

Metodika

Metodika testování nových způsobů ochrany jahodníku proti *Phytophthora cactorum*



Marie Maňasová¹, Miloslav Zouhar¹, Matěj Pánek², Jana Wenzlová¹, Jana Mazáková¹

¹ Česká zemědělská univerzita v Praze

² Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Adresa umístění elektronické publikace: <http://www.agronavigator.cz/>

Obsah

Cíl metodiky	4
Vlastní popis metodiky	4
Srovnání „novosti postupů“	12
Popis uplatnění metodiky	13
Ekonomické aspekty	13
Seznam použité související literatury	14
Seznam publikací, které předcházely metodice	15
Jména oponentů a názvy jejich organizací	15
Dedikace.....	16
Přílohy k certifikované metodice	16

Cíl metodiky

Cílem této metodiky je popis metody testování nových způsobů ochrany rostlin jahodníku proti významnému patogenu *Phytophthora cactorum*. Popis založení testů, jejich průběh i vyhodnocení, pro správnou validaci výsledků.

Vlastní popis metodiky

1. Úvod

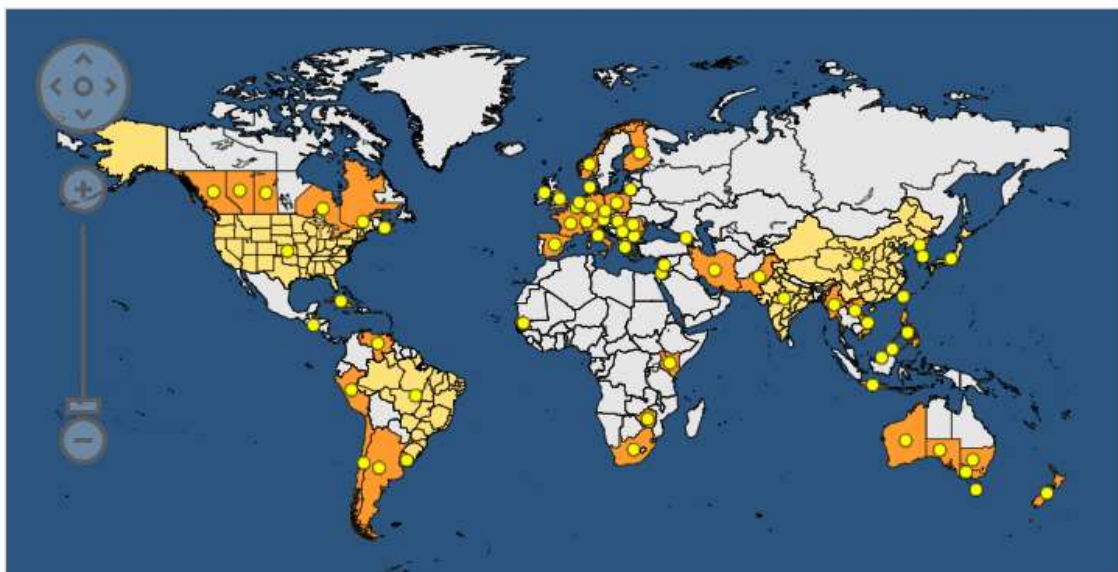
1.1. Hostitelská rostlina

Rod *Fragaria* – jahodník se řadí do čeledi Rosaceae – růžovité (Harant, 1986). Tento rod zahrnuje 45 druhů, jejichž výskyt je lokalizován převážně na severní polokouli do mírného pásma. V České republice rostou divoce tři druhy: jahodník obecný – *F. vesca*, j. truskavec – *F. moschata* a j. trávnička – *F. virginiana* (Slavík, 1995). Druh *F. annnanassa* vhodný pro polní pěstování vznikl v 18. století ve Francii zkřížením *F. virginiana* a *F. chiloënsis*, oba tyto druhy jsou domovem v Jižní Americe (Sus et al., 1991). V České republice (ČR) má pěstování jahodníku mnohasetletou tradici, již ve 14. století se u nás jahody pěstovaly, a to převážně v královských zahradách (Vachún, 2004). V současné době je jahodník pěstován na ploše přibližně 1800 ha, přičemž k výraznému navýšení došlo v roce 2016 o téměř 200 ha, jinak výměry kolísají v řádech desítek hektarů. V ČR se začíná více rozvíjet pěstování jahod pod fóliovými kryty i s ohledem na možnost minimalizace chemického ošetření porostů, jednodušší sklizeň i celkovou možnost regulace pěstitelského prostředí. Plošnému rozvoji brání převážně výše nutných investic, ale také nedostatek zkušeností se zvládnutím této pěstitelské technologie (Anonym, 2020).

1.2. Choroby jahodníku

Jedním z limitujících faktorů při pěstování jahodníku jsou houbové choroby. Jahodníky jsou napadány širokou škálou houbových patogenů, jako jsou *Botrytis cinerea*, houby rodu *Verticillium* nebo *Phytophthora*. Z posledně jmenovaného rodu je nejrozšířenější druh *Phytophthora cactorum* způsobující onemocnění známé jako „fytoftorová hniloba rhizomů a plodů jahodníku“. Tato choroba je považována za jednu z nejzávažnějších (Hluchý a kol., 1997). *P. cactorum* je řazena do říše Chromista, řádu Peronosporales, čeledi Peronosporaceae, rodu *Phytophthora* (Anonym, 2021). Napadá rostliny ve všech

fázích života. Napadení rostlin zoosporami patogena je usnadněno jejich mechanickým poškozením (Seemuller and Mans 1998). Patogen *P. cactorum* má velice široký hostitelský okruh zahrnující více než 200 druhů rostlin (Rivard, 2007). Poprvé byl popsán roku 1870, jako patogen poškozující kořenový systém kaktusů, původní název zněl *Peronospora cactorum* (Erwin and Ribeiro 1996; Hudler, 2015). V ČR byla *P. cactorum* objevena v roce 1960 na jiřinách *Dahlia* sp. (Cejp, 1961). *P. cactorum* je rozšířena po celém světě (Obr. 1), na všech kontinentech, vyjma Antarktidy (Anonym, 2021).



Obr. 1: Rozšíření *P. cactorum* ve světě, dle EPPO (Anonym, 2021).

Tento patogen je přizpůsoben přežívání v našich podmínkách. Přežívá ve stádiu spór (oospory, chlamydoospory) v půdě nebo rostlinných pletivech. Ideální podmínky pro vznik kompatibilního vztahu patogen – hostitel, tedy pro vznik infekce, je silně zamokřená půda a teploty nad 10 °C, ideálně v rozmezí 20-30 °C. V tuto dobu se vytvářejí sporangia se zoosporami, které jsou infekčním agens tohoto patogenu. Tyto podmínky většinou nastávají v květnu až červnu. Rozvoj infekce podporuje i fakt, že rostliny v takto zamokřených půdách strádají nedostatkem kyslíku a snadněji podléhají patogenu (Wilcox, 1992). Rozvoj symptomů závisí na mnoha faktorech. Jedním z nich je zdroj infekce, zda na pozemek přijde sadba již infikovaná, pak je rozvoj rychlejší, nebo zda dojde k infekci až na trvalém stanovišti, zde je dojde k rozvoji primárních příznaků až v rámci týdnů. Náchylnější na infekci je již oslabená frigo sadba, která je

uchovávána i několik měsíců pod bodem mrazu a má četná mechanická poranění po odstranění odnoží a listů. V podmínkách ideálních pro rozvoj infekce, napadená sadba, vlhká půda a následné sucho a vysoké teploty dochází k odumření sadby již v řádu jednoho až dvou týdnů. Pokud je sadba sázena v podzimních měsících, tak s klesající teplotou rychlost rozvoje infekce klesá a příznaky se projeví až v dalším vegetačním období, po zvýšení teploty (Maas, 1998). Primární příznak na nadzemní části rostlin je uvadání srdéčkových listů, následně listy od okrajů šednou, později hnědnou, starší listy vadnou a odumírají. Napadeny mohou být i plody, které jsou kožovité konzistence, mladší hnědé, starší vybledlé, bez chuti, dále jsou napadány i řapíky a květní stopky (Hluchý a kol., 1997). Primární příznaky infikovaného krčku je žlutá barva, zdravý krček je bílý, následně se objevují jasně ohraničené rezavě hnědé skvrny, které posléze splývají, a krček trouchniví. Při plně rozvinuté chorobě je krček často při vytažení ze země přetržen, respektive přelomen. Při hodnocení napadení je třeba postupovat rychle, neboť dochází vlivem oxidace k přirozenému žloutnutí a následnému hnědnutí rozříznutého kořenového krčku (Jílek, 2015). Co se týče určení odolnosti odrůd, je literatura nejednotná. Dle Jílka (2015) jsou odolné odrůdy: Albion, Aromas, Asia, Bolero, Camarosa, Clery, Daroyal, Darselect, Deluxe, Everest, Figaro, Florence, Galante, Charlotte, Kent, Pavana, Parker, Pegasus, Rumba, Senga Sengana, Symphony, Tenira a náchylné odrůdy: Diamante, Elkat, Elsanta, Elvira, Honeoye, Charlie, Kimberly, Korona, Lambada, Malling Centenary Polka, Salsa, Sonata, Sweet Flair. Rostlinolékařský portál ovšem uvádí mezi odolnými odrůdami, odrůdy: Darselect, Elsanta, Honeoye, Korona, Pegasus, Senga Sengana a Tenira (Anonym 2, 2021).

1.3. Metody ochrany rostlin

Ochrana proti *P. cactorum* je v našich podmínkách obtížná. V literatuře doporučovaná fumigace (Rivard, 2007) není v České republice povolena. Zde je povolen jen jediný přípravek: Aliette 80 WG (Anonym 3, 2021). Tento přípravek se aplikuje formou máčení sadby do 0,25% suspenze, v zahraničí je povolena až 0,5%, po dobu 20 minut. Problematické může být toto ošetření u frigo sadby, kde často dochází k fytotoxicitě. Fytotoxicita se také projevuje za vyšších teplot při výsadbě, kdy je nutná vydatnější závlivka, pro překonání stresu rostlinami. Další nevýhodou je také nestálá koncentrace v suspenzi. Další možností aplikace je pásový postřik, který se provádí 7-12 dní po výsadbě, kdy jsou na sadbě vytvořené nové listy, aplikace tohoto postřiku ovšem musí být provedena za vhodných klimatických podmínek a správnou aplikační technikou,

jinak je neúčinná. Tento přípravek má ovšem pouze preventivní účinek, nemá kurativní vlastnosti (Jílek, 2015). Z tohoto důvodu jsou doporučena hlavně preventivní opatření. Prvním důležitým aspektem pro pěstování jahodníku je výběr správného stanoviště. Důležité je se vyhnout utuženým a zamokřeným, tedy dispozičním půdám (Rivard, 2007). Pozemek by měl být, pokud možno rovný, aby se na jeho částech nedržela voda. Riziko napadení také snižuje použití pěstební technologie hrůbků s výškou minimálně 20 cm. Sazení zdravé a nepoškozené sadby na neinfikované pozemky by mělo být základem. U pěstování náchylných odrůd, je vhodné použít hrnkovou sadbu. Jako předplodinu lze využít hořčici a její biofumigační vlastnosti, nebo súdanskou trávu, která má velké množství biomasy (Jílek, 2015). Nutné je také dodržení dostatečného odstupu jahodníku na jednom pozemku a provádět negativní výběry v porostu (Dušková a Kopřiva, 2005). Další možností ochrany jahodníku je použití bioagens (Rivard, 2007). Biologická ochrana využívá přirozených antagonistických vztahů organismů. Výhodou je nízký dopad na necílové organismy včetně člověka a zvýšení biodiverzity prostředí (Utkhede and Smith, 1993). Jako bioagens lze použít různé skupiny organismů, jako jsou bakterie, houby i živočichové a rostliny, nebo jejich produkty metabolismu. Bakterie jsou masově využívanou skupinou organismů v ochraně rostlin. Jejich výhodou je jednoduchá, rychlá a poměrně levná kultivace s následným snadným skladováním a dlouhodobou účinností. U bakterií se často využívá i jejich metabolických produktů. V ochraně proti *P. cactorum* byl využit *Enterobacter aerogenes*, kmen B8. Pomocí elektronové mikroskopie bylo zjištěno, že tento organismus narušuje buněčnou membránu patogenu, způsobuje agregaci organel, vakuolizaci, nekrózu až smrt hyf (Brewster et al., 1997). V boji proti patogenům rodu *Phytophthora* byly použity i další bakterie, které zahrnují především fakultativně anaerobní druhy: *Bacillus cereus*, kmen UW85 (Osburn et al., 1995), *Enterobacter cloacae* (Lorito et al., 1993), *Erwinia herbicola* (Nelson, 1988) a *Bacillus subtilis* (Gupta and Utkhede, 1987). Vzhledem k biologii patogenu, jsou další nadějnou skupinou pro využití jako bioagens, přirozeně se vyskytující půdní houbové organismy. Byly prováděny pokusy s houbovými organismy rodu *Trichoderma*. Pokus byl založen jako kombinace solarizace půdy a ošetření *Trichoderma* sp. Jedna varianta byla pouze solarizována, jedna pouze ošetřena bioagens *Trichoderma* sp. A třetí jejich kombinací. Nejlepší výsledky byly dosaženy kombinací ošetření: nejprve solarizací a posléze aplikací organismů rodu *Trichoderma*. Tyto výsledky naznačují, že mohou existovat i jiné možnosti ochrany, než pouze pesticidní ošetření (Eikemo et al., 2004).

2. Testování nových způsobů ochrany jahodníku

Použité mikroorganismy jako bioagens: *Trichoderma* sp., *Clonostachys* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Pythium oligandrum*, *Coniothyrium minitans*, *Bacillus amyloliquefaciens* kmen MBI 600, *Trichoderma asperellum* kmen T34.

Izoláty *P. cactorum*: 10 izolátů z okresů Klatovy, Kroměříž, Nymburk, Pardubice, Plzeň, Praha, Praha – východ, Semily, Ústí nad Labem. Viz mapa s odborným obsahem: Mapa rozšíření jednotlivých genetických linií *Phytophthora cactorum* v ČR.

Jahodník velkoplodý odrůdy: Karmen, Wendy, Sonáta.

2.1. Inokulace substrátu patogenem *P. cactorum*

1. 10 izolátů bylo kultivováno v tekutém živném médiu V8 po dobu 28 dní, každý v objemu 1 l.
2. Narostlé mycelium se sporangii obsahujícími zoospory bylo přefiltrováno a důkladně zbaveno zbytků tekutého média, všechny izoláty byly smíchány.
3. Byla stanovena sušina, 10 x 10 g vlhkého mycelia bylo umístěno do sušárny a sušeno 48 hodin při teplotě 105 °C, byl stanoven průměr sušiny.
4. Vlhké mycelium všech izolátů bylo zváženo, rozmícháno ve sterilní destilované vodě a rozmixováno pomocí přístroje ultraturax IKA T25 3 x 3 min při 15000 rpm.
5. Pěstební nádoby o objemu 0,5 l byly naplněny sterilním substrátem pro pěstování jahod do 1/2 objemu nádoby, pro každou variantu bylo připraveno deset opakování.
6. Do takto připravených nádob byla napipetována suspenze mycelia (která byla umístěna na magnetické míchače pro docílení konstantní koncentrace mycelia v suspenzi) odpovídající 0,2 g sušiny mycelia na jednu pěstební nádobu.
7. Pěstební nádoba byla doplněna substrátem do 2/3 objemu. A ponechána v řízených podmínkách skleníku a kultivační komory: vlhkost 85 %, teplota noc 18 °C, den 25°C, světlo 12/12.

2.2. Inokulace rostlin bioagens

Bioagens	Spor,buněk/g,ml	Spor,buněk/nádoba
<i>Trichoderma, Clonostachys</i>	5×10^7	1,7 ml
<i>Clonostachys</i>	1×10^7	0,3 ml
<i>Coniothyrium minitans</i>	1×10^9	3,3 ml

<i>Bacillus sp.</i>	1 x 10 ⁹	0,8 mil
<i>Pseudomonas sp.</i>	1 x 10 ⁹	0,8
<i>Pythium oligandrum</i>	1 x 10 ⁶	2500
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> kmen MBI 600	2,2 x 10 ¹⁰	18,3 mil
<i>Trichoderma asperellum</i> kmen T34	1 x 10 ⁷	83 000

- Po 24 hodinách od inokulace substrátu patogenem *P. cactorum* byly nádoby inokulovány suspenzí bioagens.
- Zároveň byly založeny i kontrolní varianty, které nebyly inokulovány patogenem, ale jen bioagens a kontrolní varianty bez ošetření bioagens s inokulací patogenem, kontrolní varianta ošetřená jediným povoleným přípravkem Aliette 80 WG, inokulovaná patogenem a kontrolní varianta neošetřená a neinokulovaná patogenem.
- Na povrch substrátu byla rovnoměrně napipetována suspenze bioagens.
- Do nádoby byl přidán 1 cm sterilního substrátu.
- Takto připravené pěstební nádoby byla ponechány 1 týden v řízených podmínkách skleníku a pravidelně byly zavlažovány, aby nedošlo k vyschnutí.

2.3. Kultivace

- Po týdnu byla do každé pěstební nádoby umístěna rostlina jahodníku z frigo sadby, která byla týden před tím umístěna do termostatu s teplotou 5 °C. Dle potřeby byla pěstební nádoba doplněna sterilním substrátem.
- Rostliny byly kultivovány po dobu 8 týdnů v řízených podmínkách skleníku a kultivační komory.
- Rostliny byly pod pravidelnou zálivkou a byly udržovány bez škůdců.

2.4. Vyhodnocení

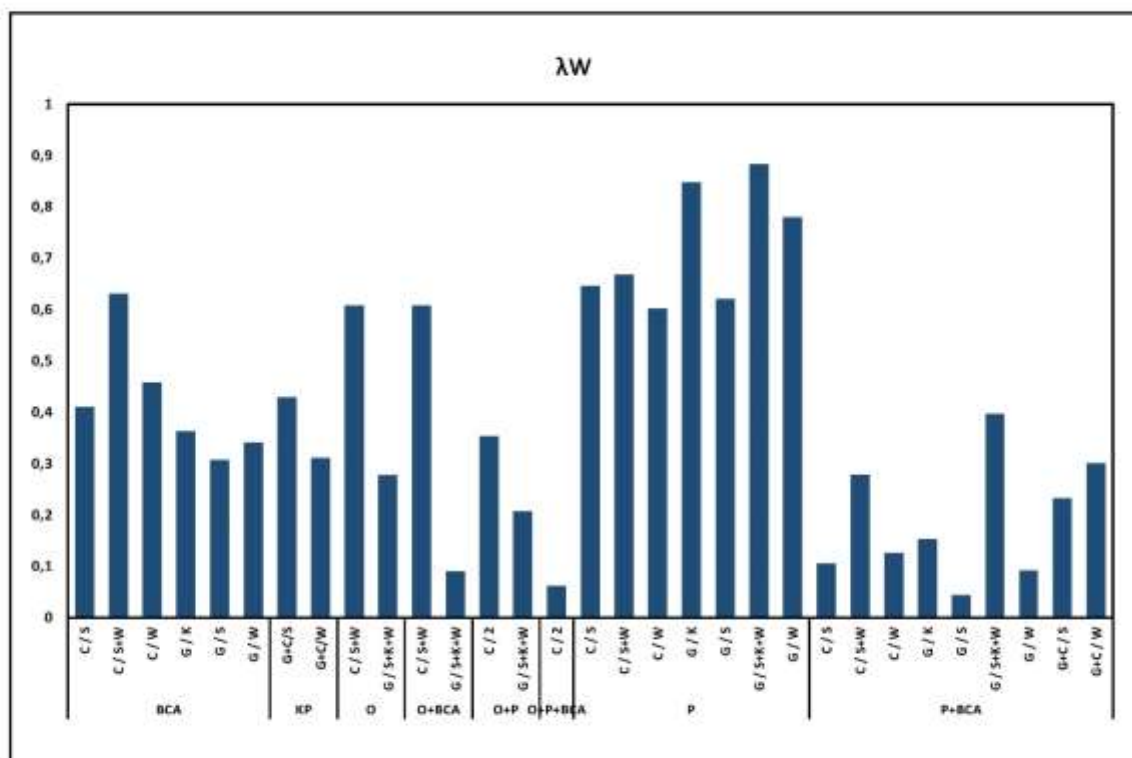
- Po 8 týdnech kultivace byla pořízena fotodokumentace každé rostliny.
- Rostliny byly opatrně vyjmuty z pěstebních nádob.
- Z kořenového systému byl omyt substrát.
- Rostliny byly rozděleny na několik částí: listy, plody, květy, kořenový krček, kořeny.

5. Byly zaznamenány tyto charakteristiky: počet a hmotnost listů, počet a hmotnost plodů, počet a hmotnost květů, průměr a hmotnost kořenového krčku, délka a hmotnost kořenů.
6. Bylo provedeno několik řezů kořenového krčku ve vodorovné linii a byla pořízena jejich fotodokumentace.
7. Získaná data byla podrobena robustní statistické analýze pomocí programu Statistica 13.3 (Tibco software Inc.) formou diskriminační analýzy. V rámci této analýzy byly testovány různé kombinace nezávislých (přítomnost patogenu, bioagens, odrůda, kultivační prostor) a závislých (tj. měřených) proměnných. Rozlišovací schopnost modelu byla hodnocena dle výše hodnoty Wilks lambda (λ_w ; 0=maximální, 1=minimální rozlišovací schopnost). Nalezeny byly měřené charakteristiky, pro jejichž dílčí λ_w značí význam charakteristiky pro diferenciaci, byly p-hodnoty nižší než 0,05. Tyto charakteristiky byly použity v následujících analýzách.
8. Pro každé bioagens byly spočteny průměrné hodnoty hmotnosti kořenů a listů a jejich poměru napříč všemi odrůdami, zjištěné hodnoty byly vzájemně porovnány. Pro každé bioagens byly porovnávány varianty: rostliny s bioagens a bez patogenu / rostliny bez bioagens a bez patogenu, rostliny s bioagens a patogenem / rostliny bez bioagens a bez patogenu, rostliny s bioagens a patogenem / rostliny bez bioagens a s patogenem, rostliny s bioagens a bez patogenu / rostliny bez bioagens a s patogenem.

3. Výsledky - příkladová studie

Výsledky diskriminační analýzy dokládají výrazné rozdíly mezi jednotlivými variantami ošetření rostlin různými bioagens, a mezi variantami infikovanými a neinfikovanými patogenem. Výsledky dále ukazují určité rozdíly v růstu a zdravotním stavu rostlin pěstovaných ve skleníku a v kultivační komoře, a meziodrůdové odlišnosti. Důležitým výsledkem této analýzy je identifikace hmotnosti kořenů a hmotnosti listů jako charakteristik nejdůležitějších pro rozlišení jednotlivých variant ošetření různými bioagens, což rovněž umožňuje stanovit jejich poměr jako veličinu charakterizujících zdravotní stav rostlin, což odpovídá i odborné literatuře (Agathokleous et al., 2019; Jamieson & Kempler, 2009). Rozsah zhoršování stavu rostlin se výrazně lišil v závislosti na použitém bioagens: některá z testovaných bioagens dokonce sama zhoršila zdravotní stav rostlin, zatímco jiná podstatně snížila negativní účinek patogenu.

Nejvýraznější pozitivní vliv mělo ošetření druhem *Pythium oligandrum*, které bylo ze všech testovaných jako jediné jednoznačně pozitivně hodnoceno i z hlediska ochrany jahodníku před *P. cactorum*. Výsledky ukazují, že hlavním způsobem účinku tohoto organismu je silný stimulační účinek na růst rostlin, který převažuje nad negativním vlivem patogenu, ačkoliv nelze vyloučit ani další způsoby účinku na rostlinu. Pozitivní vliv na růst rostlin mělo také ošetření druhy *Pseudomonas*, *Clonostachys* a *Trichoderma*, a *Trichoderma asperellum*, ačkoliv tato ošetření neposkytovala rostlinám významnou ochranu před patogenem. Naopak výrazně negativní vliv na samotné rostliny mělo ošetření kulturami druhu *Bacillus amyloliquefaciens*, zanedbatelný význam mělo ošetření druhem *Coniothirium minitans*. Tyto varianty ošetření rostlin rovněž neposkytovaly ochranu jahodníku před *P. cactorum*. Výsledky dále ukazují, že interakce v rámci komplexu rostliny, patogenu a jeho antagonisty závisí rovněž na faktorech prostředí a na konkrétních genetických vlastnostech odrůd (Graf 1). Příkladová studie prokázala účinnost metody testování, jak z hlediska umělých inokulací, ošetření bioagens i následného systému hodnocení. Touto metodou je možno testovat nové způsoby ochrany jahodníku, kdy je důležité pro inokulaci použít dostatečně rozmanité spektrum izolátů patogenu, aby byla zajištěna virulence a do testování zahrnout více odrůd.



Graf 1: Výsledky diskriminační analýzy: Zkratky K, S, W (odrůdy Karmen, Sonáta, Wendy), C, G (kultivační komora, skleník). Hodnocení vztahů BCA: testované mikroorganismy; KP: kultivační prostor; O: odrůda a P: přítomnost patogenu *P. cactorum*.

Srovnání „novosti postupů“

Patogen *P. cactorum* způsobuje závažnou chorobu jahodníku. Nejvhodnějším způsobem ochrany je prevence spočívající v pěstování jahodníku na nezamořených pozemcích, případně v jejich střídání. Oospory *P. cactorum* přežívají v půdě mnoho let (10-15) a v produkčních podmínkách vyvstává nutnost pěstovat jahodník na stejném pozemku v tomto období opakovaně. Problémem je i šíření patogenu z infikovaných asymptomatických rostlin v sadbě na dosud nezamořené pozemky. K omezení infekce jsou kromě pěstebních metod (pěstování na lehčích půdách, odstraňování napadených rostlin) široce využívány fungicidy. Vůči těmto látkám je u *P. cactorum* doložen častý vznik rezistence, která zesiluje při jejich dalším používání a vynucuje si vyšší dávkování. Dochází k hromadění reziduí fungicidů v půdě i v rostlinách a plodech. V České republice je povolen pouze jeden přípravek proti tomuto patogenu Aliette WG

80, kterému byla prodloužena platnost registrace v tomto roce do 30. 4. 2023 (Anonym 3, 2021).

Brewster et al. (1997) popsali ve své práci účinky *Enterobacter aerogenes*, kmen B8 na *P. cactorum*. Ve své práci se přímo patogenem *P. cactorum* zabývali také Eikemo et al. (2004), kteří zkoumali vliv houbového organismu *Trichoderma* sp. spolu se solarizací půdy. Některé další práce se zabývají jinými patogeny z rodu *Phytophthora* a bioagens z říše bakterií: *Bacillus cereus*, kmen UW85 (Osburn et al., 1995), *Enterobacter cloacae* (Lorito et al., 1993), *Erwinia herbicola* (Nelson, 1988) a *Bacillus subtilis* (Gupta and Utkhede, 1987). Žádná práce se ovšem nezabývá validací metod testování ochrany v takovémto rozsahu.

Popis uplatnění metodiky

Metodika bude uplatněna na základě uzavřené smlouvy o využití a to bezplatně, protože jmenovaný projekt využívá pravidla pro odvětví zemědělství, lesnictví a rybolovu podle článku 31 Nařízení Komise (EU) č. 702/2014 ze dne 25. června 2014, kterým se v souladu s články 107 a 108 Smlouvy o fungování Evropské unie prohlašují určité kategorie podpory v odvětvích zemědělství a lesnictví a ve venkovských oblastech za slučitelné s vnitřním trhem (ABER) nebo článku 30 Nařízení Komise (EU) č. 651/2014 ze dne 17. června 2014, kterým se v souladu s články 107 a 108 Smlouvy o fungování Evropské unie prohlašují určité kategorie podpory za slučitelné s vnitřním trhem (GBER).

Ekonomické aspekty

Za posledních sedm let činila průměrná výměra pěstební plochy jahodníku 1779 ha s celkovou výší sklizně průměrně 9390 tun, což nám dává výnos 4,7 t/ha. Spotřebitelské ceny pro jahody se v posledních třech letech pohybovaly průměrně za rok na částce okolo 140 Kč/Kg. Tržby tedy činí průměrně 1,3 mld. Kč za rok (Anonym, 2020). Patogen *P. cactorum* způsobuje ročně přímé škody minimálně ve výši 15 %, což v přepočtu na tržby činí ztrátu 197 mil., v této částce ovšem nejsou započítány nepřímé škody, které tento patogen způsobuje, jako je akutní odumření mladých výsadeb, nebo snížení životaschopnosti starších porostů. Je tedy žádoucí hledat nové způsoby ochrany proti tomuto patogenu i jejich metody validace.

Seznam použité související literatury

- Agathokleous, E., Belz, R. G., Kitao, M., Koike, T., & Calabrese, E. J. (2019). Does the root to shoot ratio show a hormetic response to stress? An ecological and environmental perspective. *Journal of Forestry Research*, 30(5), 1569–1580.
- Anonym. 2020. Situační a výhledová zpráva ovoce. Ministerstvo zemědělství. 93 s. ISBN 978-80-7434-576-0.
- Anonym. 2021. Distribution Maps of Plant Diseases. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from: <https://gd.eppo.int/taxon/PHYTCC/distribution> (accessed 3/2021).
- Anonym 2. 2021. Rostlinolékařský portál. Fytoftorová krčková hniloba jahodníku. Available from: http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c30a297%22#rpl|sol|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c8a8bb9 (accessed 3/2021).
- Anonym 3. 2021. Rostlinolékařský portál. Registr přípravků. Available from: <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx> (accessed 7/2021).
- Brewster DT, Spiers AG, Hopcroft DH. 1997. Biocontrol of *Phytophthora cactorum* in vitro with *Enterobacter aerogenes*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 25(1), 9-18.
- Cejp K. 1961. Houbové choroby jirín v ČSSR (Fungus diseases of dahlias in Czechoslovakia). *Česká mykologie*, 15(3), pp.169–179.
- Corcobado T, Cubera E, Moreno G, Solla, A. 2013. *Quercus ilex* forests are influenced by annual variations in water table, soil water deficit and fine root loss caused by *Phytophthora cinnamomi*. *Agricultural and forest meteorology*, 169, 92-99.
- Dušková L, Kopriva J. 2005. Pěstujeme jahody. 2., aktualiz. vyd. Praha: Grada, 78 s. ISBN 80-247-1263-6.
- Eikemo H, Klemsdal SS, Riisberg I, Bonants P, Stensvand A, Tronsmo AM. 2004. Genetic variation between *Phytophthora cactorum* isolates differing in their ability to cause crown rot in strawberry. *Mycological research*. 108(3). 317.324.
- Erwin DC, Ribeiro OK. 1996. *Phytophthora: Diseases worldwide*. APS Press. St. Paul, MN, USA.
- Gupta VK, Utkhede RS. 1987. Nutritional Requirement for Production of Antifungal Substance by *Enterobacter aerogenes* and *Bacillus subtilis* Antagonists of *Phytophthora cactorum* 1. *Journal of phytopathology*, 120(2), 143-153.
- Harant M. 1986. *Jahody*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství. 217 s.
- Hluchý M, Ackerman P, Zacharda M, Bagar V, Jetmarová E, Vanek G. 1997. *Obrazový atlas chorob a škůdců ovocných dřevin a révy vinné*. Brno: Biocont Laboratory s.r.o., 1997. s. 428. ISBN: 80-901874-2-1.
- Hudler GW. 2015. "Phytophthora cactorum". *Forest Phytophthoras of the World*. Hussain AI., Anwar F, Sherazi STH, Przybylski R. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food chemistry*, 108(3), 986-995.
- Jamieson, A. R., & Kempler, C. (2009). Strawberry genotypes differ in their ratio of shoots to roots, based on dry weight. In *Acta Horticulturae* (pp. 589–592). International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium.
- Jílek A. 2015. Soběstačnost ČR v produkci jahod je stále v nedohlednu. *Zahradnictví* 5: 14-15
- Lorito M, Harman GE, Hayes CK, Broadway RM, Tronsomo A, Woo SL, Di Pietro A. 1993. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*. Antifungal

- activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology* 83: 302–307.
- Maas JL. 1998. *Compendium of Strawberry Diseases*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota
- Nelson EB. 1988. Biological control of *Pythium* seed rot and pre-emergence damping-off of cotton with *Enterobacter cloacae* and *Erwinia herbicola* applied as seed treatments. *Plant disease* 72: 140-142.
- Osburn RM, Milner JL, Oplinger ES, Smith RS, Handelsman J. 1995. Effect of *Bacillus cereus* UW85
- Rivard C. 2007. "Phytophthora Cactorum." *Phytophthora Cactorum*. North Carolina State University, May 2007. Web.
- Seemuller DB, Mans JL. 1998. "Compendium of Strawberry Diseases." 2nd Edition.
- Slavík B. 1995. *Květena České republiky* 4. Praha: Academia. 529 s. ISBN: 80-2000384-3.
- Sus J. 1991. *Ovoce slovem i obrazem*.
- Stupar M, Grbić ML, Džamić A, Unković N, Ristić M, Jelikić A, Vukojević J. 2014. Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects. *South African Journal of Botany*, 93, 118-124.
- Utkhede RS, Smith EM. 1993. Long-term effects of chemical and biological treatments on crown and root rot of apple trees caused by *Phytophthora cactorum*. *Soil biology and biochemistry*, 25(3), 383-386.
- Vachún Z. 2004. *Ovocnictví*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 123 s.; ISBN: 80-7157-806-1.
- Wilcox WF. 1992. "Phytophthora Root and Crown Rot". New York State Integrated Pest Management Program.

Seznam publikací, které předcházely metodice

- Pánek M, Střížková I, Zouhar M, Kudláček T, Tomšovský M. (2021) Mixed-Mating Model of Reproduction Revealed in European *Phytophthora cactorum* by ddRADseq and Effector Gene Sequence Data. *Microorganisms*. 9(2):345.
- Pánek, M., Zouhar, M., Maňasová, M., Mazáková, J., Wenzlová, J. (2020) Mapa rozšíření jednotlivých genetických linií *Phytophthora cactorum* v ČR,

Jména oponentů a názvy jejich organizací

Nezávislé oponentní posudky:

- 1 posudek odborníka z daného oboru, zpracoval: Ing. Pavlína Jáklová, Ph.D., Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.
- 2 posudek ze státní správy zpracoval: RNDr. Jan Juroch, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, sekce osiv, sadby a zdraví rostlin, odd. metod monitoringu a prognóz výskytu ŠO

Dedikace

Tato metodika vznikla v rámci řešení projektu Národní agentury zemědělského výzkumu Mze, č. QK1710377 Ochrana jahodníku před rostlinnými patogeny rodu *Phytophthora*.

Přílohy k certifikované metodice

uzavřená smlouva s firmou

Bc. Milan Hanč

Se sídlem Vraňany 230, 277 07, Mělník

IČO: 68280572