

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4131 Zemědělství

Studijní obor: Trvale udržitelné systémy hospodaření v krajině

Katedra: Katedra rostlinné výroby

Vedoucí katedry: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* – využití
v biologické ochraně rostlin

Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc.

Autor: Jakub Hromas

Vimperk, duben 2012

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta zemědělská

Akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jakub HROMAS**
Osobní číslo: **Z09271**
Studijní program: **B4131 Zemědělství**
Studijní obor: **Trvale udržitelné systémy hospodaření v krajině**
Název tématu: **Entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* - využití v biologické ochraně rostlin**
Zadávací katedra: **Katedra rostlinné výroby a agroekologie**

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

Cíl práce: Zadané téma představuje literární kompilaci zaměřenou na analýzu současného stavu ve využívání entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* v biologické a integrované ochraně rostlin. Výsledky práce by měly být využitelné v oblasti praktického využívání na bázi této houby.

Literární přehled by měl sestávat z následujících bodů:

- 1) Entomopatogenní houby.
- 2) Nejvýznamnější druhy entomopatogenních hub.
- 3) *Beauveria bassiana*.
 - Taxonomické zařazení.
 - Morfologická charakteristika.
 - Biopreparáty na bázi entomopatogenních hub.
 - Biopreparáty na bázi *B. bassiana*.
 - Příklady využívání biopreparátů na bázi *B. bassiana*.

Rozsah grafických prací: 15 stran

Rozsah pracovní zprávy: 30 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

Weiser J., 1966: Nemoci hmyzu. Nakladatelství Akademia

Bailey A., et al., 2010: Biopesticides. CAB International Cambridge

Publikace získané retrospektivní a průběžnou rešerší v bibliografické databázi CAB

Vedoucí bakalářské práce:

prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc.

Katedra rostlinné výroby a agroekologie

Datum zadání bakalářské práce: 18. února 2011

Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2012

V. Š.

prof. Ing. Milošlav Šoch, CSc.

děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice ①

V. Č.

prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 18. února 2011

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

Datum 5. dubna 2012

Jakub Hromas

Na tomto místě bych rád poděkoval především prof. Ing. Zdeňku Landovi, CSc. a ostatním členům Oddělení rostlinolékařství Katedry rostlinné výroby a agroekologie Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích za odborné vedení a pomoc při vypracování mé bakalářské práce.

Poděkování patří zároveň také mým nejbližším – přítelkyni, rodině a přátelům za veškerou pomoc, motivaci a podporu během mého studia.

Jakub Hromas

ABSTRACT

Entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* is one of many species of entomopathogenic fungi used as a biological protection against plant pest. Compared to other species this one is spread worldwide, long known and one of the most studied species. This work describes besides a detailed description of the *Beauveria bassiana* also other six important fungal species used for biological protection (*Hirsutella*, *Isaria*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Verticillium*) and provides a detailed description of four available commercial biopreparations, namely BotaniGard 22WP, BotaniGard EC, Mycotrol O, Naturalis L which can be practically used for pest suppression. The work also provides information about two products developed in the former Czechoslovakia, Boverol and Boverosil. The conclusion brings practical examples of the use of these products while protecting against the European spruce bark beetle, the Colorado beetles and the Cherry fruit fly.

Keywords: biological protection, entomopathogenic fungi, development cycle, *Beauveria bassiana*, biopreparation

SOUHRN

Entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* je jedna z mnoha druhů entomopatogenních hub využitelných v biologické ochraně proti škůdcům rostlin. Oproti ostatním druhům jde o celosvětově rozšířený, nejdéle známý a jeden z nejvíce prozkoumaných druhů. Tato práce se kromě podrobného popisu houby *Beauveria bassiana* věnuje i charakteristice dalších šesti významných druhů hub využitelných v biologické ochraně (*Hirsutella*, *Isaria*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Verticillium*) a přináší podrobný popis čtyř komerčně dostupných biopreparátů, jmenovitě BotaniGard 22WP, BotaniGard ES, Mycotrol O a Naturalis L, které lze prakticky využít pro potlačování populací škůdců. Práce přináší i informace o dvou v minulosti vyvíjených přípravcích na území tehdejšího Československa, Boverol a

Boverosil. Závěr je věnován praktickým příkladům využívání zmíněných přípravků při ochraně proti lýkožroutu smrkovému, mandelinkám a vrtulím třešňovým.

Klíčová slova: biologická ochrana, entomopatogenní houby, vývojový cyklus, *Beauveria bassiana*, biopreparát

OBSAH

1	Úvod.....	3
2	Biologická ochrana.....	4
2.1	Definice biologické ochrany a její cíle.....	4
2.2	Historický vývoj a současnost biologické ochrany	4
2.3	Organismy využitelné pro biologickou ochranu	5
3	Entomopatogenní houby.....	6
3.1	Charakteristika entomopatogenních hub	6
3.2	Vývoj nálezů entomopatogenních hub	6
3.3	Podmínky pro vývoj nálezů entomopatogenních hub	12
3.4	Nejvýznamnější druhy entomopatogenních hub	13
3.4.1	Charakteristika rodu <i>Beauveria</i> (Vuillemin).....	15
3.4.2	Charakteristika rodu <i>Hirsutella</i> (Patouillard).....	17
3.4.3	Charakteristika rodu <i>Metarhizium</i> (Sorokin)	18
3.4.4	Charakteristika rodu <i>Nomuraea</i> (Maublanc)	19
3.4.5	Charakteristika rodu <i>Paecilomyces</i> (Bainier) a zástupců rodu <i>Isaria</i> (Persoon)	19
3.4.6	Charakteristika rodu <i>Verticillium</i> (Nees von Esenbeck).....	20
3.5	Biopreparáty na bázi entomopatogenních hub	21
4	Entomopatogenní houba <i>Beauveria bassiana</i> (Balsamo-Crivelli) Vuillemin.....	23
4.1	Morfologická charakteristika	23
4.2	Taxonomické zařazení entomopatogenní houby <i>Beauveria bassiana</i>	24
4.3	Biopreparáty na bázi <i>Beauveria bassiana</i>	25
4.3.1	BotaniGard 22WP	28
4.3.2	BotaniGard ES	29
4.3.3	Mycotrol O	31

4.3.4	Naturalis L.....	32
4.3.5	Boverol.....	33
4.3.6	Boverosil	34
4.3.7	Ostatní komerční přípravky na bázi <i>Beauveria bassiana</i>	34
4.4	Příklady využívání biopreparátů na bázi <i>Beauveria bassiana</i>	35
4.4.1	Využití houby <i>Beauveria bassiana</i> v ochraně proti lýkožroutu smrkovému	35
4.4.2	Využití houby <i>Beauveria bassiana</i> v ochraně proti lýkožroutu smrkovému na území národního parku Šumava	36
4.4.3	Využití <i>Beauveria bassiana</i> v boji proti mandelince bramborové	38
4.4.4	Pokusné použití přípravku Naturalis L proti vrtuli třešňové (<i>Rhagoletis cerasi</i>)	39
5	Diskuze.....	40
6	Závěr.....	42
7	Seznam literatury.....	43
8	Přílohy	49
8.1	Etiketa přípravku BotaniGard 22WP	49
8.2	První list etikety přípravku BotaniGard ES.....	55
8.3	První list etikety přípravku Mycotrol O	56
8.4	První list etikety přípravku Naturalis L.....	57

1 ÚVOD

Využívání jiných než chemických metod při ochraně proti živočišným škůdcům v oblasti zemědělství či lesnictví je moderní a vůči životnímu prostředí šetrný trend, který v posledních letech dosahuje nejen v ekonomicky vyspělých státech, ale i v rozvojovém světě značného rozvoje a rozmachu. Je to dáno především uvědoměním si odpovědnosti za podmínky životního prostředí, které zde zanecháme budoucím generacím, dále pak mírou vědeckého rozvoje i mírou poznání a v neposlední řadě finančním stimulem v podobě zvýhodňování používání těchto moderních metod ochrany rostlin např. při ekologickém způsobu hospodaření. Tímto způsobem ochrany mohou být právě biologické metody.

Jednou z těchto metod biologické ochrany rostlin je i metoda používání druhů nepřátel škůdců na úrovni nejnižších druhů, a to takových, které jsou přirozenou složkou prostředí. Těmito přirozenými nepřáteli mohou být bakterie, viry, hlístice a mikroskopické houby. Pokud budeme mluvit o poslední jmenované skupině – o houbách, a to druzích, které jsou přirozenými nepřáteli škůdců z taxonomické třídy hmyzu, budeme hovořit o tzv. entomopatogenních houbách.

Tato bakalářská práce se věnuje právě této skupině hub využitelných pro biologickou ochranu rostlin, přináší jejich stručnou charakteristiku a blíže popisuje druh *Beauveria bassiana* a biopreparáty, které jsou vyráběny na bázi právě této entomopatogenní houby. V závěru práce jsou uvedeny konkrétní příklady jejího využití a v přílohách jsou přiloženy etikety komerčních přípravků vyráběných na bázi této houby.

2 BIOLOGICKÁ OCHRANA

2.1 Definice biologické ochrany a její cíle

Pojem biologická ochrana znamená cílevědomé používání živých organismů (roztočů, hmyzu, hlístic, virů, bakterií, hub aj.) pro potlačování škodlivých biologických činitelů (škůdců, původců onemocnění rostlin, plevelných rostlin), omezování jejich vývoje, šíření a udržení pod úrovní jejich škodlivého množství v porostech kulturních rostlin (VONDRÁŠKOVÁ 2008).

VĚCHET (2010) uvádí, že cílem biologické ochrany není tak úplné vymýcení populací škodlivých činitelů, ale regulace jejich četnosti na tolerované úrovni, tj. pod ekonomickým prahem škodlivosti.

2.2 Historický vývoj a současnost biologické ochrany

Jako vůbec první použil termín „biologická kontrola“ v roce 1919 A. H. S. Smith, a to jako označení pro použití přirozených nepřátel proti hmyzím škůdcům (JOHNSON 2000). K výraznějšímu rozvoji biologických metod regulace populací škůdců došlo zejména koncem dvacátého století. K jejich širšímu uplatnění v praxi přispěl lepší přístup k informacím a novým poznatkům, dále ekologické zemědělství, které nevyužívá klasické přípravky chemické ochrany pro regulaci populací škůdců rostlin. (VONDRÁŠKOVÁ 2008).

HAJEK (2004) ve své knize uvádí, že použití biologické ochrany vzrostlo díky potřebě vyřešit problém, kdy chemické pesticidní přípravky nefungují při ochraně proti specifickému škůdci. Významný impulz pro používání přípravků biologické ochrany je fakt, že chemické přípravky způsobují negativní vedlejší efekty – poškození zdraví člověka nebo poškození životního prostředí. Přípravky biologické ochrany nezanechávají chemická rezidua a jsou určeny především proti specifickému hostiteli (obzvláště při porovnání se syntetickými chemickými pesticidy).

Postupem času a pokrokem vědeckého výzkumu se stále mění složitost a způsoby hubení škůdců. V oblasti biologické ochrany může být rozmanitost přirozených nepřátel využita mnoha různými způsoby.

2.3 Organismy využitelné pro biologickou ochranu

Přestože má každý živočišný druh v přírodě své přirozené nepřátele, zdaleka ne všichni jsou využitelní v biologické ochraně, a to z důvodů, že nemají kapacitu k účinné ochraně proti populaci škůdce nebo není vypracována metoda jejich efektivního chovu nebo pěstování, distribuce a aplikace. V celosvětovém měřítku jsou v současné době k dispozici stovky druhů přírodních nepřátel škůdců, které zahrnují dravý hmyz a roztoče, parazitický hmyz a háďátka a mikrobiální patogeny hmyzu a roztočů. Ve srovnání s klasickými pesticidy to je ale stále poměrně málo. Dalším problémem je, že použití biologické ochrany je obvykle složitější než použití chemických přípravků a vyžaduje jistou erudici a pozornost (HONĚK et al. 2008).

Z mikroorganismů, které se v současnosti používají k biologické ochraně, jsou nejvíce prozkoumány bakterie a houby. Bakterie se uplatňují především v ochraně rostlin proti houbovým a bakteriálním chorobám a proti hmyzím škůdcům. Houby nacházejí využití jak v regulaci houbových chorob rostlin (mykoparazitické houby), tak i v regulaci škůdců z říše hmyzu (entomopatogenní, akarifágní, nematofágní houby) (KOUBOVÁ 2009).



Foto č. 1: Entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* porůstající usmrčené nymfy molice bavlníkové (archiv Oddělení rostlinolékařství Katedry rostlinné výroby a agroekologie Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích)

3 ENTOMOPATOGENNÍ HOUBY

3.1 Charakteristika entomopatogenních hub

Entomopatogenní houby jsou nejdéle známé a nejčastěji determinované entomopatogenní mikroorganismy asociované s hmyzem, protože jejich růst na povrchu těla různých druhů hostitelů je na rozdíl od ostatních skupin entomopatogenních mikroorganismů snadno vizuálně patrný. Většina entomopatogenních hub patří mezi obligátní nebo fakultativní patogeny hmyzu, ale některé mohou za určitých okolností fungovat i jako symbionty (LANDA 1994).

Houbová onemocnění hmyzu jsou častá a běžně rozšířená a někdy jsou natolik závažná, že téměř eliminují populace hmyzu v dané lokalitě (AINSWORTH 1968).

WEISER (1966) uvádí, že u houbových nákaz hmyzu si více než u jiných uvědomujeme právě význam vnějšího prostředí, význam stavu hostitele a úlohu dávky patogenu. Poškození hmyzu klimatickými vlivy, které na druhé straně podporují růst houby, mohou zesílit v patogen i druhy, které jsou známé jako nepatogenní. Patogenní houby jsou jednou vysoce specifické, vyskytují se jen na jednom hostiteli nebo jen na jednom jeho stadiu, jindy jsou málo specifické a napadají celou řadu druhů, rodů, čeledí nebo i vyšších skupin. Některé druhy jsou vázány na vodní prostředí, jiné na půdu, další na provzdušněné prostředí vegetačního pokryvu nebo lidských příbytků.

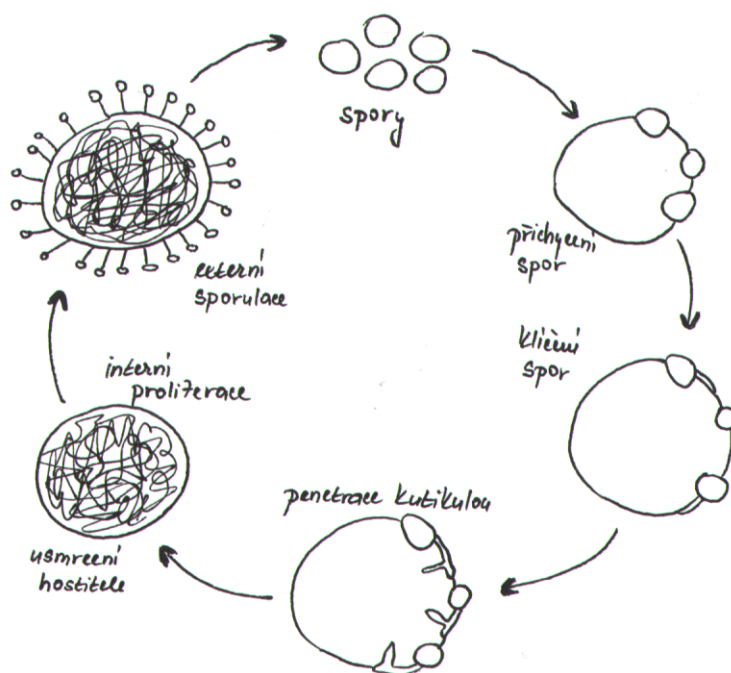
Houby mají schopnost pronikat do hostitele pokožkou a nepotřebují být požitý hostitelem, aby byla zahájena infekce. Je známo přibližně 750 druhů hub, které jsou schopné infikovat hmyz a způsobit mu úhyn (NIELSEN et al. 2007).

3.2 Vývoj nákaz entomopatogenních hub

Houbové nákazy suchozemských druhů hmyzu jsou ve většině případů spojeny s pronikáním houbových vláken kutikulou. V tom mají cestu nákazy podobnou kontaktním insekticidům. Druhým možným místem, kterým proniká infekce do hmyzu, je ústní ústrojí. Tudy se dostávají do zažívacího traktu hlavně spory vodních druhů. Třetím místem infekce hmyzu houbovými spory jsou stigmata

hmyzu a čtvrtou branou pro vstup nákazy do těla hmyzu je otvor pohlavního aparátu (WEISER 1966).

Obecně lze definovat infekci entomopatogenní houbou na následující kroky – připojení spor na kutikulu, jejich klíčení a pronikání kutikulou, dále překonání hostitelovy imunitní reakce, množení v hostiteli (proliferace), jeho usmrcení a tvorba nových konidií (ZIMMERMANN 2007).



Obr. č. 1: Schéma vývojového cyklu entomopatogenní houby (překresleno dle LANDA 2003)

Šíření konidií a mechanismus zajišťující primární kontakt konidií s hostitelem jsou procesy zpravidla nahodilé, které jsou ve většině případů zprostředkovány pomocí abiotických faktorů. Častým mechanismem šíření houbových nákaz v populacích hostitelů je kontakt zdravých jedinců s jedinci infikovanými (LANDA 1994).

Vlastní rozptýlení infekčního stadia patogena je důležitým faktorem vývoje nemoci. Infekční rozmnožovací částice entomopatogenních hub jsou rozptylovány pasivně, a to zejména za působení povětrnostních prvků jako je vítr a déšť. Také v půdním

prostředí mohou entomopatogenní houby přetrvávat, ale rozsáhlé šíření jejich konidií je omezenější, než když se vyskytují na migrujících jedincích, kteří zemřou v jiném místě než tam, kde se původně nakazili (MEYLING N. V. & EILENBERG J. 2007).

Přichycení konidií na povrch těla hostitele je tedy základním předpokladem vzniku houbového onemocnění. Konidie některých druhů hub jsou pro fázi adheze vybaveny lepidým povrchem, pomocí kterého vytvářejí pevnou vazbu s kutikulou hostitele již při prvním kontaktu. Jiné druhy entomopatogenních hub (např. *Beauveria bassiana*) produkují suché, silně hydrofobní konidie s rozmanitě strukturovaným povrchem. Primární adheze takovýchto konidií je zajištěna buď přímou interakcí mezi dvěma hydrofobními povrchy (konidie a kutikula hmyzu), nebo prostřednictvím elektrostatických sil, případně i molekulární interakcí mezi látkami, které jsou přítomny na povrchu konidií a kutikuly hostitele (např. hemaglutiny, glykoproteiny, N-acetylglucosamin, steroly, polární lipidy a jiné) (SAMSON et al. 1988, WEISER 1966).

První aktivní fází interakce patogena s hostitelem je klíčení konidií. Většina druhů entomopatogenních hub produkuje konidie, které jsou energeticky dostatečně vybaveny k vyklíčení (bez nutnosti absorbovat externí živiny). Klíčení tak převážně závisí na abiotických faktorech, zejména pak na teplotě a na relativní vzdušné vlhkosti (LANDA 1994, BOUCIAS et al. 1988).

Navíc je ale možné umělými zásahy snížit odolnost hostitele např. subletálními dávkami insekticidu nebo zvýšením vlhkosti životního prostředí. V některých případech je možné i zeslabit hmyzímu škůdci kutikulu a dosáhnout vyšší infekce (např. abrazí ostrými prachy – kysličník hlinitý) (WEISER 1966).

V první fázi dochází k nabobtnání konidie (k jejímu zvětšení), to je doprovázené změnou stavby stěny konidie. Následně dochází ke klíčení konidií, kdy z každé vyrůstá jedno, nebo několik krátkých vláken (primární hyfy). Z nich pak z apresoria (tzv. terčíku) vyrůstají infekční klíčky, které pronikají přes kutikulu až do těla hostitele (ROBERTS & YENDOL 1971).

Po proniknutí patogena do tělní dutiny dochází zpravidla k rychlé kolonizaci jednotlivých tělních tkání a orgánů. Pro tuto fázi vývojového cyklu je typický přechod vláknitých forem hub na rychle se dělící a pomnožující tělíška – tzv. hyfová, resp. kvasničná tělíška, blastospory.

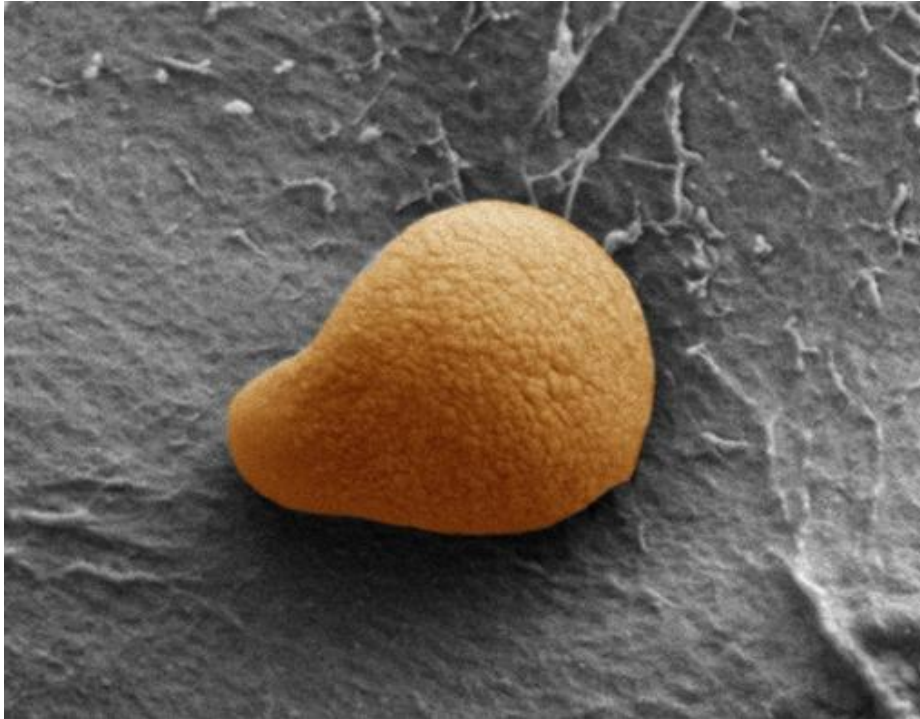


Foto č. 2: Klíčící konidie Beauveria bassiana (pořízeno SEM metodou, kolorováno – autor Michal Kalista)

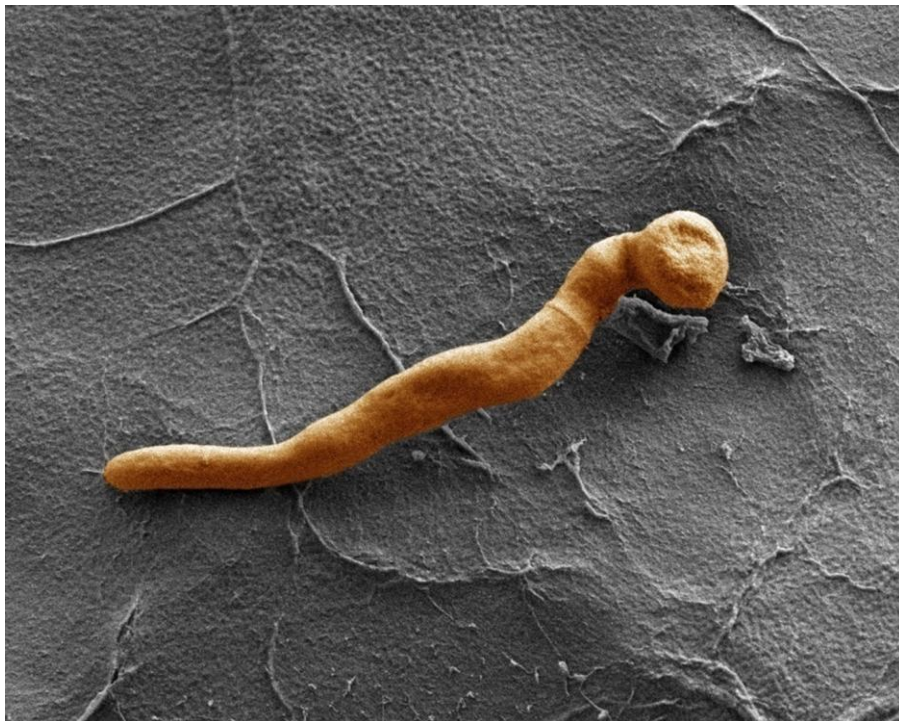


Foto č. 3: Primární hyfa Beauveria bassiana (pořízeno SEM metodou, kolorováno – autor Michal Kalista)

Tato tělíska se rychle namnožují (dělení pučením, exponenciální růst titru v hemolymfě), dochází zpět k přechodu na vláknité formy a ve velmi krátké době zcela vyplňují a mumifikují hostitele (CASTRILLO et al. 2005).

Obranné síly hostitele jsou jen na krátkou dobu schopny zadržet invazi houby. Dochází k fagocytóze a tvoří se obří buňky z vrstevnatě nakupených lymfocytů, které pohlcují a ničí vniklého parazita. Současně se však v těle hostitele množí další hyfy, pronikají celým organismem a ukončují jeho život. Jen výjimečně nese nákaza známky intoxikace hostitele. Ve většině případů působí hynutí hostitele vyčerpání všech živin hyfami (WEISER 1966).

Za vlhka následně prorůstá mycelium skrze hostitelovu kutikulu, na povrchu se na vzdušném myceliu postupně vytváří konidiofory, na kterých se ve finální fázi vývojového cyklu formují nové konidie. Mycelium má často „chmýřitý“ tvar a je často zbarvené dle jednotlivých druhů hub od bílé do zelené, růžové, červené nebo oranžové.

Spory jsou pak aktivně některými druhy hub „vystřelovány“ do okolí nebo v případě jiných druhů jsou uvolňovány větrem, deštěm nebo při kontaktu. Některé druhy entomopatogenních hub neprodukují spory na mrtvém těle hostitele, ale uvnitř tělní dutiny (HAJEK 2004).

KOUBOVÁ (2009) ve své práci zmiňuje, že konidie si v přirozeně dormantním stavu udržují vitalitu po dobu několika týdnů až měsíců. Dočasná dormance konidií je ukončena šířením a adhezí konidií na povrchu těla nového vhodného hostitele.

Některé druhy entomopatogenních hub navíc dokážou uvolňovat spory v tu denní dobu, která je pro napadení nového hostitele nejpříznivější a dokonce dokážou ovlivnit chování hostitele tak, aby uhynul v exponované pozici umožňující lepší šíření konidií (BAILEY et al. 2010).

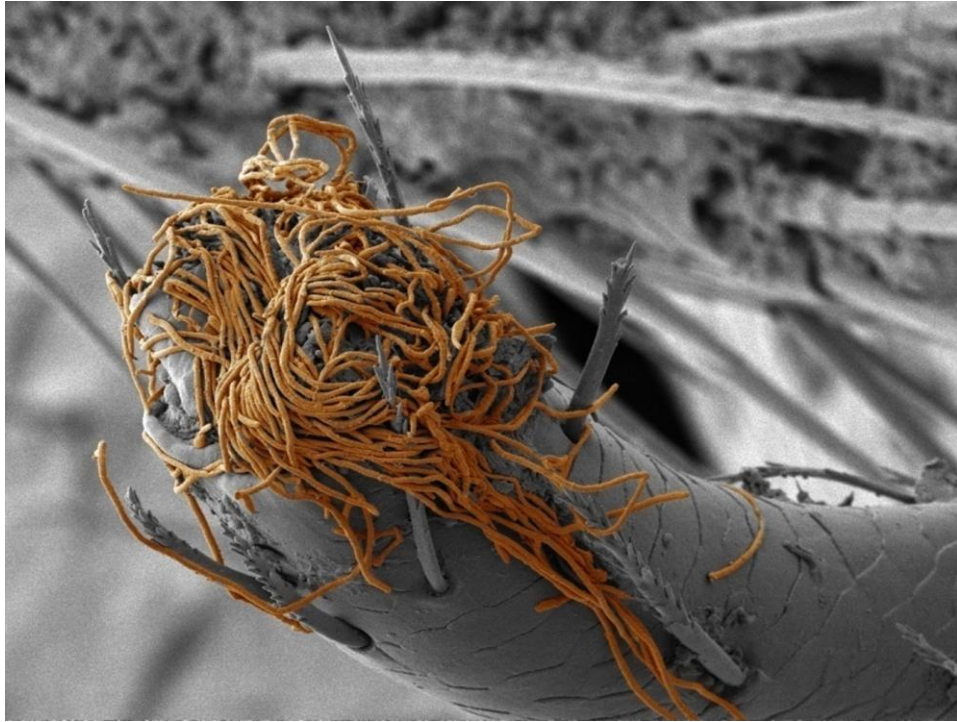


Foto č. 4: Mycelium Beauveria bassiana prorůstající na povrch usmrceného hostitele (pořízeno SEM metodou, kolorováno – autor Michal Kalista)

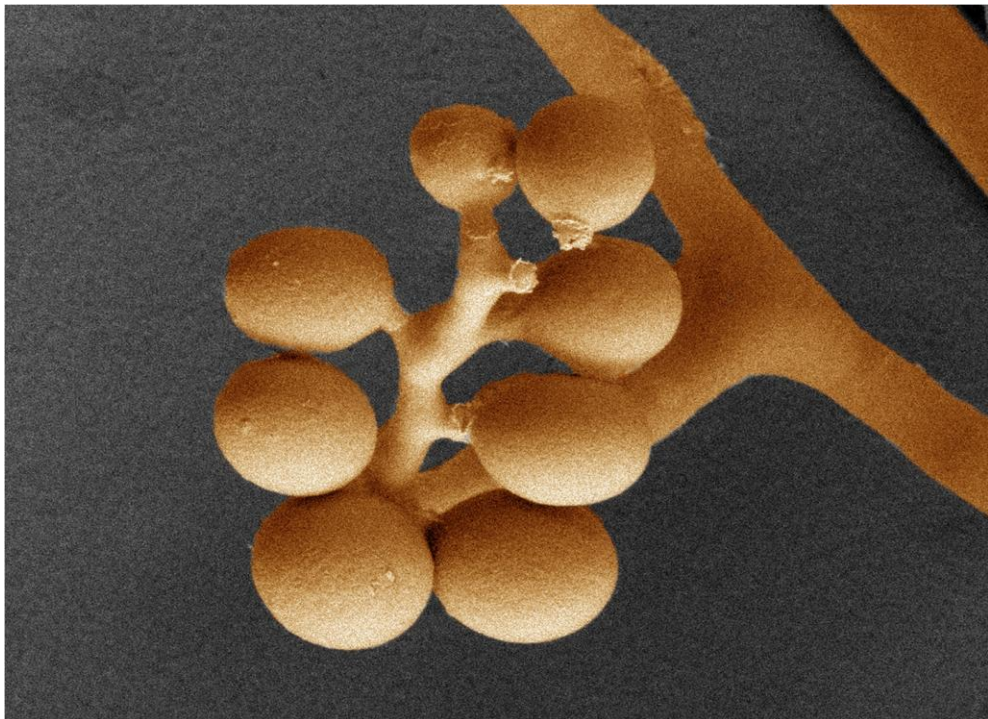


Foto č. 5: Sporulace konidií Beauveria bassiana (pořízeno SEM metodou, kolorováno – autor Michal Kalista)

3.3 Podmínky pro vývoj nákaz entomopatogenních hub

V optimálních podmínkách (např. teplé mikroklima skleníků a fóliových krytů) může být celý vývojový cyklus entomopatogenních hub realizován v průběhu 3 až 5 dnů, v běžných podmínkách vegetačního období mírného pásma probíhá v rozmezí od 7 do 21 dnů.

Abiotické složky životního prostředí, zejména pak vlhkost a teplota a také v menší míře světlo a pohyb vzduchu, jsou velmi důležité při infekci a tvorbě spor entomopatogenních hub. Optimální teploty pro vývoj, patogenitu a přežití se pohybují mezi 20 až 30 °C. Spory některých druhů hub odolávají teplotám od 80 do 100 °C po 5 až 60 minut nebo jsou schopné dlouhodobě přežít i nízké teploty (i pod bodem mrazu).

Pro klíčení a tvorbu spor mimo tělo hostitele je velmi důležitá relativní vzdušná vlhkost (okolo 90 % a více). Pro některé druhy je ale např. přímé smočení ve vodě inhibující. V době, kdy patogen pronikl do tělní dutiny hostitele a až po opětovné prorůstání mycelia na povrch, nejsou nároky na vysokou vlhkost v okolním prostředí až tak vysoké. Přestože vysoká vlhkost je nezbytná pro tvorbu spor, je jejich uvolnění, např. u druhů *Beauveria bassiana* a *Metarhizium anisopliae*, stimulováno právě nízkou vlhkostí (méně 50 %), temnotou a vibracemi (TANADA & KAYA 1993, McCOY et al. 1988).



Foto č. 6: Vliv různých teplot na růst středových kultur *Beauveria bassiana* na PDA agaru (archiv Oddělení rostlinolékařství Katedry rostlinné výroby a agroekologie Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích)

3.4 Nejvýznamnější druhy entomopatogenních hub

V současné době je známo přibližně 750 druhů hub, které mohou infikovat hmyz nebo roztoče (NIELSEN et al. 2007). Tyto druhy jsou zastoupeny ve zhruba 100 různých rodech a mohou působit jako obligátní nebo fakultativní původci onemocnění mnoha druhů hmyzu (ROBERTS 1989).

Tab. č. 1: Přehled nejvýznamnějších a nejdůležitějších entomopatogenních druhů hub (SAMSON et al. 1988)

CHYTRIDIOMYCOTA - CHYTRIDIALES	<i>Coelomycidium</i>
	<i>Myiophagus</i>
CHYTRIDIOMYCOTA - BLASTOCLADIALES	<i>Coelomomyces</i>
OOMYCOTA - LAGENIDIALES	<i>Lagenidium</i>
OOMYCOTA - SAPROLEGNIALES	<i>Leptolegnia</i>
	<i>Couchia</i>
ZYGOMYCOTA - ENTOMOPHTHORALES	<i>Conidiobolus</i>
	<i>Entomophaga</i>
	<i>Entomophthora</i>
	<i>Massospora</i>
	<i>Erynia</i>
	<i>Massospora</i>
	<i>Meristacrum</i>
	<i>Neozygites</i>
ZYGOMYCOTA - MUCORALES	<i>Sporodiniella</i>
ASCOMYCOTA	<i>Ascospaera</i>
	<i>Atricordyceps</i>
	<i>Calonectria</i>
	<i>Cordycepioideus</i>
	<i>Cordyceps</i>
	<i>Hypocrella</i>
	<i>Myriangium</i>
	<i>Nectria</i>

	<i>Podonectria</i>
	<i>Torrubiella</i>
DEUTEROMYCOTA	<i>Acremonium</i>
	<i>Akanthomyces</i>
	<i>Aschersonia</i>
	<i>Aspergillus</i>
	<i>Beauveria</i>
	<i>Culicinomyces</i>
	<i>Engyodontium</i>
	<i>Funicularis</i>
	<i>Fusarium</i>
	<i>Gibelluna</i>
	<i>Hirsutella</i>
	<i>Hymenostilbe</i>
	<i>Metarhizium</i>
	<i>Nomuraea</i>
	<i>Paecilomyces</i>
	<i>Paraisaria</i>
	<i>Pleurodesmospora</i>
	<i>Polycephalomyces</i>
	<i>Pseudogibellula</i>
	<i>Sorosporella</i>
	<i>Sporothrix</i>
	<i>Stilbella</i>
	<i>Tetracrium</i>
	<i>Tetranacrium</i>
<i>Tilachlidium</i>	
<i>Tolypocladium</i>	
<i>Verticillium</i>	
MYCELIA STERILIA	<i>Aegerita</i>

Za nejvýznamnější entomopatogenní houby lze považovat rody *Beauveria*, *Hirsutella*, *Isaria*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces* a také *Verticillium* (v současné době se klasifikuje druh *Verticillium lecanii* jako samostatný rod *Lecanicillium*) (LANDA 1998, GOETTEL et al. 2008).

3.4.1 Charakteristika rodu *Beauveria* (Vuillemin)

Rod *Beauveria* je kosmopolitně rozšířený rod půdních entomopatogenních plísní. Byl popsán jako jeden z prvních entomopatogenních hub, byl objasněn jeho význam jako příčiny bílé muskardiny, byl významný jako devastující onemocnění bource morušového v Evropě v 18. a 19. století a jeho objevení bylo začátkem studia hmyzí patologie.

První zmínky o studiu bílé muskardiny se datují k roku 1807, kdy ji italský vědec a právník Bassi studoval na bourci morušovém. Rod byl oficiálně popsán v roce 1912 Vuilleminem a následně se taxonomii věnovali vědci jako Petch, MacLeod a de Hoog (VEGA & BLACKWELL 2005).

V roce 1954 spojil MacLeod veškeré známé druhy rodu *Beauveria* do dvou druhů – *Beauveria bassiana* a *Beauveria tenella* (WEISER 1966).

Později De Hoog (v roce 1972) vymezil rod *Beauveria* na druhy tři: *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii* a *Beauveria alba*. V současné době používaný výčet druhů tohoto rodu a jejich synonym je uveden v tabulce č. 2 (ZIMMERMANN 2007).

Tab. č. 2: Hlavní synonyma pro druhy Beauveria bassiana a Beauveria brongniartii dle MacLeoda (1954), De Hooga (1972) a CABI Bioscience et al. (2006) (ZIMMERMANN 2007)

Fungus	Synonym
<i>B. bassiana</i> (Balsamo-Crivelli) Vuillemin (1912)	<i>Beauveria laxa</i> Petch (1931)
	<i>Beauveria globulifera</i> (Speg.) Picard (1914)
	<i>Botrytis bassiana</i> Balsamo (1835)
	<i>Botrytis necans</i> Massee (1914)
	<i>Botrytis bassiana</i> Sacc. subsp. <i>tenella</i> Delacroix (1937)
	<i>Botrytis bassiana</i> var. <i>lunzinensis</i> Szilvinyi (1941)
	<i>Botrytis brongniartii</i> subsp. <i>delacroixii</i> (Sacc. Delacroix (1893)
	<i>Botrytis effusa</i> Beauverie (1911)
	<i>Botrytis stephanoderis</i> Bally (1923)
	<i>Sporotrichum densum</i> Link (1809)
	<i>Sporotrichum globuliferum</i> Spegazzini (1880)
	<i>Sporotrichum minimum</i> Spegazzini (1881)
	<i>Isaria shiotae</i> Kuru (1931)
	<i>B. brongniartii</i> (Saccardo) Petch (1926)
<i>Beauveria tenella</i> (Sacc.) McLeod sensu McLeod (1954)	
<i>Botrytis tenella</i> Saccardo (1874)	
<i>Botrytis brongniartii</i> Saccardo (1892)	
<i>Botrytis melolonthae</i> (Sacc.) Ciferri (1929)	
<i>Isaria densa</i> Link (1892)	
<i>Sporotrichum epigaeum</i> Daszew (1912)	

Rod *Beauveria* reprezentují převážně široce polyfágní houby, které se běžně vyskytují v půdě a parazitují na půdním hmyzu, resp. na stádiích hmyzu, která se vyskytují v půdě (např. přezimování). V sortimentu hostitelů jsou zastoupeni zástupci z řádu rovnokřídlí (např. krtonožky), brouci (např. larvy a kukly chroustů a chroustků, mandelinky bramborové, lalokonosců a mnoha dalších druhů), larvy a kukly motýlů a dvoukřídlého hmyzu (LANDA 1998).

Taxonomické zařazení rodu je možné dvěma způsoby. Jednak na základě anamorfy, čili nepohlavního stadia, a druhým způsobem na základě teleomorfy, tedy pohlavního stadia.

Taxonomické zařazení rodu *Beauveria* na základě anamorfy (VÁŇA 1998):

- Třída: *Ascomycetes*
- Pomocné pododdělení: *Deuteromycotina*
- Pomocná třída: *Hyphomycetes*
- Pomocný řád: *Moniliales*
- Rod: *Beauveria*

Taxonomické zařazení rodu *Beauveria* na základě teleomorfy (SUNG et al. 2007):

- Třída: *Ascomycetes*
- Řád: *Hypocreales*
- Čeleď: *Cordycipitaceae*
- Rod: *Beauveria*

Bližší popis a morfologická charakteristika druhu *Beauveria bassiana* je předmětem kapitoly 4 této práce, a proto je v dalších řádcích uvedena jen stručná charakteristika druhu *Beauveria brongniartii*.

Beauveria brongniartii se vyznačuje tím, že vytváří nejprve bílé, později nažloutlé až narůžovělé nebo červené kolonie (ZIMMERMANN 2007) a má vločkovitější konzistenci (WEISER 1966). Konidie jsou oproti *B. bassiana* elipsoidní, velikostně se pohybují v rozmezí 2 – 3 x 1,5 – 2,5 µm. Konidiogenní struktury jsou převážně štíhlé a tvoří řídké hrozny (DIRLBEKOVÁ et al. 1991).

3.4.2 Charakteristika rodu *Hirsutella* (Patouillard)

Rod *Hirsutella* zahrnuje okolo 50 druhů hub, které lze označit jako entomopatogenní. Rod byl objeven roku 1892 Patouillardem. Další zmínky o této houbové infekci pochází z roku 1924 od Speara a Yotherse z Floridy (pokles populace vlnovníků na citrusových plodech). V roce 1950 popsal houbu Fisher jako druh *Hirsutella thompsonii*, který lze označit za jeden z nejvýznamnějších druhů tohoto rodu (VAN DER GEEST et al. 2000, LANDA 1998, ANONYM I).

Hirsutella thompsonii je patogenní k sviluškám (mj. i svilušce chmelové), různým druhům vlnovníků (př. vlnovník brusnicový) a dalším fytofágním roztočům – např. škůdcům citrusových plodin (VAN DER GEEST et al. 2000).

Tento druh entomopatogenní houby vylučuje protein Hirsutellin A (HtA), který má silné insekticidní a cytotoxické vlastnosti, proto je tato houba považována za jeden z klíčových přirozených nepřátel škodlivých roztočů (MAIMALA et al. 2002).

V USA je vyráběn přípravek na bázi této entomopatogenní houby pod obchodním názvem Mycar a jde o vůbec první takto registrovaný přípravek v USA (BOUCIAS & PENDLAND 1998).

3.4.3 Charakteristika rodu *Metarhizium* (Sorokin)

Rod *Metarhizium* byl definován Sorokinem v roce 1879 a je zastoupen především těmito dvěma druhy hub – *Metarhizium flavoviridae* a hlavně druhem *Metarhizium anisopliae* (LANDA 1994, ANONYM II).

Metarhizium anisopliae je druh entomopatogenní houby, který byl v roce 1883 poprvé popsán Metchnikoffem (ZIMMERMANN 1993).

Jde o kosmopolitně rozšířenou houbu. Ekologicky je vázaná na vlhké, teplé prostředí, proto ji nejčastěji nacházíme u zemních stadií hmyzu. Její tepelné optimum leží v rozmezí teplot 20 až 25 °C (WEISER 1966).

Existují i poznatky o výskytu a vhodných podmínkách pro existenci a přežívání této houby v rhizosféře – tj. v bezprostředním okolí povrchu kořenů v půdě (MEYLING N. V. & EILENBERG J. 2007).

K infekci hostitele dochází většinou povrchem kutikuly (pokožkou) nebo průnikem skrze střeva (u silně sklerotizovaných brouků). Nákaza a rozvoj konidií probíhá u infikovaného hmyzu při optimálních teplotních podmínkách mezi 4 až 6 dny (WEISER 1966).

Metchnikoff prosazoval v Rusku masovou výrobu této houby pro biologickou ochranu proti listokazu pšeničnému v 80. letech 19. století, a dokonce už v roce 1884 zřídil malý závod pro výrobu prostředku na ochranu rostlin na bázi této entomopatogenní houby (SAMSON et al. 1988).

Metarhizium anisopliae je možné využít jako prostředek v boji proti hmyzu z řádů – rovnokřídlí, dvoukřídlí, polokřídlí, brouci, motýli či blanokřídlí (ZIMMERMANN 1993).

3.4.4 Charakteristika rodu *Nomuraea* (Maublanc)

Entomopatogenní houby patřící do rodu *Nomuraea* jsou poměrně úzce specializované patogenní organismy, které jsou svým vývojovým cyklem vázány převážně na larvy (housenky) motýlů. Rod byl popsán poprvé v roce 1903 Maublancem. Nejvýznamnějším zástupcem tohoto rodu je houba *Nomuraea rileyi* (LANDA 1998, KOUBOVÁ 2009, SUWANNAKUT et al. 2005, ANONYM III).

Nomuraea rileyi, původně popsána jako *Botrytis rileyi* a později jako *Spicaria rileyi*, byla v roce 1974 Kishem zařazena do rodu *Nomuraea*. Tento dimorfní entomopatogen, na rozdíl od např. *Metarhizium anisopliae* a *Beauveria bassiana*, má úzké spektrum hostitelů a není vázán na půdní prostředí. *Nomuraea rileyi* je uznávána jako klíčový faktor úmrtnosti v populacích mřovovitých (např. rod černopásky *Heliothis*, rod blýskavky *Spodoptera*, rod kovolessklec *Trichoplusia*, rod západníček *Plutella*). V některých subtropických a mírných zeměpisných šířkách způsobuje tento entomopathogen větší než 90% úmrtnost u larválních stadií populací škůdců (BOUCIAS et al. 2000, SUWANNAKUT et al. 2005).

3.4.5 Charakteristika rodu *Paecilomyces* (Bainier) a zástupců rodu *Isaria* (Persoon)

Rod *Paecilomyces* reprezentují široce polyfágní entomofágní, akarifágní a nematofágní druhy hub, které iniciují nákazy na zástupcích z mnoha řádů hmyzu, fytofágních roztočích a některých druzích háďátek. Rod byl oficiálně popsán v roce 1907 Bainierem (LANDA 1998, LEITNER 2008, ANONYM IV).

Dva nejvýznamnější zástupci rodu *Paecilomyces* dříve známé pod jmény *Paecilomyces farinosus* a *Paecilomyces fumosoroseus* byly v relativně nedávné době ustanoveny do rodu *Isaria* a pojmenovány jako *Isaria farinosa* a *Isaria fumosorosea*. První popisy těchto hub byly publikovány již v roce 1832 Friesem a roku 1904 Wizelem.

Oba dva druhy jsou široce rozšířené po celém světě a jsou pravidelně izolovány z celého spektra prostředí – vzduch, půda, voda, rostliny a živočichové (především řád motýli), ale oproti např. *Beauveria bassiana* mají poměrně užší spektrum hostitelů (ZIMMERMANN 2008).

ZIMMERMANN (2008) dále ve své práci uvádí tabulkově podrobný výčet hostitelů obou druhů těchto hub. Z hostitelů *Isaria farinosa* lze jmenovat např. mandelinku bramborovou, klikoroha borového, běláška zelného či zavíječe kukuřičného. Z hostitelů druhého druhu *Isaria fumosorosea* je to také mandelinka bramborová, zavíječ kukuřičný, ale i další druhy mšic, molic, třásněnek a červců. Biopreparáty na bázi této houby jsou vyvíjeny především v USA, Mexiku a Indii.

Jedny z nejvýznamnějších přípravků na bázi *Isaria fumosorosea*, kmene Apopka 97 jsou např. PFR-97 20% WDG a PreFeRal WG. Oba dva přípravky jsou vyráběné americkou společností Certis USA L.L.C. Jde v podstatě o totožné výrobky, přičemž přípravek PreFeRal WG je obchodní název určený pro Evropskou unii. Zajímavostí je, že PreFeRal WG byl prvním biopreparátem na bázi entomopatogenní houby, který byl registrován v Evropské unii (FARIA & WRAIGHT 2007, ZIMMERMANN 2008).

3.4.6 Charakteristika rodu *Verticillium* (Nees von Esenbeck)

Rod *Verticillium* byl popsán Neesem roku 1817. Dřívější zástupce tohoto rodu, a to druh *Verticillium lecanii* (dříve známý jako *Cephalosporum lecanii*), byl poprvé popsán v roce 1861 (CLOYD 1999). První zmínky o použití tohoto druhu houby jsou známy z doby kolem roku 1925 (Petch), a to při použití proti červci *Coccus viridis* v Indonésii na Srí Lance (SAMSON et al. 1988, ANONYM V).

V současné době se klasifikuje druh *Verticillium lecanii* jako samostatný rod *Lecanicillium*. Popsán byl v roce 2001 W. Gamsem & Zarem. Houby z tohoto rodu jsou významnými patogeny hmyzích škůdců (na bázi některých z nich byly vyvinuty komerční biopesticidy), některé druhy jsou aktivní i proti hád'átkům a jiným houbovým onemocněním – např. padlí (GOETTEL et al. 2008, ANONYM VI).

Nejvýznamnějšími druhy tohoto rodu jsou *Lecanicillium muscarium*, na jejichž bázi se vyrábí přípravek Mycotal určený proti boji se škůdci z řádu *Hemiptera* (polokřídli) – ploštice, mšice, molice a proti škůdcům z řádu *Thysanoptera* (třásnokřídli). Druhým významným zástupcem je *Lecanicillium longisporum*, na jehož bázi se komerčně vyrábí přípravek Vertalec, který je účinný hlavně proti škůdcům z řádu *Hemiptera* (polokřídli) (FARIA & WRAIGHT 2007).

3.5 Biopreparáty na bázi entomopatogenních hub

Účinnou složku většiny biopreparátů na bázi entomopatogenních hub tvoří konidie nebo blastospory.

Konidie jsou produkovány formou povrchových kultivací na tekutých živných půdách nebo na pevných přirozených substrátech a biotechnologie jejich produkce imituje přirozený cyklus, při kterém je zprvu vytvořena povrchová myceliální biomasa a na konci cyklu se na vzdušném myceliu tvoří konidie (LANDA 1998).

Izolace druhů jako je *Beauveria*, *Metarrhizium*, *Spicaria* nebo *Paecilomyces* je poměrně jednoduchá. Izolace se provádí zejména z povrchu infikovaných jedinců (spory) nebo z hemolymfy (blastospory nebo mycelium). Jako živné půdy používáme různá média – pevné agary (př. sladinkový agar), tekutá média či jiná alternativní média. Očkování se provádí nejlépe pomocí platinové inokulační kličky na médium umístěné v Petriho miskách. Spory z pevných kultur se pak získávají kartáčováním, vysáváním u pevných médií, u tekutých se získávají vysoušením a následným mletím kultur (WEISER 1966, WEISER 1977).

Blastospory entomopatogenních hub jsou produkovány ve fermentačních biotechnologiích a využívají fenoménu změny morfologické formy patogena po proniknutí do semi-aerobních podmínek tělní dutiny (LANDA 1998). SAMSON (1988) uvádí, že pomocí fermentačních biotechnologií lze dosahovat mnohem větší produkce biomasy entomopatogenních hub.

Přes určité zásadní odlišnosti jsou však biopreparáty na bázi konidií nebo blastospor stejné v tom, že obsahují konkrétní počet vitálních, virulentních infekčních jednotek schopných přímo vyvolat infekci. Ty jsou doplněny o inertní nebo nutritivní složky (LANDA 1998).

Biopreparáty jsou tak v komerční sféře dostupné v různých formulacích. Nejčastěji je možné se setkat se smáčitelnými, ve vodě zcela rozpustnými prášky (WP = *Wettable powder*), dále pak ve vodě rozpustnými granulemi (WG, WDG = *Water dispersible granule*).

Dalšími druhy formulací jsou suspenzní koncentráty (SC = *suspensio concentrate*), což jsou vodní suspenze účinné látky určené k rozpuštění ve vodě před vlastním použitím, dále pak olejové suspenze aktivní látky (OF = *oil miscele suspension*)

určené pro ředění v organických tekutinách a nakonec olejové disperze (OD = *oil dispersion*), což jsou suspenze účinné látky rozpuštěné ve vodě nerozpustné tekutině. Tyto olejové disperze mohou obsahovat další emulgátory k tomu, aby se směs před použitím rozpustila ve vodě.

Tuto skupinu formulací pak doplňují granulové přípravky (GR), přípravky v podobě návnad (tzv. „baitů“ = *ready for use*) (RB) a kontaktní prášky (*contact powder* = CP) (FARIA & WRAIGHT 2007).

4 ENTOMOPATOGENNÍ HOUBA *BEAVERIA BASSIANA* (BALSAMO-CRIVELLI) VUILLEMIN

4.1 Morfologická charakteristika

V roce 1835 našel a popsal Bassi parazitickou houbu působící onemocnění bourců morušových. Materiál předal Balsamo-Crivelimu, který houbu zařadil do rodu *Botrytis* a nazval ji *Botrytis bassiana* (ŠAMŠIŇÁKOVÁ 1963). V roce 1912 revidoval systematické zařazení Vuillemin a do dnešní doby je respektováno jeho zařazení do rodu *Beauveria* a označení druhu *bassiana* (DIRLBEKOVÁ et al. 1991).

K nákaze hmyzu dochází konidiemi, které klíčí na povrchu kutikuly a po krátkém růstu na povrchu vnikají vláknem kolmo do chitinového pokryvu kutikuly a pronikají do dutiny tělní (tato část vývoje začíná již po několika hodinách po kontaktu konidie s kutikulou hostitele a trvá několik dní). Houbová vlákna, která pronikla do tělní dutiny hostitele, se po určité době oddělují od základu, který zůstal v pokožce, a ten se postupně vyčerpává a odumírá. Hyfová vlákna, která vnikla do těla hmyzu, jsou nejdříve velmi krátká (kvasinkovitěho tvaru), vznášejí se v hemolymfě a jsou roznášena po celém těle hostitele. Při svém růstu spotřebovávají hyfy živiny z hemolymfy a vylučují do ní metabolity a proteázy. V momentě, kdy jsou v těle hmyzu zničeny lymfocyty, hmyz hyne. V uhynulém jedinci se tvoří delší vlákna, která postupně vyplňují tělo. Na nich narůstají válcovité konidie (endokonidie) = blastospory (liší se tvarově od kvasinkových hyf na počátku infekce) – měří 7 μm délky a 2 až 3 μm šířky. Ty se poté otvírají uvnitř hostitele, v hemolymfě z nich narůstají další hyfy a na těch se po určitém růstu tvoří znovu endokonidie. Narůstající hyfy vyplní tělo hmyzu bez deformace povrchu tak, že je zprvu sýrovité, později houbovitě vláknité a posléze zcela ztvrdlé. Při dostatku vlhkosti pak prorůstají hyfy na povrch těla hmyzu, vnitřek těla se mění na sklerocium. Na povrchu mumifikovaného těla se zdvihají vlákna, na kterých se vyvíjejí vzdušné konidie (WEISER 1966).

Konidie *Beauveria bassiana* jsou globoidního až subgloboidního tvaru, velikost 2 – 3 x 2,0 – 2,5 μm . Konidiogenní struktury tvoří husté shluky nebo hrozny (DIRLBEKOVÁ et al. 1991).

Entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* je kosmopolitně rozšířený druh, který je běžně zaznamenáván jako původce onemocnění na mnoha druzích hmyzu, zejména pak na herbivorních druzích, které jsou alespoň zčásti svého vývoje vázány na půdu (LANDA et al. 2007).

MEYLING N. V. & EILENBERG J. (2007) uvádí, že tato entomopatogenní houba se prokazatelně vyskytuje u více než 700 druhů hostitelů.

4.2 Taxonomické zařazení entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*

Entomoptagenní houbu *Beauveria bassiana* zařazujeme do říše hub (*Fungi*), dále do pomocného oddělení Deuteromycety. Toto pomocné oddělení je uměle vytvořená skupina (nikoliv přirozená taxonomická jednotka hub), která je vytvořena pro skupiny „nedokonalých“, „imperfektních“, často však spíše nedokonale známých hub, které jsou doposud známy pouze v anamorfní fázi (nepohlavní forma rozmnožování). V poslední době se pro skupinu těchto hub prosazuje název konidiální houby, tj. houby množící se konidiiemi.

Současné systémy člení Deuteromycety do 3 až 4 skupin na úrovni pomocných tříd. *Beauveria bassiana* tak v tomto případě spadá do pomocné třídy *Hyphomycetes*, která je nejpočetnější skupinou konidiálních hub (7 000 až 10 000 druhů), které zahrnují především velké množství saprofytických druhů. Patří sem řada významných patogenů rostlin, živočichů i člověka.

Ve většině systémů zahrnuje dále tato pomocná třída jen jediný pomocný řád *Moniliales* (VÁŇA 1998).

Taxonomické zařazení druhu *Beauveria bassiana* dle anamorfy (KALINA & VÁŇA 2005):

- Impérium: *Eukarya* (syn. *Eukaryota*)
- Říše: Houby – *Fungi* (syn. *Mycetalia*)
- Oddělení: Vřeckovýtrusné houby, vřeckaté houby, askomycety – *Ascomycota*
- Pododdělení: *Pezizomycotina* (syn. *Ascomycotina*) – dříve třída *Ascomycetes*

- Pomocné oddělení: Deuteromycety, „houby nedokonalé“, imperfekty, konidiální houby – *Deuteromycota* (syn. *Fungi imperfecti*)
- Pomocná třída: *Hyphomycetes*
- Pomocný řád: *Moniliales*
- Rod: *Beauveria* (Vuillemin)
- Druh: *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin

Taxonomické zařazení rodu je možné dvěma způsoby. Jednak na základě anamorfy, čili nepohlavního stadia (popsán výše), a druhým způsobem na základě teleomorfy, tedy pohlavního stadia.

Taxonomické zařazení druhu *Beauveria bassiana* na základě teleomorfy (SUNG et al. 2007):

- Třída: *Ascomycetes*
- Řád: *Hypocreales*
- Čeleď: *Cordycipitaceae*
- Rod: *Beauveria* (Vuillemin)
- Druh: *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin

4.3 Biopreparáty na bázi *Beauveria bassiana*

V současné době existuje ve světě celá řada přípravků vyrobená na bázi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*.

FARIA & WRAIGHT (2007) uvádí ve své práci existenci 58 těchto přípravků (což je asi 34 % ze všech 171 komerčně udávaných výrobků na bázi všech druhů entomopatogenních hub). Největší výrobci těchto přípravků jsou USA, státy Střední a Jižní Ameriky (Mexiko, Kolumbie, Brazílie), Jihoafrická republika, Indie a Rusko.

V podmínkách Evropské unie jsou pro praktické využití vyjmenovány ve Směrnici Rady č. 91/414/EHS „o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh“ a v její příloze I (tzv. Annex I) všechny účinné látky, které jsou na území Evropské unie povolené pro použití v přípravcích na ochranu rostlin (ANONYM VII 1991).

V roce 2008 byla vydána Směrnice Komise č. 2008/113/ES, kterou se měnila Směrnice Rady č. 91/414/EHS za účelem zařazení některých dalších mikroorganismů jako účinných látek. A právě touto směrnicí se do přílohy I Směrnice Rady č. 91/414/EHS doplňují pod číslem 203 dva kmeny entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* – kmen GHA (Sbírka kultur: č. ATCC 74250) a kmen ATCC 74040 (sbírka kultur: č. ATCC 74040). Toto doplnění vstupuje v platnost 1. května 2009 a platnost zařazení končí 30. dubna 2019. Přípravky mohou být povoleny pro použití jen jako insekticid a maximální obsah beauvericinu je stanoven na 5 mg/kg (ANONYM VIII 2008).

Nejvýznamnější komerčně dostupné přípravky na bázi houby *Beauveria bassiana*, které jsou využitelné na území Evropské unie, uvádí tabulka č. 3. V Registru přípravků na ochranu rostlin, který v České republice spravuje Státní rostlinolékařská správa, není v současné době evidován žádný přípravek na bázi této entomopatogenní houby (ANONYM IX 2012).



Foto č. 7: Přípravky na bázi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* – zprava první tři výrobky (archiv Oddělení rostlinolékařství Katedry rostlinné výroby a agroekologie Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích)

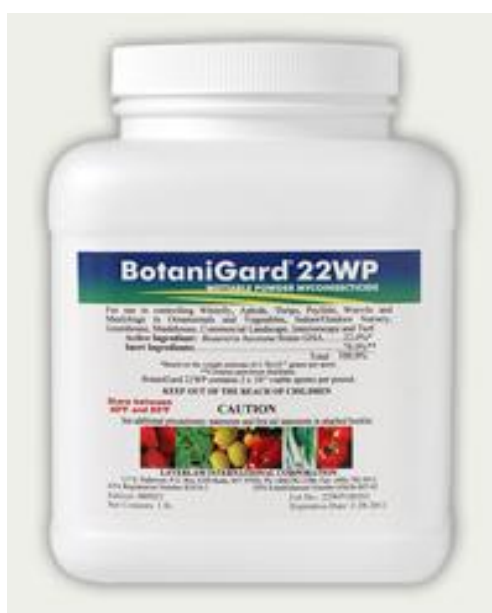
Tab. č. 3: Nejvýznamnější komerčně dostupné přípravky na bázi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* využitelné na území Evropské unie

Obchodní název (účinná látka)	Země výroby	Formulace	Výrobce	Hmyz, na který lze použít přípravek (převzato z etikety přípravku)
BotaniGard 22WP (<i>Beauveria bassiana</i> , kmen GHA)	USA	WP	Laverlam International Corporation	Molice, mšice (př. mšice broskvoňová), třásnokřídli (třásněnky, truběnky), merovití, červcovití, křískovití, vrubounovití, klopuškovití, nosatci (př. lakonosec rýhovaný)
BotaniGard ES (<i>Beauveria bassiana</i> , kmen GHA)	USA	ES	Laverlam International Corporation	Rovnokřídli (př. kobylky, krtonožky), molice, mšice, třásnokřídli, merovití, červcovití, křískovití, motýlovití škůdci stonků, motýlovití škůdci na listech (př. larvy běláška zelného), brouci – škůdci na listech, vrubounovití, klopuškovití, nosatci (př. nosatec lískový)
Mycotrol O (<i>Beauveria bassiana</i> , kmen GHA)	USA	ES	Laverlam International Corporation	Rovnokřídli (př. sarančata, kobylky), molice, mšice, třásnokřídli, merovití (př. mera skvrnitá), červcovití (př. červec citroníkovitý), křískovití, motýlovití škůdci stonků (př. zavíječ kukuřičný), motýlovití škůdci na listech (př. záředníček polní), brouci – škůdci na listech (mandelinky), vrubounovití, klopuškovití, nosatci
Naturalis L (<i>Beauveria bassiana</i> , kmen ATCC 74040)	USA	ES	Troy Biosciences, Inc.	Mravenci, mšice, obalečovití, molice, zavíječ kukuřičný, křískovití, klopuškovití, červcovití, svlušky, mera skvrnitá, třásnokřídli, nosatcovití, vajíčka motýlích škůdců

4.3.1 BotaniGard 22WP

Mykoinsekticidní přípravek pod obchodním názvem BotaniGard 22WP je výrobkem americké společnosti Laverlam International Corporation (FARIA & WRAIGHT 2007).

BotaniGard 22WP je účinný biologický insekticid, který se používá k likvidaci molic, třásněnek, mšic a mnoha dalšího hmyzu škodícího na zelenině, a to jak ve skleníkových, tak i polních kulturách. Aktivní složkou tohoto přípravku je entomopatogenní houba *Beauveria bassiana*, kmen GHA.



Obr. č. 2: Vizualizace balení přípravku BotaniGard 22WP (převzato z www.bioworksinc.com)

Přípravek obsahuje 22 % této aktivní složky (na základě odhadu hmotnosti $4,78 \times 10^{-12}$ g na sporu). Inertní složka přípravku obsahuje smáčedla. Přípravek obsahuje 2×10^{13} životaschopných spor v libře (tj. cca 0,45 kg v balení přípravku).

Přípravek je k dostání v podobě pevného smáčitelného prášku (wetable powder) v plastových baleních o hmotnosti 1 libra (tj. cca 0,45 kg). Aplikuje se ve formě postřiku po předchozím zředění s vodou.

BotaniGard 22WP je nutné skladovat na suchém a chladném místě při teplotách neklesajících pod bod mrazu a nepřesahujících 85 °F (tj. cca 29 °C) (ANONYM X).



Foto č. 8: Formulace přípravku BotaniGard 22WP (archiv Oddělení rostlinolékařství Katedry rostlinné výroby a agroekologie Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích)

4.3.2 BotaniGard ES

Přípravek BotaniGard ES je výrobkem americké společnosti Laverlam Internacional se sídlem ve městě Butte (stát Montana) ve Spojených státech amerických (FARIA & WRIGHT 2007).

BotaniGard ES je určen proti molicím, mšicím, třásněnkám a dalším škůdcům skleníkových a polních plodin. Aktivní složkou přípravku je *Beauveria bassiana*, kmen GHA o obsahu přípravku 11,3 % (na základě odhadu hmotnosti $4,78 \times 10^{-12}$ g na sporu). Inertní složka tvoří 88,7 % a obsahuje emulgátor. Přípravek BotaniGard ES obsahuje 2×10^{13} živých spor *Beauveria bassiana* v quartu (tj. 0,946 litru).

Přípravek je nutné skladovat při teplotách neklesajících pod bod mrazu a nepřesahujících 85 °F (tj. cca 29 °C). Používá se ve formě vodní suspenze.

V zahraničí je distribuován ve formě tekuté emulgované suspenze v balení po 1 quartu (tj. 0,946 litru) nebo v balení po 1 galonu (tj. 3,785 litru) (ANONYM XI).



Obr. č. 3: Vizualizace balení přípravku BotaniGard ES (převzato z www.bioworksinc.com)



Foto. č. 9: Formulace přípravku BotaniGard ES (archiv Oddělení Rostlinolékařství Katedry rostlinné výroby a agroekologie Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích)

4.3.3 Mycotrol O

Tento insekticidní přípravek je také výrobkem americké společnosti Laverlam Internacional jako předchozí přípravky BotaniGard 22WP a BotaniGard ES (FARIA & WRIGHT 2007).

Mycotrol O je biologický insekticid používaný především proti larválním stádiím molic, třásněnek, mšic, nosatců a mnoha dalším škůdcům skleníkových a polních plodin.

Přípravek obsahuje 10,90 % aktivní látky, a to entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* a jejího kmene GHA (na základě odhadu hmotnosti $4,78 \times 10^{-12}$ g na sporu). Přípravek obsahuje 2×10^{10} životaschopných spor v 1 ml.

Přípravek je k dostání v balení po 1 quartu (tj. 0,946 litru) nebo v balení po 1 galonu či dvou galonech (1 galon je asi 3,785 litru). Obsah balení je tekutá emulgační suspenze, která se skladuje při teplotách neklesajících pod bod mrazu a nepřesahujících 85 °F (tj. 29 °C). Používá se jako postřik po předchozím zředění vodou (ANONYM XII).



Obr. č. 4: Vizualizace přípravku Mycotrol O (převzato z www.bioworksinc.com)

4.3.4 Naturalis L

Naturalis L je biologický insekticid vyráběný americkou společností Troy Biosciences, Inc. sídlící ve státě Phoenix (FARIA & WRAIGHT 2007).

Přípravek je vhodný pro použití proti širokému spektru škůdců polních plodin, zeleniny a ovoce, ořechů, vína a okrasných rostlin.

Aktivní složkou přípravku je entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* a její kmen ATCC 7404. Naturalis L obsahuje 7,16 % této aktivní látky (neobsahuje méně než $2,3 \times 10^7$ životaschopných spor na ml produktu). Inertní složka tvoří 92,84 % výrobku.

Přípravek je olejová suspenze obsahující emulgátory. Přípravek se aplikuje ve formě vodní suspenze po předchozím zředění vodou. Skladovat by se měl v teplotě od 4 do 27 °C (ANONYM XIII).



Obr. č. 5.: Vizualizace přípravku Naturalis L (převzato a upraveno z http://www.troybiosciences.com/product_plantProtection_naturalisL.asp)

4.3.5 Boverol

Výrobě přípravku Boverol se od roku 1984 věnovalo ZD Budoucnost z Blatnice. Paralelně byla zahájena i pokusná výroba tohoto přípravku pro použití v ochraně lesních porostů na pracovišti ČSAV a ACHP Milevsko (DIRLBEKOVÁ et al. 1991).

V později publikovaných pracích se uvádí, že přípravek Boverol vyráběla česká firma Fytovita (FARIA & WRAIGHT 2007, ZIMMERMANN 2007).

Boverol byl jemný bílý prášek s nepříliš výraznou houbovou vůní. Každý gram přípravku obsahoval minimálně 10 miliard spor (vzdušných konidií) entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*. Klíčivost spor byla minimálně 70 % a byly promíseny s amorfním oxidem křemičitým (Siloxid). Předností vzdušných konidií byla jejich dlouhodobě uchovatelná klíčivost i po konzervaci prostým vysušením.

Boverol bylo třeba skladovat na suchém, stinném místě při teplotě 2 – 10 °C (DIRLBEKOVÁ et al. 1991).

Přípravek byl až do roku 1996 registrován k hubení nejmladších instarů larev mandelinky bramborové, a to v kombinaci se s níženou dávkou přípravku Decis (ŠVESTKA et al. 2003).

Jeho použití bylo možné také při regulaci jiných škůdců, např. zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*), obaleči jablečnému (*Cydia pomonella*) a dalších druhů obalečů u ovocných kultur, dále proti ponravám chroustů, larvám nosatců na kořenech užitkových rostlin atd. Používal se i v ochraně proti lesním škůdcům – k ošetření housenic pilatek, školkařského materiálu a škůdců v korunách stromů (chrousti) nebo v půdě – kromě ponrav i lalokonosci, klikoroh (KOUBOVÁ 2009).

Cena přípravku činila cca 3000 Kč/kg. V současnosti ale není Boverol registrován pro použití v ochraně rostlin, jeho registrace byla ukončena 31. července 1997 (ŠVESTKA et al. 2003, ANONYM IX 2012).

4.3.6 Boverosil

Výroba Boverosilu byla zahájena v roce 1984 v ZD Svornost sídlícím ve Vladislavi a byl určen především pro ochranu proti skladištním škůdcům (DIRLBEKOVÁ et al. 1991).

Přípravek byl používán v podobě smáčitelného prášku (obsahujícího $5,92 \times 10^9$ konidií v gramu) k ochraně proti skladištnímu škůdci obilných zrn pilousi černému *Sitophilus granarius* (KHASHAVEH et al. 2011).

Z dalších prací věnujících se tomuto přípravku je zřejmé jeho použití i proti dalším skladištním škůdcům jako je potemník skladištní (*Tribolium confusum*) nebo lesák skladištní (*Oryzaephilus surinamensis*) (FRÝDOVÁ et al. 1989).

LANDA (1998) uvádí, že v roce 1998 už nebyl Boverosil registrován pro použití v ČR. Informace z Registru přípravků na ochranu rostlin uvádí, že jeho registrace byla ukončena 31. prosince 1996 (ANONYM IX 2012).

4.3.7 Ostatní komerční přípravky na bázi *Beauveria bassiana*

FARIA & WRAIGHT (2007) uvádí ve své práci existenci 58 přípravků na bázi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* (45 aktivních, 9 neaktivních a 4, u nichž nelze zjistit stav existence a dostupnosti).

Vývoj a výroba jsou realizovány především v USA, Brazílii, Kolumbii, Indii a Jihoafrické republice. V současné době jsou v Evropské unii povoleny přípravky na bázi *Beauveria bassiana* kmenů GHA a ATCC 74040.

Ve světě je, jak je již zmíněno, vyráběna celá řada dalších přípravků. Z nich lze jmenovat Myco-Jaal (Indie), Larvoceel (Indie), Badsha (Indie), Daman (Indie), Bb Plus (Jihoafrická republika) nebo Bb Weevil (Jihoafrická republika).

4.4 Příklady využívání biopreparátů na bázi *Beauveria bassiana*

4.4.1 Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému

Využívání biopreparátů na bázi *Beauveria bassiana* proti lýkožroutu smrkovému (*Ips typographus*) je rozšířeno zejména v Německu, Švýcarsku a Rakousku, na experimentální úrovni je tato houba zkoušena i v dalších zemích (např. USA, Austrálie, Finsko, Polsko). Nejčastěji je *Beauveria bassiana* aplikována formou vodních suspenzí spor na povrch napadených stromů nebo stromových lapáků. Výsledky laboratorních studií a provozních aplikací dokazují, že v porovnání s většinou ostatních druhů entomopatogenních hub vykazuje *Beauveria bassiana* po aplikaci na dospělce *Ips typographus* nejen nejvyšší virulenci, ale i zjevně největší adaptaci na tohoto hostitele ve smyslu autodiseminace (samošíření), tj. schopnosti patogena šířit se prostřednictvím přirozených mechanismů odrážejících populační chování hostitele.

Příkladem praktického využívání tohoto jevu je i unikátní forma aplikace *Beauveria bassiana*, při které je práškový koncentrát spor patogena aplikován přímo do sběrné části feromonového lapače, který je upraven tak, aby byla zachována jeho atraktantní funkce, nicméně dospělci kůrovce nejsou natrvalo odchyceni sběrnou částí lapače. Cílem této aplikace je kontaminovat povrch těla dospělců vysokou dávkou spor a zajistit tak nejen usmrcení konkrétního jedince kontaminovaného při průchodu lapačem, ale zároveň podpořit i šíření nákazy v lokální populaci. Praktické výsledky prokázaly, že tato forma využití biopreparátů na bázi *Beauveria bassiana* je velmi účelná zejména v situacích, kdy od aplikace není očekáván okamžitý účinek, ale perspektiva dlouhodobějšího potlačování populací škůdce (LANDA et al. 2007).



Foto č. 10: *Beauveria bassiana* při prorůstání na povrch lýkožrouta smrkového (autor Michal Kalista)

4.4.2 Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému na území národního parku Šumava

LANDA at al. (2007) uvádí, že v polovině srpna 2007 byla na vybranou lokalitu NP Šumava letecky aplikována entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* s cílem záměrně indukovat houbovou infekci v populaci lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*). V rámci této unikátní akce bylo na 1,5 ha polomových smrčín aplikováno 3500 litrů suspenze blastospor místního kmene *Beauveria bassiana*.

Vlastní aplikaci suspenze předcházela první fáze projektu. V období let 1999 – 2004 byl ve spolupráci Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity a Správy NP a CHKO Šumava na více než 60 lokalitách v I. zónách NP Šumava realizován rozsáhlý monitoring přirozeného výskytu entomopatogenních hub asociovaných s lýkožroutem. Monitoring byl zaměřen na sledování výskytu entomopatogenních hub v populacích:

- migrujících dospělců (dospělci odchycení pomocí feromonových lapačů)

- v populacích lýkožrouta vyvíjejících se přímo v kůře napadených stromů
- v půdách pod kůrovcovými soušemi

V populacích dospělců odchycených feromonovými lapači byly zaznamenány houby *Beauveria bassiana* a *Lecanicillium lecanii*, z dospělců a larev lýkožrouta smrkového byly izolovány prakticky všechny významné entomopatogenní druhy (*Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Paecilomyces farinosus* a *Paecilomyces fumosoroseus*) a i ve vzorcích půd odebraných na lokalitách napadených lýkožroutem byla zaznamenána přítomnost řady významných druhů entomopatogenních hub. V průběhu plošného monitoringu byla v roce 2004 zaznamenána na lokalitě Prameny Vltavy vysoká mortalita v populaci lýkožrouta vyvolaná nativním kmenem entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*. Výsledky této studie prokázaly, že výskyt entomopatogenních hub v populacích kůrovce je zcela běžný a že za určitých okolností mohou některé kmeny spontánně indukovat epizootii (hromadnou nákazu) v rozsahu blízkém lokální likvidaci populace tohoto škůdce.

Výsledky monitoringu, zejména pak přirozená schopnost některých kmenů houby *Beauveria bassiana* vyvolat spontánní nákazu, vedly k zahájení druhé fáze projektu. Tato fáze zahrnovala detailní charakteristiku kmenů hub zachycených v průběhu monitoringu a vývoj biotechnologií produkce biomasy hub umožňujících reintrodukcii vybraných kmenů do oblasti jejich původu s cílem záměrně indukovat vznik epizootie v populacích lýkožrouta. Tato fáze projektu prokázala, že houba *Beauveria bassiana* představuje pro sledovaný cíl a účel všestranně největší potenciál.

Výsledkem studie výskytu entomopatogenních hub na lokalitách NP Šumava je unikátní sbírka kultur entomopatogenních hub sestávající se z více než 150 položek. Sběrka představuje unikátní genetický soubor a zároveň je i zdrojem biologického materiálu pro další praktické využití.



Foto č. 11: Letecká aplikace *Beauveria bassiana* na lesní porosty v národním parku Šumava (autor Michal Kalista)

4.4.3 Využití *Beauveria bassiana* v boji proti mandelince bramborové

MARTIN et al. (1999) uvádí, že houba *Beauveria bassiana* má široké spektrum insekticidní aktivity. Jako bioagens užívaný v biologické ochraně proti mandelince bramborové, je uváděna jako velmi proměnlivý činitel v různých polních studiích. Tato proměnlivost je dána formulačními problémy v biopreparátech, citlivostí k UV záření a k vlhkosti. V pokusech provedených ve třech lokalitách v roce 1996 byla *Beauveria bassiana* účinná proti mandelince bramborové v Polsku a v České republice, ale neúčinná v Marylandu v USA. Účinnost ochrany byla hodnocena podle redukce larev v populaci škůdce.

Jedním z hlavních rozdílů mezi pokusnými místy byla právě teplota. V Polsku se průměrné teploty pohybovaly v rozmezí od 5 °C do 23 °C, v České republice od 6,7 °C do 18,7 °C a v Marylandu teploty v období aplikace přesáhly 45 °C v úrovni bramborové natě. Proto byl sledován růst *Beauveria bassiana* *in vitro*. Zatímco *Beauveria bassiana* rostla v laboratoři v rozmezí teplot 16 – 30 °C, z komerčního biopesticidu (Mycotrol) neklíčila při teplotách nad 37 °C.

Klíčení a následující vývoj této entomopatogenní houby jsou kritickými faktory při infekci a ochraně proti mandelince bramborové. V důsledku neschopnosti klíčit při vysokých teplotách nelze očekávat, že ochrana proti škodlivému hmyzu tímto bioagens bude účinná v klimatu s vysokými letními teplotami. Houba však může být vhodná pro ochranu proti hmyzu brzy na jaře nebo v chladném klimatu v průběhu vegetace.

4.4.4 Pokusné použití přípravku Naturalis L proti vrtuli třešňové (*Rhagoletis cerasi*)

DANIEL & WYSS (2010) uvádí ve své práci výsledky s listovými aplikacemi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*, kmene ATCC 74040 (v komerčním přípravku Naturalis L) při redukci hlavního evropského škůdce třešně, a to vrtule třešňové (*Rhagoletis cerasi*), řád dvoukřídlí (*Diptera*).

Naturalis L byl aplikován v koncentraci 250 ml na 100 l v sedmidenních intervalech během pravidelných period letu vrtule třešňové. Letová činnost byla sledována pomocí lepkových pastí.

Infekce a mykóza dospělých vrtulí třešňových prokázala možnost použití v reálných podmínkách. Míra napadení ovoce vrtulí třešňovou byla hodnocena při sklizni a počet napadených plodů se významně snížil (až o 65 %), a to tam, kde byl na listy aplikován přípravek Naturalis L. Tyto výsledky byly získány z pěti pokusů za dva roky s výrazně odlišnými povětrnostními podmínkami, v různých sadech s různými letovými intenzitami vrtule třešňové a různými odrůdami třešně (časně zrající vs. pozdně zrající).

Autoři na závěr svého výzkumu dochází ke zjištění, že použití přípravku Naturalis L je velmi vhodná a ekonomicky přijatelná strategie pro regulaci vrtule třešňové v ekologické produkci třešně. Přípravek Naturalis L je v současné době (r. 2010) registrován pro použití v Itálii a ve Švýcarsku.

5 DISKUZE

Používání entomopatogenních hub jako prostředků biologické ochrany proti škůdcům je moderním a neustále se rozvíjejícím trendem v ochraně rostlin.

Je známa celá řada entomopatogenních hub, na jejichž bázi vyrobené komerční biopreparáty lze využít pro potlačování škůdců jak ve volné krajině (na zemědělské i lesní půdě), tak i pro skleníkové kultury. ROBERTS (1989) uvádí až 700 druhů entomopatogenních hub ze 100 rodů, které fungují jako původci onemocnění hmyzu. FARIA & WRAIGHT (2007) ve své práci zmiňují existenci 171 přípravků využitelných v biologické ochraně, které jsou vyráběny na bázi těchto hub. Jedním z nejvýznamnějších druhů je *Beauveria bassiana*, která je nejdéle známá, kosmopolitně rozšířená a nejvíce prozkoumaná entomopatogenní houba.

Z výše uvedeného je tedy zřejmé, že tyto houby (vč. *Beauveria bassiana*) jsou a mohou být používány jako účinné prostředky likvidace škůdců, a to po celém světě. Skutečnost je však odlišná. Vždyť na území Evropské unie jsou registrovány jen čtyři komerční přípravky na bázi *Beauveria bassiana* (a to i pro území České republiky). Bohužel však na našem území není v tzv. Registru přípravků na ochranu rostlin registrován jediný přípravek pro použití v rámci České republiky. V minulosti se na našem území vyvíjely a používaly přípravky dva – Boverol a Boverosil, ale jejich používání skončilo v roce 1997, resp. v roce 1996.

Je zajímavé si položit otázku, čím je způsobeno, že především u nás nenachází tyto přípravky větší uplatnění (vyjma prováděných pokusných použití v rámci vědeckých pracovišť). Proč není v současné době v Registru přípravků na ochranu rostlin žádný přípravek na bázi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*?

Mezi hlavní příčiny lze asi zařadit poměrně složitou registraci přípravku, kdy musí být nejprve zařazen do přílohy I Směrnice Rady č. 91/414/EHS a poté přijat i členským státem a jeho vlastní legislativou.

Druhým problémem je investice do vývoje biopreparátu a následná pořizovací cena těchto přípravků. Například z informací společnosti BioWorks, Inc. činí pořizovací cena přípravku BotaniGard 22WP asi 80 amerických dolarů za librové balení. V přepočtu je to asi 1 600,- Kč za balení o hmotnosti 0,45 kg, které lze použít

k aplikaci v podobě postřiku na plochu od 5 000 do 20 000 čtverečních stop (tj. cca od 500 m² do 2 000 m²).

Třetím potenciálním problémem by mohla být i počáteční nízká kupní síla a poptávka po přípravcích od tuzemských podniků zabývajících se rostlinnou výrobou. Na druhou stranu je v domácích podmínkách potenciál pro opětovné zahájení používání těchto přípravků z důvodu jejich vývoje a výroby, která byla realizována v relativně nedávné historii prostřednictvím tuzemských výrobců (ACHP Milevsko, ZD Svornost). Na tuto výrobu by bylo možné poměrně úspěšně navázat.

Další otázkou zůstává bezpečnost a nežádoucí vliv při používání přípravků vůči člověku a dalším necílovým organismům. ZIMMERMANN (2007) ve své práci uvádí, že přípravky na bázi houby *Beauveria bassiana* a *Beauveria brongniartii* by měly být bezpečné a dokládá, že existuje celá řada studií, které zřetelně prokazují, že tyto houby nemají vliv na necílové organismy a ani na člověka. Autor pouze zmiňuje ojediněle zaznamenané alergické reakce, které jsou známé z výrobních procesů, kde byli pracovníci opakovaně vystavováni vysokým koncentracím spor těchto hub. Těmto problémům však lze poměrně jednoduše předejít dodržením pracovních bezpečnostních předpisů.

Lze tedy konstatovat, že ze současně známých a dostupných informací lze na přípravky nahlížet jako na člověku bezpečné. Informace o bezpečnosti jsou spolu s dalšími nedílnou součástí etikety každého přípravku a představují tak komparativní výhodu v porovnání s převážnou většinou organických pesticidů.

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce je analýzou současného stavu využívání entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* v biologické a integrované ochraně rostlin proti škůdcům.

Práce vedle popisu vývojového cyklu entomopatogenních hub přináší charakteristiku nejvýznamnějších zástupců, podrobně se věnuje druhu *Beauveria bassiana* a přináší přehled použitelných komerčních biopreparátů na bázi této houby v Evropské unii.

Biologická ochrana je v současné době moderním a trvale udržitelným směrem boje proti škůdcům rostlin a na základě zjištěných informací a dat je patrné, že biologická ochrana rostlin se v současnosti bez použití této skupiny organismů neobejde. Vždyť neexistují jiné organismy, které mohou působit jako obligátní nebo fakultativní původci onemocnění tolika druhů hmyzu.

Avšak i přes pokročilou znalost biologie, ekologie a patogenity jednotlivých druhů jsou stále oblasti, kde je nutné výzkumem zjišťovat nové skutečnosti. Těmito oblastmi jsou především oblasti vlivu na lidské zdraví a vliv na další necílové organismy. Jak také uvádí někteří autoři, jinak se chovají tyto organismy v laboratorních podmínkách a jinak v prostředí volné krajiny nebo ve skleníkových kulturách.

Neméně důležitou oblastí pro významnější používání těchto organismů v praxi v našich podmínkách je však „prolomení“ legislativy, zařazení přípravků použitelných v Evropské unii do Registru přípravků na ochranu rostlin v České republice a také zahájení výroby tuzemského biopreparátu, který by navázal na přípravky u nás v minulosti vyráběné.

Pokud by se tyto skutečnosti v budoucnu povedly realizovat, navázala by výroba a použití těchto přípravků v naší republice na relativně nedávnou historii a mohlo by se tak konkurovat především zámořským společnostem, které tyto přípravky vyrábějí a distribuují do Evropské unie.

7 SEZNAM LITERATURY

1. AINSWORTH G. C. & SUSSMAN A. S. (1968): The Fungi, Volume III, The fungal population, ACADEMIC PRESS, New York and London, 621 p.
2. ANONYM I: <http://www.mycobank.org/BioMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=39376&Fields=All> [on line 28. 3. 2012]
3. ANONYM II: <http://www.mycobank.org/BioMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=56923&Fields=All> [on line 28. 3. 2012]
4. ANONYM III: <http://www.mycobank.org/BioMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=57032&Fields=All> [on line 28. 3. 2012]
5. ANONYM IV: <http://www.mycobank.org/BioMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=38965&Fields=All> [on line 28. 3. 2012]
6. ANONYM V: <http://www.mycobank.org/BioMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=39170&Fields=All> [on line 28. 3. 2012]
7. ANONYM VI: <http://www.mycobank.org/BioMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=56811&Fields=All> [on line 28. 3. 2012]
8. ANONYM VII (1991): SMĚRNICE RADY 91/414/EHS ze dne 15. července 1991 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh.
[online 5. 3. 2012] – dostupné z:
<http://eur-europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=DD:03:11:31991L0414:CS:PDF>
9. ANONYM VIII (2008): SMĚRNICE KOMISE 2008/113/ES ze dne 8. prosince 2008, kterou se mění směrnice Rady 91/414/EHS za účelem zařazení některých mikroorganismů jako účinných látek.
[online 5. 3. 2012] – dostupné z:
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:330:0006:0015:CS:PDF>

10. ANONYM IX (2012): <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx> [online 20. 3. 2012]
11. ANONYM X: <http://www.bioworksinc.com/products/botanigard-22wp.php> [online 15. 12. 2011]
12. ANONYM XI: <http://www.bioworksinc.com/products/botanigard-es.php> [online 14. 12. 2011]
13. ANONYM XII: <http://www.bioworksinc.com/products/mycotrol-o.php> [online 15. 12. 211]
14. ANONYM XIII: http://www.troybiosciences.com/product_plantProtection_naturalisL.asp [on line 4. 1. 2012]
15. BAILEY A., CHANDLER D., GRANT W. P., GREAVES J., PRINCE G. & TATCHELL M. (2010): Biopesticides, pest management and regulativ, CAB International, p. 88 – 90.
16. BOUCIAS D. G., PENDLAND J. C. & LARGO J. P. (1988): Nonspecific factors involed in attachement of entomopathogenic Deuteromycetes to host insect cuticle. – *Appl. Environ. Mikrobiology*, 54: 1759 – 1805.
17. BOUCIAS D. G., PENDLAND J. C. (1998): Principles of insect pathology, Kluwer Academic Publishers, p. 354 – 358.
[online 24. 1. 2012] - dostupné z:
<http://books.google.cz/books?id=fpuMPQfSlzMC&printsec=frontcover&dq=Tolypocladium+terricola#v=onepage&q=Tolypocladium%20terricola&f=false>
18. BOUCIAS D. G., TIGANO M. S., SOSA-GOMEZ D. R., GLARE T. R. & INGLIS P. W. (2000): Genotypic Properties of the Entomopathogenic Fungus *Nomuraea rileyi*, *Biological Control*, 19: 124 – 138.
19. CASTRILLO L. A., ROBERTS D. W. & VANDENBERG J. D. (2005): The fungal past, present, and future: Germination, ramification, and reproduction, *Journal of Invertebrate Pathology*, 89: 46 – 56.
20. CLOYD, R. (1999): Know Your Friends, The Entomopathogen *Verticillium lecanii*, *Midwest Biological Control News online*, 6: 12.

[online 21. 1. 2012]. – Dostupné z:

<http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf612.html>

21. DANIEL, C. & WYSS, E. (2010): Field applications of *Beauveria bassiana* to control the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi*, *Journal of Applied Entomology*, 134: 675 – 681.
22. DIRLBEKOVÁ O., NESRSTA M., DIRLBEK J. & JEDLIČKA M. (1991): Biologické zdroje pro nechemickou ochranu rostlin (I. Deuteromycetes, *Beauveria bassiana*, [Bals.] Vuill.), Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha, s. 52.
23. FARIA M. R. & WRAIGHT S. P. (2007): Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. – *Biological Control*, 43: 237 – 256.
24. FRÝDOVÁ B., VERNER P. H., BARTOŠ J. (1989): Srovnání některých vlastností dvou biopreparátů na bázi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*, zejména jejich účinnosti na skladištní škůdce, *Sborník vysoké školy zemědělské v Praze – Fakulta agronomická, řada A*, 50: 247 – 264.
25. GOETTEL M. S., KOIKE M., KIM J. J., AIUCHI D., SHINYA R., BRODEUR J. (2008): Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases., *Journal of Invertebrate Pathology*, 98: 256 – 261.
26. HAJEK A. (2004): *Natural enemies, an introduction to biological control*, Cambridge university press, United kingdom, 378 p.
27. HONĚK A., LUKÁŠ J., MARTINKOVÁ Z., PULTAR O., ŘEZÁČ M. (2008): Význam predátorů a parazitoidů v integrovaných systémech ochrany rostlin, VÚRV, Praha, s. 5.
28. JOHNSON M. W. (2000): *Biological Control of Pests*, ENTO 675, UH-Manoa, Fall, p. 1 – 5.
29. KALINA T., VÁŇA J. (2005): *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*, Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, Praha, 606 s.

30. KHASHAVEH A., GHOSTA Y., SAFARALIZADEH M. H. & ZIAEE M. (2011): The Use of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in Assays with Storage Grain Beetles, *J. Agr. Sci. Tech.*, 13: 35 – 43.
31. KOUBOVÁ D. (2009): Využití hub v biologické ochraně rostlin proti škůdcům [online 14. 12. 2011]. – dostupné z:
<http://www.agronavigator.cz/UserFiles/File/Vyuit%20hub%20v%20biologick%20ochran%20rostlin%20proti%20kdcem.pdf>
32. LANDA Z. (1994): Entomopatogenní houby v biologické ochraně rostlin (habilitační práce). – ZF JČU České Budějovice, 96 s.
33. LANDA Z. (2003): Entomopatogenní houby – živé proti živému – *Zemědělec*, 5: 33.
34. LANDA Z., KŘENOVÁ Z. & VOJTĚCH O. (2007): Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému, *Lesnická práce*, 86 (10): 14 – 15.
35. LEITNER 2008: <http://rl.zf.jcu.cz/studijni-informacni-databaze/obecne-informace-1/paecilomyces-fumosoroseus> [on line 2. 2. 2012]
36. MAIMALA S., TARTAR A., BOUCIAS D. G. & CHANDRAPATYA A. (2002): Detection of the toxin Hirsutellin A from *Hirsutella thompsonii*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 80: 112 – 126.
37. MARTIN P. A. W., SCHRODER R. F. W., POPRAWSKI T. J., LIPA J. J., SOSNOWSKA D., HAUSVATER E. & RASOCHA V. (1999): Vliv vysokých teplot na citlivost mandelinky bramborové (*Coleoptera: Chrysomelidae*) k *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin v Polsku, České republice a v USA, *Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 13: 69 – 77.
38. McCOY C W., SAMSON R. A. & BOUCIAS D. H. (1988): Entomogenous fungi. – In: IGNOFFO C. M. (ed.): *CRC Handbook of natural Pesticides*. – CRS Press, Boca Raton, Vol. 5, Part A, p. 151 – 236.
39. MEYLING N. V. & EILENBERG J. (2007): Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate

- agroecosystems: Potential for conservation biological kontrol, *Biological Control* 43: 145 – 155.
40. NIELSEN CH., JENSEN A. B. & EILENBERG J. (2007): Survival of entomophthoralean fungi infecting aphids and higher flies during unfavorable conditions and implications for conservation biological kontrol. – In: EKESI S. & MANIANIA N. K. (ed.): Use of entomopathogenic fungi in biological pest management, Research Signpost, India, p. 13 – 18.
 41. REHNER S. (2005): Phylogenetics of the insect pathogenic genus *Beauveria* – In: VEGA F. E. & BLACKWELL M. (eds.): Insect-fungal associations - Ecology and evolution, Oxford university press, p. 3 – 27.
 42. ROBERTS D. W. (1989): World picture of biological control of insects by fungi, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 84, Supp. III: 89 – 100.
 43. ROBERTS D. W. & YENDOL W. G. (1971): Use of fungi for microbial control of insect – In: BURGESS H. D. & HUSSEY N. W. (eds.): Microbial control of insect and mites, Academic press, London, p. 125 – 150.
 44. SAMSON R. A., EVANS H. C. & LATGÉ J.-P. (1988): Atlas of entomopathogenic Fungy – Springer-Verlag, Berlin, 187 p.
 45. 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.
 46. SUWANNAKUT S., BOUCIAS D. G., WIWAT CH. (2005): Genotypic analysis of *Nomuraea rileyi* collected from various noctuid hosts, *Journal of Invertebrate Pathology*, 90: 169 – 176.
 47. ŠAMŠIŇÁKOVÁ A. (1963): Entomofágní houba *Beauveria bassiana* /Bals.-Criv./Vuill. a její submersní kultivace, *Entomologický ústav ČSAV, oddělení pathologie hmyzu*, Praha, s. 20.
 48. ŠVESTKA M. & BALEK J. (2003): Ponravy chroustů opět ohrožují lesní školky a kultury, *Lesnická práce*, 82(4): 24 – 25.
 49. TANADA Y., KAYA H. K. (1993): *Insect pathology*, Academic Press, San Diego, p. 319 – 387.

[online 5. 3. 2012]. – dostupné z:

http://books.google.cz/books/about/Insect_pathology.html?id=99YwOQnsgGUC&redir_esc=y

50. VAN DER GEEST, L. P. S., ELLIOT S. L., BREEUWER J. A. J. & BEERLING E. A. M. (2000): Diseases of mites, *Experimental and Applied Acarology*, 24: 497–560.
51. VÁŇA J. (1998): Systém a vývoj hub a houbových organismů, Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, Praha, 164 s.
52. VONDRÁŠKOVÁ Š. (2008): Využití dravého hmyzu v biologické ochraně rostlin [online 12. 9. 2011]. – dostupné z:
<http://www.agronavigator.cz/UserFiles/File/Vyuit%20dravho%20hmyzu%20v%20biologick%20ochran%20rostlin.pdf>
53. WEISER J. (1966): Nemoci hmyzu, Academia, Praha, s. 232 – 324.
54. WEISER J. (1977): An atlas of insect diseases, Academia, Praha, 240 s.
55. ZIMMERMANN G. (1993): The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. – *Pestic Sci.*, 37: 375–379.
56. ZIMMERMANN G. (2007): Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. – *Biocontrol Science and Technology*, 17: 553–596.

8 PŘÍLOHY

8.1 Etiketa přípravku BotaniGard 22WP

BotaniGard[®] 22WP

WETTABLE POWDER MYCOINSECTICIDE

For use in controlling Whitefly, Aphids, Thrips, Psyllids, Weevils and Mealybugs in Ornamentals and Vegetables, Indoor/Outdoor Nursery, Greenhouse, Shadehouse, Commercial Landscape, Interiorscape and Turf.

Active Ingredient: *Beauveria bassiana* Strain GHA.....22.0%*

Inert Ingredients:.....78.0%**

Total 100.0%

*Based on the weight estimate of 4.78×10^{13} grams per spore.
**Contains petroleum distillates.

BotaniGard 22WP contains 2×10^{13} viable spores per pound.

KEEP OUT OF THE REACH OF CHILDREN

Store between 40°F and 85°F

CAUTION

See additional precautionary statements and first aid statements in attached booklet.



LAVERLAM INTERNATIONAL CORPORATION
117 S. Parkmont; P.O. Box 4109-Butte, MT 59702; Ph: (406)782-2386; Fax: (406) 782-9912
EPA Registration Number 82074-2 EPA Establishment Number 65626-MT-02

Edition: Lot No.:
Net Contents: One Pound Expiration Date:

Si Usted no entiende la etiqueta, busque a alguien para que se la explique a Usted en detalle. (If you do not understand the label, find someone to explain it to you in detail.)

PRECAUTIONARY STATEMENTS

HAZARDS TO HUMANS AND DOMESTIC ANIMALS

CAUTION: Causes moderate eye irritation. Harmful if swallowed, inhaled, or absorbed through the skin. Avoid contact with skin, eyes, or clothing. Avoid breathing spray mist or dust. Wash thoroughly with soap and water after handling and before eating, drinking, chewing gum, using tobacco or using the toilet. Remove contaminated clothing and wash clothing before reuse.

FIRST AID	
If in eyes	<ul style="list-style-type: none"> Hold eye open and rinse slowly and gently with water for 15 – 20 minutes. Remove contact lenses, if present, after the first 5 minutes, then continue rinsing. Call poison control center or doctor for treatment advice.
If swallowed	<ul style="list-style-type: none"> Immediately call a poison control center or doctor. Do not induce vomiting unless told to do so by the poison control center or doctor. Do not give any liquid to the person. Do not give anything by mouth to an unconscious person.
If inhaled	<ul style="list-style-type: none"> Move person to fresh air. If person is not breathing, call 911 or an ambulance, then give artificial respiration, preferably by mouth-to-mouth, if possible. Call a poison control center or doctor for further treatment advice.
If on skin or clothing	<ul style="list-style-type: none"> Take off contaminated clothing. Rinse skin immediately with plenty of water for 15 – 20 minutes. Call a poison control center or doctor for treatment advice.
HOT LINE NUMBER	
Have the product container or label with you when calling a poison control center or doctor or going for treatment. You may also contact 1-800-222-1222 for emergency medical treatment information.	
NOTE TO PHYSICIAN	
Contains petroleum distillate. Vomiting may cause aspiration pneumonia.	

PERSONAL PROTECTIVE EQUIPMENT (PPE)

Applicators and other handlers must wear:

- Long-sleeved shirt and long pants
- Waterproof gloves
- Shoes plus socks

Mixers/loaders and applicators must wear a dust/mist filtering respirator meeting NIOSH standards of at least R-95 or P-95. Repeated exposure to high concentrations of microbial proteins can cause allergic sensitization.

Follow manufacturer's instructions for cleaning/maintaining PPE. If no such instructions for washables, use detergent and hot water. Keep and wash PPE separately from other laundry.

USER SAFETY RECOMMENDATIONS

Users should:

- Remove clothing/PPE immediately if pesticide gets inside. Then wash thoroughly and put on clean clothing.
- Remove PPE immediately after handling this product. Wash the outside of gloves before removing. As soon as possible, wash thoroughly and change into clean clothing.

ENVIRONMENTAL HAZARDS

This product is potentially pathogenic to honey bees. Avoid applying to areas where honey bees are actively foraging or around bee hives. This product may be toxic to fish. For terrestrial uses: Do not apply directly to water, or to areas where surface water is present or to intertidal areas below the mean high water mark. Do not contaminate water by cleaning of equipment or disposal of equipment wash waters or rinsate. Do not discharge into lakes, streams, ponds, or public waterways.

DIRECTIONS FOR USE

It is a violation of Federal law to use this product in a manner inconsistent with its labeling. Do not apply this product in a way that will contact workers or other persons, either directly or through drift. Only protected handlers may be in the area during application. For any requirements specific to your State or Tribe, consult the State or Tribal agency responsible for pesticide regulation.

For use in controlling Whitefly, Aphids, Thrips, Psyllids, Weevils and Mealybugs in Ornamentals and Vegetables, Indoor / Outdoor Nursery, Greenhouse, Shadehouse, Commercial Landscape, Interiorscape and Turf. Suitable for use with ultra low-volume application equipment.

AGRICULTURAL USE REQUIREMENTS

Use this product only in accordance with its labeling and with the Worker Protection Standard, 40 CFR Part 170. This Standard contains requirements for the protection of agricultural workers on farms, forests, nurseries, and greenhouses, and handlers of agricultural pesticides. It contains requirements for training, decontamination, notification, and emergency assistance. It also contains specific instructions and exceptions pertaining to the statements on this label about personal protective equipment (PPE) and restricted-entry interval. The requirements in this box apply only to uses of this product that are covered by the Worker Protection Standard.

Do not enter or allow worker entry into treated areas during the restricted entry interval (REI) of 4 hours unless wearing the appropriate personal protective equipment.

PPE required for early entry to treated areas (that is permitted under the Worker Protection Standard and that involves contact with anything that has been treated, such as plants, soil, or water) is:

- Coveralls
- Waterproof gloves
- Shoes plus socks
- Dust/mist filtering respirator meeting NIOSH standards of at least R-95 or P-95.

NON-AGRICULTURAL USE REQUIREMENTS

The requirements in this box apply to uses of this product that are NOT within the scope of the Worker Protection Standard for agricultural pesticides (40 CFR Part 170). The WPS applies when this product is used to produce agricultural plants on farms, forests, nurseries, or greenhouses.

Do not enter or allow worker entry into treated areas during the restricted entry interval (REI) of 4 hours unless wearing the appropriate personal protective equipment.

Keep unprotected persons out of treated areas until sprays have dried.

GENERAL INFORMATION

BotaniGard 22WP contains live spores of the naturally occurring fungus, *Beauveria bassiana* Strain GHA. Spores are alive and can be harmed by storage at high temperatures or contact with water for more than 24 hours. See STORAGE AND DISPOSAL instructions on the container label.

MODE OF ACTION AND APPLICATION TIMING

Begin treatment of crops at the first appearance of the insect pest. Typically, it takes 7-10 days after the first spray to see control. Application rates, frequency, spray coverage and insect numbers impact the speed at which acceptable control is achieved. BotaniGard 22WP is most effective when used early, before high insect populations develop. Reapply as necessary under a pest management program that includes close scouting. Intense pest outbreaks may require combination of BotaniGard 22WP with a compatible insecticide.

Contact Laverlam International Corporation or your distributor for specific information on compatible insecticides.

PRE-HARVEST INTERVAL

Pre-harvest interval for BotaniGard 22WP is zero (0) days. BotaniGard 22WP can be applied up to and including the day of harvest.

INSECTS FOR WHICH BOTANIGARD 22WP MAY BE USED

WHITEFLY Banded-winged Whitefly, Citrus Blackfly, Citrus Whitefly, Giant Whitefly, Greenhouse Whitefly, Silverleaf Whitefly, Sweet Potato Whitefly (aka Tobacco Whitefly)

APHIDS Bean Aphid, Cabbage Aphid, Cowpea Aphid, Green Peach Aphid, Greenbug, Hop Aphid, Melon/Cotton Aphid, Pea Aphid, Potato Aphid, Rose Aphid, Russian Wheat Aphid, Spotted Alfalfa Aphid

THRIPS Greenhouse Thrips, Cuban Laurel Thrips, Pear Thrips, Potato/Onion Thrips, *Thrips palmi*, Western Flower Thrips

PSYLLIDS Pear Psylla, Tomato/Potato Psylla

MEALYBUGS Citrus Mealybug, Buffalo Grass Mealybug, Grape Mealybug, Longtailed Mealybug

LEAFHOPPERS AND PLANT HOPPERS Grape Leafhoppers, Leafhopper, Plant hoppers, Potato Leafhoppers, Variegated Leafhopper, Virginia Creeper Leafhopper

SCARAB BEETLES *Atenius*, Green June Beetle, White Grubs

PLANT BUGS (HETEROPTERA) Chinch Bugs, Lace Bugs

WEEVILS Billbugs, Black Vine Weevil, Fuller Rose Weevil, Rose Curculio, Root Weevil, Strawberry Root Weevil

CROPS ON WHICH BOTANIGARD 22WP MAY BE USED

BotaniGard 22WP may be used on most crops since *Beauveria bassiana* Strain GHA, the active ingredient, is exempt from residue tolerances when applied to growing crops.

VEGETABLES acerola, arracacha, arrowroot, artichoke, arugula, asparagus, atermoya, balsam pear, bamboo shoots, beans (all varieties), beet, blackeyed peas, bokchoy, broccoli, broccoli raab, Brussels sprouts, burdock, cabbage, cantaloupe, carambols, carrots, casaba melons, cassava, catjang, cauliflower, celeriac, celery, celtuce, chayote, chervil, chickpeas, chicory, Chinese broccoli, Chinese cabbage, Chinese gai lon, Chinese longbeans, Chinese mustard, Chinese spinach, Chinese waxgourd, chrysanthemum (edible), chufa, cilantro, citron melon, collards, corn salad, crenshaw melon, cress, cucumber, dandelion, dasheen, daikon, dock, edamame, eggplant, endive, escarole, fennel, garlic, gherkin, ginger, golden pershaw melon, gourds (edible), groundcherry, guar, honey balls, honeydew melon, horseradish, kale, kohlrabi, leek, lentils, leren, lettuce, mango melon, mmskmelon hybrids / varieties, mustard greens, New Zealand spinach, okra, onion, orach, parsley, parsnip, peas (all varieties), pepinos, pepper (all varieties), Persian melon, pimento (all varieties), pineapple melon, potato, pumpkin, purslane, radish, radicchio, rambutan, rape greens, rapini, rhubarb, rutabaga, salsify, shallot, snake melon, soybeans, spinach, squash (summer/winter), sugar beet, sweet potato, Swiss chard, taniar, tomatillo, tomatoes, tumeric, turnip, watermelon, yam, zucchini

FRUITS AND BERRIES apple, apricot, avocado, bananas, blackberry, blueberry, boysenberry, calamondin, carob, cherimoya, cherry (sweet/sour), chironja, citrus citron, citrus hybrids, coffee, crabapple, cranberry, currant, dates, dewberry, durian, elderberry,

fejoa, figs, gooseberry, grape (table, raisin, wine), grapefruit, guava, huckleberry, kiwi, kumquat, lemon, limes, loganberry, loquat, lychee, mandarin, mango, marionberry, nectarine, olallie berry, olives (all varieties), orange, oriental pear, papaya, passion fruit, peach, pear, persimmon, pineapple, plum, pomegranate, prune, pummelo, quihuna, quince, raspberry, sour cherry, strawberry, sweet cherry, tangelo, tangerine, youngberry

HERBS AND SPICES allspice, anise, balm, basil, borage, burnet, chamomile, caper buds, caraway, cardamom, catnip, celery seed, chervil, chicory, chives, cilantro/coriander, cinnamon, clary, coriander, costmary, cumin, curry leaf, dill, fennel, fenugreek, ginseng, horehound, hyssop, mace, marjoram, mint, mustard, nasturtium, nutmeg, oregano, paprika, pennyroyal, pepper (black/white), peppermint, rosemary, rue, sage, saffron, savory, sesame, spearmint, sweet bay leaf, tansy, tarragon, thyme, wintergreen, woodruff, wormwood

ORNAMENTALS, INCLUDING FLOWERS, FLOWERING AND FOLIAGE PLANTS, BEDDING PLANTS, GROUND-COVERS, SHRUBS, VINES,

EVERGREENS AND TREES African lily, African violet, ageratum, alyssum, anthurium, arborvitae, ash, asparagus sprengeri, aster, atlas cedar, azalea, bald cypress, balsam fir, bamboo, barberry, beech, begonia, birch, Boston fern, bougainvillea, boxwood, bridal veil, cacti, caladium, calceolaria, calendula, calla lily, camella, camellias, carissa, carnation, ceanothus, celosia, chenille plant, cherro, Christmas cactus, chrysanthemum, cineraria, clevera, coleus, cordylone, corylus avellana, cotoneaster, cottonwood, crabapple, crepe myrtle, crossandra, croton, cyclamen, cypress, daffodil, dahlia, daisy, delphinium, deodar cedar, dichondra, dieffenbachia, dogwood, Douglas fir, dracaena, dumb cane, Dusty Miller, elm, eucalyptus, ferns, ficus, fig, firethorn, fittonia, floss flower, foliage plants, forsythia, freesia, fuchsia, gardenia, geranium, gerbera, gerber daisy, gladiolus, gloxinia, grape, gynura, gypsophila, hackberry, hawthorn, heder, hemlock, hibiscus, hickory, holly, honey suckle, hop bush, horsechestnut, hyacinth, hydrangea, iceplant, imitari, impatiens, India hawthorn, iris, ivy, Japanese aucuba, Japanese barberry, Japanese boxwood, Japanese spindle tree, Japanese yew, juniper, kalanchoe, lantana, larch, larkspur, laurel, leasianthus, leatherleaf fern, linden, lilac, lily, lithodora, lobelia, loquat, magnolia, mandevilla, maple, marigold, Mediterranean fan palm, mesembryanthemum, mimosa, monstera, mother-in-law plant, mountain laurel, myrtle, nandina, narcissus, oak, oleander, olive, orchid, ornamental kale, pachysandra, palms, pansy, parasol pine, pelargonium, peony, petunia, philodendron, phlox, photina, piggyback plant, pine, pink, pittosporum, planetree, podocarpus, poinsettia, poplar, pothos ivy, prayer plant, primrose, privet, pteris fern, pyracantha, rhododendron, rose, rubber plant, salvia, scabiosa, schefflera, schlumbegera, sedum, shrub verbena, shrubby cinquefoil, smoke tree, snapdragon, spathiphyllum, spruce, stock, sweet gum, sweet pea, sweet William, sycamore, syngonium, taxus, Texas sage, tulip, tulip tree, verbena, viburnum, vinca, Virginia creeper, walnut, wandering Jew, willow, yew, yucca, zinnia

TURF, INCLUDING LAWN AND SOD TURF GRASSES Bermuda grass, blue grass, fescue, St. Augustine grass, zoysia grass

MIXING AND APPLICATION

Apply BotaniGard 22WP using hand-held, ground spray equipment and/or low-volume application equipment. Fill spray tank with half the desired amount of water, start agitation. Use a measuring cup, spoon or calibrated container to add BotaniGard 22WP to the spray tank and mix thoroughly. Add remainder of desired amount of water. Triple rinse empty container and add rinse water to spray tank. For best results, continue agitation during application. Do not mix more BotaniGard 22WP than can be sprayed in one day. One (1) cup contains approximately 4.5 ounces of BotaniGard 22WP. After mixing in water, spray within one day. Fungal spores in BotaniGard 22WP will die and lose effectiveness if left overnight or longer in water.

DOSAGE RATE FOR GREENHOUSE, NURSERY, LANDSCAPE AND INTERIOURSCAPE

Typical Application Rates/100 Gallons of Spray Volume

Whitefly and Aphids.....	½ to 1 pound of BotaniGard 22WP/100 gallons spray volume
Thrips	1 to 2 pounds of BotaniGard 22WP/100 gallons spray volume
Other labeled insects.....	½ to 2 pounds of BotaniGard 22WP/100 gallons spray volume

Rate depends on insect population.

Apply BotaniGard 22WP up to a maximum of 3 pounds per 100 gallons spray volume for high insect populations or dense foliage.

Use quantity of spray sufficient to thoroughly cover foliage infested with insects. Crop size, spray equipment and local practice will determine the volume of water needed. One hundred gallons of spray volume will typically cover 5,000-20,000 square feet. **SPRAY TO WET, BUT AVOID RUNOFF.**

Low Volume Application

Apply at a rate equivalent to area coverage of high volume spray. This would normally be ½ pound to 2 pounds of BotaniGard 22WP for 5,000 to 20,000 square feet. Follow

spray equipment manufacturer's instructions for final spray volume to obtain adequate coverage. **DO NOT APPLY THROUGH A THERMAL PULSE FOGGER.**

Cuttings Dip

Applications of BotaniGard 22WP may be used as pre-plant dips for cuttings as noted below. To prepare dip solution, thoroughly mix ¼ - ½ oz. BotaniGard 22WP per gallon of water (2 ½ - 5 oz. BotaniGard 22WP per 10 gallons water). Prepare only as much dip solution as can be used in one day. Do not use dip solution for more than one day. Spores in water for more than 24 hours will die. Dip a small number of plants in dip solution and observe for plant damage before using dip treatment. Do not use dips if there is any visible damage to test plants.

Unrooted Cuttings

Dip the unrooted cuttings in the BotaniGard 22WP solution just long enough to wet all surfaces, then removing to a flat area. For water-sensitive varieties, cover to protect until dry. Then proceed with normal planting and misting.

Rooted Cuttings

Holding by the roots, briefly dip in the BotaniGard 22WP solution just long enough to wet all surfaces, including leaves and stems. Once removed from the dip solution, cuttings can be potted, but allow plants to dry before watering.

DOSAGE RATE FOR TURF AND SOIL APPLICATIONS IN CONTAINER ORNAMENTALS

For most soil applications, apply 1-4 oz. (up to ¼ lb.) BotaniGard 22WP per 1,000 square feet. For difficult to control soil pests, especially citrus root weevil (*Diaprepes abbreviatus*), BotaniGard 22WP can be applied at 4 oz. per 1,000 square feet.

Do not apply to water-saturated soil. Apply BotaniGard 22WP in enough water to ensure good coverage of treated area, at least one gallon per 1,000 square feet. Irrigate treated area after application to disperse BotaniGard 22WP into soil.

APPLICATION FREQUENCY

Apply BotaniGard 22WP at 5-10 day intervals. High insect populations, especially whitefly and aphids, may require application at 2-5 day intervals. Repeat applications for as long as pest pressure persists. There is no limit on the number of applications or total amount of BotaniGard 22WP which can be applied in one season.

PLANT SAFETY

BotaniGard 22WP has shown plant safety but has not been tested on all plant varieties or in all available tank mixes. BotaniGard 22WP is non-phytotoxic to melons, tomatoes, cole crops and a wide variety of ornamentals at specified label dosage rates.

For best results, foliage should be dry at time of spraying. Test BotaniGard 22WP on a small number of plants to check for potential damage before applying to larger number of plants

TANK MIX COMPATIBILITY

BotaniGard 22WP is physically and biologically compatible with a wide range of insecticides and spray adjuvants. It is compatible with some fungicides in tank mixtures. Fungicides may kill the spores. No label dosage should be exceeded.

Adjuvants BotaniGard 22WP is designed for application without additional wetting agents and spreaders. If adjuvants are needed for some other reason, contact your dealer or Laverlam International Corporation for specific recommendations. Some wetting agents and spreaders kill the spores, the active ingredient in BotaniGard 22WP, or contribute to poor mixing and spray problems. In all cases, pesticides must be used in accordance with their labels.

Compatibility With Chemical Insecticides BotaniGard 22WP is compatible with most chemical insecticides. However, some insecticide formulations can kill the fungal spores, the active ingredient in BotaniGard 22WP. If you are going to use BotaniGard 22WP in combination with other pesticides, contact your dealer or Laverlam International Corporation for specific information. In all cases, pesticides must be used in accordance with their labels.

Compatibility With Fungicides BotaniGard 22WP is compatible in tank mix with some fungicides. Contact Laverlam International or your dealer for specific recommendations on using BotaniGard 22WP with fungicides.

CHEMIGATION

Do not apply this product through any type of irrigation system.

STORAGE AND DISPOSAL

8.2 První list etikety přípravku BotaniGard ES



For use in controlling Whitefly, Aphids, Thrips, Psyllids, Mealybugs, Leafhoppers, Weevils, Plant Bugs, Borers and Leaf-feeding Insects in Field, Agronomic, Vegetable and Orchard Crops; also in Forestry; Grasshoppers, Mormon Crickets, Locusts and Beetles in Rangeland, Improved Pastures and Agronomic Crops; Whitefly, Aphids, Thrips, Psyllids and Mealybugs in Ornamentals and Vegetables, Indoor/Outdoor Nursery, Greenhouse, Shadehouse, Commercial Landscape, Interiorscape and Turf.

Active Ingredient: *Beauveria bassiana* Strain GHA.....11.3%**
 Inert Ingredients:88.7%*
 Total:100.0%

*Contains petroleum distillates

**Based on the weight estimate of 4.78×10^{-12} grams per spore.
 BotaniGard ES contains 2×10^{13} viable spores per quart.

KEEP OUT OF THE REACH OF CHILDREN

Store between
40°F and 85°F

CAUTION

SHAKE WELL

See additional precautionary statements and first aid statements in attached booklet.



LAVERLAM INTERNATIONAL CORPORATION

117 S Parkmont; P.O. Box 4109-Butte, MT 59702; Ph: (406)782-2386; Fax: (406)782-9912
 EPA Registration Number 82074-1 EPA Establishment Number 65626-MT-02

Si Usted no entiende la etiqueta, busque a alguien para que se la explique a Usted en detalle. (If you do not understand the label, find someone to explain it to you in detail.)

PRECAUTIONARY STATEMENTS

HAZARDS TO HUMANS AND DOMESTIC ANIMALS

CAUTION: Causes moderate eye irritation. Harmful if absorbed through the skin, inhaled or swallowed. Avoid contact with skin, eyes, or clothing. Avoid breathing spray mist. Wash thoroughly with soap and water after handling and before eating, drinking, chewing gum, using tobacco or using the toilet. Remove contaminated clothing and wash clothing before reuse.

FIRST AID	
If in eyes	<ul style="list-style-type: none"> Hold eye open and rinse slowly and gently with water for 15 – 20 minutes. Remove contact lenses, if present, after the first 5 minutes, then continue rinsing. Call poison control center or doctor for treatment advice.
If on skin or clothing	<ul style="list-style-type: none"> Take off contaminated clothing. Rinse skin immediately with plenty of water for 15 – 20 minutes. Call a poison control center or doctor for treatment advice.
If inhaled	<ul style="list-style-type: none"> Move person to fresh air. If person is not breathing, call 911 or an ambulance, then give artificial respiration, preferably by mouth-to-mouth, if possible. Call a poison control center or doctor for further treatment advice.
If swallowed	<ul style="list-style-type: none"> Immediately call a poison control center or doctor. Do not induce vomiting unless told to do so by the poison control center or doctor. Do not give any liquid to the person. Do not give anything by mouth to an unconscious person.
HOT LINE NUMBER	
Have the product container or label with you when calling a poison control center or doctor or going for treatment. You may also contact 1-800-222-1222 for emergency medical treatment information.	
NOTE TO PHYSICIAN	
Contains petroleum distillate. Vomiting may cause aspiration pneumonia.	

PERSONAL PROTECTIVE EQUIPMENT (PPE)

Applicators and other handlers must wear:

- Long-sleeved shirt and long pants
- Protective eyewear (goggles, face shield, or shielded safety glasses)
- Chemical-resistant gloves such as nitrile rubber or butyl rubber
- Shoes plus socks

Mixers/loaders and applicators must wear a dust/mist filtering respirator meeting NIOSH standards of at least R-95 or P-95. Repeated exposure to high concentrations of microbial proteins can cause allergic sensitization.

Follow manufacturer's instructions for cleaning/maintaining PPE. If no such instructions for washables, use detergent and hot water. Keep and wash PPE separately from other laundry.

USER SAFETY RECOMMENDATIONS

Users should:

- Remove clothing/PPE immediately if pesticide gets inside. Then wash thoroughly and put on clean clothing.
- Remove PPE immediately after handling this product. Wash the outside of gloves before removing. As soon as possible, wash thoroughly and change into clean clothing.

ENVIRONMENTAL HAZARDS

This product is potentially pathogenic to honey bees. Avoid applying to areas where honey bees are actively foraging or around bee hives. This product may be toxic to fish. Drift and runoff may be hazardous to aquatic organisms in water adjacent to treated areas.

For terrestrial uses: Do not apply directly to water, or to areas where surface water is present or to intertidal areas below the mean high water mark. Do not contaminate water by cleaning of equipment or disposal of equipment wash waters or rinsate. Do not discharge into lakes, streams, ponds, or public waterways.

DIRECTIONS FOR USE

It is a violation of Federal law to use this product in a manner inconsistent with its labeling. Do not apply this product in a way that will contact workers or other persons, either directly or through drift. Only protected handlers may be in the area during application. For any requirements specific to your State or Tribe, consult the State or Tribal agency responsible for pesticide regulation.

8.3 První list etikety přípravku Mycotrol O



For use in controlling Whitefly, Aphids, Thrips, Psyllids, and Mealybugs, Leafhoppers, Weevils, Plant Bugs, Borers and Leaf-feeding Insects in Field, Agronomic, Vegetable and Orchard Crops; Grasshoppers, Mormon Crickets, Locusts and Beetles in Rangeland, Improved Pastures and Agronomic Crops; Whitefly, Aphids, Thrips, Psyllids and Mealybugs in Vegetables and Ornamentals grown in Indoor/Outdoor Nursery, Greenhouse, and Shadehouse.

Active Ingredient: *Beauveria bassiana* Strain GHA.....10.9%*

Inert Ingredients:.....89.1%*

*Based on the weight estimate of 4.78×10^{12} grams per spore.
Mycotrol O contains 2×10^{10} viable spores per gram of active ingredient.

KEEP OUT OF THE REACH OF CHILDREN

Store between
40°F and 85°F

CAUTION

SHAKE WELL

See additional precautionary statements and first aid statements in attached booklet.



LAVERLAM INTERNATIONAL CORPORATION

117 S. Parkmont, P.O. Box 4109-Butte, MT 59702; Ph: (406)782-2386; Fax: (406) 782-9912

EPA Registration Number 82074-3 EPA Establishment Number 65626-MT-02

Edition:

Net Contents: 1 Quart 1 Gallon 2 Gallon

Lot No.:

Expiration Date:



Si Usted no entiende la etiqueta, busque a alguien para que se la explique a Usted en detalle. (If you do not understand the label, find someone to explain it to you in detail.)

PRECAUTIONARY STATEMENTS

HAZARDS TO HUMANS AND DOMESTIC ANIMALS

CAUTION: Causes moderate eye irritation. Harmful if swallowed, inhaled, or absorbed through the skin. Avoid contact with eyes, skin or clothing. Avoid breathing spray mist. Wash thoroughly with soap and water after handling and before eating, drinking, chewing gum, using tobacco or using the toilet. Remove contaminated clothing and wash clothing before reuse.

FIRST AID

If in eyes	<ul style="list-style-type: none"> Hold eye open and rinse slowly and gently with water for 15 – 20 minutes. Remove contact lenses, if present, after the first 5 minutes, then continue rinsing. Call poison control center or doctor for treatment advice.
If swallowed	<ul style="list-style-type: none"> Call poison control center or doctor immediately for treatment advice. Have person sip a glass of water if able to swallow. Do not induce vomiting unless told to do so by the poison control center or doctor. Do not give anything by mouth to an unconscious person.
If inhaled	<ul style="list-style-type: none"> Move person to fresh air. If person is not breathing, call 911 or an ambulance, then give artificial respiration, preferably by mouth-to-mouth, if possible. Call a poison control center or doctor for further treatment advice.
If on skin or clothing	<ul style="list-style-type: none"> Take off contaminated clothing. Rinse skin immediately with plenty of water for 15 – 20 minutes. Call a poison control center or doctor for treatment advice.

HOT LINE NUMBER

Have the product container or label with you when calling a poison control center or doctor or going for treatment. You may also contact 1-800-222-1222 for emergency medical treatment information.

PERSONAL PROTECTIVE EQUIPMENT (PPE)

Applicators and other handlers must wear:

- Long-sleeved shirt and long pants
- Waterproof gloves
- Shoes plus socks

Mixers/loaders and applicators must wear a dust/mist filtering respirator meeting NIOSH standards of at least N-95, R-95 or P-95. Repeated exposure to high concentrations of microbial proteins can cause allergic sensitization.

Follow manufacturer's instructions for cleaning/maintaining PPE. If no such instructions for washables, use detergent and hot water. Keep and wash PPE separately from other laundry.

USER SAFETY RECOMMENDATIONS

Users should:

- Remove clothing/PPE immediately if pesticide gets inside. Then wash thoroughly and put on clean clothing.
- Remove PPE immediately after handling this product. Wash the outside of gloves before removing. As soon as possible, wash thoroughly and change into clean clothing.

ENVIRONMENTAL HAZARDS

This product is potentially pathogenic to honey bees. Avoid applying to areas where honey bees are actively foraging or around bee hives. For terrestrial uses: Do not apply directly to water, or to areas where surface water is present or to intertidal areas below the mean high water mark. Do not contaminate water by cleaning of equipment or disposal of equipment wash waters or rinsate. Do not discharge into lakes, streams, ponds, or public waterways.

DIRECTIONS FOR USE

It is a violation of Federal law to use this product in a manner inconsistent with its labeling. Do not apply this product in a way that will contact workers or other persons, either directly or through drift. Only protected handlers may be in the area during application. For any requirements specific to your State or Tribe, consult the State or Tribal agency responsible for pesticide regulation.

For use in controlling Whitefly, Aphids, Thrips, Psyllids, Mealybugs, Leafhoppers, Weevils, Plant Bugs, Borers and Leaf-feeding Insects in Field, Agronomic, Vegetable and Orchard Crops; Grasshoppers, Mormon Crickets, Locusts and Beetles in Rangeland, Improved Pastures and Agronomic Crops; Whitefly, Aphids, Thrips, Psyllids and Mealybugs in Vegetables and Ornamentals grown in Indoor/Outdoor Nursery, Greenhouse and Shadehouse. May be applied aerially. Suitable for use with ultra low-volume application equipment.

AGRICULTURAL USE REQUIREMENTS

Use this product only in accordance with its labeling and with the Worker Protection Standard, 40 CFR Part 170. This Standard contains requirements for the protection of agricultural workers on farms, forests, nurseries, and greenhouses, and handlers of agricultural pesticides. It contains requirements for training, decontamination, notification, and emergency assistance. It also contains specific instructions and exceptions pertaining to the statements on this label about personal protective equipment (PPE) and restricted-entry interval. The requirements in this box only apply to uses of this product that are covered by the Worker Protection Standard.

Do not enter or allow worker entry into treated areas during the restricted entry interval (REI) of 4 hours unless wearing the appropriate personal protective equipment.

PPE required for early entry to treated areas (that is permitted under the Worker Protection Standard and that involves contact with anything that has been treated, such as plants, soil, or water), is:

- Coveralls
- Waterproof gloves
- Shoes plus socks
- Dust/mist filtering respirator meeting NIOSH standards of at least N-95, R-95 or P-95.

NON-AGRICULTURAL USE REQUIREMENTS

The requirements in this box apply to uses that are NOT within the scope of the Worker Protection Standard for agricultural pesticides (40 CFR Part 170). The WPS applies when this product is used to produce agricultural plants on farms, forests, nurseries, or greenhouses.

Edition 080226

8.4 První list etikety přípravku Naturalis L

NATURALIS® L

Biological insecticide for use on field crops; vegetables; and fruit, nut & vine crops, turfgrasses and ornamentals. Including golf courses, home lawns, athletic fields, sod farms, nurseries, greenhouses, landscape plantings and all other areas where turfgrasses and ornamentals are grown.

ACTIVE INGREDIENTS:	<i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040	7.16%
	(contains no less than 2.3×10^7 viable spores per milliliter of product)	
INERT INGREDIENTS:	92.84%
TOTAL:	100.00%

KEEP OUT OF REACH OF CHILDREN

CAUTION

SHAKE WELL BEFORE USING

EPA REG. NO. 53871-9 EPA EST. 53871-AZ-01
PATENT NO. 5,413,784 and 5,516,513

Manufactured By: TROY BIOSCIENCES INC., 113 S. 47th AVENUE, PHOENIX, AZ 85043
Beauveria bassiana Manufactured for Troy Biosciences Inc. by JABB of the Carolinas (EPA Est. 70787-NC-1),
P.O. Box 310, Pine Level, NC 27568

Net Contents: _____

Not For Sale or Use After: _____

PRECAUTIONARY STATEMENTS

HAZARDS TO HUMANS AND DOMESTIC ANIMALS

This is a potential sensitizing agent via inhalation. Spray mist may cause respiratory irritation. Avoid contact with skin or clothing. Wash thoroughly with soap and water after handling. Avoid eye and skin contact. Avoid breathing vapors.

FIRST AID

If swallowed: Immediately call a poison control center or doctor. Do not induce vomiting unless told to do so by a poison control center or doctor. Do not give any liquid to the person. Do not give anything by mouth to an unconscious person.

If inhaled: Potential sensitizing agent. If person is not breathing call 911 or an ambulance, then give artificial respiration preferably mouth-to-mouth if possible.

If on Skin or Clothing: Take off contaminated clothing. Rinse skin immediately with plenty of water for 15-20 minutes. Call a poison control center or doctor for treatment advice.

If in Eyes: Hold eye open and rinse slowly and gently with water for 15-20 minutes. Remove contact lenses, if present, after 5 minutes, then continue rinsing. Call a poison control center or doctor for further treatment.

Have the product container or label with you when calling a poison control center or doctor, or going for treatment.

ENVIRONMENTAL HAZARDS

Do not apply directly to water, to areas where surface water is present or to intertidal areas below the mean high water mark. Do not contaminate water by cleaning of equipment or disposal of equipment wash waters. Do not discharge into lakes, streams, ponds or public waterways. Do not apply when weather conditions favor drift from the target area. *Beauveria bassiana* is an insect specific fungus and exposure to non-target insects should be avoided. Avoid applying to areas where honeybees are actively foraging or around bee hives because this product is pathogenic to honeybees.

PHYSICAL AND CHEMICAL HAZARDS

Do not use near heat or open flame.

PERSONAL PROTECTIVE EQUIPMENT (PPE)

Some materials that are chemical resistant to this product are listed below. If you want more options follow the instructions for category C on the EPA chemical resistance chart. Applicator, mixer loaders, applicators, early entry workers as well as other handlers must wear:

- Long sleeved shirt and long pants.
- Chemical resistant gloves.
- Mist filtering respirators with NIOSH standards of at least N-95, R-95, P-95.
- Shoes plus socks must be worn.