

Zuzana Haňáčková a kol.

Ochrana proti *Neonectria ditissima* s přihlédnutím ke snížení obsahu mykotoxinu patulinu a jeho producentů v plodech

CERTIFIKOVANÁ METODIKA

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV
OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.

Univerzita Hradec Králové

2025



VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV
OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.

Univerzita Hradec Králové

**Ochrana proti *Neonectria ditissima*
s přihlédnutím ke snížení obsahu mykotoxinu
patulinu a jeho producentů v plodech**

Zuzana Haňáčková a kol.



Univerzita Hradec Králové
Přírodovědecká fakulta

CERTIFIKOVANÁ METODIKA

2025

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ
HOLOVOUSY s.r.o.

Mgr. Zuzana Haňáčková, Ph.D.
Mgr. Adéla Reinbergerová
Ing. Pavlína Jaklová, Ph.D.

UNIVERZITA HRADEC KRÁLOVÉ

RNDr. Jakub Toman, Ph.D.
Mgr. Darina Picková, Ph.D.
doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.

Kontakt na vedoucího autorského kolektivu: zuzana.hanackova@vsuo.cz
Autoři fotografií a obrázkových schémat: Zuzana Haňáčková,
Adéla Reinbergerová, Petra Lišková, Jakub Toman, Darina Picková

Odborný oponent: Ing. Jana Kloutvorová (*Ovocnářská unie ČR*)
Oponent ze státní správy: RNDr. Jan Juroch (*ÚKZÚZ*)

Název: Ochrana proti *Neonectria ditissima* s přihlédnutím ke snížení obsahu mykotoxinu patulinu a jeho producentů v plodech

Vydavatel: VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ
HOLOVOUSY s.r.o., Holovousy 129, 508 01 Holovousy, 1. vydání, 2025

Certifikovaná metodika vznikla za finanční podpory výzkumného projektu TAČR TQ03000603 „Ověření efektivity systémů integrované ochrany proti *Neonectria ditissima* s přesahem dopadu této ochrany na obsah mykotoxinu patulinu v plodech napadených stromů v podmínkách ČR“.

© VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY
s.r.o.
www.vsuo.cz

ISBN: 978-80-88669-11-1 (print)
978-80-88669-09-8 (online; PDF)

<https://doi.org/10.60615/zw5d-8t08>



T A
Č R

Tento projekt je spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci Programu SJGMA.

www.tacr.cz
Výzkum užitečný pro společnost.

Obsah

Abstract	5
Souhrn	6
Cíl metodiky a dedikace	7
Vlastní popis metodiky	8
Úvod	9
1 Charakteristika patogenu <i>Neonectria ditissima</i>	10
1.1 Taxonomické zařazení	10
1.2 Hostitelský okruh.....	10
1.3 Epidemiologie a životní cyklus.....	12
2 Symptomy	14
2.1 Rakovina dřeva	14
2.2 Hniloba plodů	17
2.3 Lokalizace patogenu na hostiteli.....	18
3 Výskyt a šíření ve školkách	19
3.1 Latentní infekce a projevy	20
3.2 Infekce během školkařských operací.....	20
3.3 Vliv pěstitelských a stresových faktorů.....	20
3.4 Náchylnost podnoží	20
4 Faktory ovlivňující infekci	21
4.1 Vliv hostitele.....	21
4.2 Vliv patogenu.....	22
4.3 Vliv mikroklimatu.....	23
5 Monitoring výskytu <i>N. ditissima</i> v České republice	24
6 Možnosti ochrany proti <i>N. ditissima</i>	24
6.1 Agrotechnická opatření.....	25
6.1.1 Řez.....	26
6.1.2 Výživa a růstové regulátory.....	28
6.2 Chemická ochrana.....	29
7 Mykotoxin patulin a jeho souvislost s rakovinou jabloní	34
8 Účinnost vybraných opatření a vliv na obsah patulinu	37
8.1 <i>In vitro</i> pokusy	37
8.2 Polní pokus	41

8.2.1	Lokalita a charakteristika výsadby	41
8.2.2	Aplikace, zásahy a hodnocení	41
8.2.3	Stanovení patulinu	44
8.2.4	Výsledky a diskuze	50
9	Srovnání novosti postupů	54
10	Popis uplatnění metodiky	54
11	Ekonomické aspekty	54
12	Seznam publikací, které předcházely metodice	56
13	Seznam použité literatury	56

Abstract

This document presents a certified methodology developed by the Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy and the University of Hradec Králové, focused on the protection of fruit orchards against apple canker caused by the pathogen *Neonectria ditissima*. The content focused on the possibilities of comprehensive approaches to integrated plant protection under the conditions of the Czech Republic. The methodology describes the biology and epidemiology of the pathogen, as well as factors influencing infection, such as climatic conditions and cultivar susceptibility. A key part of the methodology is devoted to chemical and agronomic protection, including pruning, optimization of nutrition, and fungicide application, and also presents the results of *in vitro* tests evaluating the efficacy of various products. Additionally, an assessment of fruit safety was introduced by monitoring the content of the mycotoxin patulin, which the methodology examined in relation to the applied protective measures. The methodology was compiled based on an extensive literature review and supplemented with practical results obtained within the two-year research project TQ3000603.

Given the limited duration of the project, it is desirable to continue research focused on a more detailed understanding of the epidemiology of European canker under Czech conditions, monitoring the disease development in newly established orchards, evaluating the level of contamination by this pathogen in Czech fruit nursery operations, and developing models assessing the suitability of orchard conditions for *Neonectria ditissima*.

Souhrn

Tento dokument představuje certifikovanou metodiku vyvinutou Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským Holovousy a Univerzitou Hradec Králové, zaměřenou na ochranu ovocných sadů proti rakovině jabloní způsobenou patogenem *Neonectria ditissima*. Obsah se soustředí na možnosti komplexních přístupů integrované ochrany rostlin v podmínkách České republiky. Metodika popisuje biologii, epidemiologii patogenu a faktory ovlivňující infekci, jako jsou klimatické podmínky a náchylnost odrůd. Klíčová část metodiky se věnuje chemické a agrotechnické ochraně, jako je řez, optimalizace výživy a aplikace fungicidů, přičemž jsou prezentovány i výsledky *in vitro* testů účinnosti různých přípravků. Rovněž bylo zavedeno posouzení zdravotní nezávadnosti plodů sledováním obsahu mykotoxinu patulinu, které metodika zkoumala ve vztahu k aplikovaným ochranným opatřením. Metodika byla sestavena na základě rozsáhlé literární rešerše a je doplněna praktickými výsledky, které byly získány v rámci dvouletého výzkumného projektu TQ3000603.

Vzhledem k omezené době trvání projektu je žádoucí na získané poznatky navázat dalším výzkumem zaměřeným na podrobnější poznání epidemiologie rakoviny jabloní v podmínkách České republiky, na sledování vývoje choroby v nově zakládaných výsadbách, na vyhodnocení míry zamoření tímto patogenem v provozech českých ovocných školek nebo na vytvoření modelů vyhodnocujících vhodnost podmínek sadů pro *Neonectria ditissima*.

Cíl metodiky a dedikace

Nektriová rakovina jabloní (*Neonectria ditissima*) patří k nejzávažnějším chorobám jabloní v mírném klimatickém pásmu a způsobuje každoročně pěstitelům významné hospodářské ztráty. V podmínkách České republiky však dosud nebyla ochrana proti tomuto patogenu řešena komplexně a chyběl ucelený přístup, který by systematicky vyhodnotil účinnost dostupných ochranných opatření a současně zohlednil jejich dopad na kvalitu a zdravotní nezávadnost produkce.

Metodika vychází z výsledků výzkumu účinnosti chemických a agrotechnických zásahů, které byly ověřovány v laboratorních podmínkách (*in vitro*), následně ve skleníkových experimentech (výsledky nejsou obsahem metodiky) a nakonec také v provozních výsadbách. Součástí je rovněž posouzení vlivu těchto opatření na obsah mykotoxinu patulinu v plodech napadených stromů, což dosud nebylo v souvislosti s ochranou proti *N. ditissima* studováno. Z toho důvodu byla v rámci výzkumu zavedena nová validovaná metoda stanovení mykotoxinu patulinu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s detektorem diodového pole.

Tento výstup může poskytnout pěstitelům, poradcům i odborné veřejnosti praktický nástroj pro účinnou a udržitelnou ochranu jabloní, snížení hospodářských ztrát a zároveň pro zajištění zdravotní nezávadnosti jablek určených ke konzumaci.

Metodika je realizačním výstupem výzkumného projektu TQ3000603 „Ověření efektivitu systému integrované ochrany proti *Neonectria ditissima* s přesahem dopadu této ochrany na obsah mykotoxinu patulinu v plodech napadených stromů v podmínkách ČR“, financovaného Technologickou agenturou ČR v rámci programu SIGMA.

Vlastní popis metodiky

Metodika je koncipována tak, aby čtenáře systematicky provedla problematikou nektriové rakoviny jabloní, a to od obecného uvedení významu a biologie patogenu až po praktická doporučení využitelná v pěstitelské praxi. Jednotlivé kapitoly na sebe logicky navazují a poskytují pěstitelům, poradcům i odborné veřejnosti ucelené a přehledně uspořádané informace, které usnadňují rozpoznání choroby, její monitoring i volbu vhodných ochranných opatření.

Speciální část metodiky je věnována problematice mykotoxinu patulinu, jehož výskyt v plodech je posuzován v souvislosti s jednotlivými zásahy. Metodika tak propojuje ochranu proti *N. ditissima* s požadavky na zdravotní nezávadnost produkce.

Praktická část obsahuje doporučení a vychází z výsledků laboratorních, skleníkových i polních testů. Součástí metodiky je také fotodokumentace, která slouží jako pomůcka pro identifikaci symptomů a porovnání účinnosti jednotlivých opatření.

Úvod

Jablka patří celosvětově k nejčastěji konzumovaným druhům ovoce. Pro spotřebitele představují ceněný zdroj vitamínů, vlákniny a dalších biologicky cenných látek, pro pěstitele pak jednu z hlavních komodit ovocnářské produkce. Vysoká obliba jablek je spojena s požadavkem na jejich kvalitu, zdravotní nezávadnost a dlouhou skladovatelnost, což klade značné nároky na pěstitelskou praxi.

Pěstitelé jabloní se potýkají s celou řadou chorob a škůdců, které mohou významně snižovat výnos i kvalitu plodů. Jedním z houbových patogenů způsobujících značné škody je *Neonectria ditissima*, známá také pod synonymem *Nectria galligena* nebo pod názvem nepohlavního stádia *Cylindrocarpon heteronema*. Vyskytuje se ve významných pěstitelských oblastech s chladnějším, vlhkým, mírným klimatem, zejména v severní Evropě, Velké Británii, Jižní Americe, Chile, Austrálii, Novém Zélandu, v Japonsku, Jižní Africe a Brazílii.

Nektriová rakovina jabloní patří mezi jedno z ekonomicky nejzávažnějších onemocnění jabloní a hrušní, zejména u mladých stromů náchylných odrůd v klimaticky příznivých lokalitách. Způsobuje odumírání dřevních pletiv a hnilobu plodů, čímž může výrazně snižovat výnosy i životnost sadů.

Patogen je schopen šířit se na dlouhé vzdálenosti vegetativním rostlinným materiálem i prostřednictvím infikovaných plodů. Jeho kontrolu navíc ztěžuje dlouhá latentní fáze a schopnost přežít bez zjevných příznaků. K rozvoji choroby přispívají specifické klimatické a lokální podmínky, stejně jako genetická náchylnost jednotlivých odrůd.

1 Charakteristika patogenu *Neonectria ditissima*

1.1 Taxonomické zařazení

EPPO kód¹: NECTGA či NECTDI

Říše	Fungi
Oddělení	Ascomycota
Třída	Sordariomycetes
Řád	Hypocreales
Čeleď	Nectriaceae

český název²: nektriová korová nektróza jabloně, korová rakovina, nektriová rakovina

anglický název³: European canker, Nectria canker, Nectria canker of apple, apple canker, crotch canker

Původně byl patogen znám pod názvem *Nectria galligena*, ale v roce 1999 byl přearozován do rodu *Neonectria* jako *Neonectria galligena*. Pozdější výzkum v roce 2006 ukázal, že *N. galligena* a *N. ditissima* jsou totožné druhy, a podle pravidel botanické nomenklatury byl název sjednocen na historicky dříve publikované jméno *Neonectria ditissima* (Castlebury et al. 2006; Rossman a Palm-Hernández 2008).

Nicméně starší latinský název *N. galligena* vhodně popisoval vzhled a symptomy této choroby, kdy *galla* označuje – hálku nebo výrůstek a *gena* – původce čili původce nádorů. Rodové jméno *Nectria*, pravděpodobně odvozené od řeckého slova *νέκταρ* (*néktar*), popisovalo charakteristické plodničky houby připomínající kapky nektaru.

1.2 Hostitelský okruh

N. ditissima má široké spektrum hostitelů. Napadení bylo zaznamenáno u více než 60 druhů dřevin z 20 různých rodů. Nejvýznamnější výskyt je v komerčních výsadbách jabloní (*Malus* spp.) a hrušní (*Pyrus* spp.) většiny pěstitelských oblastí

¹ EPPO 2001

² Kůdela et al. 2012

³ Creemers 2014

mírného klimatického pásma, kde způsobuje závažné poškození v podobě rakoviny dřeva a hniloby plodů (Langrell 2002; Edwards et al. 2006). Nejnáchylnějším hostitelem pro *N. ditissima* je jablň domácí (*Malus domestica*), přičemž citlivost se liší v závislosti na odrůdě. Více informací o citlivosti odrůd viz kapitola – 4 Citlivost odrůd jableň k *N. ditissima*.

Ovocnářsky významnými hostiteli jsou také:

- mišpule japonská (*Eriobotrya japonica*)
- kdouloň obecná (*Cydonia oblonga*)
- ořešák královský (*Juglans regia*)
- sladkoplodé jeřáby (*Sorbus spp.*)

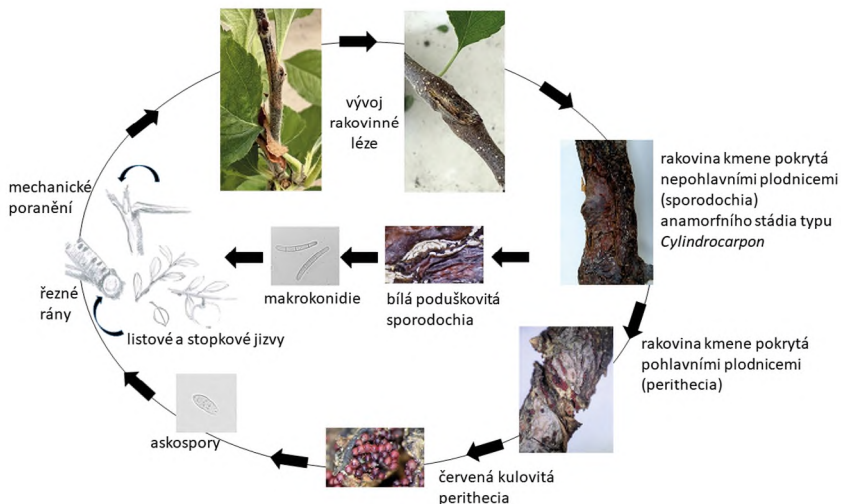
Protože *N. ditissima* napadá velké množství druhů dřevin, je obtížné ji zcela potlačit. Patogen se totiž nevyskytuje jen v sadech, ale i v jejich okolí – například v lesích, větrolamech nebo v remízcích. Právě tam může dlouhodobě přežívat a opakovaně infikovat nové porosty. *N. ditissima* také způsobuje rakovinu na řadě lesních dřevin, opět zejména v oblastech mírného klimatického pásma (Plante et al. 2002).

Hostitelské druhy vyskytující se v lesních porostech, větrolamech nebo okrasných výsadbách v okolí sadů:

- plané druhy rodů *Malus*, *Pyrus*, *Prunus*
- buk (*Fagus spp.*)
- jasan (*Fraxinus spp.*)
- jeřáb ptačí (*Sorbus aucuparia*)
- ořešák (*Juglans spp.*)
- topol (*Populus spp.*)
- vrba (*Salix spp.*)
- dub (*Quercus spp.*)
- bříza (*Betula spp.*)
- jilm (*Ulmus spp.*)
- javor (*Acer spp.*) a další

1.3 Epidemiologie a životní cyklus

Patogen se šíří třemi hlavními cestami – větrem, dešťovou vodou nebo mechanickým přenosem. Místem vstupu infekce jsou přirozené otvory např. lenticely nebo mechanicky vzniklá poranění, která mohou být důsledkem mrazu, řezu nebo ohýbání větví (Obr. 1).



Obr. 1: Schéma životního cyklu patogenu *N. ditissima*

Po průniku patogenu do pletiv může hostitel zůstat dlouho bez viditelných příznaků – latentní fáze trvá od několika týdnů až po několik let. Délka inkubační doby se zkracuje s větší velikostí rány a vyšší koncentrací inokula.

Vrchol infekce se liší v závislosti na klimatické oblasti a pro střední Evropu není znám. Ideální podmínky pro infekci charakterizují následující vlastnosti:

- dochází k maximální produkci spor (makrokonidii/askospor)
- nízké teploty zpomalující hojení ran
- povrchová vlhkost, především na místech s listovými/stopkovými jizvami a mechanickými ranami představuje klíčový faktor pro iniciaci infekce

Starší literatura uváděla jako nejrizikovější období podzimní opad listů. Aktuální studie však ukazují podstatné regionální odlišnosti a možné posuny ve vývojovém cyklu (Tab. 1) (Weber et al. 2025). Na Novém Zélandu bylo zjištěno, že nejcitlivější vstupní body infekce jsou rány po zimním řezu, pak stopkové jizvy z probírek a sklizně a až na posledním místě listové jizvy (Amponsah et al. 2015). Lze předpokládat, že v České republice se tato období budou shodovat s dešťovými periodami podzimu nebo zimy, a že se mohou meziročně měnit.

Tab. 1: Přehled průběhu uvolňování askospor v různých zemích

Oblast	První výlety askospor	Max. uvolňování askospor	Reference
severní Německo	během opadu listů/ po opadu listů	březen až květen	Weber et al. 2025
Norsko	jaro	léto/podzim	Weber et al. 2025
Brazílie	opad listů	jaro	Araujo et al. 2022
Nový Zéland	askospory jsou dostupné celý rok	měsíce ekvivalentní říjnu a listopadu	Amponsah et al. 2017

Zvláštní riziko představují latentně infikované stromky ze školek, které mohou vykazovat příznaky až 3–4 roky po výsadbě do sadů. Tento skrytý průběh infekce často vede k masivnímu odumírání mladých stromků (McCracken et al. 2003). U citlivých odrůd může být onemocnění hlavním faktorem omezujícím produkci.

Jakmile patogen přejde do aktivní fáze, dochází k nekrotizaci napadených pletiv, na jejichž povrchu vznikají dvě formy rozmnožovacích struktur:

- nepohlavní poduškovitá sporochia produkující konidie
- pohlavní kulovitá perithecia produkující askospory

Sporochia se tvoří po celou dobu vegetační sezóny a konidie jsou z nich smývány nebo rozstříkované deštěm do okolí. Naopak askospory, produkované v peritheciích, jsou vystřelovány a šířeny větrem na delší vzdálenosti, případně také rozšiřovány deštěm.

2 Symptomy

2.1 Rakovina dřeva

Tvorba rakovinných útvarů na dřevitých pletivech (výhony, větve a kmeny) představuje nejnápadnější příznak napadení stromu houbou *N. ditissima* (Obr. 2). Patogen se v sadu šíří sporama – nepohlavními konidii a pohlavními askosporami rozptýlenými během deštivého a větrného počasí. K infekci dochází zejména prostřednictvím přirozených ran, jako jsou jizvy po opadu listů (na podzim), a mechanických poškození, například skrze rány po řezu.



Obr. 2: Vznikající léze kolem listové jizvy po umělé infekci houbou *N. ditissima*

Patogen může přežívat v napadených pletivech až několik let pouze jako latentní infekce (Olivieri et al. 2021). Prvním viditelným příznakem rakoviny je červeno-hnědá léze kolem jizvy po opadu listu či kolem rány po řezu. Prvními symptomy mohou být také malé, nenápadné prohlubně tmavé barvy na mladých výhonech, které lze pozorovat na jaře a začátkem léta. Infikovaná místa se vyvíjejí v eliptické propadlé léze s tmavě zbarveným, měkkým pletivem, které působí vodou nasáklým dojmem. Tyto symptomy mohou být zpočátku snadno přehlédnutelné, ale později

se projeví buď náhlým odumřením celého výhonu nebo postupným svraskáním a odlučováním kůry vedoucím k tvorbě hrubě ohraničené rány vystupující nad okolní povrch (Agrios 2005). Pokud se léze objeví na hlavním kmenu, může s postupující infekcí docházet k zaškrcení celých větví rakovinným pletivem, což často vede i k odumření celého vrcholu kmene.

- **Otevřené rakoviny**

Starší rakovinné léze mají typický vzhled připomínající lasturu ústřice (Obr. 3), což souvisí s tím, že patogen se xylémem šíří snadněji podélně než příčně.



Obr. 3: Otevřená rakovina způsobená houbou *N. ditissima*

- **Uzavřené rakoviny**

Rakovina jabloně se může někdy projevovat tzv. uzavřenou formou, při níž vznikají na dřevě nádory překryté kalusem a nekrotizace probíhá uvnitř těchto útvarů. Kůra na těchto místech je pak drsná až rozpraskaná a dřevo pod ní sesychá a nevytváří se typické prohlubně. Tento typ rakovin často vzniká v paždí větví (Zeller 1926).

V raných fázích vývoje rakoviny se na povrchu léze tvoří převážně nepohlavní konidie, zatímco pohlavní plodničky (perithecia) s askosporami se objevují jen vzácně. Tyto plodničky se zpravidla vytvářejí až na starších lézích, které jsou alespoň jeden až dva roky staré (Saville 2014). Konidie jsou patrné jako bělavé povlaky uspořádané do úzkých linií, zatímco perithecia se vyskytují ve shlucích jasně červených kulovitých útvarů. Pokud nedojde k včasnému zastavení infekce mechanickým odstraněním zasažených pletiv nebo chemickým postřikem, může se infekce rozšířit a strom zahubit.

Výskyt rakoviny na hlavním kmeni starších stromů významně snižuje jejich vitalitu, hodnotu i produkční potenciál. Takto oslabené stromy jsou navíc náchylnější k mechanickému poškození, zejména k lámání se větrem. Opakované prořezávání za účelem omezit šíření onemocnění často vede k deformovaným a obtížně ošetřovatelným stromům v sadu. Omezený transport vody způsobený zúžením a deformací xylému, zejména u větví a kmenů s četnými nebo rozsáhlými rakovinnými lézemi, se projevuje sníženou velikostí plodů. Nemoc je nejpatrnější, když je jablonoň v plném olistění, protože odumřelé větvičky a výhony vyčnívají. Odumírání lze často vysledovat zpětně k místům, kde rakovina vzniká a obepíná kmen. Listy jabloní většinou nejsou přímo infikovány, a proto na nich nelze sledovat žádné charakteristické symptomy. Nicméně opad listů či vadnutí výhonů může rovněž naznačovat infekci *N. ditissima*. Přítomnost patogenu ve dřevě lze poznat hnědým zabarvením.

Příznaky infekce mohou být zaměněné za poškození způsobené vlnatkou krvavou (*Eriosoma lanigerum*), která ničí pupeny a tvoří nádorové útvary nebo za bakteriální spálu růžovitých způsobenou *Erwinia amylovora* (Obr. 4), při které dochází k odumírání výhonů bez tvorby rakovinných lézí a nádorů. Existuje také několik dalších chorob způsobujících rakovinu jabloně (*Malus* spp.) a dalších příbuzných rodů ovocných stromů, které mají podobné příznaky. Pokud nejsou přítomny charakteristické červené plodničky – perithecia, lze tuto chorobu zaměnit s několika dalšími houbovými patogeny: *Neofabraea malicorticis*, *N. alba*, *N. perennans* a *Monilinia fructigena*, které jsou známé jako původci skládkových chorob, jako je kruhová hnědá hniloba a moniliová hniloba plodů. Tito původci však mohou způsobovat také rakovinu dřeva.



Obr. 4: Výhon jabloně infikovaný bakteriální spálou růžovitých (*Erwinia amylovora*). Tyto příznaky mohou být zaměněny s nektriovou rakovinou jabloně.

2.2 *Hniloba plodů*

Obecně k infekci plodů dochází již na jaře, v průběhu květu a vývinu plodů, když se uvolňují spory z rakovinných lézí. Spory infikují otvory na plodu, jako je kalich, konec stopky, lenticely, léze strupovitosti a poranění způsobené hmyzem. Výskyt infekce plodů závisí na úrovni sporulace (množství inokula) na rakovinných lézích a na povětrnostních podmínkách. K hnilobě plodů může dojít, dokud jsou plody ještě na stromě, a tyto plody pak mumifikují.

V závislosti na odrůdě se příznaky infekce plodů obvykle neobjeví dříve než krátce před sklizní nebo po ní. Převážně zůstává infekce latentní a projeví se až při dlouhodobém skladování. Nejzřetelnějším příznakem infekce plodů je hnědá hniloba (angl. Nectria rot, eye rot of apple), která se vyznačuje kruhovými, propadlými nekrotickými oblastmi kolem kalicha nebo na povrchu plodu a které se vyvíjí ještě před sklizní. Hniloby jsou měkké, mírně propadlé, přičemž nekrotická část jde velmi dobře oddělit od zdravé dužiny. U některých odrůd, zejména těch s otevřeným kalichem, se může vyvinout hniloba jádřince, kterou je obtížné odhalit bez

rozříznutí plodu, a která může při dlouhodobém skladování v chladu zůstat latentní po mnoho měsíců. Hniloba se obvykle vyvíjí na kališním konci plodu a je více tmavě hnědá než hniloby způsobené rodem *Penicillium*. Uvnitř je měkká shnilá dužnina a může mít pruhovaný vzhled. Hniloby na ovoci skladovaném při nízkém obsahu kyslíku, mají tendenci mít zelenou barvu a málo sporulují, naopak hniloby na ovoci skladovaném při vyšším obsahu kyslíku jsou hnědé s krémovými kupkami spor.

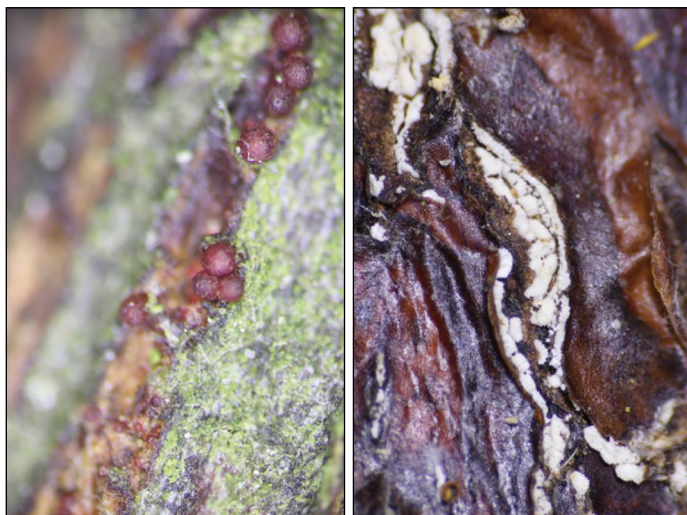
2.3 Lokalizace patogenu na hostiteli

Primárním místem výskytu patogenu *N. ditissima* jsou rakovinné léze na dřevních plechách (Obr. 5) a hniloby infikovaných plodů. Může přetrvávat jako latentní infekce (tj. bez viditelných příznaků) na zakořeněných rostlinách, ve vegetativním rozmnožovacím materiálu (rouby, podnože) nebo na plodech. Patogen není přítomen v kořenovém systému. V praxi je však nutné rozlišovat infekce způsobené houbami s nepohlavním stádiem typu *Cylindrocarpon*, běžně spojovanými s kořenovými chorobami dřevin, od nepohlavního stadia *N. ditissima*, s nimiž bývá nesprávně zaměňován.



Obr. 5: Poškození hlavního kmene jabloně nektriovou rakovinou (odrůda 'Red cap', jižní Morava)

Ve výsadbě hledejte rakovinné léze a nádory, klejotok a zbytnělou, zdrsňenou popraskanou kůru, zejména v paždí větví. Za příznivých podmínek mohou být plodnice perithecia přítomny v rakovinných pletivech jako malé, kulaté, červené granulovité/kulovité útvary, které jsou viditelné pomocí lupy (obr. 6 vlevo). Za vlhka není červená barva perithecií příliš zřejmá a může být obtížné je na vlhké kůře odhalit, ale za sucha jsou snadno viditelné. Na povrchu lézí se mohou tvořit také bílé nepohlavní plodnice, které mají čárkovitý až polštářkovitý tvar (obr. 6 vpravo).



Obr. 6: Pohlavní (vlevo) a nepohlavní (vpravo) plodnice patogenu *N. ditissima*

3 Výskyt a šíření ve školkách

Houbový patogen *N. ditissima* může infikovat stromky již v průběhu jejich školkařské produkce. Tento moment je z hlediska ochrany velmi důležitý, neboť infekce získané ze školky se následně přenášejí do výsadeb a jsou zdrojem primárního šíření choroby (McCracken et al. 2003; Børve et al. 2025). Stromky mohou působit při výsadbě vizuálně zdravě, avšak nést latentní infekci, která se může projevit až po několika letech. Viditelné rakoviny se proto často rozvinou až po výsadbě, někdy i s odstupem dvou až tří let od počáteční infekce (Weber 2014).

3.1 Latentní infekce a projevy

První symptomy infekce mohou být patrné již v průběhu školkařské fáze, typicky na kmeni nebo v bázi postranních výhonů. Objevují se nekrotické léze či rakoviny v okolí ran po řezu nebo v okolí pupenů. V řadě případů však zůstávají infekce skryté a vizuální kontrolou jsou nezjistitelné, což komplikuje hodnocení zdravotního stavu materiálu určeného k výsadbě.

3.2 Infekce během školkařských operací

Jako typický patogen, který vstupuje do pletiv především přes rány, má během školkařské produkce i po výsadbě do sadu k dispozici řadu vstupních bran. Přirozené infekce mohou nastat již při očkování na T-řez či při roubování, kdy vznikají čerstvé a rozsáhlé rány. Výzkumy ukazují, že infekce vzniklé při očkování na T-řez v letním období se rozvíjejí rychleji než při jarním roubování. Další vstupní brány vznikají při zkracování výhonů, odstraňování postranních pupenů, ohýbání a vyvazování větví za účelem úpravy růstového tvaru a v neposlední řadě i při manipulaci při přesazování, vyorávání nebo transportu (Børve et al. 2025).

3.3 Vliv pěstitelských a stresových faktorů

Kromě samotných ran a mechanického poškození hrají významnou roli pěstitelské podmínky. Stromy vystavené stresu, například v důsledku přemokření nebo sucha, výkyvů teplot či nedostatečné výživy mají oslabená pletiva a jsou náchylnější k infekci.

3.4 Náchylnost podnoží

Rozdíly v intenzitě napadení souvisí s genetickými faktory. Ve studii Shuttleworth et al. (2023) vykazaly některé běžně používané podnože, jako je např. M9 EMLA či M9 337, vysokou náchylnost, zatímco nové selekce, jako např. EMR-004, EMR-006, se jeví jako odolnější. Volba vhodné podnože ve školce tak může významně ovlivnit pozdější výskyt rakoviny ve výsadbách.

4 Faktory ovlivňující infekci

4.1 Vliv hostitele

- Odrůdy

Citlivost jednotlivých odrůd jabloní k *N. ditissima* se výrazně liší a představuje jeden z klíčových faktorů ovlivňujících úspěšnost pěstování. Rozdíly v náchylnosti nejsou dány pouze genetickými vlastnostmi odrůdy, ale mohou se měnit v závislosti na konkrétních pěstitelských podmínkách a lokalitě. Tyto rozdíly mají zásadní význam pro praxi, protože u vysoce citlivých odrůd může choroba způsobit rozsáhlé poškození stromů a vést k vysokým ekonomickým ztrátám, zatímco tolerantnější odrůdy lze pěstovat s nižším rizikem výskytu onemocnění.

Na základě dostupných poznatků lze jednotlivé odrůdy jabloní rozdělit podle úrovně citlivosti k nektriové rakovině. Přehled v Tab. 2 ukazuje, že mezi běžně pěstovanými odrůdami existují výrazné rozdíly – od odrůd s velmi vysokou citlivostí, u nichž je riziko hospodářských ztrát značné, až po odrůdy s nízkou či velmi nízkou citlivostí, které lze považovat za tolerantnější. Tyto informace mohou být nápomocné jak při volbě vhodného sortimentu pro nové výsadby, tak i při plánování ochranných opatření v již založených sadech (Weber 2014). Citlivé odrůdy by neměly být vysazovány na lokalitách s podmínkami vhodnými pro rozvoj nektriové rakoviny.

Tab. 2: Přehled citlivosti odrůd jabloní k nektriové rakovině v severozápadní Evropě

Úroveň citlivosti	Odrůdy
velmi vysoká	'Kanzi', 'Rubens'
vysoká	'Gala', 'Braeburn', 'Cox Orange', 'Gloster', 'Discovery', 'James Grieve', 'Gravenstein', 'Cameo'
střední	'Golden Delicious', 'Rubinola'
nízká	'Topaz', 'Jonagold', 'Aroma', 'Elstar', 'Booskop'
velmi nízká	'Pinova', 'Santana'

(převzato od Weber 2014)

- **Přítomnost ran**

N. ditissima potřebuje čerstvé přirozené nebo umělé rány k tomu, aby infikovala jabloně. Rozsah a povaha rány zásadně ovlivňují pravděpodobnost úspěšné infekce (Walter et al. 2017). Čerstvé rány vykazují nejvyšší náchylnost po dobu 1 týdne během vegetace, resp. až 5 týdnů v zimním období (Weber a Børve 2021; Hartevelt et al. 2025). Vstupními místy jsou nejčastěji řezné rány, podzemní jizvy po opadu listů (pravděpodobně nejčastější vstupní brána, ale může záležet na podmínkách konkrétního roku), jizvy po mechanické probírce květů a plodů, poranění způsobená ohybem větví, mrazem, kroupami, kališní a stopkové rány, léze strupovitosti a jiná mechanická poškození (Weber 2014).

- **Stáří a fyziologie hostitele**

Mladá, aktivně rostoucí pletiva vykazují vyšší náchylnost k infekci než pletiva vyzrálá. Stromy s převahou vegetativního růstu jsou v důsledku vyššího podílu vnímavých pletiv častěji postiženy (Børve et al. 2017).

4.2 Vliv patogenu

- **Dostupnost a dávka inokula (spor)**

Inokulum *N. ditissima* ve formě konidií a/nebo askospor jsou k dispozici po celý rok, s výjimkou velmi suchých období v létě a období s velkými mrazy (Walter et al. 2017). Askospory se mohou uvolňovat několik měsíců až celý rok v závislosti na regionu a klimatu (Weigl 2021). Například v severním Německu v letech 2017–2019 byly nejvyšší záchyty askospor mezi lednem a květnem (Weber a Børve 2021).

K infekci může postačovat velmi nízká dávka inokula (i pouhých 10 spor), nicméně vyšší dávky inokula (v řádu 50–100 konidií nebo askospor) zvyšují pravděpodobnost infekce (Weber 2014; Walter et al. 2017).

4.3 Vliv mikroklimatu

N. ditissima vykazuje nejvyšší infekční aktivitu za přesně vymezených specifických podmínek, které podporují růst mycelia, sporulaci, klíčení a následnou infekci hostitele. Z toho vyplývá, že výsledky studií z různých klimatických oblastí mohou jejich závěry částečně ovlivňovat. Informace založené na laboratorních testech mají spíše orientační charakter.

- **Teplota**

Optimální teplota pro růst mycelia se pohybuje v rozmezí 17–20 °C, přičemž růst je zaznamenán i při teplotách od 0 °C do 35 °C. Klíčení konidií a askospor je nejintenzivnější v rozmezí 20–25 °C. Klíčivost se rapidně zvyšuje od 6 °C výše a dosahuje horní hranice při 30 °C (*in vitro* podmínky, Gelain et al. 2020). Askospory a makrokonidie získané přímo ze sadu mohou klíčit např. po 20, 12, 8 a méně než 4 hodinách při teplotách 2, 5, 8 a 18 °C. Aktivní uvolňování askospor probíhá po 10, 6–8 a 4–6 hodinách při 60% relativní vlhkosti vzduchu a teplotách 2, 8 a 18 °C (Harteveld et al. 2025).

Projev symptomů nejrychleji postupuje při denních teplotách 11–16 °C a relativní vlhkosti 75–87 %. Dlouhodobé průměrné teploty nad 20 °C mohou vývoj onemocnění zastavit (Gelain et al. 2020).

Citlivost řezných ran může záviset na rychlosti jejich hojení, které se za nízkých teplot zpomaluje. Řezné rány mohou zůstat náchylné k infekci alespoň týden při teplotě 18 °C a více než pět týdnů při teplotě 5 nebo 8 °C (data zjištěná pro norské klimatické podmínky), (Harteveld et al. 2025).

- **Vlhkost a srážky**

Vysoká relativní vlhkost je nezbytná pro klíčení konidií a vznik infekce. Při 100% vlhkosti a teplotě 25 °C vyklíčí více než 70 % konidií během 12 h, a téměř 90 % do 48 h (data důležitá z hlediska infekce plodů nektriovou hnilobou). Kritickým faktorem je rovněž ovlhčení povrchu – pro infekci jizev po listech postačí 24 hodin

při 10 °C, 10 hodin při 15 °C a pouhé 2 hodiny při 20 °C. Srážky významně ovlivňují sporulaci, rozptýl spor a infekci (Gelain et al. 2020).

5 Monitoring výskytu *N. ditissima* v České republice

Pro účely této metodiky byl v letech 2024–2025 proveden cílený monitoring výskytu patogenu *N. ditissima* na území České republiky. Šetření probíhalo formou telefonické komunikace s pěstiteli jabloní, a to jak z řad drobných pěstitelů, tak zástupců velkých ovocnářských podniků. Monitoring zahrnul celkem 67 respondentů napříč Českou republikou, přičemž 27 respondentů potvrdilo výskyt nektriové rakoviny. Mezi nejčastěji napadené odrůdy patřila především 'Gala' (10 hlášení), dále 'Rubín', 'Idared', 'Šampion' a 'Golden Delicious'.

Z výsledků monitoringu vyplývá, že výskyt nektriové rakoviny nelze spojovat s konkrétní oblastí, typem pěstitelského režimu ani stářím výsadby. Choroba byla hlášena jak ve starších, tak v mladých sadech, u menších pěstitelů i ve velkých komerčních podnicích.

Monitoring zároveň ukázal, že značná část pěstitelů neprovádí podzimní aplikaci měďnatých přípravků. Tento postup přitom může mít vliv na míru infekce, neboť patogen *N. ditissima* proniká do pletiv převážně v období podzimu a časného jara prostřednictvím čerstvých ran. Absence preventivního měďnatého ošetření tak může přispívat k vysokému infekčnímu tlaku a perzistenci patogenu v sadech.

6 Možnosti ochrany proti *N. ditissima*

Účinná ochrana proti *N. ditissima* vyžaduje kombinaci preventivních a kurativních opatření v rámci komplexního systému ochrany rostlin. Samotná aplikace fungicidů zpravidla není dostačující – důležitou roli proto hrají i agrotechnická opatření, jejichž správné a důsledné provádění ovlivňuje celkovou úspěšnost ochrany.

Dlouhodobým cílem je vyšlechtění odrůd s vyšší genetickou odolností vůči této chorobě. Vzhledem k tomu, že současná produkce jablek je založena převážně na

odrůdách citlivých k infekci, je nezbytné uplatňovat komplexní přístup využívající všechny dostupné nástroje integrované ochrany rostlin.

6.1 Agrotechnická opatření

Mezi nejvýznamnější zásahy patří:

Pravidelný a cílený řez, který odstraňuje napadené dřevní pletivo, přeruší infekční cyklus (redukce sporulujících lézí) a zlepší mikroklimatické podmínky v koruně stromu.

Správně řízená výživa, která ovlivňuje vitalitu stromů i jejich náchylnost k infekci.

Prevence mechanického poškození, neboť poranění kůry představuje hlavní vstupní bránu pro patogen, obzvláště u mladých výsadb.

Rozvoj choroby může probíhat také skrytě při nevhodném použití chráničky na bázi kmene. Chránička s příliš hustou sítí ovinou neumožňuje fungicidním postřikům proniknout až na kmen, a naopak udržuje v těchto místech nežádanou vlhkost (Obr. 7).



Obr. 7: Výskyt nektriové rakoviny pod příliš hustou chráničkou kmene

Rakoviny se také často tvoří v místě připevnění stromu k drátěnce, kvůli vyšší náchylnosti k oděru kůry a namrzání (Obr. 8).



Obr. 8: Místa připevnění stromu k drátěnce jsou náchylná k nektriové rakovině

6.1.1 Řez

Nerovnoměrný výskyt rakovinných lézí v sadech je častým jevem a bývá zpravidla důsledkem opomenutí při pravidelném řezu. Pokud nejsou léze odstraněny během zimního nebo letního období, v následující vegetační sezóně dochází k progresi a vzniku nových infekčních ložisek, což podtrhuje význam pravidelného odstraňování rakovinných pletiv jako klíčového zásahu v rámci integrované ochrany.

Podobně i výskyt hniloby plodů, způsobený infekcí konidiiemi v období kvetení, často úzce souvisí s přítomností rakovinných lézí na jednotlivých stromech (Weber a Dralle 2013). Z biologických poznatků o infekci *N. ditissima* je tedy žádoucí, aby byly napadené větve odstraněny dříve, než dojde ke sporulaci patogenu.

U vysoce náchylných odrůd je nutné provádět řez častěji a důkladněji, neboť u těchto

kultivarů dochází k rychlejšímu rozvoji symptomů a častější a intenzivnější sporulaci. Zvláštní pozornost vyžadují mladé sady, které jsou k infekci obecně náchylnější. Včasné odstranění rakovin je klíčové pro zamezení šíření choroby v rámci jednoho kmene i celého sadu. Odstraňování nekróz se doporučuje při maximálním rozsahu nekrózy do půlky průměru kmene/větve, u větších infekcí je nutné odstranit celou část/celý strom.

Optimální termíny pro zásah jsou:

- **zimní měsíce**, kdy je výskyt lézí vizuálně dobře identifikovatelný
- **období před květem**, které je klíčové pro prevenci květních infekcí
- **fáze po odkvětu až do konce června**, během níž se mohou manifestovat infekce iniciované v předchozím podzimu, především v oblasti jizev po opadu listů a plodů

Z ekonomických důvodů lze řez proti rakovině kombinovat s jinými agrotechnickými zásahy, např. s řezem proti padlí nebo běžnými zásahy v zimním a letním období (Weber a Børve 2021).

Čerstvé rány po řezu představují vstupní bránu pro infekci, přičemž jejich citlivost vůči patogenu je proměnlivá v závislosti na ročním období. V průběhu vegetace zůstávají rány citlivé přibližně po dobu jednoho týdne, zatímco v zimním období může tato náchylnost trvat až tři týdny. Z tohoto důvodu je vhodné provádět řez zejména za suchého počasí.

V praxi však takové podmínky nelze vždy zajistit, což vyvolává otázku vhodné ochrany řezných ran. Jednou z možností je načasovat řez v souběhu s aplikací fungicidního postřiku. Výsledky pokusů ukazují, že účinnost fungicidů, např. kaptanu, je vyšší u drobných poranění (např. jizev po opadu listů), než u velkých řezných ran.

Alternativní přístup spočívá v individuálním ošetření větších ran nátěrem. Názory na účinnost této metody se mezi jednotlivými ovocnářskými oblastmi liší. Aplikace fungicidních nátěrů, například mědi v minerálním oleji, byla navržena jako způsob ochrany proti novým infekcím *N. ditissima*, ale i jako prevence před reinfekcí

ze zbytkově napadeného pletiva ponechaného při neúplném řezu. Použití různých past k ošetření ran může v určitých případech napomoci jejich hojení ve srovnání s neošetřenými kontrolními variantami.

Výsledky dosavadních studií však naznačují, že efekt těchto zásahů bývá často omezený, a ne vždy ospravedlňuje vynaložené náklady a pracovní úsilí (Weber a Børve 2021). Za zbytečný ho považují také někteří poradci. V současné době navíc není v České republice registrován žádný nátěrový přípravek na rány s obsahem fungicidu, což významně omezuje možnosti přímé chemické ochrany těchto poranění. Z alternativ se v některých případech doporučuje zátěr chlornanem sodným, hydroxidem sodným nebo hydroxidem vápenatým.

6.1.2 Výživa a růstové regulátory

Výživa jabloní má zásadní vliv na jejich fyziologický stav a odolnost vůči patogenům, včetně houby *N. ditissima*. Základním poznatkem fytopatologie je, že závažnost mnoha vzdušně přenosných chorob a škůdců roste s intenzitou vegetativního růstu rostlin. Tento vztah je patrný také u rakoviny jabloní.

Zejména zvýšená aplikace dusíkatých hnojiv:

- stimuluje intenzivní růst pletiv
- zvyšuje obsah dusíku ve dřevě a kůře

Rychle narostlá pletiva jsou náchylnější k infekci patogeny. Vyšší obsah dusíku dále stimuluje patogeny v růstu.

Riziko závažného poškození se mění v závislosti na věku porostu. Mladé, aktivně rostoucí stromy (stáří do 5 let) jsou obecně náchylnější k ekonomicky významným ztrátám než starší dřeviny. U takto napadených výsadeb bývá nutná celková likvidace stromů. Oproti tomu starší stromy často infekci přežívají a zůstávají plodné, i když do určité míry oslabené.

V rámci prevence se doporučuje omezit hnojení na nezbytné minimum během

prvních let po výsadbě, zejména v úrodných oblastech s lehkými půdami, a zvláště při pěstování kultivarů náchylných k rakovině. Podřezávání kořenů, běžně používané ke zmírnění nadměrného vegetativního růstu ve prospěch plodnosti, může být zároveň účinným opatřením ke snížení výskytu rakoviny (Weber a Børve 2021).

Kromě standardní výživy a její optimalizace je možné také uvažovat o využití regulátorů růstu, které tlumí přílišnou vegetativní aktivitu stromů, a tím mohou nepřímo přispívat ke zvýšení jejich odolnosti vůči chorobám. Naopak některé jiné chemické zásahy mohou nektriovou rakovinu podpořit.

Prohexadion-vápenatý – někteří autoři uvádějí, že např. v Německu se při pěstování jabloní používá postřik prohexadionu-vápenatého, účinné látky známé svými schopnostmi potlačit růst letorostů. Tato látka má prokázaný účinek proti spále jabloní, jejíž původcem je *Erwinia amylovora* (Yoder et al. 1999; Aćimović et al. 2019), a také proti strupovitosti a dalším chorobám (Bazzi et al. 2003). Přímý účinek proti rakovině jabloní dosud nebyl prokázán, nicméně z hlediska fyziologických procesů ve stromě se nabízí možnost nepřímého pozitivního vlivu. Snížení intenzity růstu může přispět k větší rovnováze mezi růstem a tvorbou obranných struktur, a tím snížit citlivost dřeva k infekci. Tyto synergické účinky by měly být plně využity v rámci moderních přístupů integrované ochrany rostlin (Weber a Børve 2021). V České republice je uvedena účinná látka rovněž dostupná, je obsažena např. v komerčním přípravku Regalis Plus a mnozí pěstitelé ji též využívají k regulaci růstu výhonů.

Močovina po sklizni – zajímavé výsledky přinesla také nedávná novozélandská studie (Dryden et al. 2016), která zjistila, že postřik listů močovinou po sklizni vedl ke značnému zvýšení umělé infekce rakovinou během opadu listů. V tomto případě je obtížné vysvětlit výsledek pouze zvýšením růstu stromu – zdá se pravděpodobnější, že vyšší hladiny dusíku přímo podporovaly množení patogenu *N. ditissima*, případně že močovina poškodila pupenová pletiva, a tím usnadnila vstup infekce (Wood a Beresford 2000).

6.2 Chemická ochrana

Primárním cílem chemické ochrany je omezení infekce na nově vznikajících

dřevnatých pletivech a snížení sporulace na starších rakovinných lézích. Aplikace fungicidů se proto soustřeďuje na období, kdy jsou stromy nejvíce náchylné – při rašení pupenů, po opadu korunních plátků (proti skládkové hnilobě) a během podzimního opadu listů (10 %, 50 %, případně 90 % listové plochy). V sadech se středním až vysokým výskytem rakoviny se doporučuje dodatečná aplikace při 90% opadu listů, kdy je riziko infekce obzvláště vysoké. Pokud jsou sady ošetřovány proti strupovitosti, může být část chemických ošetření spojena proti oběma chorobám. Přehled přípravků registrovaných proti nektriové rakovině v České republice je uveden v Tab. 3.

Tab. 3: Přehled přípravků registrovaných proti nektriové rakovině v České republice

Přípravek	Účinná látka (a její obsah)	OL (dny)	Dávka	Poznámka
Cobran	hydroxid měďnatý (537 g/kg)	AT	3 kg/ha (1 kg/1 m výšky koruny/ha)	po sklizni; při zjištění výskytu max. 3/rok
Cuprozin Progress	hydroxid měďnatý (383,8 g/l)	AT	3 l/ha (1 l/1 m výšky koruny/ha)	po sklizni; při prvních příznacích choroby
Defender	hydroxid měďnatý (383,8 g/l)	AT	3 l/ha (1 l/1 m výšky koruny/ha)	po sklizni; při prvních příznacích choroby
Defender Dry	hydroxid měďnatý (537 g/kg)	AT	3 kg/ha (1 kg/1 m výšky koruny/ha)	po sklizni; při zjištění výskytu max. 3/rok
Funguran PRO	hydroxid měďnatý (537 g/kg)	AT	3 kg/ha (1 kg/1 m výšky koruny/ha)	po sklizni; při zjištění výskytu max. 3/rok
Funguran progress	hydroxid měďnatý (537 g/kg)	AT	3 kg/ha (1 kg/1 m výšky koruny/ha)	po sklizni; při zjištění výskytu max. 3/rok
Geoxe 50 WG	fludioxonil (500 g/kg)	3	0,45 kg/ha	jabloň, hrušeň, hru- šeň asijská, jabloň lesní, kdouloň, kdou- lovec; od 74 BBCH do 89 BBCH, max. 2/rok
Hydroxid vápenatý	hydroxid vápenatý (24 %)	AT	63–104 l/ha	2-7 aplikací; konec opadu listů až do konce prosince

Přípravek	Účinná látka (a její obsah)	OL (dny)	Dávka	Poznámka
Luna Experience	fluopyram (200 g/l), tebukonazol (200 g/l)	14	0,5–0,75 l/ha (0,25 l/1 m výšky koruny/ha)	od 57 BBCH do 87 BBCH

(čerpáno z registru přípravků na ochranu rostlin 2025 <https://mze.gov.cz/public/app/eagriapp/POR/>)

- **Měďnaté fungicidy**

Měďnaté přípravky představují historicky i prakticky klíčovou součást ochrany proti rakovině jableň. Jejich účinnost je založena na tzv. depotním efektu: nízká rozpustnost určitých měďnatých solí umožňuje postupné uvolňování iontů Cu^{2+} při srážkách a jejich distribuci v tenké vrstvě vody na povrchu rostlinných pletiv. Tento mechanismus zajišťuje vysokou perzistenci účinné látky i při úhrnu srážek přesahujícím 100 mm, což je v praxi zásadní zejména na podzim, kdy bývá přístup do sadů omezen z důvodu vysoké vlhkosti půdy.

Po řadu let byl nejčastěji využívaným přípravkem oxichlorid měďnatý (Cooke et al. 1993; Walter et al. 2015). Moderní formulace měďnatých fungicidů však umožňují významně snížit aplikační dávky při zachování účinnosti, čímž se minimalizuje environmentální zátěž. Perspektivním opatřením je také nátěr kmenů vysoce koncentrovanými měďnatými suspenzemi, které poskytují účinnou ochranu proti závažným kmenovým infekcím a zároveň omezují vstup mědi do půdy.

Používání mědi je však legislativně regulováno. V České republice je maximální roční dávka stanovena na 4 kg/ha (odpovídá maximu povolenému EU) (European Commission 2024). V systémech integrované produkce zůstává měď nenahraditelná při ochraně proti rakovině jableň, ale pro regulaci strupovitosti je považována za nadbytečnou. V ekologickém zemědělství je naopak měď nezbytným prvkem ochrany proti strupovitosti jableň, což limituje její využití proti rakovině. Reziduální povolená dávka není v těchto podmínkách dostatečná k zajištění účinné ochrany vysoce náchylných odrůd (Weber 2014).

- **Ostatní kontaktní fungicidy**

Kontaktní fungicidy, zejména s účinnými látkami kaptan a dithianon, poskytují vedlejší ochranu proti *N. ditissima* díky pravidelným aplikacím proti strupovitosti (Cooke 1999).

Kaptan je doporučován na začátku zimního období, po sklizni a při prvním opadu listů.

Nevýhody: Omezená účinnost při vysokém infekčním tlaku, rychlý smyv deštěm – většina účinné látky mizí již po prvních srážkách, i když reziduum zůstává při dalších deštích nad 25 mm (Xu et al. 2008).

Výhody: Lepší retenci účinné látky vykazují jizvy po listech a drsnější části kůry než samotné listy (Gaskin et al. 2014). Přítomnost adjuvans navíc může podpořit redistribuci účinné látky z povrchu listů do jizev, a tím zvýšit její ochranný účinek.

Fludioxonil je účinná látka registrovaná hlavně proti skládkovým chorobám. Polní pokusy v Německu zjistili nejlepší účinnost (62 %) proti nektriové hnilobě plodů při kombinaci tří aplikací kaptanu (cca 4–3 týdny před sklizní) a dvou aplikací fludioxonilu (cca 1–2 týdny před sklizní). Druhý nejlepší systém ošetření měl tytéž tři aplikace kaptanu a další tři aplikace polysulfidu vápenatého (cca 1–2 týdny před sklizní) a dosáhl 53% účinnosti (Weißhaupt et al. 2025).

- **Strategie aplikace kontaktních fungicidů**

Obecná doporučení zahrnují kombinaci:

- kaptanu na začátku podzimu,
- měďnatých fungicidů při 50% a 100% opadu listů,
- případné zimní aplikace hydroxidu měďnatého, zejména při riziku čerstvých mrazových ran.

V severním Německu, Brazílii, Velké Británii se doporučují tři postřiky během opadu listů (začátek–střed–konec). Na Novém Zélandu se volí i kratší intervaly

s aplikacemi každý týden (Walter et al. 2015). V případě aplikací účinné látky kaptan v pozdním období je však třeba mít na paměti dodržení ochranných lhůt konkrétních přípravků.

- **Alternativní přístupy (např. hydroxid vápenatý)**

Dalším možným přístupem je použití vápenné vody (lime water; nasycený vodný roztok hydroxidu vápenatého; $\text{Ca}(\text{OH})_2$), která je v Evropské unii registrována jako základní látka a představuje ekologicky šetrný prostředek pro ochranu rostlin proti nektriové rakovině jabloní. Její účinek spočívá v dočasném zvýšení pH na povrchu rostlinných pletiv, čímž je inhibováno klíčení konidií patogenu *N. ditissima*. Avšak v průběhu několika hodin až dní dochází vlivem reakce s atmosférickým CO_2 k přeměně na uhličitán vápenatý, čímž se účinnost postupně snižuje. Z tohoto důvodu je nezbytné provádět aplikace opakovaně a preventivně, zejména v období opadu listů (říjen–prosinec), kdy k infekci dochází nejčastěji.

Polní pokusy prokázaly, že při třech aplikacích lze dosáhnout snížení počtu nově vzniklých rakovin o 50–75 %. S intenzivnějším použitím (max. 7 aplikací) může dosahovat účinnosti až 90 %.

Doporučené dávkování:

postřik: 63–104 l/ha (24% $\text{Ca}(\text{OH})_2$; maximum 728 l/ha ročně) nebo 45–76 l/ha (33% $\text{Ca}(\text{OH})_2$); maximum 532 l/ha ročně), 2–7 aplikací za sezónu

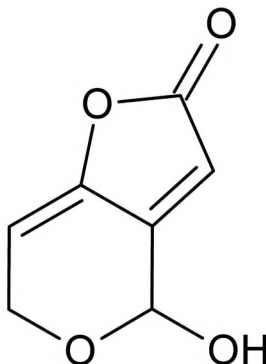
postřiková závlaha: 63–104 l/ha, až do celkového maxima 1460 l/ha

nátěry štětcem: zimní období až do března

Přestože vápenná voda vykazuje srovnatelnou účinnost s chemickými fungicidy, je její použití nutné kombinovat s dalšími preventivními opatřeními, zejména s mechanickým odstraňováním infikovaných částí stromů a udržování sadů v dobrém hygienickém stavu (Brouwer 2023).

7 Mykotoxin patulin a jeho souvislost s rakovinou jabloní

Mykotoxin patulin (PAT) byl objeven během výzkumu nových antibiotik v roce 1941. PAT byl poté nezávisle izolován dalšími vědeckými skupinami pod různými názvy, jako například klavatin, klavacin, expansin, penicidin, mykoin, leukopin a tercinin. Struktura PAT (Obr. 9) byla popsána v roce 1943 (Raistrick 1943).



Obr. 9: Chemická struktura patulinu (Vytvořeno v ACD/CHemSketch.)

PAT je produkován různými mikroskopickými vláknitými houbami, zejména rody *Penicillium* (např. *P. expansum* a *P. griseofulvum*), *Aspergillus* (např. *A. clavatus*) a *Byssochlamys* (např. *B. nivea*) (Fernández-Cruz et al. 2010; Ismaiel a Papenbrock 2015; Pal et al. 2017; Pittet 1998). Přičemž *P. expansum* je hlavním producentem PAT a způsobuje měkkou hnilobu ovoce (Malir a Ostry 2003).

V přírodních podmínkách je PAT známý především jako kontaminant jablek a jablečných produktů jako jsou džusy, mošty, džemy a cidery. Byl nalezen také v dalších ovoci, jako jsou hrušky, meruňky, broskve, švestky, třešně, banány, borůvky, hroznové víno a jahody. Vysoké koncentrace PAT byly nalezeny také v obilovinách a produktech z nich (Llewellyn et al. 1998; Fernández-Cruz et al. 2010). K růstu plísní a následné produkci PAT běžně dochází, když je poškozen povrch plodu, ačkoli přítomnost PAT v jinak vizuálně zdravém plodu nelze zcela podceňovat (Malir a Ostry 2003).

Bylo prokázáno, že PAT má neurotoxické, imunotoxické, hepatotoxické, genotoxické

a nefrotoxické účinky (Saleh a Goktepe 2019; Singh a Kumari 2022). Jeho subakutní a chronická toxicita u lidí může mít imunosupresivní a teratogenní účinky (Mandappa et al. 2018), dále způsobuje gastrointestinální potíže, které se projevují zvracením a ulcerací (Altomare et al. 2021). Posouzení zdravotního rizika způsobeného konzumací potravin obsahujících PAT vedlo mnoho zemí k vytvoření legislativy stanovující maximální povolené úrovně jeho množství v potravinách (Puel et al. 2010). V Evropské unii je PAT regulován nařízením Komise 2023/915, ve znění pozdějších předpisů (European Commission 2023). Maximální limity PAT pro jednotlivé potraviny jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 4: Maximální limity patulinu v potravinách

Komodita	Maximální limit PAT [ng/g]	Poznámky
Ovocné šťávy, ovocné šťávy z koncentrátu, koncentrované ovocné šťávy a ovocné nektary	50	V případě koncentrované ovocné šťávy se maximální limit vztahuje na rekonstituovanou šťávu
Lihoviny, jablečné víno a jiné fermentované nápoje získané z jablek nebo obsahující jablečnou šťávu	50	
Pevné výrobky z jablek uváděné na trh pro konečného spotřebitele, kromě jablečné šťávy a pevných výrobků z jablek pro kojence a malé děti, takto označené a uváděné na trh a dětských příkrmů	25	Včetně jablečného kompotu a jablečného pyré
Jablečná šťáva a pevné výrobky z jablek pro kojence a malé děti, takto označené a uváděné na trh	10	Včetně jablečného kompotu a jablečného pyré. Maximální limit se vztahuje na výrobky připravené k použití (uváděné na trh jako takové nebo rekonstituované podle pokynů výrobce).
Dětské příkrmly	10	Maximální limit se vztahuje na výrobky připravené k použití (uváděné na trh jako takové nebo rekonstituované podle pokynů výrobce).

(European Commission 2023)

Studii, které by se zabývaly čistě obsahem PAT v průmyslově nepoškozených

plodech, které by se daly použít pro potravinářskou produkci, je velmi málo. Tab. 5 uvádí souhrn těchto relevantních studií.

Tab. 5: Souhrn studií zabývajících se stanovením patulinu v přirozeně kontaminovaných jablkách

Země	n ¹	n ⁺²	n+ [%] ³	Průměr [ng/g]	Rozsah[ng/g] ⁴	Metoda	Reference
Čína	50	49	98	4,7	LOD ⁵ (0,3)–9,9	HPLC-DAD ⁶	Zhao et al. 2024
Čína	32	1	3,1	3,4	LOQ ⁷ (2,0)–3,4	LC-MS/MS ⁸	Guan et al. 2025
Itálie	22	10	45	11,19	LOQ (0,5)–81,7	HPLC-UV ⁹	Piemontese et al. 2005
Katar	12	5	42	3,71	nd–17,3	UHPLC-MS/QqQ ¹⁰	Hammami et al. 2017
Nizozemsko	5	0	0	-	-	HPLC-DAD	Boonzaaijer et al. 2005
Pákistán	36	24	67	258,6	LOD (0,04)–630,8	HPLC-UV	Iqbal et al. 2018
Pákistán	98	57	58	NA	LOD (0,16)–269,40	HPLC-UV	Iqbal et al. 2024

¹ Počet vzorků

² Počet pozitivních vzorků

³ Procentuální podíl pozitivních vzorků

⁴ Rozsah vzhledem k dostupným informacím

⁵ Limit detekce

⁶ Vysokoučinná kapalinová chromatografie s detektorem diodového pole

⁷ Limit kvantifikace

⁸ Vysokoučinná kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií

⁹ Vysokoučinná kapalinová chromatografie UV detekcí

¹⁰ Ultra vysokoučinná kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií s trojitým kvadrupólem

Obsah PAT v plodech jabloně nebyl nikdy zkoumán v souvislosti s výskytem nektriové rakoviny. Jedinou zmínkou na toto téma je hypotéza v publikaci Kabak et al. (2006), kde je uvedeno, že obsah PAT v plodech by mohl nepřímou souviset s přítomností rakoviny a mumifikovaných plodů v sadech a přímo souviset s výskytem různých druhů hnilob plodů.

8 Účinnost vybraných opatření a vliv na obsah patulinu

8.1 *In vitro* pokusy

Pro testování účinnosti fungicidů bylo získáno celkem 10 izolátů houby *N. ditissima* pocházejících z okresů Rychnov nad Kněžnou, Jičín, Náchod a Tachov. Izoláty byly odebrány z jabloní odrůd 'Idared', 'Galaval', 'Gala' 'Fendeca', 'Gala Schniga' a 'Golden Delicious'. Všechny izoláty vykazovaly schopnost produkce mikrokonidií a/nebo makrokonidií v agarové kultuře.

Vlastní testy účinnosti fungicidů byly prováděny na Petriho miskách o průměru 9 cm s živným médiem potato dextrose agar (PDA). Do média sterilizovaného v autoklávu (121 °C, 20 minut) byly po ochlazení na přibližně 45 °C přidány testované fungicidy (Tab. 6). Použité koncentrace účinných látek odpovídaly doporučeným hektarovým dávkám. Zařazené přípravky reprezentovaly různé fungicidní skupiny, lišily se složením účinných látek a mechanismem účinku.

Tab. 6: Seznam přípravků testovaných *in vitro* proti *N. ditissima*

Přípravek	Účinná látka a její obsah v přípravku	Použité koncentrace v PDA ¹ médiu	Indikace
Airone SC	hydroxid měďnatý 237 g/l	3 g/l	bakteriální spála růžovitých
	oxichlorid měďnatý 239 g/l		
Algisure	fosfonáty draselné 342 g/l	4,5 ml/l	strupovitost
Delan 700 WG	dithianon 700 g/l	0,75 g/l	strupovitost
Delan Pro	dithianon 125 g/l	2,5 ml/l	strupovitost
	fosfonáty draselné 561 g/l		
Belanty	mefentriflukonazol 75 g/l	2 ml/l	strupovitost, padlí, stemfylviová skvrnitost hrušně
Score 250 EC	difenokonazol 250 g/l	2 ml/l	strupovitost

Přípravek	Účinná látka a její obsah v přípravku	Použité koncentrace v PDA ¹ médiu	Indikace
Captan 80 WG	kaptan 800 g/l	2,1 g/l	strupovitost
Defender Dry	hydroxid měďnatý 537 g/l	3 g/l	nektriová rakovina
Defender	hydroxid měďnatý 383,8 g/l	3 ml/l	nektriová rakovina
Flowbrix	oxichlorid měďnatý 638 g/l	3,5 ml/l	korové nekrózy
Luna Experience	fluopyram 200 g/l tebukonazol 200 g/l	0,5 ml/l	strupovitost, padlí, nektriová rakovina
Horizon 250 EW	tebukonazol 250 g/l	0,75 ml/l	moniliová spála a hniloba
Luna Privilege	fluopyram 500 g/l	0,2 ml/l	skládkové choroby
Hydroxid vápenatý	hydroxid vápenatý 24%	63 ml/l	nektriová rakovina

¹potato dextrose agar

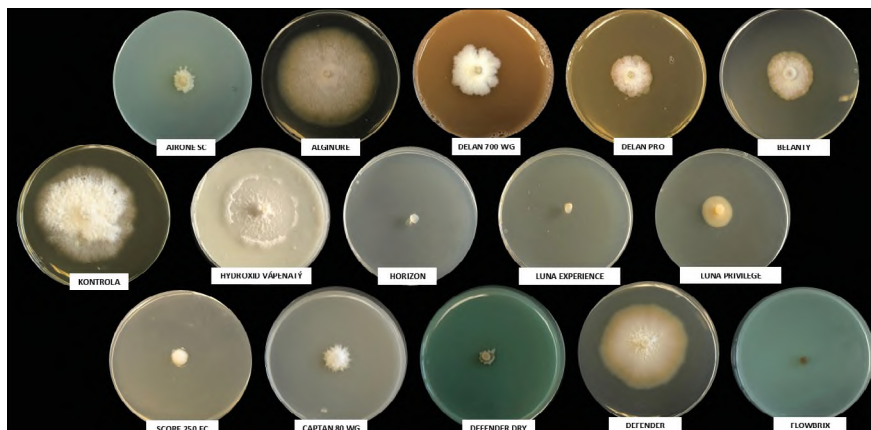
Do středu každé Petriho misky byl naočkován jeden výsek mycelia o průměru 5 mm, odebraný z aktivního okraje kolonie izolátu *N. ditissima*. Testy byly provedeny pro každý izolát v 15 opakováních na variantu, včetně neošetřené kontroly. Rozočkované kolonie byly kultivovány ve fytotronu při teplotě 20 ± 1 °C a fotoperiodě 12 hodin světla / 12 hodin tmy.

Výhodnocení pokusu bylo provedeno 14 dní po zahájení kultivace. Měřeným parametrem byla průměrná velikost kolonie (v mm), která byla porovnána s kontrolní variantou. Byla provedena dvě na sebe kolmá měření velikostí kolonií, ze kterých byl následně vypočítán relativní růst RG (%) pro každou variantu.

$$RG(\%) = \frac{\text{průměrná velikost růstu kolonií ve variantě (mm)}}{\text{průměrná velikost růstu kolonií v kontrole (mm)}} \times 100$$

Účinnost přípravků proti *N. ditissima* na rychlosti růstu kolonií byla vyhodnocena dle Abbotta (1925) porovnáním s kontrolou rostoucí na PDA médiu bez fungicidu.

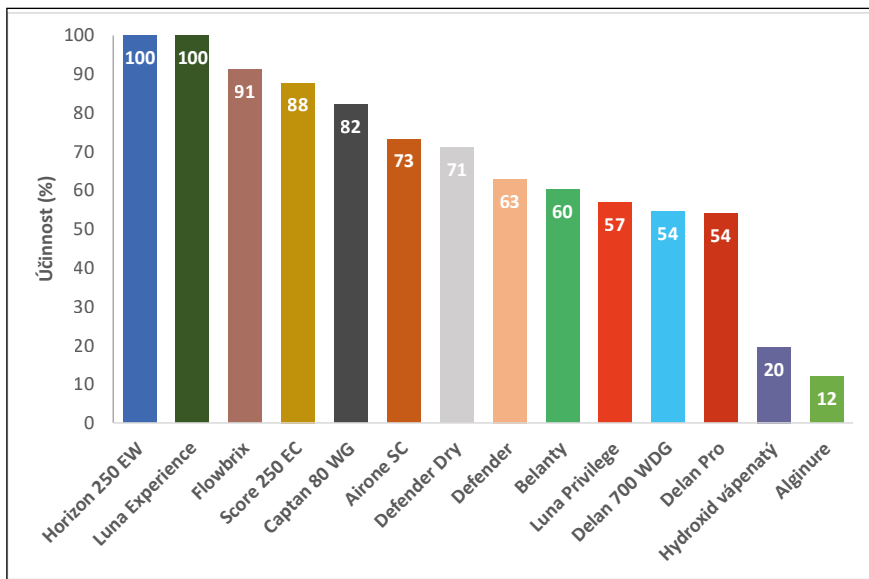
Mezi testovanými přípravky byly zaznamenány výrazné rozdíly v účinnosti – zatímco některé fungicidy dokázaly růst houby zcela zastavit, jiné vykázaly pouze částečný efekt. Ukázkou inhibice růstu *N. ditissima* na PDA médiu s přidáním fungicidy znázorňuje Obr. 10.



Obr. 10: Růst kolonií *N. ditissima* na PDA médiu s přidavkem fungicidů

Z deseti testovaných kmenů *N. ditissima* proti čtrnácti fungicidům vykázaly nejvyšší účinnost systémové přípravky Horizon 250 EW a Luna Experience, které u všech izolátů dosáhly 100% potlačení růstu (Graf 1). Velmi dobrých výsledků dosáhl také kontaktní přípravek Flowbrix, jehož účinnosti byla v průměru 91 %. Z kontaktních přípravků byl účinný také Captan 80 WG. Až na přípravky Alginure a hydroxid vápenatý, které *in vitro* nevykazovaly prakticky žádný účinek, měly všechny ostatní přípravky (Airone SC, Defender Dry, Defender, Belanty, Luna Privilege, Delan 700 WDG a Delan Pro) účinnost nad 50 %.

Testy *in vitro* jsou v mnoha případech považovány spíše za orientační, neboť v podmínkách *in vivo* se může výsledná účinnost fungicidních látek lišit ve vztahu k mechanismu jejich účinku. To platí v našem případě například pro přípravek Alginure, respektive fosfonáty draselné obecně, u nichž se uvádí, že mají systémický fungicidní účinek zprostředkovaný přes indukci hostitelské obranyschopnosti, případně přímým fungicidním účinkem metabolitu kyseliny fosfonové, což ale nemůže být *in vitro* manifestováno.



Graf 1: Účinnost přípravků na růst kolonií *N. ditissima* v *in vitro* podmínkách

Hydroxid vápenatý prokázal v našich *in vitro* testech pouze zanedbatelnou účinnost proti *N. ditissima*. V praxi je však tato látka doporučována jako ekonomické a ekologické řešení této choroby. V tříletém polním pokusu snížila vznik nových nekróz o 57, 35 a 60 % (Heijne et al. 2005; Scheper et al. 2016).

Wesche a Weber (2023) testovali *in vitro* citlivost 43 izolátů *N. ditissima* k jiným fungicidním účinným látkám než ty, které byly testovány ve VŠÚO Holovousy. Jejich studie prokázala vysokou citlivost všech izolátů k fludioxonilu (v ČR např. Pomax, Stampa) a také výraznou citlivost k trifloxystrobinu (v ČR např. Zato 50 WG). Naopak u cyprodinilu (v ČR např. Vedette registrovanému proti strupovitosti jabloně), thiofanát-methylu (není v ČR povoleno), fluopyramu (v ČR např. Luna Experience) a dodinu (není v ČR povoleno) byla zjištěna nižší účinnost, přičemž některé izoláty vykazovaly zvýšenou toleranci (Wesche a Weber 2023).

8.2 *Polní pokus*

8.2.1 Lokalita a charakteristika výsadby

Pro ověření účinnosti kombinací agrotechnických a chemických opatření zaměřených na potlačení šíření původce nektriové rakoviny byl založen polní pokus v produkční výsadbě profesionálního pěstitele z Náchodska (Královehradecký kraj). Pokus byl umístěn do okrajové části výsadby jabloní odrůdy 'Gala Fendeca' (podnož M9, vysazeno v roce 2016, nadmořská výška 340 m.n.m.), v lokalitě s dlouhodobým výskytem této choroby. Lokalita se nacházela v mírném svahu, sousedila z větší části se zbytkem sadu a z části s lesním porostem.

8.2.2 Aplikace, zásahy a hodnocení

Každá pokusná varianta obsahovala 4 opakování, přičemž jedno opakování tvořily tři stromy. Rozmístění opakování bylo provedeno náhodně. Do pokusu byly zařazeny stromy s patrnými symptomy nektriových nektróz.

Pro chemická ošetření výsadby byly zvoleny přípravky obsahující hydroxid měďnatý, oxichlorid měďnatý a jejich kombinaci, dále hydroxid vápenatý, chloran sodný a hydroxid sodný používaný k zamazávání ran. Do pokusu byla rovněž zařazena kombinace látek se stimulačním účinkem na přirozenou obranyschopnost rostlin (varianta V10) – Tab. 7. Některé varianty zahrnovaly opatření v podobě řezu, který byl proveden bezprostředně před předjarním chemickým ošetřením. Při tomto opatření byly odstraněny všechny rakoviny na větvích a byl vyříznut povrch rakovin na hlavním kmeni až do zdravého dřeva.

Během vegetační sezóny byla celá výsadba standardně ošetřována proti strupovitosti jabloně a padlí, aby byl zajištěn běžný zdravotní stav porostu.

Tab. 7: Seznam přípravků testovaných v polním pokusu

Varianta	Účinná látka	Obsah úč. l. [g/l]	Dávka na ha [l/ha; kg/ha]
V1 Kontrola bez řezu	--	--	--
V2 Kontrola + řez	--	--	--
V3 Champion bez řezu	Hydroxid měďnatý	768	3
V4 Champion + řez	Hydroxid měďnatý	768	3
V5 Airone + řez	Hydroxid měďnatý	208	3
	Oxichlorid měďnatý	229	
V6 Hydroxid vápenatý + řez	Hydroxid vápenatý	24%	63
V7 Flowbrix + řez	Oxichlorid měďnatý	638	3,5
V8 Savo + řez	Chlornan sodný	4,7%	15 l/250 l vody
V9 Hydroxid sodný + řez	Hydroxid sodný	100%	10%
V10 Fyto-fitness + řez	Kombinace sloučenin jodu, stopových prvků, NPK ¹ hnojiv a huminových látek		

¹NPK - hnojivo obsahující dusík, fosfor, draslík

Aplikace přípravků proti nektriové rakovině byly prováděny v několika termínech – během podzimního opadu listů, v zimních obdobích s vyššími teplotami, a dále v předjaří po provedení řezu (Tab. 8). U varianty V10, která cílila na zvýšení obratyschopnosti rostliny, byla aplikace provedena během vegetačního období.

Tab. 8: Přehled provedených pokusných ošetření v komerčním sadu

Typ ošetření	Varianty	Termín ošetření
podzimní ošetření	V1-V8	listopad 2023
zimní ošetření	V1-V8	únor 2024
předjarní ošetření + řez	V1-V8	začátek března 2024
jarní ošetření	V9 a V10	konec března 2024

Typ ošetření	Varianty	Termín ošetření
jarní ošetření	V10	duben 2024
jarní ošetření	V10	květen 2024
ošetření v púlce zrání	V10	červen 2024
podzimní ošetření na listy	V10	září 2024
podzimní ošetření	V1-V8	listopad 2024
zimní ošetření	V1-V8	leden 2025
řez	V1-V10	březen 2025
předjarní ošetření	V1-V10	březen 2025
umělá inokulace	V1-V10	konec března 2025
jarní ošetření	V10	duben 2025 a konec května

Pro hodnocení napadení *N. ditissima* byla přizpůsobena metodika EPPO PP 1/123(2), podle které je stanoven počet rakovinných lézí na jednoletém dřevu v době rašení následující jaro po ošetření, následující podzim při opadu listů a při rašení ve třetím roce od prvního ošetření. V polním pokusu byl hodnocen výskyt rakovinných lézí na jednoletých výhonech při rašení a po sklizni 2024 a při rašení v roce 2025. Vzhledem k nulovému výskytu lézí v kontrolním variantě při rašení v roce 2025 byla provedena navíc umělá inokulace patogenem ve všech variantách. Inokulum bylo získáno smytím spor z čerstvě odebraných lézí rakoviny jabloně v lednu 2025 (koncentrace inokula: makrokonidie $1,65 \times 10^4$, askospory $0,85 \times 10^4$) a uchováno v $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Aplikace inokula byla provedena 25.03.2025 ručním postřikovačem přímo na označené větve (3 větve/strom), (Obr. 11) a výskyt lézí byl hodnocen znovu v červenci 2025. Pro stanovení obsahu mykotoxinu PAT v plodech měly být v roce 2024 odebrány vzorky ovoce z testovaných variant. Kvůli extrémním jarním mrazům došlo na vybrané lokalitě ke ztrátě více jak 90 % plodů. Zbylé plody, které byly sklizeny 28.08.2024 byly často poškozené mrazem. Dále byly plody skladovány v chlazeném skladu při teplotě $3\text{ }^\circ\text{C}$ až do doby chemické analýzy PAT.



Obr. 11: Umělá infekce jabloní patogenem *N. ditissima*

8.2.3 Stanovení patulinu

- **Odběr a skladování vzorků**

Pro přípravu a validaci metody stanovení PAT bylo použito 57 kusů jablek odrůdy 'Gala' od VŠÚO Holovousy s.r.o. ze sklizně 2023. Tato jablka byla skladována 159 dní. Jablka byla laboratoří přijata v únoru 2024. Před analýzou byly vzorky skladovány v lednici při teplotě $4 \pm 0,5$ °C po dobu maximálně jednoho měsíce. Vzorky nebyly před přípravou k analýze nijak ošetřeny ani omyty.

Jablka odebraná pro testování koncentrace PAT v polním pokusu v roce 2024 byla skladována po dobu 161 dní. Pro následnou analýzu byla vybrána jablka, která splňují parametry pro jejich další potravinářské zpracování, tedy bez otlaků, viditelné hniloby či zaplísnění. Pro každou z 10 variant (viz Tab. 7 v kapitole 8.2.2) bylo testováno 100 vzorků, s výjimkou jablek varianty č. 10, u které bylo možné analyzovat pouze 80 vzorků. Těchto 980 jablek bylo zpracováno od ledna do dubna 2025. Všechny varianty byly v roce 2024 konvenčně ošetřovány přípravky na ochranu

rostlin podle tlaku chorob a škůdců dle zásad integrované produkce (tj. přípravky, které byly v tomto roce povoleny).

- **Chemikálie a zařízení**

Methanol, acetonitril (HiPerSolv CHROMANORM), ledová kyselina octová, diethylether, ethylacetát (AnalaR NORMAPUR) byly zakoupeny od VWR (Stříbrná Skalice, Česká republika). Dekontaminační koncentrovaný roztok RBS® 35 byl zakoupen od P-LAB a.s. (Praha, Česká republika) a vyroben Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Německo). Všechny tyto chemikálie byly skladovány při teplotě $21 \pm 0,5$ °C. Standard PAT (10 mg, >98%) byl zakoupen od VWR (Stříbrná Skalice, Česká republika), vyroben Merck Life Science spol. s r.o. (Praha, Česká republika). Pektináza (kód produktu: RBRP129) a kolonky EASIMIP™ Patulin (kód produktu: RBRP250B) zakoupeny od Jemo Trading spol. s r.o., Profood (Bratislava, Slovensko), vyrobeny R-Biopharm (Darmstadt, Německo). Filtrační papír KA-2M zakoupen a vyroben společností Papírna Perštejn s r.o. (Perštejn, Česká republika). Nylonové stříkačkové filtry (13 mm, 0,22 µm) byly zakoupeny od Altium International s.r.o. (Praha, Česká republika), vyrobeny Labstore (Inverness, Highland, Spojené království).

Analytické váhy KERN EW1500–2 zakoupeny od Fisher Scientific, spol. s r.o. (Pardubice, Česká republika), vyrobeny KERN & SOHN GmbH (Balingen, Německo). Výrobek ultračisté vody MicroPure™ UV/UF zakoupen od Fisher Scientific, spol. s r.o. (Pardubice, Česká republika), vyroben Thermo Fisher Scientific (Atvidaberg, Švédsko). Automatické pipety Gilson PIPETMAN (10-100 µl, 100-1000 µl, 1-10 ml) zakoupeny od společnosti Fisher Scientific, spol. s r.o. (Pardubice, Česká republika), vyrobeny společností Gilson™ (Berlín, Německo). Ultra-Turrax T 50 digital zakoupen od Fisher Scientific, spol. s r.o. (Pardubice, Česká republika), vyroben IKA®-Werke GmbH & Co. KG (Staufen, Německo). Třepačka Reax Multi zakoupena od Fisher Scientific, spol. s r.o. (Pardubice, Česká republika), vyrobena Heidolph Instruments GmbH & Co. KG (Schwabach, Německo). Filtrační aparatura dle Witta spojená s nučí s fritou S3 zakoupena od Fisher Scientific, spol. s r.o. (Pardubice, Česká republika), vyrobena KAVALIERGLASS (Praha, Česká republika). Centrifuga MPW-351e zakoupena od UNIMED s.r.o. (Praha, Česká republika), vyrobena společností MPW MED.Instruments (Varšava, Polsko). Vakuový manifold BAKER spe-12G

Column Processor zakoupen od VWR (Stříbrná Skalice, Česká republika), vyroben Bakerbond® (Radnor, USA) a Visiprep™ 24 zakoupen od VWR (Stříbrná Skalice, Česká republika), vyroben Merck Life Science spol. s r.o. (Praha, Česká republika). Vortex 3 zakoupen od Fisher Scientific, spol. s r.o. (Pardubice, Česká republika), vyroben IKA®-Werke GmbH & Co. KG (Staufen, Německo). Koncentrátor vzorků EVATERM zakoupen od V. Hanuše (Brno, Česká republika), vyroben společností Hangzhou MIU Instruments Co., Ltd. (Chang-čou, Če-ťiang, Čína). HPLC systém, Agilent 1260 Infinity II s 1260 Infinity II DAD G7115A zakoupen od HPST s.r.o. (Praha, Česká republika), vyroben Agilent (Santa Clara, CA, USA).

- **Standardy a příprava roztoků**

Zásobní roztok patulinu (200 µg/ml)

Do původní nádoby obsahující 10 mg PAT byly přidány 3 ml ethylacetátu, které byly následně kvantitativně převedeny do 50ml odměrné baňky. Baňka byla doplněna po rysku ethylacetátem. Zásobní roztok PAT byl skladován při teplotě $-25 \pm 0,5$ °C.

Pracovní roztok PAT (10 µg/ml)

Do 50ml odměrné baňky bylo odměřeno 2,5 ml zásobního roztoku PAT, který byl následně odpařen pod proudem dusíku při 40 °C. Reziduum bylo poté ihned rozpuštěno v malém množství ethanolu. Po rozpuštění byla baňka doplněna ethanolem po rysku. Pracovní roztok PAT byl skladován při $4 \pm 0,5$ °C.

Kalibrační standardy

Základní standardní roztok (250 ppb) byl připraven smícháním 100 µl pracovního standardu PAT a 4 ml 0,1% ledové kyseliny octové. Ostatní standardní roztoky (1,0; 2,5; 5,0; 12,5; 25; 50; 125 ppb) byly připraveny úpravou objemu nástřiku na dávkovacím zařízení. Slepý vzorek sestávající z mobilní fáze a všechny kalibrační roztoky se každý den připravovaly čerstvé.

Všechny níže uvedené roztoky byly připraveny v ultračisté vodě (dále jen „voda“), s výjimkou 2% RBS-35. Rezistivita vody byla $>18,2$ MΩ.cm při 25 °C $\pm 0,5$ °C.

Mobilní fáze

Mobilní fáze byla složena z vody, acetonitrilu a 70% kyseliny chloristé v poměru 95 : 5 : 0,1 (v/v/v). Mobilní fáze byla připravována denně čerstvá.

1% kyselina octová

Do 100ml baňky byl odměřen 1 ml ledové kyseliny octové. Baňka byla doplněna vodou po rysku.

0,1% kyselina octová

Do 100ml baňky bylo odměřeno 100 μ l ledové kyseliny octové. Baňka byla doplněna vodou po rysku.

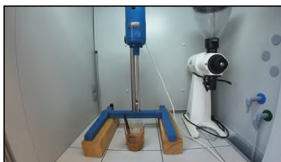
• Úprava vzorku před analýzou PAT

Každé jablko bylo nejprve zváženo, poté nakrájeno a důkladně homogenizováno. Následně bylo 10 g homogenizovaného vzorku naváženo do 50 ml centrifugační zkumavky, do níž bylo přidáno 130 μ l pektinázy a 10 ml vody. Vzorky byly třepány 10 sekund. Poté byly vzorky inkubovány přes noc při teplotě $21 \pm 0,5$ °C ve tmě. Vzorky byly třepány na třepače 3 minuty a centrifugovány (2608 RCF) 10 minut. Vzorky byly filtrovány přes filtrační aparaturu dle Witta spojenou s nučí s fritou S3 a patronou vyrobenou z filtračního papíru KA-2M. Kolonky byly za pomoci vakuového manifoldu před použitím kondicionovány 2 ml 100% acetonitrilu (rychlost 1 ml/min, tj. přibližně 1 kapka/s). Kolonkami byl stejným způsobem prosát 1 ml vody. Následně bylo prosáto 5 ml filtrovaného vzorku (rychlost 0,5 ml/min, tj. přibližně 1 kapka/2 s). Poté byly kolonky pročištěny 4 ml 1% ledové kyseliny octové (1 kapka/s) a 4 ml vody (1 kapka/s). Dále bylo kolonkami prosáto 500 μ l 100% diethyletheru (1 kapka/s). Kolonky byly poté krátce prosáty vzduchem. Eluce PAT byla provedena 2 ml 100% ethylacetátu do 4ml skleněné vialky (1 kapka/s). Získané eluáty byly převedeny do stejných označených kolonek a znovu prosáty. Tento proces byl proveden čtyřikrát. Nakonec byly kolonky znovu prosáty vzduchem, aby se zachytil veškerý zbývající eluát. Eluáty byly okyseleny přidáním 10 μ l 100% ledové kyseliny octové, následně byly vzorky třepány po dobu 20 sekund a odpařeny pod proudem dusíku při 40 °C. Vialky musely zůstat mírně orosené, aby se zabránilo degradaci PAT. Ihned poté byla rezidua rozpuštěna v 1 ml 0,1% kyseliny octové. Vzorky byly třepány

3 minuty a poté přefiltrovány do HPLC vialek pomocí nylonových stříkačkových filtrů (13 mm; 0,22 μm). Vzorky byly poté umístěny do automatického dávkovače vzorků připojeného k HPLC-DAD. Postup je znázorněn na obr. 12.



nakrájení vzorku



homogenizace vzorku



10 g vzorku + 130 μl pektinázy
+ 10 ml vody,
inkubace (21±0,5 °C, přes noc)



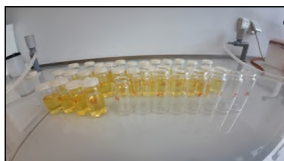
třepání (3 min) a centrifugace
(2608 R608, 10 min)



supernatant po centrifugaci



filtrace



filtráty



kondicionace MIP kolonek
(2 ml acetonitrilu, 1 ml vody)
následovaná prosátím 5 ml
filtrátu



čištění MIP kolonek 4 ml 0,1%
kyseliny octové, 4 ml vody
a 500 μl diethyletheru



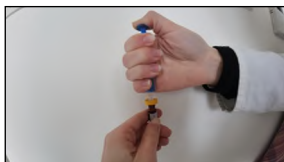
eluce patulinu 2 ml 100% ethy-
lacetátu, přidání 10 μl kyseliny
octové



odpařování eluátu pod proudem
dušiku při 40 °C



rozpuštění odparku v 1 ml 0,1%
kyseliny octové, třepání (3 min)



filtrace vzorku do HPLC vialky



analýza PAT pomocí
HPLC_DAD



analýza PAT pomocí
HPLC_DAD

Obr. 12: Zpracování vzorku před analýzou patulinu

Analýza PAT pomocí HPLC-DAD – podmínky a validační parametry

PAT byl analyzován metodou HPLC-DAD. Chromatografické podmínky jsou uvedeny v Tab. 9.

Tab. 9: Podmínky chromatografického stanovení patulinu v jablkách

Analytická kolona	ARION® Plus HPLC column C18; 5,0 µm; 150×4,6 mm
Předkolona	ARION® 5 mm for Guard System RP; 5,0 µm; 5×4 mm
Dávkovač	1260 Vialsampler G7129C
Pumpa	1260 Flexible Pump G7104C
Mobilní fáze	voda: acetonitril: 70% kyselina chloristá, 95 : 5 : 0.1 v/v/v
Nástřik	100 µl
Průtok	1 ml/min
Teplota kolony	30 °C
Detektor	1260 DAD WR G7115A; 276 nm
Software	Agilent OpenLab data

Validační parametry metody jsou uvedeny v Tab. 10.

Tab. 10: Validační parametry HPLC-DAD

Kalibrační rozsah [ppb]	1-250
Korelační koeficient	0,9999
QC koeficient¹	0,22

LOD/LOQ [ng/g]²	0,3/1,0
Opakovatelnost [RSD, %]³	1,07
Dlouhodobá přesnost [RSD, %]⁴	3,66
Výtěžnost ± SD [%]⁵	76,85 ± 3,15
Retenční čas ± SD [min]⁶	4,90± 0,05
Retenční čas [RSD, %]	1,12
Asymetrie píku 10 %⁷	1,04
Opakovatelnost plochy píku [RSD, %]⁸	5,62; 1,92; 1,75

¹ Maximální povolený limit pro QC koeficient byl stanoven na 3.

² Limit detekce (LOD) a kvantifikace (LOQ) byly stanoveny na 0,3 ppb a 1,0 ppb podle IUPAC: $LOD = \frac{3 \cdot \sigma}{b}$ a $LOQ = \frac{10 \cdot \sigma}{b}$, kde „ σ “ je směrodatná odchylka ploch 10 píků nejnižšího kalibračního bodu 1,0 ng/ml a „ b “ je sklon kalibrační křivky.

³ Opakovatelnost byla vypočtena jako průměrná relativní směrodatná odchylka deseti měření každé standardní hladiny při koncentracích 2,5; 12,5 a 50 ppb.

⁴ Dlouhodobá přesnost byla vypočtena ze tří standardních hladin při koncentracích 2,5; 12,5 a 50 ppb v šesti různých dnech.

⁵ Výtěžnost metody byla stanovena za použití vzorků s přídavkem PAT v koncentracích 25 a 125 ppb, které byly přidány: a) do matrice před extrakcí, b) do eluátu po extrakci. Každá koncentrace byla připravena a měřena třikrát: tj. bylo analyzováno 12 vzorků s přídavkem PAT, aby se stanovila průměrná výtěžnost. Dále byl připraven šestkrát vzorek bez přídavku PAT a byl označen jako „slepý“ a jeho průměrná koncentrace PAT byla odečtena od vzorků s přídavkem PAT (\pm směrodatná odchylka stanovení výtěžnosti).

⁶ Retenční čas byl vypočítán ze všech vzorků nad LOD.

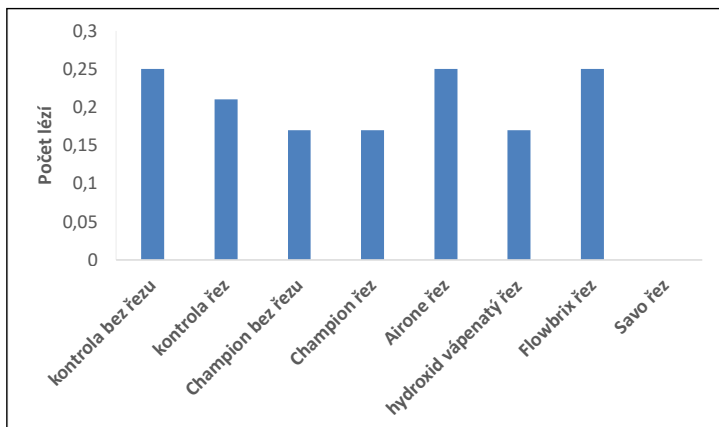
⁷ Asymetrie píku v 10 % výšky byla vypočítána pomocí softwaru Agilent OpenLab CDS 2.5 ze tří standardních koncentračních úrovní 2,5; 12,5 a 50 ppb v šesti různých dnech.

⁸ Hodnoty RSD byly vypočítány samostatně pro každou ze tří standardních koncentračních úrovní 2,5; 12,5 a 50 ppb měřených v šesti různých dnech.

8.2.4 Výsledky a diskuze

● **Výsledky – počet rakovinných lézí**

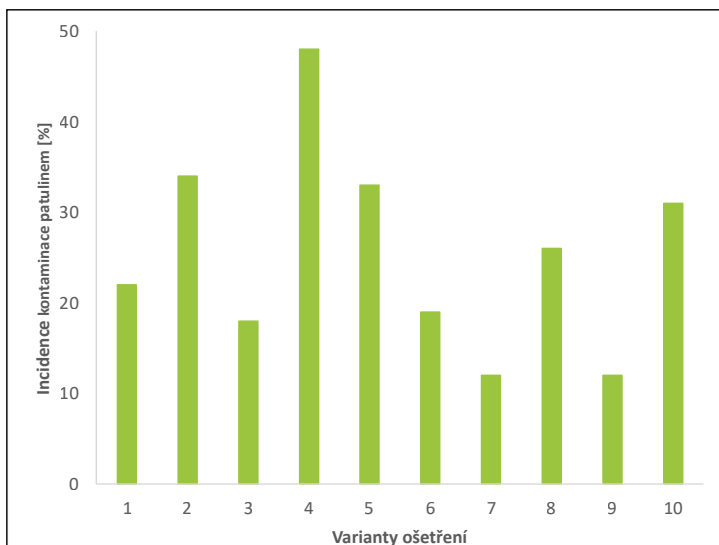
Počet lézí na jednoletých výhonech byl v roce 2024 velmi nízký (Graf 2). V roce 2025 byly léze zjištěny pouze v jednotkách případů a výskyt infekcí se nezvýšil ani po umělé inokulaci. Kvůli nízké míře incidence infekce v kontrolní variantě nemohla být vypočtena účinnost provedených ošetření.



Graf 2: Počet lézí na strom při rašení 2024

- **Výsledky – obsahu patulinu v plodech**

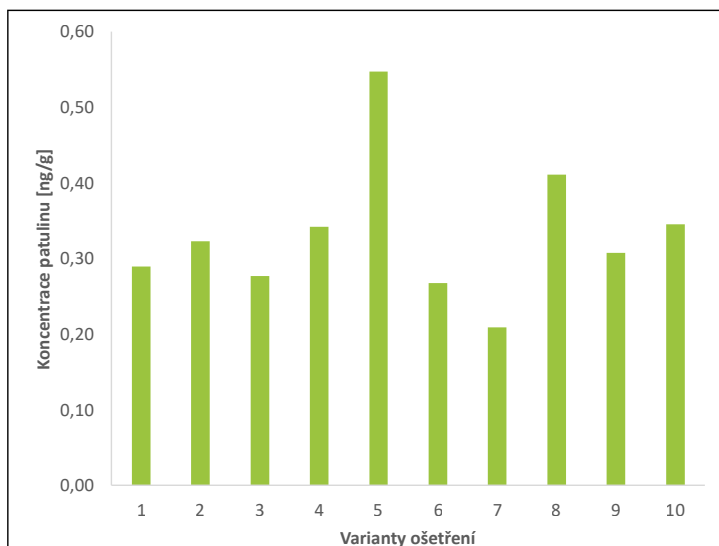
Výsledky obsahovaly vysoký podíl hodnot pod limitem detekce (LOD) a většina ostatních hodnot se pohybovala mezi LOD a limitem kvantifikace (LOQ), proto bylo nutné použít spíše kvalitativní než kvantitativní hodnocení. Započítány byly tedy výsledky větší nebo rovny LOD. Graf 3 tedy ukazuje incidenci kontaminace jablek PAT pro každý typ vybraného ošetření.



Graf 3: Výskyt patulinu v plodech ošetřených jablek

Pozn: typy ošetření: 1 - Kontrola; 2 - Kontrola v kombinaci s řezem; 3 - Champion; 4 - Champion v kombinaci s řezem; 5 - Airone SC v kombinaci s řezem; 6 - Hydroxid vápenatý v kombinaci s řezem; 7 - Flowbrix v kombinaci s řezem; 8 - Savo v kombinaci s řezem; 9 - Hydroxid sodný v kombinaci s řezem; 10 - Fyto fitness v kombinaci s řezem

Z Grafu 3 by se mohlo zdát, že se výsledky od sebe výrazně liší. Na druhou stranu, pro získání kvantitativních výsledků, pro co nejpřesnější kvantifikovaný odhad, je nejvhodnější substituční metoda s využitím přístupu “*middle bound*”. Přístupy s dolní (*lower*) nebo horní hranicí (*upper bound*) by výsledky extrémně podhodnotily nebo nadhodnotily. Tento přístup je znázorněn na Grafu 4. Vzhledem k tomu, že se jedná o velmi nízké koncentrace, rozdíly jsou tak naprosto zanedbatelné.



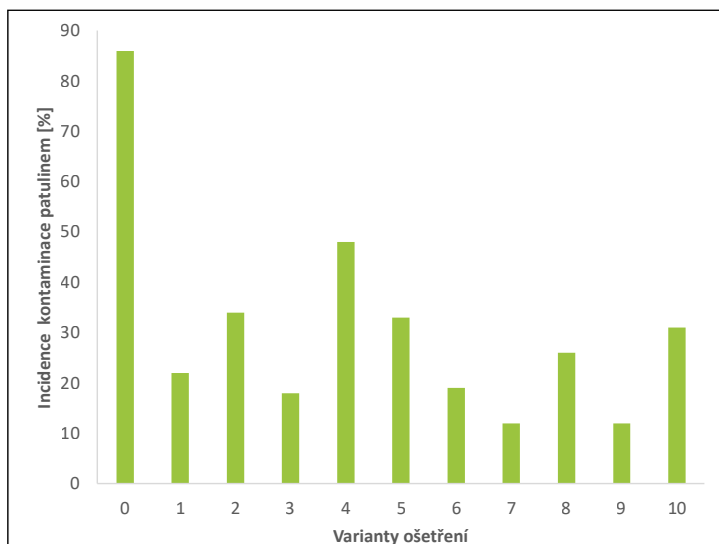
Graf 4: Průměrné koncentrace patulinu v plodech ošetřených jabloní

Pozn: typy ošetření: 1 - Kontrola; 2 - Kontrola v kombinaci s řezem; 3 - Champion; 4 - Champion v kombinaci s řezem; 5 - Airone SC v kombinaci s řezem; 6 - Hydroxid vápenatý v kombinaci s řezem; 7 - Flowbrix v kombinaci s řezem; 8 - Savo v kombinaci s řezem; 9 - Hydroxid sodný v kombinaci s řezem; 10 - Fyto fitness v kombinaci s řezem

Pro polní pokus byla vybrána lokalita s hojným výskytem rakoviny jabloně na hlavním kmenu. Stromy byly ošetřovány různými fungicidními přípravky a řezem. Pravděpodobně nízká míra infekce však znemožnila vyhodnotit účinnost použitých ošetření. Hypotézu, z publikace Kabak et al. (2006), související s vlivem výskytu nektriové rakoviny jabloní na obsah PAT v plodech, nelze definitivně potvrdit.

Účinky ochranných ošetření proti *N. ditissima*, které se v minulosti v praxi osvědčily, např. odstraňování rakovinných lézí řezem, se naopak mohou zdát být spíše stimuluující v případě výskytu PAT v plodech. Vzhledem k extrémně nízkým koncentracím PAT tj. pod LOD nebo LOQ, lze však spíše konstatovat, že metody ochrany proti *N. ditissima* neměly na výskyt PAT v této studii žádný vliv.

To může být způsobeno dobou aplikace ochranných ošetření, která vzhledem k povaze *N. ditissima* musí být prováděna v posklizňovém a zimním období, zatímco producenti PAT, jak je známo z literatury, jsou nejlépe zasažitelní v období vegetativního růstu. Dalším možným důvodem, který by mohl zkreslit data, jsou nepochybně extrémní jarní mrazy v roce 2024, které způsobily velmi nízkou úrodu jablek a jistě měly dopad i na producenty PAT. Což je znázorněno v Grafu 5, kde jablka ze sezóny 2023, kdy se extrémní jarní mrazy nevyskytly, byla předem analyzována pro srovnání jako varianta 0, která byla ošetřena stejnou metodou jako varianta 1.



Graf 5: Výskyt patulinu v plodech ošetřených jabloní v porovnání s r. 2023

Pozn: typy ošetření: 0 - Kontrola 2023; 1 - Kontrola 2024; 2 - Kontrola v kombinaci s řezem; 3 - Champion; 4 - Champion v kombinaci s řezem, 5 - Airone SC v kombinaci s řezem; 6 - Hydroxid vápenatý v kombinaci s řezem; 7 - Flowbrix v kombinaci s řezem; 8 - Savo v kombinaci s řezem; 9 - Hydroxid sodný v kombinaci s řezem; 10 - Fyto fitness v kombinaci s řezem

9 Srovnání novosti postupů

Dosavadní metodické materiály se v České republice věnovaly především ochraně proti jiným významným houbovým chorobám jabloní, zejména strupovitosti nebo padlí. Nektriová rakovina je choroba světového významu s dlouhou historií výzkumu. V poslední době však bylo mnoho výzkumných studií zaměřených proti tomuto patogenu aktualizováno a pravděpodobně budou závěry těchto studií dále upravovány. Znalosti o nektriové rakovině jabloní je nutné obnovovat z hlediska měnících se trendů v pěstování odrůd, otevřenému trhu ČR se zeměmi, kde jsou optimální podmínky pro šíření této choroby, redukci portfolia POR a také z hlediska změn klimatu. V ČR pro nektriovou rakovinu jabloní dosud neexistoval ucelený návod, který by vycházel z výsledků domácího výzkumu a poskytoval pěstitelům prakticky využitelné doporučení. Novost této metodiky spočívá v tom, že poprvé systematicky shrnuje a hodnotí jednotlivé možnosti ochrany proti *N. ditissima* v podmínkách ČR a zároveň je propojuje s posouzením zdravotní nezávadnosti produkce prostřednictvím sledování obsahu mykotoxinu patulinu v plodech.

10 Popis uplatnění metodiky

Metodika je určena pro profesionální ovocnáře pěstující jabloně/hrušně, popřípadě jiné ovocné dřeviny. Částečné uplatnění najde také u producentů školkařských výpěstků. Publikace obsahuje zároveň shrnutí žádaných informací uplatnitelných jak v ovocnářství a potravinářství, tak ve školství a státní správě a potenciálním budoucím výzkumu. Smlouva o uplatnění metodiky byla uzavřena s Farmou Burian – Sady Synkov s.r.o. Metodika bude dostupná zdarma na webových stránkách řešitelských pracovišť – VŠÚO Holovousy s.r.o. a Přírodovědecké fakulty Univerzity Hradec Králové.

11 Ekonomické aspekty

Metodika je určena především pěstitelům jabloní v systému integrované produkce ovoce, dále poradcům v ochraně rostlin, výzkumným pracovníkům a orgánům státní správy zabývajícím se rostlinnou výrobou a ochranou zdraví spotřebitelů. Metodika seznamuje ovocnáře s rizikovými faktory výskytu nektriové rakoviny

a informuje je o možnostech potlačení této choroby v sadech, čímž přispěje ke snížení hospodářských ztrát v produkčních sadech.

Zavedení postupů uvedených v metodice povede ke zvýšení efektivity ochrany a omezení neúčelného používání přípravků na ochranu rostlin. Tím dojde k úspoře nákladů na chemickou ochranu, a současně ke zlepšení environmentální udržitelnosti produkce.

Ekonomické přínosy metodiky se projeví zejména:

- snížením přímých ztrát výnosu a kvality plodů,
- zachováním dlouhodobé produkční životnosti sadů,
- posílením konkurenceschopnosti českého ovocnářství.

Ekonomické přínosy se odvíjí od míry napadení v jednotlivých sadech. Pokud bychom uvažovali 5–10% míru incidence rakoviny jabloně v sadech s citlivými odrůdami, což je běžná míra napadení (NIAB 2025), a průměrný výnos z 1 ha při sklizni 30–60 tun (13 Kč výkupní cena), mohou se ztráty na výnosu pohybovat od 20 do 78 tisíc Kč na 1 ha/rok.

Znalosti získané při řešení projektu zároveň přispějí ke zvýšení důvěry zpracovatelského průmyslu v kvalitu domácí suroviny.

Metodika má tak víceúrovňový přínos – ekonomický pro pěstitele, environmentální pro krajinu a sociální pro spotřebitele. Jejím dlouhodobým efektem bude udržení rentability a stability ovocnářské výroby v České republice.

12 Seznam publikací, které předcházely metodice

Recenzované články

HAŇÁČKOVÁ, Z.; REINBERGEROVÁ, A. 2025. ***In vitro* účinnost fungicidů proti *Neonectria ditissima*, původci korové rakoviny jabloní.** *Vědecké práce ovocnářské*, 1-9. ISSN 2695-1347.

OSTRY, V.; MALIR, F.; CUMOVA, M.; KYROVA, V.; TOMAN, J.; GROSSE, Y.; POSPICALOVA, M.; RUPRICH, J. 2018. **Investigation of patulin and citrinin in grape must and wine from grapes naturally contaminated by strains of *Penicillium expansum*.** *Food and chemical toxicology*, 118, 805-811. ISSN 0278-6915. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.06.022>

13 Seznam použité literatury

AĆIMOVIĆ, S.G.; HIGGINS, E.; MEREDITH, C.L. 2019. **Effective post-infection programs of prohexadione-calcium for reducing shoot blight and preventing fire blight canker initiation on apple wood with cost-benefit analysis.** *New York Fruit Quarterly*, 27(2): 25-31.

AGRIOS, G. N. 2005. **Plant Pathology (5th ed.).** *Academic Press*. 922 pp. ISBN 978-0-08-047378-9.

ALTOMARE, C.; LOGRIECO, A.F; GALLO, A. 2021. **Mycotoxins and mycotoxigenic fungi: risk and management. A challenge for future global food safety and security.** *Encyclopedia of Mycology, 1*: 64–93. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819990-9.00032-9>

AMPONSAH, N.T.; WALTER, M.; BERESFORD, R.M.; SCHEPER, R.W.A. 2015. **Seasonal wound presence and susceptibility to *Neonectria ditissima* infection in New Zealand apple trees.** *New Zealand Plant Protection*, 68: 250–256. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2015.68.5763>

AMPONSAH, N.T.; WALTER, M.; SCHEPER, R.W.A.; BERESFORD, R.M. 2017. ***Neonectria ditissima* spore release and availability in New Zealand apple orchards.** *New Zealand Plant Protection*, 70: 78–86. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2017.70.74>

ARAUJO, L.; PINTO, F. A.; DE ANDRADE, C. C.; DUARTE, V. 2022. **Viability and release of *Neonectria ditissima* ascospores on apple fruit in Brazil.** *Plant Pathology*, 71(3): 654-667.

BAZZI, C.; MESSINA, C.; TORTORETO, L.; STEFANI, E.; BINI, F.; BRUNELLI, A.; ... & RADEMACHER, W. 2003. **Control of pathogen incidence in pome fruits and other horticultural crop plants with prohexadione-Ca.** *European Journal of Horticultural Science*, 68(3): 108-114.

BØRVE, J.; KOLLTVEIT, S.A.; TALGØ, V.; STENSVAND, A. 2017. **Apple rootstocks may become infected by *Neonectria ditissima* during propagation.** *Acta Agriculturae Scandinavica*, Section B – Soil & Plant Science, 68(2): 16-25. <https://doi.org/10.1080/09064710.2017.1351578>

BØRVE, J.; WEIGL T.; STENSVAND A. 2025. ***Neonectria ditissima* cankers initiated in the second year of the nursery phase and at time of planting of apple trees.** *European Journal of Plant Pathology*, 172: 647-659. <https://doi.org/10.1007/s10658-025-03027-y>

BOONZAAIJER, G.; BOBELDIJK, I; VAN OSENBRUGGEN WA. 2005. **Analysis of patulin in Dutch food, an evaluation of a SPE based method.** *Food Control*, 16(7): 587–591. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.06.020>

BROUWER, G. 2023. **European canker (*Neonectria ditissima*): Direct control with lime water.** *Delphy: Biofruitnet practise abstract*. Dostupné z: https://biofruitnet.eu/wp-content/uploads/2023/04/109.PA_European-canker-lime-water_final.pdf

CASTLEBURY, L. A.; ROSSMAN, A. Y.; HYTEN, A. S. 2006. **Phylogenetic relationships of *Neonectria/Cylindrocarpon* on fagus in North America.** *Botany*,

84(9): 1417-1433. <https://doi.org/10.1139/b06-105>

CREEMERS, P. 2014. **Nectria canker**. In: Sutton, B.; Aldwinckle, H. S.; Agnello, A. M.; Walgenbach, J. F. eds. **Compendium of apple and pear diseases and pests. 2nd edition**. Minnesota, APS press, U.S.A. 49-51.

DRYDEN, G.H; NELSON, M. A; SMITH, J.T; WALTER, M. 2016. **Postharvest foliar nitrogen applications increase *Neonectria ditissima* leaf scar infection in apple trees**. *New Zealand Plant Protection*, 69: 230–7. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2016.69.5885>

EDWARDS, J. ET AL. 2006. **Investigate the current state of knowledge worldwide regarding *Neonectria galligena***. *Primary Industries Research Victoria*, Knoxfield Centre. Dostupné z: <https://www.horticulture.com.au/globalassets/hort-innovation/historic-reports/investigating-the-current-state-of-knowledge-worldwide-regarding-neonectria-galligena-ap05029.pdf> [cit. 2025-10-31]

EPPO 2001. ***Neonectria ditissima* - European canker**. [online]. EPPO Global Database. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Dostupné z: <https://gd.eppo.int/taxon/NECTGA> [cit. 2025-10-31]

EUROPEAN COMMISSION 2023. **Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006** [online]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02023R0915-20250101>

EUROPEAN COMMISSION 2024. **Final Renewal report for the active substances Copper compounds finalised in the Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed at its meeting on 27 November 2018 in view of the renewal of the approval of the active substances Copper compounds, as candidate for substitution, in accordance with Regulation (EC) No 1107/20091 Revision endorsed on 4 December 2024** [online]. Dostupné z: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances/details/1221> [cit. 2025-10-31]

FERNÁNDEZ-CRUZ, ML; MANSILLA, ML; TADEO, JL. 2010. **Mycotoxins in fruits and their processed products: analysis, occurrence and health implications.** *Journal of Advanced Research*, 1(2):113–122. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2010.03.002>

GELAIN, J.; ALVES, S. A. M.; MOREIRA, R. R.; MAY de Mio, L.L. 2020. ***Neonectria ditissima* physiological traits and susceptibility of ‘Gala’ and ‘Eva’ detached apple fruit.** *Tropical Plant Pathology*, 45: 25-33. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00314-y>

GUAN, W.; LIU, R.; YAO, SU.; WANG, H.; LIU, Y. 2025 **Mycotoxins in apples and apple products: Analytical methods, natural occurrence, and risk assessment.** *Food Chemistry*, 493: 145808. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.145808>

HAMMAMI, W.; AL THANI, R.; FIORI, S.; AL-MEER, S.; ATIA, F. A.; RABAH, D.; MIGHELI, Q.; JAOUA, S. 2017. **Patulin and patulin producing *Penicillium* spp. occurrence in apples and apple-based products including baby food.** *The Journal of Infection in Developing Countries*, 11(4): 343-349. <https://doi.org/10.3855/jidc.9043>

HARTEVELD, D.O.C.; DALE, O. S. Ø.; VEDÅ, H.; LE, H. V.; BORVE, J.; TORP, T.; STENSVAND, A. 2025. **Epidemiology of *Neonectria ditissima* at lower temperatures.** In: Book of Abstracts. Joint Meeting of the IOBC-WPRS Working Group “Integrated Protection of Fruit Crops”. 14–18 September 2025, Wageningen, The Netherlands. IOBC-WPRS, s. 69.

HEIJNE, B.; JONG, P. D.; WENNEKER, M.; JANSONIUS, P. J. 2005. **Slaked lime against European fruit tree canker: efficacy and introduction into practice.** *Researching sustainable systems.* In: 15th IFOAM Organic World Congress, Researching Sustainable Systems, 142-245.

IQBAL, S. Z.; MALIK, S.; ASI, M. R.; SELAMAT, J.; & MALIK, N. 2018. **Natural occurrence of patulin in different fruits, juices and smoothies and evaluation of dietary intake in Punjab, Pakistan.** *Food Control*, 84: 370-374. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.024>

IQBAL, S. Z.; WASEEM, M.; RAZIS, A. F. A.; BHATTI, I. A.; KHANEGHAH, A. M.; MOHAMMED, O. A.; ... & IQBAL, M. 2024. **Mycotoxin patulin contamination in various fruits and estimating its dietary impact on the consumers: From orchard to table.** *Heliyon*, 10(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30252>

ISMAIEL, A.A; PAPENBROCK, J. 2015. **Mycotoxins: producing fungi and mechanisms of phytotoxicity.** *Agriculture*, 5(3): 492–537. <https://doi.org/10.3390/agriculture5030492>

KABAK, B.; DOBSON, A. D. W.; VAR, I. 2006. **Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of Food and Animal Feed: A Review.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8): 593–619. <https://doi.org/10.1080/10408390500436185>

KŮDELA, V.; KOCOUREK, F.; BÁRNET, M. A KOL. 2012. České a anglické názvy chorob a škůdců rostlin. *Praha, ČAZV*. ISBN 978-80-7403-097-1.

LANGRELL, S.R.H. 2002. **Molecular detection of *Neonectria galligena* (syn. *Nectria galligena*).** *Mycological Research*, 106: 280-292. [doi:10.1017/S095375620200552X](https://doi.org/10.1017/S095375620200552X)

LLEWELLYN, G.C.; MCCAY, J.A; BROWN, R.D.; MUSGROVE, D.L.; BUTTERWORTH, L.F.; MUNSON, A.E.; WHITE, K.L. JR. 1998. **Immunological evaluation of the mycotoxin patulin in female B6C3F1 mice.** *Food and Chemical Toxicology*, 36(12):1107–1115. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(98\)00084-2](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(98)00084-2)

MALIR, F.; OSTRY, V. 2003. **Vláknité mikromycety (plísně), mykotoxiny a zdraví člověka.** *Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů*, 349 s. ISBN 80-7013-395-3

MANDAPPA, I.M.; BASAVARAJ, K.; MANONMANI, H.K. 2018. **Analysis of mycotoxins in fruit juices.** *In: Fruit juices. Academic Press, Boston*, 763–777. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-600036-9>

McCRACKEN, A. R.; BERRIE, A.; BARBARA, D. J.; LOCKE, T.; COOKE, L. R.; PHELPS, K. ...& LANGRELL, S. R. H. 2003. **Relative significance of 31 nursery infections and orchard inoculum in the development and spread of apple canker (*Nectria galligena*) in young orchards.** *Plant Pathology*, 52 (5): 553-566. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00924.x>

NIAB 2025. **Apple canker: additional information** [online]. Cambridge: NIAB, Dostupné z: <https://www.niab.com/apple-canker-additional-information> [cit. 2025-10-31]

OLIVIERI, L.; SAVILLE, R. J.; GANGE, A. C.; XU, X. 2021. **Limited asymptomatic colonization of apple tree shoots by *Neonectria ditissima* following infection of leaf scars and pruning wounds.** *Plant Pathology*, 70(8): 1838-1849. <https://doi.org/10.1111/ppa.13419>

PAL, S.; SINGH, N.; ANSARI, K. M. 2017. **Toxicological effects of patulin mycotoxin on the mammalian system: an overview.** *Toxicological Research*, 6(6):764–771. <https://doi.org/10.1039/c7tx00138j>

PIEMONTESE, L.; SOLFRIZZO, M.; & VISCONTI, A. 2005. **Occurrence of patulin in conventional and organic fruit products in Italy and subsequent exposure assessment.** *Food Additives and Contaminants*, 22(5): 437-442. <https://doi.org/10.1080/02652030500073550>

PITTET, A. 1998. **Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds an updated review.** *Revue Méd Vét*, 149(6): 479-492. ISSN: 0035-1555

PLANTE, F.; HAMELIN, R.C.; BERNIER, L. 2002. **A comparative study of genetic diversity of populations of *Nectria galligena* and *N. coccinea* var. *faginata* in North America.** *Mycological Research*, 106: 183-193. <https://doi.org/10.1017/S0953756201005329>

PUEL, O; GALTIER, P; OSWALD, I.P. 2010. **Biosynthesis and toxicological effects of patulin.** *Toxins*, 2(4): 613–631. <https://doi.org/10.3390/toxins2040613>

RAISTRICK, H. 1943. **Patulin in the common cold collaborative research on a derivative of *Penicillium patulum* Bainier: I. Introduction.** *Lancet*, 242(6273):625. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)88176-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)88176-3)

ROSSMAN, A. Y.; PALM-HERNÁNDEZ, M. E. 2008. **Systematics of plant pathogenic fungi: why it matters.** *Plant disease*, 92(10): 1376-1386.

SALEH, I.; GOKTEPE, I. 2019. **The characteristics, occurrence, and toxicological effects of patulin.** *Food and Chemical Toxicology*, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.04.036>

SAVILLE, R.J. 2014. **A review of our current knowledge of *Neonectria ditissima* and identification of future areas of research.** *East Malling Research*, 24 s.

SINGH, K.; KUMARI, A. 2022. **Mycotoxins and mycotoxicoses.** Springer. ISBN 978-981-19-2370-8 (eBook). <https://doi.org/10.1007/978-981-19-2370-8>

SCHEPER, R. W. A.; STEVENSON, O. D.; HEDDERLEY, D. I. 2016. **Protection of budding wounds in apple nursery trees from European canker.** *New Zealand Plant Protection*, 69: 207-212. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2016.69.5882>

SHUTTLEWORTH, L.; NEWMAN, S.; KORKOS, I. 2023. **A comparison of new and existing rootstocks to reduce canker of apple trees caused by *Neonectria ditissima* (Nectriaceae, Hypocreales).** *CABI Agriculture and Bioscience*, 4: 37. <https://doi.org/10.1186/s43170-023-00177-z>

WALTER, M.; CAMPBELL, R.E.; AMPONSAH, N.T.; SCHEPPER, R.W.A.; BUTLER, R.C. 2017. **Evaluation of biological and agrichemical products for control of *Neonectria ditissima* conidia production.** *New Zealand Plant Protection Society*, 70: 87-96. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2017.70.33>

WEBER, R. W. S. 2014. **Biology and control of the apple canker fungus *Neonectria ditissima* (syn. *N.galligena*) from a Northwestern European perspective.** *Erwerbs-Obstbau*, 56: 95-107. <https://doi.org/10.1007/s10341-014-0210-x>

WEBER, R. W. S.; BØRVE J. 2021. **Infection biology as the basic of integrated control of apple canker (*Neonectria ditissima*) in Northern Europe.** *CABI Agriculture and Bioscience*, 2(1): 1-16. <https://doi.org/10.1186/s43170-021-00024-z>

WEBER, R.W.S; DRALLE, N. 2013. **Fungi associated with blossom-end rot of apples in Germany.** *European Journal of Horticultural Science*, 78: 97–105.

WEBER, R. W., PAMPUS, K., PODAVKOVA, A., MYREN, G., BØRVE, J. 2025. **Annual Rhythms of Ascospore Discharge by *Neonectria ditissima* in Northern Germany and Norway.** *Applied Fruit Science*, 67(4): 293.

WEIGL, T. 2021. **Susceptibility of different apple cultivars to European canker.** Master Thesis. *Norwegian University of Life Sciences*, 1-82 s.

WEIßHAUPT, S.; HAGL, M.; HANS, M.-S.; HALTMAIER, M.; SCHEER, C.; KUNZ, S. 2025. **Establishment of laboratory test systems for assessment of the potential of plant protection products for control of *Neonectria ditissima*.** In: Book of Abstracts. Joint Meeting of the IOBC-WPRS Working Group “Integrated Protection of Fruit Crops”. 14–18 September 2025, Wageningen, The Netherlands. IOBC-WPRS, 127.

WESCHE, J.; WEBER, R.W.S. 2023. **Fungicide Sensitivity in the European Canker Fungus, *Neonectria ditissima*.** *Erwerbs-Obstbau*, 65: 2175-2187. <https://doi.org/10.1007/s10341-023-00936-2>

WOOD, P. N; BERESFORD, R. M. 2000. **Avoiding apple bud damage from autumn-applied urea for black spot (*Venturia inaequalis*) control.** *New Zealand Plant Protection*, 53: 382–6. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2000.53.3613>

YODER, K. S; MILLER; S.S; BYERS, R.E. 1999. **Suppression of fireblight in apple shoots by prohexadione-calcium following experimental and natural inoculation.** *HortScience*, 34: 1202–4.

ZELLER, S.M. 1926. **European Canker of Pomaceous Fruit Trees.** Oregon Agricultural College. Station Bulletin 222. Dostupné z: <https://digitalcollections.library.oregon.gov/nodes/view/189431>

ZHAO, Y.; XU, W.; LIU, R; GUO, L, & LIU, P. 2024. **Determination and analysis of patulin in apples, hawthorns, and their products by high-performance liquid chromatography.** *Mycotoxin Research*, 40(2): 235-244. <https://doi.org/10.1007/s12550-024-00522-9>

v y d á v á

OSVĚDČENÍ

UKZUZ 195656/2025

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: **Ochrana proti *Neonectria ditissima* s přihlednutím ke snížení obsahu mykotoxinu patulinu a jeho producentů v plodech**

Autoři: **Mgr. Zuzana Haňáčková, Ph.D.; Mgr. Adéla Reinbergerová; Ing. Pavlína Jaklová, Ph.D.; RNDr. Jakub Toman, Ph.D.; Mgr. Darina Picková, Ph.D.; doc. RNDr. František Malif, Ph.D.**

Název organizací: **VŠÚO Holovousy s.r.o., Univerzita Hradec Králové**

Místo vydání: **Holovousy**

Rok vydání: **2025**

Metodika byla vypracována v rámci výzkumného projektu č. TAČR TQ03000603 „Ověření efektivity systémů integrované ochrany proti *Neonectria ditissima* s přesahem dopadu této ochrany na obsah mykotoxinu patulinu v plodech napadených stromů v podmínkách ČR“.

Brno 2. 12. 2025

Dokument je podepsán elektronickým podpisem	
Podepsující:	Ing. Daniel Jurečka
Organizace:	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zem.
Sériové č. cert.:	24041124
Vydavatel cert.:	PostiSignum Qualified CA 4
Datum a čas:	03.12.2025 08:53:03
Dívod:	
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: 2025.12.15
16:46:38 +01'00'

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

**Metodika Ochrany proti *Neonectria ditissima* s přihlédnutím ke snížení
obsahu mykotoxinu patulinu a jeho producentů v plodech**

Autoři:

Mgr. Zuzana Haňáčková, Ph.D.

Mgr. Adéla Reinbergerová

Ing. Pavlína Jaklová, Ph.D.

RNDr. Jakub Toman, Ph.D.

Mgr. Darina Picková, Ph.D.

doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.

Grafický návrh a sazba:

Mgr. Tomáš Zahradníček – TZ-one

Vydal:

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY
s.r.o., Holovousy 129, 508 01 Holovousy

1. vydání, 2025

ISBN: 978-80-88669-11-1 (print)

978-80-88669-09-8 (online, PDF)

<https://doi.org/10.60615/zw5d-8t08>

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.
Univerzita Hradec Králové

2025

ISBN: 978-80-88669-11-1 (print)
978-80-88669-09-8 (PDF)