

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra rostlinné výroby

Studijní program: M 4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Všeobecné zemědělství - sp. rostlinolékařství

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Problematika mikroskopických hub u pluchatého ovsa



Autor diplomové práce:
Kateřina Štýsová

Vedoucí diplomové práce:
doc. Ing. Bohumila Voženílková, CSc.

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kateřina ŠTÝSOVÁ**
Studijní program: **M4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Všeobecné zemědělství - sp. rostlinolékařství**

Název tématu: **Problematika mikroskopických hub u pluchatého ovsa**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cílem diplomové práce bude hodnocení výskytu patogenních hub u pluchatého ovsa. Rovněž bude zjišťována četnost výskytu sledovaných fytopatogenních hub, strategie odhadu ztrát a hodnocení intenzity choroby. Dále bude sledována infekce patogeny hub rodu *Fusarium* včetně vyhodnocení výnosotvorných prvků. V pokusech *in vitro* se bude sledovat povrchová mikroflóra na osivu pluchatého ovsa.

1. Na školním pozemku JU ZF, katedra rostlinné výroby, se v daném termínu založí maloparcelkové pokusy se sledovanou plodinou pluchatého ovsa.
2. Hodnocení četnosti výskytu sledovaných fytopatogenních hub, strategie odhadu ztrát a hodnocení intenzity chorob podle bodové stupnice.
3. Zjištění vztahů mezi podmínkami prostředí v závislosti na výskytu chorob u pluchatého ovsa (stanoviště, ročník, pěstební podmínky).
4. Sklizeň maloparcelkových pokusů. Vyhodnocení zdravotního stavu a výnosotvorných prvků sledovaných rostlin.
5. Pokusy *in vitro* - povrchová mikroflóra zrn pluchatého ovsa.
6. Statistické vyhodnocení.

Rozsah práce: 50-60 stran

Rozsah příloh: 10 stran

Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

Kůdela, V. a kol.: Obecná fytopatologie. ACADEMIA, Praha, 1989

Čača, Z. a kol.: Ochrana polních a zahradních plodin. SZN, Praha, 1990

Hoffmann, M., Schmutterer, H.: Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, 1983

Šedivý, J. a kol.: Klíč k určování chorob a škůdců polních plodin, Praha, 1977

Aktuální separáty týkající se dané problematiky

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Bohumila Voženílková, CSc.
Katedra rostlinné výroby

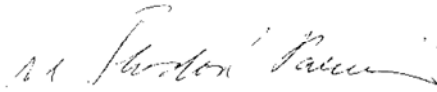
Datum zadání diplomové práce:

29. března 2006

Termín odevzdání diplomové práce:

30. dubna 2008

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení ④
Studentská 13
370 05 České Budějovice

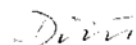

prof. Ing. Magdalena Hrabánková, CSc.

děkanka

L.S.

doc. Ing. Jiří Diviš, CSc.

vedoucí katedry



V Českých Budějovicích dne 29. března 2006

Poděkování

Děkuji své vedoucí diplomové práce, doc. Ing. Bohumile Voženílkové, CSc., za cenné rady a odborné vedení, Ing. Lukášovi Leitnerovi, DiS. za pomoc při zpracování diplomové práce a RNDr. Josefu Hýskovi, CSc. za determinaci druhů patogenních hub. Mé poděkování dále patří pracovníkům katedry rostlinné výroby za pomoc při ošetřování pokusů a všem, kteří mi poskytli užitečné rady.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákony č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 20. dubna 2008

.....
Kateřina Štýsová

1.	Úvod	1
2.	Literární přehled	3
2.1.	Oves setý (<i>Avena sativa</i>)	3
2.1.1.	Hospodářský význam	3
2.1.2.	Historie	5
2.1.3.	Botanická charakteristika	5
2.1.4.	Požadavky na prostředí	6
2.1.5.	Zařazení v osevním postupu	6
2.1.6.	Předseťová příprava a setí	7
2.1.7.	Ošetření během vegetace	7
2.1.8.	Sklizeň	8
2.1.9.	Jakostní hodnocení	8
2.2.	Mikroskopické houby	10
2.2.1.	Výskyt a význam	10
2.2.2.	Obecná charakteristika	11
2.2.3.	Systematické zařazení	12
2.2.3.1.	Třída <i>Zygomycetes</i>	13
2.2.3.2.	Třída <i>Ascomycetes</i> – houby vřeckovýtusé	13
2.2.3.3.	Pomocná třída <i>Deuteromycotina (Fungi imperfecti)</i>	13
2.3.	Diagnostikování patogeni	15
2.3.1.	Rod <i>Fusarium</i>	15
2.3.1.1.	Výskyt a význam	15
2.3.1.2.	Bionomie	15
2.3.1.3.	Morfologie a identifikace	16
2.3.2.	Rod <i>Acremonium</i>	19
2.3.3.	Rod <i>Aspergillus</i>	19
2.3.4.	Rod <i>Alternaria</i>	20
2.3.5.	Rod <i>Epicoccum</i>	21
2.3.6.	Rod <i>Penicillium</i>	22
2.3.7.	Rod <i>Verticillium</i>	22
2.4.	Klasové fuzariózy	24
2.4.1.	Výskyt a význam	24
2.4.2.	Příznaky napadení	25
2.4.3.	Ochrana	25
2.5.	<i>Trichoderma harzianum</i>	28
2.5.1.	Výskyt a význam	28
2.5.2.	Taxonomie	28
2.5.3.	Antagonistické vztahy mezi rodem hub <i>Trichoderma</i> a patogeny	29
2.5.4.	Využití v biologické ochraně	30
2.5.5.	Morfologie a identifikace	32
2.6.	Mykotoxiny	34
2.6.1.	Obecná charakteristika	34
2.6.2.	Úloha mykotoxinů	35
2.6.3.	Nejvýznamnější mykotoxiny	36
2.6.3.1.	Deoxynivalenol (DON)	36
2.6.3.2.	Zearalenon (ZEA)	36
2.6.3.3.	T-2 a HT-2 toxin	37
2.6.3.4.	Nivalenol (NIV)	37

3.	<u>Experimentální část</u>	39
3.1.	Materiál a metodika	39
3.1.1.	Oves setý (<i>Avena sativa</i>)	39
3.1.1.1.	Auron	39
3.1.1.2.	Azur	39
3.1.1.3.	Rozmar	39
3.1.1.4.	Vok	40
3.1.2.	Další použitý materiál	40
3.1.2.1.	Bioagens	40
3.1.2.2.	NPK obohacené houbou <i>Trichoderma harzianum</i>	41
3.1.2.3.	Umělé živné půdy	41
3.1.3.	Charakteristika pokusného pozemku	41
3.1.4.	Metodika polního pokusu	43
3.1.5.	Metodika laboratorního zpracování	44
3.1.5.1.	Hodnocení objemové hmotnosti, hmotnosti tisíce zrn a klíčivosti	44
3.1.5.2.	Hodnocení povrchové mikroflóry	45
3.1.5.3.	Příprava vzorků pro laboratorní vyhodnocení – stanovení obsahu DON	45
3.2.	Pokusný rok 2006	46
3.2.1.	Založení pokusu a ošetření během vegetace	46
3.2.2.	Hodnocení zdravotního stavu porostu	46
3.2.3.	Sklizeň	46
3.2.4.	Laboratorní hodnocení	47
3.2.4.1.	Hodnocení hmotnosti tisíce zrn, objemové hmotnosti a klíčivosti	47
3.2.4.2.	Hodnocení povrchové mikroflóry	49
3.2.4.3.	Stanovení obsahu deoxynivalenolu v obilkách	53
3.3.	Pokusný rok 2007	54
3.3.1.	Založení pokusu a ošetření během vegetace	54
3.3.2.	Hodnocení zdravotního stavu porostu	54
3.3.3.	Sklizeň	54
3.3.4.	Laboratorní hodnocení	55
3.3.4.1.	Hodnocení hmotnosti tisíce zrn, objemové hmotnosti a klíčivosti	55
3.3.4.2.	Hodnocení povrchové mikroflóry	57
3.3.4.3.	Stanovení obsahu deoxynivalenolu v obilkách	61
3.4.	Vyhodnocení pokusu	62
3.4.1.	Srovnání objemové hmotnosti v letech 2006, 2007	62
3.4.2.	Srovnání hmotnosti tisíce zrn v letech 2006, 2007	62
3.4.3.	Srovnání klíčivosti v letech 2006, 2007	63
3.4.4.	Srovnání napadení obilky povrchovou mikroflórou v letech 2006, 2007	64
3.4.5.	Statistické vyhodnocení pokusu	66
4.	<u>Diskuse</u>	68
5.	<u>Závěr</u>	70
6.	<u>Seznam literatury</u>	72
7.	<u>Přílohy</u>	76

1. Úvod

Mikroskopické houby přesněji mikroskopické vláknité houby nebo-li mikromycety se staly neoddělitelnou součástí člověka již od prvopočátku jeho existence. Soužití s člověkem jim totiž umožnilo, a pořád umožňuje, dostatek zdrojů jejich výživy. Blíže se s nimi však člověk seznámil až s objevem mikroskopu a rozvojem mikroskopických metod pro jejich sledování. Zájem o tyto houby ještě více stoupl s objevením antibiotik, kdy se začaly rozvíjet biotechnologie využívající mikromycety k výrobě léků, enzymů či potravin.

Mikroskopické houby se vyskytují téměř všude a plní v přírodě nezastupitelnou roli. Svým enzymatickým systémem kontaminují velké množství odlišných substrátů. Díky morfologické rozmanitosti a přizpůsobivosti k podmínkám prostředí se vyskytují v řadě různých biotopů. Jsou přítomny v ovzduší, půdě, vodě, na povrchu živých a odumřelých organismů, v krmivech, jednoduše téměř kdekoliv.

Velmi vhodným substrátem pro osídlení, růst a rozmnožování mikroskopických hub jsou nevhodně uskladněné potraviny a krmiva, které většina mikromycet rozkládá. U lidí, ale i zvířat často způsobují různé mykózy a též bývají původci onemocnění rostlin. Produkci sekundárních metabolitů nebo-li mykotoxinů mohou u citlivých jedinců vyvolat, vdechováním spor hub z ovzduší, alergické reakce. Pokud se dostanou do potravin a krmiv, mohou způsobovat chronické až akutní mykotoxikózy lidí a hospodářských zvířat.

Naproti tomu, jak už bylo řečeno, jsou některé mikroskopické houby využívány ve farmacii nebo v potravinářském průmyslu. Upotřebení si našly i v biologické ochraně rostlin proti hmyzím škůdcům a houbovým chorobám. Příkladem je entomopatogenní houba *Beauveria bassiana*, parazitující na půdním hmyzu anebo antagonistická a mykoparazitická houba *Trichoderma harzianum*, napadající některé fytopatogenní houby.

V této práci je poukázáno na problematiku mikroskopických hub u pluchatého ova. Bylo již mnoho řečeno o problematice těchto hub a jejich škodlivosti v obilovinách pro produkci potravin a krmiv rostlinného původu. Nejvíce se však pozornost věnovala obilovinám jako je pšenice, ječmen a kukuřice, jelikož jsou více pěstovány pro svoje široké využití jako potraviny, krmivo a suroviny pro průmyslové zpracování. Příčiny malého zájmu o oves jsou hledány ve snížení stavu koní. Další příčinou je i malá výnosnost a menší rozsah využití ova jako potraviny. I přesto všechno si oves nachází, pro své dietetické vlastnosti, na trhu opět uplatnění a to hlavně u příznivců zdravé výživy.

V dnešní době je velká pozornost věnována tzv. zdravým potravinám, které byly vypěstovány při minimálním používání pesticidů. Pro tento systém pěstování je velice vhodný právě oves. Je totiž méně náročný na podmínky pěstování a jako méně náchylná plodina k chorobám a škůdcům je ošetřován výrazně menším množstvím hnojiv a

pesticidů než jiné obiloviny. Vzhledem k faktu, že je méně napadán chorobami zejména houbovými, hrozí menší riziko výskytu mykotoxinů.

Cílem této práce bylo vyhodnocení výskytu patogenních hub u pluchatého ovsa dle různých způsobů ošetření během vegetace. Rovněž byla zjišťována četnost výskytu sledovaných fytopatogenních hub, strategie odhadu ztrát, hodnocení intenzity choroby a výskytu mykotoxinů v obilkách. Dále byla sledována infekce patogeny hub rodu *Fusarium* a vyhodnocení hmotnosti tisíce zrn, objemové hmotnosti a klíčivosti. V pokusech *in vitro* byla sledována povrchová mikroflóra na osivu pluchatého ovsa.

2. Literární přehled

2.1. Oves setý (*Avena sativa*)

2.1.1. Hospodářský význam

Celkový rozsah pěstování ovsa se v porovnání s obdobím před 2. světovou válkou výrazně snížil. Odklon od pěstování ovsa souvisel se stagnací výnosů a s nižším užitím produkce ve srovnání s pšenicí a ječmenem především poklesem stavu koní. V současné době znovu nabývá oves na významu jako surovina pro výroby zdravé lidské výživy (Pulkrábek a kol., 2003).

Oves je plodinou, která má zejména v některých oblastech naší republiky dlouhou pěstitelskou tradici. Jeho plochy byly v první polovině minulého století srovnatelné s ostatními obilovinami, ale s postupující změnou struktury pěstovaných plodin a klesající poptávkou po ovsu jako krmné plodině jeho výměry postupně klesaly až k hodnotám okolo 50-60 tis. ha, což představuje cca 3,5 % plochy obilovin (Polišenská a kol., 2007).

Oves (*Avena*) patří mezi nejmladší obilné druhy. Je důležitou krmnou a potravinářskou plodinou pro vysokou nutriční hodnotu obilky (Diviš, 2000).

Podle statistických údajů je 74% produkce zkrmováno, 9% je využíváno na osivo a 17% na potravinářské účely. Dá se předpokládat, že absolutní množství ovsa, které je využíváno k potravinářství, příliš nevzrostl, ale roste jeho relativní podíl na spotřebě s ohledem na klesající množství krmného ovsa (Polišenská a kol., 2007).

K největším producentům patří Evropa a Rusko (Diviš, 2000).

Tab.1 Přehled ploch a výnosů ovsa v ČR (ČSÚ)

ukazatel	1960	1970	1980	1990	1995	2005	2006	2007
plocha (tis./ha)	380,4	306,3	107,6	79,6	60,2	51,7	57,5	59
výnos (t/ha)	2,18	2,18	3,55	4,7	3,1	2,92	2,68	2,91

Obilky vynikají vysokým obsahem a příznivou skladbou bílkovin a vysokým obsahem tuku. Vlákna ovsa má vysoký podíl rozpustné a nerozpustné složky včetně beta glukanů. Je ceněn i vysoký obsah minerálních látek (Diviš, 2000). Obsahuje více stravitelných tuků a bílkovin než pšenice a žito a je bohaté na lecitin. S ohledem na výše uvedené vlastnosti ovsa postupně stoupá jeho potravinářské využití (Diviš, 2000).

Bílkovinný komplex ovsa se ve srovnání s pšenicí vyznačuje snazší stravitelností a vyšším podílem esenciálních aminokyselin (Pulkrábek a kol., 2003). Zrno ovsa má ve srovnání s ostatními obilninami vyšší obsah bílkovin s vysokou biologickou hodnotou, 3-4

násobně vyšší obsah tuku s příznivou skladbou vyšších mastných kyselin, vysoký obsah dobře rozpustných cukrů a kvalitní vlákniny, vitamínů zvláště B a E, alkaloidů (aveninu), hořčíku, železa a dalších látek (Moudrý, 1993).

Pro potravinářské účely je nutné zrno loupat. Oves nahý (bezpluchý) je určen pro zpracování v potravinářském průmyslu, protože odpadá odstraňování pluch z obilek. Je nutné povrchové broušení obilek, u kterých se odstraňují dlouhé křemičité chloupky. Zrno ovsa se také uplatňuje v krmných dávkách některých kategorií hospodářských zvířat – mladých a plemenných zvířat a koní (Pulkrábek a kol., 2003).

Ačkoliv oves nedává nejvyšší výnosy zrna z plochy, tvoří největší množství hodnotné biomasy. Proto je využíván na zelené krmení, senážování i sušení. V osevních postupech je vhodnou předplodinou, krycí plodinou i komponentem směsek (Moudrý, 1993).

Oves je vynikající dietní potravina pro sportovce, nemocné a staré lidi. Byl prokázán pozitivní vliv ovesné diety na nádorová onemocnění zažívacího traktu, omezení cévních a srdečních chorob, zvýšení psychické stability a celé řady dalších posilujících a léčebných účinků. Oves se používá pro výrobu vloček, müsli tyčinek, ovesných polévek, krup apod. Oves je též vhodným krmivem hlavně pro mladá, plemenná, nemocná a vysoce výkonná zvířata. Prokázal se pozitivní vliv prakticky u všech kategorií hospodářských zvířat, a to jak v kvantitě tak i v kvalitě jejich užitkovosti (Diviš, 2000).

Moudrý a Štěrba (1997) zastávají názor, že by oves neměl v lidské výživě chybět a to z těchto důvodů:

- Je zdrojem hodnotných bílkovin
- Obsahuje nenasycené mastné kyseliny – prevence proti kardiovaskulárním chorobám
- Je zdrojem vlákniny, vitamínů skupiny B a železa
- Má psychotropní účinky, snižuje hladinu cholesterolu v krevním séru
- Koriguje nedostatky ve výživě

Tab. 2 Chemické složení zrna ovsa (Pulkrábek a kol., 2003)

Plodina	N-látky (%)	Škrob (%)	Hrubá celulóza (%)	Tuk (%)
Oves pluchatý	12,4	39,6	11,8	3,5
Oves nahý	16,5	56,3	1,4	8,3

2.1.2. Historie

Fylogenetický původ ovsa není dosud dobře objasněn. Předpokládá se, že dnešní oves setý (*Avena sativa* L.) vznikl z ovsa hluchého (*Avena fatua* L.), dnes velmi rozšířeného plevelného druhu. Oba mají stejný počet chromozomů (42) a lehce se spolu kříží (Moudrý, 1993).

Oblast jeho původu není dosud také zcela zřejmá (Diviš, 2000). Existuje několik teorií. Podle jedné pochází oves setý z východní a jihovýchodní Asie, kde se vyskytuje divoký oves jako plevel v pěstovaném obilí. Další teorie je, že jeho původní vlastí je střední Evropa, kde je jako obtížný plevel rozšířena forma ovsa hluchého (Šašková, 1993). Nejstarší důkazy o výskytu ovsa pocházejí z nálezů ve švýcarských kolových stavbách z doby bronzové. Nálezy nasvědčují tomu, že v této době byl oves spíše plevelem. Teprve v raném středověku jsou jeho nálezy, zejména na slovanských a germánských sídlištích hojnější. Šiřiteli kultury ovsa byli pravděpodobně Slované (Dostálová, 1992).

Také se u některých druhů hovoří o původu ze Severní Afriky. Z těchto míst se rozšířil jako plevelná rostlina do oblastí dnešního výskytu (Diviš, 2000).

2.1.3. Botanická charakteristika

Existuje 70 druhů ovsa. Nejrozšířenějším druhem ovsa je oves setý (*Avena sativa* L.), který zaujímá 90% světových osevních ploch. Jako bezpluchou formu k němu někteří botanici přiřazují i oves nahý (*A. sativa* var. *nuda*), jiní ho řadí samostatně (*A. nuda*). Na zbytku ploch je pěstován oves byzantský (*A. byzantina*), v Etiopii se pěstuje oves habešský (*A. abyssinica*) (Diviš, 2000). Od ovsa setého se oves byzantský liší řidší latou a většími klásky, které mívají zpravidla dvě osiny (Šašková, 1993).

V kultuře se u nás pěstují dvě formy ovsa setého – oves pluchatý a oves nahý s bezpluchou obilkou. Obě formy se u nás pěstují jako jařiny (Pulkrábek a kol., 2003).

U pluchatého ovsa je značnou nevýhodou silná vláknitá plucha, která snižuje energetickou hodnotu zrna jako složky krmných směsí pro zvířata (Thomke, 1988). Pozitivní roli hrají pluchy při ochraně zrna před mechanickým poškozením a tím i snižováním jejich kvality a následného využití (Valentine, 1995).

Rostliny ovsa jsou 0,6-1,5 m vysoké, mají mohutnou kořenovou soustavu s velkou sorpční a osvojovací schopností (Diviš, 2000). Druhotné svazčité kořeny tvoří krátce po vzejití, při vytvoření 3. a 4. listu, během odnožování. Průměrně tvoří 2-6 odnoží z nichž jen necelá desetina je plodných. Listy jsou levotočivé, delší, ostře špičaté a sytě zelené. Na přechodu listové pochvy a čepele se nachází vyvinutý jazýček, ouška obvykle chybějí

(Moudrý, 1993). Květenství je lata složená z větévek vyrůstajících ve 4-6 přeslenech (Moudrý, 1993). U pluchatého ovsa je obilka pevně sevřena obaly kvítků – pluchou a pluškou – a při sklizni se z těchto obalů nevolňuje. Podíl pluch tvoří 22 – 24% hmotnosti zrna (Pulkrábek a kol., 2003). Klásky pluchatého ovsa mají obvykle 2-4 kvítky. Oves kvete od vrcholu k bázi laty. V klásku pluchatých i nahých ovsů dozrávají obvykle 1-3 zrna (Moudrý, 1993). Zrno bývá až 15 mm dlouhé a až 3 mm široké. Barva může být žlutá nebo bílá. Oves řadíme mezi rostliny samosprašné s částečným cizosprašením (Diviš, 2000).

2.1.4. Požadavky na prostředí

Oves je méně náročný na podnebí a půdu. Snáší chladné a vlhčí podnebí. Je možno ho pěstovat s menším množstvím hnojiv a pesticidů a je tedy vhodnou plodinou pro „low input“ systémy hospodaření (Diviš, 2000). Oves je obilnina vhodná pro naše zeměpisné šířky neboť se jí daří v chladném a vlhkém klimatu (Dostálová, 1992). Pěstuje se především v bramborářské oblasti, protože je náročný na vláhu. Půdy jsou vhodné střední až těžší, snáší i půdy méně strukturní a kyselé. Nevhodné jsou půdy lehké a vysychavé. Silně vyvinutá kořenová soustava umožňuje získávat živiny i z méně přístupných forem (Pulkrábek a kol., 2003). Snáší kyselé půdy, je ale citlivý na nevyváženou bilanci živin. Větší požadavky má na obsah draslíku a hořčíku v půdě. Oves představuje nejméně náročnou obilninu na živiny (Šarapatka a kol., 2006).

2.1.5. Zařazení v osevním postupu

Vzhledem ke svým vlastnostem je oves považován za plodinu doběrnou, zařazovanou na konec obilních sledů. V praxi se často zařazuje až po dvou obilninách i když nejlepšími předplodinami jsou okopaniny a jeteloviny (Diviš, 2000). V praxi je opomíjena jeho vysoká předplodinová hodnota (Šarapatka a kol., 2006).

V monokulturách obilnin působí oves jako přerušovač, protože není téměř vůbec napadán houbami, které působí tzv. choroby pat stébel, výměšky kořenů ovsa navíc brzdí aktivitu zárodků těchto hub. Použití ovsa jako krycí plodiny pro jetelovinu nebo jeho zařazení mezi okopaninu a obilninu vytváří v osevním postupu dvouletý přerušovač s ještě výraznějšími fyto-sanitárními účinky (Moudrý, 1993). Jako ochranná plodina oves dobře potlačuje plevele, aniž konkurenčně omezí vývoj a růst podsevu (Šarapatka a kol., 2006). Po sobě je oves nesnášenlivý a lze ho na pozemek opětovně zařadit za 4-5 let. Nahý oves je na předplodinu a podmínky pěstování náročnější (Diviš, 2000).

2.1.6. Předset'ová příprava a setí

Po sklizni předplodiny stačí provést střední orbu (do 20 cm). Hloubka orby nemá vliv na výnos ovsa. Jarní ošetření půdy a příprava lůžka mají být rovnoměrné (do 5 cm), co nejčasnější, jakmile to stav půdy dovolí (Šarapatka a kol., 2006).

Oves je nutné časně zasít, protože krátký den má významný formativní účinek na větší tvorbu odnoží a diferenciaci základů laty. Klíčí již při teplotě 4-5°C a mladá rostlina snese mrazíky až do -5°C (Diviš, 2000). Pro nabobtnání a klíčení potřebuje zrna značné množství vody. Klíčováním rostlinám nevádí ani vyšší vlhkost půdy. Zato sucha může nepříznivě ovlivnit dobu vzcházení i procento vzešlých rostlin (Moudrý, 1993).

Rané setí je důležité pro dosažení vyššího výnosu zrna a snižuje škody napadením bzunkou ječnou a sterilní zakrslostí ovsa (Pulkrábek a kol., 2003). Každý den opožděného setí může přinést až o 70 kg nižší výnos zrna z 1 hektaru (Šarapatka a kol., 2006). Oves sejeme do hloubky 30 mm – 40 mm. Výsevek u pluchatých odrůd činí 4,5 – 5,5 mil. klíčivých zrn na ha, u nahých odrůd 4,5 – 5,0 mil. klíčivých zrn na ha. Výsevek snižujeme o 5 – 10% při pěstování ovsa pro potravinářské účely (Pulkrábek a kol., 2003). Užší řádky (12,5 cm a méně) jsou vhodnější. Velmi důležité je, aby oves byl zaset rovnoměrně hluboko (Šarapatka a kol., 2006).

Pro růst ovsa je příznivé počasí s bohatými srážkami především v květnu a počátkem června. Oves má největší spotřebu vody na příjem živin a jejich uložení. V období tvorby obilky je zvláště nepříznivé suché a horké léto (Moudrý, 1993).

2.1.7. Ošetření během vegetace

Oves má dobrou schopnost přijímat z půdy i hůře přístupné živiny (Šarapatka a kol., 2006). Přehnojení dusíkem může způsobit poléhání porostu a tím snížení výnosu i jakosti ovsa. Oves je náročný na draslík a hořčík, nesnáší přímé vápnění (Pulkrábek a kol., 2003). Draslík přijímá z půdy dobře, hořčík méně. Proto při vysokém obsahu draslíku, je nutno zvýšit dávky hořčíku na dvojnásobek doporučených. Oves má slabou schopnost poutat z půdy fosfor. Využití dusíku z půdní zásoby je až 65% (Šarapatka a kol., 2006). Celková dávka dusíku se doporučuje mezi 60–90kg N.ha⁻¹, v úrodných podmínkách a po dobré předplodině jen do 30kg N.ha⁻¹. Dusík aplikujeme před setím v dávce do 50–90kg N.ha⁻¹. Přihnojení provádíme na konci odnožování až počátku sloupkování dávkou 20–30kg N.ha⁻¹ (Pulkrábek a kol., 2003). Oves dobře snáší organická hnojiva, zvláště zelené hnojení. Na chudých půdách lze k němu hnojit i nižšími dávkami hnoje (ve vlhkém roce hrozí nebezpečí poléhání). Jsou možné i kombinace organického a minerálního hnojení (Šarapatka a kol., 2006).

Na lehkých půdách a za sucha je vhodné válení. Pokud se po zasetí vytvoří půdní škraloup, je možné mělké vláčení síťovými branami před vzejitím. Proti plevelům je možné použít síťové nebo prutové brány od fáze 3 až 4 lístků až do konce odnožování. Vzcházející porost se do 3 pravých lístků vláčet nesmí, protože by se značně poškodil. Vlácením se omezí plevele až o 60%, ale podpoří se také provzdušnění půdy, vývin kořenů, mineralizace půdního dusíku, čímž se udrží plodnost odnoží a ozrnění lat (Šarapatka a kol., 2006).

Ve srovnání s jinými obilninami oves většinou příliš netrpí chorobami. Někdy se mohou vyskytovat virové choroby (např. virová zakrslost ovsa), které jsou přenášeny savým hmyzem. Ochrana spočívá v ošetřování proti mšicím. Významnější jsou škody způsobované škůdci. Nejvýznamnějším škůdcem ovsa je bzunka ječná, jejíž larva poškozuje vzrostlé vrcholy. Hlavním ochranným opatřením proti bzunce ječné je rané setí. Pokud je zjištěn výskyt, provádí se postřik ve fázi 2 – 3 listů (Pulkrábek a kol., 2003). Při výskytu plevelného ovsa hluchého nelze použít žádný herbicid, protože by byl poškozen i kulturní oves. Proto na pozemcích s vyšším výskytem ovsa hluchého se nedoporučuje kulturní oves pěstovat.

2.1.8. Sklizeň

Vzhledem k délce vegetační doby je sklizeň ovsa náročná. Předčasně sklizený oves neposkytne dostatečný výnos ani kvalitu, navíc se obtížně sklízí a dosouší. Přezrálý oves značně vypadává z lat (Šarapatka a kol., 2006). Oves dozrává nerovnoměrně a čím více je zrání nerovnoměrné, tím více je zadinovitých, černých a trouchnivějších zrn (Pulkrábek a kol., 2003).

Optimální sklizeň je při 14-16% vlhkosti. Vhodná skladovací vlhkost je 12-14%. Oves je žádoucí ukládat na roštové podlahy s možností provětrání zrna (Šarapatka a kol., 2006). Při vyšší vlhkosti je nutné dosoušení aktivním větráním nebo horkovzdušně. Vlhká zrna rychle ztrácejí lesk a dostávají zatuchlý zápach. Důležité je také správné seřízení sklízecí mlátičky, protože u mechanicky poškozených zrn dochází k rychlejšímu žluknutí tuků (Pulkrábek a kol., 2003). Poškozená zrna ztrácí svou přirozenou obranyschopnost a jsou snáze přístupná patogenům (Drastichová, 2005).

2.1.9. Jakostní hodnocení

Při posuzování kvality ovsa při nákupu je u nás pozornost soustředěna na vzhled, vůni, vlhkost, velikost a vyrovnanost zrna, objemovou hmotnost, obsah příměsí a nečistot. U nahého ovsa je navíc sledován i podíl pluchatých, popřípadě černých a ztrouchnivělých

zrn (Moudrý a kol., 2003).

Základní jakostní ukazatele u potravinářského ovsa jsou: vlhkost 13,0% (u bezpluchého ovsa 12,0%), objemová hmotnost $55\text{kg}\cdot\text{hl}^{-1}$ ($68\text{kg}\cdot\text{hl}^{-1}$), podíl zrna nad sítím 1,8mm 90,0% (80,0%) a dále příměsi a nečistoty. Oves nahý (bezpluchý) smí obsahovat nejvýše 10% zrn v pluchách. Při vyšším obsahu se posuzuje jako oves pluchatý (Pulkrábek a kol., 2003).

2.2. Mikroskopické houby

2.2.1. Výskyt a význam

Mikroskopické houby jsou ubiquitárně rozšířené po celém světě. Jejich stáří se odhaduje na 300 miliónů let a lidstvo se s nimi setkává už od nepaměti (Ostrý, 1998). Jsou nejrozsáhlejší a nejvýznačnější skupinou organismů způsobujících onemocnění rostlin. V podmínkách střední Evropy jsou příčinou více jak 80% všech závažných chorob rostlin a podílejí se asi 60% na ztrátách vyvolávaných všemi biotickými původci (Zvára a kol., 1991). Vlákňité mikroskopické houby nebo-li plísně jsou díky svému enzymatickému vybavení velmi adaptabilní pro kontaminaci téměř jakéhokoliv substrátu. Velká morfologická rozmanitost a schopnost přizpůsobit se nejrůznějším ekologickým podmínkám umožňuje houbám osídlit řadu rozdílných biotopů (Ostrý, 1998). Plísněmi běžně rozumíme mikroskopické organismy, které vytvářejí jemné vláknité povlaky na různých substrátech (Fassatiová, 1979).

Podle současných poznatků jsou houby nejrozsáhlejší skupinou fytopatogenních organismů. V pojetí hub *sensu lato*, počet těchto fytopatogenních organismů přesahuje 10000 druhů, které reprezentují téměř 400 rodů. Všechny tyto patogenní organismy jsou neobyčejně různorodé a variabilní, liší se nejen svým životním a infekčním cyklem, způsoby výživy, genetickou diverzitou, ale i mechanismy interakce s rostlinami a způsoby patogeneze, včetně exprese symptomů (Lebeda a kol., 2006).

Mikroskopické vláknité houby plní v přírodě nezastupitelnou roli destruentů při rozkladu rostlinných a živočišných zbytků, neboť jsou schopny produkovat celou řadu enzymů (např. celulázy, chitinázy, amylázy atd.). Člověkem jsou některé z nich využívány v potravinářském průmyslu např. při výrobě sýrů, kyseliny citrónové či různých východoasijských specialit, ve farmaceutickém průmyslu při výrobě antibiotik i jiných léčiv a v dalších biotechnologiích, např. při výrobě houbových přípravků proti hmyzím škůdcům nebo proti houbovým patogenům (www3). Jedním z nejznámějších druhů vláknitých hub je *Aspergillus niger*, který slouží při výrobě kyseliny citrónové. Některé druhy rodu *Fusarium* produkují růstové látky, zvané gibereliny, které se používají nejen k podpoře celkového růstu u některých pěstovaných rostlin, ale také v pivovarnictví při klíčení ječmene (Fassatiová, 1979). Naproti tomu mnohé mikroskopické houby mohou působit z hlediska člověka nepříznivě, a to v několika směrech: rozkladem potravin a krmiv uskladněných za nevhodných podmínek, produkcí mykotoxinů do těchto produktů, dále mohou být příčinou alergických obtíží u citlivých jedinců vdechováním nadměrného množství spor hub v ovzduší nebo dýcháním těkavých (volatilních) látek produkovaných

těmito houbami; některé saprotrofní mikromycety mohou být příležitostně i patogenní jak pro živočichy včetně člověka, tak i pro rostliny (www3).

Fytopatogenní mikroskopické houby na obilninách lze rozdělit do několika skupin:

- houby napadající kořeny a paty stébel (*Gaeumannomyces graminis*, *Typhula incarnata*, *Rhizoctonia solani*, aj.)
- houby napadající stéblo a list (rzi, sněti, *Blumeria graminis*, *Drechslera* spp., *Fusarium* spp. a další)
- houby napadající klasy (*Septoria* spp., *Fusarium* spp., *Blumeria graminis* a další) (Hýsek, Vach, 2007)

2.2.2. Obecná charakteristika

Dle Váni (1998) jsou houby (v širším slova smyslu) eukaryotické, heterotrofní stélkaté organismy. Základem stélky hub je vlákno (hyfa), pouze u nejprimitivnějších plísní se setkáváme s jednoduchou, mikroskopickou vakovitou buňkou (holokarpická buňka), která vykonává všechny životní funkce (Fassatiová, 1979).

Stélku tvořenou trubicovitými, nepřehrádkovanými či přehrádkovanými vlákny (hyfami), které se mohou dále větvit, vzájemně splétat a vytvářet tak podhoubí (mycelium) nebo pseudoparenchymatická či plektenchymatická pletiva má převážná většina hub (většina zástupců oddělení *Oomycota* a *Eumycota*, část zástupců oddělení *Chytridiomycota*). U primitivních skupin (*Myxomycota*, *Plasmodiophoromycota*, aj.) nebo i druhotně redukovaných skupin např. *Saccharomycetales* se stélka takto charakterizovat nedá (Váňa, 1998). Mycelium fytopatogenních hub bývá různě zbarvené (od bělavého přes růžové, šedozelené až k černošedému). Zpravidla se rozrůstá v mezibuněčných prostorech hostitele nebo roste z jedné jeho buňky do druhé. Některé houby porůstají podhoubím jeho povrch, které prostřednictvím bočních hyf vniká do epidermálních buněk, kde vytváří haustoria, sloužící k absorpci živin. Houby se rozmnožují výtrusy (sporami), vznikajícími pohlavní nebo nepohlavní cestou. Při vzniku rozmnožovacích orgánů se může na tyto útvary přeměňovat buď celá stélka (houby holokarpické) nebo rozmnožovací orgány vznikají pouze na části stélky (houby eukarpické) a ostatní část je somatická (Zvára a kol., 1991).

V životním cyklu mnoha mikroskopických hub převládá nepohlavní rozmnožování (též asexuální, mitosporní, anamorfní či konidiové stádium), charakteristické tvorbou různě utvářených konidioforů s konidiiemi nebo chlamydospor. Méně často se uplatňuje rozmnožování pohlavní (též sexuální, meiosporní či teleomorfní stádium), charakteristické buď tvorbou zygospor nebo askospor (www3). Za určitých podmínek vytváří mnoho druhů hub plodnice (sporokarp) (Kazda a kol., 2003).

Vlákná klíčící z výtrusů mají tendenci rozrůstat se na pevném substrátu paprsčitě, v tekutém substrátu nahloučeně. Rozeznáváme mycelium substrátové (vyživovací), které mívá odchylný charakter od mycelia vzdušného. Speciálním případem substrátového mycelia jsou haustoria (vysavná vlákna) u parazitických hub (Fassatiová, 1979).

2.2.3. Systematické zařazení

V širším slova smyslu je termín houby, obdobně jako např. řasy či mechorosty, používán nikoliv pro přesně vymezenou systematickou skupinu (oddělení), ale pro dosti heterogenní, polyfyletickou skupinu organismů rozličného vzhledu. K říši hub (*Fungi*) je tedy řazeno několik dalších skupin organismů, které jsou dnes systematicky řazeny již do skupiny *Protista* a říši *Protozoa* a *Chromista*. V užším pojetí hovoříme o tzv. vlastních houbách (*Eumycota*) (Váňa, 1998). Na základě studia rDNA byl navržen systém pěti říší (Cavalier-Smith, 1989; Whittaker et Margulis, 1978): Chromista, Protista, Fungi, Plantae (rostliny), Animalia (živočišné), z nichž první tři zahrnují zástupce původní říše hub:

- říše *Protista* (syn. *Protoctista*) zahrnuje *Myxomycota* (polyfyletická skupina, v níž se setkávají vlastní hlenky a akrasie), nejasný je původ plasmodiofor, jež jsou v současnosti v rámci říše izolovanou skupinou (*Plasmodiophoromycota*) (www2).
- říše *Chromista* (syn. *Straminipila*, *Stramenopila*) zahrnuje oddělení *Oomycota* (syn. *Peronosporomycota*) a příbuzná oddělení (*Labyrinthulomycota*, *Hyphochytriomycota*)
- říše *Fungi* je monofyletickou skupinou se společným předkem, který mohl mít společný vývojový základ s ruduchami (samičí pohlavní buňky podobné s vřekatými houbami, póry v přehrádkách a byla zjištěna i dikaryotizace) (www2).

Mikroskopické vláknité houby jsou řazeny do říše *Fungi*. Podle způsobu rozmnožování jsou pak dále zařazovány buď do podkmene *Zygomycota*, *Ascomycota*, nebo do nystematické umělé skupiny mitosporních hub (*Deuteromycetes*, *Fungi imperfecti*), zahrnující pouze nepohlavně se rozmnožující se houby (www3). Tyto houby patří do oddělení *Eumycota* a jsou to organismy, jejichž stélka je tvořena myceliem v jehož buněčných stěnách převládá chitin a β -glukan (Zvára a kol., 1991). *Deuteromycotina* je pomocné pooddělení.

Pro vláknité mikromycety se všeobecně používá termín plísně. V některých populárních lékařských příručkách se tento termín používá dokonce i pro označení kvasinek. V mykologii má však termín "plísně" užší význam, označuje pouze houby podkmene *Oomycota* (např. *Phytophthora infestans* - plíseň bramborová), *Chytridiomycota*

(např. *Synchytrium endobioticum*) a *Zygomycota* (např. *Mucor mucedo* - plíseň hlavičková) (www3).

2.2.3.1. Třída *Zygomycetes*

Fytopatologicky významní jsou zástupci řádů *Mucorales* a *Entomophthorales*. Do prvního z nich patří rody *Mucor* a *Rhizopus* (Zvára a kol., 1991). *Mucor* je nejrozsáhlejším rodem této třídy a zahrnuje přes 100 druhů. Na různých potravinách, jako např. chlebu, mase, ovoci, zelenině tvoří volně vláknitý, většinou bělavý porost s kulovitými nahnědlými sporangii, jejichž kolumela má různý tvar. Některé druhy mají proteolytické enzymy, jiné produkují mykotoxiny. Mohou být též patogenní (Šilhánková, 2002).

Rod *Mucor* má dobře vyvinuté mycelium, jehož část je ponořena do substrátu, kde tvoří jemné rhizoidy; vzdušné mycelium pokrývá jeho povrch, z něhož vyrůstají kulovitá sporangia (po dozrání uvolňují konidie) (Zvára a kol., 1991).

Rod *Rhizopus* je v přírodě rovněž velmi rozšířený. Po morfologické stránce se liší od mukorů tím, že tvoří ještě delší vlákna (více než 1cm dlouhá) a že dlouhé sporangiofory vyrůstají po 2 až 3 ze šlahounovitých hyf nebo-li stolonů v místech kde vznikají kořínkovité hnědavé útvary zvané rhizoidy. (Šilhánková, 2002)

2.2.3.2. Třída *Ascomycetes* – houby vřeckovýtrusé

Tvoří velmi početnou skupinu původců chorob. Stélka má podobu mycelia a v mnohých případech i hustě spletených útvarů pseudoparenchymatického typu. Hyfy jsou přehrádkami rozděleny v jednojaderné, dvoujaderné někdy i vícejaderné buňky. Stěny zpravidla obsahují chitin. Společným znakem je vytváření specializovaných sporangií – vřecek (askus) (Zvára a kol., 1991). Zralé vřecko je jedinou diploidní buňkou v procesu vývoje vřeckovýtrusých hub (Váňa, 1998). Vřecka těchto hub se tvoří v plodnicích, základními typy plodnic jsou kleistothecium, perithecium a apothecium. Teleomorfní (pohlavní) stádia nejsou častá. Především u parazitických druhů převažuje anamorfa - nepohlavní stádium (Kazda a kol., 2003).

2.2.3.3. Pomocná třída *Deuteromycotina (Fungi imperfecti)*

Tato skupina zahrnuje nepohlavní stádia většinou vřeckatých, v menší míře i stopkovýtrusých hub. Původní označení *Fungi imperfecti* mělo vyjadřovat, že to jsou houby s nedokonalým vývojovým cyklem. Mnohé jsou však jen nedokonale známé, protože u nich dosud nebylo pohlavní stádium, popř. plodničky zjištěny (Fassatiová, 1979).

Fungi imperfecti přičleňuje Zvára a kol. (1991) k houbám vřeckatým (*Ascomycetes*), jejichž souvislost s životními cykly mnohých askomycetů byla prokázána. Pouze u menší části byla rozpoznána souvislost s vývojovými stádii některých basidiomycetů.

Jejich další členění není založeno na genetické příbuznosti zástupců, nýbrž na jejich morfologické podobnosti, dále na způsobu tvorby konidií a konidioforů, jejich tvaru, barvě apod. (Šilhánková, 2002).

U některých rozsáhlých rodů plísní (např. *Penicillium* nebo *Aspergillus*) jsou známy jak druhy tvořící askospory, tak i druhy, které mají pouze vegetativní rozmnožování. U některých rodů však byly druhy tvořící askospory přeřazeny do nového rodu (Šilhánková, 2002). Rodu *Fusarium* odpovídá několik askomycetních rodů např. též *Gibberella* (*G. saubinetii* je anamorfa *F. graminearum*), nebo rod *Monographella* (*M. nivalis*; anamorfa *F. nivale*, způsobující plíseň sněžnou) (Zvára a kol., 1991).

Někteří mykologové obdobně označují askomycetní druhy rodu *Aspergillus* jako příslušníky samostatného rodu *Euopium* (Šilhánková, 2002).

Rody, u nichž nebyla zjištěna tvorba vegetativních ani pohlavních spor, jsou zařazovány do umělé skupiny *Mycelia sterilia*. Obvykle jde o plísně, které parazitují na rostlinách a většinou tvoří tmavá sklerocia (Šilhánková, 2002).

2.3. Diagnostikování patogenů

2.3.1. Rod *Fusarium*

2.3.1.1. Výskyt a význam

Je velmi rozsáhlý a v přírodě velmi rozšířený. Druhy tohoto rodu žijí saprofytický v půdě, na rostlinných částech, ale jsou i parazitické na vyšších rostlinách. Způsobují hniloby některých plodin (např. jablek, rajčat, kukuřice), dále onemocnění celková, která se šíří cévními svazky (tracheomykózy) (Fassatiová, 1979). Houby rodu *Fusarium* jsou významnými podmíněně patogenními houbami, které jsou přenášeny půdou a větrem a za vhodných podmínek působí choroby obilnin (Hýsek, Vach, 2006). Napadení obilí některými fuzárii během vlhkého léta vede k velkým národohospodářským ztrátám, neboť pro přítomnost mykotoxinů nemůže být toto obilí použito ani pro krmné účely (Šilhánková, 2002). Infekce vyvolané *Fusarium* spp. se komplexně nazývají fuzariózy. Podle míry patogenity lze seřadit zástupce rodu *Fusarium* od nejvíce patogenních druhů k nejméně patogenním následovně: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. crookwelense* a *F. avenaceum* (Marasas et al., 1984; cit. Drastichová, 2005)

Fuzária žijí v půdě v rhizosféře. Pokud nedochází k parazitické činnosti, vytváří se určitá volnější symbióza mezi nimi a kořenovými buňkami (Fassatiová, 1979).

Rod *Fusarium* má více než 20 druhů. Nejběžněji se vyskytující *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. graminearum* a *F. avenaceum* (Currie, 1995). V ČR se podle Bezdíčkové (2006) nejčastěji vyskytuje *F. graminearum* (v teplejších oblastech), *F. culmorum* (v chladnějších oblastech), *F. avenaceum* a *F. poae*.

2.3.1.2. Bionomie

Druhy rodu *Fusarium* přežívají v půdě zvláště na rostlinných zbytcích a to jednak na zbytcích různých plevelů, ale i na zbytcích obilnin (Hýsek, Vach, 2006). Zdrojem infekce je také napadené osivo. Výskyt v osivu je závažnější, protože tyto houby produkují látky, které mohou výrazně snížit vzcházivost. Mimoto jsou častou příčinou odumírání odnoží, hnilob pat stébel. Minimálně u jednoho druhu – *Fusarium graminearum* - bylo prokázáno, že houba je schopna prorůst z napadené mateřské rostliny až do klasu (Prokinová, 2007). Epidemický výskyt choroby podporuje vysoké zastoupení obilovin v osevním postupu, vysoký výsevek, přehnojení dusíkem, husté porosty a nedokonale zapravené rostlinné zbytky. Napadení podporuje vysoká relativní vlhkost vzduchu a vyšší teploty v období tvorby klasů, kvetení, ale i v období tvorby a dozrávání zrna (Širučková, Kroutil,

2007). Pokud je v době květu vlhko a teploty nad 20°C, nastává období velmi vhodné pro rychlé šíření fuzárií (Ort, 2007).

K infekci v klase dochází nejčastěji přímým vstupem spory fuzária do otevřeného kvítku. Přitom obilniny obecně otevírají kvítek na 15 až 20 minut. Zdálo by se, že infekce bude limitovaná. Ale právě nedodržování agrohygienických podmínek zaručují nyní dostatečný zdroj inokula tohoto patogena (Říha, Kraus, 2006).

Fusarium se rozmnožuje pomocí konidií. Jsou známy dva druhy, makrokonidie a mikrokonidie. Mikrokonidie se tvoří výhradně ve vzdušném myceliu a jsou známy pouze u některých druhů (Širučková, Kroutil, 2007).

Některé druhy tvoří navíc chlamydospory, (tj. zduřelé buňky se silnou stěnou) uprostřed nebo na konci hyf, případně i v makrokonidiích. Některé produkují výrazné barvivo (červené, tmavě modré, zelené až černé), jež je uvolňováno do prostředí a zbarvuje starší mycelium. Mohou produkovat i toxická antibiotika (Šilhánková, 2002).

2.3.1.3. Morfologie a identifikace

Systematika v rámci rodu *Fusarium* je založena na morfologii makrokonidií, mikrokonidií a chlamydospor, konidioforů, rychlosti růstu kolonií houby, pigmentace vzdušného mycelia a substrátu při kultivaci in vitro (Širučková, Kroutil, 2007).

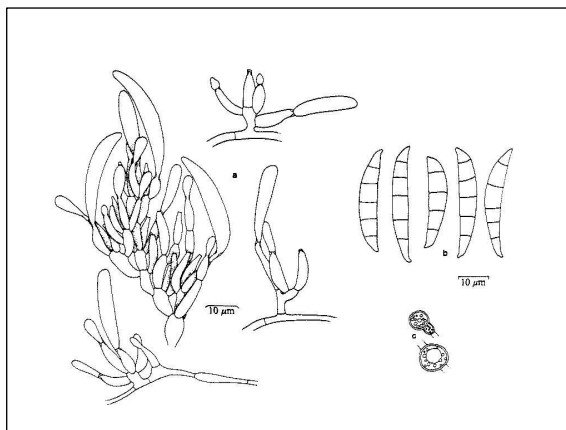
Pro určení druhu jsou nejtypičtější makrokonidie. Sledujeme u nich počet buněk, velikost (počet buněk a velikost i u jednoho druhu značně kolísá), tvar zahnutí, dále tvar a zahnutí vrchní buňky a zahnutí dolní buňky (bývá vyvinuta tzv. nožka). Všimáme si i tloušťky buněčné stěny a zřetelnosti přepážek (Fassatiová, 1979).

Mikroskopicky lze pozorovat hyalinní hyfy s přepážkami, konidiofory, fialidy, makrokonidie a mikrokonidie. Fialidy jsou cylindrické, vyskytují se jednotlivě nebo jako součást rozvětveného systému (monofialidy nebo polyfialidy) Makrokonidie jsou dvoubuněčné až vícebuněčné, tlustostěnné, hladké, cylindrické nebo srpovité. Mikrokonidie jsou jednobuněčné (někdy dvou nebo třibuněčné), hladké, hyalinní, ovoidní až cylindrické a tvoří klubíčka (někdy se vyskytují i v řetězcích) (G.S. de Hoog, 2000). Obojí typy konidií mohou tvořit na konci konidionosné buňky, řetězce nebo shluky (Fassatiová, 1979).

Kromě těchto základních částí produkují *F. chlamydosporum*, *F. napiforme*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani* a *F. sporotrichioides* také chlamydospory (G.S. de Hoog, 2000).

Fuzária vytvářejí bohaté myceliální porosty světlých barev, plstnaté nebo vatovité, s provazcovitými myceliálními svazky (Fassatiová, 1979) Barva kolonií může být bílá, okrová, lososová, skořicová, žlutá, červená, fialová, růžová nebo nachová (G.S. de Hoog,

2000). Spodní strana kultury bývá pestře zbarvena (Fassatiová, 1979). V nepříznivých podmínkách vytváří dormantní stádia – sklerócia. Tyto útvary lze makroskopicky sledovat a jsou obvykle tmavě modré (G.S. de Hoog, 2000).



Obr. 1 Makrokonidie a konidiogeneze u rodu *Fusarium*, podle R. A. Samson *et al.* (1996)

Fusarium poae

Rozšířený hlavně v mírném pásu, a to v půdě a v rostlinných pletivech. Často izolovaný z obilovin a dalších plodin. Patří mezi významné kontaminanty potravin.

Kolonie jsou rychle rostoucí, s flokozním myceliem, narůžovělé až béžové. Spodní strana je červená až vínová. Mycelium voní po ovoci (broskvích). Konidiofory jsou více či méně větvené, s poměrně krátkými a širokými monofialidami. Mikrokonidie převažují, většinou jednobuněčné, široce kapkovité až hruškovité. Makrokonidie se tvoří zřídka. Chlamydospory se netvoří (Nirenberg *et al.*, 1982).

Morfologicky podobný druh je *F. tricinctum*, který tvoří citronkovité mikrokonidie a *F. sporotrichioides*, tvořící polyfialidy.

Fusarium tricinctum

Celosvětově rozšířený v půdě, na obilovinách i dalších substrátech. Kolonie velmi rychle rostoucí, mycelium flokozní, bělavé až vínové. Spodní strana červená až vínová. Mikrokonidie se hojně tvoří na krátkých monofialidách, jsou 1-buněčné, často citronkovité, někdy hruškovité, některé též fusiformní, protáhlé, se zaoblenými konci. Makrokonidie se tvoří většinou ve sporodochiích, vřetenovité, mírně zakřivené, se 3-5 septy. Chlamydospory se tvoří zřídka (Nirenberg *et al.*, 1982).

Fusarium culmorum

Mycelium na začátku bílé, později červenožluté. Spodní strana vínová nebo hnědá. Makrokonidie silné, vyrůstají na bohatě větvených konidioforech s krátkými fialidami. Mají zřetelně vytvořeno 3-5 přehrádek. Mikrokonidie se netvoří, chlamydospory ano (Nirenberg *et al.*, 1982).

Fusarium solani

Mycelium krémově bílé. Makrokonidie se vytváří na bohatě větvených konidioforech, jsou válcovité až srpovité, někdy širší u báze se zřetelně vyvinutou nožkou. Vytváří se na dlouhých konidiogenních buňkách. Ve starších kulturách se tvoří chlamydospory (Nirenberg *et al.*, 1982).

Fusarium oxysporum

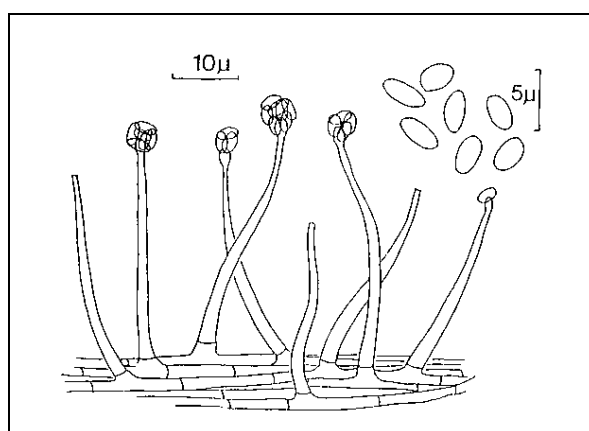
Mycelium bílé až fialovorůžové nebo fialové. Pigment v agaru často fialový. Tvorba makro- i mikrokonidií (1-buněčné, protáhle elipsoidní). Mikrokonidie vznikají na krátkých monofialidách. Na sorbitolovém agaru se vínový pigment vytváří na spodní straně kolonií. Hojně přítomny chlamydospory (Nirenberg *et al.*, 1982).

2.3.2. Rod *Acremonium*

Je saprofytická houba, vyskytující se převážně v půdě a na zbytcích rostlin. Je i parazitem na hmyzu a bazidiomycetech (www5).

Struktura kolonií je plochá nebo zvrásněná s vyvýšeným středem. Zpočátku mají hladký, sametový povrch, měnící se vlivem přerůstání hyf ve vlnovitý. Barva kolonií je bílá, šedá nebo světle růžová. Na spodní straně bezbarvá nebo růžová až červená (G.S. de Hoog, 2000).

Mycelium často se svazky vláken (synnematy) projevující se jako tzv. provazcovité mycelium. Fialidy vyrůstají jednotlivě nebo jen na jednoduše větvených konidioforech. Konidie jsou jednobuněčné (www5).



Obr. 2 Morfologie rodu *Acremonium*, podle A. Kubátová (2001)

2.3.3. Rod *Aspergillus*

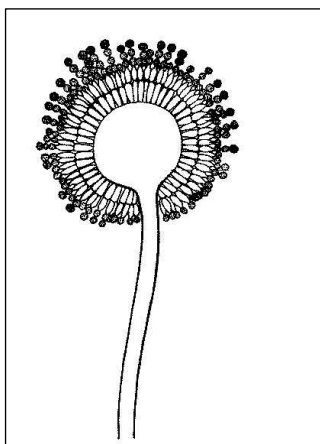
Rozšíření druhů *Aspergillus* je celosvětové, jsou však mnohem hojněji zastoupeny v teplejších krajinách. Najdeme je v půdě, na rostlinných i živočišných zbytcích; mnohé z nich jsou patogenní pro živočichy i člověka. Druhům, které produkují do substrátu rostlinného původu velmi silné toxiny (např. *Aspergillus flavus*) se věnuje zvláštní pozornost (Fassatiová, 1979).

Je to rod, rozmnožující se vegetativně konidiemi, které vznikají v řetězcích z fialid na rozšířeném konci konidioforu. U některých druhů je též známá tvorba neuspořádaných asků obsahujících 8 askospor. Asky jsou umístěny v kulovitě kleisthoteciu (nesprávně nazývaném perithecium), které má sírově žlutou barvu a je zřetelné pouhým okem jako drobné kuličky o průměru menším než 1mm. Jde o rod vyskytující se na nejrůznějším materiálu, neboť je velmi bohatě vybaven enzymy (amylolytickými, pektolytickými a proteolytickými) (Šilhánková, 2002).

Nejrozšířenější jsou druhy ze skupiny *Aspergillus niger*, které jsou bohatě vybaveny enzymy a jejichž konidie jsou svým černým barvivem chráněny proti nepříznivým účinkům

slunečního světla (Šilhánková, 2002). Houba *Aspergillus flavus* produkuje mykotoxin (aflatoxin), který negativně ovlivňuje růst a zdravotní stav krmených zvířat, popřípadě i člověka (Čača a kol., 1981).

Diagnosticky je důležitá barva a vzhled kolonie, které jsou podmíněny zvláště barvou a tvarem konidiálních hlavic. Vzhled kolonie bývá sametový, zrnitý, vlnatý nebo vločkovitý. Někdy se tvoří konidiální hlavice v koncentrických kruzích. Charakteristické pro rod *Aspergillus* je hlavicovité zakončení konidioforu. Konidiofor se na vrcholu pozvolna nebo náhle rozšiřuje v měchýřek. Po celém obvodu nebo části měchýřku vyrůstají fialidy, a to buď v jedné řadě, nebo ve dvou řadách nad sebou (Fassatiová, 1979).



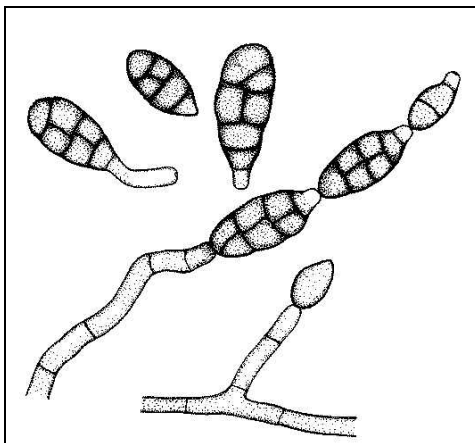
Obr. 3 Konidiofor *Aspergillus niger*, podle A. Kubátová (2000)

2.3.4. Rod *Alternaria*

Rod *Alternaria* je saprofytní houba a způsobuje na obilovinách tzv. černě. Je možno je najít velmi často na oslabeném nebo odumřelém pletivu, ať už odumření bylo způsobeno jakýmkoliv vlivem. Výskyt je vázán na vlhké počasí. Z hlediska výnosu nemají černě význam, ale kupky konidioforů nebo jiné struktury je možno zaměnit za rozmnožovací orgány parazitních hub. Obecně při hodnocení zdravotního stavu osiva bývá tato skupina hub nacházena a někdy ztěžuje určení parazitických hub (Häni *et al.*, 1993). Napadení klasů černěmi může být příčinou barevných změn zrn, popř. může mít podíl na zhoršeném zdravotním stavu klíčících a vzcházejících rostlin. Např. u *Alternaria alternata* byla popsána produkce fytotoxických látek (Kazda a kol., 2003).

Zástupci rodu *Alternaria* rostou za příznivých podmínek poměrně rychle a tvoří velké kolonie o průměru 30-90 mm. Kolonie jsou ploché, ochmýřené až vlnovité. Po čase jsou pokryty našedlými, krátkými vzdušnými hyfami. Povrch kolonií je na začátku růstu šedobílý, později tmavne. Spodní strana kolonií je typicky hnědá až černá, což způsobuje produkce pigmentu melaninu (G.S. de Hoog, 2000).

Je to rod, tvořící vícebuněčné konidie. Spory mají příčné i podélné přepážky a tvoří se v řetízcích. Tmavá barva spor (zelenočerná až hnědočerná) i tmavé zbarvení mycelia chrání tuto plíseň před nepříznivými účinky slunečního světla, a proto se vyskytuje často ve vzduchu, v přírodě i v různých potravinářských provozovnách. Opět mohou produkovat mykotoxiny (Šilhánková, 2002).

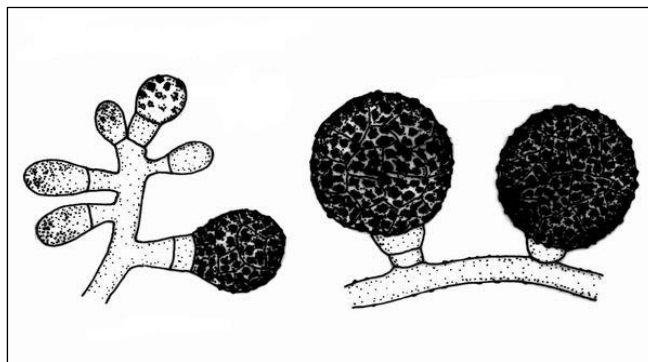


Obr. 4 Konidiofory a konidie *Alternaria alternata*, podle A. Kubátová (2000)

2.3.5. Rod *Epicoccum*

Kolonie jsou dosti rychle rostoucí, žlutooranžové až červenohnědé (na MEA), na PCA méně výrazně zbarvené. Občas se tvoří drobná, ale pouhým okem pozorovatelná černá sporodochia s konidii. Spodní strana je často intenzivně zbarvená oranžovohnědě.

Konidiofory jsou v hustých shlucích- sporodochiích. Jsou krátké, rozvětvené, končí kratičkou světle zbarvenou konidiogenní buňkou. Konidie jsou vícebuněčné, tmavé. Mají kulovitý tvar s uťatou bazí. Na povrchu jsou bradavčité. Na agarových půdách je kultura často sterilní, je nutné ozařování UV zářením (i několik dní). Vyskytuje se především na mrtvém rostlinném substrátu a v půdě (www5).

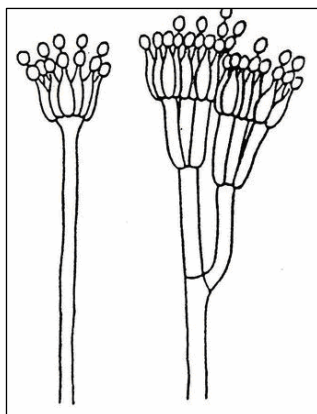


Obr. 5 Konidie *Epicoccum nigrum*, podle A. Kubátová (2000)

2.3.6. Rod *Penicillium*

Různé druhy rodu *Penicillium* jsou součástí bohaté mikroflóry, která se vyskytuje při skladování nevyzrálého a vlhkého obilí v nevhodných skladech. Penicilóza se projevuje zhnědnutím pletiv na nichž vyrůstají reprodukční orgány modrozelené barvy. Vstupní branou infekce jsou trhlinky, vzniklé při mlácení a manipulaci s obilím. Houba významně snižuje klíčivost obilí (Čača a kol., 1981).

Kolonie rychle rostou, jsou ploché, vláknité se sametovou, vlnovitou nebo bavlnovitou texturou. Na počátku jsou bílé. Postupem času přechází v modrozelenou, šedozelenou, olivově zelenou, žlutou nebo narůžovělou barvu. Misky s kulturou jsou ze spodní strany obvykle světle zbarveny (Sutton et al., 1998).



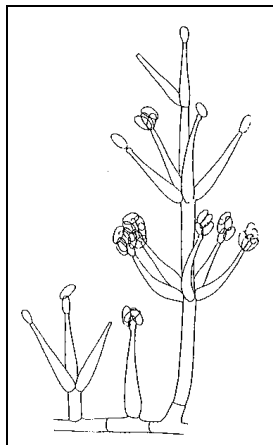
Obr. 6 Konidiofory rodu *Penicillium*, podle A. Kubátová (2001)

2.3.7. Rod *Verticillium*

Vyskytuje se kosmopolitně, zvláště na rostlinných zbytcích a jiných substrátech rostlinného původu. Může též způsobovat hniloby různých plodů (www5).

Kolonie rostou na PDA poměrně rychle. Na povrchu jsou sametové až vlnovité. Na začátku růstu je barva kultur bílá, později přechází ve žlutou, červenou, růžovohnědou nebo zelenou. Spodní strana kultury je bílá nebo hnědá (Sutton et al., 1998).

Konidiofory jsou vzpřímené, opakovaně přeslenitě větvené nebo víceméně poléhavé a nepravidelně větvené. Fialidy štíhlé, protáhlé, tvořící na konci ve slizovitých kapičkách konidie. Konidie jsou jednobuněčné, oválné a hladké (www5).



Obr. 7 Konidiofory rodu *Verticillium*, podle A. Kubátová (2001)

2.4. Klasové fuzariózy

2.4.1. Výskyt a význam

Houby rodu *Fusarium* na obilovinách mohou způsobovat odumírání vyklíčených rostlin, hniloby kořenů, stébel a listů i hniloby klasů a osiva. Uvedené projevy se většinou prolínají a jsou výsledkem působení ne jednoho, ale více druhů fuzárií. Nejzřetelnější škody způsobují fuzária na klasech (Hájková, 1996).

Fuzariózy jsou skupinou chorob obilnin vyvolávaných houbami rodu *Fusarium*. Jako příčinu onemocnění můžeme najít asi 15 druhů tohoto rodu ve všech fázích vývoje rostlin (Sychrová a kol., 2006).

Zatímco u pšenice a ječmene jsou klasová fuzária a s nimi související problém výskytu mykotoxinů diskutovány v odborné praxi již dlouhou dobu, informace o tom, že tento problém je vysoce aktuální i u tak tradičně „zdravé plodiny“, jakou je oves, je poměrně nová (Polišenská a kol., 2007).

Problematika fuzárií je nepochybně aktuálním trendem, kterému se věnuje pozornost na většině odborných seminářů zaměřených na fungicidní ochranu rostlin. Často vzniká dojem, že jejich výskyt v posledním období narůstá. Není to ale pravda, protože narůstá více pozornost věnovaná mykotoxinům fuzárií. Fuzária, fuzariozy a jejich mykotoxiny tady totiž byli, jsou a budou, přičemž o jejich škodlivosti rozhoduje řada faktorů (Hudec, 2007a)

Fuzariózy klasů byly donedávna považovány za problém pouze pšenice a ječmene. Problém spočívá v tom, že na rozdíl od těchto plodin, kde jsou příznaky napadení zřejmé již za vegetace, u ovsa nemusí být napadení fuzárií v polních podmínkách vůbec viditelné. Patogeni *Fusarium* spp. však oves v příznivých klimatických podmínkách zcela běžně napadají a také jej kontaminují svými toxickými produkty. V Kanadě jsou fuzariózy ovsa považovány nyní za významnou chorobu ovsa, přičemž jako původci zde byli nejčastěji zjištěny druhy *F. graminearum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides* a *F. avenaceum* (Polišenská a kol., 2007).

Fuzariózy patří mezi nejvýznamnější a nejnebezpečnější choroby obilnin. Při silném napadení mohou způsobit až 50% výnosových ztrát. Houby z rodu *Fusarium* jsou běžnou součástí mikroflóry všech polí a napadají podzemní i nadzemní části rostlin. Vedle přímých škod na výnosech hraje stále významnější roli i poškození zrna zvýšeným obsahem mykotoxinů (Ort, 2007). Výskyt fuzarióz v porostech obilnin je silně ovlivněn předplodinou, nejsilnější napadení bývá po kukuřici na zrna, vyšší výskyt je i po jetelovinách a jetelotravních směskách. Rozhodujícím faktorem pro napadení klasů jsou

povětrnostní podmínky v době květu obilnin, také vhodná teplota a dostatečná vlhkost vzduchu (Sychrová a kol., 2006).

Škodlivost fuzárií v klasech spočívá nejen ve snížení výnosu, ale zejména v horší kvalitě produkce – nižší HTS a horší pekařské (a u ječmene sladovnické) jakosti. V semenářství se projeví snížením klíčivosti a energie klíčení (Bezdíčková, 2006). Dále podmiňují kořenové hniloby, hniloby báze stébel a stonků, částečnou nebo úplnou běloklasost (Čača a kol., 1990).

2.4.2. Příznaky napadení

U ovsa, oproti pšenici a ječmenu, nemusí být napadení fuzárií v polních podmínkách vůbec viditelné (Polišenská a kol., 2007).

Příznaky primárního napadení klasu pšenice se zpočátku jeví jako hnědé vodnaté skvrny na pluchách. Prorůstáním houby osou klásku dochází k přerušení cévních svazků a následnému zbělení jednotlivých klásků a v případě napadení klasového větene nakonec celé části klasu nad místem infekce. Infekce klasu se zpravidla jeví jako světlé skvrny lemované prstencem hnědé barvy. Za optimálního průběhu počasí pro rozvoj infekce se na povrchu napadených orgánů vytváří bílý nebo růžový povlak mycelia a fruktifikačních orgánů patogena. Napadená zrna jsou drobná, sraštělá a při silné infekci porostlá myceliem houby. Při napadení klasu ječmene jsou příznaky poněkud odlišné. Zpravidla zde nedochází k napadení vodivých pletiv a následnému typickému zbělení klasu, ale zůstávají napadena pouze jednotlivá zrna. Onemocnění se pak projevuje pouze hnědými skvrnami na obilkách a onemocnění se tak stává málo zřetelným. Napadení zrna ječmene je také velmi obtížně identifikovatelné, protože plucha přirostlá k obilce zakrývá příznaky napadení, které jsou například u pšenice velmi zřetelné (Širučková, Kroutil, 2007).

Napadené obilky mají klíčky často deformované a zkroucené a většinou zahynou ještě před vzejitím (Sychrová a kol., 2006).

2.4.3. Ochrana

Ochrana klasů je realizovatelná pouze v období kvetení. Jak bylo už u fuzárií konstatováno, je pro výšku účinnosti zásahu optimální fází první třetina kvetení, ale doba kvetení je velmi krátká a tak většinou nelze čekat „na zázrak“ počasí. Nejpodstatnějším zásahem je ale agrohigiena pozemků – tedy nakládání s posklizňovými zbytky tak, aby nedocházelo ke zvyšování infekčního tlaku (Říha, Kraus, 2006).

Bezdíčková (2006) upozorňuje na to, že účinnost fungicidů proti klasovým fuzáriím

je všeobecně nižší než účinnosti fungicidů dosahované proti listovým chorobám. Dále dodává, že zásadním momentem pro úspěšnost ošetření je kromě volby fungicidů jeho správné načasování – ošetření by mělo být provedeno do 48 hod. po „infekčním dešti“, což se dá někdy obtížně stanovit. Podle Hájkové (1996) je aplikace fungicidů proti klasové hnilobě v době vegetace většinou málo účinná a ekonomicky neefektivní. Moření osiva může částečně snížit napadení klíčnicích rostlin, avšak většinou nemá větší vliv na snížení napadení klasů (Hájková, 1996). Pozdní ošetření klasů po odkvětu není možné, je nutné dodržet ochranou lhůtu pro použitý fungicid před sklizní porostu (většinou je to 35-42dny). Navíc při velmi pomalém dozrávání porostů a zároveň vhodných podmínek pro šíření patogena může dojít k výskytu fuzariózních klasů i v porostech ošetřených včas a vhodným fungicidem (Sychrová a kol., 2006).

Přestože jsou k dispozici stále nové preparáty, problémů se zdravotním stavem rostlin neubývá, spíše naopak. Používáním chemických přípravků došlo k vyselektování rezistentních druhů a kmenů patogenních hub a byly vyhubeny nepatogenní a užitečné typy (Dušková, 1996).

V neposlední řadě je chemická ochrana spojena se vznikem rezistentních kmenů houby a s rezidui. Fuzariózy obilovin jsou příkladem onemocnění, kdy je nutno hledat jiné způsoby ochrany než chemické (Hájková, 1996). Z dlouhodobého hlediska tedy nejsou biopreparáty bez šance (Dušková, 1996).

Nejperspektivnějším a nejprostudovanějším antagonistou a zároveň hyperparazitem fuzárií je houba *Trichoderma harzianum*, na bázi které už bylo vyvinuto několik biopreparátů používaných proti spektru fytopatogenních hub, tedy i fuzárií. Z hlediska fuzariozy klasů je však jejich použití omezené a málo účinné, využívají se spíše jako biomořidla nebo biostimulátory resp. "ozdravovače" půdy a půdních substrátů.

Nejnovější mezi perspektivními směry výzkumu biologické ochrany patří izolace a objevení mykovirusu, který negativně působí na životní funkce fuzárií a způsobuje jejich hypovirulenci (Hudec, 2007c).

Např. Chu *et al.* (2002) izolovali z populace *Fusarium graminearum* na kukuřici dsRNA virus, který způsoboval na myceliu *Fusarium graminearum* morfologické změny, redukci růstu mycelia, zvýšenou pigmentaci, redukovanou virulenci a sníženou produkci trichothecenů.

Specifickou formou biologické ochrany je použití fuzárií proti fuzáriím. Dawson *et al.* (2004) studoval využití specifických netoxigenních a nízkopatogenních kmenů *Fusarium equiseti*, aplikovaných do klasu před inokulací patogeními fuzáriemi. Aplikace dokázala snížit škodlivost choroby a obsah DON-u v zrnech na takové úrovni, jako použití standardního fungicidu tebuconazole.

I přes intenzivní výzkum není k dispozici preparát anebo účinná biologická ochrana

ani proti fuzárióze klasu anebo zrn, ani proti tvorbě mykotoxinů v zrnech. Použití biopreparátů proti jiným formám infekce (např. biomořidla), možno z tohoto pohledu zařadit spíše k preventivním opatřením, které chrání klasy a zrna jen nepřímo, jako součást komplexu preventivních opatření (Hudec, 2007c).

2.5. *Trichoderma harzianum*

2.5.1. Výskyt a význam

Houby rodu *Trichoderma* jsou běžnou součástí půdní mikrobioty. Nejčastěji se s nimi setkáváme v lesních půdách, kompostech, ve skleníkových substrátech, v půdách s dostatečnou zásobou humusu apod. Podílejí se na tvorbě tzv. supresivních půd (tj. půd, ve kterých patogen nemá takové podmínky, aby došlo k přemnožení jeho populace a tím ke vzniku onemocnění a pokud se usídí, choroba se nevyskytne nebo je intenzita napadení rostlin slabá) (Ondřej, 1985, cit. Nesrsta, 1991).

Okrouhlá (1993) dodává, že je třeba si uvědomit, že různé kmeny *T. harzianum* mohou mít odlišnou antagonistickou účinnost a zároveň do určité míry poněkud odlišné nároky na optimální abiotické faktory pro růst a vývoj.

Současné objevy ukazují, že *Trichoderma* je oportunní, avirulentní symbiont rostlin a stejně tak může být i parazitem jiných hub. Rod *Trichoderma* produkuje nebo uvolňuje řadu látek, které indukují lokalizované nebo systemické rezistentní reakce, a to vysvětluje jejich malou patogenitu vůči rostlinám. Kolonizace kořenů druhů rodu *Trichoderma* rovněž často zvyšuje růst a rozvoj kořenové soustavy, produkci rostliny, rezistenci vůči abiotickým stresům a příjem a využití živin (Harman a kol., 2004).

T. harzianum se osvědčila jako účinné bioagens v ochraně rostlin proti řadě ekonomicky důležitých půdou i vzduchem přenosných patogenů. Vyznačuje se vysokou rychlostí růstu a tím i rychlejší kolonizací rhizosféry v porovnání s ostatní mikrobiotou (i antagonistickou) (Okrouhlá, 1993).

Houba *T. harzianum* je příkladem „příležitostného dekompozitora“. Přežívá částečně díky schopnosti produkovat velká množství propagulí, které dlouho zůstávají v klidu a začínají růst po dodání vhodného energetického zdroje (Klein, Eveleigh, 1998).

Kubicek a Harman (1998) dodávají, že za posledních 20 let výzkumu hub, je rod *Trichoderma* pravděpodobně jedním z nejúspěšnějších objevů a v oblasti produkce enzymů je tato houba druhá po rodu *Aspergillus*.

2.5.2. Taxonomie

Rod *Trichoderma* byl do mykologické literatury uveden Personelem v roce 1794 druhem *T. viride* Pers. ex S.F. Gray. Přesné vymezení hranic rodu pochází od Harze (1871), který si již všímá mikroskopických znaků – tvarů fialid a fialospor (Nesrsta, 1991).

Trichoderma harzianum nebyla dlouho jasně spojena s jejím pohlavním stádiem, ani její fylogenie nebyla detailněji prostudována. Předpokládalo se, že *T. harzianum* je

komplexem druhů založeným na jejich fenotypové a genotypové variabilitě. Na základě morfologických charakteristik, charakteristik jednotlivých kultur houby a analýze DNA bylo zjištěno, že pohlavním stádiem *T. harzianum* je *Hypocrea lixii* (Chaverri *et al.*, 2003). Perfektní stádium patří tedy do rodu *Hypocrea* (*Ascomycota*, *Hypocreales*). Anamorfa do pomocného oddělení *Deuteromycota*, třídy *Hyphomycetes*, řádu *Moniliales*. Rod *Hypocrea*, masenka, vytváří dobře vyvinutá obvykle živě zbarvená stromata, v nichž jsou uložena perithecia. Většina zástupců jsou dřevní saprofyty. Dalším známým druhem je *H. rufa*, masenka ryšavá, tvořící stromata masově červené barvy (anamorfa je *Trichoderma viride*) (Váňa, 1998).

Anamorfa: *Trichoderma harzianum* Rifai, Mycol. Pap. 116: 38 (1969).

= *Trichoderma inhamatum* Veerkamp & W. Gams, Caldasia 13: 710 (1983).

Teleomorfa: *Hypocrea lixii* Pat., Rev. Mycol. Toulouse 13: 138 (1891).

= *Hypocrea lentiformis* Rehm, Hedwigia 37: 193 (1898).

= *Chromocrea nigricans* Imai, Trans. Sapporo Nat. Hist. Soc. 14: 102 (1935).

= *Hypocrea nigricans* (Imai) Yoshim. Doi, Bull. Natl. Sci. Mus. Tokyo 15: 732 (1972).

= *Hypocrea nigricans* f. *octospora* Yoshim. Doi, Bull. Natl. Sci. Mus. Tokyo 15: 734 (1972).
(Chaverri *et al.*, 2003)

2.5.3. Antagonistické vztahy mezi rodem hub *Trichoderma* a patogeny

Antagonismus je definován jako schopnost saprofytických mikroorganismů indukovat morfologické změny hyf a spor patogenů a redukovat klíčení konidií. Typické reakce zahrnují formování chlamydospor, obklopování hyf, plazmolýzu, vakuolizaci a granulizaci hyf a pod. (Hudec, 2007c).

Kúdela a kol. (1989) definuje antagonismus jako vzájemný vztah mezi různými organismy, při kterém jeden organismus částečně nebo úplně inhibuje růst druhého nebo jej usmrcuje. Antagonistický účinek vůči řadě fytopatogenů je znám již delší dobu. Antagonistické mikroorganismy působí na fytopatogenní mikroorganismy těmito mechanismy:

- Kompetice – kdy spolu jedinci jednoho nebo více druhů soutěží o životně důležité faktory.
- Antibióza – kdy dochází k inhibici růstu mikroorganismů působením toxických produktů výměny látkové, které produkuje jiný mikroorganismus.
- Parazitismus – tj. částečná nebo úplná závislost jednoho organismu (parazita) na jiném živém organismu (hostiteli).

Při vzájemné interakci mezi houbou *T. harzianum* a patogenem se uplatňuje především parazitizmus (Okrouhlá, 1993).

Antagonistické vztahy mezi houbami rodu *Trichoderma* a některými patogeny vyšších rostlin jsou studovány již řadu let. Postup podle kterého se vztah *Trichoderma* – hostitel vyvíjí lze schematicky rozdělit do tří kroků: indukce klíčení, poznání odpovídajícího hostitele, vlastní penetrace (Nesrsta, 1991).

Většina druhů rodu *Trichoderma* je fotosenzitivní, sporuluje v důsledku střídání světla a tmy, přičemž konidie vznikají v období světla. Klíčení konidií probíhá, je-li přítomen vnější zdroj živin (proprané konidie v destilované vodě neklíčí), přičemž v kyselém prostředí je klíčení hojnější (Papavizas, 1985).

Klíčení spor antagonisty je spouštěno vznikem gradientu metabolitů, vylučovaných do prostředí hostitelem (Okrouhlá, 1993). Poznání hostitele je u antagonisty signálem k zahájení oplétání hyf hostitele a k tvorbě postranních, krátkých ramen hyf s haustorií. Následující penetrace do nitra hostitele je podmíněna dostatečně intenzivní produkcí hydrolytických enzymů β -1, 3 – glukánázy a chitinázy, které se hlavní měrou podílejí na rozpouštění buněčné stěny hostitele (Elad *et al.*, 1983). Tyto enzymy jsou produkovány několika houbami a bakteriemi a hrají důležitou roli v biologické ochraně rostlin (Lewis, Papavizas, 1987). Harman uvádí, že působí navzájem synergisticky, a i s dalšími fungicidními enzymy a ostatními látkami. Geny kódující tyto enzymy by mohly být použity při vývinu transgenních rostlin odolných vůči chorobám (Harman, 2006).

Podle Veselé (1986) se parazitace může projevovat buď přímou penetrací hostitele nebo omotáváním kolem hostitelových hyf infekčním myceliem. Tato struktura obvykle roste a proniká částí hyf nebo celým myceliem hostitele. Omotávání hyf hostitele parazitujícími hyfami mykoparazita je také považováno za projev rezistence hostitele.

Houby rodu *Trichoderma* existují ve formě spor (v této formě přezimují) nebo mycelia. Patří mezi saprofyty (Nesrsta, 1991).

2.5.4. Využití v biologické ochraně

Biologické způsoby ošetření patří k rozvoji budoucnosti, neboť po jejich aplikaci nedochází k zatížení a v některých případech až k zamoření životního prostředí. Pokud se v době aplikace biopreparátů vyskytnou mikroorganismy ve zvýšeném množství v půdě, v krátkém čase pak snižují svůj počet a dostávají se do přirozené rovnováhy s dalšími mikroorganismy (Hýsek, Vach, 2007).

Houby používané jako prostředek biologické ochrany rostlin mají v porovnání s bakteriemi žijícími rovněž v půdě daleko větší schopnost růst a šířit se půdou a v rhizosféře, díky aktivitě hyf. Existuje celá řada druhů hub, které byly zkoumány jako

prostředek biologické ochrany rostlin, ale mezi nimi jednoznačně dominují houby rodu *Trichoderma* (Whipps, Lumsden, 2001).

Přednosti biologických způsobů ochrany proti škodlivým činitelům spočívají v tom, že mají většinou dlouhodobý regulační vliv na jejich populace, příznivě působí na stabilitu ekosystému, neovlivňují nepříznivě organismy v potravním řetězci a nemají zpravidla nepříznivé vedlejší vlivy na kvalitu produktů a zatížení životního prostředí cizorodými látkami. Slabou stránkou biologických způsobů ochrany je jejich velká závislost na různých činitelích, zejména na příznivých podmínkách vnějšího prostředí (Čača a kol., 1990).

Účinnost houby *T. harzianum* je dlouhodobá ve srovnání s chemickými fungicidy, které jsou účinné pouze do doby, než se jejich obsah postupným zavlažováním substrátů sníží natolik, že se stanou neúčinnými. Nevýhodou proti chemickým fungicidům je, že ji nelze použít do substrátů silně promořených patogeny z předchozích vegetačních sezón - populační hustota a aktivita patogenů je natolik vysoká, že *Trichoderma* aplikovaná do substrátu jako vzdušné, klidové spory nemůže v krátké době, i přes svou schopnost parazitace patogenů, tuto situaci zvrátit natolik, aby nedošlo k poškození pěstované kultury (www4).

Ochrana rostlin antagonistickou houbou *T. harzianum* může být zaměřena na ochranu proti patogenům napadajícím oblast kořenů a proti patogenům napadající oblast nadzemních částí. Bioagens obecně je nejúčinnější, je-li aplikováno přímo do míst, kde bude působit (Okrouhlá, 1993). Houby efektivně omezují rozvoj řady fytopatogenních hub, např. z rodu *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Pythium*, *Verticillium*, *Botrytis*, *Rhizoctonia* aj., takže snižují napadení mnoha pěstovaných rostlin. Praktické využití hub z rodu *Trichoderma* je ztížené značnou kmenovou variabilitou (Čača a kol., 1990).

Rozpracování problematiky antagonistického působení hub z rodu *Trichoderma* vůči celé řadě patogenů podnítilo v souladu s úspěchy využití antibiotik v humánní a veterinární medicíně zvýšený zájem o produkci antibiotik v půdě, o přípravu biopreparátů a jejich využití v rostlinolékařství. Z uvedených hub byla vyrobena antibiotika gliotoxin, viridin aj. (Čača a kol., 1990).

Využití izolátů antagonistické houby *T. harzianum* umožňuje ochranu zeleniny, skladované v chladu. Máčením kořenů mrkve po sklizni v suspenzi konidiospor *T. harzianum* byla redukována, při dlouhodobém skladování, skládková hniloba mrkve. Přidáním konidií *T. harzianum* do půdy infikované *Fusarium oxysporum* bylo významně omezeno klíčení spor obou patogenů. Po vysetí ošetřovaného osiva byla i rhizosféra rostlin kolonizována antagonistou a kořeny rostlin byly méně kolonizovány fuzárií (Sivan, Chet, 1989). Dickinson a kol. (1989) popisují antifugální metabolit *T. harzianum*, jehož účinek je významný proti *Rhizoctonia solani* a *Botrytis cinerea*.

Úspěšným pokusem bylo použití *T. harzianum* proti padání klíčnicích rostlin cibule, jež vyvolává houba *Rhizoctonia solani* proti bílé sklerociové hnilobě cibule, jejímž původcem je houba *Scleorotium cepivorum*. Mykoparazit napadal patogena *Rhizoctonia solani* přímým útokem, aniž by vyvíjel nějakou antibiotickou aktivitu. Preparát byl sestaven z pšeničných otrub a konidií mykoparazita. Otruby sloužily jako nosič účinného agens. Preparát byl aplikován v dávkách 40-100 g /m² a zajišťoval dlouhodobou ochranu (Veselý, 1991).

Ve vztahu k bezpečnosti práce s organismy rodu *Trichoderma* není známo, že by vedly k onemocnění u zdravých lidí, ačkoli existuje mnoho zpráv dokumentujících jejich patogenitu u lidí s oslabenou imunitou (Kuhls *et al.*, 1999).

Na bázi *T. harzianum* jsou v České republice na trhu registrovány 2 biopreparáty: Supresivit a Trichodex.

Trichodex je postřikový fungicidní biopreparát ve formě smáčitelného prášku určený k ochraně révy, rajčat a okurek proti plísni šedé (*Botryotinia fuckeliana*). Je to biologický fungicid působící proti patogenní houbě *Botryotinia fuckeliana*. Účinná podstata biopreparátu je založena na přirozeně vyskytujícím se kmenu T-39 druhu houby *Trichoderma harzianum*. Hlavním mechanismem účinku je redukce populace houby *Botryotinia fuckeliana*, na rostlinných částech soutěží o živiny a prostor na povrchu listu. Účinná látka je *Trichoderma harzianum* T-39, 20 % organické hmoty, tj. 1-5 x 10⁹ CFU/g suché hmoty v 1 kg přípravku (www 1).

Supresivit je biologický fungicidní přípravek ve formě dispergovatelného prášku, jehož aktivní složku tvoří vzdušné konidie (spory) houby *Trichoderma harzianum*. Je registrován pro lesní dřeviny, okrasné dřeviny, okrasné rostliny, zeleninu, kukuřici, obilniny a řepku olejku proti houbovým chorobám a padání rostlin (www 1). Účinnou látkou jsou vzdušné konidie kmene houby *Trichoderma harzianum* Rifai aggr. v inertním plnidle (titr minim. 1,4.10¹⁰.g⁻¹, klíčivost minim. 70%). Konidie antagonistické houby, rychle klíčí, vytváří mycelium jež osidluje prostor a zabraňuje tak v růstu patogenních hub (Hýsek, Vach, 2007).

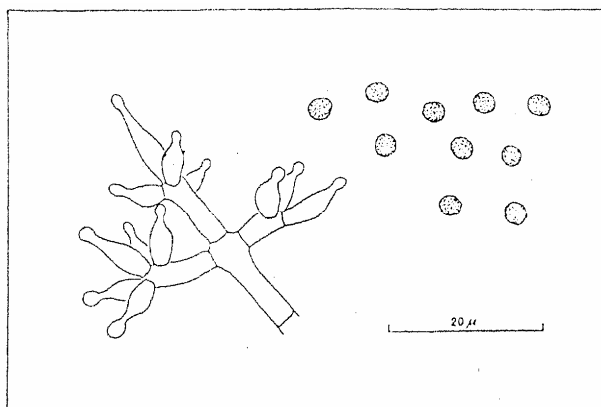
2.5.5. Morfologie a identifikace

Kolonie této houby jsou rychle rostoucí (většina kmenů 7-9cm). Tvorba konidií převážně rozprostřená, v podobě zrnků nebo prášková při jejich vyšší produkci; rychle se stává žlutozelenou až tmavě zelenou, nebo produkuje chomáčky nebo puchýřky lemované sterilním bílým myceliem. Rub je bezbarvý až nažloutlý, světležlutý nebo žlutohnědý. Zápach nezřetelný nebo jemně zemitý. Konidiofory neboť jsou ve skupině, mají sklon pravidelně se větvit a formovat v pyramidální, stromečkovité struktury. Fialidy

ampulovité nebo baňkovité, lahvicovitě, zpravidla 3-4 ve větvení, příležitostně párové, většinou 3,5-7,5 x 2,5-3,8 μ m, terminální fialidy až 10 μ m dlouhé. Konidie kulovité až obvejčité, většinou (2,5-)2,7-3,5 x 2,1-2,6(-3,0) μ m, sklovité až bledě zelené (Kubicek, Harman, 1998).

Nesrsta (1991) popisuje druh *Trichoderma harzianum* následovně: kolonie rostou rychle, z počátku jsou na povrchu hladké a téměř průsvitné nebo vodově bílé, později začínají být chomáčkovité nebo kompaktně vatovité v různých odstínech zelené, ve zralosti tmavě zelené. Konidiofory pravidelně větvené, stromečkovité. Fialidy lahvicovité, často ve skupinách až po pěti. Fialospory zelené, hladké obvejčité (viz. obr. č. 1).

Mycelium je složeno z hyalinních, hodně větvených, hladkostěnných hyf s přepážkami (Nesrsta, 1991). Obsahuje organické kyseliny, prvky, volné aminokyseliny, vitamíny řady B a jiné látky. Produkuje celulolytické a amylolytické enzymy (Papavizas, 1985).



Obr. 8 Fialidy a fialospory *Trichoderma harzianum*, podle M. Nesrsta 1991

2.6. Mykotoxiny

2.6.1. Obecná charakteristika

Mykotoxiny představují skupinu chemicky různorodých látek a produktů sekundárního metabolismu vláknitých hub, nejvíc produkovaných rodem *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* a *Claviceps*. Rod *Fusarium* patří k nejvýznamnějším rodům mikroskopických hub, které produkují nejdůležitější mykotoxiny (Hudec, 2007a).

Je možno je rozdělit podle celé řady kritérií. V poslední době se používá členění mykotoxinů podle jejich toxicity k cílovým orgánům. Dále je možno mykotoxiny členit i podle způsobu jejich biosyntézy, který velmi dobře postihuje vztah k jejich producentovi a respektuje i vztahy dané jejich chemickou strukturou (Ostrý, 1998).

Mykotoxiny se v zrnech obilovin mohou tvořit i ve skladech, obzvláště když je sklizená úroda vlhká a není rychle dosušená. V těchto podmínkách, ale nejsou fuzária jedinými producenty mykotoxinů, aktivují se i saprofytické druhy původně tvořící součást povrchové mikroflóry zrn (Hudec, 2007a). Kromě produkce jedovatých metabolitů je nebezpečná i pouhá přítomnost vláknitých hub na zrně. Na hostitelských plodinách i na skladovaných rostlinných zásobách způsobují škody na kvalitě a množství a nelze pominout ani to, že tvorbou spor mohou vyvolávat u citlivých jedinců alergie (Kalabus, 2007).

V zdrojích FAO se uvádí, že přibližně 25% potravinářských produktů ve světě je kontaminováno mykotoxiny. Spektrum a množství mykotoxinů produkovaných konkrétním kmenem závisí a je variabilní dle roku, hostitele, klimatických, skladovacích i jiných podmínek. Mnoho toxinů je stabilních po dobu normálního způsobu výroby a skladování potravin a jejich prekurzorů a mohou se tak dostat přímo do potravního řetězce (Hudec, 2007a).

Dnes je známo kolem 400 druhů mykotoxinů, produkovaných různými druhy hub. Obsahu mykotoxinů je v posledních letech věnována zvýšená pozornost. V roce 2005 vyšlo nařízení Evropské komise č. 1068, která stanovuje velmi přísné limity obsahu některých mykotoxinů v obilninách a kukuřici (Ort, 2007).

V zrně obilovin jsou sledovány výskyty především deoxynivalenolu (DON), nivalenolu (NIV) a zearalenonu (ZEA). Obsah mykotoxinů je i nově sledovaným parametrem pro nákup produkce obilovin. Limity maximálního obsahu fuzáriových toxinů v obilovinách podle nařízení komise (ES) č. 466/2001 (včetně novely nařízení č. 856/2005) jsou následující: DON – 1,25 mg/kg; ZEA – 0,1 mg/kg pro nezpracované obilniny kromě pšenice tvrdé, ovsa a kukuřice s účinností od 1.7. 2006 (Sychrová a kol., 2006).

V blízké době mají být v EU v obilovinách limitovány HT-2 a T-2 toxiny. Zatím však, vzhledem k nedostatku údajů o jejich výskytu, nejsou odborníci ohledně limitních hodnot jednotní. Problémem je také dostupnost vhodných metod pro jejich stanovení. Toxicita těchto látek je však v porovnání s toxicitou např. nyní limitovaného DON mnohem vyšší. (Polišenská a kol., 2007)

2.6.2. Úloha mykotoxinů

Z chemického pohledu jsou mykotoxiny přírodní látky nebilkovinné povahy s nízkou molekulární hmotností. Příčina biosyntézy těchto metabolitů není dosud dostatečně vysvětlena. Jsou publikovány případy, kdy je přítomnost producenta mykotoxinů na hostiteli zaznamenána a má za následek bouřlivou produkci mykotoxinu, na druhé straně i přes přítomnosti houby je produkce mykotoxinu nízká či vůbec žádná (Kalabus, 2007). Tento nesoulad je vysvětlován různě – např. délkou působení fuzárií, jejich zvýšenou tvorbou pro potlačení konkurence dalších druhů hub, nebo zvýšením produkce v podmínkách stresu. Většinou dochází k přímé závislosti mezi napadením klasu fuzárií a obsahem mykotoxinů. Toto pravidlo však neplatí ve všech případech. (Ort, 2007).

Úloha mykotoxinů v patogenezi fuzárioz není doposud dostatečně vysvětlená, i když jejich toxické působení v pletivech rostlin je známé podrobně. Obdobně není známá ani korelace mezi patogenitou a toxicitou kmenů fuzárií. Též není dostatečně objasněná produkce mykotoxinů v závislosti na genomu hostitele (Hudec, 2007a). Fuzariotoxiny se nevyskytují jen v zrnech, ale i v jiných částech obilnin.

Nejrozšířenějšími mykotoxiny jsou trichotheceny, které jsou skupinou sesquiterpenů. Někteří fuzária neprodukují trichotheceny, ale mykotoxiny z jiných chemických skupin. Např. zearalenon je estrogenový analog, moniliformin je unikátní svou uhlíkatou strukturou a kyselina fuzáriová je fyto toxin. Mezi nejvýznamnější mykotoxiny kromě trichothecenů patří fumosiny, ovlivňující funkci biomembrán buněk teplokrevných živočichů i člověka (Hudec, 2007a).

Trichotheceny typu A (T-2, HT-2 toxin) jsou více toxické než trichotheceny typu B (DON, NIV, aj.). Trichotheceny jsou klasifikovány jako radiomimetické látky (jejich účinek na organismus vyvolává podobné reakce jako působení radioaktivního záření) (Drastichová, 2005). Důležitá vlastnost trichothecenů je jejich rozpustnost ve vodě, která umožňuje jejich transport do buněk, kde jsou následně možné toxické reakce (Hudec, 2007a).

2.6.3. Nejvýznamnější mykotoxiny

2.6.3.1. Deoxynivalenol (DON)

DON je prvním objeveným fuzariotoxinem a je produkovaný většinou druhů fuzárií. Patří k nejrozšířenějším v zrnech obilnin a dosahuje mezi všemi fuzárií nejvyšší hladiny. S vysokým obsahem DON-u v rostlinách a zrnech je spojen především *F. graminearum*, k významným producentům však patří i druhy *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. avenaceum* a *F. crookwellense* (Hudec, 2007b). Po úspěšné infekci klasu se tvoří mykotoxin DON velmi rychle, v květních částech může být stanoven už čtvrtý den, a také se rychle šíří v klasu (Širučková, Kroutil, 2007).

Je to nejběžnější mykotoxin, chemicky $C_{15}H_{20}O_6$ a je popsán téměř ve všech oblastech pěstování obilnin a kukuřice. Je proto zařazen jako marker (Kalabus, 2007). Není však nejtoxicitější trichothecen, ale je velmi stabilní po dobu skladování a výroby potravin a není degradovaný ani vysokými teplotami. Vysoká stabilita toxických vlastností DON-u je determinovaná stabilní epoxidovou skupinou, která prakticky znemožňuje detoxikaci kontaminovaného zrna (Hudec, 2007b).

Akutní toxicita DON-u je charakterizována střevními potížemi a zvracením, což bylo zjištěno zejména u prasat (proto má DON další název vomitoxin). Je popsáno působení DON-u na imunitní systém, nejsou však údaje o tom, že DON má karcinogenní, mutagenní nebo teratogenní účinky (Ostrý a kol., 2006).

Podle nařízení komise (ES) č. 856/2005 (dříve č.466/2001) je s účinností od 1. 7. 2006 stanovena max. hodnota obsahu DON pro nezpracované obiloviny (kromě pšenice tvrdé, ovsu a kukuřice) 1,25 mg/kg; nezpracovanou pšenici tvrdou a oves 1,75 mg/kg; mouku (včetně kukuřičné) a těstoviny 0,75 mg/kg; chleba, sušenky a sníadaňové cereálie 0,5 mg/kg; dětskou výživu na bázi cereálií 0,2 mg/kg (Širučková, Kroutil, 2007).

2.6.3.2. Zearalenon (ZEA)

ZEA je z chemického hlediska ($C_{18}H_{22}O_5$) makrocyclický lakton s vysokou vazebnou afinitou k estrogenním receptorům, ale má jen nízkou akutní toxicitu. ZEA je signifikovaný kontaminant kukuřice a ječmene, ale vyskytuje se i v ovsu, prosu a pšenici. Z hlediska detoxikace kontaminovaných komodit je ZEA komplikovaný mykotoxin. Je nerozpustný ve vodě, odolný vůči teplotám a ze zrn se prakticky nedá odstranit. Není detoxikovatelný ani etanolovým kvašením. ZEA je pokládán za vhodný indikátor přítomnosti dalších fuzáriových mykotoxinů v obilovinách (Ostrý a kol., 2006).

Bývá produkováný houbami *F. equiseti*, *F. poae* aj., největšími producenty jsou *F. culmorum* a *F. graminearum* (Hudec, 2007b). *F. graminearum* (nepohlavní forma *Gibberella zeae*) je hlavním producentem, který významně infikuje obiloviny k výrobě potravin a krmiv (Ostrý a kol., 2006). Z hlediska vlivu teploty na produkci ZEA jsou nejvhodnější teploty 25°C a střídání s teplotou 10°C (Hudec, 2007b). Vysoké koncentrace ZEA ve vzorcích obilovin a krmiv jsou spíše důsledkem nesprávného ošetření a uskladnění, než primárního vzniku před sklizní na poli (Ostrý a kol., 2006) Kvůli velké nebezpečnosti jsou limity jeho přítomnosti v potravinářských výrobcích podstatně nižší (Kalabus, 2007). Max. hodnoty obsahu zearalenonu jsou pro nezpracované obiloviny (kromě kukuřice) 0,1 mg/kg; mouku (kromě kukuřičné) 0,075 mg/kg; chleba, těstoviny, sušenky, kuk. sušenky a vločky, snídaňové cereálie (s výjimkou kukuřičných) 0,05mg/kg; dětská výživa na bázi cereálií (s výjimkou kukuřičných) 0,02 mg/kg (Širučková, Kroutil, 2007).

2.6.3.3. T-2 a HT-2 toxin

T-2 toxin byl objevený jako druhý trichothecen fuzárií. Poprvé byl popsán jako metabolit *F. sporotrichioides* kmene T-2, odkud pochází i jeho název. Oproti DON-u se T-2 toxin i přes vyšší toxicitu považuje za méně významný toxin, hlavně z hlediska jeho rozšíření. T-2 toxin a jiné trichotheceny typu A však patří k nejtoxičtějším metabolitům fuzárií. Pro člověka představuje riziko vzniku karcinogenního a imunosupresivního efektu. Dočasná tolerovatelná denní dávka T-2 a HT-2 toxinu pro člověka je 0-0,2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.

T-2 a HT-2 toxiny jsou mezi látkami, které mají být v EU v blízké době v obilovinách limitovány. Limity pro obsah T-2 a HT-2 toxinů v obilovinách určených pro potravinářské účely, se budou týkat také ovesa a produkce bude muset být na obsah těchto toxinů kontrolována (Polišenská a kol., 2007).

V ovsu severovýchodních evropských států byli v některých letech zjištěny vysoké koncentrace T-2 toxinu na úrovni 20-880 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Všeobecně se však tento toxin vyskytuje v zrnech obilnin v relativně nízkých koncentracích. HT-2 toxin je diacetylovaná forma T-2 toxinu (Hudec, 2007b).

2.6.3.4. Nivalenol (NIV)

NIV byl poprvé objevený a izolovaný ze zrn napadených houbou *F. sporotrichioides*, která byla mylně označena jako *F. nivale*. Proto název nivalenol dodnes vytváří mylnou představu typického toxinu *F. nivale*, který ho však neprodukuje. Výskyt a koncentrace NIV nejsou v porovnání s DON-em vysoké, proto se NIV považuje za méně významný

toxin. Maximální limity pro tento mykotoxin v členských státech EU zatím nebyli stanovené (Hudec, 2007b).

Mezi další mykotoxiny rodu *Fusarium* patří moniliformin, fumosiny, kys. fuzáriová atd.

3. Experimentální část

3.1. Materiál a metodika

3.1.1. Oves setý (*Avena sativa*)

Jako pokusná plodina byly vybrány 4 odrůdy pluchatého ovsa: Auron, Azur, Rozmar a Vok.

3.1.1.1. Auron

Auron je středně raná odrůda, u nás registrovaná od roku 1991. Dále je registrována na Slovensku a v Rakousku. Výnosná žlutozrná odrůda s velkým zrnem a s dobrou odolností k poléhání. Poskytuje vysoký stabilní výnos a vyšší objemovou hmotnost. Vyšší pluchatost mírně snižuje výtěžnost. Obsah bílkovin v zrně je nadprůměrný. Odrůda je vhodná pro všechny oblasti pěstování ovsa, využití pro krmné i potravinářské účely. Vyšlechtěna v ŠS Krukanice.

3.1.1.2. Azur

Azur je středně raná odrůda. Byl vyšlechtěn na šlechtitelské stanici Krukanice a byl povolen v roce 2001. Je registrován v zemích EU. Poskytuje nejvyšší výnos hrubých bílkovin ze sortimentu povolených odrůd. Je to žlutozrný oves s jemnou pluchou, vysokou objemovou hmotností a zvýšenou odolností ke rzem. Je vhodný pro potravinářské účely a vynikající pro krmné účely.

3.1.1.3. Rozmar

Rozmar je polopozdní žlutozrná odrůda. Rostliny jsou středně vysoké a zrno středně velké až malé, dobré kvality. Je odolná proti napadení rzí travní a středně odolná až vysoce odolná proti napadení rzí ovesnou. Má menší odolnost proti poléhání. Vyjadřuje se vysokým výnosem. Je vhodný do středně intenzivních oblastí. Má vyšší obsah dusíkatých látek. Užití pro potravinářské i krmné účely, též je vhodný pro pěstování na zeleno. Registrován v roce 2007.

3.1.1.4. Vok

Žlutozrná polopozdní odrůda s jemnou pluchou. Je středně vysoký. Ve státních odrůdových zkouškách (1999-2001) dosáhl nejvyššího výnosu ovesné rýže. Má velmi dobrou odolnost k poléhání a vyniká odolností k houbovým chorobám (rez ovesná, rez travní a padlí travní). Vhodný do všech oblastí s výjimkou suchých. Je velmi vhodný pro pěstování na zelenou hmotu. Byl vyšlechtěn v ŠS Krukanice. Je registrován od roku 2002.

3.1.2. Další použitý materiál

3.1.2.1. Bioagens

Pro ošetření pokusné plodiny byl zvolen biologický fungicidní přípravek Supresivit, který je založený na bázi houby *Trichoderma harzianum*, v počtu konidií $1,4 \cdot 10^{10} \cdot g^{-1}$. Efektivní kmeny byly vytvořeny spojením protoplastů dvou přírodních kmenů a jsou charakterizovány kompatibilitou s rhizosférou, tolerancí k mancozebu a dikarboximidovým fungicidům, rychlým růstem a mykoparazitickou aktivitou (Okrouhlá, 1993). Mimoto je účinný proti celé řadě fytopatogenních hub včetně *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* spp., *Verticillium* spp. a dalším.

Pro výrobu přípravku Supresivit se používá originální česká technologie původně vyvinutá pro farmaceutický průmysl. Jedná se o sterilní povrchovou fermentaci na hladině tekutého živného média. Výsledný produkt obsahuje pouze vzdušné spory vybraného kmene a zbytky vegetativního mycelia. Vyrábí se v podobě práškového preparátu, který je lehce dispergovatelný ve vodě s možností aplikace zálivkou, nebo nejrůznějšími postříkovými systémy. Lze jej použít na osivo inkrustací, nebo máčením kořenů před výsadbou.

Pro dobrou účinnost přípravku je nutná teplota substrátu nad 5°C. Reakce substrátu nehraje až tak významnou roli, optimum růstu bioagens leží mezi pH 3,5 - 6,5, je schopen růstu i v alkalickém prostředí. Je velmi důležité použít biopesticid správně, aby splnil očekávání.

Přípravek byl registrován v roce 1993 a byl povolen k moření osiva hrachu proti chorobám způsobujícím padání rostlin a k použití do substrátů pro okrasné rostliny a dřeviny proti stejným chorobám. V roce 1995 byla registrace rozšířena ještě o použití k moření osiva lesních dřevin a k použití do substrátů pro lesní dřeviny. V roce 2000 byl přípravek zaregistrován již podle nového zákona o ochraně rostlin a sortiment jeho použití rozšířen ještě o zeleniny a o použití k aplikaci na granulovaných anorganických hnojivech do pšenice, ječmene, kukuřice a řepky.

3.1.2.2. NPK obohacené houbou *Trichoderma harzianum*

NPK je třísloužkové dusíkato-fosforečno-draselné granulované hnojivo univerzálního použití. Toto hnojivo obohacené houbou *Trichoderma harzianum* má velmi pozitivní vliv na růst a vývoj plodiny. *T. harzianum* nejenže kolonizuje kořeny, zvyšuje jejich hmotu, zlepšuje jejich zdravotní stav a následkem toho zvyšuje úrodu, ale jak už bylo řečeno chrání před nežádoucími patogeny. NPK hnojivo zajišťuje rostlině potřebné živiny.

V našem případě bylo použito v roce 2006 NPK 15-10-10 s přídavkem 0,1 g /kg Supresivitu od výrobce Agroracio Skalica a v roce 2007 NPK 11-7-7 od výrobce Agro CS, a.s., Česká Skalice.

3.1.2.3. Umělé živné půdy

V podmínkách *in vitro* byl, pro vyšetření povrchové mikroflóry obilek ovsa, použit peptonový agar (PDA). Tento agar byl připraven standardním způsobem z práškové formy. Po smíchání s vodou byl uvařen a poté rozlit do jednorázových Petriho misek o průměru 90 mm.

3.1.3. Charakteristika pokusného pozemku

Maloparcelkové pokusy byly založeny na školním pozemku Jihočeské univerzity Zemědělské fakulty v Českých Budějovicích. Místo se nachází v nadmořské výšce 381 m nad mořem, v bramborářském výrobním typu. Půdní typ je kambizem pseudo-glejová (hnědá půda oglejená), půdní druh písčitohlinitý. Nachází se v klimatickém regionu MT4 (mírně teplá oblast), okrsek - mírně teplý, vlhký. Roční průměrná teplota vzduchu dle dlouhodobého normálu je 7,1°C a roční průměrný úhrn srážek 659 mm.

Níže uvedené klimatické charakteristiky uvádějí naměřené hodnoty v roce 2006 a 2007 v době pěstování pokusné plodiny (vegetační období). Oproti předcházejícím letům se klimatické charakteristiky rok od roku zvyšují a to v některých případech i více než dvojnásobně.

Jak můžeme vyčíst z tab. 2 a grafu 1 byla průměrná teplota vzduchu v roce 2007 výrazně vyšší než v roce 2006 a to především v jarních měsících. To má vliv na rychlost vzcházení. Obilky ovsa začínají klíčit již při teplotě 1-2°C, ale se zvýšením teploty na 5-6°C se doba vzcházení značně zkracuje (Moudrý, 2003).

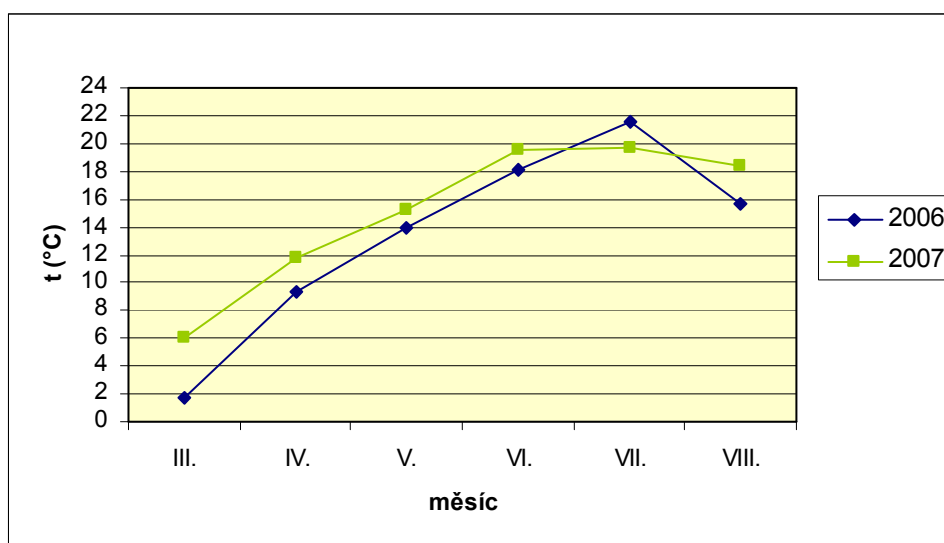
V roce 2007 v době kvetení byly nepříznivé klimatické poměry pro vznik infekce fytopatogenních hub, zejména rodu *Fusarium*. Vysoké teploty bez srážek především v roce 2007 nepodpořily významný rozvoj napadení klasů houbami rodu *Fusarium*. To

mělo ale i negativní vliv na vyklíčení spor aplikovaného bioagens, obsahující houbu *Trichoderma harzianum*.

Tab. 3 Průměrné teploty vzduchu během vegetačního období ovsa v roce 2006 a 2007

Průměrná teplota vzduchu (° C)								
	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	(III.-VIII.)	rok
2006	1,7	9,4	14	18,1	21,5	15,7	13,4	9,1
2007	6,1	11,8	15,2	19,6	19,7	18,4	15,1	10,2

Graf 1 Průměrné teploty vzduchu během vegetačního období ovsa v roce 2006 a 2007

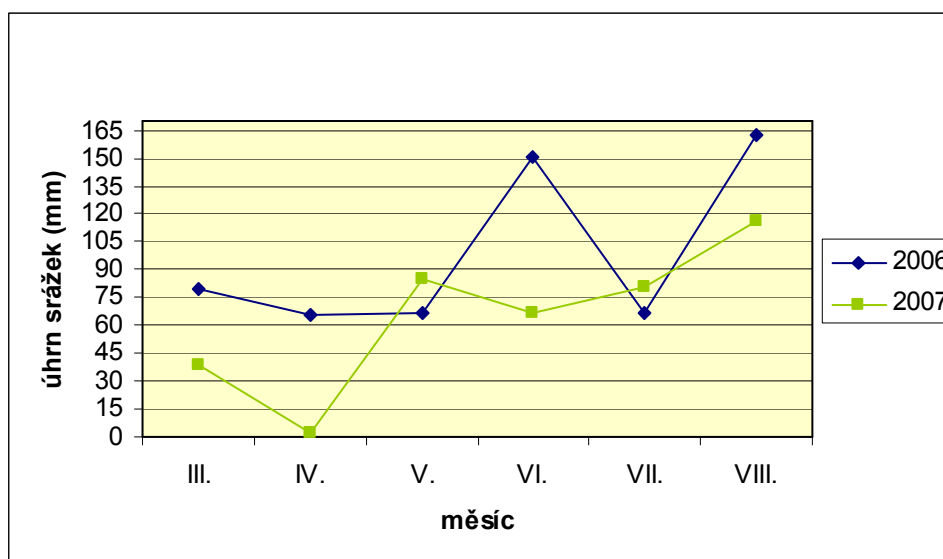


V tab. 3 a na grafu 2 je patrný v roce 2006 vyšší výskyt srážek, což mělo za následek opoždění setí a vzhledem k vysokým srážkám v srpnu i opoždění sklizně. To vedlo ke zhoršení kvality sklizeného obilí, k vyššímu výskytu houbových onemocnění a druhového zastoupení patogenů. Období sucha a vyšších teplot v roce 2007 zapříčinilo oproti předešlému roku nižší výnos.

Tab. 4 Úhrny srážek v letech 2006 a 2007 během vegetačního období ovsa

Úhrn srážek (mm)								
	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	(III.-VIII.)	rok
2006	79,1	65,6	66,9	150,9	66,8	162,9	592,2	731,1
2007	39	1,9	85,3	66,6	80,5	116,2	389,5	718,5

Graf 2 Úhrny srážek v letech 2006 a 2007 během vegetačního období ovsa



3.1.4. Metodika polního pokusu

V letech 2006 a 2007 byly na školním pozemku Jihočeské univerzity, Zemědělské fakulty katedry rostlinné výroby založeny přesným maloparcelkovým secím strojem HEGE 80, polní maloparcelkové pokusy. Parcelky byly o rozloze 10 m² a bylo jich celkem 8. Na tyto plochy byly vysety 4 odrůdy pluchatého ovsa, vždy od každé odrůdy 2 parcelky. Z těchto 8 parcelek byly 4 parcelky rozděleny na 3 menší, každá o velikosti 3,3 m², podle způsobu hnojení a ošetření. První parcelka byla jednorázově ošetřena NPK hnojivem obohaceném houbou *T. harzianum* (I.varianta), druhá opět NPK hnojivem a zároveň biopreparátem Supresivit – foliární aplikace (II. varianta) a třetí parcelka jen samotným Supresivitem, též foliárně (III. varianta). Toto ošetření bylo provedeno u každé odrůdy. Zbylé 4 parcelky sloužily celé jako kontrolní, ve kterých nebyl pozemek hnojen ani jinak ošetřován.

Pokusy byly prováděny ve dvouletém vegetačním období v roce 2006 a 2007. V těchto letech byl pozemek na podzim zorán a upraven branami, před setím byl povrch nakypřen. Po setí byly parcelky zakryty plastovou sítí a takto ponechány až do úplného vzejití porostu, aby nebyl vzcházející porost poškozen ptactvem.

Během vegetace bylo provedeno, ve třech termínech, hodnocení zdravotního stavu porostu.

3.1.5. Metodika laboratorního zpracování

3.1.5.1. Hodnocení objemové hmotnosti, hmotnosti tisíce zrn a klíčivosti

Objemová hmotnost (OH) a hmotnost tisíce zrn (HTZ) patří mezi výnosové ukazatele. HTZ je hmotnost tisíce zrn udávaná v gramech. Hmotnost obilek je druhou složkou produktivity klasu. Obecně se soudí, že je to velmi stabilní výnosový prvek, silně geneticky podmíněný. Je to odrůdový znak. Z vnějších faktorů je hmotnost zrna ovlivněna mohutností a délkou aktivní funkce asimilačního aparátu horní části rostliny, schopností převést asimiláty do zrn, délkou období tvorby obilky, podmínkami počasí a výživou v době dozrávání a výskytem chorob a škůdců (Petr, Húska a kol., 1997).

Hmotnost tisíce zrn byla stanovena na analytických vahách, po předcházejícím ručním odpočítání.

Objemová hmotnost nám udává hmotnost obilné masy v nádobě o objemu jednoho litru. Je udávána v gramech na litr (g/l). Měří se v obilném měřiči, jehož odměrná nádoba je kalibrována na objem 1000 ml. Objemová hmotnost patří mezi hlavní kritéria potravinářské kvality při výkupu ovsa, není však úplným a spolehlivým kritériem. Na kolísání objemové hmotnosti má největší vliv ročník a stanoviště, méně pak odrůda a agrotechnika (Moudrý, 2003).

Měření bylo prováděno podle ČSN 461011. Kalibrována nádoba byla naplněna obilím a poté zvážena.

Objemová hmotnost i hmotnost tisíce zrn byly prováděny vždy ve 2 opakováních od každé varianty. Výsledná hodnota u každé varianty je aritmetickým průměrem těchto 2 opakování.

Klíčivost je dána procentickým zastoupením vyklíčených a nevyklíčených obilek na klíčidlech. Vyjadřuje tedy procento životaschopných semen v partii osiva. Vysoké procento klíčivosti je nejvýznamnějším znakem kvality osiva (Petr, Húska a kol., 1997).

Od každé varianty byla provedena 4 opakování. Na každém klíčidle byla vždy 4 o počtu 100 zrn na opakování. Zrna byla napočítána ručně. Po týdnu bylo provedeno vyhodnocení klíčivosti. Za vyklíčené zrna se považuje obilka, která má délku klíčku alespoň 3 mm a minimálně 2 kořínky. Výsledná hodnota je aritmetickým průměrem všech 4 opakování každé varianty.

Všechny tyto ukazatele byly hodnoceny v laboratorních podmínkách a podle předepsaných postupů.

3.1.5.2. Hodnocení povrchové mikroflóry

Ze vzorků obilek jednotlivých variant (celkem 16) bylo odebráno vždy 10 zrn, které byly povrchově desinfikovány v 1% roztoku chlornanu sodného (přípravek Savo), poté promyty v destilované vodě a dány do sterilních Petriho misek na živnou půdu PDA. Petriho misky byly řádně označeny a kultivovány za nepřístupu světla při 21°C po dobu 7 dnů. Od každé varianty byly ponechány 3 kontroly, dohromady 48 vzorků. Po 7 dnech bylo provedeno kvantitativní makroskopické a mikroskopické určení kolonií hub a to zejména výskyt hub rodu *Fusarium* spp.

Z jednotlivých Petriho misek byly dále rozočkovány narostlé kolonie hub opět na PDA půdu. Kultivace probíhala za stejných podmínek jako v předcházejícím pokuse. Vše bylo prováděno ve sterilním prostředí flowboxu.

Pro přesné mikroskopické určení byly dále tyto vzorky s narostlými koloniemi hub identifikovány u RNDr. Hýska, CSc. z VÚRV Praha v Ruzyni.

3.1.5.3. Příprava vzorků pro laboratorní vyhodnocení – stanovení obsahu DON

Test na stanovení obsahu deoxynivalenolu (DON) ve vzorcích sledovaných variant ovsu byl prováděn ve VÚRV Praha-Ruzyně. Na katedře rostlinné výroby byly pouze jednotlivé vzorky odebrány a zváženy. Vždy od každé varianty bylo zváženo potřebné množství obilek, což činilo 10g. Takto zvážené vzorky byly na elektrickém mlýnku sešrotovány a uschovány v papírových sáčkách. Tyto řádně označené vzorky se poté zaslaly do VÚRV Praha-Ruzyně.

Analýza mykotoxinů probíhala u sledovaných variant a to v roce 2006 a 2007. Stanovení bylo provedeno imunochemickou metodou pomocí soupravy RIDASCREEN F. Výtěžnost metody činila 96,9% a výsledky byly přepočteny. Celkem bylo testováno 14 vzorků za jeden rok.

Pro výpočet výtěžnosti byl použit referenční materiál D14 DON (2,6 ppm) od firmy R-Biopharm. V roce 2006 činil limit kvantifikace pro oves (LOQ) 0,36 mg/kg. V roce 2007 byl limit kvantifikace 0,2 mg/kg. Nižší hodnoty byly dopočítané programem RidaSoft.

3.2. Pokusný rok 2006

3.2.1. Založení pokusu a ošetření během vegetace

V roce 2006 byl pokus vzhledem k nepříznivému počasí založen později a to 25.4. maloparcelkovým secím strojem. Bylo bezvětří a polojasno. Zasety byly 4 odrůdy pluchatého ovsa: Auron, Azur, Rozmar a Vok a jak už bylo zmíněno, vždy od každé odrůdy 2 parcelky o rozloze 10 m².

Dne 16.5. byl porost ve fázi 1.-4. listu (DC 14) jednorázově ošetřen minerálním hnojivem NPK obohaceným houbou *Trichoderma harzianum*, a to vždy I. a II. varianta od každé odrůdy. Aplikace byla provedena ručně v dávce 200g NPK na jednu parcelku o velikosti 3,3 m². Hnojivo NPK (15-10-10) a *Trichoderma harzianum*, MP SR- č. 26/2001, pocházelo od výrobce Agroracio Skalica.

Dne 3.7. byla provedena foliární aplikace biopreparátem Supresivit (výrobce Fytovita, spol. s.r.o.) u parcelk II. a III. variant jednotlivých odrůd. Supresivit byl aplikován v dávce 2g/l (titr cca $2,8 \cdot 10^7$ konidií na 1ml suspenze), což bylo v přepočtu na plochu (6,6m²) pro obě varianty stejné odrůdy 5,28g/2,64 l vody. Postřik pro obě varianty od každé odrůdy byl prováděn najednou.

3.2.2. Hodnocení zdravotního stavu porostu

V porostu byly provedeny 3 kontroly zdravotního stavu. První při aplikaci NPK ve fázi 1.-4. listu (11-14 DC) dne 16.5., druhá ve fázi naduřování listové plochy (43 DC) dne 7.6. a třetí na začátku metání, ve fázi 1. viditelného klásku klasu (51 DC), před aplikací bioagens *Trichoderma harzianum*, tedy dne 3.7. U všech tří kontrol nebyly nalezeny žádné příznaky chorob ani výskyt škůdců. Ve všech případech byl porost ohodnocen stupněm číslo 9, tedy jako porost zdravý.

3.2.3. Sklizeň

Sklizeň probíhala dne 18.8. maloparcelkovou sklízecí mlátičkou Wintersteiger Elite. Bylo polojasno, beze srážek a teplota dosahovala 29°C. Obilí bylo sklizeno v plné zralosti ve fázi zrání (91DC). Každá varianta od jednotlivých odrůd byla sklizena zvlášť, poté řádně označena a spolu s ostatními uskladněna na katedře rostlinné výroby v suché větrané místnosti. Takto připravené obilí sloužilo k dalšímu laboratornímu zpracování.

3.2.4. Laboratorní hodnocení

3.2.4.1. Hodnocení hmotnosti tisíce zrn, objemové hmotnosti a klíčivosti

Objemová hmotnost byla měřena pomocí obilného měřiče o objemu 1000 ml. Získané hodnoty jsou zapsány v tab. 5 a graficky znázorněny v grafu 3.

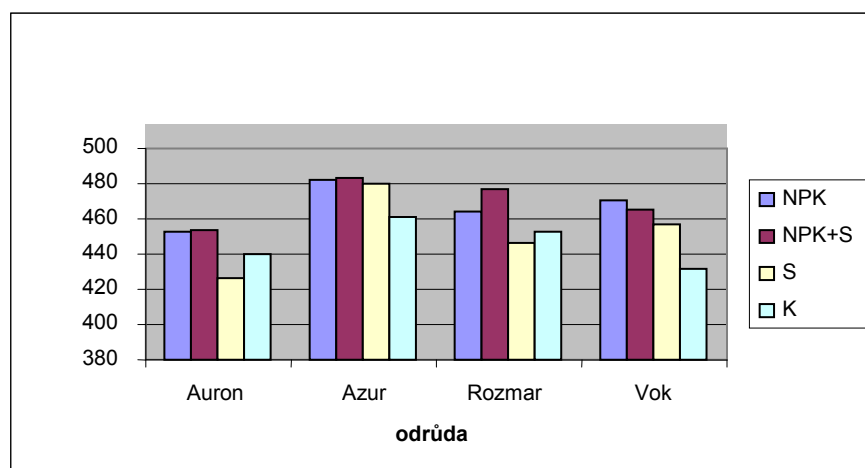
Tab. 5 Objemová hmotnost v roce 2006

Objemová hmotnost (g/l) - 2006				
	NPK	NPK+S	S	K
Auron	452,5	454,2	426	440
Azur	482	483	480,5	461
Rozmar	464,45	477	446,5	453
Vok	470,5	465,7	456,7	432

Legenda:
NPK – minerální hnojivo
S - Supresivit
K - kontrola (bez ošetření)

Z hodnot uvedených v tab. 5 lze vyčíst, že nejvyšších objemových hmotností dosahovala odrůda Azur a to ve všech variantách, zejména pak u varianty ošetřené NPK a Supresivitem (483 g/l). Na grafu 3 je dobře patrný rozdíl mezi všemi variantami. Nejmenších rozdílů, téměř zanedbatelných, má odrůda Auron a Azur a to u variant ošetřených NPK a NPK obohaceném houbou *T. harzianum*. Nejnižších hodnot dosahuje odrůda Auron, především u varianty ošetřené Supresivitem (426 g/l). U varianty neošetřené nebo-li kontrolní byla nejnižší hodnota naměřená u odrůdy Vok (432 g/l).

Graf 3 Objemová hmotnost v roce 2006 (g/l)



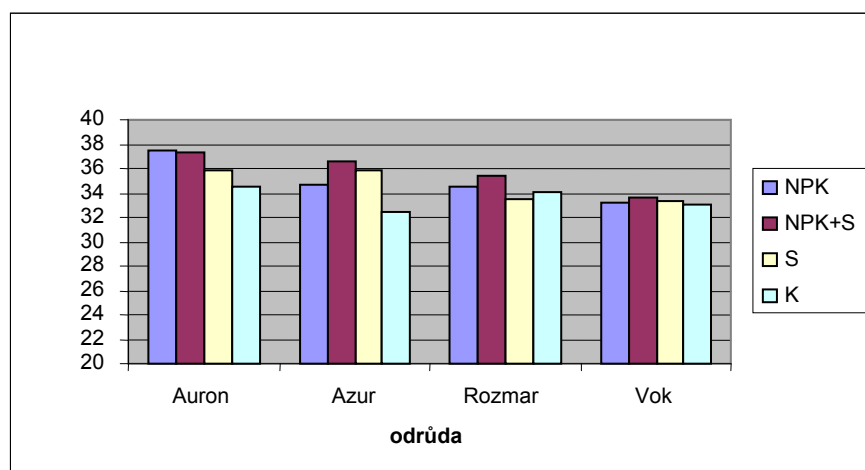
Získané hodnoty hmotností tisíce zrn od každé odrůdy a varianty jsou uvedeny v tab. 6. Ke zvážení byly použity analytické váhy. Výsledné hodnoty jsou aritmetickým průměrem vždy dvou měření.

Tab. 6 Hmotnost tisíce zrn v roce 2006

HTZ /g - 2006				
	NPK	NPK+S	S	K
Auron	37,6	37,4	35,8	34,5
Azur	34,8	36,6	35,8	32,4
Rozmar	34,5	35,4	33,5	34
Vok	33,2	33,7	33,4	33,1

Uvedené hodnoty v tab.6 a grafu 4 nám ukazují, že nejvyšších hodnot v tomto případě dosahovala odrůda Auron a to především u ošetřených variant NPK (37,6g) a NPK se Supresivitem (37,4g). Rozdíl je téměř nezatelný. Nejnižších hodnot dosahuje odrůda Vok, výsledky se pohybují kolem 33g. Jak je patrné na grafu 4, nejsou výrazné rozdíly mezi ošetřenou a neošetřenou variantou u všech čtyř odrůd. Nejnižší hodnota byla opět naměřena u varianty kontrolní, v tomto případě u odrůdy Azur (32,4g).

Graf 4 Hmotnost tisíce zrn v roce 2006 (g)



V tab. 7 a grafu 5 jsou uvedeny výsledky klíčivosti jednotlivých odrůd a jejich variant.

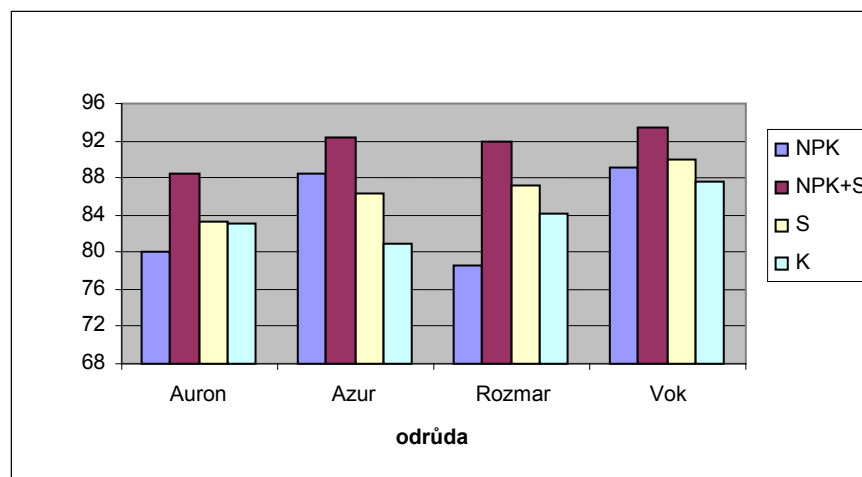
Tab. 7 Klíčivost v roce 2006

Klíčivost (%) - 2006				
	NPK	NPK+S	S	K
Auron	80	88,5	83,25	83
Azur	88,5	92,25	86,25	81
Rozmar	78,5	92	87,25	84,25
Vok	89	93,5	90	87,5

Jak je patrné na první pohled v grafu 5, nejvyšších hodnot dosahovaly u všech odrůd varianty ošetřené hnojivem NPK a biologickým přípravkem Supresivit. Z toho nejvyšší hodnoty dosahovala odrůda Vok (93,5%). Nejnižších hodnot vykazovala odrůda

Auron, z níž byla zjištěna nejnižší klíčivost u varianty ošetřené NPK (80%). Celkově nejnižší hodnoty bylo dosaženo u odrůdy Rozmar, varianty ošetřené NPK (78,5%).

Graf 5 Klíčivost v roce 2006 (%)



3.2.4.2. Hodnocení povrchové mikroflóry

Hodnocení povrchové mikroflóry bylo provedeno po 7 denní kultivaci (postup je popsán v metodice na straně 45), kdy se hodnotilo procentické napadení obilek mikroskopickými houbami. Poté byla nakultivovaná mikroflóra jednotlivých kolonií hub přeočkována na živnou půdu PDA. Po týdnu kultivace byly narostlé kolonie hub přesně determinovány. Pozornost byla zejména věnována výskytu hub rodu *Fusarium*, který byl podrobně určen ve VÚRV Praha – Ruzyně.

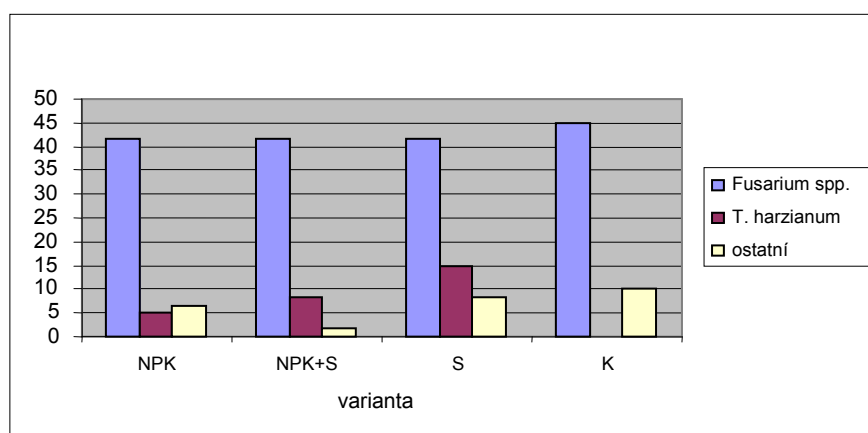
U všech variant jednotlivých odrůd byly provedeny tři kontrolní opakování. Bylo hodnoceno zastoupení hub rodu *Fusarium*, mykoparazitické houby *Trichoderma harzianum* a zastoupení ostatních, v menší míře se vyskytujících fytopatogenních hub.

V tab. 8 je uvedeno procentické zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Auron. V grafu 6 je dále u této odrůdy znázorněn vztah napadení houbami rodu *Fusarium* a ostatními mikroskopickými houbami, včetně *T. harzianum*. Obdobně je tomu tak u odrůdy Azur, kde nalezneme výsledky hodnocení v tab. 9 a grafu 7, u odrůdy Rozmar v tab. 10 a grafu 8 a u odrůdy Vok v tab. 11 a v grafu 9.

Tab. 8 Procentické zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Auron v roce 2006

varianta	I.			II.			III.		
	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní
NPK	55	0	0	25	0	20	45	15	0
NPK+S	20	15	0	65	10	0	40	0	5
S	55	25	0	40	10	10	30	10	15
K	60	0	5	45	0	15	30	0	10

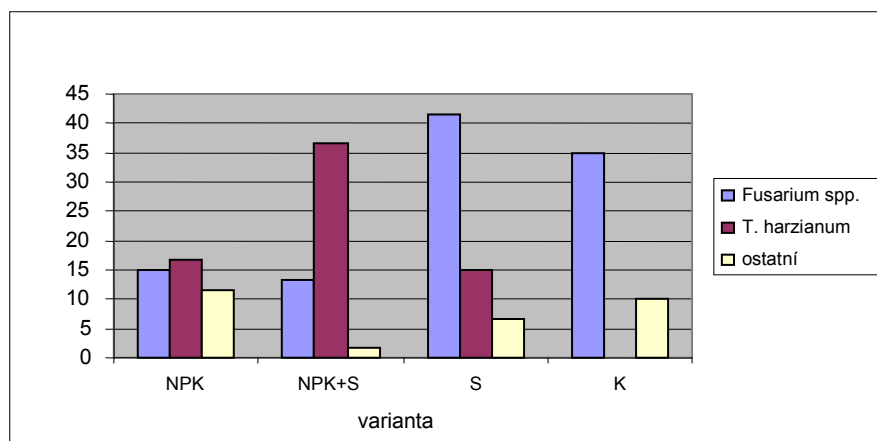
Graf 6 Průměrné zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Auron v roce 2006 (%)



Tab. 9 Procentické zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Azur v roce 2006

varianta	I.			II.			III.		
	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní
NPK	20	10	15	15	20	5	10	20	15
NPK+S	10	55	0	10	45	0	20	10	5
S	50	10	0	30	20	15	45	15	5
K	45	0	5	20	0	15	40	0	10

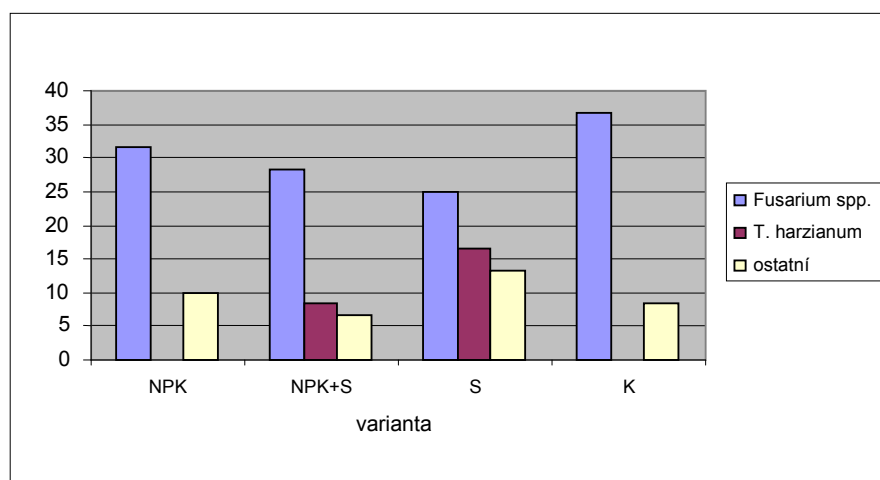
Graf 7 Průměrné zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Azur v roce 2006 (%)



Tab. 10 Procentické zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Rozmar v roce 2006

varianta	I.			II.			III.		
	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní
NPK	15	0	0	30	0	20	50	0	10
NPK+S	10	0	5	25	0	15	50	25	0
S	20	0	30	30	20	10	25	30	0
K	30	0	15	50	0	0	30	0	10

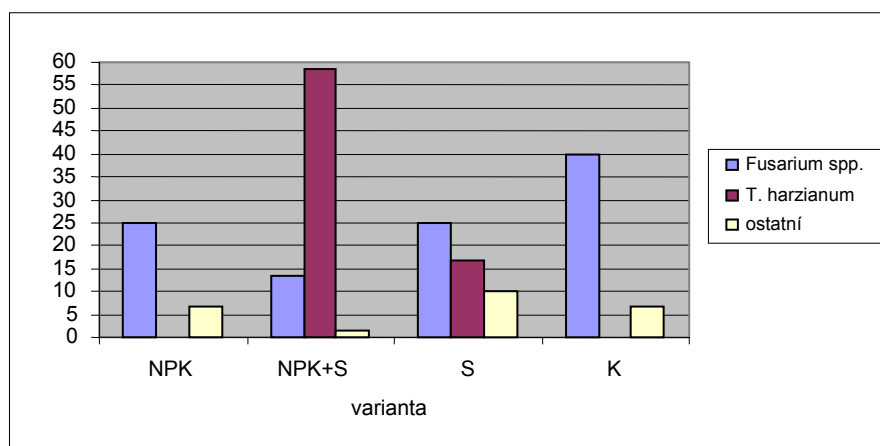
Graf 8 Průměrné zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Rozmar v roce 2006 (%)



Tab. 11 Procentické zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Vok v roce 2006

varianta	I.			II.			III.		
	<i>Fusarium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	ostatní
NPK	20	0	15	25	0	5	30	0	0
NPK+S	5	80	0	25	35	0	10	60	5
S	20	0	25	20	25	5	35	25	0
K	40	0	5	45	0	5	35	0	10

Graf 9 Průměrné zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Vok v roce 2006 (%)



Z předcházejících tabulek (8, 9, 10, 11) a grafů (6, 7, 8, 9) jsou dobře viditelné rozdíly napadení houbami rodu *Fusarium*, ostatními patogeny a mykoparazitickou houbou *Trichoderma harzianum*. V tomto roce vykazuje největší procento napadení houbami, zejména houbami *Fusarium* spp., odrůda Auron. U této odrůdy byl zjištěn i nejvyšší podíl zrn napadených fuzárií (45 %) a to u neošetřené (kontrolní) varianty. Získaná hodnota je průměrem 3 kontrolních opakování. Celkově nejodolnější odrůdou proti napadení houbovými patogeny se projevila odrůda Vok, což je dobře viditelné v grafu 9. V tomto grafu nelze přehlédnout, u ošetřených variant, vysoké procento výskytu houby *Trichoderma harzianum*, která je příčinou nižšího výskytu fytopatogenních hub. Nejvyšší zastoupení bioagens bylo u varianty ošetřené hnojivem NPK a Supresivitem, kdy průměrné zastoupení bylo 58,3 %. Výskyt ostatních hub se pohyboval v průměru (u jednotlivých variant) od 1,7 do 13,3 %.

Druhové zastoupení mikroskopických hub je znázorněno v tab. 12. Zeleně je vyznačena mykoparazitická houba *Trichoderma harzianum*. Z ostatních fytopatogenních hub se nejvíce na obilkách ovesa vyskytoval rod *Alternaria*.

Tab. 12 Druhové zastoupení mikroskopických hub u jednotlivých odrůd v roce 2006

Auron			
NPK	NPK+S	S	K
<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>
<i>Alternaria</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.
<i>Acremonium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Epicoccum nigrum</i>
<i>T. harzianum</i>		<i>T. harzianum</i>	

Azur			
NPK	NPK+S	S	K
<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>
<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Fusarium solani</i>
<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Verticillium</i> spp.
<i>Penicillium</i> spp.		<i>T. harzianum</i>	<i>Aspergillus</i> spp.
<i>T. harzianum</i>			

Rozmar			
NPK	NPK+S	S	K
<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium tricinctum</i>
<i>Acremonium</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Aspergillus</i> spp.
<i>Alternaria</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Acremonium</i> spp.
		<i>T. harzianum</i>	

Vok			
NPK	NPK+S	S	K
<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium poae</i>
<i>Fusarium solani</i>	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Epicoccum nigrum</i>
<i>Alternaria</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Alternaria</i> spp.
<i>Epicoccum nigrum</i>		<i>T. harzianum</i>	

3.2.4.3. Stanovení obsahu deoxynivalenolu v obilkách

V roce 2006 byl pro výpočet výtěžnosti použit referenční materiál D14 DON (2,6ppm) od firmy R-Biopharm. Limit kvantifikace (LOQ) byl 0,36 mg/kg.

Celkem bylo testováno 14 vzorků. Ze získaných výsledků byly všechny vzorky, kromě dvou variant odrůdy Auron, a to varianta ošetřená NPK a varianta ošetřená NPK a zároveň Supresivitem, podlimitní. U varianty ošetřené NPK byl naměřen obsah DON-u 0,6mg/kg. U varianty ošetřené NPK a Supresivitem byl zjištěn obsah DON-u těsně nad hranicí LOQ (0,4mg/kg). Nutno zdůraznit, že limit v obilninách je podle normy 1,25 mg/kg, což v našem případě nebylo překročeno.

3.3. Pokusný rok 2007

3.3.1. Založení pokusu a ošetření během vegetace

Rok 2007 byl oproti roku 2006 teplejším a především v jarních měsících i sušším rokem. Z tohoto důvodu bylo možné založit maloparcelkové pokusy o měsíc dříve. Setí bylo provedeno dne 29.3. maloparcelkovým secí strojem HEGE 80.

Zasety byly stejné odrůdy pluchatého ovsa se stejným počtem variant a rozlohou jako tomu bylo v minulém roce. Jelikož se jednalo o druhé opakování tohoto pokusu, byly všechny postupy a ošetření porostu, dle jednotlivých variant, prováděny stejným způsobem jako v roce 2006.

Jednorázové ošetření porostu hnojivem NPK obohaceným houbou *T. harzianum* bylo provedeno dne 10.5. ve fázi DC 14 (vždy I. a II. varianta od každé odrůdy). V tomto případě bylo aplikováno hnojivo NPK (11-7-7) od výrobce Agro CS, a.s. Česká Skalice, opět ve stejné dávce (200g) NPK na parcelky I. a II. variant jako v roce 2006.

Přípravkem Supresivit byla provedena aplikace dne 11.6. v průběhu metání a to opět postřikem na list u parcelk II. a III. variant jednotlivých odrůd. Supresivit byl aplikován ve stejné dávce 5,28g/2,64l vody (pro obě varianty) a za stejných podmínek. Vzhledem k extrémním teplotám a suchu byla aplikace provedena večer (kolem 19hod.). Bylo oblačno a teplota se pohybovala kolem 22°C.

3.3.2. Hodnocení zdravotního stavu porostu

V porostu byly opět provedeny 3 hodnocení zdravotního stavu a to ve třech různých termínech. První bylo provedeno při aplikaci NPK ve fázi 1.-4. listu (11-14 DC) dne 10.5., kdy nebyly nalezeny žádné příznaky napadení chorobou či škůdcem. Druhé hodnocení bylo ve fázi naduřování listové plochy (43 DC) dne 7.6. a třetí, dne 11.6., ve fázi metání (51 DC) před aplikací biopreparátu Supresivit. Při druhém hodnocení, byly nalezeny larvy kohoutka, ale v tak nepatrném množství, že se nebylo třeba obávat výrazného poškození porostu.

3.3.3. Sklizeň

Dne 26.7. proběhla sklizeň porostu, a to stejnou maloparcelkovou sklízecí mlátičkou Wintersteiger Elite a za stejných podmínek jako v předcházejícím roce. Každá varianta byla sklizena odděleně do pytlů, označena a opět uskladněna společně s ostatními na

katedře rostlinné výroby. Během sklizně bylo jasno a teplota dosahovala 31°C. Obilí bylo sklizeno v plné zralosti.

3.3.4. Laboratorní hodnocení

3.3.4.1. Hodnocení hmotnosti tisíců zrn, objemové hmotnosti a klíčivosti

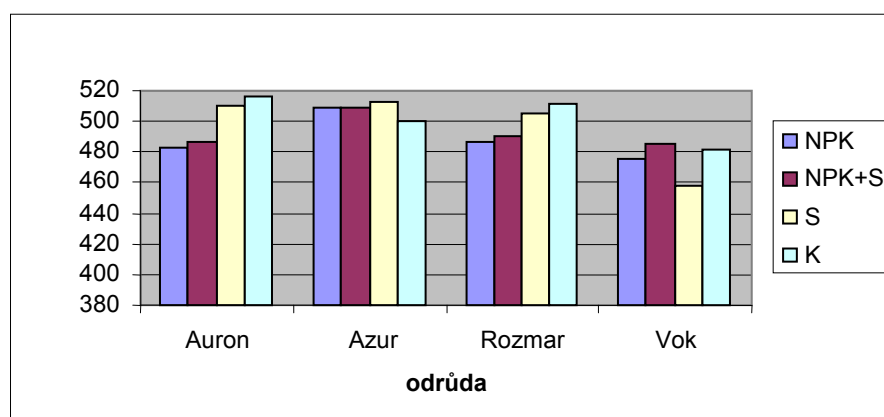
Veškerých výsledků bylo dosaženo stejným postupem jako v roce 2006. Jedná se o dvouleté sledování.

Získané údaje o objemové hmotnosti v roce 2007 jsou uvedeny v tab. 13 a grafu 10. Oproti minulému roku jsou celkově hodnoty vyšší. Nejvyšší hmotnosti bylo zjištěno u odrůdy Auron, kontrolní varianty (516g/l). Nízké hodnoty vykazala odrůda Vok, z níž varianta ošetřená Supresivitem byla zjištěna jako nejnižší (458,8g/l).

Tab. 13 Objemová hmotnost v roce 2007

Objemová hmotnost (g/l) - 2007				
	NPK	NPK+S	S	K
Auron	483	487	510,2	516
Azur	508,5	509	512,5	500
Rozmar	487	490	505,2	511
Vok	475	484,7	458,5	481

Graf 10 Objemová hmotnost v roce 2007 (g/l)

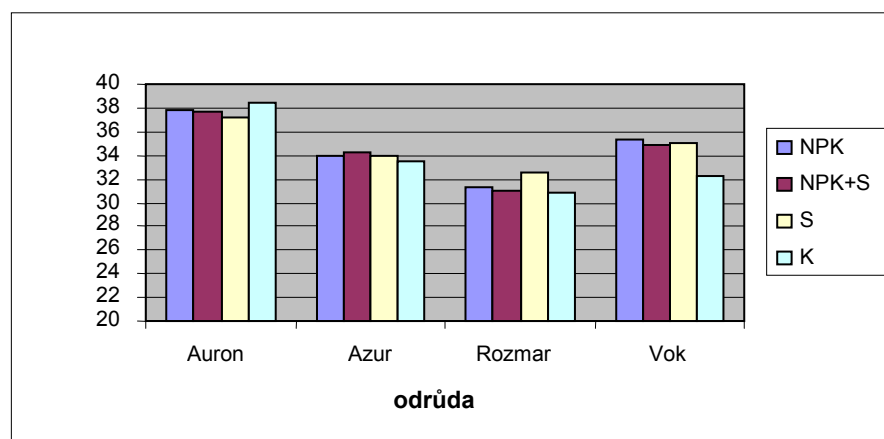


Hmotnost tisíců zrn vybraných odrůd za rok 2007 je uvedena v tab. 14 a grafu 11. Nejlepších výsledků dosahovala jako v roce 2006 odrůda Auron a to zejména kontrolní varianta, která dosáhla nejvyšší hodnoty (38,5g). Nejnižší HTZ měla odrůda Rozmar, kontrolní varianta (30,8g). Jak si ale můžeme všimnout z tab. 9 jsou rozdíly mezi jednotlivými variantami každé odrůdy velmi malé.

Tab. 14 Hmotnost tisíce zrn v roce 2007

HTZ /g - 2007				
	NPK	NPK+S	S	K
Auron	37,8	37,6	37,2	38,5
Azur	34	34,2	33,9	33,5
Rozmar	31,3	31	32,6	30,8
Vok	35,4	34,9	35	32,3

Graf 11 Hmotnost tisíce zrn v roce 2007 (g)



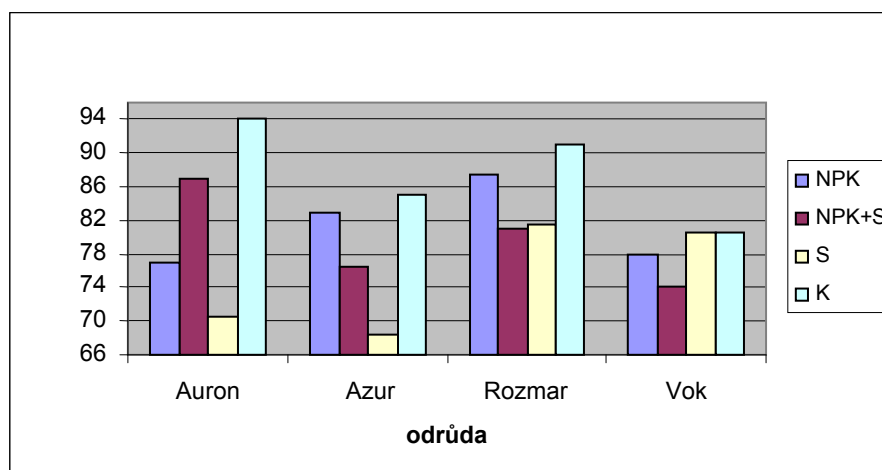
V tab. 15 jsou uvedené výsledky klíčivosti za rok 2007, které nám dále znázorňuje graf 12. Již na první pohled jsou výsledky velice rozdílné. Zejména u variant odrůd Auron a Azur, kde byl aplikován biopreparát Supresivit je klíčivost velice nízká. Co je pozoruhodné, je vysoká klíčivost u kontrolních tedy neošetřených variant u všech odrůd.

Tab. 15 Klíčivost v roce 2007

Klíčivost (%) - 2007				
	NPK	NPK+S	S	K
Auron	77	87	70,5	94
Azur	83	76,5	68,5	85
Rozmar	87,5	81	81,5	91
Vok	78	74	80,5	80,5

V tomto roce dosahovala nejvyšší klíčivosti odrůda Auron, kontrolní varianta (94%), nejnižší klíčivosti pak odrůda Azur, a to varianta ošetřená přípravkem Supresivit (68,5%). Celkově nejnižší klíčivosti bylo dosaženo u odrůdy Vok, což je dobře patrné v grafu 12.

Graf 12 Klíčivost v roce 2007 (%)



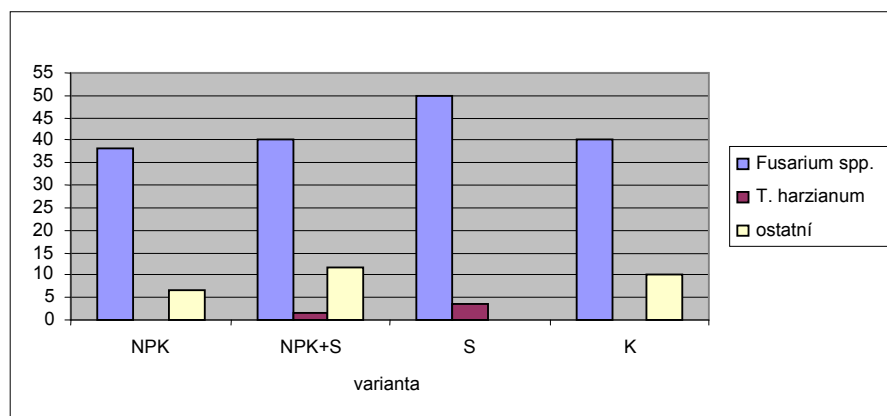
3.3.4.2. Hodnocení povrchové mikroflóry

Vyhodnocení povrchové mikroflóry obilek pluchatého ovsu bylo hlavním cílem této práce. Postup a vyhodnocení povrchové mikroflóry bylo stejné jako v roce 2006. Výsledky hodnocení nalezneme u odrůdy Auron v tab. 16 a grafu 13, u odrůdy Azur v tab. 17 a grafu 14, u odrůdy Rozmar v tab. 18 a grafu 15 a u odrůdy Vok jsou znázorněné výsledky v tab. 19 a v grafu 16.

Tab. 16 Procentické zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Auron v roce 2007

varianta	I.			II.			III.		
	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní
NPK	30	0	5	45	0	5	40	0	10
NPK+S	60	5	0	50	0	10	10	0	25
S	70	5	0	50	5	0	30	0	0
K	45	0	10	40	0	15	35	0	5

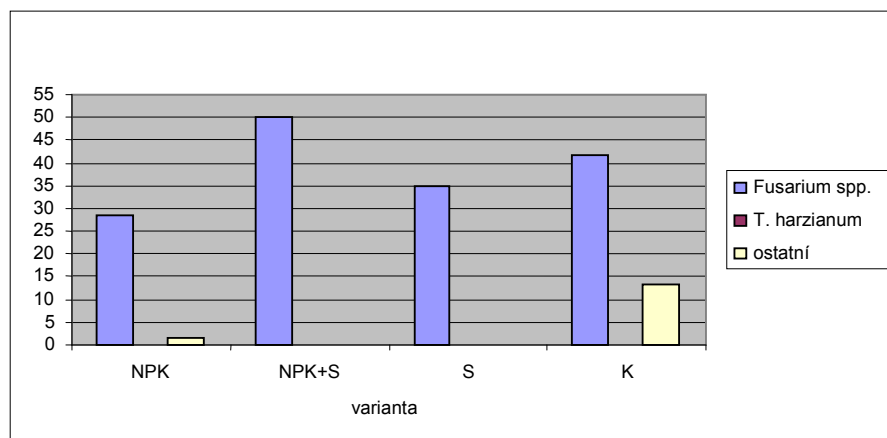
Graf 13 Průměrné zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Auron v roce 2007 (%)



Tab. 17 Procentické zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Azur v roce 2007

varianta	I.			II.			III.		
	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium spp.</i>	<i>T. harzianum</i>	ostatní
NPK	30	0	5	35	0	0	20	0	0
NPK+S	20	0	0	80	0	0	50	0	0
S	35	0	0	30	0	0	40	0	0
K	20	0	15	55	0	10	50	0	15

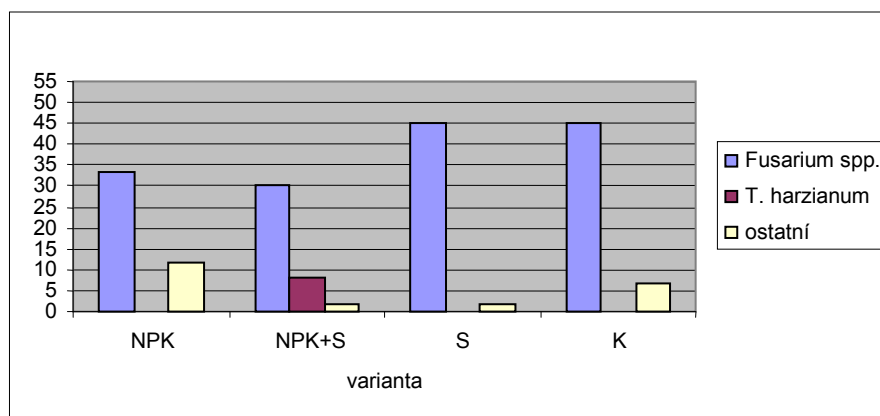
Graf 14 Průměrné zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Azur v roce 2007 (%)



Tab. 18 Procentické zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Rozmar v roce 2007

varianta	I.			II.			III.		
	<i>Fusarium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	ostatní
NPK	40	0	20	30	0	5	30	0	10
NPK+S	20	10	0	30	0	5	40	15	0
S	40	0	0	20	0	5	75	0	0
K	35	0	5	60	0	10	40	0	5

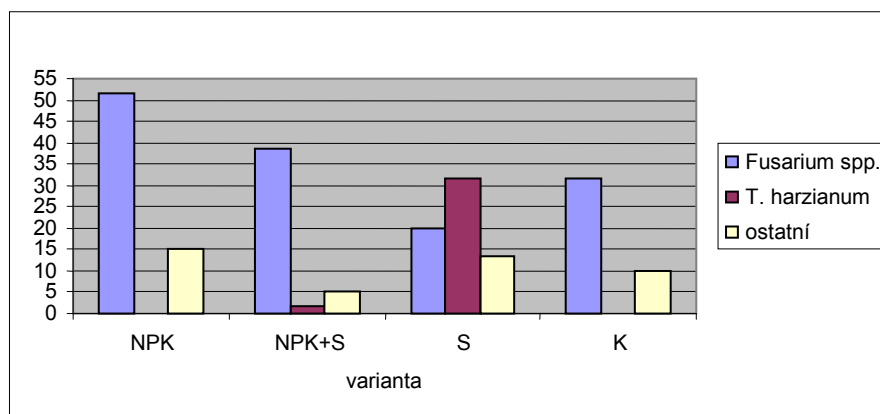
Graf 15 Průměrné zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Rozmar v roce 2007 (%)



Tab. 19 Procentické zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Vok v roce 2007

varianta	I.			II.			III.		
	<i>Fusarium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	ostatní
NPK	30	0	35	50	0	10	75	0	0
NPK+S	30	0	5	55	0	5	30	5	5
S	10	0	40	30	45	0	20	50	0
K	30	0	10	50	0	10	15	0	10

Graf 16 Průměrné zastoupení mikroskopických hub u odrůdy Vok v roce 2007 (%)



Rok 2007 byl oproti roku 2006 rokem teplejším a sušším. Tyto podmínky jsou pro fytopatogenní houby méně příznivé. To mělo pravděpodobně i vliv na výskyt mykoparazitické houby *Trichoderma harzianum*, která byla nalezena v kulturách (ošetřených variant) jen v malém množství a v některých případech se nevyskytla vůbec. I přesto, že byly klimatické podmínky pro výskyt fytopatogenních hub nepříznivé, nižší výskyt houby *Trichoderma harzianum*, nemohl v takové míře potlačit napadení fytopatogenními houbami. Z těchto důvodů se předpokládá vyšší procentický výskyt napadení fytopatogenních hub oproti roku 2006. Druhové zastoupení těchto hub bylo v obou letech podobné.

Největší průměrné procentické napadení houbami *Fusarium* spp. v roce 2007 bylo zjištěno u odrůdy Vok, u varianty ošetřené hnojivem NPK obohaceném houbou *T. harzianum* (52%). Zároveň byl u této varianty zaznamenán i nejvyšší výskyt ostatních fytopatogenních hub (15%), zejména *Mucor* spp. Nejnižší průměrné napadení obilí houbami *Fusarium* spp. bylo zaznamenáno opět u odrůdy Vok, varianty ošetřené biopreparátem Supresivit (20%). U této varianty byl též zjištěn nejvyšší výskyt bioagens *T. harzianum* (31,7%). Výskyt ostatních hub se pohyboval v průměru (u jednotlivých variant) od 1,7 do 15 %. Nejčastěji byly zaznamenány houby rodu *Mucor* a *Alternaria*.

Druhové zastoupení mikroskopických hub je znázorněno v tab. 20. Zeleně je vyznačena mykoparazitická houba *Trichoderma harzianum*.

Tab. 20 Druhové zastoupení mikroskopických hub u jednotlivých odrůd v roce 2007

Auron			
NPK	NPK+S	S	K
<i>Fusarium poae</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Alternaria</i> spp.
<i>Alternaria</i> spp.	<i>Fusarium poae</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Rhizopus</i> spp.		<i>Fusarium poae</i>
	<i>T. harzianum</i>		<i>Penicillium</i> spp.

Azur			
NPK	NPK+S	S	K
<i>Septoria</i> spp.	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>
<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Mucor piriformis</i>
			<i>Mucor hiemalis</i>
			<i>Penicillium</i> spp.
			<i>Aspergillus</i> spp.

Rozmar			
NPK	NPK+S	S	K
<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>
<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Verticillium</i> spp.	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>Verticillium</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Mucor</i> spp.
<i>Alternaria</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	

Vok			
NPK	NPK+S	S	K
<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>
<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Mucor</i> spp.	<i>Mucor piriformis</i>	<i>Alternaria</i> spp.
<i>Verticillium</i> spp.	<i>Verticillium</i> spp.	<i>T. harzianum</i>	<i>Verticillium</i> spp.
<i>Mucor</i> spp.	<i>T. harzianum</i>		

3.3.4.3. Stanovení obsahu deoxynivalenolu v obilkách

V roce 2007 byly hodnoty obsahu DON nižší. Což bylo pravděpodobně zapříčiněno delším obdobím sucha během vegetace.

V tomto roce byl stanoven limit kvantifikace 0,2 mg/kg. Opět bylo testováno 14 vzorků. Ze všech vzorků byly nadlimitní pouze 2 u odrůdy Vok, varianta ošetřená hnojivem NPK a zároveň Supresivitem (0,274 mg/kg) a kontrolní varianta, tedy neošetřená (0,406 mg/kg). I v tomto případě se tedy nejednalo o vzorky se zvýšeným obsahem mykotoxinů, ohrožující zdraví člověka i zvířat.

3.4. Vyhodnocení pokusu

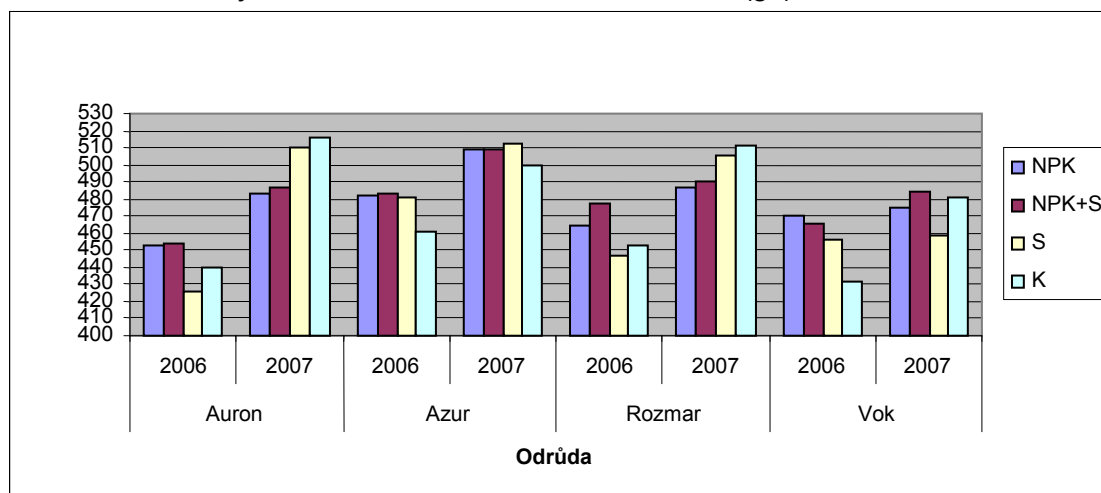
3.4.1. Srovnání objemové hmotnosti v letech 2006, 2007

Výsledky objemové hmotnosti z dvouletého pokusu jsou shrnuty v tab. 21. Z grafu 10 je zřejmé, že vyšších hodnot bylo naměřeno v roce 2007. Nejnižší hodnoty byly zjištěny u odrůdy Auron v roce 2006. Nejvyšší hodnoty měla odrůda Azur a to v obou letech.

Tab. 21 Srovnání objemové hmotnosti v letech 2006, 2007 (g/l)

	Auron		Azur		Rozmar		Vok	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007
NPK	452,5	483	482	508,5	464,45	487	470,5	475
NPK+S	454,2	487	483	509	477	490	465,7	484,7
S	426	510,2	480,5	512,5	446,5	505,2	456,7	458,5
K	440	516	461	500	453	511	432	481

Graf 10 Srovnání objemové hmotnosti v letech 2006, 2007 (g/l)



3.4.2. Srovnání hmotnosti tisíce zrn v letech 2006, 2007

V tab. 22 nalezneme výsledky hmotnosti tisíce zrn. Při porovnání těchto výsledků z obou let jsou patrné u jednotlivých variant každé odrůdy téměř minimální rozdíly. Nejvyšší rozdíl byl zjištěn (4,4 g) u odrůdy Rozmar, u varianty ošetřené hnojivem NPK a Supresivitem.

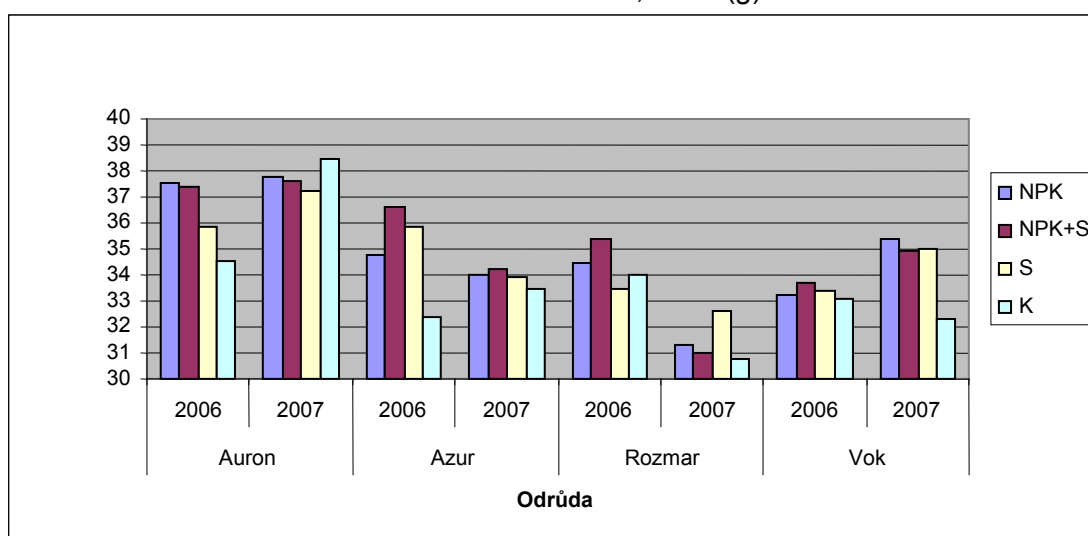
Nejvyšší hmotnost tisíce zrn byla naměřena v roce 2007 u kontrolní varianty u odrůdy Auron (38,5 g), nejnižší opět u kontrolní varianty, ale u odrůdy Rozmar (30,8 g) též v roce 2007. Hmotnost tisíce zrn je odrůdový znak, proto nelze porovnávat jednotlivé

odrůdy mezi sebou. Spíše hodnotíme u každé odrůdy vliv ročníku a způsoby ošetření. Graficky znázorněné porovnání hmotnosti tisíce zrn je patrné v grafu 11.

Tab. 22 Srovnání hmotnosti tisíce zrn v letech 2006, 2007 (g)

	Auron		Azur		Rozmar		Vok	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007
NPK	37,5	37,8	34,7	34	34,5	31,3	33,2	35,4
NPK+S	37,4	37,6	36,6	34,2	35,4	31	33,7	34,9
S	35,8	37,2	35,8	33,9	33,5	32,6	33,4	35
K	34,5	38,5	32,4	33,5	34	30,8	33,1	32,3

Graf 11 Srovnání hmotnosti tisíce zrn v letech 2006, 2007 (g)



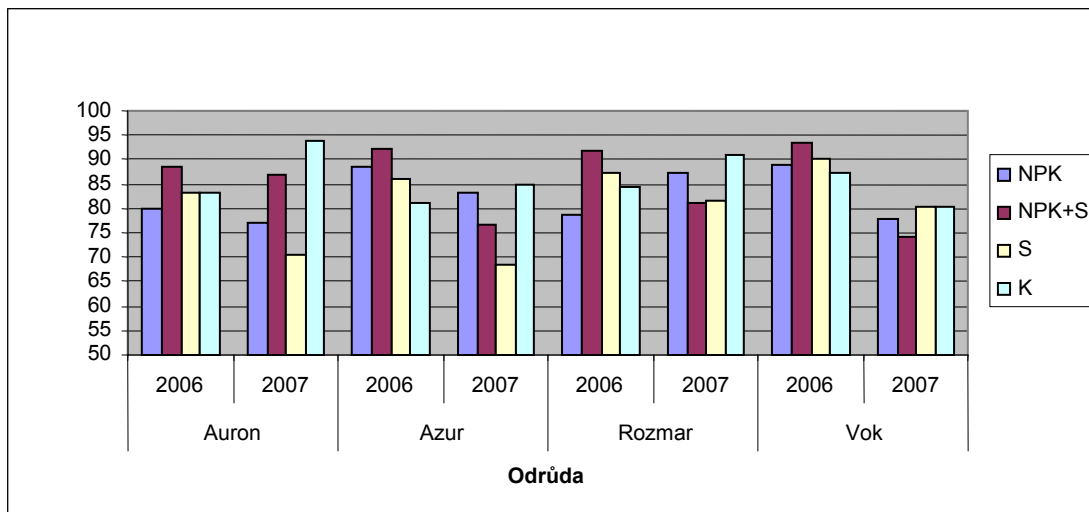
3.4.3. Srovnání klíčivosti v letech 2006, 2007

Při porovnání klíčivosti (tab. 23) u každé varianty v obou letech bylo zjištěno, že nejlepších výsledků dosahovala odrůda Vok, ale pouze v roce 2006. Maximální klíčivosti (93,5 %) bylo dosaženo u varianty ošetřené hnojivem NPK a zároveň Supresivitem. Nejnižší klíčivost (68,5 %) byla zjištěna v roce 2007 u odrůdy Azur, u varianty ošetřené Supresivitem. V grafu 12 jsou dobře patrné rozdíly ošetřených i neošetřených variant.

Tab. 23 Srovnání klíčivosti v letech 2006, 2007 (%)

	Auron		Azur		Rozmar		Vok	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007
NPK	80	77	88,5	83	78,5	87,5	89	78
NPK+S	88,5	87	92,25	76,5	92	81	93,5	74
S	83,25	70,5	86,25	68,5	87,25	81,5	90	80,5
K	83	94	81	85	84,25	91	87,5	80,5

Graf 12 Srovnání klíčivosti v letech 2006, 2007 (%)



3.4.4. Srovnání napadení obilek povrchovou mikroflórou v letech 2006, 2007

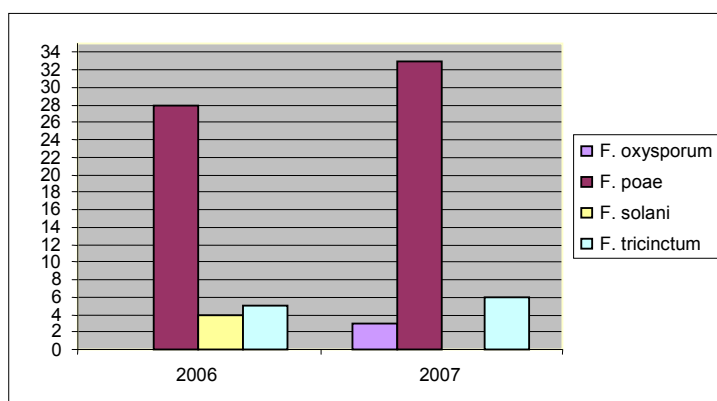
V letech 2006 a 2007 bylo z jednotlivých vzorků obilek ovsa (dle variant) izolováno velké množství různých rodů a druhů fytopatogenních hub. Spektrum a rozsah napadení těchto hub se lišilo jak v ročníku, tak i v odrůdě a způsobu ošetření. Jednoznačně nejvíce vyskytujícím se rodem byl rod *Fusarium*. Při izolaci fytopatogenních hub tohoto rodu z obilek nebyly zjištěny průkazné rozdíly mezi jednotlivými variantami. Majoritním druhem byl druh *Fusarium poae*, který byl přítomen téměř ve dvou třetinách vzorků.

V tab. 24 a grafu 13 je uveden počet získaných izolátů v jednotlivých letech. V následující tabulce (tab. 25) je znázorněno procentické napadení obilek ovsa tímto rodem.

Tab. 24 Počet izolátů *Fusarium* spp. ze vzorků obilek v letech 2006, 2007

patogen	2006	2007
<i>Fusarium oxysporum</i>	0	3
<i>Fusarium poae</i>	28	33
<i>Fusarium solani</i>	4	0
<i>Fusarium tricinctum</i>	5	6

Graf 13 Počet izolátů *Fusarium* spp. ze vzorků obilek v letech 2006, 2007



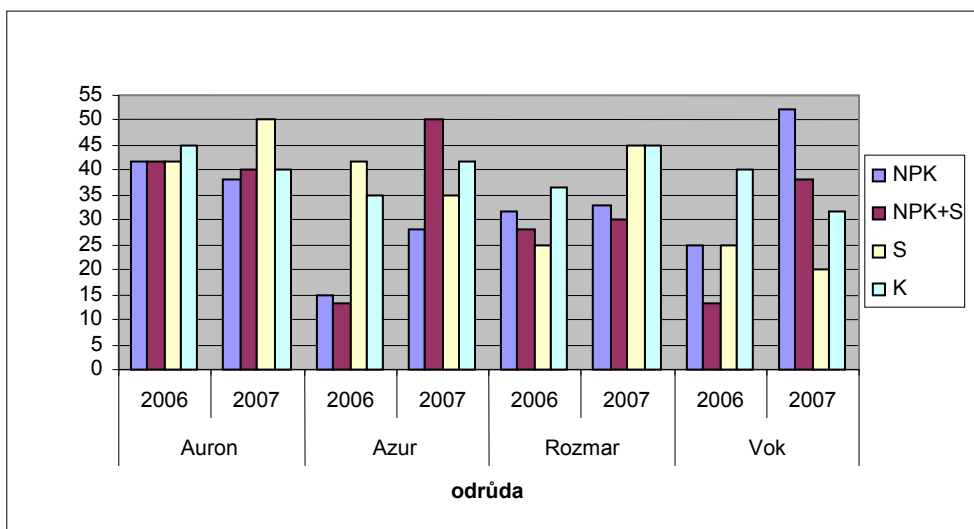
Zjištěné procento napadených obilek rodem *Fusarium* je uvedeno v tab. 25. Jedná se o průměrné procentické napadení zrn ze 3 opakování u každé varianty ošetření.

Podíl zrn napadených fuzárií kolísal od 13,3 do 52 %. Nejvyššího průměrného napadení (52%) dosahovala odrůda Vok v roce 2007 u varianty ošetřené NPK hnojivem. Nejnižší procentické napadení (13,3%) vykazovala odrůda Azur a Vok u variant ošetřených NPK a Supresivitem a to v roce 2006.

Tab. 25 Průměrné procentické napadení obilek houbami *Fusarium* spp. v letech 2006, 2007

	Auron		Azur		Rozmar		Vok	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007
NPK	41,7	38,0	15,0	28,0	31,7	33,0	25,0	52,0
NPK+S	41,7	40,0	13,3	50,0	28,3	30,0	13,3	38,3
S	41,7	50,0	41,7	35,0	25,0	45,0	25,0	20,0
K	45,0	40,0	35,0	41,7	36,7	45,0	40,0	31,7

Graf 14 Průměrné procentické napadení obilek houbami *Fusarium* spp. v letech 2006, 2007

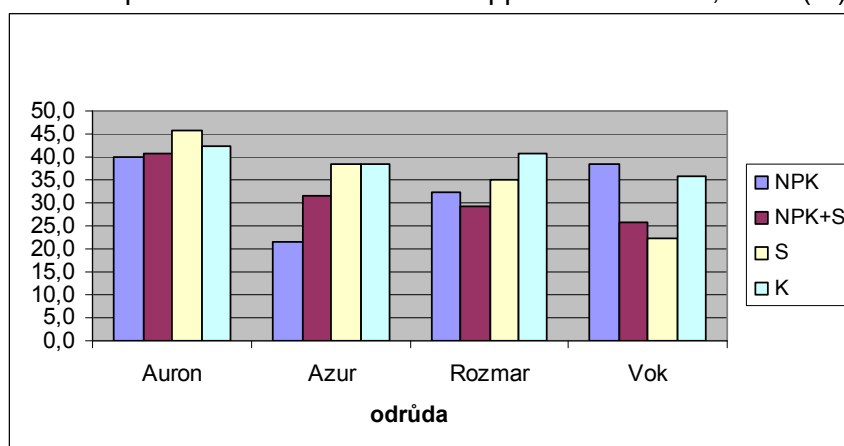


V tab. 26 jsou shrnuty průměrné hodnoty z obou sledovaných let současně. Nejnižší celkové napadení obilek houbami *Fusarium* spp. v obou letech bylo zjištěno u odrůdy Azur (21,7%), u varianty ošetřené hnojivem NPK obohaceném o mykoparazitickou houbu *T. harzianum*. Nejvyšší celkové napadení bylo u odrůdy Auron (45,8%), u varianty ošetřené Supresivitem. V tomto případě průměr zvyšuje vyšší výskyt napadení patogenem v roce 2007, kdy byl účinek biopreparátu Supresivit, vzhledem k méně příznivým klimatickým podmínkám pro mykoparazitickou houbu *T. harzianum*, nižší.

Tab. 26 Průměrné napadení houbami *Fusarium* spp. v letech 2006, 2007 (%)

varianta	Auron	Azur	Rozmar	Vok
NPK	40,0	21,7	32,5	38,3
NPK+S	40,8	31,7	29,2	25,8
S	45,8	38,3	35,0	22,5
K	42,5	38,3	40,8	35,8

Graf 15 Průměrné napadení houbami *Fusarium* spp. v letech 2006, 2007 (%)



3.4.5. Statistické vyhodnocení pokusu

Statistické vyhodnocení povrchové mikroflóry ve dvouletém pokusu bylo provedeno pouze u napadení houbami rodu *Fusarium*, jelikož ostatní rody se nevyskytovaly v tak hojně míře. Hodnocení bylo provedeno pouze základními statistickými metodami, kterými byly průměr, medián, modus, směrodatná odchylka, maximum a minimum. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce (tab. 27). Hodnocení bylo zpracováno pro všechny varianty jednotlivých odrůd.

Průměr nám udává hodnotu, získanou aritmetickým průměrem všech výsledků (soubor dat) procentického zastoupení napadení hub rodu *Fusarium* od jednotlivých variant. Medián je prostřední hodnota dle velikosti uspořádaného souboru dat. Modus

nám vyjadřuje nejčastěji se vyskytující nebo opakující se hodnotu ve vybrané oblasti dat a směrodatná odchylka, jak se hodnoty liší od průměrné hodnoty (střední hodnoty). Maximum a minimum určuje maximální a minimální hodnotu (procentický výskyt napadení).

Z tabulky můžeme vyčíst, že nejvíce náchylnou odrůdou na napadení houbami rodu *Fusarium* byla jednoznačně odrůda Auron, nejméně odrůda Azur.

Tab. 27 Statistické vyhodnocení výskytu napadení houbami rodu *Fusarium*

Auron						
varianta	průměr	medián	modus	směr. odchylka	max	min
NPK	40,0	42,5	45,0	42,5	55,0	25,0
NPK+S	40,8	45,0	-	20,1	65,0	10,0
S	45,8	45,0	30,0	14,3	70,0	30,0
K	42,5	42,5	45,0	9,5	60,0	30,0
Azur						
varianta	průměr	medián	modus	směr. odchylka	max	min
NPK	21,7	20,0	20,0	20,0	35,0	10,0
NPK+S	31,7	20,0	10,0	25,4	80,0	10,0
S	38,3	37,5	30,0	7,5	50,0	30,0
K	38,3	42,5	20,0	13,7	55,0	20,0
Rozmar						
varianta	průměr	medián	modus	směr. odchylka	max	min
NPK	32,5	30,0	30,0	30,0	50,0	15,0
NPK+S	29,2	27,5	-	13,0	50,0	10,0
S	35,0	27,5	20,0	19,1	75,0	20,0
K	40,8	37,5	30,0	11,0	60,0	30,0
Vok						
varianta	průměr	medián	modus	směr. odchylka	max	min
NPK	38,3	30,0	30,0	30,0	75,0	20,0
NPK+S	25,8	27,5	30,0	16,2	55,0	5,0
S	22,5	20,0	20,0	8,0	35,0	10,0
K	35,8	37,5	-	11,3	50,0	15,0

4. Diskuse

V této práci jsem se snažila nastínit problematiku mikroskopických hub u pluchatého ovsa, zejména fytopatogenních hub rodu *Fusarium*, jelikož se vyskytují v mikroflóře obilek nejvíce a z fytopatologického hlediska mají největší význam. Oves byl vybrán jako modelová plodina a pokusy byly založeny jako maloparcelkové na školním pozemku Jihočeské Univerzity, katedry rostlinné výroby. Byly prováděny na odrůdách Auron, Azur, Rozmar a Vok.

Maloparcelkové pokusy byly provedeny ve dvou po sobě jdoucích letech 2006 a 2007. Během vegetace byl porost ošetřen u vybraných variant hnojivem NPK obohaceném o *T. harzianum* a biopreparátem Supresivit. Dále byla během vegetace třikrát provedena kontrola zdravotního stavu porostu. V obou letech nebylo zjištěno významné napadení chorobou ani škůdcem, což dokazuje, jak uvádí např. Moudrý (1993), že je oves plodinou s fyto-sanitárním účinkem, který je zejména houbovými patogeny ze všech obilnin nejméně napadán.

Vedlejšími pokusy bylo hodnocení objemové hmotnosti, hmotnosti tisíce zrn a klíčivosti. Podle Prugara (cit. Dostálová, 1992) jakost zrna ovsa kolísá v dosti širokých mezích v závislosti na odrůdě, na klimatických podmínkách během vegetace, na posklizňové úpravě, skladovacích podmínkách atd. V našem případě byly hodnoty výnosových charakteristik nejvíce ovlivněny povětrnostními a klimatickými podmínkami.

Výsledky klíčivosti byly velice rozdílné, jak mezi jednotlivými variantami, tak i odrůdami, a to především v roce 2007, kdy bylo vyšší procentické napadení fytopatogenních hub, které nepřímo působí na klíčivost zrn. Bezdíčková (2006) uvádí, že škodlivost fuzárií v klasech spočívá nejen ve snížení výnosu, ale zejména v horší kvalitě produkce – nižší HTZ, snížení klíčivosti a energie klíčení, což bylo potvrzeno i v našem pokusu. Hmotnost tisíce zrn se u jednotlivých variant a odrůd výrazně neměnila, je to dáno tím, že je to odrůdový znak (geneticky podmíněný), tím je tedy méně ovlivněn způsobem ošetření během vegetace.

V analýze povrchové mikroflóry obilek ovsa bylo identifikováno široké spektrum hub, především zástupci rodu *Fusarium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Verticillium*, *Mucor* a *Penicillium*. K obdobným výsledkům při sledování hub na ovsu dospěla také Drastichová (2005), která se zabývala hlavně rody *Fusarium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Cladosporium* a *Verticillium*. Rod *Fusarium* byl ze čtyř zjištěných druhů (*F. poae*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. tricinctum*) nejvíce zastoupen druhem *F. poae*. K tomuto zjištění dospěli i Clear (1996), Basiňsky *et al.* (2003) a Tekauz *et al.* (2004) (cit. Drastichová, 2005). Druhým nejčastěji se vyskytujícím zástupcem byl druh *F. tricinctum* a byl odizolován v obou letech. *F. oxysporum* bylo odizolováno jen v roce 2007 a *F. solani* naopak v roce 2006. Z ostatních

fytopatogenních hub nejvíce napadal oves rod *Alternaria*. Spousta autorů uvádí, že *Alternaria* sp. potřebuje pro svůj vývoj vysokou relativní vzdušnou vlhkost (Drastichová, 2005), v našem případě, ale byl jak rok 2006 tak i rok 2007 rokem suchým. Vyšší výskyt rodu *Alternaria* v suchých letech popsali Troutt a Levetin (2001).

Při porovnání jednotlivých variant ošetření a jednotlivých odrůd, byla nejméně napadána fytopatogenními houbami odrůda Azur nejvíce pak odrůda Auron. Ve variantách ošetření bylo prokázáno, že ošetření pouze minerálním hnojivem NPK obohaceném o houbu *T. harzianum*, na začátku vegetačního období pěstovaného ovsa, významně neovlivňuje napadení fytopatogenními houbami. U ošetření ovsa biopreparátem Supresivit (foliární aplikace) bylo napadení patogenními houbami ovlivněno ročníkem, přesněji vlivem počasí. Nevýhodou biopreparátu je, že jeho účinnost je z velké části ovlivněna přírodními podmínkami. V roce 2006 byly tyto podmínky příznivější. V místech, kde se *T. harzianum* uchytila, částečně dokázala snížit procento napadení. Avšak v roce 2007 byly podmínky pro růst a vývoj zcela nepříznivé, tímto se *T. harzianum* nedokázala konkurenčně prosadit a proto nebyl potvrzen účinek biopreparátu Supresivit. O jednoznačně pozitivním vlivu *T. harzianum* na potlačení parazitických hub přenosných půdou a vyskytující se i na povrchu rostliny pojednává Hýsek a Vach (2007), v tomto případě se ale jednalo o ošetření biopreparátem Supresivit ve formě mořidla a ve formě směsi se síranem amonným. Naopak Hudec (2007c) o *T. harzianum* ve svém článku o klasových fuzariózách píše, že je velice perspektivní antagonist a hyperparazit fuzárií, ale z hlediska fuzarióz klasů je její použití omezené a málo účinné.

Ačkoli výzkumná hypotéza napovídala, že pokud by houba *Trichoderma harzianum* dokázala konkurenčně obstát při foliární aplikaci, mohlo by dojít k potlačení výskytu *Fusarium* spp. podobně, jak je uvedeno v řadě prací o využití mykoparazitických hub v jiných systémech s foliární aplikací a vyplývá i ze souhrnu o využití hub rodu *Trichoderma* v boji proti houbovým patogenům rostlin (Ranasingh *et al.*, 2006), v pokusech provedených při řešení méj práce se tato hypotéza nepotvrdila.

5. Závěr

Cílem této práce bylo zjištění výskytu a zastoupení mikroskopických hub na obilkách pluchatého ovsa, dle různých variant ošetření. Dalším hodnocením bylo vyhodnocení výnosových charakteristik a obsah výskytu mykotoxinu DON v obilkách.

Výsledky dvouletých pokusů potvrdily, že mezi jednotlivými variantami ošetření ve většině případů nebyly ve výnosových charakteristikách zjištěny výrazné rozdíly. Jen u objemové hmotnosti sklizeného zrna v roce 2006 byly naměřeny vyšší hodnoty u ošetřených variant hnojivem NPK a u variant s hnojivem NPK a přípravkem Supresivit, tomu odpovídá fakt, že ošetření těmito přípravky má pozitivní vliv na objemovou hmotnost sklizeného zrna. Výjimku tvořily vzorky v roce 2007, kdy byly naměřeny vyšší nebo téměř stejné hodnoty oproti ostatním variantám, u variant ošetřených Supresivitem a kontrolních variant, tedy neošetřených. To je možné přisuzovat extrémním klimatickým podmínkám v tomto roce, kdy bylo během vegetace velmi teplo s minimálními srážkami. Nejlepších výsledků dosahovala odrůda Azur v roce 2007, varianta ošetřená Supresivitem (512,5g/l).

Ve vyhodnocení hmotnosti tisíce zrn nebyly téměř žádné rozdíly mezi jednotlivými variantami ošetření. Tím se potvrdilo, že HTZ je znakem odrůdovým a je značně geneticky fixována. Nejvyšších hodnot vykazovala odrůda Auron, což podle charakteru těchto odrůd odpovídá. Standardní hodnoty u jednotlivých odrůd však nebyly jak u HTZ tak u objemové hmotnosti v obou letech dosaženy.

Výsledky klíčivosti byly nepřímo ovlivněny napadením fytopatogenních hub. Čím bylo větší procento napadení, tím byla klíčivost nižší. Nejnižší celkové klíčivosti dosahovala v roce 2006 odrůda Auron a v roce 2007 odrůda Vok. Hodnoty též odpovídaly způsobu ošetření. Ve vzorcích, kde byla během vegetace aplikována *T. harzianum* spolu s hnojivem NPK, byly výsledky klíčivosti nejvyšší a u kontrolních variant byly pak hodnoty v řadě případů nejnižší. Tomu tak bylo v roce 2006. Rok 2007 byl velmi variabilní a výsledky neodpovídaly způsobu ošetření. Pravděpodobně byla klíčivost ovlivněna opět extrémními klimatickými podmínkami během vegetace, panujícími v tomto roce, kdy se po aplikaci biopreparátu Supresivit, tedy bioagens houba *T. harzianum* nedokázala vzhledem k nepříznivým podmínkám dostatečně projevit a v některých případech byla zcela potlačena.

V analýze povrchové mikroflóry obilek ovsa bylo identifikováno široké spektrum hub. Mezi majoritní rody izolované z ovsa patřil především rod *Fusarium*, který se vyskytoval na obilkách v rozmezí od 13,3% do 45% v roce 2006 a v roce 2007 od 20% do 52%. Napadení zrn ovsa ostatními houbami bylo vyhodnoceno společně a pohybovalo se v roce 2006 v rozmezí od 1,7% do 13,3 % a v roce 2007 od 1,7% do 15%. Z těchto hub se nejvíce vyskytoval rod *Alternaria* a *Mucor*, což je běžná mykoflóra povrchu obilek.

V roce 2007 bylo zjištěno vyšší napadení obilek fytopatogenními houbami. Dalo by se předpokládat, že v tomto roce bude napadení houbami nižší, ale vzhledem k tomu, že *T. harzianum* neměla pro svůj rozvoj zcela optimální podmínky, nemohlo dojít k potlačení výskytu patogenních hub.

U jednotlivých variant ošetření se nepodařilo prokázat, že aplikace bioagens *Trichoderma harzianum* do fyloplánu má jednoznačný efekt na potlačení výskytu *Fusarium* spp. I přesto, že *T. harzianum* byla ze vzorků osiva odizolována, v řadě případů kdy byla aplikace provedena, docházelo běžně k výskytu obou sledovaných rodů hub současně. Proto lze říci, že *T. harzianum* nemá schopnost významně potlačit výskyt hub rodu *Fusarium* v obilkách. Tomu odpovídají i výsledky kontrol, kdy nižší výskyt *Fusarium* spp. lze přisuzovat spíše vlivu podmínek.

Ačkoli se tato aplikace jevila jako perspektivní, dosažené výsledky neodpovídají hypotéze, že může dojít k výraznému snížení výskytu *Fusarium* spp. v obilkách při aplikaci biopreparátu Supresivit, obsahující houbu *T. harzianum*.

Vysvětlují si to tím, že *T. harzianum* jako primárně půdní houba je ve fyloplánu vystavena vyššímu konkurenčnímu tlaku a nepříznivé podmínky (extrémní teploty, bezesrážkové období) snižují možnost napadení fytopatogenních hub, jak by k tomu docházelo v půdě. To znamená, že ve fyloplánu obilnin je tato houba značně diskriminována a její projevy jako mykoparazita jsou omezeny a nedokáže se konkurenčně prosadit proti ostatním houbám, zejména rodu *Fusarium*, které dokáže lépe napadat v půdních podmínkách. V případě, že má vhodné podmínky podobné půdnímu prostředí je konkurence schopná. V porovnání výsledků z obou let, byly tyto podmínky pro *T. harzianum* mnohem příznivější v roce 2006. Odpovídají tomu i klimatické charakteristiky.

Při stanovení obsahu DON v obilkách byly všechny vzorky v obou letech podlimitní. Nejvyšších hodnot bylo v roce 2006 naměřeno u odrůdy Auron (varianta ošetřená NPK hnojivem, varianta NPK+Supresivit) a v roce 2007 u odrůdy Vok (varianta NPK+Supresivit, kontrolní varianta). Nutno dodat, že obě tyto odrůdy vykazovaly nižší výnosové charakteristiky, zejména nižší objemovou hmotnost a klíčivost. Při analýze povrchové mikroflóry vykazovaly naopak vyšší procento napadení fytopatogenními houbami.

Základním kritériem pro hodnocení těchto pokusů bylo zjistit vliv mikroskopických hub na kvalitu a zdravotní nezávadnost ovsa. Skutečnost, že ani u jediné analýzy vzorků nebyl prokázán hygienicky závadný obsah mykotoxinu DON poukazuje na to, že produkce ovsa se jeví jako velice kvalitní.

6. Seznam literatury

1. Bezdíčková, A. (2006): Fuzária v klasech ozimé pšenice – možnosti ochrany, Agromanuál, roč. 1, č. 6, str. 16-17.
2. Čača, Z. (1990): Ochrana polních a zahradních plodin, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, ISBN 80-209-0171-X.
3. Čača, Z., Kollár, V., Novák, J., Zvára, J. (1981): Zemědělská fytopatologie, Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
4. Dawson, W. A. J. M., Jestoi, M., Rizzo, A., Nicholson, P., Bateman, G. L. (2004): Field evaluation of fungal competitors of *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*, causal agents of ear blight of winter wheat, for the control of mycotoxin production in braun, In: Biocontrol Science and Technology, (Vol. 14) (No. 8) 783-799.
5. Diviš, J., Jůza, J., Moudrý, J., Vondryš, J. (2000): Pěstování rostlin, JČU, Zemědělská fakulta, České Budějovice, ISBN 80-7040-456-6.
6. Dostálová, J. (1992): Uplatnění ovsu v lidské výživě (výživa a potraviny), Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha.
7. Drastichová, K. (2005): Faktory ovlivňující mykotoxikologickou kvalitu ovsu, Jihočeská univerzita, České Budějovice, ISBN 80-7040-834-0.
8. Dušková, E. (1996): Biopreparáty proti chorobám rostlin, Úroda, 2/96, Praha, str. 14.
9. Elad Y., Chet I., Boyle P., Henis Y., (1983): Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinium rolfsii* – Scanning electron microscopy. Phytopathology 73: 85 – 88.
10. Fassatiová, O. (1979): Plísně a vláknité houby v technické mikrobiologii (Příručka k určování), SNTL, Praha.
11. Gerlach, W., Nirenberg, H. (1982): The Genus *Fusarium* : a pictorial atlas, Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, Berlin, ISBN 3-489-20900-1.
12. Hájková, M. (1996): Fuzariózy obilovin, Úroda, 2/96, Praha, str. 12.
13. Háni, F., Makeš, M., Lokaj, Z. (1993): Obrazový atlas chorob a škůdců polních plodin: příručka ochrany rostlin v integrované produkci, Scientia, Praha, ISBN 3-906679-03-9.
14. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. (2004): Nature Reviews Mikrobiology. 2 (1): 43-56.
15. Harman, G. E. (2006): Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp., In: Phytopathology 96, 190-194.
16. Hoog, G. S. de, Guarro, J., Gene, J., Figueras, M. J. (2000): Atlas of clinical fungi, 2nd. ed., vol. 1., Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.

17. Hrdý, I., Veselý, D. (1991): Biotechnologie v ochraně před nemocemi kulturních rostlin, In: Biopesticidy v zemědělství, Mze, Praha.
18. Hudec, K. (2007a): Exkurzia do sveta fuzáriotoxínov - 1. část, Vznik a výskyt fuzáriotoxínov v obilninách, riziká pre človeka a zvieratá, Nové Agro, Agro tisk, Hradec Králové, 0. roč., 2/2007, str. 24-29.
19. Hudec, K. (2007b): Exkurzia do sveta fuzáriotoxínov - 2. část, Prehľad a charakteristika najdôležitejších fuzáriotoxínov, Nové Agro, Agro tisk, Hradec Králové, 0. roč., 3/2007, str. 13-16.
20. Hudec, K. (2007c): Exkurzia do sveta fuzáriotoxínov - 3. část, Prevencia a možnosti ochrany proti tvorbe mykotoxínov v zrnách obilnín, Nové Agro, Agro tisk, Hradec Králové, 0. roč., 4/2007, str. 18-22.
21. Hýsek, J., Vach, M. (2006): Diagnostika a hodnocení fytopatogenních hub rodu *Fusarium* (Posuny v houbovém spektru po aplikaci biopreparátů při pěstování jarního ječmene), In: Diagnostika a hodnocení chorob rostlin, se zaměřením na obilniny, Odborný seminář, VÚRV Praha, ISBN 80-86555-92-5.
22. Hýsek, J., Vach, M. (2007): Biologická interakce mezi patogeny a antagonistickými organismy u jarního ječmene, In: Interakce mezi rostlinami a patogenními mikroorganismy, 5. odborný seminář, VÚRV Praha, ISBN 978-80-87011-08-9.
23. Chaverri P., Castlebury L.A., Samuels G.J., Geiser D.M. (2003). Multilocus phylogenetic structure of *Trichoderma harzianum/Hypocrea lixii* complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27: 302–313.
24. Chu, Y. M., Jeon, J. J., Yea, S. J., Kim, Y. H., Yun, S. H., Lee Y. W., Kim, K. H. (2002): Double-Stranded RNA Mycovirus from *Fusarium graminearum*, In: *Applied and Environmental Microbiology*, May 2002, Vol. 68, No. 5, 2529-2534.
25. Jesenská, Z. (1993): Micromycetes in foodstuffs and feedstuffs, progress in industrial microbiology, vol. 28, Institut of Preventive and Clinical Medicine, Bratislava.
26. Kalabus, J., (2007): Budou fuzariózy nebezpečím pro ječmenářství?, *Rostlinolékař*, 3/07, Profi Press, Praha, 15-17.
27. Kazda, J. a kol. (2003): Choroby a škůdci polních plodin, ovoce a zeleniny, vydavatelství odborných časopisů Zemědělec, Úroda, Praha, ISBN 80-86726-03-7.
28. Klein D., Eveleigh D. E. (1998): Ecology of *Trichoderma*. In: *Trichoderma and Gliocladium*. Basic biology, taxonomy and genetics. Vol.1, 57-74.
29. Kubátová, A. (2001): Prototunikační askomycety a anamorfy Hypocreales, manuskript, Praha.
30. Kubicek CH. P., Harman G. E. (1998): *Trichoderma* and *Gliocladium*. Basic biology, taxonomy and genetics. Vol.1, s. 277.

31. Kuhls K., Lieckfeldt E., Börner T., Guého E. (1999): Molecular reidentification of human pathogenic *Trichoderma* isolates as *Trichoderma longibrachiatum* and *Trichoderma citrinoviride*. *Medical Mycology* 37: 25–33.
32. Kúdela, V. (1989): *Obecná fytopatologie*, Academia, Praha, ISBN 80-200-0156-5.
33. Lewis J.A., Papavizas G.C. 1987: Application of *Trichoderma* and *Gliocladium* in alginate pellets for control of *Rhizoctonia* damping-off. *Plant Pathology*, 36:438-446.
34. Moudrý, J, Kalinová, J., Štěřba, Z. (2003): Kvalita potravinářského ovsa, *Úroda*, 4/03, Praha, str. 33-35.
35. Moudrý, J. (1993): *Základy pěstování ovsa*, Institut výchovy a vzdělávání ministerstva zemědělství ČR, Praha.
36. Moudrý, J., Štěřba, Z. (1997): Budeme pěstovat oves?, *Farmář*, 3. roč., č. 6, měsíčník pro zemědělce, Praha, s. 20-21.
37. Nesrsta, M. (1991): Produkce antibiotik a toxinů rodu *Trichoderma*, In: *Biotechnologie v integrované ochraně*, ZD Blatnice, 9-27.
38. Okrouhlá, M. (1993): Biologické zdroje pro nechemickou ochranu rostlin (II. Deuteromycetes, *Tichoderma harzianum* Rifai aggr.), Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha.
39. Ort, P. (2007): Fuzariózy-nebezpečné choroby obilnin, *Obilnářské listy*, 15. roč., 3/2007, Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž.
40. Ostrý, V. (1998): *Vláknité mikroskopické houby (plísňě), mykotoxiny a zdraví člověka*, Státní zdravotní ústav, Praha, ISBN 80-7071-102-7.
41. Papavizas, G. C. (1985): *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Annual of Review of Phytopathology*, 23: 23-54.
42. Polišenská, I., Nedomová, L., Tvarůžek, L. (2007): Fuzáriové mykotoxiny v ovsu, *Obilnářské listy*, 12. roč, 1/07, str. 9-11.
43. Prokinová, E. (2007): Osivo obilnin – významný zdroj původců chorob rostlin, *Agromanuál*, 2.roč., 9/10, str. 20-22.
44. Pulkrábek, J., Capouchová, I., Hamouz, K. (2003): *Speciální fyto technika*, Česká zemědělská univerzita, Praha, ISBN 80-213-1020-0.
45. Ranasingh, N., Saurabh, A., Nedunchezhiyan, M. (2006): Use of *Trichoderma* in Disease Management, In: *Orissa Review*, 9/10, 68-70.
46. Říha, K., Kraus, P. (2006): Doplněk k problematice klasových chorob pšenice ozimé, *Agromanuál*, 1. roč., 6, str. 18.
47. Samson, R.A.; Hoekstra, E. S.; Frisvald, J. C.; Filtenborg, O.(1996): *Introduction to Food-borne Fungi*, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands .

48. Sivan A., Chet I. (1989): The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology*, 79 (2): 198-203.
49. Sychrová, E., Chrpová, J., Šíp V. (2006): Klasové fuzariózy; Výskyt, infekčnost, bionomie a ochrana obilnin, Agromanuál, roč. 1, č. 6, str. 20-21.
50. Šarapatka, B., Urban, J. a kol. (2003): Ekologické zemědělství: učebnice pro školy i praxi, I. díl, MŽP, Praha, 80-7212274-6.
51. Šašková D. (1993): Trávy a obilí, Artia/Granit, Praha, str.39-41.
52. Šilhánková, L.(2002): Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology, Academia, Praha, ISBN 80-200-1024-6.
53. Širučková, I., Kroutil, P. (2007): Fuzariózy na obilninách, Mze ve spolupráci s SRS, Praha.
54. Thomke, S. (1998): Oats as an animal feed, Proceedings of 3rd International Oat Conference, Lund, Svalof AB, Sweden, s. 164-175.
55. Valentine, J. (1995): Naked oats, In: Welch, R. W. et al.: The Oat Crop. Production and utilization. Chapman & Hall, London, s. 504-532.
56. Váňa, J. (1998): Systém a vývoj hub a houbových organismů, Karolinum, Praha, ISBN 80-7184-603-1.
57. Veselá D. (1986): Biologická ochrana proti chorobám kořenů vzcházejících rostlin. Sborník referátů, „Biotechnologie v integrované ochraně rostlin“ – Mykopreparáty československé výroby a jejich využití v ochraně polních kultur., 18.9. 1986, VÚRV Praha-Ruzyně.
58. Whipps JM, Lumsden RD. (2001): Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects. In: Butt T, Jackson C, Magan N, eds. Fungal biocontrol agents—progress, problems and potential. Wallingford: CAB International.
59. Zvára, J.; Táborský, V.; Šebesta, J.; Veselý, D. (1991): Zemědělská fytopatologie (vybrané kapitoly z obecné části), Vysoká škola zemědělská, Praha, ISBN 80-213-0078-7.

Ostatní zdroje:

www1 - www.agrokrom.cz/texty/pripravky (10.1.2008)

www2 - <http://botany.upol.cz/atlas/system/uvod.php> (10.1.2008)

www3 - <http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/uvod-h.htm> (11.1.2008)

www4 - <http://www.zahradaweb.cz/projekt/clanek.asp?cid=91&pid=2> (10.1.2008)

www5 - <http://biomikro.vscht.cz/trp/documents/savicka/anamorfy/page2.html> (10.1.2008)

Propagační materiály firmy Selgen a.s.

7. Přílohy

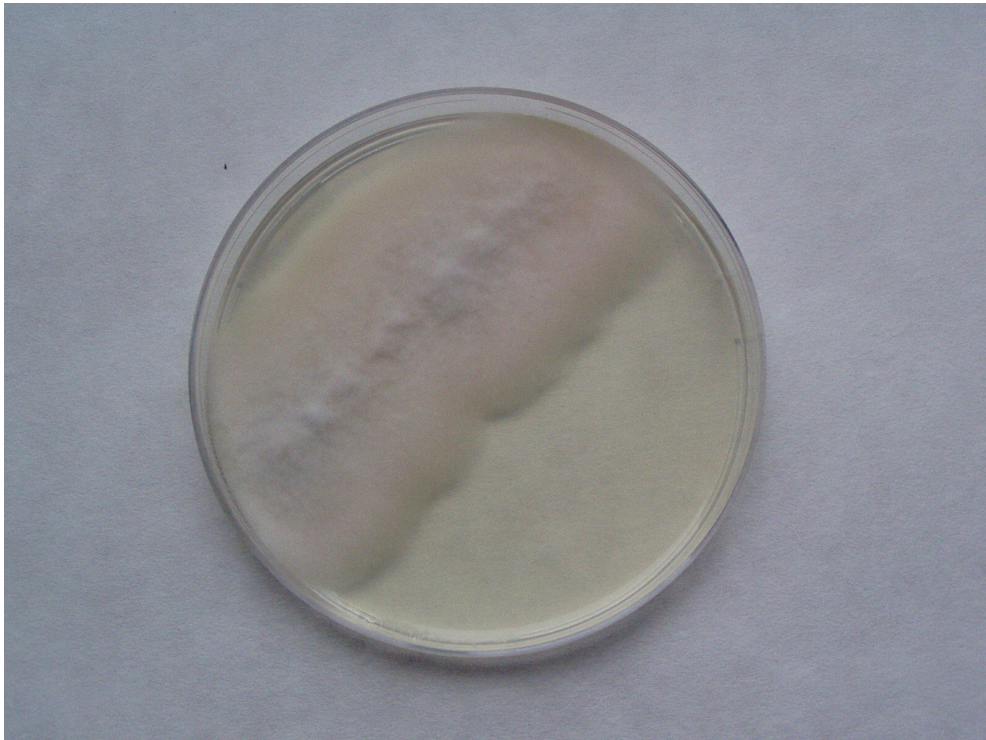
Obr. 1 *Fusarium poae* v čisté kultuře na živné půdě PDA



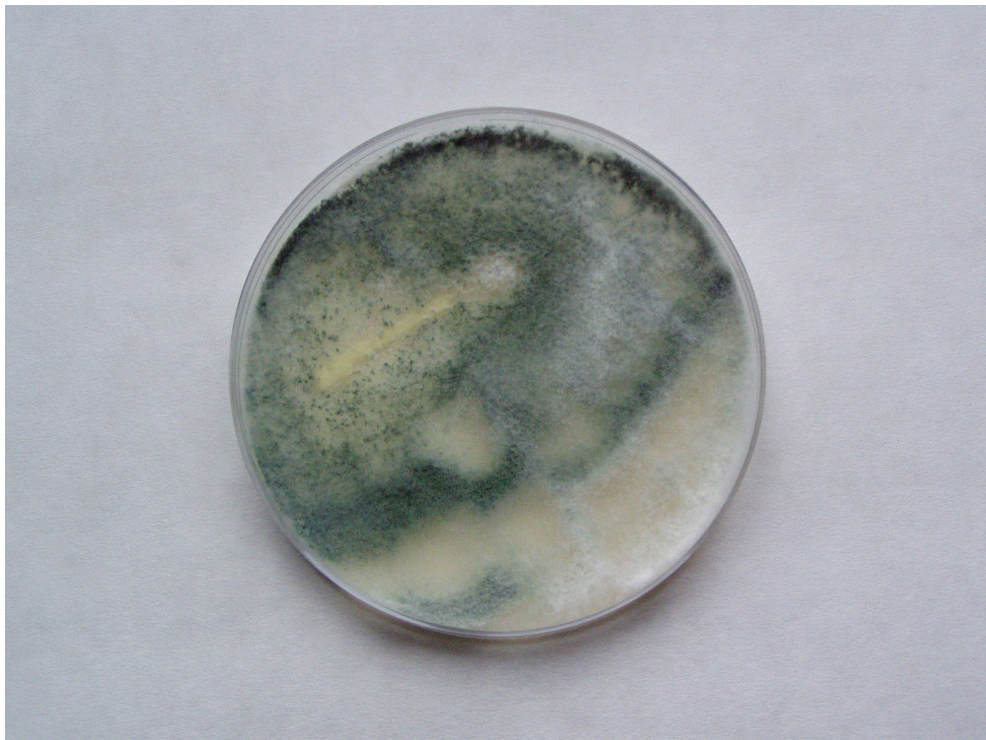
Obr. 2 *Fusarium tricinctum* v čisté kultuře na živné půdě PDA



Obr. 3 *Fusarium oxysporum* v čisté kultuře na živné půdě PDA



Obr. 4 *Trichoderma harzianum* v čisté kultuře na živné půdě PDA



Obr. 5 Kultura patogenních hub s výrazným napadením mykoparazitické houby *T. harzianum* (odrůda Vok, varianta ošetřená biopreparátem Supresivit, 2006)



Obr. 6 Kultura patogenních hub, zejména *Fusarium* spp. , vpravo dole *T. harzianum* (odrůda Auron, varianta ošetřená hnojivem NPK, 2006)

