

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
Zemědělská fakulta**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

VYUŽITÍ ENTOMOPATOGENNÍCH HUB V BIOLOGICKÉ OCHRANĚ  
PROTI MOLICI BAVLNÍKOVÉ *BEMISIA TABACI*

Studijní obor: Všeobecné zemědělství

Specializace: Rostlinolékařství

Vedoucí práce: Prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc.

Autor: Markéta Řehořová

2009

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně, dle zjištěných údajů a použila jsem pouze pramenů, které jsou uvedeny v příloženém seznamu literatury.

V Českých Budějovicích 30. dubna 2009.

.....

## Poděkování:

Za odborné vedení a věcné připomínky děkuji vedoucímu diplomové práce Prof. Ing. Zdeňku Landovi, CSc. a také děkuji Ing. Andree Bohaté, PhD., za její čas a všestrannou pomoc v průběhu zpracování této diplomové práce. Dále děkuji Olze Divišové a Marii Nýdlové za technickou asistenci a pomoc při vyhodnocování pokusů.

## Abstrakt

Práce se zaměřuje na zjišťování účinnosti vybraných druhů a kmenů entomopatogenních hub na synchronizovanou populaci molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*) za optimálních i suboptimálních podmínek. V pokusech byly použity následující druhy entomopatogenních hub: *Aschersonia aleyrodis*, *Lecanicillium lecanii* (dříve *Verticillium lecanii*), *Isaria fumosorosea* (dříve *Paecilomyces fumosoroseus*) a *Bauveria bassiana*. U výše uvedených hub byla zjišťována mortalita v populaci po 7, 14 a 21 dnech. Pokusy byly prováděny za stejných podmínek (teplota, vlhkost) tak, aby jednotlivé výsledky mohly být navzájem porovnávány. U *Isaria fumosorosea* byl založen pokus i v suboptimálních podmínkách, díky čemuž bylo možné srovnat účinnost této významné houby jak v podmínkách optimálních (relativní vzdušná vlhkost 95-100 %, teplota 25±1°C), tak i suboptimálních (relativní vzdušná vlhkost pod 75 %, teplota 25±1°C). Větší pozornost byla také věnována *A. aleyroides*, jedné z nejvýznamnějších hub, jež je důležitým článkem v boji proti molícím (*Aleyrodidae*).

## Abstrakt

The thesis is analyzing effects of selected species and strains of entomopathogenic fungi on the synchronized population of *Bemisia tabaci* under optimal and sub-optimal conditions. The following species of fungi were used during the experiments: *Aschersonia aleyrodis*, *Lecanicillium lecanii* (former *Verticillium lecanii*), *Isaria fumosorosea* (former *Paecilomyces fumosoroseus*) a *Beauveria bassiana*. There was a experiment of mortality of all these fungi in the frequency of 7, 14, and 21 days, while all these experiments were made under the same conditions (concerning temperature and humidity) in order to keep all the results comparable. In the case of *Isaria fumosorosea*, the experiment was taken also under sub-optimal conditions in order to compare effectiveness of this significant fungi, both under the optimal conditions (relative air humidity 95-100 %, temperature 25±1°C), and sub-optimal conditons (relative air humidity bellow 75 %, temperature 25±1°C). Greater attention was also given to *A. aleyrodis* which represents one of the most important fungi on the field of whitefly combat.

## OBSAH

1.	Úvod .....	1
2.	Literární rešerše .....	3
2.1.	Biologická ochrana jako součást integrované ochrany rostlin .....	3
2.1.1.	Integrovaná ochrana rostlin .....	3
2.1.2.	Biologická ochrana rostlin .....	4
2.2.	Molice bavlníková ( <i>Bemisia tabaci</i> ) .....	5
2.3.	Entomopatogenní houby .....	10
2.3.1.	Klasifikace entomopatogenních hub .....	10
2.3.2.	Epizootie .....	11
2.3.3.	Faktory ovlivňující účinnost .....	13
2.3.4.	Charakteristika vybraných rodů a druhů entomopatogenních hub (Deuteromycota) .....	17
3.	Metodika a materiál .....	24
4.	Experimentální část a výsledky .....	30
4.1.	Hodnocení a porovnávání kvality kmenů hub rodu <i>Aschersonia</i> .....	30
4.2.	Hodnocení houby rodu <i>Aschersonie</i> - kmene Aa new .....	36
4.3.	Hodnocení účinnosti <i>A. aleyrodis</i> kmene Aa new na synchronizovanou populaci molice bavlníkové ( <i>Bemisia tabaci</i> ) .....	43
4.4.	Hodnocení účinnosti <i>A. aleyrodis</i> kmene Aa 3 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové ( <i>Bemisia tabaci</i> ) .....	45
4.5.	Hodnocení účinnosti <i>L. lecanii</i> kmene Ll I9 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové ( <i>Bemisia tabaci</i> ) .....	49
4.6.	Hodnocení účinnosti <i>B. bassiana</i> kmene Bba 101 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové ( <i>Bemisia tabaci</i> ) .....	51
4.7.	Hodnocení účinnosti <i>I. fumosorosea</i> kmene PFR 97 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové ( <i>Bemisia tabaci</i> ) .....	53
4.8.	Hodnocení účinnosti <i>I. fumosorosea</i> kmene PFR 97 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové ( <i>Bemisia tabaci</i> ) za optimálních a suboptimálních podmínek .....	55
5.	Závěr a diskuse .....	60
6.	Použitá literatura .....	64
7.	Přílohy .....	75

## 1. ÚVOD

Snaha člověka vypěstovat dostatek plodin pro obživu svoji i chovaných zvířat vedla ve 20. století, především pak v době druhé světové války, k bouřlivému rozvoji fytofarmacie. Výzkumem bojových chemických látek se získaly informace o substancích, jež se později začaly používat jako pesticidy a daly základ výraznému rozvoji jednoho významného odvětví chemického průmyslu. Začala éra neomezeného používání pesticidních přípravků v optimistické víře, že tyto látky zajistí levnou produkci potravin na celém světě.

Dlouhodobé používání těchto přípravků v zemědělství s sebou, bohužel, přineslo negativní vedlejší efekty, které vedly v řadě případů k nutnosti radikálních změn v programech ochrany jednotlivých plodin. Riziko spočívalo a stále spočívá zejména v možnosti jejich nevhodné aplikace vedoucí k otravám necílových organismů, k hromadění jedovatých látek ve vodě, půdě, rostlinných a živočišných organismech a k jejich pronikání do potravních řetězců. Objevily se také problémy s narůstající odolností škůdců a s rezidui pesticidů v přírodním prostředí či ve vyrobených potravinách. Z výše uvedených důvodů logicky vyvstala nutnost nalezení oboustranně výhodného kompromisu. Východiskem by měla být opatření založená na principech integrované ochrany rostlin. Právě tento koncept je důvodem, proč se v mnoha vyspělých státech upírá pozornost k ekologicky šetrným metodám ochrany rostlin před škůdci. Jedná se především o biologickou ochranu, tzn. potlačování škůdců pomocí jejich přirozených nepřátel (mikroorganismů, cizopasníků, dravců), biotechnickou ochranu, využívající přirozených reakcí škůdců na různé podněty (zvuk, pach, světlo apod.), a mechanické a fyzikální způsoby ochrany, tzn. konstrukce bariér nebo pastí, hubení škůdců pomocí extrémních teplot, sucha apod. Vzhledem k silným tlakům ze strany ekologicky smýšlející veřejnosti, která chemickou ochranu rostlin více či méně odmítá a považuje ji za vážnou hrozbu, již nelze počítat s jejím pokračujícím masovým šířením, minimálně co se evropského kontinentu týče. Ekologické nastavení soudobé společnosti většiny vyspělých zemí také výrazně přispělo k rostoucímu významu vývoje nových přípravků na bázi přirozených nepřátel a nejen odborníci dnes vítají každou novou informaci v tomto oboru. Smutným faktem však zůstává, že navzdory existenci celé řady poznatků z oblasti této ekologicky šetrné metody ochrany, je její současné využití v praxi a záležitostí značně okrajovou.

Výše uvedeným jsem se pokusila naznačit důvod volby mého diplomového tématu a zároveň vytyčit hlavní cíl mé práce, tzn. ověření poznatků z oblasti biologické ochrany, konkrétně pak využití entomopatogenních hub při regulaci četnosti populací molice bavlníkové.

## **2. LITERÁRNÍ PŘEHLED**

### **2.1. Biologická ochrana jako součást integrované ochrany rostlin**

#### **2.1.1. Integrovaná ochrana rostlin**

Snaha člověka zabránit ztrátám a zlepšovat kvalitu produktů vedla k postupnému vývoji nejrůznějších systémů a metod ochrany (Pultar 1994). Hlavní odlišnosti pěstitelských technologií konvenčního a trvale udržitelného zemědělství se projevují v oblasti umělé výživy rostlin a v ochraně rostlin proti biotickým škodlivým činitelům. A spotřeba umělých hnojiv a syntetických organických pesticidů představují nejvýznamnější parametry „konvenčnosti“ resp. „trvalé udržitelnosti“ pěstitelských technologií.

Základní principy integrované ochrany rostlin (IOR) byly definovány na počátku 60. let minulého století jako teoretická a praktická alternativa vůči explozivnímu nárůstu spotřeby a globální aplikaci syntetických pesticidů, zejména nové generace organických insekticidů. Klasická definice FAO z roku 1967 charakterizuje integrovanou ochranu rostlin jako „Komplexní systém opatření, zaměřených na regulaci četnosti populací škůdců s ohledem na ekologické, ekonomické, toxikologické a hygienické požadavky, se záměrem udržet četnost populací škůdců na tolerovatelné úrovni, při záměrném preferování a vědomém využívání přirozených metod regulace populace škůdců“ (Landa 2002).

Jedná se o ekologický přístup k potlačování škodlivých organismů. Integrovaná ochrana rostlin zahrnuje výběr, integraci a provádění ochranných opatření na základě předpověditelných ekonomických, ekologických a sociologických důsledků. Zavedením integrované ochrany jsou naplňovány požadavky na zemědělskou produkci, která musí být: ekonomicky efektivní, bezpečná tj. nesmí nepříznivě působit na produkční schopnost agroekosystému a životní prostředí, musí poskytovat zdravé, vysoce kvalitní produkty prosté jakýchkoliv pro zdraví člověka rizikových látek.

Cílem IOR je:

- redukce (minimalizace) ztrát způsobených škodlivými organismy
- zvýšení čistého užítku pěstitele
- minimální poškození životního prostředí
- minimální nebo žádné riziko na zdraví lidí a zdraví zvířat (Kocourek 1994).

Současné definice IOR zvyšují důraz na záměrné využívání biologických a bioracionálních metod regulace populací škůdců, což je reakce na skutečnost, že IOR je již zcela běžně zaměňována a prezentována jako „usměrněná aplikace pesticidů“ resp. „cílená

chemická ochrana“. V současnosti je používáno definiční kontinuum IOR oscilující do integrované ochrany konvenční až po integrovanou ochranu bio-intenzivní. Bio-intenzivní IOR, na rozdíl u konvenční IOR, vylučuje používání syntetických pesticidů a jen v krajních a jasně definovaných případech připouští omezené využívání přípravků bio-racionálních (Landa 2002).

### **2.1.2. Biologická ochrana rostlin**

V současné době jsou výzkumné programy na úseku integrované ochrany soustředěny na maximalizaci využívání biologických metod ochrany. Největší objem výzkumných projektů je dnes soustředěn na vývoj selektivních insekticidů a biologických prostředků proti živočišným škůdcům. Pro toto zaměření jsou dva hlavní důvody: zoocidy představují největší zátěž na životní prostředí a proti živočišným škůdcům je známá řada přirozených antagonistů, které představují zdroj pro alternativní (nechemické) způsoby ochrany (Kocourek 1994).

Je známo několik paralelně používaných definic biologické ochrany rostlin, které se liší obsahovou náplní kategorie „biologický“, která může oscilovat v kontinuu od úzkého až po velmi široké pojetí. Biologickou ochranu je možno definovat velmi úzce jako „Záměrné využívání přirozených nepřátel s cílem regulovat populace škůdců, chorob a plevelných rostlin“ až velmi široce, kdy spolu s přirozenými nepřáteli a antagonisty jsou do kategorie „biologický“ zahrnovány i metody agrotechnické (Landa 2002).

Podle Kocourka (1994) biologicky intenzivní metody ochrany proti škodlivým organismům zahrnují:

- vlastní biologické metody – predátory, parazitoidy, entomopatogenní viry, bakterie, houby, prvoky, nematody
- biotechnologické metody ochrany – autocidní metoda (sterilizace samců), regulátory růstu hmyzu, juvenoidy, metody genetického inženýrství jako jsou selekce a redukce specifických biotypů patogenů škůdců nebo metabolitů patogenů a tvorba transgenních rostlin rezistentních ke komplexu škodlivých organismů
- semiochemikálie – feromony, kairomony, allomony; včetně využití feromonů k přímé ochraně na principu přerušení sexuální komunikace
- rezistentní odrůdy k chorobám a škůdcům (Kocourek 1994).

Základem úspěšného využívání biologické ochrany proti škodlivým organismům, je výběr vhodného přípravku, který se hodí do daného prostředí a podmínek. Je aplikován ve vhodné formulaci a vhodnou aplikační technikou. Pokud má být používání biologické ochrany účinné je velice důležité vystihnout dobu aplikace, posoudit míru poškození porostu a zaujmout správnou strategii v boji proti škodlivým činitelům (Van Driesche, Heinz 2004).

## 2.2. Molice bavlníková (*Bemisia tabaci*)

Molice (*Homoptera, Aleyrodidae*) patří mezi nejnebezpečnější škůdce zemědělsky významných plodin. I když mnoho druhů molic je známo svým škodlivým působením, především dva druhy způsobují obrovské ekonomické ztráty v zemědělských porostech: jde o molici skleníkovou (*Trialeurodes vaporariorum*) a molici bavlníkovou (*Bemisia tabaci*) (Avilla et al. 2004).

Tento hmyz byl poprvé popsán na tabáku v Řecku v roce 1889, odtud pojmenování tabáková (bavlníková). V roce 1900 byla objevena na Floridě, roku 1926 na Sri-Lance a v Brazílii 1928. Poté se začala vyskytovat v tropických a subtropických zemích celého světa (Malais, Ravensberg 2004).

Díky mezinárodnímu transportu rostlinného materiálu a lidí došlo ke geografickému šíření tohoto škůdce a v posledních letech se tento škůdce pravidelně objevuje i ve sklenících v Evropě (Oliviera et al. 2001). V Evropě byla *B. tabaci* poprvé zjištěna na konci 80. let ve sklenících v Nizozemí a Velké Británii a v krátké době se rozšířila po celé Evropě, včetně České republiky. V současnosti je sice tento škůdce v ČR na seznamu karanténních škůdců, nicméně lze předpokládat jeho další šíření a stoupající význam. Zkušenosti z oblastí, kde je tento škůdce znám již delší dobu jasně prokazují, že molice bavlníková předčí svým významem a škodlivostí i molici skleníkovou. V oblastech, kde její introdukce následovala až za molicí skleníkovou, dokázala v krátké době obsadit i niky původně kolonizované molicí skleníkovou, kterou v několika letech úplně vytěsnila (Lopez-Avila 1986; Byrne et al. 1990; Landa 1994). *B. tabaci* je široký polyfág, napadá mnoho druhů plodin po celém světě a je obávaným škůdcem z důvodů vysoké úrovně rezistence vůči mnohým insekticidům. (Malais, Ravensberg 2004).

*Bemisia tabaci* je vědecký název pro skupinu blízce příbuzných molic, které jsou celosvětově rozšířenými zemědělskými škůdci. Existuje více než 20 známých biotypů tohoto druhu, z toho dva z nich, které jsou pro rostliny nejničivější – biotyp B a biotyp Q. Oba mohou snižovat výnosy široké řady zemědělských plodin.

Biotyp B byl poprvé objeven ve Spojených státech v roce 1985. Jeho výskyt zde byl důsledkem posunu z přirozeného pásma výskytu - Středního východu/Malé Asie. Tento agresivní biotyp ohrožoval zemědělskou produkci po celých jižních Spojených státech, dokud ho nové strategie integrované ochrany rostlin nezačaly držet pod kontrolou.

Biotyp Q byl poprvé objeven ve Spojených státech v prosinci 2004 na okrasných rostlinách poinsettiích (*Euphorbia pulcherrima*) v maloobchodní prodejně v Arizoně a poté byl zjištěn v 25 státech. Jeho přirozené pásmo výskytu je středomořská oblast a podobně jako u biotypu B je očekávána introdukce těchto škůdců daleko za jejich domovské pásmo prostřednictvím transportu infikovaných hostitelských rostlin.

V porovnání s biotypem B je biotyp Q méně citlivý vůči mnoha druhům pesticidů, což ponechává méně možností pro chemickou ochranu. Existuje také zvýšená obava, že u biotypu Q se může vyvinout mnohem rychleji rezistence vůči insekticidům. A co činí problém mnohem obtížnější je to, že biotyp Q je vzhledem nerozeznatelný od biotypu B.

Výzkumníci využívají segmenty DNA, které poskytují unikátní značky pro odlišení biotypů B a Q. Když se biotyp objevil ve Spojených státech, byla velká obava že se může křížit s již dobře zavedeným biotypem B a vytvořit dokonce ještě problematičtějšího škůdce. Práce na základě genetických markerů prováděná vědci z ARS ukázala, že neexistuje jediný případ hybridizace pozorovaný mezi těmito dvěma biotypy. Proto je nepravděpodobné, že by se vyvinul hybrid „superškůdce“ (Vodrášková; 2008).

## **Vývojový cyklus**

Životní cyklus *B. tabaci* je stejný jako u *T. vaporariorum*, má tři vývojová stadia: vajíčko, čtyři nymfální stadia a dospělce. Imága *B. tabaci* jsou velmi podobná s dospělci *T. vaporariorum*, jen jsou o trochu menší a více zbarvená do žluta. Hlavním rozlišovacím znakem je postavení křídel. Molice bavlníková drží křídla paralelně podél těla, naproti tomu molice skleníková má křídla horizontálně, ve tvaru trojúhelníku. Tyto rozdíly však nejsou vždy úplně prokazatelné.

Dospělá samička je nepatrně větší než 1mm, sameček naopak o trochu menší než 1mm. Po vylíhnutí jsou těla dospělců nažloutlá a křídla průhledná, ale po několika hodinách se jak těla, tak křídla pokrývají tenkou, ochranou vrstvičkou bílého vosku. Z toho vyplývá, že se zbarvení těla dospělců mění na krémově bílou. Jak již bylo řečeno výše, imága *B. tabaci* ve srovnání s *T. vaporariorum* jsou více zbarvená do žluta, to je způsobeno tenčí vrstvou voskového poprašku (Malais, Ravensberg 2004).

Vývojový cyklus probíhá na nadzemních částech rostlin, nejčastěji na spodní straně listů hostitelských rostlin. Samičky kladou vajíčka do úplných nebo neúplných kroužků na spodní stranu listů. Vajíčka jsou stopkou uchycena do houbového parenchymu listu (Landa 1994). Brzy po naklazení jsou vajíčka žluto-zelená, později až světle hnědá.

Nymfy prvního instaru jsou průhledné, asi 0,25 mm dlouhé. Toto nymfální stádium má nohy a tykadla, jde o pohyblivé stádium, které se označuje jako tzv. crawler (Malais, Ravensberg 2004). Ve vývojové řadě molic představují nymfy prvního instaru a dospělci jediná pohyblivá stádia. Nymfa 1. instaru se pohybuje na krátkou vzdálenost a je pozitivně fototaxní (Summers et al. 1997; Summers et al. 2002). Po krátkém ohledání listu se toto stadium mění v sedentérní (Landa 1994), dochází k zatažení končetin a tykadel a jedinec se začíná živit sáním na listech (Malais, Ravensberg 2004). Na kolonizovaném místě probíhá celý další vývoj jedince až do stádia dospělého (tj. přes larvu 2. - 4. instaru, do doby líhnutí imága). Nymfy molic charakterizuje plochý, oválný tvar těla se sekundární voskovou vrstvou na povrchu exoskeletu (Landa 1994).

Druhý instar je plochý, oválný, dosahuje délky 0,3 mm. Nymfa třetího instaru je stejného tvaru jako 1. a 2. instar a dlouhá 0,5 mm (Malais, Ravensberg 2004).

K výraznějším morfologickým odlišnostem dochází u nymf 4. instaru, kdy jedinec dokončuje metamorfózu v dospělého (Landa 1994). Na začátku čtvrtého instaru je nymfa široká a plochá, ale postupem času tento instar mění svůj tvar z oválného na téměř kruhový, je přibližně 0,8 mm dlouhý a 0,6 široký (Malais, Ravensberg 2004). Tento vývojový stupeň je někdy souhrnně označován jako "puparium", častěji je však používáno dělení tohoto instaru na 3. podstupně (časná nymfa 4. instaru, střední nymfa 4. instaru a pozdní nymfa 4. instaru, resp. pharální dospělce). Časná nymfa 4. instaru je stejně jako mladší nymfy plochá a přijímá potravu z listů pomocí dlouze štětínovitěho bodavě savého ústního ústrojí. Na konci tohoto vývojového mezistupně končí kontakt s pletivem listu a nastupuje konečná fáze vývoje, ve kterém jedinec již potravu nepřijímá - počátek fáze střední nymfy 4. instaru. V této fázi dochází k výrazným morfologickým změnám. Ploché tělo nymfy se výrazně zvyšuje, na povrchu těla se tvoří silná vosková schránka a objevují se i druhově specifické voskové trichomy. V hlavové části formujícího se dospělého se objevují výrazně zbarvené oči (zpravidla karmínové barvy). V poslední fázi vývoje nymfy 4. instaru lze přes voskový tělní povrch pozorovat formujícího se dospělého, zejména pak struktury a barvy jednotlivých tělních odstavců a křídel. Dospělci se líhnou hřbetním otvorem ve tvaru písmene T (Vet et al. 1980; Landa 1994). Rozlišení kuklového stádia *B. tabaci* a *T. vaporariorum* je možné pomocí několika znaků. Čtvrté nymfální stádium *T. vaporariorum* má kolem těla věneček krátkých, voskových výběžků (trichomů). Tento znak

*B. tabaci* nemá. Puparia molice bavlníkové jsou spíše široká, plochá a průhledná nebo žlutavá, kdežto puparium molice skleníkové je pevně přichyceno k listu, je menší, bílé a má tvar oválného pouzdra (Malais, Ravensberg 2004).

### **Dynamika růstu populace**

*B. tabaci* je přirozeně se vyskytující škůdce tropických a subtropických oblastí, proto také vývoj je optimální za dosti vysokých teplot (kolem 30°C). Pokud se teplota dostane nad hranici 30°C, dochází k rapidnímu poklesu populačního růstu, stejně tak pokud teplota klesne pod 16°C vývoj populace se zastavuje. Při nízké atmosferické vlhkosti a teplotě kolem 9°C nymfy hynou a populace se dramaticky redukuje. Délka vývoje *B. tabaci* nezáleží pouze na teplotě, ale z velké části i na druhu rostliny a na relativní vzdušné vlhkosti. Nezáleží jen na druhu hostitelské rostliny, ale především na její nutriční kvalitě. Stresové faktory, jako je nízká světelná intenzita, vysoká teplota a vysoká relativní vzdušná vlhkost, mají přímý i nepřímý vliv na dobu vývoje (Malais, Ravensberg 2004). Ve skleníkových podmínkách se jeden vývojový cyklus *B. tabaci* realizuje v průměru za 25 - 30 dnů s možností i rychlejší rotace generací v období vyšších průměrných teplot (Landa 1994). Optimální teplota pro vývoj je u *B. tabaci* vyšší než u *T. vaporariorum*, při nižších teplotách *B. tabaci* vykazuje vyšší mortalitu.

Páření se uskutečňuje jeden nebo dva dny po objevení dospělců. Po páření nastává období před kladením vajíček trvajících 1-5 dní, poté začíná vlastní kladení vajíček. Dospělých samic se v populaci vyskytuje vždy více než samečků. Samičky, které nebyly oplozeny kladou vajíčka z níž se líhou pouze samečci (nymfy mužského pohlaví).

Délka života dospělců *B. tabaci* je hlavně závislá na teplotě a druhu plodiny. Samičky se při vyšších teplotách (28 – 30°C) dožívají 10 až 15 dnů, za nižších teplot se dospělci mohou dožít jeden až dva měsíce. Dokonce i bez hostitelské rostliny, to jest v prázdném skleníku, dokáže dospělý jedinec za nízkých teplot přežít několik týdnů. Nicméně, *B. tabaci* nemůže přežít teplotu nižší než 0°C (Malais, Ravensberg 2004).

### **Škodlivost**

Molice bavlníková se vyskytuje v teplých oblastech celého světa, je jedním z hlavních škůdců velkého okruhu plodin pěstovaných v uzavřených prostorách i v polních podmínkách (Quesada-Moraga et al. 2006).

*B. tabaci* škodí na více než 500 druzích hostitelských rostlin. Mezi významné plodiny napadené *B. tabaci* patří bavlna, okurka, salát, sója, rajče atd., dále napadá okrasné květiny a vývoj může prodělavat i na mnoha druzích plevelů (Wagner 1995; Inbar et al. 1999).

Škodí jednak sáním na listech, dále produkcí medovice, která usnadňuje rozvoj a šíření černí a ekonomicky nejvýznamnější je přenos virových chorob (Quesada-Moraga et al. 2006). Škody způsobené sáním jsou považovány za nejméně významné a jako dominantní prvek v komplexním poškození rostliny se projevují až při vysokých hodnotách populační četnosti (např. na rajčatech 3 a více nymf na 1 cm<sup>2</sup> listové plochy). Sáním na listech škodí nymfy všech stupňů (s výjimkou L4 středního a pozdního podstupně) a dospělci. Největší škody sáním vznikají na mladých, vrcholových listech rostlin, které jsou preferovány a přednostně kolonizovány dospělci molic. Tento fenomén souvisí s běžným vertikálním rozložením populace molic na hostitelských rostlinách, které je typické (a z hlediska praktické ochrany rostlin i velmi významné), zejména na okurkách a rajčatech. Vertikální rozložení populace na těchto rostlinách má podobu zón osazených různými věkovými kategoriemi. Na nejmladších listech převažují dospělci a vajíčka, na nižším patru listů převažují L1 - L3 a následující nižší patro listů je kolonizováno převážně věkově synchronizovanou populací L4, resp. zde jsou přítomna prázdná puparia. (Van Lenteren & Noldus 1990; Landa 1994). Převládající kolonizace svrchních pater hostitelských rostlin (zejména přítomnost intenzivně sajících dospělců na nejmladších vrcholových listech) negativně ovlivňuje růstové parametry napadených hostitelských rostlin.

Nejvýznamnější poškození rostlin je spojeno s tekutými výkaly, které jsou v obrovském množství vylučovány nymfami a dospělci molic (opět s výjimkou L4 středního a pozdního podstupně). Tekuté výkaly (tzv. medovice) jsou silně koncentrované, převážně glycidy obsahující roztoky, které vznikají v modifikovaném zažívacím traktu molic. Medovice je vylučována v drobných kapkách přes řitní otvor, který je u molic umístěn na hřbetní straně konce zadečku. Medovice odkapává na svrchní stranu listů v nižších patrech a pokrývá jejich povrch. Způsobuje poruchy v transpiraci, nekrotické deformace a snižují fotosyntetickou kapacitu listů (Landa 1994). Na listech znečištěných medovicí se vyvíjejí a rostou saprofytické černě. Tyto černě mohou pokrývat až celý povrch listů, čímž dochází ke snížení fotosyntézy a zároveň i ke znehodnocení estetického vzhledu okrasných květin (Bentz, Larew 1992; Oliveira et al. 2001; Henneberry et al. 2002).

Kromě škod způsobených sáním a spojených s produkcí a přítomností medovice na listech, škodí molice i tím, že fungují jako vektorů mnoha druhů chorob virového původu (Landa 1994). Virová onemocnění přenášejí výhradně dospělci. Molice přenášejí zejména geminiviry např. *bean golden mosaic virus* (BGMV), ale také i viry ze skupiny closteroviry např. *tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) (Salati et al. 2002; Kashina et al. 2003), který patří mezi nejvýznamnější a nejrozšířenější původce virových onemocnění rajčete na světě (Berlinger et al. 2002; Salati et al. 2002) a *beet pseudo-yellows virus* (BPYV) (Salati et al.

2002; Kashina *et al.* 2003). Většina chorob asociovaných s molicemi je způsobena geminiviry, které jsou přenášeny *Bemisia tabaci*. *Beet pseudo-yellow virus* (BPYV) a *tomato infectious chlorosis virus* (TICV) je přenášen pouze molicí skleníkovou *T. vaporariorum*, zatímco *tomato chlorosis virus* (ToCV) je přenášen nejen *T. vaporariorum*, ale i molicemi rodu *Bemisia* (*B. tabaci*, *B. argentifolii*) (Velez *et al.* 1998; Rivera-Vargas *et al.* 2001).

Snižování výnosu je závislé na četnosti populace molic, na typu poškození (viz výše), na rozsahu poškození a odolnosti rostliny vůči napadení. Čím větší je primární inokulace virem (čím je hojnější výskyt molic), tím se v rostlině nákaza rychleji šíří. Ale poškození vyplývající z přenosu rostlinných virů může být způsobeno i při nízké četnosti populace molic. Poškození způsobené produkcí medovice nastává až při středním výskytu molic a hospodářsky významné poškození posátím se vyskytuje až při značné četnosti molic (Avilla *et al.* 2004).

### **2.3. Entomopatogenní houby**

Představují velmi heterogenní skupinu heterotrofních eukaryotických organismů, rozmnožujících se buď sexuálně nebo asexuálně (Inglis *et al.* 2001), u nichž během evolučního procesu došlo k vytvoření celé škály adaptačních mechanismů umožňujících přizpůsobit se často velmi diverznímu prostředí. Z evolučního hlediska představují polyfyletickou skupinu organismů, jejíž členové ale plní podobné role v ekosystému, vytvářejí důležité symbiotické vztahy s živočichy a s cévnatými rostlinami a představují převážnou většinu patogenů hospodářsky využívaných rostlin. K fyziologické a biochemické přizpůsobivosti hub k jejich prostředí, zejména různým nutričním zdrojům, patří i schopnost syntetizovat řadu primárních a sekundárních metabolitů (Bruns *et al.* 1991).

Mnoho entomopatogenních hub je v přírodě relativně běžných. Často vyvolávají přirozené epizootie v populacích hmyzu, čímž se řadí mezi významné mikroorganismy regulující hmyzí populace (Butt, Goettel 2000).

#### **2.3.1. Klasifikace entomopatogenních hub**

Entomopatogenní houby jsou zastoupeny mnoha řády v různých kmenech. Nejvýznamnější zastoupení mají entomopatogenní houby v kmenech Mastigomycotina (*Chytridiomycetes: Blastocladales*); Zygomycotina (*Zygomycetes: Entomophthorales, Muscorales*); Ascomycotina (*Pyrenomycetes: Spaeriales, Laboulbeniales*) a Deuteromycotina (*Hyphomycetes: Moniliales*).

Největší význam mají vláknité deuteromycety (Deuteromycotina, *Hyphomycetes*, *Moniliales*) (Landa 2002) a to především *Hyphomycetes*, díky jejich využitelnosti v biologické ochraně (Butt 2002). Mezi nejvýznamnější patří houby rodů: *Beauveria*, *Metharhizium*, *Isaria* (dříve *Paecilomyces*), *Lecanicillium*, *Hirsutella*, *Nomuraea* a *Tolypocladium* (viz. tabulka níže). Řada druhů z těchto rodů je v současné době využívána ve formě standardních biopreparátů. Vláknité deuteromycety představují fakultativní parazity, na rozdíl od obligátně parazitických entomofitor. Většina hub této skupiny může realizovat kompletní vývojový cyklus i v alternativních systémech bez přímé vazby na živého hostitele (např. na odumírající organické hmotě) (Landa 2002).

Třída *Zygomycetes* představuje velmi významnou skupinu entomopatogenních hub, zahrnující dva významné řády Entomophthorales a Mucorales (Pell et al. 2001). Mezi houby z řádu Entomophthorales (*Zygomycotina*; *Zygomycetes*) jsou zařazovány houby patřící například do rodů: *Conidiobolus*, *Entomophaga*, *Entomophthora*, *Erynia*, *Neozygites* a další. Reprezentují převážně obligátně parazitické druhy, jejichž vývojový cyklus je vázán výhradně na živého hostitele. Biotrofní charakter však znemožňuje praktické využívání těchto hub. Převážnou většinu hub z řádu Entomophthorales je možno produkovat pouze v „in vivo“ systémech na přirozených hostitelích, což znemožňuje jejich masovou produkci a tím pádem i komercializaci standardních biopreparátů (Landa 2002).

### 2.3.2. Epizootie

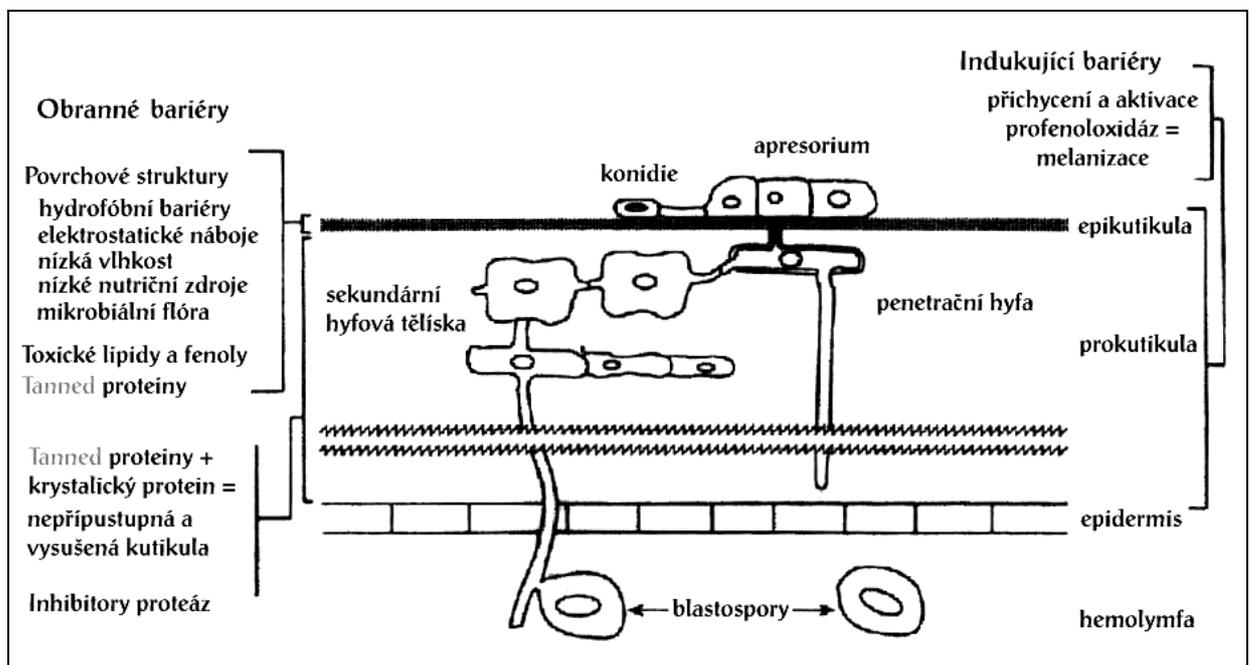
Epizootie jsou výsledkem komplexu interakcí mezi hostitelem, patogenem a vnějšími podmínkami (Butt 2002).

Entomopatogenní houby jsou významnými patogeny hmyzu. Infekční cyklus se skládá z následujících fází: (1) přichycení spor na kutikulu hostitel; (2) klíčení spor; (3) penetrace kutikuly; (4) překonání imunitních obraných reakcí hostitele; (5) proliferace uvnitř těla hostitele (parazitická fáze vývojového cyklu); (6) externí růst a konidiogeneze (saprofytická fáze vývojového cyklu) (Zimmermann 2007).

Primárně pronikají do těla hostitele vnější pokožkou aktivní penetrací, ale některé taxony mohou pronikat i zažívacím traktem (např. *Culicinomyces*) (Inglis et al. 2001), dalšími přirozenými otvory a mezitělními segmenty (Osborne, Landa 1992). Spory hub z třídy *Hyphomycetes* jsou velice přilnavé ke kutikule hmyzu, to je dáno vlastnostmi konidií, které se vyznačují buď hydrofobním povrchem (např. *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae*), což je označováno jako nespécifický adhezivní mechanismus (Inglis et al. 2001) nebo jsou konidie pro přichycení na tělo hostitele vybaveny adhezivními

substancemi (mucilageny), pomocí kterých vytvářejí pevnou vazbu s kutikulou hostitele již při prvním kontaktu (např. houby *Lecanicillium lecanii*, *Aschersonia aleyrodis*, *Hirsutella thompsonii*) (Vestergaard *et al.* 1999). Pokud se konidie dostane do kontaktu s pokožkou příslušného hmyzu, tak za příznivých podmínek dochází ke klíčení a často k průniku specifických struktur (např. zduřelá špička klíčku, apresorium nebo extracelulární pouzdro), ze kterých se vytváří penetrační hyfa pronikající do těla hostitele. Tento proces je ovlivněn mnoha faktory, mezi které patří vnější prostředí (vlhkost, teplota atd.) a složení pokožky hmyzu (obsah mastných kyselin, melaninu) (Inglis *et al.* 2001). Při pronikání pokožkou dochází ke kombinaci enzymatických a mechanických mechanismů. Dochází k produkci exoproteáz (např. u houby *Metarhizium anisopliaea* a dalších) dále také endoproteáz, esteráz, lipáz, chitináz a chitobiáz (Butt 2002).

Jakmile hyfy proniknou do hemocelu hostitele, dochází k růstu hyfálních struktur v těle patogena, které jsou tvořeny jedno nebo vícebuněčnými strukturami a místo buněčných stěn mají tenkou fibrilózní vrstvičku na plasmatické membráně (tyto struktury jsou označovány jako blastospory). Při pronikání hub do těla hostitele, dochází k aktivaci obranných mechanismů škůdce, tyto mechanismy jsou ale často oslabovány produkcí toxinů houbami. Mechanismy hmyzu můžeme dělit na humorální (např. fenoloxidázy, lektiny, dále obranné proteiny a peptidy) a celulární (např. fagocytóza) (Inglis *et al.* 2001).



Usmrcení hostitele je způsobeno kombinací dějů, jako je vyčerpání živin, pronikání patogena tělními tkáněmi a intoxikací. Například *Beauveria bassiana* produkuje mnoho toxických sloučenin (beauvericin, bassianole a oosporin).

Po uhynutí hostitele nastává saprotrofický růst patogena (Inglis et al. 2001). Za vhodných podmínek dochází bezprostředně po usmrcení hostitele k prorůstání houby na povrch těla usmrceného hostitele (tzv. proliferace) a na vzdušném myceliu se vytvářejí fruktifikační orgány charakteristické pro daný druh. Saprotrofní fáze patogena končí úplnou sporulací. K šíření patogena dochází pomocí konidií šířených nejčastěji pasivně (voda, proudění vzduchu) nebo aktivně přímým kontaktem zdravých jedinců s jedinci infikovanými či za pomoci roztočů a chvostoskoků (Osborne, Landa 1992). Šíření infekce v populaci hmyzu je ovlivněno řadou faktorů, jako je například načasování počáteční infekce hostitele, vývojové stádium hmyzu, inkubační doba patogena a rychlost šíření patogena. V neposlední řadě rozvinutí infekce také závisí na podmínkách vnějšího prostředí (Inglis et al. 2001).

Epizootie v hmyzí populaci jsou v přírodě poměrně běžnou záležitostí, ale významné je jejich využití v biologické regulaci populací škůdců (Goettel et al. 2000).

### **2.3.3. Faktory ovlivňující účinnost**

Infekce hmyzu způsobené entomopatogenními houbami jsou podmíněny faktory biotickými (fyziologické podmínky hostitele a patogena, hostitelská rostlina) a faktory abiotickými (teplota, relativní vzdušná vlhkost, půda, sluneční záření) (Gindin *et al.* 2000, Zimmermann 2008). Významné rozdíly byly zaznamenány nejen mezi jednotlivými druhy entomopatogenních hub, ale i mezi jejich jednotlivými nižšími entitami (kmeny,...). V rámci jednoho druhu entomopatogenní houby existuje široké spektrum kmenů, které jsou různě tolerantní k odlišným podmínkám prostředí, mohou se vyznačovat různou rychlostí klíčení, vitalitou, patogenitou či schopností růstu a sporulace na povrchu mrtvého hostitele, včetně odlišné virulence vůči jednotlivým druhům hostitelů (Butt, Goettel 2000).

### **Patogen**

Patogenita je schopnost patogena vyvolat onemocnění a je závislá na mnoha činitelích, na fyziologii hostitele (např. na jeho obraných mechanismech), též na fyziologii houby (např. na produkci enzymů a toxinů) a v neposlední řadě je patogenita závislá na vnějších podmínkách (Inglis et al. 2001). Patogenita hub bezprostředně závisí na vztahu hostitel-patogen a jejich kompatibilitě. Je důležité, aby virulentní kmeny hub byly kompatibilní s cílovým hostitelem, v případě opaku nedojde k požadované infekci populace hmyzu. Tato

kompatibilita je částečně závislá na schopnosti patogena rozpoznat jeho hostitele a překonat již zmíněné obranné mechanismy daného hostitele (Butt 2002).

Entomopatogenní houby v porovnání s jinými druhy mikroorganismů mají poměrně široké spektrum působnosti co do počtu druhů hostitelů, u kterých má schopnost vyvolat infekci. Hostitelské spektrum se velice liší dle druhů i kmenů entomopatogenních hub. Například *Aschersonia aleyrodis* je schopna způsobit infekci pouze u některých druhů molíc a *N. rileyi* téměř výlučně napadá jedince z čeledi *Noctuidae*. Naopak některé druhy entomopatogenních hub mají široký okruh hostitelů, mezi tyto druhy lze například zařadit *B. bassiana* a *M. anisopliae* (Inglis et al. 2001).

Pro dosažení požadovaného účinku entomopatogenních hub, je nutná dostatečně vysoká koncentrace konidií v aplikovaném médiu, tak aby došlo k vyvolání infekce a výběr vhodného kmene entomopatogenních hub. Při výběru vhodného kmene houby je nutné brát v potaz dva hlavní ukazatele: virulenci a „ekologickou vhodnost“. U virulentních kmenů hub lze použít menší množství inokula než u kmenů méně virulentních (virulentní kmeny mají nízkou LD50), i rychlost účinku je u virulentnějších kmenů vysoká (mají nízkou LT50) (Butt 2002). Ekologicky vhodné kmeny jsou ty, které odolávají podmínkám prostředí, ve kterém se cílový škůdce nachází (Meeke et al. 2002), jsou to kmeny, u kterých se projevuje virulence i v suboptimálních podmínkách. Většina testů ověřujících účinnost hub je prováděna laboratorními pokusy, v prostředí optimálním pro jejich růst a vývoj. Tím lze vysvětlit často rozporuplné výsledky používání entomopatogenních hub při likvidaci škůdců v polních podmínkách. Zde se projevuje potřeba laboratorních pokusů, které by byly simulovány do polních podmínek (Butt 2002).

## **Hostitel**

Na populace hmyzu mohou působit mnohé stresové faktory, které tyto populace činí zranitelnějšími a tím pádem náchylnějšími k účinkům entomopatogenních hub. Jde například o přemnožení populace, výživu škůdce, vystavení chemickým činitelům a celkově tlak vnějšího prostředí. Často přehlíženým stresovým faktorem je již zmíněná výživa škůdce. Použitím odolných rostlinných genotypů může dojít k vytvoření tlaku na populaci škůdce, tím se stane náchylnějším a to může napomoci rozvoji infekce entomopatogenních hub.

Dalším velmi důležitým faktorem ovlivňujícím rozvoj infekce entomopatogenních hub je vývojové stádium hmyzu. Ne všechna stadia hmyzu jsou stejně náchylná k infekci. Většinou jsou náchylnější juvenilní stadia hmyzu, obzvláště nymfy nižších instarů (Inglis et al. 2001). Například, vyšší instary nymf molice skleníkové *Trialeurodes vaporariorum* jsou

méně náchylné k infekci vyvolané houbou *A. aleyrodis* než nymfy mladší a dospělci jsou tímto druhem houby infikováni jen zřídka (Osborne, Landa 1992). Na druhou stranu, imága třásněnky *Frankliniella occidentalis* vykazali vyšší náchylnost k infekci způsobené houbou *Lecanicillium lecanii*, než tomu bylo u nymfálních stádií (Vestergaard *et al.* 1995).

Hustota populace hmyzu je také významným činitelem. Čím je hustota větší, tím se zvyšuje pravděpodobnost, že se zdraví, neinfikovaní jedinci dostanou do kontaktu buď přímo s inokulem nebo s infikovanými jedinci, a tím je zajištěno poměrně rychlé šíření infekce v dané populaci (Butt 2002).

### **Hostitelská rostlina**

Mnohé vlastnosti (produkce chemických látek, růst, morfologie) hostitelských rostlin mohou mít přímý nebo nepřímý vliv na přežívání propagulí entomopatogenních hub a jejich účinnost (Elliot *et al.* 2000). Rostliny produkují široké spektrum chemických látek, které v závislosti na jejich charakteru, koncentraci a biologické aktivitě mohou ovlivnit životnost konidií nebo náchylnost škůdců k entomopatogenním houbám (Butt 2002).

### **Teplota**

Teplota je jeden z nejvýznamnějších faktorů ovlivňující účinnost entomopatogenních hub. Je to velmi dobře dokumentovatelný faktor a ovlivňuje rychlost šíření infekce v populaci hmyzu a tím úbytek její četnosti (Inglis *et al.* 2001).

Z laboratorních pokusů je patrné, že entomopatogenní houby jsou schopné infekce za velmi širokého rozpětí teplot (10-30°C). Avšak optimální teplota pro růst entomopatogenních hub se pohybuje mezi 20-25°C. Při teplotě nad 30°C je růst u většiny hub inhibován a při teplotách nad 37°C je růst entomopatogenních hub úplně zastaven (Butt 2002). Nedávné studie prokázaly, že při rozvoji infekce entomopatogenních hub je v mnoha případech limitujícím a důležitějším faktorem právě vysoká teplota než vlhkost. To je dosti významný fakt, zvláště vzhledem ke kontrole *B. tabaci* v horkých a suchých regionech, kde je klíčovým škůdcem (Faria, Wraight 2001). Teploty, které jsou příznivé pro růst mycelia nemusejí být optimální pro klíčení spor. Například James *et al.* (1998) pozorovali, že teplota měla výrazný účinek jak na rychlost klíčení tak na vegetativní růst *B. bassiana*. Klíčení bylo nejrychlejší v rozmezí teplot 25-32°C a vegetativní růst byl nejvýraznější při 30°C (Butt 2002).

Teplotní tolerance může být ovlivněna existencí genotypů, které mohou vykazovat i kmenově specifickou teplotní valenci, predeterminovanou geografickou oblastí původu

kmene. To znamená, že kmen, který byl odizolován v tropické nebo subtropické oblasti může být k vyšším teplotám tolerantnější, na rozdíl od kmene získaného z chladnějších oblastí, který se naopak může lépe a rychleji vyvíjet i při nízkých teplotách (Inglis et al. 2001).

## **Vlhkost**

Relativní vzdušná vlhkost je kritickým faktorem entomopatogenních hub všech stádií jejich životního cyklu (klíčení spor, sporulace, atd.) (Butt 2002, Zimmermann 2007), proto může mít relativní vlhkost významný vliv na účinnost entomopatogenních hub, včetně jejich schopnosti vytrvat a šířit se uvnitř populací škůdců. Pro většinu hub je relativní vzdušná vlhkost 96% nezbytná pro klíčení spor a růst mycelia (Butt 2002). Aby došlo ke sporulaci na myceliu prorůstajícím na povrch uhynulého hostitele je též nutná vysoká relativní vzdušná vlhkost, která tímto sekundárně ovlivňuje přenos infekce v populaci (Inglis et al. 2001). Fangus a Luz (2000) prokázali, že entomopatogenní houba *B. bassiana* sporulovala na vzdušném myceliu na povrchu těla mumifikovaného hostitele (*Rhodnius prolixus*) až při relativní vzdušné vlhkosti 97 %. Studium podmínek nezbytných pro sporulaci umožňuje pochopení dynamiky průběhu houbové epizootie a také optimalizaci podmínek prostředí tak, aby byl umožněn rozvoj sekundární infekce po aplikaci mykoinsekticidů (Arthurs, Thomas 2001).

Vliv vlhkosti na vývoj entomopatogenních hub lze v omezené míře cíleně ovlivňovat přidáním olejových substancí do suspenze konidií. Olej nejen umožňuje lepší přilnavost konidií na povrch hostitele, ale vytváří i vhodné vlhkostní podmínky pro klíčení (Butt 2002).

Vedle vysoké relativní vzdušné vlhkosti, ovlivňuje účinnost entomopatogenních hub i přímý kontakt se srážkami. Déšť může za velmi krátký časový interval uvolnit a rozptýlit aplikované spory z povrchu listů a hmyzu. Proto je snaha volit formulace a aplikační strategie, které zabezpečují lepší ulpívání a vytrvání spor na povrchu listů, obzvláště na spodní straně listů, kde se většina škodlivého hmyzu soustřeďuje (Butt 2002).

## **Sluneční záření**

Konidie všech entomopatogenních hub mohou být poškozeny vlivem slunečního záření, zejména pak podílem ultrafialových paprsků UVB spektra (285-320nm) a UVA spektra (320-400nm). Viditelné a infračervené záření je méně škodlivé než UV záření (Butt 2002, Inglis et al. 2001, Zimmermann 2008). Významné rozdíly v citlivosti k záření byly zaznamenány i mezi jednotlivými druhy entomopatogenních hub. Konidie *M. flavoviridae* byly k umělému záření odolnější než konidie hub *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. fumosorosea*

(Inglis et al. 2001). Některé studie prokázaly, že konidie některých druhů jsou slunečním zářením stimulovány (Zimmermann 2008).

## **Půda**

Půda představuje extrémně složité prostředí, ve kterém se vůči entomopatogenním houbám prosazuje řada faktorů. K nejvýznamnějším faktorům podmiňujícím výskyt a působení entomopatogenních hub patří půdní typ (textura půdy, obsah organické hmoty, pH), vlhkost (vodní kapacita) a půdní mikrobiota (Inglis *et al.* 2001). Půda představuje pro mnoho druhů entomopatogenních hub zcela přirozené prostředí a v různých typech půd lze zaznamenat přítomnost a přirozený výskyt mnoha druhů hub, zejména *B. bassiana*, *M. anisopliae* a *I. farinosa* (Landa et al. 2002).

### **2.3.4. Charakteristika vybraných rodů a druhů entomopatogenních hub (Deuteromycota)**

Jen některé druhy entomopatogenních hub jsou známy jako patogeni *Aleyrodidae*. Druhy testované na použití v biologické ochraně na molici skleníkovou a bavlníkovou jsou: *Aschersonia aleyrodis* Webber, *Lecanicillium lecanii* (Zimmermann) Zare a W. Gams (dříve *Verticillium lecanii*) I, *Isaria fumosorosea* (Wize.) (dříve *Paecilomyces fumosoroseus*) and *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin (Avilla et al. 2004).

#### **Rod *Aschersonia***

Mezi nejvýznamnější druhy patří především *A. aleyrodis* Webber, *A. placenta*, *A. goldiana* aj. (Landa 2002). *Aschersonia* spp. se vyskytuje převážně v tropických a subtropických oblastech. Jejich okruh hostitelů se orientuje především na druhy molice (*Homoptera*, *Aleyrodidae*) a červců (Meekes et al. 2002; Liu et al. 2006). Jsou patogenem polyfágních škůdců kulturních rostlin pěstovaných ve sklenících a fóliovnících (*Trialeurodes vaporariorum* a *Bemisia tabaci*) (Landa 2002). *A. aleyrodis* byla mezi prvními houbami používanými v biologické ochraně proti škůdcům v Severní Americe (Liu et al. 2006). Tato houba byla nejprve používána v citrusových sadech na Floridě kolem roku 1900, kde v kombinaci s predátory a parazitoidy úspěšně redukovala četnost populací molice citronové po celá desetiletí (Zhu et al. 2008). Kromě molice citronové byla *A. aleyrodis* následně zjištěna i na dalších druzích molice, z nichž mezi nejvýznamnější patří *T. vaporariorum*, *T. abutiloneus*, *B. tabaci*, *B. giffardi*, *D. citrifolii*, *Aleurocanthus woglumi* a *Tetraleurodes acaciae* (Fransen 1990). Díky tomu, že *A. aleyrodis* dokáže dlouho vytrvat na povrchu listu a

kompatibilitě s *Encarsia formosa*, je vhodným regulačním agens. Proto se *A. aleyrodis* i další druhy rodu *Aschersonia* staly významným prostředkem k redukci populací molic po celém světě (Zhu et al. 2008).

*A. aleyrodis* infikuje převážně pouze nymfální stádia molic. A nejcitlivější k infekci jsou první tři stádia nymf. Dospělci jsou infikováni jen výjimečně a infekce vajíček nebyla dosud prokázána (Meekes et al. 2000).

Optimální teplota pro vývoj se pohybuje v intervalu 25-28°C. Při nižších teplotách se vývojový cyklus výrazně prodlužuje a prakticky se zastavuje při teplotách pod 12°C. Obdobně i při vyšších teplotách dochází ke zpomalení vývoje a při teplotách nad 32°C se vývoj patogena zastavuje. Teploty mají na vývoj patogena značný vliv, nicméně podstatně menší než vlhkost. Pro rozvoj infekce *A. aleyrodis* je nutná relativní vzdušná vlhkost nad 75 %. V optimálních podmínkách může být celý vývojový cyklus realizován v průběhu 5 - 7 dnů. Prvé příznaky infekce se na hostitelích objevují 3 - 4 den po iniciaci nákazy pyknosporami a plné sporulace patogena na hostiteli může být dosaženo 6. - 7. den (Landa 1994). Mnoho studií prokázalo, že dalším významným faktorem umožňujícím přežití a rozvoj propagulí *A. aleyrodis* je ultrafialové světlo (Meekes et al. 2000).

V přirozených agroekosystémech je nákaza iniciována a šířena v populacích molic prostřednictvím pyknospor. Pyknospory *A. aleyrodis* jsou jednobuněčné, fusiformní, vřetenovitého tvaru, se zřetelnými inkluzemi v protoplazmě (3 - 5 inkluzních kapek uvnitř vyzrálých pyknospor) a jsou produkovány phialidami ve formě mucilagenní masy. Phialidy jsou uloženy v pyknidách, které se formují v hustém myceliálním stromatu na povrchu usmrceného hostitel. Běžnou součástí mucilagenní masy pyknospor je  $\beta$ -karoten, který způsobuje nejen typické zbarvení samotné masy pyknospor, ale je i příčinou načervenalého zbarvení infikovaných nymf. Význam přítomnosti  $\beta$ -karotenu v mucilagenní mase pyknospor není doposud uspokojivě vysvětlen. Pravděpodobná úloha  $\beta$ -karotenu je v ochraně pyknospor proti negativním účinkům slunečního záření, případně by mohl  $\beta$ -karoten působit i jako atraktantní složka ve vazbě na mykofágní roztoče (Osborne, Landa 1992; Landa 1994).

### **Rod *Lecanicillium***

Rod *Lecanicillium* spp. zahrnuje 15 druhů, z nichž nejvýznamnější je *Lecanicillium lecanii* (Zimmermann) Zare a W. Gams. *Lecanicillium lecanii* má velmi široký hostitelský okruh, který zahrnuje především mšice, molice, fytopatogenní houby a parazitická hád'ata (Aiuchi et al. 2008). Na základě dosavadních poznatků žádný druh rodu *Lecanicillium* nelze využít k vývoji přípravku na ochranu proti fytopatogenním hád'átkům (Koubová 2008).

V roce 1915 bylo *L. lecanii* poprvé objeveno na molicích a jako biologická ochrana bylo proti molicím používáno až od roku 1980 (Malais, Ravensberg 2004).

Procesy klíčení spor a růst mycelia jsou velice závislé na dvou hlavních faktorech, na vlhkosti a teplotě, jak je tomu u všech entomopatogenních hub. Účinek *L. lecanii* je tak závislý na dostatečně vysoké relativní vzdušné vlhkosti, že jeho použití je bohužel omezeno pouze do skleníkových kultur (Aiuchi et al. 2008). Příznivé hodnoty teplot pro růst a vývoj se pohybují v rozmezí 15-28°C (Malais, Ravensberg 2004), optimum teplot pro růst je 20-25°C (Aiuchi et al. 2008) a vhodná relativní vlhkost pro vývoj patogena se pohybuje nad 80%. *L. lecanii* nenapadá všechny stádia molic. Nejsnáze dochází k infekci nymf nižších instarů, za vyšší vlhkosti se patogen může vyvíjet i na pupariích (nymfy 4. instaru) a dospělých a dokonce i na vajíčkách. Molice infikované *L. lecanii* nejdříve uhynou a pak začíná viditelný růst mycelia. Mrtvé nymfy a puparia po čase mění svou barvu ze světlé až na tmavě hnědou, povrch se propadá a nymfy ztrácejí svůj typický lesk. Později hyfální vlákna prorůstají až na povrch, kde se objevuje husté bílé mycelium (Malais, Ravensberg 2004). Hlavním determinačním znakem *L. lecanii* je typická forma sporulace. V průběhu konidiogeneze se na vzdušném myceliu vytvářejí dlouhé, úzké, lahvicovité konidiofory na jejichž koncích se postupně tvoří elipsoidní konidie. Konidifory jsou na myceliu umístěny v přeslenech a z jedné zóny protilehle vyrůstají 2, 3 až 4 konidifory. Na koncích hyf může být přeslen tvořen i více konidifory. Konidiospory jsou vytvářeny postupně a vždy nová, mladší konidiospora odtlačuje dříve vytvořenou konidiosporu do postupně se tvořícího shluku, který má podobu kuličky. V závěrečné fázi sporulace se kuličky pokrývají mucilagenní hmotou, která udržuje kompaktní tvar finálního útvaru (Landa 1994).

Jak již bylo řečeno výše, *L. lecanii* není pouze parazit členovců, ale vyskytuje se i jako ektoparazit na některých druzích fytopatogenních hub. Příkladem této ektoparazitické formy vývoje *L. lecanii* je výskyt na uredosporách různých druhů rzí (např. *Uromyces dianthi*, *U. appendiculatus*, *Puccinia graminis*) a na konidiích padlí okurkového *Sphaerotheca fuliginea*. *L. lecanii* je biotrofní parazit, který usmrcuje padlí okurkové po penetraci do hostitelských buněk a následné utilizaci živin (Askary et al. 1997).

V nedávné době bylo prokázáno, že hybridní kmeny *Lecanicillium* spp. získané fúzí protoplastů mají širší hostitelský okruh a další prospěšné vlastnosti, jako např. zvýšenou vitalitu. Tyto hybridní kmeny vykazují vyšší virulenci vůči mšicím, molicím a cystotvornému háďátku sojovému (*Heterodera glycines*) (Dobrovská 2008).

## Rod *Isaria*

*Isaria farinosa* a *Isaria fumosorosea* (Wize) jsou jedny z nejznámějších entomopatogenních hub. Jsou celosvětově využívány v biologické ochraně rostlin jako velice zajímavé agens z důvodů relativně širokého okruhu hostitelů. Více než 30 let byly tyto velmi významné entomopatogenní houby označovány jako *Paecilomyces farinosus* a *Paecilomyces fumosoroseus* a pak došlo k přejmenování na rod *Isaria* (Sung et al 2007, Zimmermann 2008).

Druhy *I. fumosoroseus*, *P. lilacinus*, *I. farinosa*, *P. variotii*, reprezentují široce polyfágní entomofágní, akarifágní a nematofágní druhy hub, které iniciují nákazy na zástupcích z mnoha řádů hmyzu (*Orthoptera*, *Thysanoptera*, *Homoptera*, *Coleoptera*, *Diptera*, *Lepidoptera*), fytofágních roztočích (např. sviluškovití-*Tetranychidae*) a některých druzích háďátek (cystotvorná háďátka z rodů *Globodera*, *Heterodera*) (Landa 2002). Nejvýznamnějším druhem vykazujícím vysokou virulentní schopnost proti již zmíněným *Homoptera*, především proti molícím je *I. fumosorosea*. Případem přirozené epizootie způsobené *I. fumosorosea* v populacích molice je periodický výskyt *I. fumosorosea* v populacích molice bavlníkové *Bemisia tabaci* na Floridě. Odizolovaný kmen byl označen jako *PFR 97* – kmen Apopka (Apopka – jméno oblasti na Floridě, kde byl kmen *PFR 97* poprvé zachycen a odizolován). Kmen *PFR 97* způsobil rozsáhlé epizootie v populacích *B. tabaci* a *T. vaporariorum* jak ve sklenících, tak i v polních kulturách (Osborne, Landa 1992; Osborne et al. 2004). Hodnocením účinnosti *I. fumosorosea* se prokázal velmi dobrý účinek na všechna životní stádia *B. tabaci* a to nejen na nymfy, které jsou citlivé na mnoho druhů entomopatogenních hub, ale výborný účinek byl zjištěn i při ošetření vajíček a dospělců (Faria, Wraight 2001).

Na přirozeném hostiteli i na umělých živných půdách vytváří *I. fumosorosea* zprvu bílé vatovité kolonie, které později mění barvu do odstínů narůžovělé, nafialovělé až šedo fialové barvy. Změna barvy kolonií přímo koreluje se stupněm sporulace kultury. Starší, plně sporulující kultury mají až šedofialové zbarvení a vatovitý charakter kolonie se mění v prašný, s povrchem zcela pokrytým obrovským množstvím konidií. V koloniích *I. fumosorosea* se v průběhu konidiogeneze tvoří elipsoidní konidiospory, které jsou v podobě dlouhých řetízků postupně produkovány na koncích phialid. V koloniích *I. fumosorosea* se na vzdušném myceliu nejprve vytvářejí konidiofory, které jsou na hyfách umístěny přeslenovitým způsobem, obdobně jako u *L. lecanii*. Na koncích konidioforů se následně formují konidiogenní phialidy (3 - 6 phialid na 1 konidioforu), na kterých se vytvářejí oválné konidie. Konidie se na koncích phialid oddělují postupně, nejmladší konidie je vždy v kontaktu s phialidou a odtlačuje starší konidie dál do

tvořícího se řetízku. V jednom řetízku konidií přichyceném na konidiogenní phialidě může být přítomno i více než 50 konidií (Landa 1994).

Vidal et al. (1997) uvádějí, že optimální teplota pro růst *I. fumosorosea* je 20-30°C. Pokud teplota stoupne nad tuto teplotní hranici (30-40°C) dochází ke značnému omezení růstu, to samé nastává při poklesu teplot na 8-11°C. Dále uvádějí, že teplotní optima růstu závisejí na regionu přirozeného výskytu. Například houby izolované v Evropě mají optimum růstu v intervalu 20-25°C a rozsah teplot pro růst je 8-30°C, kdežto houby pocházející ze západní Asie mají optimální teplotu růstu 25-28°C a interval růstu 8-35°C (Fargues, Bon 2004).

*I. fumosorosea* není pouze entomopatogenní a akarifágní houbou, ale za určitých podmínek vykazuje i statut mykoparazita. Patogen se může vyvíjet jako ektoparazit na rzích a na různých druzích padlí, např. na konidiích padlí okurkového (Landa 2002; Kavková, Čurn 2003).

### **Rod *Beauveria***

Nejvýznamnější druhy *B. bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin, *B. brongniartii*, *B. tenella*, reprezentují široce polyfágní houby, které se běžně vyskytují v půdě a parazitují na půdním hmyzu, popřípadě na stádiích hmyzu vyskytujících se v půdě pouze příležitostně (Landa 2002).

Entomopatogenní houba *B. bassiana* je kosmopolitně rozšířený druh, který je běžně zaznamenáván jako původce onemocnění na mnoha druzích hmyzu, zejména pak na herbivorních druzích, které jsou alespoň částí svého vývoje vázány na půdu (Landa et al. 2007). Dále je nejvíce hostitelů *B. bassiana* zastoupeno v řádech *Lepidoptera*, *Coleoptera*, ale patogen byl izolován dokonce i ze štěnic (*Hemiptera*), termitů (*Isoptera*) a mravenců (*Hymenoptera*) (Osborne et al. 2004). Ačkoli *B. bassiana* byla nacházena na molících jen jako příležitostný patogen, byl objeven významný potenciál *B. bassiana* při aplikaci mykoinsekticidů proti *Bemisia* (Lacey et al. 1995). Laboratorní a polní studie prokázaly výbornou účinnost *B. bassiana* na redukci populace *B. tabaci* i *T. vaporariorum* (Quesada-Moraga et al. 2006).

*Beauveria bassiana* vytváří husté bílé mycelium na povrchu infikovaného hostitele. Na hroznovitých konidioforech se tvoří dlouhé, zubovitě formované konidiogenní buňky, na kterých se vyvíjejí jednotlivé konidie. Každá jednobuněčná kulovitá konidie se tvoří na samostatném zubu. Nákazy vyvolané těmito houbami jsou označovány jako „bílé muskardiny“ (Kumar et al. 1999).

Infekce hostitele je iniciována konidiami, které po přichycení na povrch kutikuly klíčí a pronikají do tělní dutiny, nejčastěji pomocí aktivní penetrace povrchem kutikuly (Landa et al. 2007). Aby mohlo dojít k penetraci a následné infekci, musí *B.bassiana* produkovat nejméně dva typy enzymů v určitém pořadí. Jakmile pronikne houba dovnitř těla hostitele, produkuje sekundární metabolit *beauvericin* pro oslabení imunitního systému hostitele. Po smrti hostitele umožňuje houbě produkované antibiotikum (oosporein) konkurovat intestinálním bakteriím (Mahr 1997). Uvnitř tělní dutiny se tvoří oválné blastospory, které v další fázi klíčí a patogen vytváří hustou myceliální masu, která hostitele mumifikuje. V konečné fázi vývoje prorůstají hyfová vlákna na povrch usmrčeného jedince a na povrchu se formuje vzdušné mycelium, na kterém se tvoří nové konidie (nepohlavní spory mikroskopických hub), které mohou iniciovat nový vývojový cyklus patogena (Landa et al. 2007).

Optimální teplota růstu je 23 - 26°C při relativní vlhkosti vzduchu nebo vlhkosti substrátu 80 - 100 %. Minimální teplota pro růst mycelia je 5 - 8°C, maximální teplota pro růst mycelia je 28 - 31°C (Dirlbeková 1991). Spory *B. bassiana* hynou při teplotě 50°C za pouhých 10 minut (Zimmermann 2007).

Quesada-Moraga et al. (2006) uvádějí, že všechny izoláty *B. bassiana* produkovaly uvnitř hostitele specifický pigment, který napadené nymfy molic zabarvoval do červena, tím bylo usnadněno hodnocení biotestu, protože infikované nymfy byly na zeleném povrchu listů dobře identifikovatelné. Také zmiňují, že *B. bassiana* se vyznačuje mohutným posmrtným hyfálním růstem a sporulací a že mrtvá těla hostitelů byla rychle pokryta až několika milimetrovou vrstvičkou bílého mycelia.

### **Komerčně používané přípravky na bázi entomopatogenních hub**

Příklady přípravků na bázi entomopatogenních hub používaných v ochraně proti různým druhům hmyzu (upraveno dle Butt, Copping 2000).

Komerční název	Druh	Cílový škůdce	Producent
MYCOTAL	<i>L. lecanii</i>	molice, třásněnky	Koppert, Holandsko
VERTALEC	<i>L. lecanii</i>	mšice	Koppert, Holandsko
AGOBIOCONTROL	<i>L. lecanii</i>	molice	Ago Biocontrol, Mexiko
LECANICILLIUM			
META-GUARD	<i>M. anisopliae</i>	termiti	Ajay Bio-Tech Ltd, Indie
GREEN GUARD	<i>M. anisopliae</i> var. <i>acridum</i>	sarančata, kobyly	CSIRO, Austrálie
BIOGREEN	<i>M. anisopliae</i>	ponravy	Bio-careTechnology, Austrálie
METAQUINO	<i>M. anisopliae</i>	<i>Prosapia bicincta</i>	Brazílie
BIO-PATH	<i>M. anisopliae</i>	šváb	EcoScience, USA

BIO-BLAST	<i>M. anisopliae</i>	termity	EcoScience, USA
COBICAN	<i>M. anisopliae</i>	<i>Prosapia bicincta</i> (křísí)	Probioagro, Venezuela
BIO-CANE	<i>M. anisopliae</i>	<i>Dermolepida</i> <i>albohirtum</i>	Bio-Care Technology Ltd, Austrálie
GREEN MUSCLE	<i>M. anisopliae</i>	sarančata, kobylky	CABI - BioScience, UK
CONIDIA	<i>B. bassiana</i>	<i>Hypothenemus</i> <i>hampei</i>	Live Systems Technology, Columbie
BEA-SIN	<i>B. bassiana</i>	molice	Agrobionsa, Mexico
BOVERIL PM	<i>B. bassiana</i>	molice	Itaforte BioProdutos, Brazílie
OSTRINIL	<i>B. bassiana</i>	zavíječ kukuřičný	Natural Plant Protection (NPP), Francie
CORNGUARD	<i>B. bassiana</i>	zavíječ kukuřičný	Mycotech, USA (nyní Emerald BioAgriculture)
MYCOTROL GH	<i>B. bassiana</i>	sarančata, kobylky	Mycotech, USA
MYCOTROL WP;	<i>B. bassiana</i>	molice, mšice,	Mycotech, USA
BOTANIGARD		třásněnky	
NATURALIS-L	<i>B. bassiana</i>	škůdci bavlny	Troy Biosciences, USA
PROECOL	<i>B. bassiana</i>	blýskavka	Probioagro, Venezuela
BETEL	<i>B. brongniartii</i>	chroust	NPP, Francie
ENGERLINGSPI LZ	<i>B. brongniartii</i>	chroust	Andermatt, Švýcarsko
SCHWEIZER	<i>B. brongniartii</i>	chroust	Eric Schweizer, Švýcarsko
BEAVERIA			
MELOCONT	<i>B. brongniartii</i>	chroust	Kwizda, Rakousko
PFR-97	<i>I. fumosorosea</i>	molice	ECO-tek, USA
PREFERAL	<i>I. fumosorosea</i>	molice	Thermo Trilog, USA; Biobest N.V., Belgie
PAE-SIN	<i>I. fumosorosea</i>	molice	Agrobionsa, Mexico
LAGINEX	<i>L. giganteum</i>	larvy moskytů	AgraQuest, USA

---

### **3. METODIKA A MATERIÁL**

#### **Entomopatogenní houby používané v pokusech**

##### *Aschersonia aleyrodis*

V pokusech byly používány kmeny Aa New a Aa 3. Kmen Aa New byl odizolován v roce 2004 v oblasti na Floridě – Apopka, z dospělce molice citrónové (*Dialeurodes citri*). A kmen Aa 3 v roce 2003 z molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*) také z oblasti Apopka. Tyto kmeny se vyznačují pozvolným růstem a sytě oranžovým zbarvením.

##### *Lecanicillium lecanii*

Kmen používaný v pokusech L1 - I9, pochází z NP a CHKO Šumava. Byl odizolován z dospělců lýkožrouta smrkového (*Ips typhographus*) odchycených feromonovými lapači. Tento kmen vytváří mohutné, sněhově bílé mycelium.

##### *Beauveria bassiana*

Kmen, který byl používán v pokusech je označován Bb 101. Tento kmen byl odizolován v roce 2004 z dospělce lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*) z lokality Prameny Vltavy. Tento kmen se vyznačuje rychlým růstem bílého, hutného mycelia.

##### *Isaria fumosorosea*

V pokusech byl používán kmen PFR 97 Apopka (jméno oblasti na Floridě, kde byl kmen v roce 1987 izolován, referenční typový kmen je uložen v americké sbírce mikroorganismů pod označením ATCC 20874). Od roku 1994 je kmen PFR 97 používán jako účinný agens biopreparátu PFR97<sup>TM</sup> 20%WDG a generického preparátu, který je zejména v Evropě registrován pod obchodním názvem Preferal<sup>TM</sup>. Oba biopreparáty obsahují 20% submerzní biomasy (blastospory) kmene PFR 97 ( $2,0 \times 10^9$  CFU/g<sup>-1</sup>) a 80% inertních přísad. Pro pokusy byl použit kmen PFR 97, který byl v roce 1993 poskytnut oddělení rostlinolékařství KRV ZF JU firmou Therno Trilogy (dnes Certis USA) a od té doby je používán pro experimentální účely v rámci řady výzkumných, magisterských a doktorandských projektů.

#### **Imobilizace hub do alginátových pelet**

Všechny druhy hub ve sbírce KRV ZF JU byly dlouhodobě uchovávány ve formě suchých alginátových pelet. Základní reagenční směs tvořila suspenze konidií hub ve 2%

alginátu sodném (Na sůl kyseliny alginové, SIGMA) doplněná jemně mletými sterilními pšeničnými otrubami. Suspenze byly smíchány se 4% roztokem sterilního alginátu sodného. Do směsi byly přidány jemně mleté pšeničné otruby a kompletní směs byla postupně nakapávána do sterilního roztoku chloridu vápenatého (0,25M CaCl<sub>2</sub>). Pelety byly v roztoku CaCl<sub>2</sub> ponechány po dobu 90 minut a vytvrzené pelety byly následně sušeny (aktivní proud vzduchu, při nižších teplotách). Vitalita biomasy hub imobilizované v suchých peletách byla ověřována pomocí standardního postupu aktivace, při kterém byly suché pelety umístěny do sterilní vlhké komůrky na povrch vlhkého filtračního papíru a v průběhu 3-5 dní aktivace byl zaznamenáván růst patogena na povrchu pelet (25±1°C). Alginátové pelety byly do doby použití uloženy v mrazicím boxu při teplotě přibližně -20°C.

### **Kultivační media a kultivace hub**

Pro experimenty byly použity suspenze konidií získané z čistých kultur kultivovaných povrchovou kultivací na standardních živných mediích. Entomopatogenní houby byly kultivovány formou separačních čar. Media byla připravena dle návodů na obalech standardních polotovarů, sterilována a rozlévána na sterilní petriho misky. PDA (Potato Dextrose Agar) od firmy Himedia, SLA (Malt Extrakt Agar) od firmy Himedia, YMA (Ym Agar dehydrated) výrobce firma Difco, CDB (Czapek Dox Broth) firma Himedia, SDA (Sabouraud Dextrose Agar) od firmy Himedia, CMA (Corn Meal Agar) výrobce také firma Himedia a TSA (Tryptic Soy Agar) výrobce Difco. K produkci konidií se u hub *Isaria fumosorosea*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii* používala půda PDA. U *Aschersonia aleyrodis* převážně SLA v malé míře i PDA. Po inokulaci byly petriho misky uloženy v místnosti, která byla vytemperována na teplotu 23°C±1°C, fotoperioda 16/8 po dobu potřebnou pro plnou sporulaci houby (většinou 14 dní). Ostatní druhy půd byly, včetně PDA a SLA, používány v pokusech při hodnocení kmenů Aa New a Aa 3.

### **Příprava konidiových suspenzí**

Konidiové suspenze entomopatogenních hub byly získávány smytím sterilním roztokem 0,05 % Tween® 80 z kultur sporulujících na povrchu agarizovaných ploten. Získané suspenze byly filtrovány přes sterilní gázu a v suspenzi byla pomocí počítací komůrky (Neubauer Improved Chamber, Fisher) stanovena koncentrace spor. Pro většinu pokusů byla základní suspenze spor následně adjustována ředěním (sterilním roztokem tweenu 0,05 %) na titr 1,00 x 10<sup>7</sup> /1 ml popř. i na jiný titr.

## Metody hodnocení kvality hub

### *Standardní test klíčivosti – GI (Germination Index)*

Cílem tohoto biotestu bylo zjistit procento klíčivosti a stupeň naklíčení příslušné populace konidií . Pro účely testu byla použita konidiová suspenze, která byla adjustována na standardní tít (1,0 x 10<sup>7</sup> konidií na 1 ml suspenze). Pomocí laboratorní kličky byla takto připravená suspenze konidií nanášena ve formě kapek na povrch podložního sklíčka s tenkou vrstvou agaru (2 % vodní roztok). Po zaschnutí kapek suspenze bylo podložní sklíčko umístěno do vlhké komůrky, plastové sterilní petriho misky s navlhčeným sterilním filtračním papírem na dně. Poté byly petriho misky v sáčcích umístěny do termostatu vytemperovaného na teplotu 23°C±1°C. Klíčivost a vývoj patogena byly vyhodnocovány pomocí světelné mikroskopie v pravidelných intervalech (24, 48 hodin). V zónách kapek byl hodnocen vývoj konidií v náhodně vybraném zorném poli mikroskopu. Bylo hodnoceno minimálně 100 konidií. Při hodnocení byla využívána následující hodnotící indexová stupnice (GI).

---

<i>G index</i>	<i>CHARAKTERISTIKA</i>
0	- na konidiích nejsou zřejmé žádné morfologické změny
0,5	- konidie jsou zřetelně protáhlejší, nabobtnalé; na konidii je zřetelný jednostranný klíček velikosti v poměru přibližně 1:0,5 k matečné konidii
1,0	- velikost klíčku na konidii je v poměru 1:1 k velikosti matečné konidie
1,5	- primární klíček je 2-3 x delší než matečná konidie; na matečné konidii jsou zřejmé 2 kratší klíčky
2,0	- klíček je více než 3 x tak dlouhý jako matečná konidie; sekundární větvení na jednom z klíčků; na matečné konidii jsou dva dlouhé klíčky
2,5	- počátek sporulace (hodnoceno v několika částech zorného pole, sporadický výskyt struktur spojených se sporulací)
3.0	- plná sporulace (hodnoceno v několika částech zorného pole, pravidelný výskyt struktur spojených se sporulací)

---

Po zaznamenání individuálních indexů hodnocené populace byl stanoven průměrný G index a směrodatná odchylka výběru. Klíčivost (%) byla stanovena z podílu konidií s G indexem 0 (neklíčící) a všech ostatních indexů (G index 0,5 a vyšší).

### *Test výtěžnosti konidií*

Cílem tohoto testu bylo zjistit množství vyprodukovaných konidií na různých druzích půd, za odlišný časový úsek při kultivaci Aa New a Aa 3. Po určité době kultivace (př. 7, 14, 21, 28 dní) byla houba i s živným médiem homogenizována v mixéru s adekvátním

množstvím destilované vody (většinou 100 ml vody na dvě petriho misky s bodovými kulturami). U takto vzniklé konidiové suspenze byla spočítána produkce konidií pomocí hemacytomtru (počítací komůrky) a přepočítána na jednu petriho misku (na jednu bodovou kulturu). Přesná doba kultivace a podrobnější informace jsou uvedeny přímo u konkrétních pokusů v experimentální části.

### ***Test radiálního růstu***

Nejdříve byla připravena suspenze konidií hub Aa New nebo Aa3 o titru  $1,0 \times 10^7$  konidií v 1 ml, poté pomocí inokulační kličky nanesena do středů petriho misek s určitým médiem (upřesnění viz experimentální část). Po zaschnutí kapek suspenze byly misky v sáčcích umístěny do vytemperované místnosti s  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperioda byla 24/0. Po uplynutí požadovaného časového úseku se provádělo měření průměrů, u každé bodové kultury se zaznamenávaly dva údaje (maximum a minimum). Poté se ze získaných číselných údajů vypočítala průměrná plocha jedné bodové kultury. Tento údaj je důležitý při hodnocení výtěžnosti kultury na  $1 \text{ mm}^2$ .

### **Populace hmyzu používaná v pokusech**

Molice bavlníková (*Bemisia tabaci*)

Populace molice bavlníkové používaná v pokusech, byla získána v roce 2007 z firmy Biobest a z tohoto zdroje byla populace v případě potřeby doplňována. Chov molice byl udržován v klimatizovaných místnostech KRV ZF JU ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperioda 16/8, vlhkost 75 %) na různých druzích hostitelských rostlin, především na okurce seté (*Cucumis sativus*), popřípadě na fazolu obecném (*Phaseolus vulgaris*).

### **Hostitelské rostliny, pěstební materiál a pěstování rostlin**

Mezi používané rostliny patřila především okurka setá (*Cucumis sativus*) a fazol obecný (*Phaseolus vulgaris*). Rostliny byly předkličovány na navlhčené buničité vatě v uzavřené plastové nádobě, ve fázi děložních lístků sázeny do plastových květníků se zahradnickým substrátem B. Substrát byl používán nesterilní. Hostitelské rostliny byly pěstovány v klimaboxu při  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , se světelným režimem 12/12 a vlhkostí asi 75 %. Tyto rostliny byly dále použity v požadované růstové fázi do chovů molice bavlníkové a při biotestech. Při biotestech byla používána pouze okurka setá ve fázi dvou pravých listů. Sazenice byly pěstovány výhradně z naklíčených semen (na buničině viz výše) a v pokusech byla používána nemořená semena kultivaru Superstar F1.

## **Metodický postup zakládání biotestu s rostlinami**

V pokusech byly používány rostliny okurky seté, které byly vypěstovány v naprosté izolaci od hmyzu. Rostlinám byly ponechány pouze dva pravé listy, vzrostný vrchol se zastříhával pomocí nůžek. Semena rostlin byly předklíčena na navlhčené buničině a sazeničky s děložními lístky sázeny do plastických květníků se zahradnickým substrátem B, jak už bylo zmíněno výše. Takto upravené rostliny pouze se dvěma pravými listy byly umístěny do chovu molice bavlníkové na dobu 24 hodin, nebo se umístily do izolátoru a k nim se pomocí exhaustoru nafoukaly molice z chovů. Po 24 hodinách se rostliny s nakladenými vajíčky očistily od dospělců molic sfoukáním a připravily se na aplikaci suspenze konidii. Do pokusů bylo většinou vzato 12 rostlin, 6 do kontroly a 6 pro aplikaci suspenze konidii. Někdy i 16 rostlin, 8 do kontroly a 8 pro aplikaci suspenze konidií (u varianty pokusu, kdy byla porovnáвана účinnost houby v optimálních podmínkách: 95-100 % relativní vlhkosti a suboptimálních podmínkách: relativní vlhkost kolem 75 %, tyto rostliny nebyly umístěny pod izolátor, ale jinak byly vystaveny stejným podmínkám). Nejprve se rostliny máčely pouze ve vodě s tweenem 0,05 %, aby nedocházelo ke kontaminaci kontroly a tím ke zbytečnému zkreslení výsledků pokusu. Poté co byly rostliny kontroly ošetřeny vodou bez konidií a umístěny pod plastový izolátor do termostatu, bylo zbylých šest rostlin máčeno v suspenzi konidií o koncentraci  $1,0 \times 10^7$  a též byly umístěny pod plastový izolátor do termostatu vytemperovaného na teplotu  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , vlhkost pod izolátory byla 95-100 %, fotoperioda 16/8. Bylo nutné věnovat značnou pozornost pečlivému máčení, aby rostliny byly smáčeny na celém svém povrchu. Takto ošetřené rostliny se kontrolovaly většinou po 7, 14 a 21 dnech nebo jen po 7 a 14 dnech (viz experimentální část), pomocí binokulárního mikroskopu. Kontroloval a zaznamenával se každý list zvlášť, listy se před hodnocením rozstříhaly na tenké proužky, pro usnadněné vyhodnocování. Zaznamenávaly se vajíčka, nymfy 1., 2., 3., 4. (puparia) instaru a imága a to jedinci živí, mrtví a infikovaní. Z těchto záznamů se vypočítaly průměrné hodnoty v programu excel.

## **Měření, digitalizace obrazu a mikroskopická technika**

Pro měření a záznam teplot a RH (%) byly použity jak standardní měřicí pomůcky, tak i digitální záznamníky (datalogger TinyTalk II.) umožňující průběžné měření v potřebných intervalech nastavených pomocí programu. Byl použit standardní interval záznamu 15 minut pro měření teplot  $^\circ\text{C}$  a RH (%). Paměťová kapacita použitých digitálních záznamníků je 1500 záznamů. Dále bylo použito zařízení při vyhodnocování pokusů a při tvorbě digitalizované

dokumentace, které je k dispozici na KRV ZF JU: světelný mikroskop značky Nikon, binokulární mikroskop značky Weiss, digitální fotoaparáty Olympus Camedia E-20 a Canon EOS 10D. Také byly použity obrázky z archivu oddělení rostlinolékařství KRV ZF JU.

## 4. Experimentální část a výsledky

### 4.1. Hodnocení a porovnávání kvality kmenů hub rodu *Aschersonia*

**Cíl:** Porovnání kmenů hub Aa 3 a Aa New (radiální růst – plocha kultury na půdě PDA a SLA, výtěžnost z jedné bodové kultury, index GI, klíčivost pykno spor %)

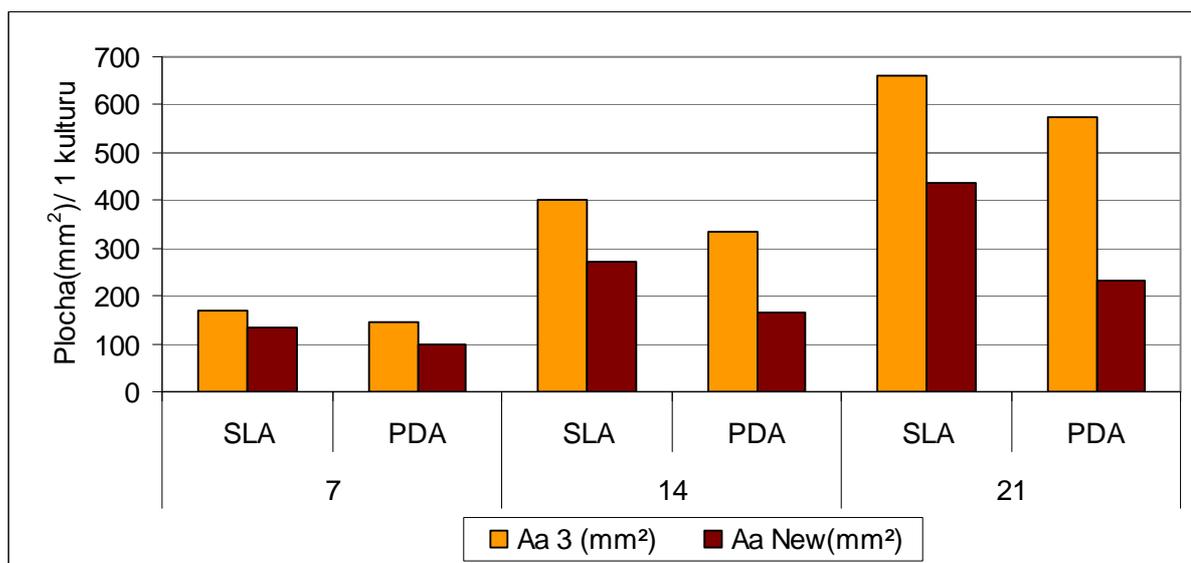
**Postup:**

- k vytvoření bodových kultur byly použity 14 dní staré kultury Aa 3 a Aa New
- měření radiálního růstu bylo prováděno po 7, 14, 21 dnech kultivace
- výtěžnost na jednu bodovou kulturu byla zjišťována po 14, 21 dnech (po 7 dnech nebylo možné výtěžnost zjistit), při mixování bylo používáno 100 ml destilované vody s tweenem 0,05 %
- plocha bodových kultur byla počítána z průměrných hodnot radiálních růstů, ten byl zjišťován měřením maximálního a minimálního průměru bodové kultury, měření bylo prováděno u 15 kultur od každé půdy

Tab. č. 1: Porovnání plochy (mm<sup>2</sup>) jedné bodové kultury kmenů Aa 3 a Aa New, hodnoceno po 7, 14 a 21 dnech kultivace.

Stáří kultury	Typ půdy	Aa 3 (mm <sup>2</sup> )	Aa New (mm <sup>2</sup> )
7. den	SLA	168,18	134,10
	PDA	143,85	97,06
14. den	SLA	400,33	272,73
	PDA	333,79	164,69
21. den	SLA	660,52	436,38
	PDA	574,07	231,77

Graf č. 1: Porovnání plochy (mm<sup>2</sup>) jedné bodové kultury kmenů Aa 3 a Aa New.

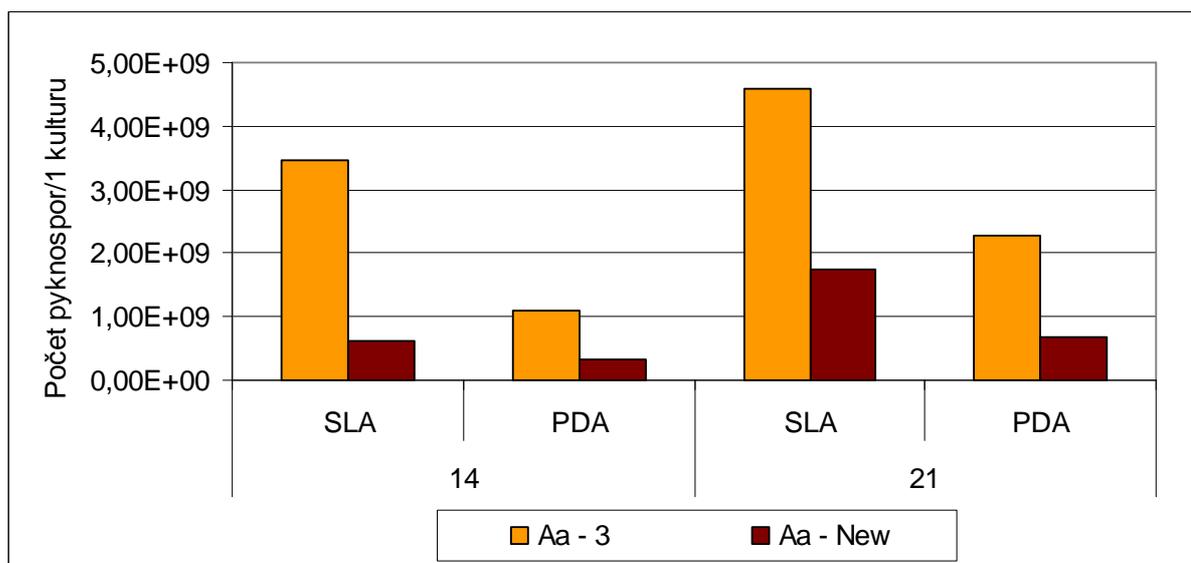


Z hodnot uvedených v předešlé tabulce a grafu je zřejmé, že kmen Aa 3 roste rychleji než kmen Aa New a to jak na SLA tak i na PDA. Pokud porovnáme hodnoty naměřené například po 21 dnech kultivace, tak na SLA Aa 3 dosáhlo hodnoty 660,52 mm<sup>2</sup>, naproti tomu Aa New pouze 436,38 mm<sup>2</sup>. Ještě markantnější rozdíl byl naměřen na půdě PDA též po 21 dnech, tam se plocha bodových kultur Aa 3 a Aa New lišila o více než 340 mm<sup>2</sup>. Pokud na tyto výsledky budeme nahlížet z pohledu hodnocení živné půdy, tak kvalitnější půdou je prokazatelně SLA, jednoznačně poskytuje lepší podmínky pro růst mycelia obou kmenů. Když se například podíváme na Aa New po 14 dnech kultivace a porovnáme plochu kultur, tak na SLA dosáhla kultura hodnoty 272,73 mm<sup>2</sup> a na PDA pouze 164,69 mm<sup>2</sup>.

Tab. č. 2: Porovnání výtěžností pykno spor z jedné bodové kultury kmenů Aa New a Aa 3, hodnoceno po 14. a 21. dnech kultivace.

Stáří kultury	Typ půdy	Aa 3	Aa New
14. den	SLA	3,48E+09	6,21E+08
	PDA	1,09E+09	3,34E+08
21. den	SLA	4,58E+09	1,73E+09
	PDA	2,29E+09	6,93E+08

Graf č. 2: Výtěžnost pyknozor z jedné bodové kultury kmenů Aa New a Aa 3.

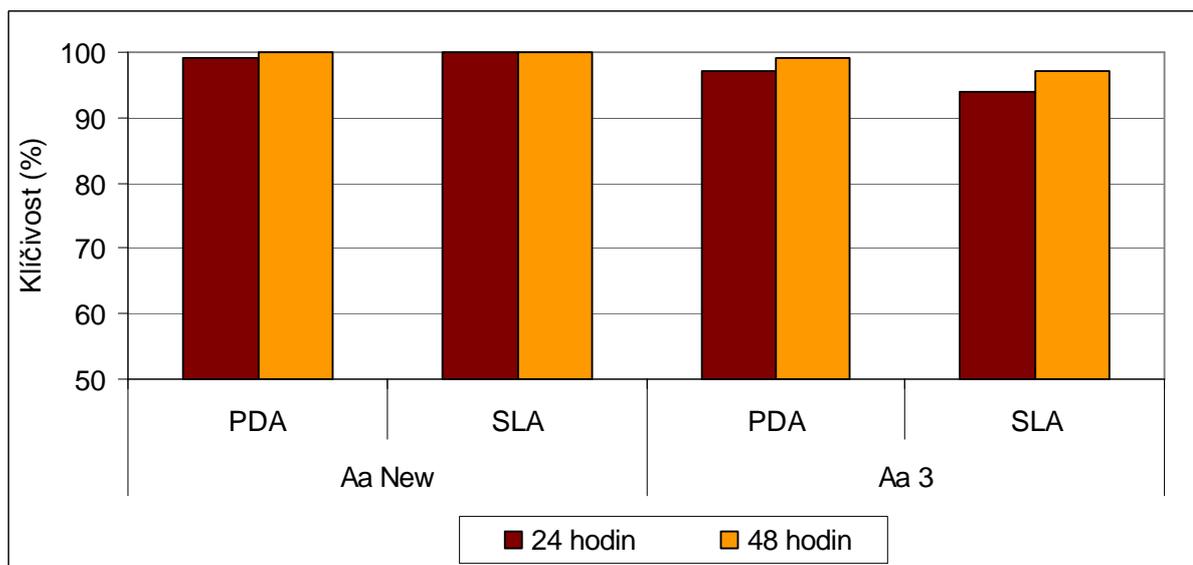


Z výsledků vyplývá, že SLA je opět kvalitnějším živným médiem v porovnání s PDA z pohledu poskytovaného množství pyknozor. Kmen Aa 3 po 14 dnech kultivace vyprodukoval na SLA  $3,48 \times 10^9$  pyknozor a na půdě PDA pouze  $1,09 \times 10^9$ . Kmen Aa New vykazoval stejný trend jako kmen Aa 3, jen s nižšími výtěžnostmi. Na půdě SLA vyprodukoval kmen Aa New po 14 dnech  $6,21 \times 10^8$  a na PDA  $3,34 \times 10^8$  pyknozor. Z těchto poznatků plyne, že SLA by mohla být vhodnou půdou pro produkci pyknozor při komercializaci. Když porovnáme výtěžnost u obou kmenů na SLA po 21 dnech, kde Aa 3 měla hodnotu  $4,58 \times 10^9$  a Aa New pouze  $1,73 \times 10^9$  pyknozor na jednu bodovou kulturu, jeví se vhodnějším kmenem Aa 3.

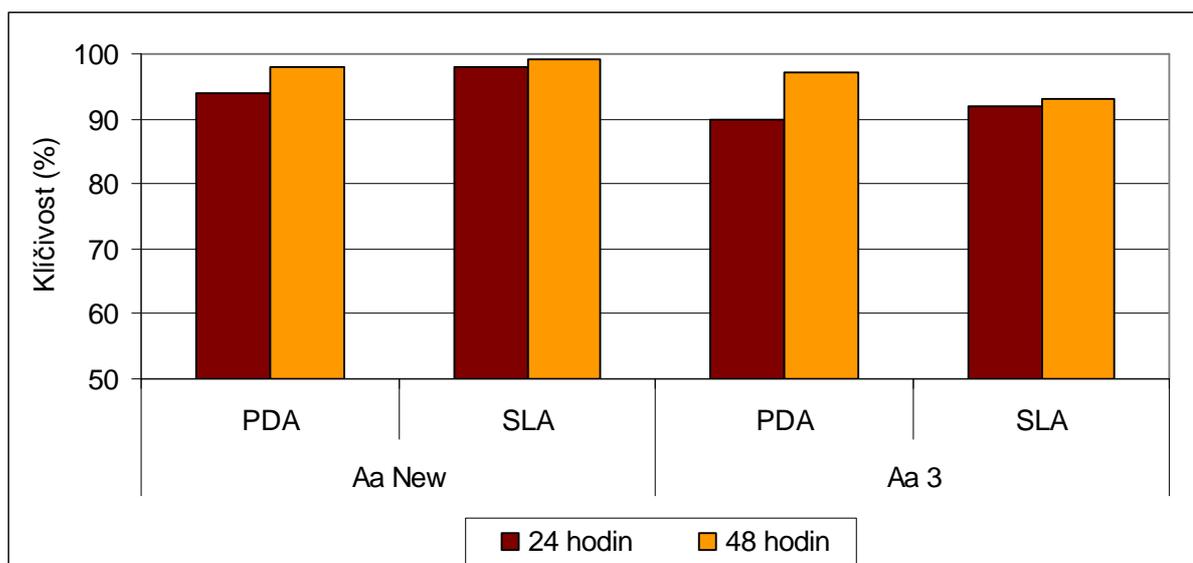
Tab. č. 3: Klíčivost pyknozor (%) kmenů Aa New a Aa 3, hodnoceno po 7, 14 a 21 dnech kultivace.

Stáří kultury	Hodiny	Aa New		Aa 3	
		PDA	SLA	PDA	SLA
7. den	24	99	100	97	94
	48	100	100	99	97
14. den	24	99	92	98	72
	48	100	97	100	84
21. den	24	94	98	90	92
	48	98	99	97	93

Graf č. 3: Klíčivost pyknospor (%) po 7 dnech kultivace kmenů Aa New a Aa 3.



Graf č. 4: Klíčivost pyknospor (%) po 21 dnech kultivace kmenů Aa New a Aa 3.



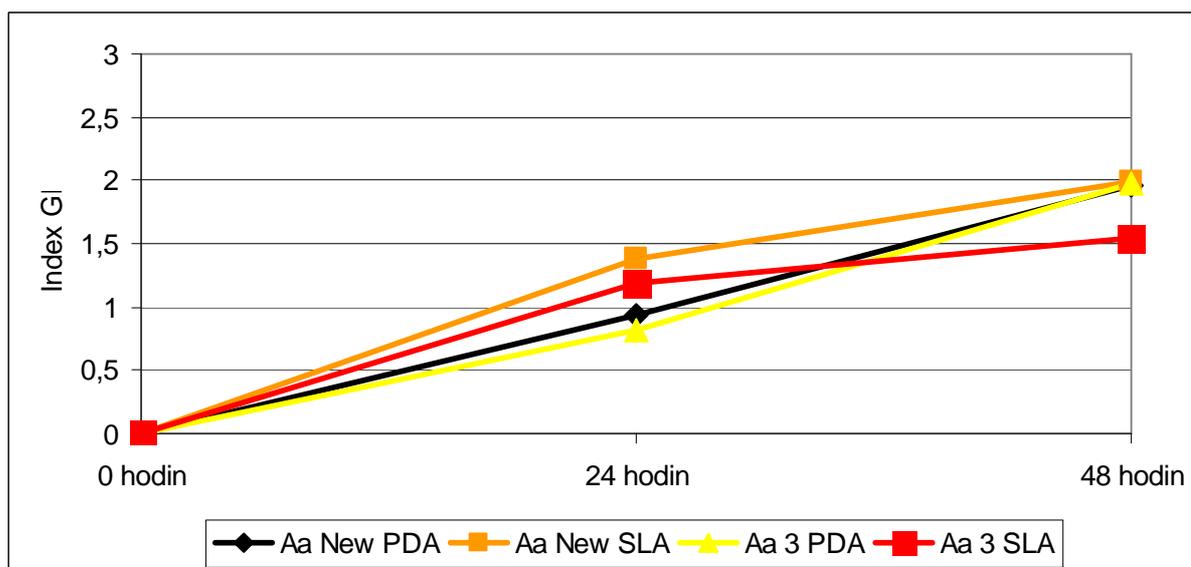
U obou kmenů i půd byl patrný slabý pokles klíčivostí po uplynutí časového úseku 21 dnů. Klíčivosti pyknospor (%) se u kmenů Aa New a Aa 3 lišily minimálně. Kmen Aa New kultivovaný 7 dní a sledovaný po 48 hodinách vykazoval 100 % klíčivost jak na SLA, tak i na PDA, po 21 dnech došlo ke slabému poklesu, u SLA byla zjištěna klíčivost 99 % a u PDA 98 %. U kmene Aa 3 byla klíčivost po 7 dnech kultivace (a 48 hodinách) na PDA 99 % a na SLA 97 %, po 21 dnech nastal taktéž malý pokles jako tomu bylo u Aa New, na PDA byla zjištěna

klíčivost 97 % a na SLA 93 %. Odlišnost klíčivostí podle použitých živných půd se nepotvrdila a ani mezi kmeny nejsou značné rozdíly.

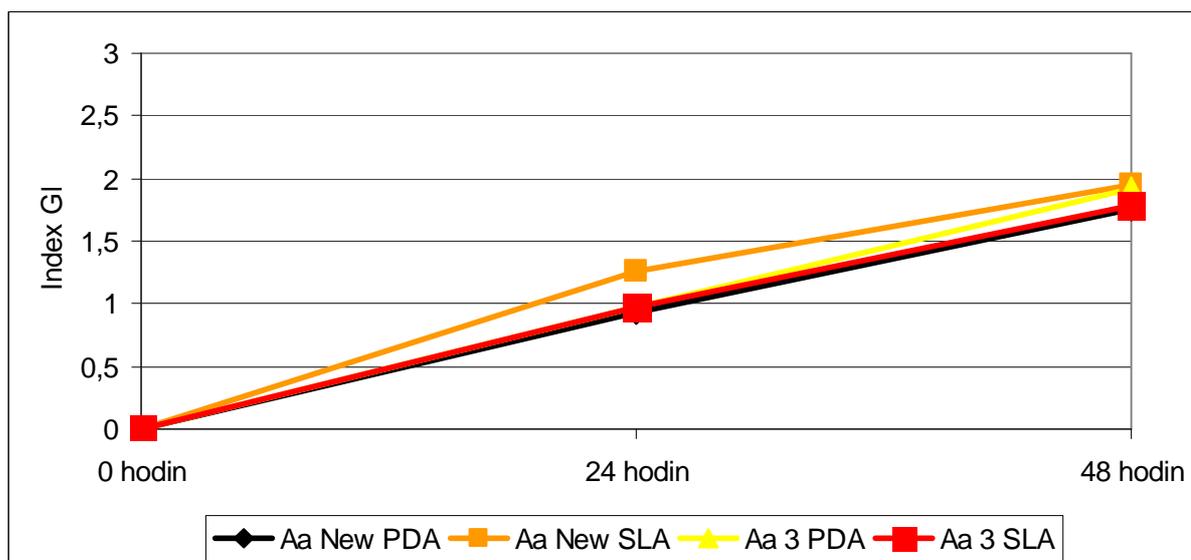
Tab. č. 4: Index klíčivosti GI kmenů Aa New a Aa 3, hodnoceno po 7, 14 a 21 dnech kultivace.

Stáří kultury	Hodiny	Aa New		Aa 3	
		PDA	SLA	PDA	SLA
7. den	24	0,93±0,52	1,38±0,41	0,81±0,50	1,19±0,65
	48	1,96±0,26	1,99±0,05	1,97±0,25	1,55±0,61
14. den	24	0,73±0,30	1,13±0,66	0,94±0,43	0,94±0,72
	48	1,37±0,49	1,49±0,67	1,91±0,32	1,67±0,74
21. den	24	0,93±0,47	1,26±0,52	0,97±0,56	0,97±0,55
	48	1,76±0,48	1,95±0,29	1,92±0,38	1,79±0,56

Graf č. 5: Porovnání indexu GI kmenů Aa New a Aa 3 po 7 dnech kultivace.



Graf č. 6: Porovnání indexu GI kmenů Aa New a Aa 3 po 21 dnech kultivace.



Závislost Indexu klíčivosti GI na čase se nepotvrdila, nedochází k výrazným změnám indexů při porovnání po 7, 14 a 21 dnech kultivace. Životnost pykno spor zůstala zachována po celou dobu sledování (doba 21 dní). Indexu GI 1,5, který je ukazatelem možnosti parazitování hostitele houbou, dosahovaly kmeny Aa New a Aa 3 po 21 dnech za téměř stejný časový úsek a to přibližně za 36 hodin. Ani mezi půdami není postřehnutelný rozdíl v hodnotách Indexu GI.

### Zhodnocení pokusu:

Pokud budeme porovnávat kmeny Aa new a Aa 3, tak kmen Aa 3 vykazoval jednoznačně lepší výsledky. A to ať už jde o rychlost radiálního růstu nebo výtěžnost pykno spor z jedné kultury. Klíčivost (%) a index GI byl u obou kmenů srovnatelný.

Pokud na výsledky budeme pohlížet ze strany vhodnosti půd, tak je evidentně kvalitnější půdou SLA. Poskytovala lepší podmínky pro růst mycelia obou kmenů a byla i kvalitnějším živným médiem z pohledu množství vyprodukovaných pykno spor. Pokud jde o klíčivost, tak se zdá méně vhodnou půdou než PDA, ale není to zcela prokazatelné. Stejně tak hodnoty Indexu GI jsou u obou půd srovnatelné.

#### 4.2. Hodnocení houby rodu *Aschersonie* - kmene *Aa new*.

**Cíl:** Zjistit jaká půda je nejvhodnější k udržování plošných kultur kmene *Aa New* (hodnocena byla výtěžnost na bodovou kulturu, radiální růst – plocha kultury, klíčivost pykno spor % a index GI.)

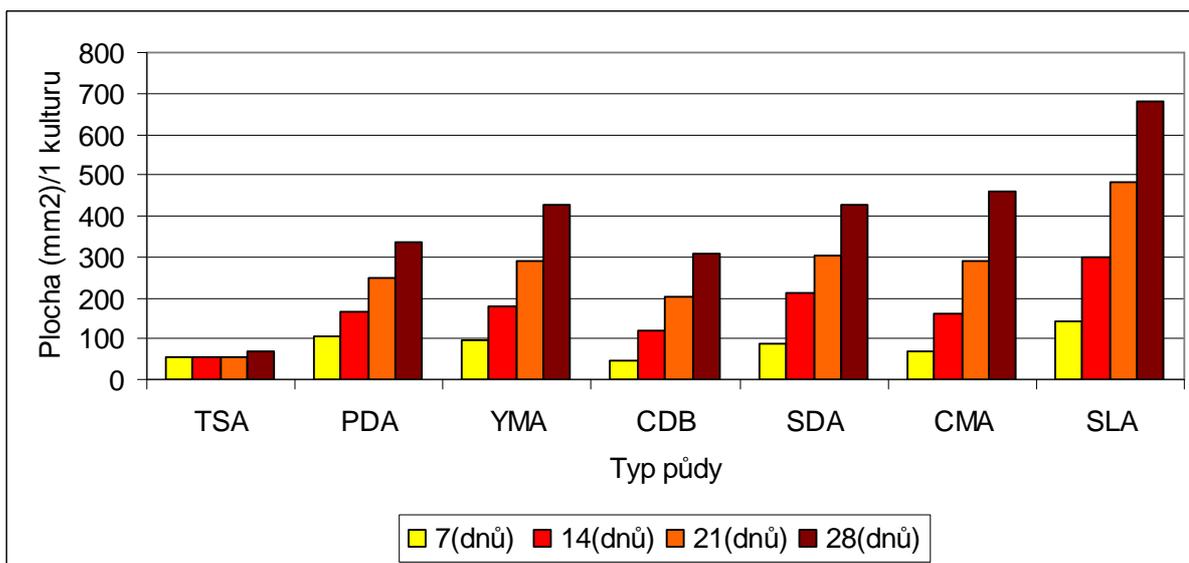
**Postup:**

- byly používány půdy: PDA, SLA, SDA, YMA, CDB, CMA, TSA
- suspenze používaná na vytvoření bodových kultur byla smyta z plošných kultur *Aa new* starých 14 dní
- radiální růst a klíčivosti byly hodnoceny po 7, 14, 21 a 28 dnech kultivace
- výtěžnost na jednu bodovou kulturu byla zjišťována po 14, 21 a 28 dnech (po 7 dnech nebylo možné výtěžnost odečíst)
- plocha bodových kultur byla počítána z průměrných hodnot radiálních růstů, ten byl zjišťován měřením maximálního a minimálního průměru bodové kultury, měření bylo prováděno u 15 kultur od každé půdy

Tab. č. 5: Porovnání plochy (mm<sup>2</sup>) bodových kultur kmene *Aa New* u různých typů živných půd, hodnoceno po 7, 14, 21 a 28 dnech kultivace.

Typ kultury	TSA	PDA	YMA	CDB	SDA	CMA	SLA
<b>7. den</b>	56,74	103,87	95,03	47,17	86,59	70,88	143,14
<b>14. den</b>	54,68	165,60	177,94	117,86	209,26	160,89	298,65
<b>21. den</b>	56,74	249,54	289,15	201,06	304,03	290,28	481,59
<b>28. den</b>	67,50	337,48	429,13	307,00	426,08	459,49	679,64

Graf č. 7: Porovnání plochy (mm<sup>2</sup>) bodových kultur kmene Aa New u různých typů živných půd.

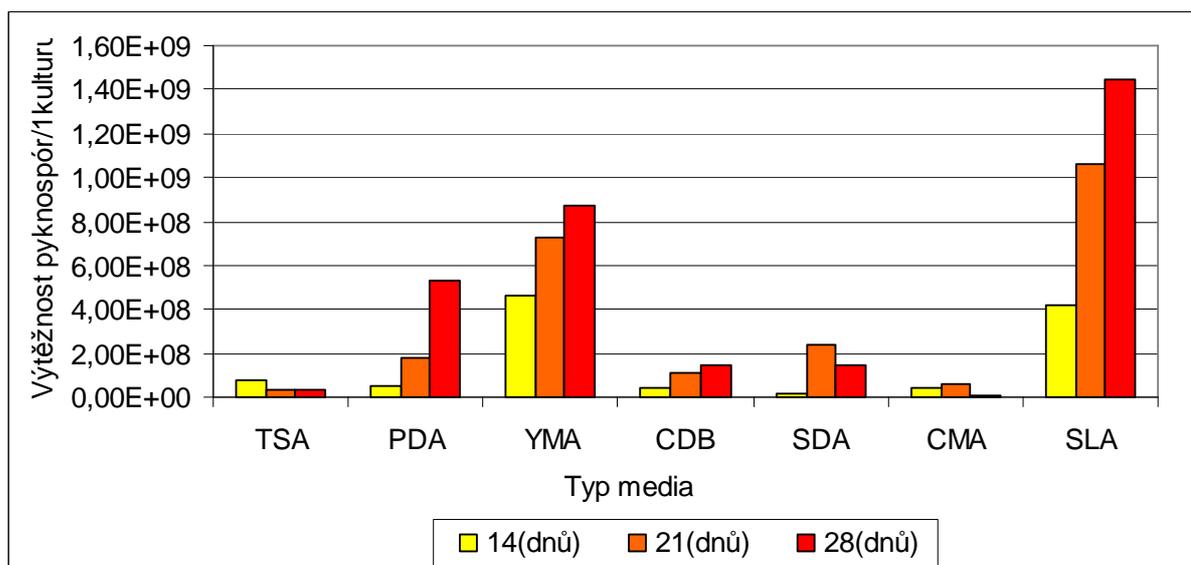


Z grafu je patrné, že nejlepším živným médiem pro růst mycelia kmene Aa New byla po celou dobu sledování (po 7, 14, 21 a 28 dnech) jednoznačně půda SLA. Naopak půda, která vykazovala nejmenší růst mycelia byla TSA, sice po 7 dnech kultivace měla nejmenší plochu pěstování CDB, ale na půdě TSA se po 7 dnech růst mycelia téměř zastavil. Plocha bodové kultury na půdě TSA po 28 dnech sledování byla 67,50 mm<sup>2</sup>, v porovnání se SLA, která vykazovala po 28 dnech kultivace plochu 679,64 mm<sup>2</sup> byl růst na půdě TSA opravdu neuspokojivý. Pokud půdy srovnáme dle růstu mycelia od nejhoršího k nejlepšímu médiu, které poskytovalo vhodné podmínky pro růst mycelia, bude řada vypadat následovně: nejhorším médiem je TSA, pak CBD, PDA, velice podobně na tom jsou půdy SDA a YMA, pak CMA a nejlepší půdou je SLA.

Tab. č. 6: Výtěžnost pyknospor kmene Aa New z jedné bodové kultury u různých typů půd, hodnoceno po 14, 21 a 28 dnech kultivace.

Typ kultury	TSA	PDA	YMA	CDB	SDA	CMA	SLA
<b>14. den</b>	7,50E+07	5,13E+07	4,60E+08	4,38E+07	1,50E+07	4,13E+07	4,21E+08
<b>21. den</b>	3,56E+07	1,84E+08	7,29E+08	1,09E+08	2,38E+08	6,38E+07	1,06E+09
<b>28. den</b>	3,47E+07	5,27E+08	8,76E+08	1,43E+08	1,43E+08	8,75E+06	1,45E+09

Graf č. 8: Výtěžnost pyknozor kmene Aa New z jedné bodové kultury u různých typů půd.

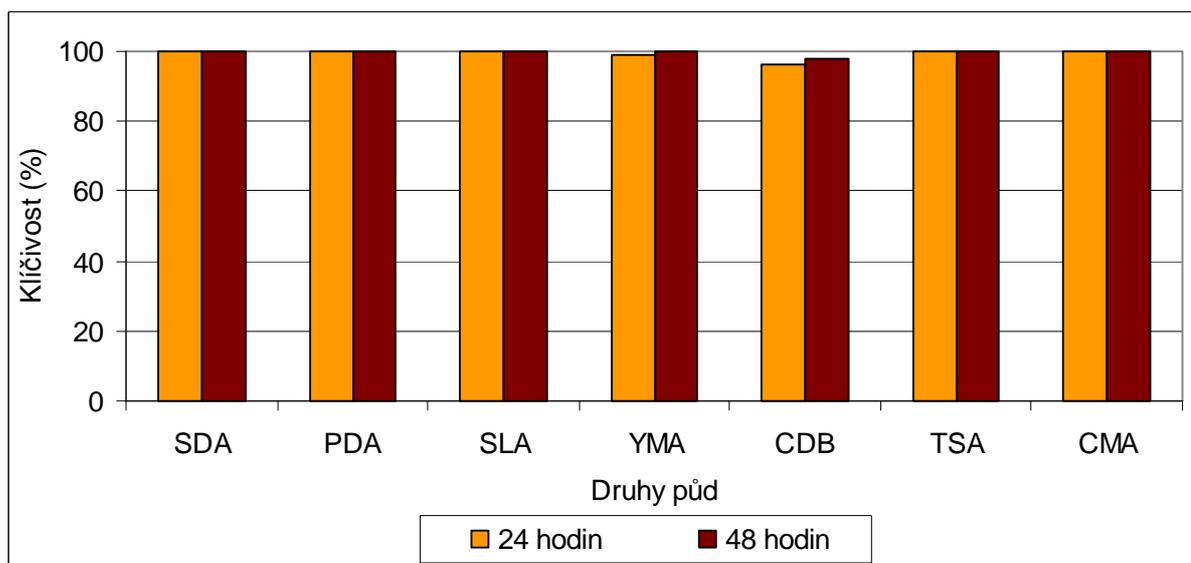


Pokud budeme hodnotit kvalitu půd dle množství vyprodukovaných pyknozor, tak jednoznačně půdou vykazující nejvyšší hodnoty pyknozor byla SLA. Po 28 dnech kultivace bylo na půdě SLA výtěžnost pyknozor  $1,45 \times 10^9$ . Dobré výsledky měla i půda YMA ta dosáhla hodnoty  $8,76 \times 10^8$  na jednu bodovou kulturu. Naopak nejnižší výtěžnost byla zjištěna u půdy CMA a to  $8,75 \times 10^6$ . Pokud tyto výsledky budeme hodnotit z hlediska využití ve velkokapacitních výrobnách, kde je potřeba vyprodukovat za co nejkratší časový úsek nejvíce materiálu, je dle výsledků nejvhodnější půdou YMA, na které kmen Aa New po 14 dnech kultivace vyprodukoval  $4,60 \times 10^8$  pyknozor, avšak tento výsledek byl téměř shodný s produkcí pyknozor na půdě SLA  $4,21 \times 10^8$ .

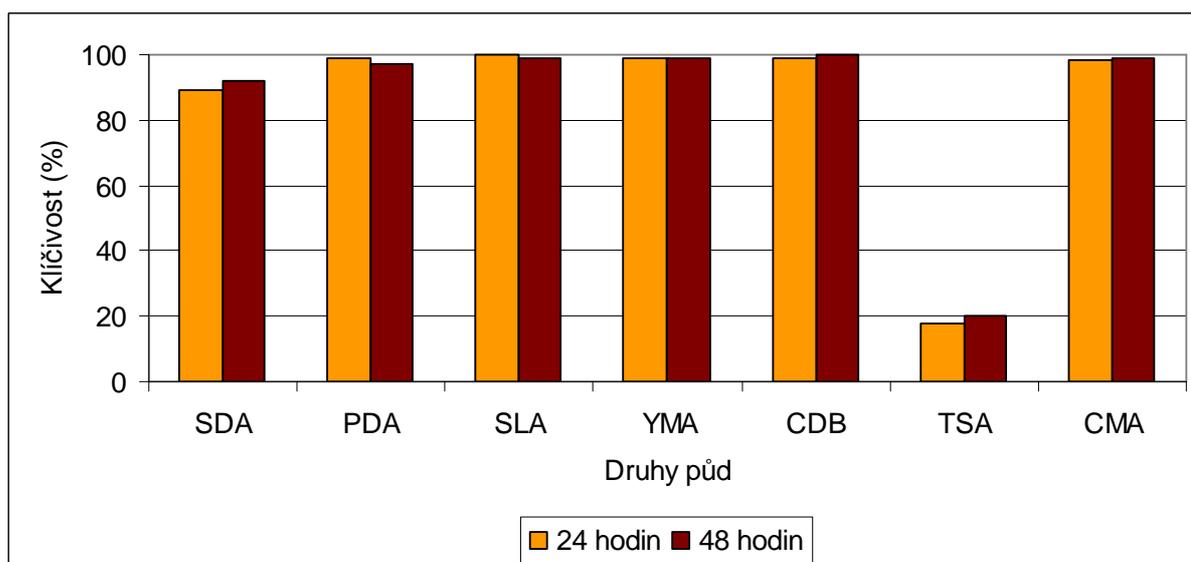
Tab. č. 7: Klíčivost (%) pyknozor kmene Aa New u různých typů půd, hodnoceno po 14, 21 a 28 dnech kultivace.

stáří kultur	hodin	SDA	PDA	SLA	YMA	CDB	TSA	CMA
14. den	24	100	100	100	99	96	100	100
	48	100	100	100	100	98	100	100
21. den	24	100	100	97	96	98	89	95
	48	100	98	100	97	99	88	100
28. den	24	89	99	100	99	99	18	98
	48	92	97	99	99	100	20	99

Graf č. 9: Klíčivost pykno spor (%) kmene Aa New u různých typů půd po 14 dnech kultivace.



Graf č. 10: Klíčivost (%) pykno spor Aa New kultivovaných na různých druzích půd po 28 dnech kultivace.

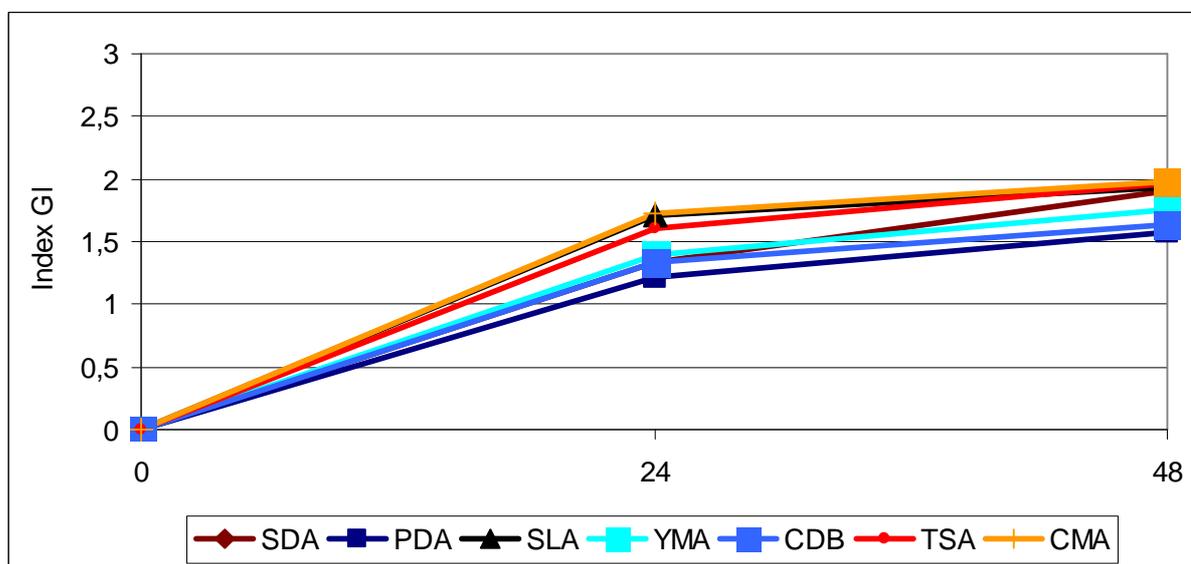


Klíčivost (%) pykno spor kmene Aa New se postupem času samozřejmě mění, ale u většiny půd to není markantní pokles klíčivosti. Pouze na půdě TSA dochází opravdu ke značnému snížení klíčivosti po 14 dnech kultivace byla klíčivost 100 %, po 21 dnech už 88 % a po 28 dnech kultivace klesla klíčivost až na hodnotu 20 %. U ostatních půd neklesla klíčivost po 28 dnech pod hodnotu 92 %.

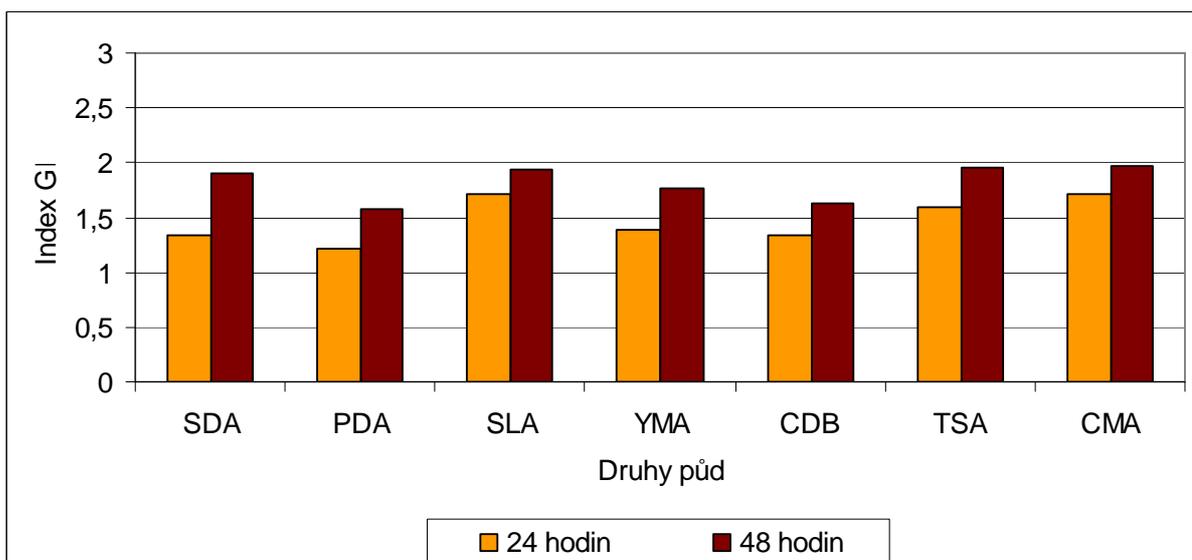
Tab. č. 8: Index GI pyknozor kmene Aa New u různých typů půd, hodnoceno po 14, 21 a 28 dnech kultivace.

Stáří kultur	14. den		21. den		28. den	
	24	48	24	48	24	48
<b>SDA</b>	1,33±0,46	1,91±0,30	1,43±0,53	1,71±0,43	0,92±0,50	1,37±0,55
<b>PDA</b>	1,22±0,46	1,57±0,44	1,25±0,52	1,58±0,47	1,16±0,43	1,7±0,55
<b>SLA</b>	1,71±0,42	1,93±0,19	1,27±0,66	1,76±0,39	0,65±0,30	1,69±0,48
<b>YMA</b>	1,39±0,52	1,76±0,41	0,79±0,39	0,95±0,44	0,55±0,18	0,72±0,29
<b>CDB</b>	1,33±0,51	1,63±0,45	1,12±0,51	1,42±0,54	1,68±0,41	1,94±0,27
<b>TSA</b>	1,6±0,51	1,96±0,20	0,82±0,51	1,38±0,70	0,09±0,19	0,13±0,22
<b>CMA</b>	1,72±0,32	1,98±0,17	1,08±0,58	1,71±0,46	1,11±0,46	1,93±0,30

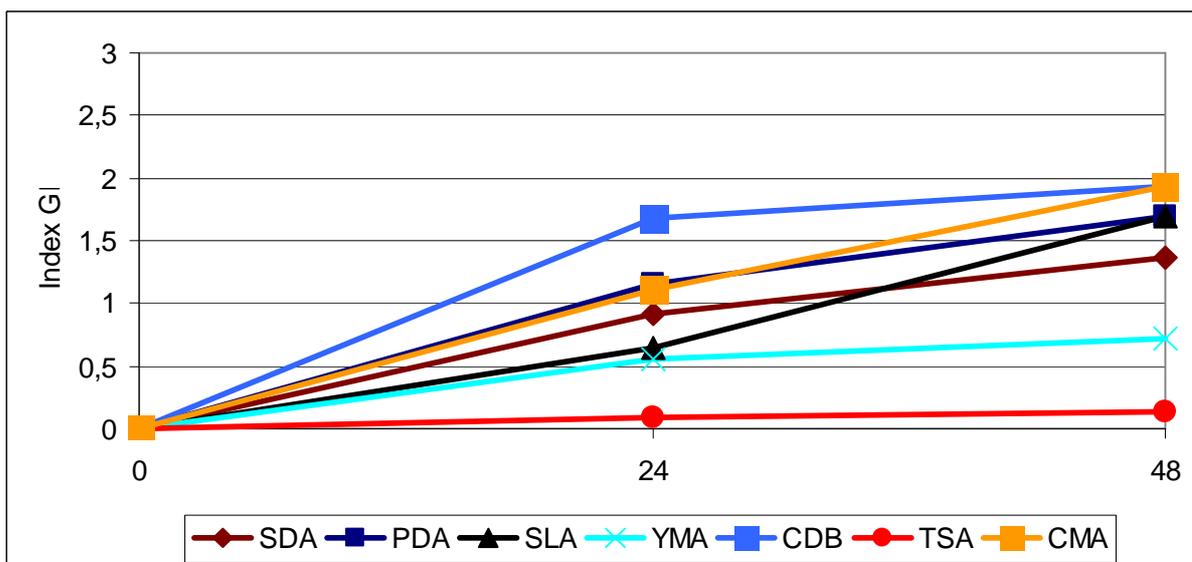
Graf č. 11: Index GI pyknozor kmene Aa New po 14 dnech kultivace.



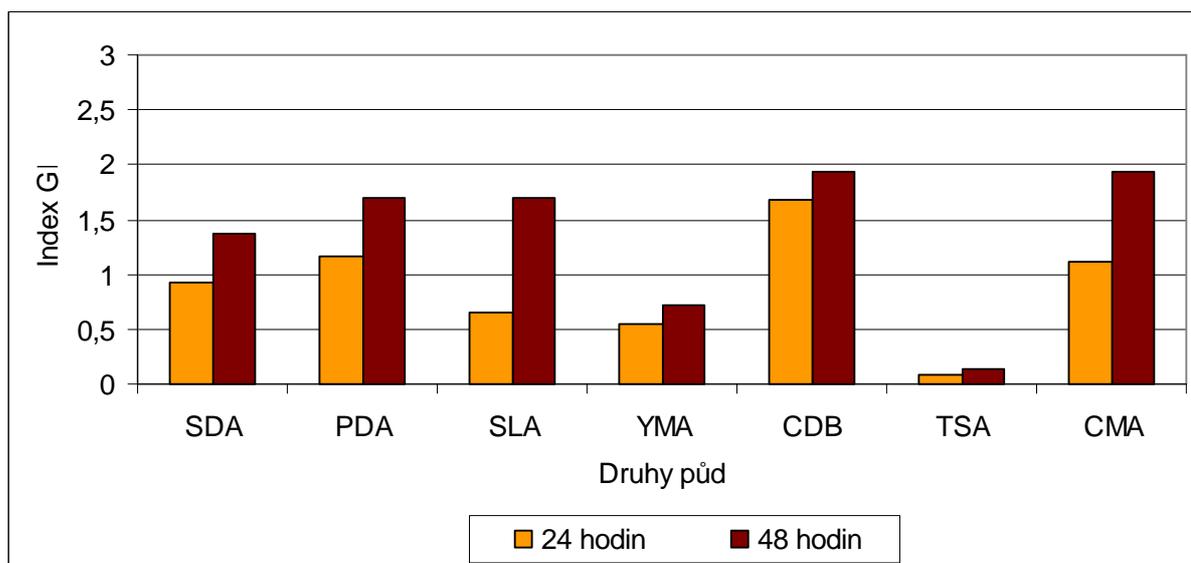
Graf č. 12: Index GI pyknozor kmene Aa New po 14 dnech kultivace.



Graf č. 13: Index GI pyknozor kmene Aa New po 28 dnech kultivace.



Graf č. 14: Index GI pykno spor kmene Aa New po 28 dnech kultivace.



Index GI je po 14 dnech kultivace u všech půd téměř srovnatelný. Životnost pykno spor poklesla po 28 dnech kultivace především u půdy TSA, kde po 14 dnech kultivace byl index GI 1,96 a po 28 dnech už pouze 0,13. Dále se pokles životaschopnosti pykno spor projevil na půdě YMA, kde po 14 dnech kultivace dosahoval Index GI hodnoty 1,76 a po 28 dnech pouze 0,72. Naopak u půd CMA, SDA, SLA a PDA došlo jen k minimálnímu nebo k žádnému poklesu životaschopnosti pykno spor.

### Zhodnocení pokusu:

Nejlepším živným médiem pro růst mycelia kmene Aa New byla jednoznačně půda SLA a to po celou dobu kultivace (po 7, 14, 21 a 28 dnech). Naopak půda, která vykazovala nejmenší růst mycelia byla TSA, sice po 7 dnech kultivace měla nejmenší plochu pěstování CDB, ale na půdě TSA se po 7 dnech růst mycelia téměř zastavil. A pokud budeme hodnotit kvalitu půd dle množství vyprodukovaných pykno spor, tak jednoznačně půdou vykazující nejvyšší hodnoty je opět SLA. SLA vykazovala i velmi dobrou schopnost klíčení pykno spor a jejich životaschopnost (index GI) po celou dobu sledování. Z výsledků vyplývá, že pro udržování plošných kultur kmenu Aa New je vhodným médiem jednoznačně SLA. Naopak nejnehodnější půdou se jeví TSA a to ve všech sledovaných aspektech.

### 4.3. Hodnocení účinnosti *A. aleyrodis* kmene Aa new na synchronizovanou populaci molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*).

**Cíl:** Zjistit účinnost kmene Aa new za optimálních podmínek pro rozvoj patogena (90 - 100% vlhkost).

**Postup:**

- bylo používáno 12 rostlin (6 pro aplikaci Aa New a 6 kontroly)
- pokus byl realizován za 90 - 100 % relativní vlhkosti teploty 25±1°C
- hodnocení populace probíhalo po 7., 14. a 21. dnech
- vždy byly počítány čtyři listy kontroly a čtyři listy Aa New za časový úsek (po 7, 14, 21 dnech)
- kvalita používané kultury Aa New
  - Klíčivost (po 24 hodinách) – 100 %
  - Index vývoje GI (po 24 hodinách) – 1,095 ± 0,36024
- tab. č. 9 uvádí procentuelní vyjádření odsledovaných jedinců v synchronizované populaci *B. tabaci*. Skutečný počet jedinců byl u jednotlivých variant:

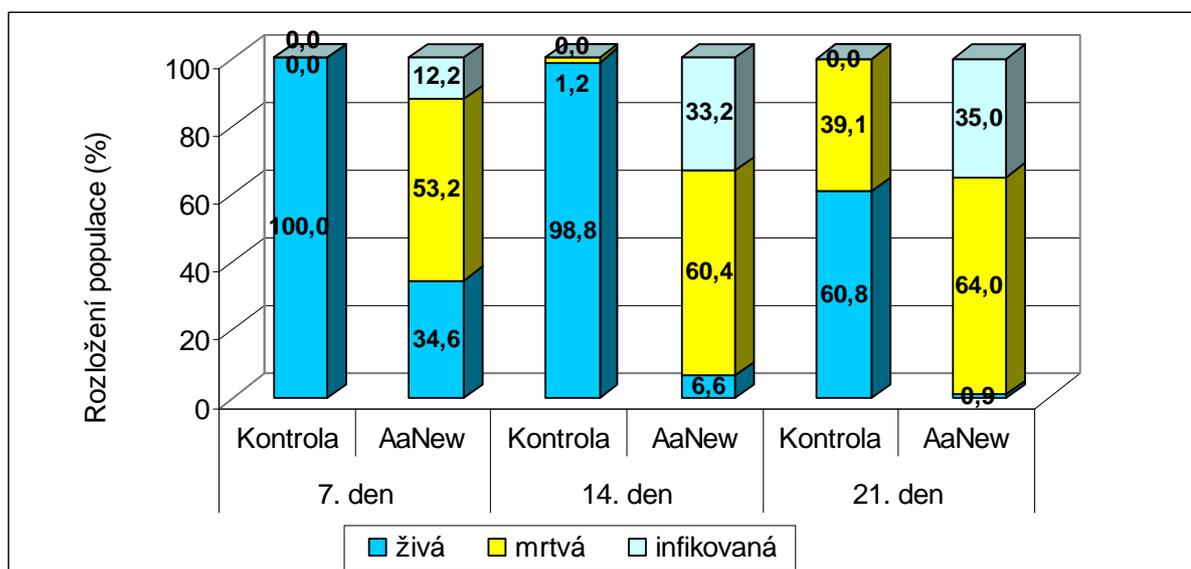
kontrola 7. den – 494	Aa New 7. den – 547
kontrola 14. den – 341	Aa New 14. den – 345
kontrola 21. dne – 229	Aa New 21. den – 294

Tab. č. 9: Působení kmene Aa New na synchronizovanou populaci *B. tabaci* (procentuelní vyjádření).

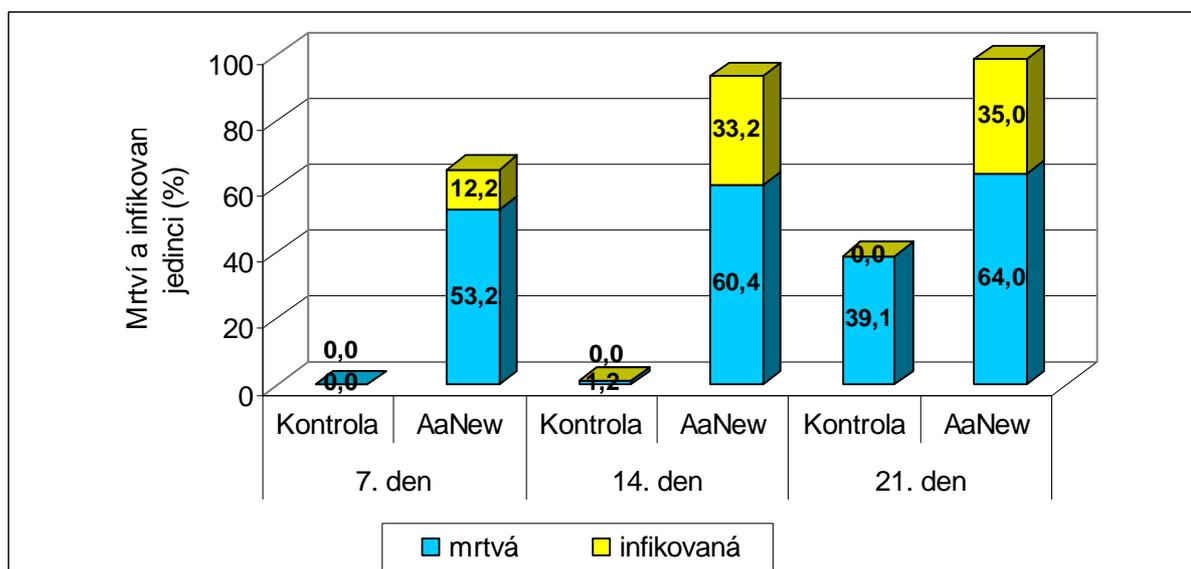
		7. den		14. den		21. den	
		Kontrola	Aa New	Kontrola	Aa New	Kontrola	Aa New
<b>vajíčka</b>	<b>živá</b>	8,7	16,0	5,0	3,8	0,0	0,0
	<b>mrtvá</b>	0,0	45,8	0,0	58,4	0,0	52,2
	<b>infikovaná</b>	0,0	0,5	0,0	6,5	0,0	2,0
<b>L1</b>	<b>živé</b>	89,4	15,4	46,0	0,7	0,0	0,0
	<b>mrtvé</b>	0,0	7,4	0,4	1,4	4,0	5,4
	<b>infikované</b>	0,0	11,7	0,0	19,1	0,0	10,5
<b>L2-L3</b>	<b>živé</b>	1,9	3,2	47,8	2,1	20,1	0,2
	<b>mrtvé</b>	0,0	0,0	0,8	0,6	27,7	6,4
	<b>infikované</b>	0,0	0,0	0,0	7,6	0,0	20,4
<b>L4</b>	<b>živé</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	11,7	0,0
	<b>mrtvé</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	7,4	0,0
	<b>infikované</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,1

<b>vyhlhlé</b>	<b>živé</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	29,0	0,7
----------------	-------------	-----	-----	-----	-----	------	-----

Graf č. 15: Působení kmene Aa New na synchronizovanou populaci *B. tabaci*.



Graf č. 16: Kumulovaná mortalita způsobená účinkem kmene Aa New v synchronizované populaci *B. tabaci*



### Zhodnocení pokusu:

Po uplynutí 7 dnů po aplikaci suspenze pyknosor populace vykázala z neznámých důvodů vysokou úmrtnost vajíček. Tento jev se v kontrole neobjevil, proto se tento fakt přičítá působení aplikované suspenzi Aa New, ale jelikož infekce vajíček *B. tabaci* entomopatogenní houbou *A. aleyroides* doposud nebyla popsána a bohužel z časových

důvodů nebyla provedena elektronová mikroskopie, se nemohla tyto vajíčka zařadit do kategorie infikovaných. Proto výsledky nejsou příliš uspokojivé. 7. den po aplikaci bylo v populaci pouze 12,2 % jedinců infikovaných a celých 53,2 % jedinců mrtvých. Postupem času se počet mrtvých jedinců příliš nenavýšoval, naopak množství infikovaných jedinců se po 14. dnech zdvojnásobil a postupem času ještě pomalu vzrůstal. Po 14. dnech se v populaci vyskytovalo 60,4 % mrtvých a 33,2 % infikovaných jedinců. Právě po 14 dnech byla z výsledků patrný největší účinek působení Aa New na populaci. Po 21 dnech se počet mrtvých i infikovaných jedinců zvýšil minimálně. Mrtvých jedinců bylo 64 %, tedy došlo k navýšení pouze o necelé 4 % a infikovaných jedinců bylo 35 %. Po 21 dnech pokusu se v populaci vyskytovalo minimálně živých jedinců, avšak není jisté zda jde jen o zásluhu aplikované suspenze pykno spor Aa New nebo se zde odrazilo i působení jiného faktoru, i když tato možnost by měla být vyloučena právě založením kontrolního pokusu, kde se rostliny kontroly nacházely v naprosto shodných podmínkách jako rostliny, na které byla aplikována suspenze pykno spor.

#### **4.4. Hodnocení účinnosti *A. aleyrodis* kmene Aa 3 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*)**

**Cíl:** Zjistit účinnost suspenze pykno spor Aa 3 za optimálních podmínek pro rozvoj patogena (90 - 100% vlhkost).

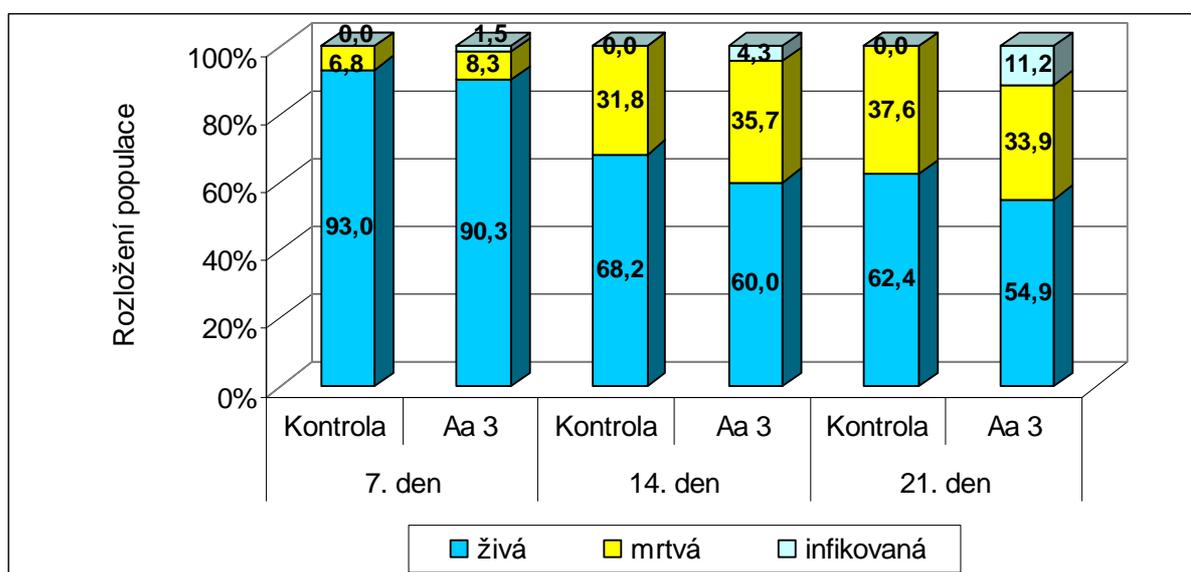
**Postup:**

- Bylo používáno 12 rostlin ( 6 pro aplikaci Aa 3 a 6 kontroly)
- Pokus byl realizován za 90 - 100% relativní vlhkosti teploty  $25 \pm 1^\circ\text{C}$
- Hodnocení populace probíhalo po 7., 14. a 21. dnech.
- Vždy byly počítány čtyři listy kontroly a čtyři listy Aa 3 za časový úsek ( po 7, 14, 21 dnech)
- Kvalita používané kultury Aa 3:
  - Klíčivost po 24 hodinách – 99 %
  - Index vývoje GI –  $0,52 \pm 0,157634$
- tab. č. 10 uvádí procentuelní vyjádření odsledovaných jedinců v synchronizované populaci *B. tabaci*. Skutečný počet jedinců byl u jednotlivých variant:

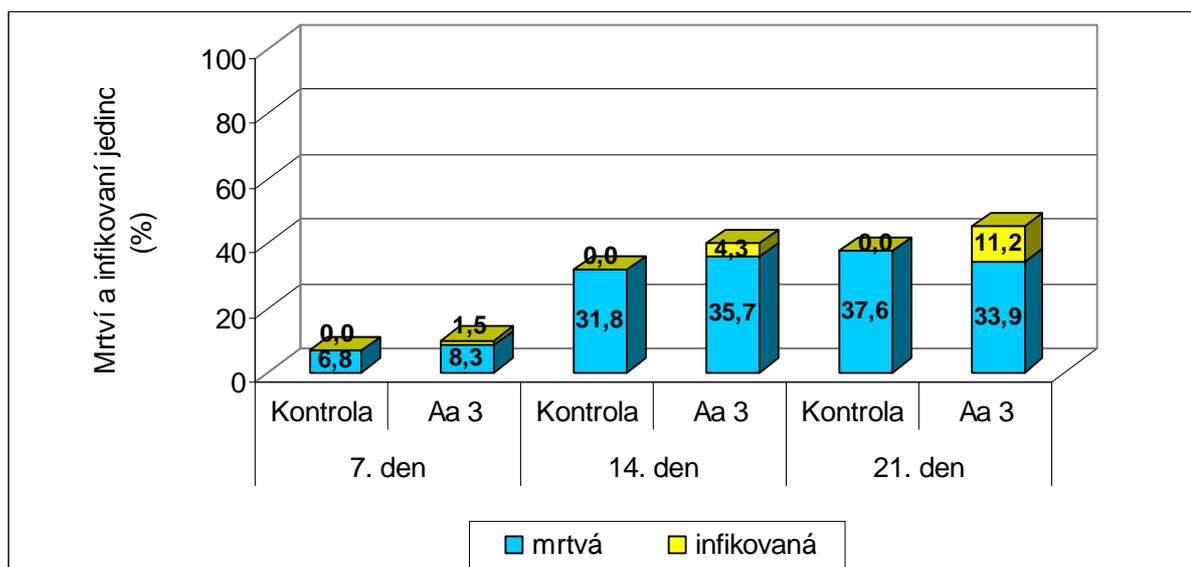
kontrola 7. den – 534	Aa 3 7. den – 553
kontrola 14. den – 257	Aa 3 14. den – 251

Tab. č. 10: Působení Aa 3 na synchronizovanou populaci *B. tabaci* (procentuelní vyjádření).

		7. den		14. den		21. den	
		Kontrola	Aa 3	Kontrola	Aa 3	Kontrola	Aa 3
vajíčka	živá	5,2	5,7	0,0	0,0	0,0	0,0
	mrtvá	0,7	1,8	7,6	6,0	7,1	7,5
	infikovaná	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
L1	živé	79,2	82,5	0,0	0,0	0,0	0,0
	mrtvé	5,5	6,5	7,0	7,9	9,3	7,3
	infikované	0,0	1,5	0,0	0,4	0,0	1,3
L2-L3	živé	8,6	2,1	52,4	46,2	3,0	0,9
	mrtvé	0,6	0,0	17,2	21,8	18,3	13,5
	infikované	0,0	0,0	0,0	3,9	0,0	5,2
L4	živé	0,0	0,0	15,8	13,8	28,6	30,7
	mrtvé	0,0	0,0	0,0	0,0	2,9	5,6
	infikované	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,7
vylíhlé	živé	0,0	0,0	0,0	0,0	30,8	23,3

Graf č. 17: Působení kmene Aa 3 na synchronizovanou populaci *B. tabaci*.

Graf č. 18: Kumulovaná mortalita způsobená účinkem kmene Aa 3 v populaci *B. tabaci*.



### Zhodnocení pokusu:

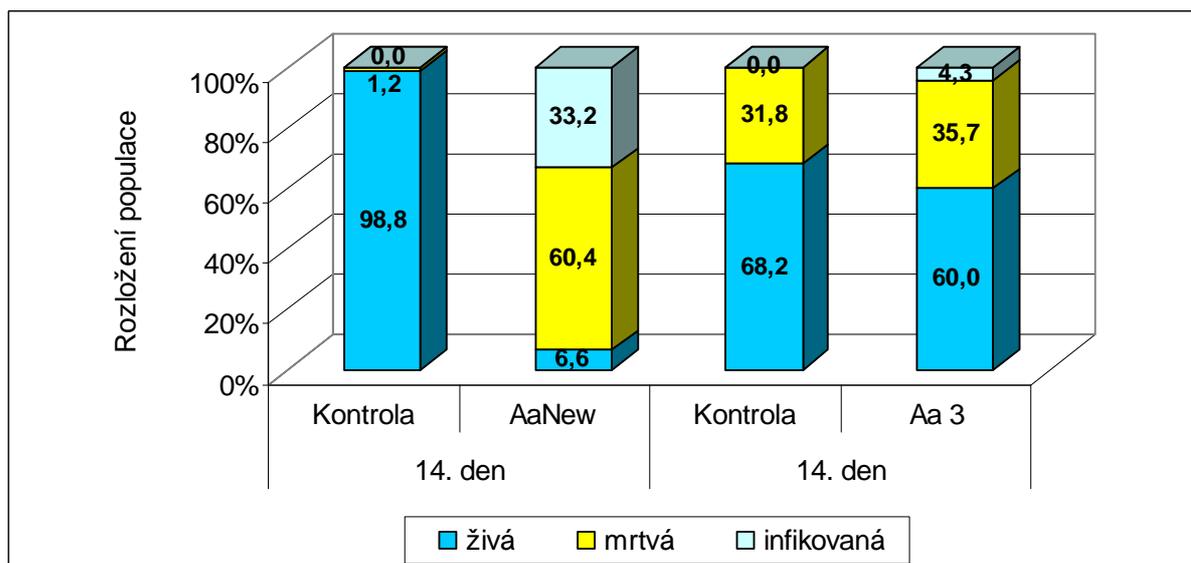
Účinek suspenze pyknospor Aa 3 dle výsledků nebyl uspokojivý. Po 7 dnech se účinnost kmene Aa 3 téměř neprojevila, vyskytovalo se pouze 1,5 % infikovaných jedinců. 14. den po aplikaci suspenze bylo v populaci 4,3 % a po 21 dnech 11,2 % infikovaných jedinců. Počet mrtvých jedinců byl v kontrole a v samotném pokusu velmi podobná, po 21 dnech bylo v kontrole 37,6 % a v po aplikaci Aa 3 33,9 % mrtvých jedinců. Z výsledků je patrné, že jedinci *B. tabaci* nejsou příliš citliví ke kmenu Aa 3.

### Porovnání účinku kmenů Aa New a Aa 3:

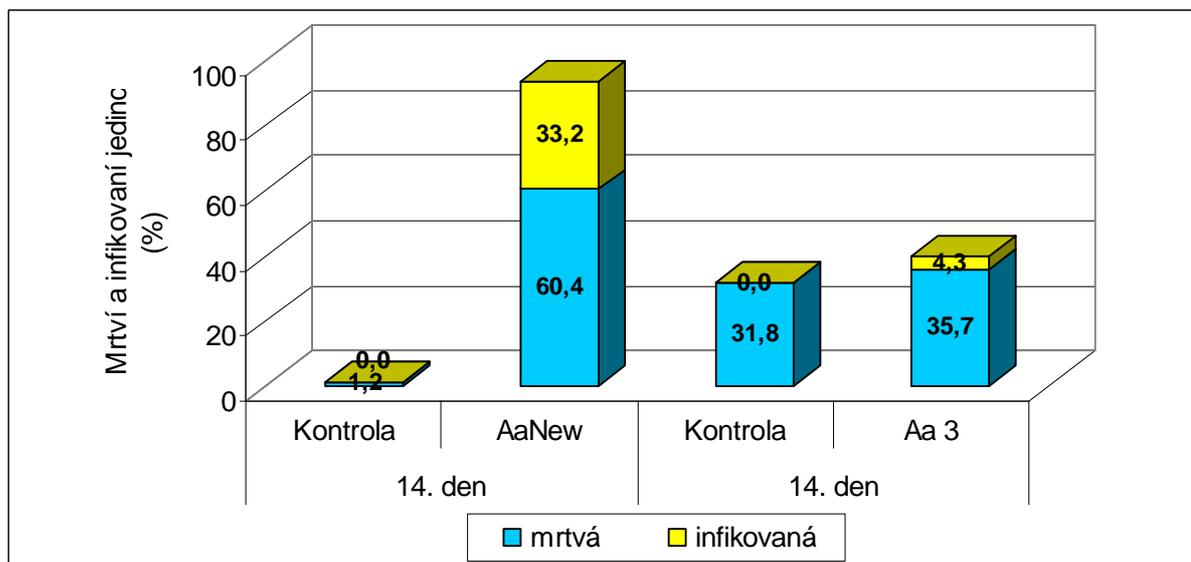
Tab. č. 11: Porovnání účinku kmenů Aa New a Aa 3 na synchronizovanou populaci *B. tabaci*, 14. den po aplikaci.

	14. den		14. den	
	Kontrola	AaNew	Kontrola	Aa 3
<b>živá</b>	98,8	6,6	68,2	60,0
<b>mrtvá</b>	1,2	60,4	31,8	35,7
<b>infikovaná</b>	0,0	33,2	0,0	4,3

Graf č. 18: Porovnání účinku kmenů Aa New a Aa 3 na synchronizovanou populaci *B. tabaci*, 14. den po aplikaci.



Graf č. 19: Porovnání kumulované mortality v synchronizované populaci *B. tabaci* 14 den po aplikaci suspenze kmenů Aa New a Aa 3.



Na první pohled je zřejmé, že ani jeden z kmenů není příliš vhodný k regulaci populace *B. tabaci*. Aa New vykazovala po 14 dnech 33,2 % infikovaných jedinců a Aa 3 pouze 4,3 %. I když ani jeden z výsledků není uspokojivý, tak Aa New přece jenom má několika násobně lepší účinek než kmen Aa 3.

#### 4.5. Hodnocení účinnosti *L. lecanii* kmene L1 I9 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*)

**Cíl:** Zjistit účinnost suspenze L1 I9 za optimálních podmínek pro rozvoj patogena (90 – 100% vlhkost).

**Postup:**

- Bylo používáno 12 rostlin ( 6 pro aplikaci L1 I9 a 6 kontroly)
- Pokus byl realizován za 90 – 100 % relativní vlhkosti teploty 25±1°C
- Hodnocení populace probíhalo po 7., 14. a 21. dnech.
- Vždy byly počítány čtyři listy kontroly a čtyři listy L1 I9 za časový úsek ( po 7, 14, 21 dnech)
- Kvalita používané kultury L1 I9:
  - Klíčivost po 24 hodinách – 100 %
  - Index vývoje GI – 2,0 ± 0
- tab. č. 12 uvádí procentuelní vyjádření odsledovaných jedinců v synchronizované populaci *B. tabaci*. Skutečný počet jedinců byl u jednotlivých variant:

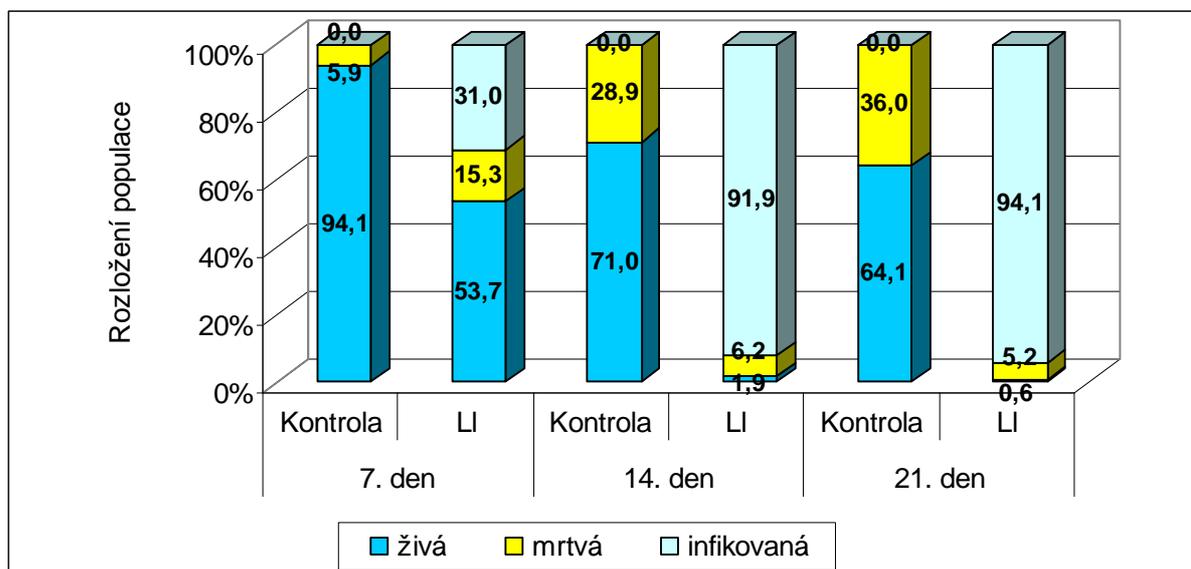
kontrola 7. den – 371	L1 I9 7. den – 409
kontrola 14. den – 214	L1 I9 14. den – 275
kontrola 21. dne – 164	L1 I9 21. den – 216

Tab. č.12: Působení kmene L1 I9 na synchronizovanou populaci *B. tabaci* (procentuelní vyjádření).

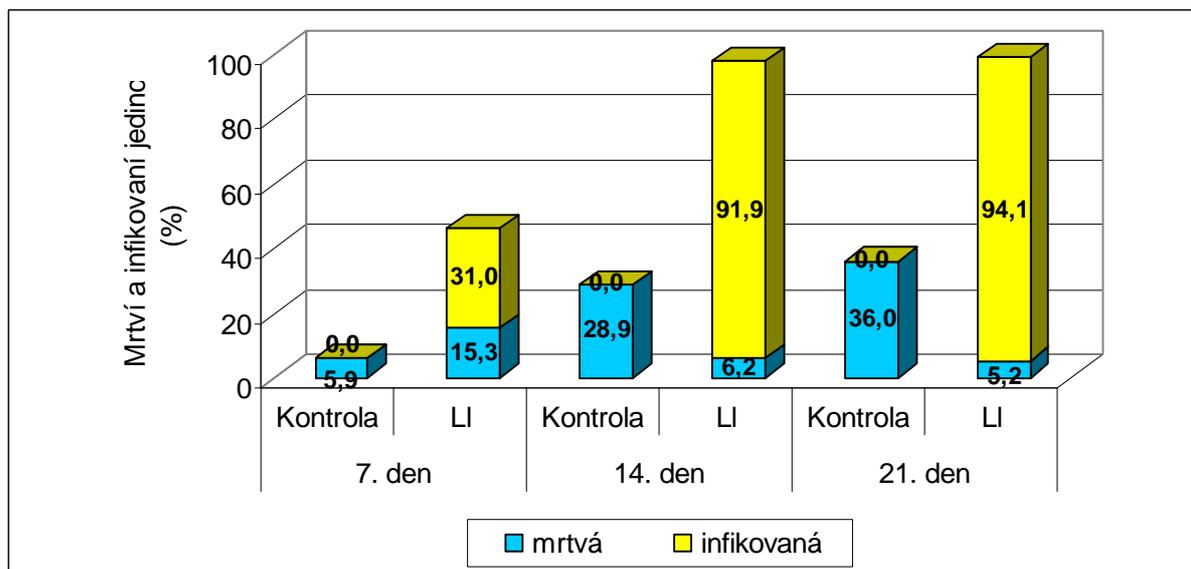
		7. den		14. den		21. den	
		Kontrola	L1	Kontrola	L1	Kontrola	L1
<b>vajíčka</b>	<b>živá</b>	19,2	11,1	0,0	0,0	0,0	0,0
	<b>mrtvá</b>	1,6	3,2	5,1	0,4	6,1	1,3
	<b>infikovaná</b>	0,0	12,8	0,0	16,6	0,0	12,1
<b>L1</b>	<b>živé</b>	72,1	41,3	0,6	0,0	0,0	0,0
	<b>mrtvé</b>	4,3	12,1	9,8	1,0	9,5	0,0
	<b>infikované</b>	0,0	18,2	0,0	22,9	0,0	21,4
<b>L2-L3</b>	<b>živé</b>	2,8	1,3	61,0	1,9	37,7	0,0
	<b>mrtvé</b>	0,0	0,0	13,8	4,8	19,4	3,9
	<b>infikované</b>	0,0	0,0	0,0	52,4	0,0	59,0
<b>L4</b>	<b>živé</b>	0,0	0,0	9,4	0,0	20,1	0,3
	<b>mrtvé</b>	0,0	0,0	0,2	0,0	1,0	0,0
	<b>infikované</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6

vyhlhlé	živé	0,0	0,0	0,0	0,0	6,3	0,3
---------	------	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Graf č. 20: Působení kmene LI I9 na synchronizovanou populaci *B. tabaci*.



Graf č. 21: Kumulovaná mortalita způsobená účinkem kmene LI I9 v populaci *B. tabaci*



### Zhodnocení pokusu:

Byla zjištěna velmi dobrá účinnost kmene LI I9 na potlačení populace *B. tabaci*. 7. den po aplikaci populace vykázala 31,0 % infikovaných jedinců, po 14 dnech se počet téměř ztrojnásobil na hodnotu 91,9 % a po 21 dnech se množství infikovaných jedinců ještě navýšilo na hodnotu 94,1 %. Při pohledu na graf je patrná vyšší mortalita v kontrole po 21 dnech v porovnání s aplikací LI I9. Proto je možné, že část infikované populace z již

zmíněných 94,1 % bylo infikováno až po uhynutí jedinců. Pokud budeme sledovat průběh infekce, tak největší nárůst infikovaných jedinců nastal mezi 7. a 14. dnem po aplikaci suspenze konidií. V tomto časovém intervalu se množství infikovaných jedinců navýšilo o více než 60 % (z hodnoty 31,0 % na 91,9 %).

#### 4.6. Hodnocení účinnosti *B. bassiana* kmene Bba 101 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*)

**Cíl:** Zjistit účinnost suspenze Bba 101 za optimálních podmínek pro rozvoj patogena (90 – 100 % vlhkost).

**Postup:**

- Bylo používáno 12 rostlin ( 6 pro aplikaci Bba 101 a 6 kontroly)
- Pokus byl realizován za 90 - 100 % relativní vlhkosti teploty 25±1°C
- Hodnocení populace probíhalo po 7., 14. a 21. dnech.
- Vždy byly počítány čtyři listy kontroly a čtyři listy Bba za časový úsek (po 7, 14, 21 dnech)
- Kvalita používané kultury Bba 101:
  - Klíčivost po 24 hodinách – 97 %
  - Index vývoje GI – 1,23 ± 0,609
- tab. č. 13 uvádí procentuelní vyjádření odsledovaných jedinců v synchronizované populaci *B. tabaci*. Skutečný počet jedinců byl u jednotlivých variant:

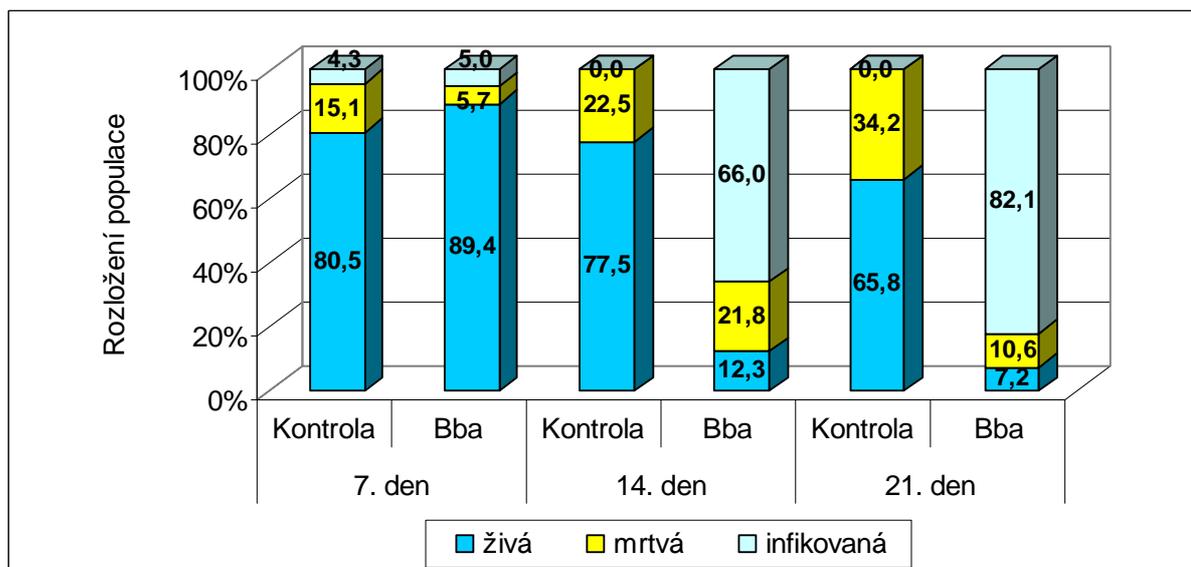
kontrola 7. den – 447	Bba 101 7. den – 206
kontrola 14. den – 225	Bba 101 14. den – 371
kontrola 21. dne – 313	Bba 101 21. den – 273

Tab. č. 13: Působení kmene Bba 101 na synchronizovanou populaci *B. tabaci* (procentuelní vyjádření).

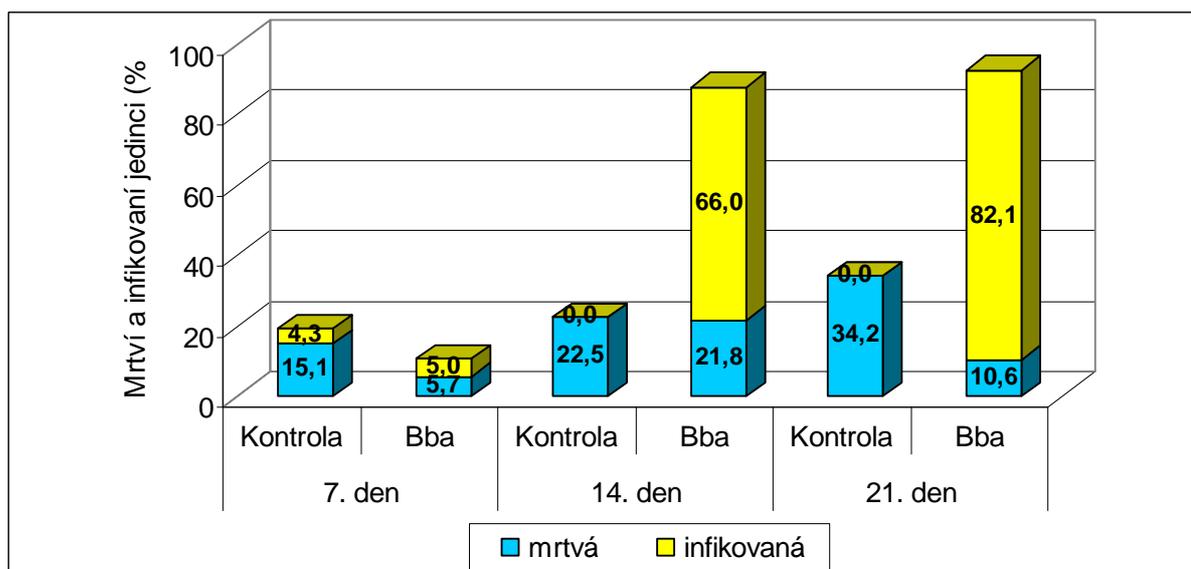
		7. den		14. den		21. den	
		Kontrola	Bba	Kontrola	Bba	Kontrola	Bba
<b>vajíčka</b>	<b>živá</b>	6,6	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0
	<b>mrtvá</b>	4,1	1,9	2,7	2,3	3,9	1,6
	<b>infikovaná</b>	1,1	2,0	0,0	9,7	0,0	6,6
<b>L1</b>	<b>živé</b>	71,8	82,9	0,0	0,0	0,0	0,0
	<b>mrtvé</b>	10,9	3,4	6,7	4,7	9,9	2,4
	<b>infikované</b>	3,2	3,0	0,0	11,0	0,0	20,2

<b>L2-L3</b>	<b>živé</b>	2,1	3,3	66,1	9,6	17,6	3,8
	<b>mrtvé</b>	0,1	0,4	12,3	14,8	18,1	6,0
	<b>infikované</b>	0,0	0,0	0,0	45,1	0,0	48,3
<b>L4</b>	<b>živé</b>	0,0	0,0	11,4	2,7	31,9	1,8
	<b>mrtvé</b>	0,0	0,0	0,8	0,0	2,3	0,6
	<b>infikované</b>	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	7,0
<b>vylíhlé</b>	<b>živé</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	16,3	1,6

Graf č. 22: Působení kmene Bba 101 na synchronizovanou populaci *B. tabaci*.



Graf č. 23: Kumulovaná mortalita způsobená účinkem kmene Bba 101 v populaci *B. tabaci*.



### **Zhodnocení pokusu:**

21 dní po aplikaci suspenze konidií Bba 101 bylo infikováno 82,1 % jedinců v populaci a mrtvých jedinců bylo 10,6 %. Pokud se podíváme na složení populace po 21 dnech, tak v kontrole se vyskytovalo 65,8 % a na rostlinách ošetřených suspenzí konidií Bba 101 zůstalo pouze 10,6 % živých jedinců. Zde je vidět opravdu markantní vliv suspenze Bba 101, kdy došlo k silné regulaci populace molice bavlníkové. Pokud sledujeme průběh infekce, tak největší nárůst infikovaných jedinců nastal mezi 7. a 14. dnem, kdy 7. den po aplikaci se v populaci objevilo pouze 5 % infikovaných jedinců a 14. den se tento počet zvýšil až na 66,0%.

### **4.7. Hodnocení účinnosti *I. Fumoso*rosea kmene PFR 97 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové (*Bemisia tabaci* ).**

**Cíl:** Zjistit účinnost suspenze PFR 97 za optimálních podmínek pro rozvoj patogena (90 - 100% vlhkost).

#### **Postup:**

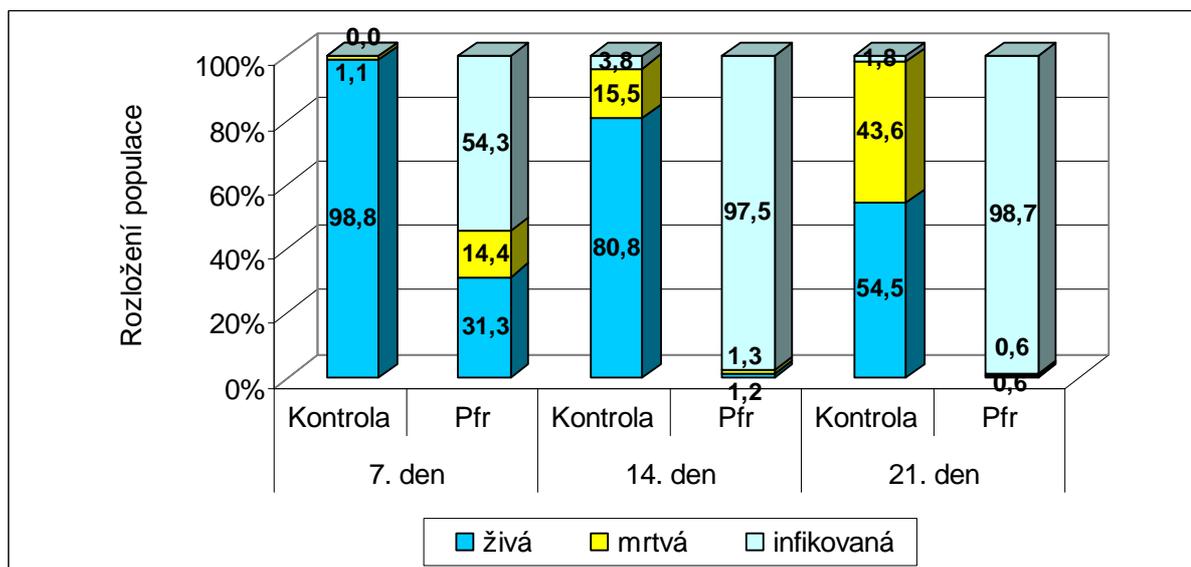
- Bylo používáno 12 rostlin (6 pro aplikaci PFR 97 a 6 kontroly)
- Pokus byl realizován za 90 – 100 % relativní vlhkosti teploty  $25 \pm 1^\circ\text{C}$
- Hodnocení populace probíhalo po 7., 14. a 21. dnech.
- Vždy byly počítány čtyři listy kontroly a čtyři listy PFR 97 za časový úsek ( po 7, 14, 21 dnech)
- Kvalita používané kultury PFR 97:
  - Klíčivost po 24 hodinách – 99 %
  - Index vývoje GI –  $1,945 \pm 0,265$
- tab. č. 14 uvádí procentuelní vyjádření odsledovaných jedinců v synchronizované populaci *B. tabaci*. Skutečný počet jedinců byl u jednotlivých variant:

kontrola 7. den – 247	PFR 97 7. den – 406
kontrola 14. den – 248	PFR 97 14. den – 389
kontrola 21. dne – 323	PFR 97 21. den – 420

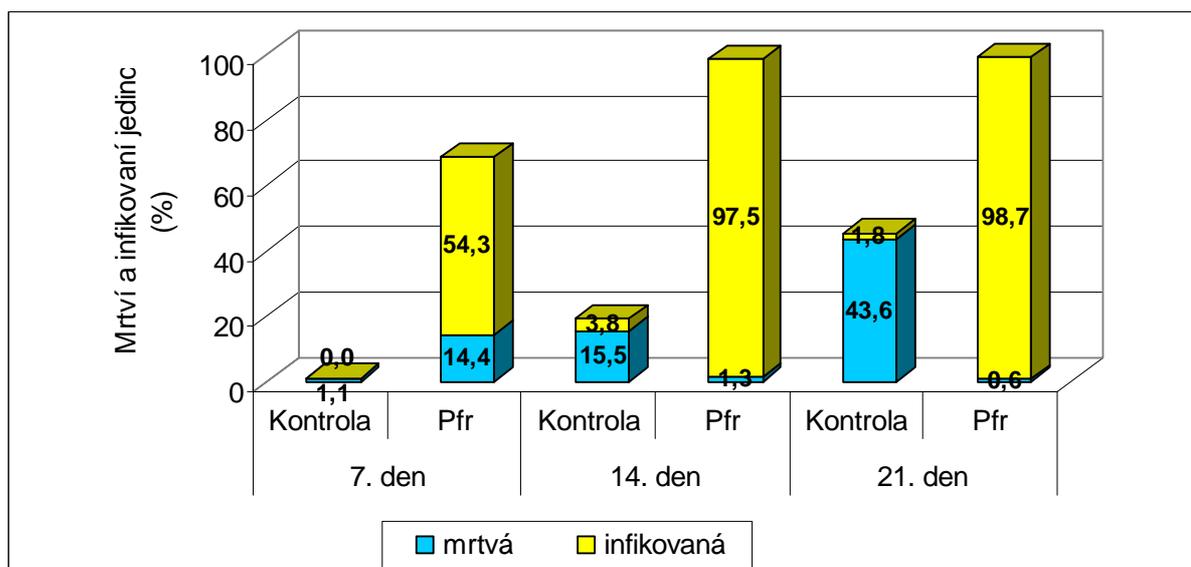
Tab. č. 14: Působení kmene PFR 97 na synchronizovanou populaci *B. tabaci* (procentuelní vyjádření).

		7. den		14. den		21. den	
		Kontrola	PFR	Kontrola	PFR	Kontrola	PFR
vajíčka	živá	11,8	4,4	0,0	0,0	0,0	0,0
	mrtvá	0,0	1,3	0,0	0,0	2,0	0,0
	infikovaná	0,0	12,9	0,0	15,6	0,0	12,6
L1	živé	86,2	26,0	3,8	0,0	0,0	0,0
	mrtvé	1,1	13,1	2,1	0,8	10,1	0,0
	infikované	0,0	41,4	0,8	42,4	0,0	28,3
L2-L3	živé	0,8	0,9	60,8	1,1	32,4	0,3
	mrtvé	0,0	0,0	12,2	0,5	29,7	0,6
	infikované	0,0	0,0	3,0	39,5	1,8	57,8
L4	živé	0,0	0,0	16,2	0,1	15,4	0,0
	mrtvé	0,0	0,0	1,2	0,0	1,8	0,0
	infikované	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
vyhlíhlé	živé	0,0	0,0	0,0	0,0	6,7	0,3

Graf č. 24: Působení kmene PFR 97 na synchronizovanou populaci *B. tabaci*.



Graf č. 25: Kumulovaná mortalita způsobená účinkem kmene PFR 97 v populaci *B. tabaci*.



#### Zhodnocení pokusu:

Účinnost suspenze PFR 97 byla po 21 dnech téměř 100 % , přesně se v populaci vyskytovalo 98,7 % infikovaných jedinců, 0,6 % mrtvých a pouze 0,6 % živých jedinců. Při pohledu na kontrolní pokus, kde bylo po 21 dnech 43,6 % mrtvých jedinců, je opět pravděpodobné, že část infikované populace byla infikována až po uhynutí jedinců vlivem vnějších faktorů. Faktem ale zůstává, že po 21 dnech zůstalo po aplikaci suspenze PFR 97 v populaci molice bavlníkové pouze 0,6 % živých jedinců. Už 7. den po aplikaci suspenze se v populaci vyskytovalo 54,3 % infikovaných jedinců, z toho vyplývá, že tento kmen má rychlý nástup účinku a je schopen velice efektivně regulovat četnost populace *B. tabaci*. K velkému navýšení infikovaných jedinců došlo i mezi 7. a 14. dnem, kdy se tato hodnota navýšila o více než 40 % a to z hodnoty 54,3 % na hodnotu 97,5 % infikovaných jedinců v populaci.

#### 4.8. Hodnocení účinnosti *I. Fumoso rosea* kmene PFR 97 na synchronizovanou populaci molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*) za optimálních a suboptimálních podmínek.

**Cíl:** Zjistit účinnost PFR 97 na různá stádia molice bavlníkové v optimálních (nad 75% relativní vzdušné vlhkosti) a suboptimálních podmínkách (pod 75% r.v.v.).

#### Postup:

- Do pokusu bylo vzato 16 rostlin

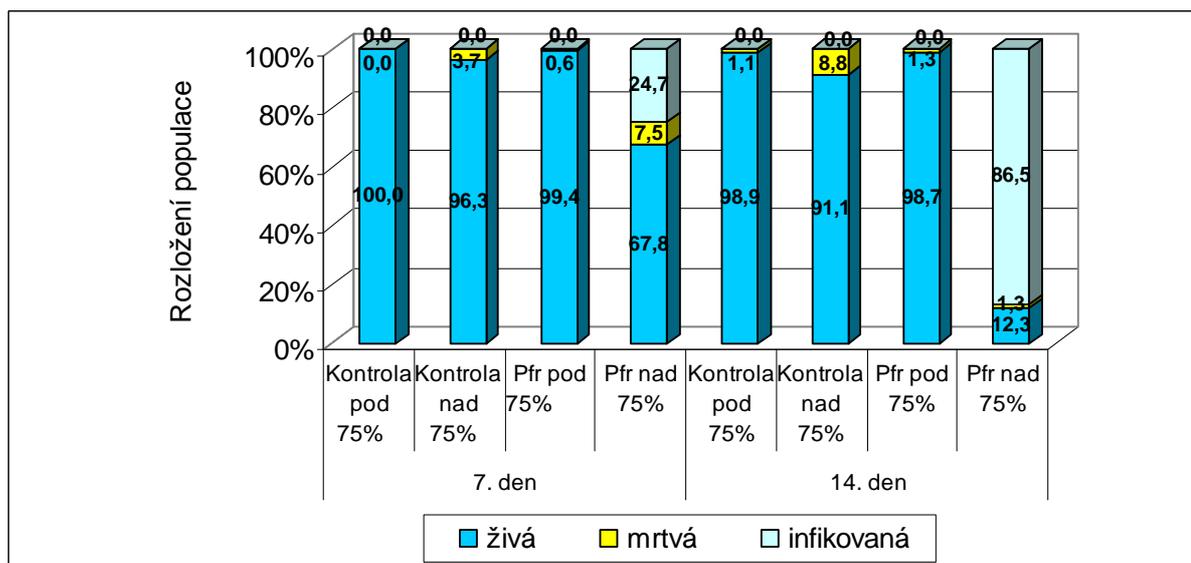
- Suspenze PFR 97 byla aplikována na 8 rostlin: 4 rostliny byly umístěny do optimálních (relativní vzdušná vlhkost se pohybovala v rozsahu 85 – 95 %) a 4 rostliny do suboptimálních podmínek (relativní vzdušná vlhkost se pohybovala v rozsahu 50 – 60 % )
- Stejný postup byl u rostlin zakládáných pro kontrolu jen s tím rozdílem, že se rostliny máčely v roztoku tweenu 0,05 % namísto suspenze PFR 97
- Populace byla hodnocena po 7 a 14 dnech, byla sledována živá, mrtvá, infikovaná vajíčka a nymfy
- tab. č. 15 uvádí procentuelní vyjádření odsledovaných jedinců v synchronizované populaci *B. tabaci*. Skutečný počet jedinců byl u jednotlivých variant:
 

kontrola 7. den pod 75 % - 566	PFR 97 7. den pod 75 % - 1096
kontrola 7. den nad 75 % - 1087	PFR 97 7. den nad 75 % - 634
kontrola 14. den pod 75 % - 498	PFR 97 14. den pod 75 % - 822
kontrola 14.den nad 75 % - 191	PFR 97 14. den nad 75 % - 296

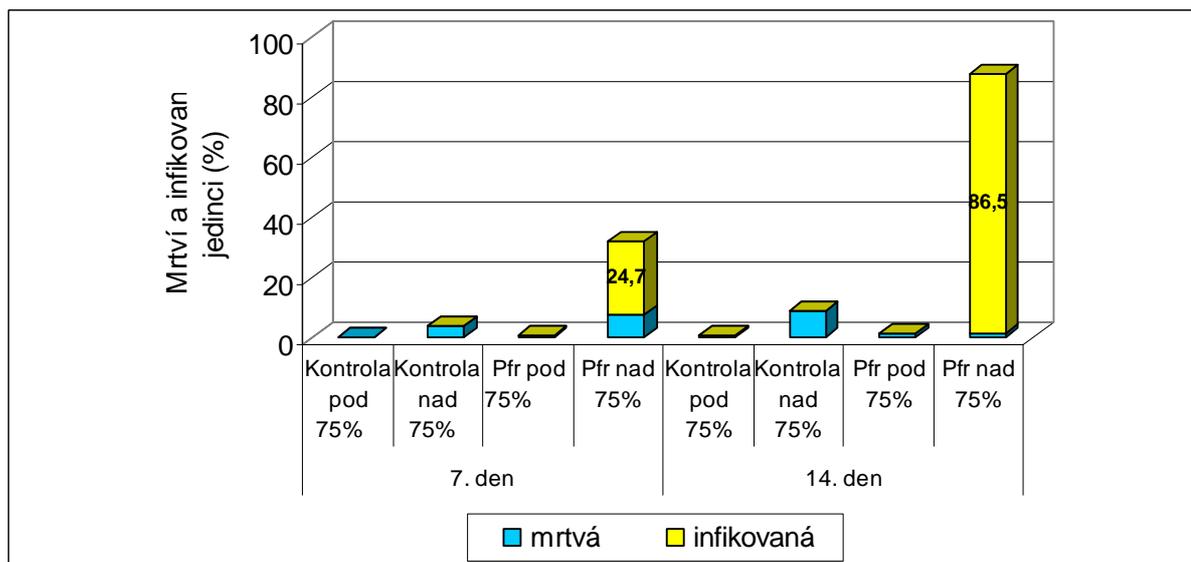
Tab. č. 15: Působení kmene PFR 97 na synchronizovanou populaci *B. tabaci* v optimálních a suboptimálních podmínkách (procentuelní vyjádření).

		7. den				14. den			
		Kontrola pod 75%	Kontrola nad 75%	Pfr pod 75%	Pfr nad 75%	Kontrola pod 75%	Kontrola nad 75%	Pfr pod 75%	Pfr nad 75%
<b>vajíčka</b>	<b>živá</b>	94,9	83,0	92,7	54,2	0,0	14,3	0,0	0,2
	<b>mrtvá</b>	0,0	2,9	0,6	5,8	0,0	1,5	0,0	0,0
	<b>infikovaná</b>	0,0	0,0	0,0	18,3	0,0	0,0	0,0	33,1
<b>Nymfy</b>	<b>živé</b>	5,1	13,3	6,7	13,6	98,9	76,8	98,7	12,1
	<b>mrtvé</b>	0,0	0,8	0,0	1,7	1,1	7,3	1,3	1,3
	<b>infikované</b>	0,0	0,0	0,0	6,4	0,0	0,0	0,0	53,4

Graf č. 26: Působení kmene PFR 97 na synchronizovanou populaci *B. tabaci* v optimálních a suboptimálních podmínkách.



Graf č. 27: Kumulovaná mortalita způsobená účinkem kmene PFR 97 v populaci *B. tabaci* za optimálních a suboptimálních podmínek.



### Zhodnocení pokusu:

Tyto výsledky jen potvrzují již dávno známý jev, že účinnost entomopatogenních hub, v tomto případě kmenu PFR 97, je velmi závislá na vnějších faktorech, především na relativní vzdušné vlhkosti. To dokazují výše uvedené výsledky pokusu, ze kterých jednoznačně vyplývá, že pokud má kmen PFR 97 regulovat četnost populace *B. tabaci*, je nutné aby se hodnota relativní vzdušné vlhkosti pohybovala nad 75 %. Za optimálních podmínek (vzdušná

vlhkost nad 75 %) se v populaci 7. den objevilo 24,7 % infikovaných jedinců a po 14 dnech již 86,5 % jedinců. Při porovnání s aplikací PFR 97 za suboptimálních podmínek (relativní vzdušná vlhkost pod 75 %), kde po 7 i 14 dnech nedošlo k žádnému rozvoji infekce, je důležitost vnějších podmínek, především dostatečné vzdušné vlhkosti, naprosto zřejmá

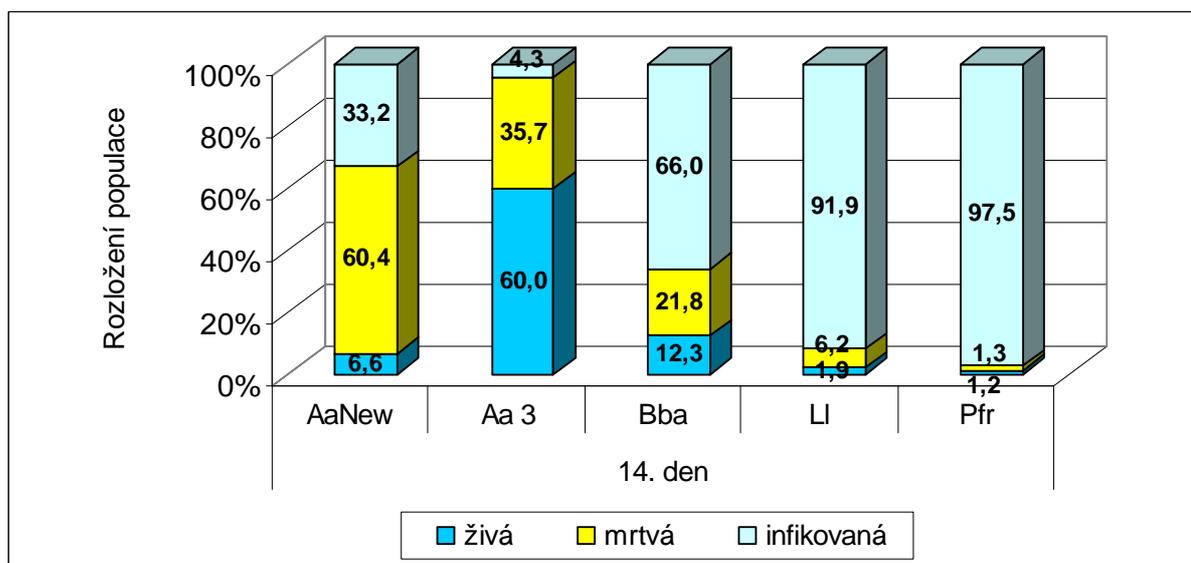
### Porovnání účinnosti výše uvedených kmenů na synchronizovanou populaci molice bavlníkové (*B. tabaci*)

Tab. č. 16: Účinnost různých druhů entomopatogenních hub na synchronizovanou populaci *B. tabaci*, 14. den po aplikaci (procentuelní vyjádření).

	14. den				
	AaNew	Aa 3	Bba	LI	Pfr
<b>živá</b>	6,6	60,0	12,3	1,9	1,2
<b>mrtvá</b>	60,4	35,7	21,8	6,2	1,3
<b>infikovaná</b>	33,2	4,3	66,0	91,9	97,5

- tab. č. 16 uvádí procentuelní vyjádření odsledovaných jedinců v synchronizované populaci *B. tabaci* 14. den po aplikaci suspenzí. Skutečný počet jedinců byl u jednotlivých variant: Aa New – 345, Aa 3 – 251, Bba 101 – 371, LI I9 – 275, PFR 97 – 389

Graf č. 28: Účinnost různých druhů entomopatogenních hub na synchronizovanou populaci *B. tabaci*, 14. den po aplikaci.

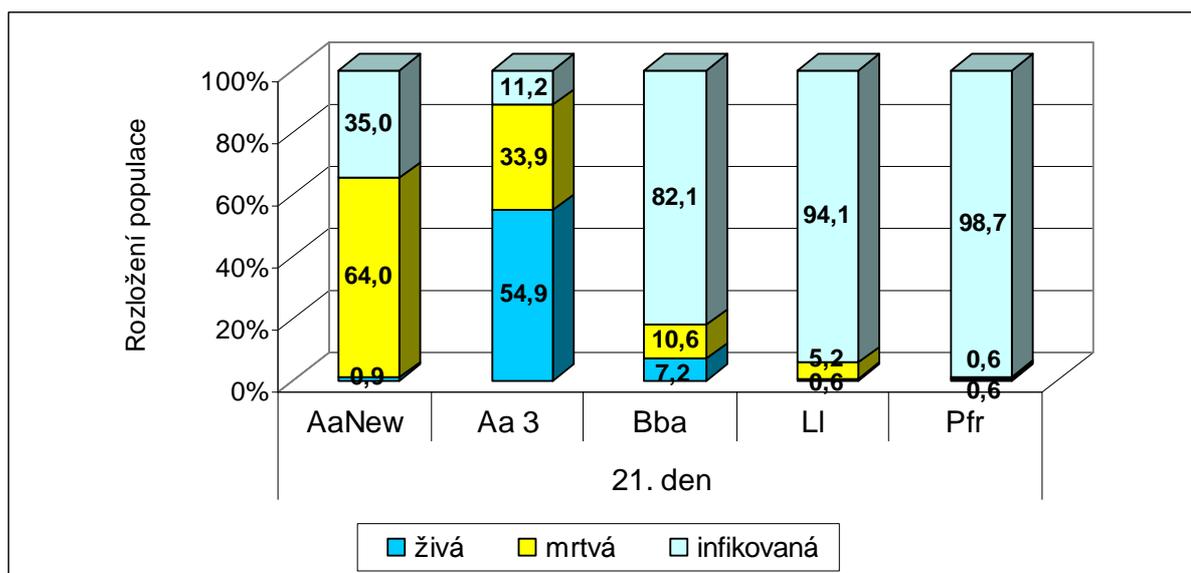


Tab. č. 17: Působení různých druhů entomopatogenních hub na synchronizovanou populaci *B. tabaci*, 21. den po aplikaci (procentuelní vyjádření).

	21. den				
	AaNew	Aa 3	Bba	LI	Pfr
<b>živá</b>	0,9	54,9	7,2	0,6	0,6
<b>mrtvá</b>	64,0	33,9	10,6	5,2	0,6
<b>infikovaná</b>	35,0	11,2	82,1	94,1	98,7

- tab. č. 17 uvádí procentuelní vyjádření sledovaných jedinců v synchronizované populaci *B. tabaci* 21. den po aplikaci suspenzí. Skutečný počet jedinců byl u jednotlivých variant: Aa New – 294, Aa 3 – 430, Bba 101 – 273, LI I9 – 216, PFR 97 – 420

Graf č. 29: Působení různých druhů entomopatogenních hub na synchronizovanou populaci *B. tabaci*, 21. den po aplikaci.



Z výsledků je zřejmé, že ne všechny testované kmeny jsou schopné regulovat četnost populace molice bavlníkové (*B. tabaci*). Jako velmi účinné kmeny se projeví: kmen Bba 101, LI I9 a PFR 97. 21 dní po aplikaci Bba 101 bylo v populaci zjištěno 82,1 % infikovaných jedinců. 94,1 % infikovaných jedinců bylo v populaci 21. den po aplikaci LI I9 a 98,7 % po aplikaci PFR 97. Naopak neúčinnými kmeny se projeví: kmen Aa New a především Aa 3, u kterého se po 21 dnech objevilo pouze 11,2 % infikovaných jedinců.

## 5. ZÁVĚR A DISKUZE

Prvá část této práce se zabývala hodnocením kvality entomopatogenní houby *A. aleyrodis* (kmenů Aa 3 a Aa New), jednoho z nejvýznamnějších druhů, který je nepostradatelným článkem v biologické ochraně proti molicím (*Aleyrodidae*). U těchto kmenů byl sledován a porovnáván radiální růst, výtěžnost na jednu bodovou kulturu, klíčivost pykno spor (%) a index GI, který je ukazatelem životaschopnosti pykno spor a jejich schopnosti usmrtit a parazitovat hostitele. Mezními hodnotami GI je index 1,0, který je ukazatelem schopnosti usmrtit patogena a nejvýznamnější index je 1,5, který značí možnost parazitovat hostitele. Interakce entomopatogenních hub a hostitele mající charakter parazitismu je velice významná, dochází nejen k jednorázovému účinku, ale i k vytváření dlouhodobějších mezidruhových vazeb (sekundární šíření patogena, další infekční cykly).

Oba kmeny byly kultivovány na půdě PDA a SLA. Dle výsledků kmen Aa 3 rostl rychleji než kmen Aa New, a to jak na SLA, tak i na PDA. Pokud porovnáme hodnoty naměřené například po 21 dnech kultivace, tak na SLA Aa 3 dosáhlo hodnoty 660,52 mm<sup>2</sup>, naproti tomu Aa New pouze 436,38 mm<sup>2</sup>. Ještě markantnější rozdíl byl naměřen na půdě PDA též po 21 dnech kultivace, kdy se plocha bodových kultur Aa 3 a Aa New lišila o více než 340 mm<sup>2</sup>. Z výsledků je patrné, že SLA poskytuje lepší podmínky pro růst mycelia obou kmenů. Když se například podíváme na Aa New po 14 dnech kultivace a porovnáme velikost kultur, tak na SLA dosáhla kultura hodnoty 272,73 mm<sup>2</sup> a na PDA pouze 164,69 mm<sup>2</sup>. Z pohledu poskytovaného množství pykno spor vykazoval kmen Aa 3 opět lepší výsledky než kmen Aa New. Kmen Aa 3 po 14 dnech kultivace vyprodukoval na SLA  $3,48 \times 10^9$  pykno spor a na půdě PDA pouze  $1,09 \times 10^9$ . Kmen Aa New vykazoval stejný trend jako kmen Aa 3, jen s nižšími výtěžnostmi. Na půdě SLA vyprodukoval kmen Aa New po 14 dnech  $6,21 \times 10^8$  a na PDA  $3,34 \times 10^8$  pykno spor. Z těchto poznatků plyne, že SLA by mohla být vhodnou půdou pro produkci pykno spor při komercializaci. Klíčivosti pykno spor (%) se u kmenů Aa New a Aa 3 lišila minimálně. Kmen Aa New kultivovaný 7 dní a sledovaný po 48 hodinách vykazoval 100 % klíčivost jak na SLA, tak i na PDA, po 21 dnech kultivace došlo ke slabému poklesu, u SLA byla zjištěna klíčivost 99 % a u PDA 98 %. U kmene Aa 3 byla klíčivost po 7 dnech kultivace (a 48 hodinách) na PDA 99 % a na SLA 97 %, po 21 dnech nastal taktéž malý pokles jako tomu bylo u Aa New, na PDA byla zjištěna klíčivost 97 % a na SLA 93 %. U obou kmenů i půd byl patrný slabý pokles klíčivosti pykno spor, ale odlišnost klíčivosti podle použitých živných půd se nepotvrdila. Závislost indexu klíčivosti GI na čase se

nepotvrdila, nedochází k výrazným změnám indexů při porovnání po 7, 14 a 21 dnech kultivace. Ani při porovnání půd nedocházelo k markantnímu poklesu hodnot indexu GI.

Cílem dalšího metodického postupu bylo zjistit, která z testovaných půd je nejvhodnější pro plošnou kultivaci kmene Aa new. Celkem bylo vzato do pokusu 7 půd: PDA, SLA, SDA, CDB, TSA, YMA a CMA. U kmene Aa New kultivovaného na těchto půdách byl zjišťován a porovnáván radiální růst, výtěžnost na jednu bodovou kulturu, klíčivost pykno spor (%) a index GI. Nejlepším živným médiem pro růst mycelia kmene Aa New byla jednoznačně půda SLA a to po celou dobu sledování (po 7, 14, 21 a 28 dnech). Naopak půda, která vykazovala nejmenší růst mycelia byla TSA, sice po 7 dnech kultivace měla nejmenší plochu půd CDB, ale na půdě TSA se po 7 dnech růst mycelia téměř zastavil. Plocha bodové kultury na půdě TSA po 28 dnech sledování byla 67,50 mm<sup>2</sup>, v porovnání se SLA, která vykazovala po 28 dnech kultivace plochu 679,64 mm<sup>2</sup> byl růst na půdě TSA opravdu neuspokojivý. A pokud budeme hodnotit kvalitu půd dle množství vyprodukovaných pykno spor, tak jednoznačně půdou vykazující nejvyšší hodnoty je opět SLA. Po 28 dnech kultivace byla na půdě SLA výtěžnost pykno spor 1,45 x 10<sup>9</sup>, naopak nejmenší produkce byla spočítána u půdy CMA a to 8,75 x 10<sup>6</sup>. SLA vykazovala i velmi dobrou schopnost klíčení pykno spor a index GI po celou dobu sledování. Z výsledků vyplývá, že pro udržování plošných kultur kmene Aa New je vhodným médiem jednoznačně SLA. Naopak nejvhodnější půdou se jeví TSA.

Druhá část byla zaměřena na posouzení účinků entomopatogenních hub *A. aleyrodis* (kmen Aa 3, Aa New), *L. lecanii* (kmen Ll I9), *I. fumosorosea* (kmen PFR 97) a *B. bassiana* (kmen Bba 101) na synchronizovanou populaci molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*). O asociaci entomopatogenních hub s molicemi je k dispozici řada studií. Dokonce většina hub, které byly použity v pokusech, až na *A. aleyrodis*, tvoří účinnou složku komerčně realizovaných preparátů Preferal<sup>TM</sup> (*I. Fumosorosea*), Botanigard (*B. bassiana*), Mycotal<sup>TM</sup> (*L. lecanii*).

Entomopatogenní houby asociované s molicemi mohou vyvolávat onemocnění prakticky všech vývojových stádií, nicméně při porovnání účinnosti na jednotlivá vývojová stádia byla prokázána poměrně vysoká přirozená odolnost vajíček molice, zatímco ostatní juvenilní stádia a imága bývají prokazatelně citlivější. Slabší infekce na vajíčkách molice *B. tabaci* byly zaznamenány po aplikaci *B. bassiana* (Faria, Wraight 2001), *I. fumosorosea* (Lacey et al. 1999) a *L. lecanii* (Meade, Byrne 1991), zatímco po aplikaci houby *A. aleyrodis* zjevné onemocnění vajíček zaznamenáno nebylo (Osborna, Landa 1992, Meeke et al. 2002). V podmínkách příznivých pro vývoj patogena byla zaznamenána vysoká schopnost *I.*

*fumosorosea* infikovat jak dospělé molice *B. tabaci*, tak dospělé *T. vaporariorum* (Osborne, Landa 1992; Lacey et al. 1993). Podobné výsledky byly získány i po aplikaci jiných kmenů *B. bassiana* a *I. fumosorosea* na dospělé molic (Wraight et al. 2000). Osborne et al. (1990b) prokázali, že všechna nymfální stádia molic *B. argentifolii* a *B. tabaci* jsou velmi náchylná na infekci vyvolanou mnoha druhy entomopatogenních hub, zejména *B. bassiana* (Quesada-Moraga et al. 2006) a *I. fumosorosea* (Osborne et al. 1990b). Osborne et al. (1990a) poprvé popsal schopnost houby *I. fumosorosea* vyvolat infekci v populaci molice bavlníkové *B. tabaci*. Od této doby patří houba *I. fumosorosea* v souvislosti s různými druhy molic k nejčastěji zaznamenávaným a experimentálně využívaným druhům entomopatogenních hub asociovaných s molicemi. Landa et al. (1994) hodnotil i kmen PFR 97 Apopka, který vykázal extrémně rychlý vývoj a účinek na molicu bavlníkovou *B. tabaci*.

Výsledky pokusů jsou z velké části podobné již mnohokrát popsaným faktům a výše uvedeným informacím. Nejlepší účinek v regulaci četnosti populace *B. tabaci* prokázal kmen PFR 97, dalšími velmi účinnými kmeny se projevily Bba 101 a L1 I9. Naopak menší hodnoty infikovaných jedinců vykazovala populace po aplikaci kmenů Aa New a Aa 3.

Výsledky pokusu jen potvrdily, že kmen PFR 97, za optimálních podmínek pro rozvoj patogena, je velmi vhodným prostředkem k regulaci četnosti populace molice bavlníkové *B. tabaci*, díky jeho rychlému vývoji a jeho účinku na všechna vývojová stádia *B. tabaci*. Už 7. den po aplikaci suspenze se v populaci vyskytovalo 54,3 % infikovaných jedinců. K velkému navýšení infikovaných jedinců došlo i mezi 7. a 14 dnem, kdy se tato hodnota navýšila o více než 40 % a živých jedinců zůstalo pouze 1,2 %. Po 21 dnech byla účinnost PFR 97 téměř stoprocentní, v populaci se vyskytovalo 98,7 % infikovaných jedinců. Naopak při aplikaci suspenze PFR 97 za suboptimálních podmínek (relativní vzdušná vlhkost nižší než 75 %) byl účinek nulový.

Velmi podobných výsledků dosahoval kmen L1 I9. Největší nárůst infikovaných jedinců v populaci *B. tabaci* nastal mezi 7. a 14. dnem po aplikaci suspenze konidií. V tomto časovém intervalu se množství infikovaných jedinců navýšilo o více než 60 % (z hodnoty 31,0 % na 91,9 %). Po 21 dnech se množství infikovaných jedinců ještě navýšilo na hodnotu 94,1 %. Tento kmen vykazoval také účinek na všechna vývojová stádia v populaci, jen účinek na dospělé nebylo možné posoudit, z důvodů jejich minimálního výskytu.

Aplikací kmene Bba 101, nastala regulace populace pomaleji než u dvou předešlých kmenů, ale infikované byly též vajíčka jako u předešlých kmenů. 7. den po aplikaci se v populaci objevilo pouze 5 % infikovaných jedinců. Ale v průběhu dalších 7 dnů se tento

počet zvýšil až na 66,0 %. A 21 dní po aplikaci suspenze konidií Bba 101 došlo k infikování 82,1 % jedinců.

Kmeny Aa New a Aa 3 vykázaly mnohem menší účinky na regulaci populace *B. tabaci*. Aa New vykazovala po 14 dnech 33,2 % infikovaných jedinců a Aa 3 pouze 4,3 %. Ikdyž ani jeden z výsledků není uspokojivý, tak Aa New přece jen má několika násobně lepší účinek než kmen Aa 3. Po 21 dnech se počet infikovaných jedinců zvýšil u obou kmenů, u Aa New na hodnotu 35 % a u Aa 3 na hodnotu pouze 11,2 %. Infekce vajíček nebyla prokázána, ale u Aa New se objevila velká úmrtnost vajíček 7. den po aplikaci suspenze pykno spor, která se v kontrolním pokusu neobjevila. Z toho vyplývá, že i když vajíčka nebyla infikovaná, tak došlo pravděpodobně k úhynu účinkem Aa New.

Zjištěné výsledky lze shrnout do několika bodů:

1. Vhodnějším kmenem z hlediska výtěžnosti, životaschopnosti a radiálního růstu je kmen Aa 3.
2. Nejvhodnější půdou pro plošnou kultivaci kmene Aa New je SLA.
3. PFR 97 je kmen s největším regulačním účinkem na synchronizovanou populaci *B. tabaci*, ale pouze v optimálních podmínkách pro rozvoj patogena.
4. Ll I9 a Bba 101 jsou také kmeny, které způsobují rychlou infekci v populaci *B. tabaci*.
5. Kmeny Aa New a Aa 3 měly nízkou účinnost na synchronizovanou populaci molice bavlníkové *B. tabaci*.

## **Použitá literatura:**

- Aiuchi, D., Baba, Y., Inami, K., Shinya, R., Tani, M., Koike, M.,** 2008: Variation in growth at different temperatures and production and size of conidia in hybrid strains of *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) (*Deuteromycotina: Hyphomycetes*). *Appl. Entomol. Zool.*, 43 (3): 427–436.
- Arthurs S., Thomas M.B.,** 2001: Effects of temperature and relative humidity on sporulation of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* in mycosed cadavers of *Schistocerca gregaria*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 78 (2): 59-65.
- Askary H., Benhamou N., Brodeur J.,** 1997: Ultrastructural and cytochemical investigations of the antagonistic effect of *Verticillium lecanii* on cucumber powdery mildew. *Phytopathology*, 87 (3): 359-368.
- Avilla, J., Albajes, R., Alomar, O., Castané, C., Gabarra, R.,** 2004: Biological control of whiteflies on vegetable crops. In: Heinz, K. M., Driesche, R. G., Parrella, M. P. (Eds.): *Biocontrol in protected culture*. Ball Publishing, Singapore: 171-184.
- Bentz, J. A., Larew, H. G.,** 1992: Ovipositional preference and nymphal performance of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: *Aleyrodidae*) on *Dendranthema grandiflora* under different fertilizer regimes. *Journal of Economic Entomology*, 85(2): 514-517.
- Berlinger, M. J., Tailor, R. A. J., Lebiush-Mordechi, S., Shalhevet S., Spharim I.,** 2002: Efficiency of insect exclusion screens for preventing whitefly transmission of tomato yellow leaf curl virus of tomatoes in Israel. *Bulletin of Entomological Research*, 92 (5): 367-373.
- Bruns, T. D., White, T. J, Taylor, J. W.,** 1991: Fungal molecular systematic. *Annual Review of Exil. Syst.*, 22: 525-564.
- Butt, T.M., Copping, L.,** 2000: Fungal biological control agents. *Pesticide Outlook*, 11: 186-191.
- Butt, T. M., Goettel, M. S.,** 2000: Bioassays of entomopathogenous microbes and nematodes. CAB international, Walingford UK: 95-140.
- Butt, T.M.,** 2002: Use of entomogenous fungi for the control of insect pests. In: Kempken (Ed.): *The Mycota XI- Agricultural Applications*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 111-134.
- Byrne, D. N., Bellows, S.T., Parrella, M.P.,** 1990: Whiteflies in Agricultural Systems, In: Gerling, D.(Ed.): *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. Athenaeum Press, Newcastle upon Tyne: 227 – 262.

- Elliot, S.L., Sabelis, M.W., Nanesen, A., van der Geest, L.P.S., Beerling, E.A.M., Fransen, J.**, 2000: Can plants use entomopathogens as bodyguards?. *Ecology Letters*, 3: 228-235.
- Faria, M., Wraight, S.P.**, 2001: Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protection*, 20 (9): 767-778.
- Fargues, J., Bon, M.C.**, 2004: Influence of temperature preferences of two *Paecilomyces fumosoroseus* lineages on their co-infection pattern. *Journal of Invertebrate Pathology*, 87: 94-104.
- Fransen, J.J.**, 1990: Natural enemies of whiteflies - Fungi, In: Gerling D. (Ed.): *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. Atheneum Press, Newcastle upon Tyne, 187 - 209.
- Gindin, G., Geschtovt, N.U., Racciah, B., Barash, I.**, 2000: Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to different developmental stages of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Phytoparasitica*, 28 (3): 229-239.
- Goettel, M.S., Inglis, G.D., Wraight, S.P.**, 2000: Fungi. In: Lacey, L.A., Kaya, H.K. (Eds.): *Field manual of techniques in invertebrate pathology*. Kluwer academic Publishers, Netherlands: 255-282.
- Henneberry, T.J., Jech, L.F., de la Torre, T.**, 2002: Effects of cotton plant water stress on *Bemisia tabaci* Strain B (Homoptera: *Aleyrodidae*) honeydew production. *Southwestern Entomologist*, 27 (2): 117-133.
- Invar, M., Doostdar, H., Mayer, R.T.**, 1999: Effects of Sessile Whitefly Nymphs (Homoptera: *Aleyrodidae*) on Leaf-Chewing Nymphae (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 28 (3): 353-357.
- Inglis, G. D., Goettel, M. S., Butt, T. M.**, 2001: Use of *hypomyces* fungi for managing insect pests. In: Butt, T. M., Jackson, C., Magan, N. (Eds.): *Fungi as biocontrol agents*. CAB International, Wallingford, UK, 23-69.
- James, R.R., Drift, B.A., Shaffer, B.T., Lighthart, B.**, (1998): Impact of temperature and humidity on host-pathogen interactions between *Beauveria bassiana* and a coccinellid. *Environ Entomol* 27: 1506-1513.
- Kasina, B.D., Nabafala, R.B., Mpunami, A.A.**, 2003: Biomolecular relationships among isolates of tomato yellow leaf curl Tanzania virus. *Phytoparasitica*, 31 (2): 188-199.

- Kavková, M., Čurn, V., 2003:** *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as a potential mycoparasite on *Sphaerotheca fuliginea* (Ascomycotina: Erysiphales). *Mycopathologia*, 159: 53–63.
- Kocourek, F., 1994:** Zásady integrované ochrany ovoce. In: Kocourek, F., Beránková, J., Mikulka, J. (Eds.): Maximalizace biologických metod v systému integrované ochrany ovoce. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha- Ruzyně: 1-8.
- Koubová, D., 2008:** Potenciál hub rodu *Lecanicillium* k ochraně proti hmyzu, hád'átkům a chorobám rostlin. <http://www.agronavigator.cz/default.asp?typ=1&val=84299> (dostupné 20.2.2009)
- Kumar V., Singh G.P., Babu A.M., Ahsan M.M., Datta R.K., 1999:** Germination, penetration, and invasion of *Beauveria bassiana* on silkworm, *Bombyx mori*, causing white muscardine. *Italian Journal of Zoology*, 66 (1): 39-43.
- Lacey, L.A., Fransen, J.J., Carruthers, R., 1995:** Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biologies and use as biological control agents. In: Gerling D., Mayer R. (Eds.): „*Bemisia* 1995: taxonomy, biology, damage, control and management“. Intercept, Andover, UK: 401-433.
- Lacey L.A., Kirk A.A., Hennessey R.D., 1993:** Foreign exploration for natural enemies of *Bemisia tabaci* and implementation in integrated control programs in the United States. *Proceedings of the International Conference on Pests in Agriculture Association Nationale de Protection des Plantes*, 1: 351-360.
- Lacey L.A., Kirk A.A., Millar L., Mercadier G., Vidal C., 1999:** Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay system allowing prolonged survival of control insects. *Biocontrol Science and Technology*, 9: 9-18.
- Landa, Z., 1994:** Entomopatogenní houby v biologické ochraně rostlin (habilitační práce). ZF JU, České Budějovice: 19-33.
- Landa, Z., 2002:** Biologická ochrana zahradních rostlin proti chorobám a škůdcům v polních podmínkách, ve sklenících a fóliovnících. In: Demo M., Hričovský I. (Eds.): Trvalo udržatelné technológie v záhradníctve. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre: 225-280.
- Landa, Z., Křenová, Z., Vojtěch, O., 2007:** Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému. *Lesnická práce*, 10.

- Liu, M., Chaverri, P., Hodge, K.T.**, 2006: A taxonomic revision of the insect biocontrol fungus *Aschersonia aleyrodis*, its allies with white stromata and their *Hypocrella* sexual states. *mycological research*, 110: 537 – 554.
- Lopez-Avila, A.**, 1986: Taxonomy and biology of *Bemisia tabaci*, In: Cock, M.J.W.,(Ed.): *Bemisia tabaci* - a literature survey. Chameleon Press Limited, London: 3-12.
- Malais, M.H., Ravensberg, W.J.**, 2004 : Knowing and recognizing. Kopert B.V. broker en Rodenrijs, The Netherlands: 61-66.
- Meade D.L., Byrne D.N.**, 1991: The use of *Verticillium lecanii* against subimaginal instars of *Bemisia tabaci*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 57 (2): 296-298.
- Meekes, E.T.M., Fransen, J.J., van Lenteren, J.C.**, 2002: Pathogenicity of *Ashersonia* spp. against whiteflies *Bemisia argentifolii* and *Trialeurodes vaporariorum*. *Journal of Invertebrate Pathology* 81: 1-11.
- Meekes, E.T.M., van Voorst, S., Joosten, N.N., Fransen, J.J., van Lenteren, J.C.**, 2000: Persistence of the fungal whitefly pathogen, *Aschersonia aleyrodis*, on three different plant species, *Mycological research*, 104: 1234-1240.
- Oliveira, M.R.V., Henneberry, T.J., Anderson, P.**, 2001: History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, 20: 709-723.
- Osborne, L.S., Bolckmans, K., Landa, Z., Pena, J.**, 2004: Kinds of natural enemies. In: Heinz, K. M., Driesche, R. G., Parrella, M. P. (Eds.): *Biocontrol in protected culture*. Ball Publishing, Singapore: 95-127.
- Osborne, L.S., Landa, Z.**, 1992: Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomology*, 75 (4): 456-471.
- Osborne L.S., Storey G.K., McCoy C.W., Walter J.F.**, 1990a: Potential for controlling the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, with the fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *Proc. 5<sup>th</sup> Int. Colloquium on Ivertebrate Pathology and Biological Control*, Adelaide, Australia, 386-390.
- Osborne L.S., Hoelmer K., Gerling D.**, 1990b: Prospects for biological control of *Bemisia tabaci*. *IOBC/WPRS Bull.* 13: 153-160.
- Pell, J.K., Eilenberg, J., Hajek, A.E., Steinraus, D.C.**, 2001: Biologi, Ecology and Pest Management Potential of Entomophthorales. In: Butt T.M., Jackson C., Magan N. (Eds.): *Fungi as biocontrol agents – progress, problems and potential*. CAB International, Wallingford, UK: 71-153.

- Pultar, O.**, 1994: Možnosti biologické ochrany proti živočišným škůdcům v sadech. In: Kocourek, F., Beránková, J., Mikulka, J. (Eds.): Maximalizace biologických metod v systému integrované ochrany ovoce. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha- Ruzyně: 1-8.
- Quesada-Moraga, E., Maranhao, E.A.A., Valverde-García, P., Santiago-Álvarez, C.**, 2006: Selection of *Beauveria bassiana* isolates for the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. *Biological control* 36: 274-287.
- Rivera-Vargas, L.I., Bracero-Acosta, V., Beaver, J.S., Purcifull, D.E., Polštín, J.E., Hiebert, E.**, 2001: Detecting bean golden yellow mosaic virus in bean breeding lines and in the common legume weed *Macroptilium lathyroides* in Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 85 (3-4): 165-176.
- Salati, R., Nahkla, M.K., Dohas, M.R., Guzman, P., Jaquez, J., Maxwell, D.P., Gilbertson, R.L.**, 2002: Tomato yellow leaf curl virus in the Dominican Republic: Characterization of an infectious clone, virus monitoring in whiteflies, and identification of reservoir hosts. *Phytopathology*, 92 (5): 487-496.
- Summers, C.G.**, 1997: Phototactic Behavior of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) Crawlers. *Annals of the Entomological Society of America*, 90 (3): 372-379.
- Summers, C.G.**, 2002: Leaf surface selection by *Bemisia argentifolii* crawlers. *Southwestern Entomologist*, 27(3/4): 263-267.
- Sung, G.H., Hywel-Jones, N.L., Sung, J.M., Luangsa-ard, J.J., Shrestha, B., Spatafora, J.W.**, 2007: Phylogenetic Classification of Cordyceps and the Clavicipitaceous fungi. *Studies in Mycology*, 57: 5-59.
- Van Driesche, R. G., Heinz, K. M.**, 2004: Biological control as a component of IPM systems. In: Heinz, K. M., Driesche, R. G., Parrella, M. P. (Eds.): *Biocontrol in protected culture*. Ball Publishing, Singapore: 171-184.
- Van Lenteren, J.C., Noldus, L.P.J.J.**, 1990: Whitefly - Plant relationships, behavioural and ecological aspects, In: Gerling, D.(Ed.): *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. Athenaeum Press, Newcastle upon Tyne: 47 – 90.
- Velez, J.J., Bassett, M.J., Beaver, J.S., Molina, A.**, 1998: Inheritance of resistance to bean golden mosaic virus in common bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123 (4): 628-631.
- Vestergaard, S., Butt, T.M., Bresciani, J., Gillespie, A.T., Eilenberg, J.** 1999: Light and Electron Microscopy Studies of the Infection of the Western Flower *Thrips Frankliniella*

occidentalis (*Thysanoptera: Thripidae*) by the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 7: 25-33.

**Vestergaard, S., Butt, T.M., Gillespie, A.T., Schreiter, G., Eilenberg, J., 1995:** Pathogenicity of the *hyphomycetes* fungi *Verticillium lecani* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Science and Technology*, 5 (2): 185-192.

**Vet, L.E.M., Van Lenteren, J.C., Woets, J., 1980:** The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* (*Hymenoptera, Aphelinidae*) and *Trialeurodes vaporariorum* (*Homoptera, Aleyrodidae*). IX. A review of the biological control of the greenhouse whitefly with the suggestions for future research. *Zeit. Angew. Entomologie*, 90: 26 - 51.

**Vidal, C., Fargues, J., Lacey, L.A., 1997:** Intraspecific Variability of *Paecilomyces fumosoroseus*: Effect of Temperature on Vegetative Growth. *Journal of invertebrate pathology*, 70: 18–26.

**Vondrášková, Š., 2008:** Nový biotyp Q molice *Bemisia tabaci* na postupu v USA. <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=1&typ=1&val=85291&ids=111> (online 12.2.2009)

**Wagner, T.L., 1995:** Temperature-dependent development, mortality, and adult size of sweetpotato whitefly biotype B (*Homoptera: Aleyrodidae*) on cotton. *Environmental Entomology*, 24 (5): 1179-1188.

**Wraight S.P., Carruthers R.I., Jaronski S.T., Bradley C.A., Garza C.J., Galaini-Wraight S., 2000:** Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control*, 17 (3): 203-217.

**Zhu, Y., Pan, J., Qiu, J., Guan, X., 2008:** Optimization of nutritional requirements for mycelial growth and sporulation of entomogenous fungus *Aschersonia aleyrodis* Webber. *Brazilian Journal of Mikrobiology*, 39.

**Zimmermann, G., 2008:** The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology*, 18 (9): 865-901.

**Zimmermann, G., 2007:** Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria broniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17 (5/6): 553-596.

## Přílohy:

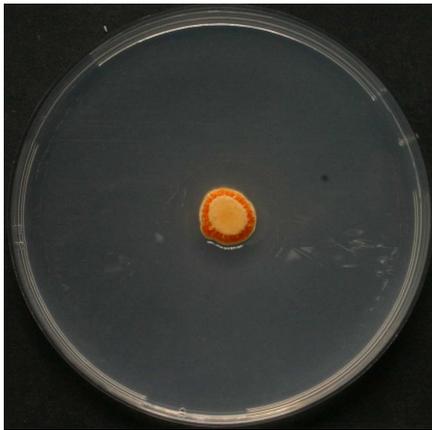
Grafický list č. 1: Kmen Aa New kultivovaný na různých půdách, porovnání po 14 a 28 dnech kultivace.



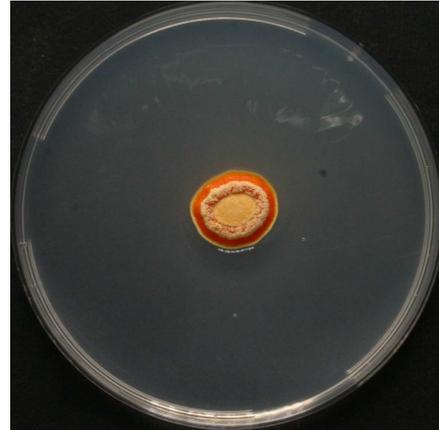
Kmen Aa New na PDA po 14 dnech kultivace.



Kmen Aa New na PDA po 28 dnech kultivace.



Kmen Aa New na CDB po 14 dnech kultivace.



Kmen Aa New na CDB po 28 dnech kultivace.



Kmen Aa New na SLA po 14 dnech kultivace.



Kmen Aa New na SLA po 28 dnech kultivace.

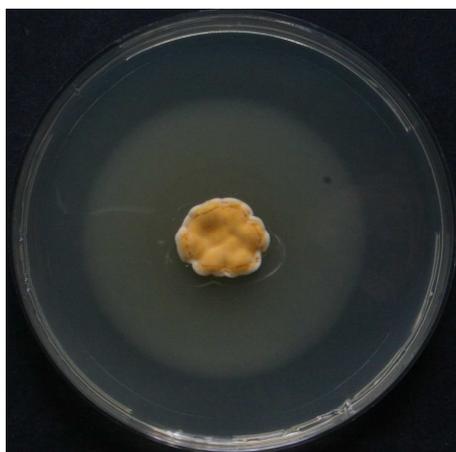
Pokračování grafického listu č. 1.



Kmen Aa New na CMA po 14 dnech kultivace.



Kmen Aa New na CMA po 28 dnech kultivace.



Kmen Aa New na SDA po 14 dnech kultivace.



Kmen Aa New na SDA po 28 dnech kultivace.

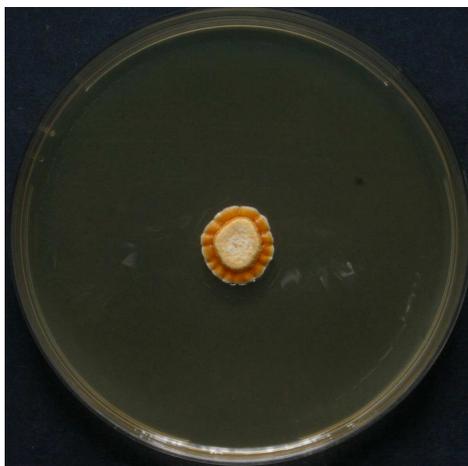


Kmen Aa New na TSA po 14 dnech kultivace.



Kmen Aa New na TSA po 28 dnech kultivace.

Pokračování grafického listu č. 1.



Kmen Aa New na YMA po 14 dnech kultivace.



Kmen Aa New na YMA po 28 dnech kultivace.

Grafický list č. 2: Ukázka účinnosti některých druhů entomopatogenních hub.



Zdravé puparium *B. tabaci*.



Infikované puparium *B. tabaci* houbou *B. bassiana*.



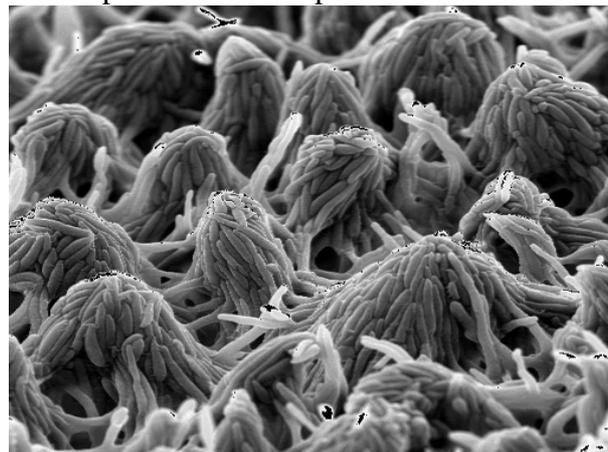
Zdravý dospělec *B. tabaci*.



Hustá síť mycelia houby *P. fumosoroseus* na povrchu těla dospělého *B. tabaci*.



Puparium *B. tabaci* infikované *A. aleyrodis* – sporulace.



Masa pyknospor na povrchu těla infikovaného puparia.

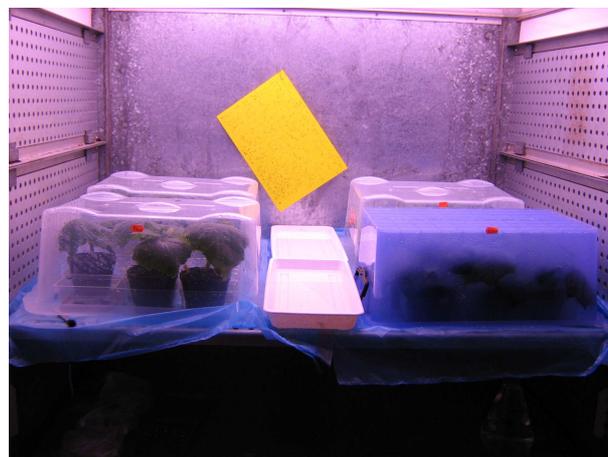
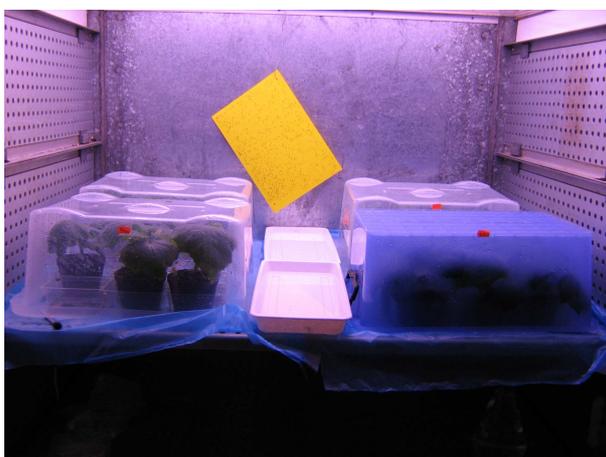
Grafický list č. 3: Chovy molice bavlníkové (*B. tabaci*) a založený pokus.



Chov molice bavlníkové.



Chov molice bavlníkové.



Založený pokus: účinnost entomopatogenních hub na molici bavlníkovou.