývaných také biopesticidy. Biopesticidy jsou definovány jako látky biologického původu s pesticidními účinky, které byly získány z přírodních zdrojů, jako jsou rostliny, bakterie, houby nebo zvířata (Laxmishree a Nandita, 2017). Konkrétně se pak může jednat o látky vzniklé například sekundárním metabolismem rostlin nebo fermentačními procesy mikroorganismů (Bleša et al., 2020). Mezi bakterie syntetizující látky, kterých se využívá jako biopesticidů patří rody *Streptomyces*, *Pseudomonas* a *Saccharopolyspora*. Spinosyny produkovány bakteriemi *Saccharopolyspora spinosa* a *Saccharopolyspora pogona* působí insekticidně, jako alosterické aktivátory nikotinových acetylcholinových receptorů. Polyoxiny tvořené *Streptomyces cacaoi* fungují antimykoticky jako inhibitory syntézy chitinu. Rhamnolipidy bakterie *Pseudomonas aeruginosa* působí antibakteriálně, kdy způsobují lýzi buněk (Villaverde et al., 2016).

Biopesticidy botanického původu jsou produkovány rostlinami v rámci sekundárního metabolismu za účelem jejich ochrany před napadením patogeny nebo herbivory. Na základě chemické struktury mezi sekundárními metabolity rozlišujeme saponiny, alkaloidy, terpeny, fenoly, peptidy a další látky (Bleša et al., 2020; Laxmishree a Nandita, 2017). Od těchto látek jsou odvozeny některé komerčně dostupné přípravky. Jsou založeny především na extraktech z chryzantém (*Chrysanthemum cinerariifolium*), zederachu indického (*Azadirachta indica*), česneku (rod *Allium*), tabáku (rod *Nicotiana*), kožnatců (rod *Derris*) nebo dalších bobovitých rostlin obsahujících rotenony a mnoha dalších látek rostlinného původu. Významnou skupinu tvoří také aromatické rostliny (např. eukalyptus, máta, rozmarýn), které tvoří komplexní směsi sekundárních metabolitů – aromatické esenciální oleje (De-Montijo-Prieto et al., 2021; Laxmishree a Nandita, 2017), kterým bude věnována samostatná kapitola (3.1). U některých těchto látek zatím nebyly zcela objasněny mechanismy účinku, naopak u některých bylo popsáno účinků více (Villaverde et al., 2016). Některé z těchto účinků jsou shrnuty v Tabulce 1.

Současná biologická ochrana by měla představovat plnohodnotný alternativní způsob v ochraně rostlin, navíc ji lze považovat za udržitelnější a bezpečnější díky snadné biodegradabilitě, nízké perzistenci, čímž se také předchází vývoji rezistence. I přesto se zatím využívá především v méně rozšířeném ekologickém zemědělství, v konvenčním se objevuje méně. Všechny účinky těchto látek dosud nejsou prozkoumány, což vytváří příležitost pro jejich testování a nové cesty ve výzkumu (Bleša et al., 2020; Laxmishree a Nandita, 2017).

Tabulka 1: Vybrané biopesticidní účinné látky, jejich původ, účinky a některé komerčně dostupné přípravky, jejichž základem jsou tyto látky, a které jsou dostupné na evropském trhu (Laxmishree a Nandita, 2017; Pavela, 2020; Villaverde et al., 2016).

Biopesticid	Původ	Účinky	Komerční přípravky
Azadirachtin	<i>Azadirachta indica</i>	Insekticid Přesný mechanismus účinku není znám	NeemAzal-T/S (Trifolio-M GmbH., Německo)
Pyrethrin	<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i> , <i>Chrysanthemum coccineum</i>	Insekticid Modulátor sodíkového kanálu	Organihum protex, Naturforte EC (Garden Ché, Španělsko)
Rotenon	rody <i>Derris</i> , <i>Tephrosia</i> , <i>Lonchocarpus</i>	Insekticid Inhibitor elektronového transportu v mitochondriálním komplexu I.	V Evropě se nevyužívají, kvůli nedostupnosti východních rostlin. Využívají se v USA, Indii, Číně, Malajsii.
Nikotin	rod <i>Nicotiana</i>	Insekticid Agonista nikotinových acetylcholinových receptorů	Kvůli nové legislativě EU jsou přípravky z trhu postupně stahovány.

3.1. Esenciální oleje v ochraně rostlin

Esenciální oleje neboli rostlinné silice, jsou komplexní sloučeniny tvořené v rámci sekundárního metabolismu rostlin (Stoytcheva, 2011). Jedná se o hydrofobní, těkavé, různě zbarvené a čiré kapaliny (Mani-López et al., 2021). Jsou získávány z vonných rostlin čeledí Myrtaceae, Lauraceae, Asteraceae a Apiaceae, které je tvoří ve svých siličných kanálcích nebo žláznatých trichomech (Bleša et al., 2020; De-Montijo-Prieto et al., 2021; Stoytcheva, 2011). Odtud jsou extrahovány pomocí metod hydrodestilace nebo parní destilace, případně superkritickou extrakcí s využitím oxidu uhličitého (De-Montijo-Prieto et al., 2021; Stoytcheva, 2011). Sestávají z mnoha biologicky aktivních složek, především z terpenů, terpenoidů a aromatických uhlovodíků. U mnoha těchto složek již bylo prokázáno, že působí baktericidně, fungicidně, insekticidně a proti okusu herbivory (Bleša et al., 2020; Mani-López et al., 2021; Stoytcheva, 2011). Těchto vlastností je využíváno například v lékařství, kosmetice, parfumerii, potravinářství a zemědělství. Tradičně se některé vonné rostliny (např. *Origanum compactum*, *Coriandrum sativum*, *Rosmarinus officinalis*, *Syzygium aromaticum* nebo *Mentha piperita*) využívaly již v minulosti v některých středomořských a asijských státech pro ochranu uskladněných plodin (De-Montijo-Prieto et al., 2021).

Celkové chemické složení každého esenciálního oleje je unikátní. Je ovlivněno prostředím a technikami pěstování, dále samozřejmě i metodami využitými při jejich zpracování a výchozím materiálem pro jejich extrakci (listy, kůra, semena, kořeny, atp.). Podrobně je pak jejich složení

zkoumáno pomocí GC-MS metod (spojením plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie; De-Montijo-Prieto et al., 2021). Jedná se o heterogenní směsi složené z terpenů, terpenoidů, monocyklických alkoholů, bicyklických alkoholů, acyklických monoterpenových alkoholů, alifatických aldehydů, kyselin, monocyklických ketonů, esterů a ketonů (Mostafa et al., 2021). Každý druh esenciálního oleje je tvořen desítkami těchto látek, avšak pouze několik (většinou 1-3) z nich tvoří majoritní podíl. Různé poměry majoritních a minoritních látek se pak podílí na tvorbě charakteristické vůně (Bleša et al., 2020). Jednotlivé složky se mohou také vzájemně ovlivňovat a umocňovat tak biologickou aktivitu (De-Montijo-Prieto et al., 2021). Komplexnost směsi pak vede k efektivnějšímu působení a předcházení vzniku adaptace a rezistence u patogenních a nepříznivě působících organismů (Villaverde et al., 2016).

Esenciální oleje jsou schopny působit vůči širokému spektru patogenů. Jsou vhodné pro regulaci infekcí a napadení rostlin způsobených bakteriemi, houbovými organismy i hmyzem (De-Montijo-Prieto et al., 2021). Vůči hmyzu některé působí neurotoxicky, jiné jsou schopny modifikovat chloridové kanály, což následně vede k vyšší propustnosti pro neurotransmiter GABA. Vůči mikrobiálním patogenům dokáží působit i v relativně nízkých dávkách, kdy inhibují jejich růst nebo rozmnožování. Mezi nejběžnější mechanismy účinku esenciálních olejů patří změny na membránách patogenních organismů, které vedou ke změně jejich dynamiky, následně ke změně jejich permeability pro různé molekuly, a nakonec k lýze celé buňky (De-Montijo-Prieto et al., 2021). Konkrétní příklad lze uvést u houbových patogenů: esenciální oleje jsou schopny narušit buněčnou stěnu, proniknout dovnitř buněk, kde následně modulují funkce membrán (i těch mitochondriálních). Dochází pak k porušení životně důležitých funkcí: rovnováha elektrolytů, změny v metabolismu proteinů, změny v koncentracích vápenatých iontů, narušení funkce protonové pumpy v mitochondriích, což zastavuje získávání ATP. Narušením mitochondriálních membrán dochází také k úniku cytochromu c, což následně vede k aktivaci apoptotické nebo nekrotické buněčné smrti. Tyto účinky lze studovat transmisí elektronovou mikroskopií, testy pro přítomnost některých enzymů (superoxiddismutáza, glutathion peroxidáza), nebo polymerázová řetězová reakce v reálném čase (Mani-López et al., 2021). Příklady účinných látek, které jsou součástí některých esenciálních olejů využívaných v ochraně rostlin lze nalézt v Tabulce 2.

V současnosti jsou esenciální oleje a jejich bioaktivní složky intenzivně studovány s cílem vyvinout efektivní alternativní přípravky (např. pesticidy, repelenty, insekticidy), které by ve srovnání s chemickými prostředky představovaly ekologičtější variantu. Jejich účinky jsou zkoumány zejména pro účely zemědělství a potravinářství, kde by mohlo být využíváno jejich mikrobicidních a antioxidačních účinků v ochraně uskladněných plodů a potravin před patogeny a předčasným zkažením. Další výhodnou vlastností esenciálních olejů je nízká toxicita pro savce, ptáky, ryby a pro životní prostředí celkově, díky jejich těkavosti mají totiž nízkou perzistenci. Nevýhodou esenciálních olejů může představovat jejich hydrofobní charakter, který lze obejít novější technikou – enkapsulací, neboli zapouzdrněním (De-Montijo-Prieto et al., 2021).

Tabulka 2: Tabulka účinných látek využívaných v ochraně rostlin, které jsou součástí některých esenciálních olejů (Gwynn, 2014).

Původ	Účinná látka	Užití	Cílový organizmus
Rostliny <i>Cassia tora</i>	Cinnamaldehyd	Fungicid	<i>Rhizoctonia</i> spp., <i>Verticillium</i> spp.
Rod rostlin <i>Cynbopogon</i>	Citronelový olej (obs. Citronellal, geraniol, citronellal, geranyl acetát)	Herbicid	<i>Jacobaea vulgaris</i>
Rostliny česneku	Česnekový extrakt	Nematicid	<i>Tylenchorhynchus</i> spp., <i>Pratylenchus</i> spp.
Semena <i>Azadirachta indica</i>	Neemový olej	Fungicid, akaricid, insekticid	Široká škála cílových organizmů
Rostliny <i>Citrus aurantium</i>	Pomerančový olej	Fungicid, insekticid	Padlí, třásnokřídlí, molice
Různé rostlinné zdroje	Thymol	Fungicid	<i>Botrytis</i> spp.

III. POSTUP PRÁCE S PATOGENEM *PODOSPHAERA XANTHII*

1. Rostlinný materiál

Pro testování byly použity listy okurky seté (*Cucumis sativus*), náchylné odrůdy Perzeus F1. Osivo této odrůdy nebylo mořeno a pocházelo od dodavatele Semo a.s. (Smržice, Česká republika). Semena byla vyseta do květináčů se substrátem perlitem, následně po čtrnácti dnech růstu, kdy měly rostliny již plně vyvinuty děložní listy, byly přesazeny do substrátu pro balkonové rostliny 0018 FLORCOM SB a pěstovány ve skleníku při teplotě 25 °C/15 °C (den/noc). Byly denně zalévány a jednou týdně přihnojeny (Kristalon Start – NU3 B. V., Vlaardingen, Nizozemsko). Listy pro přípravu listových disků byly odebírány z šest až osm týdnů starých rostlin (ve stádiu 3-6 pravého listu) (Lebeda, 1986b).

2. Patogenní materiál (izolace, inokulace, determinace, množení patogenu, uchovávání izolátů *P. xanthii*) (podle Lebedy et al., 2017; Lebedy a Sedlákové, 2010)

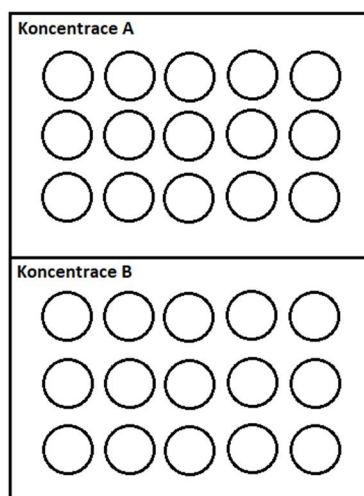
Infikované vzorky listů, získané z rostlin čeledi Cucurbitaceae se symptomy infekce padlím dýňovitých z polních podmínek nebo ze skleníku byly umístěny do plastových kelímků (110 × 85 × 45 mm) na navlhčený filtrační papír. Pustule z napadených listů hostitelských rostlin byly použity k založení kultury padlí. Konidie z pustule napadeného listu hostitelské rostliny byly přeneseny jeho otěrem o děložní list/první pravý list semenáček okurek, náchylné odrůdy Perzeus F1. Tyto semenáčky byly připraveny takto: malé plastové květináčky byly naplněny perlitem a do každého z nich byly umístěny 2-3 rostliny *C. sativus* cv. Perzeus ve stádiu děložních listů/1. pravého listu. Nainokulované semenáčky okurek byly umístěny do plastových boxů (190 × 140 × 130 mm), přikryty průhledným plastovým krytem a uchovávány ve fytotronu při teplotě 22 °C/19 °C den/noc a 12-ti hodinové fotoperiodě. Po 14 dnech byla provedena mikroskopická determinace druhu padlí na základě morfologie konidií a konidioforů nepohlavního stadia. Z děložního listu/prvního pravého listu semenáček okurek byly pinzetou nebo skalpelem odebrány vzorky mycelií a konidií. Tyto vzorky byly vloženy do kapky 3% roztoku KOH na podložním sklíčku, který zviditelnil fibrosinová tělíska v konidiích druhu *Podosphaera xanthii* (Lebeda, 1983). Čisté kultury pak byly uchovávány ve fytotronu při teplotě 22 °C/19 °C den/noc a 12-ti hodinové fotoperiodě a ve 14-ti denních intervalech přeočkovávány na nové semenáčky okurek. Poté byl patogen připraven pro testování účinků emulzí EO.

3. Realizace experimentu

Metoda 1: Testování účinků emulzí EO (0,2-0,6 %) metodou postřiku listů, kultivace v plastových krabičkách (podle Loubové, 2022)

Byly připraveny emulze EO o koncentracích 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 a 0,6 %. Následně byla příslušná koncentrace EO aplikována rozprašovačem PP (z polypropylenu, od firmy P-Lab o objemu 400

ml) na 2-3 pravé listy okurky seté, odrůdy Perzeus F1. Poté byly listy zabaleny do igelitového sáčku po dobu 30 minut tak, aby byly maximalizovány účinky EO a bylo zabráněno odpařování EO do okolí. V mezičase byly připraveny plastové krabičky (190 x 142 x 65 mm): byly do nich vloženy 4 vrstvy buničiny a 1 vrstva filtračního papíru. Poté byly otevřené plastové krabičky bez víček dány na 15 minut pod UV lampu, aby se eliminoval výskyt saprofytů. Všechny vrstvy byly následně navlhčeny destilovanou vodou pomocí stříčky. Po 30 minutách inkubace byly z listů odstraněny igelitové sáčky, listy byly odstřiženy a byly z nich zhotoveny listové disky dále popsaným způsobem. Pro tento účel byly vybírány starší a vyzrálejší listy rostlin. Celý proces probíhal co nejrychleji a nejopatrněji, aby nedocházelo k nežádoucím účinkům znehodnocování listů (vadnutí, deformace). List byl ustřižnut, položen spodní stranou nahoru na dřevěné prkénko a pomocí korkovrtu (průměr 15 mm) byly vykrojeny disky v počtu potřebném na jednu Petriho misku (pro Px 15 disků). Místa na listu byla volena mezi nejsilnějšími žilkami tak, aby výsledné disky byly co nejrovnější a nedocházelo k jejich svinování. Následně byly tyto disky ihned využity pro experiment. Disky byly umístěny do připravených krabiček po 15 kusech (3 opakování po 5 discích), vždy 2 koncentrace do jedné krabičky (viz schéma uspořádání na Obrázku 1). Takto připravené disky byly následně naočkovány příslušným izolátem Px otěrem listu o list již napadené rostliny okurky seté. Inkubace probíhala ve fytotronu při teplotě 22 °C/19 °C (den/noc) při 12-ti hodinové fotoperiodě, po dobu 11 dnů, kdy probíhalo pravidelné hodnocení výsledků.

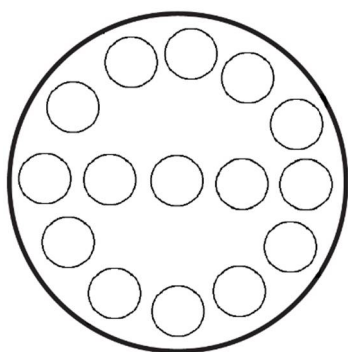


Obrázek 1.: Schéma uspořádání disků v plastové krabičce. V horní části jsou disky ošetřené koncentrací A, v dolní části disky ošetřené koncentrací B.

Metoda 2: Testování účinků emulzí EO (0,2-0,6 %) metodou namáčení disků a kultivace v Petriho miskách dle modifikované metody listových disků (upraveno podle Sedlákové a Lebedy, 2008)

Byly připraveny emulze EO o koncentracích 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 a 0,6 %. Listy okurky seté, náchylné odrůdy Perzeus F1, byly nejprve ustřiženy a následně z nich byly vyhotoveny listové disky. Příslušná emulze EO byla vždy nejprve dobře protřepána a následně nalita do plastové

misky. Poté byly do ní pomocí pinzety na krátký okamžik (cca 1 s) namočený jednotlivé disky a umístěny do připravených Petriho misek (navlhčené 4 vrstvy buničiny a 1 vrstva filtračního papíru) dle schématu vyobrazeného na Obrázku 2. Následně byly disky inokulovány příslušným izolátem *Px* otěrem listu o děložní nebo první pravý list již napadené rostliny okurky seté. Inkubace probíhala ve fytotronu při teplotě 22 °C/19 °C (den/noc) při 12-ti hodinové fotoperiodě, po dobu 11 dní, kdy probíhalo pravidelné hodnocení výsledků. Na základě těchto výsledků, a především kvůli časté fytotoxicitě listových disků v důsledku použitých koncentrací, byly upraveny testované koncentrace emulzí takto: 0,025; 0,05 a 0,075 %. Rovněž z tohoto důvodu bylo poslední hodnocení experimentu prováděno 11. den od inokulace, a tak došlo k upravení metodiky hodnocení podle Lebedy (1984; 1986b).



Obrázek 2: Schéma uspořádání listových disků na Petriho misce při testování *Px*.

4. Způsob hodnocení

Hodnocení experimentu bylo prováděno nejprve kvantitativně, poté kvalitativně. Byla hodnocena intenzita napadení listového disku padlím, a rovněž i míra fytotoxicity listových disků způsobená letální koncentrací emulzí EO. Experiment byl založen 1. den, následně probíhala 7 dní inkubace ve fytotronu při optimálních podmínkách pro růst *Px*. Následně 7. den od inokulace (naočkování) probíhalo 1. hodnocení, 9. den probíhalo 2. hodnocení a 11. den poslední 3. hodnocení. Při těchto pravidelných intervalech bylo provedeno kvantitativní hodnocení dle metody Lebedy (1984; 1986b). Vizualně bylo hodnoceno procentuální zasažení plochy každého listového disku okurky seté myceliem s konidiofory *Px* pomocí pětibodové stupnice (0-4) (viz Tabulka 3). Tyto hodnoty byly zapisovány do hodnotícího protokolu.

Tabulka 3: Stupnice pro hodnocení intenzity napadení listového disku padlím *Px* (podle Lebedy, 1984, 1986b; Lebedy a Sedlákové, 2010).

Stupeň intenzity napadení (sporulace)	Míra pokrytí listového disku padlím [%]
0	0
1	< 25 %
2	25-50 %
3	50-75 %
4	> 75 %

Kvantitativní hodnocení zahrnovalo výpočet celkového stupně napadení (*P*) dle Townsenda a Heubergera (1943), který byl vypočítán z hodnot posledního hodnocení (11. den) zapsaných v protokolech. Výpočet byl proveden dle následujícího vzorce:

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

n = počet disků v každé kategorii napadení,

v = stupeň napadení,

x = maximální stupeň napadení,

N = celkový počet hodnocených disků.

Kvalitativní hodnocení citlivosti patogenů vůči emulzím EO bylo provedeno pomocí modifikované tří-bodové stupnice dle Urbana a Lebedy (2006), kdy byly rozlišovány 3 typy působení testované emulze: vysoce účinná (označována jako „-“), kdy celkový stupeň napadení patogenu (*P*) byl ≤ 10 %. Dále středně účinná, kdy *P* bylo v rozmezí 10,1-34,9 % (označována jako „(-)“) a neúčinná, kdy *P* bylo ≥ 35 % (označována jako „+“).

Pro každý izolát byla stanovena hodnota ED50 (tj. koncentrace emulze EO inhibující sporulaci *Px* o 50 %) v intervalu testovaných koncentrací každé z testovaných emulzí EO (Sedláková a Lebeda, 2008; Urban a Lebeda, 2004)

Analogickým způsobem byla hodnocena fytotoxicita emulze EO na listovém disku. Stupnice pro hodnocení míry fytotoxicity vycházela ze stupnice pro hodnocení intenzity napadení listového disku padlím *Px* (podle Lebedy, 1984, 1986b; Lebedy a Sedlákové, 2010). Pouze se hodnotila míra chlorotizace (ztráty chlorofylu) na listovém disku (%), viz tabulka 4.

Tabulka 4: Stupnice pro hodnocení míry zasažení listového disku fytotoxicitou

Stupeň fytotoxicity	Míra chlorotizace (ztráty chlorofylu) a další projevy na listovém disku [%]
0	0
1	< 25 %
2	>25-50 %
3	>50-75 %
4	> 75 %

Následně byl určen celkový stupeň fytotoxicity dle vzorce: $F = \frac{\sum(n \cdot f)}{x \cdot N} \cdot 100$, kde je F = celkový stupeň fytotoxicity; n = počet disků v dané kategorii fytotoxicity; f = stupeň fytotoxicity; x = maximální stupeň fytotoxicity; N = celkový počet hodnocených disků.

Dále byla stanovena hodnota F50, tj. nejnižší koncentrace, při níž je míra fytotoxicity vyšší než 50 %. Pokud se u listových disků vyskytovaly kromě odbarvování další projevy fytotoxicity, například změna jejich struktury nebo ztmavnutí, výskyt nekrotizací, pro určení F50 se u této koncentrace uvažoval celkový stupeň fytotoxicity 100 %.

IV. POSTUP PRÁCE S PATOGENEM *PSEUDOPERONOSPORA CUBENSIS*

1. Rostlinný materiál

Pro testování byly použity listy okurky seté (*Cucumis sativus*), náchylné odrůdy Perzeus F1. Osivo této odrůdy nebylo mořeno a pocházelo od dodavatele Semo a.s. (Smržice, Česká republika). Semena byla vyseta do květináčů se substrátem perlitem, následně po čtrnácti dnech růstu, kdy měly rostliny již plně vyvinuté děložní listy, byly přesazeny do substrátu pro balkonové rostliny 0018 FLORCOM SB a pěstovány ve skleníku při teplotě 25 °C/15 °C (den/noc). Byly denně zalévány a jednou týdně přihnojeny (Kristalon Start – NU3 B. V., Vlaardingen, Nizozemsko). Listy pro přípravu listových disků byly odebírány z šest až osm týdnů starých rostlin (ve stádiu 3-6 pravého listu) (Lebeda, 1986b).

2. Patogenní materiál (izolace, inokulace, množení patogenu, uchovávání izolátů *P. cubensis*) (podle Lebedy, 1986c, 1990; Lebedy a Urbana, 2010)

Infikované vzorky listů, získané z okurky seté nebo z jiné rostliny z čeledi Cucurbitaceae se symptomy infekce plísní dýňovitých (*Pseudoperonospora cubensis*) z polních podmínek nebo ze skleníku, byly umístěny do plastových kelímků (110 × 85 × 45 mm) na navlhčený filtrační papír. Poté byly kultivovány cca 1-2 dny při teplotě 15 °C (Lebeda, 1986c), aby byl patogen schopný vysporulovat. Tyto vzorky byly poté přeneseny do čisté kultury a část z nich byla uchovávána v životaschopném stavu při -20 °C v pracovní kolekci po dobu 2-3 měsíců a další část ve sbírce při -80 °C cca 6 měsíců (Lebeda a Urban, 2004, 2010). *Pseudoperonospora cubensis* (dále jen *Pc*) byla kultivována na Petriho miskách se 4 vrstvami buničiny a 1 vrstvou filtračního papíru. Takto nachystané Petriho misky byly nejprve vysterilizovány pod UV lampou (expozice 15 minut), poté byly navlhčeny optimálním objemem destilované vody pomocí stříčky. Do takto připravené Petriho misky byla vložena část listu okurky seté, náchylné odrůdy Perzeus F1 žilnatinou nahoru, tak aby pokryla co největší plochu filtračního papíru. Následně bylo připraveno inokulum příslušného izolátu *Pc*: list okurky seté, na kterém byl narostlý izolát, pinzetou byl přemístěn do kádinky s destilovanou vodou a dobře protřepán tak, aby se do vody uvolnilo co nejvíce sporangíí. Pro kontrolu přítomnosti sporangíí a hustoty inokula byla připravená suspenze prohlédnuta pod mikroskopem pod zvětšením 400x (1×10^5 spor/ml). Očkování bylo provedeno pomocí skleněného rozprašovače s jemným nástřikem na plochu celého listu v Petriho misce (Lebeda, 1990). Uzavřené Petriho misky byly inkubovány 5-7 dní ve fytotronu při teplotě 17-20 °C. Prvních 16-24 hodin byly kultivovány ve tmě (zakryto černou neprůhlednou fólií) a poté dále uchovávány ve fytotronu s fotoperiodou 12/12 hodin (světlo/tma). První viditelná sporulace na listových discích byla detekovatelná cca 5-6 dnů po inokulaci (Lebeda, 1986a). Po 5 dnech kultivace bylo s *Pc* možné provést experiment, nebo ji bylo možné skladovat v mrazničce až dva měsíce při teplotě -20 °C nebo na delší dobu 6 měsíců

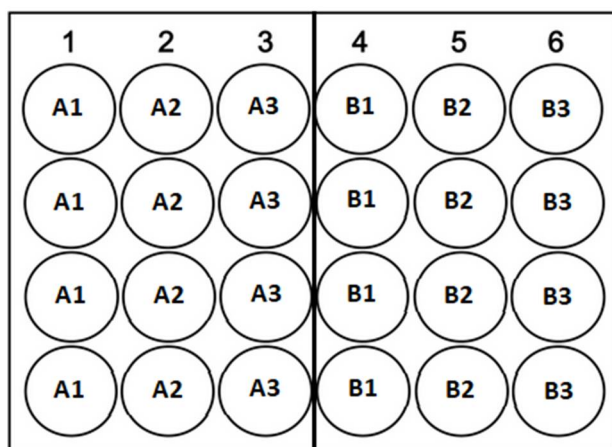
při teplotě - 80 °C. Zmrazený vzorek bylo také možné využít pro další kultivaci a opakování celého procesu.

3. Realizace experimentu

Metoda 1: Testování účinků emulzí EO (0,025-0,2 %) v jamkové destičce dle modifikované metodiky plovoucích listových disků (podle Urbana a Lebedy, 2006)

Byly připraveny emulze EO o koncentracích 0,025; 0,05; 0,075; 0,1 a 0,2 %. Jejich účinky byly testovány v jamkové destičce o 24 jamkách (Sigma-Aldrich, Česká republika). Do příslušné jamky byla napipetována příslušná emulze EO asi do $\frac{2}{3}$ objemu jamky. Na každé destičce pak byly dvě koncentrace emulzí, každé příslušelo 12 jamek (3 opakování po 4 discích (průměr 15 mm) – viz schéma uspořádání destičky na Obrázku 3). Následně byly připraveny listové disky. List byl ustřižnut, položen spodní stranou nahoru na dřevěné prkénko a pomocí korkovrtu byly vyříznuty disky v množství potřebném na 1 koncentraci (12 kusů). Místa na listu byla volena mezi nejsilnějšími žilkami tak, aby výsledné disky byly co nejrovnější. Následně byly tyto disky ihned umístěny do každé jamky (svrchní stranou disku dolů), tak aby plavaly na hladině emulze.

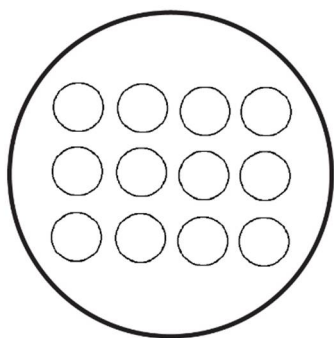
Inokulace byla provedena pomocí skleněného rozprašovače s jemným nástřikem na plochu celého listu v Petriho misce (Lebeda, 1986c, 1990). Uzavřené Petriho misky byly inkubovány 5-7 dní ve fytotronu při teplotě 17-20 °C. Prvních 16-24 hodin byly kultivovány ve tmě (zakryto černou neprůhlednou fólií) a poté dále uchovávány ve fytotronu s fotoperiodou 12/12 hodin (světlo/tma). První viditelná sporulace na listových discích byla detekovatelná cca 5-6 dnů po inokulaci (Lebeda, 1986c). Průběžně bylo prováděno hodnocení výsledků.



Obrázek 3: Schéma uspořádání 24-jamkové destičky. Ve sloupcích 1-3 se nachází 3 opakování (A1-A3) po 4 discích pro koncentraci A daného esenciálního oleje. Ve sloupcích 4-6 se nachází 3 opakování (B1-B3) po 4 discích pro koncentraci B.

Metoda 2: Testování účinků emulzí EO (0,025-0,2 %) na Petriho miskách dle modifikované metody listových disků (podle Sedlákové a Lebedy, 2008)

Byly testovány účinky emulzí o koncentracích 0,025; 0,05; 0,075; 0,1 a 0,2 %. Do Petriho misek byly dány 4 vrstvy buničiny a 1 vrstva filtračního papíru, poté byly všechny vrstvy navlhčeny stříčkou s destilovanou vodou. Poté byly vyříznuty listové disky (průměr 15 mm) a umístěny do Petriho misek (12 disků/koncentrace svrchní stranou disku dolů). Příslušná emulze EO byla nejprve dobře protřepána a vylita do plastové misky. Poté do něj byly pomocí pinzety na krátký okamžik (cca 1 s) ponořeny disky v potřebném množství. Na filtrační papír každé Petriho misky pak tedy bylo umístěno celkem 12 listových disků ošetřených příslušnou emulzí EO (3 opakování po 4 discích – viz schéma uspořádání na Obrázku 4) svrchní stranou disku dolů. Inokulace listových disků roztokem se sporangii příslušného izolátu *Pc* a inkubace probíhaly stejným způsobem, jak je popsáno v Metodě 1. Průběžně bylo prováděno hodnocení výsledků. Na základě těchto výsledků, a především kvůli časté fytotoxicitě použitých koncentrací, byly upraveny testované koncentrace emulzí takto: 0,025; 0,05 a 0,075 %.



Obrázek 4: Schéma uspořádání listových disků na Petriho misce při testování účinků EO vůči *Pc*.

4. Způsob hodnocení

Hodnocení účinků EO vůči *Pc* bylo provedeno na základě stejných metod jako hodnocení účinků EO vůči *Px*. Odlišná byla pouze doba kultivace *Pc* a počet listových disků pro hodnocení (pouze 3×4 disky).

Po založení experimentu následně probíhala 5 dní inkubace v ideálních podmínkách pro růst *Pc*. Následně 5. den probíhalo 1. hodnocení, 7. den probíhalo 2. hodnocení a 9. den poslední 3. hodnocení. Při těchto průběžných hodnoceních bylo provedeno kvantitativní hodnocení a tyto hodnoty byly zaneseny do protokolu.

Kvantitativní hodnocení bylo podobně jako u *Px* provedeno na základě metod dle Lebedy (1984, 1986b) a Townsenda a Heubergera (1943). Kvalitativní hodnocení bylo provedeno taktéž jako u *Px* na základě modifikované metody dle Urbana a Lebedy (2004). Stejně tak byla stanovena i hodnota ED₅₀.

V. POSTUP PRÁCE S PATOGENEM *PSEUDOIDIUM NEOLYCOPERSICI*

1. Rostlinný materiál

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

2. Patogenní materiál

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

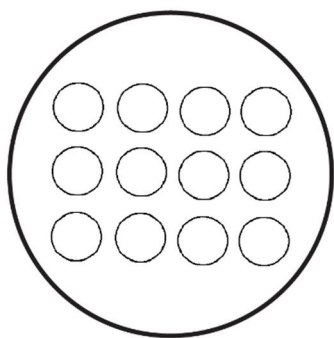
3. Realizace experimentu

Metoda 1: Testování účinků emulzí EO (0,01 až 0,15 %) metodou namáčení disků a kultivace v Petriho miskách dle modifikované metody listových disků (upraveno podle Sedlákové a Lebedy, 2008)

Listové disky byly zhotoveny pro účel testování účinků emulzí EO vůči *Pseudoidium neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*). K experimentům byly vybrány starší a pevnější listy rostlin *S. lycopersicum* cv. Amateur. Celý proces přípravy listových disků probíhal co nejrychleji a nejopatrněji, kvůli zamezení negativních vlivů, které by mohly listy znehodnotit (vadnutí, deformace). Nejprve byl list opatrně oddělen od rostliny, a následně byl položen na dřevěné prkénko tak, aby abaxiální strana směřovala nahoru. Z listu bylo pomocí korkovrtu o průměru 12 mm vykrojeno potřebné množství listových disků. Místa penetrace listů korkovrtem byla volena mezi nejsilnějšími žilkami, aby došlo k získání co nejrovnějšího povrchu vytvořených disků. Ihned po vykrojení byly listové disky využity k pokusu.

K experimentu byly připraveny emulze EO o koncentracích 0,01 až 0,15 %. Listové disky byly na krátkou dobu (cca 1 sekunda) ponořeny do příslušné koncentrace emulze EO. Ošetřené listové disky byly posléze opatrně vloženy do popsaných Petriho misek s výplní (navlhčené 4 vrstvy buničiny a 1 vrstva filtračního papíru) zvlášť pro každou koncentraci. Listové disky byly ihned po osušení inokulovány příslušným izolátem padlí rajčat (*P. neolycopersici*). Inokulace probíhala následovně: každý listový disk byl opatrně inokulován kontaktní metodou otiskem neinfikovaného listového disku s napadeným listem se 80-100 % sporulujícím myceliem izolátu padlí rajčat. Po inokulaci byly listové disky uloženy zpět do Petriho misek. Tyto misky byly

následně umístěny do fytotronu o konstantní teplotě (18-20 °C) a fotoperiodě 12h/12h (světlo/tma) po dobu 10 až 12 dnů v závislosti na průběhu experimentu. Během této doby probíhalo pravidelné hodnocení a fotografická dokumentace. Pro každou variantu bylo využito 12 listových disků (Obrázek 5).



Obrázek 5: Schéma uspořádání listových disků na Petriho misce při testování účinků EO vůči *P. neolycopersici*.

4. Způsob hodnocení

Infikované listové disky rajčete jedlého byly vizuálně hodnoceny na základě procentuální míry napadení izolátem padlí rajčat *P. neolycopersici* (syn. *Erysiphe neolycopersici*) a procentuální míry fytotoxicity způsobené letální koncentrací emulzí EO. Hodnocení experimentu probíhalo pravidelně v intervalech 2 až 3 dnů. Hodnocení bylo provedeno upravenou kvantitativní metodou dle Lebedy (1986b) a Mieslerové et al. (2000). Vizuálně bylo hodnoceno procentuální zasažení plochy každého listového disku rajčete patogenem pomocí čtyřbodové stupnice (0-3) uvedené v Tabulce 5. Stejným způsobem byla hodnocena fytotoxicita (% plochy listového disku, kde došlo k úplné ztrátě chlorofylu), uvedeno v Tabulce 6. Tyto hodnoty byly zaneseny do protokolu.

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

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

Tabulka 6: Stupnice pro hodnocení zasažení listového disku fytotoxicitou

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

*a dalších projevů fytotoxicity (změna struktury listových disků nebo jejich ztmavnutí, výskyt nekróz)

Kvantitativní hodnocení stupně intenzity napadení (sporulace) zahrnuje výpočet celkového stupně napadení (SN) dle Townsenda a Heubergera (1943), který se vztahuje k danému datu dokumentování jednotlivých experimentů. Výpočet SN byl proveden dle následujícího vzorce: $SN = \frac{\sum (n \cdot v) \cdot 100}{x \cdot N}$; kde n = počet disků v každé kategorii napadení, v = stupeň napadení, x = maximální stupeň napadení N = celkový počet hodnocených disků. Kvalitativní hodnocení citlivosti patogenů vůči emulzím EO bylo provedeno pomocí modifikované tříbodové stupnice dle Urbana a Lebedy (2006), kdy byly rozlišovány 3 typy působení testované emulze: vysoce účinná (označována jako „-“), kdy celkový stupeň napadení patogenu (P) byl ≤ 10 %. Dále středně účinná, kdy P bylo v rozmezí 10,1-34,9 % (označována jako „(-)“) a neúčinná, kdy P bylo ≥ 35 % (označována „+“).

Stupeň zasažení fytotoxicitou byl hodnocen stejným způsobem jako stupeň intenzity napadení (sporulace), a to výpočtem za použití stejného vzorce podle Townsenda a Heubergera (1943).

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

n = počet disků v každé kategorii napadení/zasažení fytotoxicitou,

v = stupeň napadení/zasažení fytotoxicitou,

x = maximální stupeň napadení/zasažení fytotoxicitou,

N = celkový počet hodnocených disků.

VI. PŘÍPADOVÉ STUDIE

1. Studium účinnosti esenciálních olejů vůči padlí a plísni dýňovitých (podle Sedlákové et al., 2022, 2024)

Abstrakt: Účinnost jedenácti esenciálních olejů (EO) a dvou rostlinných extraktů (E) byla sledována u dvou izolátů padlí dýňovitých (PM) (původce: *Podosphaera xanthii* /Px/, 22/21 Px, 26/21 Px) a dvou izolátů plísně dýňovitých (původce: *Pseudoperonospora cubensis* /Pc/: Pc 28/18 2, Pc OL 7/21) pocházejících z České republiky. K testování obou patogenů (Pc i PM) byla využita modifikovaná metoda listových disků podle Sedlákové a Lebedy (2008). Listové disky byly připraveny z listů vysoce náchylné odrůdy okurky seté (*Cucumis sativus*) Perzeus F1. Byla testována účinnost EO z těchto rostlin: *Mentha spicata*, *Melaleuca alternifolia*, *Thymus vulgaris*, *Cinnamomum zeyladicum*, *Syzygium aromaticum*, *Pelargonium graveolens*, *Foeniculum vulgare*, *Cymbopogon winterianus*, *Pimpinella anisum*, *Rosmarinus officinalis*, *Eucalyptus citriodora*, a také těchto dvou E: karvonu a eugenolu. U všech byly testovány tři koncentrace (0,025 %, 0,05 %, 0,075 %). Účinnost sledovaných EO a E vůči izolátům PM a Pc se významně lišila, a to jak vzhledem k jednotlivým testovaným EO a E, tak rovněž i mezi oběma studovanými skupinami biotrofních patogenů (PM, Pc). Některé sledované EO a obě E vykazovaly u testovaných Px izolátů různou účinnost.

Materiál a metody

Původ esenciálních olejů a emulzí

Testované esenciální oleje (EO) a rostlinné extrakty (E) pocházely z pracovní kolekce Katedry kvality a bezpečnosti potravin Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze. Jejich výčet, rostlinný původ a výrobce (pokud bylo blíže specifikováno poskytovatelem EO) je uveden v Tabulce 7.

Při testování účinků esenciálních olejů (EO) a rostlinných extraktů (E) byl jako pozitivní kontrola využíván komerčně dostupný fungicidní přípravek Topas 100 EC (Výrobce: Syngenta Crop Protection AG, Basel, Švýcarsko) (Syngenta, 2024). Jedná se o systémový fungicidní přípravek ve formě emulgovatelného koncentrátu s protektivními i kurativními účinky. Je určen k ochraně jaderovin, vinné révy, jahod, černého rybízu a zeleniny vůči chorobám způsobeným houbovými patogeny (Agromanuál 2024). Účinnou látkou je Penkonazol (100 g/l) (FRAC 3, MOA G; FRAC 2024), který blokuje syntézu ergosterolu, čímž brzdí funkci buněčných membrán. Přípravek je toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Představuje i možné ohrožení lidského zdraví v podobě vážného podráždění očí nebo poškození plodu v těle matky (Syngenta, 2019).

Příprava emulzí esenciálních olejů a roztoku fungicidu

Emulze EO byly připravovány pro oba patogenní organismy stejným způsobem. Pro každou koncentraci každého EO nebo E byla připravena a popsána odměrná baňka o objemu 100 ml. V digestoři do ní bylo napipetováno příslušné množství příslušného EO/E. Následně byl objem doplněn destilovanou vodou po rysku. Poté byla baňka uzavřena zátkou pro zabránění

nadměrnému vytěkávání EO. Před aplikací byly emulze vždy dobře protřepány pro získání co nejrovnoměrnější distribuce EO. Jako negativní kontrola při testování sloužila destilovaná voda. V Tabulce 8 jsou uvedeny všechny koncentrace emulzí EO/E použité při testování vůči studovaným patogenům a objemy látek potřebných pro jejich přípravu. Roztok fungicidu Topas 100 EC (účinná látka Penkonazol), který byl použit jako pozitivní kontrola, byl připraven taktéž do 100 ml odměrných baněk v koncentracích doporučených výrobcem (Tabulka 9). Účinnost tohoto fungicidu se podařila otestovat pouze u těchto izolátů: 26/21 Px a OL PC 7/21.

Tabulka 7: Seznam testovaných esenciálních olejů a rostlinných extraktů, jejich původ a výrobce

Esenciální oleje (11)	Zkratka	Původ	Výrobce
mátový	MAK	máta kadeřavá (<i>Mentha spicata</i>); Čína	Saloos naturcosmetic s.r.o.
tymiánový	TO	tymián obecný (<i>Thymus vulgaris</i>); Španělsko	Saloos naturcosmetic s.r.o.
skořicový	SK	skořicovník pravý (<i>Cinnamomum zeyladicum</i>)	nespecifikováno
hřebíčkový	HŘ	hřebíčkovec kořený (<i>Syzygium aromaticum</i>)	nespecifikováno
geraniový	GER	geranie (<i>Pelargonium graveolens</i>); Egypt	Saloos naturcosmetic s.r.o.
fenyklový	FN	fenykl (<i>Foeniculum vulgare</i>); Maďarsko	Saloos naturcosmetic s.r.o.
citronelový	CI	voňatka citrónová (<i>Cymbopogon winterianus</i>); Indonésie	Saloos naturcosmetic s.r.o.
anýzový	AN	bedrník anýz (<i>Pimpinella anisum</i>); Čína	Saloos naturcosmetic s.r.o.
rozmarýnový	RZ	nově: <i>Salvia rosmarinus</i> starší název: <i>Rosmarinus officinalis</i> rozmarýn lékařský; Tunis	Saloos naturcosmetic s.r.o.
eukalyptový	EUC	nově: korymbie citroníková (<i>Corymbia citriodora</i>) starší název: blahovičník citroníkový (<i>Eucalyptus citriodora</i>); Čína	Saloos naturcosmetic s.r.o.
kajepuťový	KAJ	kajepuť střídavolistý	nespecifikováno
čajovníkový	TT	<i>Melaleuca alternifolia</i>	
Rostlinné extrakty (2)			
karvon	KAR		nespecifikováno
eugenol	EU		nespecifikováno

Tabulka 8: Příprava emulzí EO v jednotlivých koncentracích

Koncentrace emulze [%]	Objem EO [μ l]	Objem destilované vody [ml]
0 (negativní kontrola)	0	100
0,025	25	99,975
0,05	50	99,950
0,075	75	99,925

Tabulka 9: Příprava fungicidu TOPAS 100 EC v jednotlivých koncentracích

Koncentrace roztoku [%]	Objem fungicidu [μ l]	Objem destilované vody [ml]
0 (negativní kontrola)	0	100
0,025	25	99,975
0,05	50	99,950
0,075	75	99,925
0,100*	100	99,900
0,200*	200	99,800

*koncentrace doporučená výrobcem

Rostlinný materiál, patogenní materiál, realizace experimentu a způsob hodnocení jsou popsány v kapitole III. Postup práce s patogenem *Podosphaera xanthii* a IV. Postup práce s patogenem *Pseudoperonospora cubensis*

V rámci experimentu se postupovalo podle **Metody 2**, kdy byly testovány účinky emulzí EO a rostlinných extraktů o koncentracích 0,025; 0,05 a 0,075 %.

V Tabulce 10 jsou uvedeny použité izoláty příslušných patogenních organismů, jejich původ a datum sběru z hostitelského organismu (pokud bylo blíže specifikováno).

Tabulka 10: Specifikace patogenních organizmů a jejich izolátů

Patogenní organizmus	Izoláty	Původ	Datum sběru
<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	Pc 28/18 2	ČR	2018
	OL Pc 7/21	ČR, Olomouc-Holice, experimentální pozemek UPOL, hostitelská rostlina <i>Cucumis sativus</i>	25.8.2021
<i>Podosphaera xanthii</i>	26/21 Px	ČR, Olomouc-Holice, experimentální pozemek UPOL, hostitelská rostlina <i>Cucurbita maxima</i>	15.8.2021
	22/21 Px	ČR, Nový Jičín-Kojetín, zahrada, hostitelská rostlina <i>Cucurbita pepo</i>	14.8.2021

Výsledky

Podosphaera xanthii

Účinnost sledovaných emulzí esenciálních olejů (EO) a rostlinných extraktů (E) vůči izolátům PM se výrazně lišila, a to vzhledem k jednotlivým testovaným EO a E. Vůči některým sledovaným EO a oběma E byla navíc také pozorována odlišnost v efektivitě u většiny testovaných Px izolátů.

Ze získaných experimentálních dat uvedených v Tabulce 11 je patrné, že v ochraně vůči oběma izolátům Px byl plně účinný pouze olej fenyklový (FN), který vykazoval inhibiční účinky v celém rozsahu testovaných koncentrací. Jako další účinné oleje vůči oběma izolátům Px lze hodnotit tyto oleje: tymiánový (TO), eucalyptový (EUC), citronelový (CI) a skořicový (SK) a to v koncentracích 0,05 % a 0,075 %. Naopak na nejnižší testované koncentraci (0,025 %) byla alespoň u jednoho z testovaných Px izolátů zaznamenána výrazná sporulace ($P \geq 35$ %) u těchto čtyř esenciálních olejů. U dalších tří esenciálních olejů: čajovníkového (TT), mátového (MAK), geraniového (GER) a extraktu z eugenolu (EU) byla zaznamenána rozdílná účinnost mezi testovanými izoláty Px. Zatímco rostlinný extrakt (EU) a esenciální olej (TT) byly vůči izolátu 22/21 PX plně účinné ve vyšších testovaných koncentracích (0,05 %, 0,075 %), tak naopak na koncentraci 0,05 % u obou EO (EU, TT) byla u izolátu 26/21 Px zaznamenána výrazná sporulace ($P \geq 35$ %). A podobně rozdílná reakce mezi oběma testovanými izoláty byla zjištěna u mátového (MAK) a geraniového (GER) oleje; tyto dva EO byly plně účinné vůči izolátu 26/21 Px ve vyšších testovaných koncentracích (0,025 %, 0,05 %) na rozdíl od koncentrace 0,05 % mátového oleje (MAK), která byla neúčinná vůči izolátu 22/21 Px vůči, a naopak středně účinná, u koncentrace 0,05 % geraniového oleje (GER). U anýzového oleje (AN) byla u obou testovaných izolátů pozorována rovněž rozdílnost v účinnosti na nižších testovaných koncentracích EO (0,025 %, 0,050 %). Lze tedy říci, že anýzový olej (AN) byl pro izolát 26/21 Px plně účinný v koncentracích 0,050 % a 0,075 % a naopak pro izolát 22/21 Px se ukázala jako

vysoce účinná pouze nejvyšší testovaná koncentrace (0,075 %). U hřebíčkového oleje (HŘ) a rostlinného extraktu z karvonu (KAR) se projevila výrazná rozdílnost v účinnosti vůči oběma testovaným *Px* izolátům. Zatímco u izolátu 22/21 *Px* byly všechny testované koncentrace (HŘ, EU) neúčinné, tak u izolátu 26/21 *Px* byla ve vyšších testovaných koncentracích (0,05 %, 0,075 %) pozorována zcela odlišná situace. Rozmarýnová silice (RZ) byla neúčinná vůči oběma testovaným *Px* izolátům. Pro izolát 22/21 *Px* se tento olej ukázal jako naprosto neúčinný, pro izolát 26/21 *Px* byla efektivní pouze nejvyšší testovaná koncentrace (0,075 %). Kajeputový olej (KAJ) olej byl zcela neefektivní vůči oběma testovaným *Px* izolátům ve všech koncentracích. Hodnocení experimentu z pohledu hodnoty ED₅₀, tedy hodnoty efektivní koncentrace každé emulze EO/E, která inhibovala sporulaci u 50 % *Px* izolátů je zobrazeno v Tabulce 12; tato hodnota ještě ve větší míře ukázala odlišnosti v reakci na většinu testovaných esenciálních olejů/extraktů mezi oběma *Px* izoláty. Výjimku tvořily pouze dva esenciální oleje: fenyklový (FN), u něhož byla u obou *Px* izolátů hodnota ED₅₀ nižší než nejnižší testovaná koncentrace (0,025 %) a Kajeputová (KAJ), kde naopak ED₅₀ bylo vyšší než nejvyšší testovaná koncentrace (0,075 %). Důležité je přihlídnout také k problematice fytotoxicity esenciálních olejů, která byla prokázána během testování. Nejméně fytotoxicky působil olej kajeputový (KAJ), u kterého zůstávaly listové disky většinou po celou dobu testování zelené v celém rozsahu testovaných koncentrací. U mátového oleje (MAK) docházelo k fytotoxickým účinkům pouze u nejvyšší koncentrace (0,075 %). U skořicového (SK) a hřebíčkového (HŘ) oleje docházelo k fytotoxickým účinkům u koncentrací 0,05 % a 0,075 %. U citronelového (CI) a tymiánového oleje (TO) docházelo k fytotoxickému působení v celém rozsahu testovaných koncentrací. Tyto účinky se u všech olejů (kromě hřebíčkového /HŘ/ a kajeputového /KAJ/) projevovaly odbarvováním a rozpouštěním listových disků. U oleje hřebíčkového (HŘ) navíc docházelo k hnědnutí listových disků. Přípravek TOPAS 100 EC se ukázal v nižších koncentracích (0,025 %, 0,050 %, 0,075 %) než doporučených výrobcem jako neúčinný. V rozsahu koncentrací doporučených výrobcem (0,1 - 0,2 %) pro ošetření porostů tykvovitých zelenin přípravkem TOPAS 100 EC byla pro izolát 26/21 *Px* nižší doporučená koncentrace (0,1 %) částečně účinná, avšak až koncentrace 0,2 % byla plně efektivní.

Závěr

Na základě realizovaných experimentů se ukázaly odlišnosti v efektivitě testovaných EO/E vůči izolátům *Px*, a také i rozdíly v reakci mezi testovanými izoláty *Px*. Z důvodu vysoké míry fytotoxického působení některých testovaných EO/E se ukazuje jako potřebné pro další experimenty do budoucna zkusit otestovat větší počet EO/E, abychom získali přehled o jejich fytotoxicitě a na základě výsledků míry fytotoxického působení těchto EO/E otestovali širší škálu koncentrací EO/E. Ty EO/E, které budou vykazovat nadějně výsledky, tedy nejmenší stupeň napadení patogenem a nízkou míru zasažení fytotoxicitou, zkusit otestovat na větším počtu izolátů daného patogenu.

Tabulka 11: Výsledky testování emulzí EO/E v koncentraci 0,025%, 0,05%, 0,075% vůči izolátům *P. xanthii* (11. den od inokulace)

Druh esenciálního oleje	Číslo izolátu			Číslo izolátu		
	Testovaná koncentrace (%)			Testovaná koncentrace (%)		
	22/21 Px			26/21 Px		
	0,025	0,05	0,075	0,025	0,05	0,075
FN	-	-	-	-	-	-
TO	-	-	-	+	-	-
EUC	-	-	-	+	-	-
EU*	-	-	-	+	+	-
CI	+	-	-	-	-	-
SK	+	-	-	+	-	-
TT	+	-	-	+	+	-
MAK	+	+	-	+	-	-
GER	+	(-)	-	-	-	-
AN	+	(-)	-	(-)	-	-
HŘ	+	+	(-)	(-)	-	-
RZ	+	+	+	+	(-)	-
KAR*	+	+	+	+	-	-
KAJ	+	+	+	+	+	+

*rostlinný extrakt

Kvalitativní hodnocení citlivosti patogenů vůči emulzím EO pomocí modifikované tří-bodové stupnice dle Urbana a Lebedy (2006): 3 typy působení testované emulze: - vysoce účinná; (-) středně účinná; + neúčinná

Tabulka 12: ED₅₀ testovaných izolátů *P. xanthii* ošetřených emulzemi EO a E (11. den od inokulace)

Druh esenciálního oleje	Číslo izolátu	Číslo izolátu
	Hodnota ED ₅₀	Hodnota ED ₅₀
	22/21 Px	26/21 Px
FN	< 0,025	< 0,025
TO	< 0,025	0,025-0,05
EUC	< 0,025	0,025-0,05
EU*	< 0,025	0,05-0,075
SK	0,025-0,05	< 0,025
GER	0,025-0,05	< 0,025
CI	0,025-0,05	< 0,025
AN	0,025-0,05	< 0,025
TT	0,025-0,05	> 0,075
MAK	0,05-0,075	0,025-0,05
HŘ	0,05-0,075	< 0,025
KAR*	> 0,075	0,025-0,05
RZ	> 0,075	0,025-0,05
KAJ	> 0,075	> 0,075

*rostlinný extrakt

< 0,025	0,025-0,05	0,05-0,075	> 0,075
---------	------------	------------	---------

Pseudoperonospora cubensis

Účinnost sledovaných emulzí esenciálních olejů (EO) a rostlinných extraktů (E) vůči izolátům *Pc* se výrazně lišila, a to vzhledem k jednotlivým testovaným EO a E. A rovněž byl vůči některým sledovaným EO a zjištěn rozdíl v účinnosti mezi oběma testovanými *Pc* izoláty. Ze získaných experimentálních dat uvedených v Tabulce 13 je patrné, že v ochraně vůči oběma izolátům *Pc* byly plně účinné pouze tyto EO: tymiánový (TO), geraniový (GER), fenyklový (FN), citrónelový (CI), anýzový (AN), které vykazovaly inhibiční účinky v celém rozsahu testovaných koncentrací. Naopak zcela neúčinné vůči oběma testovaným *Pc* izolátům na všech testovaných koncentracích se ukázaly tyto tři oleje: rozmarýnový (RZ), kajepuťový (KAJ), čajovníkový (TT).

Mátový olej (MK) a extrakt z karvonu (KAR) se jeví jako efektivní pouze ve vyšších testovaných koncentracích (0,05 %, 0,075 %). U skořicové silice byla zaznamenána rozdílná účinnost u testovaných izolátů na koncentraci 0,025 %, kdy u izolátu *Pc* 28/18 2 byla zaznamenána sporulace 12,5 %, zatímco u izolátu *Pc* OL 7/21 nepřesáhla sporulace 4 %-ní hranici. Hřebíčková silice (HŘ) a eukalyptová (EUC) se ukázaly jako zcela účinné pro oba *PC* izoláty až na nejvyšší testované koncentraci (0,075 %). U extraktu z eugenolu (EU) byla na vyšších testovaných koncentracích (0,05 %, 0,075 %) pozorována odlišná účinnost mezi testovanými *Pc* izoláty. Zatímco pro izolát *Pc* 28/18 2 byla účinná pouze nejvyšší testovaná koncentrace (0,075 %), u izolátu *Pc* OL 7/21 byla na obou vyšších testovaných koncentracích zjištěna omezená sporulace ($P = 20,83\%$ na 0,05% a $P = 14,58$ na 0,075%-ní koncentraci). Hodnocení experimentu z pohledu hodnoty ED_{50} , tedy hodnoty efektivní koncentrace každé emulze EO/E, která inhibovala sporulaci u 50 % *Pc* izolátů je zobrazeno v Tabulce 14; tato hodnota ještě výrazněji upozornila na odlišnosti v účinnosti testovaných esenciálních olejů/extraktů u obou *Pc* izolátů. U pěti plně účinných esenciálních olejů (TO, SK, GER, FN, CI, AN) byla hodnota ED_{50} nižší než nejnižší testovaná koncentrace EO/E; naopak u zcela tří zcela neúčinných EO (RZ, KAJ, TT) pak vyšší než nejvyšší testovaná koncentrace (0,075 %). Důležité je přihlídnout také k problematice fytotoxicity esenciálních olejů (EO) a extraktů z rostlin (E), které byly prokázány během testování. Nejméně fytotoxicky působily neúčinné EO (RZ, KAJ, TT), u nichž zůstávaly listové disky většinou po celou dobu testování zelené v celém rozsahu testovaných koncentrací. U mátového, skořicového EO a E z karvonu se fytotoxicita objevovala ve vyšších testovaných koncentracích (0,050 %, 0,075 %). U částečně efektivních EO a E (hřebíčkový a eukalyptový) byla zjištěna fytotoxicita pouze v nejvyšší testované koncentraci (0,075 %). Přípravek TOPAS 100 EC se ukázal v koncentracích nižších (0,025 %, 0,050 %, 0,075 %) než doporučených výrobcem jako zcela neúčinný. V rozsahu koncentrací doporučených výrobcem (0,1 % - 0,2 %) pro ošetření porostů tykvovitých zelenin přípravkem TOPAS 100 EC byla pro izolát OL *Pc* 7/21 nižší doporučená koncentrace (0,1 %) rovněž neefektivní a koncentrace 0,2 % pouze částečně účinná.

Závěr

Na základě realizovaných experimentů byla prokázána odlišnost v efektivitě testovaných EO/E vůči izolátům *Pc*. Z důvodu vysoké míry fytotoxického působení některých testovaných EO/E se ukazuje jako potřebné pro další experimenty do budoucna zkusit otestovat širší škálu koncentrací EO/E. A ty EO/E, které budou vykazovat nadějně výsledky, tedy nejmenší stupeň napadení patogenem a nízkou míru zasažení fytotoxicitou, zkusit otestovat na větším počtu izolátů daného patogenu.

Tabulka 13: Výsledky testování emulzí EO/E v koncentraci 0,025%, 0,05%, 0,075% vůči izolátům *P. cubensis* (9. den od inokulace)

Druh esenciálního oleje	Číslo izolátu			Číslo izolátu		
	Testovaná koncentrace (%)			Testovaná koncentrace (%)		
	<i>Pc</i> 28/18 2			<i>Pc</i> OL 7/21		
	0,025	0,05	0,075	0,025	0,05	0,075
TO	-	-	-	-	-	-
GER	-	-	-	-	-	-
FN	-	-	-	-	-	-
CI	-	-	-	-	-	-
AN	-	-	-	-	-	-
MAK	+	-	-	+	-	-
KAR*	+	-	-	+	-	-
SK	(-)	-	-	-	-	-
HŘ	+	(-)	-	+	+	-
EUC	+	+	-	+	+	-
EU*	+	+	-	+	(-)	(-)
RZ	+	+	+	+	+	+
KAJ	+	+	+	+	+	+
TT	+	+	+	+	+	+

*rostlinný extrakt

Kvalitativní hodnocení citlivosti patogenů vůči emulzím EO pomocí modifikované tří-bodové stupnice dle Urbana a Lebedy (2006): 3 typy působení testované emulze: - vysoce účinná; (-) středně účinná; + neúčinná

Tabulka 14: ED₅₀ testovaných izolátů *P. cubensis* ošetřených emulzemi EO a E (9. den od inokulace)

	<i>Pc</i> 28/18 2	OL <i>Pc</i> 7/21
TO	< 0,025	< 0,025
SK	< 0,025	< 0,025
GER	< 0,025	< 0,025
FN	< 0,025	< 0,025
CI	< 0,025	< 0,025
AN	< 0,025	< 0,025
MAK	0,025-0,05	0,025-0,05
KAR*	0,025-0,05	0,025-0,05
EU*	0,05-0,075	0,025-0,05
HŘ	0,025-0,05	0,05-0,075
EUC	0,05-0,075	0,05-0,075
RZ	> 0,075	> 0,075
KAJ	> 0,075	> 0,075
TT	> 0,075	> 0,075

*rostlinný extrakt

< 0,025	0,025-0,05	0,05-0,075	> 0,075
---------	------------	------------	---------

2. Studium účinnosti esenciálních olejů vůči padlí rajčete (podle Dobrovolného, 2024; Mieslerové et al., 2024)

Abstrakt

Původce padlí rajčat (*Erysiphe neolycopersici*), který se začal v Evropě šířit v 80. letech 20. století, je závažným patogenem zejména ve skleníkových kulturách rajčat. Nejzásadnějšími způsoby, jak jeho výskyt a šíření omezit, je využívání chemické ochrany, ale i šlechtění odrůd rajčat odolných k tomuto patogenu. Poměrně novým způsobem, stojícím na pomezí chemické a biologické ochrany, je využití esenciálních olejů (EO) získaných z rostlin, které potlačují výskyt patogenu. V našich experimentech jsme sledovali účinek pěti esenciálních olejů (skořicový, hřebíčkový, kajeputový, citranelový a tymiánový) při různých koncentracích (0,01; 0,025; 0,05; 0,075 a 0,15 %). Cílem experimentů bylo zjistit, který esenciální olej a při jaké koncentraci má nejlepší ochranné vlastnosti vůči padlí na listech rajčat a zároveň způsobují nejméně fytotoxicky. Hodnocení stupně napadení padlím (SNP) a hodnocení stupně fytotoxicity (SZF) bylo provedeno makroskopicky na základě čtyř bodové stupnice (0-3). Na základě realizovaných experimentů bylo zjištěno, že nejvhodnějším EO je emulze skořice a tymiánu v koncentraci 0,025 % (nejmenší stupeň napadení patogenem a malý stupeň působení fytotoxicky), naopak některé esenciální oleje se jevily jako neúčinné (kajeput ve všech koncentracích) a některé projevily výrazné fytotoxické účinky (např. citronela ve všech testovaných koncentracích a tymián v koncentracích 0,05 % a vyšších).

Materiál a metody

Původ esenciálních olejů a emulzí

Testované esenciální oleje (EO) pocházely z pracovní kolekce Katedry kvality a bezpečnosti potravin Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze. Jejich výčet, rostlinný původ a výrobce (pokud bylo blíže specifikováno poskytovatelem EO) je uveden v Tabulce 15.

Tabulka 15: Seznam testovaných esenciálních olejů, původ a výrobce

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

Příprava emulzí esenciálních olejů

Emulze EO k pokusu s patogenními organismy byly připraveny následovně: pro každou koncentraci každého EO byla připravena a popsána odměrná baňka o objemu 100 ml, do které bylo napipetováno příslušné množství esenciálního oleje a následně doplněna destilovanou vodou až po rysku odměrných baněk. Riziko nadměrného vytěkání kapaliny bylo vyřešeno zašpuntováním odměrných baněk. Tyto emulze byly důkladně protřepány a promíchány, aby byla zajištěna co nejrovnoměrnější distribuce EO a následně přelity do plastových nádob. Jako negativní kontrola při testování sloužila destilovaná voda.

Rostlinný materiál, patogenní materiál, realizace experimentu a způsob hodnocení jsou popsány v kapitole V. Postup práce s patogenem *Pseudoidium neolycopersici*

Výsledky

Studie proběhla ve dvou nezávislých experimentech, z důvodů nutné úpravy koncentrace použitých EO.

První experiment obsahoval emulze EO (skořice, hřebíčku, kajeputu, tymiánu a citronely) v koncentracích 0,025, 0,05 a 0,075 %. Experiment byl dokumentován 1., 2., 6., 9. a 13. den po inokulaci (DPI), výsledky jsou zaznamenány v Tabulce 16. Druhý experiment obsahoval už pozměněné koncentrace emulzí EO (0,01, 0,025, 0,075 a 0,15 %) a byl dokumentován 4., 5., 7., 8. a 12. den od inokulace, výsledky jsou zaznamenány v Tabulce 17.

Vysoké koncentrace různých vzorků emulzí EO (citronela 0,025; 0,05; 0,075 %, skořice 0,075; 0,05 %, tymián 0,05; 0,075 % a kajeput 0,15 %) působily fytotoxicky vůči listovým diskům rajčete, díky čemuž docházelo k jejich rychlému vadnutí, odbarvování a úhynu. Z tohoto důvodu musely být koncentrace testovaných emulzí EO pozměněny.

Tabulka 16: Výsledky testování emulzí EO v koncentraci 0,025 %; 0,05 % a 0,075 % a vzorku kontroly vůči izolátu padlí *Pseudoidium neolycopersici*

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

Tabulka 16 (pokračov.)

Experiment č.1	Koncentrace emulze EO:	Dny po inokulaci (DPI)				
		1.	2.	6.	9.	13.
Kajeput						
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	77 %	86 %	100 %
Reakce		-	-	+	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	6 %	6 %	6 %
SNP (%)	0,05 %	0 %	0 %	72 %	86 %	100 %
Reakce		-	-	+	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	8,3 %	8,3 %	8,3 %
SNP (%)	0,075 %	0 %	0 %	58 %	70 %	96 %
Reakce		-	-	+	+	+
SZF (%)		0 %	6 %	11 %	11 %	11 %
Hřebíček						
SNP (%)	0,025 %	0 %	0 %	0 %	39 %	70 %
Reakce		-	-	-	+	+
SZF (%)		0 %	0 %	6 %	6 %	6 %
SNP (%)	0,05 %	0 %	0 %	0 %	6 %	6 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		11 %	19 %	19 %	19 %	19 %
SNP (%)	0,075 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Reakce		-	-	-	-	-
SZF (%)		14 %	27 %	27 %	27 %	27 %

SNP (%) – stupeň napadení patogenem, SZF (%) – stupeň zasažení fytotoxicitou; kvalitativní hodnocení citlivosti patogenů vůči emulzím EO pomocí modifikované tří-bodové stupnice dle Urbana a Lebedy (2006): 3 typy působení testované emulze: - vysoce účinná; (-) středně účinná; + neúčinná

Na základě získaných dat 1. experimentu uvedených v Tabulce 16 bylo zjištěno, že nejúčinnější emulzí EO ve srovnání s kontrolním vzorkem je vzorek skořice o koncentraci 0,025 %. Po aplikaci EO skořice 0,025 % nebyla zaznamenána až do 13. dne hodnocení sporulace padlí rajčete, tedy patogen byl vůči této EO senzitivní. Stupeň fytotoxicity u vzorku skořice v 0,025 % se pohyboval od 8 do 19 %. U vzorku hřebíčku o koncentraci 0,05 % byl zaznamenán stupeň napadení patogenem v hodnotě 0 % a to až do 6. dne. K 9. až 12. dni hodnocení se % SNP u vzorku EO hřebíčku v 0,05 % zvýšilo na 6. Stupeň fytotoxicity byl v průběhu experimentu 11-19 %. Podobných výsledků jako emulze EO hřebíčku v koncentraci 0,05 % dosáhla emulze EO tymiánu 0,025 %, a to s rozdílem vyššího stupně napadení patogenem během 9. až 12. dne (6-11 %) a lehce stabilnějšího stupně působení fytotoxicitou (14-16 %). Jako mírně účinné až úplně neúčinné se prokázaly emulze EO kajeputu (0,025 %, 0,05 % a 0,075 %), jelikož během pozdější fáze experimentu (6.-13. den) docházelo k intenzivnímu vývoji padlí (58-100 % SNP). Emulze EO citronely (0,025 %, 0,05 % a 0,075 %) byly nejagresivnější, co se týče fytotoxicity (100 %).

Tabulka 17: Výsledky testování emulzí EO v koncentraci 0,01 %; 0,025 %; 0,075 % a 0,15 % a vzorku kontroly vůči izolátu padlí *Pseudoidium neolycopersici*

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

SNP (%) – stupeň napadení patogenem, SZF (%) – stupeň fytotoxicity; Kvalitativní hodnocení citlivosti patogenů vůči emulzím EO pomocí modifikované tří-bodové stupnice dle Urbana a Lebedy (2006): 3 typy působení testované emulze: - vysoce účinná; (-) středně účinná; + neúčinná

Na základě získaných dat 2. experimentu uvedených v tabulce 17 bylo zjištěno, že nejúčinnější emulzí EO ve srovnání s kontrolním vzorkem je EO tymiánu o koncentraci 0,025 %. Po jeho aplikaci nebyly zaznamenány během celého dokumentovaného období náznaky sporulace či výskytu padlí rajčat. Stupeň fytotoxicity však u emulze EO tymiánu 0,025 % byl v průběhu 4. až 12. dne 28-39 %. Emulze EO tymiánu v koncentraci 0,01 % měla zanedbatelný vliv na vývoj padlí (SNP 50-100 %); zasažení fytotoxicitou se však u EO tymiánu 0,01 % vůbec neprojevovalo. U listových disků rajčete po aplikaci EO skořice 0,025 % nebylo zjištěno žádné napadení padlím, ale fytotoxicita dosahovala od 4. do 12. dne 89 %, což je oproti výsledkům vzorku skořice 0,025 % z 1. experimentu velký rozdíl. Za celé dokumentované období (4. až 12. den po inokulaci) po aplikaci emulze hřebíčku 0,01 % a 0,025 % nebylo zjištěno žádné fytotoxické působení na listové disky; stupeň napadení patogenem však byl po aplikaci emulze EO hřebíčku 0,01 % v hodnotách 6-62 % a u EO hřebíčku 0,025 % v hodnotách 0-52 %. Dalším dokumentovaným vzorkem byla emulze EO kajeputu 0,075 %, po jejíž aplikaci byly zjištěny hodnoty SNP 0-68 % a hodnoty SZF 0-30 %. Právě hodnoty stupně fytotoxicity se po aplikaci EO kajeputu 0,075 % v 2. experimentu zhoršily oproti stejnému vzorku kajeputu 0,075 % z 1. experimentu (0-11 %). Listové disky po aplikaci emulze EO kajeputu 0,15 % a citronely 0,025 % zaznamenaly od 4. sledovaného dne 100% fytotoxicity.

Závěr

Na základě realizovaných experimentů bylo zjištěno, že nejvhodnějším EO je emulze skořice v koncentraci 0,025 % (nejmenší stupeň napadení patogenem a průměrně dobrý výsledek stupně fytotoxicity), a to ve dvou nezávislých experimentech. Pro detailní pochopení mechanismu účinnosti esenciálních olejů v ochraně rostlin je zapotřebí dalšího výzkumu tohoto tématu (testování širšího spektra EO, ve více koncentracích, provedení polních experimentů). Jelikož se jedná o udržitelný, preventivní, ochranný a ekologický doplněk k chemické ochraně využívané v konvenčním zemědělství, nebo k následnému uplatnění v potravinářství, uskladňování a ochraně plodů, je potřebné se tématu využití EO v ochraně vůči patogenům nadále intenzivně věnovat.

VII. SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ

V systémech ochrany plodové zeleniny proti biotrofním patogenům je uplatňována celá řada preventivních, ale zejména pak kurativních metod ochrany rostlin včetně aplikací fungicidních látek. Z hlediska měnící se legislativy dochází k vytváření podmínek pro aplikaci alternativních prostředků ochrany rostlin, a to zejména v integrovaných systémech produkce. Používání fungicidů sebou nese i reziduální zátěž potravinového řetězce a zdrojů pitné vody. Významný je mimo jiné kumulativní efekt reziduí pesticidů, kdy jednotlivé pesticidy v potravině nepřesahují stanovený limit, ale kumulace všech obsažených reziduí představuje závažné zdravotní riziko. Jedním z možných řešení je aplikace esenciálních olejů z rostlin. K tomu, aby mohly být zaváděny přípravky na bázi esenciálních olejů je nutno vypracovat metodiky pro hodnocení jejich účinnosti. Optimalizací stávajících metod a jejich aplikace pro testování esenciálních olejů a také navržení nových metod je předmětem této metodiky. Publikace shrnuje dosavadní poznatky a předkládá metody pro hodnocení účinnosti esenciálních olejů ve vztahu k biotrofním patogenům plodové zeleniny.

VIII. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY

Cílem metodiky je usnadnit uživatelům volbu správného postupu pro testování účinnosti esenciálních olejů na biotrofní houbové patogeny plodové zeleniny. Metodika je určena k využití výzkumným ústavům, k poradenství a k výuce na středních a vysokých školách. Zvýší také informovanost pěstitelů zeleniny v České republice. V rámci dlouhodobého horizontu přispěje ke snížení a promyšlenému používání přípravků na ochranu rostlin. Metodika bude uplatňována následujícími způsoby: 1) v rámci poradenské činnosti prováděné poradenskými útvary řešitelských pracovišť, 2) na řešitelských pracovištích bude možné konzultovat praktické uplatnění metodiky se specialisty, 3) využití při výuce studentů na středních a vysokých školách.

IX. EKONOMICKÉ ASPEKTY

Plíseň dýňovitých ze skupiny oomycet a padlí dýňovitých (*Golovinomyces orontii*, *Podosphaera xanthii*), z řádu Erysiphales patří mezi ekonomicky nejvýznamnější patogeny v rámci čeledi Cucurbitaceae. Rovněž také původce padlí rajčete (*Erysiphe neolycopersici*) je závažným patogenem zejména ve skleníkových kulturách rajčat. Tyto patogeny a jejich hostitelské rostliny jsou neustále ovlivňovány podmínkami prostředí. Klimatické změny ovlivňují geografické rozšíření hostitelských rostlin a jejich patogenů, mění náchylnost hostitelů, virulenci patogenů a rovněž mají vliv na účinnost kontrolních strategií. Nejzásadnější způsoby, jak výskyt a šíření těchto patogenů omezit, je využívání chemické ochrany. Přestože alternativní metody ochrany rostlin proti patogenům, v našem konkrétním případě biotrofním patogenům plodové zeleniny, zatím plně nenahrazují účinky chemických fungicidů, ale omezují však negativní dopady na životní prostředí, zdroje pitné vody a zdraví lidí a zvířat. Zatím platí, že biologické metody jsou odborně i finančně náročnější a že působí specificky pouze na určité patogeny, a také že jejich účinnost je závislá na průběhu počasí. Řada metod je ještě ve stádiu výzkumu a ověřování, což je však nezbytným krokem k tomu, aby našly čtenější využití v praktickém pěstování zeleniny. K tomu slouží i předkládaná metodika testování účinnosti esenciálních olejů. Efektivnější a jednodušší testování přinese efektivnější a rychlejší zavedení těchto přípravků. Ekonomické aspekty jsou však zatím jen velmi obtížně specifikovatelné. Lze předpokládat, že v počátku spíše naopak zvýší náklady na ochranu proti patogenům. V širším kontextu je však ekonomický benefit jednoznačně pozitivní pro celou společnost, jelikož přispěje ke snížení masivní aplikace chemických pesticidů, přičemž je v souladu s národní i mezinárodní legislativou, která stále více směřuje k omezování použití syntetických pesticidů. Podle údajů Ministerstva zemědělství ČR (MZe ČR) klesla spotřeba účinných látek fungicidů a mořidel od roku 2020 do roku 2023 na zemědělské půdě o téměř 240tis. kg. Naopak ve stejném časovém období se zvýšila spotřeba účinných látek biopreparátů na zemědělské půdě o 627 kg (MZe ČR). Tím se také významně přispěje k ochraně zdraví člověka a zvířat, kde lze snad jen intuitivně odhadnout náklady na léčbu chorob, které mohou být spojeny s expozicí chemickým látkám, resp. pesticidům. Dále pak mohou přispět k ochraně půdy, kde opět lze jen těžko vyčíslit ekonomické a ekologické ztráty dané jejím zamořením. Důležitým aspektem je také omezení kontaminace zásob pitné vody chemickými pesticidy a náklady spojené s jejím odstraněním. Ty se každoročně pohybují řádově ve stovkách EUR za tunu zeminy při přímém odstranění kontaminantů z půdy (MZe ČR).

X. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Banaszkiewicz, T. (2010): Evolution of Pesticide Use. Contemporary problems of management and environmental protection, Vol 5. In: Skibniewska, K. A. (Ed.): Influence of the pesticide dump on the environment, Univerzity of Warmia and Mazury in Olsztyn: pp. 7-18.
- Bleša, D., Matušinský, P., Tvarůžek, L., Svačinová, I., Růžková, S., Hambálková M. (2020): Využití biologické ochrany v produkci rostlin. Agromanuál 2: 78-81.
- Bradshaw, M. J., Braun, U., Pfister, D. H. (2022): Phylogeny and taxonomy of the genera of Erysiphaceae, part 1: *Golovinomyces*. Mycologia 114: 964-993.
- Braun, U., Cook, R. T. A. (2012): Taxonomic manual of the Erysiphales (Powdery Mildews). CBS Biodiversity Series No. 11: 1-707.
- Braun, U., Shin, H. D., Takamatsu, S., Meeboon, J., Kiss, L., Lebeda, A., Kitner, M., Gotz, M. (2019): Phylogeny and taxonomy of *Golovinomyces orontii* revisited. Mycological Progress 18: 335-357.
- De-Montijo-Prieto, S., Razola-Díaz, M. D., Gómez-Caravaca, A. M., Guerra-Hernandez, E. J., Jiménez-Valera, M., Garcia-Villanova, B., Ruiz-Bravo, A., Verardo, V. (2021): Essential oils from fruit and vegetables, aromatic herbs, and spices: composition, antioxidant, and antimicrobial activities. Biology-Basel 10: Art. No. 1091.
- Dobrovolný, J. A. (2024): Využití esenciálních olejů v biologické kontrole padlí rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*). Bakalářská práce. Přírodovědecká fakulta, Katedra botaniky, Univerzita Palackého v Olomouci; 73 pp.
- Fletcher, J. T., Smewin, B. J., Cook, R. T. A. (1988): Tomato powdery mildew. Plant Pathology 37: 594-598.
- Gwynn R. L. (Ed.) (2014): The manual of biocontrol agents. Fifth Edition. CAB Intl., 520 pp. ISBN: 978-1-901396-87-4.
- Jacob, D., Rav-David, D., Sztjenberg, A., Elad, Y. (2008): Conditions for development of powdery mildew of tomato caused by *Oidium neolycopersici*. Phytopathology 98: 270-281.
- Kitner, M., Lebeda, A., Sharma, R., Runge, F., Dvořák, P., Tahir, A., Choi, Y. J., Sedláková, B., Thines, M. (2015): Coincidence of virulence shifts and population genetic changes of *Pseudoperonospora cubensis* in the Czech Republic. Plant Pathology 64 (6): 1461-1470.
- Křístková E. (1999): Biologie a epidemiologie hub řádu Erysiphales na rodu *Cucurbita*. Autoreferát disertace k získání vědecké hodnosti doktor. Př UP. Katedra botaniky, Olomouc. 23 pp.
- Křístková E., Lebeda, A., Sedláková B. (2007): Temporal and spatial dynamics of powdery mildew species on cucurbits in the Czech Republic. Acta Horticulturae 731: 337-343.
- Křístková E., Lebeda, A., Sedláková B. (2009): Species spectra, distribution and host range of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic, and in some other European and Middle Eastern countries. Phytoparasitica 37: 337-350.
- Laxmishree, C., Nandita, S. (2017): Botanical pesticides – a major alternative to chemical pesticides: A review. International Journal Life Sciences 5(4): 722-729.

- Lebeda A. (1983): The genera and species spectrum of Cucumber powdery mildew in Czechoslovakia. *Journal of Phytopathology* 108: 71-79.
- Lebeda, A. (1984): Screening of wild *Cucumis* species for resistance to cucumber powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum* and *Sphaerotheca fuliginea*). *Scientia Horticulturae* 24: 241-249.
- Lebeda, A. (1986a): Epidemic occurrence of *Pseudoperonospora cubensis* in Czechoslovakia. *Temperate Downy Mildews Newsletter* 4: 15-17.
- Lebeda, A. (1986b): Padlí okurkové. *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea* (Cucumber powdery mildew. *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea*). In: Lebeda, A. (Ed.): *Methods of Testing Vegetable Crops for Resistance to Plant Pathogens*, VHI Sempra, Research Institute for Vegetable Growing and Breeding, Czechoslovak Scientific - Technical Society, Olomouc, Czechoslovakia, pp. 87-91.
- Lebeda, A. (1986c) *Pseudoperonospora cubensis*. In: Lebeda, A. (Ed.): *Methods of Testing Vegetable Crops for Resistance to Plant Pathogens*. VHI Sempra, Research Institute for Vegetable Growing and Breeding, Czechoslovak Scientific - Technical Society, Olomouc, Czechoslovakia, pp. 81–85.
- Lebeda, A. (1990): Biology and ecology of cucurbit downy mildew. In: Lebeda A. (Ed.): *Cucurbit Downy Mildew*. Praha, Czech Republic, Czechoslovak Scientific Society for Mycology by Czechoslovak Academy of Sciences, pp. 13-46.
- Lebeda, A., Cohen, Y. (2011): Cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) – biology, ecology, epidemiology, host-pathogen interactions and control. *European Journal of Plant Pathology* 129: 157-192.
- Lebeda, A., Cohen, Y. (2012): Fungicide resistance in *Pseudoperonospora cubensis*, the causal pathogen of cucurbit downy mildew. In: Thind, T. S. (Ed.): *Fungicide resistance in crop protection. Risk and management*. CABI, Wallingford, UK, pp. 44-63.
- Lebeda, A., Křístková, E., Mieslerová, B., Dhillon, N. P. S., McCreight, J. D. (2024): Status, gaps and perspectives of powdery mildew resistance research and breeding in cucurbits. *Critical Reviews in Plant Sciences* 43/4: 211-290.
- Lebeda, A., Mieslerová, B., Petřivalský, M., Luhová, L., Špundová, M., Sedlářová, M., Nožková-Hlaváčková, V., Pink, D. A. C. (2014): Resistance mechanisms of wild tomato germplasm to infection of *Oidium neolycopersici*. *European Journal of Plant Pathology* 138: 569-596.
- Lebeda, A., Mieslerová, B., Sedláková, B., Huszár, J. (2017): Padlí kulturních a planě rostoucích rostlin. *Agriprint*, Olomouc, 368 pp.
- Lebeda, A., Pavelková, J., Urban, J., Sedláková, B. (2011): Distribution, host range and disease severity of *Pseudoperonospora cubensis* on cucurbits in the Czech Republic. *Journal of Phytopathology* 159: 589-596.
- Lebeda A., Sedláková B. (2004a): Disease impact and pathogenicity variation in Czech populations of cucurbit powdery mildews. In: Lebeda A. a Paris H. S. (Eds.): *Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proceedings of Cucurbitaceae 2004, the 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding*. Palacký University, Olomouc, Czech Republic, pp. 281-287.

- Lebeda A., Sedláková B. (2004b): Druhové spektrum, patogenní variabilita a rezistence vůči fungicidům u padlí tykvovitých (Species spectrum, pathogenicity variation and resistance to fungicides in cucurbit powdery mildew). *Rostlinolékař* 6: 15-19.
- Lebeda, A., Sedláková, B. (2010): Screening for resistance to cucurbit powdery mildews (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*); Chapter 19, pp. 295-307. In: Spencer, M. M., Lebeda, A. (Eds.): Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Disease. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria. (ISBN 978-92-0-105110-3)
- Lebeda, A., Sedláková, B., Křístková, E., Vysoudil, M. (2009): Long-lasting changes in the species spectrum of cucurbit powdery mildew in the Czech Republic - Influence of air temperature changes or random effect? *Plant Protection Science* 45: S41-S47.
- Lebeda, A., Urban, J. (2004): Disease impact and pathogenicity variation in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. In: Lebeda, A., Paris, H. S. (Eds.): Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proceedings of Cucurbitaceae 2004, the 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding Olomouc, Czech Republic, Palacký University in Olomouc. pp. 267-273.
- Lebeda, A., Urban, J. (2010): Screening for resistance to cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*); Chapter 18, pp. 285-294. In: Spencer, M. M., Lebeda, A. (Eds.): Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Disease. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria. (ISBN 978-92-0-105110-3)
- Loubová, V. (2022): Biologické přípravy v ochraně vůči padlí dýňovitých. Diplomová práce. Přírodovědecká fakulta, Katedra botaniky, Univerzita Palackého v Olomouci, 142 pp.
- Mani-López, E., Cortés-Zavaleta, O., López-Malo, A. (2021): A review of the methods used to determine the target site or the mechanism of action of essential oils and their components against fungi. *SN Applied Sciences* 3(1): 44.
- Mieslerová, B., Dobrovolný, J. A., Sedláková, B., Lebeda, A. (2024): Využití esenciálních olejů v biologické kontrole padlí rajčat (*Erysiphe neolyopersici*). In: Bokor, P., Tóthová, M., Hudec, K. (Eds.), Sborník abstraktů XXIII. Slovenské a české konference o ochraně rostlin, Nitra, 10.-12.9. 2024 (p.33). Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic.
- Mieslerová, B., Lebeda, A. (2010): Influence of temperature and light conditions on germination, growth and conidiation of *Oidium neolyopersici*. *Journal of Phytopathology* 158: 616-627.
- Mieslerová, B., Lebeda, A., Chetelat, R. T. (2000): Variation in response of wild *Lycopersicon* and *Solanum* spp. against tomato powdery mildew *Oidium lycopersici*. *Journal of Phytopathology* 148: 303-311.
- Mostafa, Y. S., Hashem, M., Alshehri, A. M., Alamri, S., Eid, E. M., Ziedan, E.-S. H. E., Alrumman, S. A. (2021): Effective management of cucumber powdery mildew with essential oils. *Agriculture* 11(11): Art. No. 1177.
- Paulech, C. (1995): Mycota, Ascomycetes, Erysiphales. In: Goliášová, K. (Ed.). *Flóra Slovenska* Vol. X/1, pp. 1-294, Veda Bratislava.
- Pavela, R. (2020): Přírodní cestou nejen proti chorobám a škůdcům. Kurent, České Budějovice, 160 pp.

- Pavelková, J., Lebeda, A., Sedláková, B. (2011): First report of *Pseudoperonospora cubensis* on *Cucurbita moschata* in the Czech Republic. *Plant Disease* 95: 878-879.
- Pavelková, J., Lebeda, A., Sedláková, B. (2014): Efficacy of fosetyl-Al, propamocarb, dimethomorph, cymoxanil, metalaxyl and metalaxyl-M in Czech *Pseudoperonospora cubensis* populations during the years 2005 through 2010. *Crop Protection* 60: 9-19.
- Quesada-Ocampo, L. M., Granke, L. L., Olsen, J., Gutting, H. C., Runge, F., Thines, M., Lebeda, A., Hausbeck, M. K. (2012): The genetic structure of *Pseudoperonospora cubensis* populations. *Plant Disease* 96: 1459-1470.
- Savory, E. A., Granke, L. L., Quesada-Ocampo, L. M., Varbanova, M., Hausbeck, M. K., Day, B. (2011): The cucurbit downy mildew pathogen. *Molecular Plant Pathology* 12(3): 217-226.
- Sedláková, B., Hrabcová, M., Poláková, K., Lebeda, A. (2024): Studium účinnosti esenciálních olejů vůči plísni a padlí dýňovitých. In: Bokor, P., Tóthová, M., Hudec, K. (Eds.), *Sborník abstraktů XXIII. Slovenské a české konference o ochraně rostlin, Nitra, 10.-12.9. 2024* (p.43). Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic.
- Sedláková, B. Lebeda, A. (2008): Fungicide resistance in Czech populations of cucurbit powdery mildews. *Phytoparasitica*, 36 (3): 272-289.
- Sedláková, B., Matušinsky, P., Lebdušková, A., Lebeda, A. (2022): Studium účinnosti esenciálních olejů vůči padlí a plísni dýňovitých. Study of efficacy of essential oils against powdery and downy mildews on cucurbit plants. In: Březinová Belcredi, N. et al. (Eds.): XXII. Česká a slovenská konference o ochraně rostlin. *Sborník abstraktů*. Brno: Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, 8.- 9. 9. 2022: 49.
- Spring, O., Gomez-Zeledon, J., Hadziabdic, D., Trigiano, R. N., Thines, M., Lebeda, A. (2018): Biological characteristics and assessment of virulence diversity in pathosystems of economically important biotrophic Oomycetes. *Critical Reviews in Plant Sciences* 37(6): 439-495.
- Stenberg, J. A., Sundh, I., Becher, P. G., Björkman, C., Dubey, M., Egan, P. A., Friberg, H., Gil, J. F., Jensen, D. F., Jonsson, M., Karlsson, M., Khalil, S., Ninkovic, V., Rehmann, G., Vetukuri R. R., Viketoft, M. (2021): When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *Journal of Pest Science* 94: 665-676.
- Stoytcheva M. (Ed.) (2011): *Pesticides. Formulations, Effects, Fate*. InTech, Rijeka, Croatia. 823 pp. ISBN 978-953-307-532-7.
- Towsend, R. G., Heuberger, W. (1943): Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *The Plant Disease Reporter* 27 (17): 340-343.
- Trecate, L., Sedláková, B., Mieslerová, B., Manstretta, V., Rossi, V., Lebeda, A. (2019): Effect of temperature on infection and development of powdery mildew on cucumber. *Plant Pathology* 68 (6): 1165-1178.
- Urban, J., Lebeda, A. (2004): Differential sensitivity to fungicides in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. In: Lebeda, A., Paris, H. S. (Eds.): *Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proceedings of Cucurbitaceae 2004, the 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding*. Palacký University in Olomouc, Olomouc (Czech Republic), pp. 275-280.

- Urban, J., Lebeda, A. (2006): Fungicide resistance in cucurbit downy mildew—methodological, biological and population aspects. *Annals of Applied Biology*, 149: 63-75.
- Urban, J., Lebeda, A. (2007): Variation for fungicide resistance in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. *Journal of Phytopathology*, 155: 143-151.
- Villaverde, J. J., Sandín-España, P., Sevilla-Morán, B., López-Goti, C., Alonso-Prados, J. L. (2016): Biopesticides from natural products: current development, legislative framework, and future trends. *BioResources* 11(2): 5618-5640.
- Whipps, J. M., Budge, S. P., Fenlon, J. S. (1998): Characteristics and host range of tomato powdery mildew. *Plant Pathology* 47: 36-48
- Wu, T. Y., Kirschner, R. (2017): A brief global review on the species of cucurbit powdery mildew fungi and new records in Taiwan. *Mycologia Iranica* 4: 85-91.
- Zlochová K. (1990): Fytopatogénne mikromycéty čeľade Erysiphaceae parazitujúce na hostiteľských rastlinách čeľade Cucurbitaceae na území Slovenska. Autoreferát disertace k získání vědecké hodnosti kandidát biologických věd. Slovenská akademie věd. Vědecké kolegium pro biologicko-ekologické vědy. Bratislava. 17 pp.

Internetové zdroje

https://mze.gov.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#r|p|domu|uvod

<https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2024.pdf>

<https://www.agromanual.cz/cz/pripravky/fungicidy/fungicid/topas-100-ec>

<https://www.syngenta.cz/product/crop-protection/fungicidy/topas-100-ec>

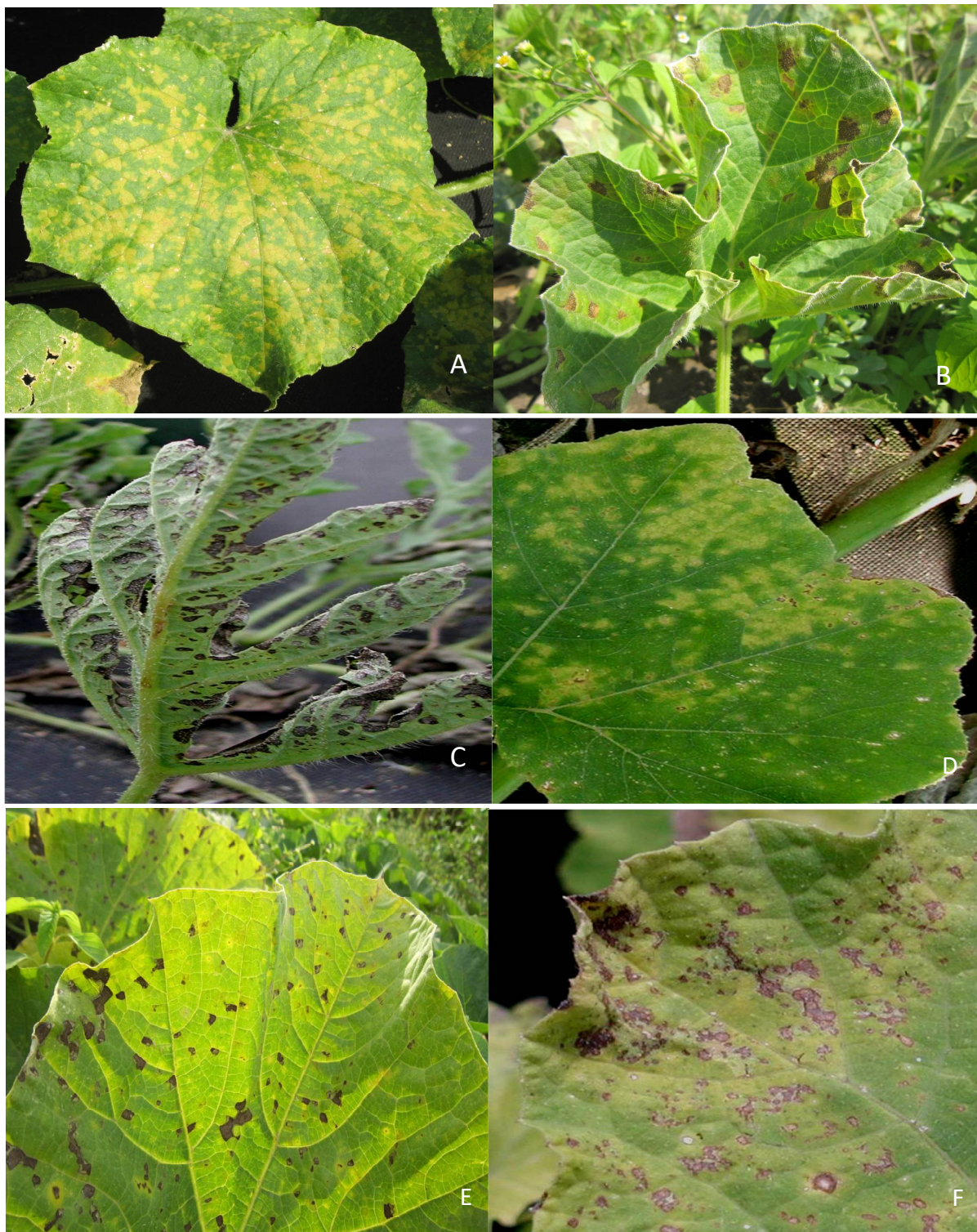
<https://mze.gov.cz/public/portal/mze/puda/ochrana-pudy-a-krajiny/degradace-pud/kontaminace-pudy>

[https://mze.gov.cz/public/portal/ukzuz/pripravky-na-or/ucinne-latky-v-por-statistika-spotreba/spotreba-pripravku-na-or/spotreba-v-jednotlivych-letech/spotreba-roky-neviditelny/2009-2023-cz-spotreba-latek/Spot%20c5%99eba%20c3%ba%20c4%8dinn%20c3%bdch%20l%20c3%a1tek%20a%20p%20c5%99%20c3%adpravk%20c5%af%20na%20ochranu%20rostlin%20\(POR\)%20a%20pomocn%20c3%bdch%20prost%20c5%99edk%20c5%af%20\(PP\)%20v%20letech%202009-2023%20c4%8desk%20c3%a1%20verze.pdf](https://mze.gov.cz/public/portal/ukzuz/pripravky-na-or/ucinne-latky-v-por-statistika-spotreba/spotreba-pripravku-na-or/spotreba-v-jednotlivych-letech/spotreba-roky-neviditelny/2009-2023-cz-spotreba-latek/Spot%20c5%99eba%20c3%ba%20c4%8dinn%20c3%bdch%20l%20c3%a1tek%20a%20p%20c5%99%20c3%adpravk%20c5%af%20na%20ochranu%20rostlin%20(POR)%20a%20pomocn%20c3%bdch%20prost%20c5%99edk%20c5%af%20(PP)%20v%20letech%202009-2023%20c4%8desk%20c3%a1%20verze.pdf)

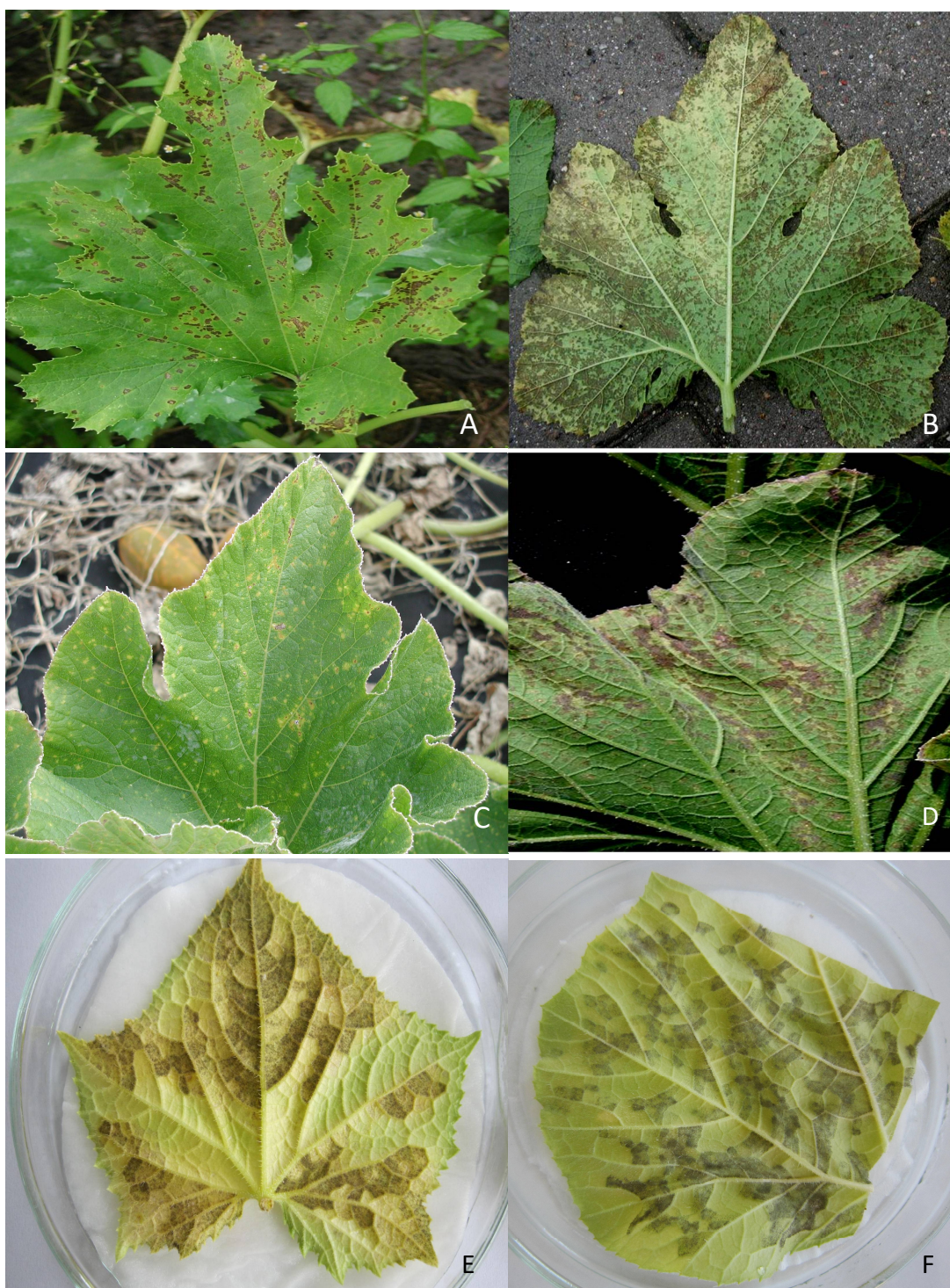
Seznam publikací, které předcházely metodice

- Lebeda, A. (1986): Epidemic occurrence of *Pseudoperonospora cubensis* in Czechoslovakia. Temperate Downy Mildews Newsletter 4: 15-17.
- Lebeda, A., Cohen, Y. (2012): Fungicide resistance in *Pseudoperonospora cubensis*, the causal pathogen of cucurbit downy mildew. In: Thind, T.S. (Ed.): Fungicide Resistance in Crop Protection. Risk and Management. CABI, Wallingford, UK, pp. 44-63.
- Lebeda, A., Křístková, E., Mieslerová, B., Dhillon, N. P. S., McCreight, J. D. (2024): Status, gaps and perspectives of powdery mildew resistance research and breeding in cucurbits. Critical Reviews in Plant Sciences 43/4: 211-290.
- Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B. (2024): Pathotypes and races of *Pseudoperonospora cubensis*: Two concepts of virulence differentiation. Plant Pathology, 00, 1-11. Available from: <https://doi.org/10.1111/ppa.1399313653059>
- Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B., McCreight, J. D., Coffey, M. D. (2011): Gaps and perspectives of pathotype and race determination in *Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*. Mycoscience 52: 159-164.
- Lebeda, A., Křístková, E., Sedláková, B., McCreight, J. D., Coffey, M. D. (2016): Cucurbit powdery mildews: methodology for objective determination and denomination of races. European Journal of Plant Pathology 144: 399-410.
- Lebeda, A., McGrath, M.T., Sedláková, B. (2010): Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew fungi; Chapter 11, pp. 221-246. In: Carisse, O. (Ed.): Fungicides. InTech Publishers, Rijeka, Croatia, 2010, 538 pp. (ISBN 978-953-307-266-1)
- Lebeda, A., Mieslerová, B. (2010): Screening for resistance to tomato powdery mildew (*Oidium neolycopersici*); Chapter 16, pp. 257-265. In: Spencer, M. M., Lebeda, A. (Eds.): Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Disease. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria, 2010. (ISBN 978-92-0-105110-3)
- Lebeda, A., Mieslerová, B., Petřivalský, M., Luhová, L., Špundová, M., Sedlářová, M., Nožková-Hlaváčková, V., Pink, D. A. C. (2014): Resistance mechanisms of wild tomato germplasm to infection of *Oidium neolycopersici*. European Journal of Plant Pathology 138: 569-596.
- Lebeda, A., Pavelková, J., Urban, J., Sedláková, B. (2011): Distribution, host range and disease severity of *Pseudoperonospora cubensis* on cucurbits in the Czech Republic. Journal of Phytopathology 159: 589-596.
- Pavelková, J., Lebeda, A., Sedláková, B. (2011): First report of *Pseudoperonospora cubensis* on *Cucurbita moschata* in the Czech Republic. Plant Disease, 95: 878-879.

XI. OBRAZOVÉ PŘÍLOHY



Obr. 6 A-F: Příznaky napadení plísní dýňovitých na různých hostitelských rostlinách: A - okurce seté (*Cucumis sativus*), B - melounu cukrovém (*Cucumis melo*), C - melounu vodním (*Citrullus lanatus*), D - tykvi muškátové (*Cucurbita moschata*), E - lagenárii (*Lagenaria siceraria*), F - tykvi fíkolisté (*Cucurbita ficifolia*)



Obr. 7 A-D: Příznaky napadení plísni dýňovitých na různých hostitelských rostlinách (pokračování): tykvi obecné (*Cucurbita pepo*) nalevo: horní strana listu, napravo: spodní strana listu, tykvi velkoplodé (*Cucurbita maxima*) nalevo: horní strana listu, napravo: spodní strana listu. Obr. 7 E-F Sporulace *P. cubensis* na listech okurky seté (*Cucumis sativus*) nalevo a tykvi velkoplodé (*Cucurbita maxima*) 10. den od inokulace

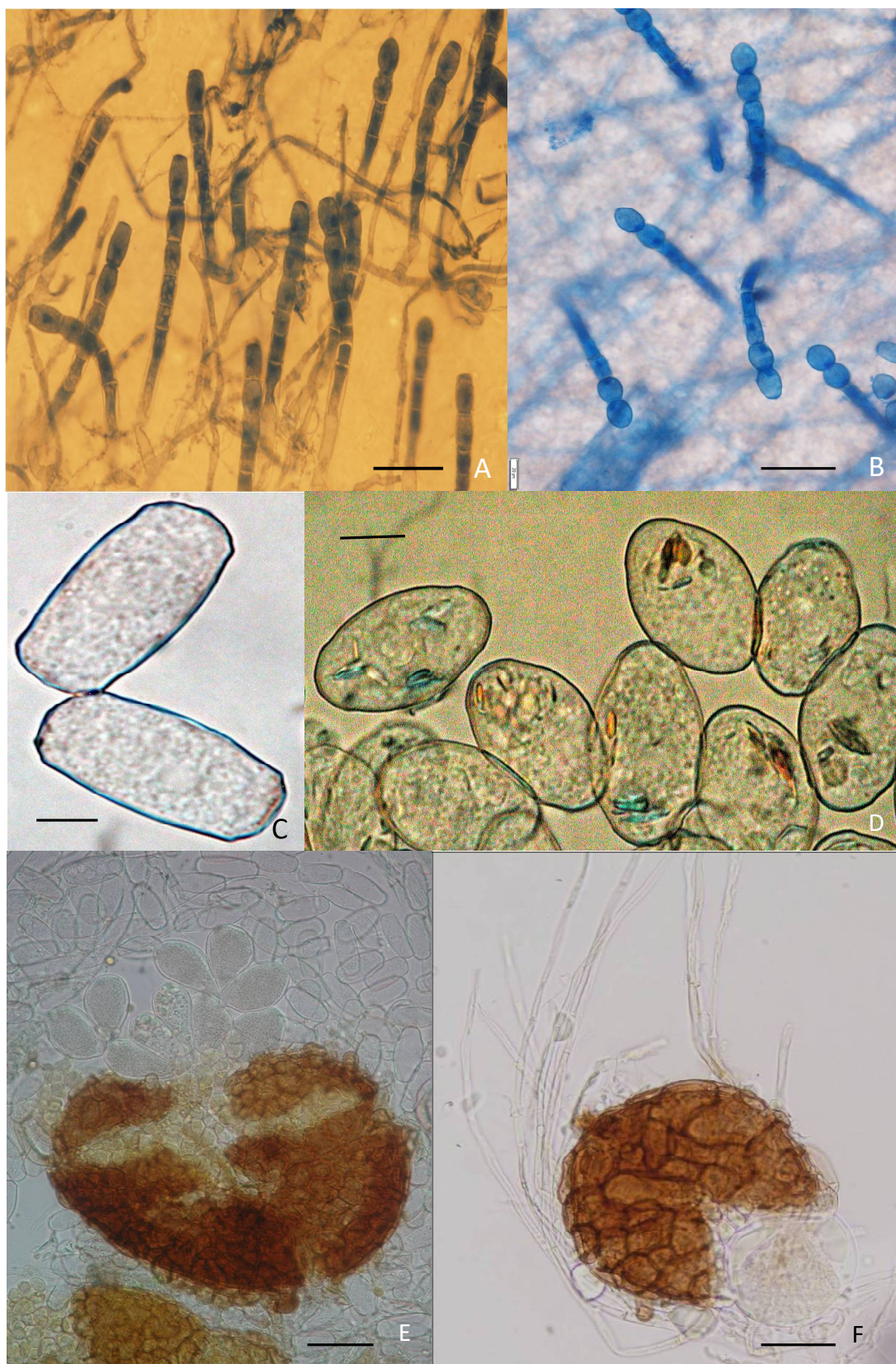


Obr. 8: Sporangiofor se sporangii *P. cubensis* horní obr. (/nahore/ Bar = 200 μm , /dole/ Bar = 40 μm)



Obr. 9 A-D: Příznaky napadení padlím dýňovitých na různých hostitelských rostlinách: okurce seté (*Cucumis sativus*), tykvi obecné, plodu melounu vodního (*Citrullus lanatus*), květních pupenech tykve muškátové (*Cucurbita moschata*)

Obr. 9 E-F: Sporulace padlí na pravých listech semenáčku okurky seté (*Cucumis sativus*) náchylné odrůdy Perzeus F1 (nalevo); na listových segmentech vodního melounu (*Citrullus lanatus*) 12. den od inokulace (vpravo)



Obr. 10: Konidiofory, konidie a chasmothecia padlí dýňovitých; A (Bar = 50 μm), C (Bar = 10 μm), E (Bar = 20 μm) – *Golovinomyces orontii*, B (Bar = 50 μm), D (Bar = 10 μm), F (Bar = 20 μm) – *Podosphaera xanthii*



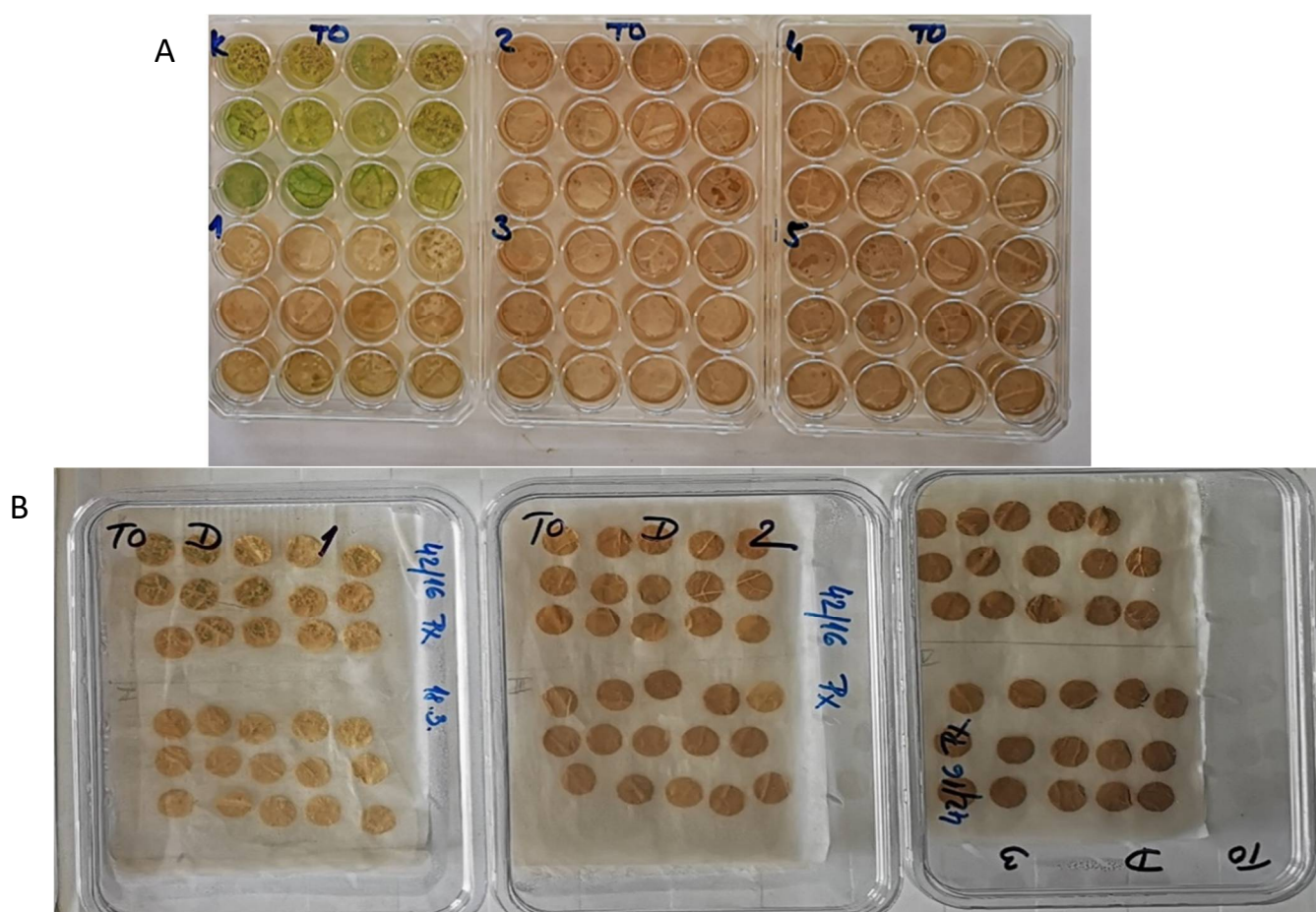
Obr. 11: Příznaky napadení listů rajčete padlím *Pseudoidium neolycopersici*



Obr. 12: Konidiofor padlí rajčat (*Pseudoidium neolycopersici*) (Bar = 15 μm)



Obr. 13: Příklad testování účinnosti azoxystrobinu (125-2000 μl ú.l./ml, FRAC 11, C3) na izolát *P. xanthii* pomocí modifikované metody listových disků podle (Sedlákové a Lebedy, 2008) vlevo nahoře a dole: před inokulací vpravo nahoře a dole: 14 dnů od inokulace 30 minut máčení listových disků v roztoku fungicidu dané koncentrace



Obr. 14 A: Metoda plovoucích listových disků pro *P. cubensis* (podle Lebedy a Urbana, 2010), listové disky v roztoku EO dané koncentrace po celou dobu trvání pokusu (nahore)

Obr, 14 B: Modifikovaná metoda listových disků pro *P. xanthii* (podle Sedlákové a Lebedy, 2008), metoda 30-ti minutové máčení disků v roztoku EO dané koncentrace (dole). Testovaný esenciální olej: tymián: koncentrace: 0,2%- 0,6%

A



B



C



Obr. 15: Metoda 1: Testování účinků emulzí EO (0,2%-0,6%) metodou postřiku listů, kultivace v plastových krabičkách (podle Loubové, 2022) (A: listy bez sáčků, B: listy pokryty sáčky), C: Testováno padlí dýňovitých (izolát *P. xanthii*), tymián koncentrace 0,025%-0,2%); foceno 12 dnů od inokulace

26/21 Px

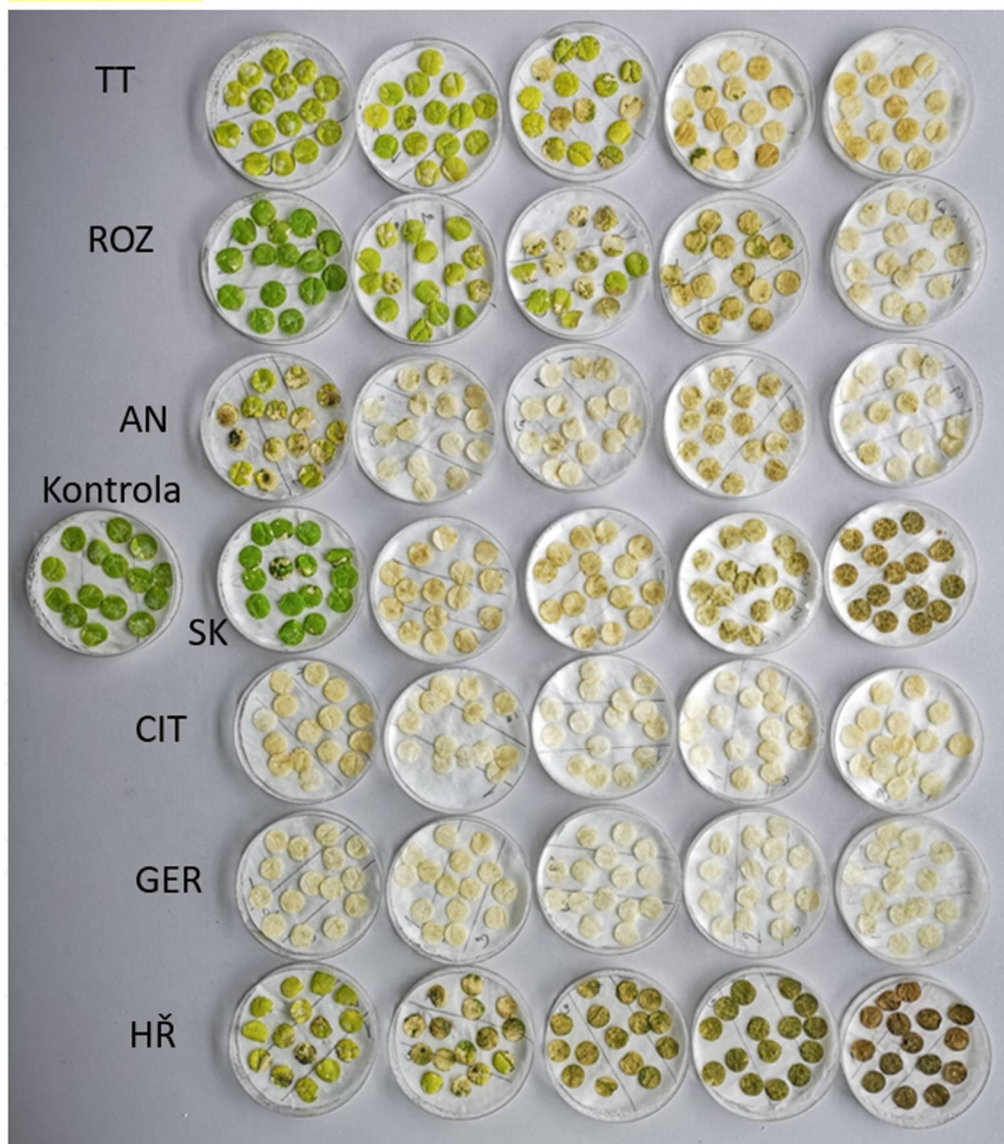
0,025%

0,050%

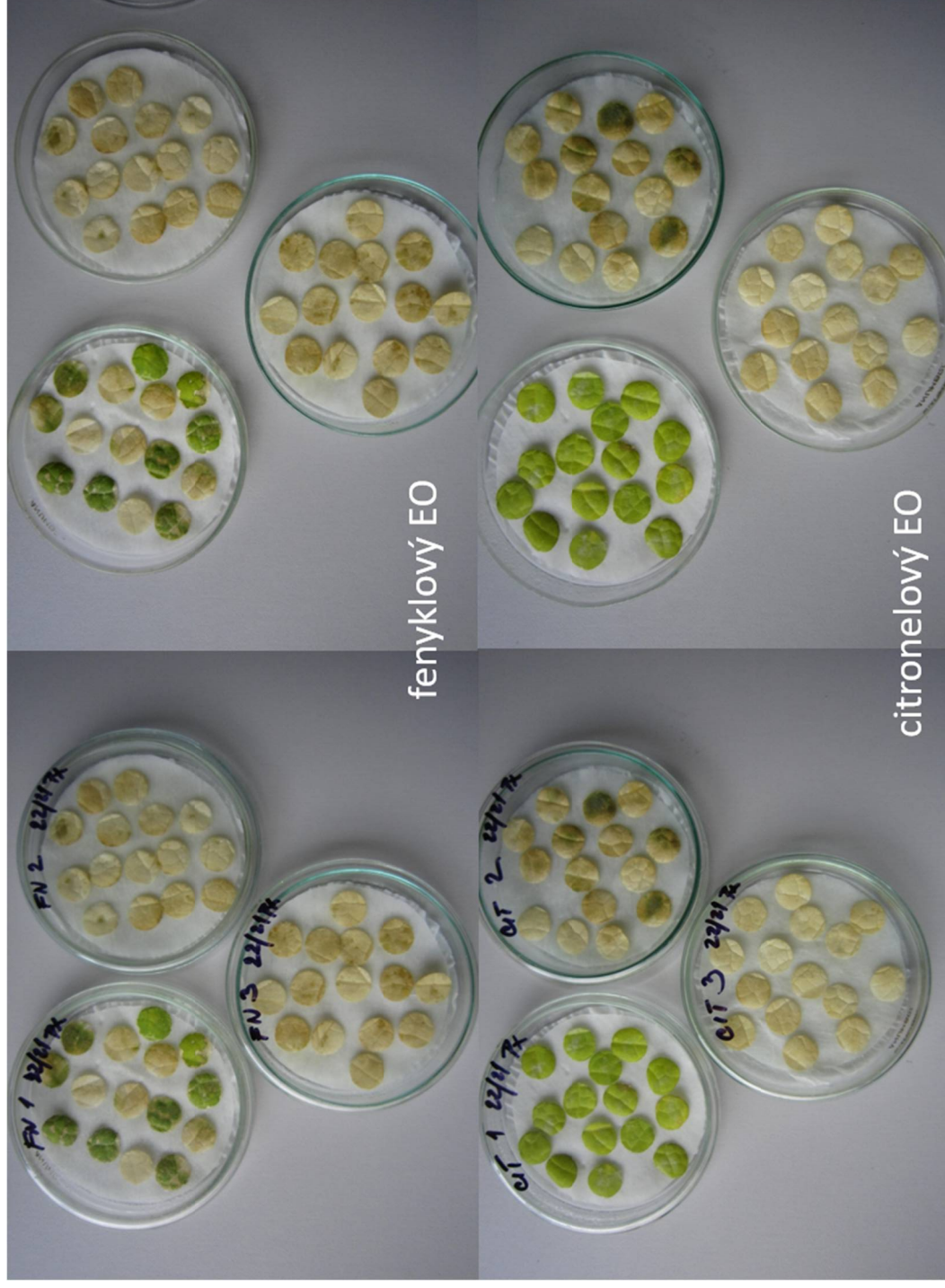
0,075%

0,1%

0,2%



Obr. 16: Testování účinků emulzí EO (0,2-0,6 %) metodou namáčení disků a kultivace v Petriho miskách dle modifikované metody listových disků (podle Sedlákové a Lebedy, 2008) Foceno 6. den od inokulace

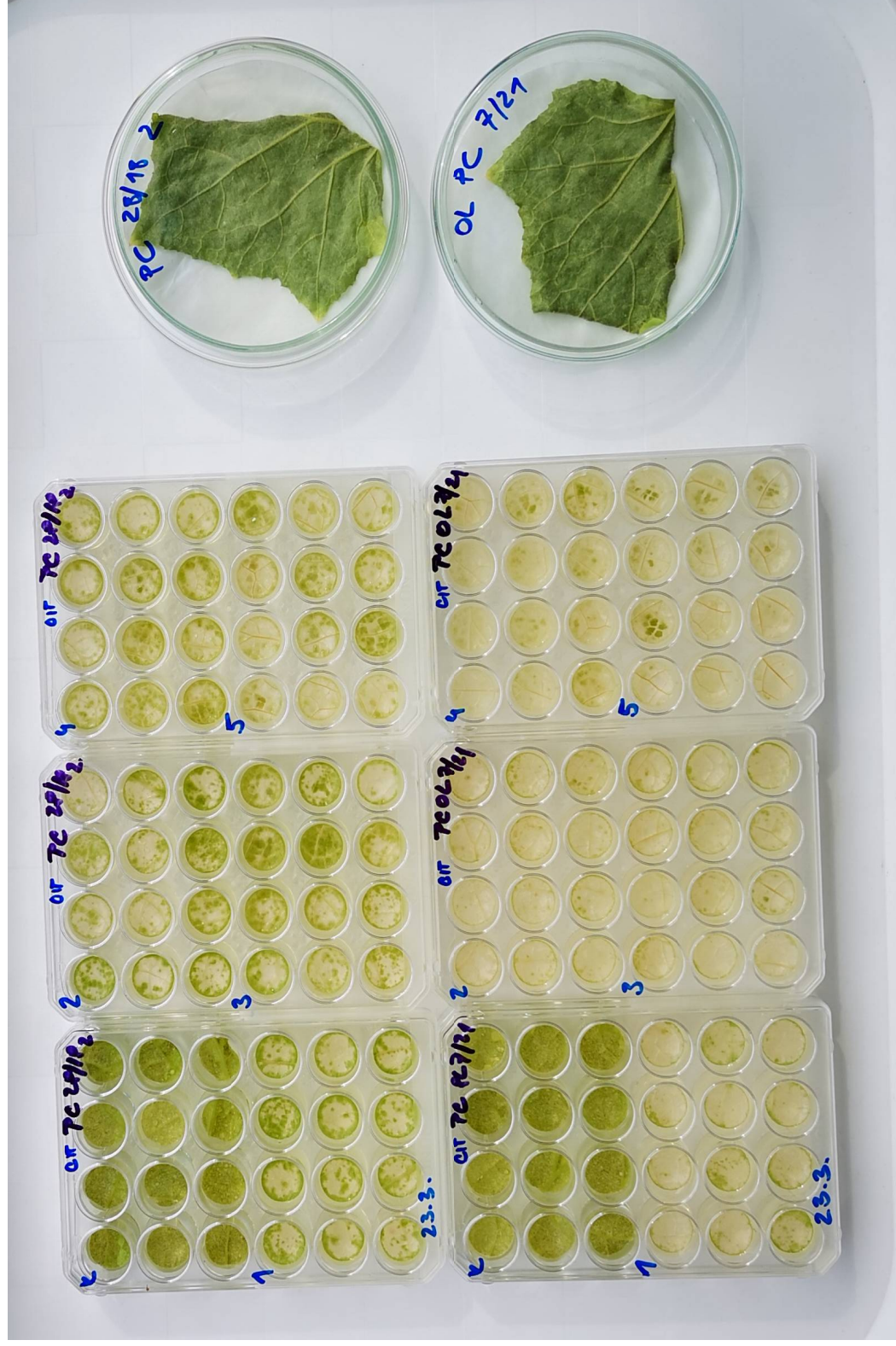


22/21 PX

Foto: 5thDPI



Obr. 17: Metoda 2: Testování účinků emulzí EO (0,025-0,075 %) na Petriho miskách dle modifikované metody listových disků (podle Sedlákové a Lebedy, 2008) Foceno 5.den od inokulace

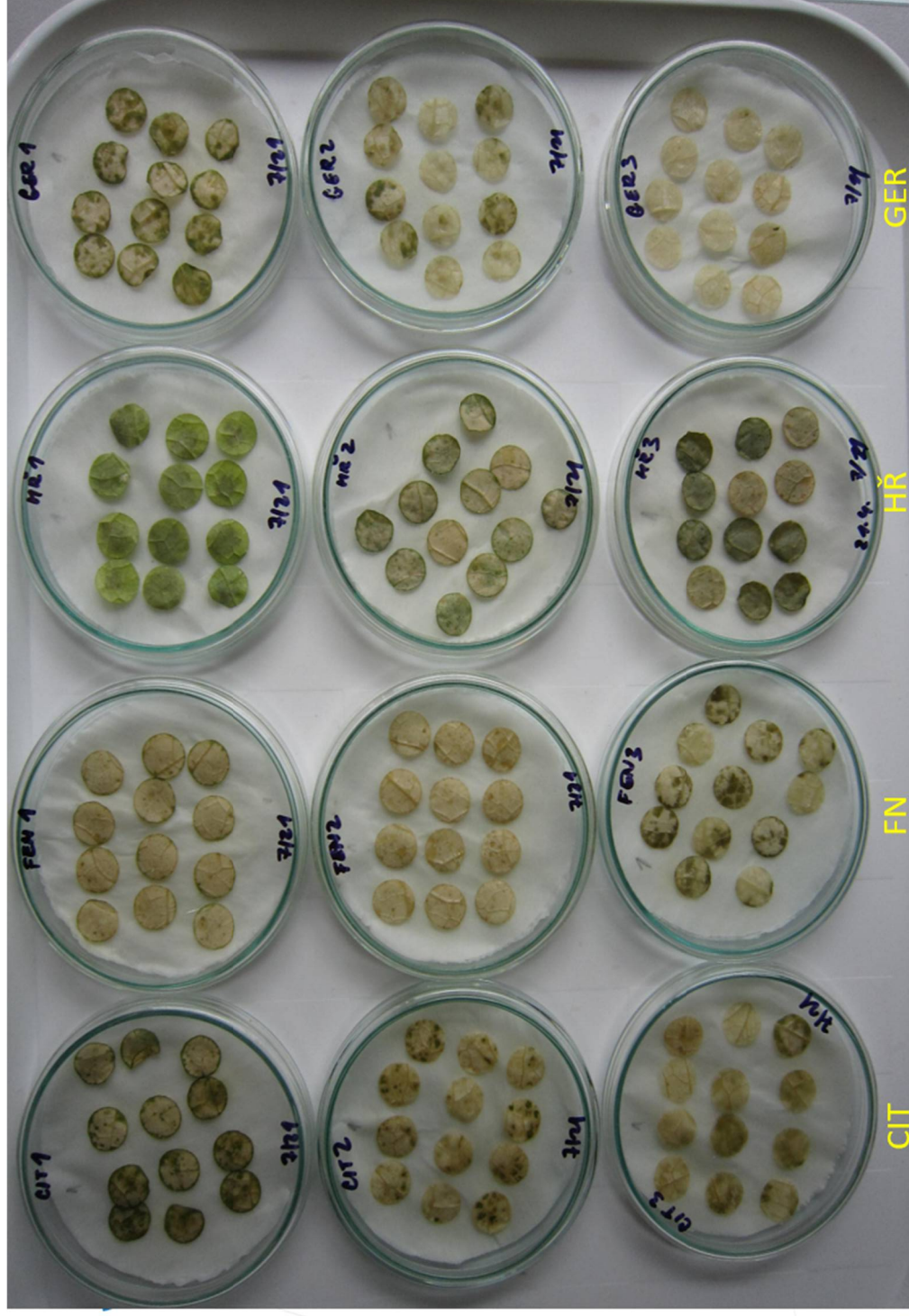


Obr. 18: Metoda 1: Testování účinků emulzí EO (0,025-0,2 %) v jamkové destičce dle modifikované metody plovoucích listových disků (podle Urbana a Lebedy, 2006)

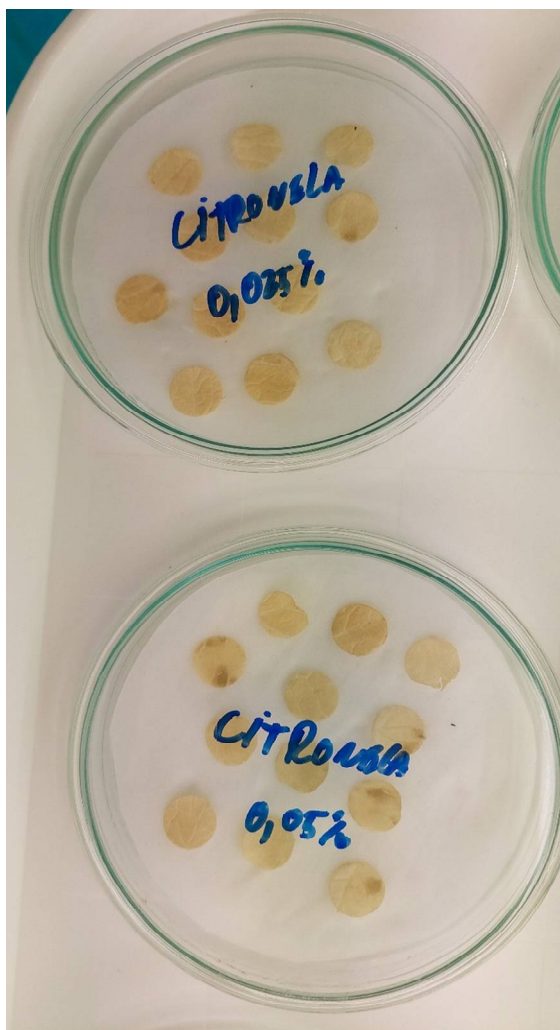
0,025%

0,05 %

0,075%



Obr. 19: Metoda 2: Testování účinků emulzí EO (0,025-0,075 %) na Petriho miskách dle modifikované metody listových disků (podle Sedlákové a Lebedy, 2008). Foceno 5. den od inokulace, testovaný izolát OIPC 7/21, testované EO: citronelový (CIT), fenykový (FEN), hřebíčkový (HŘ), geraniový (GER)



Obr. 20: Příklad exprese fytoxicity na listovém disku rajčete 2 DPI po aplikaci EO citronela 0,05%

POZNÁMKY:

Název: Metodika testování účinnosti esenciálních olejů na biotrofních patogenech plodové zeleniny

Autoři: Božena Sedláková
Anna Lebdušková
Mieslerová Barbora
Aleš Lebeda

Vydala: Univerzita Palackého v Olomouci

Sazba, tisk: Božena Sedláková, Univerzita Palackého v Olomouci, Křížkovského 8, 779 00 Olomouc

Vydání: první, 2025

Počet stran: 68

Náklad: 70 ks

Vydáno bez jazykové úpravy.

Metodika je poskytována bezplatně.

Kontakt na autora: RNDr. Božena Sedláková, Ph.D., Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 27, 779 00, Olomouc-Holice, bozena.sedlakova@upol.cz

Odpovědná redaktorka HÁTA Kreisinger Komňacká

Vydala a vytiskla Univerzita Palackého v Olomouci, Křížkovského 8, 779 00 Olomouc

vydavatelstvi.upol.cz

vupshop.cz

1. vydání

Olomouc 2025

ISBN 978-80-244-6615-6 (print)

ISBN 978-80-244-6616-3 (online: iPDF)

VUP 2025/0126 a 0127

Neprodejná publikace