

VLIV ÚČINNÉ LÁTKY FUNGICIDU (*IN VITRO*) NA RŮST MYCELIA, KLÍČENÍ KONIDIÍ A SKLEROCIÍ HOUBY *Botrytis convoluta*

I. Šafránková

Došlo: 11. září 2008

Abstract

ŠAFRÁNKOVÁ, I.: *The effect of the active substance of the fungicide (in vitro) on mycelium growth, germination of conidia and sclerotia of B. convoluta*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2009, LVII, No. 1, pp. 121–128

In the years 2005–2007 in a collection of 527 cultivars of tall large-flowered irises (*Iris* × *barbata* group Elatior) in the Botanical Garden and Arboretum of MZLU in Brno the fungus *Botrytis convolute* infested the plants. Within three years, as a consequence of the infestation, some cultivars showed symptoms of poor growth, in isolated cases the plants died. Control of irises against this pathogen has not yet been satisfactorily solved. At the present time no fungicides against *B. convolute* have been registered, only fungicides protecting ornamental plants against *Botrytis cinerea*. We explored the effect of seven active substances – captan, carbendazim, fenhexamid, iprodione, mancozeb, pyrimethanil and tolylfluanid (*in vitro*) in four different concentrations on the growth of the mycelia, germination of conidia and sklerotia. We evaluated the germination of *B. convoluta* conidia over 24 and 48 hours, mycelium growth and germination of sclerotia over 5 days. In control plants the germination capacity of conidia over 48 hours reached 98–99%. Over 24 hours all the tested concentrations of preparations containing the active substances tolylfluanid and captan markedly affected the germination of conidia; their effectiveness ranged between 88 and 100%. All the active substances in the registered concentration (mancozeb 0.2%, tolylfluanids 0.2%, carbendazim 0.2%, pyrimethanil 0.25%, iprodione 0.3%, fenhexamid 0.15% and captan 1%) prevented, or considerably reduced, the growth of *B. convoluta* mycelia (98.8–100%). The active substances carbenazim, iprodione and fenhexamide very effectively (96.4–100%) inhibited mycelium growth, at all the tested concentrations. Without an addition of fungicide all the sclerotia on the nutrient solution germinated and formed a mycelium disk 36 mm in diameter. The active substance carbendazim inhibited sklerotia germination at all concentrations; the other active substances, i.e. tolylfluanid, pyrimethanil, iprodione and fenhexamid did not prevent mycelium growth, or the formation of conidiophores with conidia.

Iris × *barbata*, *Botrytis convoluta*, fungicides

V Botanické zahradě a arboretu MZLU v Brně se v období 2005–2007 ve sbírce 527 kultivarů vysokých velkokvětých kosateců (*Iris* × *barbata* skupina Elatior) značně rozšířilo onemocnění vyvolané houbou *Botrytis convoluta* (Šafránková, 2005). Během tří let následkem napadení došlo u některých kultivarů k výraznému oslabení růstu, v ojedinělých případech rostliny zcela odumřely. Typické příznaky napadení se objevují v chladné části roku, tj. koncem zimy nebo velmi brzy na jaře. Povrchové části oddenků a báze listových pochev jsou pokryty hustým šedým povlakem konidioforů s konidiemi.

Později se na oddencích v půdě vytvářejí zpočátku měkká bílá sklerocia, která se velmi rychle slévají do černých krustovitých, silně zprohýbaných sklerocií, pokrývajících značnou část napadeného pleťva. Z napadených oddenků se uvolňují kořeny, oddenky truchlivější. Pohlavní stadium houby (apothecia) nebyla nalezena (Šafránková, 2008a).

I když byl patogen popsán již v 30. letech minulého století a výskyt zaznamenán ve více zemích, např. v Německu, Francii, Holandsku, Kanadě, USA aj. (Drayton, 1937), Japonsku (Horita, 1997), Izraeli (Mirzaei et. al., 2008), dostatečně účinný způsob ochrany však dosud není známý.

Původní předpoklad, že hlavním zdrojem infekce jsou sklerocia v půdě, byl vyvrácen. Sklerocia si sice udržují dlouhou dobu životaschopnost v suchém prostředí (-70 až $+30^{\circ}\text{C}$), ale ve vlhké půdě při teplotách kolem 10°C a vlivem působení antagonistických druhů hub ji velmi rychle ztrácejí (Maas, 1969). Ze sklerocií v suché i vlhké půdě, i po vystavení UV záření, vyrůstají konidiofory s konidiemi. Optimální sporulace při ozáření UV nastala při 20°C . Pro iniciaci tvorby konidioforů ze sklerocií je optimální teplota 5°C , teplota 5 – 15°C neovlivnila produkci konidií (Jackson, 1972).

V nesterilizované půdě osídlené *B. convoluta* nastává maximální kolonizace poraněných pletiv kosatců při 5°C , k infekcím však může docházet až do 25°C , ale již bez viditelných symptomů. Patogeneze v pletivech oddenků probíhá optimálně při 20°C (MacWithey, 1967). U latentně infikovaných, povrchově nesterilizovaných oddenků kultivarů 'Apricot Glory', 'Sunset Blaze' a 'Cotlet' se symptomy projeví u 67–90% hlavních oddenků a u 10–20% postranních oddenků kultivaru 'Cotlet' (Maas a Powelsen, 1970). Stejný význam jako mají sklerocia nebo konidie pro vyvolání infekce má i latentní mycelium způsobující hnilobu během chladných měsíců.

Závažný problém z hlediska ochrany představuje přežívání patogenu během letních měsíců v klidové asymptomatické fázi v latentně infikovaných oddencích. Mycelium houby je před nepříznivými vlivy chráněno suberinizovaným pletivem hostitele. Latentně infikované postranní oddenky, používané k rozmnožování, usnadňují další šíření patogenu (Maas a Powelsen, 1970; Horita, 1997; Mirzaei et al., 2008).

Doporučovaná preventivní opatření, tj. snížení vlhkosti půdy, vzhledem k době výskytu patogenu, nejsou uskutečnitelná a odolnost většiny kultivarů vůči *B. convoluta* není známa. Výskyt onemocnění oddenků v neinfikovaných půdách sice redukovaly přípravky na bázi mědi a síry, avšak bez účinku byly v půdách inokulovaných *B. convoluta* a mezi jednotlivými kultivary se vyskytovaly značné rozdíly (MacWithey, 1967). Eradikativní a kurativní zásahy nedosahují požadované účinnosti.

Mezi fungicidy, které jsou v současné době povoleny na ochranu okrasných rostlin proti *Botrytis cinerea*, není žádný proti *B. convoluta*.

Cílem práce bylo zjistit, zda k ochraně kosatců proti *B. convoluta* lze využít fungicidy registrované proti *B. cinerea*, a zda jejich účinné látky postihují všechny části patogenu, kterými přežívá a rozmnožuje se, případně které (*in vitro*) účinné látky vedou k jejich usmrcení.

MATERIÁL A METODIKA

K pokusům byly využity izoláty *B. convoluta* z napadených rostlin *Iris* \times *barbata*. Ke sledování růstu mycelia, klíčení konidií a sklerocií byl patogen přeočkován na bramborovo-dextrózový (PDA) a kultivován v laboratorních podmínkách při pokojové teplotě a dvanáctihodinovém cyklu střídání světla a tmy.

Testovány byly fungicidy s účinnými látkami z různých skupin (Tab. I), v dávkách, které jsou registrovány k ochraně rostlin proti *B. cinerea*. Ve všech opakováních byla použita jako základní živná půda PDA. Po sterilizaci a ochlazení půdy na cca 45°C bylo přidáno odpovídající množství fungicidu k dosažení požadované koncentrace účinné látky.

I: Základní charakteristika fungicidů testovaných proti *B. convoluta* (*in vitro*) a koncentrace účinné látky v živné půdě

přípravek	účinná látka	obsah účinné látky	chemická podskupina	dávka	koncentrace účinné látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ živné půdy)			
					10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Euparen Multi	tolyfluanid	50%	sulfamidy	$2,0\text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$	1000	100	10	1
Karben Flo Steffes	carbendazim	500g	benzimidazol	0,2%	1000	100	10	1
Merpan 80 WG	captan	80%	ftalimidy	1%	8000	800	80	8
Mythos 30 SC	pyrimethanil	300g	anilinpyrimidiny	$2,5\text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$	750	75	7,5	0,75
Novozir MN 80	mancozeb	800g	dithiocarbamáty	0,2%	1600	160	16	1,6
Rovral Flo	iprodione	225g	dikarboximidy	0,3%	675	67,5	6,75	0,675
Teldor 500 SC	fenhexamid	500g	hydroxyanilidy	$1,5\text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$	750	75	7,5	0,75

Klíčení konidií: suspenze konidií *B. convoluta* byla získána z kultury houby nakultivované na PDA v Petriho misce (PM, \varnothing 90 mm) zcela porostlé myceliem s konidiodory a konidiemi. Do každé PM s PDA a fungicidem (5x pro každé opakování a ředění) bylo přilito 100 μl suspenze. Jako kontrola bylo použito stejné množství destilované vody. Kultivace probí-

hala při střídavém cyklu světlo/tma (12/12 hod), při pokojové teplotě. Za 24 a 48 hodin po naočkování na živnou půdu byl pod mikroskopem (900x zvětšení) hodnocen počet klíčících a nevyklíčených konidií v náhodně zvoleném poli objektivu. V každé PM bylo hodnoceno 20 konidií, celkem 100.

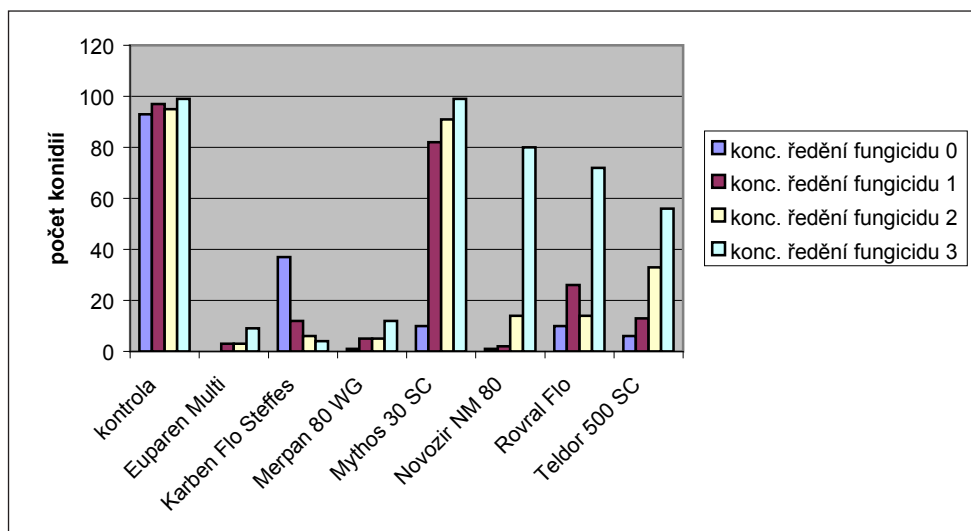
Růst mycelia: z PM pokryté souvislým porostem *B. convoluta* byl vyříznut blok agarů (3 x 3 mm) a umístěn stranou porostlou myceliem („upside down“) na PM s fungicidem (pět opakování každé varianty). K vyhodnocení růstu hyf byl za pět dnů změřen ve dvou na sebe kolmých směrech průměr mycelia.

Klíčení sklerocií: na PM s fungicidem (přípravené stejným způsobem jako pro klíčení konidií) byla umístěna sklerocia *B. convoluta* (5 ks/PM) a za pět dnů hodnoceno klíčení, tj. růst mycelia a tvorba konidioforů s konidiemi.

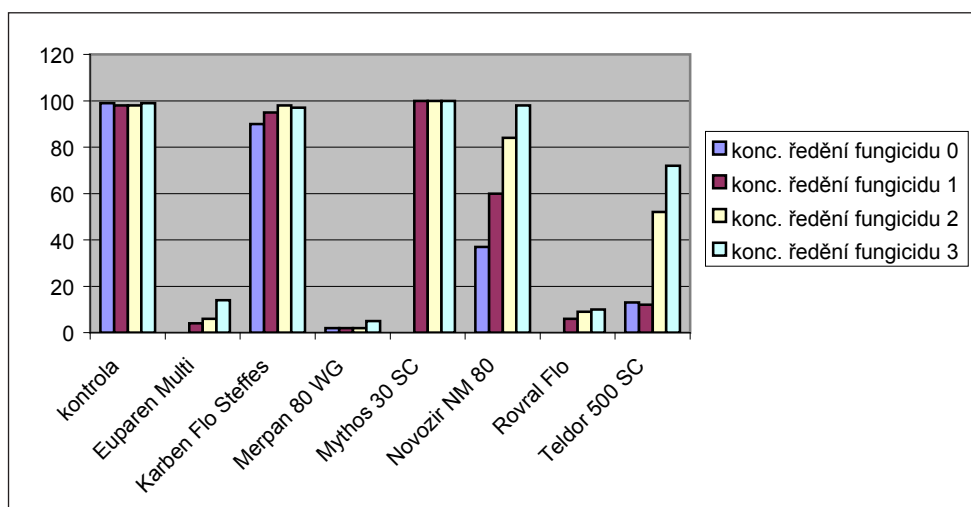
VÝSLEDKY

Klíčení konidií

U kontrolního vzorku za 24 hodin vyklíčilo 93–99% konidií, za 48 hod 98–99% konidií. Fungicidní účinné látky tolylfluorid (EUPAREN MULTI) a captan (MERPAN 80 WP) ve všech testovaných koncentracích výrazně ovlivnily klíčení konidií za 24 hod. Účinnost se pohybovala od 88 do 100% (graf 1). Velmi dobrou účinnost na klíčení konidií v registrované i nižší koncentraci (10^0 a 10^{-1}) vykazovaly po 48 hod účinné látky iprodione (ROVRAL FLO) 100 a 94% a fenhexamid (TELDOR 500 SC) 87 a 88% (graf 2). Ostatní testované účinné látky nedosahovaly požadované účinnosti na klíčení konidií *B. convoluta*.



1: Celkový počet klíčících konidií *B. convoluta* za 24 hod při různých koncentracích fungicidu



2: Celkový počet klíčících konidií *B. convoluta* za 48 hod při různých koncentracích fungicidu

Růst mycelia z agarových bločků

U neošetřené kontrolní varianty bez fungicidu na PDA po pěti dnech mycelium *B. convoluta* pokrývalo celý povrch PM. Růstu mycelia *B. convoluta* zabránily, případně výrazně omezily (98,8–100 %) všechny účinné látky v registrované koncentraci (mancozeb 0,2 %, tolylfluaniid 0,2 %, carbendazim 0,2 %, pyri-

methanil 0,25 %, iprodione 0,3 %, fenhexamid 0,15 % a captan 1 %). Vysokou účinnost, 96,4–100 %, tj. potlačení růstu mycelia, vykázaly účinné látky carbendazim (KARBEN FLO STEFFES), iprodione (ROVRAL FLO) a fenhexamid (TELDOR 500 SC) ve všech testovaných koncentracích.

II: Velikost plochy (mm² a %) porostlé myceliem *B. convoluta* za 5 dnů

koncentrace úč. látky	kontrola destilovaná voda		Novozir MN 80 mancozeb		Euparen Multi tolylfluaniid		Karben Flo Steffes carbendazim		Mythos 30 SC pyrimethanil		Rovral Flo iprodione		Teldor 500 SC fenhexamid		Merpan 80 WG captan	
	mm ²	%	mm ²	%	mm ²	%	mm ²	%	mm ²	%	mm ²	%	mm ²	%	mm ²	%
10 ⁰	3846	60,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	78	1,2
10 ⁻¹	6358	100	615	9,7	201	3,2	0	0	1320	20,8	0	0	0	0	201	3,2
10 ⁻²	6358	100	1520	24	855	13,4	0	0	3317	52,2	0	0	0	0	615	9,7
10 ⁻³	6358	100	2298	36,1	4416	69,5	0	0	6358	100	0	0	227	3,57	3215	50,6

Účinná látka captan v koncentraci 10⁰ a 10⁻¹ sice silně omezila růst hyf (Obr. 3), ale po obvodu mycelia se vytvářela sklerocia s konidiofory a konidiemi. Nižší koncentrace captanu (10⁻²) nezabránila růstu hyf, ale výrazně ovlivnily tvar myceliálního disku na laločnatý nebo paprscitý (10⁻³), na jejichž obvodu

se tvořila četná nová sklerocia a konidiofory s konidiemi. Při koncentraci captanu 10⁻³ se sklerocia tvořila pouze ojediněle (Tab. II). Nejnižší účinnost na růst hyf *B. convoluta* (Obr. 4) ve všech testovaných koncentracích vykázal pyrimethanil (MYTHOS 30 SC).



3: Účinná látka captan (10⁰), agarový bloček



4: Účinná látka pyrimethanil (10⁻³), agarový bloček

Sklerocia

Všechna sklerocia na živné půdě bez přídavku fungicidu vyklíčila a hyfy vytvořily myceliální disk o průměru 36 mm. Účinná látka carbendazim (MERPAN 80 WP) ve všech koncentracích zabránila vyklíčení sklerocií, ostatní účinné látky, tj. tolylfluaniid (EUPAREN MULTI), pyrimethanil (MYTHOS 30 SC), iprodione (ROVRAL FLO), fenhexamid (TELDOR 500 SC) nezabránily růstu mycelia, případně tvorbě konidioforů s konidiemi. Mancozeb (NOVOZIR MN 80) v registrované koncentraci zabránil vyklíčení sklerocií, avšak při nižších koncentracích docházelo k rozrůstání hyf. Žádná z testovaných

koncentrací tolylfluaniidu (EUPAREN MULTI) nezabránila vyklíčení sklerocií. Ze sklerocií na agaru s registrovanou koncentrací tolylfluaniidu vyrůstaly hyfy nebo přímo konidiofory s konidiemi. Se snižující se koncentrací účinné látky se zvyšoval růst mycelia. Pyrimethanil (MYTHOS 30 SC) podnítil růst mycelia ze sklerocií ve všech koncentracích, se snižující se koncentrací účinné látky se zvyšoval růst mycelia, tvorba konidioforů s konidiemi i nových sklerocií.

Účinná látka iprodione (ROVRAL FLO) ve všech testovaných koncentracích nezabránila vyklíčení sklerocií. Se snižující se koncentrací účinné látky

se zvyšovala tvorba mycelia, konidioforů s konidiemi a sklerocií.

Snižující se koncentrace účinné látky (10^{-1}) fenhexamid (TELDOR 500 SC) se projevila zvyšující se aktivitou růstu *B. convoluta*, a to v pořadí:

- na sklerociích se tvořilo pouze vzdušné mycelium, které se dále nerozrůstalo
- ze sklerocií vyrůstalo vzdušné mycelium, konidiofory s konidiemi
- na sklerociích se tvořila nová sklerocia
- na sklerociích se tvoří mycelium, konidiofory s konidiemi a nová sklerocia.

Opačný účinek se projevil u captanu, který při koncentraci (1 %) podnítil silnou tvorbu konidioforů s konidiemi, nových sklerocií a růst mycelia ze sklerocií, při ředění 10^{-3} se rozrůstalo pouze mycelium (obr. 5).



5: Účinná látka captan (10^{-2}), sklerocia

Z výsledků vyplývá, že žádný z povolených přípravků v současné době nepostihuje všechna stadia houby. Zatímco růstu mycelia zabránily všechny testované přípravky, vyklíčení sklerocií ovlivnila pouze systemicky působící účinná látka carbendazim, kterou rostliny absorbují kořeny a zelenými pletivy, příp. kontaktní mancozeb. Klíčení konidií bránily tolylfluamid, captan a iprodione (80–100%). Deklarované působení účinné látky iprodione, tj. inhibice klíčení spor a růstu mycelia, se projevilo i u *B. convoluta*.

Základem ochranných opatření však zůstávají preventivní opatření, tj. odběr oddenků pouze ze zdravých rostlin a výsadba na stanoviště bez předchozího výskytu *B. convoluta*. Výsledky laboratorních testů by mohly pomoci při výběru registrovaných přípravků vhodných k ošetření kosatců během roku. Je zřejmé, že je nutné vycházet z konkrétní situace na stanovišti, výskytu a vývojového stadia patogenu na oddencích či bázích listů a vybrat vhodnou kombinaci účinných látek. K ošetření bazálních částí listů, které jsou porostlé konidiofory s konidiemi, lze použít fungicidy v současné době registrované proti *B. cinerea*, zejména obsahující účinné látky tolylfluamid, captan a iprodione. Pokud se na oddencích či v půdě vyskytují sklerocia, k zabránění jejich vyklíčení, případně růstu mycelia, aplikovat zálivku přípravky s účinnou látkou carbendazim (MERPAN 80 WP). Je třeba zjistit, zda mořením (carbendazim) oddenků před výsadbou lze ovlivnit růst mycelia v latentně infikovaných oddencích. Výsledky je nutné ověřit v přírodních podmínkách.

SOUHRN

Ve sbírce 527 kultivarů vysokých velkokvětých kosatců (*Iris* × *barbata* skupina Elatior) bylo zjištěno onemocnění vyvolané houbou *Botrytis convoluta*. Následkem napadení oddenků a bazálních částí listů či listových pochev kosatců v chladné části roku byly některé kultivary výrazně oslabeny, v ojedinělých případech zcela odumřely. Na napadeném pletivu se tvoří hustý šedý povlak konidioforů s konidiemi, na oddencích charakteristická sklerocia. Pohlavní stadium houby nebylo nalezeno. Protože ochrana kosatců proti patogenu není dosud uspokojivě vyřešena, byl sledován vliv fungicidních účinných látek – captan, carbendazim, fenhexamid, iprodione, mancozeb, pyrimethanil a tolylfluamid (*in vitro*) ve čtyřech různých koncentracích na růst mycelia, klíčení konidií a sklerocií *B. convoluta*. Jako kontrola bylo použito stejné množství destilované vody. K pokusům byly využity izoláty *B. convoluta* z rostlin *Iris* × *barbata*, základní živná půda PDA (potato-dextrose agar). Klíčení konidií *B. convoluta* bylo hodnoceno při 900násobném zvětšení na PDA za 24 a 48 hod. K hodnocení růstu mycelia byl na PM s fungicidem umístěn blok agaru (3 × 3 mm) porostlý *B. convoluta* („upside down“) a za pět dnů změřen průměr myceliálního disku. K hodnocení klíčení sklerocií byla do Petriho misky na PDA s fungicidem umístěna sklerocia *B. convoluta* (5 ks/PM) a za pět dnů hodnocen růst mycelia, konidioforů s konidiemi a tvorba nových sklerocií. Klíčení konidií za 24 hod ve všech testovaných koncentracích výrazně ovlivnily přípravky obsahující účinnou látku tolylfluamid a captan, jejichž účinnost se pohybovala od 88 do 100%. Velmi dobrou účinnost po 48 hod v povolené i nižší koncentraci (10^0 a 10^{-1}) vykazovaly účinné látky iprodione (100 a 94%) a fenhexamid (87 a 88%). Ostatní účinné látky nedosahovaly požadované účinnosti na klíčení konidií *B. convoluta*. U kontroly dosahovala za 24 hodin klíčovost konidií 93–99%, za 48 hod 98–99%. Růstu mycelia houby zabránily, případně výrazně omezily (98,8–100%) všechny účinné látky v registrované koncentraci (mancozeb 0,2%, tolylfluamid 0,2%, carbendazim 0,2%, pyrimethanil 0,25%, iprodione 0,3%, fenhexamid 0,15% a captan 1%). U neošetřené kontrolní varianty bez fungicidu na PDA po pěti dnech mycelium *B. convoluta* pokrývalo

celý povrch PM. Potlačení růstu mycelia vykazaly účinné látky carbenazim, iprodion a fenhexamid (96,4–100 %) ve všech testovaných koncentracích. Při použití fungicidu s účinnou látkou captan při koncentraci 10^0 a 10^{-1} byl růst hyf silně omezený, avšak po obvodu se vytvářela sklerocia s konidiofory a konidiemi. Nižší koncentrace (10^{-2}) nezabránily růstu hyf, ale výrazně ovlivnily tvar myceliálního disku na laločnatý nebo paprskovitý (10^{-3}), po obvodu s četnými novými sklerocii a konidiofory s konidiemi. Při koncentraci 10^{-3} se sklerocia tvořila pouze ojediněle. Nejnížší účinnost na růst mycelia *B. convoluta* ve všech ředěních, kromě registrované koncentrace účinné látky, vykázal pyrimethanil. Účinná látka carbendazim ve všech koncentracích zabránila vyklíčení sklerocií, ostatní účinné látky, tj. tolylfluamid, pyrimethanil, iprodione, fenhexamid nezabránily růstu mycelia, případně tvorbě konidioforů s konidiemi. Mancozeb v registrované koncentraci zabránil vyklíčení sklerocií, avšak ve všech nižších koncentracích docházelo k rozrůstání hyf. Tolylfluamid nezabránil vyklíčení sklerocií v žádné z testovaných koncentrací. Ze sklerocií na agaru s registrovanou koncentrací vyrůstaly hyfy nebo konidiofory s konidiemi, se snižující se koncentrací se zvyšoval růst mycelia. Pyrimethanil podnítl růst mycelia ze sklerocií ve všech koncentracích, se snižující se koncentrací účinné látky se zvyšoval růst mycelia, tvorba konidioforů s konidiemi i nových sklerocií. Účinná látka iprodione ve všech testovaných koncentracích nezabránila vyklíčení sklerocií. Se snižující se koncentrací účinné látky se zvyšovala tvorba mycelia, konidioforů s konidiemi a sklerocií. Snižující se koncentrace fenhexamidu (10^{-1}) se projevila zvyšující se aktivitou růstu *B. convoluta*. Opačný účinek se projevil u captanu, který při koncentraci (1 %) podnítl silnou tvorbu konidioforů s konidiemi, nových sklerocií a růst mycelia na sklerociích, při ředění 10^{-3} se rozrůstalo pouze mycelium. Všechna sklerocia na živné půdě bez přídavku fungicidu vyklíčila a vytvářela myceliální disk o průměru 36 mm. Z výsledků vyplývá, že žádný z povolených přípravků v současné době nepostihuje všechna stadia houby. Zatímco růstu mycelia zabránily všechny zkoušené přípravky, vyklíčení sklerocií pouze systemicky působící carbendazim, příp. kontaktní mancozeb. Klíčení konidií bránily tolylfluamid, captan a iprodione (80–100 %). Byla potvrzena deklarovaná inhibice klíčení spor a růstu mycelia účinné u látky iprodione i u *B. convoluta*.

Iris × *barbata*, *Botrytis convoluta*, fungicidy

SUMMARY

In a collection of 527 cultivars of tall large-flowered irises (*Iris* × *barbata* group Elatior) the disease caused by the fungus *Botrytis convoluta* was discovered. Infestation of the rhizomes and basal parts of the leaves or leaf sheaths of the irises during the cold seasons of the year considerably weakened some of the cultivars, in sporadic cases they died off completely. A thick grey coating of conidiophores was formed on the infested tissue and characteristic sklerotia on the rhizomes. The sexual stage of the fungus was not discovered. Since the control of irises against the pathogen has not yet been satisfactorily solved, we explored the effect of fungicidal active substances – captan, carbendazim, fenhexamide, iprodione, mancozeb, pyrimethanil and tolylfluamid (*in vitro*), at four different concentrations on the growth of *B. convoluta* mycelia, germination of conidia and sclerotia. For control purposes we used the same amount of distilled water. In the experiments we used *B. convoluta* isolates from *Iris* × *barbata* plants; the basic nutrient medium was PDA (potato-dextrose agar). The germination of *B. convolute* conidia was assessed at 900X magnification on PDA for 24 and 48 hours. To evaluate mycelia growth we placed an agar block (3 × 3 mm) overgrown with *B. convoluta* (“upside down”) on the PD with the fungicide and after 5 days we measured the diameter of the mycelium disk. We monitored the germination of sclerotia by placing *B. convoluta* sclerotia (5 per PD) onto the PDA in the PD (Petri dish) and after five days we evaluated the growth of the mycelia, conidiophores with conidia and the formation of new sklerotia. At all concentrations the germination of conidia after 24 hours was markedly affected (from 88 to 100 %) by preparations containing the active substances tolylfluamide and captan. The active substances iprodione and fenhexamide were highly effective after 48 hours at the admissible and lower concentrations (10^0 and 10^{-1}), i.e. 100 and 94 % and 87 and 88 %, respectively. The other active substances did not achieve the required effectiveness in terms of the germination of *B. convolute* conidia. In the controls the germination of conidia after 24 and 48 hours reached 93–99 % and 98–99 %, respectively. Mycelium growth was inhibited or considerably reduced (98.8–100 %) by all the active substances applied at the registered concentrations (mancozeb 0.2 %, tolylfluamide 0.2 %, carbendazime 0.2 %, pyrimethanil 0.25 %, iprodione 0.3 %, fenhexamide 0.15 % and captan 1 %). In the untreated variant without a fungicide on PDA the *B. convoluta* mycelium covered the entire surface of the PD within 5 days. The active substances carbenazime, iprodione and fenhexamide inhibited mycelium growth (96.4–100 %) at all the tested concentrations. An application of a fungicide with the active substance captan at concentrations of 10^0 and 10^{-1} strongly inhibited the growth of hyphae, but sklerotia with conidiophores and conidia were formed on the circumference. Lower concentrations (10^{-2}) did not prevent hyphae growth but had a strong effect on the shape of the mycelium disk to a lobed

or radial (10^{-3}) with multiple new sklerotia and conidiophores with conidia on the circumference. At a 10^{-3} concentration sklerotia appeared only sporadically. Pyrimethanil affected growth of *B. convolute* mycelia least of all at all concentrations, with the exception of the registered concentration of the active substance. All concentrations of the active substance carbendazime inhibited sklerotia germination; the other active substances, i.e. tolylfluanide, pyrimethanil, iprodione and fenhexamide did not inhibit mycelia growth, or formation of conidiophores with conidia. At the registered concentration mancozeb inhibited sklerotia germination, but at all the lower concentrations the hyphae grew out. None of the tested concentrations of tolylfluanide prevented sklerotia germination. From sklerotia on agar containing the registered concentration, hyphae or conidiophores with conidia grew out; the growth of mycelia increased with decreasing concentrations. All concentrations of pyrimethanil stimulated the growth of mycelia from sklerotia; with decreasing concentrations of the active substance the growth of mycelia, formation of conidiophores with conidia and new sklerotia increased. No concentration of the active substance iprodione prevented sklerotia germination. With decreasing concentrations of the active substance the formation of mycelia, conidiophores with conidia and sklerotia increased. Decreasing concentrations of fenhexamide (10^{-1}) increased the activity of *B. convoluta* growth. A reverse effect was detected with captan; at a concentration of (1 %) it stimulated strong formation of conidiophores with conidia, new sklerotia and growth of mycelia on sklerotia; at a 10^{-3} dilution only the mycelium grew out. On a nutrient medium without the addition of a fungicide all the sklerotia germinated and formed a mycelium disk of 36 mm in diameter. From the results we can conclude that at the present time none of the certified preparations embraces all stages of the fungus. While all the tested preparations inhibited mycelium growth, only the systematic action of carbendazime, or contact mancozeb, prevented sklerotia germination. Tolylfluanide, captan and iprodione prevented conidia germination (80–100%). It was confirmed that the active substance iprodione inhibited spore germination and growth of mycelia of *B. convolute* as well.

LITERATURA

- DRAYTON, F. L., 1937: The perfect stage of *Botrytis convoluta*. *Mycologia* 29: 305–318.
- HORITA, H., 1997: Botrytis Rhizome Rot of German Iris Caused by *Botrytis convoluta* in Hokkaido. *The Society of Plant Protection of North Japan*, 48: 126–128.
- JACKSON, R. S., 1972: Environmental factors regulating the production of conidia by sklerotia of *Botrytis convoluta*. *Can. J. Bot.* 50, 4: 869–875.
- MAAS, J. L., 1969: Effect of time and temperature of storage on viability of *Botrytis convoluta* conidia and sklerotia. *Plant Dis. Rep.* 53: 141–144.
- MAAS, J. L. and POWELSEN, R. L., 1970: Presence of latent *Botrytis convoluta* infections in rhizomatous irises. *Mycopathologia*, 41, 3–4: 283–286.
- MACWITHEY, H. S., 1967: Effect of Temperature and Saprophytic Soil Fungi on Infection and Pathogenesis by *Botrytis convoluta* on Iris. *Phytopathology*, 57 (10): 1143–1148.
- MIRZAEI, S., GOLTAPPEH E. MOHAMMADI, SHAMS-BAKHSH, M. and SAFAIE, N., 2008: Identification of *Botrytis* spp. on Plants Grown in Iran. Source: *Journal of Phytopathology*, 156, 1: 21–28.
- ŠAFRÁNKOVÁ, I., 2005: Výskyt a původce odumírání oddenků kosatečů. *Zahradnictví*. XCVII (10) 10: 28–29.
- ŠAFRÁNKOVÁ, I., 2008a: Výskyt a rozšíření *Botrytis convoluta* ve sbírce kosatečů *Iris × barbata* a možnosti ochrany. *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun.*, 2009, LVII, No. 1, pp. 115–120

Adresa

Ing. Ivana Šafránková, Ph.D., Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: safran@mendelu.cz

