

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2013

Bc. Monika Strejčková

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Rostlinné biotechnologie

Katedra: Katedra rostlinné výroby a agroekologie

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

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Indukce supresivity půdy pomocí introdukce mykoparazitických hub
proti významným původcům onemocnění rostlin**

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Andrea Bohatá, Ph.D.

Autor: Bc. Monika Strejčková

České Budějovice, duben 2013

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta zemědělská

Akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Monika STREJČKOVÁ**
Osobní číslo: **Z11683**
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Rostlinné biotechnologie**
Název tématu: **Indukce supresivity půdy pomocí introdukce mykoparazitických hub proti významným původcům onemocnění rostlin**
Zadávající 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 :

Cílem diplomové práce je navození supresivity půdy pomocí mykoparazitických hub *Clonostachys rosea* f. *catenulata* a *Trichoderma virens* s cílem regulovat přítomnost významných původců onemocnění rostlin, zejména fytopatogenní houby *Sclerotinia sclerotiorum*.

- 1) Hodnocení základních růstových parametrů kmenů mykoparazitických hub rodu *Trichoderma virens* a *Clonostachys rosea* f. *catenulata*.
- 2) Hodnocení účinnosti kmenů mykoparazitických hub proti významným původcům onemocnění rostlin.
- 3) Navození supresivity půdního prostředí pomocí introdukce mykoparazitických hub *Clonostachys rosea* f. *catenulata* a *T. virens* s cílem potlačit vývoj fytopatogenní houby *S. sclerotiorum*.
- 4) Hodnocení perzistence mykoparazitických hub v půdním prostředí pomocí standardního metodického postupu CFU (Colony forming units).
- 5) Porovnávání parazitace sklerocií fytopatogenní houby *S. sclerotiorum* pomocí mykoparazitických hub.

Rozsah grafických prací: 10 - 15 stran

Rozsah pracovní zprávy: 40-50 stran

Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

Esser K., Lemke P.A. 2002: The Mycota XI.-Agricultural Applications. Springer, Verlag Berlin Heidelberg, pp 388.

Butt T.M., Jackson C., Magan N. 2001: Fungi as biocontrol agents - progress, problems and potential. CAB International, Wallingford, UK, 23-69.

Ciancio A., Mukerji K.G. 2008: Integrated Management of Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria, Vol. 3. Springer Science and Business Media B.V., pp. 419.

Agrios, G. 2005: Plant Pathology. Elsevier Academic Press, pp. 935.


Články získané z bibliografické a citační databáze Web of Science a bibliografické databáze CAB, BA, ZR. Retrospektivní rešerše z bibliografických databází: CAB, WoS (klíčová slova - uvedené druhy hub v kombinaci s "bioassay" , "efficacy", apod.

Vedoucí diplomové práce: Ing. Andrea Bohatá, Ph.D.

Katedra rostlinné výroby a agroekologie

Datum zadání diplomové práce: 16. února 2012

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2013

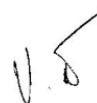


Ing. Karel Suchý, Ph.D.

proděkan pověřený vedením ZF

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

L.S.



prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 16. února 2012

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně, na základě vlastních zjištění a materiálů, které uvádím v seznamu použité literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 11/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

.....
datum

.....
Bc. Monika Strejčková

Poděkování

Děkuji vedoucí Ing. Andreji Bohaté, Ph.D. za odborné vedení a cenné připomínky během konzultací při zpracování diplomové práce. Také děkuji pracovnícům katedry rostlinné výroby a agroekologie, sekce rostlinolékařství, Marii Nýdlové a Olze Divišové za technickou a praktickou výpomoc při zakládání pokusů v diplomové práci.

ABSTRAKT

Diplomová práce je založena na využití mykoparazitických hub *Trichoderma virens*, *Clonostachys rosea* f. *catenulata* v biologické ochraně rostlin proti významným fytopatogenním houbám *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* a *Fusarium solani* v duálních testech. V pokusech byly testovány kmeny *T. virens* a *C. rosea* f. *catenulata* izolované z půd v ČR. Jako referenční sloužil kmen GL 21 houby *T. virens* reizolovaný z komerčně dostupného biopreparátu SoilGard a kmen *C. rosea* f. *catenulata* reizolovaný z biopreparátu Prestop Mix. Hodnotily se biologické a produkční vlastnosti těchto kmenů. Všechny kmeny jsou schopny kolonizovat substrát a potlačovat růst a vývoj patogenů.

Pro moření osiva odrůdy Scirocco byl použit kmen GL 21 houby *T. virens* v kombinaci s přípravky guaraná guma a karboxymethylcelulóza, které sloužily jako nosič pro uchycení spor. Po 3 dnech se hodnotil účinek houby *T. virens* na energii klíčení, tvorbu a počet kořenů u obilek. Po 7 dnech se hodnotil zdravotní stav. Houba *T. virens* má pozitivní vliv na klíčení obilek a zdravotní stav u obilek. Během vegetace se hodnotil vliv moření houbou *T. virens* na růst a vývoj pšenice jarní. Hodnotily se parametry jako je počet rostlin na m², počet odnoží, zdravotní stav, výška rostlin, počet zrn v klasu a HTZ. Během vegetace *T. virens* pozitivně ovlivňuje výšku rostlin.

klíčová slova: biologická ochrana, obilka, pšenice jarní, mykoparazitické houby, fytopatogenní houby, moření osiva, *Trichoderma virens*, *Clonostachys rosea* f. *catenulata*

ANNOTATION

This M. Sc. thesis is based on using of mycoparasitic fungi *Trichoderma virens*, *Clonostachys rosea* f. *catenulata* in biological control against phytopathogenic fungi *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* and *Fusarium solani*. The efficacy of mycoparasitic fungi against pathogens was evaluated in dual cultural tests. The strains of *T. virens* and *C. rosea* f. *catenulata* isolated from soils in the Czech Republic were tested in the experiment. Reference strain was GL 21 fungus *T. virens* reisolated from commercially available bio-preparation SoilGard and strain *C. rosea* f. *catenulata* reisolated from Prestop Mix. All the strains were tested for biological and production properties. All strains are able to colonize the substrate and to suppress the growth and development of pathogens.

Strain GL 21 of *T. virens* was used for seed coating of variety Scirocco in combination with products Guar gum and Carboxymethyl cellulose, which served as a carrier for stick on conidia. After 3 days, the effect of fungus *T. virens* was evaluated on energy of germination, development of roots of grain. The grain health was determined after 7 days. The fungus *T. virens* has a positive effect on the grains germination and grain health. During the vegetation the influence of seed coating by *T. virens* was observed on growth and development of spring wheat. The parameters such as number of plants per m², tiller numbers, plants health, stand height, number of grains in the spike and thousand grain weight (TGW) were evaluated. During the vegetation the fungus *T. virens* has positive effect on the plant height.

Key words: biological control, spring wheat, mycoparasitic fungi, phytopathogenic fungi, seed coating, *Trichoderma virens*, *Clonostachys rosea* f. *catenulata*

Obsah

1. Úvod	10
2. Literární přehled	11
2.1 Integrovaná ochrana rostlin (IOR).....	11
2.2 Biologická ochrana rostlin.....	11
2.2.1 Biologické vztahy hub.....	13
2.2.2 Využití supresivních půd.....	14
2.3 Mykoparazitické houby.....	15
2.4. Fytopatogenní houby.....	17
2.5 Význam pěstování pšenice jarní.....	21
2.5.1 Botanická charakteristika.....	21
2.5.2 Růst a vývoj.....	22
2.5.3 Tvorba hospodářského výnosu.....	22
2.5.4 Významné výnosové prvky.....	23
2.5.5 Faktory ovlivňující výnos.....	24
2.6 Významné listové a klasové choroby.....	25
2.7 Škůdce pšenice jarní.....	26
3. Materiál a metodika	27
3.1 Druhy mykoparazitických a fytopatogenních hub.....	27
3.2 Přípravky a aditiva.....	28
3.2.1 SoilGard 12 G.....	28
3.2.2 PrestopMix.....	28
3.2.3 Agrisorb pro gel.....	28
3.2.4 Guaranová guma (E 412).....	28
3.2.5 Karboxymethylcelulóza (E 466).....	28
3.3 Rostlinný materiál.....	29
3.3.1 Okurka setá -salátová STELA F1.....	29

3.3.2 Jarní pšenice.....	29
3.4 Kultivace hub.....	29
3.5 Příprava konidiových suspenzí.....	30
3.6 Standardní test klíčivosti.....	30
3.7 Interakční „in vitro“ testy na agarových plotnách.....	31
3.7.1 Zóna dotyku a zóna mykoparazitismu.....	31
3.7.2 Ověřování účinnosti mykoparazitické houby <i>T. virens</i>	31
3.7.3 Výtěžnost spor mykoparazitické houby <i>T. virens</i>	32
3.8 Biologické ošetření kořínků rostlin okurky seté.....	33
3.9 Moření osiva pšenice jarní.....	34
3.9.1 Ověření klíčivosti biologicky ošetřeného osiva před setím.....	35
3.9.2 Polní pokus.....	36
3.9.3 Sledování rostlin během vegetace.....	37
3.9.4 Posklizňové rozbory vzorků osiva pšenice.....	38
4. Experimentální část a výsledky.....	40
4.1. Hodnocení kmenů <i>T. virens</i> , <i>C. rosea</i> f. <i>catenulat</i>	40
4.2 Biologické ošetření kořínků rostlin okurky seté.....	49
4.3 Moření osiva.....	52
5. Diskuze.....	69
6. Závěr.....	73
7. Seznam použité literatury.....	75
8. Přílohy.....	83

1. Úvod

Objem a kvalita zemědělské produkce závisí mimo jiné i na dobrém zdravotním stavu pěstovaných plodin. Dobrý zdravotní stav rostlin zajišťuje agrotechnika, provozní hygiena a chemické pesticidy. Chemické látky mohou měnit a snižovat nutriční, technologickou jakost produktu, vzhledem k reziduím, které zanechávají v půdě. Nežádoucí vlivy řady pesticidů byly jasně prokázány, jedná se především o toxicitu, vliv na životní prostředí, vodu a přizpůsobivost škodlivých činitelů. Velký problém spočívá v neselektivním působení většiny látek. Chemické látky narušují přirozenou ekologickou rovnováhu v přírodě. V poslední době dochází ke snižování množství aplikovaných chemických přípravků a tím omezení poškozování životního prostředí.

Metody, kterými můžeme dosáhnout snižování množství aplikovaných chemických přípravků, jsou buď přímé, nebo nepřímé. Nepřímé metody spočívají ve volbě správné agrotechniky. Přímé jsou založené na biologickém boji, využití živých antagonistů. V poslední době se dostávají do popředí metody integrované ochrany rostlin, především pak využití vhodných agrotechnických opatření a biologické způsoby regulace škodlivých organismů. Biologické metody ochrany rostlin se v praxi využívají především tam, kde je chemická ochrana zakázána. Biologické metody splňují náročná ekologická hlediska, mají specifickou účinnost a jsou netoxická pro necílové organismy. Aktivita biopesticidů je závislá na podmínkách prostředí a interakcích mezi antagonisty a škodlivými organismy. Využívají se tedy především ve sklenících a v půdách, kde faktory prostředí kolísají v menších amplitudách. V biologické ochraně rostlin se jeví perspektivně využití hub, jejichž produkty metabolismu omezují či snižují výskyt původců onemocnění a škůdců. Mají širokou škálu působnosti, dobré reprodukční schopnosti a poměrně malé nároky na prostředí.

Cílem diplomové práce je navození supresivity půdy pomocí mykoparazitických hub *Clonostachys rosea* f. *catenulata* a *Trichoderma virens* s cílem regulovat přítomnost významných původců onemocnění rostlin, zejména fytopatogenní houby *Sclerotinia sclerotiorum*.

Nad rámec diplomové práce byl sledován vliv moření osiva pšenice jarní, odrůdy Scirocco, mykoparazitickou houbou *T. virens*, s cílem začlenit biologické agens do programu Integrované ochrany rostlin a zároveň po introdukci této mykoparazitické houby navodit supresivitu prostředí pro následně pěstované plodiny.

2. Literární přehled

2.1 Integrovaná ochrana rostlin (IOR)

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

Integrovaná ochrana rostlin zahrnuje výběr, integraci a provádění ochranných opatření na základě ekonomických, ekologických a sociologických důsledků. Jedná se o ekologický přístup k potlačování škodlivých organismů. Zavedením integrované ochrany jsou naplňovány požadavky na zemědělskou produkci, která musí být: ekonomicky efektivní, bezpečná tj. nesmí nepříznivě působit na produkční schopnosti agroekosystému, životního prostředí a musí poskytovat zdravé, vysoce kvalitní produkty prosté jakýchkoliv pro zdraví člověka rizikových látek. Současné definice IOR zvyšují důraz na záměrné využívání biologických a bioracionálních metod regulace populací škůdců (Prokinová, 1996).

Cílem IOR je:

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

2.2 Biologická ochrana rostlin

Biologická ochrana využívá přirozených antagonistů nebo jejich produktů za účelem regulace populací škodlivých činitelů. V roce 1919 poprvé použil H. S. Smith termín biologická ochrana k označení přirozených nepřátel k boji proti hmyzím škůdcům. De Bach (1964) definoval biologickou ochranu jako činnost přirozených nepřátel udržet populační hustotu škodlivého organismu na nižší úrovni, než by tomu bylo při jejich absenci. Biologická ochrana je využívání živých organismů k potlačení populace specifického škodlivého organismu což vyústí ve snížení jeho četnosti nebo škodlivosti (Eilenberg a kol., 2001).

Populace všech žijících organismů jsou, do určitého stupně, redukovány přirozenou činností predátorů, parazitů, antagonistů a patogenů. O těchto interakcích resp. procesech se mluví jako o „přirozené regulaci“. Pokud však mluvíme o cílené regulaci škůdců, při které využíváme právě těchto procesů, je vhodné mluvit o „biologické ochraně „ (Hajek, 2004). Biologickou ochranu je možné definovat velmi úzce jako „Záměrné využívání přirozených nepřátel s cílem regulovat populace škůdců, chorob a plevelných rostlin“ až velmi široce, kdy spolu s přirozenými nepřáteli a antagonisty jsou do kategorie biologických metod zahrnovány i metody agrotechnické, bioracionální a genetické.

Biologická ochrana rostlin proti původcům onemocnění rostlin může být definována jako redukce množství inokula nebo patogenní aktivity patogena pomocí jednoho nebo více mikroorganismů s mykoparazitickou nebo antagonistickou aktivitou (Landa, 2002). V současné době jsou výzkumné programy na úseku integrované ochrany soustředěny na maximalizaci využívání biologických metod ochrany. Ve světě jsou k dispozici prostředky využívané v biologické ochraně na bázi různých druhů a kmenů mikroorganismů, makroorganismů, přírodních produktů a semiochemikálií (Bagar, 2007; Butt a Magan, 2001). Výhodou používání biopreparátů na bázi mikroorganismů nebo makroorganismů je hlavně nezatežování životního prostředí, je možné je využít zejména v chráněných oblastech či v ochranných pásmech vod. Nevýhodou biologické ochrany může být pomalý nástup účinnosti biopreparátu, často omezená doba skladovatelnosti, nutná znalost bionomie jak patogena, tak i užitečného organismu (parazitoid, predátor, entomopatogen, mykoparazit), (Bagar, 2007).

V rostlinné patologii se termín biologická ochrana používá jako mikrobiální mykoparazit nebo antagonistista k potlačení původců onemocnění rostlin, stejně jako použití patogenů pro ochranu rostlin proti společenstvu plevelů. Ve všech oblastech se však organismus, který potlačuje škůdce nebo patogeny, označuje pod pojmem "agens biologické ochrany" (v angličtině používaný termín BCA – biological control agents), (US Congress, 1995). Základem úspěšného využívání biologické ochrany proti škodlivým organismům, je výběr vhodného přípravku, který se hodí do daného prostředí a podmínek. Je aplikován ve vhodné formulaci a vhodnou aplikační technikou. Pokud má být používání biologické ochrany účinné je velice důležité vystihnout dobu aplikace, posoudit míru poškození porostu a zaujmout správnou strategii v boji proti škodlivým činitelům (Van Driesche a Heinz, 2004).

2.2.1 Biologické vztahy hub

Antagonistické projevy mezi mykoparazity zahrnují antibiózu, kompetici a mykoparazitismus (Alabouvette a Lemanceau, 1999). Antagonismus je vlastně jevem vzájemného vztahu mezi různými organismy, při kterém jeden organismus částečně nebo úplně inhibuje růst organismu druhého nebo jej usmrcuje (Kůdela a kol., 1989).

Antibioza

Antibioza je reakce mezi organismy, jež vyvolává tvorbu nízkomolekulárních látek nebo antibiotik. Díky metabolitům dochází k úplné destrukci či inhibici růstu a vývoje jiného organismu (Handelsman a Parke, 1989). Antibioza omezuje vylučování kyseliny mléčné, etanolu, enzymů nebo jiných podobných látek (Thomashow a kol., 2002). Může být i důsledkem produkce alkoholu nebo změny pH prostředí. Příkladem antagonistické houby, která produkuje důležitá antibiotika je například *Trichoderma virens* (Howell a Stipanovic, 1993). Velmi zajímavé je rozdělení kmenů *Trichoderma virens* podle jejich antibiotického profilu na skupinu kmenů produkující gliotoxin usmrcující patogena *Rhizoctonia solani* a skupinu produkující gliovirin, který je schopný usmrcovat houbu *Pythium ultimum* (Howell, 1999).

Kompetice

Kompetice je nadřazenost jednoho organismu nad druhým při získávání a využívání nutričních zdrojů nebo též omezení přístupu k těmto zdrojům (Chet a kol., 1997). O kompetici se může jednat v souvislosti s kyslíkem, živinami i prostorem (Baker a Cook, 1974). Množství kyslíku pro buňku umístěnou v půdě či u kořenů je velmi důležité, a tak ve vlhkých půdách se tento faktor může stát limitující (Griffin, 1968). Živiny, produkty semen, kořenů a organických substrátů se dostávají do půdy přes koncentrační spád či difúzy. Prostorová kompetice je přímo úměrná růstové rychlosti organismu. Kompetice odráží skutečnost, že pokud jeden organismus osídí substrát, pak si již tuto svou pozici udrží i v případě konfrontace s jiným agresivnějším organismem (Baker a Cook, 1974).

Mykoparazitismus

Byl poprvé popsán Weindlingem (1932), který zaznamenal mykoparazitismus houby *Trichoderma lignorum* na několika fytopatogenech rostlin. Mykoparazitismus můžeme definovat jako nutriční závislost jednoho druhu houby na jiném, kdy dochází k přímému napadení za účelem využití živin. Tento vztah byl popsán u všech skupin hub počínaje oddělením *Chytridiomycota* až po oddělení *Basidiomycota* (Jeffries, 1997). Proces získávání živin může probíhat nejdříve rozpoznáním hostitele, pokračujícím řízeným růstem k jeho hyfám. Mykoparazit se přimkne k hyfám hostitele a následně do nich proniká nebo začne hyfy hostitele omotávat infekčním myceliem. Omotávání hyf hostitele místo penetrace, může být považováno za projev rezistence hostitele (Veselá, 1986). Mykoparazitismus můžeme klasifikovat na nekrotrofní a biotrofní parazitismus (Barnett a Binder, 1973). Nekrotrofní mykoparazit, jak už název napovídá, své hostitelské buňky nejdříve usmrtí a pak do nich pronikají. Jsou často velmi agresivní a napadají široké spektrum hostitelů (Manocha, 1990; Jeffries 1997). K usmrcování dochází degradací buněčných stěn skrze produkci hydrolytických enzymů (chitináza, β -1,3 glukánázy, celulózy), toxinů nebo antibiotik. Produkce enzymů je velmi důležitá v biologické ochraně rostlin (Lewis a Papavizas, 1987).

Biotrofní parazité se určitou dobu vyvíjí na živém hostiteli, aniž by ho usmrcovali. Biotrofní mykoparazit ovlivňuje hostitele tím, že hostitel pomalu roste a špatně se vyvíjí. K usmrcení dochází až po utilizaci živin (Jeffries, 1995). Typické pro biotrofní mykoparazity je úzké spektrum hostitelů, tvorba specifických infekčních struktur (Manocha, 1990) a v porovnání s nekrotrofními mykoparazity nulová produkce exotoxinů (Jeffries, 1997).

2.2.2 Využití supresivních půd

Pojem supresivita se vztahuje k půdě a jsou jí označovány půdy, ve kterých je výrazně potlačena možnost napadení rostliny patogeny. Půdní supresivita je velmi složitá vlastnost půdy odolávat vzniku velké, nekontrolované populace některých mikroorganismů. Většinou patogen není schopen se v supresivní půdě usídlit a pokud se usídí je ovlivněn přirozenými nepřáteli. Vlastnost supresivních půd je pravděpodobně dána jak souborem abiotických (fyzikálních, chemických), tak i biotických (antagonistické mikroorganismy) faktorů (Chytilová a Dušek, 2007).

Znamená to, že v půdě za normálních okolností existuje mikrobiální populace v určité rovnováze, která závisí na konkrétní situaci (pH, vlhkost, teplota, výživa, provzdušňování atd. a zejména interakce mezi různými druhy mikroorganismů). Ve zdravé náležitě obdělávané a užívané půdě je tedy normální tvorba velkých populací patogenů nemožná. Jakmile se tato rovnováha naruší, např. častým pěstováním určité plodiny či dokonce monokultury, patogeny se mohou v půdě nashromáždit a překročit práh škodlivosti. V takovém případě se půda pro daný patogen stane vodivou (Bagar, 2007).

Cílem činnosti zemědělců by mělo být pozitivní ovlivňování půdní supresivity vůči patogenům správnými agrotechnickými opatřeními: vyvážená výživa, regulace posklizňových zbytků, osevní postupy (používání luskovin), pěstování meziplodin a využívání zelených a statkových hnojiv. Na orné půdě u polních plodin je vzhledem k rozloze dosud relativně málo využívána biologická ochrana rostlin. Je to dáno velmi málo stabilními podmínkami prostředí, zejména kolísavá teplota a vlhkost. V těchto podmínkách se uplatňuje metoda, kdy se biologický přípravek aplikuje v širokém měřítku a nepředpokládá se dlouhodobé působení. V dnešní době se ale velmi rozrůstá používání biopreparátů určených proti houbovým a bakteriálním onemocněním. Na trhu v České republice se využívají přípravky Contans WG, Polyversum (Esser a Lemke, 2002).

2.3 Mykoparazitické houby

Trichoderma virens J. H. Mill., Giddens & A. A. Foster, (Arx 1987)
(syn. *Gliocladium virens*)

Trichoderma virens oddělení *Ascomycota*, třída *Sordariomycetes*, čeleď *Hypocreaceae*. *Trichoderma virens* je kosmopolitně rozšířený druh mykoparazitické houby, který byl odizolován ze sklerocií houby *Sclerotinia minor* v Belsville v USA (Hebbar a Lumsden, 1999). *Trichoderma virens* je saprotrofní i mykoparazitická houba, její přítomnost v půdě zvyšuje přirozenou supresivitu v půdě. Tato houba se přirozeně vyskytuje jako součást půdní mikroflóry ve všech typech půdy. Tato půdní houba potlačuje různé původce chorob rostlin, včetně rodu *Pythium spp.*, *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Sclerotium spp.*, *Fusarium spp.*, *Verticillium spp.* a *Botrytis spp.* (Dennis a Webster, 1971).

Hyfy mykoparazitické houby *T. virens* vykazují zřetelný tropismus při vyhledávání mycelia hostitele. *T. virens* přímo penetruje hyfy hostitele. Nejdříve vytváří apresoria, ze kterých infekčním vláknem proniká přes buněčnou stěnu hostitele. Po proniknutí mykoparazita přes buněčnou stěnu hostitelské buňky apresorium zaniká. Parazitované hyfy hostitele jsou degradovány. Způsob parazitace (extra, intracelulární) je závislý na druhu hostitelského organismu. Významnou roli zde sehrává stavba buněčné stěny hostitele, která předurčuje, zda se *T. virens* stane extracelulárním nebo intracelulárním mykoparazitem (Wilthite a kol., 2001). *T. virens* působí na patogeny také produkcí antibiotických metabolitů gliovirinu, gliotoxinu a mají antibakteriální, fungistatické účinky. Při „in vitro“ testech inhibovaly klíčení a růst patogena (Howell a kol., 1993).

Mycelium vylučuje gliotoxin v časně fázi růstového cyklu. Je vylučován do půdy, kde působí na patogenní houby. V půdě zůstává aktivní jen po krátkou dobu. Na vzduchu je toxin přeměněn v biologicky inaktivní derivát dimethylgliotoxin, a proto je pro vyšší organismy neškodný (Taylor, 1986). Z dalších antibioticky aktivních látek vylučuje *T. virens* látky steroidní povahy, viridin a fytotoxin viridiol (Howell a kol., 1993). Kromě těchto látek se na potlačení a degradaci patogena dále podílejí primární metabolity enzymatické povahy a to exoglukanázy, endoglukanázy, celobiózy a chitinázy (Papavizas, 1985). *Trichoderma virens* vytváří vláknité mycelium, hyfy jsou hojně větvené, přehrádkované, většinou tvořené jednojadernými buňkami. Na myceliu se tvoří septické konidiofory, jež se větví v horní části. Na konci konidioforů se vytvářejí masy hyalinních nebo jasně zbarvených jednobuněčných konidií kulovitěho tvaru, konidie jsou široce elipsoidní až vejčité, šířka: 4,5 – 4,7 x 3,9 – 4,0 μm; délka: 1,1 – 1,2 μm, které se tvoří ve vrcholové části postupně za sebou. Všechny konidie se drží pohromadě, neboť jejich soudržnost jim zabezpečují kapénky mucilagenního sekretu (Váňa, 1996).

Houby vytvářejí zpočátku bílé vatovité mycelium, které se později mění na zelenou barvu. Barva mycelia přímo koreluje se stupněm sporulace kultury. Plně sporující kultury mají až tmavě zelené zbarvení. *T. virens* se množí pouze nepohlavně. Pohlavní forma není známa. Tato houba je jedna z prvních, která má být povolena pro biologickou kontrolu chorob rostlin. Kmen GL 21 byl nejprve registrován jako biologický pesticid v roce 1990 WR Grace & Co (Columbia, MD) pro řízení tlumení chorob, zejména *Pythium* a *Rhizoctonia* u skleníkových, okrasných a potravinářských plodin. Aplikace byla omezena pouze na skleníky nebo na ošetření květináčů (Lumsden a kol., 1996).

Komerční přípravky formulací houby se objevily na trhu jako GlioGard™, alginát perličková formulace je již k dispozici jako SoilGard™. Vyvinut ve spolupráci s Grace Biopesticides and biocontrol v laboratoři chorob rostlin z ARS USDA, v Beltsville, Maryland, SoilGard™ se skládá ze spor hub kmene GL 21 v granulované formě. SoilGard™ je osvobozen od tolerance k použití u všech potravinářských plodin. Je alternativou k aktuálně registrovaným chemickým ošetření osiva a v některých situacích může být užitečný jako náhrada za methylbromid pro kontrolu problémů s nákazou. *T. virens* má schopnost rozkládat nebezpečné látky, včetně pesticidů, polyfenolů a polyaromatických uhlovodíků a izolovat těžké kovy.

***Clonostachys rosea* f. *catenulata* (J. C. Gilman & E. V. Abbott), Schroers 2001 (syn. *Gliocladium catenulatum*)**

Clonostachys rosea f. *catenulata* oddělení *Ascomycota*, třída *Sordariomycetes*, čeleď *Bionectriaceae*. *C. rosea* f. *catenulata* je vláknitá houba, která se vyskytuje v půdě a na rostlinných zbytcích. Houba je součástí rhizosféry a je efektivním kolonizátorem kořenů. Parazituje i na jiných houbách a rostlinách. *C. rosea* f. *catenulata* je účinná houba proti *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia* spp., ve skleníkách u skleníkové zeleniny a bylin. *C. rosea* f. *catenulata* má také efektivní účinnost proti listovým chorobám. Houba produkuje gliotoxin s fungicidními účinky, enzymy chitinázy a 1,3 – glutanázy. Chitinázy potlačují růst houby *Fusarium* spp. a 1,3 – glutanázy potlačují houby *Pythium* spp., *Fusarium* spp.

Clonostachys rosea f. *catenulata* se rozmnožuje nepohlavně konidii, pohlavně pomocí askospor. Kolonie jsou zpočátku čistě bílé, vatovité, později barva přechází do olivově zelené, později i do sytě zelené, zejména ve středu. Barva koreluje se sporulací. *C. rosea* f. *catenulata* sporuluje nejprve ve středu kultury, následně sporuluje v koncentrických kruzích, kde tyto kruhy jsou odděleny sterilním myceliem. Konidiofory jsou jamkovité nebo zvrásněné 50 až 125 µm dlouhé. Konidiogenní buňky jsou umístěny v přeslenech 25 - 45 µm dlouhé a na bázi 1,6 - 3 µm široké, na vrcholové části konidiogenní buňky je 1 - 2 µm široký. Konidie se vytváří v řetězcích tvořící úzké a dlouhé sloupce, zabalené v mucilagenu a jsou 150 µm dlouhé. Konidie jsou hyalinní, elipsovité, měkké, světle zelené, velké 4,0 – 7,5 µm x 3 - 4 µm.

Kolonie této houby dobře rostou na mediu s chitinem, ale nerostou příliš rychle na MEA (Agar se sladovým extraktem) po 7 dnech při 25 °C jsou velké cca 25 - 30 mm v průměru. Houby jsou jemně vlnaté, bělavé, růžové, později zelené. Spodní strana nažloutlá nebo bělavá. Na živné půdě OA tvoří *C. rosea* f. *catenulata* po 7 dnech kultivace při 24 °C kultury v průměru 40 - 50 mm. Optimální teplota pro růst houby je 25 - 28 °C, minimum je 4 - 8 °C, maximum pro sporulaci je 29 °C. Na trhu jsou dostupné dva biopreparáty Primastop a Prestop Mix (Verdera, Finsko) obsahující houby *C. rosea* f. *catenulata* (Šmíd, 2011).

2.4. Fytopatogenní houby

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary 1884 (hlízenka obecná)

Sclerotinia sclerotiorum oddělení *Ascomycota*, třída *Leotiomycetes*, čeleď *Sclerotiniaceae*. *S. sclerotiorum* je fytopatogenní houba vřeckovýtrusná. *S. sclerotiorum* je polyfágní patogen, napadá všechny druhy rostlin s výjimkou rostlin čeledi *Poaceae*. K významným hostitelským rostlinám patří řepka, slunečnice, hořčice, mák, hrách, luskoviny, zelenina (především brukvovitá a listová zelenina) a různé druhy plevelů. Při silném napadení může dojít k redukci výnosu až o 40 – 60 %. Vzhledem k nedodržování osevních postupů a rozšiřování ploch pěstování řepky ozimé se zvyšuje riziko této houby jako původce ekonomicky významného onemocnění (Kazda a kol., 2010; Rod a kol., 2005; Purdy, 1979).

S. sclerotiorum tvoří na živné půdě PDA bílé, někdy světle šedé mycelium, které je přisedlé a vyrovnané, někdy je více chomáčkovitě. Sklerocia se vyvíjejí na povrchu mycelia, hlavně na okrajích Petriho misky v místech, kde mycelium naráží na okraje a hromadí se tam. Sklerocia jsou černá, kulovitá někdy podlouhlá až nepravidelná. V průměru vývoje jsou sklerocia variabilní, někdy mohou dosahovat délky až 10 mm. Povrch sklerocia je hladký nebo je kráterovitý. Buňky na špičce primárních hyf po dosažení okraje Petriho misky jsou tenkostěnné s hustým granulárním obsahem, obvykle 9 - 14 (-18) μm široké a dlouhé 300 μm , obvykle s jednou postranní nebo více větvemi. Buňky před špičkou jsou kratší 30 - 250 μm . Buňky sekundárních a dalších větví jsou užší než větve vyrůstající z primární hyfy. Sklerocium se začíná vyvíjet opakovaným větvením vzdušných primárních hyf, které navzájem splývají. Zralé sklerocium má zřetelně diferenciovanou pokožku s rovnoměrně ztloustlou silně pigmentovou stěnou.

Pod pokožkou je tenká vrstva kůry, která je složena ze 2 až 3 vrstev stejně dimetrických tenkostěnných buněk. Dřeň sklerocia je tvořena propletenými hyfami přibližně stejného průměru, jako jsou primární hyfy. Buňky kůry a dřene mají granulózní obsah zatímco buňky pokožky ne. Na hostiteli se tvoří bílé mycelium, které se rozrůstá po povrchu a větví se intercelulárně i intracelulárně. Sklerocia se vyvíjejí na povrchu i uvnitř hostitele. Sklerocia se tvoří ve velké míře, až když dojde k usmrcení hostitelské rostliny. Po dozrání jsou sklerocia v dormantním stavu. Z tohoto důvodu není možné zaznamenat tvorbu apotecí ve spojitosti s nemocnou rostlinou.

Celkově je patogen schopen přežít v půdě více než 5 let. Zdrojem infekce jsou sklerocia v půdě, špatně zapravené infikované posklizňové zbytky a zdrojem infekce může být i osivo s příměsí sklerocií (Vašák a kol., 1997). Ze sklerocia se regeneruje mycelium, které může následně infikovat zdravé rostliny. Na jaře nebo v časném létě se začínou na sklerociích tvořit plodnice apotecia (tzv. karpogenické klíčení), která jsou velká od 5 do 15 mm. V apotecích jsou uložena vřecka s askosporami. Po dozrání jsou askospory vymrštěny z apotecia do vzduchu v periodě od dvou do tří týdnů. Askospory jsou roznášeny větrem. V případě, že askospory dopadnou na živný substrát, začnou klíčit a dojde k infekci rostliny. Většina druhů hub rodu *Sclerotinia* způsobují infekci tvorbou mycelia ze sklerocií. Regenerované mycelium napadá stonky mladých rostlin. U *S. sclerotiorum* je však infekce primárně iniciována askosporami a je hlavním zdrojem infekce (Boland a Hall, 1994).

Prokázalo se, že agrotechnická opatření jako zavlažování (Moore, 1949), hluboké zaorání plodin do půdy na zelené hnojení (Merriman a kol., 1979), snížení frekvence zavlažování (Steadman, 1983; Ferraz a kol., 1999), ochrana rostlin proti plevelům (Dillard a Hunter, 1986), půdní solarizace (Ben-Yephet, 1988; Phillips, 1990) a travní mulčování půdy (Ferraz a kol., 1999) mají vliv na snížení počtu životaschopných sklerocií v půdě, zabraňují karpogenickému klíčení. Podpovrchové zavlažování místo povrchového zavlažování může regulovat tvorbu apotecí, což je způsobeno suchou půdou do hloubky 5 - 8 cm, kde se sklerocia vyskytují (Subbarao, 2002; Davis, 2004). Obilniny tímto patogenem napadány nejsou, proto je důležité zařazovat je do osevních postupů mezi pěstované plodiny, které jsou náchylné k tomuto patogenu. Obilniny působí jako tzv. přerušovači kontinuální infekce plodin fytopatogenní houbou *S. sclerotiorum* (Steadman, 1979). Rotace plodin více než 3 nebo 4 roky nebyla vždy úspěšná při regulaci počtu sklerocií v půdě (Schwartz a Steadman, 1978; Williams a Stelfox, 1980), nebo výskytu patogena *S. sclerotiorum* (Morrall a Dueck, 1982).

Vysoká teplota propařování půdy (více jak 100 °C) před výsevem může podstatně snížit počet životaschopných sklerocií, zvláště když jsou sklerocia částečně hydratovaná a nachází se v blízkosti povrchu půdy (Couper, 2001). Propařování půdy po dobu 15 minut při potenciálu půdy více než 145 kPa byly doporučeny jako efektivní krok k potlačení tvorby apotecí u sklerocií do hloubky 60 mm půdy. Nicméně laboratorní studie ukázaly, že propařováním půdy při nižších teplotách a kratším trvání (asi 60 °C po dobu 3 min) dojde k zahubení patogena *S. sclerotiorum* (Van Loenen a kol., 2003). Půdy doplněné fermentovanými zemědělskými odpady, také účinně potlačují rozvoj a vývoj patogena *S. sclerotiorum* v půdě (Huang a kol., 1997).

***Rhizoctonia solani* J. G. Kühn 1858 (kořenomorka obecná)**

Rhizoctonia solani teleomorní forma *Thanatephorus cucumeris*, oddělení *Basidiomycota*, třída *Agaricomycetes*, čládek *Ceratobasidiaceae*. *R. solani* patří mezi široce rozšířené rostlinné patogeny, napadá různé druhy rostlin náležících do různých botanických čeledí (Čača, 1981). Patogen je běžnou součástí půdní mikroflóry. Vzniku a rozvoji chorob napomáhá nízké pH půdy, malý obsah organické hmoty v půdě, utužení půdy (Hadar, 1979). Mycelium je světle hnědé rychle rostoucí. Vytváří dva typy hyf: přímé dlouhé a postranní kratší, které jsou na konci rozdělené častými přehradkami na soudečkovité buňky, později se ulamují a slouží k vegetativnímu rozmnožování. Hyfy jsou poměrně široké, větví se v pravých úhlech. Sklerocia jsou zprvu bílá, později hnědnou nebo černají. Sklerocia vznikají z hyf, které mezi sebou mnohonásobně anastomozují a vytvářejí klubička. Houba přežívá ve formě mycelia a sklerocií v půdě a na napadených zbytcích rostlin.

Symptomy závisí na druhu a vývojové fázi hostitelské rostliny a na podmínkách prostředí. Nejznámějším a nejčastějším symptomem *Rhizoctonia solani* je padání klíčnicích a vzcházejících rostlin, vyskytující se zejména na chladných mokřích půdách. Klíčnicí rostliny mohou uhynout ještě předtím, než dosáhnou povrchu půdy. U rostlin se silnými dužnatými klíčky se objevují nápadné hnědé léze a zčernalé odumřelé vrcholky. Pokud rostliny vzejdou nad povrch půdy, napadení rostlin se projeví vodnatými měkkými lézemi na stonku, ztrátou pevnosti pletiv a padáním rostlin na povrch půdy. U starších rostlin je napadení omezeno tvorbou vnějších korových pletiv. Na rostlinách se objevují rezavě hnědé skvrny, které jsou na rozhraní půdy a vzduchu, podélně i příčně se zvětšují, až obepnou celý stonek, který se srašťuje, černá a rostliny padají a hynou.

Patogen se ve výsevech šíří velmi rychle, výpadky rostlin se vyskytují hnízdovitě. Patogen *R. solani* je mnohem častěji původcem hnilob kořenového krčku a řízků než kořenů. Prevence proti *R. solani* je správná agrotechnika, střídání plodin, minimální kontakt rostliny a hlíz s patogenem, sázet hlízy za teplého a suchého počasí. Proti napadení *R. solani* se používají chemické fungicidy, i když nejsou dostatečně účinné (Chet, 1981).

Patogen *R. solani* zůstává trvalým problémem v zemědělství. V současné době se začala uplatňovat v zemědělství biologická kontrola nad *R. solani*. Biologická kontrola se ukazuje být efektivní proti *R. solani*, kde chemický účinek fungicidů není dostatečně účinný nebo se nemůže používat (Hadar, 1979).

***Botrytis cinerea* Pers. (plíseň šedá)**

Botrytis cinerea oddělení *Ascomycota*, třída *Leotiomycetes*, čeleď *Sclerotiniaceae*. *Botrytis cinerea* je široce polyfágní nekrotrofní patogen, který napadá kulturní i divoce rostoucí rostliny, zejména oslabené rostliny ve všech fázích vývoje a bez výběru druhů. Mezi nejvýznamnější hostitele náleží jahodník, réva vinná, rajčata, hrušně, jabloně a také např. okrasné rostliny. Produkce mykotoxinů nebyla zjištěna. V náchylnosti odrůd jsou významné rozdíly. Na poškozených výhoncích starších rostlin se objevují měkké tmavé, vodnaté a rychle se rozšiřující skvrny, které za krátký čas hnědnou a pokrývají se šedivým povlakem plodnic. Významné škody může působit u množitelského materiálu (Burgess, 1997).

Botrytis cinerea je velice užitečná a vítaná ve vinařství. V oblastech, kde se pěstují bílé odrůdy vinné révy, se *Botrytis cinerea* neboli *botrytida* nazývá ušlechtilou plísní, jelikož snižuje obsah vody v hroznu, čímž vlastně zvyšuje obsah cukru, ale i aciditu, viskozitu a celkovou chuť, takže vznikne sladké, rozplývající se a šťavnatě aromatické víno. Pro vznik botrytidy jsou ideální podmínky - vlhkost s následným slunečním svitem, což je situace typická pro mlhavá podzimní rána. Spory tak mohou perforovat slupku bobulí, dužnina však zůstává nedotčená. *Botrytis cinerea* se postupně rozšíří po celém hroznu, až se nakonec bobule scvrknou. Protože nástup ušlechtilé plísně není nikdy pravidelný, je třeba hrozny sbírat výběrově a vinohradem se často musí projít několikrát. To vysvětluje relativně malé množství botrytického vína a vysoké výrobní náklady. Infekce patogenem *Botrytis cinerea* je zprostředkováno celou řadou složitých procesů *Botrytis cinerea* zahrnuje rozsáhlé spektrum pektinolytických enzymů, které umožňují myceliu pronikat do tkání a rostlin (Davidson a kol., 2004). Extracelulární enzymy a metabolity, které zprostředkovávají patogenezu u *Botrytis cinerea* byly studovány např. na rajčatech, kde byl testován i vztah k mykoparazitické houbě (Elad, 1993).

Botrytis cinerea je nepohlavní stadium životního cyklu hub *Botryotinia fuckeliana*, která se rozmnožuje výhradně nepohlavně (konidiiemi a sklerocii). Teleomorfa (sexuální forma) je askospora. Konidiofory různě dlouhé, s hladkou stopkou ve spodní části nahnědlou, na konci bohatě nepravidelně větvené. Větve krátké, na vrcholu zduřelé v tzv. měchýřek cca 8 - 10 μm v průměru. Konidie vyrůstají jednotlivě z mnoha malých zoubků na povrchu měchýřků, jsou elipsovité, hladké, šedě pigmentované, cca 8 - 12 μm dlouhé. Zřídka bývá u některých kmenů pozorována synamorfa *Myrioconium spp.* charakteristická tvorbou fialid a drobných kulovitých konidií. *Botrytis cinerea* je kolonie rychle rostoucí, po 7 dnech při 25 °C pokrývající celou Petriho misku, mycelium je vlnaté, často chomáčkovitě, šedavé. Později se mohou tvořit černá sklerocia. Spodní strana kolonií světlá, případně černá pod sklerocii. Teleomorfa se v kultuře netvoří. Spory se šíří větrem, vodou a mohou způsobit nové infekce.

Botrytis cinerea se šíří především ve vlhkém prostředí, nebo za deštivého počasí. Pro infekci je nezbytné ovlhčení rostliny, nebo vysoká vlhkost vzduchu (přes 85 %). Teplotní nároky: optimum okolo 22 - 25 °C, minimum (-2)5-12, maximum 35 °C. Agrotechnické zásady proti *Botrytis cinerea* v zemědělství jsou: včasná likvidace posklizňových zbytků a rostlinného odpadu, nepřehnojovat dusíkem, nepřehušťené porosty, půdu v pařeništích a sklenících dezinfikovat, napadené rostliny anebo jejich části odstraňovat. Chemická ochrana spočívá v moření osiva, preventivních postřicích fungicidy u potencionálně ohrožených porostů a v použití organických fungicidů (například s obsahem mancozebu).

***Fusarium solani* (Mart.) Sacc**

Fusarium solani (anamorfa), *Haematonectria haematococca* (telemorfa). Studiem hub rodu *Fusarium spp.*, škodicích na jeteli se zabývali zejména (Kováčiková a Kudela, 1984). *Fusarium solani* je vláknitá houba, běžně je izolována z půdy a rostlinných zbytků. Většina druhů hub *Fusarium spp.*, jsou neškodní saprofity a jsou relativně hojní členové mikrobiální půdy. Některé druhy produkují mykotoxiny (fumonisiny a trichotheceny) v obilovinách, které mohou ovlivnit zdraví lidí a zvířat v případě, že jdou do potravinového řetězce. Houba *Fusarium solani* je příčinou nekrotického vadnutí rostlin, ale způsobuje také padání klíčnicích rostlin u jetelovin. Vadnutí rostlin je často způsobeno hnilobou kořenových krčků nebo jde o vaskulární (cévní) vadnutí rostlin, kdy houba svými hyfy proroste a ucpe vodivá pletiva v rostlině. *Fusarium solani* se podílí na vzniku řepné spály, je původcem fuzariózy česneku a kořenové spály hrachu (Čača, 1981).

Fusarium solani vytváří kolonie rychle rostoucí o velikosti 45 mm za 4 dny. Mycelia jsou bílá až krémově růžová, můžou být až modro - hnědá, když jsou přítomny sporodochia. Makrokonidie se tvoří po 4 - 7 dnech od krátkých více rozvětvených konidioforů, které mohou tvořit sporodochia. Sporodochia jsou tvořena 3 až 5 septy (obvykle 3 - septy), fusiform válcovitý, srpkovitý často mírně zakřivený, s nezřetelně stopkatými buňky a krátkou tupou apikální buňkou, 28 - 42 x 4 - 6 μm. Mikrokonidie jsou obvykle bohaté, válcovité, oválné, mají jeden až dva - celled tvořený z dlouhých postranních fialid, 8 - 16 x 2 - 4,5 μm. Chlamydospory jsou hyalinní, kulovité, oválné, hladké, mají stěny nesené jednotlivě nebo ve dvojicích na krátkých příčných hyphal nebo intercalarech, rozměry 10 - 11 x 8 - 9 μm (Fassatiová, 1979).

V ochraně rostlin proti chorobám způsobených houbami rodu *Fusarium spp.* je důležitá především prevence. Je tedy nutné dodržovat v praxi řadu hygienických opatření jako je správné střídání plodin, kvalitní a včasná příprava půdy, včasné setí, vyrovnaná výživa a použití zdravého, biologicky hodnotného, namořeného osiva. Po sklizni je třeba pečlivě odstranit zbytky. Byl zjištěn těsný vztah mezi houbami rodu *Fusarium spp.*, a hád'átky. V poslední době se prosazuje šlechtění rostlin na rezistenci k fuzariózám. Je dokázáno, že rezistence vůči fuzariózám je nespecifická - horizontální. Podporuje ji vysoký obsah fosforu a vyšší obsah ligninu v buňkách, který klade odpor při pronikání mycelia jejich stěnami. Také modulace kořenů rhizobiem a fixace vzdušného dusíku rezistenci ovlivňuje (Zvára a Voženílková, 1992). Chemická ochrana je doporučována a využívána především u česneku (Čača, 1990).

2.5 Význam pěstování pšenice jarní

Pšenice jarní je pěstována na necelých 30 tisících hektarech. K největším producentům patří Rusko, USA, Kanada, Indie, Francie a Čína. Pšenice jarní je doplňkovým druhem k pšenici ozimé. Má obdobné požadavky na půdu, netrpí tolik chorobami pat stébel a lze ji využít při silném výskytu ozimých plevelů. Pšenice jarní má menší odolnost k polehání. Podle Fáměry (1993) jsou nevhodnější středně až těžší půdy (písčitohlinité, hlinité a jílovitohlinité) s neutrální až slabě kyselou půdní reakcí pH 6,2 - 7,0. Nevhodné jsou půdy velmi lehké, písčité, kyselé a zamokřené, které způsobují opoždění a snížené odnožování.

Nejllepšími předplodinami jsou luskoviny, jeteloviny, okopaniny, olejnin, zelenina, hlavně organicky hnojené plodiny. Většinou se seje po pozdě sklizených předplodinách jako je cukrovka, brambory, silážní kukuřice. Po okopaninách dosahuje pšenice jarní nejvyšších výnosů zrna. Pšenici jarní lze zařadit i po obilovinách. Doporučuje se včasnost setí, běžný požadavek je, aby jarní pšenice byla zasetá do konce března. Za optimální porost lze považovat porosty, kde je v rozmezí 350 – 500 rostlin po vzejití. Celková dávka dusíku činí 80 – 120 kg/ha a rozděluje se na 1/2 až 1/3 před setím a 1/3 až 1/2 na konci odnožování (29 - 30 BBCH). Po dobrých předplodinách se celková dávka dusíku snižuje a zapravuje se celá před setím. Pšenice jarní se seje jako první ze všech jařin, jakmile jsou vlhkostní a teplotní podmínky optimální (obvykle v březnu). Po zasetí snáší i případné mrazíky (Zimolka, 2005).

2.5.1 Botanická charakteristika

Podle Zimolky (2005) patří pšenice jarní do rodu pšenice (*Triticum L.*), který náleží čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Kořenový systém je silně závislý na kvalitě půdy. Primární kořínky (zárodečné) mají obvykle 2 - 4 vlastní kořínky, druhotné (sekundární) jsou svazčité a zakládají se většinou v ornici. Sekundární kořínky se začínají vytvářet v období odnožování. Tvorba stébla signalizuje přechod z vegetačního do generativního období. Stéblo se od báze směrem ke klasu zužuje a je duté. Stéblo je rozděleno kolénky (nodus) na mezičlánky (internodia), kterých je u pšenice 4 - 6 a jsou poměrně krátká. Tím je zajišťována i větší pevnost vlastního stébla a schopnost nést dostatečně velký klas.

Listy pšenice jsou přisedlé složené z listové čepele a listové pochvy. Na přechodu čepele a pochvy je jazýček a při něm po stranách listové pochvy je pár oušek. U pšenice jsou ouška zřetelně obrvená (trichomy). Květenstvím u pšenice je klas, který je nelámavý, osinatý nebo bez osin, různě hustý (Farmář, 2008). Na každém článku klasového větve je 1 klásek, u kterého jsou obvykle 3 – 4 plodné kvítky. Nejspodnější a horní klasy mají jen 1 – 2 plodné kvítky (Zimolka, 2005). Obilky jsou nahé, buclatější, na řezu oblé s mírně vystouplým klíčkem (Farmář, 2008). Kuchtík a kol. (2005) se zmiňují, že zrno při vlhkosti 15,0 % obsahuje v průměru 12,5 % bílkovin, 65,5 % škrobu, 1,7 % tuků, vlákniny 8%, vitamíny skupiny B, E a některé minerální látky (P i K).

2.5.2 Růst a vývoj

Toto základní období zahrnuje vegetativní období (klíčení, vzcházení, odnožování) a generativní období (sloupkování, metání, kvetení a zrání), (Zimolka, 2005). V průběhu vegetace procházejí rostliny vývojovými změnami. Projevují se morfologickými a anatomickými změnami. Vnější znaky hodnotí makrofenologická stupnice, jednotlivé stupně jsou fáze růstu označované od 00 do 99. Organogenezi vzrostného vrcholu zachycuje mikrofenologická stupnice podle Kupermanové, která je rozdělená na etapy I. až XII. (Hamouz, 1993).

Vývojové etapy

- I. Formování listů
- II. Formování odnoží
- III. Základ klasového větene
- IV. Diferenciace klásků
- V. a. Plevy – diferenciace kvítků
b. Pluchy a plušky
- VI. Vývin osin
- VII. Metání
- VIII. Kvetení
- IX. Tvorba obilky
- X. Mléčná zralost
- XI. Plná zralost, (Diviš, 2000)

2.5.3 Tvorba hospodářského výnosu

Hospodářský výnos se rozumí u obilnin výnos zrna (Diviš, 2010). Tvorba výnosu je proces dynamický, kdy se jednotlivé výnosové prvky tvoří postupně v čase a jsou ovlivňovány průběhem počasí, dynamikou uvolňování živin z půdy, škodlivými činiteli i agrotechnickými zásahy. Výnos zrna obilnin je jen částí nadzemní biomasy, ale je zřejmé, že pro vysoký hospodářský výnos je nutná určitá úroveň biologického výnosu, určitý výnos sušiny za předpokladu vhodné dynamiky její tvorby a distribuce. To souvisí s přiměřeným rozvojem asimilačního aparátu i kořenového systému (Petr a kol., 1997). Petr a kol. (1997) dosažený hospodářský výnos je založen na stupni souladu produkčních procesů a formování jednotlivých výnosových prvků. Jarní pšenice mají výnos zrna nižší, ale nové odrůdy jsou za optimálních podmínek téměř srovnatelné s pšenicí ozimou. Výnos zrna pšenice ozimé se pohybuje v rozmezí od 3,5 do 6,0 t/ha⁻¹, špičkové odrůdy od 6,0 do 10,0 t/ha⁻¹.

Základní výnosové prvky

1. počtem klasů na plošnou jednotku
 - tj. počtem rostlin na 1 m²
 - počtem plodných stébel na jedné rostlině
2. počtem zrn v klasu
 - počtem klásků
 - počtem plodných kvítků
3. hmotnostní zrn
 - hmotností 1 000 zrn

Výpočet teoretického výnosu se provádí podle vzorce:

$$V = \frac{K * Z * A}{10^5} \text{ (t/ha}^{-1}\text{)}$$

kde:

K – počet klasů na 1 m²

Z – počet zrn v klasu

A – hmotnost 1000 zrn (Petr a kol., 1987)

2.5.4 Významné výnosové prvky

- **počet rostlin a počet klasů** na jednotce ploch, který souvisí s výsevkem a stupněm redukce jejich počtu během vegetace. Optimální hustota porostu daná počtem vysávaných klíčivých obilek na jednotku plochy u většiny odrůd je v rozmezí 400 - 500, u krátkostébelných až 600 na m² (nutný vyšší výsevek při nižším odnožování). Výchozím stavem pro tvorbu výnosu je optimální počet 250 - 350 (400) rostlin a počet klasů 550 - 600 na m² u genotypů se zkráceným stéblem, a více než 450 rostlin a 700 klasů/m² u krátkostébelných genotypů.
- **produktivita klasu**, kterou určují další složky, a to **počet klásků a kvítků** v klasu. Žádoucí jsou dlouhé a plodné klasy, nejméně se 2, lépe se 3 kvítky v klásku, zejména ve střední části klasu. Snaha na zlepšení produktivity klasu se zaměřuje na zvýšený počet zrn v klásku realizací založených kvítků. Klásek může tvořit vějíř s 5 - 7 kvítky, ale jen z 30 - 40 % se vyvinou obilky. Není zájem usilovat o větvevnatost klasu, neboť narušuje symetrii klasu a prodlužují se vodivé dráhy. V klasu se vytváří většinou 28 - 35 (45) obilek (Graman a Čurn, 1998).
- **hmotnost obilek** je geneticky značně podmíněný znak, je však ovlivněna i prostředím. Po opylení dochází k rychlé diferenciaci buněk na jednotlivé části obilky a postupnému zvětšování buněk. Vytváří se úložné prostory pro zásobní látky. Během fáze rychlého růstu obilky (15 - 35 dní po kvetení) se nejvíce zvětšuje její objem a hmotnost. Čím delší je období plnění obilek, tím větší hmotnosti mohou dosáhnout. Vysoké teploty, nedostatek vláhy a živin, především dusíku, klasové a listové choroby a další vlivy poškozují asimilační aparát, přispívají ke zkrácení doby plnění obilek, hmotnost obilek se zvětšuje málo. Hmotnost obilek se udává nejčastěji jako parametr HTZ (hmotnost tisíce zrn) v gramech a pohybuje se běžně u obilovin 30 – 50g (Diviš, 2000; Ambrozová, 2011).

2.5.5 Faktory ovlivňující výnos

Biologické faktory rozhodující o výši výnosu:

- nové produktivní odrůdy (šlechtění)
- průmyslová hnojiva (minerální výživa)
- závlahy (vodní režim)
- ochrana (fytopatologie)
- zpracování půdy (Nátr, 2009)

Nátr (2009) definuje vztah mezi výnosem a vlastnostmi produktivní odrůdy, dávkami minerálních živin a ostatními technologickými opatřeními je velmi složitý. Přesto je důležité znát alespoň základní principy. Ani v současné době nemůže zemědělec bezmyšlenkovitě a mechanicky aplikovat sebelepší návod na pěstování určité odrůdy v určitých podmínkách. Musí sledovat proměnlivé změny počasí a reakce plodin. Sebelepší technika a vědecké poznatky nemohou nahradit znalosti a zkušenosti samotného zemědělce. Snad tedy stojí zato seznamovat se také s principy toho, jak žije rostlina – „biologický základ jakéhokoli výnosu“.

U všech výnosových prvků se na jejich úrovni významně podílejí vlivy vnějšího prostředí (stanoviště, průběh počasí) a agrotechniky. Jednotlivé výnosové prvky se tvoří postupně a navazují na sebe. Počet plodných stébel a počet zrn v květenství je formován ve třech fázích: 1. základní, 2. maximální úrovně, 3. redukce. Kvalitativní úroveň dříve vytvořeného výnosového prvku může být kompenzována úrovní dalšího výnosového prvku (např. nižší počet klasů – vyšším počtem zrn v klasu). Tyto kompenzační vztahy jsou u obilnin významnou schopností autoregulace. Na základě stavu a vývoje porostu během vegetace je možné podpořit tvorbu nebo omezit redukci výnosového prvku vhodným agrotechnickým zásahem (např. přihnojením, regulátory růstu), (Šnobl a Pulkrábek, 2005).

2.6 Významné listové a klasové choroby

***Septoria tritici* Desm. (hnědá skvrnitost listů, braničnatka pšeničná)**

Septoria tritici (anamorfa), *Mycosphaerella graminicola* (telemorfa). *Septoria tritici* patří k velmi rozšířeným onemocněním pšenice, vyskytuje se plošně na celém území ČR. Houba patří k fakultativním patogenům, přežívá na odumřelých rostlinných zbytcích na pozemku. Zdrojem primární infekce může být jak pozemek, tak osivo. Typické příznaky se objevují na nejstarších listech již na podzim, ale hlavně v předjaří a na jaře. Primárním příznakem jsou široce oválné, sytější zelené, „olejové“ skvrny na listech a listových pochvách, které se později mění v hnědé nekrotické skvrny. Napadené listy odumírají. Zdravá pletiva nejsou od napadených pletiv ostře ohraničena. Během vegetace se houba šíří ze spodních listů na horní a na další rostliny pomocí spor, které se tvoří v pyknidách na napadeném pletivu. Houba vytváří pyknidy (malé černé kulovité plodničky), které jsou uspořádány do řad podél listové žilnatiny. K rozmnožování patogena napomáhá vysoká vlhkost a teplota 15 – 25 °C. K ochranným opatřením patří výsev uznaného a mořeného osiva, kvalitní zapravení posklizňových zbytků, volba odolnějších odrůd. Zatím hlavním ochranným opatřením je fungicidní postřik, který se aplikuje v době metání (Prigge a kol., 2006).

***Puccinia* Pers. (rez)**

Puccinia spp. se vyskytuje pravidelně ve všech oblastech pěstování pšenice. Patogen snižuje fotosyntézu a negativně ovlivňuje růst a vývoj napadené rostliny. Primárním příznakem jsou hnízdovitě nebo roztroušeně na horní i spodní straně listu, listových pochvách i stéblech rezavě hnědé oválné kupky (uredospory). Černohnědé kupky (teleutospory) kryté pokožkou listu se nacházejí před květem na spodní straně listů. *Puccinia* spp. přezimuje jako mycelium, nebo uredospora v listech ozimů. Při teplém počasí jara a časného léta se začínají rychle tvořit nové kupky uredospor, které znovu infikují hostitelskou rostlinu. K ochranným opatřením patří výsev uznaného a mořeného osiva, kvalitní zapravení posklizňových zbytků, volba odolnějších odrůd, nepřehnojovat dusíkem, chemická ochrana (Prigge a kol., 2006).

***Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker (helminosporiová skvrnitost – HTR)**

Drechslera tritici-repentis (anamorfa), *Pyrenophora tritici-repentis* (telemorfa). Choroba se u nás rozšířila teprve v posledních letech, šíří se plošně po celém území ČR. *Drechslera tritici-repentis* napadá žito, triticales, pýr a jiné trávy. Houba přežívá na odumřelých rostlinných zbytcích na pozemku. Na napadených listech se objevují malé, oválné, žlutavě hnědé skvrny s bodovitým středem (chlorotický dvůrek). V pozdějším stádiu spíše nepravidelně ohraničené zhnědnutí se žlutým okolím a tmavým centrem infekce. Během vegetace se houba šíří ze spodních listů na horní a na další rostliny pomocí konidií. Pro šíření houba potřebuje vyšší vlhkost a déšť. K ochranným opatřením patří výsev uznaného a mořeného osiva, kvalitní zapravení posklizňových zbytků, volba odolnějších odrůd (Prigge a kol., 2006).

***Tilletia caries* (DC.) Tul. & C. Tul. (mazlavá sněť pšenice)**

Tilletia caries napadá ozimou i jarní pšenici, žito, tritikale, ječmen a některé trávy. *Tilletia caries* se vyskytuje plošně na celém území ČR. Významná choroba pšenice, hlavně u množitelských porostů, kde je její výskyt sledován. Z napadených klasů se při výmlatu spory sněti dostávají na zdravé obilky a při klíčení způsobí napadení nových rostlin. Chladné počasí na podzim, po zasetí podporuje napadení. Na suché obilce zůstávají spory živé několik let. Spory jsou schopny klíčit ve tmě. Příznaky jsou zřetelně viditelné až na vytvořených klasech - pluchy jsou rozevřenější, klásky více odstávají od klasového větvena. Napadené rostliny bývají většinou tmavěji zelené, klasy modrozelené. Brzy po vymetání se v kláscích místo obilek vyvíjejí kulovité sněťivé hálky, které jsou buclatější než zdravá zrna a vyčnívají z plev. Uvnitř obilek není zrno, ale nejprve mazlavá, později prášivá masa výtrusů houby. K ochranným opatřením patří výsev uznaného a mořeného osiva (Prigge a kol., 2006).

***Fusarium* Link. (fuzariózy)**

Fusarium spp. náležejí k velmi závažným chorobám obilnin. Klasové fuzariózy se nejčastěji vyskytují na pšenici ozimé i jarní, žitu, triticales. Zdrojem primární infekce může být jak pozemek, tak osivo. Primárním příznakem je zbělení jednotlivých klásků (částečná hluchost klasů). Klasy jsou pokryté růžovými nebo až červeně zbarvenými povlaky. Patogen napadá i větveno klasu a pak zbledlá nebo zružový celý klas nebo jeho část. *Fusarium spp.* může napadnout i báze stébel a pak celé stéblo nouzově dozrává. Napadení kořenů se podílí na chorobách pat stébel. Během vegetace se houba šíří spory pomocí větru na větší vzdálenosti. Rozmnožování patogena napomáhá vysoká vzdušná vlhkost a teplota 20°C. K ochranným opatřením patří výsev uznaného a mořeného osiva, kvalitní zapravení posklizňových zbytků, volba odolnějších odrůd (Prigge a kol., 2006).

2.7 Škůdce pšenice jarní

***Oulema melanopus* (kohoutek černý)**

Oulema melanopus (Coleoptera, Chrysomelidae) napadá všechny druhy obilnin a různé druhy trav. Dospělí brouci mají zbarvení kovově modrozelené se žlutočerveným štítem, tykadla jsou modrozelená. Brouci měří 5 - 6 mm. Larva je špinavě žlutá, kyjovitěho tvaru, má tři páry nohou, měří 4 - 5 mm. Larvy jsou škodlivější než dospělci. Příznakem poškození jsou vykousané podélné pruhy v listech (okénkování). Larvy na rozdíl od brouků ponechávají při žíru dolní pokožku listu neporušenou. Napadené rostliny dříve dozrávají. Po přezimování se brouci stěhují ze zimovišť do obilnin, kde samičky kladou vajíčka v květnu a začátkem června na líc listů podél středního nervu. Larvy se líhnou cca za 7 dní, dospívají po 14 dnech, pokrývají se slizem s výkaly a kuklí se v půdě. Brouci se líhnou v červenci, po vylíhnutí migruje na louky, zde se živí na listech a přezimuje v kokonech v půdě. Kohoutek černý má jednu generaci za rok. K přemnožení přispívá suché a teplé počasí v době kladení vajíček. K ochranným opatřením patří přirození nepřátelé, porost nepřehnoжат dusíkem, chemické přípravky (Lokaj a Uhlíř, 2009).

3. Materiál a metodika

3.1 Druhy mykoparazitických a fytopatogenních hub

Tabulka č. 1: Kmeny *Trichoderma virens* použité v pokusu.

Kmen	Produkt/okres, lokalita	Hospodaření	Způsob izolace	Rok	GPS souřadnice
GL 21	SoilGard	-	-	-	-
Tvi 601	Rancířov, JH	EZ	SBM*	2010	N48 55.747 E15 31.129
Tvi 646	Rancířov, JH	KZ	DPT*	2011	N48 56.106 E15 30.880
Tvi 648	Novosedly nad Nežárkou, JH	EZ	SBM	2011	N49 05.755 E14 50.495
Tvi 658	Nakolice, ČB	EZ	SBM	2011	N48 48.110 E14 50.021

*DPT – izolace kmenů hub pomocí zředovací metody “Dilution plate technique”

*SBM – izolace kmenů hub pomocí sklerocií fytopatogenní houby *Sclerotinia sclerotiorum* “Sclerotia bait method”

Tabulka č. 2: Kmeny *Clonostachys rosea* f. *catenulata* použité v pokusu.

Kmen	Produkt/okres, lokalita	Hospodaření	Způsob izolace	Rok	GPS souřadnice
Gca 001	Dobročkov, PT	EZ	SBM	2011	N48 54.253 E14 08.985
Gca 002	Bílá, JH	EZ	SBM	2011	N49 04.264 E15 02.370
Gca 003	Plešnice, PS	KZ	DPT	2011	N49 27.690 E 13 06.69
Gca 004	PrestopMix	-	-	-	-

Tabulka č. 3: Fytopatogenní houby použité v pokusu.

Fytopatogenní houby	Zdroj
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Brassica napus</i>
<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Solanum tuberosum</i>
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Fragari vesca</i>
<i>Fusarium solani</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>

3.2 Přípravky a aditiva

3.2.1 SoilGard 12 G

SoilGard je mikrobiální fungicid obsahující přirozeně se vyskytující půdní houbu *Trichoderma virens*. Obsahuje spory a mycelium houby *Trichoderma* (= *Gliocladium*) *virens* kmene GL 21. Účinná látka je antagonistická proti chorobám rostlin *Pythium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Fusarium spp.* Biopreparát se používá na okrasné a zemědělské plodiny pěstované v interiérech a exteriérech. Může se používat pro organicky pěstované rostliny. Neškodí profitujícím půdním organizmům (Anonym 1).

3.2.2 Prestop Mix

Prestop Mix je biofungicidní prášek na ochranu rostlin proti *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium spp.* Obsahuje spory a mycelium houby *Clonostachys rosea* f. *catenulata* (= *Gliocladium catenulatum*) kmene J 1446. Biopreparát se používá na okurky, rajčata, papriky, jahody, maliny a okrasné rostliny. Biopreparát se aplikuje pomocí zálivky nebo postřiku (Anonym 2).

3.2.3 Agrisorb pro gel

Agrisorb je organická polymerní sloučenina draselné soli a polyakrylátu, je schopný vázat vodu a v průběhu vegetace ji předávat kořenům a chránit tak rostliny před suchem. Agrisorb je práškový koncentrát určený na přípravu ochranného kořenového hydrogelu, který chrání kořeny rostlin před zaschnutím při přesazování, přepravě, skladování a podporuje zdravý a intenzivní rozvoj kořenového systému. Suspenze 1 % Agrisorbu byly připraveny podle výrobce (Anonym 3).

3.2.4 Guaranová guma (E 412) – (Guar Gum)

Guaranová guma je to polysacharid s velkou viskozitou. Patří do skupiny mezi stabilizátory, modifikované škroby a zahušťovadla. Je vyráběn z lusků a ze semen rostliny *Cyamopsis tetragonolabus*. V biologické ochraně se guaranová guma začíná používat jako materiál k enkapsulaci nematofágní houby *Hirsutella rhossiliensis*. Zkoumají se účinky na cystotvorné hád'átko řepné a na rostliny cukrovky (Anonym 4). V pokusech byla použita 0,5 % a 1 % guaranové gummy.

3.2.5 Karboxymethylcelulóza (E 466) - (CMC)

Karboxymethylcelulóza je derivát celulózy s karboxymethylovými skupinami navázanými na některé z hydroxylových skupin glukopyranózových monomerů. CMC se používá ke stabilizaci emulzí v řadě výrobků. Má vysokou viskozitu, je netoxická a hypoalergenní. Pro moření osiva byla použita 0,5 % a 1 % koncentrace CMC (Anonym 5).

3.3 Rostlinný materiál

3.3.1 Okurka setá - salátová STELA F1

Okurka setá (*Cucumis sativus*) je rostlina z čeledi tykvovitých. Středně raný hybrid určený pro pěstování na poli i pod foliovými kryty. Rostliny dosahují výšky 0,2 – 0,3 m. Květy sytě žluté, jednopohlavní, velké 2 – 4 cm. Plody jsou vřetenovité, zelené se světlými pásy od vrcholu do čtvrtiny plodu (Anonym 6).

3.3.2 Jarní pšenice

Odrůda: **SCIROCCO**

Udržovatel: KWS LOCHOW GmbH, D Německo

Zástupce v ČR: SOUFFLET AGRO a.s.

Odrůda byla v roce 2008 registrována v Německu a v ČR je registrována od roku 2011. Je to raná až poloraná odrůda s vysokým výnosem v kombinaci s elitní pekařskou jakostí (E). Rostliny jsou středně až silně odnožující, středně vysoké až vysoké 970 mm. Zrno je velké s vysokým obsahem dusíkatých látek. Odrůda vykazuje vysoký výnos zrna v ošetřené i neošetřené variantě pěstování. HTZ dosahuje až 49,5 g. Odrůda je středně odolná proti napadení padlím travním na listu, padlím travním v klasu a braničnatce plevové. Méně odolná je však proti napadení listovými skvrnitostmi a rzí pšeničnou.

3.4 Kultivace hub

Kmeny mykoparazitických hub byly kultivovány formou separačních čar. Médium PDA (Potato Dextrose Agar) výrobce firma Himedia bylo připraveno dle návodu na obale standardního polotovaru, sterilováno a rozlito do sterilních Petriho misek. Masa konidií byla přenesena do středu misky na PDA pomocí sterilní inokulační kličky. Po inokulaci byly Petriho misky uloženy do plastických sáčků a inkubovány po dobu 7 dní v termostatu $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Fytopatogenní houby byly kultivovány na střed agarových ploten přenosem výřezu agarového bločku o průměru 10 mm z matečné kultury. Kultury byly kultivovány na PDA a inkubovány po dobu 10 dní v termostatu $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Kmeny z biopreparátu SoilGard a Prestop Mix byly získány tak, že 0,5 g biopreparátu bylo rozsypáno na povrch živné půdy PDA. Petriho misky byly vloženy do plastických sáčků a inkubovány po dobu 7 dní v termostatu $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Po inkubaci byl na každé misce zaznamenán růst sporulujícího mycelia mykoparazitické houby resp. garantovaného kmene. Kmen byl přečištěn přenosem konidií pomocí inokulační kličky na povrch umělé živné půdy PDA. Takto získané čisté kultury obou kmenů byly dále používány v pokusech.

Pro moření zrna odrůdy Scirocco vysévané na polní parcely byla použita prášková formulace kmene GL 21, která byla vyrobena v laboratoři. Kmen GL 21 byl kultivován na přirozeném substrátu. Konidie byly po usušení sklizeny do nutritivního nosiče. Takto připravený experimentální preparát obsahoval $2,0 \times 10^9$ konidií v 1 gramu.

3.5 Příprava konidiových suspenzí

Konidiová suspenze mykoparazitických hub byla získána smytím 7 denní staré kultury sterilním roztokem 0,05 % Tween® 80. Získaná suspenze každého kmene byla filtrována přes sterilní gázu a v suspenzi byla pomocí počítací komůrky (Neubauer Improved Chamber, Fisher) stanovena koncentrace spor. Pro pokusy byla základní suspenze spor následně adjustována ředěním (sterilní 0,05 % Tween® 80) na titer $1,0 \times 10^6$ konidií v 1 ml. Pro biologické ošetření kořenů okurky a pro moření osiva byla suspenze adjustována na titer $2,0 \times 10^6$ konidií v 1 ml.

3.6 Standardní test klíčivosti – GI (Germination Index)

Cílem tohoto testu bylo zjistit životnost spor kmenů *T. vires* a kmenů *C. rosea* f. *catenulata* a stanovit u nich index klíčivosti (GI) a procento klíčivosti. Pro test byla použita konidiová suspenze, která byla adjustována na standardní titer ($1,0 \times 10^6$ konidií na 1 ml suspenze). Pomocí laboratorní klíčky byla takto připravená suspenze konidií nanášena ve formě kapek na povrch podložního sklíčka s tenkou vrstvou agaru (2 % vodní roztok).

Po zaschnutí kapek suspenze bylo podložní sklíčko umístěno do vlhké komůrky, plastové sterilní Petriho misky s navlhčeným sterilním filtračním papírem na dně. Poté byly Petriho misky v sáčcích umístěny do termostatu vytemperovaného na teplotu $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Klíčivost a vývoj patogena byla vyhodnocována pomocí světelného mikroskopu v pravidelných intervalech po 24 a 48 hodinách. V zónách kapek byl hodnocen vývoj konidií v náhodně vybraném zorném poli mikroskopu. Bylo hodnoceno minimálně 100 konidií. Při hodnocení byla využívána následující hodnotící indexová stupnice (GI).

G index – charakteristika

0	Na konidii nejsou patrné žádné morfologické změny, konidie neklíčí.
0,5	Konidie nabobtnalá, jednostranný klíček je v poměru ke konidii 1: 0,5.
1,0	Velikost klíčku je v poměru 1:1 a více, maximálně však 1: 3.
1,5	Klíček je více než 3 x delší než matečná konidie.
2,0	Dlouhá hyfa, dochází k sekundárnímu větvení hyfy, tvorba mycelia.
2,5	Na hyfách se tvoří konidiofory, ale pouze ojediněle, začátek sporulace, 1-4 konidie.
3,0	Úplná sporulace, konidie jsou soudržné v mucilagenním balíčku.

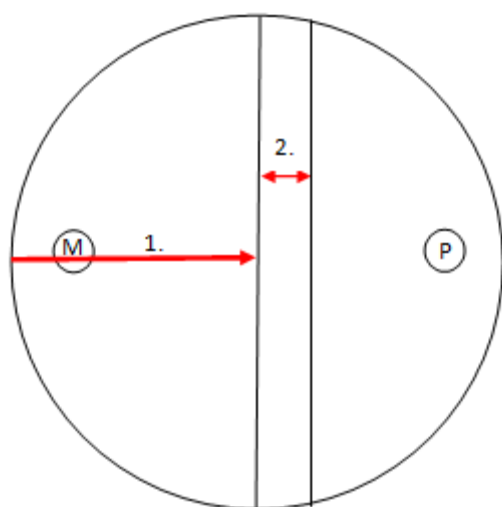
Po zaznamenání individuálních indexů hodnocené populace byl stanoven průměrný G index a směrodatná odchylka výběru. Klíčivost (%) byla stanovena z podílu konidií s G indexem 0 (neklíčící) a všech ostatních indexů (G index 0,5 a vyšší).

3.7 Interakční „in vitro“ testy na agarových plotnách

Cílem párových interakčních testů na PDA plotnách je zaznamenat schopnost mykoparazitických hub ovlivnit růst a vývoj původců onemocnění rostlin. Myceliální disk (v průměru 10 mm) byl vyříznut z každého rostlinného patogenu (*R. solani*, *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *F. solani*) a byl umístěn na jeden okraj Petriho misky (o průměru 90 mm) s PDA. Inokulační terčik byl získán z kraje 10 dnů staré kultury patogenní houby. Na protilehlou stranu Petriho misky byla umístěna kapka o suspenzi $1,0 \times 10^6$ konidií v 1 ml každého kmene houby *T. virens* a *C. rosea* f. *catenulata*. U interakce mezi každým kmenem *T. virens*, *C. rosea* f. *catenulata* a patogenem byly provedeny tři opakování. Petriho misky byly inkubovány při $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Supresivní interakce mezi kmeny *T. virens* a rostlinnými patogeny byla hodnocena po 7, 9, 14 dnech a u *C. rosea* f. *catenulata* byla hodnocena po 7, 14, 23 dnech.

3.7.1 Zóna dotyku a zóna mykoparazitismu

Zóna dotyku je definována jako vzdálenost od okraje misky, kde byla mykoparazitická houba inokulována k místu spojení s patogenní houbou. Zóna mykoparazitismu je definována jako zóna, kde kmeny *T. virens*, *C. rosea* f. *catenulata* přerůstají kulturu rostlinného patogenu. Kontrolní verzi představuje varianta, ve které je jak patogen, tak jednotlivé kmeny *T. virens*, *C. rosea* f. *catenulata* inokulovány zvlášť na oba okraje Petriho misky. V interakci s každým patogenem byla hodnocena zóna dotyku, zóna mykoparazitismu, počet sklerocií a množství vyprodukovaných spor.



M = kmen mykoparazitické houby

P = patogen (fytopatogenní houba *S. sclerotiorum* nebo *R. solani*)

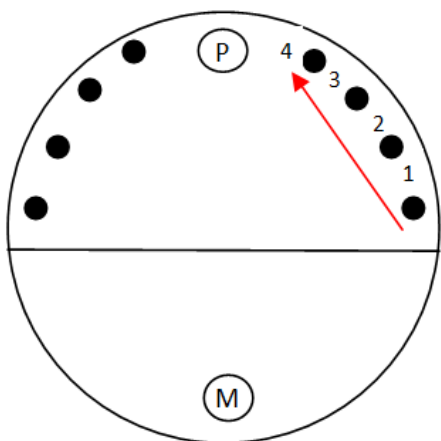
1. = zóna dotyku – měřena od okraje misky k místu střetu mykoparazita s patogenem

2. = zóna mykoparazitismu – zóna přerůstání kultury patogenu mykoparazitickou houbou

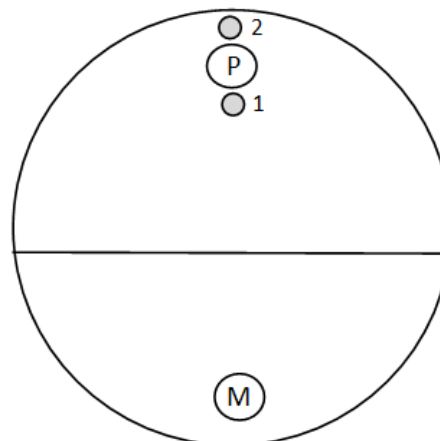
3.7.2 Ověřování účinnosti mykoparazitické houby *T. virens* na vybrané druhy fytopatogenních hub

Vytvořená sklerocia *S. sclerotiorum* v párových testech každé varianty byla přenesena na střed živné půdy PDA v malých Petriho miskách (60 mm). Sklerocia se tvořila na kultuře *S. sclerotiorum* na obou stranách Petriho misky.

Do pokusu ověřování parazitace byla vzata sklerocia jen z pravé strany misky, kdy za 1 sklerociem bylo označeno to nejbliže k mykoparazitické houbě a následně se brala sklerocia směrem k terčíku fytopatogenní houby *S. sclerotiorum*. V interakčních testech mykoparazitické houby proti fytopatogenním druhům hub byly vyříznuty 2 terčíky: (1 terčík – pod primárním terčíkem fytopatogenní houby, 2 terčík – nad terčíkem fytopatogenní houby). Každý terčík byl umístěn doprostřed živné půdy v Petriho misce (60 mm). Petriho misky se sklerocií a terčíky byly vloženy do plastického sáčku a inkubovány při 20 ± 1 °C. Po 7 dnech bylo hodnoceno, zda sklerocia resp. terčíky byla parazitována mykoparazitickou houbou. V případě, že ano, ze sklerocií resp. terčíků odrůstala mykoparazitická houba (prokázání parazitace). Pokud nedošlo k mykoparazitismu, ze sklerocia nebo terčíků se vyvinula zdravá kultura fytopatogenní houby včetně tvorby sklerocií u druhu *S. sclerotiorum*.



Ověřování parazitace vyvinutých sklerocií houby *S. sclerotiorum* v interakci s jednotlivými kmeny mykoparazitických hub



Ověřování parazitace terčíků vyříznutých z kultur fytopatogenních druhů hub v interakci s jednotlivými kmeny mykoparazitických hub

3.7.3 Výtěžnost spor mykoparazitické houby *T. virens* v kombinaci s patogeny

Cílem pokusu je porovnat jaké množství konidií vyprodukují jednotlivé kmeny mykoparazitické houby v interakci s jednotlivými druhy fytopatogenních hub v porovnání s kontrolní variantou tj. bez interakce s těmito patogeny. Produkce konidií se stanovovala 14. den, jak z kontrolních kultur kmenů mykoparazitické houby *T. virens*, tak i z kultur mykoparazitické houby *T. virens* v interakci s fytopatogenními druhy hub. V kontrolní variantě, kde byly proti sobě inokulovány dvě kapky jednotlivých kmenů, byl celý obsah Petriho misky homogenizován v mixéru s adekvátním množstvím vody (100 ml na jednu Petriho misku). Pomocí počítač komůrky - hematocymetru (Neubauerova vylepšená komůrka) byla stanovena produkce konidií. Celková produkce spor byla vydělena dvěma, aby se získalo množství konidií vyprodukovaných z jedné kapky. V rámci interakčních testů byl opět obsah celé Petriho misky homogenizován ve stejném množství vody a následně byla stanovena koncentrace vyprodukovaných konidií daného kmene v interakci s fytopatogenními druhy hub.

3.8 Biologické ošetření kořínků rostlin okurky seté

Cílem biotestu bylo zjistit jaký vliv má kmen GL 21 mykoparazitické houby *T. virens* v kombinaci s hydrogelem na vývoj kořenové soustavy resp. vývoj celé rostliny okurky seté. Semena okurky seté byla předkličována v zahradnickém substrátu. Rostliny byly ve fázi děložních listů (výška rostliny 3 cm) vyjmuty ze substrátu a jejich kořeny byly omyty vodou. Rostliny s čistými kořínky byly po omytí umístěny na filtrační papír, aby se odvedla přebytečná voda. Takto připravené rostliny byly použity pro následné ošetření kořínků ponořením do následujících variant:

Varianta		Biologické ošetření
1.	kontrola	Kořínky okurky seté byly namočeny do sterilní destilované vody.
2.	<i>Trichoderma virens</i>	Suspenze <i>T. virens</i> o koncentraci 2×10^6 byla smíchána se sterilní destilovanou vodou v poměru 1:1; výchozí směs na ošetření kořenů obsahovala v 1 ml 1×10^6 spor.
3.	Agrisorb 0,5 %	0,5 g Agrisorbu bylo rozpuštěno ve 100 ml vody.
4.	Tvi + 0,5 % Agrisorb	Suspenze <i>T. virens</i> o koncentraci 2×10^6 byla smíchána s roztokem 1 % Agrisorb v poměru 1:1; výchozí 0,5 % roztok Agrisorbu obsahoval v 1 ml $1,0 \times 10^6$ konidií.

Ošetřené rostliny v jednotlivých variantách byly následně zasazeny do multiplat (3 x 8 buněk) se zahradnickým substrátem B. Rostliny byly zality a následně pěstovány po dobu 30 dní v klimaboxu při 25 ± 1 °C, se světelným režimem 12/12. Po 30 dnech byly hodnoceny parametry délky částí rostlin a sušina jednotlivých částí rostlin. Sušina byla stanovena sušením biomasy v sušárně při teplotě 105 °C po dobu 4 hodin.

Hodnocené parametry:

Délka rostliny	Sušina biomasy *
- délka celé rostliny	- hmotnost nadzemní části před sušením
- délka nadzemní části	- hmotnost nadzemní části do usušení
- délka kořenové soustavy	- hmotnost kořene před sušením
- délka listů **	- hmotnost kořene po usušení
- počet listů	

* z každé rostliny byl oddělen kořen v místě děložního krčku

** délka listu se měřila od řapíku ke špičce

3.9 Moření osiva pšenice jarní

Cílem testu bylo najít pro moření osiva vhodný nosič, pomocí kterého by byly konidie mykoparazitické houby *T. virens* přichyceny na povrch obilky a zároveň cílem bylo zjistit, jaký vliv mají jednotlivé nosiče resp. mykoparazitická houba na klíčivost obilek a její následný vývoj. Ošetření osiva pro hodnocení nosiče kmene GL 21 houby *T. virens* bylo provedeno mořením tzv. „mokrou cestou“, kdy byly připraveny následující varianty:

Varianta	Moření
1. Kontrola	Obilky pšenice jarní byly namočeny po dobu 10 minut do sterilní destilované vody.
2. <i>Trichoderma virens</i>	Obilky byly promíchány s práškovou formulací houby <i>T. virens</i> (0,5 g prášku na 500 obilek).
3. 0,5% CMC	0,5 g karboxymethylcelulózy bylo rozpuštěno ve 100 ml sterilní destilované vody.
4. 1% CMC	1 g karboxymethylcelulózy bylo rozpuštěno ve 100 ml sterilní destilované vody.
5. 0,5% Guar Gum	0,5 g guaranové gumy bylo rozpuštěno ve 100 ml sterilní destilované vody.
6. 1% Guar Gum	1 g guaranové gumy bylo rozpuštěno ve 100 ml sterilní destilované vody.
7. Tvi + 0,5% CMC	Suspenze <i>T. virens</i> o koncentraci 2×10^6 byla smíchána s roztokem 1 % CMC v poměru 1:1; výchozí směs na moření obsahovala v 1 ml 0,5 % roztoku CMC 1×10^6 spor.
8. Tvi + 1% CMC	Suspenze <i>T. virens</i> o koncentraci 2×10^6 byla smíchána s roztokem 2 % CMC v poměru 1:1; výchozí směs na moření obsahovala v 1 ml 1 % roztoku CMC 1×10^6 spor.
9. Tvi + 0,5% Guar Gum	Suspenze <i>T. virens</i> o koncentraci 2×10^6 byla smíchána s roztokem 1 % Guar Gum v poměru 1:1; výchozí směs na moření obsahovala v 1 ml 0,5 % roztoku Guar Gum 1×10^6 spor.
10. Tvi + 1% Guar Gum	Suspenze <i>T. virens</i> o koncentraci 2×10^6 byla smíchána s roztokem 2 % Guar Gum v poměru 1:1; výchozí směs na moření obsahovala v 1 ml 1 % roztoku Guar Gum 1×10^6 spor.

Osivo pšenice jarní bylo vystaveno jednotlivým roztokům po dobu 10 minut a po vyjmutí bylo osivo následně sušeno na sítěch aktivním proudem vzduchu ve flow-boxu. Po zaschnutí byly obilky z jednotlivých variant přeneseny do sterilních plastových krabiček a do analýzy byly uloženy v lednici. Po namoření byla stanovena koncentrace konidií houby *T. virens* na 1 obilku. Z každé varianty bylo odebráno 10 obilek, které byly umístěny do sterilních zkumavek. K obilkám byly dodány 3 ml 0,05 % roztoku sterilní destilované vody s Tween 80. V získané suspenzi byl stanoven počet spor na 1 ml a následně byl stanoven průměrný počet spor na 1 obilku.

Pro moření osiva pšenice jarní použitého k polnímu pokusu byla použita varianta, kde byla houba *T. virens* v kombinaci s 0,5 % karboxymethylcelulózou. Mořicí jácha určena k moření byla připravena z práškové formulace mykoparazitické houby *T. virens*. Prášková formulace kmene GL 21 obsahovala $2,0 \times 10^9$ spor v 1 g. Do 200 ml 0,5 % roztoku CMC byl vmíchán 1 g přípravku GL 21 a obsah byl důkladně promíchán. V tomto kroku obsahovala jácha $1,0 \times 10^7$ konidií v 1 ml. Následně bylo k jíše přidáno dalších 200 ml 0,05 % CMC tj. míchání v poměru 1:1. Finální jácha 0,5 % CMC obsahovala koncentraci $5,0 \times 10^6$ konidií v 1 ml.

Obilky byly převedeny do takto připravené mořicí jíchy a po jejich řádném obalení, byly obilky přeneseny na sterilní síta a pomocí aktivního proudu vzduchu byly sušeny ve flow-boxu. Kontrolní obilky byly ošetřeny vodou a následně osušeny opět ve flow-boxu. Osivo bylo připraveno na 8 parcel (4 parcelky s nemořeným osivem a 4 parcelky s namořeným osivem). Po moření byla opět stanovena koncentrace konidií kmene GL 21 houby *T. virens* na 1 obilku. Třikrát dvacet namořených obilek bylo vloženo do sterilní zkumavky a obilky byly řádně vymyty v 6 ml 0,05 % roztoku destilované vody s Tween 80. V získané suspenzi byla stanovena koncentrace konidií v 1ml a následně přepočtem byla stanovena průměrná hodnota konidií na 1 obilku.

3.9.1 Ověření klíčivosti biologicky ošetřeného osiva před setím

Cílem testu bylo ověřit biologickou hodnotu osiva po namoření a zároveň ověřit vitalitu spor *T. virens* ulpělou na obilkách pšenice jarní. Na živnou půdu PDA bylo umístěno 25 obilek (5 x 5) biologicky ošetřeného osiva. Pro každou variantu byly připraveny 3 opakování. Zároveň byla stanovena standardní klíčivost obilek na klíčidlech. Do klíčidel byl umístěn sterilní filtrační papír, který zasahoval svými okraji do vody na dně klíčidla s cílem navlhčit tento arch papíru. Na jednotlivé varianty biologicky ošetřeného osiva bylo použito 100 obilek ve 2 opakováních. Energie klíčivosti byla stanovena po 3 dnech a laboratorní klíčivost po 7 dnech. Procento klíčivosti bylo stanoveno klasickým způsobem, kdy byly hodnoceny klíčivé (délka klíčku > 0,3 mm) a neklíčivé obilky (délka klíčku < 0,3 mm). V rámci klíčivosti obilek byly dále hodnoceny parametry délka hlavního kořínku, počet kořínků a délka děložního listu, které přinesly nadhodnotu vývoje klíčivých obilek. Pro parametry délky hlavního kořínku a délky děložního listu byly sestaveny tyto stupnice:

Délka hlavního kořínku

Index	Charakteristika
0	Klíček obilky delší než 0,3 mm, ale ne delší než polovina délky obilky
1	Klíček obilky je stejně dlouhý jako délka obilky
2	Klíček obilky je dvakrát delší než délka obilky
3	Klíček obilky je třikrát delší než délka obilky
4	Klíček obilky je čtyřikrát delší než délka obilky

Délka děložního lístku

Index	Charakteristika
0	Děložní lístek kratší než 0,3 mm
1	Děložní lístek delší než 0,3 mm, ale ne delší než polovina délky obilky
2	Děložní lístek obilky je dvakrát delší než délka obilky
3	Děložní lístek je třikrát delší než délka obilky
4	Děložní lístek je čtyřikrát delší než délka obilky

3.9.2 Polní pokus

Charakteristika pozemku a založení pokusu

Pokus byl založen v roce 2012 na školním pozemku Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity katedry rostlinné výroby v Českých Budějovicích. Školní pozemek se nachází v bramborářském výrobním typu, obilnářské výrobní oblasti, v nadmořské výšce 383 m. n. m. Půdní typ – hnědozem, z hlediska půdního druhu se jednalo o půdu písčito – hlinitou s jemnou zrnitostí. Reakce půdy je slabě kyselá. V roce 2011 nebyla na pozemku žádná předplodina. Průměrná roční teplota byla 7,8 °C, průměrný roční úhrn srážek 620 mm. Na podzim byla provedena orba, hnojení dusíkem - základní (předset'ová) dávka LAV 27,5 % N (50 kg č. ž). Na jaře byl pozemek upraven smykem a branami.

Nemořené a mořené osivo bylo vyseto 27. 3. 2012 pomocí maloparcelkového bezezbytkového secího stroje HEGE střídavě na 8 parcel. Rozloha každé parcely byla 10 m² tj. 8 x 1,25 m. Výsevek osiva na jednu parcelu byl 200 g, což odpovídá 20 g na m². Průměrná HTZ osiva byla 39,58 g. Osivo bylo vyseto do hloubky 40 mm o šířce řádků 125 mm.

Rostliny pšenice jarní byly dále během vegetace ošetřovány suspenzí mykoparazitické houby *T. virens*, která byla získána rozpuštěním 10 g experimentálního preparátu kmene GL 21 v 10 litrech vody. Finální koncentrace spor v 1 ml suspenze byla $2,0 \times 10^6$ v 1 ml. První ošetření rostlin pšenice suspenzí *T. virens* bylo provedeno ve fázi odnožování BBCH 25 (4. 5. 2012). Druhé ošetření bylo provedeno ve fázi sloupkování BBCH 32 (14. 5. 2012). Na konci sloupkování (21. 5. 2012) byly rostliny ošetřeny herbicidem MUSTANG. Sklizeň pšenice jarní byla provedena 6. srpna 2012 pomocí maloparcelkové sklízecí mlátičky WINTERSTEIGER ELIETE.

Ošetření pšenice jarní kmenem GL 21 mykoparazitické houby *T. virens* bylo provedeno i během vegetace ve fázi odnožování a ve fázi sloupkování (+ ošetřeno a – neošetřeno).

Parcela č.	Moření před setím	Ošetření během vegetace (suspenze <i>T. virens</i>)	
		Odnožování BBCH 25	Sloupkování BBCH 32
Parcela 1	-	-	-
Parcela 2	+	-	-
Parcela 3	-	+	-
Parcela 4	+	+	-
Parcela 5	-	-	+
Parcela 6	+	-	+
Parcela 7	-	+	+
Parcela 8	+	+	+

3.9.3 Sledování rostlin během vegetace

1) Počet rostlin na 1m²

Počet rostlin na 1m² byl proveden pomocí čtvrt metrovky dne 4. 5. 2012 při odnožování. Měření bylo provedeno 2 x 2 opakování z každé parcely. Ve výsledkové části se pracuje s průměrnými hodnotami.

2) Počet odnoží na 1m²

Na každé parcele byly počítány odnože u 20 náhodně vybraných rostlin a následně byl stanoven průměr odnoží na 1 rostlinu a poté počet odnoží na 1 m² porostu.

3) Měření výšky rostlin

Z každé parcely bylo náhodně vybráno 40 rostlin po ukončení sloupkování a 20 rostlin na začátku zrání, u každé rostliny byla změřena výška dané rostliny. Výška rostlin se měřila pomocí svinovacího metru od země ke konci klasu. Na každé testované parcele byla stanovena průměrná výška rostliny.

4) Zjišťování výskytu chorob (druhy původců onemocnění rostlin a procentuální napadení)

U pšenice jarní byly na testovaných parcelách hodnoceny následující listové a klasové choroby: braničnatka pšeničná (*Septoria tritici*), rez (*Puccinia* spp.), helmintosporiová skvrnitost (*Drechslera tritici repentis* – HTR), mazlavá sněť pšeničná (*Tilletia caries*), fuzariózy (*Fusarium* spp.). U braničnatky se navíc hodnotilo i celkové procentické napadení klasu. U každé hodnocené choroby bylo stanoveno procentuální napadení vztahované na celkovou plochu listu. Používala se následující stupnice: 0, 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100. Např. 5 znamená, že je danou chorobou napadeno přibližně 5% listu. 0 znamená zcela zdravý list bez jediné skvrny. Z každé parcely bylo náhodně vybráno 10 praporcových listů (F) a 10 podpraporcových listů (F-1). K hodnocení nebyly vybírány rostliny z okrajů parcely. Mazlavá sněť pšeničná, Fusariózy byla vyjadřovány v počtu napadených klasů na testovaných parcelách 1 – 8. Výskyt chorob byl sledován 2. 7. 2012 (na začátku zrání).

5) Zjišťování výskytu škůdců (druhy, procentuální napadení)

Žír kohoutka černého na listech byl sledován ve dne 1. 6. 2012 (na konci sloupkování) na parcelách 1 – 8. Z každé parcely bylo náhodně vybráno 20 listů. Při hodnocení napadení rostlin škůdci byla použita následující stupnice: 0% - rostliny zdravé, 1 -15 % rostliny slabě napadené, 15 – 40 % rostliny středně napadené, (Zvára a Voženílková, 1992).

6) Izolace hub z půdy

Použité metody SBM – (*Sclerotia bait method* – metoda nástrahy živých pastí) a DPT – (*Dilution plate technique* – metoda ředění). Při metodě SBM je odebráno 20 ml půdního vzorku do Petriho misky o průměru 60 mm a do půdního vzorku je dodáno 10 sklerocií. Půdní vzorky byly inkubovány v termostatu při 25 °C po dobu 21 – 28 dnů. Následně se z půdního vzorku odebralo 2 x 40 ml a vzorky byly umístěny do Petriho misky o průměru 90 mm. Do jedné Petriho misky bylo následně umístěno 6 larev zavíječe voskového (*Galleria mellonella*) a do druhé 10 larev potemníka moučného (*Tenebrio molitor*). Inkubace larev v půdním vzorku probíhala při 25 °C po dobu 14 dnů. Vzorky byly podle potřeby zvlhčovány destilovanou vodou a každý druhý den byly převraceny o 180°, aby bylo docíleno pohybu larev půdním vzorkem.

Pro metodu *DPT* bylo odebráno 20 ml půdního vzorku. Půdní vzorek byl převeden do Erlenmayerovy baňky a následně přelit do 100 ml roztoku 0,05 % Tween® 80. Vzorky byly umístěny na reciprokou třepačku po dobu 15 minut při otáčkách 150 rpm. Po promísení byl vzorek 2 x ředěn v poměru 1: 9. Výluh půdy (0,5 ml) byl nainokulován na živnou půdu PDA s přídatkem antibiotik, a dalších 0,5 ml výluhu bylo nainokulováno na povrch selektivní živné půdy s přídatkem fungicidní složky dodine a antibiotik. Tato selektivní živná půda je určena k izolaci entomopatogenních hub z půdních vzorků. Inkubace Petriho misek probíhala při 25 °C po dobu 14 dnů. Izolace hub z půdních vzorků byla provedena před setím za účelem zjištění přítomnosti jak mykoparazitických tak entomopatogenních hub na školním pozemku. Izolace hub byla provedena i během vegetace s cílem zaznamenat, zda li se z půdních vzorků odizoluje houba *T. virens*, která byla použita pro moření osiva, ale i následně pro aplikaci na vzešlé rostliny pšenice jarní. Během vegetace byly vzorky odebrány v době sloupkování (22. 5. 2012).

7) Počet zrn v klasu

Počet zrn v klasu byl prováděn u deseti průměrných klasů z každého vzorku. Aritmetickým průměrem byl vypočítán průměrný počet zrn v klasu.

3.9.4 Posklizňové rozborů vzorků osiva pšenice

1) Skutečný výnos

Skutečný výnos byl proveden u každé testované parcely. Po sklizni bylo zrno zváženo na vahách a tímto způsobem byl zjištěn skutečný výnos.

2) Hmotnost tisíce zrn (HTZ)

Hmotnost tisíce zrn byla stanovena v plné zralosti z podílu čistých zrn a z podílu zrn ze síta o velikosti 2,5 x 2,2 mm ručním odpočítáním dvakrát 500 zrn a jejich zvážením.

3) Podíl zrn na sítu

Ze sklizeného osiva z parcel 1 - 8 bylo odváženo 3 x 1 kg osiva a poté osivo bylo roztříděné pomocí sít o velikosti (2,5 x 2,2 mm; 2,2 x 2,2 mm; 2,0 x 2,2 mm; 1,8 x 2,2 mm). Následně byl zaznamenán procentuální podíl zrn na sítěch.

4) Hodnocení osiva po sklizni

V rámci hodnocení vitality obilky byl proveden test klíčivosti na klíčidlech. Na připravená klíčidla byly umístěny obilky (2 x 100 obilek) z každé parcely a to ze sít o velikosti 2,5 x 2,2 mm a 2,0 x 2,2 mm. Po 3 dnech byla stanovena energie klíčivosti, po 7 dnech laboratorní klíčivost a zároveň byly hodnoceny parametry délka hlavního kořínku, délka děložního lístku a zdravotní stav obilky.

Legenda

BC - *Botrytis cinerea*

CMC 0,5 %, 1 % - Carboxymethylcelulóza

CTRL – kontrola, osivo není biologicky ošetřené

HTR – *Drechslera tritici repentis*

Fus - *Fusarium solani*

Gca – houba *Clonostachys rosea* f. *catenulata*

GL -21 – biopreparát SoilGard

GUAR 0,5 %, 1 % - Guaranová guma

HTZ – hmotnost tisíce zrn

Isa – *Isaria fumosorosea*

Lle - *Lecanicillium lecanii*

Man – *Metarhizium anisopliae*

Parcela A – D – další pokusné parcely s odrůdou Scirocco pěstované na školním pozemku. Obilky v těchto variantách nebyly nikterak ošetřeny. Pro diplomovou práci sloužily též jako kontrolní parcely. Rozdíl mezi kontrolní variantou parcely označenou jako parcelka 1 a těmito parcelkami A – D je ten, že parcela 1 byla izolovaná od parcel A-D rostlinami ovsa. Rostliny ovsa byly jakousi izolací mezi jednotlivými parcelami odrůdy Scirocco

Parc 1 (Parcela 1) - osivo nebylo biologicky ošetřené před setím ani během vegetace

Parc 2 (Parcela 2) – osivo bylo biologicky ošetřené před setím, nebylo ošetřené během vegetace

Parc 3 (Parcela 3) – osivo nebylo biologicky ošetřené před setím, bylo ošetřené v době odnožování

Parc 4 (Parcela 4) – osivo bylo biologicky ošetřené před setím a v době odnožování

Parc 5 (Parcela 5) – osivo nebylo biologicky ošetřené před setím, bylo ošetřeno v době sloupkování

Parc 6 (Parcela 6) – osivo bylo biologicky ošetřené před setím a v době sloupkování

Parc 7 (Parcela 7) – osivo nebylo biologicky ošetřené před setím, bylo ošetřené v době odnožování a sloupkování

Parc 8 (Parcela 8) - osivo bylo biologicky ošetřené před setím a během vegetace v době odnožování a sloupkování

RH - *Rhizoctonia solani*

Scl - *Sclerotinia sclerotiorum*

Tvi – houba *Trichoderma virens*

4. Experimentální část a výsledky

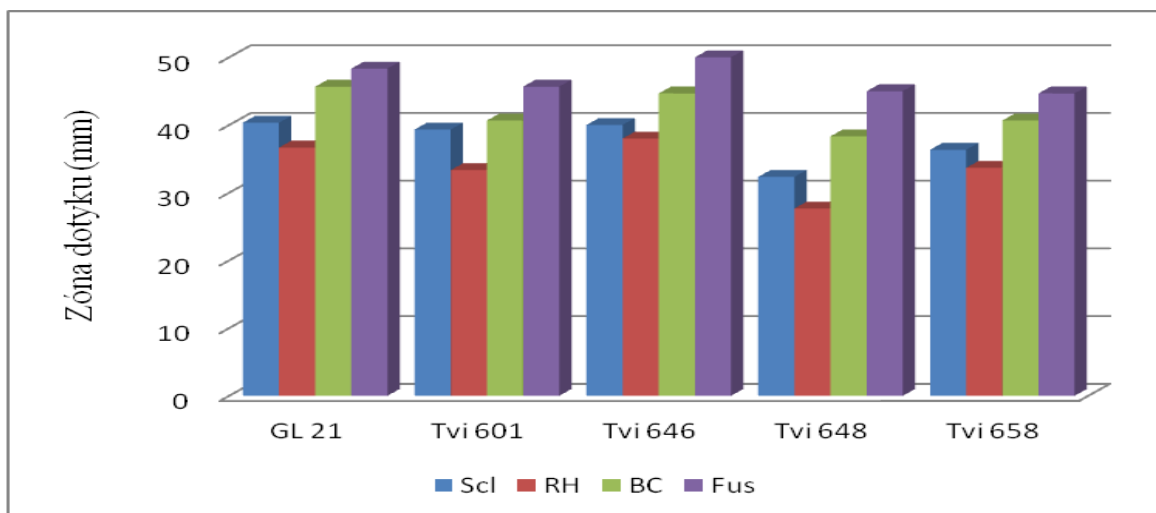
4.1. Hodnocení kmenů *T. virens*, *C. rosea* f. *catenulata*.

Tabulka č. 1: Klíčivost konidií kmenů *T. virens* a *C. rosea* f. *catenulata* po 24 a 48 hodinách; index klíčivosti (GI) řazen od 0 (konidie neklíčí) do 3 (plná sporulace houby).

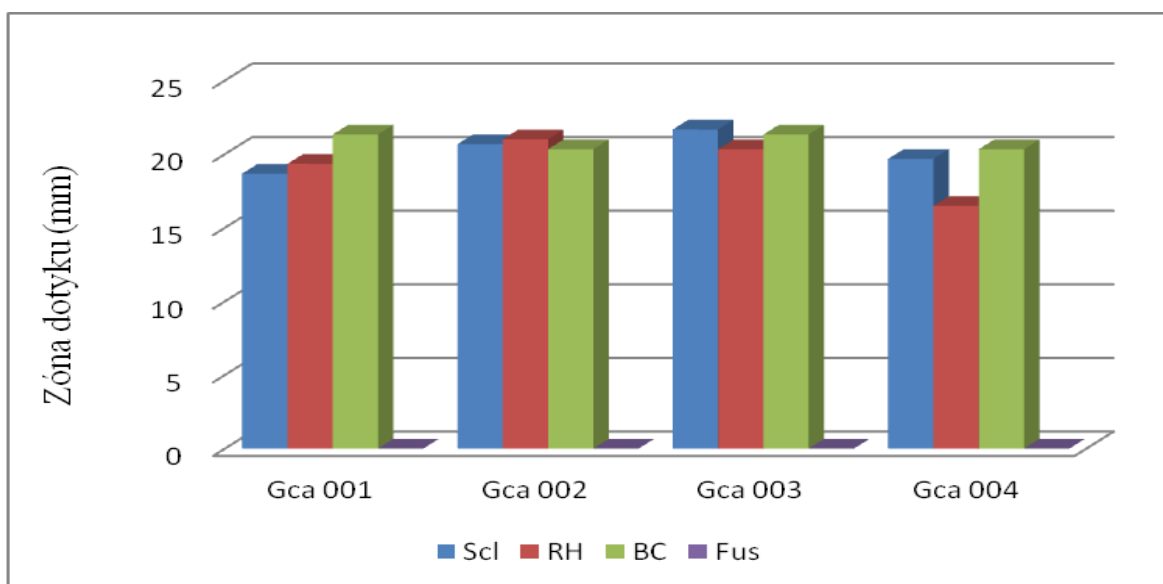
Kmen	24 hodin		48 hodin	
	Index klíčivosti (GI)	% klíčivosti	Index klíčivosti (GI)	% klíčivosti
GL 21	1,85	95,71	1,87	95,90
Tvi 601	1,89	97,46	1,91	98,17
Tvi 646	1,75	96,80	1,87	97,06
Tvi 648	1,70	90,24	1,79	90,65
Tvi 658	2,00	100	2,00	100
Gca 001	1,82	95,57	2,37	98,00
Gca 002	2,00	100	2,00	100
Gca 003	1,97	99,28	2,00	100
Gca 004	1,91	98,67	2,44	99,38

Klíčivost spor všech kmenů *T. virens* byla vysoká. Klíčivost konidií se pohybovala od 90 do 100 % po 24 hodinách. Index klíčivosti konidií *T. virens* dosahoval téměř indexu 2, kdy je klíček více než 3 x tak dlouhý jako matečná konidie (sekundární větvení na jednom z klíčků; na matečné konidii jsou dva dlouhé klíčky). Klíčivost spor všech kmenů *C. rosea* f. *catenulata* byla vyšší oproti kmenům *T. virens*. Klíčivost spor byla od 95 do 100 % po 24 hodinách a 98 až 100 % po 48 hodinách. Index klíčivosti spor *C. rosea* f. *catenulata* se pohyboval také kolem indexu 2. U kmene Gca 001 a Gca 004 došlo již po 48 hodinách k plné sporulaci (Index = 3).

Graf č. 1: Průměrná zóna dotyku mezi kmeny *T. virens* a rostlinnými patogeny 7 den.



Graf č. 2: Průměrná zóna dotyku mezi kmeny *Clonostachys rosea* f. *catenulata* 7 den.



V duálních testech, všechny testované kmeny *T. virens* výrazně omezily koloniální růst patogenů. Patogeni *R. solani*, *S. sclerotiorum* a *B. cinerea* jsou rychle rostoucí druhy hub ve srovnání s patogenem *F. solani*, který roste pomaleji. Zóna dotyku mezi *T. virens* a *S. sclerotiorum* byla měřena od 32,30 mm (Tvi 648) do 40,33 mm (GL - 21). Houby *R. solani* kolonizovaly Petriho misku rychleji než patogeni *S. sclerotiorum* a *B. cinerea*. Patogen *F. solani* je pomalu rostoucí houba, proto *Trichoderma* může kolonizovat prostor rychleji. Vzdálenost kmenů *T. virens* od okraje misky v interakci s *F. solani* je v rozmezí od 44,70 mm (Tvi 658) do 50,3 mm (Tvi 646).

V duálních testech, všechny testované kmeny *C. rosea* f. *catenulata* měly výrazně pomalejší růst oproti patogenům. Zóna dotyku mezi *C. rosea* f. *catenulata* a *S. sclerotiorum* byla měřena od 18,67 mm (Gca 001) do 21,67 (Gca 003). Houba *B. cinerea* kolonizovala Petriho misku rychleji než patogeni *S. sclerotiorum* a *R. solani*. Patogen *Fusarium solani* je rychle rostoucí houba oproti *C. rosea* f. *catenulata* a proto *Fusarium solani* může kolonizovat prostor rychleji. V interakci *C. rosea* f. *catenulata* a *F. solani* se po 7 dnech nevytvořila zóna dotyku. Nicméně, *C. rosea* f. *catenulata* je schopna 23 den přerůst patogena *F. solani*.

Tabulka č. 2a: Průměrná zóna mykoparazitismu kmenů *T. virens* v interakci s rostlinnými patogeny po 7 dnech.

Kmen <i>T. virens</i>	<i>S. sclerotiorum</i>		<i>R. solani</i>		<i>B. cinerea</i>		<i>F. solani</i>	
	Mykoparazitická zóna	Tukey HSD	Mykoparazitická zóna	Tukey HSD	Mykoparazitická zóna	Tukey HSD	Mykoparazitická zóna	Tukey HSD
GL 21	26,33 ± 3,79	Aab	18,00 ± 1,73	Bc	19,67 ± 2,52	Ba	7,33 ± 0,58	Ca
Tvi 601	21,50 ± 3,54	Ab	23,33 ± 1,53	Aab	21,33 ± 6,35	Aa	3,67 ± 0,58	Bb
Tvi 646	29,67 ± 8,39	Aab	18,67 ± 1,53	ABc	17,67 ± 3,21	Ba	4,33 ± 0,58	Cb
Tvi 648	36,33 ± 3,21	Aa	27,00 ± 1,00	Ba	21,00 ± 1,73	Ca	4,00 ± 0,00	Db
Tvi 658	26,33 ± 3,79	Aab	20,00 ± 1,00	ABbc	16,67 ± 2,52	Ba	6,33 ± 2,08	Cab

- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným velkým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu
- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným malým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu

Tabulka č. 2b: Průměrná zóna mykoparazitismu kmenů *T. virens* v interakci s rostlinnými patogeny po 14 dnech.

Kmen <i>T. virens</i>	<i>S. sclerotiorum</i>		<i>R. solani</i>		<i>B. cinerea</i>		<i>F. solani</i>	
	Mykoparazitická zóna	Tukey HSD	Mykoparazitická zóna	Tukey HSD	Mykoparazitická zóna	Tukey HSD	Mykoparazitická zóna	Tukey HSD
GL 21	40,00 ± 1,73	Bc	45,33 ± 0,58	Ac	36,33 ± 0,58	Cb	9,00 ± 0,00	Da
Tvi 601	42,67 ± 1,15	Bbc	48,67 ± 1,15	Ab	41,00 ± 3,61	Bab	6,00 ± 0,00	Cb
Tvi 646	39,67 ± 1,53	Bc	43,00 ± 1,00	Ac	37,33 ± 0,58	Bab	6,00 ± 0,00	Cb
Tvi 648	49,67 ± 1,15	Ba	54,33 ± 0,58	Aa	43,6 ± 2,89	Ca	6,00 ± 0,00	Db
Tvi 658	45,67 ± 2,31	ABab	48,33 ± 1,53	Ab	41,3 ± 3,06	Bab	7,00 ± 0,00	Cab

- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným velkým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu
- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným malým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu

Tabulka č. 3a: Průměrná zóna mykoparazitismu kmenů *Clonostachys rosea* f. *catenulata* v interakci s rostlinnými patogeny po 7 dnech.

<i>Kmen</i> <i>Clonostachys</i> <i>Rosea</i>	<i>S. sclerotiorum</i>		<i>R. solani</i>		<i>B. cinerea</i>		<i>F. solani</i>	
	Mykopaazi tická zóna	Tukey HSD	Mykoparzit ická zóna	Tukey HSD	Mykoparzit ická zóna	Tukey HSD	Mykoparzit ická zóna	Tukey HSD
Gca 001	2,33 ± 0,58	Bc	1,00 ± 0,00	Ca	4,33 ± 1,15	Aa	0,00 ± 0,00	Da
Gca 002	3,33 ± 0,58	Aab	1,00 ± 0,00	Ba	3,33 ± 0,58	Ab	0,00 ± 0,00	Ca
Gca 003	0,00 ± 0,00	Cc	1,00 ± 0,00	Ba	4,33 ± 1,15	Aa	0,00 ± 0,00	Ca
Gca 004	3,67 ± 0,58	Aa	1,00 ± 0,00	Ba	4,00 ± 1,00	Aab	0,00 ± 0,00	Ca

- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným velkým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu
- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným malým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu

Tabulka č. 3b: Průměrná zóna mykoparazitismu kmenů *Clonostachys rosea* f. *catenulata* v interakci s rostlinnými patogeny po 14 dnech.

<i>Kmen</i> <i>Clonostachys</i> <i>Rosea</i>	<i>S. sclerotiorum</i>		<i>R. solani</i>		<i>B. cinerea</i>		<i>F. solani</i>	
	Mykopara zitická zóna	Tukey HSD	Mykopara zitická zóna	Tukey HSD	Mykopara zitická zóna	Tukey HSD	Mykopara zitická zóna	Tukey HSD
Gca 001	8,67 ± 1,15	Ca	1,00 ± 0,00	Da	21,33 ± 1,15	Aab	12,67 ± 1,89	Ba
Gca 002	8,00 ± 2,00	Cab	1,00 ± 0,00	Da	20,67 ± 2,31	Aab	12,00 ± 0,00	Bab
Gca 003	1,00 ± 0,00	Cb	1,00 ± 0,00	Ca	18,67 ± 0,58	Ab	2,67 ± 1,15	Bc
Gca 004	8,67 ± 1,15	Ba	1,00 ± 0,00	Da	21,67 ± 0,58	Aa	5,00 ± 1,73	Cb

- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným velkým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu
- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným malým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu

Tabulka č. 3c: Průměrná zóna mykoparazitismu kmenů *Clonostachys rosea* f. *catenulata* v interakci s rostlinnými patogeny po 23 dnech.

Kmen <i>Clonostachys Rosea</i>	<i>S. sclerotiorum</i>		<i>R. solani</i>		<i>B. cinerea</i>		<i>F. solani</i>	
	Mykopara zitická zóna	Tukey HSD	Mykopara zitická zóna	Tukey HSD	Mykopara zitická zóna	Tukey HSD	Mykopara zitická zóna	Tukey HSD
Gca 001	20,00 ± 0,00	Bc	24,33 ± 0,94	Bb	46,67 ± 2,36	Aa	28,33 ± 4,71	Ba
Gca 002	21,33 ± 5,79	Ca	15,67 ± 3,30	Da	42,33 ± 2,05	Ab	36,67 ± 2,04	Bb
Gca 003	20,67 ± 0,94	Bb	30,00 ± 0,00	Ac	25,67 ± 0,94	Bc	17,67 ± 0,47	Cd
Gca 004	15,67 ± 0,94	Db	28,00 ± 0,00	Bc	43,33 ± 2,36	Aa	24,00 ± 1,41	Cc

- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným velkým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu
- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným malým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu

Mykoparazitická zóna kmenů *T. virens* proti rostlinným patogenům byla hodnocena po 7 a 14 dnech. Vliv kmenů *T. virens* na přerůstání kultury *S. sclerotiorum* ($F = 4,0860$; $df = 4,10$; $p = 0,0323$), *R. solani* ($F = 21,759$; $df = 4,10$; $p = 0,0001$) a *F. solani* ($F = 7,2812$; $df = 4,10$; $p = 0,0052$) byly statisticky průkazné po 7 dnech. Všechny kmeny *T. virens* přerůstaly kolonie *B. cinerea*, takže nebyly výrazné statistické rozdíly mezi kmeny ($F = 0,9472$; $df = 4,10$; $p = 0,4762$). Po 7 dnech byl kmen GL 21 mnohem účinnější proti *S. sclerotiorum* a méně účinný proti *F. solani* ($F = 30,9815$; $df = 3,8$; $p = 0,0001$). Stejně skončily kmeny Tvi 646 ($F = 15,4920$; $df = 3,8$; $p = 0,0011$) a Tvi 658 ($F = 32,2393$; $df = 3,8$; $p = 0,0001$). Kmen Tvi 648 ukazoval nejlepší účinnost proti patogenu *S. sclerotiorum*, nejmenší účinnost vykazoval kmen Tvi 601. Účinnost kmene Tvi 648 proti všem čtyřem rostlinným patogenům, bylo statisticky průkazné ($F = 155,000$; $df = 3,8$; $p < 0,0000$). Kmen Tvi 648 ukazoval nejlepší účinnost proti patogenu *R. solani* a nejmenší účinnost vykazoval kmen Tvi GL 21. Kmen Tvi 601 ukazoval nejlepší účinnost proti patogenu *B. cinerea* a nejmenší účinnost vykazoval kmen Tvi 658. Kmen GL 21 ukazoval nejlepší účinnost proti patogenu *F. solani* a nejmenší účinnost vykazoval kmen Tvi 601.

Po 14 dnech všechny kmeny *T. virens* ukazovaly značnou zónu mykoparazitismu proti rostlinnému patogenu *S. sclerotiorum* ($F = 19,79$; $df = 4,10$; $p = 0,0001$) a *R. solani* ($F = 51,16$; $df = 4,10$; $p = 0,0000$). Největší aktivita proti těmto patogenům byla pozorovaná u kmenů Tvi 648, Tvi 658 a Tvi 601. Nejmenší účinnost proti patogenu *S. sclerotiorum* a *R. solani* byla pozorovaná u kmene Tvi 646. Patogen *B. cinerea* je nejvíce citlivý ke všem testovaným kmenům *T. virens* ($F = 4,399$; $df = 4,10$; $p = 0,0262$). Všechny kmeny úplně přerostly *B. cinerea* a pokryly celý povrch media. Kmen Tvi 648 ukazoval nejlepší účinnost proti patogenu *B. cinerea* a nejmenší účinnost vykazoval kmen Tvi GL 21.

V pokusu s patogenem *F. solani* kmen GL 21 vykazoval nejlepší mykoparazitickou aktivitu ze všech testovaných kmenů. Kmeny byly mezi sebou statisticky významné ($F = 5,1000$; $df = 4,10$; $p = 0,0168$). *F. solani* není citlivý patogen k mykoparazitickým houbám *T. virens*. Zóna mykoparazitismu byla krátká u patogena *F. solani* ve srovnání se všemi dalšími rostlinnými patogeny.

Mykoparazitická zóna kmenů *C. rosea* f. *catenulata* proti rostlinným patogenům byla hodnocena po 7, 14 a 23 dnech. Vliv kmenů *C. rosea* f. *catenulata* na přerůstání kultury *S. sclerotiorum* ($F = 32,889$; $df = 3,8$; $p = 0,0001$) byl statisticky průkazný po 7 dnech. Mezi kmeny v interakci s *R. solani* a *F. solani* nebyly výrazné statistické rozdíly. Zóna mykoparazitismu byla krátká u kultury *R. solani* ve srovnání se všemi dalšími rostlinnými patogeny. Vliv kmenů *C. rosea* f. *catenulata* na přerůstání kultury *B. cinerea* ($F = 0,6666$; $df = 3,8$; $p = 0,5957$) byl statisticky průkazný po 7 dnech. Po 7 dnech byl kmen Gca 001 mnohem účinnější proti *B. cinerea* a méně účinný proti *F. solani* ($F = 25,267$; $df = 3,8$; $p = 0,0002$). Kmen Gca 002 byl účinnější proti *B. cinerea*, *S. sclerotiorum* a méně účinný proti *F. solani* ($F = 51,167$; $df = 3,8$; $p < 0,0000$). Kmen Gca 003 byl účinnější proti *B. cinerea* a méně účinný proti *F. solani* a *S. sclerotiorum* ($F = 38,000$; $df = 3,8$; $p < 0,0000$). Kmen Gca 004 ukazoval nejlepší účinnost proti patogenům *S. sclerotiorum*, *B. cinerea* a nejmenší účinnost ukazoval proti patogenu *F. solani*. Účinnost kmene Gca 004 proti rostlinným patogenům bylo statisticky průkazné ($F = 35,000$; $df = 3,8$; $p = 0,0001$).

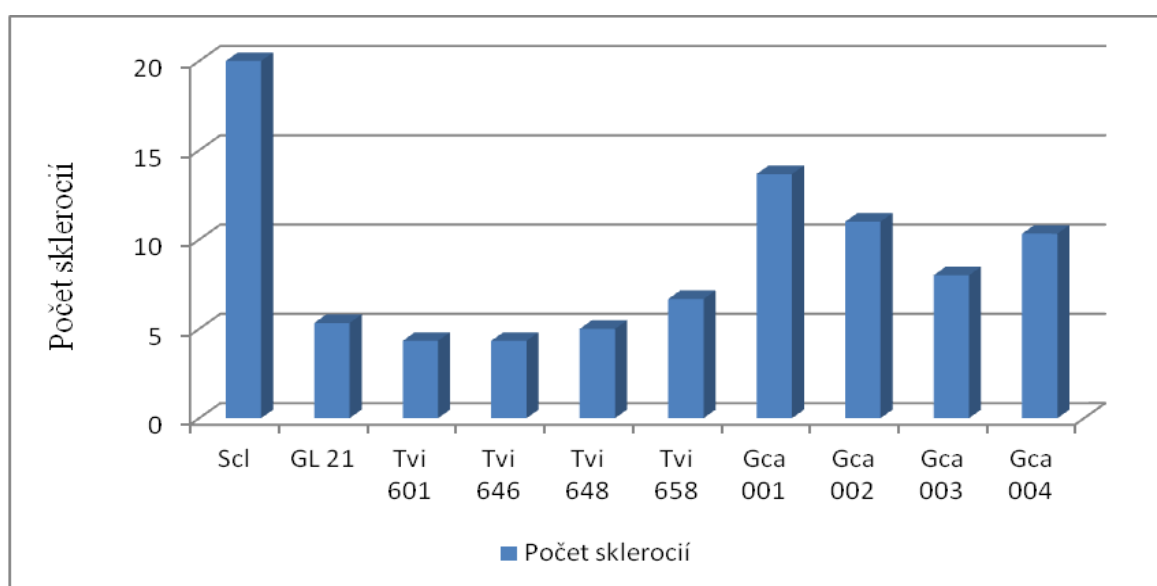
Po 14 dnech kmeny *C. rosea* f. *catenulata* ukazovaly značnou zónu mykoparazitismu proti rostlinnému patogenu *S. sclerotiorum* ($F = 25,116$; $df = 3,8$; $p = 0,0002$) a *F. solani* ($F = 31,115$; $df = 3,8$; $p = 0,0001$). Největší aktivita proti těmto patogenům byla pozorovaná u kmenů Gca 001, Gca 002 a Gca 004. Patogen *B. cinerea* je nejvíce citlivý ke všem testovaným kmenům *C. rosea* f. *catenulata* ($F = 2,9545$; $df = 3,8$; $p = 0,0980$). Všechny kmeny přerůstaly patogena *B. cinerea*. *R. solani* není citlivý patogen k mykoparazitickým houbám *C. rosea* f. *catenulata*. Zóna mykoparazitismu byla krátká u kultury *R. solani* ve srovnání se všemi dalšími rostlinnými patogeny. Po 14 dnech byl kmen Gca 001 mnohem účinnější proti *B. cinerea*, *F. solani* a méně účinný proti *R. solani* ($F = 107,486$; $df = 3,8$; $p < 0,0000$). Také kmen Gca 002 byl mnohem účinnější proti *B. cinerea*, *F. solani* a méně účinný proti *R. solani* ($F = 40,500$; $df = 3,8$; $p < 0,0000$). Kmen Gca 003 byl mnohem účinnější proti *B. cinerea*, méně účinný proti *R. solani* a *S. sclerotiorum* ($F = 531,467$; $df = 3,8$; $p < 0,0000$). Kmen Gca 004 byl mnohem účinnější proti *B. cinerea* a *S. sclerotiorum* a méně účinný proti *R. solani* ($F = 206,167$; $df = 3,8$; $p < 0,0000$).

Po 23 dnech kmeny *C. rosea* f. *catenulata* ukazovaly značnou zónu mykoparazitismu proti rostlinnému patogenu *B. cinerea* ($F = 43,635$; $df = 3,8$; $p = 0,0000$) a *F. solani* ($F = 16,968$; $df = 3,8$; $p = 0,0000$). Největší aktivita proti těmto patogenům byla pozorovaná u kmenů Gca 001, Gca 004. Všechny kmeny přerůstaly patogena *B. cinerea*. *R. solani* ($F = 16,255$; $df = 3,8$; $p = 0,0001$) není citlivý patogen k mykoparazitickým houbám *C. rosea* f. *catenulata*. Zóna mykoparazitismu byla krátká u kultury *R. solani* ve srovnání se všemi dalšími rostlinnými patogeny. Po 23 dnech byly kmeny Gca 001 ($F = 38,933$; $df = 3,8$; $p = 0,0000$), Gca 002 ($F = 23,268$; $df = 3,8$; $p = 0,0003$), Gca 003 ($F = 118,667$; $df = 3,8$; $p = 0,0000$), Gca004 ($F = 65,347$; $df = 3,8$; $p = 0,0000$) statisticky významné.

Tabulka č. 4: Průměrný počet sklerocií v 1 Petriho misce u kmenů *T. virens* a *Clonostachys rosea* f. *catenulata* po 7 dnech.

Kmen	Počet sklerocií (ks)
<i>S. sclerotiorum</i>	20,00 ± 2,24
GL 21	5,33 ± 1,15
Tvi 601	4,33 ± 1,15
Tvi 646	4,33 ± 1,15
Tvi 648	5,67 ± 3,21
Tvi 658	6,67 ± 1,53
Gca 001	13,67 ± 0,58
Gca 002	11,00 ± 3,00
Gca 003	8,00 ± 1,00
GCa 004	10,33 ± 1,15

Graf č. 3: Průměrný počet sklerocií v 1 Petriho misce u kmenů *T. virens* a *Clonostachys rosea* f. *catenulata* po 7 dnech.



V kontrolní interakční variantě *S. sclerotiorum* se vytvořilo 20 sklerocií. V interakci *T.virens* kmeny (GL 21 – Tvi 658) a *S. sclerotiorum* se v průměru vytvořilo 4 – 7 sklerocií. Tvorba sklerocií byla inhibována v interakci s kmeny Tvi 601 a Tvi 646. Obě varianty vytvořily v průměru 4 sklerocia. Největší počet sklerocií vytvořil kmen Tvi 658 a to 7 sklerocií. Nejvíce sklerocií se vytvářelo v interakci *Clonostachys rosea* f. *catenulata* a *S. sclerotiorum* a to v průměru 8 – 14 sklerocií. Nejvíce sklerocií vytvářela *S. sclerotiorum* v interakci s kmenem Gca 001 a to až 14 sklerocií.

Tabulka č. 5: Ověření parazitace terčíku houbou *T. virens* v malých Petriho miskách.

Kmen	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Botrytis cinerea</i>		<i>Fusarium solani</i>	
	Vyříznuté terčíky	Parazitované terčíky	Vyříznuté terčíky	Parazitované terčíky	Vyříznuté terčíky	Parazitované terčíky
GL 21	2	0	2	2	2	1
Tvi 601	2	0	2	2	2	1
Tvi 646	2	0	2	2	2	0
Tvi 648	2	1	2	2	2	1
Tvi 658	2	0	2	2	2	0

Tabulka č. 6: Ověření parazitace sklerocií houbou *T. virens* v malých Petriho miskách.

Kmen	<i>S. sclerotiorum</i>	
	Počet sklerocií	Parazitovaná sklerocia
GL 21	3	2
Tvi 601	3	3
Tvi 646	3	3
Tvi 648	3	2
Tvi 658	3	3

U kmenů *T. virens* v interakci s patogeny *R. solani*, *B. cinerea*, *F. solani* byla hodnocena po 7 dnech schopnost houby *T. virens* parazitovat vyříznuté 2 terčíky, (1 terčík – pod fytopatogenní houbou, 2 terčík – nad fytopatogenní houbou). U kmenů GL 21, Tvi 601, Tvi 646, Tvi 658 v interakci s *R. solani* nedošlo k parazitaci obou terčíků. U kmene Tvi 648 v interakci *R. solani* došlo k parazitaci prvního terčíku houbou *T. virens*. U kmenů GL 21, Tvi 601, Tvi 646, Tvi 648, Tvi 658 v interakci s *B. cinerea* byly parazitovány oba dva vyříznuté terčíky. U kmenů GL 21, Tvi 601, Tvi 648 v interakci s *F. solani* byl parazitován pouze první terčík. U kmenů Tvi 646, Tvi 658 v interakci s *F. solani* nedošlo k parazitaci terčíků.

Tabulka č. 7a: Vliv rostlinných patogenů na produkci spor u kmenů *T. virens* po 14 dnech.

Kmeny <i>T. virens</i>	Kontrola		<i>S. sclerotiorum</i>		<i>R. solani</i>	
	Výnos spor	Tukey HSD	Výnos spor	Tukey HSD	Výnos spor	Tukey HSD
GL 21	4,47 ± 0,16 E+08	Ca	6,79 ± 0,09 E+08	BCa	1,19 ± 0,03 E+09	ABa
Tvi 601	5,08 ± 0,07 E+08	Ba	1,03 ± 0,07 E+09	Ba	1,32 ± 0,10 E+09	Ba
Tvi 646	6,59 ± 0,23 E+08	Ca	6,43 ± 0,11 E+08	Ca	9,66 ± 3,13 E+08	BCa
Tvi 648	6,70 ± 0,18 E+08	Aa	2,90 ± 0,05 E+09	Aa	1,13 ± 0,01 E+09	Aa
Tvi 658	3,21 ± 0,04 E+08	Ba	2,09 ± 0,05 E+09	Aa	1,36 ± 0,02 E+09	ABa

- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným velkým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu
- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným malým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu

Tabulka č. 7b: Vliv rostlinných patogenů na produkci spor u kmenů *T. virens* po 14 dnech.

Kmeny* <i>T. virens</i>	Kontrola		<i>B. cinerea</i>		<i>F. solani</i>	
	Výnos spor	Tukey HSD	Výnos spor	Tukey HSD	Výnos spor	Tukey HSD
GL 21	4,47 ± 0,16 E+08	Ca	1,19 ± 0,03 E+09	ABb	1,35 ± 0,05 E+09	Aa
Tvi 601	5,08 ± 0,07 E+08	Ba	4,49 ± 0,23 E+09	Aa	1,35 ± 0,07 E+09	Ba
Tvi 646	6,59 ± 0,23 E+08	Ca	1,65 ± 0,21 E+09	Ab	1,11 ± 0,02 E+09	Aba
Tvi 648	6,70 ± 0,18 E+08	Aa	7,54 ± 3,48 E+08	Ab	5,84 ± 0,12 E+08	Ab
Tvi 658	3,21 ± 0,04 E+08	Ba	2,31 ± 0,05 E+09	Aab	1,28 ± 0,02 E+09	ABa

*kontrolní varianta je stejná jako v tabulce č. 10a

- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným velkým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu
- Hodnoty ve stejné řadě následované stejným malým písmenem nejsou signifikantně významné podle ANOVA a Tukey HSD testu

Produkce spor u kmenů *T. virens* v interakci s rostlinnými patogeny byla hodnocena po 14 dnech. Nebyly tady žádné statistické rozdíly mezi produkcí spor a kmeny v kontrolním ošetření ($F = 5,4014$; $df = 4,5$; $p = 0,0464$). V kontrolní variantě nejvíce spor produkoval kmen Tvi 648 a nejméně spor produkoval kmen Tvi 658. Také nebyly žádné statistické rozdíly v produkci spor mezi kmeny *T. virens* kultivovaných v interakci se *S. sclerotiorum* ($F = 4,87573$; $df = 4,5$; $p = 0,0562$) a *R. solani* ($F = 2,0384$; $df = 4,5$; $p = 0,2271$). U *S. sclerotiorum* nejvíce spor produkoval kmen GL 21 a nejméně spor produkoval kmen Tvi 601. U *R. solani* nejvíce spor produkoval kmen 646 a nejméně spor produkoval kmen Tvi 648. Ve srovnání kmenů s patogenem *B. cinerea* byla produkce spor vyšší u kmene Tvi 601 ($F = 9,72009$; $df = 4,5$; $p = 0,0141$) a u kmene 648. U *F. solani* nejvíce spor produkoval kmen Tvi 648 ($F = 9,5896$; $df = 4,5$; $p = 0,0145$) a nejméně spor produkoval kmen Tvi 646. Kmen GL 21 produkoval nejvíce spor s patogenem *S. sclerotiorum* a nejméně spor produkoval s patogenem *B. cinerea*. Kmen Tvi 601 produkoval největší počet spor v interakci s kontrolou a nejmenší počet spor produkoval s patogenem *S. sclerotiorum*. Kmen 646 produkoval největší počet spor s patogenem *R. solani* a nejmenší počet spor produkoval s patogenem *F. solani*. Kmen 648 produkoval největší počet spor s patogenem *B. cinerea* a nejmenší počet spor produkoval s patogenem *R. solani*. Kmen 658 produkoval největší počet spor v interakci s kontrolou a nejmenší počet spor produkoval s patogenem *F. solani*.

Z toho vyplývá, že mykoparazitické houby *T. virens* mohou být užívány jako biologičtí činitelé proti *S. sclerotiorum*, *R. solani* a *B. cinerea*. Na druhé straně, houba *T. virens* není schopna snížit vývoj druhu *F. solani*. Mykoparazitické houby *C. rosea* f. *catenulata* být užívány jako biologičtí činitelé proti *B. cinerea*, *F. solani*, *S. sclerotiorum*. Na druhé straně, houba *C. rosea* f. *catenulata* není schopna snížit vývoj druhu *R. solani*.

4.2 Biologické ošetření kořínků rostlin okurky seté

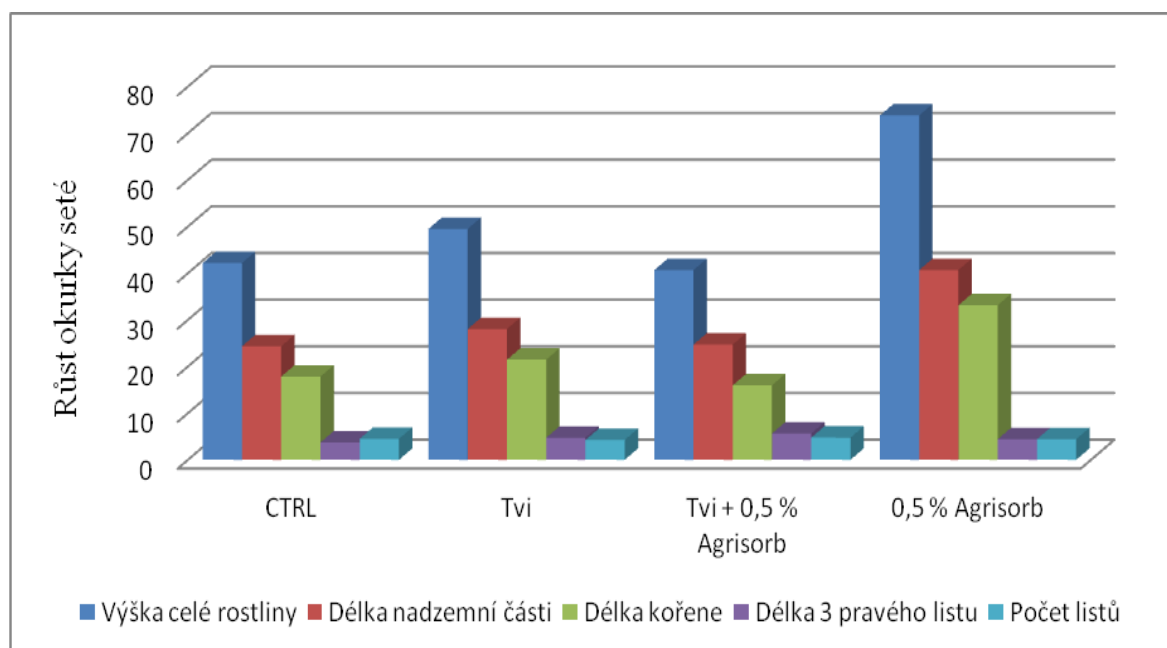
Tabulka č. 8a: Vliv houby *T. virens* a přípravku Agrisorb na vývoj rostlin okurky seté.

Varianta	Kontrola	Tvi (GL 21)	Tvi + 0,5 % Agrisorb	0,5 % Agrisorb
Výška celé rostliny	42,16 ± 16,85	49,48 ± 19,52	40,64 ± 9,25	73,80 ± 33,18
Délka nadzemní části	24,33 ± 8,56	28,02 ± 9,94	24,68 ± 4,67	40,67 ± 17,14
Délka kořene	17,83 ± 8,29	21,46 ± 9,58	15,96 ± 4,58	33,13 ± 16,04
Počet listů na 1 rostlinu	4,50 ± 0,50	4,25 ± 0,43	4,75 ± 0,43	4,42 ± 0,49
Délka 3 pravého listu	3,72 ± 0,77	4,73 ± 1,15	5,56 ± 0,68	4,40 ± 0,20

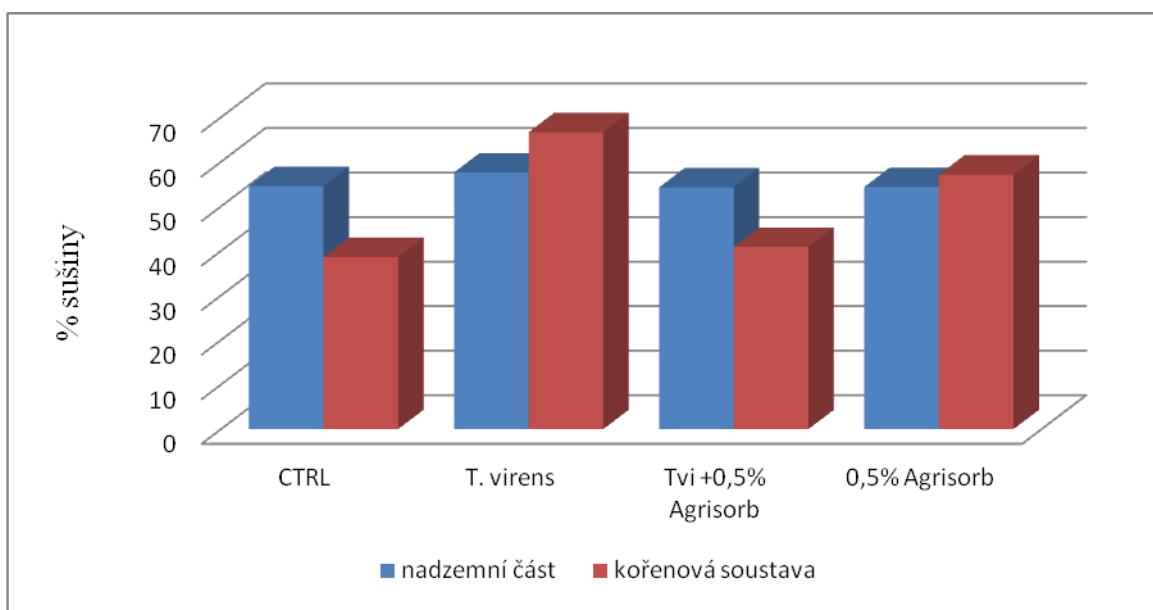
Tabulka č. 8b: Rozdíl sušiny rostlin okurky seté mezi jednotlivými variantami.

Varianta	Kontrola	Tvi (GL 21)	Tvi + 0,5 % Agrisorb	0,5 % Agrisorb
Hmotnost nadzemní části před usušením g	3,50 ± 0,47	4,06 ± 0,39	3,39 ± 0,32	4,47 ± 0,65
Hmotnost nadzemní části po usušení g	1,91 ± 0,39	2,34 ± 0,33	1,84 ± 0,53	2,43 ± 0,48
Sušina nadzemní části %	54,57	57,64	54,28	54,36
Hmotnost kořene před usušením g	0,44 ± 0,12	0,54 ± 0,12	0,22 ± 0,04	0,70 ± 0,18
Hmotnost kořene po usušení g	0,17 ± 0,09	0,36 ± 0,11	0,09 ± 0,03	0,40 ± 0,19
Sušina kořene %	38,64	66,67	40,91	57,14

Graf č. 4: Vliv houby *T. virens* a přípravku Agrisorbu na vývoj rostlin okurky seté.



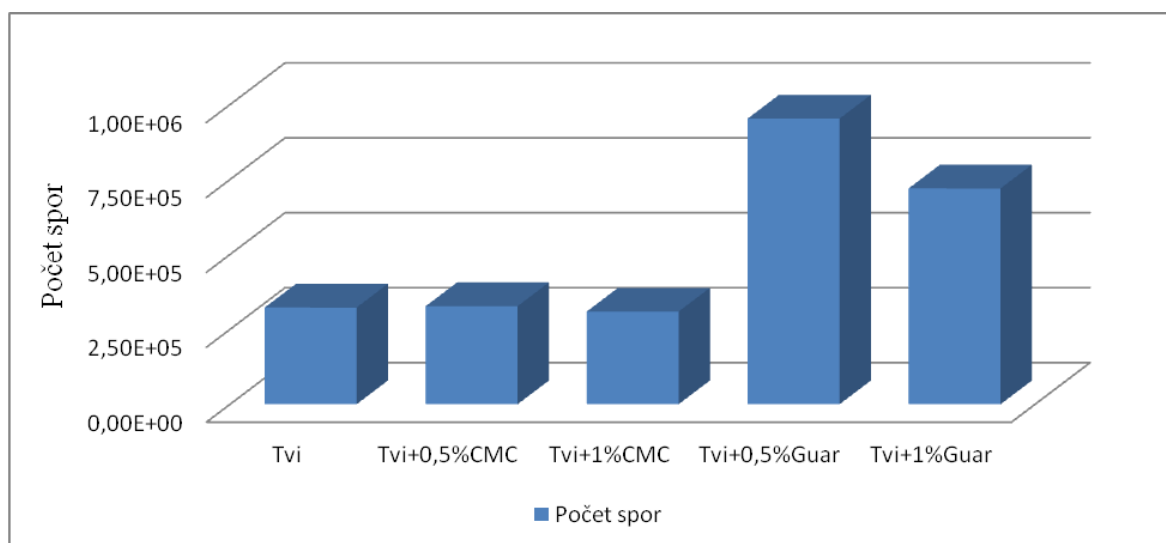
Graf č. 5: Procentuální rozdíl sušiny rostlin okurky seté mezi jednotlivými variantami.



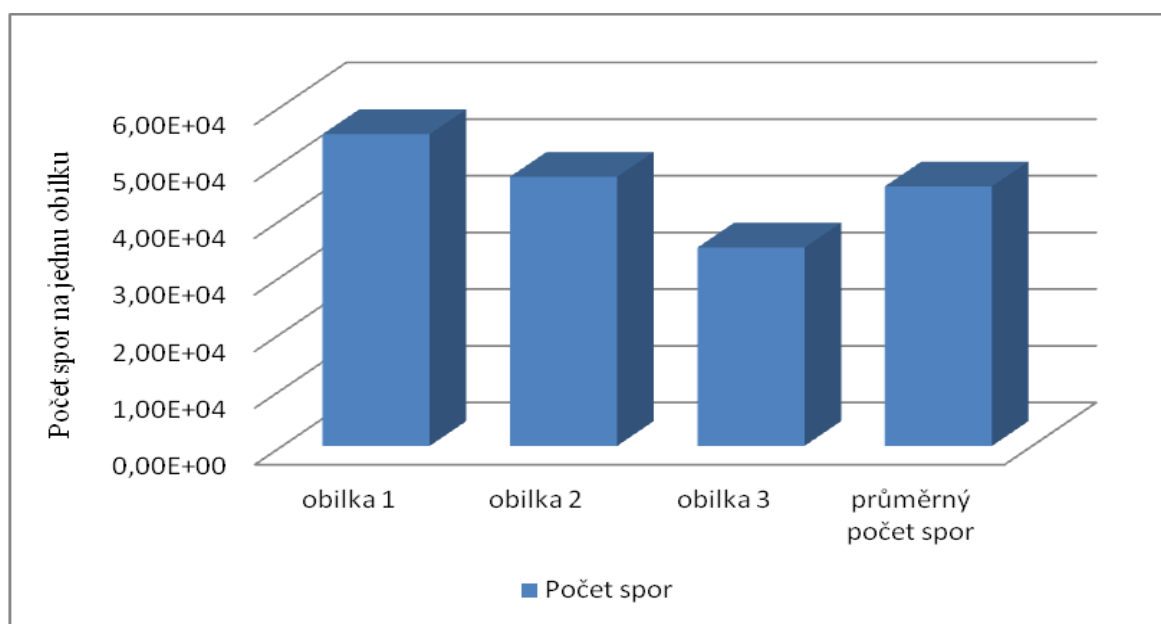
Vliv houby *T. virens* a přípravku Agrisorb na vývoj rostlin okurky seté byl hodnocen po 30 dnech. Testované rostliny dorůstaly výšky od 40,64 do 73,80 cm. Rostliny po ošetření suspenzí 0,5 % Agrisorbu dorůstaly až do výšky 73,80 cm. Rostliny ošetřené suspenzí Tvi + 0,5 % Agrisorb dosahovaly jen do výšky 40,46 cm. Nadzemní část u kontrolních rostlin dosahovala délky 24,33cm a u rostlin ošetřených suspenzí 0,5 % Agrisorb 40,67 cm. Kořenový systém u testovaných rostlin dorůstal do délky od 15,96 do 33,13 cm. U rostlin ošetřených suspenzí 0,5 % Agrisorb se vytvářel dlouhý a mohutně rozvětvený kořenový systém. Rostliny po ošetření suspenzí Tvi + 0,5 % Agrisorb tvořily krátký a málo rozvětvený kořenový systém. U testovaných rostlin třetí pravý list dorůstal do délky od 3,72 do 5,63 cm. Kontrolní rostliny vytvářely kratší 3 pravý list ve srovnání s rostlinami po ošetření Tvi + 0,5 % Agrisorb. Na jedné testované rostlině se v průměru vytvářelo 4,25 – 4,75 listů. Větší počet listů nasazovaly rostliny ošetřené suspenzí Tvi + 0,5 % Agrisorb v porovnání s rostlinami ošetřenými suspenzí Tvi. Nadzemní část rostlin dosahovala 54,36 – 57,64 % sušiny. Sušina kořene se pohybovala od 38,64 do 66,67 %.

4.3 Moření osiva

Graf č. 6: Koncentrace spor na 1 obilku v suspenzích pro moření osiva.



Graf č. 7: Koncentrace spor na 1 obilku v suspenzi Tvi + 0,5 % CMC pro polní pokus.

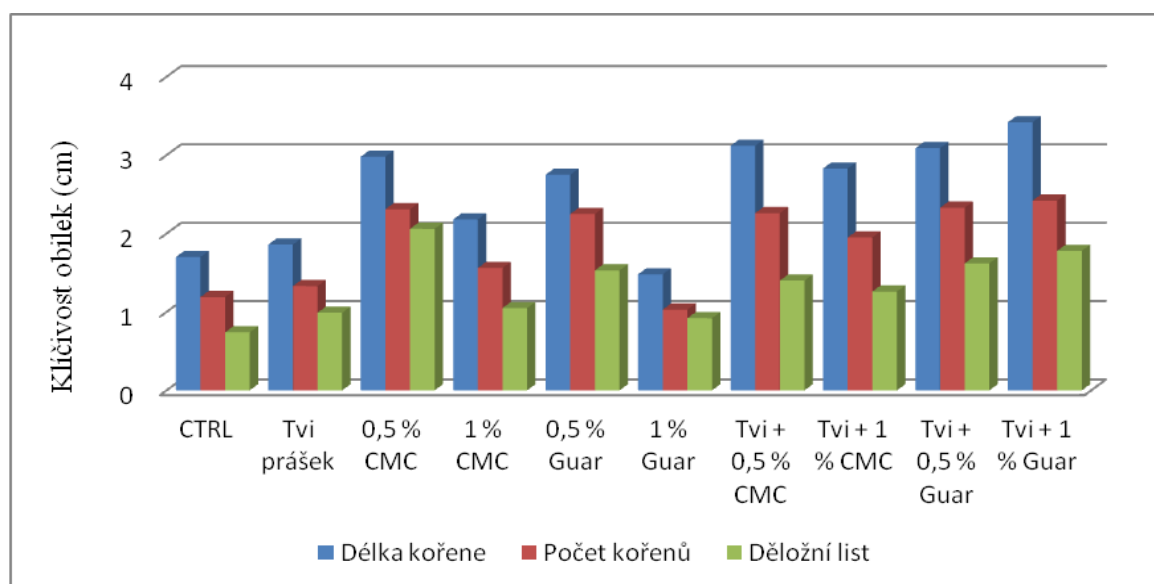


Po namoření osiva se hodnotila koncentrace spor na jednu obilku v jednotlivých suspenzích. U varianty, kde byly obilky smíchány s práškovou formulací *T. virens*, ulpělo $3,23 \times 10^5$ spor. U obilek obalených směsí Tvi + 0,5 % CMC se přichytilo na jedné obilce $3,27 \times 10^5$ spor. Na obilkách obalených směsí Tvi + 1 % CMC ulpělo $3,09 \times 10^5$ spor. U obilek obalených směsí Tvi + 0,5 % Guar se přichytilo na jedné obilce $9,53 \times 10^5$ spor. U varianty, kde byly obilky smíchány se suspenzí Tvi + 1 % Guar, se přichytilo $7,20 \times 10^5$ spor na jednu obilku. Každá obilka po namoření suspenzí Tvi + 0,5 % CMC nesla na povrchu $4,58 \times 10^4$ spor.

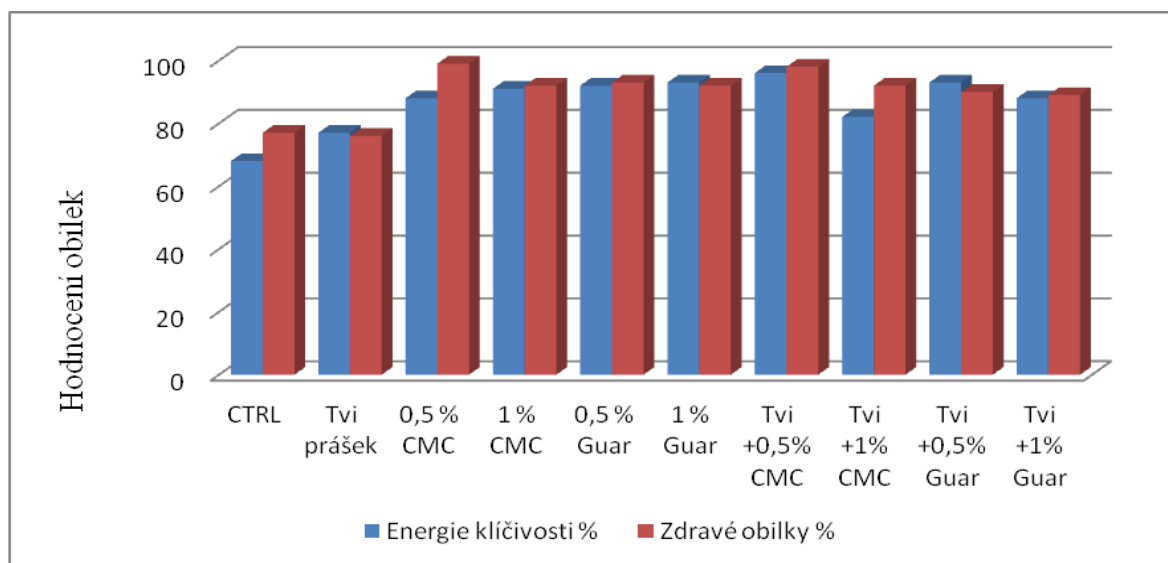
Tabulka č. 9: Třetí den po založení osiva (2x 100 obilek) na klíčidla a (3 x 25 obilek) na PDA se hodnotila biologická účinnost suspenzí na osivo.

Varianta	Délka kořene cm	Počet kořenů	Děložní list cm	Klíčivost %	Zdravé obilky %
Kontrola	1,70 ± 0,99	1,19 ± 0,70	0,74 ± 0,56	68	77
Tvi prášek	1,86 ± 1,17	1,33 ± 0,92	0,99 ± 0,79	77	76
0,5 % CMC	2,98 ± 1,26	2,31 ± 0,93	2,06 ± 1,16	88	99
1 % CMC	2,18 ± 1,44	1,56 ± 1,06	1,05 ± 0,75	91	92
0,5 % Guar	2,75 ± 1,31	2,25 ± 1,03	1,53 ± 0,92	92	93
1% Guar	1,48 ± 0,99	1,03 ± 0,67	0,92 ± 0,42	93	92
Tvi + 0,5 % CMC	3,12 ± 1,32	2,26 ± 1,05	1,40 ± 0,80	96	98
Tvi + 1 % CMC	2,83 ± 1,43	1,95 ± 1,02	1,26 ± 0,72	82	92
Tvi + 0,5% Guar	3,09 ± 1,10	2,33 ± 0,96	1,62 ± 1,05	93	90
Tvi + 1% Guar	3,42 ± 1,08	2,42 ± 0,93	1,78 ± 1,08	88	89
Tvi + 0,5 % CMC - PDA	2,49 ± 0,83	2,24 ± 0,62	1,20 ± 0,21	96	98

Graf č. 8: Třetí den po založení osiva (2 x100 obilek) na klíčidla se hodnotila biologická účinnost suspenzí na osivo.



Graf č. 9: Třetí den po založení osiva (2 x 100 obilek) na klíčidla hodnocení % energie klíčivosti a % zdravého osiva.



Před založením polního pokusu se třetí den na klíčidlech (2 x 100 obilek) a na PDA (3 x 25 obilek) hodnotila biologická účinnost různých suspenzí na osivo. Byl hodnocen vliv suspenzí na délku kořenů, počet kořenů, délku děložního listu, energii klíčivosti a na zdravotní stav. Třetí den obilky dosahovaly klíčivosti od 68 do 96 % a 76 – 99 % zdravých obilek. Obilky ošetřené suspenzí Tvi + 0,5 % CMC dosahovaly vysoké klíčivosti a vysokého počtu zdravých obilek ve srovnání s kontrolním osivem. U obilek ošetřených práškovou formulací *T. vires* a u kontrolního osiva byl vyšší výskyt patogenu na obilkách. U osiva mořeného suspenzí Tvi + 0,5 % CMC na PDA byla energie klíčivosti 96 % a 98 % zdravých obilek. Obilky tvořily 2 kořeny, které dosahovaly délky přes 2 cm, děložní list dosáhl délky 1,20 cm. Z testovaných suspenzí měly nejlepší biologickou účinnost na osivo suspenze Tvi + 0,5 % CMC a Tvi + 0,5 % Guar. Obilky tvořily 2 kořeny, které dosahovaly délky přes 3 cm, děložní list dosáhl délky 1,40 - 1,60 cm. Z těchto dvou variant pro moření osiva pro polní pokus byla vybrána suspenze Tvi + 0,5 % CMC. Mořené osivo dosahovalo 96 % energie klíčivosti a mělo 98 % zdravých obilek.

Tabulka č. 10: Zjišťování hodnot vybraných výnosových prvků pšenice jarní odrůda Scirocco na jednotlivých parcelách.

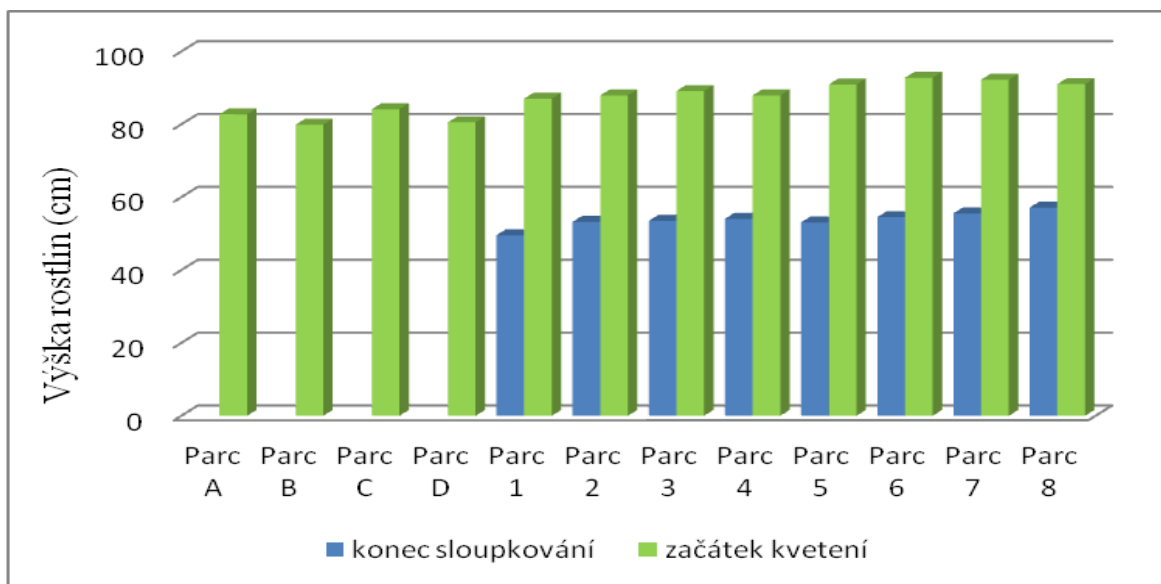
Parcela	Počet rostlin/m ²	Počet odnoží/m ²	Počet odnoží na 1 rostlinu
Parcela A - D	532	644	1,21
Parcela 1	462	684	1,48
Parcela 2	463	700	1,51
Parcela 3	447	665	1,49
Parcela 4	417	630	1,51
Parcela 5	453	674	1,49
Parcela 6	429	645	1,50
Parcela 7	436	652	1,50
Parcela 8	433	648	1,50

V rámci výsledků této DP jsou ve výsledcích hodnoceny parametry na parcelách označených jako A – D. Parcely A – D jsou další pokusné parcely s odrůdou Scirocco pěstované na školním pozemku. Osivo v těchto variantách nebylo žádným způsobem ošetřeno. Pro diplomovou práci sloužily tyto parcelky též jako kontrolní. Rozdíl mezi kontrolní variantou parcely označenou jako parcela 1 a těmito parcelami A – D je ten, že parcela 1 byla izolovaná od pokusu s různými odrůdami pšenice jarní včetně odrůdy Scirocco na parcelách A - D rostlinami ovsa. Rostliny ovsa byly jakousi izolací mezi jednotlivými parcelami odrůdy Scirocco. Při hodnocení hustoty porostů pšenice jarní odrůdy Scirocco, spadají všechny parcely 1 – 8 a parcely A - D do optimální hustoty porostu 401 – 550 rostlin na m² (Moudrý a Jůza, 1998). Počet odnoží u sledované odrůdy na jednotlivých parcelách byl zjištěn v době odnožování BBCH 25 a počty se pohybovaly v rozmezí 630 – 700 odnoží na 1m². Parcela A – D vytvořila v průměru 644 odnoží na 1m². Na jednu rostlinu připadlo 1,21 – 1,50 odnoží.

Tabulka č. 11: Průměrná výška rostlin na konci sloupkování a na začátku zrání na parcelách 1 - 8 a na parcelách A – D.

Parcela	Výška rostlin na konci sloupkování v cm	Výška rostlin na začátku zrání v cm
Parcela A	-	82,75 ± 11,93
Parcela B	-	79,90 ± 14,09
Parcela C	-	84,15 ± 9,82
Parcela D	-	80,55 ± 13,06
Parcela 1	49,58 ± 5,50	87,05 ± 7,29
Parcela 2	53,25 ± 4,49	87,95 ± 7,86
Parcela 3	53,53 ± 3,97	89,15 ± 7,96
Parcela 4	54,08 ± 4,68	87,95 ± 7,37
Parcela 5	53,10 ± 4,67	90,95 ± 8,98
Parcela 6	54,53 ± 4,48	92,80 ± 6,97
Parcela 7	55,58 ± 4,14	92,25 ± 8,31
Parcela 8	57,15 ± 3,79	91,05 ± 8,19

Graf č. 10: Průměrná výška rostlin na konci sloupkování a na začátku zrání na testovaných parcelách.

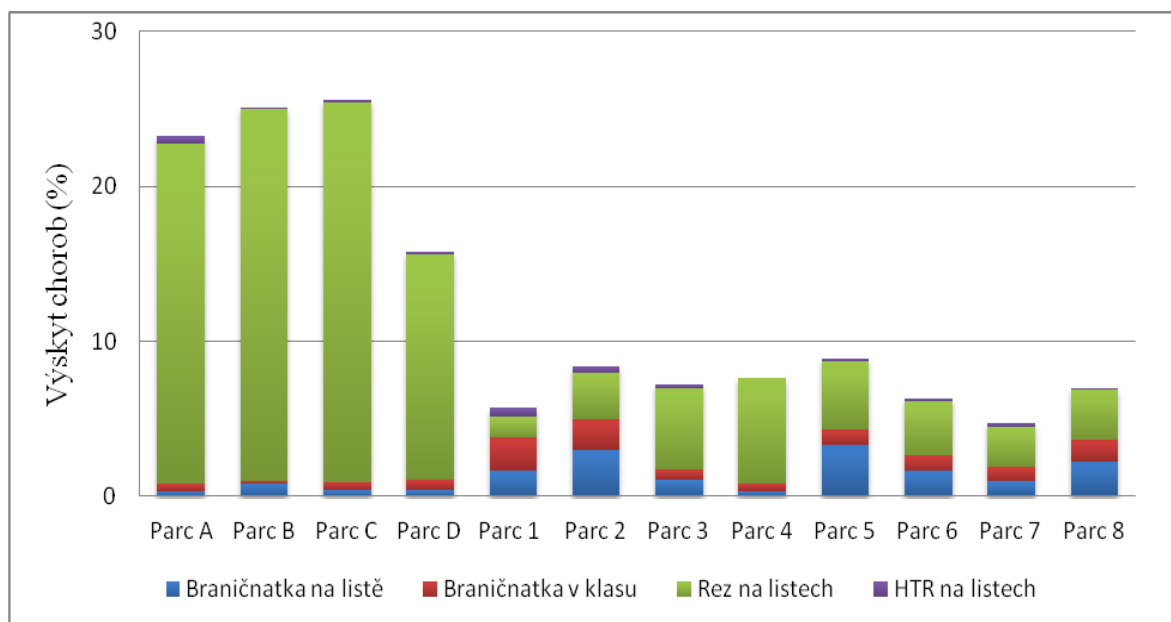


Průměrná výška rostlin měřena na konci sloupkování na parcelách 1 - 8 se pohybovala od 49,58 – 57,15 cm, výška rostlin na začátku zrání se pohybovala od 87,05 – 92,80 cm. Výška rostlin měřena na začátku zrání na parcelách A – D se pohybovala od 79,90 – 84,15 cm.

Tabulka č. 12a: Průměrné % napadení listů braničnatkou pšeničnou, rzí, helmintosporiovou skvrnitostí a průměrné % napadení klasů braničnatkou pšeničnou. Počet napadených klasů mazlavou snětí. (F)

Parcela	Braničnatka na listech	Braničnatka v klasu	Rez na listech	HTR na listech	Mazlavá sněť v klasu
Parcela A	0,3	0,5	22,0	0,5	
Parcela B	0,8	0,2	24,0	0,1	
Parcela C	0,4	0,5	24,5	0,2	
Parcela D	0,4	0,7	14,5	0,2	
Parcela 1	1,6	2,2	1,3	0,6	13
Parcela 2	3,0	2,0	3,0	0,4	9
Parcela 3	1,1	0,6	5,3	0,2	10
Parcela 4	0,3	0,5	6,8	0,0	8
Parcela 5	3,3	1,0	4,4	0,2	12
Parcela 6	1,6	1,0	3,5	0,2	9
Parcela 7	1,0	0,9	2,6	0,2	9
Parcela 8	2,2	1,4	3,3	0,1	7

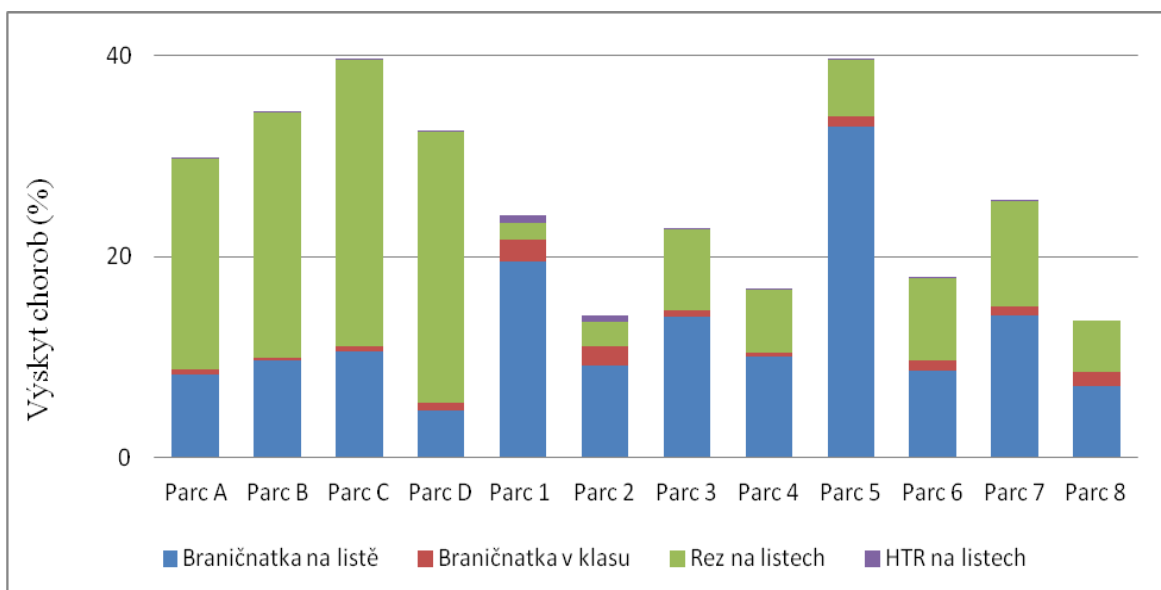
Graf č. 11: Průměrné % napadení listů braničnatkou pšeničnou, rzí, helmintosporiovou skvrnitostí a klasů braničnatkou pšeničnou na parcelách 1 – 8 a na parcelách A - D. (F)



Tabulka č. 12b: Průměrné % napadení listů braničnatkou pšeničnou, rzí, helmintosporiovou skvrnitostí a průměrné % napadení klasů braničnatkou pšeničnou. Počet napadených klasů *Fusarium spp.*, (F-1).

Parcela	Braničnatka na listech	Braničnatka v klasu	Rez na listech	HTR na listech	Fusarium spp.
Parcela A	8,3	0,5	21,0	0,1	
Parcela B	9,7	0,2	24,5	0,1	
Parcela C	10,6	0,5	28,5	0,1	
Parcela D	4,7	0,7	27,0	0,2	
Parcela 1	19,5	2,2	1,7	0,7	2
Parcela 2	9,1	2,0	2,4	0,6	3
Parcela 3	14,0	0,6	8,1	0,1	3
Parcela 4	10,0	0,5	6,2	0,1	2
Parcela 5	33,0	1,0	5,6	0,1	2
Parcela 6	8,7	1,0	8,2	0,1	3
Parcela 7	14,1	0,9	10,6	0,1	4
Parcela 8	7,1	1,4	5,2	0,0	2

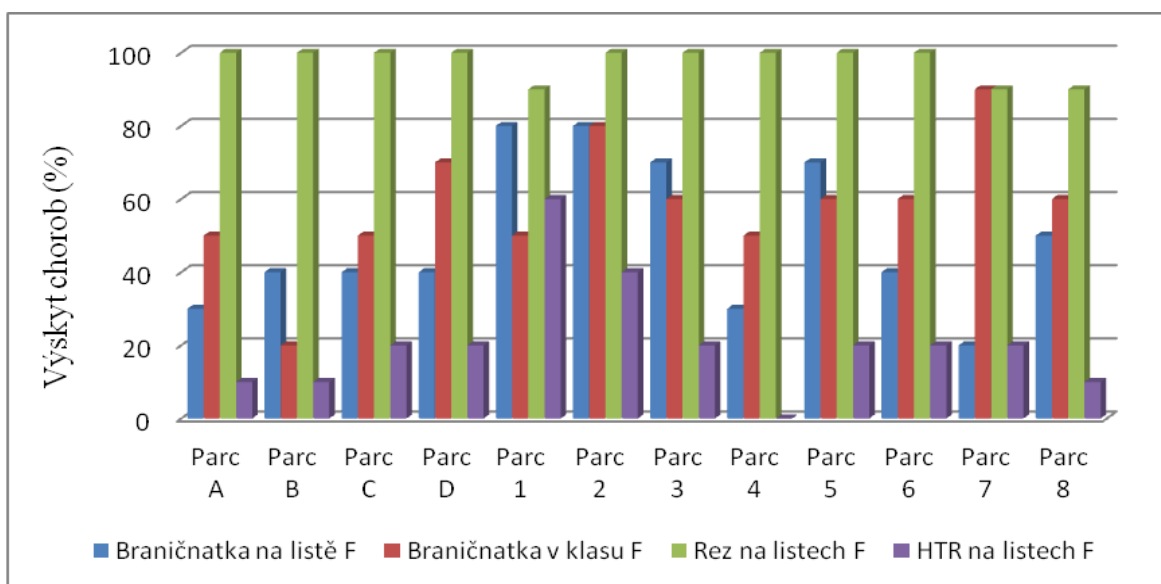
Graf č. 12: Průměrné % napadení listů braničnatkou pšeničnou, rží, helmintosporiovou skvrnitostí a klasů braničnatkou pšeničnou na parcelách 1 – 8 a na parcelách A – D (F-1).



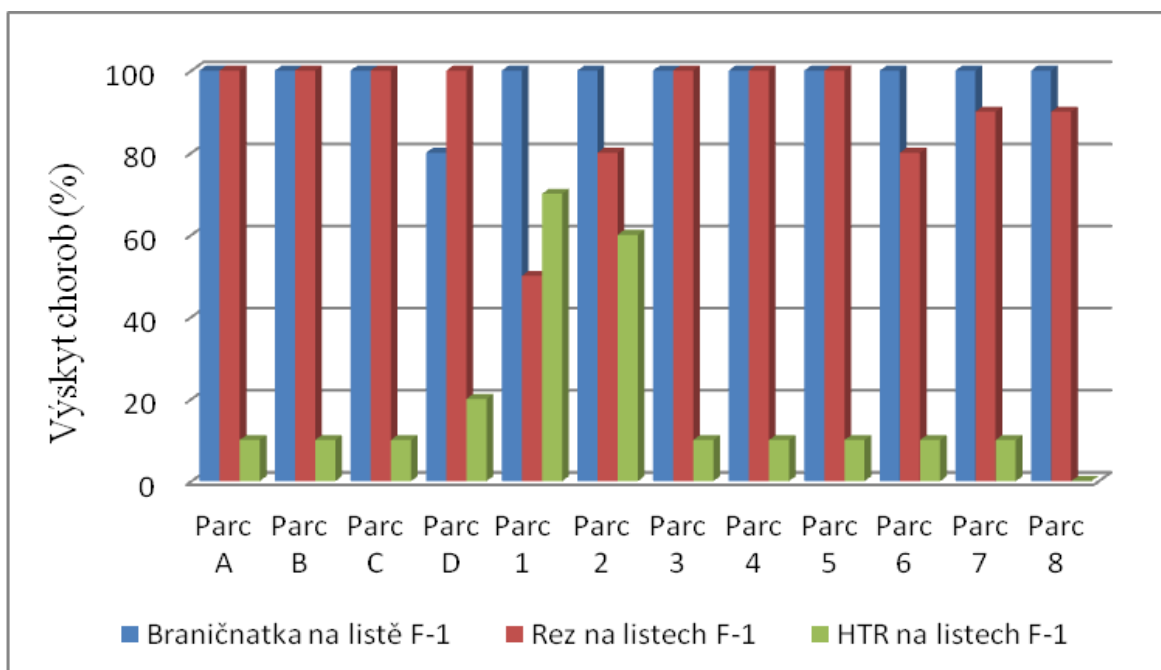
Tabulka č. 13: Procentuální výskyt chorob na listech.

Parcela	Braničnatka na listech		Braničnatka v klasu	Rez na listech		HTR na listech	
	F	F-1		F	F-1	F	F-1
Parcela A	30	100	50	100	100	10	10
Parcela B	40	100	20	100	100	10	10
Parcela C	40	100	50	100	100	20	10
Parcela D	40	80	70	100	100	20	20
Parcela 1	80	100	50	90	50	60	70
Parcela 2	80	100	80	100	80	40	60
Parcela 3	70	100	60	100	100	20	10
Parcela 4	30	100	50	100	100	0	10
Parcela 5	70	100	60	100	100	20	10
Parcela 6	40	100	60	100	80	20	10
Parcela 7	20	100	90	90	90	20	10
Parcela 8	50	100	60	90	90	10	0

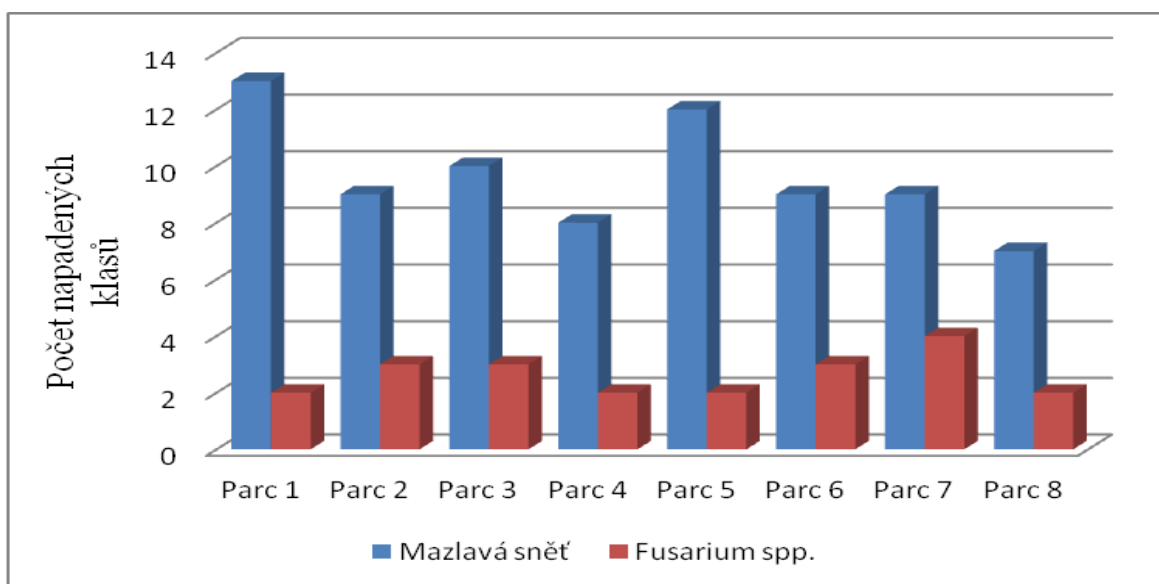
Graf č. 13: Procentuální výskyt chorob na listech F.



Graf č. 14: Procentuální výskyt chorob na listech F-1



Graf č. 15: Celkový počet napadených klasů mazlavou snětí a *Fusarium spp.*



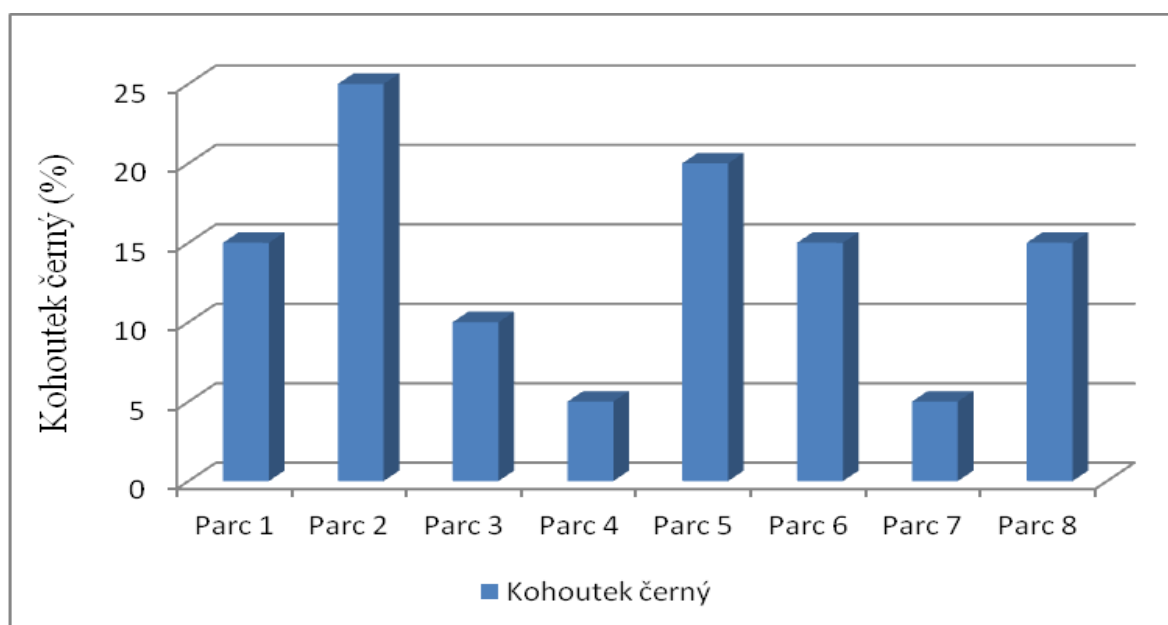
Průměrné % napadení praporcového listu braničnatkou pšeničnou na parcelách 1 - 8 bylo od 0,3 do 3,3 % a napadení klasů z 0,5 – 2,2 %. Na parcele 4 biologicky ošetřeným osivem před setím a v době odnožování došlo k výraznému snížení výskytu braničnatky pšeničné na listech. U kontrolní parcely 5 biologicky ošetřené v době sloupkování došlo k vysokému nárůstu napadení listů braničnatkou pšeničnou. Na parcelách biologicky ošetřovaných v době odnožování bylo sníženo napadení klasů braničnatkou pšeničnou. Průměrné % napadení listů braničnatkou pšeničnou na kontrolních parcelách A – D bylo od 0,3 do 0,8 % a napadení klasů 0,2 – 0,7 %. Rez se vyskytovala na listech na parcelách 1 - 8 v průměru 1,3 – 6,8 % a na parcelách A – D od 14,5 do 24,5 %. Na parcelách s biologicky ošetřeným osivem před setím a během vegetace došlo k nárůstu choroby v porovnání s kontrolními parcelami biologicky ošetřenými během růstu. Na kontrolních parcelách biologicky neošetřených byl vysoký výskyt Rzí. Helmintosporiová skvrnitost (HTR) se vyskytovala na listech na parcelách 1 - 8 v průměru 0,0 - 0,6 % a na parcelách A – D od 0,1 do 0,5 %. Na kontrolních parcelách biologicky neošetřených A – D byl nižší výskyt HTR než na kontrolní parcele 1. Na kontrolních parcelách biologicky neošetřených A – D byl srovnatelný výskyt HTR jako na parcelách biologicky ošetřených.

Průměrné % napadení podpraporcového listu braničnatkou pšeničnou na parcelách 1 - 8 bylo od 7,1 do 33% a na parcelách A - D 8,3 – 10,6 %. Na kontrolních parcelách biologicky ošetřených došlo k nárůstu choroby v porovnání s parcelami s biologicky ošetřeným osivem před setím a během vegetace. Rez se vyskytovala na listech na parcelách 1 - 8 v průměru 1,7 -10,6 % a na parcelách A – D od 21,0 do 28,5 %. Rostliny na kontrolních parcelách bez biologického ošetření byly výrazně napadeny rzí. Na všech parcelách biologicky ošetřovaných během vegetace byl vyšší výskyt rzi než na kontrolní parcele a na parcele s biologicky ošetřeným osivem před setím. Helmintosporiová skvrnitost (HTR) se vyskytovala na listech na parcelách 1 - 8 v průměru od 0,0 do 0,7 % a na parcelách A – D 0,1 - 0,2 %. Na kontrolní parcele 1 byl vyšší výskyt HTR než na parcelách s osivem biologicky ošetřeným před setím a během vegetace. Mazlavá sněť pšeničná na parcelách 1 - 8 napadala od 7 – 13 klasů. Na kontrolních parcelách biologicky ošetřených během růstu byl vyšší výskyt mazlavé sněti. *Fusarium spp.* se na parcelách 1 - 8 vyskytovala u 2 – 4 klasů na jedné parcele.

Tabulka č. 14: Průměrné % žiru listů kohoutka černého.

Parcela	Kohoutek černý v %
Parcela 1	15
Parcela 2	25
Parcela 3	10
Parcela 4	5
Parcela 5	20
Parcela 6	15
Parcela 7	5
Parcela 8	15

Graf č. 16: Průměrné % žiru listů kohoutkem černým.



Průměrné % napadení listů kohoutkem černým na parcelách 1 – 8 bylo 5 (25 %). Největší % napadení listů kohoutkem bylo na parcele 2 (25 %) a na parcele 5 (20 %). Nejmenší % napadení listů kohoutkem bylo na parcele 7 (5 %).

Tabulka č. 15a: Izolace hub z půdy před setím pomocí larev zavíječe voskového (*Galleria mellonella*) a larev potěmníka moučného (*Tenebrio monitor*).

Parcela	<i>Galleria mellonella</i>	<i>Tenebrio monitor</i>
Parcela 1	Man	Man
Parcela 2		Man
Parcela 6	Man	
Parcela 7		Man

Tabulka č. 15b: Izolace hub metodou DPT během vegetace v době sloupkování.

Parcela	DODINE neřaděné	DODINE 1:10	PDA + A	PDA + A 1:10	PDA + A 1: 100
Parcela 1	Man	Man, Lle	Muc, Fus, Man	Muc, Man	Tri
Parcela 2	Man	Man, Lle	Muc, Fus, Man, Tvi	Muc, Fus, Man, Tvi	Tvi, Tri
Parcela 3	Man	Man, Lle	Muc, Fus, Man, Tvi	Muc, Fus, Man, Tvi	Tvi, Man
Parcela 4	Man	Man, Isa	Muc, Fus, Man, Tvi	Muc, Fus, Man, Tvi	Tri
Parcela 5	Man	Man, Isa, Lle	Muc, Fus, Man, Tvi	Muc, Fus, Man, Tvi	Tvi
Parcela 6	Man	Man, Isa, Lle	Muc, Fus, Man, Tvi	Muc, Fus, Man, Tvi	Tvi
Parcela 7	Man	Man, Lle	Muc, Fus, Man, Tvi	Muc, Fus, Man, Tvi	Tvi
Parcela 8	Man	Man, Isa, Lle	Muc, Fus, Man, Tvi	Muc, Fus, Man, Tvi	Tvi

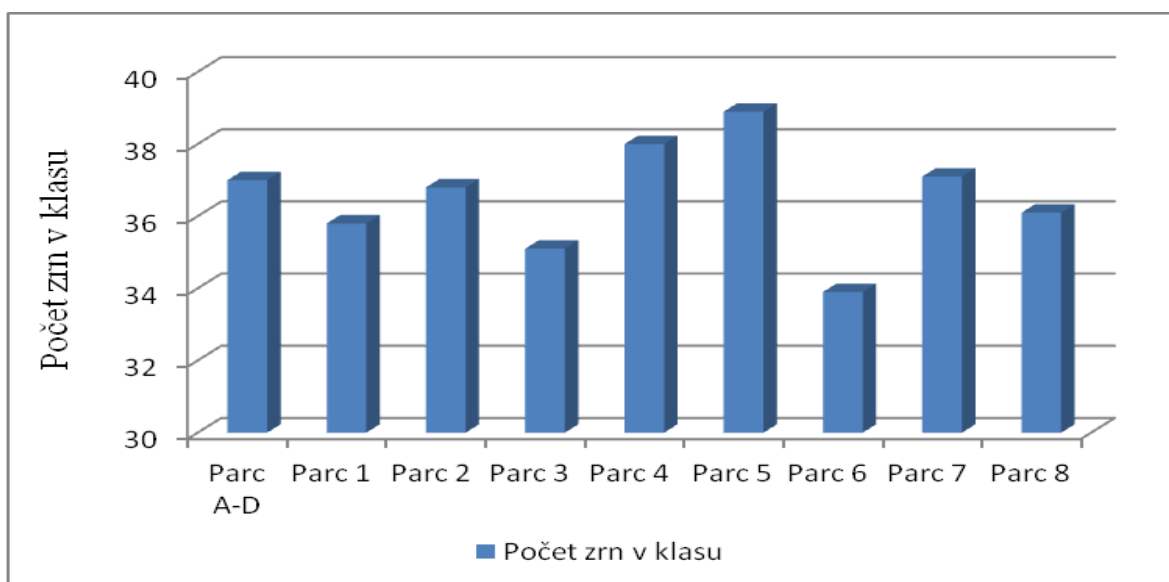
Izolace hub z půdy před setím pomocí larev zavíječe voskového (*Galleria mellonella*) a larev potěmníka moučného (*Tenebrio monitor*) se provedla na parcelách 1, 2, 6, 7, abychom zjistily výskyt hub v půdě. Larvy obou druhů hostitelů byly po 7 dnech porostlé houbou *Metarhizium anisopliae*.

Izolace hub metodou DPT byla provedena během vegetace v době sloupkování na parcelách 1 – 8, abychom v půdě potvrdily výskyt houby *T. virens* po její předchozí aplikaci na parcelách. Metodou DPT byly odizolovány následující houby *Metarhizium anisopliae* (Man), *Fusarium spp.* (Fus), *Trichoderma virens* (Tvi), *Trichoderma spp.* (Tri) *Isaria fumosorosea* (Isa), *Lecanicillium lecanii* (Lle). Ze vzorků půdy z parcel 2 - 8 se podařilo metodou DPT na Petriho miskách s PDA + A při ředění 1: 100 odizolovat houbu *T. virens*.

Tabulka č. 16: Počet zrn v klasu.

Parcela	Počet zrn v klasu (ks)
Parcela A - D	37
Parcela 1	35,8 ± 7,19
Parcela 2	36,8 ± 6,65
Parcela 3	35,1 ± 7,45
Parcela 4	38,0 ± 5,48
Parcela 5	38,9 ± 5,94
Parcela 6	33,9 ± 5,19
Parcela 7	37,1 ± 6,61
Parcela 8	36,1 ± 4,97

Graf č. 17: Počet zrn v klasu.

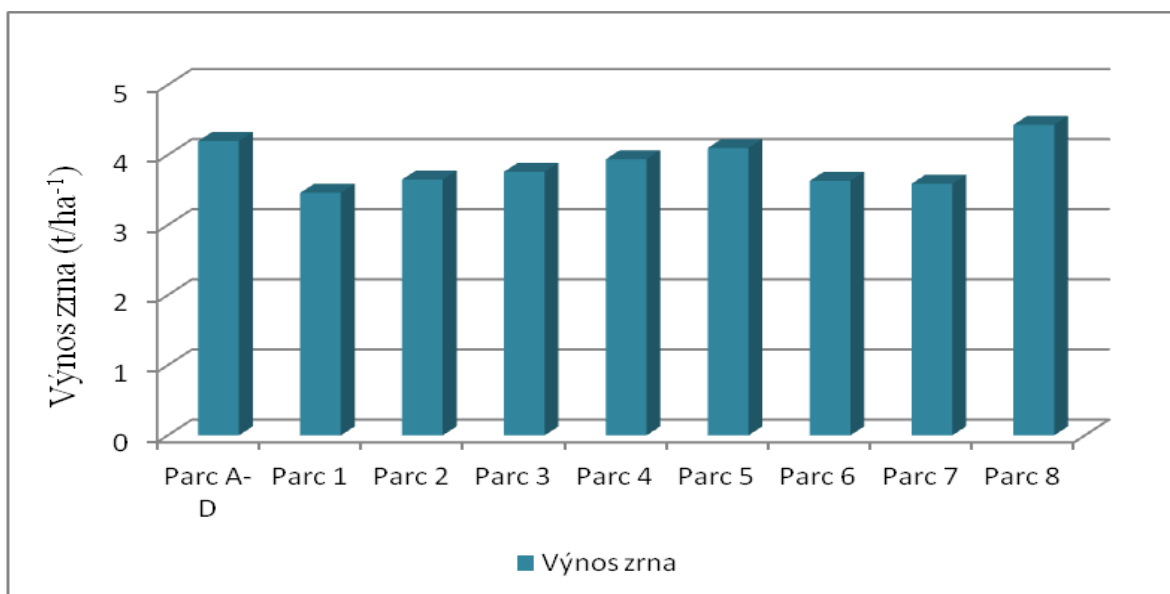


Počet zrn v klasu u pšenice jarní na jednotlivých parcelách 1 – 8 se pohyboval v rozmezí 34 – 39 zrn a na parcelách A – D byl v průměru 37 zrn. Největší počet zrn v klasu dosáhla pšenice jarní na parcele 5 s výsledkem 39 zrn a druhý největší počet zrn v klasu bylo na parcele 4 s výsledkem 38 zrn. Nejnižší počet zrn v klasu bylo na parcele 6 s výsledkem 34 zrn a na parcele 3 s výsledkem 35 zrn.

Tabulka č. 17: Skutečný výnos zrna na parcelách 1 – 8 a na parcelách A - D.

Parcela	Výnos zrna (t/ha^{-1})
Parcela A - D	4,20
Parcela 1	3,46
Parcela 2	3,65
Parcela 3	3,76
Parcela 4	3,94
Parcela 5	4,10
Parcela 6	3,63
Parcela 7	3,59
Parcela 8	4,43

Graf č. 18: Skutečný výnos (t/ha^{-1}).

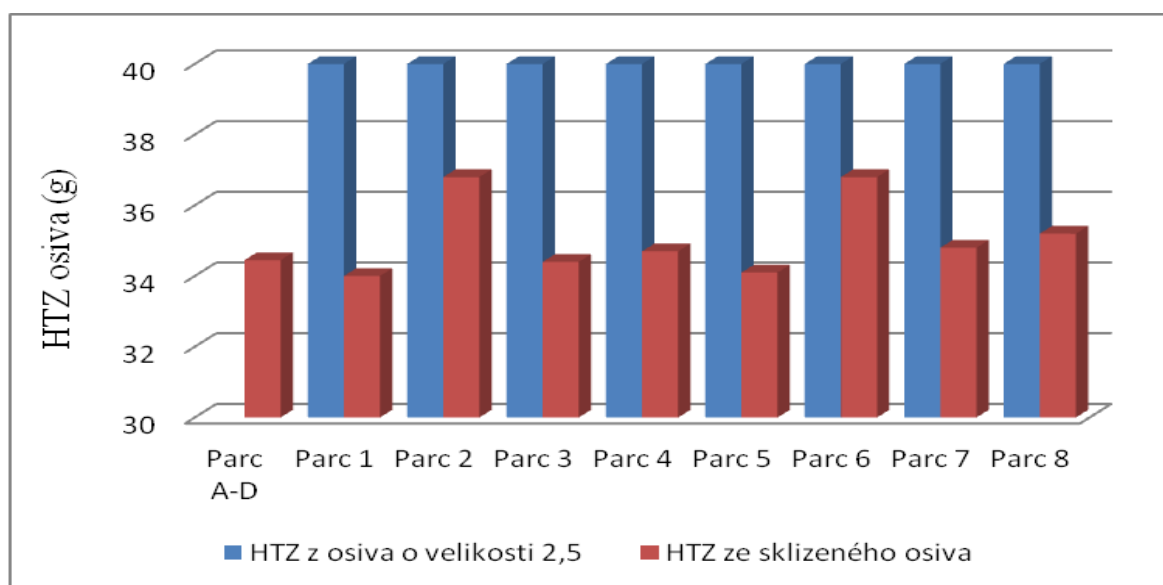


Skutečný výnos zrna u pšenice jarní na jednotlivých parcelách 1 – 8 se pohyboval v rozmezí $3,46 - 4,43 t/ha^{-1}$ a na parcelách A – D byl výnos zrna v průměru $4,20 t/ha^{-1}$. Největší výnos zrna byl na parcele 8 ($4,43 t/ha^{-1}$) a na parcele 5 ($4,10 t/ha^{-1}$). Nejmenší výnos zrna bylo na parcele 1 ($3,46 t/ha^{-1}$).

Tabulka č. 18: HTZ ze sklizeného osiva a z podílu zrn ze síta o velikosti 2,5 mm.

Parcela	HTZ sklizeného osivo (g)	HTZ osiva o velikosti síta 2,5 x 2,2 mm (g)
Parcela A - D	34,45	-
Parcela 1	34,00 ± 0,00	40,80 ± 0,14
Parcela 2	36,80 ± 0,14	41,40 ± 0,07
Parcela 3	34,40 ± 0,14	40,90 ± 0,07
Parcela 4	34,70 ± 0,07	40,30 ± 0,14
Parcela 5	34,10 ± 0,07	40,20 ± 0,14
Parcela 6	36,80 ± 0,14	40,80 ± 0,14
Parcela 7	34,80 ± 0,14	40,20 ± 0,14
Parcela 8	35,20 ± 0,00	40,60 ± 0,14

Graf č. 19: HTZ ze sklizeného osiva a osiva ze síta o velikosti 2,5 mm.

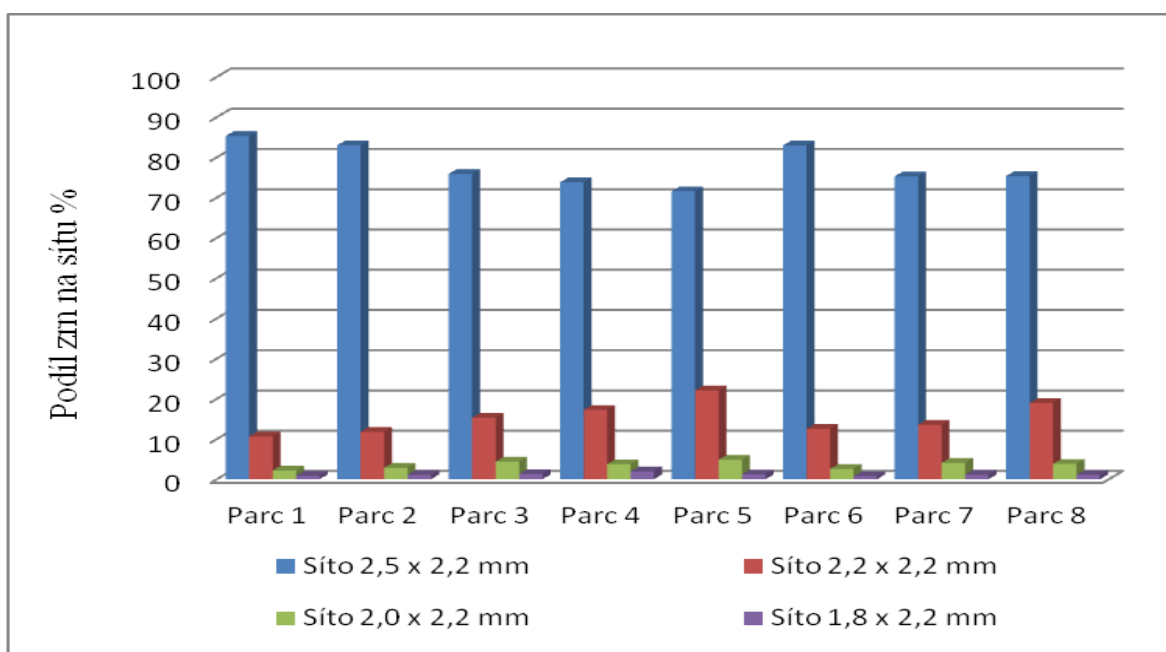


U osiva sklizeného a nepřetříděného na sítích se HTZ na jednotlivých parcelách 1 - 8 pohybovala v rozmezí 34,00 – 36,80 g. HTZ na parcelách A – D byla 34,45 g. Největší HTZ byla na parcele 2 a 6 – 36,80 g, naproti tomu nejmenší HTZ byla na parcele 1 – 34,00 g. U osiva sklizeného a přetříděného na sítích o velikosti 2,5 x 2,2 mm se HTZ na parcelách 1 – 8 pohybovala v rozmezí 40,20 – 41,40 g. Největší HTZ byla na parcele 2 – 41,40 g. Nejmenší HTZ byla na parcele 5 a 7- 40,20 g.

Tabulka č. 19: Podíl zrn na sítu v % z 1 kg.

Parcela	Síto 2,5 x 2,2 mm	Síto 2,2 x 2,2 mm	Síto 2,0 x 2,2 mm	Síto 1,8 x 2,2 mm
Parcela 1	85,31	10,64	2,18	0,87
Parcela 2	82,99	11,79	2,86	1,10
Parcela 3	75,89	15,30	4,38	1,29
Parcela 4	73,80	17,22	3,73	1,93
Parcela 5	71,56	22,08	4,85	1,24
Parcela 6	82,98	12,54	2,56	0,75
Parcela 7	75,27	13,53	4,09	1,11
Parcela 8	75,34	18,93	3,82	1,07

Graf č. 20: Podíl zrn na sítu v % z 1 kg.

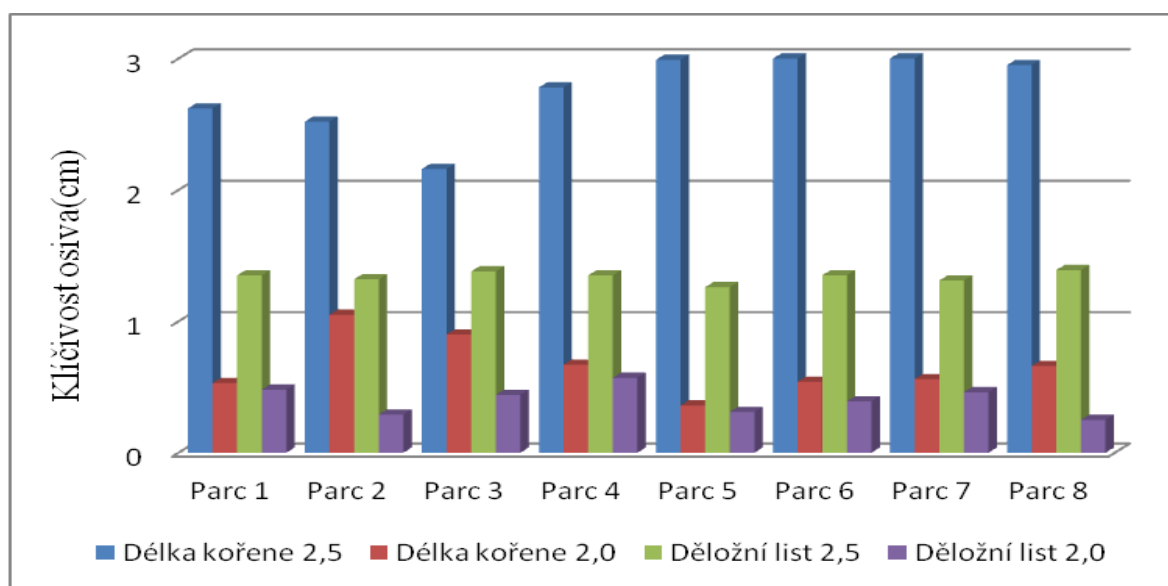


Ze sklizeného osiva z parcel 1 - 8 bylo odváženo 3 x 1 kg osiva a pote roztríděno pomocí sít o velikosti 2,5 x 2,2 mm; 2,2 x 2,2 mm; 2,0 x 2,2 mm; 1,8 x 2,2 mm. Podíl zrn na sítu o velikosti 2,5 x 2,2 mm dosahoval 71,53 – 85,31 %, na sítu o velikosti 2,2 x 2,2 mm 10,64 – 22,08 %, na sítu o velikosti 2,0 x 2,2 mm 2,18 – 4,85 % a na sítu o velikosti 1,8 x 2,2 mm 0,75 – 1,93 %.

Tabulka č. 20: Hodnocení energie klíčivosti a zdravotního stavu třetí den po založení osiva (2x 100 obilek) na klíčidlech po sklizni osiva z parcelek 1 – 8.

Parcela	Osivo ze síta 2,5 x 2,2 mm			Osivo ze síta 2,0 x 2,2 mm		
	Délka kořene (cm)	Děložní list (cm)	Zdravotní stav (%)	Délka kořene (cm)	Děložní list (cm)	Zdravotní stav (%)
Parcela 1	2,62 ± 1,94	1,35 ± 1,49	82	0,53 ± 1,09	0,48 ± 0,68	57
Parcela 2	2,52 ± 2,01	1,32 ± 0,52	82	1,05 ± 1,38	0,29 ± 0,59	56
Parcela 3	2,16 ± 1,74	1,38 ± 0,44	73	0,90 ± 1,30	0,44 ± 0,66	62
Parcela 4	2,78 ± 1,99	1,35 ± 0,56	78	0,67 ± 1,11	0,57 ± 0,79	61
Parcela 5	2,99 ± 2,09	1,26 ± 0,57	70	0,36 ± 0,88	0,31 ± 0,60	66
Parcela 6	3,27 ± 2,03	1,35 ± 0,45	83	0,54 ± 0,98	0,39 ± 0,66	71
Parcela 7	3,43 ± 1,97	1,31 ± 0,47	71	0,56 ± 1,05	0,46 ± 0,69	69
Parcela 8	2,95 ± 1,97	1,39 ± 0,40	69	0,66 ± 1,25	0,25 ± 0,56	67

Graf č. 21: Hodnocení klíčivosti a zdravotního stavu třetí den po založení osiva (2x 100 obilek) na klíčidlech po sklizni osiva z parcelek 1 – 8.

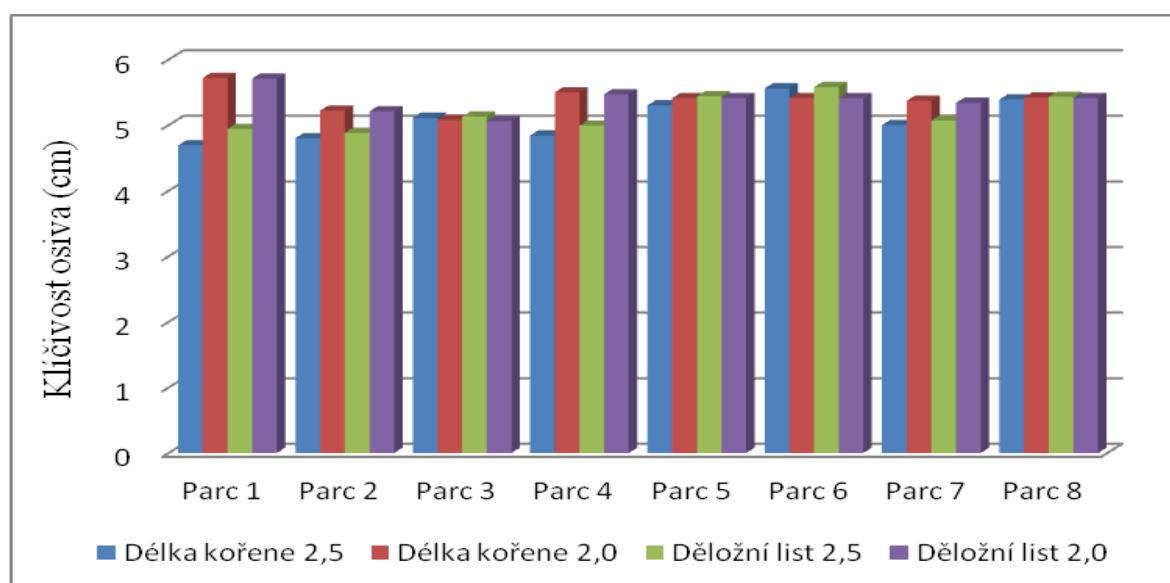


Po sklizni osiva z parcel 1 - 8 se provedlo třetí den na klíčidlech hodnocení energie klíčivosti a zdravotního stavu. Na klíčidla se použilo osivo ze sít 2,5 x 2,2 mm, 2,0 x 2,2 mm. Osivo ze síta 2,5 x 2,2 mm dosahovalo délky kořene 0,36 – 1,05 cm. Největší délku kořenů mělo osivo z parcely 2 – 1,05 cm a osivo z parcely 3 – 0,90 cm. Nejmenší délku kořenů mělo osivo z parcely 5 – 0,36 cm. Osivo dosahovalo délky děložního klíčku 1,26 – 1,39 cm a mělo dobrou energii klíčivosti. Zdravotní stav obilek dosahoval 69 – 83 %. Osivo ze síta 2,0 x 2,2 mm dosahovalo délky kořene 2,16 – 3,43 cm. Největší délku kořenů mělo osivo z parcely 7 – 3,43 cm a osivo z parcely 6 – 3,27 cm. Nejmenší délku kořenů mělo osivo z parcely 3 – 2,16 cm. Osivo dosahovalo délky děložního klíčku 0,25 – 0,57 cm a mělo nízkou energii klíčivosti. Zdravotní stav obilek dosahoval 57 – 69 %. Vyšší % výskytu houbových chorob.

Tabulka č. 21: Hodnocení klíčivosti a zdravotního stavu 7 den po založení osiva (2x 100 obilek) na klíčovkách po sklizni

Parcela	Osivo ze síta 2,5 x 2,2 mm			Osivo ze síta 2,0 x 2,2 mm		
	Délka kořene (cm)	Děložní list (cm)	Zdravotní stav (%)	Délka kořene (cm)	Děložní list (cm)	Zdravotní stav (%)
Parcela 1	5,72 ± 1,27	5,71 ± 1,28	54	4,69 ± 2,20	4,94 ± 2,05	50
Parcela 2	5,22 ± 2,00	5,21 ± 1,99	41	4,80 ± 2,07	4,88 ± 2,05	39
Parcela 3	5,08 ± 1,97	5,06 ± 2,00	43	5,11 ± 1,90	5,13 ± 1,88	31
Parcela 4	5,50 ± 1,52	5,47 ± 1,64	41	4,84 ± 2,17	4,99 ± 2,03	48
Parcela 5	5,41 ± 1,70	5,41 ± 1,70	68	5,30 ± 1,69	5,44 ± 1,56	41
Parcela 6	5,41 ± 1,72	5,41 ± 1,72	63	5,56 ± 1,49	5,58 ± 1,48	48
Parcela 7	5,37 ± 1,68	5,34 ± 1,73	66	5,00 ± 2,07	5,07 ± 2,05	48
Parcela 8	5,42 ± 1,69	5,41 ± 1,76	71	5,39 ± 1,64	5,43 ± 1,64	48

Graf č. 22: Hodnocení klíčivosti a zdravotního stavu sedmý den po založení osiva (2x 100 obilek) na klíčovkách po sklizni osiva z parcel 1 – 8.



Po sklizni osiva z parcel 1 - 8 se provedlo sedmý den na klíčovkách hodnocení energie klíčivosti a zdravotního stavu. Osivo ze síta 2,5 x 2,2 mm dosahovalo délky kořene 5,08 – 5,72 cm. Největší délku kořenů mělo osivo z parcely 1 – 5,72 cm a osivo z parcely 4 – 5,50 cm. Nejmenší délku kořenů mělo osivo z parcely 3 – 5,08 cm. Osivo dosahovalo délky děložního klíčku 5,06 – 5,71 cm a mělo dobrou energii klíčivosti. Zdravotní stav obilek dosahoval 41 - 71 %. Vyšší % výskytu houbových chorob. Osivo ze síta 2,0 x 2,2 mm dosahovalo délky kořene 4,69– 5,56 cm. Největší délku kořenů mělo osivo z parcely 6 – 5,56 cm a osivo z parcely 7 – 5,00 cm. Nejmenší délku kořenů mělo osivo z parcely 1 – 4,69 cm. Osivo dosahovalo délky děložního klíčku 4,88 – 5,58 cm a mělo dobrou energii klíčivosti. Zdravotní stav obilek dosahoval 31 - 50 %. Vyšší % výskytu houbových chorob.

5. Diskuze

Tato práce se zabývala využitím mykoparazitických hub *Trichoderma virens* (kmenů GL - 21, Tvi 601, Tvi 646, Tvi 648, Tvi 658), *Clonostachys rosea* f. *catenulata* (kmenů Gca 001, Gca 002, Gca 003, Gca 004) v biologické ochraně rostlin proti významným fytopatogenním houbám *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* a *Fusarium solani*. U těchto kmenů byla sledována klíčivost spor (%), index GI, zóna dotyku, zóna mykoparazitismu, počet sklerocií, parazitace terčků a sklerocií, výtěžnost spor. Kmeny *T. virens* s efektivními antagonistickými schopnostmi jsou potenciální kandidáti na biologickou ochranu proti chorobám rostlin (Kredics a kol., 2003). Izoláty *Trichoderma* spp. byly demonstrovány antagonisticky k řadě patogenních hub (Howell, 2003). Čača (1981) uvádí, že gliotoxin získaný z některých kultur *Trichoderma lignorum* a *Trichoderma virens* účinně působí proti fytopatogenním houbám z rodu *Fusarium*, *Botrytis* a *Pythium*. Vitalita spor všech kmenů *T. virens* byla vysoká. Klíčivost spor se pohybovala od 90 do 100 % po 24, 48 hodinách. Klíčivost spor všech kmenů *Clonostachys rosea* f. *catenulata* byla vyšší oproti kmenům *T. virens*. Klíčivost spor se pohybovala od 95 do 100 % po 24, 48 hodinách.

Vláknité houby mohou inhibovat fytopatogenní houby co do konkurenčního prostoru a získávání živin jako je dusík, uhlík, mikro a makroprvky (Elad a Freemam, 2002). *Trichoderma* spp. jsou často velmi rychle rostoucí houby a produkují četné zelené spory (Ozbay a Newmann, 2004). *Trichoderma* spp. byly studovány s ohledem na různé charakteristické rysy a aplikace. Je známá jejich úspěšná kolonizace prostředí a efektivnost konkurenčního boje (Schuster a Schmoll, 2010). Úspěšná kolonizace daného prostoru určitým organismem je rozhodující závislostí na jeho potenciálu bránit jeho ekologickou niku, dařit a prospívat navzdory soutěži o živiny, prostor, a světlo (Schuster a Schmoll, 2010). Naeimi a kol. (2010) hodnotily několik kmenů hub *T. harzianum*, *T. virens* a *T. atroviride* v podmínkách zahradnického skleníku a zjistili jejich efektivnost v regulování patogena *R. solani*.

Po 7, 14 dnech vykazovaly všechny kmeny mykoparazitické houby *T. virens* vysokou účinnost proti *S. sclerotiorum*, *R. solani*, *B. cinerea* a daleko menší účinnost byla zaznamenána proti fytopatogenní houbě *F. solani*. Vliv kmenů *T. virens* na přerůstání kultury *S. sclerotiorum*, *R. solani* a *B. cinerea* byl statisticky průkazný. Patogeni *R. solani*, *S. sclerotiorum* a *B. cinerea* jsou rychle rostoucí houby ve srovnání s fytopatogenní houbou *F. solani*. Toto se může odrazit v kompetici druhů. V duálních testech, všechny testované kmeny *T. virens* výrazně omezily koloniální růst patogenů. Patogen *Fusarium solani* je pomalu rostoucí houba, proto *T. virens* může kolonizovat prostor rychleji a do delších vzdáleností.

V porovnávání kmenů *T. virens* vykázal kmen Tvi 648 nejlepší účinnost proti patogenům *S. sclerotiorum*, *R. solani*, *B. cinerea*. Účinnost kmene Tvi 648 proti všem čtyřem rostlinným patogenům byla statisticky průkazná. Huang a kol. (2008) pozoroval, že *T. virens* degraduje sklerocia více než selektivní mykoparazitická houba *Coniothyrium minitans*. Rabeendran a kol (2006) zjistili, že dva kmeny *T. hamatum*, *T. virens* a jeden kmen *C. minitans*, redukovali onemocnění *S. sclerotiorum* o 30 - 50% ve srovnání s neošetřenou kontrolou, kde bylo onemocnění 100 %. Hlávkový salát, který byl ošetřený *T. virens* ukazoval významně nižší dopad k onemocnění způsobenému patogenem *B. cinerea* (Lolas a kol. 2005). Ze všech testovaných kmenů *T. virens* vykazoval kmen GL 21 nejlepší účinnost proti patogenu *F. solani*. Kmeny *T. virens* vytvářely nejdelší zónu mykoparazitismu s patogenem *R. solani* (43 – 54 mm) a nejkratší zónu mykoparazitismu s patogenem *F. solani* (6 – 9 mm).

Produkce spor u kmenů *T. virens* v interakci s rostlinnými patogeny byla hodnocena po 14 dnech. Nebyly zaznamenány žádné statistické rozdíly mezi produkcí spor a kmeny v kontrolních variantách, a ve variantě interakce kmenů s *S. sclerotiorum* a *R. solani*. V kontrolní variantě produkoval nejvíce spor kmen Tvi 648. U *S. sclerotiorum* nejvíce spor produkoval kmen GL 21. V interakci s houbou *R. solani* produkoval nejvíce spor kmen 646. Ve srovnání kmenů v interakci s patogeny *B. cinerea* a *F. solani* byla produkce spor vyšší u kmene Tvi 648. Fytopatogenní houba *S. sclerotiorum* vytvářela v interakci se všemi kmeny *T. virens* menší sklerocia než tomu bylo v kontrolní variantě.

Houby *T. viride*, *T. viride* a *T. harzianum* úplně přerostly patogeny *R. solani*, *S. sclerotiorum* a *S. rolfsii* a významně u nich potlačily tvorbu sklerocií (Amin a kol., 2010). Di Pietro a kol. (1993) zaznamenali výraznou redukci patogena *S. sclerotiorum* pomocí kmene GL 21 (SoilGard) a kmene GL 3 mykoparazitické houby *T. virens*. Z výsledků vyplývá, že mykoparazitická houba *T. virens* může být využita jako biologický agens v ochraně rostlin proti *S. sclerotiorum*, *R. solani* a *B. cinerea*. Na druhé straně není tento druh houby schopen efektivně potlačit vývoj druhu *F. solani*.

Mykoparazitická houba *Clonostachys rosea* f. *catenulata* je pomaleji rostoucí druh ve srovnání s houbou *T. virens*. Kmeny (Gca 001, Gca002, Gca 004) vykazaly dobrou účinnost proti fytopatogenním druhům *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *F. solani* a menší účinnost proti *R. solani*. Kmen Gca 003 ukazoval nejlepší účinnost proti patogenu *R. solani*. Vliv kmenů *Clonostachys rosea* f. *catenulata* na přerůstání kultur *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *F. solani* byl statisticky průkazný. Zóna mykoparazitismu byla podstatně kratší u *R. solani* ve srovnání se všemi dalšími rostlinnými patogeny. Kmeny houby *Clonostachys rosea* f. *catenulata*, v porovnání s kmeny *T. virens* v interakci s *S. sclerotiorum*, vytvářely větší sklerocia. Mykoparazitická houba *Clonostachys rosea* f. *catenulata* může být využita v biologické ochraně rostlin proti *B. cinerea*, *F. solani*, *S. sclerotiorum*. Na druhé straně, houba *Clonostachys rosea* f. *catenulata* není schopna potlačit růst a vývoj druhu *R. solani*.

Antagonistická schopnost houby *Clonostachys rosea* f. *catenulata* byla využívána v biologické ochraně jahod proti *B. cinerea* (Sutton a Peng, 1993) a u sazenic jehličnatých stromů (Zhang a kol. 1994). Houba *Clonostachys rosea* f. *catenulata* spolu s houbou *T. harzianum* je účinná v ochraně okurek a rajčat pěstovaných ve sklenících (Elad, 1993, 1994), dále v ochraně jablek (Tronsmo, 1991), grepy (Elad, 1994). Burgess (1997) se ve svých studiích zabýval ošetřením semen *Clonostachys rosea* f. *catenulata* proti *B. cinerea* a prokázal tak zlepšení zdravotního stavu u vzešlých sazenic.

Práce se také zabývala ošetřením kořenů rostlin okurky seté pomocí roztoků a sledováním účinku na vývoj rostlin. Rostliny ve variantě 0,5 % Agrisorb vytvářely dlouhý, mohutně rozvětvený kořenový systém a dosahovaly vyšší výšky. Rostliny vytvářely menší počet listů a měly kratší 3 pravý list. Rostliny ve variantě Tvi + 0,5 % Agrisorb vytvářely krátký, málo rozvětvený kořenový systém a dorůstaly do nejnižší výšky. Rostliny měly nejnižší % sušiny nadzemní hmoty a kořene v porovnání s kontrolní variantou. Naopak rostliny tvořily větší počet listů a měly delší 3 pravý list. Na základě výsledků usuzuji, že pro lepší růst rostlin je nejlepší použít houbu *T. virens*, Agrisorb samostatně. Pomocný rostlinný přípravek Agrisorb pozitivně ovlivňuje vývoj rostlin.

Publikace uvádí možnost zvýšení vzcházejivosti mrkve při nedostatku vláhy prostřednictvím ošetření semen v roztoku Agrisorb a výsevem semen na lůžko se zeolitem. Nejvyšší počet vzešlých rostlin byl u variant obalovaných Agrisorbem, následovala varianta se zeolitem a nástřik Agrisorbu 1 g/l. Nástřik osiva Agrisorbem 3g/l se ukázal jako nevhodný (Petříková a kol., 2013).

Možné snížení vodního deficitu v půdě a tím i zlepšení vzcházivosti lze dosáhnout pomocí látek zadržujících vodu v půdě – hydroabsorbentů (Zhang a kol. 1994; Van Cottherm, 1996). Zvýšení odolnosti k suchu při klíčení rajčat bylo dosaženo pomocí antioxidačních látek – kyseliny askorbové, beta karotenu, luteinu, lykopenu a Ambiolu (5-hydrohybenzimidazol) (Lošák a kol., 2010). Vyšší vzcházivost semen papriky po přidání 5 % bentonitu nebo zeolitu do substrátu zjistil (Kappel, 2006). Vyšší vzcházivost a výnos u varianty se zeolitem rovněž u mrkve publikovali autoři Petříková a kol., (2010).

Práce se na závěr zabývala biologickou ochranou pšenice jarní pomocí houby *Trichoderma virens*. Otázka ochrany obilovin je a patrně ještě dlouho bude závažným problémem našeho zemědělství. Diskutovanou otázkou je způsob aplikace biopreparátů. Část autorů, kteří zkoumali vliv houby *Trichoderma spp.*, Kustova (1982, cit. Seiketov1982), Biles a Hill (1988) a další, volí aplikaci bioagens postříkem. Někteří autoři (Knudsen, 1990; Roiger, 1991) aplikují biopreparát ve formě alginátových pelet nebo přímo inokulují půdu. Backman a Rodriguez-Kabana (1975) aplikovali *Trichoderma harzianum* proti *Sclerotinia rolfsii* u podzemnice olejné. Výnos byl zvýšen a výskyt choroby byl eliminován. Harmanem a kol. (1981) houba *Trichoderma hamatum* byla aplikována přímo na semena k ochraně ředkviček a hrachu proti padání klíčnic rostlin způsobené houbami *Pythium sp.* a *Rhizoctonia solani*. Pro ekologické zemědělství v České republice byl do nedávné doby povolený přípravek SUPRESIVIT[®] na bázi houby *T. harzianum*, dnes je na trhu dostupný pomocný rostlinný přípravek GLIOREX[®], který je na bázi dvou druhů hub *T. harzianum* a *Gliocladium roseum*.

Vzhledem k metodice této práce, byla zvolena aplikace preparátu technikou obalování osiva, kterou používají ve své práci Stazs (1989) a Sivan a Chet (1989). Moření osiva je nejčastější způsob, kdy na povrch obilných zrn aplikujeme přímo biopreparát. Při klíčení se dostává mikroorganismus biopreparátu přímo do styku s patogeny, které jsou přenosné osivem. Přímě působí i na patogenní mikroorganismy přenosnými půdou a bývají přítomné i na osivu (Hýsek a kol., 2008). Zároveň se bioagens uchycené na obilce dostává do půdy a v těsné blízkosti zaseté obilky kolonizuje mykoparazitická houba prostředí. Jako nosiče houby *Trichoderma virens* kmene GL 21 byly v práci použity karboxymethyl celulóza a guaranová guma. Vizkozita obou látek napomáhá k přilnutí spor hub k povrchu obilky, kdy dochází po obalení a uschnutí nosičů k utvoření tenké vrstvy.

Před setím jarní pšenice se v laboratoři hodnotila energie klíčivosti obilky, délka kořene, počet kořenů a zdravotní stav osiva. Ze statistického hodnocení výsledků je zřejmý pozitivní vliv *T. virens* v kombinaci s 0,5 % CMC jak na klíčivost osiva, délku kořenů, počet kořenů, tak i na zdravotní stav v porovnání s kontrolní variantou a variantami s vyšší koncentrací CMC a nosičem guaranové gumy. Ve variantě *T. virens* + 0,5 % dosahovalo mořené osivo 96 % energie klíčivosti a mělo 98 % zdravých obilky.

U některých hodnocených druhů, zejména u pšenice seté a ječmene setého, byly zaznamenány určité vztahy mezi hodnocenými biologickými vlastnostmi osiva. Zejména energií vzcházivosti, laboratorní vzcházivosti a kontaminací zrna mikroskopickými houbami, sledovanými v rámci hodnocení zdravotního stavu. Hodnoty energie klíčení se u hodnocených vzorků pšenice seté ošetřené biopreparátem SUPRESIVIT[®] pohybovaly mezi 94 – 97 %, hodnoty laboratorní klíčivosti mezi 95 – 97 %. Biologicky ošetřené osivo v porovnání s konvenčním osivem mělo v průměru delší kořínky (Konvalina a kol., 2010).

V maloparcelkovém pokusu pšenice jarní byl během vegetace sledován vliv biopreparátu *T. virens* na vzcházivost rostlin, odnožování rostlin, jejich výšku a počet zrn v klasu. Zároveň byl sledován výskyt škůdců a onemocnění rostlin. Moudrý a Jůza (1998) uvádí, že kritéria hodnocení hustoty porostů podle počtu rostlin na 1 m² v bramborářském výrobním typu (BVT) u pšenice jarní jsou následující: špatný porost - méně než 300 rostlin na m², řídký porost - od 301 do 400 rostlin na m², optimální porost - od 401 do 550 rostlin na m² a hustý porost nad 550 rostlin na m². U všech sledovaných parcel 1 - 8 (biopreparát *T. virens*), parcel Scirocco A - D (bez *T. virens*) byl porost optimální. Počet odnoží u sledovaných parcel 1 - 8 se pohyboval v rozmezí 630 - 700 ks na m². Na jednu rostlinu připadlo 1,21 - 1,50 odnoží. Podle katalogu odrůd vytvářela odrůda Scirocco v neošetřené variantě pěstování 619 odnoží a v ošetřené variantě pěstování 628 odnoží (Anonym 7).

Rostliny na začátku zrání na parcelách 1 - 8 dosahovaly výšky 87,05 - 92,80 cm a rostliny na parcelách Scirocco A - D dosahovaly výšky 79,90 - 82,75 cm. Podle katalogu odrůd dosahovala odrůda Scirocco v neošetřené variantě pěstování výšky 80 cm a v ošetřené variantě pěstování 94 - 98 cm (Anonym 7).

Na jednotlivých testovaných parcelkách pšenice jarní jsem u praporcového (F) a podpraporcového (F-1) listu hodnotila choroby: braničnatku pšeničnou, rez, helmintosporiovou skvrnitost a v klasu: mazlavá sněť pšeničná, Fuzariózy. Rostliny na kontrolních parcelách A - D byly více napadeny rzí a méně braničnatkou pšeničnou. U rostlin na parcelách 1 - 8, které byly chráněny ochranným pásem ovsu se více vyskytovala braničnatka pšeničná než rez. Na základě těchto výsledků se domnívám, že rez se poprvé začala vyskytovat na kontrolních parcelách A - D a postupně se šířila k parcelám 1 - 8, ochranný pás ovsu tvořil bariéru. Na parcelách 1 - 8, které byly chráněny ochranným pásem se vytvořily vhodné podmínky pro šíření braničnatky pšeničné. HTR se nejvíce vyskytovala na parcelách 1 a 2, které nebyly ošetřovány houbou *T. virens* a byly chráněny ochranným pásem. Na kontrolních parcelách biologicky ošetřených během růstu byl vyšší výskyt mazlavé sněti pšeničné. *Fusarium spp.* se na parcelách 1 - 8 vyskytovala vyrovnaně. Moření osiva a aplikace suspenze *T. virens* během vegetace mělo minimální vliv na snižování listových a klasových chorob. Během vegetace v době sloupkování jsem na parcelách 1 - 8 provedla izolaci hub z půdy. Metodou DPT se mi podařilo potvrdit přítomnost houby *T. virens* v půdě na parcelách na které byla aplikována.

Počet zrn v klasu u pšenice jarní na jednotlivých parcelách 1 - 8 se pohyboval v rozmezí 34 - 39 zrn a na parcelách A - D byl počet zrn 37. Podle katalogu odrůd vytvořila odrůda Scirocco v neošetřené i v ošetřené variantě pěstování 38 zrn v klasu (Anonym 7). U osiva sklizeného a nepřetříděného na sítích se HTZ na jednotlivých parcelách 1 - 8 pohybovala v rozmezí 34,00 - 36,80 g. HTZ na parcelách A - D byla 34,45 g. Podle katalogu odrůd dosahovala odrůda Scirocco v neošetřené i v ošetřené variantě HTZ od 45 do 49,5 g (Anonym 7). U osiva sklizeného a přetříděného na sítích o velikosti 2,5 x 2,2 mm se HTZ na parcelách 1 - 8 pohybovala v rozmezí 40,20 - 41,40 g.

Podle odhadu ČSÚ v srpnu 2012 byl průměrný skutečný odhad sklizně v ČR u pšenice jarní 6,89 t/ha⁻¹ (Anonym 8). Skutečný výnos zrna u pšenice jarní na jednotlivých parcelách 1 - 8 se pohyboval v rozmezí 3,46 - 4,43 t/ha⁻¹ a na parcelách A - D byl výnos zrna v průměru 4,20 t/ha⁻¹. Podle katalogu odrůd dosahovala odrůda Scirocco v neošetřené variantě výnosu 5,7 t/ha⁻¹ a v ošetřené variantě 6,0 t/ha⁻¹ (Anonym 7).

Největší podíl zrn ze sklizeného osiva z parcel 1 - 8 bylo na sítu 2,5 x 2,2 mm a to až 75 - 85 % obilek. Osivo po sklizni z parcel 1 - 8 a přetřídění na síte o velikosti 2,5 x 2,2 mm dosahuje vyšší % energie klíčivosti a zdravotního stavu. Tvoří delší kořeny než osivo ze síta 2,0 x 2,2mm.

6. ZÁVĚR

1. Kmeny *T. virens* byly po 7, 14 dnech dobře účinné proti *S. sclerotiorum*, *R. solani*, *B. cinerea* a téměř neúčinné proti *F. solani*. Kmen GL 21 však vykazoval nejlepší účinnost proti patogenu *F. solani*.
2. Z výsledků vyplývá, že houba *T. virens* produkuje daleko více spor v interakci s vybranými houbovými původci onemocnění rostlin než když je produkována samostatně. Toto může být důsledkem čerpání živin nejen z živné půdy, ale i z hostitelského druhu houby.
3. Ve všech sledovaných parametrech vykázal kmen Tvi 648 nejlepší vlastnosti oproti ostatním testovaným kmenům *T. virens*. Nejvýraznější rozdíly byly zaznamenány v účinnosti proti fytopatogenním druhům hub.
4. Kmeny *Clonostachys rosea* f. *catenulata* byly po 14, 23 dnech dobře účinné proti *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *F. solani* a méně účinné proti *R. solani*. Ve srovnání jednotlivých kmenů se prokázalo, že kmen Gca 003 vykázal alespoň minimální účinnost proti *R. solani*.
5. Kmeny *Clonostachys rosea* f. *catenulata* byly dobře účinné proti *F. solani* než kmeny *T. virens*.
6. Rostliny okurky seté po ošetření jejich kořenového systému roztokem 0,5 % Agrisorbu resp. *Trichoderma virens* a následném jejich zasazení do substrátu měly po 30 dnech pozitivní vliv na vývoj rostlin.
7. Přípravek Agrisorb (0,5%) a mykoparazitická houba *T. virens* měly pozitivní vliv na vývoj rostlin. Po ošetření kořenového systému těmito přípravky bylo zjištěno, že rostliny tvořily delší kořeny i nadzemní část po 30 dnech jejich pěstování v řízených podmínkách ve srovnání s kontrolní variantou a variantou, kde byly oba přípravky aplikovány v kombinaci (0,5% Agrisorb+*T.virens*). Z toho vyplývá, že i sušina byla daleko vyšší než u ostatních variant.
8. V pokusu se předpokládalo, že varianta Tvi + 0,5 % Agrisorb bude mít pozitivní vliv na vývoj rostlin okurky seté, nicméně tento předpoklad se nepotvrdil. Naopak, tato varianta byla horší než kontrolní varianta.
9. Moření osiva jarní pšenice výrazně zvyšuje procento energie klíčivosti a zároveň mořené osivo eliminovalo výskyt patogenů na povrchu obilek při testu klíčivosti v laboratorních podmínkách. Zároveň byl prokázán u mořené obilky pozitivní vliv nejen na vývoj kořenů, ale i děložního listu.
10. Na povrchu obilek, po jejich namoření mykoparazitickou houbou *T. virens* s nosičem 0,5% karboxymethylcelulózou, ulpělo v průměru $4,58 \times 10^4$ spor. Po zasetí může toto množství spor kolonizovat prostředí v těsné blízkosti zaseté obilky.

11. Ukazuje se, že aplikace suspenze houby *T. virens* během vegetace na rostliny, výrazně ovlivňuje výšku rostlin pšenice jarní.
12. Moření osiva a aplikace suspenze *T. virens* během vegetace mělo minimální vliv na snižování listových a klasových chorob.
13. Počet zrn v klasu u pšenice jarní, odrůdy Scirocco, na jednotlivých parcelách 1 – 8 byl nižší v porovnání s hodnotami uváděnými v katalogu odrůd. Nižší počet zrn v klasu byl zapříčiněn vyšší teplotou v době nasazování zrn. Došlo ke zkrácení doby pro tvorbu zrn.
14. HTZ a skutečný výnos na kontrolních parcelách A – D a na parcelách 1 - 8 byl daleko nižší v porovnání s hodnotami uváděnými v katalogu odrůd. Nižší HTZ a výnos zrna byl nejspíš způsoben z důvodů výskytu mazlavé sněti v klasech a následnými kroupami před sklizní.
15. Největší podíl zrn ze sklizeného osiva z parcel 1 – 8 bylo na sítu 2,5 x 2,2 mm a to až 75 – 85 % obilek. Toto osivo dosahovalo vyšší % energie klíčivosti, vyšší % zdravých obilek, větší počet a délku kořenů oproti sklizenému osivu ze sít o velikosti 2,0 x 2,2 mm.
16. Výsledky byly získány po ročním pokusu. Je důležité pokračovat v pokusu a změřit se zejména na sledování zdravotního stavu rostlin. Hlavně na choroby pat stébel.

7. Seznam použité literatury

Alabouvette, C., Lemanceau P. (1999): Joint Action o Microbials for Disease Control. In: Hall, F. R., Menn, J. J. (Eds.): Biopesticides – Use and Delivery. *Humana Press Inc. Totowa, New Jersey*, 117-135.

Ambrozová, L. (2011): Porovnání výnosové schopnosti ozimých a jarních odrůd pšenice: Bakalářská práce. *Jihočeská univerzita v ČB, Zemědělská fakulta*, 18-20.

Amin, F., Razdan, V. K., Mohiddin, F. A., Bhat, K. A., Banday, S. (2010): Potential of *Trichoderma* species as biocontrol agents of soil borne fungal propagules. *Journal of Phytology*, **2**, 38–41.

Anonym 1: <http://www.ohp.com/soilgard> (on-line 6. 4. 2013).

Anonym 2: <http://www.verdena.fi/products> (on-line 6. 4. 2013).

Anonym 3: <http://www.agroprotec.cz/agrisorb> (on-line 6. 4. 2013).

Anonym 4: <http://www.emulgatory.cz/prisada E412> (on-line 6. 4. 2013).

Anonym 5: <http://www.emulgatory.cz/prisada E466> (on-line 6. 4. 2013).

Anonym 6: <http://www.gardencentrum.cz/semena-osivo> (on-line 6. 4. 2013).

Anonym 7: Přehled odrůd 2013, pšenice jarní. <http://www.ukzuz.cz> (on-line 23. 4. 2013).

Anonym 8: <http://www.czso.cz/csu/csu.nsf/informace/> (on-line 10. 3. 2013).

Backman, P. A., Rodriguez-Kabana, R. (1975): A system for the growth and delivery of biological control agents to the soil. *Phytopathology*, **65**, 819-821.

Biles, C. L., Hill, J. P. (1988): Effects of *Trichoderma harzianum* on sporulation of *Cochliobolus sativus* on excised wheat seedling leaves. *Phytopathology*, **78**, 656-659.

Bagar, M. (2007): Biologická ochrana rostlin. Metodické listy č. 12, Spolek poradců v ekologickém zemědělství ČR. [http://www.eposcr.eu/files/informac/vyd_publ/ML12 %20Biologicka%20ochrana.pdf](http://www.eposcr.eu/files/informac/vyd_publ/ML12%20Biologicka%20ochrana.pdf); (on-line: 8. 2. 2013).

Baker, K. F., Cook, R. J. (1974): Biological control of plant pathogens. *W. H. Freeman, San Francisco*, 433.

Barnett, H. L., Binder, F. L. (1973): The fungal host-parasite relationship. *Annu. Rev. Phytophatol.*, **11**, 273.

Ben-Yephet, Y. (1988): Control of sclerotia and apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* by metham-sodium, methyl bromide and soil solarization. *Crop protection*, **7**, 25-27.

Boland, G. F., Hall, R. (1994): An Index of plant hosts susceptible to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadien Journal of Plant Pathology*, **16**, 93-108.

Burgess, D. R., Keane, P. J. (1997): Biological control of *Botrytis cinerea* on chickpea seed with *Trichoderma* spp. and *Gliocladium roseum*: indigenous versus nonindigenous isolates. *Plant Pathology*, **46**, 910–918.

Butt, T. M., Jackson, C., Magan, N. (2001): Fungi as biocontrol agents – progress, problems and potential. *CAB International, Wallingford, UK*, 23-69.

Couper, G. (2001): The biology, epidemiology and control of *Sclerotinia sclerotiorum* on carrots in North East Scotland. *Ph.D. Thesis, University of Aberdeen, Aberdeen, Scotland, UK*, 21 -52.

Čača, Z. (1981): Zemědělská fytopatologie. *Státní zemědělské nakladatelství Praha*, 344.

Čača Z. (1990): Ochrana polních a zahradních plodin. *Státní zemědělské nakladatelství, Praha*, 361.

Davidson, J. A., Pande, S., Bretag, T. W., Lindbeck, K. D., Kishore, G. K. (2004): Botrytis, biology, pathology and control. *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., Delen, N. (Eds.): Biology and Management of Botrytis spp. in Legume Crops. Springerlink*, pp. 295–318.

Davis, R. M. (2004): Carrot diseases and their management. *In: Naqvi, S. A. M. H. (Ed.): Diseases of Fruits and Vegetables. Kluwer Academic publishers, The Netherlands*, **1**, 397-439.

Denis, C., Webster, J. (1971): Antagonistic properties of species – groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interaction. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **57**, 363-369.

Dillard, H. R., Hunter, J. E. (1986): Association of common ragweed with *Sclerotinia* rot of cabbage in New York state. *Plant disease*, **79**, 411-415.

DiPietro A., Lorito M., Hayes C. K., Broadway R. M., Harman G. (1993): Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology*, **93**, 308–313.

Diviš, J. (2000): Pěstování rostlin. 1. vydání. *Jihočeská univerzita v ČB Zemědělská fakulta*, 258.

Diviš, J. (2010): Pěstování rostlin. 2. *Doplňkové vydání. Jihočeská univerzita v ČB Zemědělská fakulta*, 260.

Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C. (2001): Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl*, **46**, 387-400.

Elad, Y. (1994): Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. *Crops protection*, **13**, 35-38.

Elad, Y., Zimand, G., Zags, Y., Zuriel, S., Chet, I. (1993): Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse condions. *Plant Pathology*, **42**, 324-332.

- Elad, Y., Freeman, S.** (2002): Biological control of fungal plant pathogens. *In: Kempken, F.* (Ed). *The Mycota, A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research. XI. Agricultural Applications.* Springer, Heidelberg, Germany, pp. 93–109.
- Esser, K., Lemke, P. A.** (2002): *The Mycota XI. – Agricultural Application.* Springer, Verlag Berlin Heidelberg, pp. 388.
- Fáměra, O.** (1993): Základy pěstování ozimé pšenice. *Praha: Institut výchovy a vzdělávání MZe ČR*, 51.
- Farmář.** (2008): Pšenice jarní. *Časopis všech zemědělců*, **1**, 12-13.
- Fassatiová, O.** (1979): Plísně a vláknité houby v technické mikrobiologii. *SNTL – státní nakladatelství technické literatury, Praha*, 211.
- Ferraz, L. C. L., Café Filho, A. C., Nasser, L. C. B., Azevedo J.** (1999): Effects of soil moisture, organic matter and grass mulching on the carpogenic germination of sclerotia and infection of bean by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant pathology*, **48**, 77-82.
- Graman, J., Čurn, V.** (1998): Šlechtění zemědělských plodin: (obiloviny, luskoviny). *Jihočeská univerzita v ČB Zemědělská fakulta*, 194.
- Griffin, D. M.** (1968): A Theoretical Study Relating the Concentration and Diffusion of Oxygen to the biology of organisms in soil. *New Phytol.* **67**, 561-577.
- Hadar, Y., Chet, I., Henis, Y.** (1979): Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, **69**, 64–68.
- Hajek, A.** (2004): *Natural enemies: an introduction to biological control.* Cambridge University Press, 378.
- Hamouz, K.** (1993): Cvičení z rostlinné výroby. *Praha: Vysoká škola zemědělská v Praze H&H*, 238.
- Handelsman, J., Parke, J. L.** (1989): Mechanisms of biocontrol of soil-borne plant pathogens. *In: Kosuge, T., Nester, E., (Eds.): Plant Microbe Interactions Vol. 3.* New York: McGraw-Hill, 21-61.
- Harman, G. E., Chet, I., Baker, R.** (1981): Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as biocontrol agent. *Phytopathology*, **71**, 569-572.
- Hebbar, K. P., Lumsden, R. D.** (1999): Biological kontrol of seedling diseases. *In: Hall, F. R., Menn, J. J., (Eds): Biopsticides-use and delivery.* Humana Press, Totowa, New Jersey, 155-170.
- Howell, C. R.** (1999): Selective isolation from soil and separation in vitro of P and Q strains of *Trichoderma virens* with differential media. *Mycologia*, **91**, (6), 930-934.

- Howell, C. R., Stipanovic, R. D., Lumsdem, R. D.** (1993): Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. *Biocontrol Science and Technology*, **3**, 435-441.
- Howell, C. R.** (2003): Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The History and evolution of current concepts. *Plant Disease*, **87**, 4-10.
- Huang, H. C., Erickson, R. S.** (2008): Factors affecting biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* by fungal antagonists. *Journal of Phytopathology*, **156**, 628-634.
- Huang, H. C., Huang, J. W., Snaidon, G., Erickson, R. S.** (1997): Effect of allyl alcohol and fermented agricultural wastes on carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* and colonization by *Trichoderma* spp. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **19**, 43-46.
- Hýsek, J., Vach, M., Javůrek, M.** (2008): Biologická ochrana obilnin proti houbovým fytopatogenům. *Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha*, 24.
- Chet, I., Harman, G. E., Baker, R.** (1981) *Trichoderma hamatum* its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microbiol Ecol* **7**, 29–38.
- Chet, I., Inbar, J., Hadar, Y.** (1997): Fungal antagonists and mycoparasites. In: Esser, K., Lemke, P. A. (Eds.): The Mycota IV– Environmental and Microbial Relationships. *Springer, Verlag Berlin Heidelberg*, 165-184.
- Chytilová, V., Dušek, K.** (2007): Metodika testování odolnosti brukvovitých plodin k nádorovitosti. *Výzkumný ústav rostlinné výroby*, 19.
- Jeffries, P.** (1995): Biology and ecology of mycoparasitism. *Canadian Journal of Botany*, **73**, 1284-1290.
- Jeffries, P.** (1997): Mycoparasitism. In: Esser, K., Lemke, P. A. (Eds.): The Mycota IV– Environmental and Microbial Relationships. *Springer, Verlag Berlin Heidelberg*, 149-164.
- Kappel, N.** (2006): Major physical properties of soil mixes for growing vegetable seedling. *Corvinus university of Budapest*, 2-8.
- Kazda, J., Mikulka J., Prokinová E.** (2010): Encyklopedie ochrany rostlin. *Profi press s.r.o., Praha*, 399.
- Knudsen, G. R., Bin, L.** (1990): Effects of temperature, soil monture and wheat bran on growth of *Trichoderma harzianum* from alginate pellets. *Phytopathology*, **8**, 724-727.
- Kocourek, F.** (1994): Zásady integrované ochrany ovoce. In: Kocourek, F., Beránková, J., Mikulka, J. (Eds.): Maximalizace biologických metod v systému integrované ochrany ovoce. *Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha- Ruzyně*, 1-8.

Konvalina, P., Moudrý, J., Kalinová, J., Capouchová, I., Stehmo, Z. (2010): Volba osiva obilnin v ekologickém zemědělství. *Jihočeská univerzita, zemědělská fakulta, České Budějovice*, 24.

Kováčiková, E., Kůdela, V. (1984): Patogenita vybraných druhů hub *Fusarium* pro jetel luční. *Sborník ÚVTIZ – Ochrana rostlin*, **20**, 179 – 188.

Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., Nagy, E. (2003): Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, **41**, 37-42.

Kuchtík, F. (2005): Pěstování rostlin speciální část: Pšenice obecná. *Třebíč: Vydavatelství Petr Večeřa*, 80.

Kůdela, V., Bartoš P., Čača, Z., Diribek, J., Frič, F., Lebeda, A., Šebesta, J., Ulrychová, M., Valášková, E., Veselý, D. (1989): Obecná fytopatologie. *Academica, Praha*, 387.

Landa, Z. (2002): Biologická ochrana zahradních rostlin proti chorobám a škůdcům v polních podmínkách, ve sklenících a fóliovnících. In: Demo, M., Hričovský, I. (Eds.): Trvalo udržatelné technologie v záhradnictve. *Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre*, 225-280.

Lewis, J. A., Papavizas, G. C. (1987): Application of *Trichoderma* and *Gliocladium* in alginate pellets for kontrol of *Rhizoctonia* damping-off. *Plant Pathology*, **36**, 438-446.

Lokaj, Z., Uhlíř, P. (2009): Entomologie nejen pro farmáře. *Praha: BASF spol s.r.o, oddělení Agro*, 98-99.

Lolas, M., Donoso, E. G., Carrasco, V. G. (2005): Use of a Chilean native strain 'Sherwood' of *Trichoderma virens* on the biocontrol of *Botrytis cinerea* in lettuces grown by a float system. Proceedings of the International Symposium on Soilless Culture and Hydroponics Book Series: *Acta Horticulturae*, **697**, 437-440.

Lošák, T., Hlušek, J., Jandák, J., Filipčík, R., Straková, M., Janků, L., Hutýrová, H., Knotová, D., Lošák, M., Ševčíková, M. (2010): The effect of soil applications of zeolite, agrisorb and lignite on the chemical composition of clover-grass mixtures grown in arid conditions of South Moravia. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, **LVIII**, **5**, 247–254.

Lumsden, R. D., Walter, J. F., Baker, C. P. (1996): Development of *Gliocladium virens* for damping-off disease control. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **18**, 45-50.

Manocha, M. S. (1990): Cell-cell interaction ib fungi. *Journal of Plant Disease and Protection*, **97**, 655-669.

Merriman, P. R., Pywell, M., Harrison, G., Nancarrow, J. (1979): Survival of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* and effects of cultivation practises on disease. *Soil biology and biochemistry*, **11**, 567-570.

- Moore, W. D.** (1949): Flooding as means of destroying sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, **39**, 920-927.
- Morall, R. A. A., Dueck, J.** (1982): Epidemiology of *Sclerotinia* stem rot of rapeseed in Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **4**, 161-168.
- Moudrý, J., Jůza, J.** (1998): Pěstování obilnin. *Jihočeská univerzita v ČB, Zemědělská fakulta*, 90.
- Naeimi, S., Okhovvat, S. M., Vagvoelgyi, C., Khosravi, V., Kredics, L.** (2010): Biological control of *Rhizoctonia solani* AG1-1A, the causal agent of rice sheath blight with *Trichoderma* strains. *Phytopathologia Mediterranea*, **49**, 287-300.
- Nátr, L.** (2009): Jak polní plodiny vytvářejí výnos. *Farmář: časopis všech zemědělců*, č. 5, 15-17.
- Ozbay, N., Newmann, S. E.** (2004): Biological control with *Trichoderma* spp. with emphasis on *T. harzianum*. *Pakistan Journal of Biological Science*, **7**, 478-484.
- Papavizas, G. C.** (1989): *Trichoderma* and *Gliocladium*. Biology, ekology and potencial for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopatology*, **1**, 23-52.
- Petr, J.** (1987): Počasí a výnosy. Praha: SZN, 368.
- Petr, J., Húska, J.** (1997): Rostlinná výroba – I (Obecná část, obilniny). Praha: Agronomická fakulta ČZU v Praze, katedra rostlinné výroby, 197.
- Petříková, K., Jurica, M., Pokluda, R., Jezdinský, A.** (2013): Možnost zvýšení vzcházivosti mrkve při suchém počasí. *Zahradnictví*, **4**.
- Petříková, K., Pokluda, R., Jurica, M., Jezdinský, A.** (2010): Pozitivní vliv hydroabsorbentu v kultuře hlávkového salátu při snížené zásobě vody. *Zahradnictví*, **9**, 26–28.
- Phillips, A. J. L.** (1990): The effects of soil solarization on sclerotial populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant pathology*, **39**, 38-43.
- Prigge, G., Gerhard, M., Habermeyer, J.** (2006): Houbové choroby obilnin, znaky pro včasné rozlišení. Praha, 33-57.
- Prokinová, E.** (1996): Biologická ochrana proti houbovým chorobám rostlin. *ÚZPI, Rostlinná výroba*, 7-12.
- Purdy, L. H.** (1979): *Sclerotinia sclerotiorum*. History, diseases and symptomology, host range, geographical distribution and impact. *Phytopathology*, **69**, 875 – 880.
- Rabeendran, N., Jones, E. E., Moot, D. J., Stewart, A.** (2006): Biocontrol of *Sclerotinia* lettuce drop by *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma hamatum*. *Biological control*, **39**, 352-362.

- Rod, J., Hluchý, M., Prášil, J., Zavadil, K., Somssich, I., Zacharda, M.** (2005): *Obrazový atlas chorob a škůdců zeleniny střední Evropy. Biocont Laboratory, spol s r.o., Brno, 392.*
- Roiger, D. J., Jeffers, S. M.** (1991): Evaluation of *Trichoderma* spp. for biological control of phytophthora crown and root rot of apple seedlings. *Phytopathology*, **81**, 910-917.
- Sejketov, G. Š.** (1982): Griby rodu *Trichoderma* ich ispolzovanie v praktike. *Kazachskoj SSSR, Alma-Ata*, 248.
- Schuster, A., Schmoll, M.** (2010): Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl. Microbiol Biotechnol*, **87**, 787–799.
- Schwartz, H. F., Steadman, J. R.** (1978): Factors affecting sclerotia populations of, and apotecium production by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, **68**, 383-388.
- Sivan, A., Chet, I.** (1989): The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology*, **79**, 198-203.
- Stasz, T. E., Taylor, A. G., Harman, G. E.** (1989): Seed treatment with the biopesticide *Trichoderma harzianum* strain KRL-162. *Phytopathology*, **79**, 1159-1160.
- Steadman, J. R.** (1979): Control of plant diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, **69**, 904-907.
- Steadman, J. R.** (1983): White mold – a serious yield-limiting disease of bean. *Plant diseases*, **67**, 346-350.
- Subbarao, K. V.** (2002): Cottony rot/Pink rot. *In: Davis, R.M., Raid, R.N. (Eds.): Compendium of umbelliferous crop diseases. APS press, St. Paul, MN, 29-30.*
- Sutton, J. C., Peng, G.** (1993): Biocontrol of *Botrytis cinerea* in stawbwry leaves. *Phytopathology*, **83**, 615-621.
- Šmíd, J.** (2011): Stanovení suprese vybraných původců onemocnění rostlin pomocí mykoparazitických hub. *Diplomová práce. Jihočeská univerzita v ČB, Zemědělská fakulta*, 13-25.
- Šnobl, J., Pulkrábek, J.** (2005): *Základy rostlinné produkce. 2. vydání. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze*, 172.
- Taylor, A.** (1986): Some aspect of the biochemistry and biology of the genus *Hypocrea* and its anamorf *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Proc. N. S. Inst.Sci*, **36**, 27-58.
- Thomashow, L. S., Bonsall, R. F., and Weller, D. M.** (2002): Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes in situ. *In: Hurst, C. J., Crawford, R. L., Knudsen, G. R., McInerney, M. J., Stetzenbach, L. D. (Eds.): Manual of Environmental Microbiology (2nd ed.). ASM Press, Washington DC, 638-647.*

Tronsmo, A. (1991): Biological and integrated control of *Botrytis cinerea* on apple with *Trichoderma harzianum*. *Biological control*, **1**, 59-62.

US Congress Office of Technology Assessment (1995): Biologically-based technologies for pest control. OTA-ENV-636. *US Government Printing Office, Washington, DC*.

Van Cotthem, W. (1996): Hydroabsorbční polymery – nové možnosti využití. In: Salaš, P. (ed.): Využití hydroabsorbentů pro potřeby zahradní architektury, zahradnické produkce a lesnictví. *MZLU Brno*, 3–13.

Van Driesche, R. G., Heinz, K. M. (2004): Biological control as a component of IPM systems. In: Heinz, K. M., Driesche, R. G., Parrella, M. P. (Eds.): *Biocontrol in protected culture*. *Ball Publishing, Singapore*: 171-184.

Van Loenen, M. C. A., Turbett, Y., Mullins, C. E., Feilden, N. E. H., Wilson, M. J., Leifert, C., Seel, W. E. (2003): Low temperature-short duration steaming of soil kills soil-borne pathogens, nematode pests and weeds. *European journal of Plant Pathology*, **109**, 993-1002.

Váňa, J. (1996): Systém a vývoj hub a houbových organismů. *Univerzita Karlova Praha, Karolinum*, 99-112.

Vašák, J., Fábry, A., Zukalová, H., Morbacher, J., Baranyk, P. (1997): Systém výroby řepky. *Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin, Praha*, 74.

Veselá, D. (1986): Biologická ochrana proti chorobám kořenů vzcházejících rostlin. Sborník Ref. Z 1. Sem. „Biotechnologie v integrované ochraně rostlin“ – Mykopreparáty československé výroby a jejich využití v ochraně polních kultur. *VÚRV Praha-Ruzyně*, 24 -56.

Weindling, R. (1932): Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, **84**, 816-821.

Wilhite, S. E., Lunsden, R. D., and Strancy, D. C. (2001): Peptide synthetase gene in *Trichoderma virens*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 5055-5062.

Williams, J. R., Stelfox D. (1980): Influence of farming practices in Alberta on germination and apotecium production of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **2**, 169-172.

Zhang, P. G., Sutton, J. C., Hopkin, A. A. (1994): Evaluation of microorganisms for biocontrol of Bein container – grown black spruce seedlings. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **24**, 1312-1316.

Zimolka, J.; Edler, S.; Hřivna, L. (2005): Pšenice pěstování, hodnocení a užití zrna. *Praha: Profi Press s.r.o.*, 180.

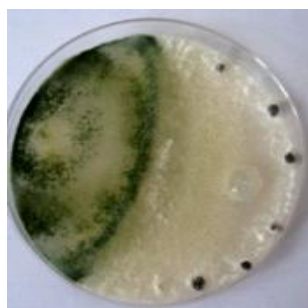
Zvára, J., Voženílková, B.(1992): Poškození jetele lučního houbami rodu *Fusarium*. *Sborník JU ZF v Českých Budějovicích*, **2**, 2 - 4.

8. Přílohy

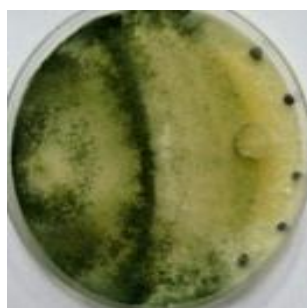
Grafický list č. 1: *Trichoderma virens* v interakci s fytopatogenními houbami.

Kmen GL 21 - *S. sclerotiorum*

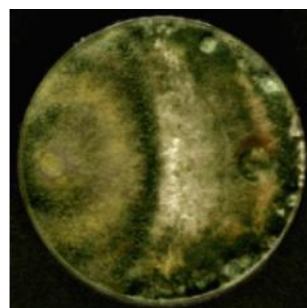
„Foto: Monika Strejčková”



7 den

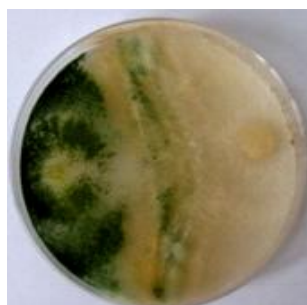


9 den

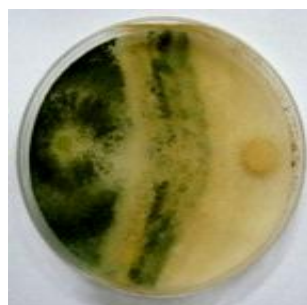


14 den

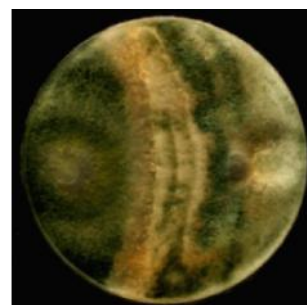
Kmen GL 21 - *R. solani*



7 den

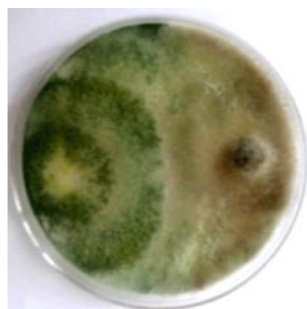


9 den



14 den

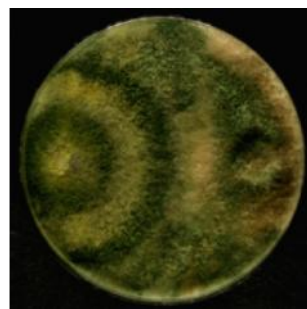
Kmen GL 21 - *B. cinerea*



7 den

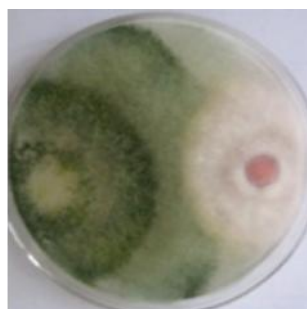


9 den

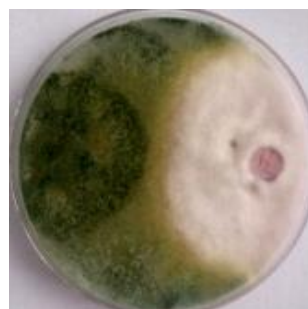


14 den

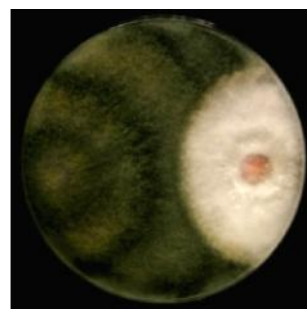
Kmen GL 21 - *F. solani*



7 den



9 den

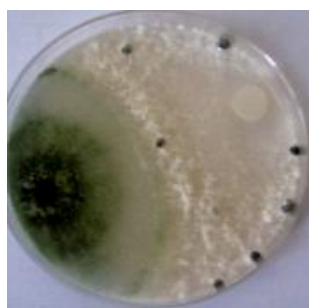


14 den

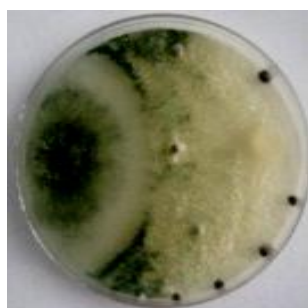
Grafický list č. 1: *Trichoderma virens* v interakci s fytopatogenními houbami.

Kmen Tvi 648 - *S. sclerotiorum*

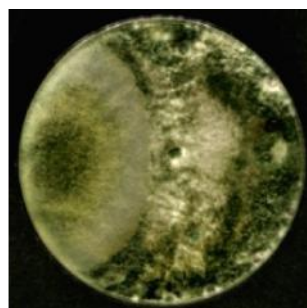
„Foto: Monika Strejčková”



7 den

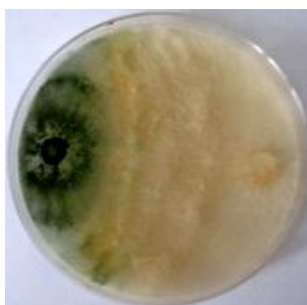


9 den

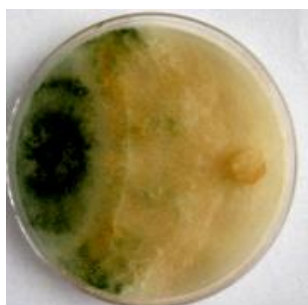


14 den

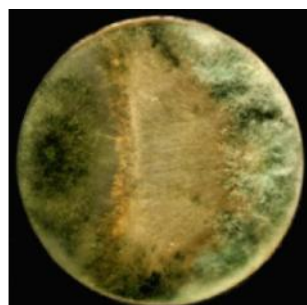
Kmen Tvi 648 - *R. solani*



7 den



9 den

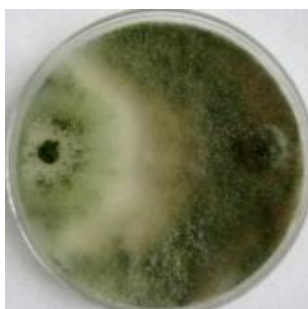


14 den

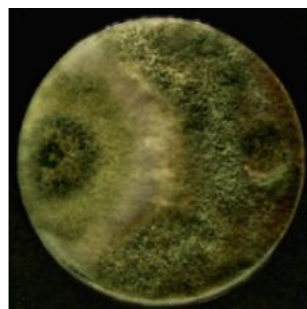
Kmen Tvi 648 - *B. cinerea*



7 den



9 den

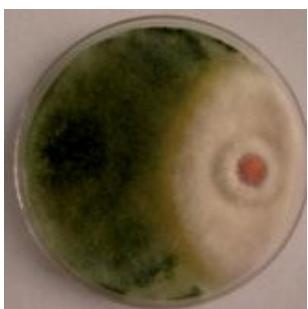


14 den

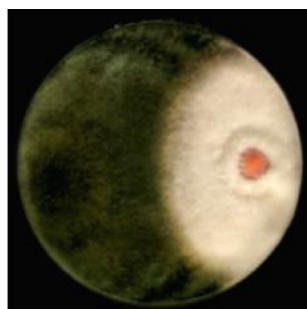
Kmen Tvi 648 - *F. solani*



7 den



9 den



14 den

Grafického listu č. 1: *C. rosea* f. *catenulata* v interakci s fytopatogenními houbami

Kmen Gca 003 - *S. sclerotiorum*

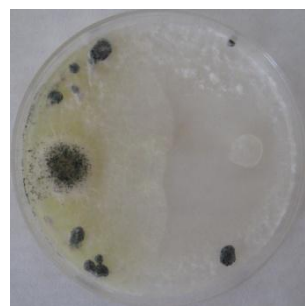
„Foto: Monika Strejčková”



7 den



14 den



23 den

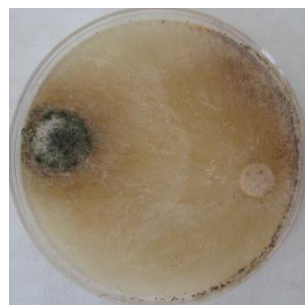
Kmen Gca 003 - *R. solani*



7 den

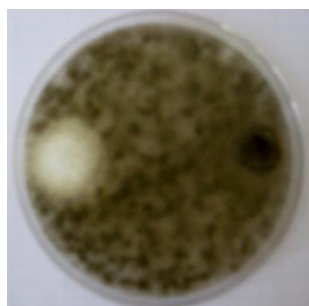


14 den



23 den

Kmen Gca 003 - *B. cinerea*



7 den



14 den



23 den

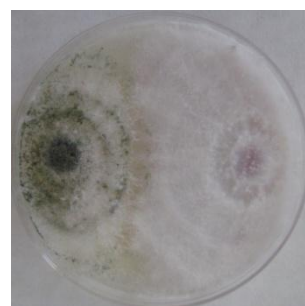
Kmen Gca 003 - *F. solani*



7 den



14 den

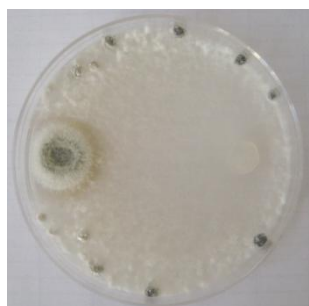


23 den

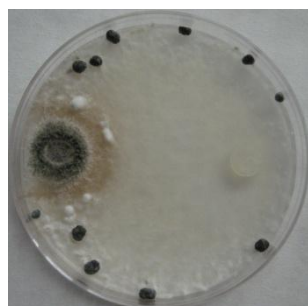
Grafického listu č. 1: *C. rosea* f. *catenulata* v interakci s fytopatogenními houbami.

Kmen Gca 004 - *S. sclerotiorum*

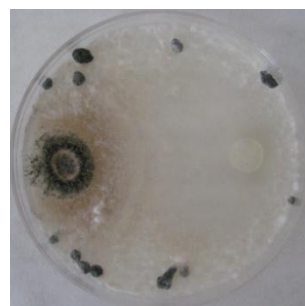
„Foto: Monika Strejčková”



7 den



14 den



23 den

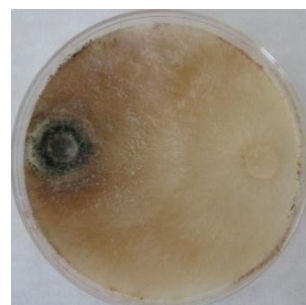
Kmen Gca 004 - *R. solani*



7 den



14 den



23 den

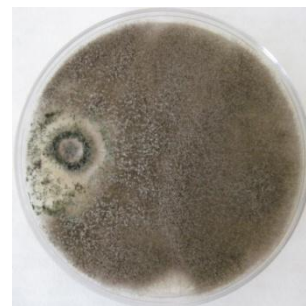
Kmen Gca 004 - *B. cinerea*



7 den

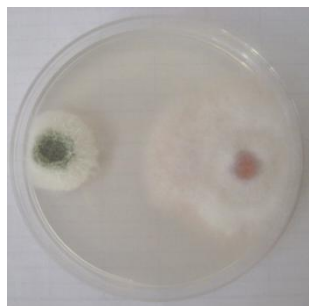


14 den

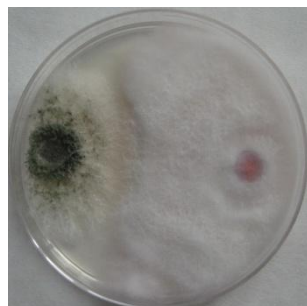


23 den

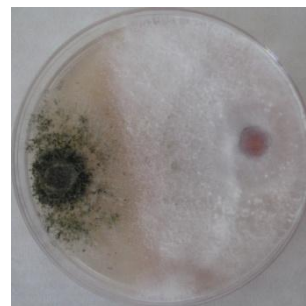
Kmen Gca 004 - *F. solani*



7 den



14 den



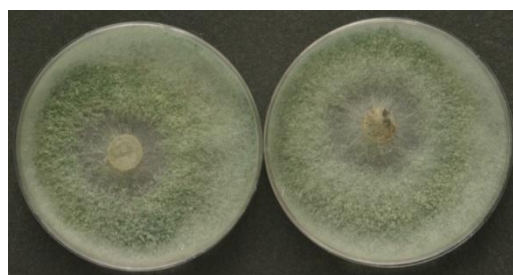
23 den

Grafický list č. 2: Ověřování účinnosti mykoparazitické houby *T. virens* na vybrané druhy fytopatogenních hub (parazitace terčiků).

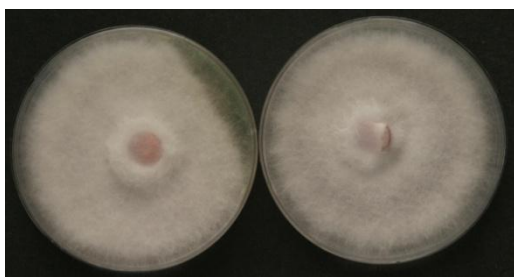
GL 21 + Rh



GL 21 + Bc



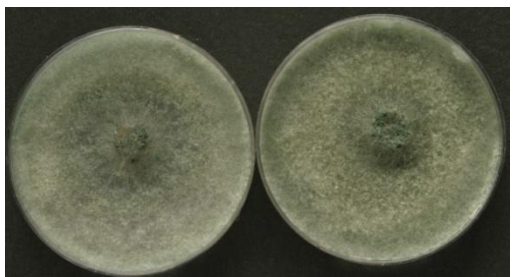
GL 21 + Fus



Tvi 648 + Rh



Tvi 648 + Rh



Tvi 648 + Fus



„Foto: Monika Strejčková”

Grafický list č. 3: Vliv *Trichoderma virens* kmene GL - 21 a přípravku Agrisorb na vývoj kořenového systému.

CTRL



Tvi



Gel



Tvi + Gel

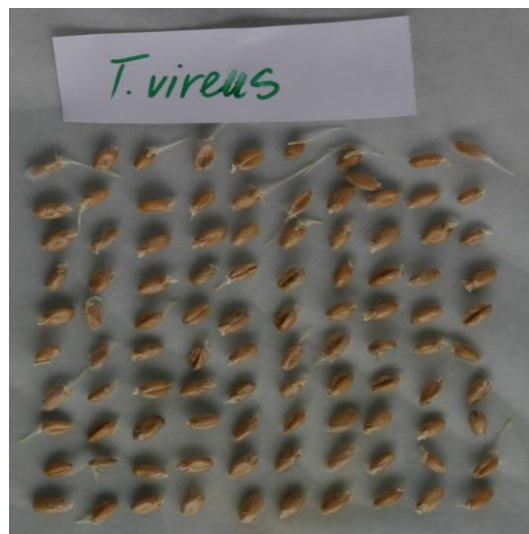


„Foto: Monika Strejčková”

Grafický list č. 4: Hodnocení nemořené a mořené osiva pšenice jarní na klíčidlech 3 den.



Nemořené osivo (kontrolní)



Mořené osivo (suspence Tvi + 0,5% CMC)

Hodnocení nemořené a mořené osiva pšenice jarní na živné půdě PDA 3 den.



Nemořené osivo (kontrolní)



Mořené osivo (suspence Tvi + 0,5% CMC)

„Foto: Monika Strejčková”