

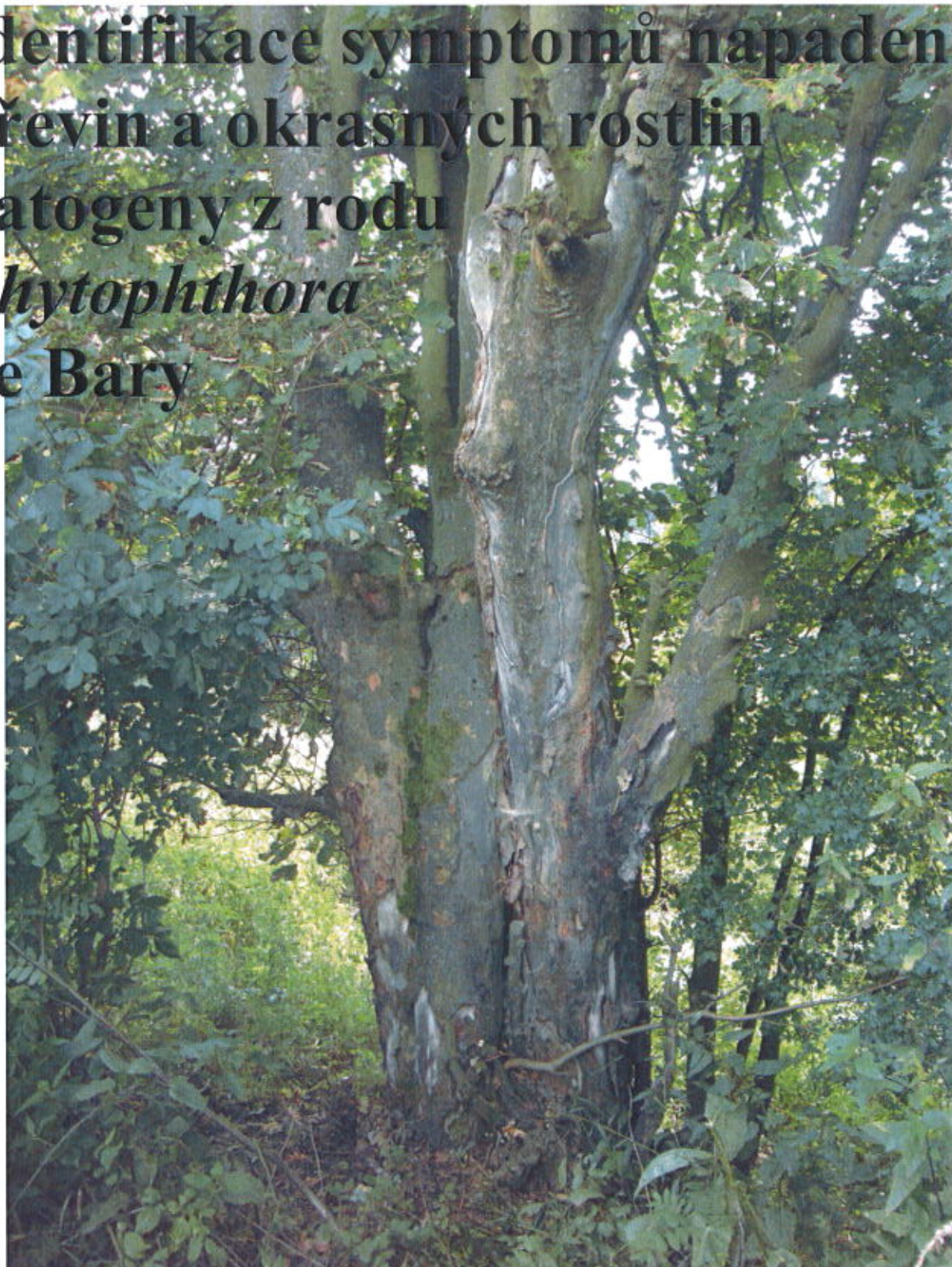


VÚKOZ, v.v.i.

VÝZKUMNÝ ÚSTAV SILVA TAROUČY
PRO KRAJINU A OKRASNÉ ZAHRADNICTVÍ, v.v.i.

Květnové náměstí 391
Průhonice, PSČ 252 43
Česká republika

Identifikace symptomů napadení dřevin a okrasných rostlin patogeny z rodu *Phytophthora* de Bary



Identifikace symptomů napadení dřevin a okrasných rostlin patogeny z rodu *Phytophthora* de Bary

Certifikovaná metodika

Marcela Mrázková, Karel Černý, Veronika Strnadová, Nela Filipová

Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v.v.i.
Květnové nám., 391
Průhonice, 252 43

cerny@vukoz.cz, +420 296 528 232, www.vukoz.cz
© M. Mrázková a kol., 2012

Vypracováno s podporou projektu NAZV QH71273 Ministerstva zemědělství ČR.

Schváleno k použití Ministerstvem zemědělství ČR.

Recenzenti: RNDr. Jaroslava Marková CSc. (katedra botaniky, PŘF UK Praha),
RNDr. David Novotný, Ph.D. (VÚRV, v.v.i., Praha – Ruzyně)

Poděkování: Autoři děkují zejména Šárce Gabrielové za excelentní spolupráci v laboratoři a veškerou pomoc, dále děkují Doc. Dr. Michalu Tomšovskému za pomoc s molekulární determinací patogenů analýzu populace druhu *P. alni* a mnoha dalším kolegům z různých institucí (VÚKOZ v.v.i., SRS, VÚLHM, v.v.i. aj.) za informace o výskytu chorob; speciální dík patří Ing. Evě Zapletalové. Díky patří i p. Jiřímu Jebavému za fotodokumentaci v kapitole 3.4. Poděkování patří i recenzentům Dr. Jaroslavě Markové a Dr. Davidu Novotnému za cenné podněty a připomínky.

Obsah

Obsah.....	2
1. Cíl a uplatnění metodiky	3
2. Úvod – <i>Phytophthora</i> na dřevinách v ČR.....	4
2.1. Výzkum druhů parazitujících na lesních a okrasných dřevinách v ČR.....	4
2.2. Poznámky k životní strategii a jejímu dopadu do fytopatologické praxe.....	5
2.3. Přehled nejvýznamnějších symptomů a chorob na dřevinách.....	6
2.4. Základní principy ochrany.....	7
3. Metodika identifikace symptomů.....	9
3.1. Odumírání a padání klíčících rostlin	9
3.2. Choroby lesních dřevin.....	11
3.2.1. Inkoustová choroba buku (nekróza kůry buku).....	11
3.2.2. Fytoftorové onemocnění olší.....	13
3.2.3. Nekróza kůry javoru	15
3.2.4. Nekróza krčku topolu a dalších dřevin.....	17
3.2.5. Fytoftorové chřadnutí dubu a dalších dřevin (hniloba kořenů).....	17
3.3. Nekróza krčku a kořenů ovocných dřevin.....	19
3.4. Fytoftorová hniloba jahodníku.....	21
3.5. Okrasné dřeviny.....	23
3.5.1. Listová skvrnitost a odumírání výhonů rododendronu (dieback).....	23
3.5.2. Hniloba kořenů rododendronu.....	25
3.5.3. Fytoftorové onemocnění brusnice a dalších stálezelených dřevin	27
3.6. Hniloba kořenů a krčků okrasných jehličnanů.....	29
3.7. Hniloba kořenů a krčků okrasných květin.....	31
4. Odběr vzorků.....	33
4.1. Postup při odběru vzorků.....	33
4.2. Uchovávaní, dokumentace a transport vzorku.....	34
5. Srovnání novosti postupů.....	35
6. Popis uplatnění metodiky.....	35
7. Ekonomické aspekty.....	35
8. Literatura.....	36
9. Seznam publikací, které předcházely metodice.....	37

1. Cíl a uplatnění metodiky

Druhy rodu *Phytophthora* de Bary (*Oomycetes*, *Chromista*) jsou nebezpečné a mnohdy nepůvodní organismy pronikající na území ČR. Tyto organismy působí významné škody na svých hostitelích (mezi které patří tisíce druhů rostlin) a každoročně způsobují významné škody ve školkařství, lesnictví, zahradnictví, ovocnářství a v dalších souvisejících oblastech včetně vodohospodářství a ochrany přírody a krajiny. Značný význam těchto patogenů tkví v jejich schopnosti invadovat do nejrůznějších přirozených i umělých ekosystémů, kde mohou následně způsobovat významné škody.

V ČR do nedávné doby existovalo jen naprosté minimum spolehlivých dokladů o jejich výskytu a chorobách, které způsobují, včetně popisu jejich symptomů. Tato základní neznalost pak byla a stále je příčinou podcenění či zanedbání objevení se prvních charakteristických projevů chorob. To pak v důsledku vede k pozdní aplikaci příslušných opatření nebo v případě mylného určení příčiny poškození (choroby způsobené patogeny z r. *Phytophthora* jsou naprosto běžně přisuzovány jiným patogenům a příčinám) k aplikaci chybných postupů a opatření, včetně např. použití nevhodných fungicidních přípravků. V důsledku zanedbání rozvoje chorob a aplikace chybných opatření pak dochází ke značným ekonomickým ztrátám, pohybujícím se v jednotlivých zahradnických provozech až ve stovkách tisíc Kč zatímco ztráty v porostech se pohybují v řádově vyšších částkách. Celosvětově ztráty způsobené patogeny z r. *Phytophthora* dosahují každoročně mnoha miliard dolarů.

Cílem této metodiky je poskytnout pracovníkům SRS a dalších subjektů spadajících do resortu MZe, které se ve své praxi setkávají s chorobami rostlin ucelený přehled symptomů poškození, které patogeny z rodu *Phytophthora* způsobují na lesních a okrasných dřevinách a okrajově i na dalších hostitelích. Metodika klade důraz zejména na uživatelskou přístupnost a bohatou fotodokumentaci chorob způsobovaných patogeny z r. *Phytophthora* a jednotlivých symptomů napadení a poškození. Dalším cílem je poskytnout návod, podle kterého je možné provést odběr poškozených pletiv tak, aby bylo možné v dalším kroku potvrdit přítomnost patogenu izolačně či molekulární cestou v laboratoři.

2. Úvod – *Phytophthora* na dřevinách v ČR

2.1. Výzkum druhů parazitujících na lesních a okrasných dřevinách v ČR

Rod *Phytophthora* byl popsán De Barym roku 1876 na základě typového druhu *P. infestans*, přičemž první popis tohoto organismu pochází z doby irského hladomoru, který tento patogen zapříčinil (organismus jako příčinu katastrofální neúrody identifikoval Martius v r. 1842). Během následujících desetiletí byly popisovány další druhy, vesměs nebezpečné patogeny nejrůznějších druhů rostlin (např. *P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *P. drechsleri*, *P. cambivora*) a do roku 1996, kdy byla publikována stěžejní práce Erwina a Ribeira (Erwin et Ribeiro, 1996) bylo rozpoznáno 58 druhů. V současné době jsou v souvislosti s rozvojem izolačních metod a metod zabývajících se analýzami DNA popisovány další nové druhy – do r. 2010 bylo platně popsáno 41 dalších taxonů, mezi které patří např. nebezpečné patogeny *P. alni*, *P. ramorum*, *P. kernoviae* a *P. plurivora* (tj. *P. citricola* p.p.) a dalších cca 20 taxonů čeká na svůj platný vědecký popis (Érsek et Ribeiro, 2010) – mezi nimi např. i druhy vyskytující se běžně v ČR – *P. taxon oaksoil* a *P. taxon salixsoil*.

Druhy rodu *Phytophthora*, jak už bylo naznačeno, jsou zodpovědné za rozsáhlé ekonomické a ekologické škody téměř po celém světě. Přestože je výskyt těchto patogenů (zpravidla neurčených do druhů) pravidelně u nás udáván, jen málokdy se je podařilo izolovat, určit, či vědecky popsat a česká fytopatologická literatura je na konkrétní a ověřitelné údaje s výjimkou patogenů několika málo zemědělských plodin velmi skoupá. Z vědecké literatury je u nás na jiných než zemědělských plodinách bezpečně doložen výskyt jen velmi malého počtu druhů. Posledním, kdo se v této problematice výrazněji angažoval, byl prof. Karel Cejp na přelomu 50. a 60. let minulého století.

Od té doby po více než 40 let nebyl výskyt těchto patogenů v ČR dostatečně doložen ani na lesních dřevinách ani na okrasných rostlinách (tj. nebyl publikován dostatečný popis morfologických znaků, obrazová či fotografická dokumentace, není známo uložení jakéhokoli izolátu druhu r. *Phytophthora* do veřejné sbírky kultur hub).

Současný výzkum diverzity a významu patogenů z r. *Phytophthora* na lesních a okrasných dřevinách v ČR započal po r. 2000 na pracovišti AOPK (od r. 2004 probíhá ve VÚKOZu) a to zejména v souvislosti s invazí *Phytophthora alni* do břehových porostů olší v ČR. Další nálezy na sebe nenechaly dlouho čekat a dnes je v ČR potvrzen výskyt 15 druhů r. *Phytophthora* na lesních a okrasných dřevinách a bylinách (Černý et al. 2011), přičemž všechny výskyty jsou zdokumentovány a vybrané izoláty patogenů uloženy do sbírky. Izoláty byly získány z více než 50 taxonů hostitelských rostlin z nejrůznějších typů výsadeb a ekosystémů v rámci celé ČR. Jako cizí, invazní a potenciálně velmi nebezpečné patogeny, které byly v ČR zjištěny, lze označit následující: *P. alni*, *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. drechsleri*, *P. megasperma*, *P. multivora*, *P. plurivora* a *P. ramorum*. V současné době je na území ČR evidován výskyt jednoho karanténního druhu – *P. ramorum*.

Současný výzkum směřuje zejména do tří oblastí – zjištění diverzity patogenů z r. *Phytophthora* na území ČR, výzkum fytoftorového chřadnutí olší jako nejvýznamnějšího recentního problému v přirozených a polopřirozených ekosystémech způsobených invazním patogenem z r. *Phytophthora* a význam pěstování okrasných dřevin (*Rhododendron* spp.) jako hlavního rezervoáru introdukovaných patogenů.

Dosavadní zkušenosti a bohatý materiál dokumentující symptomy chorob způsobovaných patogeny z r. *Phytophthora* na nejrůznějších hostitelích umožnily sestavit tuto metodiku, která by v první řadě měla posloužit pracovníkům SRS, pro přesnější identifikaci symptomů chorob rostlin způsobovaných nebezpečnými patogeny z tohoto rodu.

2.2. Poznámky k životní strategii a jejímu dopadu do fytopatologické praxe

Vaječné plísně (oomycety) včetně r. *Phytophthora* bývají dosud ještě často nesprávně řazeny mezi houby (*Fungi*). Ve skutečnosti jsou oomycety apoplastickou větví sifonálních řas a náležejí do říše *Chromista* (spolu např. s různobrvými řasami) a od hub se liší celou řadou znaků na nejrůznějších úrovních. Mezi ně (poněkud zjednodušeně) patří např. následující: 1) ve svém životním cyklu mají bičíkaté stádium (houby nikoliv), 2) jejich zásobní látkou je mykolaminaran (houby mají glykogen), 3) buněčná stěna je převážně tvořena celulózou a glukánem (u hub chitinem), 4) lze mezi nimi identifikovat celou řadu biochemických odlišností (syntéza lipidů, lysinu, steroly aj.), 5) u oomycetů převažuje v životním cyklu diplofáze (u hub haplo- a dikaryofáze) a mnoho jiných. Výše zmíněné rozdíly (a mnohé další – např. obligátní biotrofismus patogenů z r. *Phytophthora* a multicyklický charakter chorob, které způsobují) mají značný dopad, protože právě tyto rozdíly se často zásadně promítají do fyziologie a ekologie patogenů, což má velký praktický dopad (např. etiologie chorob, metody ochrany). Svěbytná biologie těchto patogenů a obtížnost jejich výzkumu rovněž vedly k tomu, že byly dlouhodobě jako příčiny poškození, která způsobovaly, mylně označovány jiné organismy (často oportunní parazité) nebo dokonce abiotické faktory prostředí.

Zjištění výskytu patogenů z rodu *Phytophthora* na různých hostitelích při standardních fytopatologických vyšetřeních v ČR je dosud spíše výjimkou, zejména kvůli metodickým problémům (s pomocí tendenčně používaných izolačních technik a médií není zpravidla možné přítomné oomycety jako slabé saprotrofní kompetitory vůbec izolovat). Často jsou izolovány houby, které mají vyšší schopnost saprofytické kompetice (např. *Fusarium*). Důsledkem je pak zavádění neodpovídajících opatření v poškozených porostech a výsadbách.

Současné výzkumy ukazují, že v případě některých druhů r. *Phytophthora* se jedná o zcela běžné a široce rozšířené patogeny (např. *P. plurivora*), které mohou infikovat rostliny měsíce i roky před symptomatickými změnami v olistění (zejména v případě kořenových hnilob vzrostlých dřevin). Příznaky nemusí být vůbec patrné, dokud aspoň část kořenového systému dokáže dostatečně zásobovat nadzemní části vodou a minerály. K symptomatickým projevům tak může dojít až po výrazné redukci kořenového systému. Jakmile jsou symptomy onemocnění patrné, bývá většinou choroba v dosti pokročilém stadiu a mj. tedy i ochranná opatření mohou být málo účinná. Jinou věcí je, že na výrazně poškozeném hostiteli už patogen vůbec nemusí být zjištěn, protože druhy r. *Phytophthora* jsou obvykle svou výživou striktně vázány na živého hostitele (jsou obligátními biotrofy). Mycelium ve volné půdě přežívá pouze několik týdnů, i když jistá schopnost kolonizace odumřelého rostlinného materiálu u některých druhů (*P. cinnamomi*) existuje. V nepřítomnosti hostitele patogeny nejčastěji rychle přecházejí do klidového stádia ve formě oospor nebo chlamydospor, pokud jsou schopny ho vytvářet. V této formě mohou v půdě přežívat i řadu let (nezřídka 5 až 10) – v tomto ohledu je jako nejvíce odolný zmiňován druh *P. cinnamomi*. Detekovat patogen nacházející se v klidovém stadiu je samozřejmě podstatně obtížnější, mimoto četnost partikulí může klesnout pod prahovou hodnotu, kdy ho lze ve vzorku ještě zachytit a nemusí být vůbec detekován jako příčina poškození.

Tvorbu klidových stádií může také indukovat použití ochranných přípravků (chemických, biologických). Velký vliv na přežívání a aktivitu druhů rodu *Phytophthora* má mikrobiální život půd obecně – v půdách bohatých aktivní mikroflórou se patogen nevyskytuje nebo jen přežívá a mj. může spíše přecházet do klidového stádia.

Významnou charakteristikou patogenů z r. *Phytophthora* je jejich vazba na vodní prostředí. Jejich nepohlavní rozmnožování – produkce zoosporangií a šíření zoospor – takřka

bezvýhradně probíhá ve vodním prostředí (např. v půdních v kapilárách). V jejich životním cyklu se objevuje bičíkaté stádium (zoospóra), které se může pohybovat pouze ve vodě. Zoospory se mohou aktivně pohybovat na vzdálenost až několika desítek centimetrů (pasivně na stovky metrů) a aktivně vyhledávat kořeny hostitele (chemotaxe). Velká reprodukční kapacita těchto patogenů pak způsobuje, že za vhodných podmínek (typicky přemokření) mohou koncentrace infekčních propagulí dosáhnout vysokých hodnot ve velmi krátké době (jejich četnost se může zvýšit až v řádu stovek) a může dojít k rychlému rozvoji onemocnění.

Saturace vodou má také za následek výrazný pokles kyslíku v půdě a snížení jeho dostupnosti. V okolí kořenů vzrůstá elektrická vodivost a zvyšuje se obsah sacharidů a aminokyselin v kořenovém exudátu a tím se zvyšuje atraktivita kořenů hostitele pro patogen.

Teplota je pravděpodobně jedním z klíčových faktorů ovlivňujících množství inokula v dané lokalitě (např. *P. cinnamomi* není schopná přežít chladné zimy). Obecně ovšem platí, že rozvoj většiny chorob způsobených fytoftorami zejména na venkovních plochách (ale i ve skleníku) je nejvíce intenzivní v teplé části roku – u většiny nebezpečných patogenů spadá vrchol jejich aktivity do nejteplejší části roku (červenec – září). Obvykle lze patogeny izolovat s vyšší frekvencí zhruba od května do konce listopadu.

Z dalších faktorů mají na rozvoj infekce vliv např. zasolení substrátu (inhibuje obranné systémy kořenů rostlin a produkci fytoalexinů), souběžná infekce jiným patogenem, nadměrné hnojení dusíkem a jiné faktory.

2.3. Přehled nejvýznamnějších symptomů a chorob na dřevinách

Prvním krokem k přesné identifikaci původce onemocnění je dobrá znalost symptomů chorob, které způsobují. V tomto kroku a v kroku navazujícím (odběr vzorků) by měla výrazně napomoci předkládaná metodika. Mezi typické symptomy chorob, které oomycety způsobují, patří např. vadnutí, žloutnutí a zmenšení listů, nekrózy listů, usychání nadzemních částí, hniloby a nekrózy kořenů, nekrózy krčků, padání klíčících rostlin, atd. Jsou to zčásti symptomy nespecifické (nebo alespoň na první pohled) – o to víc je ale důležité odebrat vhodná pletiva, ve kterých může být patogen přítomen v aktivní fázi a lze jej identifikovat. Samozřejmě i při správně provedeném odběru může nakonec identifikace příčiny poškození selhat. Proto je vhodné izolace provádět paralelně několika různými způsoby a na různých médiích (případně izolace doplnit molekulárními metodami) – jen tak jsme schopni odhalit pravou příčinu poškození.

Na lesních dřevinách lze typicky rozlišit dva typy poškození – napadení náběhů kořenů a bázi kmenů a odumírání drobných kořenů. Příznakem prvního typu napadení jsou rezavohnědé až černé nekrózy s častým charakteristickým odumíráním borky a vodivých pletiv v pásech (hojně na bázi kmene či náběžích kořenů), které se prodlužují až do výšky několika metrů. Mohou být doprovázeny produkcí tmavých exudátů, zejména u zástupců rodu *Fagus*, *Acer*, *Alnus*, *Aesculus*, *Castanea* aj. Choroba je většinou akutní a nebezpečná. Nejčastěji jsou napadány buk, javor klen, olše, jírovec, kaštanovník. Z patogenů ji na našem území nejčastěji způsobují *P. alni*, *P. plurivora*, *P. cambivora* a *P. cactorum*. Onemocnění drobných kořenů a kořenových vlásků má často spíše chronický ráz, vyvíjí se pozvolna (i několik roků) a projevuje se rezavohnědým až černým zbarvením drobných kořenů a kořenových vlásků a následně vadnutím, žloutnutím a zmenšením listů, řídnutím koruny a celkovým zpomalením růstu. Z hlediska hostitelů jsou nejvíce poškozeny dub letní, lípa srdčitá, javory a jasan. Z patogenů nejčastěji způsobuje chorobu *P. plurivora*, v menším

rozsahu pak *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. multivora*, *P. gonapodyides* aj. Na padání klíčnic rostlin se podílejí stejné druhy.

Na okrasných dřevinách lze identifikovat dva základní typy chorob – poškození nadzemních pletiv (typicky výhonů a listů, tzv. dieback) a hnilobu kořenů a krčků. Oba typy chorob mohou být akutní a v závislosti na rozměrech hostitelů může dojít k jejich odumření během několika měsíců od počátku infekce. První typ choroby je charakteristický výskytem listových skvrnitostí a čemáním a odumíráním napadených výhonů (napadený výhon může odumřít i během jednoho týdne). Infekce se zpravidla šíří vzduchem rozstříkovaním kapek při dešti či zálivce shora. Onemocnění je způsobováno aerofytickými druhy fytoftor, tj. těmi, které jsou schopny produkovat zoosporangia na nadzemních částech rostlin (v ČR to jsou *P. cactorum*, *P. plurivora*, *P. multivora* a *P. ramorum*). Nekrotizované kořeny jsou zpravidla hnědavé až černé, po sloupnutí kůry v místě kořenového krčku je vidět červenohnědé zbarvení lýka. Vzhledem k malým rozměrům rostlin bývá v pozdějších stádiích rozvoje choroby pravidelně nekrotizován celý krček. Poškození kořenů a krčků se projevuje navenek nejprve chlorotizací olistění rostliny (v důsledku omezeného zásobování listů dusíkem) a posléze jejím vadnutím a odumřením. Hnilobu kořenů a kořenového krčku okrasných dřevin způsobují nejčastěji *P. cinnamomi*, *P. plurivora*, *P. cambivora* a samozřejmě i další druhy. Jako nejčastěji identifikované hostitele lze v ČR označit nejrozličnější druhy a kultivary rododendronů a pieris.

Systematický výzkum patogenů z r. *Phytophthora* na ovocných dřevinách a okrasných květinách v ČR dosud neproběhl (symptomy chorob jsou v zásadě identické, předpokládané spektrum patogenů se výrazně neliší). V případě patogenů okrasných květin, lze možná předpokládat zachycení spíše exotičtějších patogenů.

Druhy rodu *Pythium* mohou způsobovat identická poškození a některé choroby (padání klíčnic rostlin, hniloby drobných kořenů) jako druhy r. *Phytophthora* a lze je izolovat stejným způsobem. Větší význam mají zejména v množárnách a ve sklenicích, ve volné půdě mají větší vliv pouze na trvale vlhkých stanovištích, jinak je jejich význam v porovnání s druhy rodu *Phytophthora* nižší. Mezi běžnější a významnější zástupce lze označit zejména polyfágní druhy *Pythium debaryanum*, *P. ultimum* a *P. intermedium*.

2.4. Základní principy ochrany

Ochrana rostlin před oomycety a speciálně před patogeny z r. *Phytophthora* je velmi složitá a velmi se liší v závislosti na druhu patogenu, druhu hostitele, typu výsadby a porostů atd. a i proto není možné v tomto prostoru metody ochrany dopodrobna specifikovat. Proto jsou zde zmíněny jen nejdůležitější principy.

Vzhledem k nebezpečnosti patogenů z r. *Phytophthora* a závažnosti škod se vždy musí jednat o metody integrované ochrany, nelze spoléhat jen na jeden, snad dříve osvědčený postup, protože riziko zavlečení těchto organismů v posledních letech velmi vzrůstá.

Vzhledem k závažnosti chorob, nebezpečnosti patogenů a potenciálně značně vysokým škodám (ztráty na produkci, nákladná kontrola, případná následná omezení či změny ve výrobních postupech) se kvalitní prevence a včasný a důsledný zásah vždy vyplatí. Mezi základní preventivní opatření patří dodržení ochranné karantény (1 – 2 měs.) nově dovezených rostlin před jejich umístěním do vlastních pěstebních ploch, obecně používání zdravého materiálu, používání propařených či jinak sterilizovaných substrátů, používání filtrované závlahové vody, desinfekce techniky a pracovních nástrojů, hygiena práce, odpovídající pěstební technologie (minimalizace stresu, optimalizace podmínek, vyhýbání se přehnojení dusíkem atd.), rotace sortimentu na plochách, případné preventivní použití

chemických či biologických přípravků v kritických obdobích roku, pravidelné prohlídky pěstebních ploch a odstraňování rostlin se symptomy poškození.

Rostliny napadené je potřeba ihned likvidovat (v případě podezření je alespoň oddělit od ostatních). Jakmile dojde k rozvoji choroby, je nutná včasná a přesná identifikace patogenu, způsobu jeho zavlečení, šíření na pěstebních plochách a ve výsadbách a v závislosti na zjištěných faktech výběr a aplikace dalších opatření. Mezi ně patří výměna zamořeného substrátu nebo fumigace, výměna či sterilizace rohoží, desinfekce pomůcek atd., změna pěstebních technologií (hospodaření s vodou, drenáže, teplota, hnojení, provzdušnění substrátu, dodání mikroelementů aj.), změna sortimentu a jeho případná rotace. Pokud dojde k zamoření zavlažovacího systému, je nutná jeho kontrola, desinfekce nebo změna technologie (zdroje, rozvody, zásobní nádrže, výměna filtrů atd.).

Proti oomycetům lze používat zejména přípravky na bázi metalaxylu, fosetylu-Al, propamocarbu nebo dimetomorfu. Z u nás registrovaných jsou pro půdní aplikace vhodné přípravky na bázi propamocarbu a metalaxylu – zejména pak kombinované přípravky (např. obsahující metalaxyl a mancozeb). V případě nejistot, co se týče identifikace patogenu, je vhodné použít některé kombinované přípravky. Je důležité střídání přípravků, mj. také proto, že některé patogeny si vytvářejí vyšší odolnost vůči účinným látkám (např. metalaxylu). Biologické přípravky (Supresivit, Polyversum) lze také použít, ovšem v některých případech nemusí být dostatečně účinné (pozdní aplikace, aktivní půdní mikrobiální flóra, teplota aj.).

3. Metodika identifikace symptomů

3.1. Odumírání a padání klíčnicích rostlin

Patogen: Nejčastěji *P. cactorum*, *P. plurivora*, *P. cambivora*.

Symptomy: Vadnutí, chlorotizace celých rostlin, nekrózy kořenů, krčků, děložních lístků, padání rostlin.

Možnost záměny: *Thielaviopsis basicola*, *Cylindrocarpon destructans*, *Pythium* spp. *Rhizoctonia* spp. a další mikromycety, nematoda.

Podmiňující faktor: Špatná hygiena provozu, nadměrná závlivka, špatně prodyšný těžký substrát atd.

Citliví hostitelé: Zejména buk, lípy, olše, javory, aj.

Význam: Velké riziko z hlediska zavlečení cizích patogenů do lesních porostů a ekosystémů v ČR.

Obr. 1 (A – H). Odumírání a padání klíčnicích rostlin

1A. Odumírání klíčnicích rostlin. Žloutnoucí a posléze usychající klíčnicí rostliny s odumřelými krčky a kořeny. (buk)

1B. Infekce rozvíjející se ve formě protažené hnědavé léze na krčku. (buk)

1C. Zvětšující se rozsah nekrózy, nekróza tmavne, transport vody a minerálů přerušen, rostlina získává typické chlorotické zbarvení. (buk)

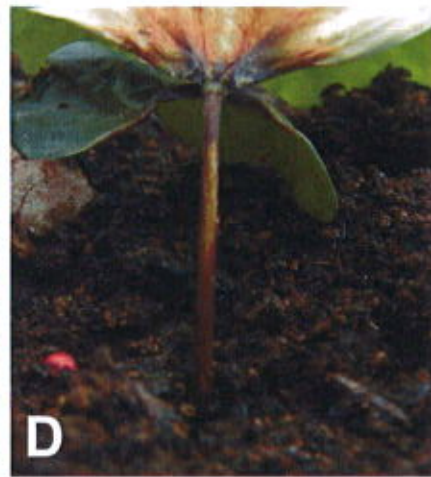
1D. Infekce dosahující děložních lístků, které nekrotizuje, nekróza se rychle rozrůstá, tvorba nápadného difúzního okraje (buk).

1E. Nekróza na listech. K infekci může dojít odlomenými zoosporangii nebo zoosporami při závlivce shora (rozstřikování kapek při dopadu). Typické pro částečně aerofytické druhy *P. plurivora* a zejména *P. cactorum* (obě vytvářejí zoosporangia na vzdušném myceliu). Na fotografii umělá infekce. (buk)

1F. Padání klíčnicích rostlin. (olše lepkavá)

1G. Nekróza krčku klíčnicí rostliny je v první fázi velmi nenápadná. (klen)

1H. Rostlina kolabující po obkroužení krčku nekrotizací. (klen)



3.2. Choroby lesních dřevin

3.2.1. Inkoustová choroba buku (nekróza kůry buku)

Patogen: Nejčastěji *P. plurivora*, *P. cactorum*, *P. cambivora*.

Symptomy: Nekróza kůry a vodivých pletiv, přítomnost exudátů, chlorotizace a řidnutí olistění, chřadnutí dřeviny. Patogeny mohou způsobovat i hnilobu drobných i kosterních kořenů bez symptomů na kmeni (viz chřadnutí dubů, obr. 5).

Možnost záměny: *Nectria* spp. (spíše výjimečně).

Podmiňující faktor: Antropogenní zátěž, mechanická poškození krčků a kořenů, vysoká hladina spodní vody, zaplavení, zavlečení patogenu se školkařským materiálem.

Citliví hostitelé: buk

Význam: V ČR zatím pravděpodobněji více v antropogenních lokalitách (parky, příměstské lesy) než v lesních porostech. Do budoucna hrozí zavlékání patogenů ve zvýšené míře do lesních porostů spolu s infikovanými sazenicemi ze školek – velké riziko z hlediska dalšího vývoje hospodaření s bukem.

Obr. 2 (A – F). Inkoustová choroba buku (nekróza kůry buku)

2A. Prosušání a řidnutí koncových větví v horní části koruny a po její periferii v pozdější fázi napadení.

2B. Nekróza kůry a vodivých pletiv báze kmene, exudáty.

2C. Řidnutí a chlorotizace olistění v celém objemu koruny je projevem akutního intenzivního napadení (koruna stromu z obrázku 2B).

2D. Odumření a odchlípnutí borky. Obnažení dřeva vede k následné kolonizaci dřevními houbami.

2E. Rezavohnědé exudáty na povrchu borky, detail.



3.2.2. Fytoftorové onemocnění olší

Patogen: *Phytophthora alni* (význam jiných druhů, např. *P. plurivora*, je jen lokální)

Symptomy: Nekróza kořenů a krčků, nekróza kůry a vodivých pletiv, exudáty, chlorotizace a řídnutí olistění, nadměrná plodnost, chřadnutí dřevin.

Možnost záměny: –

Podmiňující faktor: Zavlečení patogenu, vysoká hustota hostitele, zaplavení lokality, vysoká hladina spodní vody, stres, pozice dřevin v břehu s krčky ve vodě.

Citliví hostitelé: olše lepkavá, olše šedá, olšička zelená

Význam: Probíhající epidemie, nekontrolované šíření v břehových porostech vodních toků a nádrží a v mokřadních olšinách. Značné škody ve vodohospodářství (jdoucí do stovek mil. Kč). Poškození cenných biotopů – pravděpodobně dochází k trvalým změnám v ekosystémech napadených mokřadních olšin. Riziko změn statiky břehů v důsledku odumření kořenových systémů olší. Změny v morfologii břehů, koryt, následně i průtočnosti. Velké riziko zavlečení do lesních porostů.

Obr. 3 (A – H). Fytoftorové onemocnění olší

3A. Typické symptomy infekce na bázi kmene – přítomnost exudátů.

3B. Detail červenavých exudátů v prasklině borky nad aktivní nektrózou.

3C. Rudohnědá aktivní nektróza vodivých pletiv (po odstranění kůry).

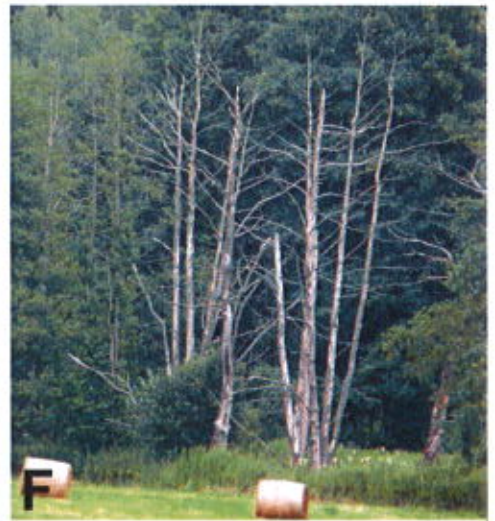
3D. Nektróza kořenů a krčku. Typické černé zbarvení odumřelých kořenů, popraskaná kůra nad nektrózou.

3E. První symptomy v koruně – řídké a chlorotické olistění.

3F. Typické ohnisko odumřelých olší v břehovém porostu.

3G. Rozpad mokřadni olšiny.

3H. Změny v morfologii břehů drobných vodních toků. Eroze břehů, změny v březích a v korytě.



3.2.3. Nekróza kůry javoru

Patogen: *Phytophthora plurivora* (pravděpodobně méně často *P. cactorum* a *P. cambivora*).

Symptomy: Nekróza kůry a vodivých pletiv, odlupování borky, exudáty, chlorotizace a řídnutí olistění, chřadnutí dřevin.

Možnost záměny: Velmi výjimečně *Nectria* spp., *Stegosporium pyriforme*, *Armillaria* spp., *Schizophyllum commune* (obvykle jen v prvních fázích napadení před objevením se typických symptomů nebo plodnic).

Podmiňující faktor: Zavlečení patogenu (mnohdy se školkařským materiálem), antropogenní zátěž, mechanická poranění, zaplavení lokality, vysoká hladina spodní vody, stres.

Citliví hostitelé: javor klen a jiné dřeviny, *P. plurivora* je výrazně polyfágní.

Význam: Nekontrolované šíření v různých ekosystémech v ČR (parky, břehové porosty aj.). Patogen zdomácněl, představuje značné riziko pro lesní hospodářství.

Obr. 4(A – D). Nekróza kůry a vodivých pletiv javoru

4A. Rozsáhlá nekróza kůry vzrostlého mnohokmenu kleny. Pletiva jsou nekrotizována do výše cca 4 m.

4B. Detail rozvíjející se nekrózy krčku mladého kleny – charakteristická přítomnost tmavých exudátů.

4C. Aktivní nekróza na náběhu kořene (lokálně odstraněna borka) – nápadná nekrotizovaná oranžově zbarvená vodivá pletiva (vlevo), staré vyhojené poškození s odloupenou borkou (vpravo). Na starších dřevinách s tlustší borkou nemusí být exudáty ve větším množství přítomny.

4D. Detail horního okraje nekrózy vodivých pletiv (viz obr. 4B), charakteristická je tmavá linka oddělující zdravá a nekrotizovaná pletiva.



3.2.4. Nekróza krčku topolu a dalších dřevin

Patogen: *Phytophthora cactorum* a další druhy r. *Phytophthora*

Symptomy: Nekróza vodivých pletiv naběhů kořenů a krčku, někdy přítomnost exudátů na borce, chlorotizace a řidnutí olistění, rychlé chřadnutí dřevin. Přítomnost exudátů a kalusů kolem nekrotizovaných pletiv nemusí být při zběžném vyšetření často patrna vzhledem k silné borce dřevin (srv. 3.2.3.).

Možnost záměny: –

Podmiňující faktor: Zavlečení patogenu (mnohdy se školkařským materiálem), antropogenní zátěž, mechanická poranění.

Citliví hostitelé: Pravděpodobně většina listnáčů (buk, lípy, jírovec, kaštanovník a mnohé další). *P. cactorum* je polyfág.

Význam: Nekontrolované šíření zatím spíše na antropogenních stanovištích (zahradnické provozy, městská zeleň, spíše výjimečně přírodní stanoviště). Přestavuje značné riziko pro lesní hospodářství.

3.2.5. Fytoftorové chřadnutí dubu a dalších dřevin (hniloba kořenů)

Patogen: *Phytophthora plurivora* (méně často *P. multivora* a případně další druhy)

Symptomy: Hniloba drobných kořenů, chlorotizace a řidnutí olistění, pozvolné chřadnutí.

Možnost záměny: Stejně symptomy chřadnutí korun může vyvolat celá řada organismů, např. *Armillaria* spp., *Meripilus giganteus*, krasci, bělokazi aj.

Podmiňující faktor: Zavlečení patogenu (mnohdy se školkařským materiálem), vysoká hladina spodní vody, napadení dalšími patogeny, stres.

Citliví hostitelé: dub letní a další listnáče (např. jilmy, javory, buk, lípy, jasan). *P. plurivora* je výrazný polyfág.

Význam: Patogen pravděpodobně velmi škodí v lesních porostech dubu letního na aluviích zejména v dubovém stupni. Nejvíce rozšířený cizí zástupce r. *Phytophthora* v lesních porostech na mezofilních a hygromofilních stanovištích v ČR. Představuje značné riziko pro lesní hospodářství (pokles produktivity porostů). Zdomácnělý.

Obr. 5(A – C, vpravo nahoře). Nekróza krčku topolu (a dalších dřevin)

5A. Nápadně rychlé odumření plně vzrostlého topolu lindy.

5B. Exudáty v prasklinách tlusté borky. Často nemusí být vůbec patrné.

5C. Po odstranění borky lze identifikovat růstový okraj nekrózy.

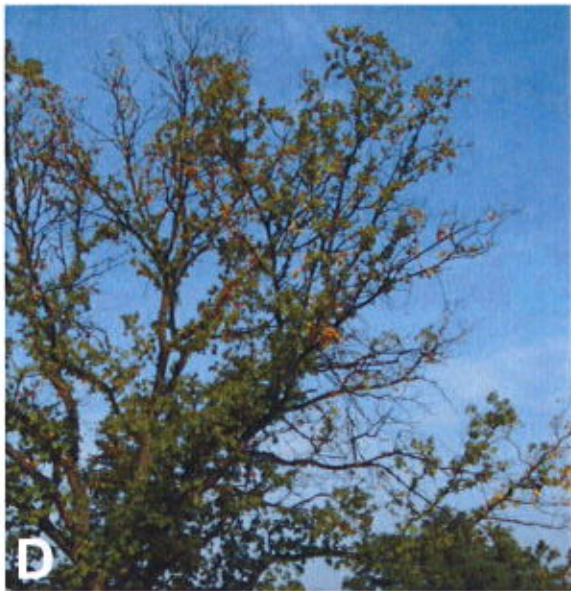
Obr. 5(D – G, vpravo uprostřed a dole). Fytoftorové chřadnutí dubu a dalších dřevin (hniloba kořenů)

5D. Akutní prosychání koruny dubu letního s napadenými kořeny.

5E. Dub letní s kořeny poškozenými patogenem. V tomto případě byla spouštěcím faktorem choroba povodeň a zaplavení lokality (Královská obora, 2002). Po odeznění stresu a stabilizace stavu dochází k částečné stabilizaci stavu.

5F. Kořeny dubu letního odumřelé v důsledku poškození *P. plurivora*.

5G. Kořenové systémy dvouletých sazenic dubu letního. Vlevo 4 měsíce po zapravení inokula *P. plurivora* do pěstebního substrátu, vpravo kontrola.



3.3. Nekróza krčku a kořenů ovocných dřevin

Patogen: *Phytophthora plurivora* (pravděpodobně způsobují i další druhy r. *Phytophthora* – *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. megasperma*, *P. gonapodyides*, *P. citrophthora*, aj.)

Symptomy: Hniloba kořenů a nekróza krčků, chlorotizace a řidnutí olistění, vadnutí, náhlé uschnutí rostliny.

Možnost záměny: Patogeny z rodu *Leucostoma* aj. (v počátečních stádiích infekce), na mladých stromcích *Cylindrocarpon destructans* aj.

Podmiňující faktor: Zavlečení patogenu (mnohdy se školkařským materiálem), antropogenní zátěž, mechanická poranění, nevhodná závlivka, těžké jílovité půdy.

Citliví hostitelé: Pravděpodobně většina ovocných dřevin.

Význam: Dosud v ČR nebyl proveden odpovídající výzkum. Na základě zkušeností z teplejších oblastí Evropy lze předpokládat potenciálně značný význam (např. ve spojitosti s oteplováním klimatu a se šířením těchto patogenů).

Obr. 6 (A – D). Nekróza krčku a kořenů ovocných dřevin

6A. Gumóza v místě infekce (třešeň).

6B. Nekróza kořenů a krčku (jabloň).

6C. Kolaps celé dřeviny v důsledku rozsáhlé infekce krčku (broskvoň).

6D. Poškození krčku dřeviny na snímku 6C. Na odumírající dřeviny často nalétají bělokazi (*Scolytus mali*).



3.4. Fytoftorová hniloba jahodníku

Patogen: *Phytophthora cactorum* a další druhy r. *Phytophthora* – *P. plurivora*, *P. megasperma*, aj.).

Symptomy: Hniloba kořenů a nekróza krčků, vadnutí, náhlé uschnutí rostliny (dříve odumírají starší listy).

Možnost záměny: *Phytophthora fragariae* (růžová hniloba jahodníku), *Colletotrichum acutatum* (hniloba kořenů), *Cylindrocarpon destructans* aj.

Podmiňující faktor: Nadměrná závlivka, těžké jílovité půdy.

Citliví hostitelé: Řada kultivarů, starší zanedbané výsadby.

Význam: Ekonomicky významná choroba.

Obr. 7 (A – C). Fytoftorová hniloba jahodníku

7A. Poškození rostlin na záhonu.

7B. Náhlé uschnutí starších listů je typickým symptomem napadení, mladé listy přežívají o něco déle.

7C. Hniloba krčku.



3.5. Okrasné dřeviny

3.5.1. Listová skvrnitost a odumírání výhonů rododendronu (dieback)

Patogen: *Phytophthora plurivora*, *P. cactorum*, *P. ramorum*, výjimečně i další druhy.

Symptomy: Listová skvrnitost s difúzními okraji, černání, vadnutí a usychání výhonů, nekróza kůry a vodivých pletiv, zbarvení dřeva pod nekrózou. Onemocnění typu dieback v úzkém slova smyslu, tj. napadení a odumírání koncových větví.

Možnost záměny: *Diaporthe eres*, *Pestalotiopsis funerea*.

Podmiňující faktor: Zavlečení patogenu, hygiena provozu, nevhodná zálivka (postřikem horem).

Citliví hostitelé: Rododendrony, azalky.

Význam: Způsobuje značné ekonomické škody v zahradnických provozech. Riziko zavlékání *P. ramorum*. Hrozí šíření v zahradnických provozech a následně s rostlinným materiálem zavlékání do dalších lokalit. Riziko přecházení na další hostitele a zdomácňování v lesních porostech a původních ekosystémech.

Obr. 8 (A – F). Listová skvrnitost a odumírání výhonů rododendronu (dieback)

8A. Nekrózy terminálů výhonů a čepelí listů mladých rostlin.

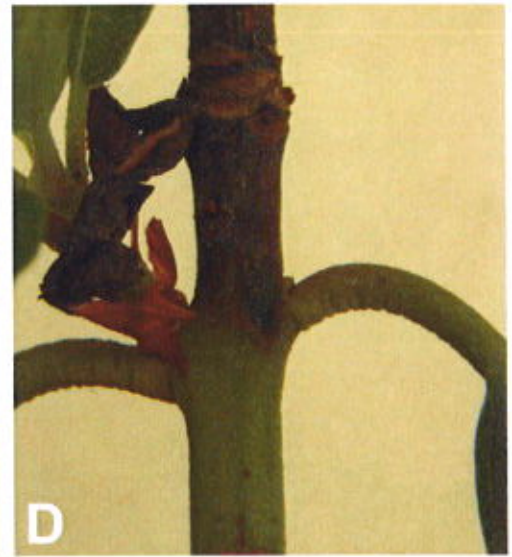
8B. Charakteristická nekróza výhonu v pozdější fázi vývoje – pupeny zaschlé žlutavé, listy zkroucené, visící.

8C. Nekróza terminálu v počáteční fázi vývoje – charakteristické nekrózy řapíků a klínovité nekrózy listů protažené podél žebra.

8D. Přejít zdravých a nekrotizovaných pletiv výhonu.

8E. Listová skvrnitost, charakteristická protáhlá nekróza s difúzními okraji.

8F. Nekróza výhonu. Na řezu patrný přechod zdravých a nekrotizovaných pletiv.



3.5.2. Hniloba kořenů rododendronu

Patogen: *P. cinnamomi*, *P. cambivora*, *Phytophthora plurivora*, *P. cactorum*, *P. ramorum* a další druhy.

Symptomy: Chlorotizace celých rostlin, vadnutí, usychání. Hniloba drobných kořenů, nekróza krčků.

Možnost záměny: Nadměrná závlivka, *Cylindrocarpon destructans* (u mladých rostlin), žír larev lalokonosce.

Podmiňující faktor: Zavlečení patogenu, hygiena provozu, nadměrná závlivka, nevhodná technologie pěstování.

Citliví hostitelé: Rhododendrony, azalky.

Význam: Způsobuje značné ekonomické škody v zahradnických provozech, školkách a v navazujících výsadbách. Hrozí šíření v zahradnických provozech a následně s rostlinným materiálem zavlékání do dalších lokalit. Riziko přecházení na další hostitele a zdomácnění v lesních porostech a přirozených ekosystémech. Riziko zavlékání karanténního organismu *P. ramorum* na kořenech rostlin (napadení se neprojevuje typickými symptomy onemocnění *P. ramorum* – viz. 3.5.1., tudíž může mnohem snadněji ucházet pozornosti).

Obr. 9 (A – F). Hniloba kořenů rododendronu

9A. Charakteristické náhlé vadnutí napadených rostlin v záhonu, srpen.

9B. V pokročilejší fázi napadení je přítomna chlorotizace. Chlorotizace je typická pro pozvolný vývoj hniloby drobných kořenů (srv. s obr. 8D).

9C. Záhon mladých rostlin masivně napadených *P. cinnamomi*. Charakteristický ohniskovitý výskyt choroby.

9D. Akutní vadnutí (obvykle spojeno s nekrózou krčků, srovnej s 8B).

9E. Hniloba kořenů mladých rostlin může být rovněž provázána chlorotizací.

9F. Hniloba kořenů a krčků.

9G. Hniloba krčků způsobená *P. ramorum*, detail.



3.5.3. Fytoftorová onemocnění brusnice a dalších stálezelených dřevin

Patogen: *Phytophthora plurivora*, *P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *P. cambivora*, *P. ramorum*, a další druhy.

Symptomy: 1. Listová skvrnitost s difúzními okraji, černání, vadnutí a usychání výhonů, nekróza kůry a vodivých pletiv, zbarvení dřeva pod nekrózou (dieback).

2. Hniloba kořenů a krčků, chlorotizace olistění, vadnutí, usychání.

Možnost záměny: Nadměrná zálivka, přeschnutí, *Cylindrocarpon destructans* (u mladých rostlin), žír larev lalokonosce, *Diaporthe eres*, *Pestalotiopsis funerea*.

Podmiňující faktor: Zavlečení patogenu, hygiena provozu, nadměrná či nevhodná zálivka, nevhodná technologie pěstování.

Citliví hostitelé: Vřesovcovité a jiné okrasné dřeviny, zejména neopadavé.

Význam: Značné ekonomické škody. Hrozí šíření v zahradnických provozech a následně s rostlinným materiálem zavlékání do dalších lokalit. Riziko přecházení na další hostitele a zdomácňování v lesních porostech a přirozených ekosystémech. Riziko zavlékání karanténního organismu *P. ramorum*.

Obr. 10 (A – G). Fytoftorová onemocnění brusnice a dalších stálezelených dřevin

10A. Hniloba kořenů a vadnutí brusnice. Charakteristické celkové vadnutí, počínající chlorotizace a odumření nejmladších krnicích částí výhonů. Charakteristické je náhlé vadnutí celých rostlin najednou (srv. 10B a 10C).

10B. Nekróza výhonů (dieback) brusnice – první fáze onemocnění. Charakteristická je pouze nevýrazná nekróza výhonu, listy nad poškozením mírně svěšeny.

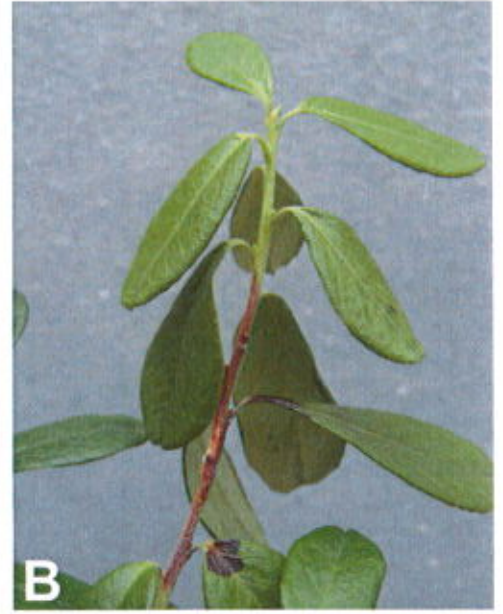
10C. Nekróza výhonů (dieback) brusnice – pokročilá fáze napadení. Ušchlé zkroucené výhony (srovnej s 10B).

10D. Nekróza výhonů pierisu způsobená druhem *P. plurivora*.

10E. Hniloba kořenů pierisu na záhonu, charakteristická je celková chlorotizace a vadnutí rostliny.

10F. Hniloba kořenů vřesu obecného způsobená *P. cinnamomi*, postupné usychání rostliny.

10G. Skvrnitost listů kaliny vrásčitolisté způsobená *P. plurivora*.



3.6. Hniloba kořenů a krčků okrasných jehličnanů

Patogen: *Phytophthora plurivora*, *P. cactorum*, *P. cinnamomi* aj.

Symptomy: Hniloba kořenů a nekróza krčků, žloutnutí jehličí, opad, usychání rostlin.

Možnost záměny: *Armillaria* spp., lýkohubi, na mladých stromcích *Cylindrocarpon destructans* aj.

Podmiňující faktor: Zavlečení patogenu (se školkařským materiálem), zanedbání ochrany (identifikace symptomů a lokalizace poškození, použití fungicidních přípravků), nadměrná závlivka, těžké jílovité půdy.

Citliví hostitelé: Pravděpodobně většina jehličnatých dřevin – zejména jedle, dále borovice, cypřišky, tisy aj.

Význam: Dosud v ČR nebyl proveden odpovídající výzkum. Na základě zkušeností z jiných oblastí lze předpokládat postupný nárůst významu na okrasném materiálu a zejména v plantážích vánočních stromků (jedlí).

Obr. 11 (A – C). Hniloba kořenů a krčků okrasných jehličnanů

11A. Chloróza napadených vejmutovek.

11B. Žluté povadlé jehličí stromku vejmutovky s nekrotizovaným krčkem (viz 11C).

11C. Nekróza krčku a kořenů, smolotok.

11D. Žloutnutí a charakteristický opad jehličí jedle korejské s poškozením kořenů (11F).

11E. Lehká chlorotizace jehlic starších ročníků je prvním viditelným symptomem možného poškození kořenů.

11F. Hniloba kořenů jedle korejské.



3.7. Hniloba kořenů a krčků okrasných květin

Patogen: *Phytophthora plurivora*, *P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *P. cambivora*, *P. drechsleri* a další druhy, *Pythium* spp.

Symptomy: Hniloba kořenů, krčků, bází řapíků listů. Náhlé vadnutí, usychání.

Možnost záměny: *Cylindrocarpon destructans*, *Thielaviopsis basicola*, *Rhizoctonia* spp., nadměrná zálivka, nematoda.

Podmiňující faktor: Zavléčení patogenu, hygiena provozu, nadměrná či nevhodná zálivka, nevhodná technologie pěstování.

Citliví hostitelé: Široká škála rostlin – *Gerbera*, *Begonia*, *Capsicum*, *Fuchsia*, *Gardenia*, *Gloxinia*, *Kalanchoe* aj.

Význam: Značné ekonomické škody v zahradnických provozech. Riziko zavlékání nepůvodních druhů, jejich zdomácnění a zavlékání do dalších lokalit.

Obr. 12 (A – F). Hniloby kořenů a krčků okrasných květin

12A. Hniloba kořenů a krčků balsamíny způsobená *Pythium* sp., náhlý kolaps rostliny (symptomy choroby identické jako u napadení fytoftorami).

12B. Hniloba kořenů a krčků balsamíny způsobená *Pythium* sp., detail poškození.

12C. Napadení kultury gerber druhem *P. drechsleri*. Charakteristický ohniskovitý výskyt choroby (více poškozené rostliny označeny v okolí již odstraněných ohnisek výskytu), poškození méně odolných kultivarů.

12D. Typické vadnutí rostlin a svěšení listů v první fázi napadení. (gerbera)

12E. Kolaps rostliny poté, co infekce poškodila krček a báze listů. (gerbera)

12F. Špatný vývoj a krnění květů rostlin s poškozenými kořeny. (gerbera)



4. Odběr vzorků

Přestože jsou symptomy fytoftorového onemocnění poměrně typické, spolehlivým způsobem prokázání choroby je přímá identifikace patogenu, tj. jeho izolace z poškozených pletiv, případně imunochemické či molekulární potvrzení jeho přítomnosti. Odběr vzorků sice není příliš technicky komplikovaný, je však zapotřebí respektovat určité zákonitosti vyplývající z ekologie patogenu, aby jeho detekce v odebraných pletivech byla úspěšná a nedocházelo v nadměrné míře k falešně negativním výsledkům.

4.1. Postup při odběru vzorků

Velmi důležitá je doba odběru vzorku. Patogeny z rodu *Phytophthora* jsou obvykle aktivní v teplé části roku (zhruba od května do listopadu) a tehdy je nejsnazší poškození identifikovat a patogen izolovat. První symptomy aktivního růstu patogenu a vývoje choroby se objevují obvykle koncem jara, rozvoj vrcholí v druhé polovině léta a ke konci podzimu aktivita patogenů klesá (samozřejmě pokud se nejedná např. o skleníkové kultury).

Před vlastním odběrem vzorku je nutno přesně identifikovat typ choroby (nikoliv snad přesnou příčinu) a primárně poškozená pletiva přesně lokalizovat (např. při hnilobách kořenů mohou být mylně odebírány usychající nadzemní části rostlin).

Před odběrem je třeba se ujistit, že nekrózy, ze kterých budou vzorky odebírány, jsou aktivní. Je tedy nutno lokalizovat okraj nekrotizace (měl by být pokud možno difúzní, případně může být ohraničen tenkou tmavou linkou) a ujistit se, že nekrotizovaná pletiva jsou čerstvě kolonizována a došlo v nich jen k minimálním změnám – např. v barvě (tóny nejčastěji medové, červenavé až hnědé) nebo někdy v zápachu („technický“ zápach fenolických látek). Struktura pletiv nesmí být změněna a pletiva rozložena (mohou být nanejvýše zvodnatělá), nesmí být kolem nekrózy vytvořen kalus atp. Je záhodno už na místě minimalizovat pravděpodobnost, že bude odebrán vzorek s jiným patogenem – např. některé houby vytvářejí charakteristické vějířkovité či jiné husté mycelium porůstající plochy trhlinek v pletivech nebo rozhraní mezi typy pletiv (např. *Nectria ditissima* nebo klanolístka obecná) nebo velmi záhy sporulují (např. *Botrytis* ve skleníkových kulturách), takže jejich přítomnost lze někdy už na místě identifikovat a jimi kolonizovaná pletiva neodebírat.

Vzorek by měl být odebrán, pokud je to možné, za suchého počasí. Při odběru se musí postupovat rychle, jednak aby vzorek nebyl zbytečně kontaminován a jednak aby nedošlo k nechtěnému rozšíření patogenu do okolí (vhodné je myslet na následnou sterilizaci nástrojů, likvidaci rostlinných zbytků po odběru, atd.). Rovněž je vhodné odebrat různé vzorky zachycující různé fáze poškození hostitele.

Vzorek vždy musí obsahovat dostatek vhodného materiálu na několik paralelních izolací. Část vzorku se spotřebuje při čištění a kultivaci, část je třeba uchovat pro případnou ověřující kultivaci. Část vzorku může být kontaminována z terénu a přes povrchovou sterilizaci může docházet k přerůstání saprofyty a znehodnocení části vzorku. Také musíme počítat s tím, že část vzorku nemusí být z různých důvodů vhodná ke zpracování nebo se patogen během dopravy nemusí v celém vzorku uchovat.

Pokud jsou odebírány celé rostliny i s kořenovými baly či květináči (s podezřením na hnilobu kořenů) vždy musí být ihned vloženy do PE obalů (riziko přítomnosti invazních patogenů ve volném substrátu či na spodních stranách květináčů) a do pevné přepravy s plným dnem.

Vzorky výhonů a větví je vhodné odstříhat nůžkami cca 10 cm pod poškozením a ihned vložit jednotlivě do sterilních obalů. Při odběru vzorků listů je rovněž vhodné odebrat celý výhon – vzorek přece jen déle vydrží v dobrém stavu. Vzorek by neměl obsahovat velký podíl odumřelých pletiv, ve kterých se mohou více manifestovat oportunní patogeny nebo saprofyty, kteří mohou vzorek potenciálně velmi rychle znehodnotit.

Při odběru vodivých pletiv z krčků a kmenů dřevin platí pravidlo, že na poškozené rostlině je třeba identifikovat přechod živých a mrtvých pletiv, dvojnásob. Při identifikaci čerstvě odumřelých pletiv je třeba se zaměřit na změny zbarvení kůry, vodivých pletiv, přítomnost výtoků (exudátů), atypická popraskání kůry, vpadlé nekrózy aj. Vhodnější je odebrat vzorky na horním okraji nekrózy ve směru růstu, protože patogen se tímto směrem rozrůstá nejrychleji a bývá zde menší pravděpodobnost přítomnosti oportunních patogenů. V případě silné borky je vhodné její svrchní část odstranit dlátem, protože obsahuje velké množství saprofytů, ideální je ovšem odstranit kůru až na vodivá pletiva. Po zjištění okraje nekrózy a odstranění kůry postupně odlupujeme proužky vodivých pletiv širokým dlátem od dřeva. S jejich odběrem začneme 5 – 10 cm pod okrajem nekrózy a končíme cca 2 – 3 cm ve zdravém pletivu. Proužky odebíraných pletiv by měly být co nejtlustší (3 – 5 mm). Vzorek musí vždy obsahovat přechody zdravých a napadených pletiv. Jeden vzorek by měl obsahovat minimálně 100 cm² plochy nekrózy. Vždy je vhodné odebrat více vzorků, zejména v případě napadení většího počtu dřevin v porostu.

Při odběru kořenů je vhodné napřed odstranit opadanku a případně i vrstvu surového humusu. Potom se soustředíme opět na identifikaci poškozených částí – vzorek musí obsahovat čerstvě odumřelé kořeny s přítomným vlášením (napadené kořeny jsou temně rezavě, hnědavě až černě zbarveny, ale jsou stále poměrně kompaktní a pevné). Vzorek je třeba odebrat přímo se substrátem, nejlépe ze 3 – 4 různých míst v kořenové zóně dřeviny (v průmětu koruny), jednotlivé vzorky o objemu cca 1 l mohou být baleny odděleně, nebo může být vytvořen směsný vzorek.

4.2. Uchovávání, dokumentace a transport vzorku

Vzorky odebraných pletiv či půdního substrátu se samozřejmě musí ukládat do PE nebo jiných sterilních obalů již v terénu, aby nedošlo k vyschnutí vzorku, kontaminaci nebo nechtěnému rozšíření patogenu. Vzorky se musí balit odděleně. Vzorky by se neměly balit mokré, protože by mohlo dojít k zapaření vzorku a rozvoji saprofytické mykoflóry. Jinou možností uchovávání vzorků pletiv (nejčastěji vodivých pletiv) je v nádobách (cca 250 ml) s destilovanou nebo deionizovanou vodou. Vodu je ale potřeba alespoň jednou či vícekrát za den vyměnit vzhledem k uvolňování inhibujících fenolických látek z pletiv do vody. Tento postup je vhodný použít zejména tehdy, když nebude vzorek bezprostředně dodán do laboratoře.

Každý vzorek musí být pečlivě na obalu, do kterého je uložen, označený datem odběru, určením taxonu hostitelské rostliny (případně kultivaru) a přesným určením lokality (nejlépe pomocí GPS). Dokumentace ke vzorku má obsahovat popis postižené rostliny, popis stanoviště, zejména popis nepříznivých faktorů, které mohou hostitele oslabit, zdroj rostliny (dodavatele) atd. Ke vzorku musí být přiložena fotodokumentace.

Vzorky by měly být uchovávány ve tmě a v chladu (teplota nesmí klesnout pod nulu), je nutné se vyvarovat kolísání teplot a vystavení přímému slunečnímu záření (zapaření přehřátí). Vzorky by měly být do laboratoře transportovány neprodleně, protože zejména u biotrofních patogenů hrozí značné riziko odumření patogenu ve vzorku ve velmi krátké době a tedy k falešně negativnímu výsledku determinace s potenciálně značně závažnými důsledky.

5. Srovnání novosti postupů

Předkládaná metodika „Identifikace symptomů napadení dřevin a okrasných rostlin patogeny z rodu *Phytophthora* de Bary“ obsahuje nové návody doplněné bohatou dokumentací s jejichž použitím lze v terénní praxi identifikovat onemocnění rostlin způsobených nebezpečnými patogenními oomycety. Metodika dále obsahuje postup odběru vzorků pletiv, jehož cílem je maximalizovat možnost zachycení těchto patogenů.

Metodika je primárně určena pro pracovníky SRS, ale i pracovníky dalších organizací zabývajících se pěstováním a ochranou rostlin. Předkládaná metodika je v rámci ČR zcela nová.

6. Popis uplatnění metodiky

Metodika je především určena zaměstnancům subjektů podléhajících rezortu MZe, zejména pak SRS, VÚLHM, v.v.i., LČR s.p., SLS a dalším školkařským a pěstitelským subjektům a mnoha dalším institucím.

Metodika bude uplatněna při identifikaci poškození rostlin ve školkařských, zahradnických a dalších navazujících provozech. Metodika může být využita při zjišťování výskytu karanténních organismů *P. ramorum* a *P. kernoviae*.

7. Ekonomické aspekty

V důsledku zanedbání rozvoje chorob způsobených druhy r. *Phytophthora* a aplikace chybných opatření dochází obecně ke značným ekonomickým ztrátám. Tyto ztráty mohou např. ve školkařských a zahradnických provozech během několika týdnů nebo měsíců dosáhnout desítek až stovek tisíc Kč (z ČR lze doložit tyto škody způsobené např. druhy *P. cinnamomi*, *P. plurivora* nebo *P. drechsleri*). K tomu lze připočítat náhrady, které musí být vyplaceny v důsledku škod karanténními patogeny. Škody, které pak vyplývají ze zavlečení a zdomácnění nepůvodních invazních patogenů pak v úhrnech mohou dosáhnout v zahradnických provozech v celku mnohamilionových částek za rok. Ztráty na některých ekosystémech pak dosahují obtížně představitelných částek. Např. ztráty způsobené *P. alni* v porostech olší se pohybují mezi 30 – 500 mil. Kč (cena se liší v závislosti na použité metodice ocenění) na deset tisíc odumřelých olší, což je jen malá část z dosud způsobených škod – škody na životním prostředí pak lze vyčíslit jen stěží. Škody v lesních porostech dosud zkoumány nebyly v ČR vůbec – na základě známých faktů lze předpokládat, že v některých případech mohou být rovněž velmi závažné. Jako příklad lze uvést fakt, že některé porosty dubu bývají ze sta procent napadeny patogeny *P. plurivora* a *P. multivora* (velmi pravděpodobně běžný případ např. na jižní Moravě; druhy r. *Phytophthora* jsou jednou z příčin tzv. chřadnutí dubů). Pokusně bylo zjištěno, že např. *P. plurivora* je schopna redukovat množství drobných kořenů dubu o 1/4 až 1/3 během několika měsíců. Lze pak předpokládat, že ztráty na produkci napadeného porostu mohou být velmi značné, nehledě na fakt, že napadené dřeviny jsou citlivější vůči dalším biotickým a abiotickým faktorům. Celosvětově ztráty způsobené patogeny z r. *Phytophthora* dosahují každoročně mnoha miliard dolarů.

8. Literatura

- Černý K., Tomšovský M., Mrázková M. & Strnadová V. (2011): The Present State of Knowledge of *Phytophthora* spp. Diversity in Forest and Ornamental Woody Plants in the Czech Republic. Proceedings of the Fifth International IUFRO Working Party S07.02.09 Meeting at Rotorua, New Zealand, 7-12 March 2010. New Zeal. J. For. 41S: S75 – S82.
- Érsek T. & Ribeiro O.K. (2010): Mini Review Article: An Annotated List of New *Phytophthora* Species Described Post 1996. Acta Phytopath. Ent. Hung. 45: 251 – 266.
- Erwin D.C. & Ribeiro O.K. 1996: *Phytophthora* diseases worldwide. APS, St. Paul, 562.

9. Seznam publikací, které předcházely metodice

- Černý K., Tomšovský M., Mrázková M. & Strnadová V.** (2011): The Present State of Knowledge of *Phytophthora* spp. Diversity in Forest and Ornamental Woody Plants in the Czech Republic. Proceedings of the Fifth International IUFRO Working Party S07.02.09 Meeting at Rotorua, New Zealand, 7-12 March 2010. New Zeal. J. For. 41S: S75 – S82.
- Mrázková M., Černý K., Tomšovský M. & Strnadová V.** (2011): *Phytophthora plurivora* T. Jung & T. I. Burgess and other *Phytophthora* Species Causing Important Diseases of Ericaceous Plants in the Czech Republic. Plant Prot. Sci. 47: 13 – 19.
- Černý K. & Strnadová V.** (2010): *Phytophthora* Alder Decline: Disease Symptoms, Causal Agent and its Distribution in the Czech Republic. Plant Prot. Sci. 46: 12 – 18.
- Holub V., Černý K., Strnadová V., Mrázková M., Gregorová B. & Gabrielová Š.** (2010): The survey of some factors affecting bark lesion development caused by *Phytophthora cactorum* on common beech and other broadleaved trees. J. For. Sci. 56: 93 – 100.
- Mrazkova M., Cerny K., Tomsovsy M., Holub V., Strnadova V., Zlatohlavek A. & Gabrielova S.** (2010): First Report of Root Rot of Pedunculate Oak and Other Forest Tree Species Caused by *Phytophthora plurivora* in the Czech Republic. Plant Dis. 94: 272.
- Strnadová V., Černý K., Holub V. & Gregorová B.** (2010): The effects of flooding and *Phytophthora alni* infection on black alder. J. For. Sci. 56: 41 – 46.
- Cerny K., Strnadova V., Gregorova B., Holub V., Tomsovsy M., Mrazkova M. & Gabrielova S.** (2009): *Phytophthora cactorum* causing bleeding canker of common beech, horse chestnut, and white poplar in the Czech Republic. Plant Pathol. 58: 394.
- Černý, K. & Mrázková M.** (2009): Patogenní mikroskopické houby a houbové organismy v zahradních substrátech. Zahradnictví 8: 54 – 56.
- Cerny K., Gregorova B., Strnadova V., Holub V., Tomsovsy M. & Cervenka M.** (2008): *Phytophthora alni* causing the decline of black and gray alders in the Czech Republic. Plant Pathol. 57: 370
- Černý K., Gregorová B., Strnadová V., Tomšovský M., Holub V. & Gabrielová S.** (2008): *Phytophthora cambivora* causing ink disease of sweet chestnut recorded in the Czech Republic. Czech Mycol. 60: 267 – 276.
- Strnadová V., Černý K. & Gabrielová Š.** (2008): *Phytophthora alni* a povodně – dva hlavní faktory zodpovědné za chřadnutí olši v ČR. Les. Práce 87: 20 – 21.
- Mrazkova M., Cerny K., Gabrielova S. & Tomsovsy M.** (2007): The First Report of Leaf Spot, Shoot Blight, Stem and Collar Canker of *Rhododendron* spp. Caused by *Phytophthora citricola* in the Czech Republic. Plant. Dis. 91: 1515.
- Černý K., Gregorová B., Strnadová V., Holub V. & Zlatohlávek A.** (2007): Regulace patogenů z r. *Phytophthora* parazitujících na dřevinách. Rostlinolékař 18: 11 – 14.
- Mrázková M. & Černý K.** (2007): Seznam kmenů druhů r. *Phytophthora* uchovávaných ve sbírce oddělení fytopatologie výzkumného ústavu Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví. Acta Průhoniana: 69 – 76.
- Černý K., Gregorová B., Strnadová V., & Holub V.** (2006): Rod *Phytophthora* na dřevinách - nálezy v roce 2005. In: Kapitola P. & Baňar P. (eds.) Škodliví činitelé v lesích Česka 2005/2006. Sborník ze semináře, Průhonice, 4.4. 2006. LOS VÚLHM Jiloviště-Strnady, 20 – 26.
- Černý K., Gregorová B., Strnadová V., Holub V. & Mrázková M.** (2006): Poznámky k metodice odběru vzorků dřevin pro fytopatologické vyšetření s důrazem na choroby houbového původu. Rostlinolékař 17: 27 – 29.