



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

VUOS a.s.

**Metodika technologie ochrany jahodníku
z hlediska rezistence *Botrytis cinerea*
k fungicidům a minimalizace reziduí
v plodech**

Pavλίna Jaklová a kol.



CERTIFIKOVANÁ
METODIKA
2021



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

**METODIKA TECHNOLOGIE OCHRANY
JAHODNÍKU Z HLEDISKA REZISTENCE
BOTRYTIS CINEREA K FUNGICIDŮM
A MINIMALIZACE REZIDUÍ V PLODECH**

Pavλίna Jaklová a kol.



CERTIFIKOVANÁ METODIKA

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.
2021

Autoři: Ing. Pavlína Jaklová, Ph.D.; Mgr. Michaela Kracíková; RNDr. Petra Lišková, Ph.D., Ing. Marián Varga; RNDr. Aneta Bílková; Ing. Pavol Suran
VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ
HOLOVOUSY s.r.o., Holovousy 129, 508 01 Hořice

Ing. Zora Nývltová, Ing. Jiří Kwiecien Ph.D., Ing. Lenka Portychová
VUOS a.s., Rybitví 296, 533 54 Rybitví

Název: Metodika technologie ochrany jahodníku z hlediska rezistence
Botrytis cinerea k fungicidům a minimalizace reziduí v plodech

Vydal: VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ
HOLOVOUSY s.r.o., Holovousy 129, 508 01 Hořice
Vydáno v roce 2021

Dedikace: Certifikovaná metodika vznikla za finanční podpory Technologické
agentury ČR, je výstupem řešení projektu TAČR TJ02000098 –
Monitoring citlivosti populací *Botrytis cinerea* k fungicidům ve
vztahu k inovaci integrované ochrany jahodníku, obsahu reziduí
a skladování.

Korektura: Mgr. Erika Hanáčková

Foto: Ing. Pavlína Jaklová, Ph.D., Mgr. Michaela Kracíková

Odborný mentor: Ing. Jana Mazáková, Ph.D.

Odborný oponent

z oboru: Ing. Jana Kloutvorová, Ovocnářská unie České republiky

Oponent

ze státní správy: RNDr. Jan Juroch, Ústřední a kontrolní ústav České republiky

Kontakt na vedoucího autorského kolektivu: pavlina.jaklova@vsuo.cz

Další informace: Ministerstvo zemědělství ČR schválilo publikaci jako certifikovanou
metodiku a doporučilo ji pro využití v zemědělské praxi.

OBSAH

ANOTACE.....	7
ANNOTATION.....	7
1 ÚVOD	9
2 CÍL METODIKY	9
3 JAHODNÍK (<i>Fragaria</i> × <i>anannasa</i>)	10
3.1 Nároky na stanovištní podmínky.....	10
3.2 Pěstitelské technologie.....	10
3.3 Výsadba.....	11
3.4 Ošetřování jahodníku po výsadbě	11
3.5 Výběr odrůdy a typu sadby	11
3.6 Sklizeň.....	12
4 PATOGEN <i>Botrytis cinerea</i>	13
4.1 Původce.....	13
4.2 Příznaky.....	14
4.3 Vývojový cyklus.....	15
4.4 Ochrana.....	15
5 REZISTENCE <i>Botrytis cinerea</i> K FUNGICIDŮM.....	16
5.1 Definice rezistence patogenu k fungicidům	16
5.2 Přehled typů rezistence k fungicidům	16
5.2.1 Kvalitativní rezistence.....	16
5.2.2 Kvantitativní rezistence	17
5.2.3 Křížová rezistence	17
5.2.4 Mnohonásobná rezistence	17
5.3 Problematika rezistence <i>B. cinerea</i> k fungicidům v jahodníku.....	18
5.4 Hlavní ohrožené skupiny fungicidů používané k ochraně jahodníku	18
5.4.1 AP fungicidy (Anilino-Pyrimidines)	18
5.4.2 QoI fungicidy (Quinone Outside Inhibitors).....	19
5.4.3 KRI fungicidy (Ketoreductase Inhibitors)	20
5.4.4 SDHI fungicidy (Succinate-dehydrogenase Inhibitors).....	20
5.5 Antirezistentní strategie	22
5.5.1 AP fungicidy (Anilino-Pyrimidines)	22
5.5.2 QoI fungicidy (Quinone Outside Inhibitors).....	22
5.5.3 SDHI fungicidy (Succinate-dehydrogenase Inhibitors).....	23

5.5.4 KRI fungicidy (Ketoreductase Inhibitors)	23
5.6 Monitoring rezistence <i>B. cinerea</i>	24
6 PROBLEMATIKA REZIDUÍ PESTICIDŮ V PLODECH JAHODNÍKU	26
7 TECHNOLOGIE SKLADOVÁNÍ PLODŮ JAHODNÍKU	28
8 VLASTNÍ POPIS METODIKY	31
8.1 Sledování dynamiky degradace reziduí pesticidů v plodech jahodníku.....	31
8.2 Testované pesticidy	32
8.3 Výsledky hodnocení napadení plodů houbou <i>B. cinerea</i>	36
8.3.1 Polní pokus	36
8.3.2 Skladovací pokus.....	37
8.4 Výsledky pomologického hodnocení plodů v rámci skladovacích pokusů.....	39
8.5 Optimalizace analytických metod a monitoring rozpadu pesticidů v plodech jahodníku.....	43
8.5.1 Homogenizace vzorků.....	43
8.5.2 Extrakce analytů.....	44
8.5.3 LC/MS/MS analýza.....	44
8.5.4 Validace analytické metody	44
8.6 Výsledky Sledování degradace reziduí v různých systémech ošetřování a termínech sklizně.....	44
8.7 Výsledky Sledování degradace reziduí v různých systémech skladování	50
9 MONITORING CITLIVOSTI POPULACÍ <i>B. cinerea</i> K FUNGICIDŮM V ČR	53
9.1 Odběr vzorků napadených plodů jahodníku.....	53
9.2 Izolace čistých <i>in vitro</i> kultur <i>B. cinerea</i> z odebraných vzorků	54
9.3 Příprava suspenze spor izolátů pro vlastní testy	54
9.4 Metodika dle Weber & Hahn (2011) – „Rychlá metoda testování rezistence <i>B. cinerea</i> “	55
9.5 Metodika FRAC - BOTRCI microtiter monitoring method BASF 2009 V2 (QOI, SDHI fungicidy).....	59
10 SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ	64
11 POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY	64
12 EKONOMICKÉ ASPEKTY	64
13 PŘÍLOHY.....	66
14 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	69
15 SEZNAM PUBIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE.....	77

ANOTACE

Předkládaná metodika uvádí rešerši o tématech: pěstování jahodníku, patogen *Botrytis cinerea*, rezistence patogenu *B. cinerea* k fungicidům, technologie skladování plodů jahodníku a rezidua pesticidů v plodech jahodníku. Na dvouletém maloparcelkovém polním pokusu dále metodika představuje možnosti ochrany proti *B. cinerea* a jejich vyhodnocení, technologie skladování jahod a vyhodnocení testovaných variant, postupy ke stanovení reziduí v plodech a postupy ke stanovení rezistence *B. cinerea* k vybraným fungicidním látkám a výsledky monitoringu na území ČR. Metodika vznikla jako realizační výstup výzkumného projektu podporovaného Technologickou agenturou České republiky (TAČR) č. TJ02000098 „Monitoring citlivosti populací *Botrytis cinerea* k fungicidům ve vztahu k inovaci integrované ochrany jahodníku, obsahu reziduí a skladování“.

ANNOTATION

The presented methodology provides research on the following topics: strawberry growing, pathogen *Botrytis cinerea*, resistance of pathogen *B. cinerea* to fungicides, storage technologies of strawberry fruit and pesticide residues in strawberry fruit. It also presents the possibilities of protection against *B. cinerea* and their evaluation and efficacy, new storage technologies of strawberries and evaluation of tested variants, procedures for determination of residues in strawberry fruit and procedures for determination of resistance of *B. cinerea* to selected fungicides and monitoring of sensitivity/resistance in Czech Republic. The methodology was created as an implementation output of a research project supported by the Technology Agency of the Czech Republic (TAČR) No. TJ02000098 „Monitoring the susceptibility of *Botrytis cinerea* to fungicides in relation to innovations of integrated strawberry protection, residue content and storage“.

1 ÚVOD

V České republice se jahodník v současnosti pěstován na cca 500 ha ploch zemědělských plodin. Pro všechny konvenční pěstitele je od 1. 1. 2014 legislativou stanovená povinnost dodržovat zásady integrované ochrany rostlin (definované vyhláškou č. 205/2012) zahrnující jak principy přímé ochrany proti škodlivým organismům, tak i zásady nepřímých ochranných opatření.

Jedním z cílů současné zemědělské produkce je omezovat vstupy cizorodých látek, zejména pesticidů, a předcházet tak riziku přechodu těchto kontaminantů do potravinového řetězce. Tento důvod spolu s problémy, které přináší selekce kmenů houbových patogenů s nižší citlivostí k používaným fungicidům a nástup rezistence, vedou k tomu, že jsou stále hledány další postupy, které by ochranu proti škodlivým organismům zefektivnily a eliminovaly nežádoucí vstupy. Přestože je na jahodník pohlíženo jako na minoritní plodinu, konzumace tohoto ovoce přináší lidskému organismu řadu nutričně významných látek. Stále se zvyšující nároky konzumentů na vzhled ovoce, jakost, velikost, způsob balení, dostupnost po co nejdélejší období, čerstvost a v neposlední řadě bezpečnost produktu, staví před české pěstitele nelehký úkol, a to dostát všem těmto požadavkům a udržet si tak konkurenceschopnost na českém trhu. Předkládaná metodika řeší některé klíčové aspekty technologie produkce jahod se zvláštním zřetelem na minimalizaci reziduí v plodech a technologii skladování. Díky stanovení citlivosti hospodářsky nejzávažnějšího patogenu jahodníku – *Botrytis cinerea* k vybraným fungicidním látkám tak lze zajistit cílenější ochranu, vyšší intenzifikaci, zkvalitnění produkce a její rentabilitu a minimalizovat rizika výskytu kontaminantů v ovoci i v životním prostředí.

2 CÍL METODIKY

Cílem metodiky je seznámit pěstitele, skladovatele a další případné uživatele s metodami a výsledky pokusů, které byly provedeny v rámci výzkumného projektu. Na základě získaných výsledků je podáno doporučení vhodných technologických postupů integrované ochrany jahodníku a technologií skladování. Součástí metodiky je stručné seznámení s jednotlivými problematikami: pěstování jahodníku, bionomie patogenu *B. cinerea*, rezistence patogenu *B. cinerea* k fungicidům, technologie skladování plodů jahodníku a rezidua pesticidů v plodech jahodníku.

Dílčí cíle metodiky:

- Zjistit účinnost navržených systémů ochrany a různých technologií skladování proti *B. cinerea*.
- Optimalizovat analytické metody stanovení reziduí pesticidů v plodech jahodníku.
- V závislosti na navržených systémech ochrany jahodníku zjistit množství a dynamiku rozpadu reziduí v jednotlivých termínech sklizně.

- Zjistit vliv moderních skladovacích technologií na parametry jako hmotnost, penetrace a obsah refraktometrické sušiny jahod a stanovit, zda mají vliv i na dynamiku rozpadu reziduí.
- Optimalizovat laboratorní metody stanovení citlivosti/rezistence *B. cinerea* k vybraným fungicidním látkám.
- Provést monitoring citlivosti *B. cinerea* k vybraným fungicidním látkám na území ČR.

3 JAHODNÍK (*Fragaria* × *anannasa*)

Z botanického hlediska řadíme jahodník do čeledě *Rosaceae* a do rodu *Fragaria*. Jahodník je vytrvalá rostlina, listy jsou trojčetné, ozubené s krátkými řapíky a s přilehlými chlupy. Oboupohlavný květ je samosprašný. Plátky korunové, počtem pěti, jsou okrouhlé nebo vejčité, rozložené, dotýkají se svými kraji, zřídka se ale kryjí. Tyčinek bývá 20, někdy i více. Na českém území byly jahody od nepaměti sbírány v lesích, na pasekách, loukách nebo se pěstovaly v blízkosti lidských sídel. Jednalo se především o jahodník obecný neboli lesní *Fragaria vesca* L., který je v ČR původní a hojně se vyskytuje téměř na celém území. Velkoplodý druh jahodníku, *Fragaria x ananassa*, který je dnes pěstován v zahradách a na polích, vděčí za svůj vznik z Chile přinesenému druhu *Fragaria chiloensis* (L.) Mill, který byl opylený pylem z americké *Fragaria Virginiana* Mill v 18. století ve Francii.

3.1 NÁROKY NA STANOVIŠTNÍ PODMÍNKY

Jahodník je pěstován téměř ve všech oblastech, protože je dost mnohotvárným ovocným druhem. Při respektování nároků odrůdy na světlo a teplo poskytuje uspokojivé výnosy a kvalitu plodů i v oblastech vyšších než 500 m n. m., při průměrné roční teplotě 7 °C. V takových podmínkách je sice sklizeň až o 3 týdny pozdější ve srovnání s nížinami, ale i v těchto podmínkách jsou jahody nejranějším ovocem (Blažek, 1998).

3.2 PĚSTITELSKÉ TECHNOLOGIE

Polní výsadba – výsadba je prováděna přímo do půdy, kde je porost následně ošetřován za použití herbicidů, nebo se rostliny vysazují za použití černé netkané mulčovací fólie. Výsadba za použití fólie má řadu výhod, a to zejména udržení bezplevelného okolí rostlin, vyšší čistotu plodů, nižší výskyt patogenu *B. cinerea* a časnější zrání plodů. Nevýhodou jsou vyšší náklady na fólii, pracnost při zakládání výsadby a také nutné odstranění fólie z půdy po skončení pěstitelského procesu. Polní výsadby jsou vysazovány jako jedno nebo častěji dvouřádkové, a to buď v rovině, nebo na vyvýšených hrůbcích. Zavlažování je prováděno na většině komerčních ploch, a to za využití kapkových závlah, zřídka rozstřikem.

Substrátová kultura na stolech – jahody pěstované pod fóliovými kryty na stolech přinášejí pěstiteli řadu výhod, a to zejména rozšíření sezóny sběru (od dubna až

do října), vyšší výnos, více sklizní za sezónu a také lepší efektivitu sběru. Při sběru u tohoto typu pěstování mají sběrači výkon až 60 kg za hodinu, což je ve srovnání se sběrem na poli až pětkrát větší výkon. Při tomto typu výsadby musí pěstitel počítat s vyššími nároky na sadbu, a to až 10 rostlin na metr. Mimo jiné kryté výsadby v plastových tunelech poskytují ochranu rostlin proti nežádoucím vlivům počasí, jako jsou např. kroupy, vítr a mráz. Další výhodou v porovnání s nekrytou polní výsadbou je udržení listů a plodů v suchém stavu, což minimalizuje vhodné podmínky pro infekci jahodníku houbovými patogeny (Podymniak, 2019).

3.3 VÝSADBA

Výsadba jahodníku je prováděna ve dvou termínech, a to na jaře nebo na podzim. Termín výsadby volíme podle typu výsadbového materiálu. Pokud zvolíme tradiční zelené sazenice, realizujeme podzimní termín výsadby. Optimální termín výsadby je od 20. července do 20. srpna. Tento termín lze dodržet pouze v dostatečně zavlažovaných výsadbách. Proto jsou v nižších a středních polohách vysazovány jahodníky až v září, a to kvůli vyšším srážkám. Na jarní termín výsadby volíme hlavně chlazenou sadbu – tzv. frigo sadbu. Tato sadba se používá hlavně na výsadbu jahodových plantáží (Hlušek, 2018).

3.4 OŠETŘOVÁNÍ JAHODNÍKU PO VÝSADBĚ

Po výsadbě je především nutné poskytnout rostlinám častou závlivku a udržovat půdu v bezplevelném stavu. Důležitou prací v předjaří je u starších porostů odstranění starých suchých listů. Cílem je odstranění primárních inokul (především původce plísně šedé) přezimujících na starých listech a také vytvoření prostoru k asimilaci pro nové listy.

3.5 VÝBĚR ODRŮDY A TYPU SADBY

Odrůdy se podle doby dozrávání dělí na rané, mezi které patří například 'Elsanta' nebo hojně pěstovaná 'Honeoye', nebo polorané, jako jsou 'Karmen', 'Polka', 'Senga Sengana', a pozdní, mezi které patří 'Bounty' či 'Florence'. Podle typu plození dělíme jahody na jednu plodící, mezi které patří většina pěstovaných odrůd, nebo remontantní, které plodí poprvé na začátku léta a následně ještě jednou, a to od konce léta až do pozdního podzimu. Mezi tyto odrůdy můžeme zařadit odrůdy 'Calypso', 'Everest', 'Evita' a 'Lidka'. Kromě těchto dvou typů máme také jahody měsíční, které plodí v krátkých intervalech od května až do srpna. Jejich plody ale nedosahují velikosti předchozích dvou typů. Patří mezi ně například odrůda 'Rujana'.

Sazenice jahodníku jsou pěstiteli dodávány v různých kategorizovaných typech. Nejčastějším typem sadby u velkopěstitelů je tzv. frigo sadba. Při výrobě frigo sazenic se rostliny jahodníku vyryjí z půdy v době vegetačního klidu (listopad až prosinec) odlistěné a od půdy očistěné se uloží v chladírně při teplotě kolem 0 až -2 oC (Richter,

2004). Pěstitelům jsou distribuovány v březnu a samotná výsadba nastává od dubna do I. dekády června. V posledních letech nabízí stále více školkařských podniků frigo sazenice v různých třídách kvality, a to v závislosti na průměru růžice sazenice v milimetrech na třídy A++, A+, A, A-, B (Zwierzyński, 2019). K letní výsadbě jahod jsou pěstitelům k dispozici tzv. záhonové sazenice (angl. Waiting bed) nebo sazenice typu PLUG. Velkou popularitu si v poslední době získávají sazenice frigo s kořenovým balem (angl. tray plants), ty dělíme podle velikosti kořenového obalu na *mini tray*, *medium* a *heavy tray* (Werner, 2019).

Při výběru jakékoli sazenice by mělo být samozřejmostí označení původu sazenic a také rostlinolékařská certifikace. Jahodník patří mezi plodiny, které dokážou velmi efektivně přenášet ze školky na trvalé stanoviště původce různých onemocnění, a to zejména původce fytoftorové hniloby kořenů, ale také i různé viry či fytoplazmy (Skwiercz, 2019).

3.6 SKLIZEŇ

Sklizeň jahod bývá zajišťována pomocí sezónních pracovníků a vyžaduje 1500–1700 hodin práce na jeden hektar pěstitelských ploch. V příměstských regionech je při sklizni stále častěji využíván samosběr. Při sklizni lze využít také mechanizace, a to zejména sklízecí vozíky poháněné ručně nebo motorem, nebo lze také využít sklízecí plošiny. Trend do budoucna představují plně automatické sklizeče, které pomocí senzorů a kamer dokážou rozpoznat zralý plod a pomocí robotických ramen daný plod šetrně sklídit (Hlušek, 2018).

Získané poznatky z produkčních výsadeb a porovnávacích pokusů u nás i v zahraničí jednoznačně poukazují na prospěšnost posečení listů po sklizni v některých případech, a to především ve starších výsadbách (v druhém až třetím roce po výsadbě) a v porostech, ve kterých je listová plocha poškozená původci skvrnitostí listů. K tvorbě květních puků je potřebný dostatek asimilátů, které se vytvářejí v listech a v ostatních zelených částech rostliny. Staré a poškozené listy produkují těchto látek méně než nově vytvořené mladé listy. Tím zdůvodňujeme zvýšení úrodu a velikosti plodů v následujícím roce po sežnutí listů po sklizni jahod. Na to, aby odstranění listů po sklizni příznivě působilo na budoucí úrodu, je potřebné listy skosit ihned po sklizni.

Tabulka 1. Pěstování jahodníku v České republice

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Výměra (ha)	1 789	1 643	1 779	1 688	1 878	1 816	1 823
Sklizeň (t)	7 190	7 969	10 331	9 691	9 271	8 257	6 822

Zdroj: ČSÚ (Poznámka: údaje za zemědělský sektor s dopočtem sektoru domácností)

Tabulka 2. Produkční pěstování jahodníku v České republice

	2015	2016	2017	2018
Celková sklizeň (t)	3 346	3 507	2 827	2 355
Průměrný výnos t/ha	5,59	4,81	4,11	3,22

Pramen: MZE

Tabulka 3. Spotřeba čerstvých jahod v České republice

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Kg/os./rok	2,8	2,8	3,0	2,4	2,7	2,7	2,5	2,5	2,4

Zdroj: ČSÚ

4 PATOGEN *Botrytis cinerea*

Šedá hniloba jahod *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel, 1945 (teleomorfa)
Botrytis cinerea Pers., 1794 (anamorfa)

Tabulka 4. Taxonomické zařazení houby *B. cinerea* (Mycobank, 2020)

Podříše	<i>Dikarya</i>
Doména	<i>Eukaryota</i>
Říše	<i>Fungi</i>
Oddělení	<i>Ascomycota</i>
Podkmen	<i>Pezizomycotina</i>
Třída	<i>Leotiomycetes</i>
Podtřída	<i>Leotiomycetidae</i>
Řád	<i>Helotiales</i>
Čeleď	<i>Sclerotiniaceae</i>
Rod	<i>Botrytis</i>
Druh	<i>Botrytis cinerea</i>

4.1 PŮVODCE

Šedá hniloba jahod (plíseň šedá) je hospodářsky nejzávažnějším onemocněním jahod, které je celosvětově rozšířené a dobře známé onemocnění. V letech příznivých pro rozvoj napadení může způsobit významné ztráty na výnosu, a to zejména u náchylnějších odrůd. Chorobu způsobuje houba *Botrytis cinerea*, která je polyfágním patogenem napadajícím řadu kulturních i planých rostlin. K epidemickému výskytu ve výsadbě může za vlhkých podmínek docházet již na jaře, v průběhu květu

jahodníku. Pravidelně se však s touto chorobou setkáváme ve větším měřítku v průběhu dozrávání plodů. Další hospodářské škody toto onemocnění způsobuje v průběhu skladování a transportu od pěstitele ke spotřebiteli (Kloutvorová et al., 2019).

4.2 PŘÍZNAKY

Typické příznaky se objevují na dozrávajících či zralých plodech. Patogen také napadá za vhodných podmínek čepele a řapíky listů, stopky květů, květy a nezralé plody. V průběhu vlhkého a studeného jara se příznaky mohou objevit v období kvetení ve stadiu zeleného, bílého až růžového poupěte a na rostlinných orgánech poškozených jarními mrazíky. Květy jsou nejvíce náchylné k napadení zejména 2–3 dny po jejich otevření. Poškození na řapících a stopkách květů se projevuje jako šedohnědé ohraničené protáhlé skvrny, květy hnědnou a zasychají. Počáteční infekce plodů se nejčastěji vyskytuje v blízkosti kalicha a u pletiv, které jsou v blízkosti napadených částí. Napadené pletivo se nejprve zbarví do světle hněda. Léze na nezralých plodech se vyvíjí velmi pomalu, mladé plody se deformují a zaschnou dříve než dosáhnou sklizňové zralosti. Plody zrající a zralé měknou a hnijí (Maas, 1998). Hlavní ekonomické ztráty vznikají na zralých a dozrávajících plodech, na nichž se objeví hnědé neohraničené plochy hnijícího pletiva, které se v krátké době rozšíří na celý plod. Na povrchu těchto skvrn se brzy po napadení vytváří nejprve stříbřitě šedý, později tmavošedý povlak houby s konidiofory a prášivými konidiiemi, kterými se patogen dále šíří v porostu. Konidie jsou roznášeny větrem a dešťovými srážkami. Odumírající rostlinné orgány jsou zdrojem mycelia a následné infekce (Kloutvorová et al., 2019).

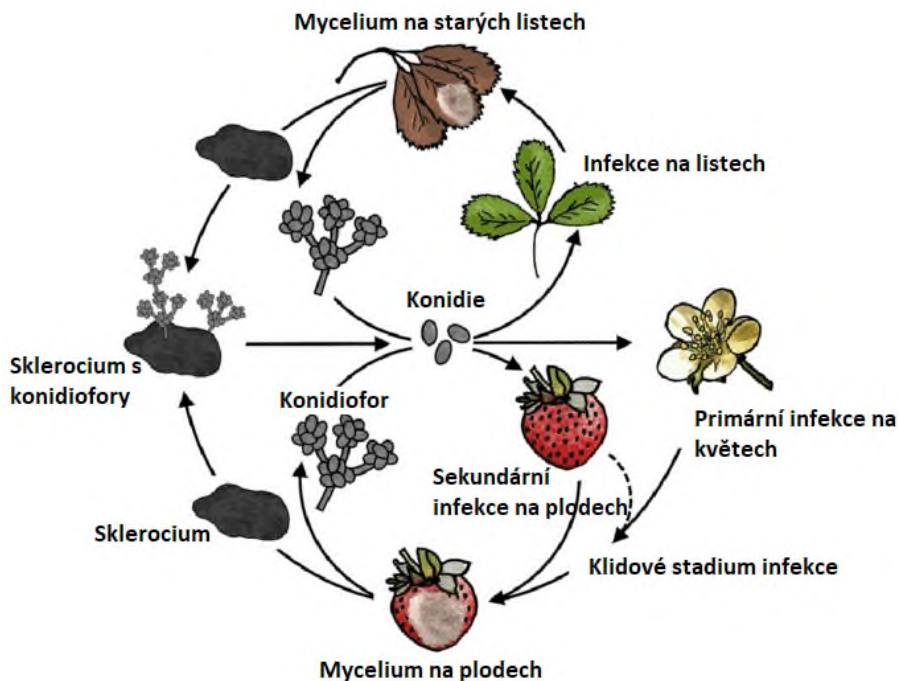
Obrázek 1. Symptomy způsobené *B. cinerea* na plodech jahodníku, viditelné sporující mycelium



4.3 VÝVOJOVÝ CYKLUS

Epidemiologie *B. cinerea* je charakteristická kontinuálními infekčními cykly na vegetativních částech rostliny a jedním nebo více infekčními cykly na květech a plodech, polycykličnost je i v rámci celého porostu jahodníku. Listy, které jsou poškozeny mrazíky, v průběhu sklizně atd. jsou primárním zdrojem konidií, které poté infikují květy a plody. Houb- primárním zdrojem infekce jsou rostlinné zbytky, na kterých patogen přežívá do následující vegetační sezóny jako saprofytv podobě mycelia či sklerocií, primární inokulum také tak pochází z mycelia nebo sklerocií z oněch posklizňových zbytků. Hnilobu květů a plodů podporují teploty mezi 15–25 °C a dlouhé periody vysoké vzdušné vlhkosti nebo delší vlhčení v průběhu květu. Pro infekce květů při rozmezí teplot 15–25 °C je při 90% vzdušné vlhkosti zapotřebí doba ovlhčení od 6 do 24 hodin a k infekci nedochází při 4 °C. Uvádí se, že k proniknutí do hostitele stačí za příznivých podmínek 3 hodiny (Maas, 1998).

Obrázek 2. Vývojový cyklus *B. cinerea* (Petrasch et al., 2019)



4.4 OCHRANA

Integrovaná ochrana ovoce proti houbovým chorobám zahrnuje komplexní soubor preventivních ochranných opatření, přímých a nepřímých metod ochrany, která zahrnují agrotechnické zásahy, ošetření pesticidy i použití biologické ochrany.

K preventivním opatřením patří například výběr vhodného stanoviště a především střídání pozemků. Nevhodným stanovištěm jsou například půdy šterkovité, studené, jílovité a podmáčené, ve kterých jahodník často trpí chorobami kořenového systému. Výskyt houbových onemocnění ovlivňuje také spon a hustota výsadby. Zásadním preventivním opatřením je výběr odolných odrůd. Z přímých ochranných opatření má pak zásadní význam výběr a aplikace fungicidů (Kloutvorová *et al.*, 2019).

Chemickou ochranu je vhodné provádět již v období květu kvůli omezení infekčního zdroje a následně pokračovat v závislosti na vývoji počasí až do období před sklizní (s ohledem na ochranné lhůty použitých fungicidů). Na počátku sklizně nebo v době mezi sklizněmi lze v případě potřeby využít s výhodou např. biologický přípravek, který nezanechává v plodech rezidua. Houba *B. cinerea* je schopna si vytvářet rezistenci proti dlouhodobě používaným pesticidům, přípravky je proto třeba v rámci postřikového sledu střídat.

5 REZISTENCE *Botrytis cinerea* K FUNGICIDŮM

5.1 DEFINICE REZISTENCE PATOGENU K FUNGICIDŮM

Rezistence k fungicidu je stabilním, dědičným přízpusobením patogenu vznikajícím během evolučních procesů, které vede ke snížení citlivosti k fungicidu. Výsledkem evolučních procesů je genetická mutace jednoho nebo několika genů současně, která dává patogenu schopnost překonat účinek fungicidu. Opakované použití fungicidu vyvíjí selekční tlak na populaci patogenu, který zahubí původní citlivé jedince, ale nezahubí přízpusobené (mutantní) jedince v populaci, což má za následek jejich rozšíření v populaci. Fungicid ztratí účinnost a v praxi takovou situaci označíme jako rezistenci patogenu k přípravku (Anonym 1, 2020). Systémové a translaminární fungicidy jsou obecně náchylnější ke vzniku rezistence více než kontaktní fungicidy, jelikož mají specifické („single site“) místo účinku, což znamená, že působí pouze na jeden určitý biochemický proces v metabolismu patogenu (inhibice biosyntézy ergosterolu, inhibice buněčného dýchání apod.) (McGrath, 2001).

5.2 PŘEHLED TYPŮ REZISTENCE K FUNGICIDŮM

5.2.1 Kvalitativní rezistence

Je-li rezistence patogenu k některým fungicidům zapříčiněna modifikací jednoho major genu (tzv. gen velkého účinku), jedná se o tzv. monogenně založenou rezistenci a dochází k úplnému snížení účinnosti fungicidu. Rezistentní jedinci mají vysokou fitness/ konkurenceschopnost a nejsou účinné ani vyšší dávky fungicidu či jeho častější aplikace. Rezistence je tak velmi stabilní, po vyloučení selekčního tlaku zůstává populace dlouhodobě rezistentní a po opětovném užití fungicidů se vrací na původní úroveň. Tento typ rezistence se vyskytuje například k benzimidazolovým fungicidům (účinné látky benomyl, thiophanate-methyl) nebo u látek ze skupiny QoI (strobiluriny). Kvalitativní rezistence nastává v důsledku konformační změny cílového místa fungicidu u patogenu (McGrath, 2001; Wyenandt *et al.*, 2008). Tato

jednobodová mutace způsobuje jedinou aminokyselinou změnu v cílovém proteinu, která je zodpovědná za vysokou úroveň rezistence (Brent & Hollomon, 2007b).

5.2.2 Kvantitativní rezistence

Pokud je vznik rezistence důsledkem modifikace několika interagujících genů, patogen vykazuje různý rozsah citlivosti k fungicidu v závislosti na počtu změněných genů (mutaci). Rozdíly v citlivosti v rámci populace jsou kontinuální. Rezistence je v tomto případě vnímána jako snížení účinnosti fungicidu. Zvýšení účinnosti fungicidů může být pozorováno při použití buď vyšších dávek, či při jejich častější aplikaci. Tento typ rezistence je častý u tzv. „multi-site“ fungicidů, které zasahují více míst v metabolismu patogenu, pokud se u něj objeví současně několik mutací. Tento typ rezistence je znám například u skupiny DMI fungicidů (inhibitory demetylace) (McGrath, 2001).

5.2.3 Křížová rezistence

Fungicidy, které mají stejný biochemický mechanismus účinku a náleží do stejné chemické skupiny fungicidů, jsou náchylné ke vzniku tzv. křížové (cross) rezistence. Když dva různé fungicidy mají stejný mechanismus účinku, patogen fungicidy nerozlišuje. A to i v případě, obsahuje-li každý jinou účinnou látku a jejich chemická struktura je odlišná. Patogen je biochemicky považuje za tutéž účinnou látku. Tudíž když je patogen rezistentní k jednomu fungicidu z určité chemické skupiny, projeví se rezistence i k ostatním fungicidům oné chemické skupiny. V mnoha případech rezistentní kmeny patogenů ke QoI fungicidům (strobilurinové fungicidy) bývají rezistentní ke všem QoI fungicidům. Cross rezistence se vyskytuje pouze v rámci dané chemické skupiny. Z tohoto důvodu musí být QoI-rezistentní subpopulace regulována jinými fungicidy nevyskytujícími se ve třídě QoI inhibitorů (Vincelli, 2002).

5.2.4 Mnohonásobná rezistence

Některé kmeny patogenů si vyvinuly zvláštní mechanismy rezistence ke dvěma nebo více fungicidům z různých chemických skupin. Ty vyplývají z nezávislých mutací, které jsou selektovány expozicí ke každému z použitých fungicidů. Příčinou vzniku vícenásobné rezistence je nadměrné používání rizikových fungicidů z různých chemických skupin a zároveň nejsou využívány principy správné antirezistentní strategie. Tento typ rezistence se vytváří zejména u patogenů s velmi rychlým vývojem a s rychlými opakovanými infekčními cykly, což si vyžaduje velmi intenzivní a časté chemické zásahy. Příkladem je výskyt kmenů houby *Botrytis cinerea*, které se staly rezistentní k účinným látkám benzimidazol a dikarboximid (Brent & Hollomon, 2007b).

5.3 PROBLEMATIKA REZISTENCE *B. CINEREA* K FUNGICIDŮM V JAHODNÍKU

V České republice je pro chemickou ochranu jahodníku proti houbovým chorobám v současnosti registrována celá řada fungicidů. Je potřebné, aby bylo spektrum přípravků povolených k ochraně proti *B. cinerea* co nejšířší a umožňovalo tak střídání aplikovaných fungicidů v rámci postřikového sledu jako důležitý prvek antirezistentní strategie (Kloutvorová *et al.*, 2018). Patogen *B. cinerea* je považován za organismus s vysokou schopností vytvářet si rezistenci k dlouhodobě používaným účinným látkám. Ošetření fungicidy je primárním nástrojem regulace houbových patogenů jahodníku a i přes pravidelně prováděnou chemickou ochranu dochází každoročně k selhání chemické ochrany v některých výsadbách. Neuspokojivé výsledky aplikovaných ochranných opatření mohou být způsobeny celou řadou faktorů. Jednou z nejběžnějších příčin je nepříznivý vývoj počasí a silný infekční tlak choroby. Intenzivní používání fungicidů má za následek více či méně rychlý rozvoj rezistence a tím i pokles citlivosti patogenu. Zahraniční studie potvrzují selekci rezistentních populací houby *B. cinerea* k celé řadě účinných látek (Pappas, 1997; Leroux *et al.*, 2002; Diánez *et al.*, 2002; Leroch *et al.*, 2013, Fernández-Ortuño, 2014), např. k účinné látce fenhexamid, která je v současnosti významně využívána v produkčních výsadbách (Fillinger *et al.*, 2008; Weber, 2010; Mercier *et al.*; 2010; Billard *et al.*, 2011; Grabke *et al.*, 2013; Leroch *et al.*, 2013). Na území České republiky byly již zjištěny průkazné rozdíly v citlivosti *B. cinerea* k účinným látkám iprodion, pyraclostrobin a pyrimethanil. Izoláty *B. cinerea* byly nejméně citlivé k pyrimethanilu a nejvíce citlivé k pyraclostrobinu. Přesto se však objevilo přibližně 20 % izolátů vykazujících vyšší úroveň rezistence, ke každé z testovaných látek (Brožová *et al.*, 2018). Tyto poznatky jsou důvodem, proč je potřebné sledování vzniku a vývoje rezistence a zmapování současného stavu citlivosti populací *B. cinerea* k vybraným fungicidům v hlavních pěstitelských oblastech jahodníku v ČR. K ochraně jahodníku proti houbovým chorobám jsou v ČR zejména používány AP fungicidy (anilinopyrimidiny), QoI fungicidy (Qo inhibitory), KRI fungicidy (Inhibitory ketoreduktázy) a SDHI fungicidy (Inhibitory sukcinátdehydrogenázy). Selhání chemické ochrany se projevuje především zkrácením preventivní účinnosti a ztrátou kurativní účinnosti.

5.4 HLAVNÍ OHROŽENÉ SKUPINY FUNGICIDŮ POUŽÍVANÉ K OCHRANĚ JAHODNÍKU

5.4.1 AP fungicidy (Anilino-Pyrimidines)

Anilinopyrimidiny (AP) byly uvedeny na trh na začátku 90. let 20. století a jsou to velmi účinné fungicidy proti širokému spektru houbových patogenů. Z této chemické skupiny jsou v České republice využívány proti *B. cinerea* v jahodníku účinné látky cyprodinyl a pyrimethanil (Anonym 2, 2020). Cílovým místem účinku těchto fungicidů je syntéza aminokyselin a proteinů. Mechanismus účinku spočívá konkrétně v inhibici biosyntézy methioninu a druhý mechanismus účinku spočívá

v inhibici sekrece hydrolytických enzymů štěpící buněčné stěny hostitele. AP fungicidy vykazují v rámci své chemické skupiny křížovou rezistenci. Potenciální příčinou rezistence houbových patogenů k AP fungicidům je mutace v regulaci biosyntézy methioninu (*cgs* gen), případně alternativní mechanismy jako je nadměrná exprese genu nebo vylučování fungicidu z buňky transmembránovými přenašeči. Mechanismus rezistence u *B. cinerea* je založen jak na mutacích cílového místa, tak zejména na zvýšeném vylučování fungicidu pomocí membránových přenašečů, jedná se o tzv. MDR (multidrug resistance) transportérů. Tento mechanismus je způsoben mutacemi vedoucími k nadměrné expresi ABC nebo MFS typů přenašečů. U *B. cinerea* jsou hlavními typy MDR1, MDR2 a MDR3, které výrazně snižují citlivost nejen k anilinopyrimidinům, ale i k SDHI, QoI a carboxamidovým fungicidům. Tento mechanismus je hlavně problémem při ošetřování proti *B. cinerea* v porostech jahodníku, kdy je aplikováno několik postřiků fungicidy v průběhu sezóny a není k dispozici dostatek látek k prostrídání, což vede k silnému selekčnímu tlaku na populaci patogenu a ke vzniku multirezistentních kmenů (Ishhii & Hollomon, 2015).

5.4.2 QoI fungicidy (Quinone Outside Inhibitors)

QoI fungicidy inhibují mitochondriální respiraci a ovlivňují tak tvorbu energie potřebnou pro buňku patogenu. Cílové místo účinku fungicidu je respirační řetězec, kde blokují elektronový transport v místě oxidace chinolu (tzv. Qo centrum) v cytochromu bc1 na úrovni komplexu III, kde se vážou na ubichinol oxidoreduktázu, což má za následek sníženou produkci ATP. Tyto fungicidy jsou účinné proti širokému spektru rostlinných patogenů, včetně zástupců všech tří důležitých oddělení rostlinných patogenů: Ascomyceta, Basidiomyceta a Oomyceta (Anonym 3, 2020). Existují mutace spojené s rezistencí ke QoI fungicidům. Byly zjištěny tři substituce aminokyselin v genu cytochromu b, jsou to: změna z glycinu na alanin v pozici 143 (G143A), změna z fenylalaninu na leucin v pozici 129 (F129L) a změna z glycinu na arginin v pozici 137 (G137R). Úplnou ztrátu kontroly nad patogenem lze vždy pozorovat v populacích patogenu, u kterých je dominantní mutace G143A. Vyskytuje se většinou v případech, kde jsou QoI fungicidy aplikovány samostatně (Anonym 4, 2020; Gisi *et al.*, 2002; Fontaine *et al.*, 2009). Kromě mutací vazebného místa může být snížena citlivost ke QoI fungicidům vyvolána iniciací alternativního dýchání. Předpokládá se, že kyslíkové radikály vzniklé inhibičním působením QoI fungicidů na cytochrom indukují tvorbu alternativní oxidázy (Olaya *et al.*, 1998; Ypema & Gold, 1999). U této skupiny fungicidů je vysoké riziko vzniku rezistence. Křížová rezistence je prokázána mezi všemi účinnými látkami QoI skupiny (Anonym 3, 2020; Bartlett, 2002; Grasso *et al.*, 2006; Brent & Hollomon, 2007a). Rezistence byla prokázána u mnoha různých houbových patogenů (Sierotzki *et al.* 2000a, 2000b; Gisi *et al.*, 2002). Účinné látky používané k ochraně jahodníku před houbovými chorobami, účinná látka pyraclostrobin je součástí kombinovaného fungicidu Signum registrovaného proti *B. cinerea* a dále zejména proti patogenu *Colletotrichum acutatum* jsou: azoxystrobin a trifloxystrobin.

5.4.3 KRI fungicidy (Ketoreductase Inhibitors)

Tato skupina je součástí jedné velké třídy fungicidů zvaných SBI (Sterol Biosynthesis Inhibitors). Fungicidy této třídy inhibují biosyntézu sterolů u houbových patogenů. KRI fungicidy konkrétně inhibují enzym C3-keto-reduktázu v biosyntéze ergosterolu. KRI mají užší spektrum účinku než DMI fungicidy a aminy. KRI fungicidy jsou specifické fungicidy účinné proti *B. cinerea*, které nevykazují křížovou rezistenci k dalším třídám fungicidů účinných proti *B. cinerea* ani k ostatním skupinám fungicidů třídy SBI (Anonym 5, 2020). V roce 2000 byla objevena účinná látka fenhexamid a v roce 2012 účinná látka fenpyrazamin (Ishhii & Hollomon, 2015). Tyto dvě účinné látky mají úzké spektrum aktivity, jsou vysoce účinné proti *B. cinerea*. Mechanismus rezistence ke KRI fungicidům je zapříčiněn mutacemi v cílovém místě účinku fungicidu, v enzymu C3-keto-reduktáza, který je součástí enzymatického komplexu C-4-demetylace v biosyntéze ergosterolu. Jsou známy mutace v genu Erg27 (T63I, F412S, F412C a F412I), které souvisejí se vznikem rezistence. Mutace F412S je dominantní a rozšířená mutace. KRI fungicidy nevykazují křížovou rezistenci k jiným třídám fungicidů používaným proti *B. cinerea* ani k jiným fungicidům z třídy SBI. Dle FRAC je riziko vzniku rezistence nízké až střední a jsou vyžadovány principy antirezistentní strategie. Rezistence *B. cinerea* k této účinné látce je známa zejména z plodin jako je réva vinná a jahodník. Účinné látky patřící do skupiny KRI inhibitorů využívané k ochraně jahodníku proti *B. cinerea* v České republice jsou: fenhexamid a fenpyrazamin.

5.4.4 SDHI fungicidy (Succinate-dehydrogenase Inhibitors)

Fungicidy z této skupiny inhibují mitochondriální respiraci a ovlivňují tak tvorbu energie potřebnou pro buňku patogenu. Cílový enzym inhibitorů SDH je sukcinát dehydrogenáza (SDH, tzv. komplex II v mitochondriálním respiračním řetězci), která je funkční součástí trikarboxylového cyklu a je spojena s mitochondriálním elektronovým transportním řetězcem. Enzym SDH se skládá ze čtyř podjednotek (A, B, C a D). Vazebné místo SDHI fungicidů (ubichinon) je tvořeno podjednotkami B, C a D. Bodové mutace, které mají za následek sníženou citlivost, se mohou rozvíjet u všech tří podjednotek. Důsledkem mutací v různých podjednotkách enzymu SDH dojde k ovlivnění citlivosti k fungicidům. Mutace, které propůjčují sníženou citlivost k SDHI fungicidům, byly identifikovány u řady patogenů při polním monitoringu v Evropě i u *B. cinerea* (Ishhii & Hollomon, 2015). Většina z identifikovaných mutací má za následek nízkou až střední rezistenci ke komerčně dostupným SDHI fungicidům. Různé stupně snížené citlivosti u různých mutací cílového místa lze vysvětlit strukturálními rozdíly mezi třídami SDHI fungicidů a jejich interakcí s cílovým místem účinku specifického patogenu (Scalliet *et al.*, 2012). Jinými slovy, snížení citlivosti vyplývající ze specifických mutací cílového místa se může lišit v závislosti na druhu patogenu, použitím SDHI fungicidu i geografické poloze izolátů patogenu (Sierotzki a Scalliet, 2013). Účinné látky patřící do třídy SDHI inhibitorů využívané k ochraně jahodníku proti houbovým chorobám v České republice jsou: fluopyram, fluxapyroxad a boscalid.

Tabulka 5. Orientační tabulka klíčových fungicidů používaných k ochraně jahodníku proti houbovým chorobám, u nichž byla zjištěna snížená účinnost díky výskytu rezistentních izolátů patogena nebo patogenů

FRAC kód (číslo skupiny)	Účinná látka	Příklad komerčního přípravku	Poznámka
7 SDHI fungicidy (Succinate-dehydrogenase Inhibitors)	fluopyram fluxapyroxad boscalid	Luna Sensation, Luna Privilege Dagonis Signum	Riziko rezistence vysoké (ev. střední až vysoké)
11 QoI fungicidy (Quinone outside Inhibitors)	azoxystrobin pyraclostrobin trifloxystrobin	Amistar Signum Luna Sensation, Flint, Zato 50 SC	Riziko rezistence vysoké Křížová rezistence mezi všemi strobilurinovými látkami
9 AP fungicidy (Anilino-Pyrimidines)	cyprodinil pyrimethanil	Switch Minos, Minos Forte, Mythos 30 SC, Scala	Střední riziko rezistence (ev. nízké až střední)
PP-fungicidy (PhenylPyrroles)	fludioxonil	Switch	Riziko rezistence nízké až střední
3 DMI fungicidy (DeMethylation Inhibitors)	difenoconazole myclobutanil penconazole	Score 250 EC Talent Topas 100 EC	Riziko rezistence střední
17 KRI fungicidy (KetoReductase Inhibitors)	fenpyrazamine fenhexamid	Prolectus Teldor 500 SC	Riziko rezistence nízké až střední
Fosfonáty	fosetyl-Al	Aliette 80 WG	Nízké riziko rezistence
Mědnaté fungicidy	měď a soli	Kuprikol, Cuprozin Progress, Flowbrix, Champion 50 WG, Funguran...	Nejsou ohroženy rezistencí
Sirnaté fungicidy	síra	Kumulus, Flusol...	Nejsou ohroženy rezistencí
Fungicidy na bázi mikroorganismů	<i>Bacillus subtilis</i> QST 713 <i>Pythium oligandrum</i> M1	Serenade ASO Polyversum	Nejsou ohroženy rezistencí

5.5 ANTIREZISTENTNÍ STRATEGIE

5.5.1 AP fungicidy (Anilino-Pyrimidines)

- Tam, kde jsou aplikovány max. 3 postřiky v průběhu vegetační sezóny, je aplikace AP fungicidů doporučena pouze 1x za sezónu.
- Pokud je aplikováno 4–6 postřiků proti *B. cinerea* za vegetační sezónu, jsou doporučeny max. 2 aplikace AP fungicidů.
- Pokud je aplikováno 7 a více postřiků proti *B. cinerea* za vegetační sezónu, jsou doporučeny max. 3 postřiky a ne více jak 2 po sobě jdoucí aplikace.
- Dodržovat preventivní agrotechnická a fytosanitární opatření.

5.5.2 QoI fungicidy (Quinone Outside Inhibitors)

- QoI fungicidy aplikovat dle doporučení výrobce, celkový počet aplikací se odvíjí od plodiny a patogenu.
- Preferovat použití ve směsi.
- U směsi QoI v postřikových sletech, ve kterých se používají tank-mixy nebo pre-mixy QoI s dalším fungicidem s odlišným mechanismem účinku, by neměl být počet aplikací obsahujících QoI fungicid vyšší než 1/2 (50 %) z celkového počtu aplikací fungicidů za sezónu.*
- Aplikovat ve směsi s fungicidem s odlišným mechanismem účinku a dostatečnou účinností proti původci choroby, pozor na cross rezistenci.
- Při sólo použití QoI fungicidu by neměl být počet aplikací vyšší než 1/3 (33 %) z celkového počtu fungicidních aplikací za sezónu.*
- V případě sólo aplikace nepoužívat blokové aplikace.
- Zásadně preventivní aplikace.

Tabulka 6. Doporučený počet aplikací QoI fungicidů

Celkový počet fungicidních aplikací za sezónu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	>12
Max. doporučený počet sólo aplikací QoI fungicidů	1	1**	2**	2	2	2	2	3	3	3	3	4	*
Max. doporučený počet aplikací QoI fungicidů ve směsi	1	2	2	2	2	3	3	4	4	5	5	6	*

*Pokud je použito více jak 12 aplikací, řiďte se doporučeními viz výše.

** Preferována je aplikace ve směsi.

5.5.3 SDHI fungicidy (Succinate-dehydrogenase Inhibitors)

- Aplikovat ve směsi s fungicidem s odlišným mechanismem účinku a dostatečnou účinností proti původci choroby.
- Při sólo aplikaci SDHI fungicidu by neměl být počet aplikací vyšší než 1/3 (33 %) z celkového počtu fungicidních aplikací za sezónu.*
- Při použití tank-mixů či pre-mixů SDHI fungicidů by neměl být počet aplikací obsahujících SDHI fungicidy vyšší než 1/2 (50 %) z celkového počtu aplikací fungicidů za sezónu.*
- Pokud jsou SDHI fungicidy aplikovány ve směsi, tak max. ve 2 po sobě následujících aplikacích.*

Tabulka 7. Doporučený počet aplikací SDHI fungicidů

Celkový počet fungicidních aplikací za sezónu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	>12
Max.doporučený počet sólo aplikací SDHI fungicidů (platí přísné střídání)	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	3	4	*
Max. doporučený počet aplikací SDHI fungicidů ve směsi (max. 2 aplikace po sobě)	1	1	1	2	2	3	3	3	3	3	4	4	*

*Pokud je použito více jak 12 aplikací, řiďte se doporučeními viz výše.

5.5.4 KRI fungicidy (Ketoreductase Inhibitors)

- Zásadně preventivní aplikace.
- Střídat KRI fungicidy s přípravky z ostatních skupin s odlišným mechanismem účinku, nepoužívat blokované aplikace.
- **V případě sólo aplikací** – pokud jsou v postřikovém sledu max. 3 fungicidní ošetření za sezónu, tzn. max. 1 aplikace KRI fungicidů.
 - Pokud je v postřikovém sledu 4–6 fungicidních ošetření za sezónu, tzn. max. 2 aplikace KRI fungicidů.
 - Pokud je v postřikovém sledu 6 a více fungicidních ošetření za sezónu, tzn. max. jedna třetina aplikací KRI fungicidů proti *B. cinerea*.

- **V případě použití ve směsích** – použité fungicidy, pokud jsou aplikovány samostatně, a v dávce použité ve směsi, musí mít dostatečnou účinnost proti *B. cinerea*.
 - Ne více než 50 % všech ošetření proti *B. cinerea* by mělo být provedeno pomocí směsí obsahujících KRI fungicidy.
 - Dodržování správných zemědělských postupů, včetně rostlinolékařských opatření a ochrany plodin.

5.6 MONITORING REZISTENCE *B. CINEREA*

Stanovení potenciálu vzniku a vývoje rezistence u sledovaných druhů patogenů, její monitoring a doporučení, jak jí předcházet, je jedním ze základních podmínek pro využívání fungicidů v praxi. Potřebné informace mohou vycházet z výsledků laboratorních testů, polních pokusů v terénních podmínkách a zemědělské praxe (Jeřábková, 2010). V praxi je monitoring prováděn na specifických lokalitách s cílem prošetřit stížnosti pěstitelů o zjevné ztrátě účinnosti fungicidů a poskytnout tak pěstiteli informace pro vhodný výběr fungicidů. Dalším důležitým důvodem pro monitoring je kontrola, zda fungují antirezistentní strategie. Tam, kde není monitoring rezistence běžnou praxí, je rezistence poprvé zaznamenána, až když pěstitelé zpozorují významné selhání účinnosti dříve účinných přípravků. Poté se musí rezistence odebraných vzorků patogenu potvrdit za kontrolovaných podmínek v laboratoři. Toto potvrzení je důležité, protože existuje mnoho důvodů, proč se dříve účinné látky staly neúčinnými (např. intenzivní infekční tlak onemocnění, neúplné pokrytí rostlin fungicidem, nepřesné dávkování nebo načasování aplikace atd.) (Anonym 6, 2020). Metody detekce rezistentních jedinců jsou založeny zejména na biologických testech citlivosti a molekulárních markerech. Základem pro správný monitoring a interpretaci výsledků jsou údaje o typických tzv. „divokých“ (wild type) populacích patogenů, které nebyly vystaveny používání fungicidů. Toto počáteční hodnocení „přírodního“ rozsahu citlivosti patogenu k fungicidu, pomáhá stanovit posun (shift) v citlivosti testovaných populací patogenu. Při detekci rezistence je využíváno in vitro metod (testy klíčivosti spor v kapkách fungicidu, růst klíčivého vlákna na agaru s přidávkem fungicidu) a in vivo metod testování (skleníkové testy tj. inokulace rostlin, popřípadě plodů spory patogenu). Výsledky in vitro metod lze považovat za orientační, jejich výhodou je poměrně rychlé získání výsledků, prostorová a materiální nenáročnost. Je vhodné je doplnit o in vivo testy dle validované metodiky FRAC či odborných studií. Nevýhodou in vivo testů je jejich prostorová náročnost, náročnost na biologický materiál a čas. Výsledky in vivo testování mají vyšší výpovědní hodnotu, jelikož jsou získány i v rámci interakcí hostitelská rostlina – patogen – dávka fungicidu, a zároveň je testován větší vzorek populace houby. Ovšem oba přístupy vyžadují dostatek životaschopných spor. Na tento faktor má

významný vliv správné načasování odběru vzorku a stávající povětrnostní podmínky. Včasný a reprezentativní odběr vzorků je zásadní. Například byla pozorována vysoká úroveň rezistence po ošetření, což je známkou velmi úspěšné kontroly, jelikož rezistentní formy patogenu jsou koncentrovány v malé přežívající populaci. Samozřejmě by následovaly praktické problémy, kdyby rezistentní populace přežila a vytvořila dostatek inokula pro následující rok. Zkušenosti také ukázaly, že riziko rezistence se může značně lišit mezi oblastmi, kde je vyšší tlak choroby a používání fungicidů vysoké, a v sousedních oblastech, kde je nižší tlak choroby nebo pokud jsou výnosy příliš nízké, aby podpořily rozšířené používání fungicidů. Pokud jsou známy molekulární mechanismy rezistence a bodové mutace způsobující rezistenci, lze použít různé modifikace technologie PCR za použití buď alelově specifických primerů nebo příslušných sond ke zkoumání namnožených DNA fragmentů (Brent et Hollomon, 2007a).

Organizace FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) vydává opatření a pokyny ke snížení rizika výskytu a vývoje rezistence k fungicidům, které představují komplexní postupy pro prodloužení účinnosti „rizikových“ skupin fungicidů a omezují tak ztráty způsobené rezistencí. Tato organizace je složena z vědců a výrobců rizikových fungicidů. Dalšími hlavními cíli FRAC je identifikovat existující a potencionální problémy rezistence, shromažďovat, evidovat a distribuovat informace získané z výzkumu fungicidů, doporučit postupy používané při studiu rezistence a spolupracovat s vysokými školami, vládními organizacemi, poradci, distributory a zemědělci (Anonym 7, 2020). Metody testování citlivosti musí být schopny poskytnout realistické, kvantitativní a reprodukovatelné údaje a snadno pochopitelné výsledky. Podrobnosti doporučených metod jsou zveřejněny na webových stránkách organizace FRAC www.frac.info. Normalizace umožňuje přímé srovnání mezi získanými výsledky různými výzkumnými středisky, zvláště pokud je testován izolát o známé citlivosti pro každé středisko. Systematické pozorování výskytu houbových chorob, z roku na rok, musí být provedeno na v ošetřených a neošetřených komerčních plodinách s rizikovým fungicidem a také v jakýchkoli replikovaných studiích, které se provádějí. Aby se potvrdilo, že se objevila praktická rezistence, je nezbytné jasně stanovit korelace, jak v čase, tak geograficky, mezi výskytem rezistentních biotypů a zhoršením účinnosti fungicidu v terénu.

U přípravků ze skupiny anilinopyrimidinů (úč. l. pyrimethanil, cyprodinil), které jsou ohroženy středním rizikem vzniku rezistence, byl v roce 2019 proveden monitoring citlivosti *B. cinerea* v Chorvatsku, Francii, Německu, Polsku, Portugalsku, Řecku, Velké Británii, Nizozemsku, Slovinsku a Španělsku. Vzorky napadených jahod byly odebrány z produkčních a experimentálních výsadeb jahodníku. Dle výsledků FRAC byla frekvence výskytu rezistentních kmenů *B. cinerea* nízká, ve srovnání s posledními 10 lety je stabilní a kolísá v závislosti na lokalitě výsadby od nulových

hodnot až po vysoké. Pokud jsou AP fungicidy aplikovány dle zásad antirezistentní strategie, AP fungicidy si stále udržují relativně dobrou účinnost (Anonym 8, 2020).

Přípravky ze skupiny QoI fungicidů (azoxystrobin, pyraclostrobin, trifloxystrobin) jsou ohroženy vysokým rizikem vzniku rezistence. Monitoring provedený v roce 2019 ukázal vysoký výskyt rezistentních kmenů *B. cinerea* v Německu, Polsku a Velké Británii. Střední úroveň rezistence byla zaznamenána v Dánsku a ve Francii (Anonym 9, 2020).

Ve světě byla zaznamenána selekce kmenů *B. cinerea* se sníženou citlivostí ke klíčovým fungicidům ze skupiny SDHI (úč. l. boskalid, fluopyram). Riziko vzniku rezistence k těmto látkám je nízké až střední. V roce 2018 vykazovaly izoláty z Francie plnou citlivost. Nízká úroveň rezistence byla zjištěna v Polsku a Švédsku. Dále byla zjištěna střední úroveň rezistence v Dánsku, Německu, Norsku a Velké Británii. V roce 2019 byla v Dánsku, Francii a Německu zjištěna již nízká úroveň rezistence, dále také v Polsku a Velké Británii. Ve všech zmíněných zemích byly detekovány mutace B-H272R a B-H272Y ve středních úrovních a mutace B-P225F byla detekována na nízké úrovni. Bylo pozorováno, že v letech 2018 a 2019 frekvence mutací B-N230I a C-P80H mezi tím mírně vzrostly. Pokud jsou při aplikaci SDHI fungicidů dodržovány doporučené antirezistentní strategie, dosahující účinnost těchto přípravků je uspokojivá (Anonym 10, 2020).

Z těchto informací je patrné, že v současné době je v České republice velmi málo oficiálních a veřejně dostupných poznatků o stavu citlivosti / rezistenci houby *B. cinerea* k běžně používaným fungicidům, a to jak na úrovni celého státu, tak i na úrovni jednotlivých regionů ČR.

6 PROBLEMATIKA REZIDUÍ PESTICIDŮ V PLODECH JAHODNÍKU

Jako pesticidy se označují všechny látky určené pro kontrolu škodlivých organismů (tj. nežádoucích rostlin, mikroorganismů či živočichů) během produkce, skladování, transportu, distribuce a zpracování potravin, zemědělských plodin a krmiv. Jako rezidua pesticidů se označují zbytková množství pesticidů (účinných látek) a jejich metabolitů a rozkladných nebo reakčních produktů (Anonym 11, 2005). Rezidua pesticidů v potravinách výjimečně překračují přípustné normy (MLR), nepůsobují akutní otravy, ale mohou způsobit vedlejší nežádoucí účinky nebo chronické choroby. Moderní pesticidy se v potravinovém řetězci téměř nekumulují, jsou lépe odbouratelné a nepředstavují velkou zátěž pro ekosystém, na rozdíl od pesticidů staré generace, které se vyznačovaly vysokou perzistencí v životním prostředí, a také docházelo ke kumulaci v potravinovém řetězci (Hajšlová a kol., 2006). Potravinářská legislativa přiručuje pro jednotlivé potraviny maximální limity reziduí (MLR), aby se

předešlo nepříjemným zdravotním rizikům (Fontelles a Schmit, 2005). Maximální limit reziduí pesticidů je nejvyšší přípustné, toxikologicky přijatelné množství pesticidů (vyjádřené v mg/kg), které je výsledkem použití pesticidů v souladu se správnou zemědělskou praxí, při ochraně rostlin během vegetace a skladování. Mírné překročení MLR neznamená bezprostřední ohrožení zdraví konzumenta. Obecně výchozí MLR je 0,01 mg/kg, ale většina hodnot MLR se pohybuje od 0,01 až do 50 mg/kg. Jestliže není pro pesticid stanoven maximální limit reziduí, platí MLR = 0,01 mg/kg (Kocourek, 2007). Pro potraviny určené pro kojence a malé děti, jelikož mají podstatně vyšší příjem potravy na jednotku tělesné hmotnosti, je stanoven nízký hygienický limit pro přítomnost reziduí pesticidů, který je 0,01 mg/kg pro všechny pesticidní látky a pro několik vybraných pesticidů je MLR ještě nižší (Anonym 11, 2005). Pokud jsou dodrženy podmínky správné aplikace a pokud je dodržena určitá ochranná lhůta, rezidua by měla vlivem např. slunečního záření nebo vlhkosti degradovat. (Hajšlová a kol., 2006). V současnosti jsou veřejností a v médiích diskutovány záchyty reziduí pesticidů (nejen) v jahodách. Jahody jsou velmi oblíbeným ovocem, zejména mezi rodinami s malými dětmi, které se rády účastní populárních samosběrů pořádaných pěstiteli přímo ve výsadbách jahodníku. Zdravotní přínosy jahod jsou dobře známy. Hrají důležitou roli ve výživě člověka a jsou cenným ovocem v naší stravě. Jahody mají nízký obsah kalorií (průměrně 32 kcal / 100 g) a tuků, je to bohatý zdroj vitamínů (A, B1, B2, B6, C a E), minerálů (Fe, Ca, P, Zn, Cu, K, Mn, Na a Se), sacharidů, vlákniny, bílkovin, organických kyselin a polyfenolů (antokyany, antokyanidiny, karotenoidy, flavonoidy, furanové mastné kyseliny a hydroxybenzoové a hydroxycinamové kyseliny). Konzumace jahod proto poskytuje člověku řadu zdravotních výhod. Účinkují proti kardiovaskulárním a neurodegenerativním onemocněním a také proti stárnutí, obezitě a rakovině. Přestože se jedná o velmi oblíbené ovoce mezi spotřebiteli, jedná se rovněž o ovoce, které rychle podléhá různým hnilobám nejen v průběhu pěstování, ale i během manipulace od producenta ke spotřebiteli. Je tedy zapotřebí aplikovat ochranné zásahy pomocí pesticidů, aby se předešlo znehodnocení produkce. Jelikož se také jedná o ovoce, které má krátkou vegetační dobu, špatné načasování ochranných zásahů a tím nedodržení ochranných lhůt přípravků vede k tomu, že jsou v plodech nacházena zejména rezidua fungicidů (Hajšlová, 2015). V rámci Národního akčního programu zaměřeného na snižování obsahu reziduí v zemědělských komoditách je pozornost kontrolních orgánů ČR zaměřena na monitoring kontaminací reziduí pesticidů v produktech prodávaných na farmářských trzích. Základem pro pěstitele je tak striktní dodržování zásad správné zemědělské praxe (GAP). Pesticidní přípravky jsou aplikovány v případě, že je zjištěn výskyt škodlivého organismu, je zajištěn technicky správný způsob aplikace, nejsou překračovány doporučené aplikační dávky, jsou dodržovány předepsané ochranné lhůty a nejsou používány

směsi přípravků ani přípravky, které nejsou pro danou plodinu registrovány. Pěstitel by měl zajistit alespoň příležitostná vyšetření ošetřených plodin na přítomnost reziduí pesticidů. Zvláštní pozornost je nutné věnovat produktům určeným pro další zpracování na kojeneckou a dětskou výživu (Anonym 11, 2005).

7 TECHNOLOGIE SKLADOVÁNÍ PLODŮ JAHODNÍKU

Plody jahodníku (*Fragaria* × *ananassa*) jsou známé jako chutné a velmi výživné ovoce. Je bohatým zdrojem bioaktivních sloučenin s antioxidační aktivitou (Yang *et al.*, 2016), které poskytují ochranu před škodlivými volnými radikály. Vzhled, kvalita, pevnost a trvanlivost jsou z hlediska spotřebitele důležité vlastnosti. Jahody jsou vysoce rychle se kazícím ovocem s náchylností k růstu plísní a vysokou rychlostí dýchání (50–100 ml CO₂ na kg plodů za hodinu při 20 °C), z těchto důvodů je lze skladovat pouze čtyři dny (Panda *et al.*, 2016; Cantillano, 2016; DeEll, 2006).

Nízká mechanická pevnost jahod je omezujícím faktorem při jejich produkci, zejména v dopravě a komercializaci. V současném produkčním systému se jahody sklízí na konci fáze zrání, která je činí velmi rychle podléhajícími zkáze (Cantillano, 2016). Alternativou, která je hojně používána u většiny klimakterických druhů ovoce, je sklizeň před úplnou zralostí. Avšak neklimakterické plody jako jsou jahody, se nevyvíjejí do plné zralosti, pokud jsou sklizeny předčasně, protože nevykazují stejné zvýšení respirace a nejsou tak citlivé na působení ethylenu v průběhu zrání jako právě klimakterické plody (Jia *et al.*, 2011).

Pokud jsou jahody sklizeny před optimální zralostí, jejich skladovatelnost je prodloužená, ale jejich výživná hodnota a kvalita je snížena. Naproti tomu plně zralé plody mají vysokou výživnou hodnotu, ale s omezenou trvanlivostí. Je tedy nutné dosáhnout rovnováhy mezi stupněm zrání a obsahem živin v plodech. Stupně zrání stejně jako doba sklizně se většinou liší mezi odrůdami (Kafkas *et al.*, 2007) a do určité míry souvisí také s lokalitou a povětrnostními podmínkami, ve kterých jsou pěstovány. Nezralé plody jsou náchylnější ke scvrkávání a k fyzickým poraněním a zejména mají špatnou chuť. Přezralé plody jsou zase měkké a moučné s fádni chutí. Plody sbírané příliš brzy nebo příliš pozdě jsou náchylnější k posklizňovým fyziologickým poruchám než plody sklizené ve správné zralosti (Kader, 1999).

Použití nízkých teplot je základním nástrojem pro prodloužení posklizňové životnosti jahod, a to díky jejich účinku na rychlost metabolických reakcí (FloresCantillano *et al.*, 2008), zásahu do životně důležitých procesů jako je dýchání, zrání, ztráta hmotnosti a pevnost dužniny (Chitarra a Chitarra, 2005). Rychlé zchlazení plodů těsně po sklizni je zásadní pro zpomalení zhoršování stavu jahod (Nalbandi *et al.*, 2016; Peng a Sutton, 1991). Pro maximální zachování kvality se doporučuje předchlazení na téměř 0 °C do 1 hodiny od sklizně a udržování na 0 °C

v průběhu manipulace (Hardenburg *et al.*, 1986; Pérez *et al.*, 1999; Kader, 1992).

Nicméně pro delší skladování samotné chlazení nestačí na udržení kvality plodů, a proto musí být použity další techniky k prodloužení trvanlivosti plodů (Chen *et al.*, 2016). Relativní vlhkost vzduchu také ovlivňuje kvalitu produktu. Pokud je příliš nízká, způsobuje dehydrataci plodů a pokud je příliš vysoká, tak se objevují problémy s hnilobou. Pro většinu ovoce je jako maximální doporučená relativní vzdušná vlhkost doporučena kolem 85–95 % (Cantillano *et al.*, 2008). Podle Cunha Junior *et al.* (2012) je ideální teplota od 0 do 1 °C, relativní vlhkost vzduchu od 90 do 95 % a doba skladování sedm dnů pro zachování optimální kvality jahod po sklizni.

Chlazení však zcela nezabraňuje změnám, ke kterým dochází v průběhu skladování, takže je často doplněno o upravenou atmosféru obsahující 15–20 % CO₂ (Odrizola *et al.*, 2010; Pelayo *et al.*, 2003; Pérez a Sanz, 2001). Kromě toho se uvádí, že použití zvýšené hladiny O₂ (> 21 %) v kombinaci s vysokými koncentracemi CO₂ může prodloužit dobu skladování jahod (Allende *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2013; Van de Velde *et al.*, 2019). Kromě příznivých účinků, na trvanlivost ovoce, se předpokládá, že skladování jahod v koncentracích O₂ vyšších než 60 % podporuje syntézu polyfenolových sloučenin v důsledku fyziologické reakce na stres prostřednictvím aktivace metabolismu fenylpropanoidů (Cisneros-Zevallos, 2006; Zheng *et al.*, 2007). Tuto technologii lze proto použít pro prodloužení trvanlivostí jahod s extra obsahem fenolických sloučenin. Teplota při skladování má významný vliv na kvalitu a bioaktivní sloučeniny jahod. Skladování po dobu 20 dní při 5 °C v 70 % O₂ + 20 % CO₂ a 90 % O₂ + 10 % CO₂ účinně kontroluje mikrobiální rozpad a minimálně ovlivňuje vlastnosti plodů. Kromě toho tyto podmínky také způsobují významnou akumulaci fenolových sloučenin, jako jsou antokyany, flavonoly, fenolové kyseliny a ellagitaniny. Obsah vitamínu C se však během skladování snižuje až o 50 % kvůli prooxidačnímu prostředí uvnitř kontejnerů (Van de Velde *et al.*, 2019). V jiném případě byl zjištěn vyšší obsah celkových fenolů a celkových antokyanů, pokud byly jahody uchovávány při 10 °C než ty, které byly skladovány při 0 °C nebo 5 °C (Jin *et al.*, 2011). Nutno poznamenat, že nadměrně vysoké hladiny CO₂ a velmi nízké hladiny O₂ mohou vyvolat vznik pachuté plodů (García *et al.*, 1998; Peng a Sutton, 1991) a doporučené složení atmosféry pro skladování jahod se značně liší (Day, 2001; Zhang a Watkins, 1998). Také je známo, že životnost jahod se po sklizni liší dle odrůdy a bylo pozorováno, že vyšší obsah CO₂ kolem 20 % má pozitivní efekt na kvalitu plodů (Pelayo *et al.*, 2003).

Použití upravené atmosféry společně s chlazením zpomaluje metabolické procesy podílející se na působení degradačních a oxidačních enzymů, snižuje dýchání, produkci ethylenu, ztrátu vody, což zlepšuje komerční aspekt a prodlužuje dobu použitelnosti (shelf life) produktu (Araque *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2018; Santos a Oliveira, 2012; Chitarra a Chitarra, 2005). Pro vytvoření modifikované atmosféry je

nutná přítomnost bariéry jako např. obal z plastové fólie, která umožní difúzi plynů kolem produktu. Díky uzavření plodů do takového obalu se sníží hladina O_2 , naroste úroveň CO_2 na 10 až 30 %, změní se koncentrace ethyleny a vodní páry a také se změni obsahy dalších těkavých sloučenin (Cunha Junior et al., 2012; Kader, 1992). O jahodách je známo, že jsou relativně tolerantní k vysokému CO_2 (15–20 %), který brání rozvoji fytopatogenní houby *Botrytis cinerea* během skladování (Ertan et al., 1990).

Využití skladování ovoce ve speciálních pro plyny selektivně propustných obalech s modifikovanou atmosférou (MAP, Modified Atmosphere Packaging) má velký potenciál při prodlužování životnosti plodů po sklizni. Obal je částečně propustný pro plyny a tím způsobuje zvýšení koncentrace plynů uvnitř na optimální hodnoty. Tyto vlastnosti obalu zpomalují proces stárnutí a zrání skladovaného ovoce a udržují jeho pevnost a redukují úbytek hmotnosti, zároveň si skladované plody zachovávají svoji chuť, nutriční hodnotu i čerstvý vzhled i při dlouhodobém skladování. Technologie MAP byly vyvinuty za účelem vytvoření optimální atmosféry kolem produktů na základě jejich rychlosti respirace, skladovacích teplot a dalších souvisejících faktorů, jako je velikost a tloušťka fólie, rychlost přenosu plynu a množství produktu v balení (Zagory, 1997). Při tomto typu skladování by měla být skladovací teplota nižší než 5 °C (Smith, 1992).

Jahody produkují velmi málo ethyleny (<0,1 ppm na kg za hodinu při 20 °C) a nereagují na exogenní ošetření ethylenem pro stimulaci procesu zrání. Ovšem zvyšující se počet studií zdůrazňuje, že ethylen ovlivňuje pozdní stadia dozrávání jahod (Gu et al., 2019). Předchozí data naznačují, že ethylen může mít pozitivní i negativní účinky během posklizňového skladování jahod (Terry et al., 2007), ale souhra mezi exogenním ethylenem a ABA po sklizni stále není známa. Potvrzení o vlivu ethyleny na dozrávání jahod podporuje také výzkum využívající inhibitor vazby ethyleny, a to látku 1-methylcyklopropen (1-MCP) (Ku et al., 1999; Jiang et al., 2001; Bower et al., 2003; Villarreal et al., 2010; Villarreal et al., 2016).

Uvádí se, že 1-methylcyklopropen (1-MCP) je neškodný plyn používaný ve velmi nízké koncentraci, který inhibuje působení ethyleny blokováním ethylenových receptorů (Candan et al., 2006). Vazbou na ethylenové receptory působí 1-MCP jako účinný antagonist ethyleny a jeho účinek může přetrvávat po dlouhou dobu (Sisler et al., 2003). Může proto zpomalit proces zrání i stárnutí plodů (Sisler a Serek, 1997). U jahod závisí účinek 1-MCP hlavně na koncentraci a teplotě skladování. Fumigace s 1-MCP o koncentraci 5 až 15 $nl \cdot L^{-1}$ prodloužila životnost plodů po sklizni o 35 % při 20 °C a 150 % při 5 °C (Ku et al., 1999), ale při vyšší koncentraci 1-MCP (500 $nL \cdot L^{-1}$) došlo ke zrychlené ztrátě kvality se značným snížením životnosti po sklizni při 20 i 5 °C (Ku et al., 1999). Jiang a kol. (2001) popsali, že nižší koncentrace 1-MCP (10 až 200 $nL \cdot L^{-1}$) inhibovala produkci ethyleny a udržovala pevnost a barvu ovoce, ale životnost

po sklizni byla negativně ovlivněna vysokou koncentrací 1-MCP (500 až 1000 nL-L-1), a to zejména kvůli snížené odolnosti vůči chorobám, protože vysoké koncentrace 1-MCP blokovaly aktivitu fenylalanin amoniak-lyázy (PAL) a snížily obsah antokyanů a fenolů. To souhlasí s dřívějším pozorováním Jerscha *et al.* (1989), že fenoly a zvýšená aktivita PAL byly spojeny s rezistencí jahodníku k patogenům. Atmosféra s vysokým obsahem CO₂ je důležitá pro řízení růstu plísní, což je zvláště důležité, protože u plodů ošetřených 1-MCP byl zvýšen růst plísní (Aguayo *et al.*, 2006).

Další metodou ke zlepšení kvality ovoce je použití vodných a plyných dezinfekčních prostředků v potravinářském průmyslu. Chlór, jeden z nejčastěji používaných dezinfekčních prostředků v potravinářském průmyslu, má některé nepříznivé účinky, jako je tvorba toxických vedlejších produktů (Huang *et al.*, 2006). Ukázalo se, že vodné dezinfekční prostředky mohou způsobovat problémy kvůli zbytkové vlhkosti, která vede k růstu plísní (Sy *et al.*, 2005). Ozon jako alternativa k chloru má lepší účinnost proti mnoha druhům mikroorganismů, přičemž na ovoci nezanechává žádné toxické zbytky (Khadre *et al.*, 2001). Oxid chloričitý je další alternativou k chloru. Nevytváří škodlivé vedlejší produkty, má vyšší biocidní účinnost (Keskinen *et al.*, 2009; Du *et al.*, 2003). Úspěšné výsledky byly získány použitím oxidu chloričitého k udržení kvality jahod (Shin *et al.*, 2012; Vandekinderen *et al.*, 2009). Samotné tyto techniky však nestačí k udržení čerstvého ovoce a je nutné je kombinovat s úpravou atmosféry a vhodnou teplotou skladování.

8 VLASTNÍ POPIS METODIKY

8.1 SLEDOVÁNÍ DYNAMIKY DEGRADACE REZIDUÍ PESTICIDŮ V PLODECH JAHODNÍKU

V závislosti na systému ošetření a termínech aplikací pesticidů byla sledována degradace reziduí v plodech jahodníku, zároveň byla vyhodnocena účinnost aplikovaných systémů proti *B. cinerea* ve dvouletém maloparcelkovém pokusu. Pokus byl proveden v letech 2019 a 2020 v experimentální, 2 roky staré výsadbě jahodníku VŠŮO Holovousy s. r. o. (Východočeský kraj, okres Jičín, řepařská výrobní oblast, nadmořská výška 285 metrů) na odrůdě 'Darselect'. Odrůda 'Darselect' je sice středně odolná k napadení původcem plísně šedé, ale byla zvolena z toho důvodu, že je velmi rozšířena mezi pěstiteli, a pokus se tak více přiblížil běžné pěstitelské praxi. V běžné pěstitelské praxi je doporučováno 3–5 fungicidních postřiků v době nejvyššího infekčního tlaku chorob. Významný vliv na ochranu jahodníku před původci houbových chorob má správné načasování aplikací přípravků a zejména pak průběh počasí v období květu. Rostliny byly pěstovány na hrůbcích ve dvouřádcích na černé netkané textilií, výsadba byla opatřena závlahou. Fungicidy byly aplikovány preventivně, zádoovým postřikovačem, v objemu postřikové kapaliny 500 L/ha. První fungicidní ošetření bylo provedeno před květem. Postřik přípravky byl opakován

v 7–10 denním intervalu. Celkem byly založeny 4 varianty fungicidních systémů ošetřování viz Tabulka 7, kde jsou uvedeny jednotlivé postřikové sledy a termíny ošetření. Postřikové plány byly sestaveny primárně s ohledem na následnou analýzu degradace reziduí pesticidů v plodech, zároveň dle aktuální zemědělské praxe a zachování účinnosti systémů, která byla v rámci tohoto hodnocení zjištěna. Pokusná plocha byla rozdělena na části určené pro jednotlivé varianty ošetření, každá varianta byla provedena ve 4 opakováních ve znáhodněných blocích. V jednom opakování bylo použito 100 kusů rostlin. Při sklizni bylo postupně spočítáno celkem 100 plodů v opakování a současně byl zaznamenán počet napadených plodů houbou *B. cinerea*. Bylo spočítáno celkové procento napadení a při srovnání s neošetřovanou kontrolou byla dle Abbotta (1925) vypočtena průměrná účinnost aplikovaného systému ošetření. V průběhu jednotlivých hodnocení při sklizni byly odebrány plody pro analýzu reziduí. Z každé varianty byl odebrán vzorek po 500 g ve čtyřech opakováních a byl odeslán na analýzu do VÚOS a.s. Dále byl založen skladovací pokus v různých podmínkách skladování (MAP, Smart Fresh, Ozon) a po 1 týdnu byly plody vyskladněny a bylo hodnoceno napadení plodů houbou *B. cinerea*. Také byla hodnocena hmotnost, penetrace a refrakce vyskladněných plodů a byl odebrán vzorek zdravých vyskladněných plodů na analýzu reziduí.

8.2 TESTOVANÉ PESTICIDY

Do pokusů byly experimentálně zařazeny vedle pesticidů registrovaných v roce hodnocení v ČR do jahodníku i přípravky nové, potenciálně perspektivní, do jahodníku v ČR dosud neregistrované. Celkově byly hodnoceny následující přípravky a účinné látky:

Luna Privilege (úč. l. fluopyram 500 g/l; Bayer S.A.S.; aplikovaná dávka 0,5 kg/ha), **Ortiva, Amistar** (úč. l. azoxystrobin 250 g/l; Syngenta Limited; aplikovaná dávka 1 l/ha), **Scala** (úč. l. pyrimethanil 400 g/l; BASF SE; aplikovaná dávka 2,5 l/ha), **Prolectus** (úč. l. fenpyrazamin 500 g/kg; Sumitomo Chemical Agro Europe S.A.S.; aplikovaná dávka 1,2 kg/ha), **Signum** (úč. l. boscalid 267 g/kg a pyraclostrobin 67 g/kg; BASF; aplikovaná dávka 1,8 kg/ha), **Switch** (úč. l. cyprodinyl 375 g/kg a fludioxonyl 250 g/kg; Syngenta Crop Protection AG; aplikovaná dávka 1 kg/ha), **Teldor 500 SC** (úč. l. fenhexamid 500 g/L; Bayer AG; aplikovaná dávka 1,5 l/ha), **Zato 50 WG** (úč. l. trifloxystrobin 500 g/kg; Bayer CropScience AG; aplikovaná dávka 0,3 kg/ha), **Cuprotonic** (úč. l. měď 5,3 %, zinek 1 %; Bioka s.r.o.; aplikovaná dávka 3 l/ha), **Chitopron 5%** (úč. l. chitosan hydrochlorid, 50 g/l; Bioka s.r.o.; aplikovaná dávka 4 l/ha), **Red Block** (úč. l. extrakt z mořských řas, oligosacharidy, rostlinné aminokyseliny, giberliny, chitosan; International Company Agro-Science s. r. l.; aplikovaná dávka 4 l/ha), **Serenade ASO** (úč. l. *Bacillus subtilis* kmen QST 713, 13,96 g/l; Bayer AG; aplikovaná dávka 8 l/ha). **Boundary** (úč. l. extrakt z mořských řas a sukulentů; ICAS

s.r.l.; aplikovaná dávka 3,5 L/ha); **Benevia** (úč. l. cyantraniliprol 100 g/l; FMC Agro ČR spol. s.r.o.; aplikovaná dávka 0,75 l/ha); **Karate se Zeon technologií 5 CS** (úč. l. lambda-cyhalotrin 50 g/l; Syngenta Limited; aplikovaná dávka 0,2 l/ha); **Milbeknock** (úč. l. milbectin 9,3 g/l; Belchim Crop Protection; aplikovaná dávka 0,05%); **Movento 100 SC** (úč. l. spirotetramat 100 g/l; Bayer S.A.S; aplikovaná dávka 1 l/ha); **Neudosan** (úč. l. draselná sůl mastných kyselin 515 g/l; W. Neudorff GmbH. KG; aplikovaná dávka 10-30 l/ha); **Reldan 22** (úč. l. chlorpyrifos-methyl 225 g/l; Dow Agro Sciences s.r.o.; aplikovaná dávka 1,5 l/ha); **SpinTor** (úč. l. spinosad 240 g/l; Dow Agro Sciences s.r.o.; aplikovaná dávka 0,3 l/ha); **Vertimec 1.8 EC** (úč. l. abamektin 18 g/l; Syngenta Crop Protection AG; aplikovaná dávka 1,2 l/ha).

■ Pokusné varianty:

V1 = Intenzivní konvenční systém ošetřování

V2 = IP (integrovaná produkce) systém ošetřování

V3 = Nízkoreziduální systém

V4 = EP (ekologická produkce) systém ošetřování

V5 = Neošetřená kontrola

■ Varianty skladování:

Chlazený sklad - 1,5 °C

MAP = skladovací sáčky určené přímo pro jahody

Smart Fresh = koncentrace 1 ppm látky 1-MCP po 24 hod., poté box s běžnou atmosférou a 99% vzdušnou vlhkostí

Ozon = koncentrace 0,15 ppm po 24 hod., poté box s běžnou atmosférou a 99% vzdušnou vlhkostí

Varianta	51 dní před sklizní	45 dní před sklizní	35 dní před sklizní	30 dní před sklizní
	9. 4. 2019 17. 4. 2020	15. 4. 2019 21. 4. 2020	24. 4. 2019 27. 4. 2020	30. 4. 2019 4. 5. 2020
		Před květem, poupata	Před květem, poupata	cca 10 % květů rozkvetlých
V1 „konvenční systém“	MOVENTO 100 SC (Spirotetramat) (1 l/ha) roztočik, OL=1	RELDAN 22 (Chlorpyrifos-methyl) (1,5 l/ha) květopas, OL=7	KARATE (Lambda-cyhalothrin) (0,2 l/ha) květopas, OL=AT ORTIVA, AMISTAR (azoxystrobin) (1 l/ha) antraknóza, padlí, OL=1	TELDOR 500 SC (fenhexamid) (1 kg/ha) plíseň šedá, OL=3
V2 „IO systém“	VERTIMEC (Abamectin) (1,2 l/ha) roztočik+sviluška, OL=3	BENEVIA (Cyantraniliprol) (0,75 l/ha) květopas, OL=1	CALYPSO 480 SC (Thiacloprid) (0,25 l/ha) květopas, OL=3 ZATO 50 WG (trifloxystrobin) (0,3 kg/ha) antraknóza, padlí, OL=1	SCALA (pyrimethanil) (2,5 l/ha) plíseň šedá, OL=7
V3 „nízko- reziduální systém“ nízkoreziduální systém“	MILBEKNOCK (Milbectin) (0,05%) sviluška+roztočik, OL=AT		BENEVIA (Cyantraniliprol) (0,75 l/ha) květopas, OL=1 ORTIVA, AMISTAR (azoxystrobin) (1 l/ha) antraknóza, padlí, OL=1	TELDOR 500SC (fenhexamid) (1 kg/ha) plíseň šedá, OL=3
V4 „EP systém“	NEUDOSAN (draselná sůl) (10-30 l/ha) sviluška, OL= -	BOUNDARY SW (mořské řasy) (3,5 l/ha) roztočik, OL= -	SPINTOR (Spinosad) (0,3 l/ha) květopas, OL=1 CUPROTONIC (Cu=5,3%, Zn=1%) (2-4 l/ha) „antraknóza“, OL= -	RED BLOCK (mořské řasy) (50 ml/10 l) „plíseň šedá“, OL= -

Tabulka 8. Plán postřiků u jednotlivých variant systémů ošetřování, rok 2019 a rok 2020; získání dvouletých dat. Rovněž přípravek Ortiva byl v roce 2020 vyloučen z registru POR,

17 dní před sklizní	8 dní před sklizní	3 dny před sklizní	1 den před sklizní	0 den před sklizní
13. 5. 2019 11. 5. 2020	21. 5. 2019 18. 5. 2020	27. 5. 2019 25. 5. 2020	29. 5. 2019 27. 5. 2020	30. 5. 2019 28. 5. 2020
Opad květních plátků	Zelené plody	Dozrávání plodů	Dozrávání plodů	I. sklizeň
SWITCH (Cyprodinil, Fludioxonil) (1 kg/ha) plíseň šedá, OL=7	SIGNUM (boskalid, pyraclostrobin) (1,8 kg/ha) plíseň šedá, OL=7	LUNA PRIVILEGE (fluopyram) (0,5 l/ha) antraknóza, OL=1		
TELDOR 500 SC (fenhexamid) (1 kg/ha) plíseň šedá, OL=3	SWITCH (Cyprodinil, Fludioxonil) (1 kg/ha) plíseň šedá, OL=7		PROLECTUS (fenpyrazamin) (1,2 l/ha) plíseň šedá, OL=1	
LUNA PRIVILEGE (fluopyram) (0,8 l/ha) plíseň šedá, OL=1	PROLECTUS (fenpyrazamin) (1,2 l/ha) plíseň šedá, OL=1			
CHITOPRON 5% (chitosan hydrochlorid) (4 ml/l) „plíseň šedá“, OL= -	CHITOPRON 5% (chitosan hydrochlorid) „plíseň (4 ml/l) šedá“, OL= -	SERENADE ASO (Bacillus amyloliquefaciens kmen QST 713) (4-8 l/ha) plíseň šedá, OL=AT		

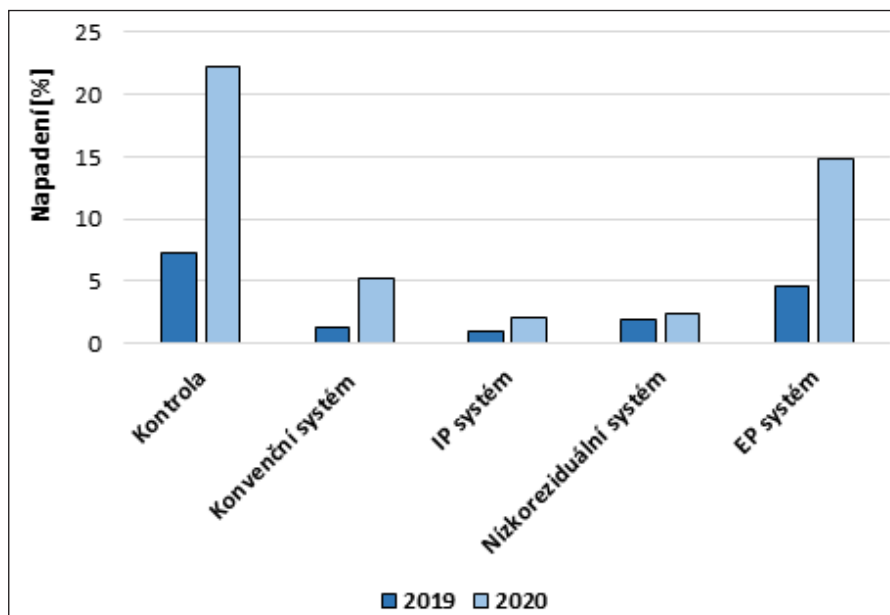
Pozn.: Přípravek Reldan 22 byl v roce 2020 zakázán v EU, v pokusu byl experimentálně použit kvůli v pokusu byl nahrazen přípravkem Amistar

8.3 VÝSLEDKY HODNOCENÍ NAPADENÍ PLODŮ HOUBOU *B. CINEREA*

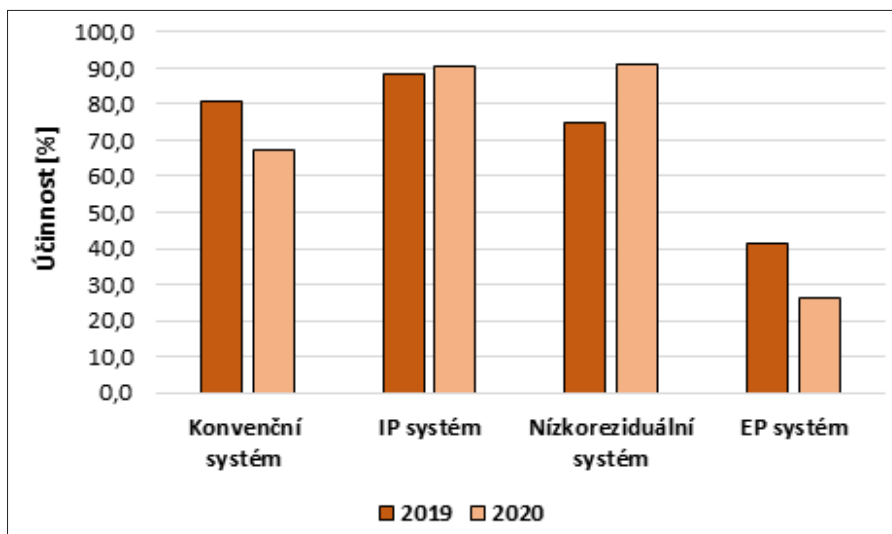
8.3.1 Polní pokus

Nejvyšší průměrné procento napadení plodů bylo zjištěno v kontrolní neošetřené variantě a dosahovalo 7 % a v roce 2019 22 % v roce 2020. Vyšší napadení bylo zaznamenáno také ve variantě, která byla ošetřována podle zásad ekologické produkce, a to 13,6 % v roce 2019 a 15 % v roce 2020. Další sledované systémy ošetřování proti šedé hnilobě se v napadení uvedeným patogenem významně nelišily, procento napadení se pohybovalo od 2 % do 5 % v obou ročnících. Nejvyšší průměrná účinnost jednotlivých systémů byla následující: u varianty 1, 2 a 3 (konvenční, IO a nízkoreziduální systém ošetřování) se účinnost pohybovala od 74,9–90,8 %. Naopak nejnižší účinnost přípravků na ochranu proti šedé hnilobě byla zaznamenána v systému ošetřování dle EP, a to pouze 41,4 % v roce 2019 a 26,1 % v roce 2020. Data jsou znázorněna v grafech 1 a 2. Podrobné meteorologické informace (teplota a srážky) v jednotlivých letech jsou uvedeny na konci metodiky v přílohách.

Graf 1. Napadení plodů (%) původcem šedé hniloby (*B. cinerea*) v různých systémech ošetřování v letech 2019 a 2020



Graf 2. Účinnost různých systémů ošetřování (%) proti původci šedé hniloby plodů (*B. cinerea*) v letech 2019 a 2020



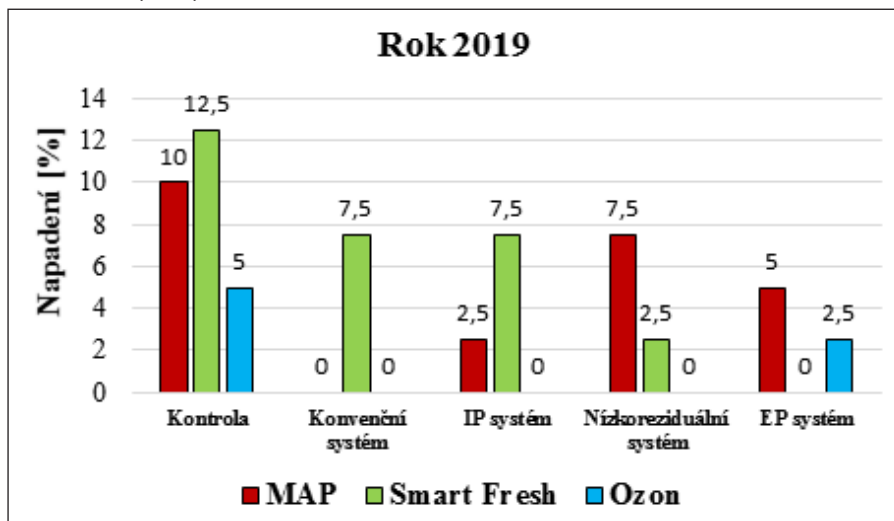
8.3.2 Skladovací pokus

Skladovací pokus byl založen vždy při druhém termínu sklizně. Vyskladnění a hodnocení kvalitativních parametrů plodů bylo provedeno po 8 dnech. Pokus byl založen ve třech variantách podle typu skladování. Testováno bylo skladování s posklizňovým ošetřením ozonem, přípravkem SmartFresh s účinnou látkou 1-MCP a skladování v sáčcích s modifikovanou atmosférou MAP. Část plodů byla uložena do ozonizované atmosféry s koncentrací ozonu 0,15 ppm po dobu 24 hod., pak byly plody skladovány v chlazeném boxu v podmínkách běžné atmosféry a 99% vzdušné vlhkosti. Další část plodů byla uložena do boxu s koncentrací 1 ppm látky 1-MCP. Po 24 hod. byl box vyvětrán a dále pokračovalo skladování v běžné atmosféře a 99% vzdušné vlhkosti. Třetí část plodů byla vložena do skladovacích sáčků (MAP) vytvořených přímo pro jahody a uložena při teplotě 1,5 °C. Od každého systému ošetřování byla provedena 4 opakování po 500 g plodů. Před skladováním i po vyskladnění byla u plodů změřena hmotnost (g), pevnost (DURO 1–100) a obsah refraktometrické sušiny (°Brix.). Plody byly uloženy v chlazeném skladu při 1,5 °C po dobu 8 dnů. Poté byly vyskladněny a bylo hodnoceno napadení plodů houbou *B. cinerea* a také parametry jako hmotnost, penetrace a obsah refraktometrické sušiny.

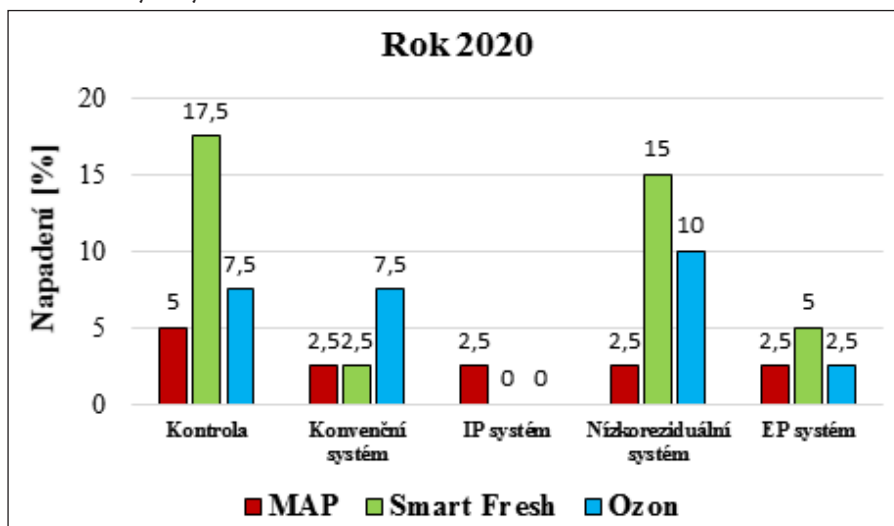
Jako vhodná a účinná varianta skladování plodů z pohledu eradikace *B. cinerea* se jeví varianta ozonizovaná atmosféra v kombinaci s chlazeným skladem, kdy napadení plodů v kontrolní variantě bez ošetřování bylo 5 % (2019) a 7,5 % (2020). Dále se

perspektivně jeví varianta skladovacích sáčků (MAP) vytvořených přímo pro jahody, které byly skladovány při teplotě 1,5 °C. Napadení plodů šedou hnilobou v kontrolní variantě bez ošetření činilo v roce 2019 10 % a v roce 2020 bylo 5 %. Výsledky jsou uvedeny v grafech 3 a 4.

Graf 3. Napadení plodů (%) původcem šedé hniloby (*B. cinerea*) po vyskladnění variant různých systémů ošetřování v roce 2019



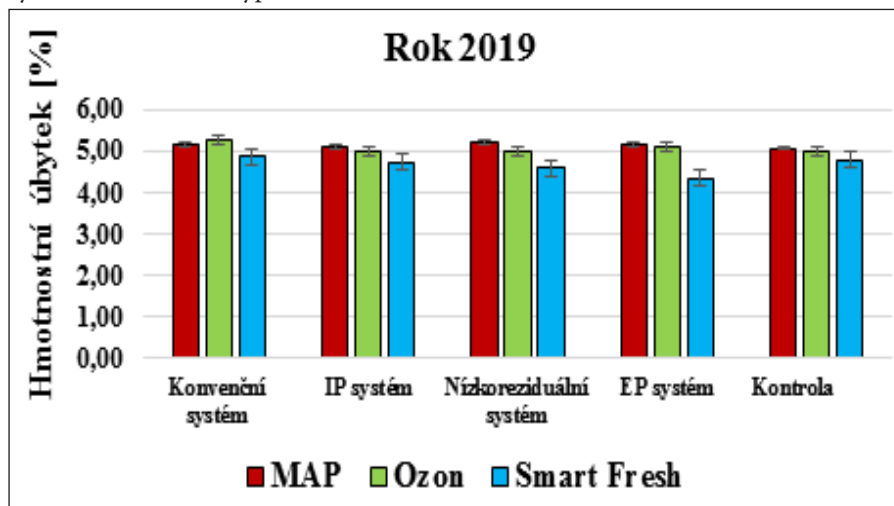
Graf 4. Napadení plodů (%) původcem šedé hniloby (*B. cinerea*) po vyskladnění variant různých systémů ošetřování v roce 2020



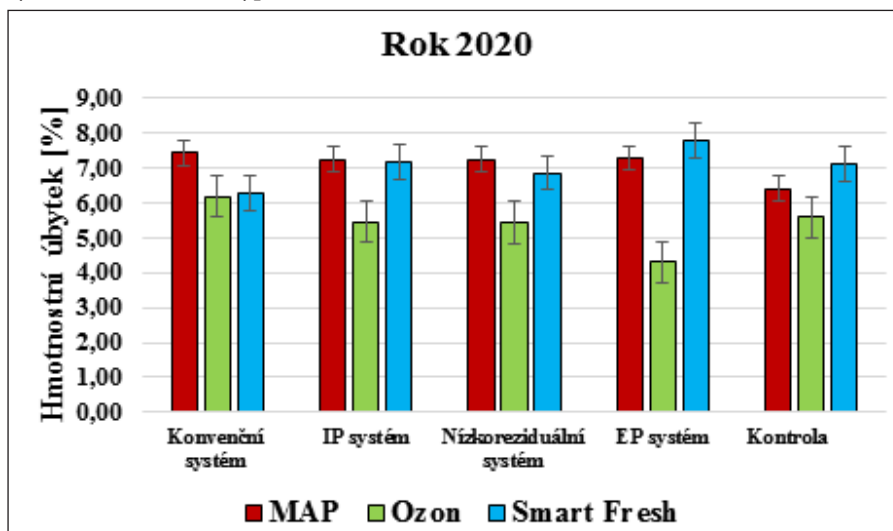
8.4 VÝSLEDKY POMOLOGICKÉHO HODNOCENÍ PLODŮ V RÁMCI SKLADOVACÍCH POKUSŮ

V rámci skladovacích pokusů byla všechna měření jednotlivých parametrů provedena ve 4 opakováních (hmotnost) a 5 opakováních (penetrace a refrakce). Analýza plodů byla provedena jak u čerstvých plodů, tak u plodů po jejich skladování. Získané výsledky jsou uvedeny v grafech v 5a–7b. Po skladování byl měřen úbytek hmotnosti plodů jahodníku. Hmotnostní úbytek se pohyboval kolem 5–7 % u všech typů skladování. V 2019 byly nejnižší hmotnostní ztráty u plodů ošetřených látkou 1-MCP (Smart Fresh), ale pouze v nízkoreziduálním a EP systému byl rozdíl průkazný (Graf 5a). Výraznější rozdíly mezi variantami skladování byly pozorovány v roce 2020, kdy nejnižší hmotnostní úbytek byl po ošetření ozonem. Průkazné rozdíly byly ve všech ošetřených variantách mimo neošetřené kontroly (Graf 5b). V konvenčním systému byl pokles hmotnosti shodný jak u Ozonu, tak přípravku Smartfresh. U neošetřené kontroly byl průkazně nižší úbytek hmotnosti ve variantě Ozon než ve variantě Smart Fresh.

Graf 5a. Průměrný hmotnostní úbytek vzorků plodů (%) po vyskladnění v různých systémech ošetření a typech skladování v roce 2019

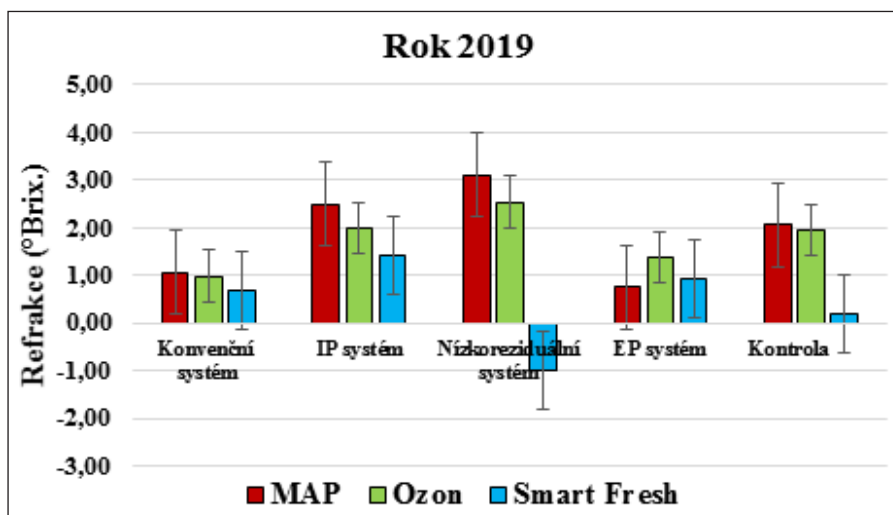


Graf 5b. Průměrný hmotnostní úbytek vzorků plodů (%) po vyskladnění v různých systémech ošetření a typech skladování v roce 2020

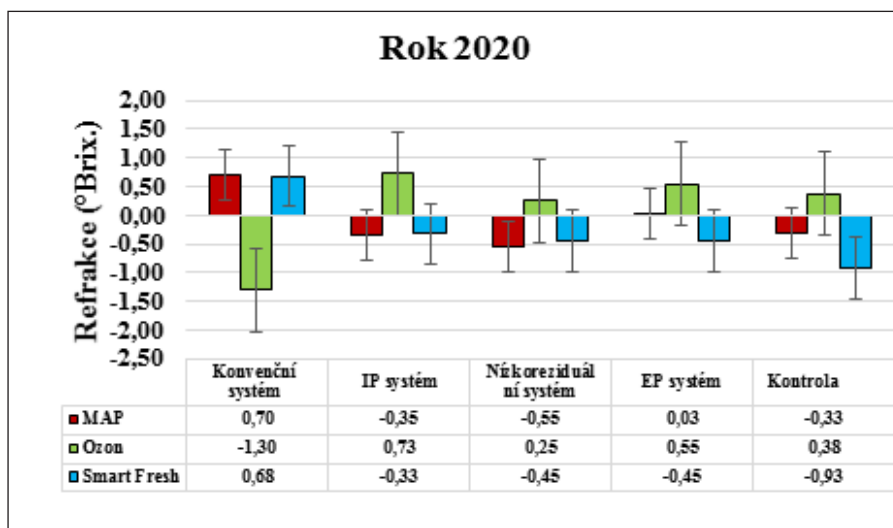


Po vyskladnění byl také změřen obsah refraktometrické sušiny a penetrace. Po skladování došlo téměř u všech typů skladování a variant postřiků k nárůstu pevnosti plodů. Rozdílný výsledek byl pozorován mezi ročníky v obsahu refraktometrické sušiny. Zatímco v roce 2019 došlo během skladování k nárůstu hodnot refrakce, tak v roce 2020 došlo ve většině variant k poklesu refrakce. V roce 2019 refraktometrická sušina průkazně klesla u skladovaných plodů varianty postřiku V3 (nízkoreziduální systém) ošetřených látkou 1-MCP (SmartFresh). Největší průměrný nárůst refraktometrické sušiny i pevnosti plodů byl zjištěn u plodů skladovaných v MAP, jak je uvedeno v grafu 7a. Ovšem průkazné rozdíly byly jenom ve srovnání s variantou Smart Fresh u nízkoreziduálního systému a u neošetřené kontroly. V roce 2020 byl průkazný rozdíl vyhodnocen u konvenčního systému a u neošetřené kontroly. U konvenčního systému měly plody varianty MAP a Smart Fresh vyšší nárůst refrakce než plody varianty Ozon. Plody kontrolní varianty měly výrazný pokles refrakce po ošetření přípravkem Smart Fresh oproti plodům ošetřeným ozonem (Graf 6b).

Graf 6a. Průměrná změna (nárůst/úbytek) refraktometrické sušiny plodů (°Brix) po vyskladnění v různých systémech ošetření a typech skladování v roce 2019



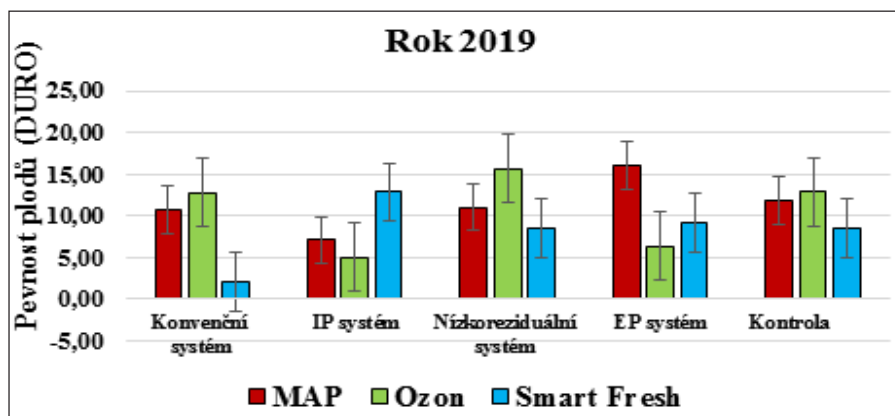
Graf 6b. Průměrná změna (nárůst/úbytek) refraktometrické sušiny plodů (°Brix) po vyskladnění v různých systémech ošetření a typech skladování v roce 2020



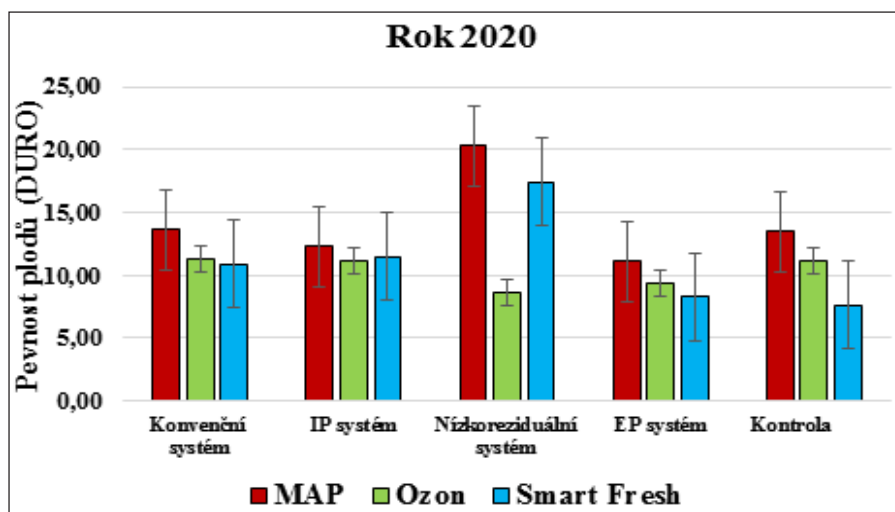
Plody skladované v MAP měly po skladování nejvyšší nárůst pevnosti v obou letech. Průkazné rozdíly byly ale zjištěny pouze u konvenčního, IP a EP systému v roce 2019 a u nízkoreziduálního systému v roce 2020. U konvenčního systému

byly hodnoty variant MAP a Ozon průkazně vyšší než Smart Fresh, ale v dalším roce byl rozdíl mezi variantami minimální. Plody varianty Smart Fresh IP systému měly průkazně vyšší nárůst pevnosti oproti variantě Ozon. Plody z EP systému skladované v MAP měly průkazně vyšší nárůst pevnosti než varianty Ozon a Smart Fresh (Graf 7a). Hodnoty v roce 2020 byly mezi variantami velice vyrovnané. Odlišovaly se pouze plody nízkoreziduálního systému. Varianty MAP a Smart Fresh měly průkazný nárůst pevnosti plodů oproti variantě Ozon (Graf 7b).

Graf 7a. Průměrná změna pevnosti plodů po vyskladnění v různých systémech ošetření a typech skladování v roce 2019;



Graf 7b. Průměrná změna pevnosti plodů po vyskladnění v různých systémech ošetření a typech skladování v roce 2020



Ve dvouletém opakování skladování jahod byly pozorovány rozdíly v ročnících. Kvalitu plodů ovlivňuje mimo režim ošetřování také mnoho faktorů během vegetačního období, jako je počasí, pěstební podmínky, výživa, věk rostlin a další. Z toho důvodu nejsou výsledky z obou let totožné, ale ve většině případů vykazují určitou podobnost. S ohledem na eliminování hmotnostních ztrát lze doporučit ošetření plodů ozonem a látkou 1-MCP a uskladnění plodů ve vysoké vlhkosti vzduchu, kolem 99 % RH. Ošetření ozonem podobně jako skladování plodů v MAP obalech měly pozitivní vliv na obsah refraktometrické sušiny. Obaly MAP měly lehce lepší účinek na zvýšení pevnosti plodů než jiné varianty skladování. Z hodnocení souhrnně vyplývá pozitivní efekt ozonu a MAP obalů na skladované plody jahodníku. V praxi by šlo tyto dvě metody skladování navzájem kombinovat, kdy by plody byly po sklizni ošetřeny ozonem a následně byly uloženy do obalů MAP. Konečná volba metody skladování ale závisí na možnostech pěstitele.

8.5 OPTIMALIZACE ANALYTICKÝCH METOD A MONITORING ROZPADU PESTICIDŮ V PLODECH JAHODNÍKU

Byla vyvinuta analytická metoda pro sledování obsahů vybraných pesticidních látek v jahodách (abamectin, thiacloprid, cyantraniliprol, pyrimethanil, azoxystrobin, fenpyrazamin, fludioxonil, fluopyram, boscalid, fenhexamid, spirotetramat, cyprodinil, pyraclostrobin, chlorpyrifos-methyl, trifloxystrobin, λ -cyhalothrin, spinosadu obsah refraktometrické sušiny spinosyn A a spinosyn D. Metoda je sestavena z homogenizace (rozemletí) zmražených plodů se suchým ledem, extrakcí z matrice metodou založenou na principech QuEChERS a analytickou detekcí hmotnostním spektrometrem na principu trojitého kvadrupólu po předchozí separaci kapalinovou chromatografií (LC/MS/MS). Kvantifikace analytů je založena na metodě externí kalibrace (výpočet responzních faktorů) všech látek připravených do extraktu kontrolní matrice. Navržený limit kvantitativního stanovení (LOQ) je 10 ng/g a tomu odpovídající limit detekce 3 ng/g. Speciálně pak LOQ 6.7 ng/g pro spinosyn A, LOQ 3.3 ng/g pro spinosyn D kvůli používání směsného standardu a LOQ 30 ng/g pro λ -cyhalothrin kvůli zhoršené ionizaci. Analyt milbemektin byl z analýzy vyloučen, protože se nepodařilo získat analytický standard s definovanou čistotou.

8.5.1 Homogenizace vzorků

Homogenizace je prováděna mletím se suchým ledem (pevným oxidem uhličitým) ve zmraženém stavu. Celý odebraný vzorek je vysypán do hrnce Robotu COUPE R23 a k vzorku je přidáno asi poloviční množství peletek suchého ledu. Homogenizace se spouští na 30 sekund. Část homogenizovaného vzorku je odebráno do čisté plastové vzorkovnice o objemu 250–500 ml se šroubovacím uzávěrem. Zbytek je zlikvidován. Mezi homogenizací a analýzou musí být časový rozstup alespoň 1 dne, aby se přidaný oxid uhličitý stihl ze vzorků vysublimovat. Vzorky před homogenizací i po homogenizaci jsou udržovány v mrazničce při teplotě < -20 °C.

8.5.2 Extrakce analytů

Pro vlastní analýzu je odváženo 10 gramů vzorku do 10 ml acetonitrilu. Separace fází je založena na přidavku QuEChERS solí (chloridu sodného, citrátů sodných, síranu hořečnatého) s využitím komerčních kitů firmy Agilent pro vodnaté matrice a plody, pufrovaná varianta. Následně je extrakt přečištěn metodou dSPE, opět s využitím komerčního kitu firmy Agilent. Před analýzou je extrakt ještě vhodně naředěn.

8.5.3 LC/MS/MS analýza

K analýze byl využit kapalinový chromatograf Agilent HP Series 1260 Infinity HPLC, separační kolona Zorbax Eclipse XDB-C18 Narrow-Bore (150 × 2,1 mm, velikost částic 5 m) a systém mobilních fází - ultračistá voda a methanol s přidavkem modifikátoru mravenčanu amonného o koncentraci 5 mmol/l. K separaci byl vyvinut/optimalizován gradientový program v celkové délce 14,5 min. K detekci byl použit přístroj Agilent 6490 Triple Q MS. Pro každou analyzovanou látku byly sledovány dva MRM přechody (vybrané charakteristické rozpady iontu analytu/aduktu na fragment), pro něž byly optimalizovány parametry iontového zdroje (kolizní energie, elektrického napětí zdroje a nabíjení). Vždy jeden fragment byl označen jako kvantifikační (obvykle s vyšší intenzitou odezvy či s lepším poměrem signál/šum). Druhý přechod (konfirmační) slouží k ověření identifikace analytu na základě retenčního času a poměru iontů. Vzhledem ke škále analyzovaných látek a jejich vlastností přístroj měřil současně v pozitivním i negativním ionizačním módu. Spolu s analyzovanými vzorky jsou zároveň připraveny kontrolní fortifikace analytů na různých koncentračních hladinách k ověření správnosti přípravy vzorků.

8.5.4 Validace analytické metody

Před použitím analytické metody na projektové vzorky byla celá analytická metoda testována na přesnost a správnost při validačním pokusu. Validační set obsahoval 2 kontrolní vzorky bez analytů, 5 fortifikovaných vzorků na úrovni limitu kvantifikace a 5 vzorků fortifikovaných na úrovni desetinásobku limitu kvantifikace. Výsledky prokázaly, že metoda je dostatečně citlivá a spolehlivá pro účely analýz. Průměrná výtěžnost ze všech analytů a obou MRM přechodů se pohybovala na úrovni 101 % pro nižší koncentraci a 105 % pro vyšší koncentraci. Průměrná odchylka pro nižší koncentraci byla 5 % pro nižší koncentraci a 3 % pro vyšší koncentraci.

8.6 VÝSLEDKY SLEDOVÁNÍ DEGRADACE REZIDUÍ V RŮZNÝCH SYSTÉMECH OŠETŘOVÁNÍ A TERMÍNECH SKLIZNĚ

V průběhu jednotlivých termínů hodnocení polního maloparcelkového pokusu byly při sklizni odebrány plody pro analýzu reziduí. Z každé varianty ošetření byl odebrán vzorek po 500 g ve čtyřech opakováních a byl odeslán na analýzu do VÚOS a. s. V jednotlivých systémech ošetření jahodníku nebyl v I., II., ani III. termínu

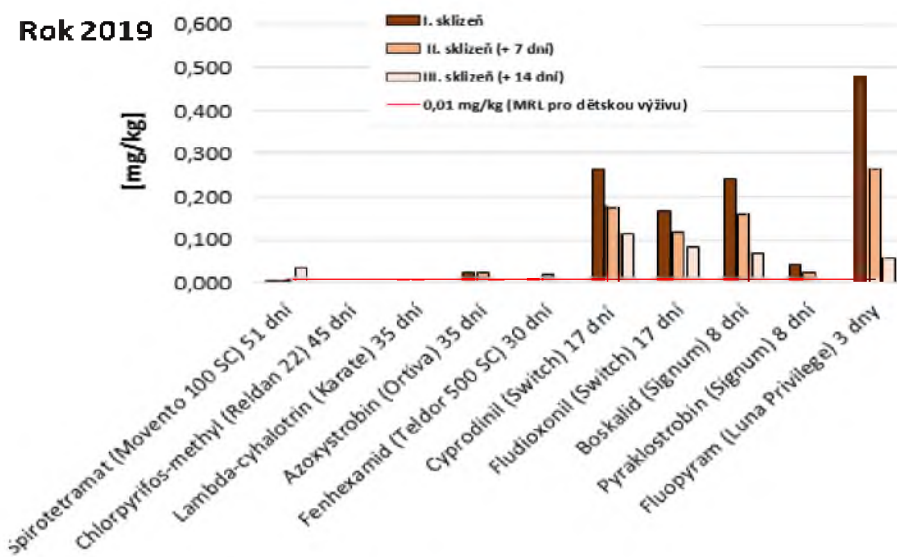
sklizně překročen MRL aplikovaných pesticidů, hodnota MRL pro jednotlivé aplikované pesticidy je uvedena v tabulce 9. Lze pozorovat pozvolnou degradaci účinných látek pesticidů. Zejména insekticidy (Movento 100 EC, Exirel, Reldan 22, Karate Zeon), které byly použity na začátku ošetřování, se v plodech vyskytují ve stopovém množství a splňují limit pro dětskou výživu, který je 0,01 mg/kg.

Tabulka 9. MRL (mg/kg) jednotlivých pesticidů aplikovaných v polním maloparcelkovém pokusu

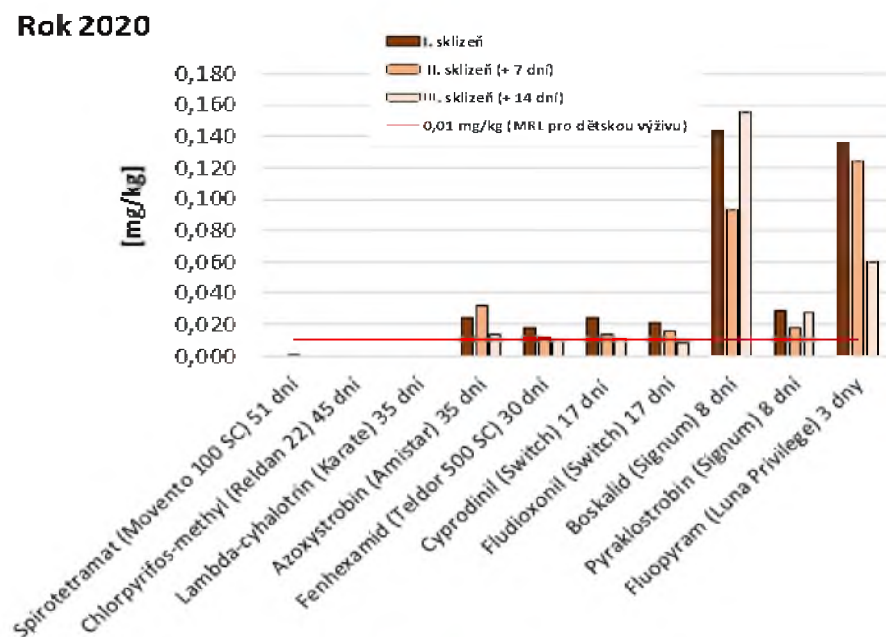
Účinná látka (pesticid)	MRL [mg/kg] dle EFSA v jahodách
Abamektin (Vertimec)	0,15
Azoxystrobin (Amistar)	10
Boskalid (Signum)	6
Cyantraniliprole (Exirel)	0,5
Cyhalothrin (Karate Zeon)	0,2
Cyprodinil (Switch)	5
Fenhexamid (Teldor 500 SC)	10
Fenpyrazamine (Prolectus)	3
Fludioxonil (Switch)	4
Fluopyram (Luna Privilege)	2
Chlorpyrifos-methyl (Reldan 22)	0,06
Pyraklostrobin (Sgnum)	1,5
Pyrimethanil (Scala)	5
Spinosyn A (Spintor)	0,3
Spinosyn D (Spintor)	0,3
Spirotetramat (Movento 500 SC)	0,4
Thiakloprid (Calypso 480 SC)	1

Graf 8 a 9. Degradace reziduí pesticidů (mg/kg) u varianty ošetření 1 (konvenční systém) v různých termínech sklizně; uvedený časový údaj je počet dní od poslední aplikace přípravku s danou aktivní látkou

Graf 8.



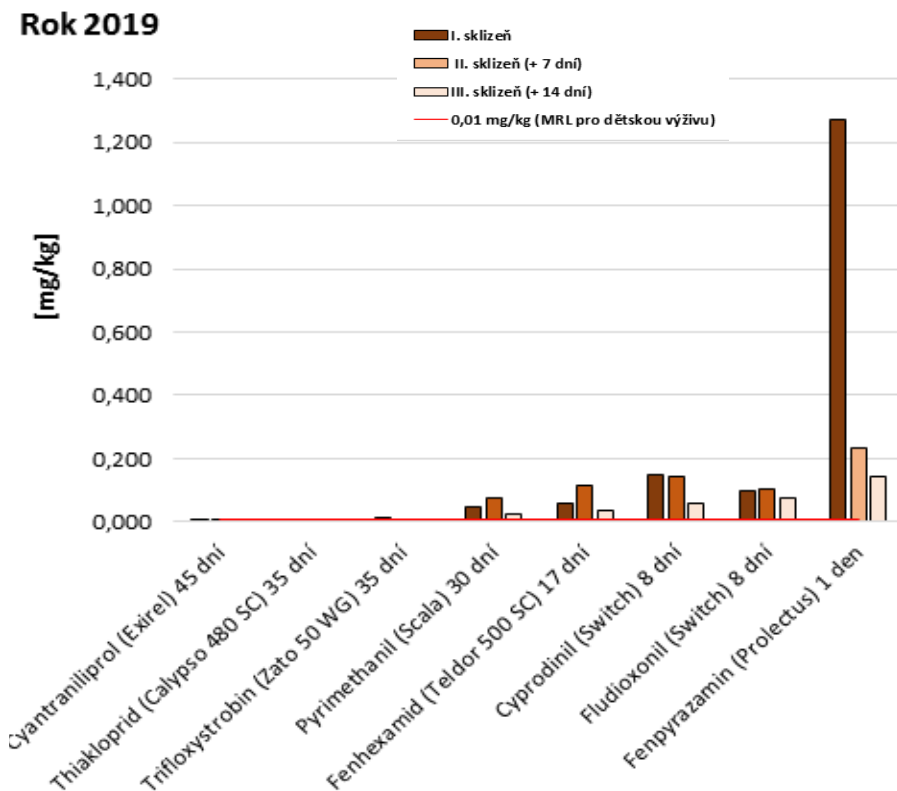
Graf 9.



Pozn.: Přípravek Reldan 22 byl v roce 2020 zakázán v EU, v pokusu byl experimentálně použit kvůli získání dvouletých dat.

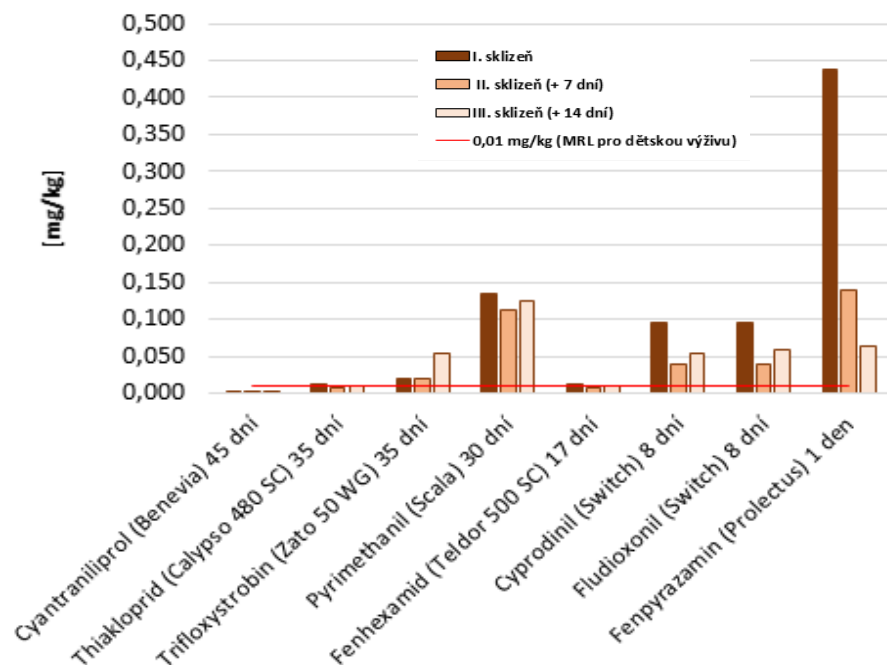
Graf 10 a 11. Degradace reziduí pesticidů (mg/kg) u varianty ošetření 2 (systém dle IO) v různých termínech sklizně; uvedený časový údaj je počet dní od poslední aplikace přípravku s danou aktivní látkou

Graf 10.



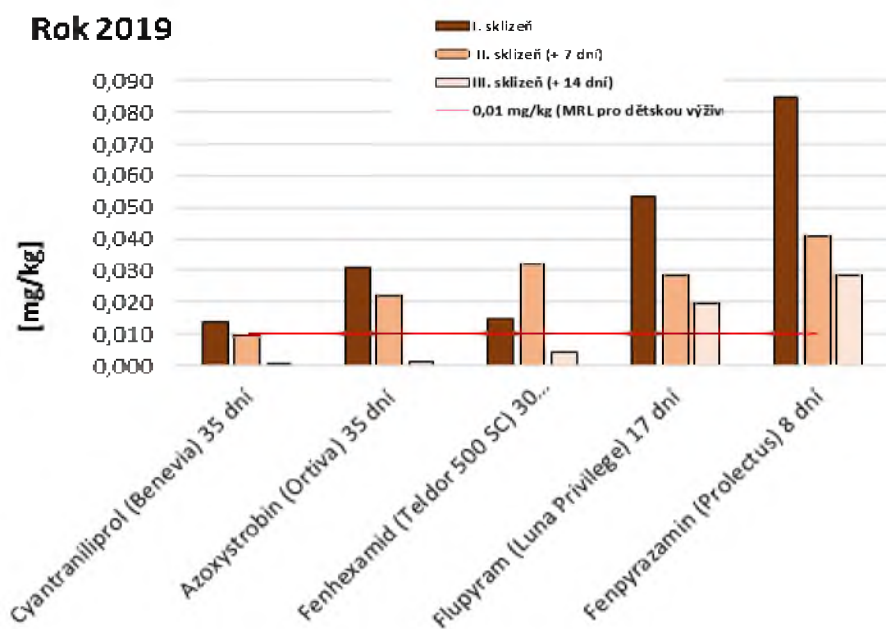
Graf 11.

Rok 2020

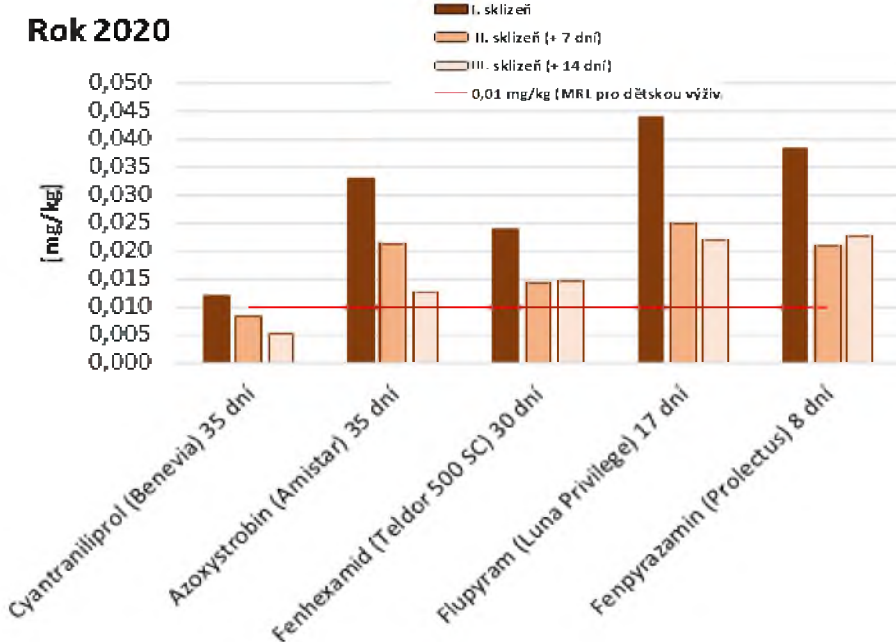


Graf 12 a 13. Degradace reziduí pesticidů (mg/kg) u varianty ošetření 3 (nízkoreziduální systém) v různých termínech sklizně; uvedený časový údaj je počet dní od poslední aplikace přípravku s danou aktivní látkou

Graf 12.



Graf 13.



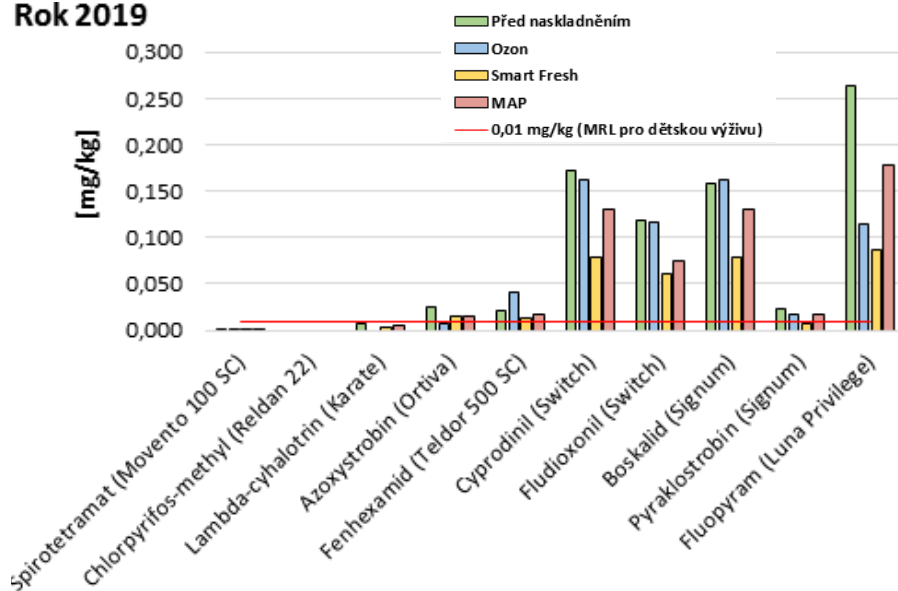
8.7 VÝSLEDKY SLEDOVÁNÍ DEGRADACE REZIDUÍ V RŮZNÝCH SYSTÉMECH SKLADOVÁNÍ

Po vyskladnění byl odebrán vzorek zdravých plodů (bez stopek) pro analýzu dynamiky rozpadu testovaných reziduálních látek pomocí LC/MS/MS analýzy v jednotlivých variantách polního pokusu a typech skladování. Z výsledků není jasně patrné, že by některý z typů skladování měl výrazně pozitivní vliv na rychlost degradace reziduí pesticidů v plodech (viz Grafy 15–20). To může být zapříčiněno poměrně krátkou dobou skladování, jelikož dlouhodobé skladování je pro plody jahodníku nevhodné. Při skladování by ideálně měl být zakonzervován výchozí stav, tudíž lze předpokládat, že nebude docházet ani ke změnám v obsahu reziduí.

Graf 14 a 15. Degradace reziduí pesticidů (mg/kg) u varianty ošetření 1 (konvenční systém) v různých podmínkách skladování v roce 2019 a 2020

Graf 14.

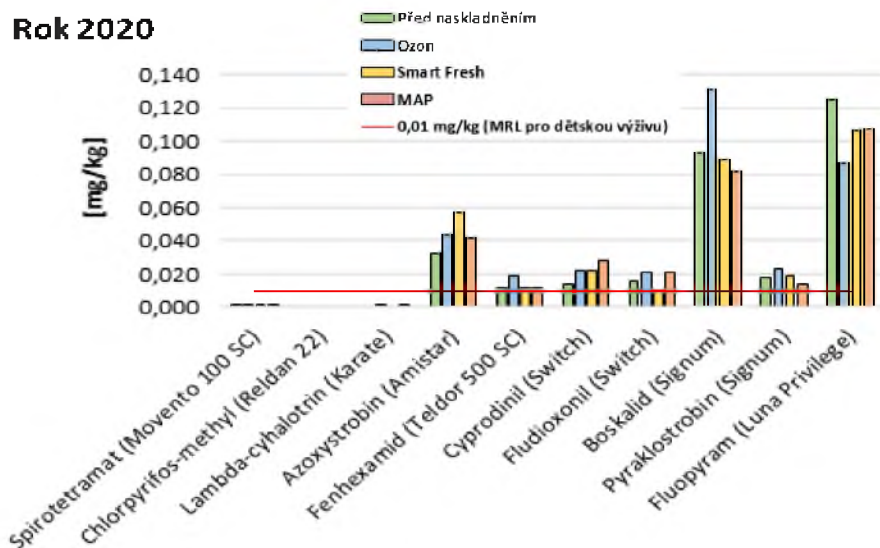
Rok 2019



Pozn.: Přípravek Reldan 22 byl v roce 2020 zakázán v EU, v pokusu byl experimentálně použit kvůli získání dvouletých dat.

Graf 15.

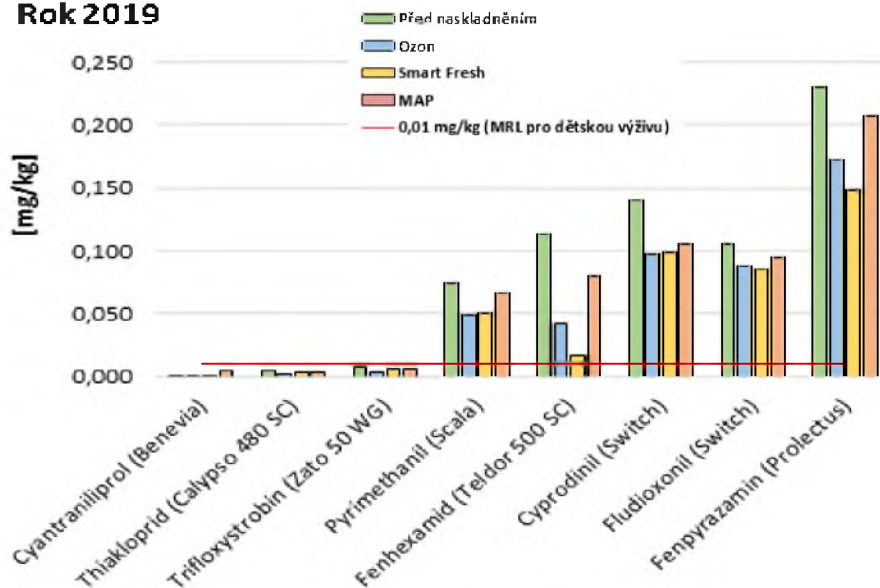
Rok 2020



Graf 16 a 17. Degradace reziduí pesticidů (mg/kg) u varianty ošetření 2 (systém dle IO) v různých podmínkách skladování v roce 2019 a 2020

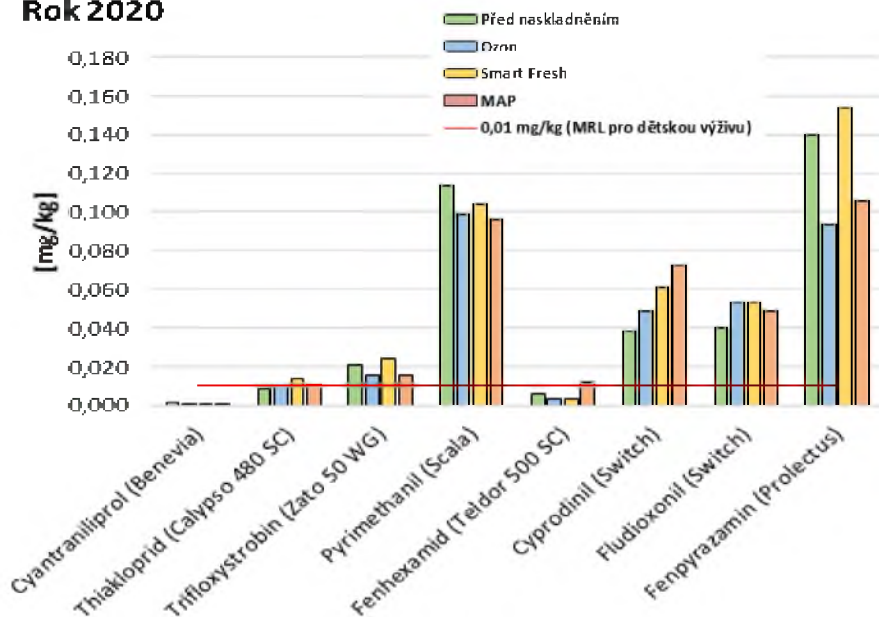
Graf 16.

Rok 2019



Graf 17.

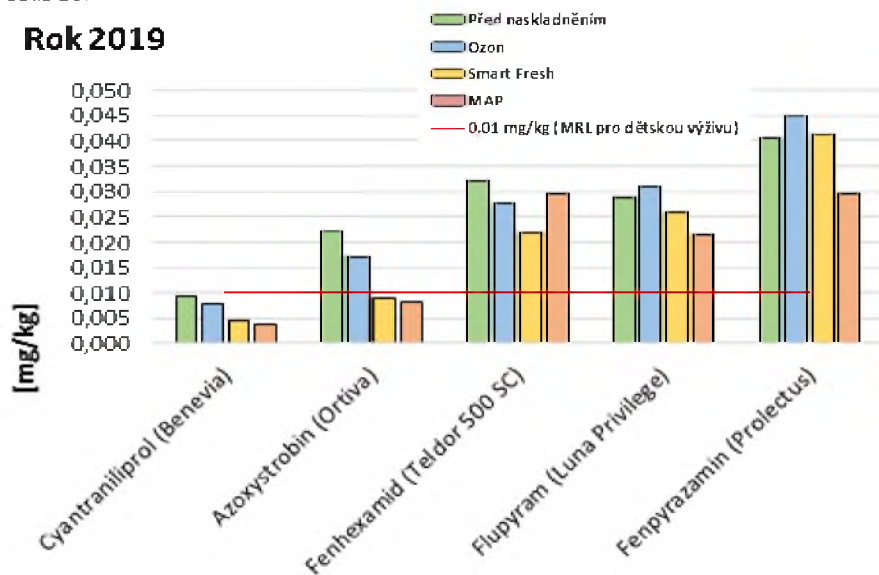
Rok 2020



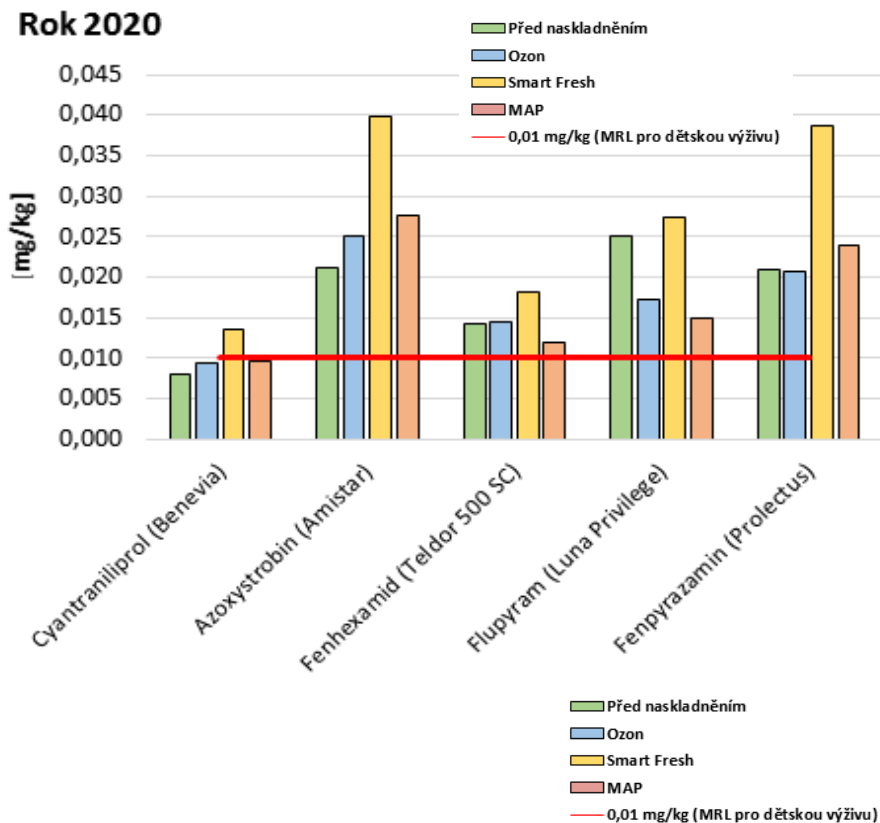
Graf 18 a 19. Degradace reziduí pesticidů u varianty ošetření 3 (nízkoreziduální systém) v různých podmínkách skladování v roce 2019 a 2020

Graf 18.

Rok 2019



Graf 19.



9 MONITORING CITLIVOSTI POPULACÍ

B. CINEREA K FUNGICIDŮM V ČR

9.1 ODBĚR VZORKŮ NAPADENÝCH PLODŮ JAHODNÍKU

Vzorky napadených plodů houbou *B. cinerea* (viditelné sporulující skvrny) byly odebírány z několika náhodně vybraných rostlin na celém prostoru výsadby (diagonálně či do tvaru W). Pro statisticky robustní výsledek bylo nutné odebrat nejméně 20 plodů na lokalitu. Plody byly umístěny do plastového uzavíratelného boxu (opatřeného otvory pro větrání, jinak by plody rychle shnily) a odděleny od

sebe odděleny kartonem, aby nedošlo k vzájemné kontaminaci izolátů. Pro oživení sporulace na napadeném plodu, byly plody ponechány ve vlhké komůrce při teplotě 10 °C ve tmě či v laboratorní teplotě po dobu maximálně jednoho týdne.

9.2 IZOLACE ČISTÝCH IN VITRO KULTUR *B. CINEREA* Z ODEBRANÝCH VZORKŮ

Z každého plodu byl získán jeden izolát *B. cinerea*, celkem bylo z každé lokality připraveno min. 20 izolátů (pokud to množství odebraných vzorků dovolilo). Nejdříve byly izoláty kultivovány v Petriho miskách na PDA mediu s přidavkem antibiotika a kyseliny mléčné (chloramfenikol 0,1 g/l; kys. mléčná 1 ml/l). Izoláty byly inkubovány min. 5 dnů při teplotě 20 °C. Čisté izoláty byly přeočkovány na šikmý PDA (Potato dextrose agar) agar, zkumavky byly označeny Lokality/pěstitelem, datem a číslem izolátu a byly uchovány v chladničce při 4 °C. Před vlastním testováním citlivosti byla identifikace izolátu *B. cinerea* potvrzena sekvenováním. Z izolátů hub byla extrahována DNA s použitím kitu Exgene Plant SV mini (GeneAll, Soul, Korea). Pro identifikaci izolátů hub byly použity sekvence ITS oblastí rDNA. PCR reakce byla provedena za standardizovaných podmínek s využitím kombinací primerů UniFungiITS F (5' GGGTTCCGTAGGTGAACCTGC 3') a UniFungiITS R: (5' ACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAG 3'). Získané PCR produkty byly přečištěny kitem ExpinTM Combo GP (GeneAll, Soul, Korea) dle návodu výrobce. Sekvenační reakce byla připravena pomocí kitu Big Dye version 3.1 (Thermo Fisher Scientific) a vzorky byly sekvenovány přístrojem GA3500 (Thermo Fisher Scientific). Získané sekvence byly editovány v programu Chromas a k určení druhu byly použity knihovny Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

9.3 PŘÍPRAVA SUSPENZE SPOR IZOLÁTŮ PRO VLASTNÍ TESTY

Ze šikmých agarů byly izoláty přeočkovány na PDA agar bez antibiotik. Izoláty byly inkubovány 5–7 dnů při 20 °C a byly umístěny blízko zdroje UV světla, aby byla indukována vyšší sporulace. U některých izolátů byl zaznamenán problém s indukcí sporulace, kdy izoláty tvořily spíše sklerocia než konidie. Poté byly konidie sklizeny následujícím způsobem. Petriho miska byla zalita sterilní destilovanou vodou, konidie byly lehce seškrábnuty z kolonie ožehnutou sterilní kovovou špachtlí. Vzniklá suspenze konidií byla přefiltrována přes sterilní gázu do plastových zkumavek o objemu 50 ml. Následně byla spočítána koncentrace konidií pomocí Bürkerovy komůrky a ta byla upravena na koncentraci na 5×10^4 / ml. Suspenze spor byla uchována při 4 °C, maximálně po dobu 48 h do použití.

Tabulka 10. Přehled získaných izolátů *B. cinerea* z jednotlivých lokalit na území ČR (ND = nejsou k dispozici data)

Lokalita	Typ výsadby	Odrůda	Počet izolátů
VŠÚO Holovousy „Bobuloviny“	produkční	Darselect	9
Vraňany	produkční	Darselect	11
Oskořínek	produkční	Honeoye, Rumba	5
Břežany	produkční	Evie, Darselect	5
VŠÚO Holovousy „U Kravína“	ekologická	Darselect	7
Hořice	domácí zahrada	ND	8
Domašín	produkční	Darselect, Carmen	5
Piletice	produkční	ND	7
Starý Kolín	produkční	Elsanta, Honeoye, Darselect	5
Libčany	produkční	ND	5
Česká Bělá	produkční	ND	3
Kouřim	produkční	Rumba	4

9.4 METODIKA DLE WEBER & HAHN (2011) – „RYCHLÁ METODA TESTOVÁNÍ REZISTENCE *B. CINEREA*“

Weber, W. S., Hahn, M. (2011). A rapid and simple method for determining fungicide resistance in *Botrytis*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 118 (1):17-25.

Primární infekce způsobené konidiiemi se vyskytují na začátku květu. Výhodou této metodiky je získání informací o stavu citlivosti patogenu ještě před květem a započítáním ošetřování. Pěstitel je tak včas informován a dle získaných informací pak může upravit postřikový plán a vyloučit z něj ohrožené fungicidy. Testován je komerční fungicid, nikoliv pouze účinná látka. Tato metoda je rovněž nenáročná na čas a laboratorní vybavení.

Testován byl fungicid **Teldor 500 SC** (Bayer AG; fenhexamid 500 g/l; jahodník: plíseň šedá; OL = 3 dny, dávka 1,5 L/ha). Tento přípravek je klíčovým fungicidem v ochraně jahodníku před napadením plodů *B. cinera* a jeho používání je mezi pěstiteli velmi rozšířeno. Účinná látka fenhexamid náleží do skupiny SBI (Sterol Biosynthesis Inhibitors), do podskupiny KRI (Ketoreductase Inhibitors).

Komerční přípravek byl přidán do zchladlého 1% MEA (Malt extract agar) media po autoklávování v takovém množství, aby byly vytvořeny následující koncentrace:

Fenhexamid: 0 – 0,01 – 0,1 – 1 – 10 – 100 ppm

Do roztoku fungicidu byla přidána suspenze spor o koncentraci 5×10^4 . Po 24 hodinách bylo pod mikroskopem provedeno hodnocení růstu klíčního vlákna, kdy byl růst vlákna rozdělen do jednotlivých kategorií dle stupnice uvedené níže.

Stupnice hodnocení růstu klíčního vlákna:

0 – neklíčí

1 – neroste (růst klíční hyfy zastaven)

2 – roste (klíční hyfa roste morfologicky abnormálně a < 50%)

3 – roste (klíční hyfa roste < 50%)

4 – růst není inhibován

Bylo spočítáno množství klíčících konidií na agarových plotnách s odstupňovanými koncentracemi účinné látky. Na základě získaných dat byla získána hodnota EC50 (efektivní koncentrace fungicidu inhibujícího růst klíčního vlákna z 50 %) vypočítána regresní analýzou procenta inhibice délky klíčního vlákna (% v kontrole) oproti log10 koncentrace fungicidu. Dále byl k jednotlivým izolátům přidělen faktor rezistence (FR). Faktor rezistence (RF) každého izolátu k fungicidu byl vypočten jako EC50 testovaný izolát / průměrné EC50 skupiny nejvíce citlivých izolátů získaných v průběhu studie. Skupina nejvíce citlivých izolátů byla brána jako ekvivalent „baseline“ profilu pro srovnání posunu 'shiftu' v citlivosti houby k fungicidu. Průměrná hodnota EC50 nejvíce citlivých izolátů (n = 10) byla 0,353 ppm.

Tabulka 11. Kategorie faktoru rezistence (RF)

RF < 10 = Citlivá populace

RF 10-50 = Středně rezistentní

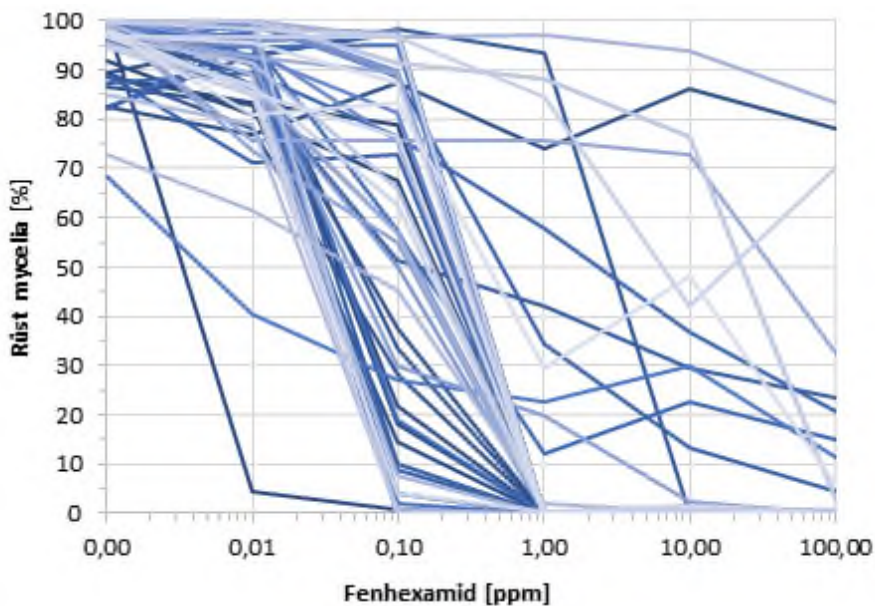
RF > 50 = Vysoce rezistentní

Tabulka 12. Přehled získaných izolátů *B. cinerea* z jednotlivých lokalit na území ČR (ND = nejsou k dispozici data)

Lokalita	Typ výsadby	Odrůda	EC 50 (průměr)	Faktor rezistence (RF)	Počet testovaných izolátů
VŠÚO Holovousy „Bobuloviny“	produkční	Darselect	0,236	13,9	9
Vraňany	produkční	Darselect	0,618	36,5	11
Oskořínek	produkční	Honeoye, Rumba	1,640	97,0	5
Břežany	produkční	Evie, Darselect	1,158	68,4	5
VŠÚO Holovousy „U Kravína“	ekologická	Darselect	0,158	9,3	7
Hořice	domácí zahrada	ND	0,425	25,1	8
Domašín	produkční	Darselect, Carmen	0,182	10,8	5
Piletice	produkční	ND	0,144	8,5	7
Starý Kolín	produkční	Elsanta, Honeoye, Darselect	0,094	5,5	5
Libčany	produkční	ND	0,308	14,9	5
Česká Bělá	produkční	ND	0,373	22,0	3
Kouřim	produkční	Rumba	0,103	6,07	4

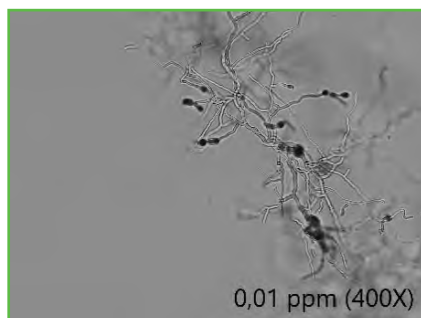
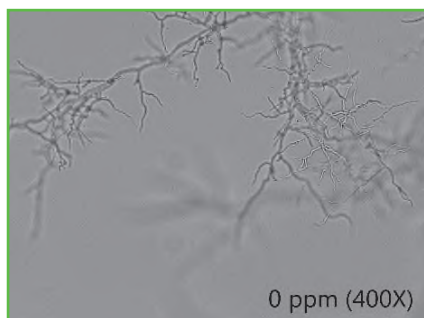
Z 10 sledovaných lokalit byly izoláty ze 2 lokalit – Oskořínek a Břežany vysoce rezistentní. U lokality Oskořínek faktor rezistence dosahoval hodnoty 97, u lokality Břežany 68,4. Lokalita Oskořínek je intenzivně ošetřována fungicidy proti *B. cinerea*. Je tedy zřejmé, že v této lokalitě dochází k narůstající rezistenci vůči tomuto fungicidu. Z hlediska praxe by tedy bylo účelné účinnou látku fenhexamid v dalších letech ze systému ošetřování vyřadit. Izoláty z produkční výsadby VŠÚO Bobuloviny, Vraňany, Domašín, Libčany a domácí výsadba Hořice vykazovaly střední rezistenci vůči účinné látce fenhexamid (10,8–36,5). Nejcitlivější byly izoláty *B. cinerea* získané z lokality VŠÚO U Kravína, Piletice a Starý Kolín, kde se faktor rezistence pohyboval od 5,5 do 9,3.

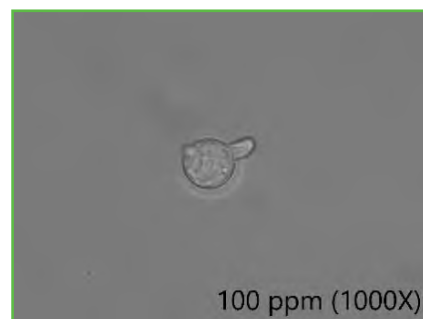
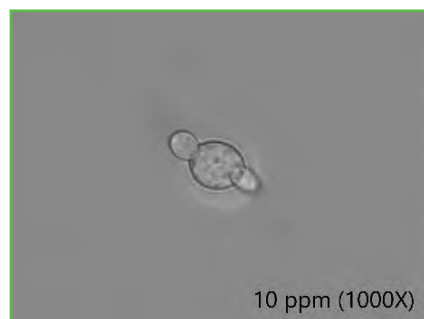
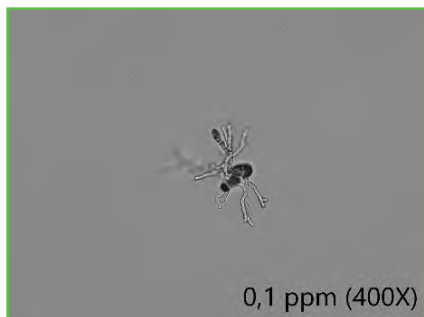
Graf 20. Růst klíčného vlákna (%) u jednotlivých koncentrací úč. látky fenhexamid [ppm] a testovaných izolátů



Z grafu 20 vyplývá, že nebyl omezen růst klíčného vlákna u většiny izolátů při koncentraci fenhexamidu 0,01 ppm. Jako hraniční, tzv. diskriminační, se ukázala koncentrace fenhexamidu 0,1 ppm, při níž spory klíčily, ale růst mycelia byl inhibován. Při koncentracích 1, 10 a 100 ppm spory převážně vyklíčily, avšak další růst byl ihned po vyklíčení zastaven. U některých izolátů však nebyla prokázána inhibice růstu ani při koncentraci 100 ppm, což prokázalo, že tyto izoláty *B. cinerea* lze považovat za vysoce rezistentní k účinné látce fenhexamid.

Obrázek 3. Klíčení konidií *Botrytis cinerea* v daných koncentracích





9.5 METODIKA FRAC - BOTRCI MICROTITER MONITORING METHOD BASF 2009 V2 (QoI, SDHI FUNGICIDY)

Stammler, G., Speakman, J. (2006). Microtiter method to test the sensitivity of *Botrytis cinerea* to boscalid. *Journal of Phytopathology* 154:508-510.

Byla zavedena validovaná laboratorní metoda FRAC, kde je využíváno testování citlivosti *B. cinerea* v mikrotitračních destičkách s využitím čistých účinných látek ze skupiny SDHI fungicid – boscalid a QoI fungicidů – pyraclostrobin. Účinné látky boscalid a pyraclostrobin jsou součástí komerčního fungicidu Signum (BASF SE; boscalid; 267 g/kg; pyraclostrobin; 67 g/kg; jahodník: plíseň šedá; OL = 7 dní; dávka 1,8 kg/ha). Tento přípravek je rovněž klíčovým fungicidem k ochraně jahodníku před napadením plodů *B. cinerea* a jeho používání je mezi pěstiteli široce rozšířeno. Fungicidy ze skupin QoI a SDHI inhibují mitochondriální dýchání. Riziko selekce rezistentních kmenů patogenu k SDHI fungicidům je střední až vysoké a ke QoI fungicidům je vysoké, proto je doporučováno striktní dodržování zásad antirezistentní strategie.

Ze šikmých agarů byly izoláty přeočkovány na 2% MEA médium bez antibiotik. Izoláty byly inkubovány 5–7 dnů při 18 °C a umístěny blízko zdroje UV světla, aby byla indukována vyšší sporulace. Poté byly konidie sklizeny následujícím způsobem.

Petriho miska byla zalita 2× koncentrovaným YBA médiem* a konidie byly lehce seškrábnuty z kolonie ožehnutou sterilní špachtlí. Vzniklá suspenze konidií byla přefiltrována přes sterilní gázu do sterilních falkonek. Následně byla spočítána koncentrace konidií pomocí Bürkerovy komůrky a upravena na koncentraci spor na 2×10^4 / ml. Suspenze spor byla uchována při 4 °C maximálně po dobu 48 h do použití.

Příprava Yeast Bacto Acetate medium, 2× koncentrované (1 l):

20 g kvasničného extraktu

20 g bakteriálního peptonu

40 g octanu sodného doplnit do 1000 ml destilovanou vodou

Koncentrace úč. l. boscalid nebo pyraclostrobin: 0 – 0,01 – 0,03 – 0,1 – 0,3 – 1 – 3 – 10 ppm

Čistá účinná látka byla rozpuštěna v DMSO (dimethylsulfoxidu) a vlastní ředění sterilní deionizovanou vodou bylo připraveno bezprostředně před mícháním se suspenzí konidií.

Pro každý izolát a koncentraci fungicidu byla použita tři opakování. Jako slepý vzorek pozadí „blank“ byl použit roztok účinné látky v YBA médiu bez suspenze konidií. Mikrotitrační destičky byly umístěny do plastových sáčků, aby bylo zamezeno odpařování, a byly inkubovány při 18 °C ve tmě po dobu 5 dní. Pět dní po inokulaci byla měřena optická denzita ve spektrofotometru při vlnové délce 405 nm. Optická denzita v pokusných zkumavkách byla srovnána s optickou denzitou sterilní negativní kontroly a vynesena jako relativní nárůst mycelia (% , grafy 21 a 22). Nárůst je srovnáván s negativní kontrolou (suspenze konidií bez účinné látky), kdy hodnota EC50 [ppm] je koncentrace účinné látky, při které je růst izolátu inhibován z 50 % vzhledem k neošetřené kontrole. Hodnoty EC50 [ppm] izolátů *B. cinerea* z produkčních výsadeb jsou porovnávány hodnotami EC50 [ppm] citlivých izolátů.

Tabulka 13. Přehled izolátů *B. cinerea* z jednotlivých lokalit na území ČR a stanovená EC50 [ppm] pro boscalid (ND = nejsou k dispozici data). Citlivost izolátů k účinné látce je barevně rozlišena: **zelená** – citlivý, **oranžová** – snížená citlivost, **červená** – rezistence.

Lokalita	Typ výsadby	Odrůda	BOSCALID EC50 [ppm] (průměr)	Počet izolátů
VŠÚO Holovousy „Bobuloviny“	produkční	Darselect	0,072	5
Vraňany	produkční	Darselect	0,110 / 10,0 *	2
Oskořínek	produkční	Honeoye, Rumba	0,080 / 0,770 / 5,7 *	6
Břežany	produkční	Evie, Darselect	0,074 / 1,4 / 7,2 *	6
Hořice	domácí zahrada	ND	0,030	2
Domašín	produkční	Darselect, Carmen	0,063	3
Libčany	produkční	ND	0,135	4
Horní Cetno	ND	Karmen, Elista	0,068	4
Bříství	ND	Rumba	5,5	2

* V dané lokalitě byly zachyceny izoláty s různou úrovní citlivosti k účinné látce.

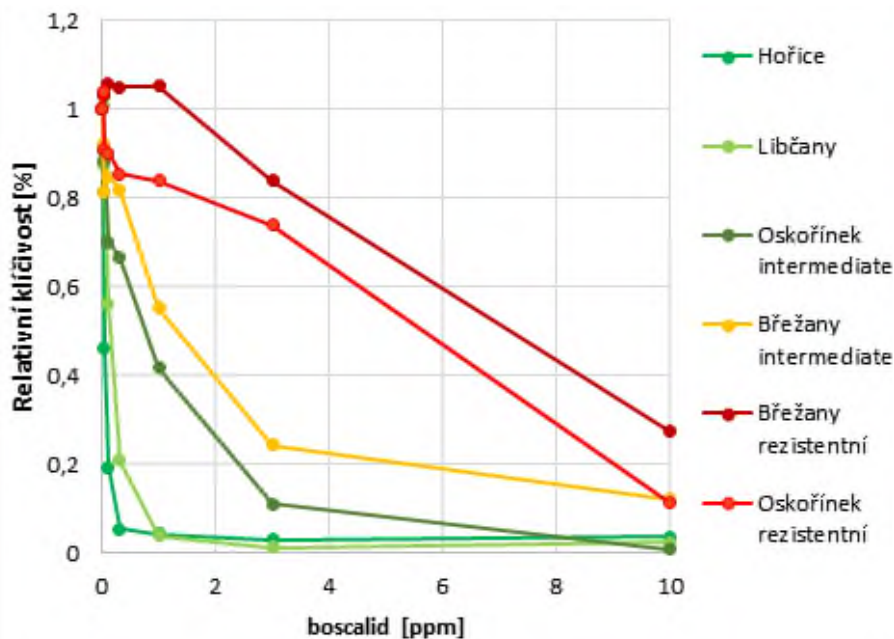
Tabulka 14. Přehled izolátů *B. cinerea* z jednotlivých lokalit na území ČR a stanovená EC50 [ppm] pro pyraclostrobin (ND = nejsou k dispozici data). Citlivost izolátů k účinné látce je barevně rozlišena: **zelená** – citlivý, **červená** – rezistence.

Lokalita	Typ výsadby	Odrůda	PYRACLOSTROBIN EC50 [ppm] (průměr)	Počet izolátů
Vraňany	produkční	Darselect	0,026 / 10,0 *	5
Oskořínek	produkční	Honeoye, Rumba	0,017 / 10,0 *	4
Břežany	produkční	Evie, Darselect	0,026 / 9,0 *	6
Hořice	domácí zahrada	ND	0,01	2
Domašín	produkční	Darselect, Carmen	0,09	3
Libčany	produkční	ND	0,03	4
Horní Cetno	ND	Karmen, Elista	0,20	2

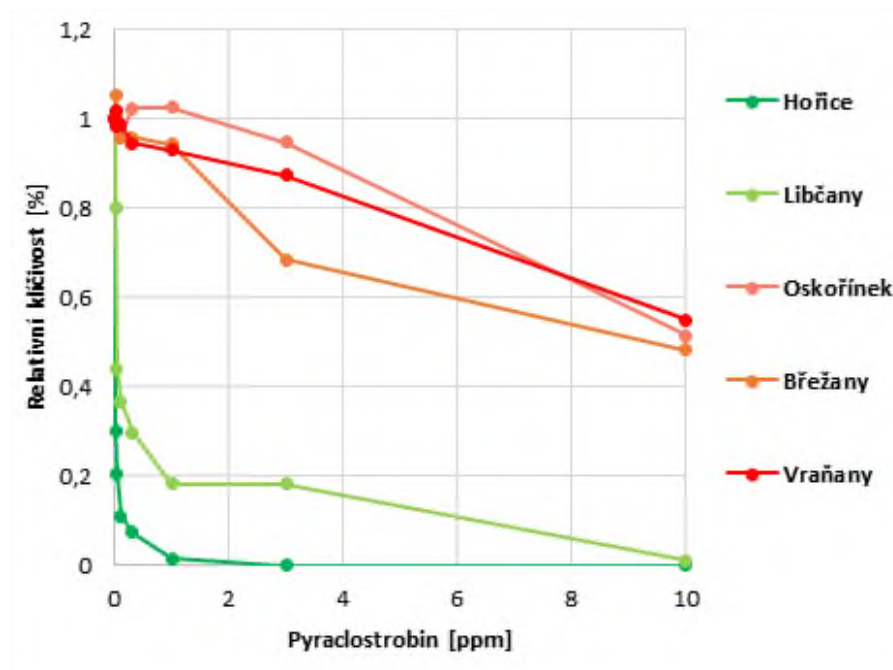
* V dané lokalitě byly zachyceny izoláty s různou úrovní citlivosti k účinné látce.

U 4 izolátů pocházejících z lokalit Vraňany, Oskořínek, Břežany byla zaznamenána vysoce rezistentní reakce k působení účinné látky boscalid. V lokalitách Vraňany, Oskořínek a Břežany byly současně zachyceny i izoláty se sníženou citlivostí (střední rezistence) k boscalidu i izoláty citlivé k působení této účinné látky. Tři izoláty z lokalit Vraňany, Oskořínek, Břežany byly rezistentní k účinné látce pyraclostrobin. Z těchto lokalit pocházejí také izoláty citlivé k pyraclostrobinu.

Graf 21. Relativní klíčivost spor *B.cinerea* [%] u jednotlivých koncentrací úč. látky boscalid [ppm] u vybraných reprezentativních testovaných izolátů



Graf 22. Relativní klíčivost spor *B.cinerea* [%] u jednotlivých koncentrací úč. látky pyraclostrobin [ppm] u vybraných reprezentativních testovaných izolátů



10 SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ

Metodika se zejména věnuje problematice rezistence houby *Botrytis cinerea*, která způsobuje hospodářsky nejzávažnější chorobu jahodníku – šedou hnilobu plodů. V metodice je patogen popsán a další kapitoly se věnují typům a mechanismům rezistence, ohroženým fungicidům používaným k ochraně jahodníku, monitoringu rezistence a také zásadám antirezistentních strategií. V metodice jsou uvedené postupy testování citlivosti, respektive rezistence populací patogenu *B. cinerea* z produkčních výsadeb k používaným vybraným fungicidům ze skupiny QoI, KRI a SDHI. Jsou uvedeny metody stanovené jako standardní postupy mezinárodním expertním panelem FRAC. Dále se metodika věnuje velmi diskutovanému tématu – problematice reziduí pesticidů v plodech jahodníku a jejich degradaci v průběhu sklizně. Kdy ve dvouletém maloparelkovém pokusu byly analyzovány plody z modelových systémů ochrany jahodníku proti škodlivým organismům. Část metodiky je věnována novým, perspektivním typům skladování plodů jahodníku a jejich vlivu na eradikaci patogenu *B. cinerea*, vlivu na jakostní parametry plodů a i na degradaci reziduí pesticidů v plodech.

11 POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY

Metodika je určena pro profesionální zelináře a ovocnáře pěstující jahodník, včetně pěstitelů produkujících jahody v systému integrované produkce, a pro skladovatele. Uplatňování zásad integrované ochrany rostlin splňuje i požadavky současně platné legislativy stanovené Směrnicí EP a Rady 2009/128/ES, která zavádí od r. 2014 povinnost dodržování obecných principů integrované ochrany pro všechny pěstitelé. Metodické postupy stanovení citlivost/rezistence patogenu *Botrytis cinerea* k vybraným fungicidním látkám ze skupiny QoI, KRI a SDHI fungicidů může využít kterákoliv laboratoř zabývající se danou problematikou a disponující příslušným laboratorním a přístrojovým vybavením, stejně tak využití laboratorních metod testů na agaru s přídatkem fungicidu. V metodice jsou dále uvedeny informace typů a mechanismů rezistence stejně jako popis bionomie houby *B. cinerea*, symptomů napadení i fungicidů využívaných k ochraně jahodníku proti plísní šedé, které mohou být využity např. studenty nebo dalšími oborově zaměřenými zájemci k rozšíření znalostí o tomto hospodářsky nejvýznamnějším patogenu jahodníku.

12 EKONOMICKÉ ASPEKTY

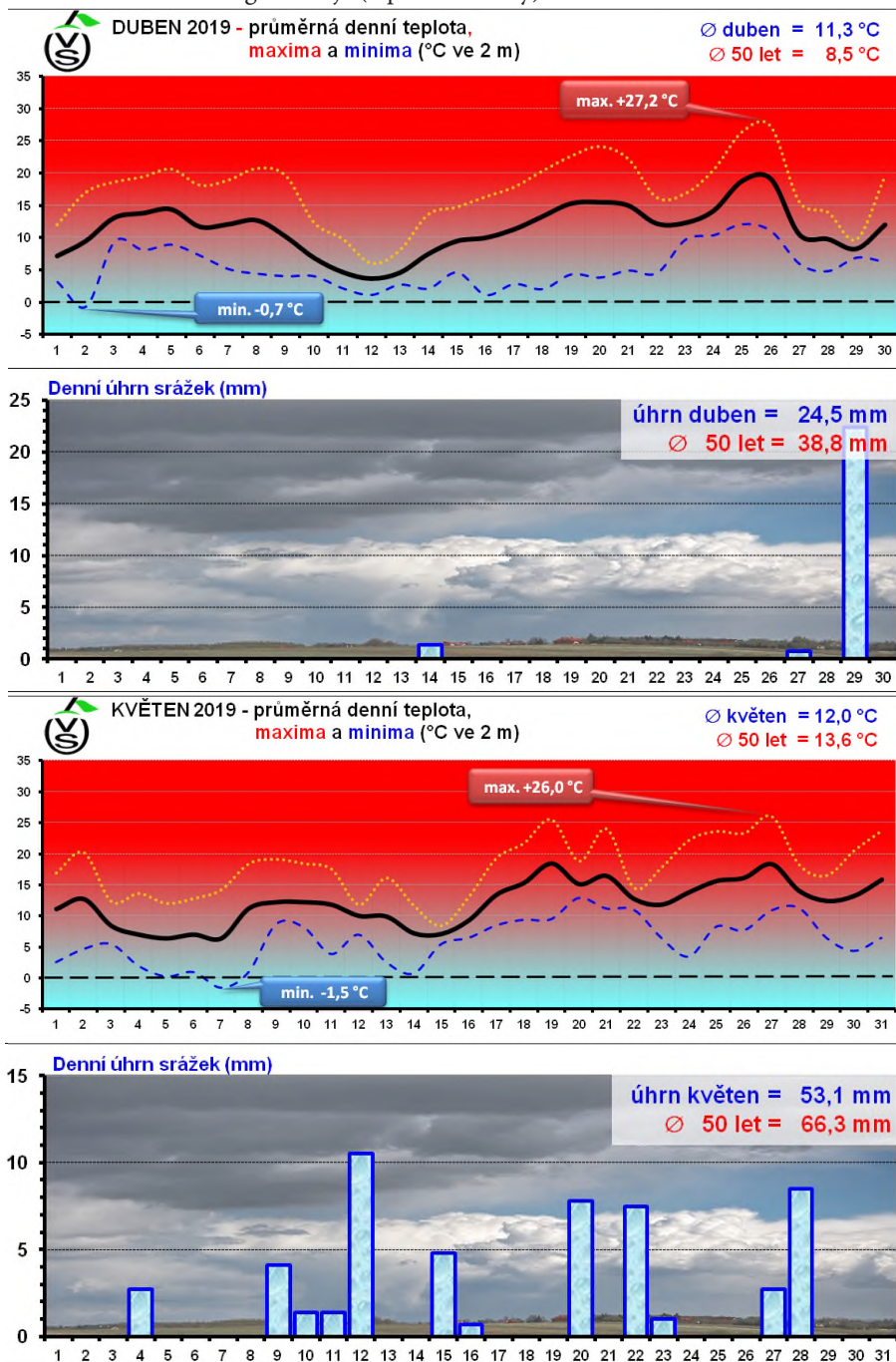
Předpokládaný ekonomický přínos je očekáván v řadách pěstitelů jahodníku a skladovatelů ovoce. Metodika je aplikovatelná na celý segment produkce jahod. Ekonomické aspekty využití publikace lze odvodit mimo jiné i z trendu celkového nárůstu tržeb za celkovou produkci ovoce, kdy v roce 2019 tržby vzrostly v porovnání s předchozím rokem o 12 % a dosáhly celkem 2,3 mld. Kč. Produkce ovoce z produkčních sadů byla zrealizována za 1,4 mld. Kč (tj. o 11 % více v porovnání s rokem 2018), přičemž největší podíl na tržbách měly jablka (65 %) a jahody

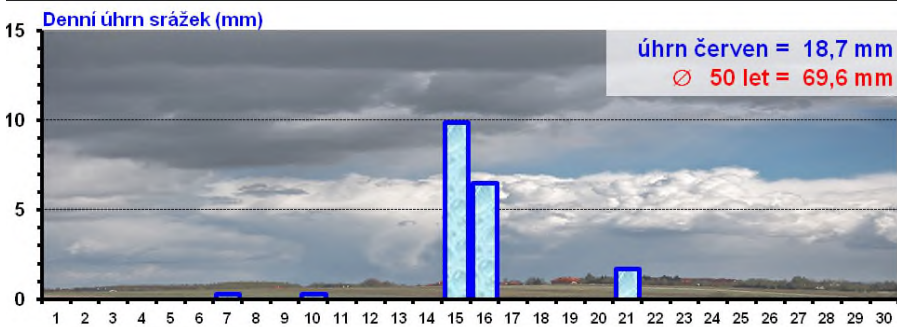
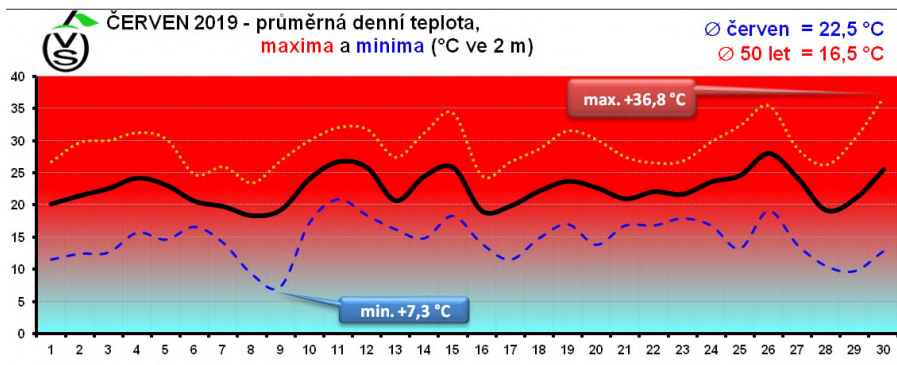
(7,5 %), ačkoliv byl v tomto roce u jahod zaznamenán pokles tržeb. Situační a výhledová zpráva ovoce pro rok 2019 uvádí, že celková sklizeň jahod činila 6 384 t s výnosem 3,5 t/ha. Převážná část sklizně, cca 65 %, byla realizována jako ovoce pro přímý konzum v čerstvém stavu (markety, přímý prodej).

V současné době je jahodník produkčně pěstován na cca 500 ha ploch zemědělských plodin. (Buchtová, 2020). Zpřesnění metodických postupů usnadní pěstiteli cílenější zásahy a vyšší efektivnost ochrany jahodníku, zejména proti původcům houbových chorob. Houbový patogen *B. cinerea* způsobuje hospodářsky nejzávažnější chorobu jahodníku – šedou hnilobu plodů. Při epidemickém rozvoji této choroby dochází k fatálnímu zničení produkce. Náklady vynaložené na ochranu proti tomuto patogenu představují významnou položku v rozpočtu pěstitelů. Vyřazení neúčinných přípravků ze systému a zvýšení účinnosti ochrany tak vede ke zvýšení tržeb a rentability produkce. Souvisejícím přínosem je snížení zátěže prostředí cizorodými látkami, nadbytečně aplikovanými neúčinnými přípravky a také jejich vyřazení z ošetřování, pokud se k nim v dané lokalitě prokáže vznik rezistence patogenu.

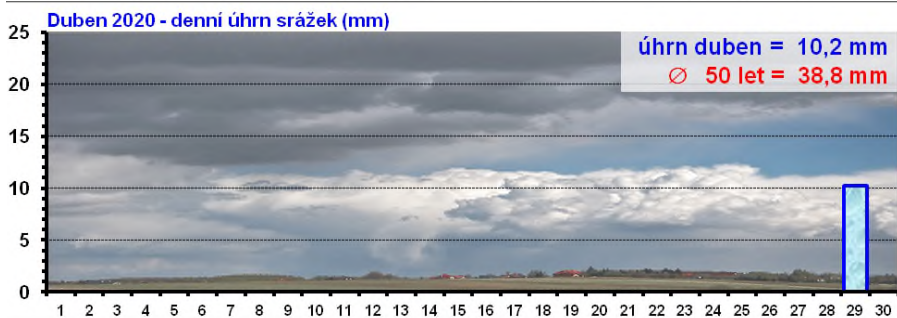
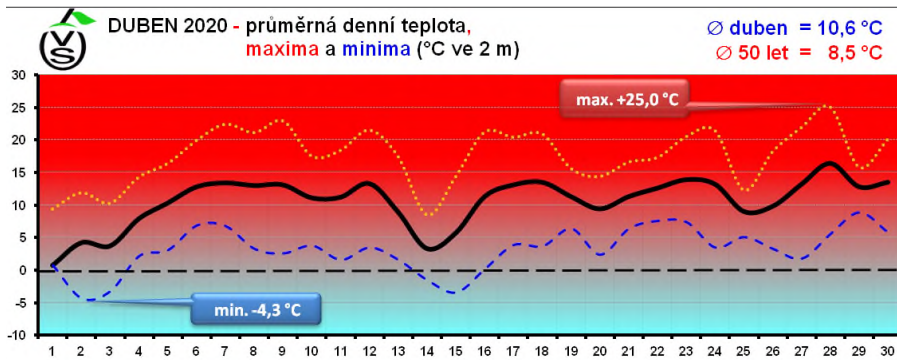
13 PŘÍLOHY

Obrázek 1. Meteorologické údaje (teplota a srážky) za období duben až červen 2019





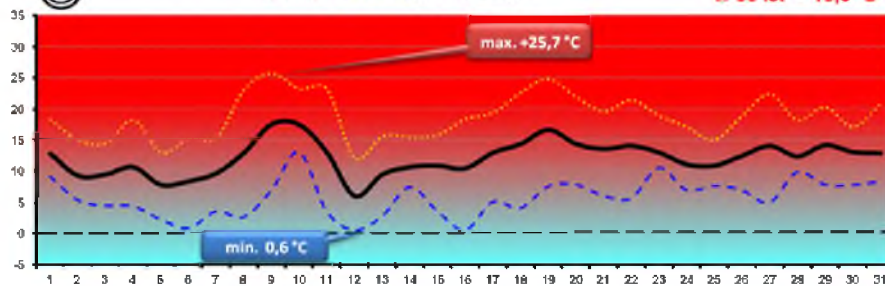
Obrázek 2. Meteorologické údaje (teplota a srážky) za období duben až červen 2020





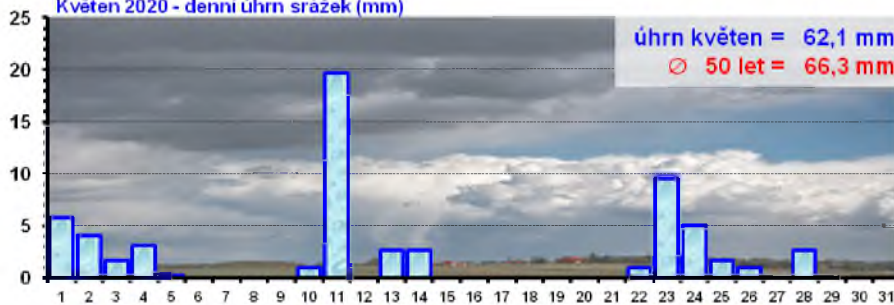
**KVĚTEN 2020 - průměrná denní teplota,
maxima a minima (°C ve 2 m)**

○ květen = 12,2 °C
○ 50 let = 13,6 °C



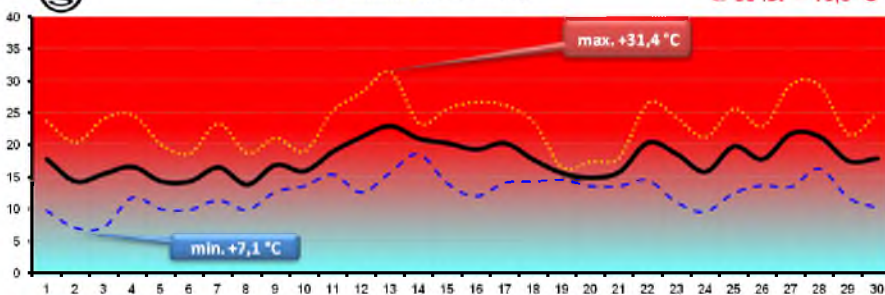
Květen 2020 - denní úhrn srážek (mm)

úhrn květen = 62,1 mm
○ 50 let = 66,3 mm



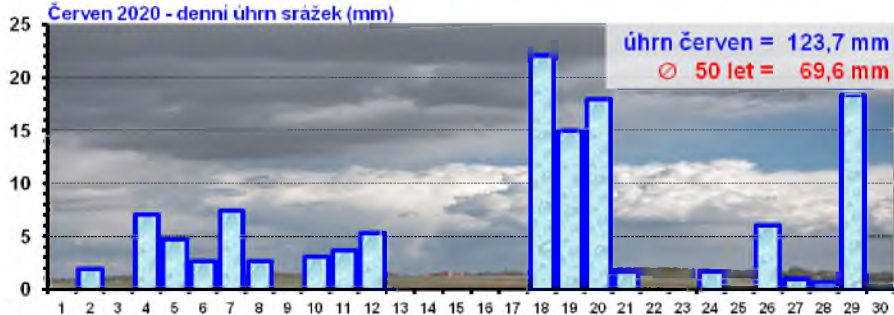
**ČERVEN 2020 - průměrná denní teplota,
maxima a minima (°C ve 2 m)**

○ červen = 17,8 °C
○ 50 let = 16,5 °C



Červen 2020 - denní úhrn srážek (mm)

úhrn červen = 123,7 mm
○ 50 let = 69,6 mm



14 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Anonym 1. 2020. Definition of fungicide resistance. Dostupné z <http://www.frac.info/resistance-overview>.
- Anonym 2. 2020. Registr přípravek na ochranu rostlin. Dostupné z <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?vyhledat=A&stamp=1423386315750>.
- Anonym 3. 2020. QoI fungicides – Introduction and General Information. Fungicide action committee. Dostupné z <http://www.frac.info/working-group/qol-fungicides>.
- Anonym 4. 2020. Impact of Position 143 Intron on Resistance Risk to QoI Fungicides in Some Pathogens. Dostupné z <http://www.frac.info/working-group/qol-fungicides/quick-references>.
- Anonym 5, 2020. SBI fungicides – Introduction and General Information. Dostupné z <https://www.frac.info/frac-teams/working-groups/sbi-fungicides/information>.
- Anonym 6. 2020. Resistance overview. Fungicide action committee. 2020. Dostupné z <http://www.frac.info/resistance-overview>.
- Anonym 7. 2020. QoI Guidelines: Pome fruit. Fungicide action committee – QoI Working Group. Dostupné z <http://www.frac.info/working-group/qol-fungicides/general-use-recommendations/vine-and-pome-fruits>.
- Anonym 8, 2020. Protocol of the discussions and use recommendations of the AP's Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). Dostupné z https://www.frac.info/docs/default-source/working-groups/ap-fungicides/ap-wg/minutes-of-the-2020-ap-meeting-recommendations-for-2020.pdf?sfvrsn=9215499a_2.
- Anonym 9, 2020. Protocol of the discussions and use recommendations of the QoI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). Dostupné z [https://www.frac.info/docs/default-source/working-groups/qol-fungicides/qoi-meeting-minutes/minutes-of-the-2020-qoi-wg-meeting-and-recommendations-for-2020-\(june-2020-update\).pdf?sfvrsn=f2a4499a_2](https://www.frac.info/docs/default-source/working-groups/qol-fungicides/qoi-meeting-minutes/minutes-of-the-2020-qoi-wg-meeting-and-recommendations-for-2020-(june-2020-update).pdf?sfvrsn=f2a4499a_2).
- Anonym 10, 2020. Protocol of the discussions and use recommendations of the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC) Dostupné z https://www.frac.info/docs/default-source/working-groups/sdhi-fungicides/sdhi-meeting-minutes/minutes-of-the-2020-sdhi-meeting-21-22th-of-january-2020-with-recommendations-for-2020.pdf?sfvrsn=5918499a_2.
- Anonym 11. 2005. Rezidua pesticidů v potravinách. Vědecký výbor pro potraviny. Státní zdravotní ústav. 29 s.
- Abad, A., Moreno, M. J., Pelegr, R., Martnez, M. I., Saez, A. Gamon, M. and Montoya, A., 1999, Determination of carbaryl, carbofuran and methiocarb in cucumbers and strawberries by monoclonal enzyme immunoassays and highperformance liquid chromatography with fluorescence detection An analytical comparison. *Journal of Chromatography A*, 833, 3–12.

- Ahmed, M. T. and Ismail, S. M. M., 1995, Residues of methomyl in strawberries, tomatoes and cucumbers. *Pesticide Science*, 44, 197–199.
- Ahmed, M. T. and Ismail, S. M. M., 1996, Effect of reduced application rates of dicofol and pirimiphos-methyl on strawberries and common beans on their residue content and crop production. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 3694–3697.
- Aguayo E, Jansasithorn R. & Kader A.A. 2006. Combined effects of 1-methylcyclopropene, calcium chloride dip, and/or atmospheric modification on quality changes in fresh-cut strawberries *Postharvest Biol. Technol.* 40 269–278.
- Allende A, Marín A, Buendía B, Tomás-Barberán F. & Gil MI. (2007). Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O₃, superatmospheric O₂ and high CO₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 46, 201–211. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.05.007>.
- Araque LCO, Rodoni LM, Darré M, Ortiz CM, Civello PM, Vicente AR. 2018. Cyclic low dose UV-C treatments retain strawberry fruit quality more effectively than conventional pre-storage single high fluence applications. *Food Science and Technology*, 92, 304–311.
- Bartlett DW, Clough JM, Godwin JR, Hall AA, Hamer M, Parr-Dobrzanski B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Management Science* 58:649–662.
- Blažek J. 1988. *Ovocnictví*. 1. vyd. KVĚT, Praha, s. 383. ISBN 80-85362-33-3.
- Bower JH, Biasi WV, Mitcham E J. 2003. Effects of ethylene and 1-MCP on the quality and storage life of strawberries. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 417–423. doi: 10.1002/jsfa.3868.
- Brent KJ, Hollomon DW. 2007a. *Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed?* 2nd ed. Aimprint, United Kingdom.
- Brent KJ, Hollomon DW. 2007b. *Fungicide resistance: The assessment of risk*. 2nd ed. Aimprint, United Kingdom.
- Brožová J, Salava J, Palicová J, Neubaerová T, Novotný D. 2018. Hodnocení rezistence *Botrytis cinerea* k fungicidním látkám mikrotitrační spektrofotometrickou metodou. *Sborník XXI. Česká a slovenská konference o ochraně rostlin. MENDELU v Brně*, 5. – 6. září 2018. s. 50.
- Buchtová I. 2020. *Situační a výhledová zpráva ovoce 2020*. Praha: Ministerstvo zemědělství, Těšnov 65/17.
- Candan AP; Graell J, Crisosto C. and Larrigaudiere C. 2006. Improvement of storability and shelf-life of 'Blackamber' plums treated with 1-Methylcyclopropene. *Food Science and Technology International* 15(2), 437–444.
- Cantillano R. 2016. *Manuseio Pós-Colheita*. Morangueiro. Brasília: Embrapa 509–533.

- Cisneros-Zevallos L. 2006. The use of controlled postharvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, 68, 1560–1565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb12291.x>.
- Cunha Junior LC, Jacomino AP, Ogassavara FO, Trevisan MJ, Parisi MCM. 2012. Armazenamento refrigerado de morango submetido a altas concentrações de CO₂. *Horticultura Brasileira*, 30(4), 688–694.
- Day BPF. 2001. Modified atmosphere packaging of fresh fruit and vegetables – an overview. *Acta Hort.* 553:585–590.
- DeEll J. 2006. Postharvest Handling and Storage of Strawberries. Fresh Market Quality Program Lead/OMFRA. Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs, Ontario.
- Dermibas, A., 1998, Spectrophotometric determination of carbaryl pesticide and its hydrolysis product in soil and strawberry samples. *Science of the Total Environment*, 220, 235–241
- Diáñez F, Santos M, Blanci R, Tello JC. 2002. Fungicide resistance in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry crops in Huelva (southwestern Spain). *Phytoparasitica*. Vol. 30, No 5, 529-534. ISSN 0334- 2123.
- Du J, Han Y. and Linton RH. 2003. Efficacy of chlorine dioxide gas in reducing *Escherichia coli* O157:H7 on apple surface. *Food Microbiology*, 20, 583–591.
- Falqui-Cao, C., Wang, Z., Urruty, L., Pommier, J.-J. and Montury, M., 2001, Focused microwave assistance for extracting some pesticide residues from strawberries into water before their determination by SPME/HPLC/DAD. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 5092–5097.
- Fernández-Ortuno D, Grabke A, Bryson PK, Amiri A, Peres NA, Schnabel G. 2014. Fungicide resistance profiles in *Botrytis cinerea* from strawberry fields of seven southern U.S. states. *Plant Dis*. 98:825–833.
- Fillinger S, Leroux P, Auclair CH, Barreau CH, Al Hajj CH, Debieu D. 2008. Genetic Analysis of Fenhexamid-Resistant Field Isolates of the Phytopathogenic Fungus *Botrytis cinerea*. *Antimicrob. Agents Chemother*. Vol. 52(1):3933-3940. ISSN 0066-4804.
- Flores Cantillano RFF, Castaneda LMF, Treptow RO, Schunemann APP. 2008. Qualidade físico-química e sensorial de cultivares de morango durante o armazenamento refrigerado. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 29 p.
- Fontaine S, Remuson F, Fraissinet-Tachet L. 2009. Monitoring of *Venturia inaequalis* harbouring the QoI resistance G143A mutation in French orchards as revealed by PCR assays. *Pest Management Science* 65:74–81.

- Fontelles JPB, Schmit N, 2005. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005 ze dne 23. února 2005 o maximálních limitech reziduí (MLR) pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu a na jejich povrchu a o změně směrnice Rady 91/414/EHS. [cit. 2018-10-19]. Dostupné z <http://eur-lex.europa.eu>.
- García JM, Medina RJ, and Olías JM. 1998. Quality of strawberries automatically packed in different plastic films. *J. Food Sci.* 63:10371041.
- Gisi U, Sierotzki H, Cook A, McCaffery A. 2002. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Management Science* 58:859-867.
- Grabke A, Fernández-Ortuno D, Schnabel G. 2013. Fenhexamid Resistance in *Botrytis cinerea* from Strawberry Fields in the Carolinas Is Associated with Four Target Gene Mutations. *Plant Disease* 97(2):271–276.
- Grasso V, Palermo S, Sierotzki H, Garibaldi A, Gisi U. 2006. Cytochrome b gene structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. *Pest Management Science* 62:465–472.
- Gu T, Jia S, Huang X, Wang L, Fu W, Hou G, et al. 2019. Transcriptome and hormone analyses provide insights into hormonal regulation in strawberry ripening. *Planta*, 250, 145–162. doi: 10.1007/s00425-019-03155-w.
- Hardenburg RE, Watada AE, Wang CY. 1986. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. *Agricultural Handbook N.66*. U.S. Department of Agriculture. Washington D.C.
- Hajšlová J. 2015. Nejvíce pesticidů mohou obsahovat jahody, pozor i na slupku citrusů. *Vitalia*. Dostupné z <https://www.vitalia.cz/clanky/nejvice-pesticidu-mohou-obsahovat-jahody-pozor-i-na-slupku-citrusu/>.
- Hajšlová J, Tichá J, Kocourek V, Lánský M, Jech M, Čajka T, Honzíček J. 2006: Rezidua pesticidů v ovoci a zelenině, možnost minimalizace. *Vědecký výbor fytosanitární a životní prostředí*. 35 s.
- Hlušek J. 2018. *Ovocné kultury*. 1. vyd. Profi Press, Praha, s. 238. ISBN 978-80-86726-86-1.
- Huang TS, Xu C, Walker K, West P, Zhang S, and Weese J. 2006. Decontamination efficacy of combined chlorine dioxide with ultrasonication on apples and lettuce. *Journal of Food Science*, 71, M134-M139.
- Chen JX, Mao LC, Lu WJ, Ying TJ, Luo ZS. 2016. Transcriptome profiling of postharvest strawberry fruit in response to exogenous auxin and abscisic acid. *Planta*, 243(1), 183–402.
- Kocourek V. 2007. *Potravinářská legislativa*. Dostupné z <http://web.vscht.cz/kocourev/legislativa.html>.
- Chitarra MIF, Chitarra AB. 2005. *Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio*, segunda ed. Ufla Lavras. Nalbandi H, Rangbar F, Ghasemzadeh,

- HR, & Seiedlou S. (2016). Innovative Parallel Airflow System for forced-aircooling of strawberries. *Food and Bioproducts Processing.*, 100, 440–449. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.09.002>.
- Chitarra MIF, Chitarra AB. 2005. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio, segunda ed. UFLA, Lavras. Ertan, U., Özelkök, S., Çelikel, F. and Kepenek K. 1990. Effects of precooling and elevated CO₂ content on fruit quality and postharvest life of strawberries. *Turkish. Bahçe* 19:59-76. Yalova (Turkey).
- Kader, A.A. 1992. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Univ. California DANR Publ. 3311, Oakland, California. 296 pp.
- Ishii H, Hollomon DW. 2015. *Fungicide resistance in plant pathogens – Principles and a guide to practical management*. Springer Japan.
- Jeřábková H. 2010. *Rezistence k fungicidům v populaci padlí tykvoovitých v České republice*. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci. Přírodovědecká fakulta. Olomouc. s. 84.
- Jia HF, Chai YM, Li CL, Lu D, Luo JJ, Qin, L, & Shen YY. 2011. Abscisic acid plays an important role in the regulation of strawberry fruit ripening. *Plant Physiology*, 157(1), 188–199. <https://doi.org/10.1104/pp.111.177311>.
- Jiang Y, Joyce DC, and Terry L. A. 2001. 1-Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. *Postharvest Biol. Technol.* 23 (3), 227–232. doi: 10.1016/S0925-5214(01)00123-5.
- JinP, Wang SY, Wang C Y, & Zheng Y. 2011. Effect of cultural system and storage.
- Kader A. 1992. Quality and its maintenance in relation to the postharvest physiology of strawberry. In: Luby JJ, Dale A (Eds.), *The Strawberry into the 21th Century*. Timber Press, Portland, OR, pp. 145–152.
- Kader AA. 1999. Fruit maturity ripening and quality relationships. *Proceedings International Symposium on Effect of Preand Post-harvest Factors on Storage of Fruits. Acta Horticulturea* 485: 203–208.
- Kafkas E, Kosar M, Paydas S, Kafkas S and Baser KHC. 2007. Quality characteristics of strawberry genotypes at different maturation stages. *Food Chemistry* 100(3): 1229–1236.
- Keskinen LA, Burke A, and Annous BA. 2009. Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 from lettuce leaves. *International Journal of Food Microbiology*, 132, 134–140.
- Khadre MA, Yousef AE. and Kim JG. 2001. Microbial aspects of ozone applications in food: a review. *Journal of Food Science*, 66, 1242–1252.
- Kloutvorová J, Jaklová P, Skalský M, Ouředníčková J, Valentová L. 2018. *Certifikovaná metodika: Integrovaná ochrana jahodníku*. VŠÚO Holovousy s.r.o. ISBN 978-80-87030-60-8.

- Ku VVV, Wills RBH, and Ben-Yehoshua S. 1999. 1-Methylcyclopropene can differentially affect the postharvest life of strawberries exposed to ethylene. *HortScience* 34, 119–120. doi: 10.21273/HORTSCI.34.1.119.
- Leroch M, Plesken C, Weber RWS, Kauff F, Scalliet G, Hahn M. 2013. Gray mold populations in German strawberry fields are resistant to multiple fungicides and dominated by a novel clade closely related to *Botrytis cinerea*. *Appl. Environ. Microbiol.* 79(1):159–167.
- Leroux P, Fritz R, Debieu D, Albertini C, Lanen C, Bach J, Gredt M, Chapeland F. 2002. Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science. Special Issue: Resistance 2001. Vol. 58(9):876–888.*
- Maas JL, 1998. *Compendium of Strawberry Diseases. Second Edition.* U.S. Department of Agriculture Beltsville, Maryland. ISBN 0-89054-194-9.
- McGrath MT. 2001. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and challenges. *Plant Disease* 85:236–245.
- Mercier J, Kong M, Cook F. 2010. Fungicide resistance among *Botrytis cinerea* isolates from California strawberry fields. Online. *Plant Health Progress*, doi:10.1094/PHP-2010-0806-01-RS. Available from: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2010/strawberry/>.
- Odriozola-Serrano I, Soliva-Fortuny R, & Martín-Belloso O. 2010. Changes in bioactive composition of fresh-cut strawberries stored under superatmospheric oxygen, low-oxygen or passive atmospheres. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.07.007>.
- Olaya G, Köller W. 1999. Diversity of kresoxim-methyl sensitivities in baseline populations of *Venturia inaequalis*. *Pesticide Science* 55:1083–1088.
- Panda AK, Goyal RK, Godara AK, & Sharma VK. 2016. Effect of packaging materials on the shelf-life of strawberry cv. Sweet Charlie under room temperature storage. *Journal of Applied and Natural Science*, 8(3), 1290-1294. <https://doi.org/10.31018/jans.v8i3.955>.
- Pappas AC. 1997. Evolution of fungicide resistance in *Botrytis cinerea* in protected crops in Greece. *Crop Protection* 16(3):257–263.
- Pelayo C, Ebeler SE and Kader AA. 2003. Postharvest life and flavour quality of three strawberry cultivars kept at 5°C in air or air + 20 kPa CO₂. *Postharvest Biol. Tech.* 27:171–183.
- Pelayo C, Ebeler S, & Kader A. 2003. Postharvest life and flavor quality of three strawberry cultivars kept at 5°C in air or air+20 kPa CO₂. *Postharvest Biology and Technology*, 27, 171–183.
- Peng G, Sutton JC. 1991. Evaluation of microorganism for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. *Can. J. Plant Pathol.* 13: 247–257.

- Pérez AG, & Sanz C. 2001. Effect of high-oxygen and high-carbondioxide atmospheres on strawberry flavor and other quality traits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2370–2375. <https://doi.org/10.1021/jf001438l>.
- Pérez AG, Sanz C, Rios JJ, Olias R, Olias JM. 1999. Effects of Ozone Treatment on Postharvest Strawberries Quality. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1652–1656.
- Petrasch S, Knapp SJ, Van Kan JAL, Blanco- Ulate B. 2019. Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. *Molecular plant pathology*. P. 3-4.
- Podymniak M. 2019. Nowe technologie. In *Jagodnik*, roč. 6, č.5, s. 17-21. ISSN 2084-2015.
- Richter M. 2004. Malý obrazový atlas odrůd ovoce 6 jahodník, maliník, ostružiník, 1. Vyd. TG Tisk, Lanškroun, 2004. s. 76. ISBN 80-903487-5-0.
- Santos JS, Oliveira MBPP. 2012. Alimentos frescos minimamente processados embalados em atmosfera modificada. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(1), 1–14.
- Scalliet G, Bowler J, Luksch T, Kirchhofer-Allan L, Steinhauer D, Ward K, Niklaus M, Verras A, Csuaqi M, Daina A, Fonné-Pfister, R. 2012. Mutagenesis and functional studies with succinate dehydrogenase inhibitors in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *PLoS one*; 7(4), p.35429.
- Shin YJ, Song HY and Song BK. 2012. Effect of a combined treatment of rice bran protein film packaging with aqueous chlorine dioxide washing and ultraviolet-C irradiation on the postharvest quality of 'Goha' strawberries. *Journal of Food Engineering*, 113, 374–379.
- Sierotzki H, Scalliet G. 2013. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology*. 103 (9), p. 880-887.
- Sierotzki H, Wullschleger J, Gisi U. 2000a. Point-mutation in cytochrome b gene conferring resistance to strobilurin fungicides in *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* field isolates. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 68:107–112.
- Singh V, Dudi OP, Sandooja JK, & Goyal RK. 2018. Packaging in polyethylene bags and storage in zero energy cool chambers improves storage life of pear fruits under subtropics. *International Journal of Chemical Studies*, 6(2), 1657–1663.
- Sisler EC, Alwan T, Goren R, Serek M. and Apelbaum A. 2003. 1-Substituted cyclopropenes: Effective blocking agents for ethylene action on plants. *Plant Growth Regulation* 40, 223–228.
- Sisler EC, and Serek K. 1997. Inhibitors of ethylene responses in plant at the receptor level: Recent development. *Physiologia Plantarum* 100, 577–582.
- Skwiercz A. 2019. Nicenie pasozytnicze truskawek. In *Jagodnik*, roč. 6, č. 1, s. 34-36. ISSN 2084-2015.

- Smith RB. 1992. Controlled atmosphere of Redcoat strawberry fruit. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* pp. 117, 260, 264.
- Sy KV, Murray MB, Harrison M, and Beuchat LR. 2005. Evaluation of gaseous chlorine dioxide as a sanitizer for killing *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and yeasts and molds on fresh and fresh-cut produce. *Journal of Food Protection*, 68, 1176–1187. temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. *Food Chemistry*,
- Terry LA, Ilkenhans T, Poulston S, Rowsell L, and Smith AWJ. 2007. Development of new palladium-promoted ethylene scavenger. *Postharvest Biol. Technol.* 45, 214–220. doi: 10.1016/j.postharvbio.2006.11.020.
- Van de Velde F, Méndez-Galarraga MP, Grace MH, Fenoglio C, Lila MA, & Pirovani MÉ. 2019. Changes due to high oxygen and high carbon dioxide atmospheres on the general quality and the polyphenolic profile of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 148, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.10.015>.
- Vandekinderen I, Devlieghere F, Van Camp J, Kerkaert B, Cucu T, Ragaert P, et al. 2009. Effects of food composition on the inactivation of foodborne microorganisms by chlorine dioxide. *International Journal of Food Microbiology*, 131, 138–144.
- Villareal NM, Marina M, Nardi CF, Civello PM, and Martínez GA. 2016. Novel insights of ethylene role in strawberry cell wall metabolism. *Plant Sci.* 252, 1–11. doi: 10.1016/j.plantsci.2016.06.018.
- Villarreal NM, Bustamante CA, Civello PM, and Martínez GA. 2010. Effect of ethylene and 1-MCP treatments on strawberry fruit ripening. *J. Sci. Food Agric.* 90, 683–689. doi: 10.1002/jsfa.3868.
- Vincelli P. 2002. QoI (Strobilurin) Fungicides: benefits and risks. The plant health instructor. The American Phytopathological Society. Available from <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Pages/StrobilurinFungicides.aspx>.
- Weber RWS. 2010. Occurrence of Hyd R3 fenhexamid resistance among *Botrytis* isolates in Northern German soft fruit production. *Journal of Plant Diseases and Protection* 117(4):177–179.
- Wennrich, L., Popp, P., Ko«ller, G. and Breuste, J., 2001, Determination of organochlorine pesticides and chlorobenzenes in strawberries by using accelerated solvent extraction combined with sorbitive enrichment and gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 84, 1194–1201.
- Werner T. 2019. Sadzonki truskawek. In *Jagodnik*, roč. 6, č.8, s.10-15. ISSN 2084-2015
- Wyenandt CA, Maxwell N, Ward DL. 2008. Fungicide programs affect practical resistance development in cucurbit powdery mildew of pumpkin. *Horticulture Science* 43:1838–1845.

- Yang D, Xie H, Jiang Y, & Wei X. 2016. Phenolics from strawberry cv. Falandi and their antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities. *Food Chemistry*, 194, 857-863. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.091.
- Ypema HL, Gold RE. 1999. Kresoxim-Methyl: Modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. *Plant Disease*. 83:4-19.
- Zagory D. 1997. Advances in modified atmosphere packaging (MAP) of fresh produce. p.2-4. In: A.A. Kader (ed.), *Perishable Handling Newsletter* 90. Univ. California, Davis.
- Zhang JJ, and Watkins C. 1998. Molecular responses of strawberry fruit to high carbon dioxide. *HortScience* 33:516-517.
- Zhang BY, Samapundo S, Pothakos V, Sürengil G, & Devlieghere F. 2013. Effect of high oxygen and high carbon dioxide atmosphere packaging on the microbial spoilage and shelf-life of fresh-cut honeydew melon. *International Journal of Food Microbiology*, 166, 378-390. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.002>.
- Zheng Y, Wang SY, Wang CY, & Zheng W. 2007. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. *LWT - Food Science and Technology*, 40(1), 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.08.013>.
- Zwierzyński A. 2019. Typy i rodzaje sadzonek truskawki. In *Jagodnik*, roč. 6, č.1, s 29-33. ISSN 2084-2015.

15 SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

- Jaklová, P., Hortová, B. 2019. Srovnání účinnosti čtyř fungicidních systémů ošetřování jahodníku. *Vědecké práce ovocnářské* 26. s. 45-51.
- Kracíková, M., P. Jaklová a M. Varga. Citlivost patogenu *Botrytis cinerea* vůči účinné látce fenhexamid (Teldor 500 SC). *Rostlinolékař*. 2020, **31**(6): 12-15.
- Kracíková, M., M. Varga a P. Jaklová. Shrnutí dvouletých zkušeností s ošetřením jahodníku proti plísni šedé (*Botrytis cinerea*). *Vinař - sadař*. 2020, (5): 54-57.



Ministerstvo zemědělství, odbor zemědělských komodit, Těšnov 65/17, Praha 1, 110 00

vydává

OSVĚDČENÍ
(MZE-43647/2021-18144)

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

Název metodiky: Metodika technologie ochrana jahodníku z hlediska rezistence *Botrytis cinerea* k fungicidům a minimalizace reziduí v plodech

Autoři: Ing. Pavlína Jaklová, Ph.D.; Mgr. Michaela Kracíková; RNDr. Petra Lišková; Ing. Marián Varga; RNDr. Aneta Bílková; Ing. Pavol Suran; Ing. Zora Nývltová; Ing. Jiří Kwiecien Ph.D.; Ing. Lenka Portychová

Název organizace: VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.

Místo vydání a rok vydání: VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o., 2021

ISBN: 978-80-87030-82-0

Metodika byla vypracována v rámci výzkumného projektu č. TJ02000098 – Monitoring citlivosti populací *Botrytis cinerea* k fungicidům ve vztahu k inovaci integrované ochrany jahodníku, obsahu reziduí a skladování.

V Praze dne: 21-07-2021



Jméno zástupce odborného útvaru státní správy: Ing. Miroslava Czetmayer Ehrlichová
Funkce zástupce odborného útvaru státní správy: ředitelka odboru zemědělských komodit

.....
podpis zástupce odborného útvaru státní správy

Souhlas ředitele Odboru vědy, výzkumu a vzdělávání MZe:

V Praze dne: 21.7.2021

.....
Mgr. Jan Radoš

Poznámky:

**Metodika technologie ochrany jahodníku z hlediska rezistence
Botrytis cinerea k fungicidům a minimalizace reziduí v plodech**

Autoři: Pavlína Jaklová a kol.

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

Grafická úprava a sazba: Jan Slezák - OUTSOURCING

Tisk: Reprint s.r.o.

ISBN 978-80-87030-82-0

