

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta



Disertační práce

VYUŽITÍ ENTOMOPATOGENNÍCH A AKARIFÁGNÍCH HUB
V BIOLOGICKÉ OCHRANĚ PROTI SVILUŠCE CHMELOVÉ
TETRANYCHUS URTICAE

Autor disertační práce

Ing. Pavlína BOBKOVÁ

Školitel

prof. Ing. Zdeněk LANDA, CSc.
Katedra rostlinné výroby ZF JU

*České Budějovice
květen 2006*

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma „Využití entomopatogenních a akрифágních hub v biologické ochraně proti svilušce chmelové *Tetranychus urticae*“ vypracovala samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů uvedených v seznamu literatury.

.....
PAVLÍNA BOBKOVÁ

České Budějovice, květen 2006

Děkuji svému školiteli prof. Ing. Zdeňku Landovi, CSc. za odborné vedení, pomoc, trpělivost a cenné rady, které mi poskytoval v průběhu studia a zpracování této práce.

Dále děkuji Ing. Andree Bohaté, PhD. za připomínky a rady a pracovnícím Katedry rostlinné výroby Marii Nýdlové a Olze Divišové za pomoc a technickou asistenci při zakládání pokusů.

V neposlední řadě bych ráda poděkovala svým rodičům a Vaškovi za podporu během celého studia.

Pavčina Bobková

Řešení tématu disertační práce bylo podporováno z následujících grantů:

Identifikace	Název
FRVŠ 1362/2002	Monitoring přirozeného výskytu akarifágních hub na území ČR
FRVŠ 1933/2003	Popis autochtonních kmenů akarifágních hub získaných na území ČR

OBSAH

1. ÚVOD.....	1
2. LITERÁRNÍ REŠERŠE.....	3
2.1. Integrovaná a biologická ochrana rostlin.....	3
2.2. Biologická ochrana rostlin.....	4
2.3. Entomopatogenní a akaropatogenní houby.....	6
2.4. Sviluška chmelová <i>Tetranychus urticae</i>	25
3. CÍL DOKTORSKÉ DISERTAČNÍ RÁCE.....	36
4. MATERIÁL A METODIKA.....	37
4.1. Entomopatogenní houby používané v pokusech.....	37
4.2. Entomopatogenní houby - obecné metodické aspekty	39
4.3. Pasážování vybraných kmenů entomopatogenních hub.....	40
4.4. Standardní laboratorní biotest – dospělci svilušky chmelové.....	42
4.5. Standardní laboratorní biotest – vajíčka svilušky chmelové.....	44
4.6. Kompatibilita entomopatogenních hub s vybranými pesticidy.....	45
4.7. Testování akaropatogenních účinků biopreparátů – skleníkové pokusy.....	47
4.8. Introdukce entomopatogenních hub do populace svilušky chmelové v porostech rychlených okurek – provozní skleníky.....	48
4.9. Statistické metody a ostatní metodické aspekty.....	48
5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST A VÝSLEDKY.....	50
5.1. Polyfaktoriální charakterizace vitality a akaropatogenní účinnosti vybraných kmenů entomopatogenních hub.....	50
5.2. Změny parametrů vitality a akaropatogenity indukované kontinuálním pasážováním entomopatogenních hub přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium.....	80
5.3. Využití systému polyfaktoriální charakterizace akaropatogenních účinků hub při hodnocení jejich kompatibility s vybranými pesticidy.....	102
5.4. Porovnání akaropatogenních účinků komerčně dostupných biopreparátů na bázi entomopatogenních hub.....	128
5.5. Záměrná introdukce kmene PFR 97-H 20 houby <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> do porostů rychlených okurek.....	133
6. DISKUZE.....	
7. ZÁVĚRY.....	146
8. SUMMARY.....	148
9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	150
10. PŘÍLOHY – FOTODOKUMENTACE.....	162

1. Úvod

Účelem ochrany rostlin je využít dostupných metod pro regulaci škodlivých organismů a udržení zdravé rostliny. Zdravá rostlina je pak základní složkou celostního pohledu, kdy můžeme uvažovat o řetězci: zdravá půda → zdravá rostlina → zdravá zvířata → zdraví lidé. Je tak reflektován vzrůstající zájem o příčiny a následky jednotlivých kroků v ochraně rostlin.

V minulém století se prioritní staly chemické metody ochrany rostlin. S rozvojem chemického průmyslu byly upřednostňovány (a v některých případech i nadále jsou) uměle produkované účinné látky nabízející mnohdy efektivní a rychlé řešení regulace četnosti škodlivých organismů. Při použití pesticidů v některých typech agroekosystémů však dochází k destabilizaci celého systému, následně s nutností hledání řešení dalších problémů, např. negativní ovlivnění necílových organismů, uvolnění niky pro příležitostné škůdce, rezidua účinných látek v prostředí. V případě svilušky chmelové byla také potvrzena rezistence k několika účinným látkám akaricidů, což vznáší nové nároky na systém ochrany rostlin.

S rozšiřováním poznatků o působení účinných látek, vzrůstá povědomí o riziku aplikace pesticidů. Zároveň jsou zpřesňovány a dále propracovávány jednotlivé systémy ochrany rostlin zahrnující též mechanické, agrotechnické, bioracionální a v neposlední řadě také biologické metody regulace populací škůdců. Také v definování a vymezení systémů ochrany rostlin dochází ke změnám a diverzifikaci, v případě integrované ochrany rostlin došlo v průběhu doby k vymezení „konvenční integrované ochrany rostlin“, a tzv. „biointenzivní“. Biointenzivní integrovaná ochrana se odklání od vzorců konvenční ochrany rostlin a od využívání chemické ochrany směrem k biologickým metodám regulace populací škůdců.

V současné době vystupují při regulaci populací škodlivých organismů do popředí principy trvale udržitelných systémů, nedílnou součástí strategií je respektování ochrany životního prostředí, krajiny a zdraví lidí. Jednou z cest snahy o snížení vnosu cizorodých látek do prostředí je využití přirozených vztahů mezi organismy. Parazitace, predace, saprotrofismus a ostatní vztahy se běžně vyskytují v agroekosystémech, často však zůstávají skryty pozornosti člověka. V případě roztočů zůstávají přirozeně se vyskytující epizootie nepovšimnuty také z důvodů malých rozměrů.

Trvale udržitelné zemědělství je často definováno jako eko-kompatibilní a v tomto smyslu je také považováno za alternativní vůči zemědělství konvenčnímu. Teorie i praxe trvale udržitelného zemědělství se odvíjí od čtyř základních principů: 1) prevence znečišťování, 2) zvýšení kvality, 3) redukce kvantity a 4) zachování biodiversity. Na rozdíl od konvenčních nejsou trvale udržitelné zemědělské technologie parametrizovány pouze standardními ekonomickými kritérii (např. náklady, kvalita produkce), ale i tím, jakým způsobem se podílejí (resp. nepodílejí) na spotřebě neobnovitelných přírodních zdrojů a jak přispívají k ochraně životního prostředí a lidského zdraví.

Biologická ochrana proti svilušce chmelové využívá přednostně dravých roztočů, tvořících klíčové komponenty, na kterých je vystavěna regulace četnosti populace svilušky. Systému je využíváno především v ochraně skleníkových kultur (kde jsou v porovnání s pesticidy výhodou ochranné lhůty) a dlouhotrvajících kultur, např. ovocných výsadby a vinic. Další organismy standardně využívané v biologické ochraně rostlin (dravé ploštice, bejlomorky) obvykle mají širší potravní spektrum, svilušku chmelovou využívají pouze jako jeden z potravních zdrojů. Na stejné úrovni ve vztahu ke svilušce chmelové je též zapojení entomopatogenních resp. akaropatogenních hub do systému ochrany rostlin. Záměrné využívání hub ve sklenících je primárně cíleno na odlišnou skupinu, např. molice a mšice. Komerčně využívané druhy mají široké spektrum hostitelů, status akaropatogena spíše unikátní pozornosti. Nosnou myšlenkou předložené studie je příspěvek k poznání vzájemných interakcí mezi sviluškou chmelovou a vybranými druhy hub. Tato oblast není prozatím příliš definována, protože však houby mohou přetrvávat ve fyloplánu delší dobu, entomopatogenní *Hyphomycetes* vystupují také jako saprotrofní druhy, jsou schopny dalšího šíření, představují jednu z možných složek regulace populací svilušky chmelové

Následující práce by měla přiblížit vzájemný vztah: sviluška *Tetranychus urticae* a entomopatogenní resp. akaropatogenní houby, ověřit ovicidní účinnost vybraných druhů hub,

porovnat jednotlivé kmeny hub, ať již autochtonních či tvořících součást standardních biopreparátů, a načrtnout možnosti zvyšování účinnosti pasážováním a využitím kombinace hub a akaricidů. Zároveň si klade za cíl naznačit možný přesah z laboratorního prostředí směrem k běžným agroekosystémům, jejichž nedílnou součástí je svluška chmelová vystupující jako polyfágní kosmopolitně rozšířený škodlivý činitel.

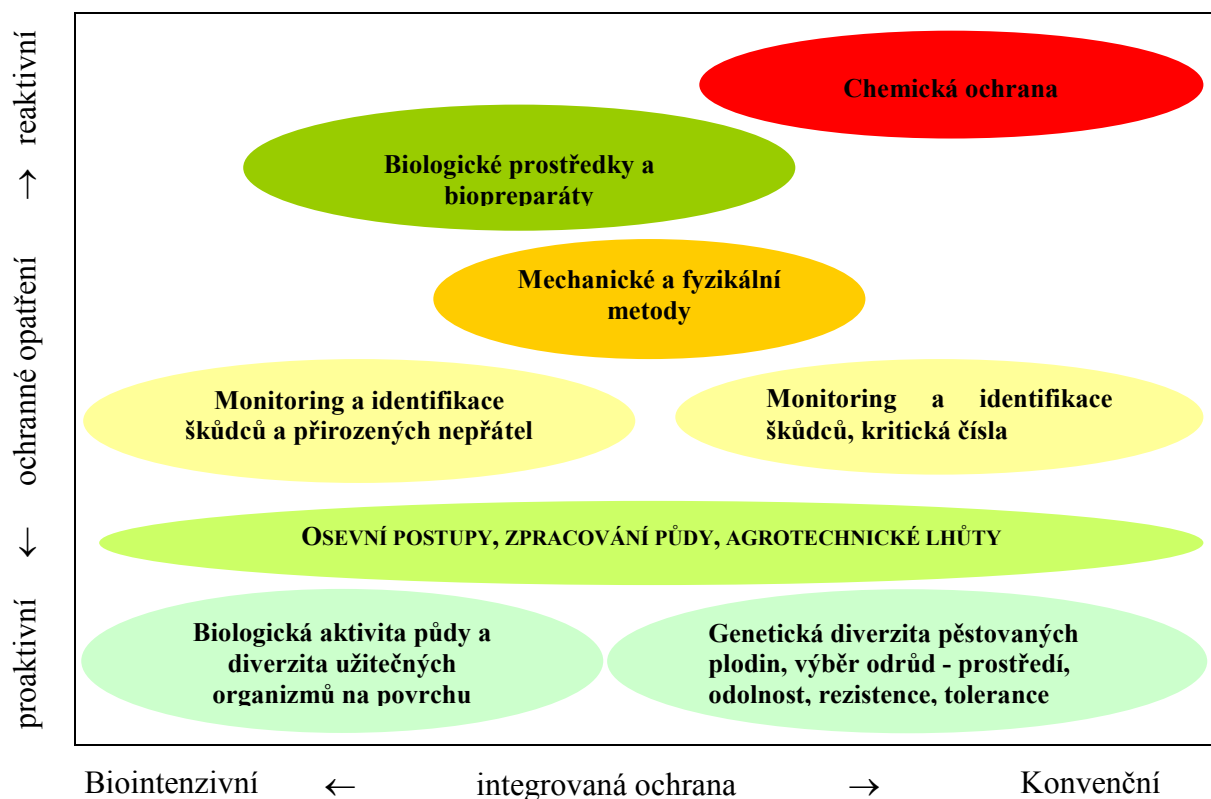
2. LITERÁRNÍ REŠERŠE

2.1. Integrovaná ochrana rostlin

Integrovaná ochrana rostlin (IOR) představuje strategii, ve které jsou v socioekonomickém kontextu farmářského systému, spojení prostředí a populační dynamiky škůdců, využívány všechny dostupné regulační postupy, včetně fyzikálních, chemických a biologických, s cílem udržení populační hustoty škodlivých činitelů pod hladinou způsobující ekonomické poškození (Pell *et al.* 2001). V oblasti praktické metodologie IOR jsou však záměrně upřednostňovány a účelově kombinovány nechemické metody regulace četnosti populací škůdců, zejména pak metody biologické, agrotechnické, genetické a bioracionální. V tomto kontextu jsou příkladem praktické realizace IOR programy, ve kterých je např. biologická ochrana kombinována s využíváním rezistence hostitelských rostlin. Oba uvedené mechanismy regulace populací škůdců jsou obecně považovány za kompatibilní, protože na rezistentních rostlinách bývá pomalejší sezónní populační dynamika škůdců, čímž se zároveň zvyšuje regulační kapacita biologického agens a pravděpodobnost, že v daném systému bude populace cílového druhu škůdců udržena pod hladinou škodlivosti (Bergman, Tingey 1979; Boethel, Eikenbary 1986; Krips *et al.* 1999).

V současnosti je známo několik desítek definic IOR, které se liší nejen v obecných formulacích, ale i v hlavních cílech. Stávající definiční kontinuum IOR osciluje od jednoduchých, pragmatických a úzce orientovaných definic (definice zaměřené na základní principy programů IOR zemědělských plodin a kultur) až po verze definující IOR velmi široce (definice více orientované na praktické i obecné aspekty životního prostředí, trvale udržitelný rozvoj, alternativní a ekologické systémy hospodaření apod.). V posledních letech lze v definičním kontinuu IOR zaznamenat zřetelnou tendenci detailnější diferenciaci IOR, což vyústilo v zavedení termínů „konvenční“ a „biointenzivní“ IOR (Defour 2001; Landa 2004). Nové pojetí a vnitřní diverzifikace IOR představuje velmi významný posun v oblasti teorie a praxe IOR. V tomto pojetí je jednoznačně a výrazně zvýšen důraz na formální i obsahové aspekty IOR, přičemž klíčový diferenciativní význam sehraává metodologie IOR. Základní rozdíly substrategií (konvenční resp. biointenzivní) IOR lze nejpřesněji definovat pomocí termínů „proakce resp. prevence“ (biointenzivní IOR) a „reakce resp. kurace“ (konvenční IOR). Druhým klíčovým aspektem je úroveň akceptace syntetických pesticidů. Definice biointenzivní IOR používání syntetických pesticidů nepřipouští, naproti tomu definice konvenční IOR používání syntetických pesticidů připouští a v extrémní verzi staví syntetické pesticidy na roveň ostatním metodám regulace a ani neformuluje princip cílené preference metod nechemických (Defour 2001). Významné rozdíly mezi konvenční a biointenzivní IOR lze zaznamenat v mnoha aspektech, nicméně velmi dobře se tyto rozdíly demonstrují na odlišnostech v pojetí a postavení biologické ochrany rostlin. Biologická ochrana rostlin je běžnou až obligátní součástí všech definic IOR. V konvenční IOR je biologická ochrana chápána velmi široce a zahrnuje i (bio)technologické prvky, včetně záměrné produkce parazitoidů, predátorů a patogenních mikroorganismů a standardní finalizace a formulace biopreparátů a biologických prostředků určených k masovým introdukcím bioagens do zájmových agroekosystémů. Oproti tomu, v pojetí biointenzivní IOR je biologická ochrana chápána výhradně v kontextu záměrné podpory přirozeně se vyskytujících druhů a jejím cílem je dosáhnout stavu, kdy podpora přirozených nepřátel prostředí zajistí obecnou stabilitu agroekosystému. Nehledě na poměrně značné rozdíly a významné odlišnosti, obě strategie IOR zpravidla spojuje důraz na preferenci biologických metod regulace četnosti populací škůdců a supresi šíření a vývoje původců onemocnění rostlin.

Schéma 1. Schematické znázornění hlavních rozdílů mezi konvenční a biointenzivní integrovanou ochranou rostlin (upraveno podle Defour 2001)



2.2. Biologická ochrana rostlin

Biologická ochrana rostlin je nejčastěji definována jako záměrné využívání živých přirozených nepřátel nebo antagonistických organismů s cílem snížit populační hustoty škodlivých činitelů, živočichů nebo rostlin na ekonomicky přijatelnou úroveň (Landa *et al.* 2002). Biologická regulace je buď výsledkem činnosti člověka nebo přírodních sil. Biologická ochrana může být použita buď pro supresi škodlivých činitelů rostlin a potravin, nebo pro obnovení přírodních systémů napadených adventivními druhy¹ (van Driesche, Bellows 1996).

V současnosti je známo několik, paralelně využívaných definic „Biologické ochrany rostlin“, lišících se rozsahem v pojetí pojmu „biologický“. V nejširším možném pojetí, jsou do kategorie „biologická ochrana“ zahrnovány nejen metody záměrně využívající různé skupiny a druhy přirozených nepřátel a antagonistů, ale i metody bioracionální, agrotechnické, případně i genetické. Nicméně, současné systémy delimitace metod ochrany rostlin akcentují výrazně zúžené pojetí a definují biologické metody jako metody, jejichž principem je záměrné využívání přirozených nepřátel s cílem omezovat výskyt, šíření a vývoj původců onemocnění rostlin, škůdců a plevelných rostlin.

Kategorie "*přirozený nepřítel*" je kategorií pragmatickou a účelovou, jejíž zavedení akcentuje antagonistické prvky v souhrnu interakcí dvou druhů. Poněkud abstraktní kategorie "*přirozený nepřítel*" je v oblasti praktické terminologie zjednodušeně konkretizována prostřednictvím následujících známých pojmů:

¹ Adventivní = jakýmkoliv způsobem odjinud zavlečený do určité geografické oblasti; nepůvodní (neindigenní) pro oblast, do které byl zavlečen (Landa *et al.* 2002)

- a) parazit^{II} (parazitoid)
 - druh, který je na svého hostitele vázán potravně
 - druh, který je na svého hostitele zároveň vázán alespoň částí svého vývoje
- b) predátor (dravec)
 - druh, který je na svou oběť vázán pouze potravně a jehož vývoj není vázán na vlastní oběť, nicméně osidluje s obětí shodný biotop
 - v průběhu vývoje zpravidla usmrtí více jedinců oběti
- c) patogenní mikroorganismus
 - obligátní nebo fakultativní patogen, který je schopen vyvolat onemocnění svého hostitele
 - v širším slova smyslu jsou do této kategorie zahrnovány i druhy, jejichž interakce s okolními druhy má charakter antagonizmu, kompetice nebo inhibice

Strategie biologické ochrany rostlin

Výše uvedená kategorizace přirozených nepřátel vymezuje i základní metodologickou výbavu, kterou má biologická ochrana k dispozici. Základní metody, které jsou v rámci biologické ochrany rostlin využívány, jsou členěny s ohledem na způsob a podmínky, za jakých je přirozený nepřítel introdukovan do zájmového agroekosystému a běžně jsou delimitovány následujícím způsobem:

a) Inokulativní introdukce (tzv. klasická biologická ochrana)

- neindigenní nebo indigenní druh parazita, predátora nebo patogenního mikroorganismu je v malém počtu záměrně introdukovan do nového areálu rozšíření škodlivého organismu
- cílem je zajistit dlouhodobý efekt po uchycení, adaptaci, namnožení a rozšíření introdukovaného druhu
- vyžaduje národní a mezinárodní infrastrukturu, včetně karanténních zařízení
- výrazně ekologický charakter a velmi malý podíl technologických prvků (nízkokapacitní chovy a biotechnologie pro introdukci malého množství jedinců)

Import přirozených nepřátel (strategie biologické ochrany, pro kterou je standardně používán termínem „Klasická biologická ochrana“) je používán v případě, že je přirozený nepřítel introdukovan do nového areálu (exotického) druhu škůdce, který byl zavlečen do nové oblasti (areálu), ve které se uchytil a etabloval se do role škůdce. I z nedávné historie je známa řada případů, kdy introdukce nového druhu bioagens do oblasti zavlečení škůdce byla vysoce účinná.

b) Inundativní (augmentativní) introdukce

- indigenní nebo neindigenní druh je sbírán nebo masově produkovan a jednorázově nebo periodicky introdukovan do agroekosystému s cílem dosáhnout okamžitého ochranného efektu.
- introdukce je zpravidla cílena na univoltinní druhy škůdců na jednoletých plodinách
- introdukovaný druh se v prostředí zpravidla neuchytí a jeho introdukce musí být v následných pěstitelských cyklech opakovány
- výrazně technologický charakter (podmínkou jsou masové chovy makroorganismů a umělé produkce/kultivace mikroorganismů, řízená distribuce standardních prostředků/přípravků)

^{II} v praktické biologické ochraně rostlin je preferováno záměrné využívání parazitů, jejichž interakce s hostitelem resultuje v usmrcení, resp. úplnou supresi cílového druh, pro takto zúženou skupinu parazitů je používán pojem „parazitoid“

c) Sezónní inokulativní introdukce

- přirození nepřátelé jsou sbírání nebo masově produkováni a jednorázově nebo periodicky introdukováni do krátkodobých plodin (6-12 měsíců)
- cílem je nejen okamžitý ochranný efekt, ale i dlouhodobější regulace populací multivoltinních druhů škůdců (po celou dobu pěstitelského cyklu, účinnost i na generace cílového škůdce, které se realizují až po introdukci)
- strategie má výrazně technologický charakter, nutným předpokladem jsou masové chovy a umělé produkce/kultivace, komerčně je tato strategie realizována standardními prostředky a přípravky biologické ochrany)

Metoda opakovaných introdukcí v průběhu jedné vegetace je téměř výhradně využívána v komplexní biologické ochraně rychlené zeleniny a okrasných květin, jiné aplikace jsou pouze výjimečné.

příklad:

parazitoid *Encarsia formosa*, dravý roztoč *Phytoseiulus persimilis* a další druhy parazitoidů a predátorů produkovaných a distribuovaných pro účely biologické ochrany skleníkových plodin

d) Podpora, ochrana a konzervace přirozených nepřátel

- záměrná podpora, ochrana a konzervace přirozených nepřátel v zájmovém prostředí
- zvýšení účinnosti indigenních druhů přirozených nepřátel
- výrazně ekologický charakter

Cílená podpora, ochrana a konzervace přirozených nepřátel patří mezi kritické prvky biologické ochrany, zejména v technologiích ekologického zemědělství. V principu jde o všechna opatření, která nejen podporují výskyt, vývoj a populační dynamiku přirozených nepřátel (potrava, zimoviště, atraktance na cílový biotop... apod.), ale zejména, které eliminují přímé negativní vlivy na výskyt, vývoj a populační dynamiku autochtonních populací přirozených nepřátel. Lze konstatovat, že minimalizace negativních vlivů na přirozené nepřátele je principiálním prvkem této strategie a je v obecné rovině významnější než podpora či konzervace.

2.3. Entomopatogenní a akaropatogenní houby

2.3.1. Obecná charakteristika entomopatogenních a akaropatogenních hub

Všechny třídy Eumycota zahrnují nejméně několik rostlinných patogenů, stejně tak je známo 750 druhů hub z 56 rodů, které vystupují jako patogeni či parazité členovců (Chandler *et al.* 2000). Každá taxonomická skupina hub, s výjimkou vyšších Basidiomycetes a dermatomykózních Hyphomycetes, obsahuje druhy patogenní k hmyzu (St. Leger, Screen 2001). Nejvíce druhů je řazeno mezi Zygomycotina (Zygomycetes: Entomophthorales), Ascomycotina (Pyrenomycetes: Sphaeriales; Laboulbeniomycetes: Laboulbeniales) a Deuteromycotina (Hyphomycetes: Moniliales). Tyto skupiny obsahují nejvíce virulentní^{III} kmene^{IV} patogenů hmyzu a roztočů, všechny přenosné horizontálně. Akaropatogenní houby tvoří funkční podskupinu v rámci hub entomopatogenních, se stejnými fylogenetickými vztahy, ovšem vystupující jako méně diverzní skupina (Poinar, Poinar 1998). Mnoho druhů, např. *Hirsutella thompsonii* (Moniliales) a *Neozygites floridana* (Entomophthorales), jsou specificky akaropatogenní, jiné druhy jsou schopny zabít hmyz i roztoče.

^{III} Virulentní = vysoce patogenní, mající schopnost vyvolat silnou chorobu; schopný vyvolat všechny typické příznaky choroby u náchylného hostitele (Kůdela, Polák 1999)

^{IV} Kmen = biotyp, rasa, forma, izolát; organismus nebo skupina podobných organismů, která se v méně důležitých hlediscích liší od podobných organismů téhož druhu (Kůdela, Polák 1999)

Teoreticky představují roztoči dobrého hostitele pro houby, neboť mají měkké tělo a často obývají prostředí s vlhkým mikroklimatem (Ferro, Southwick 1984), které napomáhá infekci a šíření (Hajek, St. Leger 1994). Nicméně, jejich malé rozměry ztěžují studium a často tak zůstávají interakce mezi houbovým patogenem a roztoči nezaznamenány.

2.3.2. Klasifikace entomopatogenních a akaropatogenních hub

Houby představují fylogeneticky diverzní skupinu mikroorganismů, jenž jsou všechny heterotrofní eukaryota, jednobuněčné (t.j. kvasinky) nebo hyfální (t.j. vláknité houby) a rozmnožují se prostřednictvím pohlavních a/nebo nepohlavních spor. Pravé houby (říše: Mycota) se dále dělí do čtyř skupin: Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota a Basidiomycota (Inglis *et al.* 2001). Nejčastěji využívaným kritériem při dělení houbových organismů do přirozených skupin (tedy založených na genetických vztazích) jsou útvary vzniklé při pohlavním rozmnožování. Nicméně, rozsáhlá skupina hub, zahrnující též mnoho entomopatogenních druhů, ztratila schopnost nebo jen zřídka produkuje pohlavní spory. Tato skupina hub je tradičně řazena do oddělení Deuteromycotina, s uměle vytvořenou třídou Hyphomycetes. Zástupci této třídy jsou charakterizováni myceliální formou nesoucí nepohlavní spory, označované konidie, které vznikají na specializovaných konidiogenních buňkách. Konidogenní buňky se často formují na jednoduchých či větvených hyfách, konidioforech, nebo na agregaci konidioforů, popsaných jako synnemata (skupina vzpřímených nebo někdy spojených konidioforů nesoucích konidie buď pouze na vrcholu nebo současně na vrcholu a po stranách) nebo sporodochia (masa krátkých konidioforů produkovaných v polštářkovitých plodnicích).

Zástupci Hyphomycetes byli tradičně oddělováni od hub produkujících konidie v konidiomatech (Coelomycetes). Tyto druhy produkují konidie v uzavřených, často lahovitých konidiomatech (pyknidia) nebo v miskovitých konidiomatech (acervuli). Mnoho mykologů dlouhou dobu neakceptovalo Deuteromycota a podtřídy jako formální taxonomickou skupinu a řadilo tyto druhy společně jako „mitosporické houby“. Ačkoliv velmi málo entomopatogenních mitosporických hub je spojováno s pohlavní fází, mnoho jich vykazuje spřízněnost s Ascomycetes stavbou stěny hyf. Mimoto bylo mnoho těchto hub spojeno se zástupci Ascomycota na základě DNA homologie (18S ribozomální DNA). Pokud byla mitosporická houba spojena s pohlavním stádiem, byla označena jako „anamorfa“ nebo „anamorfní stádium“. Pohlavní nebo perfektní stádium bylo pak označeno termínem „teleomorfní stádium“, obě stádia (tedy pohlavní a nepohlavní stádium dohromady) jako „holomorfa“^V.

Nomenklatura hub je řízena mezinárodním kódem. Ten dovoluje označovat rozdílná stádia hub oddělenými jmény. Nicméně pokud existuje teleomorfa, jméno je automaticky spojeno s celou „morfou“ i přesto, že je známa také anamorfa (proto je správné jméno holomorfy jméno teleomorfy). Například entomopatogenní taxon *Paecilomyces farinosus* označuje anamorfní stádium teleomorfy *Cordyceps memorabilis* (Inglis *et al.* 2001). Podle pravidel nomenklatury by tedy měla být nazývána *C. memorabilis*. Pro houby, které nejsou spojeny s teleomorfním stádiem, je termín „mitosporické houby“ nadále využíván (Inglis *et al.* 2001) Užití termínu „mitosporické houby“ však není jednoznačně přijímáno, mnoho autorů argumentuje, že determinace anamorfního a teleomorfního stádia není dle typu buněčných procesů (např. mitóza) předcházejících sporulaci, ale také na základě morfologických charakteristik.

Jak již bylo uvedeno, nepohlavní spory produkované mitosporickými houbami jsou označovány jako konidie, ale některé druhy mohou také produkovat nepohlavní odpočinkové spory, označované „chlamydospory“. Tradičně byla klasifikace Hyphomycetes do rodů založena na charakteristice spor a stupni agregace konidioforů do složitějších struktur (např. synnemata nebo sporodochia). Nejčastější entomopatogenní rody řazené do Hyphomycetes zahrnují *Aspergillus*,

^V Holomorfa (adj. holomorfní) = termíny pro označení celého životního cyklu houby se všemi jejími tvary a vývojovými fázemi (Hýsek, Kůdela 2001)

Beauveria, *Culicinomyces*, *Hirsutella*, *Lecanicillium*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces* a *Tolypodadium*. Každý z těchto taxonů je charakterizován na základě konidiogeneze (např. Samson *et al.* 1988; Humber 1997). Nicméně, zařazení na základě konidiogeneze nemusí nutně odrážet fylogenetické skupiny, a tak může aplikace molekulárních metod vznést nové světlo do systému rodů a druhů entomopatogenních hub. Mnoho taxonů entomopatogenních Hyphomycetes zmiňovaných v textu je spojováno s rodem *Cordyceps* jako teleomorfním stádiem (Ascomycota: Hypocreales).

2.3.3. Porovnání Entomophthorales a mitosporických hub

Entomophthorales vykazují celou řadu ekomorfologických adaptací k životnímu cyklu hostitelů, zatímco entomopatogenní mitosporické houby (pravděpodobně kromě *Hirsutella* sp. a *Lecanicillium lecanii*) mají tendenci chovat se více oportunně (Samson *et al.* 1988). Některé druhy mitosporických entomopatogenů se skládají z velkého množství klonálních skupin udržujících si mechanismy heterokaryonní inkompatibility, které se mohou podstatně odlišovat v závislosti na hostiteli a charakteristikách patogenity (Hajek, St. Leger 1994). Příkladem může být *Metarhizium anisopliae* vykazující vysokou úroveň variability mezi izoláty (St. Leger *et al.* 1992), ovšem většinu těchto izolátů je možno rozčlenit do několika geografických skupin genotypů (Hajek, St. Leger 1994). Geografická blízkost je tedy u *M. anisopliae* často doprovázena úzkým genetickým vztahem (Chandler *et al.* 2000).

2.3.4. Entomophthorales

V současné době je popisováno šest čeledí řazených do Entomophthorales: Entomophthoraceae, Neozygitaceae, Completoriaceae, Ancylistaceae, Meristacraceae a Basidiobolaceae (Humber 1989). Z pohledu entomologie a patologie jsou nejvýznamnější zástupci Entomophthoraceae a Neozygitaceae. Je známo 200-300 druhů Entomophthoraceae a 15 druhů Neozygitaceae (Pell *et al.* 2001). Z pohledu regulace populací škůdců mají Entomophthorales několik výhodných vlastností, např. způsobují v populacích hmyzu významné epizootie, při kterých bývá početnost hostitelů redukována takřka k nule, především u zástupců řádů Homoptera, Lepidoptera, Orthoptera a Diptera.

Cyklus vývoje Entomophthorales je často složitý, obvykle zahrnuje dva rozdílné typy spor, konidie a klidové spory. Za infekci během období aktivity hostitele jsou odpovědné konidie. Konidiofory prorůstají membranózní oblasti hostitele, zvláště mezi články, velké množství primárních konidií je aktivně uvolňováno díky hydrostatickému tlaku. Z jednoho hostitele mohou být uvolněny desítky tisíc konidií. Přestože jsou konidie obvykle aktivně uvolňovány z mrtvého těla hostitele, existují výjimky, např. z živých třásněnek jsou uvolňovány konidie *Entomophthora thripidum* (Samson *et al.* 1979) a aktivním není ani způsob uvolňování konidií u některých *Neozygites* na mrtvých tělech červců (Papierok *et al.* 1984). Konidie rodu *Massospora* infikujícího cikády jsou produkovány na zadečku živého hostitele, z kterého jsou konidie šířeny do prostředí (Soper *et al.* 1976).

Konidie jsou relativně křehké a krátkověké, ale jsou schopny okamžitě klíčit. Obvykle jsou lepkavé, bývají pokryty slizem napomáhajícím přichycení se k hostiteli. Pokud se primární konidie přichytí na povrch nehostitele, může produkovat konidie vyššího řádu; primární konidie klíčí a produkuje pak sekundární, sekundární konidie klíčí a dává vznik terciárním konidiím. U některých rodů, např. *Neozygites*, nejsou primární konidie infekční, vždy jsou produkovány sekundární konidie, které se mohou odlišovat tvarem a velikostí. U některých rodů, např. *Zoophthora*, nejsou konidie vyššího řádu vždy aktivně šířeny, jsou spíše produkovány na jemných kapilokonidioforech.

Některé Entomophthorales rostou v hostiteli jako protoplasty, jiné jako jednobuněčná hyfální tělíska nebo cenocytické mycelium. Smrt hostitele je obvykle způsobena fyziologickým vyhladováním hostitele, když houba spotřebuje všechny zásoby.

Odpočinkové spory jsou velmi důležité pro přežití období nepřítomnosti hostitele, nebo pokud není aktivní. Obvykle jsou ihned dormantní, často vyžadují před klíčením chladné období několika měsíců.

Tab. 1. Základní charakteristiky Entomophthorales a Hyphomycetes

Charakteristika	Entomophthorales	Hyphomycetes
Velikost a množství konidií na mrtvého jedince	>10 μ m, relativně málo konidií	< 10 μ m, relativně mnoho konidií
Šíření konidií	aktivní, kromě <i>Massospora</i> spp., <i>Strongwellsea</i> spp. a některých <i>Neozygites</i> spp.	není aktivní
Přítomnost mucilagenních kapek na konidiích	přítomný	nepřítomný, kromě <i>Lecanicillium</i> spp., <i>Hirsutella</i> spp. a <i>Aschersonia</i> spp.
Rhizoidy	existují u mnoha druhů	nepřítomny
Schopnost změnit chování hostitele	mohou změnit chování, např. <i>Entomophora muscae</i> , <i>Entomophaga grylli</i>	nemají vliv na chování, kromě <i>Sorosporrella</i> spp.
Sporulace před usmrcením	u některých druhů, např. <i>Entomophora thripidum</i> , <i>Strongwellsea castrans</i> a <i>Massospora</i> spp.	u některých druhů: <i>Lecanicillium lecanii</i>
Epizootie	běžné u foliárního hmyzu	běžné u půdního hmyzu
Hostitelské spektrum	obvykle úzké	obvykle široké, mimo <i>Lecanicillium lecanii</i> a <i>Hirsutella thompsonii</i>
Produkce toxinů	neznámá	zaznamenána u mnohých druhů
Saprophytismus	neznámý, kromě <i>Conidiobolus</i> spp.	známý u mnoha druhů
Odpočinkové spory	u mnoha druhů	nepřítomny, mimo chlamydo-spor <i>Sorosporrella</i> spp.
Virulence	málo konidií nezbytných pro infekci	mnoho konidií nezbytných pro infekci, mimo <i>Lecanicillium lecanii</i>
Sporulace a rychlost klíčení	rychlá	pomalá
Produkce konidií vyššího řádu	u všech druhů	pouze u <i>Aschersonia</i> spp.

2.3.5. Vývoj entomopatogenních hub

Patogeneze^{VI}

Houby zauímají jedinečné postavení mezi patogenními organizmy hmyzu, neboť jsou schopny infikovat hostitele přímo přes vnější kutikulu, ačkoliv několik taxonů (např. *Culicinomyces*) jsou schopny infekce také přes zažívací trubici.

a) Adheze a klíčení

Adheze propagulí k povrchu hostitele je prvním krokem infekčního cyklu. Prvotní vazba je obvykle pasivní, ale následující spojení a klíčení je procesem aktivním. Ve fázi napojení hrají

^{VI} Patogeneze = vznik a vývoj choroby nebo chorobného procesu (Landa *et al.* 2002)

důležitou roli enzymy produkované klíčkem. Je vytvořeno propojení mezi částmi buněčné stěny a/nebo extracelulárním obsahem a vnějším povrchem hostitele. Současně odpovídá patogen na fyzikálně-chemické podněty jednou nebo kombinací následujících variant: (1) slabá/dobrá adheze, (2) slabé/dobré klíčení, (3) pomalé/rychlé klíčení, (4) vytvoření klíčku, a (5) tvorba apresoria (Butt 2002).

Hydrofobní konidie mnoha patogenů mohou být navázány na nespecifické části epikutikuly příhodných i rezistentních^{VII} druhů hmyzu (Boucias *et al.* 1988). Produkce penetrujícího klíčku se však obvykle nevyskytuje u organismu, jenž není hostitelem. V okamžiku kontaktu propagule s vhodnou hmyzí kutikulou může klíčit a produkovat penetrační struktury (klíček, apresorium), z kterých se formuje penetrační hyfa. Klíčení vyžaduje odpovídající vlhkost a přístupné zdroje výživy pro produkci klíčku. Vedle chemických požadavků hraje při adhezi, klíčení a tvorbě apresoria důležitou roli také topografie povrchu kutikuly (St. Leger *et al.* 1991).

I v případě klíčení nemusí být ještě houba schopna penetrovat kutikulu díky mnoha faktorům, jako nevhodné podmínky prostředí (např. vlhkost) a/nebo přítomnost inhibičních faktorů, jako např. mastných kyselin, epikutikulárních tuků, fenolických látek a také alelochemikálií (Smith, Grula 1982; Lecuona *et al.* 1997; Sosa-Gómez *et al.* 1997). Je možné, že úspěšné vyklíčení je také závislé na schopnosti patogena produkovat enzymy inhibující nebo inaktivující fungistatické nebo toxické sloučeniny kutikuly, bez ohledu na jejich původ. Na vodivém povrchu (např. tvrdý, hydrofobní, výživově chudý substrát) produkuje konidie klíček, který je ukončen apresoriem (Butt *et al.* 1995). Šířka a délka apresoria závisí na druhu a/nebo kmenu houby, stejně jako na podnětech kutikuly (Butt *et al.* 1995). Téměř všechny kmeny *M. anisopliae* produkují snadno apresoria, zatímco u *B. bassiana* a *L. lecanii* vytváří apresoria pouze některé kmeny. Oproti tomu *Nomurea rileyi* apresoria neprodukuje, ale hyfa penetruje kutikulu hostitele přímo. Apresoria mnoha hub vylučují sliz, který napomáhá ukotvení houby během penetrace. Sliz je produkován především kolem apresorií *Aschersonia* spp. a *L. lecanii* (Butt 2002; Schreiter *et al.* 1994)

b) Rozpoznání hostitele

Zatím zůstává nejasné, jak přesně rozpozná patogen hostitele. V případě rostlinných patogenů se předpokládá, že uvolňují specifické elicitory, které jsou detekovány receptory v membráně hostitelské buňky. To pravděpodobně spouští tvorbu specifických produktů, které se vrací k patogenovi, jenž začíná produkovat specifické enzymy nezbytné k napadení kutikuly hostitele. Tento systém může být také přítomen u entomopatogenních hub a je pravděpodobně napojen na specifické geny virulence, avirulence a citlivosti patogena. Entomopatogenní houby ovládají komplex signálních mechanismů (G-proteiny, receptory, kinázy), které hrají roli v rozpoznávání hostitele^{VIII} a indukci odpovídajících enzymů degradujících kutikulu. Hydrolytické enzymy mohou uvolňovat signální molekuly a zničit fungistatické sloučeniny. Výsledný komplex může ovlivňovat kompatibilitu houby a hmyzu a rychlost, s jakou entomopatogen dosáhne nutričně bohaté hemolymfy, a usmrtí svého hostitele.

c) Produkce enzymů degradujících kutikulu (Cuticle-Degrading Enzymes -CDEs)

Všechny houby využívají pro penetraci kutikuly hostitele kombinaci enzymů a mechanického tlaku. Vylučováno je velké množství enzymů, především proteázy, esterázy, lipázy a chitinázy. Vztah mezi enzymy degradujícími kutikulu a virulencí je nejasný. Paris a Ferron (1979) zjistili, že izolát houby *Beauveria brongniartii* neprodukuje lipázy byl avirulentní. Nicméně, Da-Silva *et al.* (1989) sledovali u *M. anisopliae* vyšší korelaci mezi amylázovou aktivitou a virulencí, než mezi virulencí a lipázovou aktivitou, a neprokázali korelaci mezi produkcí proteáz a virulencí.

^{VII} Rezistentní = mající schopnost zabránit vývoji určitého patogena nebo vlivům jiných škodlivých faktorů (Kůdela, Polák 1999)

^{VIII} Hostitel = organismus, ve kterém je patogenní mikroorganismus (nebo parazit) běžně nacházen a ve kterém může dokončit vývojový cyklus (Landa *et al.* 2002)

Obdobně Jackson *et al.* (1985) zaznamenali, že schopnost *L. lecanii* degradovat lipidy a proteiny není v korelaci s virulencí či avirulencí, neboť tyto enzymy produkovaly všechny izoláty.

Vzhledem k tomu, že velkou část hmyzí kutikuly tvoří proteiny, musí v procesu penetrace sehrávat významnou úlohu proteázy. Dokazují to studie produkce v infikované kutikule spojené s degradací kutikuly, vliv inhibitorů proteáz na chování patogena a analýza mutantů s nedostatkem proteáz nebo analýzy transgenických kmenů (např. Butt 2002).

d) Produkce toxinů

Entomopatogenní houby produkují široké spektrum biologicky aktivních látek, obvykle produktů sekundárního metabolismu. Tyto metabolity slouží k různým funkcím v závislosti na ekologickém prostředí houby. Některé mohou být antibiotiky sloužícími k ochraně proti antagonistickým mikroorganismům, jiné předcházejí růstu saprofytických mikroorganismů na hostiteli po jeho smrti a tak zvyšují přežití agens. Některé jsou rozhodujícími faktory patogenity^{IX} (Strasser *et al.* 2000), zatímco jiné mají antifidantní nebo repelentní vlastnosti, které pravděpodobně ochraňují proti mykofágním organismům (např. bezobratlí, kteří se živí houbami na mrtvém těle hostitele). Skutečnost, že některé entomopatogenní houby zdolávají svého hostitele ještě před rozšířením do všech orgánů, připomíná, že toxiny jsou odpovědné za smrt hostitele.

Nejvíce prostudovanými druhy jsou *M. anisopliae* a *B. bassiana*. Méně studovanými, ale neméně důležitými, jsou komerčně využívané druhy *M. flavoviridae*, *B. brongniartii*, *P. fumosoroseus*, *Aschersonia* spp., *Tolypocladium* spp., *L. lecanii* a *Hirsutella* spp.. Tyto houby produkují široké spektrum metabolitů, některé jsou omezeny pouze na specifické rody, jiné jsou všeobecně rozšířeny.

e) Kolonizace hemocelu

Po dosažení hemocelu pokračuje růst houby jako tenkostěnná, jedno či vícebuněčná hyfální tělíska. Kulovité až oválné buňky vzniklé pučením jsou také někdy označovány jako blastosporý. Během fáze kolonizace hostitele musí houba překonat imunitní odpověď hmyzu (Gillespie *et al.* 2000). Některé ze sekundárních metabolitů vykazují aktivitu narušující buněčnou a humorální obranu hostitele (Vilcinskas *et al.* 1997a, b; Vey *et al.* 2001). Odpověď hostitele na houbovou infekci může zahrnovat kombinaci humorálních a/nebo buněčných (např. fagocytóza a/nebo enkapsulace) obranných mechanismů (Butt *et al.* 1996; Bidochka *et al.* 1997; Lamberty *et al.* 1999). Hmyz s malou cirkulací hemocytů je často závislý na humorálních obranných mechanismech, které zahrnují fenoloxidázy, lektiny, antimikrobiální peptidy a inhibitory proteázy (Gillespie *et al.* 2000).

Smrt hostitele bývá nakonec kombinací toxikózy, invaze do orgánů a vyčerpání živin. Například *B. bassiana* produkuje množství toxických látek zahrnujících beauvericin, bassianolide a oosporein. Nejlépe prostudované toxiny entomopatogenních Hyphomycetes jsou destruxiny produkované houbou *M. anisopliae*. Samozřejmě také v hostiteli produkují houby široké spektrum enzymů zahrnujících esterázy, proteázy a oxidázy (Joshi, St. Leger 1999).

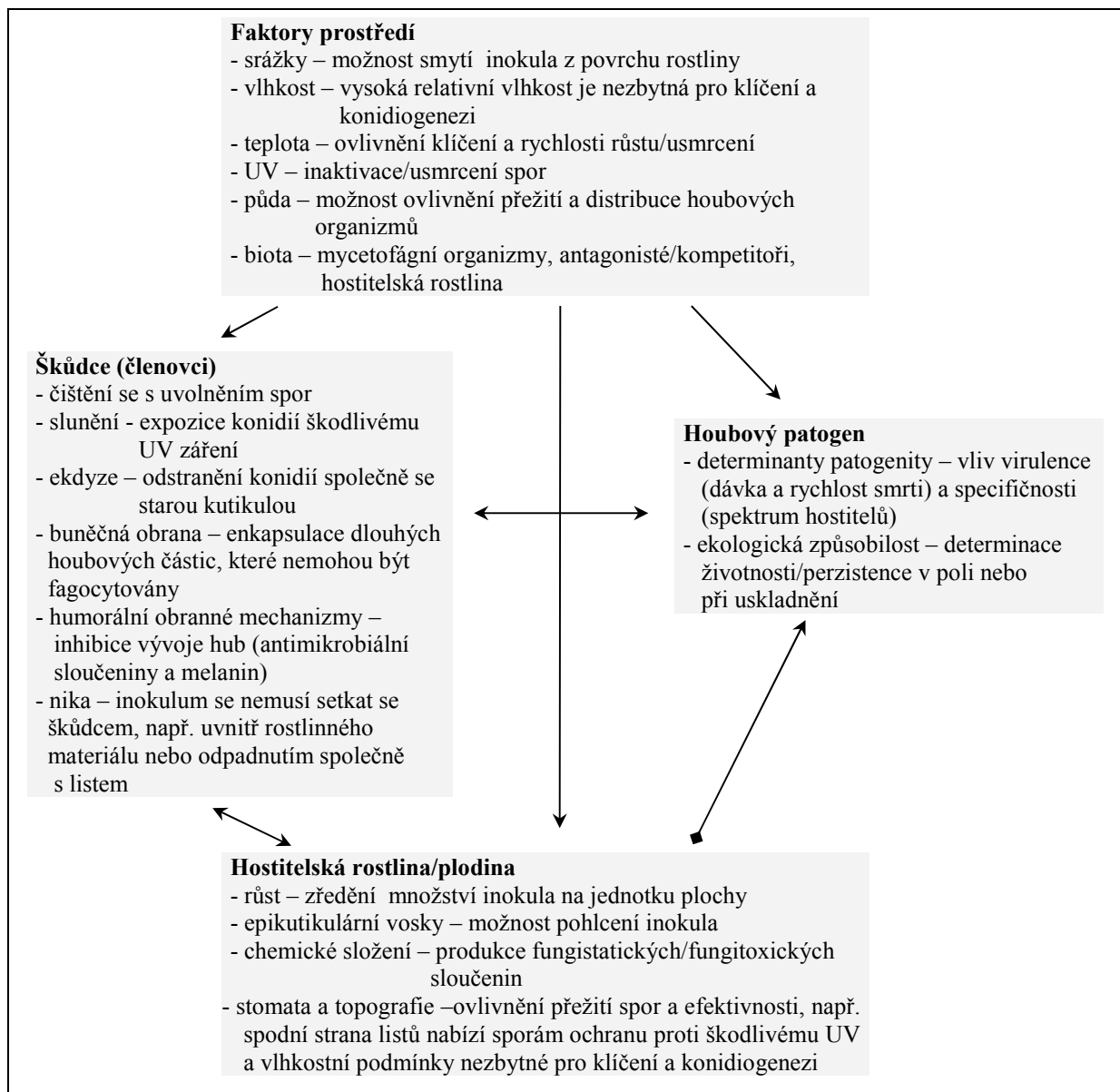
Po smrti hostitele často roste houba na hostiteli jako saprotrof a produkované toxiny (např. oosporein hub *B. bassiana* a *B. brongniartii*) mohou vystupovat při kompetici s ostatními organismy vyskytujícími se na mrtvém těle hostitele. Brzy po smrti hostitele klíčí hyfa za příznivých podmínek a produkuje konidiogenní buňky. Sporulace probíhá na povrchu těla hostitele, konidie jsou následně uvolňovány do prostředí. Šíření konidií probíhá pasivní cestou, především závisí na větru, ale i ostatní faktory, např. déšť, mohou hrát důležitou roli. Mnoho zástupců Hyphomycetes (např. *Beauveria*, *Metarhizium* a *Paecilomyces*) produkují hydrofobní konidie s bílkovinami hydrofobiny (bohatými na cystein) s tyčkovitou vrstvou buněčné stěny. Oproti tomu

^{IX} Patogenita = potencionální schopnost vyvolat onemocnění. Patogenita se vztahuje ke skupinám nebo druhům mikroorganismů jako geneticky daná schopnost způsobit onemocnění. Virulence je naproti tomu považována za míru patogenity a za geneticky nedeterminovanou schopnost vyvolat onemocnění (Landa *et al.* 2002)

L. lecanii produkuje hydrofilní konidie. Hydrofobnost konidiogenní buněčné stěny ovlivňuje biologii těchto hub a je důležitým faktorem při vývoji vhodné formulace a aplikační metody v biologické ochraně proti škůdcům; hydrofilní konidie se snadno rozptylují ve vodních nosičích, zatímco hydrofobní konidie se lépe mísí v olejovém nosiči.

Epizootie^X hub se mohou vyskytovat v populacích hmyzu v polních podmínkách a mohou vystupovat jako důležitý faktor regulace populací škůdců. Epizootie je výsledek interakcí mezi hostitelem, patogenem a prostředím v průběhu času (viz též obr. 1. „Tetráda onemocnění“). Relativně málo je známo o faktorech odpovědných za iniciaci a rozvoj epizootie většiny houbových druhů. Velké množství entomopatogenních Hyphomycetes pravidelně způsobuje přirozené epizootie. Důležitým faktorem vývoje těchto epizootií je schopnost cykličnosti patogena a jeho šíření.

Obr. 1. „Tetráda onemocnění“ (podle The Mycota)



^X Epizootie = (1) propuknutí choroby s neobvykle velkým počtem případů; (2) propuknutí nákazy v živočišné (např. hmyzí) populaci (Landa *et al.* 2002)

2.3.6. Faktory ovlivňující účinnost entomopatogenních hub

Patogen

Patogenita je potencionální schopnost vyvolat onemocnění a je předurčena množstvím faktorů, zahrnujících fyziologii hostitele (např. obranné mechanismy), fyziologii houbového organismu (např. produkce enzymů a toxinů) a podmínky prostředí. Houby mají obecně široké spektrum hostitelů, nicméně hostitelské spektrum závisí na konkrétním druhu houby. Např. *Aschersonia aleyrodis* infikuje pouze molice, *N. rileyi* pouze motýli z čeledi Noctuidae, naopak druhy jako *B. bassiana* a *M. anisopliae* mají široké hostitelské spektrum zahrnující zástupce mnoha řádů členovců. Bylo zjištěno, že druhy *B. bassiana* a *M. anisopliae* jsou směsí rozdílných genotypů a pravděpodobně zahrnuje „komplex druhů“. Není pak překvapující, že v rámci taxonu určeného morfologickými znaky vykazují individuální izoláty patogena úzké hostitelské spektrum (Inglis *et al.* 2001).

Důležitým faktorem při selekci kmenů je jejich virulence, což je kvantitativní množství onemocnění, které indikuje přítomnost patogena v populaci hostitele. V polních podmínkách musí být hustota propagulí taková, aby zajistila kontakt hmyzu s adekvátním množstvím inokula. U vysoce virulentních patogenů odpovídá méně propagulí iniciaci onemocnění, proto je selekce virulentních genotypů nezbytná pro efektivní ochranu.

Dalším důležitým atributem úspěšnosti využití hub jako agens biologické ochrany je jejich perzistence v prostředí. Pokud vykazují propagule dobrou perzistenci v prostředí, zvyšuje se pravděpodobnost kontaktu hmyzu a odpovídajícího množství propagulí.

Hostitel

Náchylnost hostitele k entomopatogenním houbám je ovlivněna širokým spektrem fyziologických a morfologických faktorů, zahrnují populační hustotu, chování, věk, výživu, genetické předpoklady, mechanické poranění a oslabení chemickými nebo nemikrobiálními agens (např. predátoři a parazité).

Nejvýznamnějším paradigma mikrobiologické kontroly je, že stresovaná zvířata jsou náchylnější entomopatogenům (Inglis *et al.* 2001). Stresorem může být celá řada faktorů (např. nadměrná hustota populace, výživa, expozice chemickým látkám, podmínky prostředí), fyziologické mechanismy (např. imunitní odpověď na stres). Významným faktorem regulujícím náchylnost hmyzu je výživa, která je často přehlíženým faktorem vývoje onemocnění. Neadekvátní výživa často vede ke zvyšování náchylnosti k entomopatogenům a indukovaná rezistence rostlin pak může účinnost entomopatogenů ještě navýšit, opačně též dieta může snížit účinnost entomopatogena.

Bylo zaznamenáno, že vysoká koncentrace proteinů v dietě hmyzu může vyrovnávat toxický efekt sekundárních metabolitů, jako jsou alkaloidy (Costa, Gaugler 1989). Je zjištěno, že hmyz může oddělit z potravy antifungální složky jako obranu proti entomopatogenům.

Dalším faktorem je vývojové stádium hmyzu, neboť všechna stádia nejsou stejně náchylná^{XI} infekci entomopatogenními Hyphomycetes. V některých situacích jsou nedospělá stádia náchylnější než dospělci. Například mladé larvy zavíječe *Ostrinia nubilalis* jsou náchylnější *B. bassiana* než starší larvy (Feng *et al.* 1985). Naproti tomu dospělci třásněnky *Frankliniella occidentalis* jsou náchylnější *L. lecanii* než larvy (Vestergaard *et al.* 1995). Mnoho faktorů, jako je vývojové stádium hostitele, nemůže být hodnoceno nezávisle na faktorech prostředí (např. teplota). Vysoké teploty urychlují vývoj hmyzu a může redukovat čas mezi svlékáním a tak omezit infekci ztrátou inokula na exuvii.

Chování hmyzu může též ovlivnit vývoj epizootie. Příkladem mohou být jedinci infikovaní Entomophthorales zavěšující se často na vrchol rostliny těsně před smrtí. Tato adaptace umožňuje kontakt spor s potencionálními hostiteli, ačkoliv toto chování nebylo zaznamenáno u hmyzu infikovaného Hyphomycetes. Dalším rysem chování ovlivňujícím šíření je samočištění hmyzu.

^{XI} Náchylný = postrádající imunitu; bez rezistence nebo mající nízkou rezistenci; náchylný k infekci (Landa *et al.* 2002)

Podmínky prostředí

Podmínky prostředí velmi významně ovlivňují účinnost entomopatogenů. Mohou mít pozitivní, indiferentní nebo negativní vliv na vývoj, perzistenci a účinnost patogena. Předními parametry jsou sluneční záření, dostupnost vody, srážky a vítr. Ačkoliv je často pozornost zaměřena na jednotlivé součásti, je nezbytné připomenout vzájemnou interakci mezi sledovanými faktory.

Sluneční záření

Jedním z nejvýznamnějších faktorů ovlivňujících perzistenci v nadzemním prostředí je sluneční záření. Konidie, hyfová tělíska a hyfy všech Hyphomycetes jsou vysoce náchylné k poškození slunečním zářením, obzvláště UVB částí spektra (285-315 nm). Nicméně, byly zaznamenány rozdíly mezi jednotlivými kmeny. Fargues *et al.* (1996) zaznamenali, že konidie *M. anisopliae* var. *acridum* (syn. *Metarhizium flavoviride*) byly obecně nejvíce rezistentní umělému záření (295-1100 nm a UVB záření 0,3 W.m⁻²), následované konidiami *B. bassiana*, *M. anisopliae* a *Paecilomyces fumosoroseus*.

Na vrcholu rostlin vojtěšky (*Medicago sativa*) přežívaly konidie houby *B. bassiana* relativně krátkou dobu, po 4 dnech od aplikace byla redukována populace o více jak 75%. Ve střední části rostliny byla perzistence delší, po 16 dnech byla zaznamenána redukce populace o 28-85% (Inglis *et al.* 1993)

Teplota

Teplota má zásadní vliv na účinnost entomopatogenů. Je dobře zdokumentováno, jak teplota ovlivňuje infekci a rychlost smrti hmyzu ošetřeného entomopatogenními houbami. Například optimální teplota pro *M. anisopliae* infikující dospělé třásněnky je 23°C (Vestergaard *et al.* 1995), při snížení teploty o 3-5°C se zpomaluje rychlost smrti o jeden den.

Optimální teplotní rozmezí pro většinu Hyphomycetes je 20 až 25°C, ale infekce a onemocnění se vyskytuje v širším rozmezí, mezi 15 a 30 °C. Při teplotách přesahujících 30 °C je inhibován vegetativní růst a ustává při ~37°C. Neschopnost entomopatogenních hub růst při teplotě lidského těla je důležitým faktorem při registraci biopreparátů.

Pro *Metarhizium anisopliae* je udáváno optimální teplotní rozmezí pro klíčení a růst 25-28°C, nicméně v podmínkách mírného klimatu je teplota půdy často pod hranicí 25°C, proto je také teplota chápána jako limitující faktor při využití hub v polních podmínkách. Je zajímavé, že kmeny z tropických oblastí mají často nižší optimum teplot než kmeny z mírných podmínek (Zimmermann 1986)

Podobně jako u deaktivace slunečním zářením existuje též v teplotních charakteristikách variabilita genotypů. Fargues *et al.* (1997) našli čtyři izoláty *M. anisopliae* var. *acridum* jenž dosáhly 98-100% mortality v pouštních podmínkách při 25 a 30°C a žádný při 40 °C, ale byly zaznamenány rozdíly mezi izoláty při teplotě 35 °C, kdy se mortalita pohybovala v rozmezí 40 až 100%. Množství studií zkoumalo možnost selekce genotypů vztahujících se k rozdílným geografickým oblastem (např. pokud izolát pochází z teplých oblastí je tolerantní k vyšším teplotám, nebo pokud pochází z oblastí s chladným klimatem, bude lépe prospívat při nízkých teplotách). Některé studie uvádí nulovou nebo pouze slabou korelaci mezi geografickým původem a teplotními charakteristikami (McCammon, Rath 1994; Ouedraogo *et al.* 1997). Jiní zaznamenali silný vzájemný vztah mezi teplotními charakteristikami *in vitro* a místem původu.

Denní teplota může v průběhu sezóny kolísat. Např. v období květen až červenec, kdy je zaváděna ochrana proti sarančatům v Severní Americe, klesají noční teploty často pod 5°C a přes den jsou běžné teploty mezi 25-35°C. Bylo zaznamenáno, že kolísání teplot má významný vliv na *in vitro* růst mnohých Hyphomycetes. Nicméně, vliv kolísání teplot v podmínkách *in vivo* je méně častý.

Ovlivnění vývoje entomopatogenních Hyphomycetes není pouze výsledkem okolní teploty, závisí též na chování hostitele (termoregulaci). Mnoho hmyzu zvyšuje tělesnou teplotu přímým

nebo nepřímým zachycením slunečního záření (slunění) (Inglis *et al.* 2001). Vliv termoregulace na rozvoj onemocnění je zatím pouze málo zdokumentován, slunění je však zaznamenáno u mnoha druhů hmyzu, včetně molic (Watson *et al.* 1993) a sarančat (Inglis *et al.* 1996), jako možnost redukce onemocnění.

Relativní vzdušná vlhkost (RVV)

Relativní vlhkost ovlivňuje entomopatogenní houby ve více směrech. V kombinaci s teplotou reguluje vypařování kapek, výsledkem může být ztráta malých částic. Vlhkost má významný vliv na perzistenci inokula, nejčastěji vykazují konidie stabilitu ve studených a suchých podmínkách (Inglis *et al.* 2001; Daoust, Roberts 1983a; Hedgecock *et al.* 1995; Hong *et al.* 1997). Konidie některých druhů (např. *M. anisopliae*) však lépe přežívají v mírných podmínkách, kdy je vyšší relativní vlhkost (Daoust, Roberts 1983b). Voda je důležitá nejen pro klíčení, ale též reguluje konidiogenezi na mrtvém těle hostitele. Ve všech případech vyžaduje konidiogeneze na povrchu hmyzu vysokou vlhkost, produkce konidií pak může ovlivňovat horizontální šíření patogena.

Klíčení konidií často probíhá v rozmezí 90-100% RVV, např. u *M. anisopliae* se klíčení zastavuje při 92-94% RVV, zatímco nejdelsí hyfy byly zaznamenány při 100% (Walstad *et al.* 1970; Zimmermann 1986)

Srážky

Srážky zvyšují vlhkost a mohou sloužit k uvolnění a disperzi konidií ze substrátu, stejně jako napomáhat k šíření propagulí. Nové formulace a aplikační strategie zajišťují lepší retenci konidií na povrchu listů, především na spodní straně listů, kde se koncentruje velké množství foliárních škůdců. Inglis *et al.* (2000) zaznamenali, že konidie v přímém kontaktu s kutikulou listů a larev brouků jsou méně náchylné k přemístění deštěm než konidie ve shlučích, které jsou pouze v malém kontaktu s kutikulou.

Půdní podmínky

Velké množství druhů entomopatogenních hub je řazeno mezi půdní mikroflóru a může být prezentováno jako potenciálně využitelné proti půdním škůdcům (Keller, Zimmermann 1989). Nicméně, půda představuje extrémně komplexní prostředí s jednotlivými interakčními faktory, které ovlivňující perzistenci a/nebo účinnost hub jako agens biologické ochrany (Studdert *et al.* 1990). Tyto faktory zahrnují půdní typ (např. textura, kationtová výměnná kapacita, obsah organické hmoty, pH, vodní kapacita atd.) a půdní organismy (např. obývající půdu nebo se živící konidiiemi). Také různé formulace (např. prášek konidií nebo blastospor, lyofilizované mycelium, mořené obilky) a aplikační strategie (např. aplikace na povrch nebo zapravení do půdy, postřik, injekce) mohou ovlivnit přežití entomopatogenních hub v půdě. Obecně jsou konidie velmi dobře perzistentní v půdě v podmínkách mírného klimatu, zatímco tenkostěnné blastospory jsou relativně krátce přežívající (Gaugler *et al.* 1989; Storey *et al.* 1989).

Mnoho entomopatogenních hub je schopno v půdním prostředí snášet vysoké a rozdílné teploty, stejně jako podmínky vysoké vlhkosti a sucha (Inglis *et al.* 2001). Množství studií ukázalo, že konidie aplikované přímo na povrch půdy nebo inkorporované do půdy si udržují značnou perzistenci v podmínkách mírného klimatu (Muller-Kogler, Zimmermann 1986; Gaugler *et al.* 1989; Storey *et al.* 1989). Příkladem může být detekce houby *M. anisopliae* 7 let po aplikaci na pastvině (Inglis *et al.* 2001).

Srážky, půdní textura a organická hmota se jeví jako nejdůležitější faktory předurčující vertikální pohyb houbových propagulí ve vodě. Půdy s vysokým obsahem jílu a organické hmoty zadržují nejvíce spor (Ignoffo *et al.* 1977; Storey, Gardner 1988). Není zcela zřejmé proč, pravděpodobně je to spojeno s vysokou výměnnou kapacitou a redukovanou velikostí pórů.

Téměř žádný nebo pouze malý vliv má pH půdy na distribuci a účinnost entomopatogenních hub (např. Rath *et al.* 1995). Podle Bidochka *et al.* (1998) není výskyt *M. anisopliae* a *B. bassiana* závislý na typu půdy nebo pH.

Ačkoliv je mnoho entomopatogenních Hyphomycetes široce rozšířeno v půdách, velmi málo je známo o saprofytických schopnostech většiny taxonů. Mnoho vedlejších důkazů ukazuje, že mnohé entomopatogenní Hyphomycetes (např. *B. bassiana* a *M. anisopliae*) jsou slabými kompetitory v půdě, a je sledován relativně omezený vegetativní růst z mrtvých těl hostitelů (např. Gottwald, Tedders 1984). Na přežití entomopatogenních hub mají vliv makro- i mikroorganismy. Půdní mikroorganismy mohou produkovat antibiotika, která mohou inhibovat klíčení a vývoj entomopatogenních hub.

Hostitelská rostlina

Mnoho vlastností rostlin ovlivňuje přímo i nepřímo přežití entomopatogenních hub a jejich účinnost jako agens biologické ochrany (Elliot *et al.* 2000). Specifický vliv má růst rostlin, morfologie a chemické složení. Rostliny produkují široké spektrum chemických látek, které v závislosti na jejich původu a koncentraci mohou ovlivnit životnost konidií a citlivost členovců k houbovým patogenům (Hare, Andreadis 1983; Ramoska, Todd 1985; Costa, Gaugler 1989; Vega *et al.* 1997). Například třetí nymfální instar *Trialeurodes vaporariorum* je na okurce vysoce vnímavý k *B. bassiana* a *P. fumosoroseus*, zatímco při chovu na rajčatech je k infekci méně náchylný díky antimikrobiálním vlastnostem tomatinu přítomného v listech rajčat (Poprawski *et al.* 2000).

Morfologie rostliny (např. velikost listu, voskový povrch, množství průduchů, žilkování, hustota trichomů a tvar listu) mohou přímo ovlivnit škůdce, ale významnější je ovlivnění mikroklimatu listu, které ovlivňuje perzistenci spor (Inglis *et al.* 1993).

2.3.7. Obecná charakteristika nejvýznamnějších rodů a druhů zoofágních hub

V populacích hmyzu se entomopatogenní houby vyskytují buď ve formě enzootie^{XII}, či epizootie. Při enzootii často zůstává přítomnost hub nezaznamenána. Jejich vliv se nicméně objeví, pokud je populace hmyzu podrobena podrobnějšímu průzkumu, nebo pokud je prostředí ovlivněno např. aplikací fungicidů, které mohou inhibovat antagonistické druhy hub (Zimmermann 1986). Při epizootiích jsou houbová onemocnění snadněji detekovatelná.

Nejčastěji studované druhy houbových patogenů členovců náleží do čtyř rodů: *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* a *Lecaniciliium*.

Metarhizium (tři druhy) a *Beauveria* (dva druhy) jsou monofyletickými rody, všechny druhy jsou patogenní k hmyzu. *M. anisopliae*, *B. bassiana* a *B. brongniartii* jsou zároveň patogeni roztočů. Rod *Verticillium* má polyfyletický původ s jedním opravdu entomopatogenním druhem, *V. lecanii*, u kterého byl zaznamenán i status akaropatogena. Rod *Paecilomyces* obsahuje šest druhů, které mohou zabíjet hmyz, z nich pouze *P. farinosus* a *P. fumosoroseus* jsou využívány v biologické ochraně. Čtyři druhy - *P. eriophyes*, *P. farinosus*, *P. fumosoroseus* a *P. terricola* – infikují též roztoče.

Zástupci rodů *Beauveria*, *Metarhizium* a *Paecilomyces* jsou adaptováni na půdní prostředí, vykazují široké hostitelské spektrum v rámci třídy Insecta, obývají podobné niky a mohou tvořit společenstvo. *L. lecanii* je více spojeno se stanovišti epigeálními a vzdušnými. Všechny tyto druhy jsou celosvětově rozšířené a je možno je kultivovat na umělých živných půdách. Jsou nejčastěji sledovanou skupinou pro možné využití jako mykoinsekticidů. Mohou také vystupovat jako patogeni roztočů, bohužel však není známo, zda se jedná o oportunní patotypy či zda jsou do určité míry specializováni na zástupce podtřídy Acarina. Nejčastěji jsou popsány mykózy u Parasitiformes (Mwangi *et al.* 1991), obzvláště u druhů, které obývají půdu či detrit, kde jsou entomopatogenní houby běžně rozšířeny (Chandler *et al.* 2000).

^{XII} Enzootická choroba = choroba běžně přítomná v populaci, zpravidla však pouze v nízké frekvenci (Landa *et al.* 2002)

Existuje mnoho záznamů o přirozeném výskytu mykóz v populacích fytofágních prostigmátních roztočů (Actinotrichida). Chandler *et al.* (2000) zaznamenal pravidelně se opakující infekce *L. lecanii* (a *H. thompsonii*) v populaci *A. hystrix* na jílku v UK. Byl proveden výzkum s cílem zjistit potenciál nesespecializovaných mitosporických hub jako mykoinsekticidů pro regulaci populací fytofágních roztočů. Naturalis (tm) (Thermo Trilogy Corp.), komerční biopreparát na bázi *B. bassiana*, vykázal výbornou účinnost na *T. urticae* na růžích ve skleníku (Chandler *et al.* 2000). *Polyfagotyrsonemus latus* (Prostigmata: Tarsonemidae) byl citlivý k infekci druhu *B. bassiana* (izolát z blanokřídlého hostitele) a *P. fumosoroseus* (izolát z Homoptera), a ačkoliv oba kmeny byly méně virulentní než izolát *H. thompsonii* původem z nesespecifikovaného roztoče (Tarsonemidae) (Pena *et al.* 1996), byly pro skleníkové pokusy vybrány kmeny hub *B. bassiana* a *P. fumosoroseus*, neboť dobře sporují v kultuře.

Beauveria Vuillemin

Rod *Beauveria* reprezentují převážně široce polyfágní houby, které se běžně vyskytují v půdě a parazitují na půdním hmyzu resp. na stádiích hmyzu, která se vyskytují v půdě (např. při přezimování). V sortimentu hostitelů jsou zastoupeni zástupci z řádů rovnokřídlí (Orthoptera, např. krtonožky), brouci (Coleoptera, např. larvy a kukly chroustů a chroustků, mandelinky bramborové, lalokonosců a mnoha dalších druhů), larvy a kukly motýlů (Lepidoptera) a dvoukřídlého hmyzu (Diptera). Byly izolovány také kmeny vykazující vysokou virulenci na zástupcích stejnokřídlého hmyzu (Homoptera, např. na molících a mšicích).

Zástupci vytvářejí husté bílé mycelium překrývající exoskelet hostitele, občas tvořící synemata (vzpřímené svazky hyf). Konidiogenní buňky často bývají v hustých svazcích (nebo přeslenech či samostatně), bezbarvé, s kulovitou nebo baňkovitou bází a vroubkovitým (zubovitým) apikálním prodloužením (rachis – páteř), nesoucí po jedné konidii na každém zubu, konidie nepřehrádkované. (Humber 1997)

Mezi zástupce rodu *Beauveria* jsou řazeny *B. bassiana* (konidie globoidního až subgloboidního tvaru, konidiogenní struktury tvoří husté shluky - hrozny), *B. brongiartii* (konidie podlouhlé vejčité až cylindrické, konidiogenní struktury štíhlé, tvoří řídké hrozny), *B. globurifera*, *B. tenella* (vejčité konidie), *B. velata* (konidie kulovité až elipsoidní, lehce ornamentované, pokryté želatinovou vrstvou), *B. amorpha* (konidie cylindrické, často na jedné straně zploštělé nebo lehce prohnuté) (Samšišáková 1963, Samson, Evans 1982).

Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin

Entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin se přirozeně vyskytuje v přírodě na všech kontinentech, s výjimkou Antarktidy. Byla izolována z více jak 700 druhů hmyzu z devíti řádů, nejvíce hostitelů se nachází mezi Lepidoptera a Coleoptera. *B. bassiana* má potenciál využití k ochraně proti více jak 70 druhům hmyzu (Aleshina 1980).

Houba *Beauveria bassiana* byla jedním z prvních poznanych původců hmyzích nákaz. Již od 16. století byla sledována nákaza v chovech bource morušového. Choroba byla označována jako "mal del segno" nebo "calcino" (Itálie), na území Francie byla známa pod názvem "muscardine". Parazitický původ tohoto onemocnění housenek bource morušového prokázal na počátku třicátých let 19. století Agostino Bassi. Determinaci entomopatogenní houby provedl v roce 1835 Giuseppe Balsamo Crivelli a zařadil ji do rodu *Botrytis* (*Botrytis paradoxa*), později změnil označení na *Botrytis bassiana* na počest jejího objevitele. V roce 1912 revidoval systematické zařazení Vuillemin a do dnešní doby je respektováno jeho zařazení do rodu *Beauveria* a označení druhu *bassiana* (Diribeková 1991).

Na umělých živných půdách i na přirozeném hostiteli vytváří mycelium mléčně bílé barvy. Konidie jsou globoidního až subgloboidního tvaru, velikost 2-3x2,0-2,5 μ m. Konidiogenní struktury tvoří husté shluky, hrozny (Diribeková 1991).

Nejčastější cestou penetrace houby *B. bassiana* do hostitele je povrch těla (Ferron 1978), přes kutikulu a stigmata. Kromě těchto hlavních způsobů infikuje *B. bassiana* hmyz též *per os*, zvláště druhy s kousavým ústním ústrojím (Feng *et al.* 1994), byla však zaznamenány také infekce přes dýchací systém (Clark *et al.* 1968) a ústní ústrojí (Siebeneicher *et al.* 1992).

K nákaze hmyzu dochází konidiami, které klíčí na povrchu kutikuly a po krátkém růstu po povrchu vnikají vláknem kolmo do chitinového pokryvu kutikuly a pronikají do dutiny tělní. Rostoucí klíčící vlákno enzymaticky penetruje povrch (Smith, Gula 1981). Aby mohlo dojít k penetraci a následné infekci, musí *B. bassiana* produkovat nejméně dva typy enzymů v určitém pořadí. Jakmile pronikne houba dovnitř těla hostitele, produkuje sekundární metabolit beauvericin pro oslabení imunitního systému hostitele. Po smrti hostitele umožňuje houbě produkováné antibiotikum (oosporein) konkurovat intestinálním bakteriím (Mahr 1997).

Uvnitř těla vznikající válcovité konidie, endokonidie (blastospory), měří obvykle 2-3x7 μm . Na fruktifikujících vláknech vyrůstají porůznu po dvou i více na krátké stopce. Z endokonidií narůstají další hyfy a na těch se po určitém růstu tvoří opět endokonidie. Narůstající hyfy vyplní tělo hmyzu (Weiser 1966). Při dostatku vlhkosti (92 a více %) prorůstají hyfy na povrch těla (Mahr 1997). Na povrchu mumifikovaného těla se zdvíhají vlákna, na kterých se vyvíjejí vzdušné konidie.

Optimální teplota růstu je 23 - 26 $^{\circ}\text{C}$ při relativní vlhkosti vzduchu nebo vlhkosti substrátu 80 - 100 %. Minimální teplota pro růst mycelia je 5 - 8 $^{\circ}\text{C}$, maximální teplota pro růst mycelia je 28 - 31 $^{\circ}\text{C}$ (Dirlbeková 1991).

V přírodě přetrvává druh *Beauveria bassiana* v povrchových vrstvách půdy jako mycelium jednak v uhynulých hostitelích, jednak na organických zbytcích (saprofytní fáze). Navzdory velkému množství hostitelů byly pouze zřídka sledovány epizootie způsobené houbou *B. bassiana* u přirozených populací škůdců (Feng *et al.* 1994). Houba může též kolonizovat rostliny jako endofyt, čehož je možno využít při redukci zavíječe kukuřičného (*Ostrinia nubilalis*) (Bing, Lewis 1992). Dávky blízké LD50 mohou iniciovat subletální nebo sekundární efekt. Jedná se především o ovlivnění reprodukčního potenciálu (plodnosti) (např. u *Leptinotarsa decemlineata*, *Sitona lineatus*) (Feng *et al.* 1994).

Beauveria bassiana je typickým představitelem entomopatogenní mykoflóry půdy. Je rozšířena po celém světě. Přestože se jedná o typického zástupce půdní mykoflóry, komerční využití preparátů na bázi entomopatogenní houby je cíleno na foliární škůdce. Tato houba je nejčastěji aplikována ve formě postřiku konidiovou suspenzí. Byla testována v laboratorních i polních podmínkách proti množství škůdců, jako jsou třásněnky, molice a mšice (Legaspi *et al.* 2000). Izolace kmenů *B. bassiana* ze zástupců řádu Diptera (Muscidae) a následné testování demonstrují potenciál k využití v biologické ochraně také proti mouchám (Watson *et al.* 1995). Mimoto je tato houba neškodná pro řadu necílových organismů (Goettel *et al.* 1990).

Přestože není *B. bassiana* přirozeným nepřítelem molic, jsou nymfální stádia vysoce náchylná k tomuto patogenu. V laboratorních pokusech byla zaznamenána více jak 90% kontrola populace nymfálních stádií (třetí a čtvrté) molice *Bemisia argentifolii* u všech testovaných izolátů (Wraight *et al.* 1998). Také při polních pokusech byla zaznamenána u čtyř izolátů houby účinnost vyšší jak 90% při testování na *Cucurbitaceae* (Wraight *et al.* 2000).

Studiu patogenity k roztočům byla věnována menší pozornost, přestože se jedná o řadu škůdců, často však malá velikost roztočů ztěžuje diagnostiku. Jako hostitel houby *B. bassiana* je citováno množství roztočů. Pena *et al.* (1996) demonstruje patogenitu k roztoči *Polyphagotarsonemus latus* (Banks).

Hirsutella Patouillard

Zástupci rodu *Hirsutella* vystupují jako patogeni tropických bezobratlých (McCoy 1981), u 10 druhů byla zaznamenána schopnost zabít roztoče. Teleomorfy jsou popsány jako *Cordyceps* spp. nebo *Torrubiella* spp. (Samson *et al.* 1988).

V souvislosti s akaropatogenními houbami má rod *Hirsutella* zvláštní místo. Některé druhy jsou schopny růst na umělých živných médiích, *H. thompsonii* byla využívána jako akaricid

(Chandler *et al.* 2000). Nejvíce je studována jako patogen Eriophyoidea, infikuje však také svlušku chmelovou, ale také některé druhy detritivní, parazitické či predátory (Gerson *et al.* 1979).

Hirsutella kirchneri (Rostrup) Minter, Brady and Hall

Houba *H. kirchneri* byla získána z roztoče *Steneotarsonemus spirifex* (Marchal) (Heterostigmata: Tarsonemidae) nalezeného na ovsu. Houba byla poté sbírána z *Abacarus hystrix* (Nalepa) na listech *Lolium perenne* L. v Anglii.

Minimální růst byl zaznamenán při 35°C, nejlepších parametrů růstu bylo dosaženo při 25°C, kdy dosáhly kolonie na PDA průměru 24,4 cm za 30 dnů. Klíčivost byla zaznamenána v širokém rozpětí hodnot (10-35°C). Růst kolonií, produkce mycelia a produkce konidií byla nejvyšší při režimu střídání tmy a světla. Při kontinuálním osvětlení produkovala houba synnemata, která byla životná až 22 týdnů. (Sztejnberg *et al.* 1997)

Klíčení a penetrace do hostitele byla pouze málo ovlivněna teplotou při podmínkách plné saturace. Růst uvnitř hostitele byl závislý na teplotě, mrtví jedinci se objevovali třetí a čtvrtý den po infekci. Maximální sporulace na těle hostitele byla zaznamenána při 25°C. Při stejné teplotě a saturaci byla nejrychlejší mortalita, i když mrtví jedinci se vyskytovali i v podmínkách nízké vlhkosti

Hirsutella thompsonii Fischer

Houba *Hirsutella thompsonii* byla poprvé zaznamenána jako příčinný původce epizootií roztoče *Phyllocoptruta oleivora* (Prostigmata: Eriophyidae) na Floridě (Samson *et al.* 1980). První kultivace a prokázání patogenity bylo provedeno McCoy a Kanavelem v roce 1969. Tato houba roste pomalu v čistých kulturách, vegetativní růst je podporován médii bohatými na uhlík, zatímco konidiogeneze je podporována chudými médii (McCoy, Kanavel 1969).

Přestože byly v přírodě pozorovány dva případy infekce mesostigmátních roztočů (McCoy 1981; Chandler *et al.* 2000), je *H. thompsonii* spojována s eriophyoidními a tetranychidními roztoči, celkem je zaznamenáno 22 druhů jako hostitelů. V laboratorních podmínkách byl izolát z *P. oleivora* letálním pro Tetranychidae, ale nezabíjel Tarsonemidae (Prostigmata) a zástupce Astigmata, Oribatida, Mesostigmata nebo Ixodida (Gerson *et al.* 1979). Nicméně, laboratorní infekce tarsonemidního roztoče *Polyphagotarsonemus latus* byla dokumentována při použití izolátu z Tarsonemidae (Pena *et al.* 1996). V poměrně širokém spektru hostitelů je zastoupena i svluška chmelová *Tetranychus urticae* (Gardner *et al.* 1982).

Samson *et al.* (1980) navrhuje taxonomii druhu *H. thompsonii* založenou na morfologii 11 izolátů z eriophyoidních roztočů: *H. thompsonii* var. *thompsonii*, var. *vinacea* a var. *synnematosus*. Všechny tři jsou pleomorfní. *H. thompsonii* var. *synnematosus* je omezena na tropické oblasti, na *Eriophyes* spp. nebo blízké druhy; zatímco *H. thompsonii* var. *thompsonii* a var. *vinacea* se vyskytují převážně v mírných nebo subtropických oblastech (Samson *et al.* 1980). Toto rozdělení je nezbytné zrevidovat až budou k dispozici informace o izolátech z roztočů z čeledi Tarsonemidae a Tetranychidae.

Za příznivých podmínek zabíjí houba hostitele rychle. Konidie penetrují povrch *P. oleivora* 4 hodiny po aplikaci, smrt a sporulace na kadaveru se vyskytuje 72 hodin po aplikaci (McCoy 1981). V populaci roztočů se nákaza projevuje již 3. den po aplikaci spór/mycelia, s maximem nárůstu počtu infikovaných 7.-10. den po aplikaci patogena (Gerson *et al.* 1979). Ke sporulaci houby na usmrcených jedincích dochází nejčastěji v období od 12 do 20 dní po primární naze. LC₅₀ byla stanovena na 2,4x10³ konidií na ml⁻¹ šest dnů po ošetření (Pena *et al.* 1996). Gardner *et al.* (1982) uvádí 97% mortalitu *T. urticae* za podmínek inokulace jedinou konidií *H. thompsonii* při použití mikromanipulačních technik, což je velmi nízká letální dávka u mitosporických hub. Optimální růst, infekce a konidiogeneze je při teplotách 25-30°C (Kenneth *et al.* 1979; McCoy 1981) a je významně ovlivněna teplotami pod 13°C a nad 35°C (Gerson *et al.* 1979). Stejně jako i u

ostatních entomopatogenních hub je infekce houbou *H. thompsonii* závislá na vysoké vzdušné vlhkosti.

Na základě monosporových izolátů byly odlišeny u jednoho kmene *H. thompsonii* tři rozdílné typy konidiogenních buněk (Samson *et al.* 1980). Byly zaznamenány solitérní fialidy s kulovitými bradavičnatými konidii, vícebuněčné (polyblastické) konidiogenní buňky s hladkými až drsnými elipsoidními konidii a synnemata. Na infikovaném hostiteli byl nalezen pouze první typ (primární konidie).

H. thompsonii se v prostředí šíří prostřednictvím kulovitých spór. Infekce může vznikat i prostřednictvím infekčního mycelia resp. prostřednictvím spór, které se formují na myceliu i mimo přirozeného hostitele.

H. thompsonii je nejvýznamnějším přirozeným nepřítelem *P. oleivora* (Acarina: Eriophyidae) na Floridě, kde pravidelně způsobuje epizootie vedoucí k rychlému poklesu hustoty populace roztoče. Pokles populační hustoty u roztoče *Aceria vaccini* v Karolině také koreluje s výskytem *H. thompsonii* (Baker, Neunzig 1968). Epizootie v populacích *P. oleivora* jsou spojeny s výskytem teplého, mokrého počasí a vysokou populační hustotou s vrcholem kolem poloviny června (McCoy 1981). Výskyt *H. thompsonii* v populaci roztoče *Mononychellus* spp. v Beninu je také spojen s obdobím dešťů, třebaže zde nezpůsobuje houba tak silné epizootie (Yaninek *et al.* 1996).

Byly zaznamenány kmeny *H. thompsonii* var. *thompsonii* produkující Hirsutellin A (HtA), protein s potencionální insekticidní a cytotoxickou aktivitou (Liu *et al.* 1995; Mazet, Vey 1995; Maimala *et al.* 2002). V podmínkách in vivo vykazuje HtA specifickou aktivitu proti různým hmyzím hostitelům, ukazující, že tento protein může hrát roli v patogenním procesu. HtA produkovaný a izolovaný z filtrátu kultury *H. thompsonii* vykazuje kontaktní/reziduální aktivitu proti dospělým roztočům *Phyllocoptruta oleivora* jako přirozeného hostitele této houby (Omoto, McCoy 1998).

H. thompsonii byla základem houbového preparátu určeného k regulaci *P. oleivora* a ostatních Eriophyidae v 70. letech, v roce 1981 byl v USA registrován přípravek MycarTM (McCoy 1996). Mycar byl též vyzkoušen pro kontrolu *P. oleivora* a *Panonychus citri* v Austrálii (Chandler *et al.* 2000). Na citrusových plantážích na Floridě byla houba aplikována v počátcích sezóny, aby došlo k supresi populace roztoče. V polních pokusech byla při příznivých podmínkách biologická ochrana srovnatelná s aplikací akaricidů (Chandler *et al.* 2000). Epizootie se často objevovaly dva týdny po aplikaci a populační hustota zůstávala nízká 6 měsíců až jeden rok po aplikaci (McCoy 1981). Nicméně, při komerčním využití bylo dosahováno rozdílných výsledků, které byly připisovány faktorům jako je nízká produkční stabilita při skladování a transportu, rozdílná perzistence v prostředí, závislost na vysoké vzdušné vlhkosti, a proto byl prodej ukončen v roce 1985 (Chandler *et al.* 2000).

Metarhizium Sorokin

Metarhizium anisopliae (Metschn.) Sorokin

Entomopatogenní houba *M. anisopliae* byla nejprve popsána na vrubounovitých broucích. V současné době je uváděno, že houba *M. anisopliae* infikuje více jak stovku druhů hmyzu z rozdílných řádů, především *Orthoptera*, *Hemiptera*, *Coleoptera*, *Diptera*, *Lepidoptera* a *Hymenoptera*. (Zimmermann 1993). Nicméně, testováno této houbou jako agens biologické ochrany bylo prozatím prováděno proti relativně malému množství druhů hmyzu, např. *Anisoplia austriaca*, *Reticulitermes* sp., *Teleogryllus commodus*, *Galleria melonella*, švábům, kobyolkám, třásněnkám (*Frankliniella occidentalis*) (např. Kučera 1980; Ferron 1981; Prior *et al.* 1988; Milner *et al.* 1996). *M. anisopliae* bylo komerčně využito proti některým škůdcům, např. Bioblast[®] pro regulaci termitů, Biostop[®] a MetaGuard[®] pro ochranu trámů proti termitům a GreenMuscle[®] pro ochranu proti kobyolkám a sarančatům. Všechny zmiňované přípravky jsou formulovány jako voděrozpustný prášek.

V současnosti je na základě RAPD analýzy považován druh *M. anisopliae* za polyfyletický, kmeny jsou dále děleny do 4 poddruhů: *M. anisopliae* var. *anisopliae*, *M. anisopliae* var. *majus*, *M. anisopliae* var. *lepidiotum*, *M. anisopliae* var. *acridum* (Driver *et al.* 2000).

Neozygites Witlaczil

Taxonomie rodu *Neozygites* není ještě dostatečně prostudována, od 60. let byl tento rod několikrát revidován. Nejdříve byl klasifikován jako zástupce Entomophthora, ale později byl oddělen (Chandler *et al.* 2000).

Zástupci rodu *Neozygites* jsou celosvětově rozšířeni, zahrnuje druhy zabíjející Homoptera, Thysanoptera a Acarina (Dick *et al.* 1992). Nejméně šest druhů bylo popsáno jako specificky akaropatogenních, celkem na 19 hostitelích. Nicméně, je velmi obtížné je rozlišit, neboť přesahují morfologické charakteristiky a mohou měnit hostitele a lišit se při rozdílných metodách preparace (Keller, Wuest 1983; Dick *et al.* 1992). Nejčastěji byly druhy infikující roztoče popsány jako *N. floridana* a *N. adjarica*. Ačkoliv srovnání čerstvého materiálu a paratypu ukazuje na totožnost, dřívější popis jako dva druhy je doporučovaný (Chandler 2000).

Neozygites floridana Fischer

Neozygites floridana je specifickým patogenem Tetranychidae (Prostigmata). Poprvé byla houba *N. floridana* popsána jako původce poklesu hustoty populace roztoče *Eutetranychus banksi* na Floridě (Weiser, Muma 1966). Je klíčovým regulátorem populací *T. urticae* a *Oligonychus pratensis* na středozápadě a jihovýchodě USA a způsobuje periodické epizootie v populacích roztočů na kukuřici, sóje, arašidech a čiroku (Smitley *et al.* 1986; Dick *et al.* 1992). Nicméně nemůže být produkována na umělých živných půdách, což omezuje použití jako mykoinsekticid. Byla publikována pozorování *N. acarida* z Eupodidae a Penthaleidae (Prostigmata) (Chandler 2000); *N. acaridis* z Eupodidae (Ridsdill-Smith, Annels 1997) a Macrochelidae (Mesostigmata) (Chandler 2000); *N. acarina* z Penthaleidae (Chandler 2000); a *N. tetranynchi* (Tetranychidae) (Remaudière, Keller 1980).

N. floridana je vysoce adaptována na své hostitele. Houba se vyvíjí v hemocelu roztoče jako hyfové tělísko vzniklé pučením (Carner, Canerday 1968). První symptomy infekce se objevují třetí až čtvrtý den v závislosti na hostiteli, roztoč se stává pomalým, oteklým, krátce poté umírá (Carner 1976). Za suchých podmínek dochází k mumifikaci, ale za vlhka prorůstají konidiofory kutikulu a na každém se tvoří hruškovitá konidie (Remaudière, Keller 1980). Mrtvé tělo hostitele přejímá „glass beaded“ vzhled s konidiofory těsně namačkané na povrchu těla (Dick *et al.* 1992). Tyto primární konidie jsou uvolňovány během 24 hodin po smrti a tvoří 1-3 mm silnou aureolu (Brown, Hasibuan 1995). Primární konidie nejsou infekční k roztočům, většina klíčí v štíhlé trubičky, cca. 60 µm vysoké, končící mandlovitou infekční kapilokonidií (Carner 1976). Kapilokonidie je pasivně šířena přichycená na roztoče adhezivním haptorem v distálním terminu (Dick *et al.* 1992). Některé primární konidie klíčí v identickou, ale menší sekundární konidii nebo konidiofory. Terciální konidie mohou být produkovány stejnou cestou. Poměr mezi kapilokonidii a sekundárními konidii je předurčen přítomností vody (Odour *et al.* 1995).

V závislosti na podmínkách vztahujících se k zeměpisnému rozšíření a možná také k počasí zůstávají hyfová tělíška *N. floridana* v hemocelu, kde tvoří odpočinkové spory. Málo je známo o fyziologii a funkci těchto spor, třebaže u jiných Entomophthoraceae umožňují houbě přežití nepříznivých podmínek a nepřítomnost hostitele (Milner 1997). Zbytky usmrčených roztočů obsahující odpočinkové spory mohou být připoutány k povrchu rhizoidy (Keller 1991). Odpočinkové spory se objevují koncem sezóny (říjen až prosinec) v populaci svlušky *T. urticae* v Alabamě v USA (Carner 1976), ale v Severní Karolíně přetrvává houba zimu v mumích nebo kontinuálně infekčním cyklem (Brandenburg, Kennedy 1981). Odpočinkové spory nebyly nalezeny v populaci svlušky v Izraeli (Kenneth *et al.* 1972), byly však sledovány na *M. tanajoa* v Brazílii (Delalibera *et al.* 1992). Měly by být spojeny s mrtvými těly hostitele (Dick *et al.* 1992), protože

však kadavery s odpočinkovými sporami jsou křehké a snadno praskají (Carner 1976), jsou distribuovány na rostlinný materiál nebo půdu.

K šíření a infekci *N. floridana* dochází hlavně v noci, kdy relativní vlhkost překonává 97% (Brown, Hasibuan 1995) a je pak regulována jemnými výkyvy teploty. Za příhodných podmínek probíhá růst konidioforů přes hostitelskou kutikulu a tvorba primárních konidií se objevuje 6 hodin po smrti, zatímco průměrný čas klíčení primární konidie a tvorba kapilokonidií trvá přibližně 9 hodin (Carner 1976; Dick *et al.* 1992; Odour *et al.* 1996). Přestože proces tvorby kapilokonidií probíhá v noci, není světlo škodlivé (Odour *et al.* 1996), a je možné, že houba detekuje stmívání jako podnět zvyšující se vlhkosti a změn v teplotě.

Vzájemný vliv světla, vlhkosti, teploty a jejich efekt na přenos *N. floridana* je komplexní. Různé izoláty *N. floridana* mohou být adaptovány na místní teplotní podmínky. Např. optimální teplota pro tvorbu primárních konidií u izolátu z Brazílie je 18-23°C (Odour *et al.* 1996), 16-21°C pro izolát z jižní části USA (Smitley *et al.* 1986), zatímco izolát z Izraele je schopen produkovat primární konidie při 37°C (Kenneth *et al.* 1972). Infekční cyklus je schopen reagovat na malé změny v teplotě, a zatímco šíření vyžaduje mírné noční teploty, infekce a kolonizace hostitele probíhá za vyšších teplot ve dne. Třebaže pouze jedna až čtyři kapilokonidie jsou potřebné k zabítí roztoče (Odour *et al.* 1997), pro šíření je důležitá světelná fáze dne, neboť roztoči jsou více aktivní.

V jižních státech USA jsou dány faktory vedoucí k epizootiím *N. floridana* v populacích svilušek v polních podmínkách. Onemocnění se objevuje pravidelně, je spouštěno maximální denní teplotou nižší než 29°C a zvýšením vlhkosti, často způsobené deštěm (Brandenburg, Kennedy 1982). Epizootie obvykle začínají v polovině léta a způsobují pokles populace roztočů od poloviny srpna do září. V Kansasu byly epizootie *N. floridana* u *O. pratensis* a *T. urticae* iniciovány relativní vlhkostí přesahující 80% po dobu 8-10 hod za den (Dick, Buschman 1995). V Severní Karolině byla relativní vlhkost nad 90% po dobu 40 hod (minimálně 5 hod denně) odpovědná za snížení populační hustoty *T. urticae* na kukuřici způsobené houbou (Brandenburg, Kennedy 1982; Smitley *et al.* 1986), ovšem smáčení listů nemělo vliv na aktivitu houby (Smitley *et al.* 1986). Ačkoliv *N. floridana* hraje důležitou roli v populační dynamice *T. urticae*, epizootie se vyskytují příliš pozdě, než aby bylo zabráněno škodám na plodinách jako je kukuřice (Dick, Buschman 1995). Nicméně tyto epizootie zabraňují migraci na jiné plodiny, např. arašidy (Smitley *et al.* 1986).

V Africe je *N. floridana* používána v klasické biologické ochraně proti *M. tanajoa* (Yaninek *et al.* 1996). Patotyp ze severní Ameriky, který snižuje populační hustotu *M. tanajoa* v oblastech s hodně srážkami, byl předurčen pro použití v Africe, kde místní kmeny *N. floridana* způsobují nízkou úroveň mortality (Delalibera *et al.* 1992; Yaninek *et al.* 1996).

Paecilomyces Bainier

Paecilomyces fumosoroseus (WIZE) Brown & Smith

Paecilomyces fumosoroseus je kosmopolitně rozšířený druh široce polyfágní entomopatogenní houby, který byl v přirozených podmínkách nejčastěji izolován ze zástupců z řádů Lepidoptera, Diptera a Coleoptera (Bajan 1973). Patogen byl popisován a evidován pod řadou různých jmen (např. *Isaria fumosoroseus* WIZE; *Spicaria aphodii* Vuill.; *Spicaria cossus* Portier & Sartory; *Penicillium hibernicus* Kennelly & Grimes; *Penicillium isarioides* Inagaki aj.)(Samson, Rombach 1985, Samson 1974, Osborne, Landa 1992).

Na přirozeném hostiteli i na umělých živných půdách vytváří *P. fumosoroseus* (dále jen PFR) zprvu bílé vatovité kolonie, které později mění barvu do odstínů narůžovělé, nafialovělé až šedofialové barvy (Bajan 1973). Změna barvy kolonií přímo koreluje se stupněm sporulace kultury. Starší, plně sporulující kultury, mají až šedofialové zbarvení a vatovitý charakter kolonie se mění v prašný, s povrchem zcela pokrytým obrovským množstvím konidií (Landa 1994).

Hlavní determinační znaky druhu jsou detekovány na morfologických strukturách sporulujících kultur. V koloniích PFR se v průběhu konidiogeneze tvoří elipsoidní konidiospory,

kteře jsou v podobě dlouhých řetízku postupně produkovány na koncích phialid. V koloniích PFR se na vzdušném myceliu nejprve vytvářejí konidiofory, které jsou na hyfách umístěny přeslenovitým způsobem. Na koncích konidioforů se následně formují konidiogenní phialidy (3-6 phialid na 1 konidioforu), na kterých se vytvářejí oválné konidie. Konidie se na koncích phialid oddělují postupně, nejmladší konidie je vždy v kontaktu s phialidou a odtlačuje starší konidie dál do tvořícího se řetízku. V jednom řetízku konidií přichyceném na konidiogenní phialidě může být přítomno i více než 50 konidií (Samson 1974; Osborne, Landa 1992). Povrch kultur PFR, a zvláště pak povrch jednotlivých konidií je silně hydrofóbní. Po přelití povrchu kolonie PFR vodou, plavou uvolněné konidie (zpravidla stále udržují formu kompaktních řetízku) po povrchu vody kde tvoří prašnou, nesmáčenlivou vrstvu a jsou snadno rozprášeny i při malém pohybu vzduchu (Osborne, Landa 1992). Při růstu v submerzní kultuře (tekutá živná půda) ale i v půdních médiích vznikají blastospor. Tvar blastospor kolísá od kulovitěho tvaru k elipticky prodlouženým strukturám. Jsou virulentnější. Na povrchu molice začínají blastospor klíčit rychleji než konidie (Vega 2005).

Nejdůležitější roli z abiotických faktorů působících na infekční cyklus hraje relativní vzdušná vlhkost, při klíčení konidií vyžaduje *P. fumosroseus* nejméně 10 – 12 hodin vlhkost vyšší než 95%. Teplota je méně limitujícím faktorem. Optimální růst je sledován při 20 - 30 °C, vyšší teploty (30 - 40 °C) omezovaly růst více než teploty nižší (8 - 11°C) (Vidal *et al.* 1997).

P. fumosroseus je jedním z nejvýznamnějších přirozených nepřátel molice po celém světě, jsou zaznamenány silné epizootie u druhů *Bemisia* a *Trialeurodes* jak ve skleníkových, tak i polních podmínkách (Osborne, Landa 1992). Pro účely biologické ochrany proti molícím ve sklenících byla vyvinuta formulace na bázi blastospor nebo blastospor/mycelium (Eyal *et al.* 1994).

Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson

Paecilomyces lilacinus je druh obývající rhizosféru, kde vystupuje jako nematofág. Byl sledován potenciál této houby jako biologické agens být ekvivalentem použití menatocitů. *P. lilacinus* vykazuje účinnost při aplikaci v poloprovozních pokusech při regulaci hlístic *Meloidogyne incognita* (Siddiqui, Mahmood 1996; Jacobs *et al.* 2003). Účinnost a adaptabilita *P. lilacinus* efektivně kontrolovat hustotu různých patogenních hlístic byla testována za rozdílných půdních a klimatických podmínek po celém světě (Cabanillas *et al.* 1989). Je dobrým kompetitorem v mnoha půdách především v teplých oblastech. Optimum růstu je 26-30°C (Inglis *et al.* 2001). Snadno produkuje velké množství inokula ve formě dlouhých řetízku konidií. Byla testována také společná aplikace s chitinem, který v půdách stimuluje populace bakterií, aktinomycet a omezeného množství hub, která vykazala větší supresi *Meloidogyne incognita* než samostatné použití obou komponent (Mittal *et al.* 1995).

Lecanicillium Zare & W. Gams

Lecanicillium lecanii (Zimm.) Gams & Zare

Lecanicillium lecanii (dříve *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas, revize rodu provedena v roce 2001 (Zare, Gams 2001a; b)) je kosmopolitně rozšířená entomopatogenní houba (dříve nazývaná také *Cephalosporum lecanii*). *L. lecanii* byla poprvé popsána v roce 1861. Typickým znakem je vytváření bílého halo kolem hostitele v závěrečné fázi vývoje, které je tvořeno bílým myceliem rozrůstajícím se do okolí.

Konidie jsou slizovité, přichytávající se ke kutikule hostitele. Teplotní optimum pro *L. lecanii* je 15 – 25 °C. Optimum pro vlhkost 85 – 90%, vysoká vlhkost je nezbytná nejméně po dobu 10 – 12 hodin. Spory *L. lecanii* jsou poškozovány ultrafialovým zářením. (Cloyd 2005)

Houba je schopna během svého vývoje produkovat různé toxiny, jako např. bassianolide. Hostitelské spektrum je spojeno s jednotlivými kmeny, kmen s menšími spory infikuje mšice, kmen s většími konidiami molice. U některých kmenů byl zaznamenán také status mykoparazita (např. rzi) (Cloyd 2005).

L. lecanii je součástí několika komerčně vyráběných biopreparátů, např. Vertalec® a Mycotrol®. Vertalec® je využíván k regulaci širokého spektra mšic, včetně *Aphis gossypii* a *Myzus persicae*. Přípravek je registrován v několika evropských zemích a v Japonsku pro systém ochrany zeleniny a okasných rostlin. Při aplikaci ve sklenících slouží infikovaní jedinci jako zdroj inokula. *L. lecanii* je kompatibilní s mnoha parazity a predátory používanými ve tomto prostředí. Ačkoliv může houba zabíjet nedospělá stádia vosičky *Encarsia formosa* parazitujících molice, nemá žádný vliv na dospělce. Při využití těchto dvou agens je dosahováno lepších výsledků než při samotné aplikaci jednotlivých složek (Cloyd 2005).

Tab. 2. Příklady registrovaných biopreparátů na bázi mitosporických hub.

Stát	Registrovaný název	Houba	Cílový škodlivý organismus	Plodina
USA	Mycotrol® Botanigard®	<i>B. bassiana</i>	molice, mšice, třásněnky	rajčata (skleníková) a okrasné rostliny
USA	Naturalis®	<i>B. bassiana</i>	savý hmyz	bavlna, skleníkové kultury
USA	BioBlast®	<i>M. anisopliae</i>	termiti	domácnosti
USA/Evropa	PFR-97™® Preferal	<i>P. fumosoroseus</i>	molice, třásněnky	skleníkové kultury
UK, Evropa	Vertalec®	<i>L. lecanii</i>	mšice	skleníkové kultury
UK, Evropa	Mycotal®	<i>L. lecanii</i>	molice, třásněnky	skleníkové kultury
Jižní Afrika	Green Muscle®	<i>M. anisopliae</i>	sarančata	Přírodní parky
Reunion	Betel®	<i>B. bassiana</i>	larvy listorohých brouků	cukrová třtina
Švýcarsko	Engerlingspilz®	<i>B. brogniartii</i>	larvy chroustů	pastviny
Švýcarsko	Beauveria Schweizer®	<i>B. brogniartii</i>	larvy chroustů	pastviny
Francie	Ostrinol®	<i>B. bassiana</i>	zavíječ kukuřičný	kukuřice
Austrálie	BioGreen®	<i>Metarhizium flavoviride</i>	larvy chroustů	pastviny, trávníky
Austrálie	BioGreen®	<i>Metarhizium flavoviride</i>	larvy chroustů	pastviny, trávníky

2.3.8. Akaropatogenní houby

Mezi akaropatogenní houby vyvíjené pro supresi svilušky *T. cinnabarinus* jsou řazeny druhy *Hirsutella thompsonii*, *H. kirchneri*, *H. necatrix*, *Neozygites floridana*, *Cephalosporium diversiphialidum* a *Paecilomyces terricola* (Cehrnin et al. 1997; Sztejnberg et al. 1997; Van der Geest et al. 2000). *N. floridanum* a *P. terricola* byly zaznamenány také při soupisu přirozených akaropatogenů v Izraelu (Ben-Ze'ev 1993).

Méně významné druhy akaropatogenních hub

Je velké množství druhů hub, které se příležitostně objevují jako původci infekce roztočů z podtřídy Acarina, nejsou však studovány jako přirození regulátoři populací či biopreparáty. Některá tato pozorování bezpochyby zahrnují slabé patogeny či saprofyty. Lipa (1971) popisuje tři případy infekce způsobené *Aspergillus fumigatus* a *Penicillium insectivorum*. Chandler *et al.* (2000) zaznamenal 24 druhů z mrtvých mesostigmátních roztočů sbíraných z půdy, ptačích hnízd a mravenišť, z nichž pouze tři (*B. bassiana*, *P. farinosus* a *V. lecanii*) byly studovány jako agens biologické ochrany. Seznam obsahuje i druhy saprofytické (*Trichothecium roseum* a *Gliocladium roseum*). Velké množství saprofytických druhů bylo izolováno z kadaverů klíšťat. *Aspergillus* sp. a *Fusarium* sp. byly pozorovány na kadaverech *Mononychellus* sp. společně s *Hirsutella* sp. a *Neozygites* sp. (Chandler *et al.* 2000).

Tab. 3. Záznamy hub infikujících svilušku *T. urticae*

Patogen	Původ izolátu
Zygomycota	
<i>Basidiobolus</i> sp.	Dřívější SSSR
<i>Conidiobolus obscurus</i>	Dřívější SSSR, Rusko
<i>Conidiobolus thromboides</i>	Dřívější SSSR
<i>Neozygites</i> sp.	USA
<i>Neozygites floridana</i>	USA, Švýcarsko, Polsko, Tajwan, Izrael
<i>Neozygites tetranynchi</i>	Česká republika
<i>Zoophthora radicans</i>	Dřívější SSSR
Mitosporické houby	
<i>Aspergillus depauperatus</i>	
<i>Beauveria bassiana</i>	
<i>Hirsutella thompsonii</i>	USA
<i>Paecilomyces terricola</i>	Izrael
<i>Verticillium lecanii</i>	Holandsko

2.4. SVILUŠKA CHMELOVÁ *TETRANYCHUS URTICAE*

2.4.1. Zařazení do systému, čeleď *Tetranychidae*

Sviluška chmelová *Tetranychus urticae* Koch náleží do čeledi *Tetranychidae*, kam jsou řazeni drobní roztoči (0,2-1,0 mm) měkkého kožnatého těla cizopasící na nadzemních zelených částech vyšších rostlin. Čeleď *Tetranychidae* zahrnuje asi 20 druhů důležitých škůdců, společně se sviluškou zahrnuje druhy *Eotetranychus sexmaculatus*, *Oligonychus pratensis* a *Mononychellus tanajoa*. Měkká pokožka sviluškovitých je charakteristickým způsobem zřasena nebo zkrabacena. V mnoha případech kožní záhyby tvoří kresbu, která může upomínat na přítomnost štítku (např. nepravý štítek na předním kraji hřbetní strany většiny svilušek, genitální pole samiček). Pouze epigyum samic, uložené bezprostředně před pohlavním otvorem, je zcela hladké a silněji sklerotizované (Daniel 1971).

Celkový tvar těla se může měnit v závislosti na stavu nasycení, dozrávání vajíček apod. Pro determinaci jsou důležité brvy, které jsou velmi charakteristicky uspořádány, dále průběh peritremat, ambulakrálně-empodiální aparát prvního páru noh a aedeagus. (Daniel 1971)

Gnathosoma je vyzbrojeno palpami, chelicerami a hypostomem. Hypostom je nepárový útvar, který vznikl slitím základních článků palp a některých dalších elementů. Vpředu na vrcholu hypostomu je vlastní ústní otvor. Na palpách, zvláště na prvním článku (tarsus či chetofor), je řada systematicky důležitých brv. Základem každé chelicery jsou dva články. První z nich je přeměněn v bodec (stylet), druhé články (základní) chelicer jsou srostlé a vytvářejí základ chelicer (stylofor). Tento stylofor je pouzdrem a oporou pro bodcovité stylety a pohybuje se dopředu a dozadu v prohlubni přední části propodosomatu, tzv. chelicerální nálevce. (Daniel 1971)

U larev a nymf chybí pohlavní otvor. U dospělých forem je vyvinut pohlavní dimorfismus. Samečci jsou celkově menší, mají poměrně delší nohy a brva 4. článku palp je změněna v mohutný trn. (Daniel 1971)

V minulosti byla popisována pod různými jmény, např. *Tetranychus bimaculatus* Harvey, *T. telarius* (Linnaeus), v literatuře se objevuje přes 60 vědeckých jmen. Často byla sviluška chmelová popisována jako „red mite, red spider mite, glasshouse spider mite, twospotted spider mite, common spinning mite“, dříve také jako komplex druhů „twospotted spider mite complex“, nejčastěji s druhem *T. cinnabarinus* (Boisduval) (Osborne 1985).

2.4.2. Vývojový cyklus svilušky *Tetranychus urticae*

Vývoj svilušky chmelové probíhá stejně u samičky i samečka v posloupnosti vajíčko, larva, protonymfa, deutonymfa až po dospělce. Larvální, protonymfální a deutonymfální stádium je dále rozlišeno na stádium přijímající potravu (aktivní) a na stádium quiescentní (klidové). Quiescentní stádia jsou označována jako nymfochrysalis, deutochrysalis a teliochrysalis.

Samička klade kulovitá vajíčka (0,14 mm v průměru) obvykle na spodní stranu listů. Nakladená vajíčka jsou světlá, postupně se mění na matná a skelná. Těsně před vylíhnutím jsou slámová, s viditelnými karmínovými „očními skvrnami“. Larva má tři páry noh (hexapodní), těsně po vylíhnutí je průhledná, barva přechází po příjmu potravy na bledě zelenou, hnědozelenou nebo tmavě zelenou s dvěma tmavými skvrnami po stranách těla. Na konci stádia se larva připoutá k substrátu, vstupuje do quiescentního stádia (nymfochrysalis) a mění se v protonymfu. Protonymfa má již čtyři páry noh, je větší než larva (až 0,3 mm). Její barva přechází od světle zelené po tmavě zelenou, postranní skvrny jsou větší a výraznější než u larvy. Po quiescentním období (deutochrysalis) se mění na deutonymfu. Osminohá deutonymfa je větší, podobně zbarvená, dosahuje velikosti 0,4 mm. Již je možno odlišit samečky, kteří jsou menší a mají klínovitě zakončené tělo. Vývoj končí líhnutím imág z klidového přechodového stádia tzv. teliochrysalis (Bartoš *et al.* 1978).

Délka vývoje závisí na podmínkách – teplota, vlhkost, hostitelská rostlina, stáří listů, atd., přičemž jako nejdůležitější faktor vystupuje teplota. Spodní hranice vývoje je 12 °C, horní hranice kolem 40°C (Jeppson *et al.* 1975). Podle Laing (1969) trvá vývoj svilušky na jahodových listech při teplotě 20,3 °C a vlhkosti 55-98% průměrně 16,5 dnů (od vajíčka po dospělce). Shih *et al.* (1976) chová svilušku na fazolových listech při 27±1 °C a vlhkosti 90±5%. Za těchto podmínek trvá vývoj 7,6 dnů. Sabelis (1981) udává délku vývoje od vajíčka po samičku schopnou klást vajíčka. Teplotnímu rozmezí 25-35 °C a 10-20 °C odpovídá délka vývoje 8,3 a 28,2 dnů.

Tab. 4. Doba vývoje různých stádií *Tetranychus urticae* na růžích při různých teplotách (Malais, Ravensberg 1992) (údaje ve dnech)

Teplota	Vajíčko	Larva	Protonymfa	Deutonymfa	Vajíčko-dospělec	PO*	Vajíčko-vajíčko
15 °C	14,3	6,7	5,3	6,6	32,9	3,5	36,4
20 °C	6,7	2,8	2,3	3,1	14,9	1,7	16,6
30 °C	2,8	1,3	1,2	1,4	6,7	0,6	7,3

* pre-oviposition period = období od dospělého po kladení vajících

2.4.3. Reprodukce

Populace svlušky chmelové se skládá ze 75% samic a 25% samečků (poměr 3:1). Barva samečka přechází od bílé po tmavě zelenou, hnědou, někdy oranžovou. Barva samic přechází od světle žluté k zelené až tmavě zelené, slámové, hnědé, černé a různé odstíny oranžové. Často závisí barva jedince na hostitelské rostlině, např. na okurkách jsou svlušky žlutohnědé, na rajčeti červenohnědé (Malais, Ravensberg 1992).

Dospělí samečci se často nacházejí v blízkosti quiescentních deutonymf (samic), které uvolňují feromon. Sameček zůstává v těsné blízkosti a páří se s vylíhlou samičkou. Pokud je v okolí více samečků, mohou se mezi nimi objevit souboje. Tyto boje probíhají jako strkání a zachycení předních končetin, ústních částí a poznamenání soupeře vláknou (Osborne *et al.* 1985). K oplodnění samic dochází pouze jednou za život, v preovipoziční fázi adultního života (0,5-3 dny po vylíhnutí samic z teliochrysalis). Oplodněné samičky kladou oplodněná nebo neoplozená vajíčka. Z oplodněných vajících se postupně vyvíjejí jak samci tak samičky, z neoplozených vajících se vyvíjí výhradně samci (Bartoš *et al.* 1978).

Tab. 5. Doba vývoje svlušky *Tetranychus urticae* Koch při 21 °C (Herbert 1981) (údaje ve dnech)

	Aktivní	Quiescentní	Celkem
<i>Larva</i>			
Sameček	1,5	1,3	2,8
Samička	1,5	1,2	2,7
<i>Protonymfa</i>			
Sameček	1,0	1,3	2,3
Samička	1,3	1,2	2,4
<i>Deutonymfa</i>			
Sameček	1,0	1,4	2,5
samička	1,5	1,4	2,9

Fáze dospělosti samičky je rozdělena na preovipoziční období (od přeměny z teliochrysalis po naklazení prvního vajíčka) a období kladení vajících. Preovipoziční období (9% času potřebného k vývoji vajíčko-vajíčko) trvá 0,5-3 dny v závislosti na teplotě. Období kladení vajících trvá 10 dnů při 35 °C až 40 dnů při teplotě 15 °C (Sabelis 1981). Samička je v průběhu života schopna naklást přes 100 vajících (Shih *et al.* 1976; Carey, Brandley 1982). Celkový počet vajících nakladených jednou samičkou a počet vajících nakladených za den může být odlišný podle věku, teploty, hostitelské rostliny, vlhkosti, výživy hostitelské rostliny, expozici pesticidům, atd. (Watson 1964; Van de Vrie *et al.* 1972; Karban, Carey 1984). Absolutní většina (99,9%) vajících je nakladeno během 12 dnů ovipozičního období (při 24 °C), přičemž samičky přežívají průměrně 14,5 dnů (van Impe, Hance 1993). Teplota a stáří samičky jsou velmi důležité pro plodnost. Sabelis (1981) sledoval vliv rozmezí teplot 20-35 °C na plodnost. V této studii bylo vrcholu (161 vajících na

samičku) dosaženo při teplotě 25 °C, s maximem (12 vajíček/samičku/den) dva dny po začátku kladení. Vliv teploty je obzvláště výrazný ve sklenicích, kdy dochází k rychlému nárůstu populace brzy po počátku letních teplot.

Mladé, oplodněné samičky jsou nejvýznamnějším migrujícím stádiem v populaci. Většina oplodněných samiček opouští mateřskou kolonii a migruje na neosazenou část listu, respektive na jinou část rostlin.

Základem vývojového cyklu je vejcorodost, základem reprodukčního procesu je fakultativní arrhenotokie. Fenomén arrhenotokie je důležitý i z praktického hlediska. Díky tomuto způsobu reprodukce má populace svilušky vysoký potenciál vzniku rezistence k insekticidům a akaricidům (Helle, Overmeer 1973). Vzhledem k vysokému reprodukčnímu tempu, rychlému generačnímu vývoji a intenzivnímu selekčnímu tlaku chemické ochrany ve sklenicích se může objevit rezistence velmi rychle.

2.4.4. Hibernace

Za nepříznivých podmínek (zkrácení dne, snížení teplot, zhoršení potravních zdrojů) přechází samička do diapauzy. Jakmile se tyto samičky stanou dospělé, během 3 až 5 dnů přechází jejich zbarvení k oranžovočervené. Délka dne je důležitá pro počátek diapauzy, v jižní Anglii je kritická hodnota 13,5 hod, tato hodnota se snižuje o 1 hod při každých 3° zeměpisné šířky. Intenzita osvětlení potřebná k vyvolání odezvy je 3,5 luxů (Hussey, Scopes 1985). Po navození diapauzy se samičky stávají pozitivně geotaktické a negativně fototropické. Oplodněné samičky hibernují na skrytých místech na konstrukcích skleníků. Během tohoto období nepřijímají potravu a nekladou vajíčka. Jakmile nastanou na jaře příznivé podmínky, tyto samičky se stávají aktivními a začínají klást vajíčka. V místech s mírným klimatem (např. Florida) je *T. urticae* schopna množit se během celého roku, rychlost populačního růstu však klesá v zimním období (Malais, Ravensberg 1992).

2.4.5. Šíření

Sledování šíření svilušky *T. urticae* ve sklenicích je důležité při ochraně proti tomuto škůdci. Hussey a Parr (1963a) zjistili následující hlavní cesty šíření svilušky: migrace vylíhlých samiček; disperze z infikovaných rostlin; a přemístění po povrchu půdy. Je známo, že svilušky se mohou spouštět po vláknech a nechat se s nimi unášet vzdušnými proudy. Dále mohou být šířeny na oblečení zaměstnanců nebo při přemísťování infikovaného materiálu. Navzdory možnostem snadného a rychlého šíření je možno každoročně nalézat svilušku ve stejných částech skleníků. Charakteristická jsou ohniska infekce, ve sklenicích s okrasnými rostlinami jsou často situována na koncích stolů, v blízkosti zdí a centrální uličky.

2.4.6. Okruh hostitelských rostlin

Sviluška *T. urticae* Koch je polyfág, do širokého spektra hostitelských rostlin je řazeno přes 200 druhů. Je významným škůdcem zeleniny, okrasných rostlin, ovocných stromů, chmele, bavlny a jahodníku (Van de Vries *et al.* 1972). Navíc se velmi snadno adaptuje na odrůdy, které jsou vyšlechtěny jako rezistentní, např. u rajčat, brokolice a okurek (Fry 1989). Nicméně, sviluška chmelová nepřijímá všechny hostitele ve stejné míře, neboť se odlišují svým složením, produkcí toxických metabolitů, indukci sekundárních metabolitů a morfologií povrchu listů (např. Dabrowski 1973; Karban, Carey 1984; Karban, Myers 1989). Při srovnávání vhodnosti hostitelských rostlin z různých čeledí byla sviluškou nejlépe akceptována sója *Glycine max*, chmel *Humulus lupulus*, *Laburnum anagyroides* a tabák *Nicotiana tabacum* (Van den Boom *et al.* 2003). Ze skleníkových plodin preferuje okurku, rajče a fazole, z pěstovaných okrasných rostlin pak *Dracena indivisa*,

Pelargonium pectatum, *Impatiens platypeltatum*, *I. wallerana*, *Hydrangea* sp., *Tagetes* sp., *Euphorbia pulcherrima*, *Vinca major* „variegata“, *Rosa* sp., *Verbena* sp. a *Viola* sp. Z pěstovaných letniček jsou náchylné druhy *Althaea rosea*, *Monarda fistulosa*, *Aquilegia hybrida*, *Hemerocallis* sp., *Buddleia* sp., *Scabiosa* sp., *Verbena* sp. a *Salvia* sp. Svluška upřednostňuje jako hostitele též některé bylinné druhy: *Melissa officinalis*, *Lippia citriodora*, *Cymbopogon citratus*, *Oreganum vulgare* či *Mentha* sp. (Pundt 2005).

Larvy, protonymfy, deutonymfy a dospělci sají především na spodní straně listů. Při sáti je tělo roztoče nakloněno tak, že 3. a 4. pár noh se nedotýká povrchu listu, roztoč se opírá o 1. a 2. pár noh (Jeppson *et al.* 1975). Buňky rostlinného parenchymu jsou nabodnuty jehlicovitými stylety, obsah je vysát pomocí pharyngeální pumpy. Podle Laing (1969) stráví protonymfy a deutonymfy kolem poloviny času vývoje při sáti a polovinu jako odpočinková nebo quiescentní stádia, larvy pak nepatrně více času přijímají potravu.

Poškození rostlin se projevuje v několika směrech. Při sáti dochází k destrukci nebo zničení chloroplastů, což vede k základním fyziologickým změnám v rostlině. Jako primární odpověď hostitele se projevuje uzavřením průduchů, následně dochází k redukci transpirace a fotosyntézy (Sances *et al.* 1979). Tento efekt se může objevit při nízké hustotě populace svlušky, která odpovídá nízkému stupni viditelného poškození rostliny. Redukce fotosyntetické plochy je stálá, může být kompenzována pouze novými listy. Byly vyvinuty metody kvantifikující sáti a poškození okurek a rajčat (Hussey, Parr 1963b; French *et al.* 1976). Obě metody využívají hodnocení indexu poškození listové plochy (Leaf Damage index LDI) se škálou 0-5 (French *et al.* 1976).

Tab. 6. Definování intenzity poškození listové plochy (podle Hussey, Parr 1963b; French *et al.* 1976)

Index	Poškození listové plochy	Populace svlušky (dospělci a nymfy) / 6,45 cm ²
0	bez poškození	0
1	jedna či dvě skvrny o průměru 1-5 mm nebo 5% poškozené plochy	3
2	více a větší skvrny, 15 % listové plochy zasaženo	12
3	husté skvrny s 30% poškozené plochy	107
4	asi 60% plochy poškozeno	228
5	více jak 80% plochy poškozeno, list se stává chlorotický	592

Práh škodlivosti u okurek je 1,9, index 2,5 může způsobit 40% ztráty během 5 týdnů (čas potřebný k vývoji okurky). Na okurkách je maximální rychlost růstu poškození listů odpovídající indexu 1,0 za 12 dnů. Podobný práh (2,0) u rajčat, odpovídající 30% asimilační ploše, již zaručuje ztráty, když maximální nárůst poškození vyjádřený indexem je 2,7 za 16 dnů. Je zajímavé, že rychlost poškození u rajčat a okurek je podobná při průměrné teplotě 16 a 21 °C (Hussey, Scopes 1985).

2.4.7. Škodlivost

Rostliny poškozují larvy, nymfy i dospělci. Živí se tkáněmi a šťávami. Nejčastěji se nachází na spodní straně listů, napichují rostlinné buňky a vysávají obsah. Tyto buňky žloutnou, na povrchu listů se často objevují bílo-žluté skvrny. Se vzrůstajícím poškozením listy žloutnou. Fotosyntetická

plocha listu odumírá, eventuálně může odumřít i celá rostlina. Nymfy a dospělci produkují pavučinku. Pokud je na rostlině velké množství svlušek, může být celá rostlina zapředena.

Vliv na rostlinu je následující:

- zničení chlorofylu, zastavení fotosyntézy a růstu rostliny; ztráty nastávají u okurek a rajčat při 30% poškození listové plochy;
- škodlivé látky vypouštěné do rostliny;
- skvrny na listech a pavučinka poškozuje vzhled rostliny (důležité především u okrasných rostlin)

Zamoření rostliny svluškou může mít několik příčin. Opatření jako hnojení a prořezávání vede k zvýšenému růstu rostlin, zároveň je zvýšena kvalita zdrojů potravy svlušky a je povzbuzena rychlejší reprodukce škůdce. Běžné používání pesticidů může omezit využití přirozených nepřátel. Efektivita využití nepřátel může být inhibována klimatickými faktory (e.g. nízká relativní vlhkost jako preventivní opatření proti plísni) (Malais, Ravensberg 1992).

2.4.8. Biologická ochrana

V polních podmínkách je se svluškou spojeno velké množství přirozených nepřátel. Jsou to predátoři a patogeni; není znám parazit (parazitoid) svlušky chmelové (McMurtry *et al.* 1970). Pro regulaci populací svlušky *T. urticae* jsou komerčně dostupné (a nejvíce využívané) prostředky na bázi dravých roztočů, především *Phytoseiulus persimilis*, *Neoseiulus californicus*, resp. dravé bejlomorky *Feltiella acarisuga* či dravé plošnice *Dicyphus hesperus*. Roztoči jsou často využíváni jako klíčový komponent pro regulaci populací svlušky *T. urticae*. Ostatní využívané makroorganismy (např. *D. hesperus*) mívají širší spektrum kořisti, často jsou cíleni na regulaci jiného škodlivého organismu.

Tab. 7. Příklady přirozených predátorů svlušky *T. urticae*

	Druh	Místo	Reference ^{XIII}
Acarina	<i>Typhlodromus pyri</i> Scheuten	Kanada	Herbert (1959)
	<i>Typhlodromus rhenanus</i> Oudemans	Kanada	Herbert (1959)
	<i>Amblyseius finlandicus</i> (Oudemans)	Kanada	Herbert (1959)
	<i>Phytoseius macropilis</i> (Oudemans)	Kanada	Herbert (1959)
	<i>Typhlodromus corticis</i> Herbert	Kanada	Herbert (1959)
	<i>Amblyseius fallacis</i> (Garman)	USA	Herbert (1959)
	<i>Phytoseius fotheringhamiae</i> Denmark & Schicha	Austrálie	Schicha (1975)
	<i>Zetzellia mali</i> (Ewing)	Quebec	Parent, LeRoux (1956)
	<i>Agistemus fleschneri</i> Summers	USA	Nelson <i>et al.</i> (1973)
	<i>Anystis agilis</i> Banks	USA	Sorensen <i>et al.</i> (1976)
<i>Hemicheyletia bakeri</i> (Ehara)	USA	Karavel, Selhime (1967)	
<i>Bdella depressa</i> Ewing	USA	Snetsinger (1956)	

^{XIII} Reference uvedené v tomto sloupci nejsou součástí seznamu literatury použité při zpracování rešerše, protože mají pouze naznačit, v jaké době byli přirození nepřátelé použiti

Insecta			
Coleoptera	<i>Oligota oviformis</i> Casey	Kalifornie	Oatman <i>et al.</i> (1981)
	<i>O. pallidicornis</i> Cameron	Keňa	Yaseen <i>et al.</i> (1982)
	<i>Stethorus aethiops</i> Wse	Keňa	Yaseen <i>et al.</i> (1982)
	<i>S. sasaji</i>	Thajwan	Wen, Lee (1981)
	<i>S. fenestralis</i> Houston	Austrálie	Houston (1980)
	<i>S. incompletus</i> Whitehead	Austrálie	Houston (1980)
	<i>S. loi</i> Sasaji	Thajwan	Wen, Lee (1981)
	<i>S. loxtoni</i> Britton & Lee	Austrálie	Houston (1980)
	<i>S. punctillum</i> Wse	Kanada	Putman (1955)
	<i>S. siphonulus</i> Kapur	Havaj	Raros, Haramoto (1974)
	<i>S. tridens</i> Gordon	Kolumbie	Gordon (1982)
	<i>S. vagans</i> Blkb.	Austrálie	Houston (1980)
	Thysanoptera	<i>Aeolothrips melaleucus</i> (Hal.)	Kanada
<i>Scolothrips indicus</i> Priesner		Thajsko	Kantaratanakul <i>et al.</i> (1979)
<i>S. longicornis</i> Priesner		Německo	McMurtry <i>et al.</i> (1970)
Heteroptera	<i>S. sexmaculatus</i> (Pergande)	Kalifornie	McMurtry <i>et al.</i> (1970)
	<i>Anthocoris nemorum</i> (L.)	Evropa	McMurtry <i>et al.</i> (1970)
	<i>Hyaliodes harti</i> Knight	USA	Horsburgh, Asquith (1968)
Diptera	<i>Malacocoris chlorizans</i> Panz.	Švýcarsko	Geier, Baggiolini (1952)
	<i>Orius laevigatus</i> (Fieber)	Egypt	Tawfik, Ata (1973)
	<i>Arthrocnodax occidentalis</i> Felt	Kalifornie	Fleschner (1958)
Neuroptera	<i>Therodiplosis</i> sp.	Keňa	Yaseen <i>et al.</i> (1982)
	<i>Coniopteryx crassicornis</i> Eb. Pet.	Keňa	Yaseen <i>et al.</i> (1982)
Dermaptera	<i>Labidura riparia</i> (Pallas)	J. Afrika	Coates (1974)

2.4.9. *Phytoseiulus persimilis*

Predátor byl popsán jako *P. riegeli* Dosse a *P. tardi* Lombardini. Původně pochází z Chile, odkud byl na hlízách orchidejí převezen v roce 1958 do Německa a později rozšířen do ostatních částí světa. Na počátku 60. let probíhal výzkum tohoto druhu ve Velké Británii, Holandsku, Kanadě a v USA. Byla demonstrována schopnost predátora regulovat populace svilušky chmelové na různých hostitelských rostlinách: na okurkách (Gould 1970), rajčatech (French *et al.* 1976), břečťanu (Gould, Light 1971), růžích (Boys, Burbutis 1972), fazolích (Force 1967), jahodách (Laing, Huffaker 1969) a diffenbachiích a schlefflerách (Hamlen, Linqvist 1981).

Vývojová stádia jsou podobně jako u svilušky: vajíčko, larva, protonymfa, deutonymfa a dospělec. Chybí tři quiescentní stádia. Oválná vajíčka jsou kladena v blízkosti zdroje potravy. Jsou světle oranžová a průhledná, se stárnutím tmavnou. Od vajíček kořisti se poznají podle tvaru a zabarvení (Osborne 1985).

Šestinohá larva nepřijímá potravu a zůstává neaktivní, pokud není vyrušena. První stádium přijímající potravu, osminohá protonymfa, se líhne z larvy a začíná aktivně vyhledávat potravu. Ve vyhledávání potravy a příjmu pokračuje s přestávkami z přesycení. Další vývojové stádium, osminohá deutonymfa, přijímá potravu většinu času. Z deutonymfy se líhne červeně zbarvený dospělec, stejné velikosti jako kořist. S příjmem potravy začíná brzy po vylíhnutí (Osborne 1985).

K páření dochází několik hodin po vylíhnutí. Vícenásobné páření je běžné, sexuální poměr je 4:1 ve prospěch samic (Laing 1968). Oplozená samička může klást vajíčka po celou dobu života, neoplozená samička není schopna reprodukce (Amano, Chant 1978; Laing 1968).

Tab. 8. Porovnání délky vývoje svlušky *T. urticae* a jejího predátora *P. persimilis* (údaje ve dnech)

Teplota °C	Vývojová stádia					
	Vajíčko	Larva	Protonymfa	Deutonymfy	PO	celkem
<i>Tetranychus urticae</i>						
15	14,3	6,7	5,3	6,6	3,5	36,3
20	6,7	2,8	2,3	3,1	1,7	16,6
30	2,8	1,3	1,2	1,4	0,6	7,3
<i>Phytoseiulus persimilis</i>						
15	8,6	3,0	3,9	4,1	5,6	25,2
20	3,1	1,1	1,4	1,6	1,9	9,1
30	1,7	0,6	0,8	0,8	1,1	5,0

Poznámka: hostitelská rostlina růže, klimatizovaná místnost (Osborne 1985)

Vliv teploty a relativní vlhkosti

Teplota ovlivňuje spotřebu kořisti, generační dobu, kladení vajíček a dlouhověkost (Pruszyński 1976; Sabelis 1981; Shaw 1982; Laing 1968). Výsledný vztah predátor-kořist je výrazně ovlivněn teplotou. Množství deutonymf zkonsumovaných stádiem nejvíce přijímajícím potravu (mladé samičky kladoucí vajíčka) stoupá se zvyšující se teplotou. Např., při relativní vlhkosti 75%, průměrná konzumace deutonymf svlušky jednou samičkou je 8,8 při 17°C v porovnání s 13,5 při 26°C (Pruszyński 1976). Konzumace kořisti stoupá s klesající vlhkostí a stoupající teplotou. *P. persimilis* je citlivější než kořist při teplotách přesahujících 30°C, predátor přestává přijímat potravu při teplotě kolem 35°C (Pruszyński 1976). Množství vajíček a rychlost konzumace závisí na schopnosti predátora efektivně vyhledávat potravu.

Rychlost vývoje *P. persimilis* je funkcí teploty a je popisován lineárně při teplotách 15-30°C (Sabelis 1981), se zvyšující se teplotou klesá rychlost času potřebného k vývoji. Nicméně, v literatuře jsou udávány variabilní hodnoty času potřebného k vývoji a souvisí s kmenem použitým ve studii.

Tab. 9. Reprodukční parametry *T. urticae* a jejího predátora *P. persimilis* (při průměrné teplotě 20,3 °C)

Parametr	<i>Tetranychus urticae</i> *	<i>Phytoseiulus persimilis</i> **
Preovipoziční období (den)	2,1	3,0
Ovipoziční období (den)	15,7	22,3
Dlouhověkost (den)	17,8	29,6
Počet vajíček/samička	37,9	53,5
Počet vajíček/samička/den	2,4	2,4
Sexuální poměr (samičky:samečci)	2,9:1	4,1:1
r_{max}^{***}	0,143	0,219
R_0	30,93	44,36
T	24,0	17,32

* Laing (1969)

** Laing (1968)

*** r_{max} = skutečná míra nárůstu resp. počet jedinců produkovaných samičkou v průměru za den; R_0 = množství dcer nahrazujících průměrně jednu samičku během jedné generace; a T = průměrná generační doba (dnů)

Všechna vývojová stádia svlušky mohou být požírána dospělou samičkou *P. persimilis*. Larvy predátora nepřijímají potravu, protonymfy a deutonymfy se mohou živit vajíčky, larvami a

protonymfami svilušky. Zkonzumované množství závisí na hustotě predátora a kořisti, na teplotě, vlhkosti, stádiu vývoje predátora a stádiu kořisti (Osborne 1985 *et al.*).

P. persimilis je plně závislý na živočišné potravě. Osborne *et al.* (1985) uvádí, že predátor je schopen požírat, reprodukovat se a kompletně dokončit svůj vývoj pouze na roztočích podčeledě Tetranychinae. Nicméně, Chant (1961) zaznamenal konzumaci mladých třásněnek. Při nedostatku potravy se *P. persimilis* projevuje kanibalisticky (Laing 1968).

Šíření

V porovnání s jinými dravými roztoči je schopen *P. persimilis* rychle se šířit. Schopnost šířit se a vyhledávat nové kolonie kořisti závisí na fyzikálních podmínkách prostředí (Osborne *et al.* 1985), na rozšíření a hustotě kořisti, hustotě predátora a přetrvávání infestace nebo množství přítomných vláken kořisti.

Důležitá je hustota hostitelských rostlin ve skleníku. Např., pokud se infikované rostliny dotýkají, predátor se rychle šíří; pokud nejsou rostliny příliš v kontaktu, schopnost predátora šířit se může být redukována až o 70% (Osborne *et al.* 1985).

Hustota predátora a kořisti hraje důležitou roli pro vyhledávání nových zdrojů potravy predátorem. Množství mladých samiček stoupá při opuštění kolonie, kde stoupá množství predátora a klesá hustota populace kořisti (Sabelis 1981). Pokud je hustota kořisti nízká ve srovnání s množstvím predátorů, dospělí predátoři se vydávají aktivně vyhledávat nové potravní zdroje. Na druhou stranu, nymfy *P. persimilis* mají nižší kapacitu – a také tendenci – šíření než dospělci a zdržují se a živí se na zanechané potravě (Osborne *et al.* 1985). Toto chování může přispívat k vymizení kořisti. Eliminace a vymizení kořisti je ve sklenících možné, protože *P. persimilis* má větší schopnost šíření než kořist. V případech nulové tolerance poškození, např. u okrasných rostlin, je to žádoucí. U okurek a rajčat je menší poškození tolerováno, proto je výhodnější stabilizovaná interakce mezi predátorem a kořistí.

Vlákna produkovaná sviluškou napomáhají k vyhledávání kořisti. Vlákna působí jako impuls k zastavení predátora. V jedné studii byly samičky schopny 2x rychleji vyhledávat kořist při přítomnosti vláken než bez nich (Osborne *et al.* 1985). V této publikaci je také uvedeno, že stejný efekt měla vajíčka svilušky, ale v nižší míře. Za toto chování mohou být zodpovědné kairomony.

V mnoha tritrofických systémech skládajících se z rostlin, herbivorů a karnivorů, vypouštějí herbivory napadené rostliny tzv. „těkavé látky indukované herbivory“, které jsou atraktantní pro karnivorní druhy (Horiuchi *et al.* 2003). V tritrofickém systému skládají se z *Phaseolus lunatus*, *Tetranychus urticae* a *Phytoseiulus persimilis*, infikované rostliny produkují těkavé látky indukované sviluškou *T. urticae*, které atrahují *P. persimilis* (Horiuchi *et al.* 2003). Zdá se, že predátoři preferují listy s větším množstvím roztočů (Maeda, Takabayashi 2001). Sabelis *et al.* (1984) zaznamenali pozitivní odpověď *P. persimilis* na těkavé látky z listů infestovaných *T. urticae* u všech vývojových stádií kromě samiček.

2.4.10. *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae)

Dravé bejломorky *Feltiella acarisuga* patří k nejrozšířenějším a nejefektivnějším přirozeným nepřítelům Tetranychidae (Gagne 1995). Tento druh je částečně využíván v integrované ochraně skleníkových kultur proti svilišce chmelové.

Jako potravní zdroj preferuje vajíčka a mladá vývojová stadia roztočů, může se však živit na všech vývojových stádiích. Druhové spektrum svilušek, které napadá tento predátor, zahrnuje svilušku chmelovou (*Tetranychus urticae*), dále také *T. cinnabarinus*.

Drobný dospělec, s růžovohnědými křídly, je velký pouze kolem 1mm, s dlouhýma nohama. Není dravý, živí se pouze vodou a nektarem. Dospělci aktivně vyhledávají kolonie svilušek. Každá samička naklade průměrně 30 jasně žlutých vajíček v blízkosti roztočů, často v místech výskytu vláken svilušek. Samičky žijí až 5 dnů, samečci méně. Sexuální poměr je 1:1. Z vajíček se za 5-7 dnů líhnou žlutě nebo oranžově hnědé larvy. Po vylíhnutí vyhledávají kořist a vysávají ji. Mohou

zkonsumovat přes 300 vajíček roztočů a dokončit během jednoho týdne ve skleníkovém prostředí vývoj. V chladnějším prostředí je vývoj prodloužen až na jeden měsíc. Bílé kokony umísťují na spodní stranu listů, obvykle kolem žilek. Stádium kukly zahtnuje nejméně jeden týden ve skleníku, ve venkovních podmínkách déle (Osborne *et al.* 2002).

Feltiella acarisuga je určena pro regulaci populací svlušek u celé řady polních a skleníkových plodin. Každá larva je schopna zkonsumovat průměrně 15 dospělců, 30 různých vývojových stádií nebo 80 vajíček svlušek za den (Gillespie *et al.* 1998).

Ve sklenících s regulovanými podmínkami může být bejломorka *F. acarisuga* používána celoročně. Je využívána společně s dravým roztočem *Phytoseiulus persimilis*, samostatně není obvykle schopna regulace četnosti svlušky. Také je využívána přednostně u rostlin s trichomy, které mohou způsobovat smrt dravým roztočům, bejломorku *F. acarisuga* však neovlivňují. Používá se zpravidla k redukci ohnisek svlušek (Osborne *et al.* 2002).

Dravá bejломorka *F. acarisuga* je komerčně produkována např firmou Kopert (SPIDENT®) a Biobest. Ve skleníkovém prostředí je využíváno augmentativní^{XIV} biologické regulace. Aplikace je prováděna ve formě kokonů na listech nebo papírových destičkách.

Vývojový cyklus *F. acarisuga* proběhne během 10 dnů při 27°C, při 15°C během 34 dnů. Při sledování vývoje při 20°C byl vývoj prokazatelně rychlejší při 96% vzdušné vlhkosti v porovnání s 84%. Přežití nedospělých stádií bylo narušeno při 64% vlhkosti, při hodnotě 36% nepřežil žádný jedinec. *F. acarisuga* může realizovat celý vývojový cyklus v skleníkových podmínkách v mírném pásmu, nicméně periody s nižší vlhkostí (méně než 60%) mohou omezit reprodukci a regulaci populací svlušek. (Gillespie *et al.* 1998)

2.4.11. *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae)

Dravý roztoč *N. californicus* byl popsán McGregorem v roce 1954 jako *Typhlodromus californicus*. Po roce 1954 byl přeřazen do rodu *Amblyseius* a později do rodů *Neoseiulus* nebo *Cydnodromus*. Dnes převažuje názor, že druh *Neoseiulus chilensis* (Dosse) je synonymem pro *N. californicus*. (Greco *et al.* 1999)

Populace *N. californicus* se přirozeně vyskytují v Argentině, Kalifornii, Chile, na Floridě, v Japonsku, Jižní Africe, Texasu, v části jižní Evropy a podél Středoziemního moře. Je nalézán na ovocných stromech (citrusy, avokádo), manioku, kukuřici, jahodách a další zelenině a na okrasných rostlinách (Greco *et al.* 1999). Preferuje teplejší teploty, 10 – 33°C, ale po krátkou dobu je toleratní také k nízkým teplotám. Např. dokáže přežít zimu na severní Floridě, kde mohou noční teploty klesat pod bod mrazu. Snáší široké rozpětí vlhkosti, 40 – 80%, upřednostňuje však hodnoty bližší k horní hranici daného rozpětí.

Vajíčka *N. californicus* mají tvar fotbalového míče, průrné délky 0,04 mm, bledě bílá. Hexapodní larvy jsou průsvitné. Obě nymphální stádia, protonympha a deutonympha, jsou podobné dospělům, odlišují se pouze velikostí a neschopností rozmnožování. Dospělé samičky dosahují délky 0,1 mm, mají oválný tvar těla. Samečci jsou nepatrně menší. Samečci i samičky jsou průsvitní, mohou být světle oranžoví či narůžovělí.

Samičky mohou klást čtyři vajíčka za den, nicméně průměrně kladou dvě vajíčka. Vývoj vajíčka trvá v závislosti na teplotě 1,5 až 4 dny. Z vajíčka se líhne šestinohá larva, která se mění v protonymphu aniž přijímá potravu. Vývoj probíhá přes dvě vývojová stádia, protonymphu a deutonymphu. Celkový vývoj proběhne za 4 až 12 dnů podle teplotních podmínek. Dospělci žijí v průměru 20 dnů.

Vývoj roztoče *N. californicus* je rychlejší, pokud přijímá za potravu svlušku *T. urticae*. Nicméně, může se úspěšně vvvíjet i i při predaci jiných roztočů, např. *Aculus schlenchtendali*

^{XIV} Augmentativní biologická ochrana = vypouštění (aplikace) velkého množství biologického agens s cílem doplnit malý počet již přítomných jedinců s předpokladem výrazného zvýšení účinnosti těchto biologických agens. (Landa *et al.* 2002)

(Nalepa), *Oligonychus pratensis* (Banks), *O. perseae* Tuttle, *O. ilicis* (McGregor), *Panonychus ulmi* (Koch), *Phytonemus pallidus* (Banks), *Polyphagotarsonemus* (*Stenotarsonemus*) *latus* Banks a *Phytonemus pallidus* L. Může se také živit a reprodukovat při konzumaci třásněnek nebo jiného drobného hmyzu, ale reprodukce je v tomto případě nízká. Po krátkou dobu může tento dravý roztoč přežívat pouze na pylu (Barber *et al.* 2003).

Dravý roztoč *N. californicus* je komerčně využíván ke kontrole populací svilušky chmelové a několika dalších ekonomicky významných roztočů (*Tetranychus pacificus*, *Eotetranychus sexmaculatus*, *Panonychus citri*) na avokádu, citrusech, chmelu, vinné révě, maliníku, růžích a dalších okrasných rostlinách, jahodách a několika dalších druzích zeleniny.

Výhodu při používání *N. californicus* v porovnání s *P. persimilis* je, že může být introdukován preventivně, není kanibalistický, může přežívat na pylu. *N. californicus* je aktivní v širokém rozpětí teplot, 8 – 35°C, může být aplikován také mimo skleníky. Také je více rezistentní chemickým pesticidům. (Anonym 2006)

2.4.12. *Dicyphus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae: Bryocorinae)

Dravá ploštice *Dicyphus hesperus* náleží do tribu Dicyphini, jehož zástupci patří mezi známé predátory škodlivých organismů využívané v biologické kontrole ve sklenících a polních podmínkách. *D. hesperus* je účinným predátorem molice *Trialeurodes vaporariorum* Westwood a svilušky *T. urticae* Koch ve skleníkových podmínkách. (McGregor *et al.* 1999)

3. CÍLE DOKTORSKÉ PRÁCE

Výchozím momentem doktorské práce je skutečnost, že vztahy mezi sviluškou chmelovou a entomopatogenními resp. akaropatogenními houbami nejsou prozatím podrobně definovány. I v systémech integrované ochrany rostlin nevystupují houby jako klíčový prvek pro regulaci četnosti populace svilušky *T. urticae*, přestože většina komerčně využívaných druhů hub vykazuje akaropatogenní status. Při hodnocení účinnosti akaropatogenních hub v porovnání s pesticidy mohou být houby znevýhodněny brzkým hodnocením, které neodráží postupně vznikající vztahy v tritrofickém systému. Při déletrvajícím hodnocení mohou do popředí pozornosti vystupovat efekty, které byly na počátku definovány jako vedlejší a mohou být zajímavější než původně sledované cíle.

Modelovým organismem této studie je sviluška *T. urticae*, která byla záměrně zvolena jako představitel široce polyfágního kosmopolitně rozšířeného druhu, u něhož byla prozatím biologická regulace četnosti řešena dravými roztoči. Experimentální část je věnována vztahu mezi sviluškou chmelovou a vybranými kmeny entomopatogenních hub a možnostem využití hub v ochraně proti tomuto škůdci.

Hlavní cíle jsou definovány následovně:

1. Vytvoření sady testů pro objektivní hodnocení vztahu mezi sviluškou *T. urticae* a entomopatogenními resp. akaropatogenními houbami.
2. Detailní popis kmenově specifických charakteristik s ohledem na akaropatogenní účinnost umožňující odlišení jednotlivých kmenů.
3. Manipulace s cílem navýšení účinnosti entomopatogenních hub.
4. Kompatibilita entomopatogenních hub s komerčně dostupnými preparáty s ohledem na možnosti využití aplikace pomocí tank-mixu.
5. Ověření účinnosti preparátů na bázi hub ve skleníkovém prostředí.
6. Introdukce vybraného druhu entomopatogenní houby do produkčních porostů rychlených okurek s cílem prokázat možnost indukovat uchycená a následné šíření patogena v porostech okurek

4. MATERIÁL A METODIKA

4.1. Entomopatogenní houby používané v pokusech

V pokusech byly použity kmeny vybraných druhů entomopatogenních hub pocházející převážně ze sbírky kultur entomopatogenních hub, která je udržována na katedře rostlinné výroby ZF JU v Českých Budějovicích. Tato sbírka v současnosti sestává z přibližně 750 kmenů převážně mitosporických entomopatogenních hub. Převážná většina kmenů uložených ve sbírce byla získána v období let 1997-2005 v průběhu velkoplošného monitoringu přirozeného výskytu entomopatogenních hub v zemědělských půdách v regionu Jižní Čechy a v období let 1998-2001 v rámci studie zaměřené na monitoring přirozeného výskytu entomopatogenních hub asociovaných s populacemi lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*) ve smrčinách NP a CHKO Šumava. Kromě původních kmenů získaných v rámci uvedených studií jsou ve sbírce udržovány též kmeny entomopatogenních hub odizolované z půdních vzorků odebraných na vybraných lokalitách Jižní Moravy, kmeny získané převzetím sbírky Entomologického ústavu AV ČR v Českých Budějovicích, kmeny získané ze sbírky prof. Lance S. Osborna (IFAS, University of Florida Gainesville, MFRE Centre, Apopka, FL., USA) a kmeny získané reizolací z komerčních šarží biopreparátů na bázi houby *P. fumosoroseus* (PFR 97™20% WDG, PREFERAL) resp. biopreparátů na bázi houby *L. lecanii* (VERTALEC® a MYCOTAL®). Z této sbírky byly použity též sady kmenů hub *P. fumosoroseus* a *L. lecanii*, které byly získány v rámci studií zaměřených na sledování vlivu kontinuálního pasážování monosporových izolátů přes vybrané druhy přirozených hostitelů resp. umělé živné půdy a přirozených substrátů na vlastnosti kmenů (podrobněji viz dále). Přehled kmenů a základní informace týkající se kmenů vybraných pro tuto studii jsou uvedeny v souhrnné tabulce (Tab. 10).

Tab. 10. Původ a označení testovaných kmenů hub v mykologické sbírce katedry rostlinné výroby ZF JU v Českých Budějovicích.

Druh	Kmen ¹ izolace	Oblast	Hostitel - zdroj
<i>B. bassiana</i>	A 25	1978 Valtice, ČR	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>B. bassiana</i>	A 38	1979 Kladno, ČR	<i>Aporia cratagei</i>
<i>B. bassiana</i>	A 51	1980 Darmstadt, SRN	-
<i>B. bassiana</i>	GHV	2004 USA	Biopreparát BOTANIGARD
<i>B. brongniartii</i>	A 77	1987 Sofie, BL	<i>Ips typographus</i>
<i>P. fumosoroseus</i>	A 48	1977 Francie	<i>Pyrausta nubilalis</i>
<i>P. fumosoroseus</i>	A 66	1977 Francie	-
<i>P. fumosoroseus</i>	A 102	1976 ČR	<i>Galleria mellonella</i> - lapák
<i>P. fumosoroseus</i>	I 2	1999 Modrava, ČR	<i>Ips typographus</i> – kůra ²
<i>P. fumosoroseus</i>	I 4	1999 Stožec, ČR	<i>Ips typographus</i> – kůra
<i>P. fumosoroseus</i>	I 10	1999 ČR - Šumava	<i>Ips typographus</i> – kůra
<i>P. fumosoroseus</i>	PFR 97	1987 Apopka, FL, USA	<i>Coccus hesperidum</i>
<i>L. lecanii</i>	A 45	1972 ČR	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>
<i>L. lecanii</i>	A 47	1968 Polsko	<i>Lecanium corni</i>
<i>L. lecanii</i>	I 9	1999 Kvilda, ČR	<i>Ips typographus</i> – lapač ³

¹ Kód kmene ve sbírce kultur KRV ZF JU v Českých Budějovicích

² Kmen odizolovaný z larev nebo dospělců lýkožrouta smrkového

³ Kmen odizolovaný z dospělců lýkožrouta smrkového odchycených pomocí feromonových lapačů

<i>L. lecanii</i>	I24	1999	Kvilda – 91, ČR	<i>Ips typographus</i> – lapač
<i>L. lecanii</i>	I25	2000	Kvilda – 112, ČR	<i>Ips typographus</i> – lapač
<i>L. lecanii</i>	I26	2000	Kvilda – 112, ČR	<i>Ips typographus</i> – lapač
<i>L. lecanii</i>	I30	2000	Tmavý potok, ČR	<i>Ips typographus</i> – lapač
<i>L. lecanii</i>	I34	2000	Tmavý potok, ČR	<i>Ips typographus</i> – lapač
<i>L. lecanii</i>	I36	2000	Modrava, ČR	<i>Ips typographus</i> – lapač
<i>L. lecanii</i>	F6	2000	Nizozemí	Biopreparát Mycotal [®] 4
<i>L. lecanii</i>	C 1	2000	Nizozemí	Biopreparát Vertalec [®]
<i>L. lecanii</i>	P 1	1993	Prachatice, ČR	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>
<i>M. anisopliae</i>	M 063	2001	Pístina, JČ, ČR	<i>G. mellonella</i> (GBM) ⁵ , pšenice
<i>M. anisopliae</i>	M 065	2001	Pístina, JČ, ČR	<i>G. mellonella</i> (GBM), oves
<i>M. anisopliae</i>	M 066	2001	Pístina, JČ, ČR	<i>G. mellonella</i> (GBM), triticales
<i>M. anisopliae</i>	M 072	2001	Pístina, JČ, ČR	<i>G. mellonella</i> (GBM), oves
<i>M. anisopliae</i>	M 082	2001	Rodvínov, JČ, ČR	<i>G. mellonella</i> (GBM), žito

Beauveria bassiana

Entomopatogenní houba *B. bassiana* prezentovala v pokusech široce polyfágní druh, u kterého byla již dříve zaznamenána patogenita k roztočům. V pokusech byly testovány kmeny vybrané z mykologické sbírky KRV ZF JU v Českých Budějovicích⁶. Kmeny A25 a A38 jsou původem z České republiky, kmen A51 pochází ze sbírky Dr. Zimmermana (Darmstadt, SRN). V pokusech byl použit též komerční biopreparát na bázi houby *B. bassiana* (BOTANIGARD[®]). Přípravek BOTANIGARD[®] je registrován v USA a je doporučován pro biologickou ochranu u proti škůdcům rychlené zeleniny, včetně svilušky *T. urticae*.

Beauveria brongniartii

Entomopatogenní houba *B. brongniartii* představuje druh vázaný především na půdní prostředí. Použitý kmen A77 byl odizolován z lýkožrouta smrkového v Bulharsku a v současnosti je uložen v mykologické sbírce KRV ZF JU v Českých Budějovicích.

Lecanicillium lecanii

Entomopatogenní houba *L. lecanii* byla v pokusech zastoupena českými kmeny A45, I9, I24, I25, I26, I30, I34, I36 a P1, polským kmenem A47 a kmeny reizolovanými z komerčně dostupných biopreparátů VERTALEC[®] a MYCOTAL[®]. Biopreparát VERTALEC[®] (registrovaný firmou Kopert B.V., NL) je využíván v některých evropských zemích, Kanadě a Japonsku pro regulaci různých druhů mšic (např. *Myzus persicae* a *Aphis gossypii*). Přípravek MYCOTAL[®], který je registrován stejnou firmou, je určen pro regulaci populací molice skleníkové (*Trialeurodes vaporariorum*). V pokusech byly použity i „čisté“ monosporové izoláty z kmenů, na jejichž bázi jsou přípravky MYCOTAL[®] a VERTALEC[®] konstruovány.

⁴ V pokusech byly použity buď přímo komerčních šarže biopreparátů nebo kmeny neizolované z biopreparátů

⁵ GBM – Galleria Bait Method, odchyt pomocí živých pastí z půdního vzorku

⁶ KRV ZF JCU v Českých Budějovicích = katedra rostlinné výroby Zemědělské fakulty, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích

Metarhizium anisopliae

Všechny testované kmeny houby *M. anisopliae* – M063, M065, M066, M072 a M082 byly získány při průzkumu rozšíření entomopatogenních hub (Hornák 2004) a pocházejí z mykologické sbírky KRV ZF JU v Českých Budějovicích. V pokusech reprezentovaly druh, který je běžnou součástí půdního prostředí a není typickým zástupcem fyloplánu, který je přirozeným prostředím pro svilušku chmelovou.

Paecilomyces fumosoroseus

V pokusech bylo využito francouzských kmenů A48 a A66 a českých kmenů A102, I2, I4 a I10. Všechny uvedené kmeny jsou uloženy v mykologické sbírce KRV ZF JU v Českých Budějovicích. V experimentech byl dále použit též kmen PFR 97 Apopka (Apopka - oblastí na Floridě, kde byl kmen v roce 1987 izolován, referenční typový kmen je uložen v americké sbírce mikroorganismů pod označením ATCC 20874). Kmen PFR 97 je od roku 1994 využíván jako účinný agens biopreparátu PFR97TM 20%WDG a generického biopreparátu, který je v Evropě registrován pod obchodním názvem PREFERALTM. Oba biopreparáty obsahují 20% submerzní biomasy (blastospory) kmene PFR 97 ($2,0 \times 10^9$ CFU/g⁻¹) a 80% inertních přísad. Pro pokusy byl použit kmen PFR 97, který byl v roce 1993 poskytnut oddělení rostlinolékařství KRV ZF JU firmou Thermo Trilogy (dnes Certis USA) a od té doby je používán pro experimentální účely v rámci řady výzkumných, magisterských a doktorandských projektů.

4.2. Entomopatogenní houby - obecné metodické aspekty

Imobilizace hub do alginátových pelet

Na KRV ZF JU je pro dlouhodobé uchovávání kultur entomopatogenních hub využíván princip imobilizace čisté biomasy kultur entomopatogenních hub v alginátových peletách. Finální formulace (suché pelety) je konstruována na bázi sterilní směsi sestávající z čisté biomasy partikulárního kmene houby (konidie, blastospory, směs blastospor a mycelia...apod.), nutritivního aditiva (jemně mleté pšeničné otruby) a 2% roztoku Na-alginátu (sodná sůl kyseliny alginové, SIGMA). Sterilní směs je nakapávána do sterilního roztoku chloridu vápenatého (0,25M CaCl₂). Při kontaktu směsi s roztokem chloridu vápenatého se vytvářejí pravidelné kuličky, které se při pomalém míchání nechávají v tvrdícím roztoku po dobu 60-90 minut „vytvdřit“. Vytvrzené pelety jsou následně sušeny (aktivní proud vzduchu, při nižších teplotách) a suché pelety s biomasou partikulárního kmene jsou uloženy do plastových kontejnerů a dlouhodobě uchovávány při teplotách v rozmezí -20°C až -24 °C. Každý kmen je ve sbírce uložen dvojmo, ve dvou separovaných sterilních plastových kontejnerech, přičemž v každém kontejneru je 250-300 pelet. Jednotlivé položky uložené ve sbírce jsou evidovány pomocí jednoduchého databázového systému.

Aktivace kmenů entomopatogenních hub pro experimenty

Matečné kultury kmenů hub používaných v experimentech byly získávány pomocí standardního metodického postupu – aktivace kmenů imobilizovaných v alginátových peletách. Při tomto postupu byly suché pelety (cca 3-5 pelet) vyjmuty ze sbírky a umístěny na povrch sterilního 2% vodního agaru v plastových sterilních Petriho miskách (průměr 60 mm) a vlhké komůrky s peletami byly uloženy do termostatu (25°C). Pelety exponované vlhkému povrchu agaru postupně bobtnají, obrůstají myceliem a po 5-7 dnech lze pravidelně zaznamenat sporulaci kmene na vzdušném myceliu na povrchu pelety. Celý vývojový cyklus hub je realizován díky živinné složce, která je součástí pelet. Aktivovaný kmen byl z povrchu pelety přenášen sterilním inokulačním očkem a inokulován na povrch agarizované živné půdy ve sterilních Petriho miskách (průměr 90 mm). Pro

povrchové kultivace všech kmenů/druhů entomopatogenních hub použitých v experimentech byl používán výhradně bramboro-dextrózový agar (PDA).

Kultivace hub

V pokusech byly používány suspenze konidií získané z čistých kultur kultivovaných na povrchu umělého živného média (PDA), které bylo připraveno ze standardního polotovaru (DIFCO, 39 g/1000 ml⁻¹ destilované vody). Testované houby byly kultivovány převážně kultivovány formou celopovrchových kultur na PDA. Při inokulaci povrchu PDA ploten (cca 25 ml PDA/1 Petriho miska o průměru 90 mm) byla inokulační suspenze po povrchu živné půdy rozptýlena pomocí sterilních skleněných kuliček (0,5 ml suspenze/1 PDA plotna). Po inokulaci byly misky vloženy do plastického sáčku a uloženy do termostatu temperovaného na konstantní teplotu 24±1°C (fotoperioda 0/24) a kultury hub byly kultivovány po dobu 14 dnů.

Pro pokusy realizované ve sklenicích Jižní Morava a.s. byly entomopatogenní houby *L. lecanii* a *P. fumosoroseus* produkovány v submerzní kultuře. Pro submerzní kultivaci bylo použito standardní, tekuté, bramborovo-dextrózové živné médium (PDB, DIFCO). Pro kultivace byly použity skleněné baňky (1000 ml) do kterých bylo dodáno 450 ml tekutého živného média a 25 ml inokulační suspenze. Po inokulaci byly baňky umístěny na lineární třepačku a submerzní kultivace probíhala 5-6 dní (250 výkyvů/1 min, 24±1°C). Po ukončení cyklu kultivace byl stanoven titr blastospor v submerzní kultuře a kultura byla přelita do plastových kanystrů a zamrazena nebo odstředěna (4500 otáček/1 min, 15 min) a do použití uchovávána zamražená ve formě koncentrátu blastospor.

Příprava konidiové suspenze

Pro převážnou většinu pokusů byly používány přesně adjustované suspenze konidií jednotlivých kmenů entomopatogenních hub. Při přípravě suspenzí hub byl používán standardní postup, při kterém byla ze synchronizovaných kultur (celoplošná inokulace, 14 denní kultivace na povrchu agarizované živné půdy bez osvětlení při konstantní teplotě 24±1°C) získána nejprve základní suspenze, která byla následně upravena a použita pro experimenty. Základní suspenze byla získána přelitím povrchu synchronizovaných kultur sterilním roztokem (0,05% Tween® 80) a přelitím přes sterilní gázu do zkumavky nebo skleněné baňky. Po stanovení výchozího titru (= počet spor/1 ml základní suspenze) byla základní suspenze adekvátním ředěním (0,05% Tween® 80) upravena na standardní koncentraci (zpravidla 1,0 x 10⁷ spor/1 ml). Pro stanovení titru suspenzí byl používán hemocytometr (Neubauer Improved Chamber, Fisher). Stanovení titru spor bylo prováděno jak při odpočtu spor v základní suspenzi, tak i při ověření titru finální suspenze (suspenze adjustovaná pro potřeby pokusů) před vlastním použitím.

4.3. Pasážování vybraných kmenů entomopatogenních hub

V kontextu této doktorské práce se pod pojmem „pasážování“ rozumí opakovaný přenos konidií určitého kmene entomopatogenní houby v kontinuální řadě přes jeden druh přirozeného hostitele, umělé živné půdy nebo přirozeného substrátu. V rámci DP byly využity kmeny, které byly pasážovány přes vybraný sortiment hostitelských druhů (molice skleníková *Trialeurodes vaporariorum*, mšice broskvoňová - *Myzus persicae* a sviluška chmelová – *Tetranychus urticae*), umělou živnou půdu (PDA) a sterilní přirozený substrát (alginátové pelety s imobilizovaným živným zdrojem – sterilní pšeničné otruby). Při pasážování byly používány následující postupy:

1. *Kontinuální pasážování přes pupária molice skleníkové* – pupária molice skleníkové byla z listů hostitelských rostlin (fazol obecný) odebrána pomocí upravené jehly a umístěna na povrch sterilního podložního mikroskopického sklíčka do kapky suspenze výchozího kmene/druhu entomopatogenní houby (10 puparií/1 pasážovaný kmen); sklíčka byla vložena

do sterilní vlhké komůrky (Petriho miska s vlhkým filtračním papírem na dně) a na dobu 3-5 dnů umístěna do termostatu ($24\pm 1^\circ\text{C}$); v následné pasáži byly přenášeny kapky suspenze konidií z povrchu infikovaných puparií (pasáž N) na povrch nových mikroskopických sklíček a do každé kapky bylo umístěno zdravé puparium molice skleníkové (pasáž N+1).

2. *Kontinuální pasážování přes dospělé mšice broskvoňové a svilušky chmelové* – z děložních listů fazolu obecného byly vyříznuty listové disky, které byly umístěny do petriho misek naplněných buničitou vatou nasycenou vodou (4 listové disky/1 vlhká komůrka), na povrch disků byli přeneseni dospělci (5 dospělců/1 listový disk); v první pasáži byl (po přenesení na listový disk) každý dospělec mšice broskvoňové resp. svilušky chmelové kontaminován kapkou suspenze (dotykem inokulační kličkou na povrchu těla), v následných pasážích byla kontaminace povrchu živých dospělců zajištěna (před umístěním na nový listový disk) přímým dotykem dospělců zdravých s dospělci infikovanými; pasáže probíhaly zpravidla v intervalu 5-7 dní (inkubace v klimaboxu temperovaném na $24\pm 1^\circ\text{C}$ a při fotoperiodě 16/8 hod).
3. *Kontinuální pasážování přes standardní živnou půdu* - konidie pasážovaného kmene byly ze sporulující středové kultury narostlé na povrchu agarizované živné půdy (pasáž N) přenášeny pomocí sterilního inokulačního očka přímo na střed nové agarizované živné půdy (následující pasáž N+1); v této variantě bylo pro pasážování použito standardní živné médium - PDA a pasáže byly realizovány zpravidla v 7 denních intervalech (kultivace při $24\pm 1^\circ\text{C}$, fotoperioda 0/24).
4. *Kontinuální pasážování přes přirozený substrát* – v této variantě pasážování byly využity sterilní pšeničné otruby imobilizované do alginátových pelet (postup viz výše) a při pasážování byl použit postup shodný s postupem popsáním (viz výše) u pasážování přes puparia molice skleníkové.

Pasážování monosporových izolátů kmene PFR 97 entomopatogenní houby Paecilomyces fumosoroseus

Matečný kmen entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* - PFR 97 byl pro sbírku ZF JU v Českých Budějovicích získán v roce 1992 a ve formě alginátových pelet uložen pod označením PFR 97 2B. Z tohoto kmene bylo pomocí zředovací metody (CFU – colony forming units) odizolováno celkem 200 náhodně vybraných monosporových izolátů. V této sadě monosporových izolátů byla zaznamenána pžitost dvou morfotypů vyskytujících se přibližně ve stejné frekvenci:

- a) Sporulující morfotyp (výrazně větší produkce konidií, slabší růst mycelia);
- b) Myceliální morfotyp (výrazný růst mycelia, slabší sporulace).

Všechny vybrané monosporové izoláty byly očíslovány (1-200) a z daného souboru monosporových izolátů byly vybrány izoláty 172 (reprezentující sporulující morfotyp) a 173 (reprezentující myceliální morfotyp). Oba vybrané reprezentativní monosporové izoláty byly kontinuálně pasážovány v následujících modelových systémech:

1. PDA – umělá živná půda, definovaný substrát, saprotrofní vývoj patogena
2. Pšeničné otruby – nedefinovaný přirozený substrát, saprofytický vývoj patogena
3. Molice skleníková – přirozený hostitel, velmi vhodný hostitel, parazitický vývoj patogena,
4. Mšice broskvoňová – přirozený hostitel, méně vhodný hostitel, parazitický vývoj patogena
5. Sviluška chmelová – přirozený hostitel, příležitostný hostitel, parazitický vývoj patogena

Oba vybrané monosporové izoláty kmene PFR 97 byly kontinuálně pasážovány v nepřetržité řadě 50 pasáží. Po ukončení pasážování byly získány čisté kultury, které byly uloženy do sbírky a vybrané kmeny (viz následující tabulka) byly použity v samostatné sérii pokusů.

Tab. 11. Popis a označení pasáží kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* používaných v testech

Označení	Základní charakteristika	Pasážování
PFR 97 2B	Sbírkový kmen	původní (referenční) kmen
172	Monosporový izolát - 172	výchozí izolát , nepasážovaný
173	Monosporový izolát - 173	výchozí izolát, nepasážovaný
H5	Monosporový izolát 172	pšeničné otruby – 50 x
H10	Monosporový izolát 172	<i>T. vaporariorum</i> – 50 x
H15	Monosporový izolát 172	<i>Myzus persicae</i> – 50 x
H20	Monosporový izolát 172	<i>Tetranychus urticae</i> – 50 x
H25	Monosporový izolát 172	PDA – 50 x
H40	Monosporový izolát 173	<i>Myzus persicae</i> – 50 x
H45	Monosporový izolát 173	<i>Tetranychus urticae</i> – 50 x

Pasážování kmene P1 houby Lecanicillium lecanii

V pokusech byly použity sbírkové kmeny a izoláty, které byly získány z původního kmene P1 odizolovaného v roce 1993 z dospělců molice skleníkové infikovaných přirozeně se vyskytujícím kmenem *L. lecanii*. Kmen P1 byl odchycen v průběhu spontánní epizootie v populacích molice skleníkové na okrasných rostlinách ve sklenících komunálního podniku v Prachaticích. Kmen P1 byl následně kontinuálně pasážován v různých systémech přes vybrané druhy hostitelů a definovaný substrát (PDA).

Tab. 12. Pasáže kmene P1 houby *Lecanicillium lecanii* použité v experimentech

OZNAČENÍ	Systém pasážování
102	<i>T. vaporariorum</i> (200 x) → <i>T. urticae</i> (10 x)
103	<i>T. vaporariorum</i> (200 x) → <i>T. vaporariorum</i> (10 x)
106	<i>T. vaporariorum</i> (200 x) → PDA (20 x)
111	PDA (150 x)
112	<i>T. vaporariorum</i> (200 x) → <i>T. vaporariorum</i> (20 x)
113	<i>M. persicae</i> (150 x) → PDA (150 x)

4.4. Standardní laboratorní biotest na dospělých svilušky chmelové *T. urticae*

Základní akaropatogenní charakteristiky vybraných kmenů entomopatogenních hub byly stanoveny pomocí standardních laboratorních biotestů využívajících populace svilušky chmelové synchronizované výběrem (dospělci – samičky) nebo časově omezeným kladením (vejčka).

Populace svilušky chmelové Tetranychus urticae

V pokusech byla používána sviluška chmelová *T. urticae* z kontinuálních chovů udržovaných na KRV ZF JU. Původní chov byl založen z populace získané v roce 1999 z chovu udržovaného na Entomologickém ústavu AV ČR v Českých Budějovicích. Sviluška chmelová byla

chována na rostlinách fazolu obecného (*Phaseolus vulgaris*, odrůda Aidagold). Rostliny pro chov byly předpěstovávány ve standardním pěstebním substrátu, individuálně v plastových kontejnerech. Před přemístěním do chovu byly rostlinám vyštipovány pravé listy a do chovu byly umisťovány pouze rostliny s dobře vyvinutými děložními listy. Rostliny v plastových kontejnerech byly do chovu umístěny v plastové misce s vodou, aby byla znemožněna migrace svilušek přes povrch půdy. Migrace mezi rostlinami probíhala přes vzájemně se dotýkající listy. Do chovu byly pravidelně přidávány nové živné rostliny, s cílem zajistit požadovanou abundanci populace svilušky chmelové, tj. četnost na úrovni, při které nejsou rostliny úplně zničeny nebo pokryté „pavučinou“. Chov byl umístěn v klimatizované místnosti při teplotě 23 – 25 °C a fotoperiodě 16/8.

Rostlinný materiál

V pokusech byly použity rostliny fazolu obecného (*Phaseolus vulgaris*, odrůda Aidagold, Semo Smržice) Semena fazolu obecného byla předklíčována na vlhké buničité vatě v uzavřené plastové nádobě. Předklíčené fazole byly přesázeny do květníků (průměr 90 mm). Pro pěstování byl používán komerčně prodávaný zahradnický substrát B, který byl nejprve sterilován při 120°C po dobu 4 hodin. Ve stádiu děložních lístků byl rostlinám odstraněn vegetační vrchol. Rostliny byly pěstovány v klimatizované místnosti při teplotě 21 °C a fotoperiodě 12/12.



Metodika standardního biotestu na dospělých a hodnocení

Pro monitorování interakčního systému sviluška chmelová – entomopatogenní houby bylo využito standardního laboratorního biotestu s využitím listových terčů. Z děložních listů hostitelské rostliny *P. vulgaris* byly vyříznuty listové disky o průměru 2,5 cm, které byly ošetřeny ponořovací metodou (DIP test). Jako kontrolní varianta byla využívána destilovaná voda a přidávkem detergentu (0,05% Tween 80), pokusné varianty představovala standardní suspenze konidií ($1,0 \times 10^7$ konidií/1 ml) vybraných druhů entomopatogenních hub. Ošetřené disky byly umístěny do uzavíratelných plastových misek na povrch ovlhčené buničiny. Po oschnutí bylo na povrch každého disku přeneseno 5 jedinců svilušky *T. urticae*. Jedna pokusná varianta tak reprezentovala 16 terčů (4 x 4 v 1 misce). Uzavřené misky byly umístěny do klimaboxu (25°C, fotoperioda 16/8). Hodnocení bylo prováděno za použití binokulární lupy po 24, 48, 72, 96 a 144 hodinách. Při hodnocení byl každému jedinci přidělen index odpovídající stupni vývoje patogena (viz následující tabulka) a celkový stav pokusné populace svilušky chmelové byl následně stanoven pomocí souhrnného indexu stavu populace (ISP) pro každou pokusnou variantu a den samostatně.

Při vyhodnocování bylo možno získat data pro stanovení struktury populace: indexy 0,00 a 0,50 reprezentují živé jedince; index $\geq 1,00$ dospělé mrtvé, bez viditelných projevů infekce (myceliální vlákna a mycelium na povrchu těla hostitelů); indexy $\geq 1,50$ a více představují jedince s viditelnými projevy infekce (dále označované jako „infikovaní“).

Významným parametrem akaropatogenní účinnosti byla doba, za kterou bylo dosaženo průměrného ISP = 1,50. Tento parametr představuje základní charakteristiku akaropatogenní účinnosti kmene a vyjadřuje (v hodinách), kdy je ve sledované populaci dosažen stav odpovídající viditelným projevům infekce, což v kategorii „mortalita“ zřetelně odděluje mortalitu v obecném smyslu (mrtví jedinci) od mortality prokazatelně indukované patogenem (infikovaní jedinci).

Tab. 13. Index vývoje entomopatogenních hub na dospělých svlušky chmelové

Index	Hodnotící kritérium - symptomy
0,0	zdravý pohyblivý dospělec
0,5	morfologické změny – omezená, snížená pohyblivost; barevné změny
1,0	mrtvý dospělec, růst patogena na povrchu těla není zřejmý
1,5	počátek růstu patogena na povrchu hostitele -izolované hyfy, řídké mycelium
2,0	intenzivní růst mycelia - povrch hostitele porostlý myceliem
2,5	počátek sporulace - na myceliu jsou přítomny konidiofory a individuální konidie
3,0	plná sporulace - kultura na povrchu hostitele zřetelně sporuluje

4.5. Standardní laboratorní biotest na vajíčkách svlušky chmelové

Při sledování vlivu entomopatogenních hub na vajíčka svlušky *T. urticae* bylo využito standardního laboratorního biotestu, který umožnil vyhodnotit akaropatogenní účinek entomopatogenních hub a jejich vliv na vývoj a stav populace svlušky chmelové věkově synchronizované od stádia vajíčka. Z děložních listů hostitelské rostliny *Phaseolus vulgaris* byly vyříznuty listové disky o průměru 2,5 cm, které byly přeneseny na povrch ovlhčeného filtračního papíru položeného na dno uzavíratelných plastových misek. Na každý terčík bylo umístěno 5 samic svlušky *T. urticae*, které byly na povrchu listových disků ponechány po dobu 16-24 hodin. Po vymezené době byly samičky z povrchů disků odstraněny a disky s vajíčky byly ošetřeny ponořovací metodou (DIP test). Jako kontrolní varianta byla využívána destilovaná voda s přísadkou detergentu (0,05% Tween® 80), pokusné varianty představovala standardní suspenze konidií ($1,0 \times 10^7$ konidií/1 ml) vybraných kmenů hub.

Ošetřené disky byly umístěny do plastových Petriho misek na povrch 1% vodního agaru. Do každé misky byly přeneseny 4 terčíky, jednu pokusnou variantu představovaly 4 misky (16 terčíků). Po oschnutí povrchu disků byly misky uzavřeny a umístěny do klimaboxu (25°C, fotoperioda 16/8). Listové terčíky přilnuly k povrchu 1% vodního agaru svrchní stranou a po celou dobu trvání testu byly otočeny touto stranou vzhůru (přirozená expozice listů, současně preferováno svluškou *T. urticae*). Hodnocení probíhalo způsobem obdobným jako v případě biotestu na dospělých. Hodnocení bylo prováděno po 72 a 144 hodinách s využitím stereoskopického



Pokusná jednotka - listové terčíky na povrchu 2% agaru.

mikroskopu. Nejprve byl spočítán počet vajíček na terčících a každé vajíčko bylo ohodnoceno odpovídajícím indexem.

Hodnotící stupnice umožňuje oddělit vajíčka živá (indexy 0,00 a 0,50) od mrtvých (index 1,00 a více). Na povrchu mrtvých vajíček je dále možno sledovat vývoj patogena, odpovídající saprotrofní fázi vývoje hub na hostiteli (index 1,50 – 3,00). Tyto indexy odpovídají zjevně patrné infekci hostitelů (dále označeno jako „infikovaní jedinci“)

Pro vyjádření stavu populace bylo využito průměrného indexu stavu populace (ISP) se směrodatnou odchylkou výběru. Dále byla stanovena struktura populace svlušky *T. urticae* po

ošetření testovaným kmenem houby formou procentuálního zastoupení živých (indexy 0,00 a 0,50), mrtvých (1,00) a infikovaných jedinců (1,50 a více). Při hodnocení vybraných kmenů jednotlivých entomopatogenních hub byla také stanovena celková mortalita vajíček, která byla následně použita pro srovnání ovicidní účinnosti.

Tab. 14. Indexová stupnice hodnocení akaropatogenního účinku a vlivu entomopatogenních hub na vývoje vajíček svilušky chmelové

Index	Hodnotící kritérium - symptomy
0,00	Zdravé – vajíčka bez viditelných změn (barva, tvar, povrch, lesk)
0,50	Pozměněné – na vajíčcích patrné změny (barva, povrch, lesk..)
1,00	Mrtvé – na vajíčcích zřetelné atypické změny (barva, tvar, povrch lesk), nicméně na povrchu není zaznamenána přítomnost patogena
1,50	Počátek infekce – na povrchu vajíčka zaznamenán růst mycelia (řidké mycelium, včetně izolovaných myceliálních vláken)
2,00	Silná infekce – vajíčko porostlé hustým myceliem (větší část vajíčka porostlé)
2,50	Počátek sporulace - na myceliu jsou přítomny konidiofory a individuální konidie
3,00	Plná sporulace - kultura na povrchu vajíčka zřetelně sporuluje

4.6. Kompatibilita entomopatogenních hub s vybranými pesticidy

Použité přípravky a aditiva

V pokusech byly použity následující pesticidní přípravky a aditiva:

- TWEEN[®] 80 - a.i. polyethylen glykol sorbitan; smáčedlo; používán pro zvýšení smáčlivosti suspenzí hub a biopreparátů, ve všech pokusech byl použit 0,05% roztok.
- TRIACT[™]90 EC - a.i. neem-oil; 90 % aktivní složky a 10 % inertních přísad; emulzní koncentrát; aplikace formou vodní emulze, 1-2 ml/100 ml vody (tj. 1-2%); registrován jako insekticid (např. molice bavlníková), akaricid (sviluška chmelová) a deklarován i supresivní účinek padlí okurkové; Thermo Trilogy (Certis) USA.
- OMITE 50 WP - účinná látka propargite; registrován proti sviluškám, hálčivcům a vlnovníkům, v koncentraci 0,05 – 0,15% dle ošetřované plodiny; použitelný v kombinaci s *Typhlodromus pyri*; Uniroyal Chemicals Company Ltd.

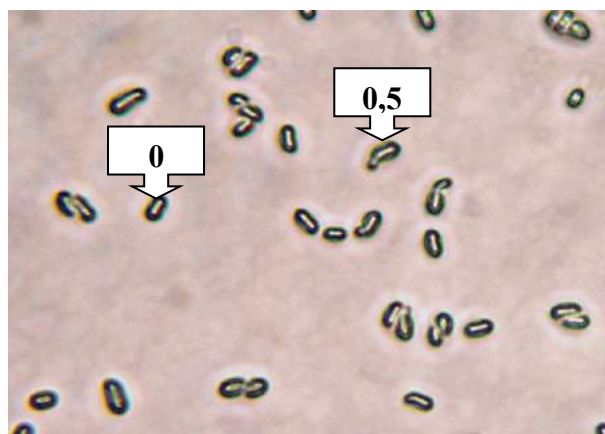
Adjustace testovaných přípravků

Přípravky TRIACT[™]90 EC (přípravek na bázi „neem oil“) a OMITE 50 WP byly v pokusech adjustovány na požadovanou koncentraci pomocí destilované vody s přídavkem detergentu (0,05% Tween[®] 80). V pokusech byla použita koncentrace „neem oil“ 0,1% a 0,05% a OMITE 50 WP 0,01% a 0,005%. Při testování kompatibility přípravků s vybranými kmeny entomopatogenních hub byla základní suspenze jednotlivých kmenů hub nejprve adjustována na titer 2,00 x 10⁷/1 ml, přípravky TRIACT[™]90 EC a OMITE 50 WP byly naředěny. Po vzájemném smísení v poměru 1:1 byla získána suspenze o standardním titru konidií 1,00 x 10⁷/1 ml a požadované koncentraci použitých přípravků. Jako kontrolní varianta byl použit roztok destilované vody s přídavkem detergentu (0,05% Tween[®] 80) pro docílení lepší smáčlivosti listových disků.

Standardní test klíčivosti a vývoje entomopatogenních hub

Ve studii zaměřené na hodnocení vlivu vybraných pesticidů na akaropatogenní účinek entomopatogenních hub byl kromě standardních *in vivo* biotestů na vajíčkách a dospělých svlušky chmelové používán též standardní laboratorní test hodnotící klíčivost a následný vývoj patogena v podmínkách *in vitro* (Landa *et al.* 1994). Při tomto testu byla konidiová suspenze nanášena laboratorní kličkou na povrch tenké agarové vrstvy (2% vodní agar) přelité na povrch sterilního podložního mikroskopického sklička. Po zaschnutí byla sklička vložena do vlhké komůrky (sterilní Petriho miska s vlhkým filtračním papírem na dně) a následně do plastického sáčku. Sáček byl uložen do termostatu vytemperovaného na teplotu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (fotoperioda 0/24). Vyhodnocení bylo prováděno pomocí světelného mikroskopu v pravidelných intervalech (24, 48, 72 hod resp. do plné sporulace). V zónách kapek byl hodnocen vývoj konidií v náhodně vybraných zorných polích mikroskopu. Hodnoceno bylo minimálně 100 konidií ze vzorku, přičemž ke každé konidii byl přiřazen příslušný index IVP (stupnice od 0,00 do 3,00 v intervalu 0,50), který specifikuje stupeň naklíčení a vývoj patogena. Po zaznamenání individuálních indexů hodnocené populace byl stanoven průměrný IVP *in vitro* se směrodatnou odchylkou výběru. Klíčivost (%) byla stanovena z podílu konidií s IVP *in vitro* 0,00 (neklíčící) a všech ostatních indexů (IVP 0,50 a vyšší) (viz též tabulka 15 a následující fotodokumentace).

Obr. 2. Fotodokumentace k hodnotící indexové stupnici standardního testu klíčivosti a vývoje entomopatogenních hub v podmínkách *in vitro* kultivace



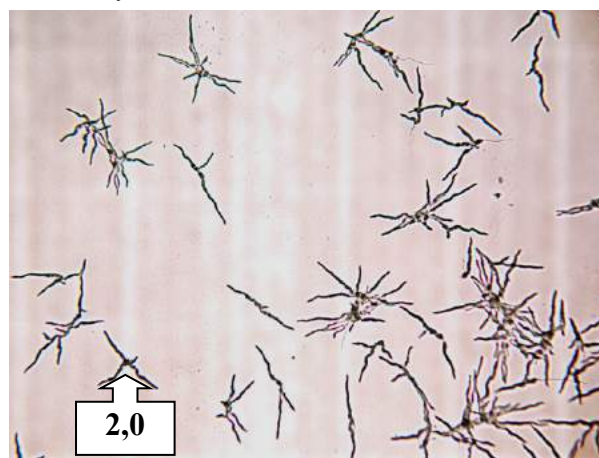
IVP 0,5 – index je přidělován v případě, kdy na konidii jsou zřejmé tvarové změny, zejména pak zřetelný primární klíček (populace konidií *P. fumosoroseus*)



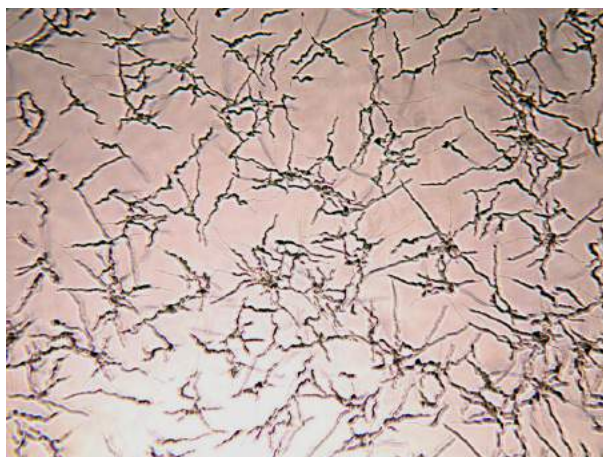
IVP 1,0 - index je přidělován v případě, že klíček dosahuje velikosti blízké velikosti matečné konidie populace konidií *P. fumosoroseus*



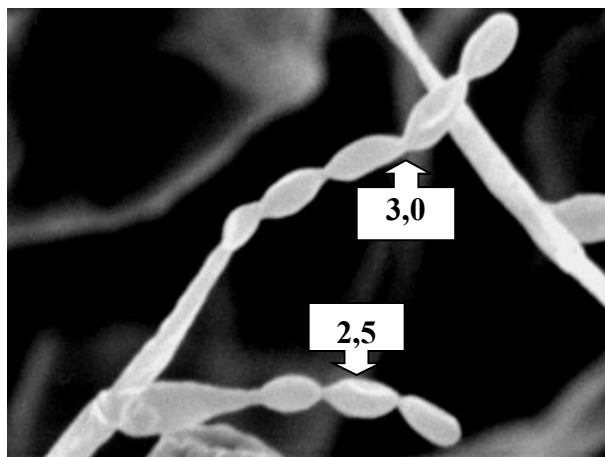
IVP 1,5 - index je přidělován v případě, že klíček dosahuje velikosti 2-5 x větší než matečná konidie, případně na konidii jsou přítomny 2 klíčky (populace konidií *B. bassiana* vykazující IVP 1,0-1,5)



IVP 2,0 - index je přidělován v případě, že jsou vytvořeny 2 a více dlouhých klíčků, resp. je již vytvořena primární kolonie (populace konidií *B. bassiana*, IVP 1,5 – 2,0)



GI 2,0 - index je přidělován i v případě, že hodnocená populace má již charakter myceliální sítě (populace konidií *B. bassiana* vykazující IVP - 2,0)



IVP 2,5 resp. 3,0 – *P. fumosoroseus*, IVP 2,5 = počátek sporulace, 1-4 konidie v řetízku, IVP 3,0 – plná sporulace, 5 a více konidií v řetízku

Tab. 15. Hodnotící stupnice testu IVP používaná při testu kompatibility hub a pesticidů

IVP <i>in vitro</i>	Charakteristika
0,00	na konidii nejsou patrné žádné morfologické změny
0,50	konidie je zřetelně protáhlejší a jednostranný klíček je v poměru přibližně 1:0,5
1,00	velikost klíčku je v poměru 1:1 k velikosti matečné konidie
1,50	klíček je 2-3x delší než matečná konidie; na matečné konidii jsou zřejmě dva kratší klíčky
2,00	<ul style="list-style-type: none"> - klíček je více než 3x delší než mateční konidie, nebo - na jednom z klíčků je zřetelné sekundární větvení, nebo - na matečné konidii jsou dva dlouhé klíčky
2,50	počátek sporulace (hodnoceno v několika částech zorného pole, sporadický výskyt struktur spojených se sporulací)
3,00	plná sporulace (hodnoceno v několika částech zorného pole, pravidelný výskyt struktur spojených se sporulací)

4.7. Testování akaropatogenních účinků biopreparátů – skleníkové pokusy

V pokusech byly porovnávány akaropatogenní účinky komerčních šarží biopreparátů na bázi entomopatogenních hub, které jsou v současnosti registrovány pro účely biologické ochrany rychlené zeleniny a okrasných květin. Všechny biopreparáty byly aplikovány v koncentraci doporučené výrobcem pro ochranu rychlených okurek proti molici skleníkové nebo proti mšicím (1g resp. 1 ml/1000 ml). V této studii byly použity biopreparáty uvedené v následující tabulce.

Tab. 16. Obecná charakteristika biopreparátů použitých v pokusech.

Komerční název	Houba/kmen	Charakteristika	Výrobce
PFR 97™ 20% WDG	<i>P. fumosoroseus</i> / PFR 97 Apopka	1.0 x 10 ⁹ spor/1g	Certis USA
MYCOTAL®	<i>L. lecanii</i>	1.0 x 10 ¹⁰ spor/1g	Koppert N.V., NL
VERTALEC®	<i>L. lecanii</i>	20% <i>L. lecanii</i> v/v	Koppert N.V., NL
BOTANI GARD® ES	<i>B. bassiana</i> / kmen GHA	2,3 x 10 ¹⁰ spor/1 g	Mycotech USA

Rostliny fazolu obecného byly pěstovány individuálně v plastových kontejnerech v pěstebním substrátu. Rostliny byly předpěstovány do fáze plně vyvinutých děložních listů. Na každý list byly pomocí štětečku přeneseny samičky svilušky chmelové (5 samiček/1 děložní list, tj. 10 samiček/1 rostlina) z rostlin odebraných v chovu. Po 24 hodinách byly rostliny ošetřeny suspenzí spor, kontrolní rostliny byly ošetřeny 0,05% roztokem Tween 80. Pro ošetření rostlin byl použit ruční atomizér, suspenze byly aplikovány do úplného smočení rostlin. Po ošetření byly rostliny umístěny na stoly ve skleníku. Každá rostlina byla postavena do misky na obrácený květník. Pokus byl organizován formou čtverců (5 x 5 rostlin), přičemž v každé řadě se postupně střídaly rostliny v posloupnosti „kontrola – Mycotal – Botanigard – Vertalec – PFR 97 WDG“. Rostliny byly rozestaveny tak, aby se vzájemně nedotýkaly. Rostliny byly po celou dobu pokusu pravidelně zalévány a 2x v průběhu trvání pokusu byly všem rostlinám zaštipnuty nově se tvořící pravé listy (po odštipnutí byly listy položeny na rostliny ze kterých byly odštipnuty).

Akaropatogenní účinek biopreparátů na bázi mitosporických hub byl hodnocen po 14 dnech. Při hodnocení byly listy nastříhány na proužky a pomocí binokulárního mikroskopu byli individuálně hodnoceni všichni jedinci. Při hodnocení byla odlišována vajíčka a pohyblivá stádia (nymfy a dospělci) a v rámci každé z uvedených skupin byl zaznamenán stav v kategoriích „živý – mrtvý – infikovaný“.

4.8. Introdukce entomopatogenních hub do populace svilušky chmelové v porostech rychlených okurek – provozní skleníky

V pokusech zaměřených na introdukci houby *P. fumosoroseus* byla použita suspenze blastospor vyprodukovaných pomocí submerzní kultivace (PDB, lineární laboratorní třepačka). Ve sklenících Jižní Morava a.s. (Tvrdonice) byla suspenze blastospor aplikována formou postřiku (zádový postřikovač) na rostliny okurky seté. V pokuse byl použit kmen PFR 97 – H 20 (kmen pasážovaný 50x přes svilušku chmelovou). Tento kmen houby *P. fumosoroseus* byl aplikován samostatně a v kombinaci („tank-mix“) s přírodním insekticidem na bázi „neem oil“. Po 14 dnech byly z porostu okurek ve skleníku odebrány listy z jednotlivých variant a následně byly přeneseny do laboratorních podmínek, kde byly vloženy do vlhké komůrky. Listy v plastových krabicích byly inkubovány po dobu 7 dnů v klimatizované skříni (24±1°C, fotoperioda 16/8). Při vlastním hodnocení byly listy nastříhány na úzké proužky a pomocí binokulárního mikroskopu byl proveden odpočet všech jedinců na celém listu. Tento způsob hodnocení umožnil prakticky stejně detailní a přesné hodnocení stavu každého jedince, včetně rozlišování na úrovni kategorií živá, mrtvá a infikovaná vajíčka, nymfy nebo dospělci. Zvláštní důraz byl kladen na odlišení mrtvých a zjevně infikovaných jedinců. Při hodnocení byl zaznamenán statut každého jedince na listu v dané variantě. Výsledky byly podrobně statisticky analyzovány.

V rámci tohoto pokusu byly na některých rostlinách ošetřených PFR – H20 resp. kombinací PFR-H20 s „neem oil“ náhodně vybrané listy překryty po dobu 3 dnů igelitovým sáčkem. Cílem překrytí listů sáčky bylo zajistit vysokou vlhkost v prvních třech dnech po aplikaci patogena. Po 3 dnech byly sáčky odstraněny a po dalších 11 dnech byly listy z pokusných rostlin ostříženy, každý list byl označen (varianta, poloha listu apod.). Stav populace svilušky chmelové byl hodnocen ve stejné době a stejným způsobem jako v předchozí variantě.

4.9. Statistické metody a ostatní metodické aspekty

Příprava vzorků pro elektronovou mikroskopii

Vzorky (např. terčíky listů) byly pomocí speciální oboustranné lepicí pásky přilepeny na aluminiový disk, disky se vzorky byly vloženy do exsikátoru s vyžíhaným silikagelem na dně a po uzavření byl exsikátor se vzorky vložen na dobu 14 až 21 dnů do chladničky do teploty 4±1°C. Po

předběžném sušení byly vzorky předány do laboratoře elektronové mikroskopie Parazitologického ústavu AV ČR v Českých Budějovicích k dalšímu zpracování. Vzorky byly nejprve fixovány parami osmia (krystalky osmia byly vloženy přímo do exsikátoru se vzorky, fixace parami osmia probíhala v chladničce při teplotě $4\pm 1^\circ\text{C}$ po dobu 24 hodin). Po fixaci následovalo promytí fosforečným pufrem s 0,54 % glukózou. V konečné fázi byly vzorky pokovovány metodou „iontového naprašování,“ (ion sputtering), kdy pomocí elektrického napětí magnetickým polem vzniká výboj, ionizované molekuly plynu (vzácné plyny - argon či zbytkové plyny ne úplně dokonalého vakua) vyrážejí atomy kovu (obvykle zlata) ze širokého kovového terče. Kov se přitom rozptýluje všemi směry a částičky kovu kondenzují na preparátu. V této fázi přípravy vzorků bylo použito zařízení Polaron E 5100, které jako ionizovaný plyn využívá Argon a objekty jsou pokoveny vrstvičkou zlata o síle 2 nm. Fotodokumentace byla vytvořena pomocí skenovacího elektronového mikroskopu JEOL 6300 (LEM PAÚ AV ČR v Českých Budějovicích). Fotodokumentace byla digitalizována a archivována ve formátu *.jpg

Digitalizace fotodokumentace

Pro měření a záznam teplot a RH (%) byly použity jak standardní měřicí pomůcky, tak i digitální záznamníky (datalogger TinyTalk II.) umožňující průběžné měření v intervalech nastavených pomocí ovládacího programu. Pro všechny pokusy byl použit standardní interval záznamu (teplot $^\circ\text{C}$ a RH %) 15 minut (paměťová kapacita použitých digitálních záznamníků – 1500 záznamů). Při vyhodnocování pokusů a tvorbě originální digitalizované fotodokumentace bylo použito zařízení, které je k dispozici KRV ZF JU (světelný mikroskop Nikon, binokulární mikroskop Zeiss, digitální fotoaparáty Olympus Camedia E-20 a Canon EOS 10D, barevná LCD kamera Sony propojitelná se světelným mikroskopem nebo stereomikroskopem, barevným monitorem a pomocí programu Adobe Photoshop i s PC, s možností vytvářet digitální videozáznam nebo jednotlivé obrázky). Při úpravě a archivaci digitálních obrázků byly standardně využívány programy Adobe Photoshop, ACDC a formát JPG. Převážná většina obrázků vybraných a zařazených do doktorské práce jsou originály, výjimečně byly použity i obrázky z archivu oddělení rostlinolékařství KRV ZF JU.

Statistické hodnocení

Pro stanovení % mortality byla provedena arcsin transformace dat [$\arcsin\sqrt{\text{počet všech mrtvých a infikovaných dospělců svilušky resp. vajíček/celkový počet všech dospělců svilušky resp. vajíček}}$]. Průměr transformovaných dat je zahrnut v tabulkách jako průměr \pm SEM. Pro následné statistické hodnocení byl použit program StatisticaTM version 6,0 (StatSoft, Inc., 2001). Základem pro vyhodnocení dat byla jedno-faktorová analýza rozptylu („Analysis of Variance“, ANOVA). Průkaznost diferencí mezi jednotlivými hodnotami různých úrovní byla testována prostřednictvím „Post-hoc comparasion“ (Tukey HSD test, $p\leq 0,05$).

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST A VÝSLEDKY

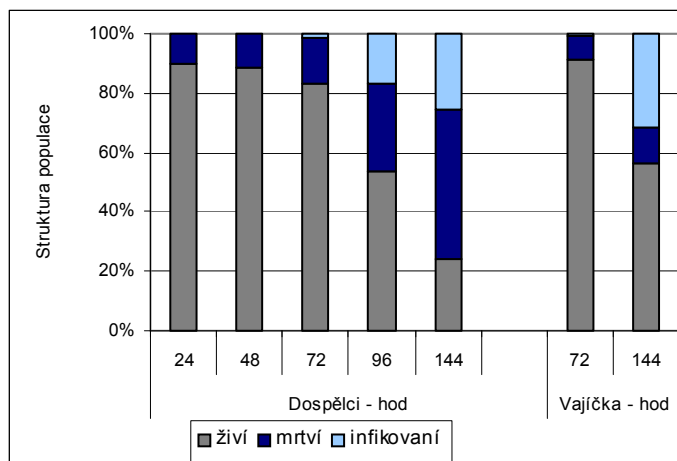
5.1. Polyfaktoriální charakterizace vitality a akaropatogenní účinnosti vybraných kmenů entomopatogenních hub

Pomocí standardních laboratorních testů byla stanovována vitalita konidií (klíčivost %) a parametrizován vývoj vybraných kmenů hub *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *L. lecanii*, *M. anisopliae* a *P. fumosoroseus* v podmínkách *in vitro* (průměrný IVP). V podmínkách *in vivo* byly sledovány změny ve struktuře populací dospělců svilušky *T. urticae* ošetřených houbami *B. bassiana*, *L. lecanii*, *M. anisopliae* a *P. fumosoroseus* a pomocí trendu vývoje průměrných hodnot ISP odečtených v jednotlivých dnech byla pro populaci dospělců stanovena doba (hod) nutná pro dosažení průměrné hodnoty ISP 1,5. Pomocí standardního laboratorního biotestu na vajíčkách svilušky *T. urticae* byl hodnocen ovicidní účinek a vývoj různých kmenů vybraných druhů entomopatogenních hub na vajíčkách svilušky chmelové. V rámci standardních laboratorních *in vivo* biotestů byla hodnocena i rychlost vývoje entomopatogenních hub na dospělcích a vajíčkách svilušky *T. urticae*. V průběhu pokusů byl zvláště zaznamenáván výskyt jedinců se zřetelným projevem infekce. V rámci této charakterizace byly detailně odlišovány fáze porůstání povrchu těla hostitele myceliem (indexy 1,5 a 2,0) a sporulace (indexy 2,5 a 3,0). Výsledky byly sumarizovány formou souhrnných charakteristik jednotlivých kmenů.

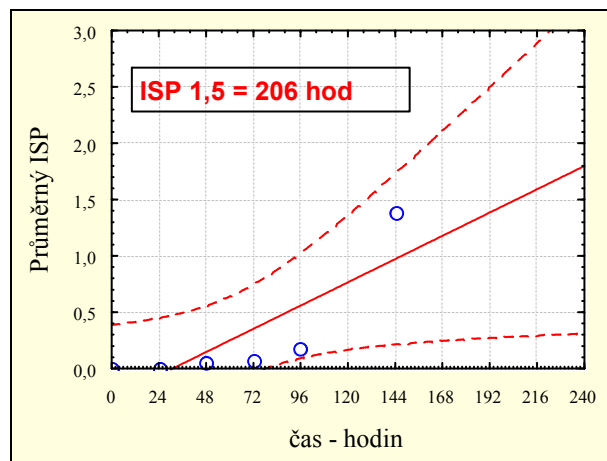
5.1.1. Polyfaktoriální charakterizace vybraných kmenů entomopatogenních hub *Beauveria bassiana* a *B. brongniartii*

¹Char. 1. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *B. bassiana* kmen A25

Struktura populace svilušky *T. urticae* ošetřené houbou *B. bassiana* kmen A25



Trend vývoje průměrného ISP - *B. bassiana* kmen A25 (dospělci; $A25 = -0,2671 + 0,0086 \cdot x$)



Klíčivost (24 hod) 98 %
IVP *in vitro* (24 hod) $1,92 \pm 0,3102$

ISP vajíčka (72 hod) $0,09 \pm 0,3042$
ISP vajíčka (144 hod) $0,77 \pm 0,9484$

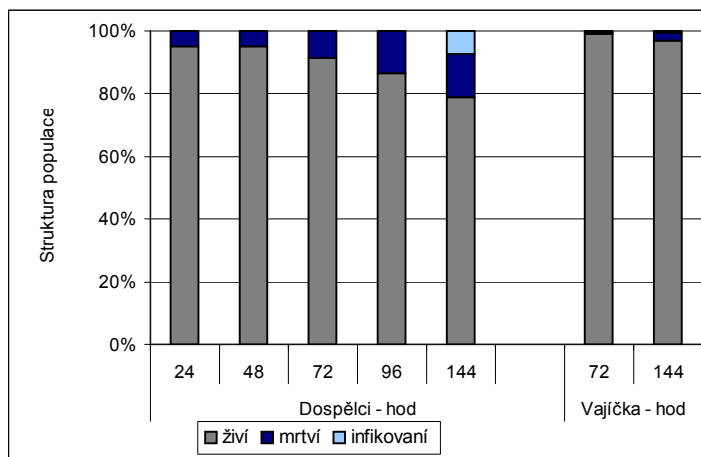
Při sledování vlivu houby *B. bassiana* kmen A25 na dospělé svilušky chmelové byli po 48 hodinách trvání testu zaznamenáni první mrtví jedinci (3,19%), dospělec se zřetelným projevem infekce (index 1,5) byl sledován po 72 hodinách. Po 144 hodinách byla pozorována sporulace na těle 14,98% dospělců (index 3,0).

¹ Char. = charakteristika, toto označení bylo použito pro odlišení od ostatních grafů a tabulek

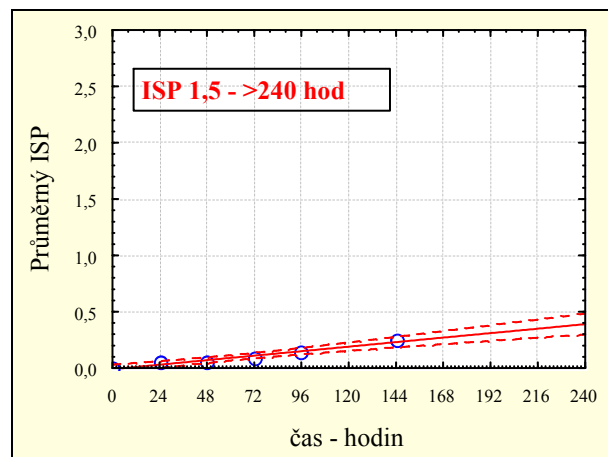
Při hodnocení vývoje houby *B. bassiana* kmen A25 na vajíčcích svlušky bylo při prvním hodnocení zaznamenáno 0,94% infikovaných jedinců (index 1,5). V době ukončení testu byla sporulace zaznamenána u 10,37% vajíček (ohodnocena indexy 2,5 a 3,0).

Char. 2. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *B. bassiana* kmen A38

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *B. bassiana* kmen A38



Trend vývoje průměrného ISP - *B. bassiana* kmen A38 (dospělci; A38 = $-0,01+0,0017*x$)



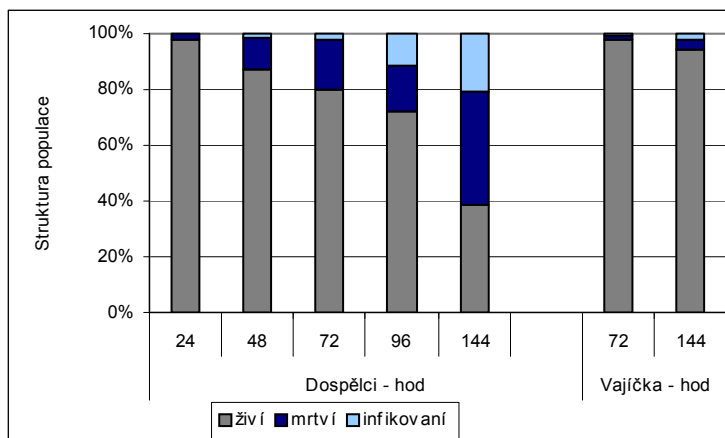
Klíčivost (24 hod) 96 %
IVP *in vitro* (24 hod) $1,43 \pm 0,3580$

ISP vajíčka (72 hod) $0,02 \pm 0,1348$
ISP vajíčka (144 hod) $0,04 \pm 0,1981$

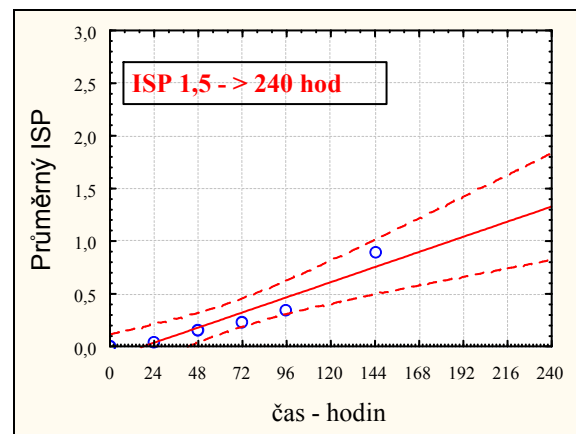
V populaci dospělců svlušky chmelové ošetřené houbou *B. bassiana* kmen A38 byli první infikovaní jedinci zaznamenáni až v době ukončení testu, nejvyšším indexem 1,5 bylo ohodnoceno 7,41% jedinců. Také při hodnocení vývoje na vajíčcích svlušky bylo zaznamenáno pouze řídké mycelium na povrchu těla hostitele (index 1,5). V době ukončení testu bylo takto ohodnoceno 0,53% vajíček.

Char. 3. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *B. bassiana* kmen A51

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *B. bassiana* kmen A51



Trend vývoje průměrného ISP - *B. bassiana* kmen A51 (dospělci; A51 = $-0,1079+0,006*x$)



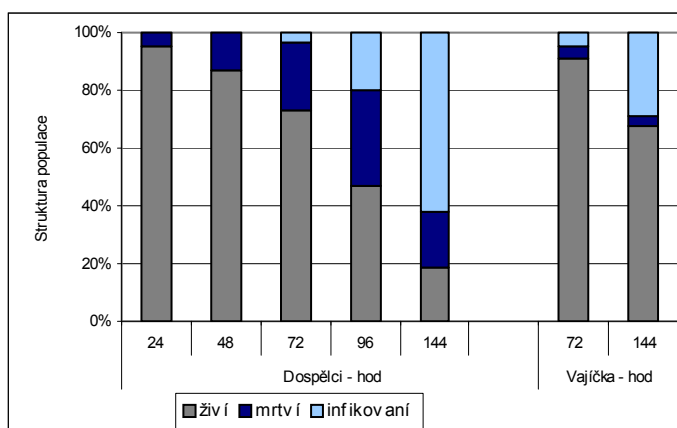
Klíčivost (24 hod) 93 %
IVP *in vitro* (24 hod) $1,14 \pm 0,4772$

ISP vajíčka (72 hod) $0,03 \pm 0,1820$
ISP vajíčka (144 hod) $0,08 \pm 0,3234$

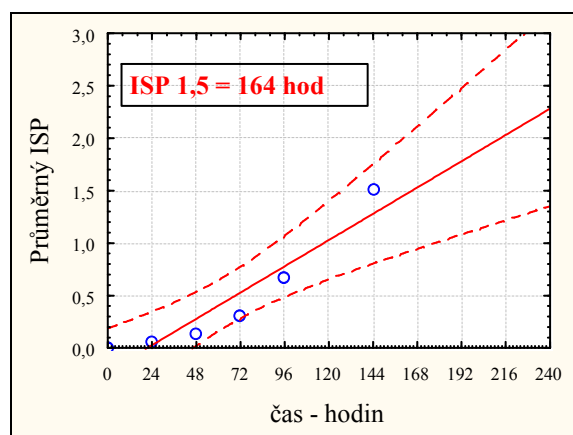
Při hodnocení účinnosti houby *B. bassiana* kmen A51 na dospělé byl výskyt jedinců hodnocených indexem 1,5 zaznamenán po 48 a 72 hodinách (1,16% a 2,33%). Po 144 hodinách trvání testu byla sporulace (index 2,5 a 3,0) sledována u 10,46% jedinců. Při vyhodnocování ovidčního účinku houby *B. bassiana* kmen A51 nebyla v době ukončení testu zaznamenána sporulace na povrchu vajíček, indexem 1,5 a 2,0 bylo ohodnoceno 2,33% vajíček.

Char. 4. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *B. brongniartii* kmen A77

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *B. brongniartii* kmen A77



Trend vývoje průměrného ISP - *B. brongniartii* kmen A77 (dospělci; A77 = - 0,2224+0,0104*x)



Klíčivost (24 hod) 94 %
 IVP *in vitro* (24 hod) 0,72 ± 0,3042

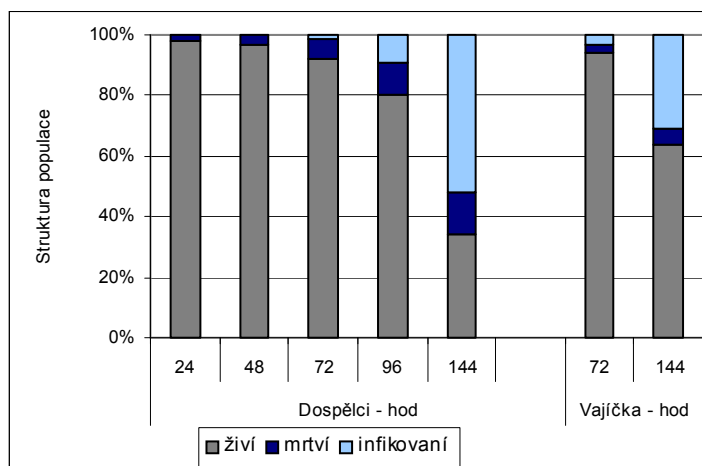
ISP vajíčka (72 hod) 0,12 ± 0,3711
 ISP vajíčka (144 hod) 0,59 ± 0,8767

Při hodnocení vlivu kmene A77 houby *B. brongniartii* na dospělé byla po 72 hod trvání testu zaznamenána saprotrofní část vývoje patogena na těle hostitele, indexem 1,5 a 2,0 bylo ohodnoceno 3,53% sledovaných jedinců. Po 96 hodinách bylo shodnými indexy ohodnoceno již 20,00% dospělců. V době ukončení pokusu byla sporulace na povrchu hostitele (2,5 a 3,0) sledována u 31,77% svlušek. Po 144 hodinách začala testovaná houba sporulovat (index 2,5) na povrchu 4,18% vajíček.

5.1.2. Polyfaktoriální charakterizace vybraných kmenů entomopatogenní houby *Lecanicillium lecanii*

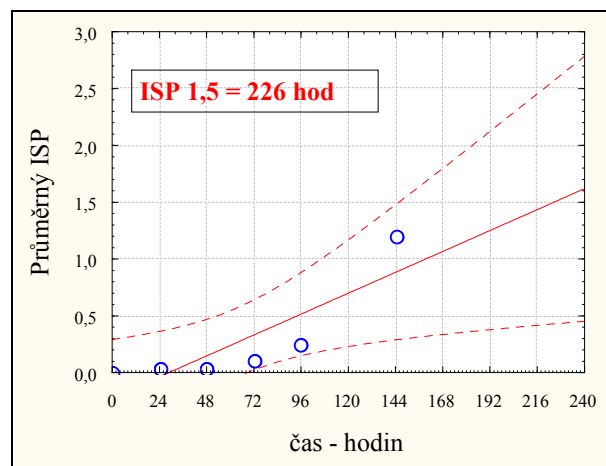
Char. 5. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen A45

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen A45



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen A45 (dospělci; A45 = -0,2203+0,0077*x)

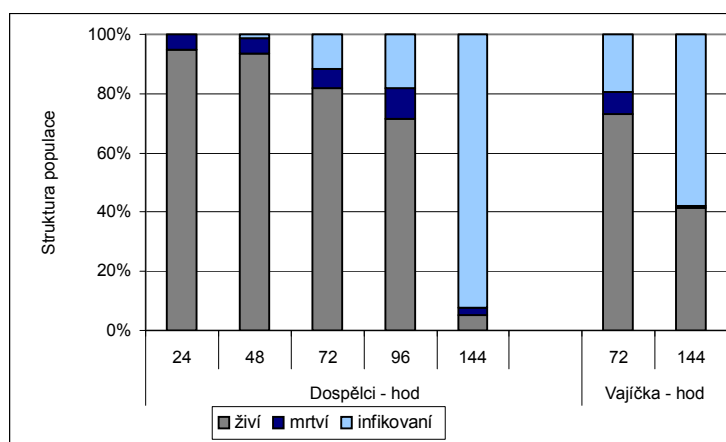


ISP vajíčka (72 hod) 0,08 ± 0,3213
ISP vajíčka (144 hod) 0,70 ± 0,9820

Při sledování účinnosti houby *L. lecanii* kmen A45 na dospělé svlušky chmelové byl první jedinec s vláknem mycelia (odpovídající indexu 1,5) zaznamenán po 72 hodinách trvání testu. Při dalším hodnocení bylo mycelium na povrchu těla hostitele sledováno u 9,2% jedinců (index 1,5 a 2,0). Po 144 hodinách byla pozorována sporulace na těle 19,54% dospělců (index 2,5 a 3,0). Při hodnocení vývoje na vajíčkách svlušky bylo při prvním hodnocení zaznamenáno 3,19% infikovaných jedinců (index 1,5 a 2,0). V době ukončení testu byla sporulace pozorována u 9,29% vajíček (ohodnocena indexy 2,5 a 3,0).

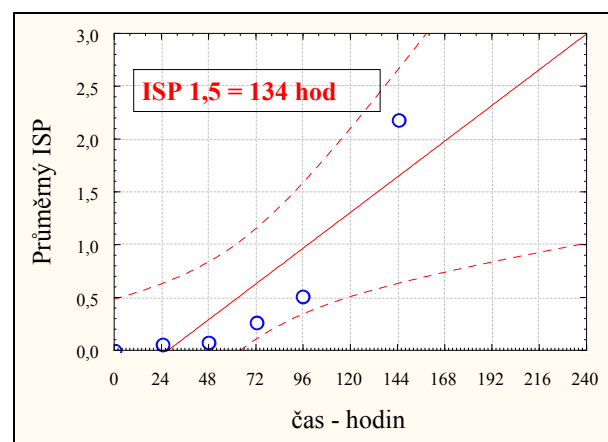
Char. 6. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen A47

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen A47



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen A47 (dospělci; A47 = -0,3867+0,0141*x)

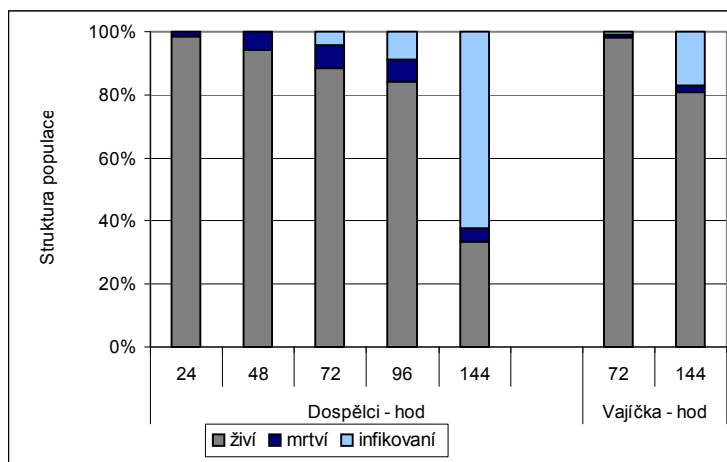


ISP vajíčka (72 hod) 0,40 ± 0,6779
ISP vajíčka (144 hod) 1,33 ± 1,1499

Po 72 resp. 96 hodinách byla v populaci svlušky zaznamenána sporulace na povrchu 2,60% resp. 11,96 % dospělců. V době ukončení pokusu byla sporulace patogena zaznamenána na více než polovině dospělců (index 2,5 a 3,0 – 50,65% jedinců v populaci). Také při hodnocení vývoje houby *L. lecanii* kmen A47 na vajíčcích svlušky byl po 72 hodinách pozorován počátek sporulace a po 144 hodinách byla sporulace sledována na povrchu 28,63% vajíček (index 2,5 a 3,0).

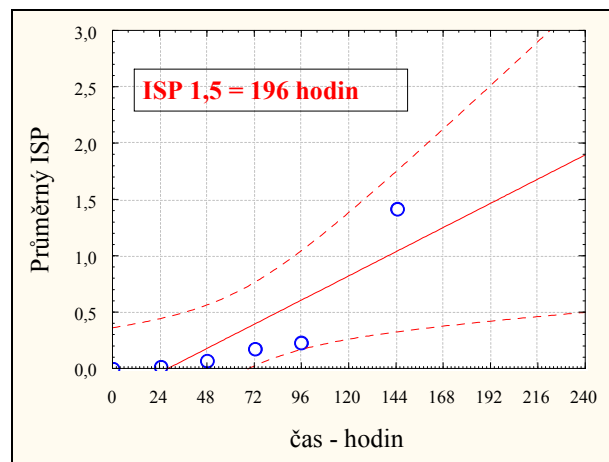
Char. 7. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen C1

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen C1



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen C1 (dospělci; C1 = -0,2526+0,0089*x)

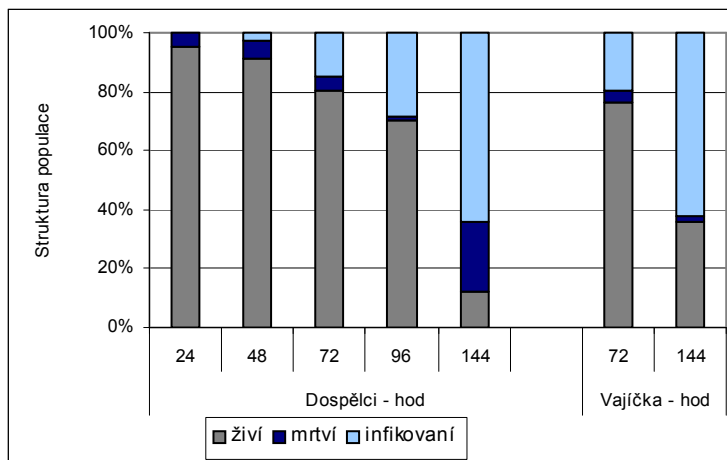


ISP vajíčka (72 hod) 0,03 ± 0,1741
ISP vajíčka (144 hod) 0,42 ± 0,8909

Počátek sporulace patogena na těle dospělců svlušky chmelové byl zaznamenán po 72 hodinách (1,47% - index 2,5). V době ukončení sledování byla sporulace (index 2,5 a 3,0) pozorována u 27,94% jedinců. Při hodnocení účinnosti *L. lecanii* kmene C1 na vajíčka byla sporulace sledována při posledním hodnocení, indexem 2,5 a 3,0 bylo označeno 10,09% vajíček.

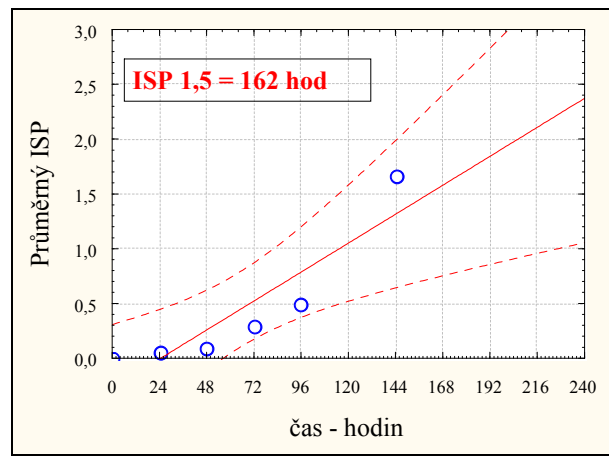
Char. 8. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen I9

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen I9



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen I9 (dospělci; I9 = -0,2714+0,011*x)

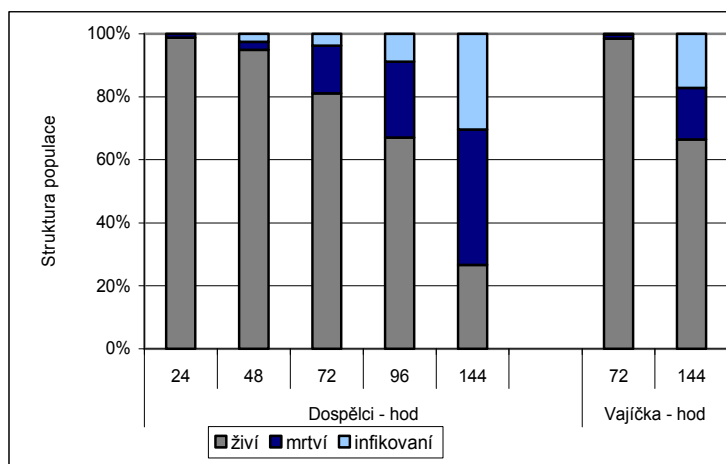


ISP vajíčka (72 hod) 0,36 ± 0,6463
ISP vajíčka (144 hod) 1,44 ± 1,1408

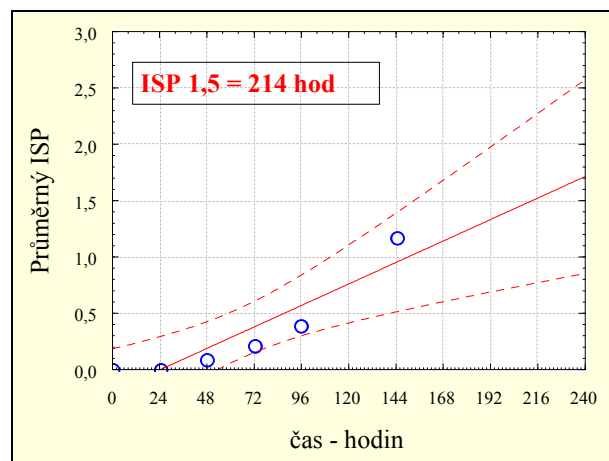
Při hodnocení účinnosti houby *L. lecanii* kmen I9 na dospělce byla po 72 hod trvání testu zaznamenána sporulace na těle hostitele (index 2,50 – 1,19% dospělců). Při posledním hodnocení byla sporulace (index 2,5 a 3,0) pozorována u 70,24% dospělců. Ve stejnou dobu byla zaznamenána sporulace též u 32,01% vajíček.

Char. 9. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen P1

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen P1



Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen P1 (dospělci; $Lle - P1 = -0,1936 + 0,0079 * x$)



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

ISP vajíčka (72 hod) $0,02 \pm 0,1322$
ISP vajíčka (144 hod) $0,42 \pm 0,6130$

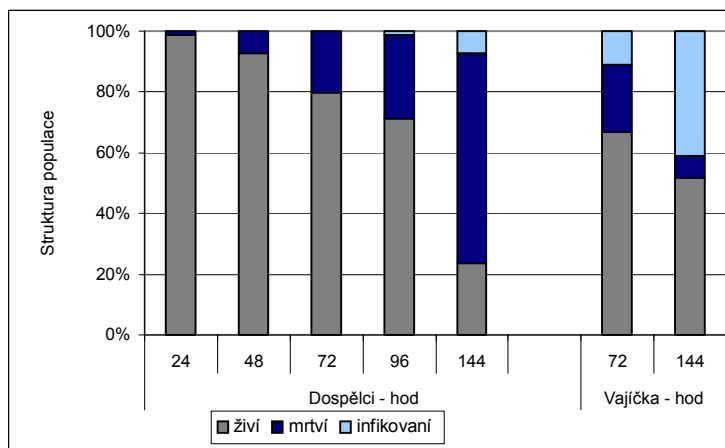
Při sledování vlivu houby *L. lecanii* kmen P1 na dospělé svlušky chmelové byli po 72 hodinách zaznamenáni první infikovaní jedinci, u části dospělců (1,27%) byla sledována také myceliální síť. Po 144 hodinách byla pozorována sporulace na těle 16,46 dospělců (index 3,0).

Při hodnocení vývoje houby *L. lecanii* kmen P1 na vajíčkách svlušky bylo při prvním hodnocení zaznamenáno 0,22 % infikovaných jedinců (index 1,50). V době ukončení testu nebyla u hodnocených vajíček sledována sporulace patogena na povrchu hostitele.

5.1.3. Polyfaktoriální charakterizace vybraných kmenů entomopatogenní houby *Metarhizium anisopliae*

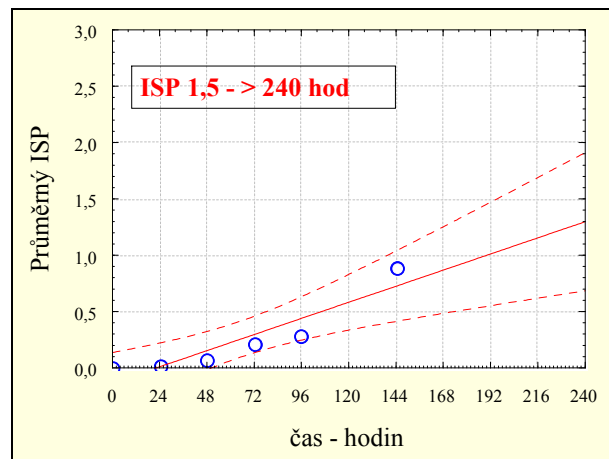
Char. 10. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* kmen M063

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M063



Klíčivost (24 hod) 42 %
IVP *in vitro* (24 hod) $0,61 \pm 0,8090$

Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M063 (dospělci; $M063 = -0,133+0,006*x$)

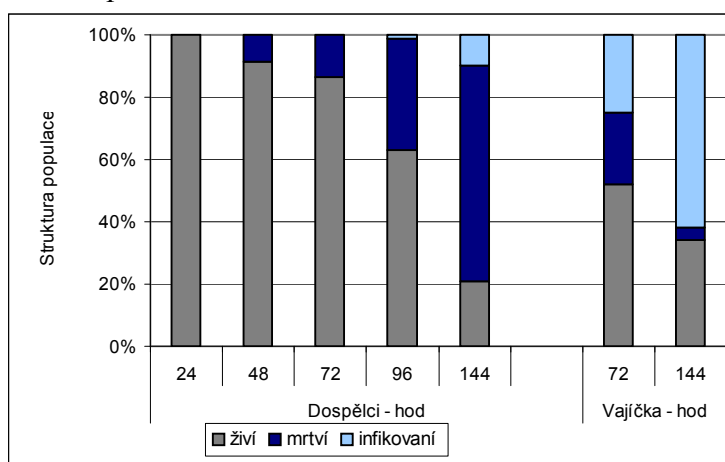


ISP vajíčka (72 hod) $0,39 \pm 0,5654$
ISP vajíčka (144 hod) $0,95 \pm 1,0592$

Při sledování vlivu houby *M. anisopliae* kmen M063 na dospělé svlušky chmelové nebyli po 72 hodinách zaznamenáni infikovaní jedinci, ve stejnou dobu bylo 11,11% vajíček ohodnoceno indexem 1,5 (počátek růstu mycelia na povrchu hostitele). Po 144 hodinách byla sporulace pozorována na povrchu 5,95% dospělců a 18,66% vajíček, převažovalo přiřazení indexu 2,5 (16,66%), které odpovídá počátku sporulace patogena na povrchu hostitele.

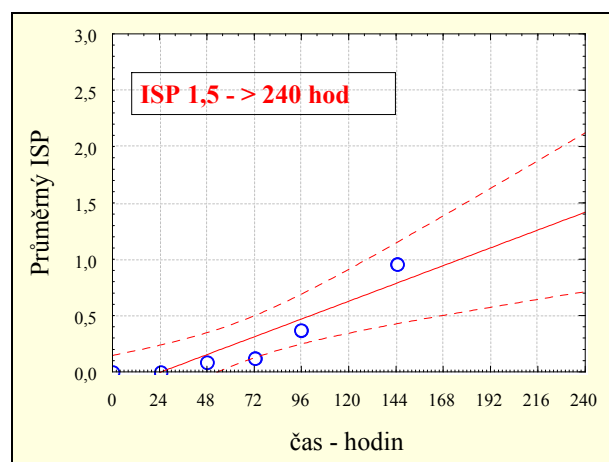
Char. 11. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* kmen M065

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M065



Klíčivost (24 hod) 54 %
IVP *in vitro* (24 hod) $0,58 \pm 0,7612$

Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M065 (dospělci; $M065 = -0,163+0,0066*x$)

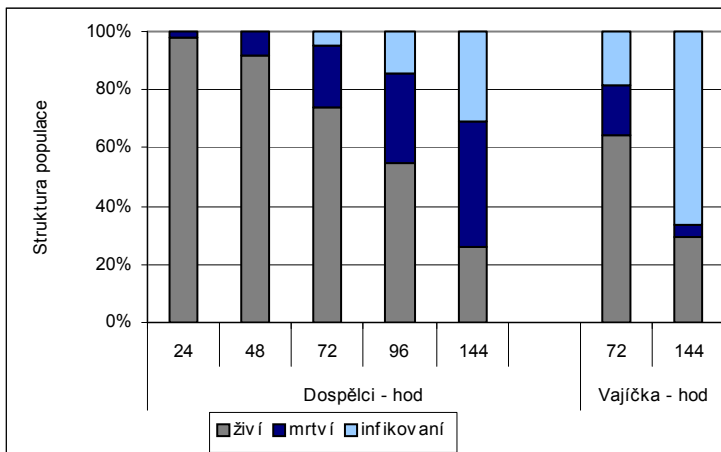


ISP vajíčka (72 hod) $0,67 \pm 0,7292$
ISP vajíčka (144 hod) $1,58 \pm 1,2206$

V populaci dospělců svlušky ošetřené *M. anisopliae* kmen M065 nebyli po 72 hodinách zaznamenáni infikovaní jedinci. Ve stejné době bylo infikováno 24,9% vajíček, přičemž u 10,2% byla již myceliální síť na povrchu hostitele. Po 144 hodinách sporuloval patogen na povrchu 7,41% dospělců, vysoká hodnota byla zaznamenána při hodnocení sporulace na povrchu vajíček (43,78%).

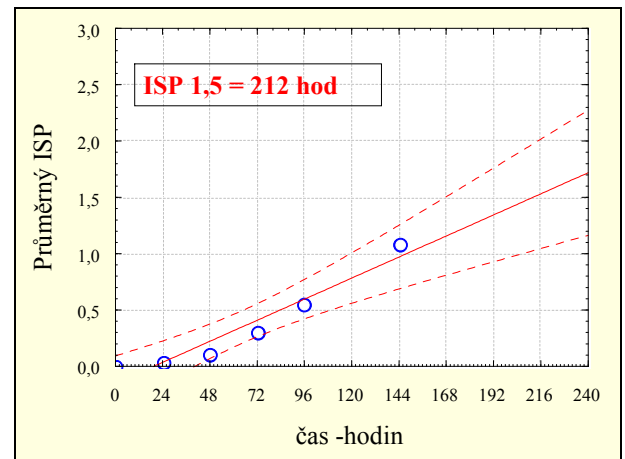
Char. 12. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* kmen M066

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M066



Klíčivost (24 hod) 51 %
 IVP *in vitro* (24 hod) $1,03 \pm 0,9500$

Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M066 (dospělci; $M066 = -0,152 + 0,0078 * x$)

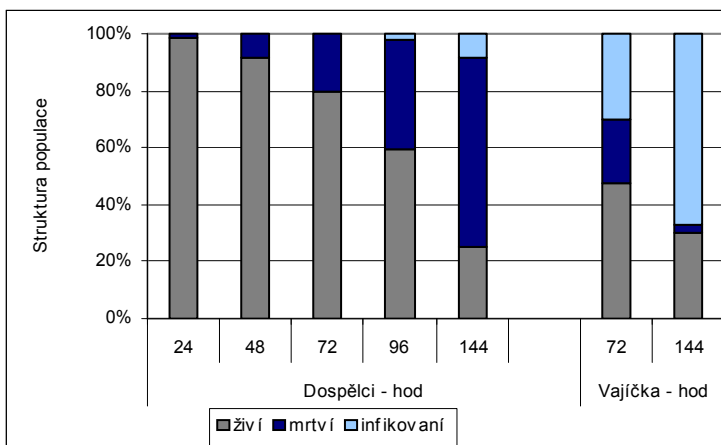


ISP vajíčka (72 hod) $0,50 \pm 0,6614$
 ISP vajíčka (144 hod) $1,78 \pm 1,2599$

Při hodnocení účinnosti houby *M. anisopliae* kmen M066 na dospělé bylo po 72 hodinách sledováno 4,76% infikovaných jedinců, část dospělců již byla ohodnocena indexem 2,0 (1,19%). U 18,31% vajíček byla sledována viditelná infekce a u 4,93% již byla zaznamenáno mycelium. Při ukončení testu byla sporulace zaznamenána na povrchu 13,06% dospělců, přičemž plně sporuloval patogen na povrchu 7,14% jedinců. U tohoto kmene bylo zaznamenáno nejvyšší procento vajíček se sporulujícím patogenem na povrchu (58,97%).

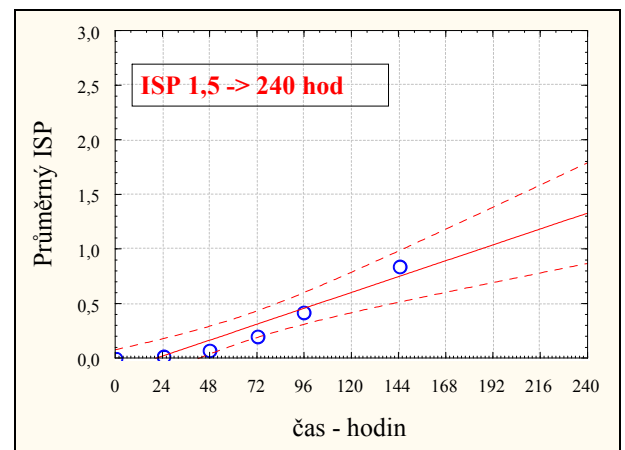
Char. 13. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* kmen M072

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M072



Klíčivost (24 hod) 80 %
 IVP *in vitro* (24 hod) $1,60 \pm 0,8031$

Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M072 (dospělci; $M072 = -0,1261 + 0,0061 * x$)

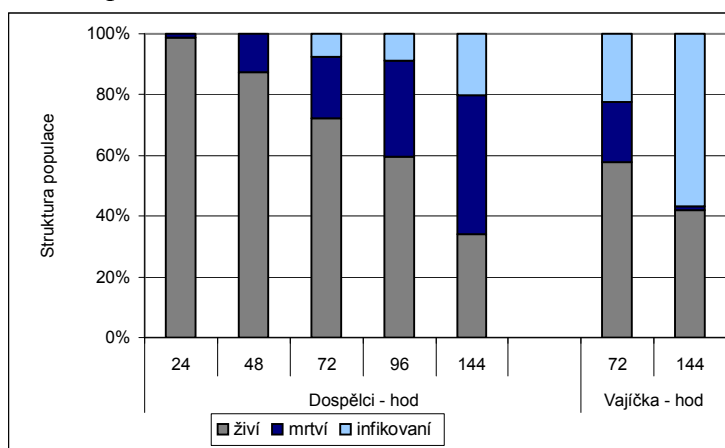


ISP vajíčka (72 hod) $0,76 \pm 0,7548$
 ISP vajíčka (144 hod) $1,87 \pm 1,2925$

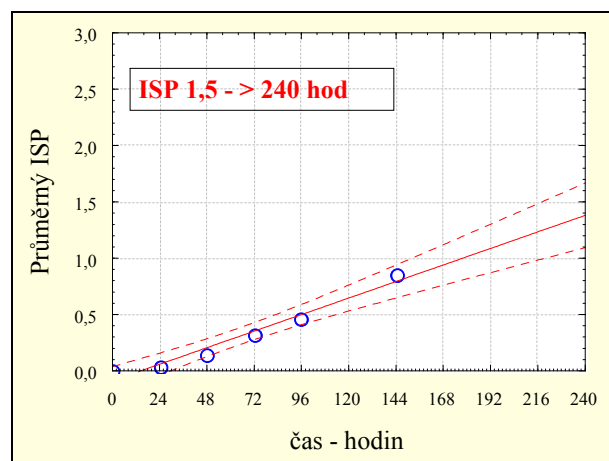
Při hodnocení vlivu houby *M. anisopliae* kmen M072 na dospělce nebyla po 72 hod trvání testu zaznamenána saprotrofní fáze vývoje patogena na těle hostitele (index 1,5 a více), zatímco v ovidčním testu byla infekce zaznamenána na 29,76% vajíček. Po 144 hodinách byla sporulace zaznamenána na povrchu těla 4,76% dospělců (plná sporulace byla sledována u 2,38% sledovaných jedinců). Po 144 hodinách vykázal kmen M072 vysoký ovidční, protože přítomnost spirálujícího mycelia byla zaznamenána na 58,05% vajíček, přičemž na 42,68% vajíček bylo zaznamenána fáze plné sporulace (index 3,0).

Char. 14. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* kmen M082

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M082



Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M082 (dospělci; M082 = $-0,0883+0,0061*x$)



Klíčivost (24 hod) 44 %
IVP *in vitro* (24 hod) $0,82 \pm 0,8577$

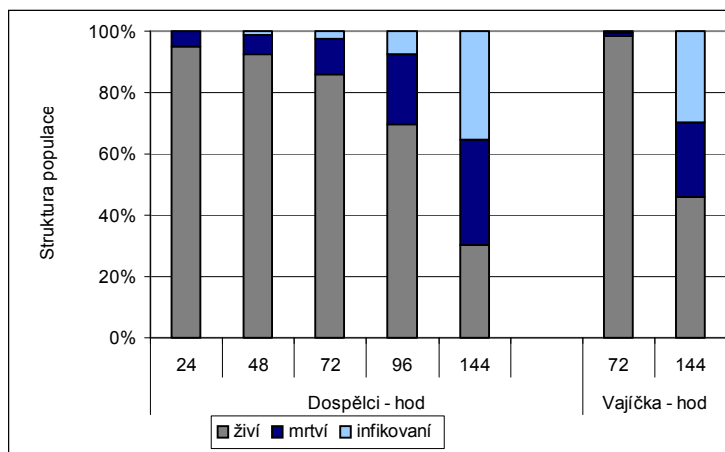
ISP vajíčka (72 hod) $0,56 \pm 0,6317$
ISP vajíčka (144 hod) $1,63 \pm 1,4085$

Při hodnocení vlivu houby *M. anisopliae* kmen M082 na populaci svlušky byly po 72 hod trvání testu zaznamenány vysoké hodnoty zřetelně infikovaných jedinců, 7,59% dospělců bylo ohodnoceno indexem 1,50, stejný index byl přiřazen 22,26% vajíček. V době ukončení pokusu byla sporulace zaznamenána u 6,33% dospělců, plně sporuloval patogen na povrchu 1,27% svlušek. Více jak polovina sledovaných vajíček byla ve stejné době se sporulujícím patogenem na povrchu hostitele (54,16%), u 41,20% již byla zaznamenána plná sporulace.

5.1.4. Polyfaktoriální charakterizace vybraných kmenů entomopatogenní houby *Paecilomyces fumosoroseus*.

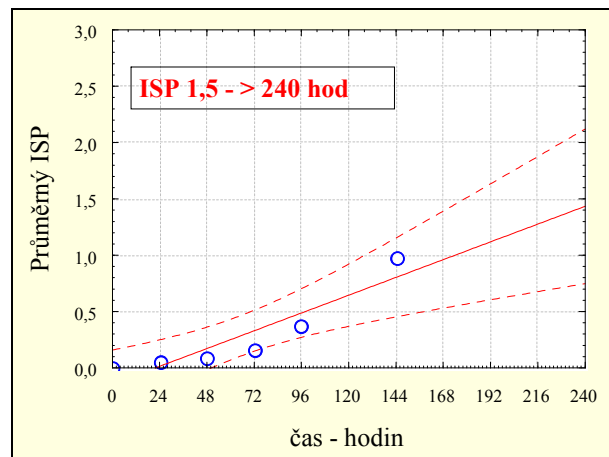
Char. 15. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen A48

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen A48



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen A48 (dospělci; A 48 = $-0,1443+0,0066*x$)

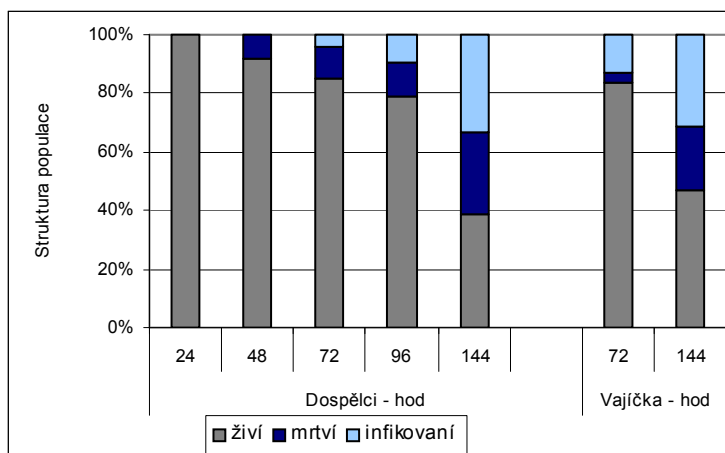


ISP vajíčka (72 hod) $0,02 \pm 0,1540$
ISP vajíčka (144 hod) $0,69 \pm 0,6600$

Při sledování vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen A48 na populaci svlušky *T. urticae* se po 72 hodinách objevilo mycelium na povrchu dospělců (2,53%) i vajíček (0,71%). Po 144 hodinách byla zaznamenána sporulace pouze u dospělců (5,06%).

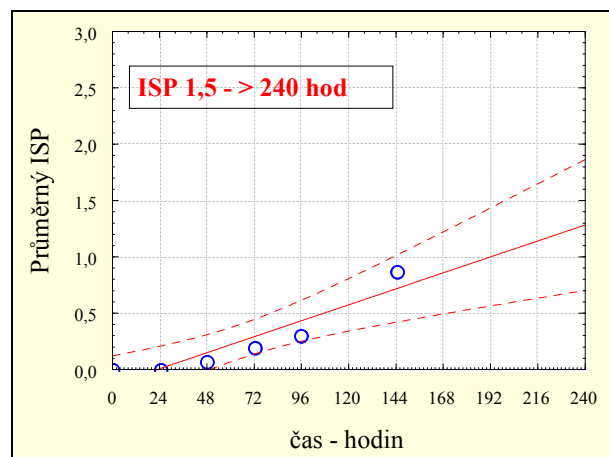
Char. 16. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen A66

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen A66



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen A66 (dospělci; A66 = $-0,1346+0,0059*x$)



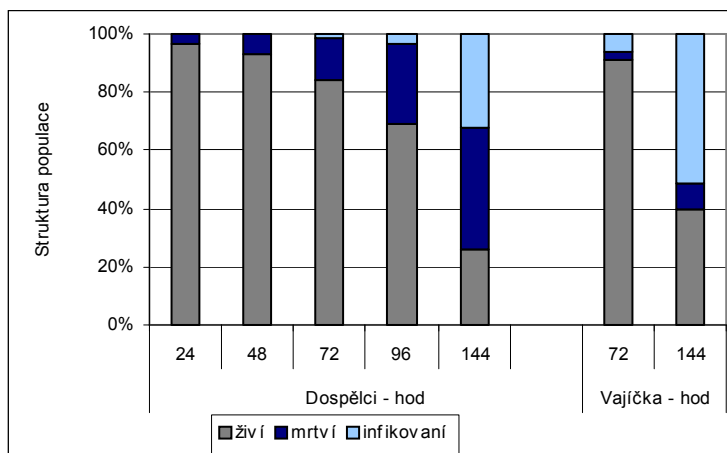
ISP vajíčka (72 hod) $0,23 \pm 0,5191$
ISP vajíčka (144 hod) $0,69 \pm 0,6780$

V populaci dospělců svlušky chmelové ovlivněné houbou *P. fumosoroseus* kmen A66 byli po 72 hodinách všichni infikovaní jedinci (4,17%) ohodnoceni indexem 2,0 (plně vyvinuté mycelium).

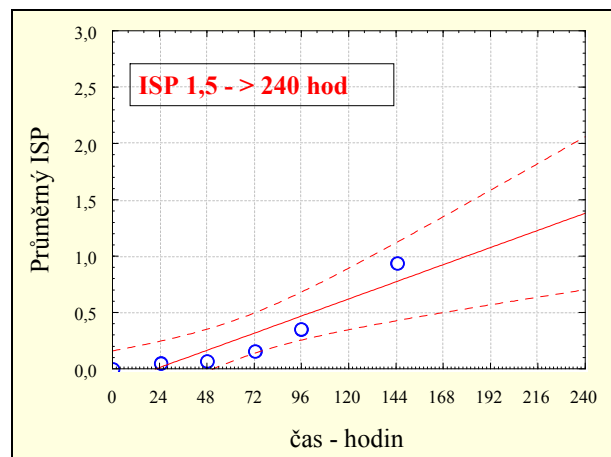
V době ukončení biotestu byla zaznamenána sporulace na povrchu 4,17% dospělců, ve stejnou dobu nebyla na myceliu u vajíček sporulace zaznamenána.

Char. 17. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen A102

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen A102



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen A102 (dospělci; $A102=0,1407+0,0063*x$)



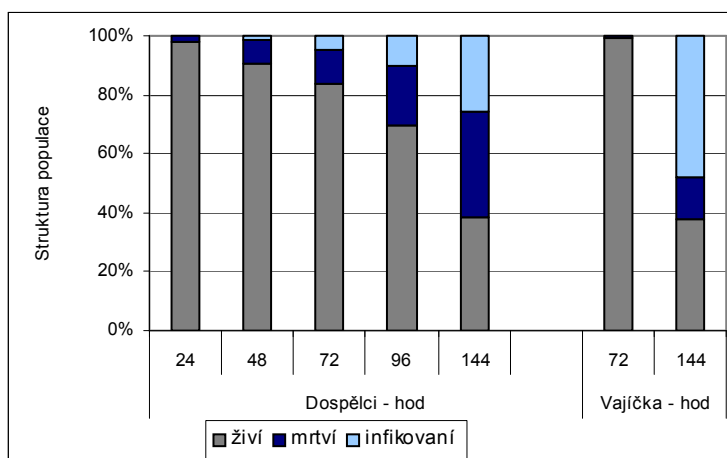
Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

ISP vajíčka (72 hod) $0,12 \pm 0,3932$
ISP vajíčka (144 hod) $1,03 \pm 0,8783$

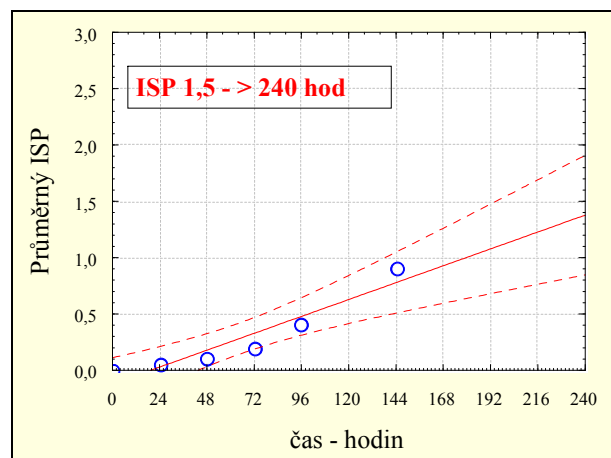
Při hodnocení účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen A102 byla v době ukončení testu sledována sporulace patogena pouze u 1,19% dospělců a 0,57% vajíček.

Char. 18. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen I02

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen I02



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen I02 (dospělci; $I02 = -0,1213+0,0062*x$)



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

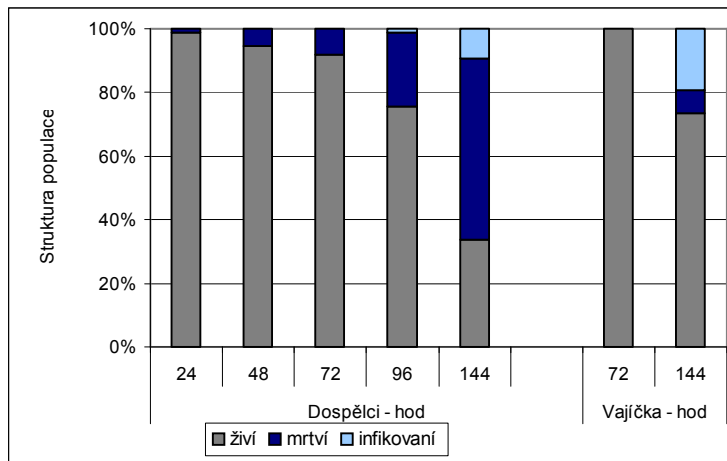
ISP vajíčka (72 hod) $0,01 \pm 0,0848$
ISP vajíčka (144 hod) $1,16 \pm 1,0169$

Při hodnocení vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen I02 na populaci svlušky *T. urticae* byla saprotrofní fáze vývoje patogena zaznamenána po 72 hodinách u 4,66% dospělců. V době ukončení

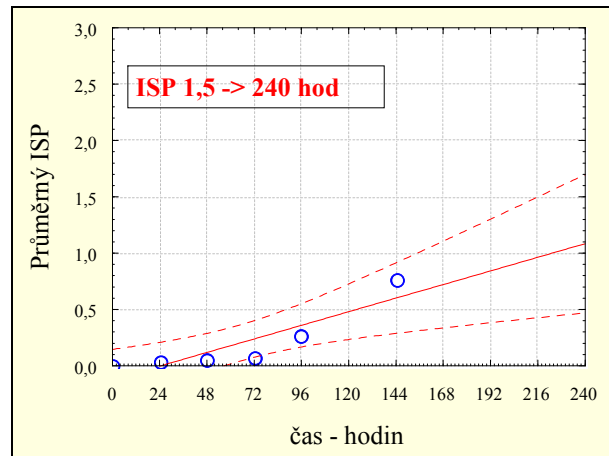
testu byla sporulace patogena zaznamenána u 12,79% dospělců a 18,61% vajíček, v obou případech převažovalo ohodnocení indexem 2,5 (počátek sporulace).

Char. 19. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen I04

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen I04



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen I04 (dospělci; I04 = $-0,1236+0,005*x$)



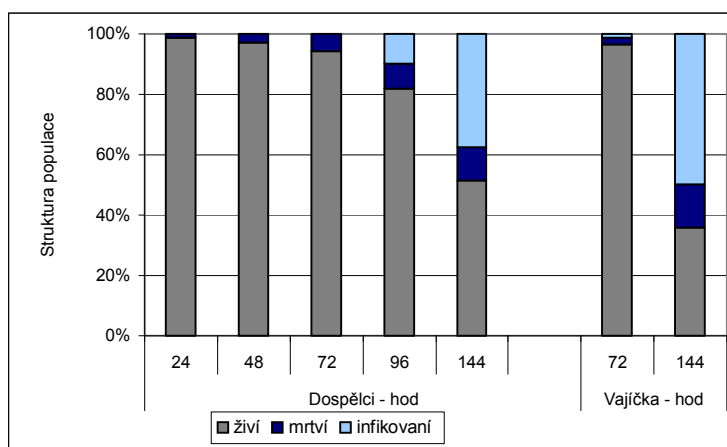
Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

ISP vajíčka (72 hod) $0,00 \pm 0,0000$
ISP vajíčka (144 hod) $0,39 \pm 0,6817$

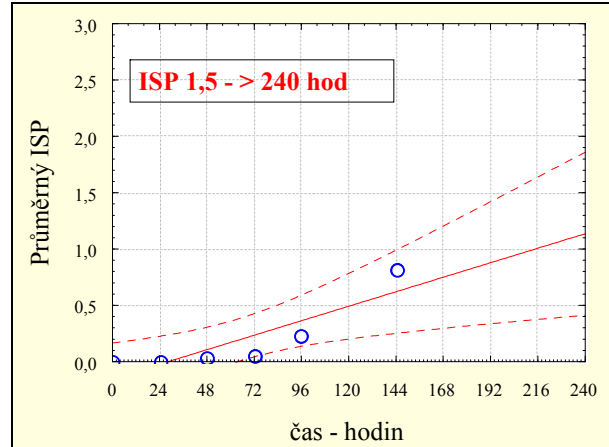
Při vyhodnocování vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen I04 na populaci svlušky chmelové nebyl po 72 hodinách zaznamenán v populaci dospělců ani vajíček jedinec s projevem infekce, po 144 hodinách byla sporulace zaznamenána pouze u 2,70% dospělců a 0,53% vajíček

Char. 20. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen I10

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen I10



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen I10 (dospělci; I10 = $-0,1516+0,0054*x$)



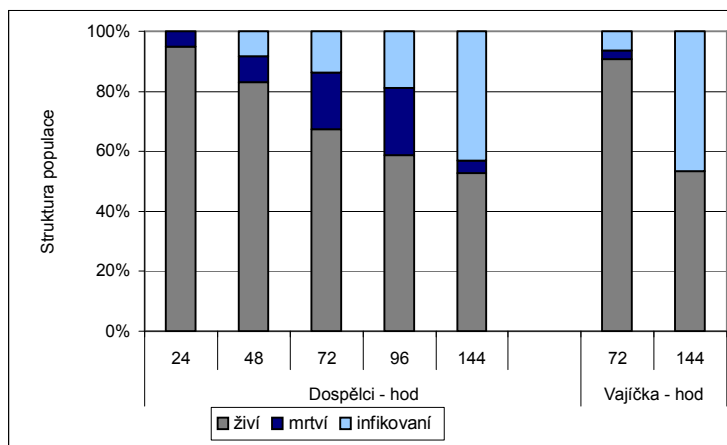
Klíčivost (24 hod) 43 %
IVP *in vitro* (24 hod) $0,55 \pm 0,6686$

ISP vajíčka (72 hod) $0,04 \pm 0,2438$
ISP vajíčka (144 hod) $1,13 \pm 0,9721$

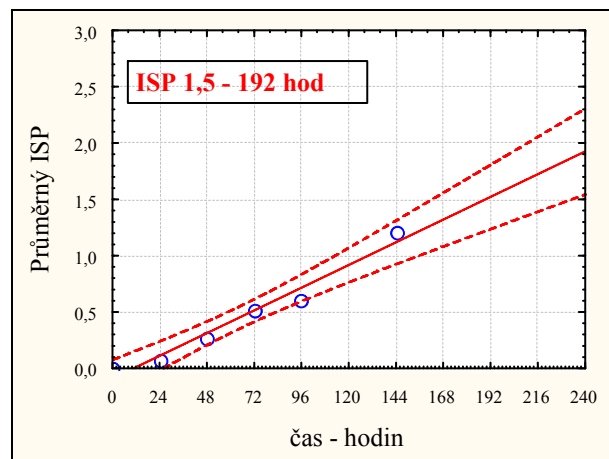
Při hodnocení vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen I10 byli po 72 hodinách trvání testu zaznamenáni jedinci se zřetelným projevem infekce pouze v populaci vajíček svlušky *T. urticae* (1,12%). Po 144 hodinách byla sporulace pozorována na povrchu 6,95% dospělců a 10,61% vajíček.

Char. 21. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 (dospělci; PFR 97 = $-0,0909 + 0,0084 \cdot x$)



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

ISP vajíčka (72 hod) $0,14 \pm 0,4603$
ISP vajíčka (144 hod) $1,29 \pm 1,4281$

Při sledování vlivu kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* na dospělé svlušky chmelové byli po 48 hodinách trvání testu zaznamenáni jedinci se zřetelnou infekcí (7,37% bylo ohodnoceno indexem 2,0 – intenzivní růst mycelia na povrchu hostitele). Po 72 hodinách bylo 3,16 % dospělců ohodnoceno indexem 3,00 (sporulace na povrchu hostitele), při ukončení testu byl tento index přidělen 29,47% sledovaných jedinců. Při hodnocení populace vajíček ovlivněné houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 bylo při prvním hodnocení zaznamenáno 6,36% infikovaných jedinců, s nejvyšším indexem 2,0. Po 144 hodinách byla všechna mrtvá vajíčka ohodnocena indexem 1,5 a více (saprotrofní fáze vývoje akaropatogenních hub). Sporulace byla sledována u 38,98% sledovaných vajíček (index 3,0).

5.1.5. Porovnání klíčových parametrů akaropatogenní účinnosti vybraných kmenů entomopatogenních hub.

V kontextu hodnocení akaropatogenního účinku entomopatogenních hub představují průměrný index stavu populace (ISP) a struktura populace v kategorii „infikovaní jedinci“ klíčové parametry charakterizace kmenů entomopatogenních hub. V tomto kontextu byly formou sumarizujících tabulek zpracovány výsledky, které byly získány v rámci předchozí studie.

Tab. 17. Porovnání akaropatogenní účinnosti vybraných kmenů entomopatogenních hub pomocí parametru ISP.

Poř.	Druh - kmen	Průměrný ISP 1,5 ¹ (hod)
1.	<i>Beauveria brongniartii</i> kmen A77	164
2.	<i>Beauveria bassiana</i> kmen A25	200
3.	<i>Beauveria bassiana</i> kmen A38	> 240
4.	<i>Beauveria bassiana</i> kmen A51	> 240
1.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen A47	134
2.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen I9	162
3.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen C1	196
4.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen P1	214
5.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen A45	226
1.	<i>Metarhizium anisopliae</i> kmen M066	212
2.	<i>Metarhizium anisopliae</i> kmen M063	> 240
2.	<i>Metarhizium anisopliae</i> kmen M065	> 240
2.	<i>Metarhizium anisopliae</i> kmen M072	> 240
2.	<i>Metarhizium anisopliae</i> kmen M082	> 240
1.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97	188
2.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen A48	> 240
2.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen A66	> 240
2.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen A102	> 240
2.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen I02	> 240
2.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen I04	> 240
2.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen I10	> 240

¹ Doba (hod) nutná pro dosažení průměrného ISP 1,5 (stanoveno pomocí grafu trendu vývoje ISP)

Před ukončením testu (po 144 hodinách) byl ISP 1,5 zaznamenán pouze u populací svilušky *T. urticae* ovlivněné houbou *Lecanicillium lecanii* kmen A47. Ostatní použité kmeny houby *L. lecanii* patřily do skupiny, ve které bylo dosaženo ISP 1,5 za méně než 240 hodin. Z ostatních druhů hub byla hodnota ISP 1,5 < 240 zaznamenána vždy pouze u jediného kmene: *Beauveria brongniartii* kmen A77, *Paecilomyces fumosoroseus* kmen PFR 97, *Beauveria bassiana* kmen A25 a *Metarhizium anisopliae* kmen M066.

Tab. 18. Porovnání akaropatogenní účinnosti entomopatogenních hub - souhrnná analýza struktury populace *T. urticae* v kategorii infikovaní jedinci (% jedinců hodnocených indexy >1,0)

Druh - kmen	Dospělci <i>T. urticae</i>		Vajíčka <i>T. urticae</i>	
	Infikovaní jedinci ^I (%, 72 hod)	Sporulace ^{II} (%, 144 hod)	Infikovaní jedinci ^I (%, 72 hod)	Sporulace ^{II} (%, 144 hod)
<i>B. bassiana</i> - A38	0 (0 + 0 + 0)	0	0,53 (0,53 + 0 + 0)	0
<i>B. bassiana</i> - A25	1,28 (1,28 + 0 + 0)	19,23	0,94 (0,94 + 0 + 0)	10,37
<i>B. bassiana</i> - A51	2,33 (2,33 + 0 + 0)	10,46	0,64 (0,64 + 0 + 0)	0
<i>B. brongniartii</i> - A77	3,53 (2,35 + 1,18 + 0)	31,77	4,95 (4,95 + 0 + 0)	4,18
<i>L. lecanii</i> - A45	1,15 (1,15 + 0 + 0)	19,54	3,19 (2,48 + 0,71 + 0)	9,29
<i>L. lecanii</i> - P1	3,80 (2,53 + 1,27 + 0)	16,46	0,22 (0,22 + 0 + 0)	0
<i>L. lecanii</i> - C1	4,41 (2,94 + 0 + 1,47)	27,94	0,92 (0,92 + 0 + 0)	10,09
<i>L. lecanii</i> - A47	11,69 (7,79 + 1,30 + 2,60)	20,65	19,50 (14,11 + 4,98 + 0,41)	28,63
<i>L. lecanii</i> - I9	14,81 (11,11 + 3,70 + 0)	27,16	19,47 (15,84 + 3,63 + 0)	32,01
<i>M. anisopliae</i> - M063	0 (0 + 0 + 0)	5,95	11,11 (11,11 + 0 + 0)	18,66
<i>M. anisopliae</i> - M065	0 (0 + 0 + 0)	7,41	24,88 (14,68 + 10,20 + 0)	43,78
<i>M. anisopliae</i> - M072	0 (0 + 0 + 0)	4,76	29,76 (16,10 + 13,66 + 0)	58,05
<i>M. anisopliae</i> - M066	4,76 (3,57 + 1,19 + 0)	13,06	18,31 (13,38 + 4,93 + 0)	58,97
<i>M. anisopliae</i> - M082	7,59 (7,59 + 0 + 0)	6,33	22,26 (22,26 + 0 + 0)	54,16
<i>P. fumosoroseus</i> - I04	0 (0 + 0 + 0)	2,70	0 (0 + 0 + 0)	0,53
<i>P. fumosoroseus</i> - I10	0 (0 + 0 + 0)	6,95	1,12 (1,12 + 0 + 0)	10,61
<i>P. fumosoroseus</i> - A102	1,19 (1,19 + 0 + 0)	1,19	6,47 (6,47 + 0 + 0)	0,57
<i>P. fumosoroseus</i> - A48	2,53 (2,53 + 0 + 0)	5,06	0,71 (0,71 + 0 + 0)	0
<i>P. fumosoroseus</i> - A66	4,17 (0 + 4,17 + 0)	4,17	12,74 (12,74 + 0 + 0)	0
<i>P. fumosoroseus</i> - I02	4,66 (2,33 + 2,33 + 0)	12,79	0 (0 + 0 + 0)	18,61
<i>P. fumosoroseus</i> - PFR 97	13,69 (3,16 + 7,37 + 3,16)	29,47	6,36 (2,97 + 3,39 + 0)	38,98

^I. % celkem infikovaných jedinců (z toho % jedinců hodnocených indexy 1,5 + 2,0 + 2,5)

^{II}. % jedinců v populaci s patogenem sporulujícím na povrchu těla (ISP 2,5 – 3,0)

Při použití standardního laboratorního biotestu na dospělých svlušky chmelové nebyli jedinci se zřetelným projevem infekce sledování po 72 hodinách v populacích ošetřených houbami *B. bassiana* kmen A38, *M. anisopliae* kmeny M063, M065 a M072 a *P. fumosoroseus* kmeny I04 a I10. Nejobsáhlejší skupinu tvořily kmeny vyvolávající infekci do 5% sledovaných jedinců. Vyšší hodnota byla sledována u hub *M. anisopliae* kmen M082 (7,59%), *L. lecanii* kmeny A47 (11,69%) a I9 (14,81%) a *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 (13,69%). Sporulace v populaci svlušky byla sledována pouze u houby *L. lecanii* kmeny C1 a A47 a *P. fumosoroseus* kmen PFR 97. Při vyhodnocování ovlivnění vajíček vybranými druhy akaropatogenních hub nebyla po 72 hodinách zaznamenána zřetelná infekce u houby *P. fumosoroseus* kmeny I02 a I04. Nejvyšší hodnoty byly sledovány u *M. anisopliae* – kmen M082 22,26%, kmen M065 24,88% a kmen M072 29,76%. U houby *L. lecanii* kmen A47 již byl sledován počátek sporulace na povrchu hostitele (0,41%).

Po 144 hodinách nebyla u dospělců svlušky *T. urticae* zaznamenána u houby *B. bassiana* kmen A38 sporulace na povrchu hostitele. Do 10% jedinců se sporulujícím patogenem bylo sledováno u populaci ovlivněných houbou *P. fumosoroseus* (kmeny A102, I04, A66, A48 a I10) a *M. anisopliae* (kmeny M072, M063, M082 a M065). Více jak 20% jedinců se sporulující houbou na povrchu bylo

sledováno u populace ošetřené houbou *L. lecanii* (kmeny A47, I9 a C1), *B. brongniartii* kmen A77 a *P. fumosoroseus* kmen PFR 97. Nejvíce jedinců s plně sporulujícím patogenem bylo zastoupeno v populaci ovlivněné houbou *L. lecanii* kmen I9 (27,16%) a *P. fumosoroseus* kmen PFR 97(29,47%). U sledované skupiny vajíček nebyla sporulace zaznamenána po ošetření houbou *B. bassiana* kmeny A38 a A51, *L. lecanii* kmen P1 a *P. fumosoroseus* kmeny A66, A48. Více jak polovina vajíček byla v populaci ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M072, M082 a M066 ohodnocena indexem odpovídajícím sporulaci. Nejvíce vajíček s plně sporulující houbou na povrchu byla sledována po ošetření houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 (38,98%) a *M. anisopliae* kmen M072 (42,68%).

5.1.6. Porovnání vlivu vybraných kmenů různých druhů entomopatogenních hub na mortalitu svlušky chmelové *Tetranychus urticae*.

5.1.6.1. Porovnání vlivu vybraných kmenů entomopatogenních hub rodu *Beauveria* na mortalitu dospělců a vajíček *T. urticae*.

Tab. 19. Porovnání vlivu různých kmenů entomopatogenních hub rodu *Beauveria* na mortalitu dospělců svlušky chmelové *T. urticae*.

	počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod
Kontrola	20,0±0,00	0,0±0,0 (0%;0)	a 0,0±0,0 (0%;0)	b 11,17±8,08 (3,75%;0,75)	b 14,48±2,39 (6,24%;1,25)	d 15,89±2,76 (7,49%;1,50)
A25	19,50±0,50	18,68±5,44 (10,25%;2,00)	a 19,86±4,75 (11,53%;2,25)	ab 24,09±5,93 (16,65%;3,25)	ab 42,79±3,33 (46,12%;9,00)	ab 60,43±1,34 (75,59%;14,75)
A38	20,25±0,43	12,84±9,58 (4,93%;1,00)	a 12,84±9,58 (4,93%; 1,00)	ab 17,10±10,66 (8,63%; 1,75)	ab 21,62±5,08 (13,57%; 2,75)	cd 27,27±4,44 (20,97%;4,25)
A51	21,50±2,06	8,77±8,20 (2,32 %;0,50)	a 21,93±5,00 (13,93%; 3,00)	a 26,40±6,29 (19,75%; 4,25)	ab 31,89±7,62 (27,88%; 6,00)	bc 51,72±5,06 (61,58%; 13,25)
A77	21,25±1,09	12,53±8,91 (4,70%;1,00)	a 21,08±6,31 (12,93%; 2,75)	ab 31,34±2,35 (27,03%; 5,75)	a 46,69±4,66 (52,90%; 11,25)	a 64,29±2,90 (81,13%;17,25)

a,b,c.,Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{\text{počet všech mrtvých svlušek/celkový počet všech svlušek}}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svlušek jsou uvedeny v závorkách.

Pomocí standardního biotestu na listových discích fazolu obecného byl testován účinek a vliv vybraných kmenů hub rodu *Beauveria* na mortalitu dospělců svlušky *T. urticae*. Mortalita dospělců byla stanovována v 24 hodinovém intervalu po dobu 4 dnů, poslední hodnocení bylo provedeno po 144 hodinách.

Aplikace na dospělce svlušky prokázala velmi dobrý účinek všech kmenů hub rodu *Beauveria*. Po 24 hodinách byla zaznamenána velmi dobrá účinnost kmene A25 houby *Beauveria bassiana* (mortalita dospělců 10,25%) ve srovnání s ostatními kmeny. Vliv ošetření byl statisticky významný ($F=1,794$; $df=4;15$; $p=0,1826$). Po 48 hodinách byla sledována přibližně stejná mortalita dospělců po aplikaci všech kmenů, kromě kmene A38 vykazujícího nejnižší hodnotu. Již po 72 a 96 hodinách byl sledován výrazný rozdíl v účinnosti testovaných kmenů. Největší účinnost byla zaznamenána po aplikaci kmene A77 houby *Beauveria brongniartii* (27% a 53%) a kmene A25 houby *B. bassiana* (17% a 46%), nicméně rychlejší vývoj patogena byl pozorován u kmene A77. Entomopatogenní houba *B. brongniartii* (kmen A77) a *B. bassiana* (kmen A25) prokazatelně indukovaly nejvyšší kumulovanou mortalitu (81% resp. 76%) i po 144 hodinách, ovšem i účinnost kmene A51 houby *B. bassiana* (61,58%) lze vzhledem k vysokému akaropatogennímu účinku také charakterizovat jako velmi dobrou. Přirozená mortalita dospělců svlušky chmelové nepřesáhla po 7 dnech 8% mortalitu. Účinnost testovaných kmenů na mortalitu dospělců svlušky byla statisticky průkazná ve všech sledovaných intervalech (Tab. 20 a, b).

Vývoj patogena, vyjádřený indexem stavu populace (ISP), byl nejrychlejší u kmenů A77 a A25. V době ukončení testu byl u těchto kmenů zaznamenán index odpovídající saprotrofní fázi, tj.

růstu mycelia na těle hostitele. U kmene A51 dosahoval ISP hodnot, které odpovídají parazitické fázi vývoje uvnitř těla hostitele.

Tab. 20 a. Statistické hodnocení vlivu různých druhů entomopatogenních hub rodu *Beauveria* na mortalitu dospělců svlušky chmelové *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	402,5582	12,960**	1	1551,975	36,779***	1	4684,301	64,895***
Varianta	4	55,7300	1,794	4	149,987	3,554*	4	342,425	4,744*
chyba	15	31,0627		15	42,198		15	72,183	-

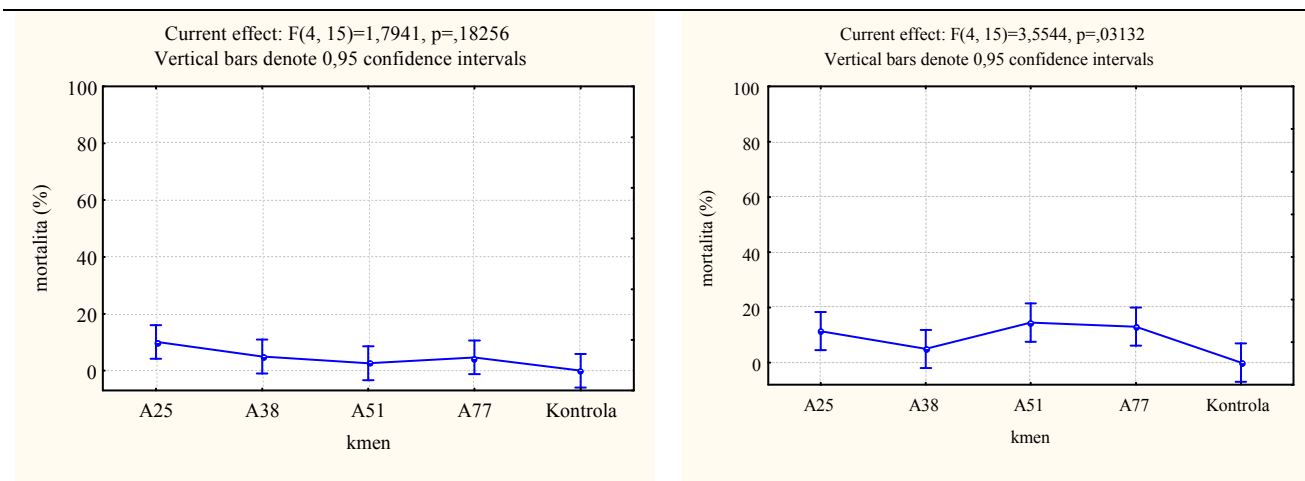
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Tab. 20 b. Statistické hodnocení vlivu různých druhů entomopatogenních hub rodu *Beauveria* na mortalitu dospělců svlušky chmelové *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	17305,44	215,227***	1	48910,61	1359,619***
Varianta	4	1608,85	20,009***	4	4418,96	122,838***
chyba	15	80,41		15	35,97	

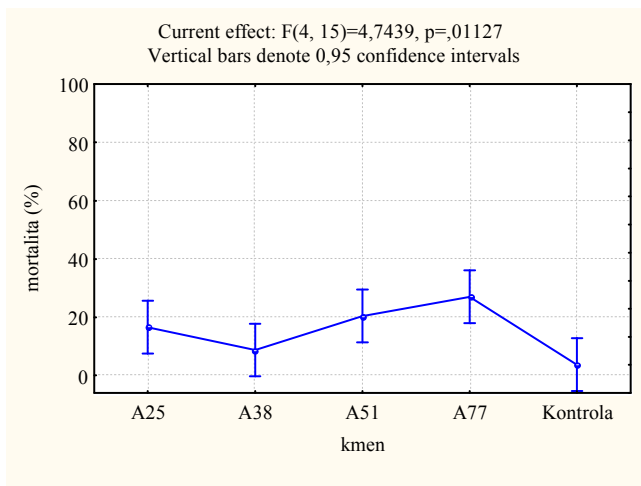
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf. 1. Hodnocení vlivu vybraných kmenů hub rodu *Beauveria* na mortalitu dospělců svlušky chmelové *T. urticae*.

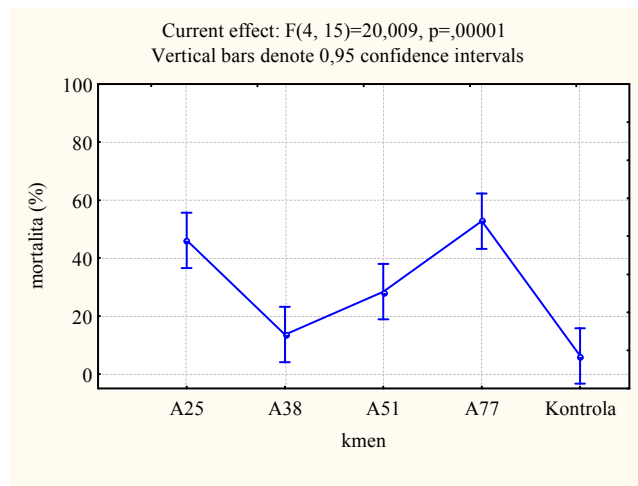


Kumulativní mortalita po 24 hodinách

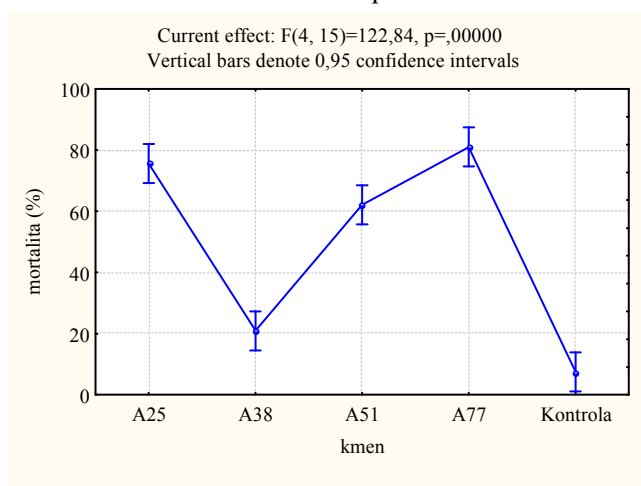
Kumulativní mortalita po 48 hodinách



Kumulativní mortalita po 72 hodinách



Kumulativní mortalita po 96 hodinách



Kumulativní mortalita po 144 hodinách

Tab. 21. Vliv entomopatogenních hub rodu *Beauveria* na mortalitu v populaci svilušky chmelové *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček – kumulovaná mortalita.

	počet	72 hod			144 hod		
CTRL	18,94±13,56 303	0,0±0,0 (0%;0)	b	0,00±0,0000	11,95±13,56 (4,29%;0,81)	b	0,05±0,2122
A25	13,25±7,28 212	17,42±12,48 (8,95%; 1,19)	a	0,09±0,3042	41,21±15,92 (43,36%; 5,75)	a	0,77±0,9484
A38	11,88±5,72 190	5,89±4,25 (1,05%; 0,13)	b	0,02±0,1348	10,24±7,29 (3,15%; 0,38)	b	0,04±0,1981
A51	19,63±7,56 314	8,59±8,48 (2,23%; 0,44)	b	0,03±0,1820	13,85±8,88 (5,73%;1,13)	b	0,08±0,3234
A77	16,44±8,05 263	17,20±10,24 (8,74%; 1,44)	ab	0,12±0,3711	34,88±9,24 (32,67%; 5,38)	a	0,59±0,8767

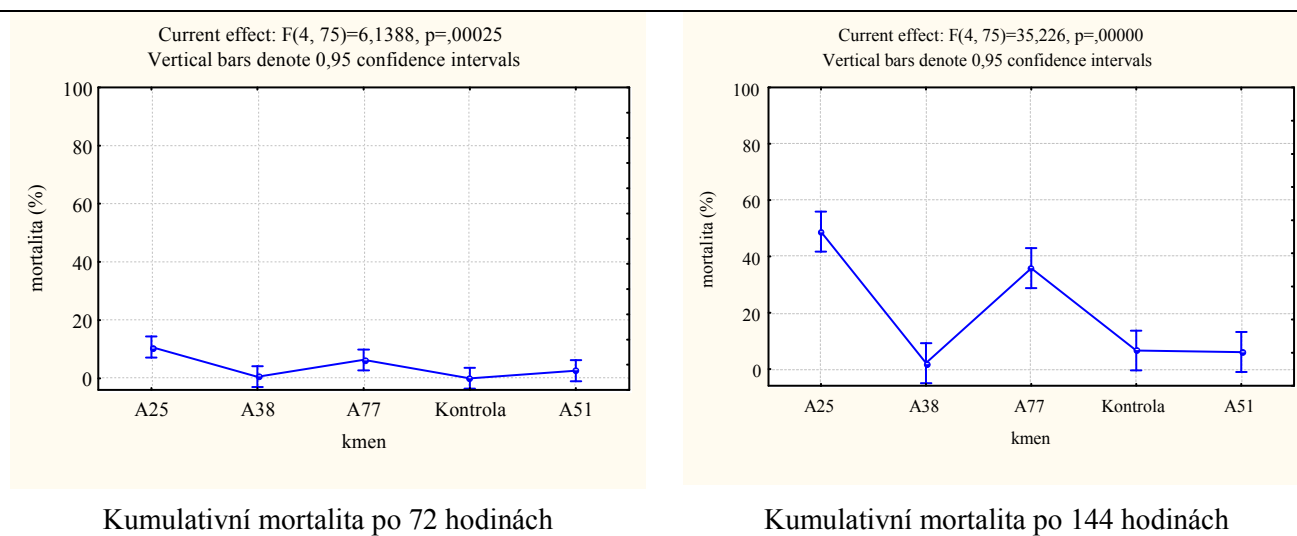
a,b,c, Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [arcsin√(počet všech mrtvých vajíček/ celkový počet všech vajíček)]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých vajíček jsou uvedeny v závorkách.

Aplikace na vajíčka prokázala ovicidní účinek všech testovaných druhů (kmenů) hub rodu *Beauveria*. Hodnocení účinnosti vybraných kmenů hub rodu *Beauveria* bylo provedeno po 72 a 144 hodinách. Po 72 hodinách byl zaznamenán výrazně vyšší ovicidní účinek po aplikaci houby *B. brongniartii* (kmen A77) a po aplikaci kmene A25 houby *B. bassiana*. Po aplikaci obou kmenů

dosáhla mortalita přibližně 9%, zatímco v kontrolní variantě byla všechna testovaná vajíčka zdravá. Po 144 hodinách byl nejnižší ovicidní účinek zaznamenán po aplikaci kmene A38, mortalita dosáhla v populaci dospělců jen 3%. Vysoká mortalita byla opět sledována po aplikaci kmenů A77 a A25. Vliv ošetření populace svlušky chmelové byl statisticky průkazný jak po 72 hodinách ($F=6,139; df=4;75; p=0,0003$), tak i po 144 hodinách ($F=35,226; df=4;75; p<0,0000$).

Graf. 2. Kumulativní mortalita v populaci svlušky *T. urticae* po ošetření věkově synchronizované populace vajíček různými druhy entomopatogenních hub rodu *Beauveria*.



Tab. 22. Statistické hodnocení účinnosti entomopatogenních hub rodu *Beauveria* na mortalitu v populaci svlušky chmelové *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček.

Parametr	Arc sin mortalita					
	72 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	1310,054	24,938***	1	31573,69	156,475***
Varianta	4	322,483	6,139***	4	7107,88	35,226***
chyba	75	52,532		75	201,78	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

5.1.6.2. Porovnání vlivu vybraných kmenů entomopatogenní houby *Lecanicillium lecanii* na mortalitu dospělců a vajíček *T. urticae*.

Tab. 23. Účinnost vybraných kmenů entomopatogenní houby *L. lecanii* na dospělé svilušky *T. urticae*.

	počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod
Kontrola	18,75±0,83	9,40±6,82 (2,66%; 0,50)	a 13,35±0,30 (5,33%;1,00)	a 13,35±0,30 (5,33%;1,00)	a 13,35±0,30 (5,33%;1,00)	c 14,96±2,41 (6,66%; 1,25)
P1	19,75±0,43	6,46±6,09 (1,26%;0,25)	a 13,00±2,60 (5,06%;1,00)	a 25,83±4,77 (18,97%;3,75)	a 35,01±4,95 (32,88%;6,50)	a 58,96±3,83 (73,37%;14,50)
I9	20,25±0,43	12,84±6,65 (4,93%;1,00)	a 17,10±2,33 (8,63%;1,75)	a 26,39±3,90 (19,73%;4,00)	a 32,98±4,66 (29,60%;6,00)	ab 69,43±4,41 (87,61%;17,75)
A45	21,75±0,43	8,72±7,60 (2,30%; 0,50)	a 10,70±7,74 (3,44%; 0,75)	a 16,48±12,19 (8,04%; 1,75)	a 26,23±3,51 (19,52%; 4,25)	abc 54,04±11,63 (65,47%; 14,25)
A47	19,25±0,83	11,38±8,08 (3,89%; 0,75)	a 14,76±10,42 (6,49%; 1,25)	a 25,24±7,15 (18,16%; 3,50)	a 32,31±3,00 (28,55%; 5,50)	ab 76,83±6,96 (94,77%; 18,25)
Vertalec® (C1)	17,00±1,87	6,97±5,74 (1,47%; 0,25)	a 14,04±7,96 (5,88%; 1,00)	a 20,06±1,24 (11,75%; 2,00)	a 23,72±5,13 (16,16 %; 2,75)	bc 55,33±3,46 (67,60%;11,50)

a,b,c.,Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{\text{počet všech mrtvých svilušek/ celkový počet všech svilušek}}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svilušek jsou uvedeny v závorkách.

Při hodnocení po 24 hodinách byla zaznamenána velmi nízká mortalita dospělců svilušky po aplikaci kmenů P1, A45 a C1 entomopatogenní houby *L. lecanii*, vliv ošetření na mortalitu však nebyl statisticky průkazný u žádného kmene ($F=0,588$; $df=4;15$; $p=0,7092$). Také po 48 hodinách ($F=0,535$; $df=4;15$; $p=0,7468$) a 72 hodinách ($F=2,737$; $df=4;15$; $p=0,0522$) nebyl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl v celkové mortalitě dospělců po ošetření jednotlivými kmeny *L. lecanii*, nicméně kmeny P1, A45 a C1 způsobily opět nejnižší celkovou mortalitu v populaci dospělců svilušky, zejména pak kmen A45. Ke statisticky průkaznému rozdílu v ošetření dospělců svilušky vybranými kmeny došlo až po 96 hodinách ($F=8,853$; $df=4;15$; $p=0,0002$). Při porovnání mortality způsobené všemi kmeny vykázal největší účinek na dospělé kmen P1, kde mortalita dosáhla 33%, vyšší hodnoty byly zaznamenány také u kmenů I9 a A47. Kmeny A45 a C1 vykázaly v porovnání s ostatními kmeny velmi nízkou účinnost i po 144 hodinách. Analýza celkové mortality dospělců svilušky vykazovala průkazné rozdíly v rámci ošetření i po 144 hodinách ($F=35,242$; $df=4;15$; $p<0,0000$). Jako nejlepší kmeny s akaropatogenním účinkem se jeví kmen A47 a I9, neboť tyto kmeny způsobily nejen největší mortalitu v populaci dospělců, ale prodělaly i saprotrofní fázi svého vývoje až do fáze sporulace.

Tab. 24 a. Statistická analýza účinnosti kmenů entomopatogenní houby *L. lecanii* na dospělé svilušky chmelové *T. urticae*.

Parametr	Mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	175,9820	12,849**	1	818,7928	36,962***	1	4477,437	82,052***
Varianta	5	8,0527	0,588	5	11,8615	0,535	5	149,334	2,737
chyba	18	13,6962		18	22,1521		18	54,568	

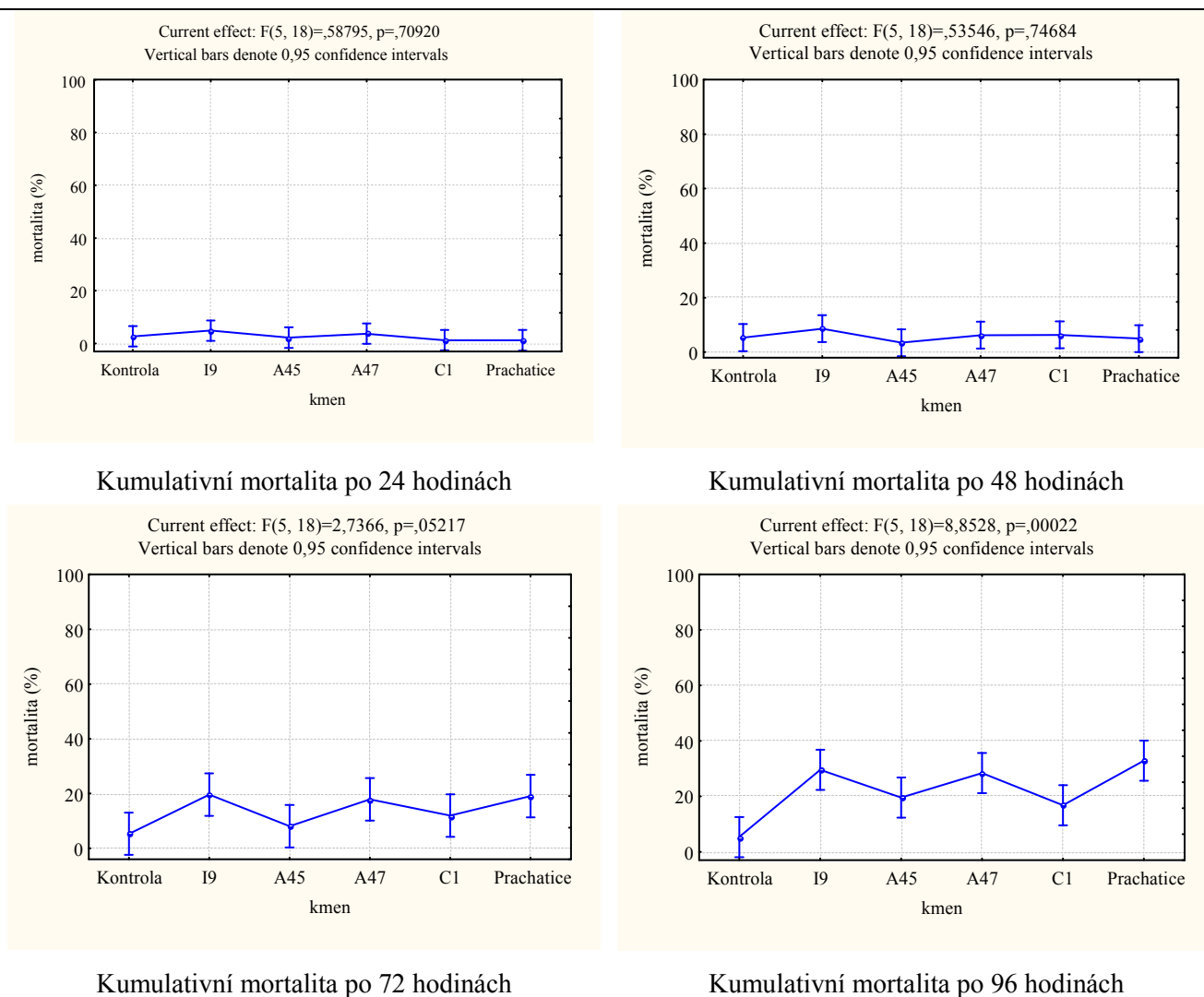
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

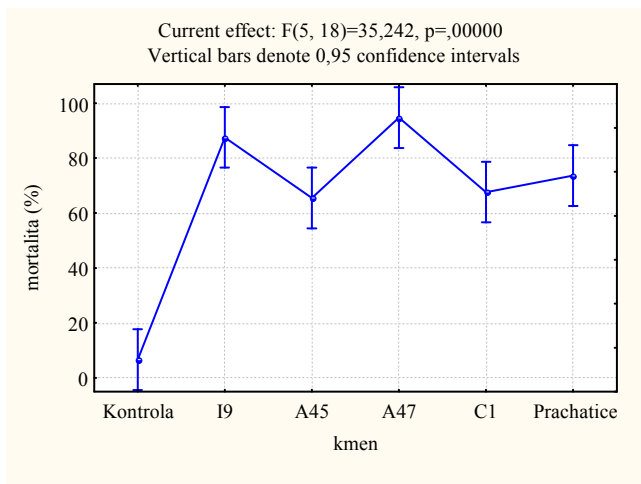
Tab. 24 b. Statistická analýza účinnosti kmenů entomopatogenní houby *L. lecanii* na dospělé svlušky chmelové *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	11690,86	246,3914***	1	104410,9	943,996***
Varianta	5	420,05	8,853***	5	3898,0	35,242***
chyba	18	47,45		18	110,6	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf. 3. Vliv vybraných kmenů entomopatogenní houby *L. lecanii* na mortalitu dospělých svlušky chmelové *T. urticae*.





Kumulativní mortalita po 144 hodinách

Tab. 25. Účinnost vybraných kmenů entomopatogenní houby *L. lecanii* na synchronizovanou populaci vajíček svlušky chmelové *T. urticae*.

	Celkový počet vajíček	72 hod			144 hod		
CTRL	18,94±13,56 302	0,0±0,0 (0%;0)	b	0,00±0,0000	11,95±13,56 (4,29%; 0,81)	c	0,05±0,2122
I9	18,94±7,33 303	29,17±11,86 (29,17%; 4,50)	a	0,36±0,6463	53,34±9,82 (64,31%; 12,19)	a	1,44±1,1408
A45	17,63±7,64 282	13,78±9,94 (5,67%; 1,00)	b	0,08±0,3213	36,97±11,47 (36,14%; 6,38)	b	0,70±0,9820
A47	15,06±6,78 241	31,29±11,84 (26,95%; 4,06)	a	0,40±0,6779	49,90±13,70 (58,46%; 8,81)	a	1,33±1,1499
Vertalec® (C1)	13,63±7,90 218	7,79±8,68 (1,83%; 0,25)	b	0,03±0,1741	26,04±9,02 (19,25%; 2,63)	bc	0,42±0,8909
Mycotal® (F6)	27,88±14,714 46	7,20±5,59 (1,57%; 0,44)	b	0,02±0,1243	35,99±8,19 (34,50%; 9,63)	b	0,44±0,6321
P1	29,06±16,104 65	7,05±5,34 (1,50%; 0,44)	b	0,02±0,1322	34,80±7,26 (32,55%; 9,75)	b	0,43±0,6187
I 24	30,19±16,614 83	8,68±8,18 (2,28%; 0,69)	b	0,02±0,1492	56,83±7,50 (70,02%; 21,06)	a	1,08±0,7899
I 25	22,75±14,083 66	7,97±7,64 (1,92%; 0,44)	b	0,02±0,1487	48,77±11,20 (56,51%; 12,94)	a	0,77±0,7267
I 26	34,00±19,045 44	13,81±8,15 (5,69%; 1,94)	b	0,06±0,2411	49,08±8,53 (57,05%; 19,13)	a	0,77±0,7075
I 30	44,69±43,327 15	8,33±7,62 (2,10%; 0,94)	b	0,02±0,1655	56,05±15,37 (68,76%; 30,75)	a	0,95±0,7104
I 34	30,94±17,054 95	14,96±11,15 (6,66%; 2,06)	b	0,15±0,5967	49,83±17,24 (58,34%; 18,06)	a	1,05±0,9980
I 36	38,06±20,386 09	11,45±5,54 (3,94%; 1,50)	b	0,05±0,2557	52,96±9,40 (63,67%; 24,25)	a	0,95±0,8165

a,b,c, Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin(\sqrt{\text{počet všech mrtvých vajíček} / \text{celkový počet všech vajíček}}$)]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých vajíček jsou uvedeny v závorkách.

Ovicidní účinek houby *Lecanicillium lecanii* na vajíčka svlušky chmelové byl zjišťován po aplikaci 12 kmenů. Po 72 hodinách vykázaly kmeny I9 a A47 nejvyšší účinnost, způsobily mortalitu přesahující 26%. U ostatních kmenů byla zaznamenána výrazně nižší mortalita, která se pohybovala v rozmezí od 1,50% do 6,66%. Analýzou rozptylu na hladině významnosti $\alpha=0,05$ bylo prokázáno, že vliv aplikace kmenů na mortalitu vajíček svlušky chmelové byla statisticky průkazná ($F=20,571$; $df=12;195$; $p<0,0000$). Po 144 hodinách byla zjištěna vyrovnanější účinnost testovaných kmenů.

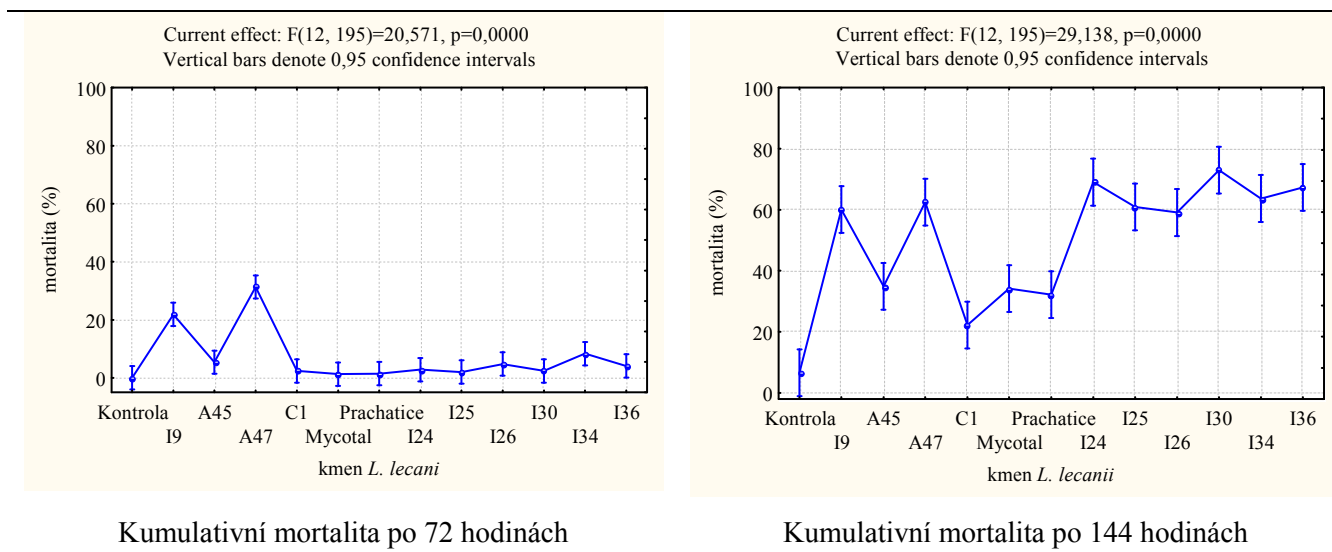
Všechny kmeny odizolované z *Ips typographus* vykázaly vyšší účinnost v porovnání s kmeny C1 a F6, které byly re-izolovány z komerčně využívaných biopreparátů Vertalec® a Mycotal® na bázi houby *L. lecanii*. I vyšší indexy stavu populace po aplikaci kmenů odizolovaných z kůrovce naznačují, že tyto kmeny jsou schopny prodělat celý vývojový cyklus na vajíčkách svlušky chmelové tj. kmeny jsou schopny prodělat jak parazitickou tak i saprotrofní fázi jejich vývoje. ISP vyšší než 1,00, který odpovídá stavu populace svlušky přecházející do saprotrofní fáze vývoje, byl zaznamenán u kmenů I9, I24, I34 a A47. Nejvyšší hodnota byla vyhodnocena u kmene I9 (ISP = 1,44). Účinnost i schopnost vyvolat zjevnou infekci byla statisticky průkazná po 144 hodinách (F=29,138; df=12;195; p<0,0000).

Tab. 26. Statistické hodnocení kurativní formy aplikace kmenů entomopatogenní houby *L. lecanii* na synchronizovanou populaci vajíček svlušky chmelové *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita			Arc sin mortalita		
	72 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	9529,542	143,101***	1	512510,4	2121,256***
Varianta	12	1369,888	20,571***	12	7039,9	29,138***
chyba	195	66,593		195	241,6	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf. 4. Hodnocení vlivu vybraných kmenů entomopatogenní houby *L. lecanii* na mortalitu svlušky chmelové *T. urticae* po ošetření věkově synchronizované populace vajíček.



5.1.6.3. Porovnání vlivu vybraných kmenů entomopatogenní houby *Metarhizium anisopliae* na mortalitu dospělců a vajíček *T. urticae*.

Tab. 27. Účinnost vybraných kmenů entomopatogenní houby *M. anisopliae* na dospělé svilušky chmelové *T. urticae*.

	počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod
Kontrola	20,50±0,87	0,0±0,0 (0%;0)	a 8,98±6,30 (2,44%;0,50)	a 14,30±7,89 (6,09%;1,25)	b 15,69±8,34 (7,31%;1,50)	b 16,99±8,57 (8,53%;1,75)
M063	21,00±1,22	6,26±5,33 (1,19%;0,25)	a 15,50±8,20 (7,14%;1,50)	a 26,74±5,25 (20,22%;4,25)	ab 32,31±6,69 (28,55%;6,00)	ab 60,79±5,35 (76,14%;16)
M065	20,25±1,09	0,0±0,0 (0%;0)	a 17,10±2,14 (8,63%;1,73)	a 21,62±1,92 (13,57%;2,75)	ab 37,49±7,14 (37,00%;7,50)	a 61,87±2,33 (77,73%;15,75)
M066	21,00±1,00	8,88±6,31 (2,38%;0,50)	a 16,78±9,12 (8,33%;1,75)	a 30,78±5,62 (26,17%;5,50)	a 42,27±8,33 (45,20%;9,50)	a 59,22±3,94 (73,76%;15,50)
M072	21,00±2,45	6,26±5,74 (1,19%;0,25)	a 16,78±9,36 (8,33%;1,75)	a 26,74±4,96 (20,22%;4,25)	a 39,51±4,49 (40,44%;8,50)	a 60,00±5,36 (74,95%;15,75)
M082	19,75±2,86	6,46±6,27 (1,26%;0,25)	a 20,84±4,35 (12,65%;2,50)	a 31,85±1,22 (27,82%;5,50)	a 39,53±1,13 (40,47%;8,00)	a 54,22±18,26 (65,78%;13,00)

a,b,c., Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty $[\arcsin\sqrt{(\text{počet všech mrtvých svilušek} / \text{celkový počet všech svilušek})}]$. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svilušek jsou uvedeny v závorkách.

Entomopatogenní houba *M. anisopliae* prokázala akaropatogenní účinek na dospělé svilušky chmelové. Všechny testované kmeny houby *M. anisopliae* vykázaly v počáteční fázi experimentu (24 hodin) velmi nízký účinek na dospělé svilušky chmelové a nebyl zaznamenán žádný statistický rozdíl ($F=29,138$; $df=12;195$; $p<0,0000$). Mortalita se pohybovala pouze v rozmezí od 0 do 2,38%. Po 48 hodinách byly sledovány srovnatelné hodnoty u jednotlivých kmenů *M. anisopliae*, s výjimkou kmene M082, který vykázal o více než 3% vyšší mortalitu. Ani po 48 hodinách nebyla zaznamenána žádná statistická odlišnost ($F=1,466$; $df=5;18$; $p=0,2494$). K statisticky průkazným rozdílům došlo až 3 den ($F=6,255$; $df=5;18$; $p=0,0016$) a 4 den ($F=6,767$; $df=5;18$; $p=0,0010$), kdy kmeny M063 a M065 vykazovaly nižší akaropatogenní účinek ve srovnání s ostatními testovanými kmeny. Po 144 hodinách nebyl opět statisticky průkazný rozdíl v mortalitě dospělců svilušky ($F=40,896$; $df=5;18$; $p<0,0000$). Mortalita se v tuto testovanou hodinu pohybovala v rozmezí od 66% do 78%. Na konci pokusu všechny kmeny vykazovaly index stavu populace nižší než 1,5, což naznačuje, že kmeny prodělávaly pouze parazitickou fázi vývojového cyklu. V kontrolní variantě byla po 144 hodinách zaznamenána pouze 8,5% mortalita.

Tab. 28 a. Statistické hodnocení kumulativní mortality dospělců svilušky chmelové po aplikaci vybraných kmenů entomopatogenní houby *M. anisopliae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	27,31534	5,559*	1	1540,184	50,317***	1	8881,956	203,151***
Varianta chyba	5	3,46394	0,705	5	44,888	1,466	5	273,489	6,255**
	18	4,91392		18	30,610		18	43,721	-

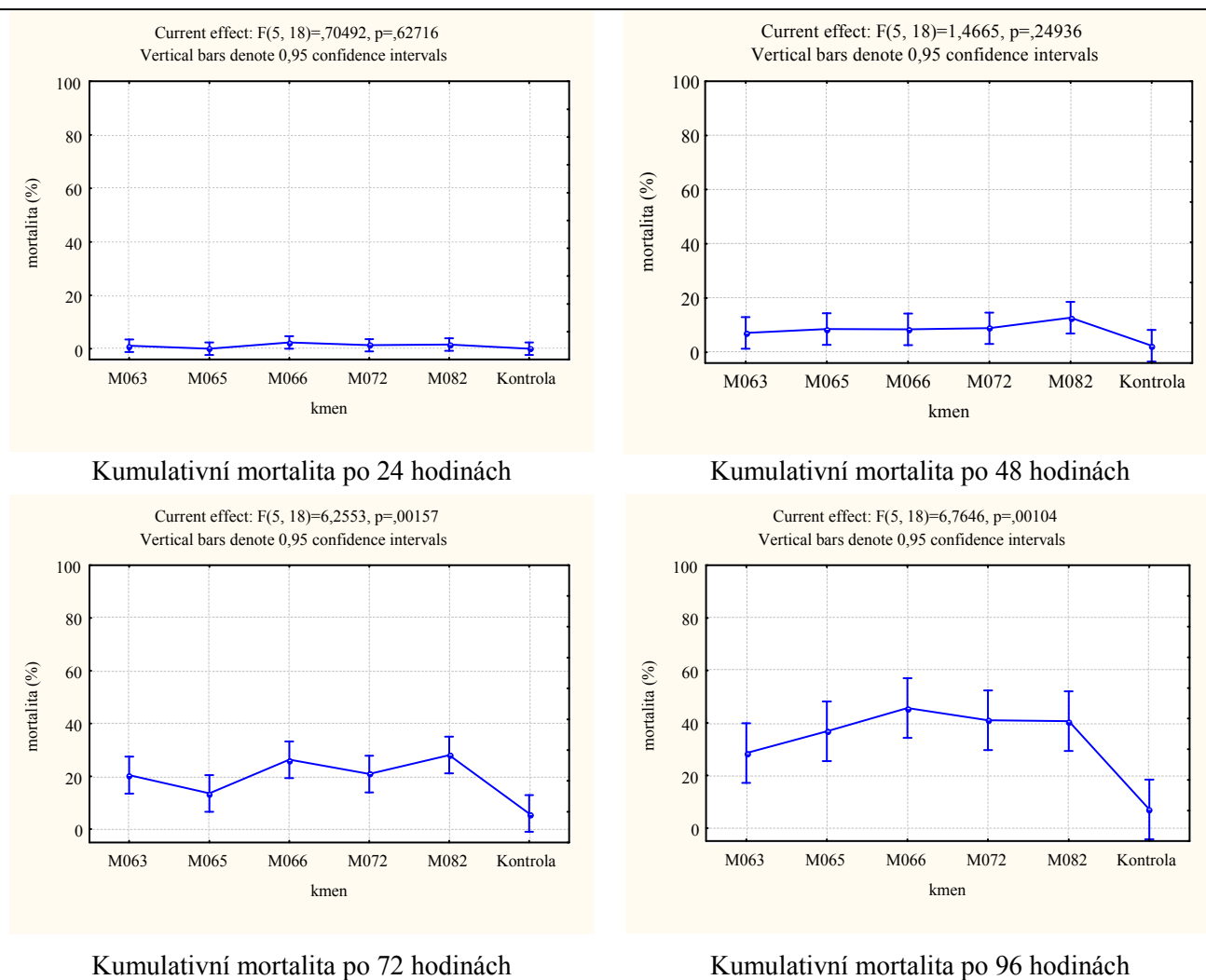
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

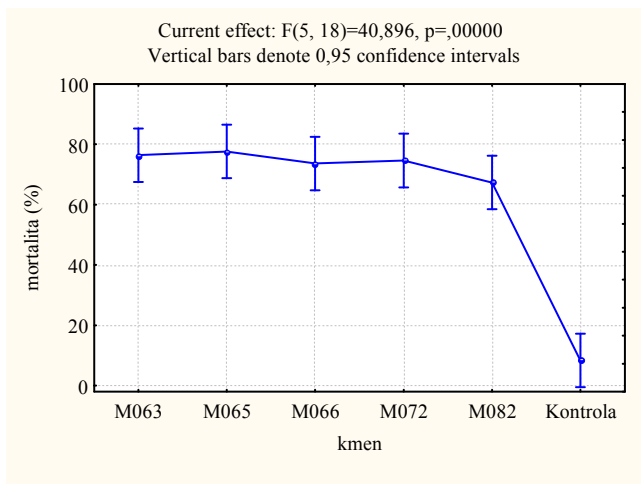
Tab. 28 b. Statistické hodnocení kumulativní mortality dospělců svlušky chmelové po aplikaci vybraných kmenů entomopatogenní houby *M. anisopliae*.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	26658,06	228,267***	1	95227,12	1334,131***
Varianta	5	790,00	6,767**	5	2919,09	40,896***
chyba	18	116,78		18	71,38	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf. 5. Kumulovaná mortalita v populaci svlušky chmelové *T. urticae* po ošetření dospělců vybranými kmeny entomopatogenní houby *M. anisopliae*.





Kumulativní mortalita po 144 hodinách

Tab. 29. Vliv kmenů entomopatogenní houby *Metarhizium anisopliae* na mortalitu v populaci svlušky chmelové *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček

	počet	72 hod		144 hod		
Kontrola	32,81±20,03 525	8,70±6,49 (2,28%;0,75)	b	0,02±0,1509 10,97±7,12 (3,62%;1,19)	c	0,04±0,1889
M063	31,50±16,86 504	35,14±16,43 (33,11%;10,44)	a	0,39±0,5654 43,98±10,83 (48,18%;15,19)	b	0,95±1,0592
M065	25,13±10,86 402	43,86±14,06 (47,97%;12,06)	a	0,67±0,7292 54,28±11,58 (65,87%;16,56)	ab	1,58±1,2206
M066	17,75±6,85 290	36,61±11,43 (35,53%;6,31)	a	0,50±0,6614 56,61±12,43 (69,67%;12,38)	ab	1,78±1,2599
M072	25,63±13,79 410	46,26±8,65 (52,15%;13,38)	a	0,76±0,7548 56,94±11,93 (70,20%;18,0)	a	1,87±1,2925
M082	18,81±7,92 301	40,51±13,42 (42,16%;7,94)	a	0,56±0,6317 49,68±11,49 (58,10%;10,94)	ab	1,63±1,4085

a,b,c., Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{\text{počet všech mrtvých vajíček} / \text{celkový počet všech vajíček}}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých vajíček jsou uvedeny v závorkách.

Tab. 30. Statistické hodnocení účinnosti kmenů entomopatogenní houby *M. anisopliae* na mortalitu v populaci svlušky chmelové *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček.

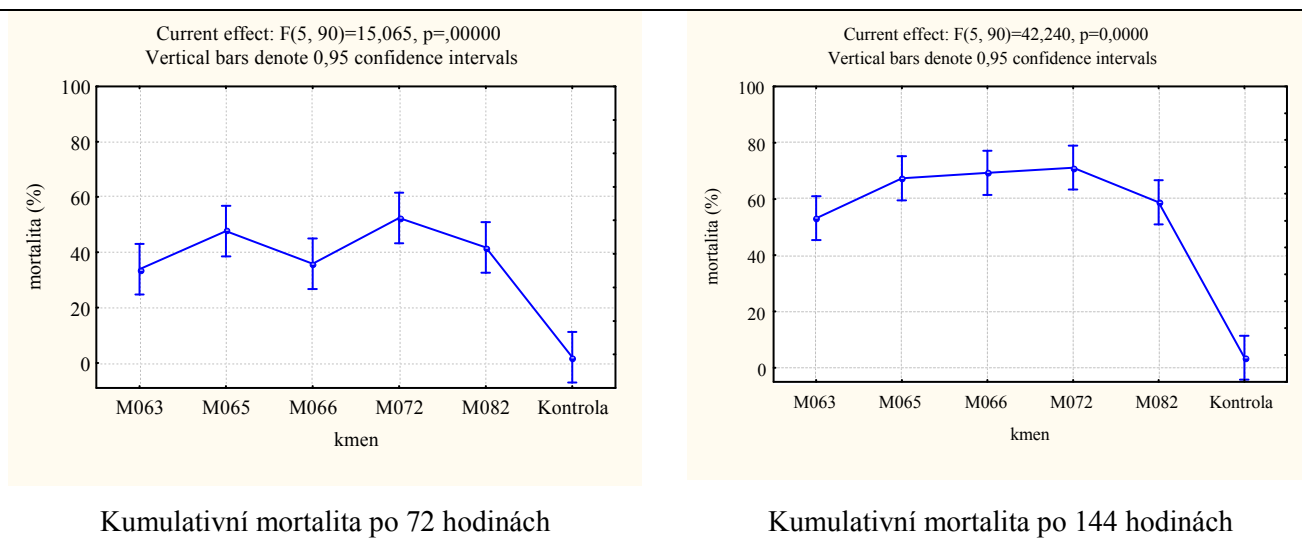
Parametr	Arc sin mortalita					
	72 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	121918,3	359,904***	1	278696,9	1126,051***
Varianta	5	5103,2	15,065***	5	10454,4	42,240***
chyba	90	338,8		90	247,5	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Ovicidní účinek kmenů *Metarhizium anisopliae* na vajíčka svlušky chmelové byl opět sledován po 72 a 144 hodinách. Všechny kmény vykazaly srovnatelnou účinnost po 72 hodinách ($F=15,065$; $df=5;90$; $p<0,0000$), mortalita se v populaci vajíček pohybovala od 33% do 52%. V kontrolní variantě byla zaznamenána mortalita pouze u 2% vajíček. Po 144 hodinách došlo již k odlišení účinnosti testovaných kmenů, což bylo prokázáno statistickou analýzou dat ($F=42,240$; $df=5;90$; $p<0,0000$). Kmény M072 a M066 způsobily mortalitu kolem 70%. Nejnižší ovicidní účinek byl prokázán po aplikaci kmene M063, byla sledována mortalita pouze 48% vajíček, u kterých

prodělával patogen jen parazitickou fází vývoje, zatímco po aplikaci ostatních kmenů byla zaznamenána již zjevná infekce na povrchu vajíček.

Graf. 6. Hodnocení vlivu vybraných kmenů entomopatogenní houby *M. anisopliae* na mortalitu svílušky chmelové *T. urticae* po ošetření věkově synchronizované populace vajíček.



5.1.6.4. Porovnání vlivu vybraných kmenů entomopatogenní houby *Paecilomyces fumosoroseus* na mortalitu dospělců a vajíček *T. urticae*.

Pomocí standardního biotestu na listových discích fazolu obecného byl testován účinek a vliv vybraných kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu dospělců svílušky *T. urticae*. Mortalita dospělců byla stanovována v 24 hodinovém intervalu po dobu 4 dnů, poslední hodnocení proběhlo po 144 hodinách.

Vliv ošetření nebyl statisticky významný v prvních dvou dnech trvání testu. Po 24 hodinách byly zaznamenány pouze nízké hodnoty, vyšší účinnost byla jen u kmenů PFR 97 a A48, u kterých mortalita přesáhla 5%. Při druhém hodnocení vykazoval kmen PFR 97 rychlejší vývoj, naopak zaostával kmen I10. Po 72 hodinách již byl vliv ošetření statisticky významný ($F=6,487$; $df=7;24$; $p=0,0002$), nevyšší mortalita byla sledována opět u kmene PFR 97, nejpomaleji se stále vyvíjel kmen I10. Po 144 hodinách byla nejnižší mortalita zaznamenána u kmene PFR 97, méně než 50% bylo sledováno také po ošetření kmenem I10. Nejvyšší kumulovaná mortalita byla zapříčiněna ošetřením kmeny A102 (73,76%) a A48 (69,57%). V kontrolní variantě dosáhla mortalita 5%.

Vývoj entomopatogenních hub na dospělcích svílušky chmelové, vyjádřený indexem stavu populace (ISP), nedospěl v době ukončení testu u žádného kmene do hodnoty 1,0 (přechod z parazitické do saprotrofní fáze vývoje). Nejvíce se přibližoval kmen A48 (ISP = 0,98) a A102 (ISP = 0,95). Účinnost testovaných kmenů na mortalitu dospělců svílušky byla statisticky průkazná ve všech sledovaných intervalech (Tab. 32 a, b).

Tab. 31. Účinnost vybraných kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na dospělé svlušky chmelové *T. urticae*.

	počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod
Kontrola	19,75±3,03	9,16±6,57 (2,53%;0,50)	a 9,16±6,57 (2,53%;0,50)	b 11,24±5,91 (3,79%;0,75)	b 11,24±5,91 (3,79%;0,75)	b 13,00±7,17 (5,06%;1)
PFR 97	23,75±3,77	13,26±8,07 (5,26%;1,25)	a 24,23±4,29 (16,83%;4,00)	a 34,19±5,64 (31,55%;7,50)	a 39,23±4,43 (39,97%;9,50)	a 43,17±6,25 (46,77%;11,00)
A48	19,75±2,05	13,00±6,57 (5,06%; 1,00)	a 16,00±8,32 (7,59%; 1,50)	ab 21,91±6,40 (13,91%; 2,75)	b 33,45±8,83 (30,35%; 6,00)	a 56,55±5,88 (69,57%; 13,75)
A66	18,00±1,22	0,0±0,0 (0,0%;0)	a 16,78±8,79 (8,33%; 1,50)	ab 23,01±3,01 (15,26%; 2,75)	b 27,16±4,98 (20,81%; 19,75)	ab 51,42±12,18 (61,07%;11,00)
A102	21,00±0,71	10,89±7,93 (3,57%; 0,75)	a 15,50±11,39 (7,14%;1,50)	ab 23,17±6,98 (15,46%; 3,25)	b 33,80±7,14 (30,92%; 6,50)	a 59,22±8,48 (73,76%; 15,50)
I2	21,50±1,12	8,77±6,31 (2,32%; 0,50)	a 17,76±9,14 (9,29%;2,00)	ab 23,80±4,37 (16,26%; 3,50)	ab 33,36±6,56 (30,21%; 6,50)	a 51,72±4,12 (61,58%; 13,25)
I4	19,75±3,27	6,46 ±5,00 (1,26%; 0,25)	a 13,00±6,88 (5,06%; 1,00)	ab 17,32±2,94 (8,85%; 1,75)	b 29,37±7,37 (24,03%; 4,75)	ab 54,22±4,96 (65,78%; 13,00)
I10	19,25±0,83	6,54±5,59 (1,30%; 0,25)	a 9,27±6,64 (2,59%; 0,50)	b 13,17±7,07 (5,19%; 1,00)	b 25,24±3,89 (18,16%; 3,50)	ab 43,88±3,37 (48,01%; 9,25)

a,b,c.,Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{\text{počet všech mrtvých svlušek/ celkový počet všech svlušek}}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svlušek jsou uvedeny v závorkách.

Tab. 32 a. Statistické hodnocení účinnosti kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu v populaci dospělých svlušky chmelové *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	237,0033	18,672***	1	1751,036	49,254***	1	6025,272	130,550***
Varianta	7	16,5961	1,308	7	84,909	2,388	7	299,380	6,487***
chyba	24	12,6932		24	35,551		24	46,153	

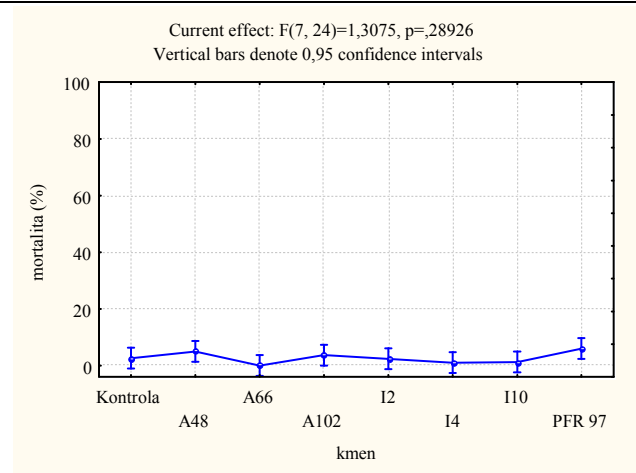
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Tab. 32 b. Statistické hodnocení účinnosti kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu v populaci dospělých svlušky chmelové *T. urticae*.

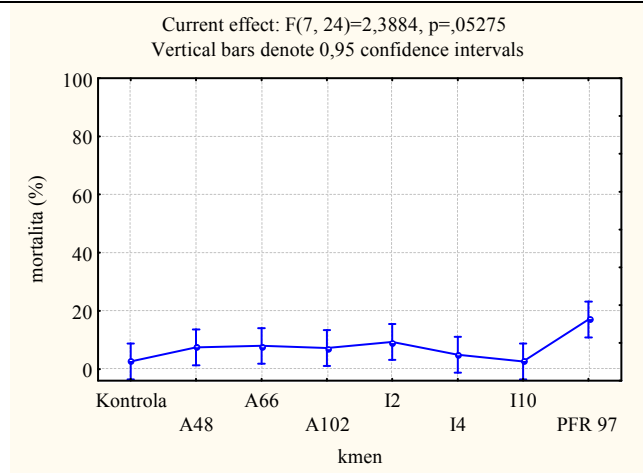
Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	19497,04	176,840***	1	93768,72	637,088***
Varianta	7	476,18	4,319**	7	1887,17	12,822***
chyba	24	110,25		24	147,18	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

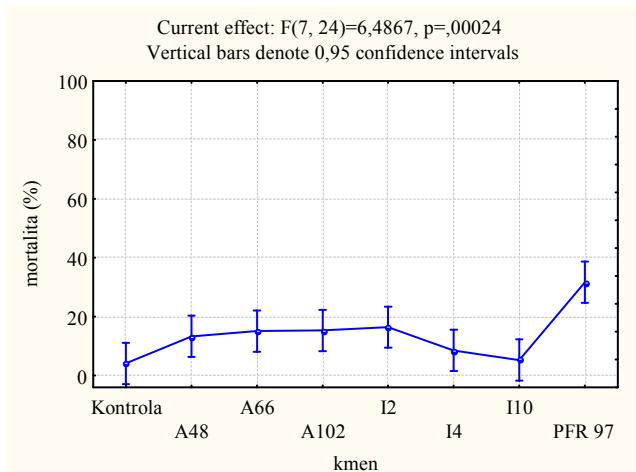
Graf. 7. Hodnocení vlivu vybraných kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu dospělců svlušky chmelové *T. urticae*.



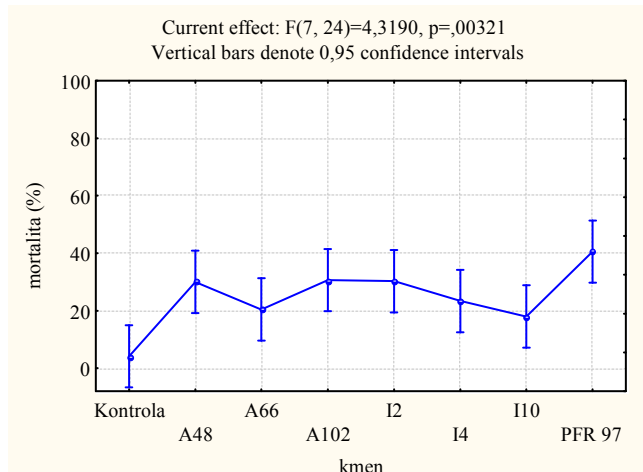
Kumulativní mortalita po 24 hodinách



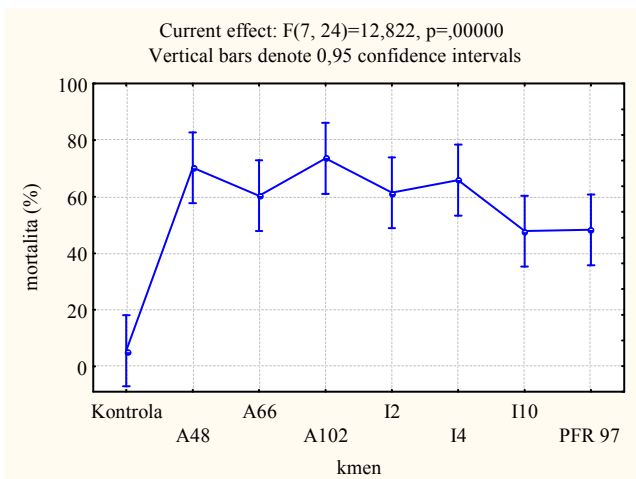
Kumulativní mortalita po 48 hodinách



Kumulativní mortalita po 72 hodinách



Kumulativní mortalita po 96 hodinách



Kumulativní mortalita po 144 hodinách

Tab. 33. Vliv vybraných kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu v populaci svlušky chmelové *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček.

	počet	72 hod		144 hod			
CTRL	14,56±4,55 233	0,0±0,0 (0%;0)	b	0,00±0,0327	6,52±5,47 (1,29%;0,19)	c	0,02±0,1171
PFR 97	14,75±5,63 236	17,78±12,71 (9,31%;1,38)	ab	0,14±0,4603	43,06±9,86 (46,57%;6,88)	abc	1,29±1,4281
A48	17,50±5,85 280	6,86±5,97 (1,43%; 0,25)	b	0,02±0,1540	47,25±13,78 (53,89%; 9,44)	ab	0,69±0,6600
A66	13,25±5,81 212	23,61±15,34 (16,02%; 2,13)	a	0,23±0,5191	46,62 ±14,78 (52,79%; 7,00)	ab	0,69±0,6780
A102	10,63±6,35 170	17,28±13,32 (8,81%; 0,94)	ab	0,12±0,3932	51,11±41,24 (60,54%; 6,44)	a	1,03±0,8783
I2	10,75±3,88 172	4,37±4,46 (0,58%; 0,06)	b	0,01±0,0848	52,07±22,39 (62,12%; 6,69)	a	1,16±1,0169
I4	11,75±4,53 188	0,0±0,0 (0%;0)	b	0,00±0,0000	31,04±16,90 (26,57 %;3,13)	bc	0,39±0,6817
I10	11,19±4,67 179	10,55±10,32 (3,35%; 0,38)	b	0,04±0,2438	53,28±12,85 (64,20%; 7,19)	a	1,13±0,9721

a,b,c., Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřený jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{(\text{počet všech mrtvých vajíček} / \text{celkový počet všech vajíček})}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých vajíček jsou uvedeny v závorkách.

Pomocí standardního biotestu na listových discích fazolu obecného byl testován účinek a vliv vybraných kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu vajíček svlušky *T. urticae*. Mortalita vajíček byla stanovována po 72 a 144 hodinách.

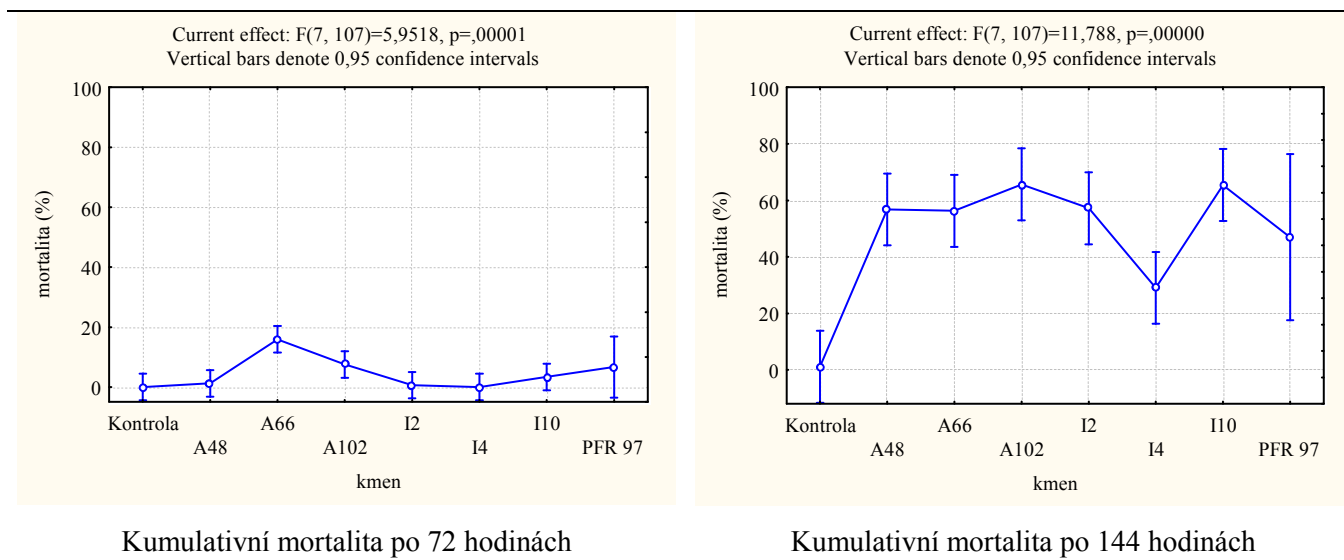
Po 72 hodinách ($F=5,952$; $df=7;107$; $p=0,0000$) i 144 hodinách ($F=11,788$; $df=7;107$; $p<0,0000$) byl vliv ošetření statisticky významný. Při prvním hodnocení byla vyšší mortalita sledována po ošetření houbou *P. fumosoroseus* kmen A102 (8,81%), kmen PFR 97 (9,31%) a A66 (16,02%). U těchto kmenů byl také zaznamenán rychlejší vývoj patogena vyjádřený indexem stavu populace (ISP). Po 144 hodinách přesáhla kumulativní mortalita 60% u kmenů A102, I2 a I10, více jak 50% mrtvých vajíček bylo sledováno také po ošetření kmeny A48 a A66. Nejnižší mortalita byla zaznamenána u kmene I4, u této varianty byl dosažen nejnižší ISP. ISP více jak 0,50, odkazující na viditelné změny hostitele, byl překročen u kmenů A48 a A66, u ostatních sledovaných kmenů byla překročena hodnota $ISP = 1,0$ (přechod z parazitické na saprotrofní fázi vývoje).

Tab. 34. Statistické hodnocení účinnosti kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu v populaci svlušky chmelové *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	1615,772	20,306***	1	185649,1	281,444***
Varianta	7	473,593	5,952***	7	7775,6	11,788***
chyba	107	79,571		107	659,6	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf. 8. Porovnání vlivu vybraných kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu svlušky chmelové *T. urticae* po ošetření věkově synchronizované populace vajíček.



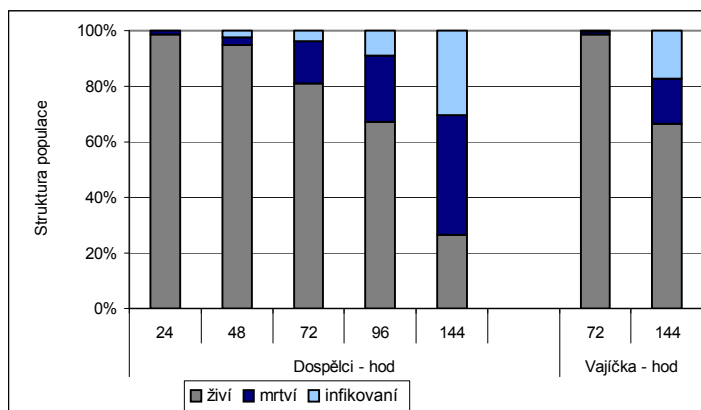
5.2. Změny parametrů vitality a akaropatogenity indukované kontinuálním pasážováním entomopatogenních hub přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium.

5.2.1. Změny parametrů vitality a akaropatogenity indukované kontinuálním pasážováním kmene P1 entomopatogenní houby *Lecanicillium lecanii* přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium.

Pomocí standardního laboratorního *in vitro* testu byla hodnocena klíčivost kmenů odvozených od matečného kmene P1 houby *L. lecanii* a zároveň byla parametrizována i rychlost vývoje jednotlivých kmenů v podmínkách *in vitro* (průměrný IVP). V podmínkách *in vivo* byly sledovány změny ve struktuře populací dospělců svlušky *T. urticae* ošetřených suspenzí konidií entomopatogenní houby referenčního kmene P1 houby *L. lecanii* a stejné parametry byly stanoveny i pro kmeny odvozené od kmene P1, ale lišících se opakovaným pasážováním přes vybrané druhy přirozených hostitelů (molice skleníková, svluška chmelová a mšice bavlníková), přirozený substrát (pšeničné otruby) a umělé živné médium (PDA). Pomocí trendu vývoje průměrných hodnot ISP byla pro každý kmen stanovena též doba (hod) nutná pro dosažení průměrného ISP 1,5. Pomocí standardního laboratorního biotestu na vajíčkách svlušky *T. urticae* byl vyhodnocen ovicidní účinek původního kmene a kmenů záměrně ovlivněných kontinuálním pasážováním a současně byl sledován i vývoj těchto kmenů na vajíčkách svlušky *T. urticae*. Standardní laboratorní *in vivo* biotestu byl použit pro charakterizaci rychlosti vývoje jednotlivých kmenů na dospělcích a vajíčkách svlušky *T. urticae*, přičemž detailně byly sledovány a zaznamenány jednotlivé fáze zjevného výskyt patogena a jeho vývoj na povrchu vajíček a infikovaných dospělců svlušky chmelové (index 1,5 – 3,0)

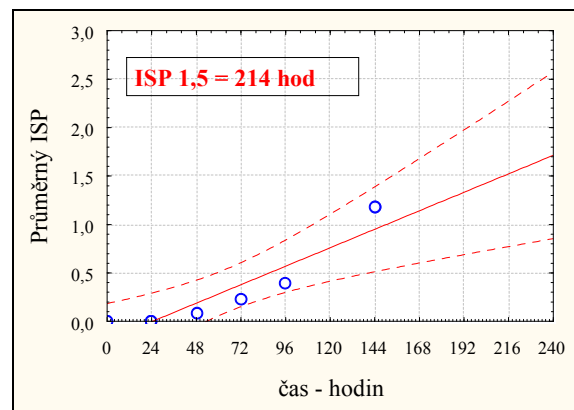
Char. 22. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen P1 – referenční (nepasážovaný) kmen

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen P1



Klíčivost (24 hod) 100 %
 IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen P1 (dospělci; $Lle - P1 = -0,1936 + 0,0079 * x$)

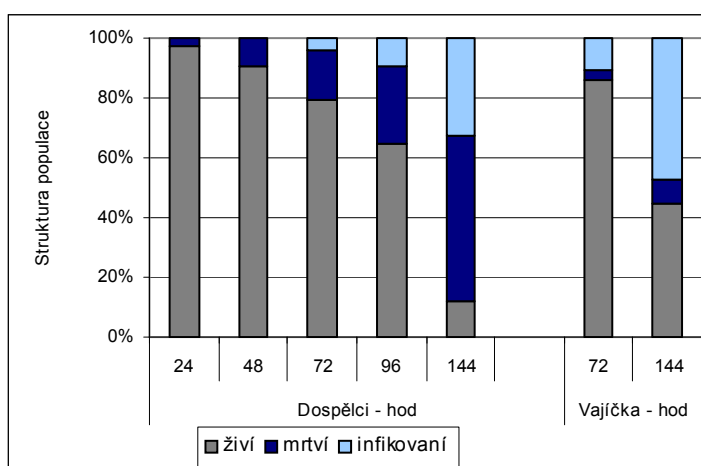


ISP vajíčka (72 hod) 0,02 ± 0,1322
 ISP vajíčka (144 hod) 0,42 ± 0,6130

Při charakterizaci výchozího kmene houby *L. lecanii* kmen P1 byli první infikovaní dospělci svlušky chmelové zaznamenáni po 72 hodinách, přičemž u některých jedinců (1,27%) byla zaznamenána fáze tvorby myceliální sítě (ISP 2,0). Po 144 hodinách byla pozorována sporulace na těle 16,46% dospělců (index 3,0). Při hodnocení vývoje kmen P1 houby *L. lecanii* na vajíčkách svlušky bylo při prvním hodnocení zaznamenáno 0,22% infikovaných jedinců (index 1,5). V době ukončení testu nebyla na povrchu vajíček zaznamenána fáze sporulace patogena (indexy 2,5 a 3,0).

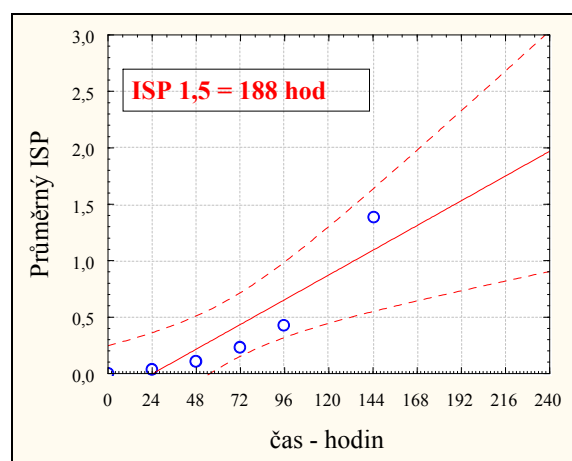
Char. 23. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen P1 – 102 (pupária molice skleníkové *Trialeurodes vaporariorum* – 220x, svluška chmelová – 10x)

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen P1 - 102



Klíčivost (24 hod) 100 %
 IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen P1-102 (dospělci; $102 = -0,2227 + 0,0091 * x$)



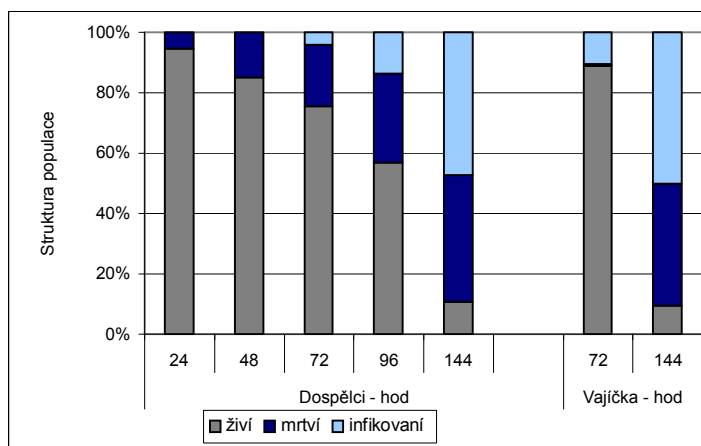
ISP vajíčka (72 hod) 0,21 ± 0,5526
 ISP vajíčka (144 hod) 1,29 ± 1,3126

U populace vajíček svlušky chmelové ovlivněné houbou *L. lecanii* kmen P1 - 102 bylo po 72 hodinách zaznamenáno vyšší procento viditelně infikovaných jedinců (10,44%), na části vajíček

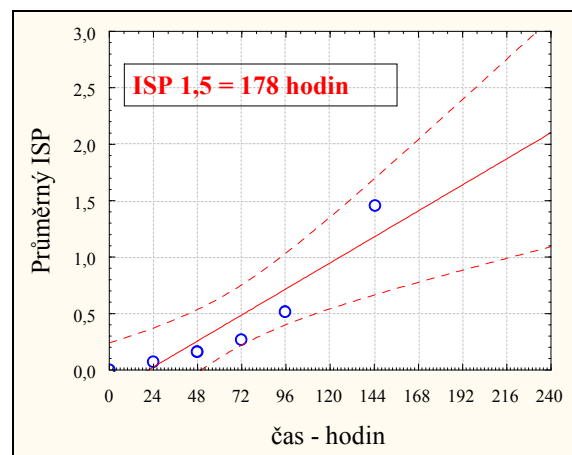
(4,70%) se již objevila myceliální síť. V době ukončení testu byla zaznamenána sporulace na 18,18% dospělců a ve stejné době byla sporulace sledována téměř u třetiny vajíček (32,64%).

Char. 24. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen P1– 103 (pupária molice skleníkové *Trialeurodes vaporariorum* – 230x)

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen P1 - 103



Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen P1–103 (dospělci; 103 = -0,2049+0,0096*x)



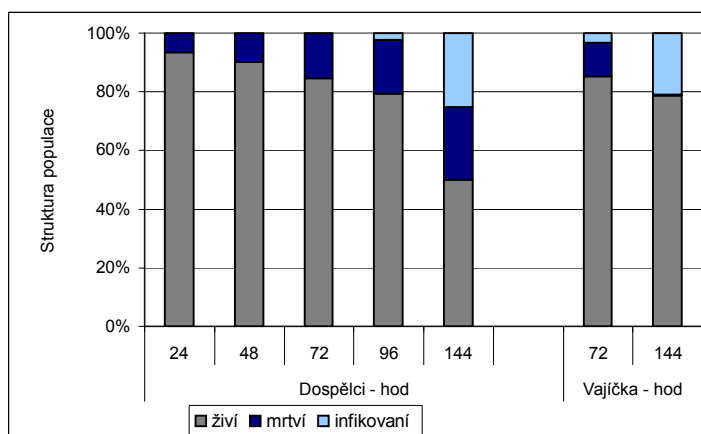
Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

ISP vajíčka (72 hod) 0,21 ± 0,5964
ISP vajíčka (144 hod) 1,66 ± 1,0197

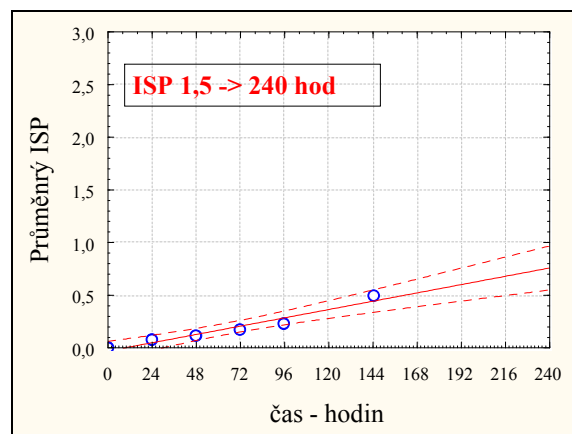
Při charakterizaci kmene P1-103 bylo po 72 hodinách zaznamenáno 4,05% infikovaných dospělců a v ovidním testu byla zaznamenána již i sporulace na povrchu vajíček (0,25%). Po 144 hodinách bylo u téže pasáže ohodnoceno indexem 3,0 (sporulace) nejvíce vajíček (33,13%).

Char. 25. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen P1– 106 (pupária molice skleníkové *Trialeurodes vaporariorum* – 220x, PDA 30x)

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen P1 - 106



Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen P1–106 (dospělci; 106=-0,0303 +0,0033 *x)



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

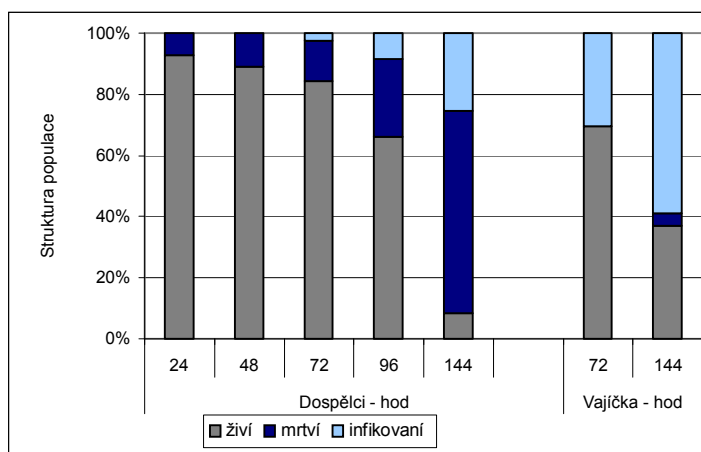
ISP vajíčka (72 hod) 0,17 ± 0,4042
ISP vajíčka (144 hod) 0,46 ± 0,9479

Při hodnocení akaropatogenního účinku houby *L. lecanii* kmen P1 - 106 nebyla po 72 hodinách zaznamenána zjevná infekce na povrchu sledovaných dospělců, indexem 1,5 bylo ve stejné době

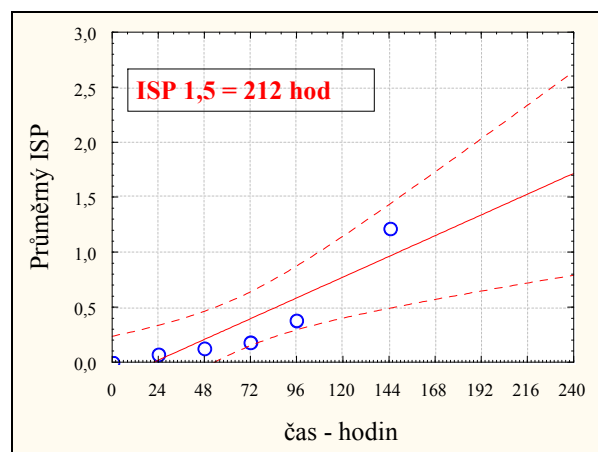
ohodnoceno 3,41% vajíček. V době ukončení testu byla sporulace sledována u 10,87% dospělců a u 9,39% vajíček.

Char. 26. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen P1– 111 (PDA 150x)

Struktura populace svilušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen P1 - 111



Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen P1 - 111 (dospělci; $I_{11} = -0,1716 + 0,0079 * x$)



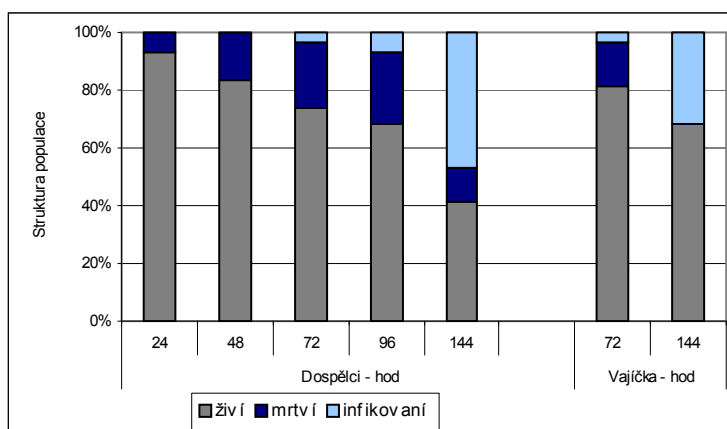
Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

ISP vajíčka (72 hod) $0,83 \pm 1,2829$
ISP vajíčka (144 hod) $1,71 \pm 1,4066$

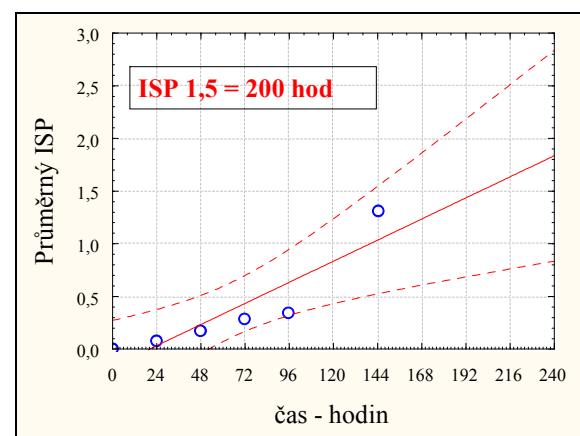
Při charakterizaci kmene P1 - 111 byl po 72 hodinách zaznamenán vysoký počet vajíček se sporující kulturou *L. lecanii* na povrchu vajíček (22,90%, index 2,5). Po 144 hodinách byla zaznamenána sporulace patogena na více než polovině sledovaných vajíček (52,34%).

Char. 27. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen P1– 112 (pupária molice skleníkové *Trialeurodes vaporariorum* – 240 x)

Struktura populace svilušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen P1 - 112



Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen P1–112 (dospělci; $I_{12} = -0,1674 + 0,0083 * x$)



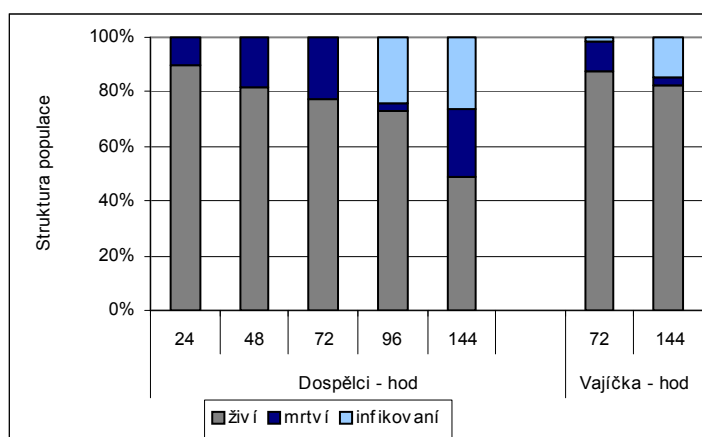
Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

ISP vajíčka (72 hod) $0,20 \pm 0,4325$
ISP vajíčka (144 hod) $0,70 + 1,1095$

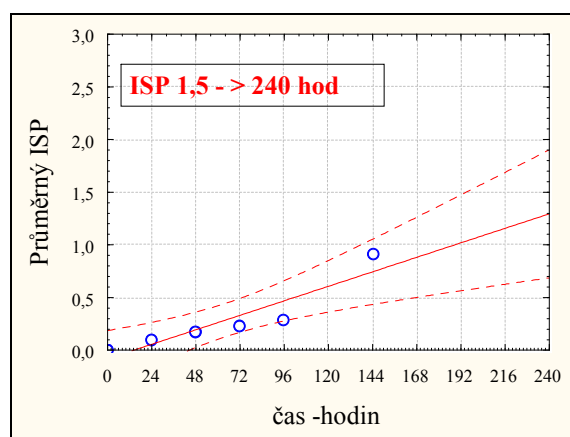
V době ukončení *in vivo* testů byla u kmene P1 - 112 houby *L. lecanii* zaznamenána nejvyšší hodnota dospělců se sporulujícím patogenem porůstajícím povrch jejich těla (29,41%). V ovidním biotestu byla sporulace zaznamenána na povrchu 14,92% vajíček.

Char. 28. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen P1– 113 (mšice bavlníková *A. gossypii* 180 x, PDA 150 x)

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen P1 - 113



Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen P1–113 (dospělci; $I_{13} = -0,0819 + 0,0057 \cdot x$)



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

ISP vajíčka (72 hod) 0,13 ± 0,3557
ISP vajíčka (144 hod) 0,34 ± 0,8205

V době ukončení testu byla u kmene P1-113 houby *L. lecanii* zaznamenána sporulace na povrchu 15,91% dospělců a 6,36% vajíček.

Tab. 35. Porovnání akaropatogenní účinnosti entomopatogenní houby *L. lecanii* pomocí parametru ISP – vliv pasážování na virulenci a vývoj kmenů odvozených od kmene P1

Poř.	Druh - kmen	ISP 1,50 ¹ (hod)
1.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen P1 - 103	178
2.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen P1 - 102	188
3.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen P1 - 112	200
4.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen P1 - 111	212
5.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen P1	214
6.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen P1 - 106	> 240
6.	<i>Lecanicillium lecanii</i> kmen P1 - 113	> 240

¹ Doba (hod) nutná pro dosažení průměrného ISP 1,5 (stanoveno pomocí grafu trendu vývoje ISP)

Nejrychlejší vývoj kmenů houby *Lecanicillium lecanii* odvozených od kmene P1 byl zaznamenán u kmenů 103 (pasážován přes molici) a 102 (pasážován přes molici a svlušku), naopak nejpomalejší vývoj (ISP 1,5 dosaženo za > 240 hod), byl zaznamenán u kmenů 106 (pasážován přes molici a PDA) a 113 (pasážován přes mšici a PDA).

Tab. 36. Vliv pasážování na akaropatogenní účinnost kmenů houby *Lecanicillium lecanii* - analýza struktury populace *T. urticae* v kategorii infikovaní jedinci (% jedinců hodnocených indexy >1,0)

<i>L. lecanii</i>	Dospělci <i>T. urticae</i>		Vajíčka <i>T. urticae</i>	
	Infikovaní jedinci ^I (%, 72 h)	Sporulace ^{II} (%, 144 h)	Infikovaní jedinci ^I (%, 72 h)	Sporulace ^{II} (%, 144 h)
kmen P1 - 113	0 (0 + 0 + 0 + 0)	15,91	1,68 (1,68 + 0 + 0 + 0)	6,36
kmen P1 - 106	0 (0 + 0 + 0 + 0)	10,87	3,41 (3,41 + 0 + 0 + 0)	9,39
kmen P1 - 111	2,41 (2,41 + 0 + 0 + 0)	8,43	30,38 (1,56 + 5,92 + 0 + 22,90)	52,34
kmen P1 - 112	3,53 (3,53 + 0 + 0 + 0)	29,41	3,53 (3,53 + 0 + 0 + 0)	14,92
kmen P1	3,80 (2,53 + 1,27 + 0 + 0)	16,46	0,22 (0,22 + 0 + 0 + 0)	0
kmen P1 - 102	3,90 (3,90 + 0 + 0 + 0)	18,18	10,44 (5,74 + 4,70 + 0 + 0)	32,64
kmen P1 - 103	4,05 (4,05 + 0 + 0 + 0)	16,22	10,59 (2,37 + 7,97 + 0 + 0,25)	33,13

^I. % celkem infikovaných jedinců (z toho % jedinců hodnocených indexy 1,5 + 2,0 + 2,5 + 3,0)

^{II}. % jedinců v populaci s patogenem sporulujícím na povrchu těla (ISP 2,5 – 3,0)

Nejvyšší procento jedinců, u kterých byla zaznamenána saprotrofní fáze vývoje akaropatogenních hub na hostiteli, bylo zaznamenáno v populacích dospělců a vajíček svlušky *T. urticae* ošetřené pasážemi 103 (pasážován přes molici) a 102 (pasážován přes molici a svlušku) houby *Lecanicillium lecanii* kmen P1. U dospělců ošetřených pasážemi 113 (pasážován přes mšici a PDA) a 106 (pasážován přes molici a PDA) houby *Lecanicillium lecanii* kmen P1 nebylo po 72 hodinách trvání testu zaznamenáno mycelium na povrchu hostitele.

Při použití standardního laboratorního testu na vajíčcích svlušky chmelové bylo po 72 hodinách mycelium pozorováno na povrchu vajíček u všech sledovaných variant. V porovnání s původním kmenem P1 houby *L. lecanii* došlo při použití pasáží k navýšení účinnosti. Nejvyšších hodnot byl dosaženo u pasáží 102 (pasážován přes molici a svlušku, navýšení o 10,22%), 103 (pasážován přes molici; navýšení o 10,37%) a 111 (pasážován přes PDA; navýšení o 30,16%; na 22,90% sledovaných jedinců již byla pozorována sporulace).

V době ukončení testu byla sledována sporulace u všech pasáží kmene P1 houby *L. lecanii*. Nejnižší hodnota byla zaznamenána u pasáže 110 (pasážován přes PDA – 8,43%), nejvyšší u pasáže 112 (pasážován přes molici – 29,41%).

Při vyhodnocování ovicidního účinku původního kmene P1 houby *L. lecanii* nebyla po 144 hodinách zaznamenána sporulace. Nejvyšší procento vajíček se sporulujícím patogenem bylo sledováno u pasáže 111 (pasážován přes PDA – 52,34%). Třetina jedinců se sporulující houbou byla pozorována v populacích vajíček ošetřených pasážemi 102 (pasážován přes molici a svlušku – 32,64%) a 103 (pasážován přes molici – 33,13%)

Tab. 37. Účinnost kmene P1 entomopatogenní houby *L. lecanii* kontinuálně pasážovaného přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium proti dospělcům svlušky chmelové *T. urticae*.

	počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod	
Kontrola	18,75±0,83	9,40±6,82 (2,66%; 0,50)	a 13,35±0,30 (5,33%; 1,00)	a 13,35±0,30 (5,33%; 1,00)	b 13,35±0,30 (5,33%; 1,00)	c 14,96±2,41 (6,66%; 1,25)	e
P1	19,75±0,43	6,46±6,09 (1,26%; 0,25)	a 13,00±2,60 (5,06%; 1,00)	a 25,83±4,77 (18,97%; 3,75)	ab 35,01±4,95 (32,88%; 6,50)	ab 58,96±3,83 (73,37%; 14,50)	bc
102	19,25±1,30	9,27±6,57 (2,59%; 0,50)	a 17,55±9,16 (9,08%; 1,75)	a 27,12±7,89 (20,76%; 4,00)	ab 36,31±3,59 (35,03%; 6,75)	ab 70,01±5,30 (88,27%; 17,00)	ab
103	18,50±0,50	13,44±7,11 (5,40%; 1,00)	a 22,68±8,98 (14,85%; 2,75)	a 29,55±7,76 (24,30%; 4,50)	ab 41,12±3,21 (43,21%; 8,00)	a 70,80±10,90 (89,15%; 16,50)	ab
106	23,00±1,58	14,80±8,34 (6,52%; 1,50)	a 18,23±5,76 (9,77%; 2,25)	a 22,96±6,87 (15,20%; 3,50)	ab 27,03±6,96 (20,63%; 4,75)	bc 45,00±4,88 (49,96%; 11,50)	d
111	20,75±3,03	15,60±8,80 (7,22%; 1,50)	a 19,23±4,94 (10,83%; 2,25)	a 22,35±5,57 (14,44%; 3,00)	ab 35,51±1,72 (33,71%; 7,00)	ab 73,12±9,20 (91,53%; 19,00)	a
112	21,25±1,48	15,41±7,61 (7,05%; 1,50)	a 23,94±1,17 (16,45%; 3,50)	a 30,58±2,98 (25,86%; 5,50)	a 34,31±2,00 (31,74%; 6,75)	ab 50,08±1,52 (58,78%; 12,50)	cd
113	22,00±2,00	18,65±2,46 (10,22%; 2,25)	a 25,24±2,98 (18,16%; 4,00)	a 28,47±1,72 (22,71%; 5,00)	ab 31,48±2,74 (27,25%; 6,00)	b 45,65±2,75 (51,10%; 11,25)	d

a,b,c,,Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{(\text{počet všech mrtvých svlušek} / \text{celkový počet všech svlušek})}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svlušek jsou uvedeny v závorkách.

Pomocí standardního biotestu na listových discích fazolu obecného byl testován účinek a vliv kmene P1 entomopatogenní houby *L. lecanii* pasážovaného přes různé hostitele nebo vybrané substráty na mortalitu dospělců svlušky *T. urticae*. Mortalita dospělců byla stanovována v 24 hodinovém intervalu po dobu 4 dnů, poslední hodnocení bylo provedeno po 144 hodinách.

Aplikace na dospělce svlušky prokázala dobrý účinek všech pasáží odvozených od kmene P1 houby *L. lecanii*. Při prvním a druhém hodnocení byla zaznamenána nejvyšší účinnost u pasáže 113 (mortalita dospělců 10,22%, resp. 18,16%), nicméně mezi účinnostmi jednotlivých pasáží nebyla zaznamenána statistická průkaznost (Tab. 38 a). Po 96 hodinách byly sledovány větší rozdíly mezi jednotlivými pasážemi, nejrychleji se vyvíjela pasáž 103 (pasážováno přes molici, mortalita dospělců 43,21%). Nejvyšší kumulovanou mortalitu indukovala po 144 hodinách pasáž 111 kmene P1 houby *L. lecanii* (pasážováno přes PDA, dosažená hodnota 91,53%). Naopak nejnižší hodnoty, pohybující se kolem 50% mortality u sledovaných dospělců, byly dosaženy u pasáží 106 (pasážováno přes molici a PDA) a 113 (pasážováno přes mšici a PDA). Vliv ošetření byl statisticky průkazný po 96 hodinách ($F=12,362$; $df=7;24$; $p=0,0000$) a v době ukončení testu ($F=51,525$; $df=7;24$; $p<0,0000$). Přirozená mortalita dospělců svlušky chmelové nepřesáhla po 7 dnech 7% mortalitu.

Vývoj patogena, vyjádřený indexem stavu populace (ISP), probíhal po první čtyři dny obdobně u všech pasáží, po 96 hodinách bylo dosaženo hodnoty přesahující 0,5 pouze u pasáže 103, naopak pasáž 106 dosahovala nejnižších hodnot (pasážováno přes molici a PDA, $ISP = 0,23$). U pasáže 106 byla zaznamenána nejnižší hodnota také po 144 hodinách trvání testu ($ISP= 0,50$). Hodnotou nižší než 1,0 byla ohodnocena také populace svlušky ovlivněná pasáží 113 kmene P1 houby *L. lecanii*. Ostatní sledované pasáže a také původní kmen P1 dosáhly hodnot v rozmezí 1,0 – 1,5, signalizujících mortalitu populace a přechod do saprotrofní fáze vývoje hub. Tyto sledované pasáže dosáhly vyšších hodnot v porovnání s původním kmenem P1.

Tab. 38 a. Statistické hodnocené účinnosti kmene P1 entomopatogenní houby *L. lecanii* kontinuálně pasážovaného přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium proti dospělcům svilušky *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	941,2436	44,303***	1	4039,307	92,531***	1	10916,27	158,665***
Varianta	7	37,8122	1,780	7	94,935	2,175	7	176,25	2,562*
chyba	24	21,2457		24	43,654		24	68,80	

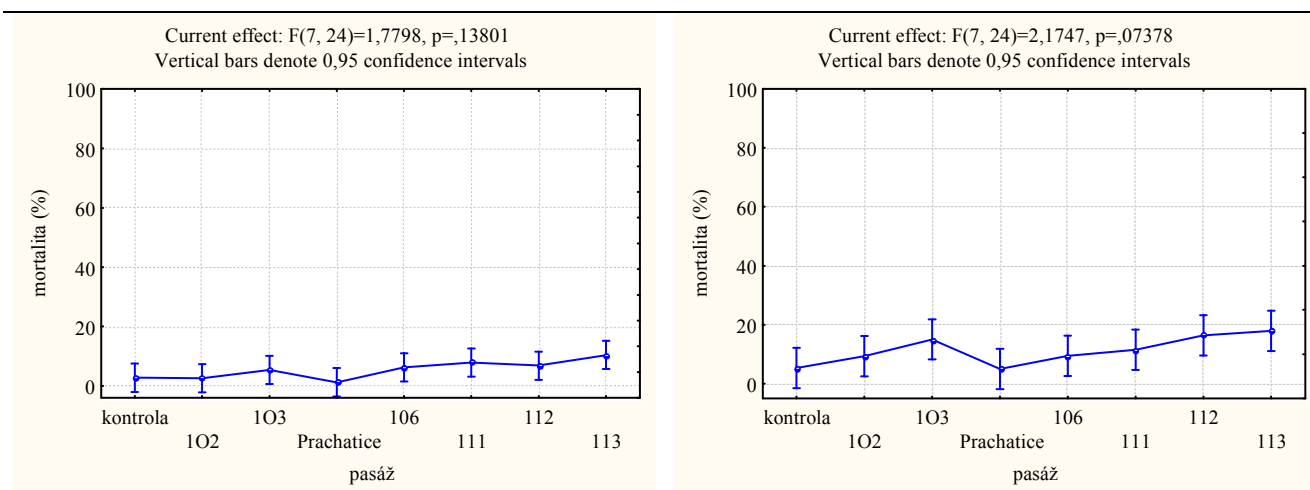
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Tab. 38 b. Statistické hodnocené účinnosti kmene P1 entomopatogenní houby *L. lecanii* kontinuálně pasážovaného přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium proti dospělcům svilušky *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	26349,88	615,878***	1	129705,0	2012,786***
Varianta	7	528,91	12,362***	7	3320,3	51,525***
chyba	24	42,78		24	64,4	

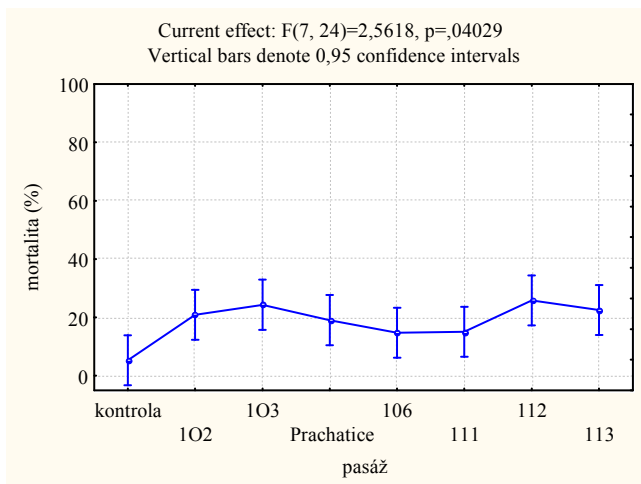
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf. 9. Hodnocení vlivu kontinuálního pasážování kmene P1 entomopatogenní houby *L. lecanii* přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium na mortalitu dospělců svilušky chmelové *T. urticae*.

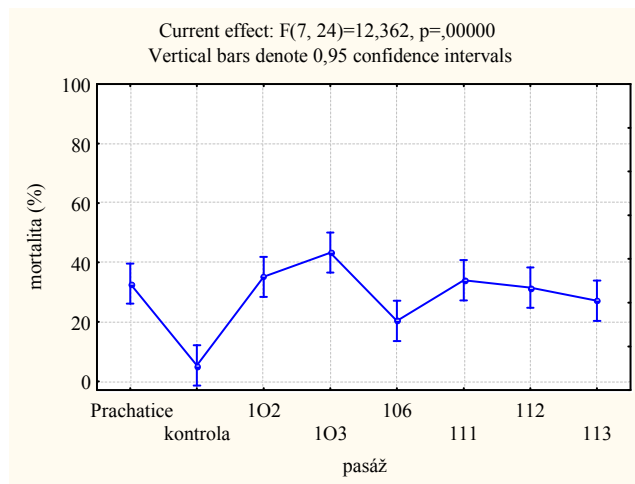


Kumulativní mortalita po 24 hodinách

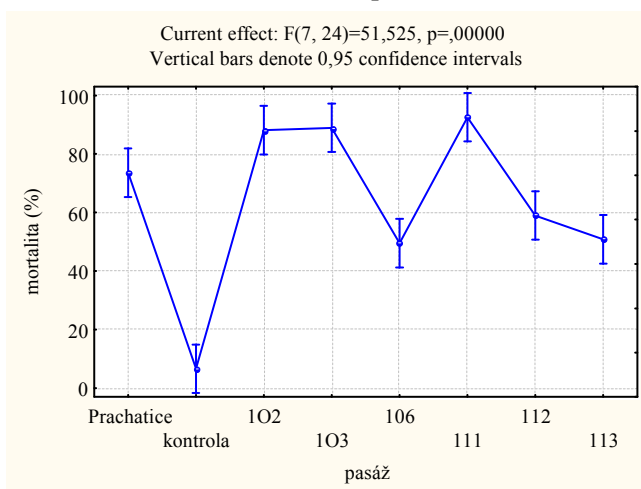
Kumulativní mortalita po 48 hodinách



Kumulativní mortalita po 72 hodinách



Kumulativní mortalita po 96 hodinách



Kumulativní mortalita po 144 hodinách

Tab. 39. Vliv kontinuálně pasážovaného kmene P1 entomopatogenní houby *L. lecanii* přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium na kumulovanou mortalitu svlušky *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček.

	počet	72 hod		144 hod		
CTRL	18,53±17,57 278	7,71±5,63 (1,80%; 0,33)	c	0,02±0,1329	7,71±5,63 (1,80%; 0,33)	d 0,02±0,1329
P1	29,06±10,30 465	7,05±5,90 (1,50%; 0,44)	c	0,02±0,1322	35,39±10,20 (33,52%; 9,75)	c 0,42±0,6130
102	23,94±18,78 383	21,84±11,47 (13,82 %; 3,31)	b	0,21±0,5526	47,92±11,22 (55,05 %; 13,19)	b 1,29±1,3126
103	50,19±42,16 803	19,33±7,09 (10,95%; 5,50)	b	0,21±0,5964	71,96±6,75 (90,37%; 45,38)	a 1,66±1,0197
106	43,94±37,83 703	23,08±8,19 (15,35%; 6,75)	b	0,17±0,4042	27,41±10,58 (21,17%; 9,31)	c 0,46±0,9479
111	40,13±32,95 642	33,54±13,89 (30,50%; 12,25)	a	0,83±1,2829	52,49±14,86 (62,88%; 25,25)	b 1,71±1,4066
112	47,75±46,94 764	25,35±7,89 (18,31%; 8,75)	b	0,20±0,4325	34,41±5,89 (31,91%; 15,25)	c 0,70±1,1095
113	39,67±39,42 595	20,50±9,11 (12,26%; 4,87)	b	0,13±0,3557	24,59±12,38 (17,29%; 6,87)	c 0,34±0,8205

a,b,c,,Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{\text{počet všech mrtvých vajíček/ celkový počet všech vajíček}}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých vajíček jsou uvedeny v závorkách.

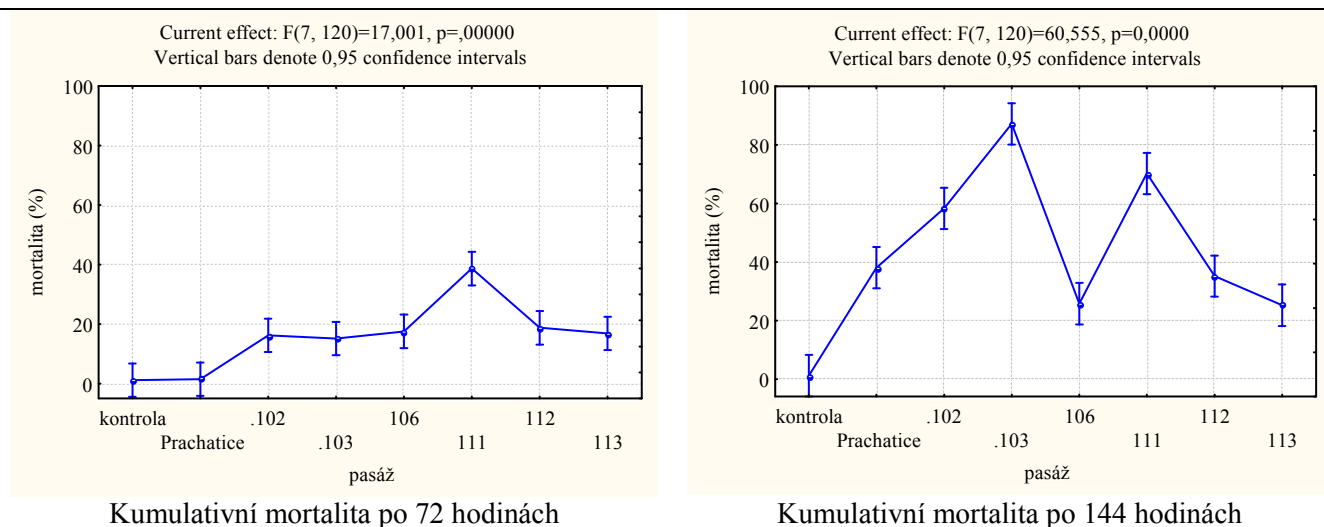
Pomocí standardního biotestu na listových discích fazolu obecného byl testován účinek a vliv kmene P1 entomopatogenní houby *L. lecanii* pasážovaného přes různé hostitele nebo vybrané substráty na vajíčka svlušky *T. urticae*. Mortalita vajíček byla stanovována po 72 a 144 hodinách. Vliv ošetření byl statisticky průkazný po 72 hodinách ($F=13,221$; $df=6;105$; $p<0,0000$) i 144 hodinách ($F=74,713$; $df=6;105$; $p<0,0000$). Při prvním hodnocení byla nejvyšší mortalita (30,50%) zaznamenána u populace ošetřené kmenem P1 pasážovaným přes PDA (pasáž 111), zároveň se tato pasáž nejrychleji vyvíjela (ISP = 0,83). Naopak nejnižší hodnoty byly sledovány u kmene P1 pasážovaného přes mšici a PDA (pasáž 113), nicméně vlivem pasážování došlo ke zvýšení účinnosti přibližně o 9% v porovnání s mortalitou, která byla dosažena po aplikaci původního kmene. Po 144 hodinách byla nejvyšší kumulovaná mortalita sledována u kmene P1 pasážovaného přes molici (pasáž 103), dosáhla hodnoty 90,37%. Vysoké hodnoty byly zaznamenány u pasáží 102 (pasážováno přes molici a svlušku) a 111 (pasážováno přes PDA). U dvou pasáží, 103 a 111, přesáhl ISP hodnotu 1,50. Nejnižší ovicidní účinek byl opět zaznamenán po aplikaci pasáží 106 (pasážován přes molici a PDA) a 113 (pasážováno přes mšici a PDA) na synchronizovanou populaci vajíček. Po 144 hodinách však nelze jednoznačně usoudit, zda došlo vlivem manipulace formou pasáže k navýšení účinnosti těchto kmenů, protože původní kmen P1 vykázal vyšší ovicidní účinek, mortalita v populaci vajíček dosáhla 33,52%.

Tab. 40. Statistické hodnocení účinnosti pasáží kmene P1 na mortalitu v populaci svlušky chmelové *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	31703,60	246,959***	1	232779,8	1147,009
Varianta	7	2182,48	17,001***	7	12289,3	60,555
chyba	120	128,38		120	202,9	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf. 10. Hodnocení vlivu kontinuálně pasážovaného kmene P1 entomopatogenní houby *L. lecanii* přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium na mortalitu svlušky chmelové *T. urticae* po ošetření věkově synchronizované populace vajíček.

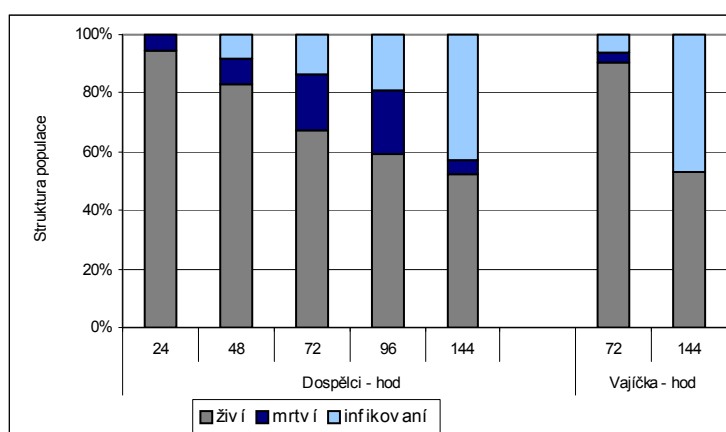


5.2.2. Změny parametrů vitality a akaropatogenity indukované kontinuálním pasážováním kmene P1 entomopatogenní houby *Paecilomyces fumosoroseus* přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium.

Komplexní systém polyfaktoriální charakterizace kmenů entomopatogenních hub byl využit při hodnocení významu a vlivu kontinuálního pasážování přes přirozené hostitele, substrát a umělé živné médium. Obdobně jako v předcházející části byla charakterizace zaměřena na vitalitu a akaropatogenní vlastnosti, včetně účinků ovicidních. V této studii byl jako výchozí použit kmen PFR 97 houby *Paecilomyces fumosoroseus*. Z tohoto kmene byly získány dva monosporové izoláty (172 a 173; viz kapitola IV.), které reprezentují dva odlišné morfotypy, které byly při analýze kmene PFR 97 zaznamenány. Pro pasážování byla použita pupária molice skleníkové, dospělci mšice *A. gossypii* a dospělci svlušky chmelové, pšeničné otruby a PDA. Na rozdíl od předchozí studie (V.2.1.) byl v této studii použit uniformní systém pasáží, v rámci kterého byl význam pasážování hodnocen po 50 kontinuálních přenosech.

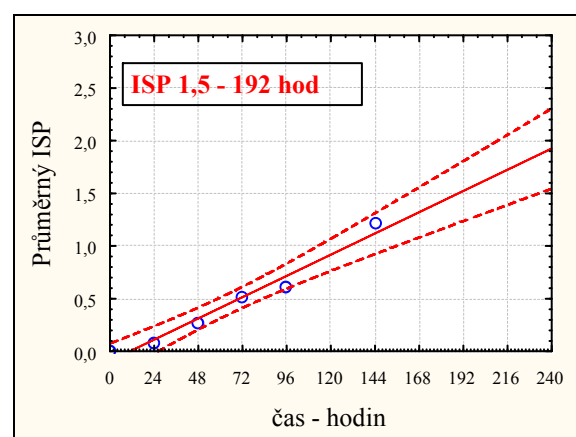
Char. 29. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – výchozí referenční (nepasážovaný) kmen

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97



Klíčivost (24 hod) 100 %
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 (dospělci; PFR 97 = -0,0909 + 0,0084*x)

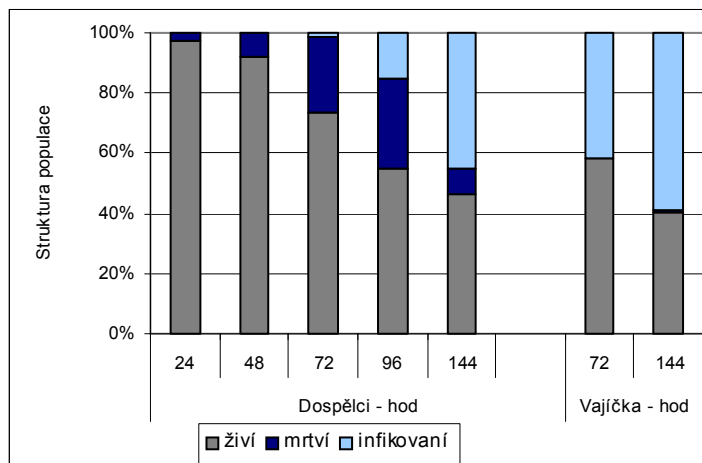


ISP vajíčka (72 hod) 0,14 ± 0,4603
ISP vajíčka (144 hod) 1,29 ± 1,4281

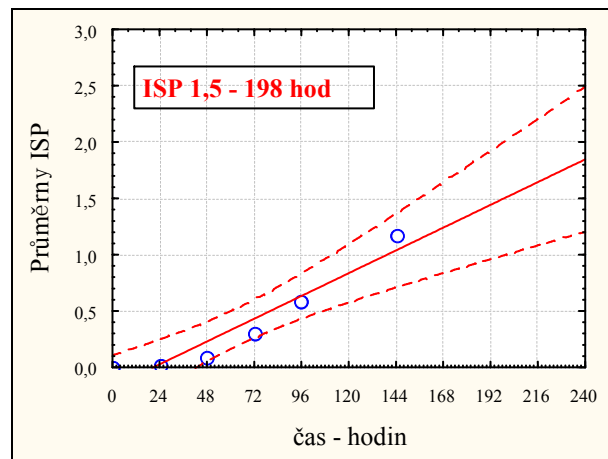
V rámci polyfaktoriální charakterizace referenčního kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* byla po 48 hodinách trvání testu zaznamenán intenzivní růst mycelia na povrchu těla dospělců (index 2,0) u 7,37% jedinců. Po 72 hodinách bylo 3,16 % dospělců ohodnoceno indexem 3,0 (plná sporulace na povrchu hostitele), při ukončení testu byl tento index zaznamenán u 29,47% jedinců. V ovicidním biotestu bylo při prvním hodnocení zaznamenáno 6,36% infikovaných jedinců (s nejvyšším indexem 2,0). Po 144 hodinách byla mrtvá vajíčka ohodnocena indexem 1,5 a více (saprotrofní fáze vývoje akaropatogenních hub). Sporulace byla zaznamenána u 38,98% (index 3,0).

Char. 30. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 172 (nepasážovaný monosporový izolát kmene PFR 97 „myceliální morfortyp“)

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 - 172



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 - 172 (dospělci; PFR 172 = $-0,1757+0,0084*x$)



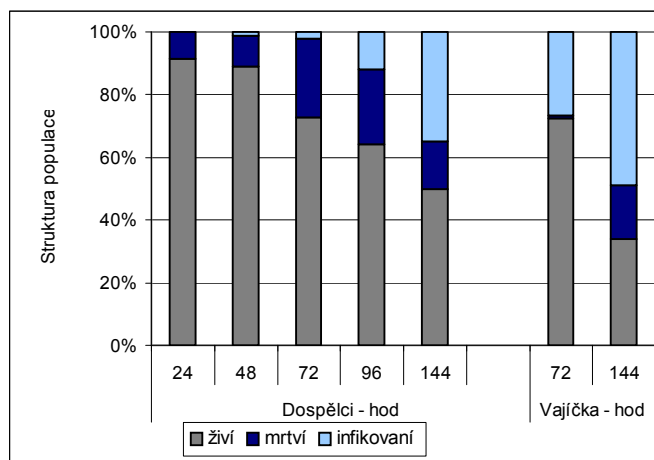
Klíčivost (24 hod) 100%
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

ISP vajíčka (72 hod) $0,73 \pm 0,9395$
ISP vajíčka (144 hod) $1,60 \pm 1,4021$

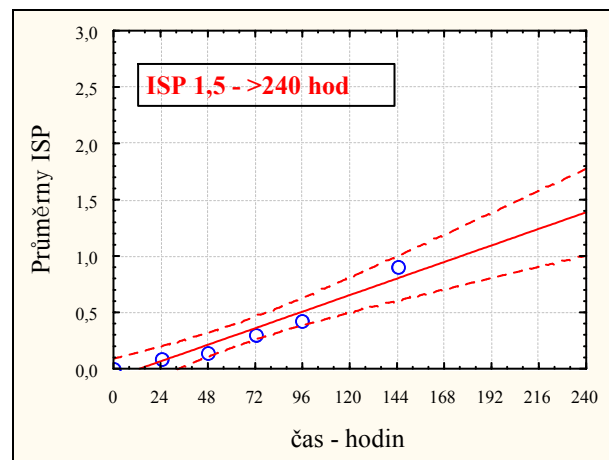
Při hodnocení účinnosti houby monosporového izolátu *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 - 172 na dospělé svlušky chmelové byl po 72 hodinách zaznamenán první jedinec s myceliem na povrchu těla. Po 144 hodinách byla sporulace zaznamenána u 23,56% dospělců. Při prvním hodnocení akaropatogenní účinnosti na vajíčka byla po 72 hodinách zaznamenána fáze sporulace na povrchu 6,73% vajíček, při druhém hodnocení sporuloval patogen téměř na polovině vajíček (47,43%).

Char. 31. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 173 (nepasážovaný monosporový izolát kmene PFR 97 „sporulující morfortyp“)

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 - 173



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97-173 (dospělci; PFR 173 = $-0,082+0,0061*x$)



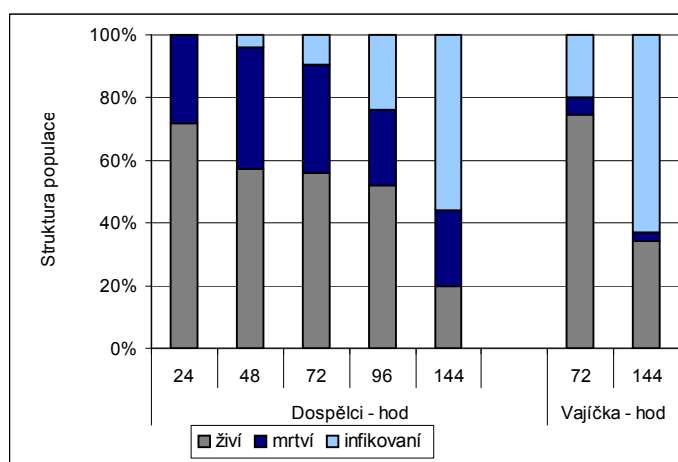
Klíčivost (24 hod) 100%
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

ISP vajíčka (72 hod) $0,65 \pm 1,1201$
ISP vajíčka (144 hod) $1,57 \pm 1,3360$

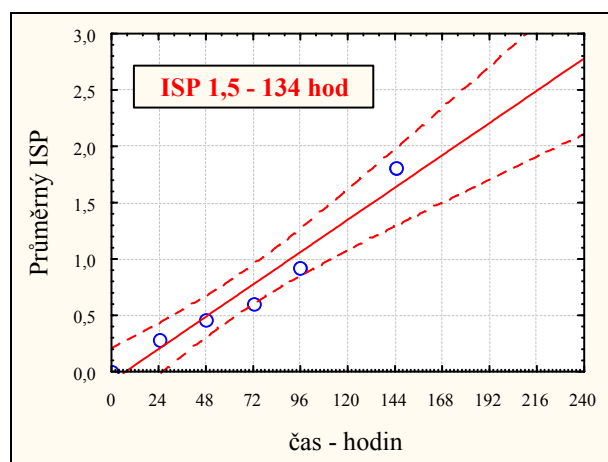
Při sledování akaropatogenní účinnosti monosporového izolátu *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – 173 na dospělé svlušky chmelové byli po 48 hodinách trvání testu zaznamenáni jedinci se zřetelnou infekcí (1,09% bylo ohodnoceno indexem 2,0 – intenzivní růst mycelia na povrchu hostitele). Po 144 hodinách byla zaznamenána sporulace na povrchu 11,96% dospělců. Při hodnocení vlivu tohoto kmene na vajíčka svlušky chmelové byla zaznamenána sporulace již po 72 hod (indexem 3,0 bylo ohodnoceno 15,30% sledovaných vajíček), po 144 hodinách sporuloval patogen na 43,59% vajíček.

Char. 32. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H5 (monosporový izolát 172 pasážovaný přes alginátové pelety s pšeničnými otrubami – 50x)

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H5



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97-H5 (dospělci; PFR-H5 = $-0,0859+0,0119*x$)



Klíčivost (24 hod) 100%
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

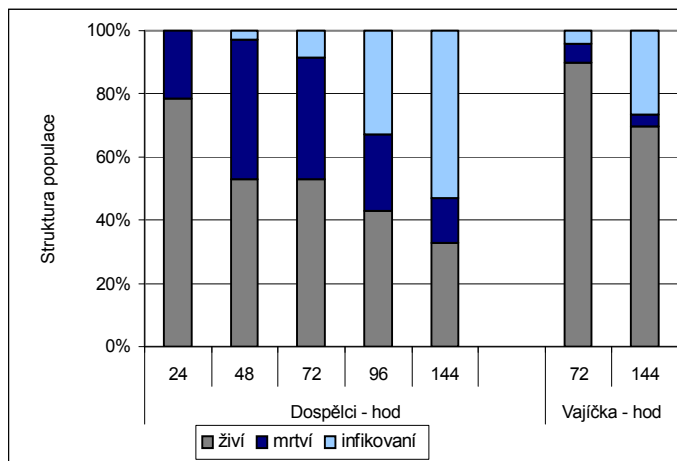
ISP vajíčka (72 hod) $0,45 \pm 0,8031$
ISP vajíčka (144 hod) $1,85 \pm 1,4002$

Při hodnocení akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H5 byl růst mycelia na povrchu dospělé svlušky zaznamenán již po 48 hodinách (3,99%). Po 96 hodinách bylo indexem 3,0 ohodnoceno 21,33% jedinců ze sledované populace. V době ukončení testu sporulovala testovaná houba na 48,00% dospělců a na 57,58% vajíček.

Při sledování vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 - H10 na dospělé svlušky chmelové (souhrnná charakteristika viz níže) byli po 72 hodinách trvání testu zaznamenáni jedinci se sporulujícím patogenem na povrchu hostitele (1,43%), přičemž u 8,57% dospělců byla sledována saprotrofní fáze vývoje houby (index 1,50 a více). V době ukončení testu byla sporulace zaznamenána u 44,29% dospělců a na povrchu 21,98% vajíček.

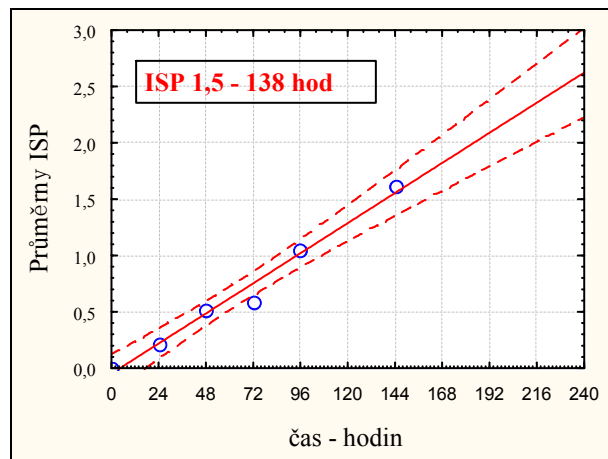
Char. 33. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H10 (monosporový izolát 172 pasážovaný přes pupária molice skleníkové *Trialeurodes vaporariorum* – 50x)

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H10



Klíčivost (24 hod) 100%
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

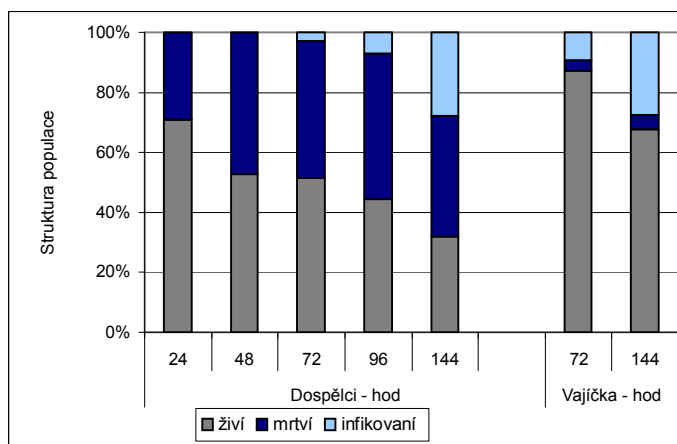
Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97-H10 (dospělci; $H_{10} = -0,0494 + 0,0111 \cdot x$)



ISP vajíčka (72 hod) $0,14 \pm 0,4498$
ISP vajíčka (144 hod) $0,77 \pm 1,2402$

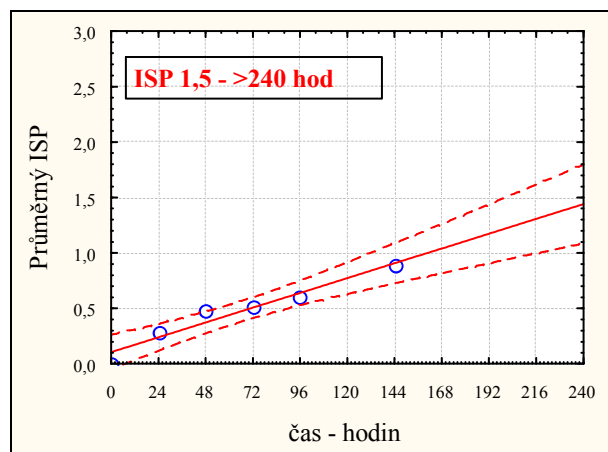
Char. 34. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H15 (monosporový izolát 172 pasážovaný přes mšici *Aphis gossypii* – 50x)

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H15



Klíčivost (24 hod) 100%
IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 - H 15 (dospělci; $H_{15} = 0,1059 + 0,0056 \cdot x$)

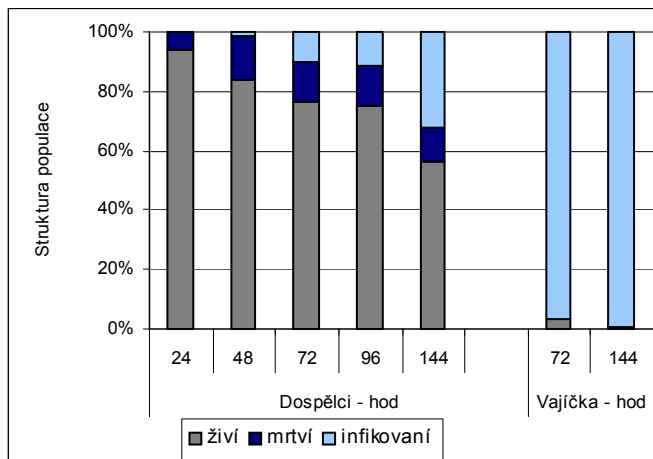


ISP vajíčka (72 hod) $0,22 \pm 0,6385$
ISP vajíčka (144 hod) $0,73 \pm 1,1645$

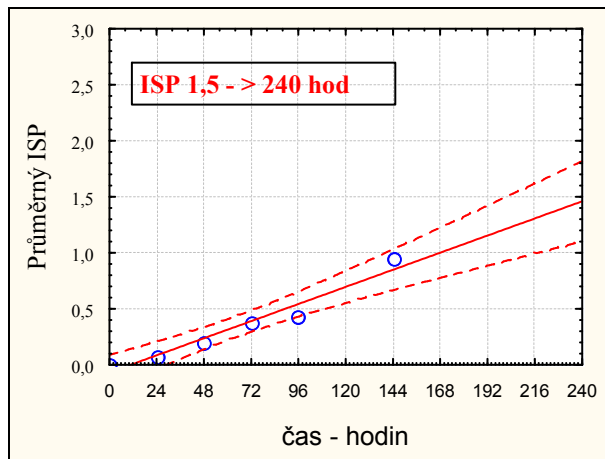
Při hodnocení účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 - H15 byla při prvním hodnocení zaznamenána sporulace na povrchu vajíček (2,87%), po 144 hodinách bylo sledováno nízké procento jedinců se sporulující houbou – 4,17% u dospělců a 17,92% u vajíček.

Char. 35. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H20 (monosporový izolát 172 pasážovaný přes dospělé svlušky *Tetranychus urticae* – 50x)

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H20



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97- H20 (dospělci; H20 = -0,0693 +0,0064*x)



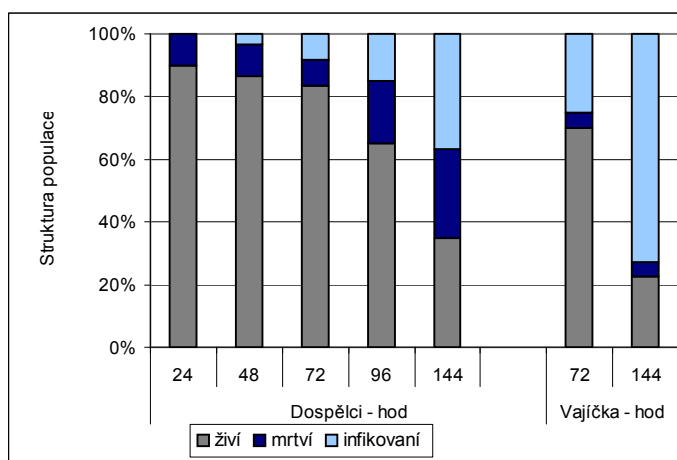
Klíčivost (24 hod) 100%
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

ISP vajíčka (72 hod) 2,89 ± 0,5491
ISP vajíčka (144 hod) 2,98 ± 0,2592

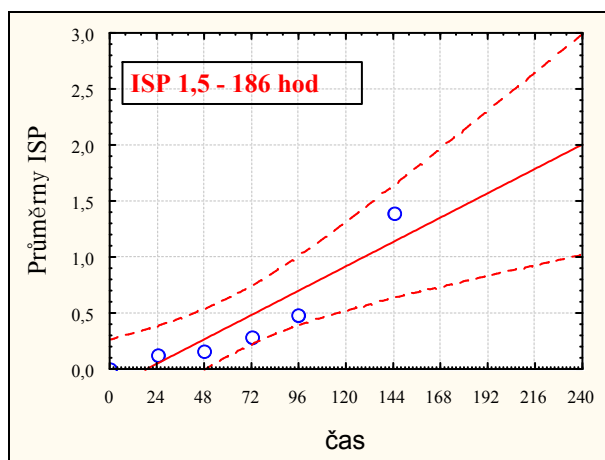
Při sledování vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H20 na dospělé svlušky chmelové byla po 72 hodinách trvání testu zaznamenána sporulace na povrchu hostitele (5,00%). Ve stejné době byla zaznamenána vysoká hodnota vajíček ohodnocených indexem 3,0 (96,24%). Po 144 hodinách bylo v populaci dospělců 21,25% jedinců se sporulujícím patogenem na povrchu, v populaci vajíček dosáhla mortalita hodnoty 99,25%.

Char. 36. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H25 (monosporový izolát 172 pasážovaný přes PDA – 50x)

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H25



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 - H25 (dospělci; H25 = -0,1719+0,0091*x)



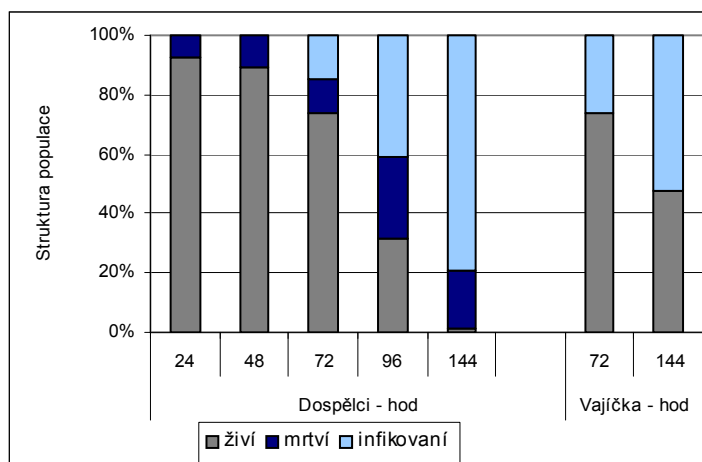
Klíčivost (24 hod) 100%
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

ISP vajíčka (72 hod) 0,64 ± 1,0505
ISP vajíčka (144 hod) 2,21 ± 1,2734

Při hodnocení účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H25 byla po 72 hodinách zaznamenána sporulace u 3,33% dospělců a 9,24% vajíček. Po 144 hodinách byla v populaci dospělců třetina svlušek ohodnocena indexem 3,0 (33,33%), vysoké procento sporulace patogena na povrchu hostitele bylo zaznamenáno u vajíček (71,01%).

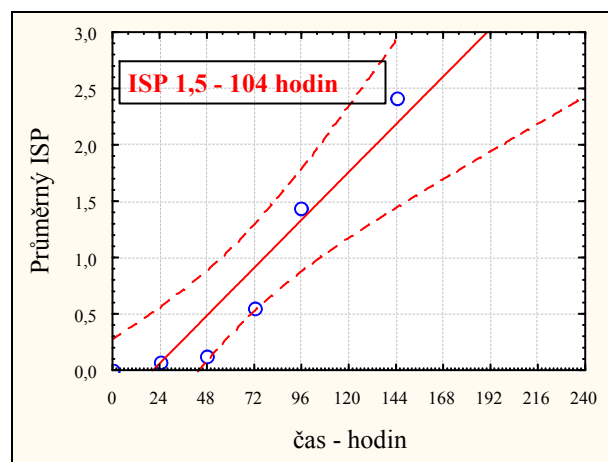
Char. 37. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H40 (monosporový izolát 173 pasážovaný přes mšici *Aphis gossypii* – 50x)

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H40



Klíčivost (24 hod) 100%
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97-H40 (dospělci; H40 = -0,3651 + 0,0177*x)

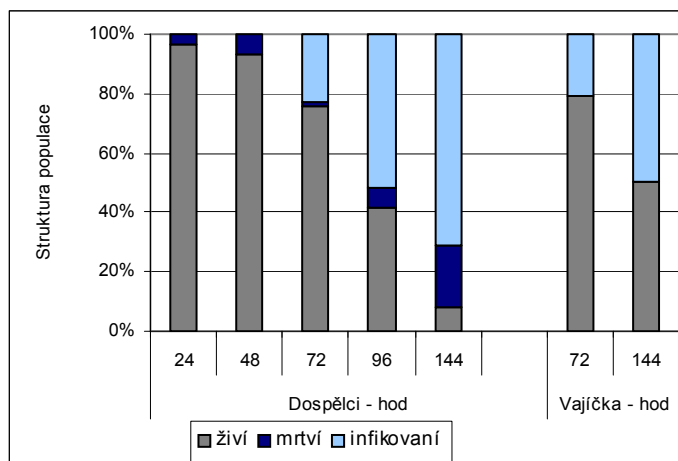


ISP vajíčka (72 hod) 0,71 ± 1,2221
ISP vajíčka (144 hod) 1,57 ± 1,4967

Při sledování vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H40 byla po 72 hodinách trvání testu sledována vysoká hodnota sporulace v populaci dospělců (13,25%) i vajíček (20,68%). Při ukončení testu byla sporulace zaznamenána u 66,26% dospělců a 52,31% vajíček.

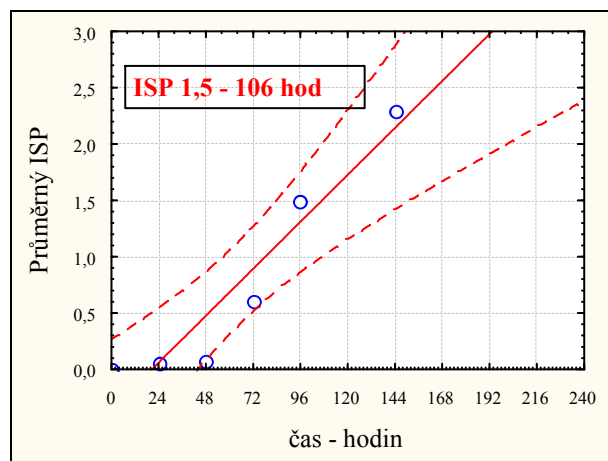
Char. 38. Polyfaktoriální charakteristika vitality a akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H45 (monosporový izolát 173 pasážovaný přes dospělé svlušky chmelové *Tetranychus urticae* – 50x).

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H45



Klíčivost (24 hod) 100%
IVP *in vitro* (24 hod) 2,00 ± 0,0000

Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 - H45 (dospělci; H45 = -0,3583 + 0,0174*x)



ISP vajíčka (72 hod) 0,39 ± 0,8177
ISP vajíčka (144 hod) 1,48 ± 1,4952

Při sledování vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 – H45 na dospělé svlušky chmelové byli po 72 hodinách trvání testu zaznamenána nejvyšší hodnota jedinců se saprotrofní fází vývoje (22,99%; přičemž u 16,09% již byla sledována sporulace). Ve stejnou dobu byla sporulace zaznamenána i v populaci vajíček (20,52%). Po 144 hodinách byla ze sledovaných pasáží u pasáže H45 opět zaznamenáno nejvyšší procento dospělců ohodnocených indexem 3,00 (67,82%). Sporulace byla sledována téměř u poloviny sledovaných vajíček (48,95%).

Tab. 41. Hodnocení akaropatogenní účinnosti entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* pomocí parametru ISP – vliv pasážování na virulenci a vývoj kmenů odvozených od kmene PFR 97

Poř.	Druh - kmen	ISP 1,50 ^I (hod)
1.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97 - H40	104
2.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97 - H45	106
3.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97 - H5	134
4.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97 - H10	138
5.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97 - H25	186
6.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97	192
7.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97 - 172	198
8.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97 - 173	> 240
8.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97 - H15	> 240
8.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> kmen PFR 97 - H20	> 240

^I Doba (hod) nutná pro dosažení průměrného ISP 1,5 (stanoveno pomocí grafu trendu vývoje ISP)

Ve sledované skupině pasáží houby *Paecilomyces fumosoroseus* kmen PFR 97 bylo nejrychleji dosaženo průměrného ISP 1,5 u kmene PFR 97- H40 (monosporový izolát 173 pasážovaný přes mšici *A. gossypii*) a kmene PFR 97 - H45 (monosporový izolát 173 kontinuálně pasážovaný přes svlušku chmelovou). Rychleji než u referenčního kmene PFR 97 probíhal vývoj patogena na dospělcích také po aplikaci kmenů PFR 97 - H5 (pasážován přes pšeničné otruby), PFR 97 – H10 (kontinuálně pasážován přes pupária molice skleníkové) a PFR 97 – H25 (kontinuálně pasážován přes PDA).

Tab. 42. Vliv pasážování na akaropatogenní účinnost kmenů houby *Paecilomyces fumosoroseus* - analýza struktury populace *T. urticae* v kategorii infikovaní jedinci (% jedinců hodnocených indexy >1,0)

<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Dospělci <i>T. urticae</i>		Vajíčka <i>T. urticae</i>	
	Infikovaní jedinci ^I (%, 72 h)	Sporulace ^{II} (%, 144 h)	Infikovaní jedinci ^I (%, 72 h)	Sporulace ^{II} (%, 144 h)
PFR 97 - 172	1,16 (1,16 + 0 + 0 + 0)	23,56	41,60 (33,10 + 1,77 + 0 + 6,73)	47,43
PFR 97 - 173	2,18 (1,09 ± 1,09 + 0 + 0)	11,96	26,58 (9,37 + 1,91 + 0 + 15,30)	43,59
PFR 97 - H15	2,78 (2,78 + 0 + 0 + 0)	4,17	9,33 (5,38 + 1,08 + 0 + 2,87)	17,92
PFR 97 - H25	8,33 (3,33 + 1,67 + 0 + 3,33)	33,33	24,91 (0 + 15,67 + 0 + 9,24)	71,01
PFR 97 - H10	8,57 (1,43 + 5,71 + 0 + 1,43)	44,29	4,02 (0 + 4,02 + 0 + 0)	21,98
PFR 97 - H5	9,33 (1,33 + 1,33 + 0 + 6,67)	48,00	19,87 (0 + 19,87 + 0 + 0)	57,58
PFR 97 - H20	10,00 (5,00 + 0 + 0 + 5,00)	21,25	96,62 (0,38 + 0 + 0 + 96,24)	99,25
PFR 97	13,69 (3,16 + 7,37 + 0 + 3,16)	35,79	6,36 (2,97 + 3,39 + 0 + 0)	38,98
PFR 97 - H40	14,45 (1,20 + 0 + 0 + 13,25)	66,26	26,27 (5,35 + 0,24 + 0 + 20,68)	52,31
PFR 97 - H45	22,99 (6,90 + 0 + 0 + 16,09)	67,82	20,52 (15,26 + 0 + 0 + 5,26)	48,95

^I % celkem infikovaných jedinců (z toho % jedinců hodnocených indexy 1,5 + 2,0 + 2,5 + 3,0)

^{II} % jedinců v populaci s patogenem sporulujícím na povrchu těla (ISP 2,5 – 3,0)

Tab. 43. Účinnost kmene PFR 97 entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* kontinuálně pasážovaného přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium proti dospělcům svilušky chmelové *T. urticae*

	Průměrný počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod
Kontrola	19,75±3,03	9,16±6,57 (2,53%;0,50)	9,16±6,57 (2,53%;0,50)	11,24±5,91 (3,79%;0,75)	11,24±5,91 (3,79%;0,75)	13,00±7,17 (5,06%;1)
PFR 97	23,75±3,77	13,26±8,07 (5,26%;1,25)	24,23±4,29 (16,83%;4,00)	34,19±5,64 (31,55%;7,50)	39,23±4,43 (39,97%;9,50)	43,17±6,25 (46,77%;11,00)
172	21,50±0,50	8,77±6,15 (2,32%;0,50)	16,58±9,39 (8,13%;1,75)	31,14±3,94 (26,72%;5,75)	42,33±2,09 (45,31%;9,75)	47,00±8,03 (53,45%;11,50)
173	23,00±0,71	17,15±5,45 (8,69%;2,00)	19,25±6,04 (10,86%;2,50)	31,42±3,06 (27,15%;6,25)	36,79±2,88 (35,84%;8,25)	45,00±3,88 (49,96%;11,50)
H 5	18,75±0,43	31,95±6,41 (27,97%;5,25)	40,78±3,36 (42,63%;8,0)	41,55±4,15 (43,96%;8,25)	43,85±5,32 (47,96%;9,00)	63,43±2,96 (79,95%;15,00)
H 10	17,50±0,87	27,58±5,18 (21,41%;3,75)	43,36±6,76 (47,10%;8,25)	43,36±6,76 (47,10%;8,25)	49,11±4,89 (57,10%;10,0)	55,03±4,86 (67,10%;11,75)
H 15	18,00±1,22	32,69±9,71 (29,14%;5,25)	43,41±5,83 (47,18%;8,50)	44,20±4,95 (48,57%;8,75)	47,39±5,60 (54,12%;9,75)	55,58±7,99 (68,01%;12,25)
H 20	20,00±1,22	14,48±10,61 (6,24%;1,25)	23,77±6,54 (16,23%;3,25)	29,17±3,23 (23,73%;4,75)	30,00±3,75 (24,98%;5,00)	41,41±7,37 (43,71%;8,75)
H 25	18,75±1,30	17,79±10,10 (9,32%;1,75)	20,27±10,98 (11,99%;2,25)	23,58±12,11 (15,98%;3,00)	34,45±5,52 (31,97%;6,00)	53,13±7,20 (63,95%;12,00)
H 40	20,75±0,43	15,60±8,34 (7,22%;1,50)	19,23±3,82 (10,83%;2,25)	30,99±2,53 (26,48%;5,50)	55,23±3,34 (67,42%;14,0)	83,70±5,46 (98,78%;20,50)
H 45	21,75±1,92	10,70±7,88 (3,44%;0,75)	15,23±7,59 (6,89%;1,50)	29,43±6,16 (24,12%;5,25)	49,96±5,65 (58,58%;12,75)	73,52±10,67 (91,92%;20,00)

a,b,c,,Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty $[\arcsin(\sqrt{\text{počet všech mrtvých svilušek} / \text{celkový počet všech svilušek})]$. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svilušek jsou uvedeny v závorkách.

Po 72 hodinách trvání testu byla u všech sledovaných pasáží houby *Paecilomyces fumosoroseus* kmen PFR 97 pozorována saprotrofní fáze vývoje akaropatogenních hub na povrchu dospělců i vajíček svilušky chmelové. V populacích dospělců byl počátek vývoje mycelia zaznamenán u monosporových izolátů 172 a 173 a u pasáže H15 (izolát 172 pasážován přes mšici). U ostatních sledovaných pasáží již byla sledována sporulace na povrchu hostitele, nejvyšší procento bylo zaznamenáno u pasáží H40 (izolát 173 pasážován přes mšici; 13,25%) a H45 (izolát 173 pasážován přes svilušku; 16,09%). U pasáží odvozených od izolátu 173 došlo k navýšení počtu infikovaných jedinců v porovnání s populací ošetřenou původním kmenem PFR 97, u kmene H40 o 0,76% a u kmene H45 o 9,3%.

Při použití standardního laboratorního biotestu na vajíčcích svilušky chmelové došlo s výjimkou pasáže H10 (pasážován přes molici) k navýšení počtu vajíček s myceliem na povrchu v porovnání s populací ošetřenou původním kmenem PFR 97. V populaci vajíček ošetřených houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 pasáž H20 (izolát 172 přes svilušku) byla po 72 hodinách zaznamenána sporulace na povrchu 96,24% vajíček. Vyšší hodnoty sporulace byly sledovány ještě u populace ošetřené pasáží H40 (izolát 173 pasážován přes mšici) a u monosporového izolátu 173.

Po 144 hodinách trvání testu byla u všech sledovaných pasáží houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 pozorována sporulace akaropatogenních hub na povrchu dospělců i vajíček svilušky chmelové. Při hodnocení vlivu na dospělé svilušky *T. urticae* bylo nejnižší procento sporulace sledováno u populace ošetřené pasáží H20 (pasážován přes mšici), naopak nejvyšší hodnoty byly pozorovány u dospělců ošetřených pasážemi H40 (izolát 173 pasážován přes mšici) a H45 (izolát 173 pasážován přes svilušku), u kterých došlo v porovnání s původním kmenem PFR 97 k navýšení o 30,47% (pasáž H40) resp. 32,03% (pasáž H45).

Pomocí standardního laboratorního testu na vajíčcích svilušky chmelové bylo, s výjimkou pasáží H15 (pasážován přes mšice) a H10 (pasážován přes molici), sledováno u všech ostatních pasáží více jedinců se sporulující houbou na povrchu v porovnání s původním kmenem PFR 97. U pasáže H20 (izolát 172 pasážován přes svilušku) bylo zaznamenáno zvýšení o 60,37%, u pasáže H25 (izolát

172 pasážován přes PDA) o 32,03%. Při hodnocení ovicidní účinnosti pasáže H20 byla indexem 3,0 (plná sporulace) ohodnocena téměř všechna vajíčka. Více jak polovina vajíček se sporulujícím patogenem byla zaznamenána u pasáží H40 (izolát 173 pasážován přes mšici – 52,31%), H5 (izolát 172 pasážován přes otruby – 57,58%) a H25 (71,01%). U téměř poloviny vajíček byla zaznamenána sporulace u populací ošetřených izolátem 172 (47,43%) a pasáží H45 (izolát 173 pasážován přes svilušku – 48,95%).

Vliv ošetření byl statisticky průkazný v případě všech hodnocení (Tab. 44 a, b). Při hodnocení po 24 hodinách zaznamenána nejvyšší účinnost u pasáže H15, která způsobila 29% mortalitu. Pasáž H5 a H10 vykázaly také velmi dobrou účinnost na dospělé svilušky chmelové (mortalita 27,97%, resp. 21,41%). U ostatních pasáží a původního kmene PFR 97 byla zaznamenána velmi nízká účinnost, kde byla zaznamenána mortalita v rozmezí od 2,32% do 9,32%

Tab. 44 a. Statistické hodnocení účinnosti pasáží kmene PFR 97 entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu proti dospělcům svilušky chmelové *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	5764,377	79,550***	1	17914,20	261,529***	1	37096,94	514,238***
Varianta	10	405,776	5,600***	10	1136,15	16,587***	10	715,18	9,914***
chyba	33	72,462		33	68,50		33	72,14	

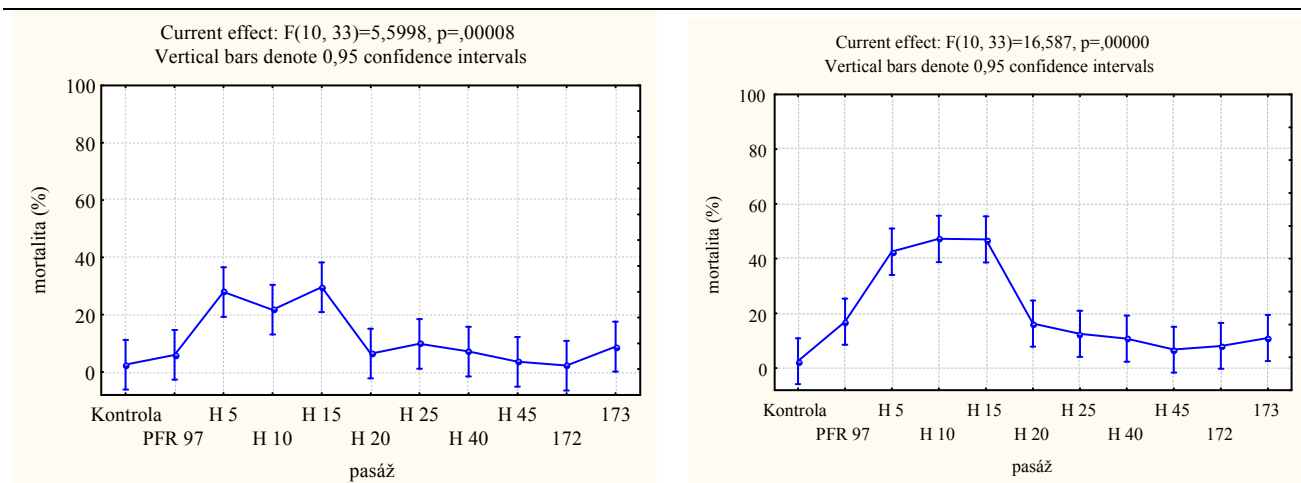
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Tab. 44 b. Statistické hodnocení účinnosti pasáží kmene PFR 97 entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu proti dospělcům svilušky chmelové *T. urticae*.

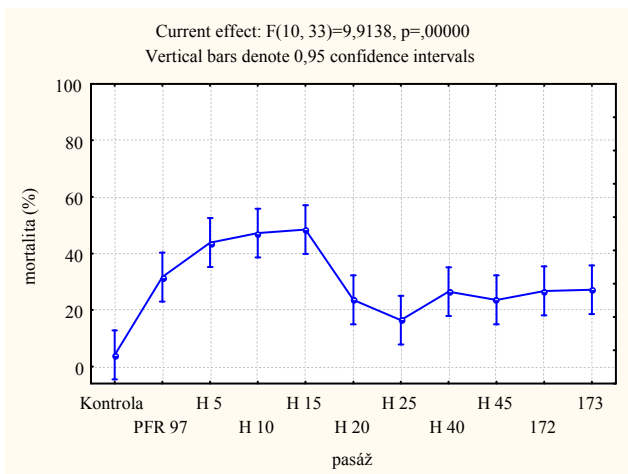
Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	79464,52	1140,891***	1	163705,1	1386,682****
Varianta	10	1269,56	18,227***	10	2621,5	22,206***
chyba	33	69,65		33	118,1	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

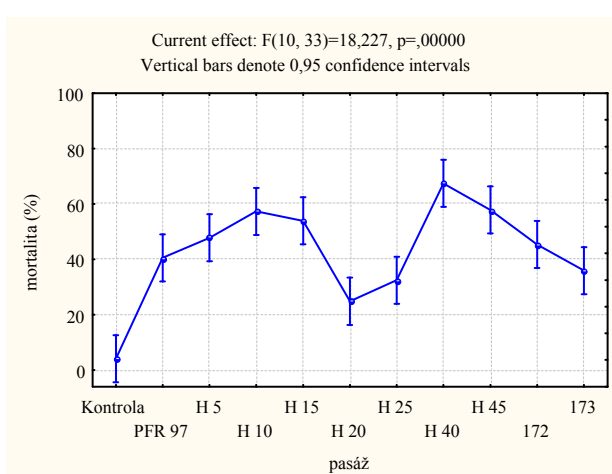
Graf. 11. Kumulovaná mortalita v populaci svilušky chmelové *T. urticae* po ošetření dospělců kontinuálně pasážovaným kmenem PFR 97 entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium.



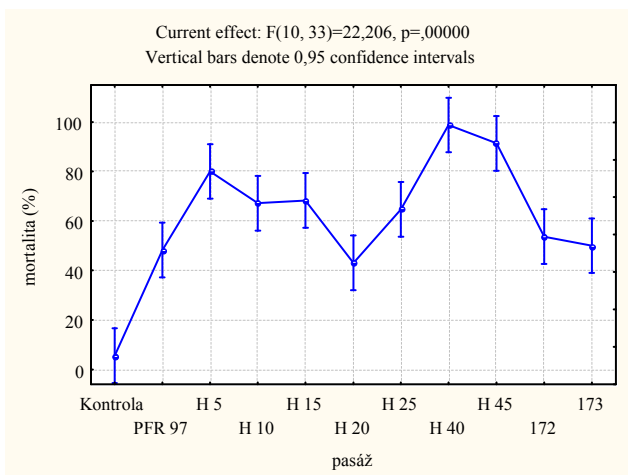
Kumulativní mortalita po 24 hodinách



Kumulativní mortalita po 48 hodinách



Kumulativní mortalita po 72 hodinách



Kumulativní mortalita po 96 hodinách

Kumulativní mortalita po 144 hodinách

Pomocí standardního biotestu na listových discích fazolu obecného byl testován účinek a vliv kmene P1 entomopatogenní houby *L. lecanii* pasážovaného přes různé hostitele nebo vybrané substráty na vajíčka svilušky *T. urticae*. Mortalita vajíček byla stanovována po 72 a 144 hodinách. Vliv ošetření byl statisticky průkazný po 72 hodinách ($F=11,182$; $df=10;165$; $p<0,0000$) i 144 hodinách ($F=31,106$; $df=10;165$; $p<0,0000$).

Při prvním hodnocení byla nejvyšší mortalita (41,56%) zaznamenána u populace ošetřené kmenem PFR 97 – 172, naopak nejnižší hodnoty byly sledovány u původního kmene PFR 97. Po 144 hodinách byla nejvyšší kumulovaná mortalita sledována u kmene PFR 97 pasážovaného přes svilušku (pasáž H20), dosáhla hodnoty blízké se 100%. S výjimkou pasáží H10 a H50 došlo u všech testovaných pasáží k navýšení mortality v porovnání s původním kmenem PFR 97. Více jak 20% navýšení bylo sledováno u kmenů PFR 97 - 172, H20 a H25. U izolátů 172 a 173 a u pasáží H5, H20, H25 a H45 přesáhl ISP hodnotu 1,5, odpovídající přechodu do saprotrofní fáze vývoje hub.

Tab. 45. Účinnost kmene PFR 97 entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* kontinuálně pasážovaného přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium na svilušku chmelovou *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček.

	počet	72 hod		144 hod		
CTRL	16,50±8,49 264	0,0±0,0 (0%;0)	e	0,03±0,1566	0,0±0,0 (0%;0)	e 0,10±0,3050
PFR 97 2B	14,75±5,63	17,78±12,71 (9,31%;1,38)	de	0,14±0,4603	43,06±9,86 (46,57%;6,88)	cd 1,29±1,4281
172	35,31±20,04 565	40,16 ±9,41 (41,56%; 14,69)	a	0,73±0,9395	50,56±6,45 (59,60%; 21,06)	bc 1,60±1,4021
173	32,69±28,53 523	31,65±16,80 (27,51%; 9,00)	ab	0,65±1,1201	54,43±22,75 (66,11%; 21,63)	ab 1,57±1,3360
H 5	18,56±8,18 297	30,17±12,16 (25,23%;4,69)	bcd	0,45±0,8031	54,12±10,71 (65,61%;12,19)	bc 1,85±1,4002
H 10	23,31±9,12 373	18,61±6,22 (10,18%;2,38)	cde	0,14±0,4498	33,40±12,05 (30,27%;7,06)	d 0,77±1,2402
H 15	17,44±6,91 288	21,05±8,70 (12,89%;2,25)	cde	0,34±0,8469	34,61±6,70 (32,23%;5,63)	d 0,67±1,1498
H 20	23,85±14,41 310	35,39±15,40 (33,52%;8,00)	ab	0,84±1,2520	86,74±23,98 (99,67%;23,77)	a 2,96±0,2515
H 25	15,87±12,87 238	33,11±17,19 (29,80%;4,73)	bcd	0,64±1,0505	61,55±13,78 (77,27%;12,27)	ab 2,21±1,2734
H 40	29,36±27,23 411	30,84±17,04 (26,25%;7,71)	ab	0,71±1,2221	46,46±14,72 (52,51%;15,43)	bc 1,57±1,4967
H 45	38,00±25,88 570	27,31±10,98 (21,03%;8,00)	abc	0,39±0,8177	44,50±13,32 (49,08%;18,67)	bc 1,48±1,4952

a,b,c,,Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

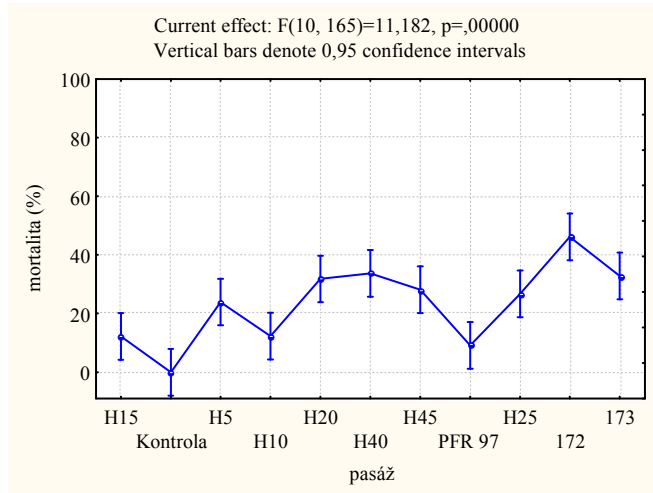
^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{(\text{počet všech mrtvých vajíček} / \text{celkový počet všech vajíček})}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých vajíček jsou uvedeny v závorkách.

Tab. 46. Statistické hodnocení účinnosti pasáží kmene PFR 97 entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na mortalitu svilušky chmelové *T. urticae* po aplikaci na synchronizovanou populaci vajíček.

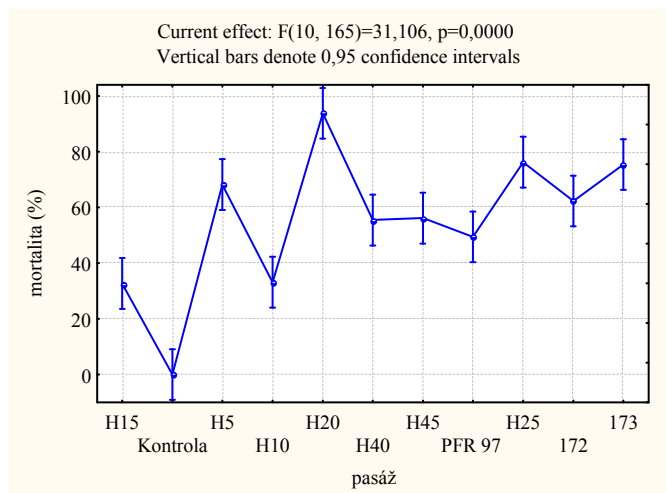
Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	95914,01	368,601***	1	528014,6	1549,206***
Varianta	10	2909,57	11,182***	10	10601,7	31,106***
chyba	165	260,21		165	340,8	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf. 12. Hodnocení vlivu kontinuálně pasážovaného kmene PFR 97 entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* přes různé druhy hostitelů, substrát a umělé živné médium na mortalitu svlušky chmelové *T. urticae* po ošetření věkově synchronizované populace vajíček.



Kumulativní mortalita po 72 hodinách



Kumulativní mortalita po 144 hodinách

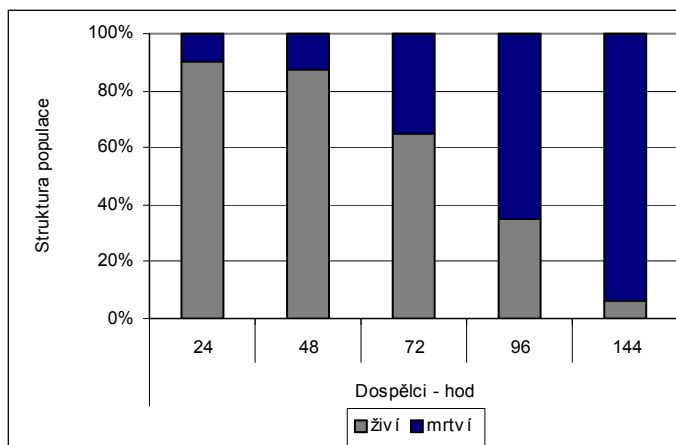
5.3. Využití systému polyfaktoriální charakterizace akaropatogenních účinků hub při hodnocení jejich kompatibility s vybranými pesticidy.

V podmínkách *in vivo* byly sledovány změny ve struktuře populací dospělců svlušky *T. urticae* ošetřených přípravky TRIACTTM90 EC (přípravek na bázi „neem oil“, dále jen NEEM) a OMITE 50 WP. Při testování byla použita koncentrace NEEM 0,1% a 0,05% a OMITE 50 WP 0,01% a 0,005%. Pomocí grafů trendu vývoje byly stanoveny průměrné hodnoty ISP 1,0 (pro varianty ve kterých byl použit pouze pesticid) a 1,5 (pro varianty, ve kterých byly použity vybrané kmeny hub resp. pesticidy v kombinaci s houbami).

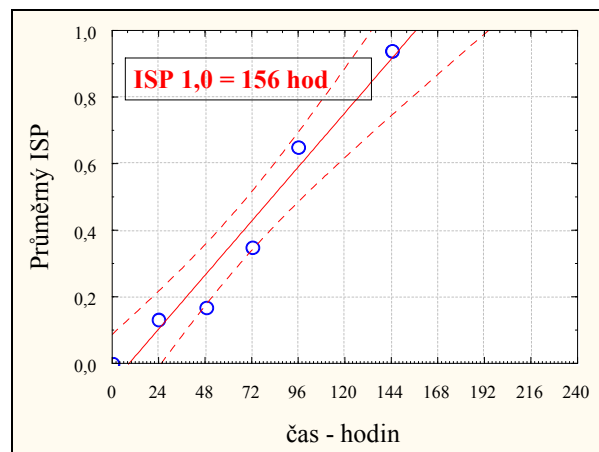
5.3.1. Využití systému polyfaktoriální charakterizace k hodnocení akaricidních účinků přírodního insekticidu TRIACT 90 EC a selektivního akaricidu OMITE

Char. 39. Charakteristika akaricidní účinnosti přírodního insekticidu TRIACT^{IM}90 EC – koncentrace 0,1%

Struktura populace dospělců svlušky *T. urticae* ošetřené 0,1% TRIACT 90 EC – koncentrace 0,1%



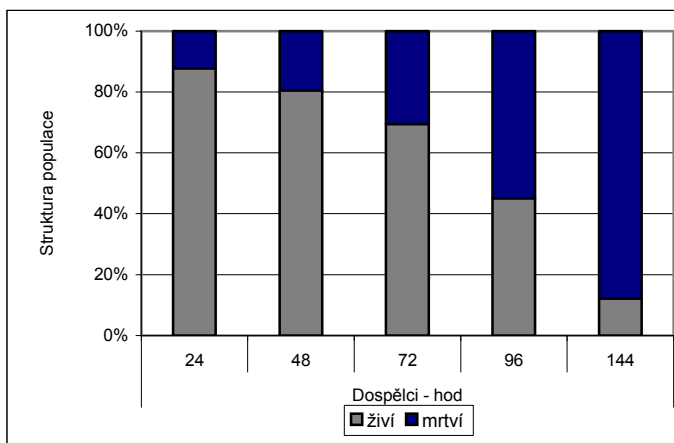
Trend vývoje průměrného ISP – TRIACT 90 EC - 0,1% (NEEM 0,1% = $-0,0594+0,0068*x$)



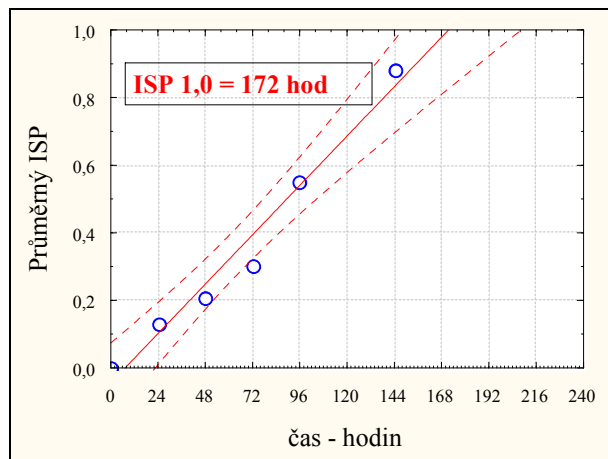
V populaci svlušky chmelové ošetřené subletální koncentrací NEEM (0,1%) byl sledován nárůst mrtvých jedinců z 10% při hodnocení po 24 hodinách až na hodnotu 93,75% v době ukončení testu.

Char. 40. Charakteristika akaricidní účinnosti přírodního insekticidu TRIACT 90 EC – koncentrace 0,05%

Struktura populace dospělců svlušky *T. urticae* ošetřené 0,05% TRIACT 90 EC – koncentrace 0,05%



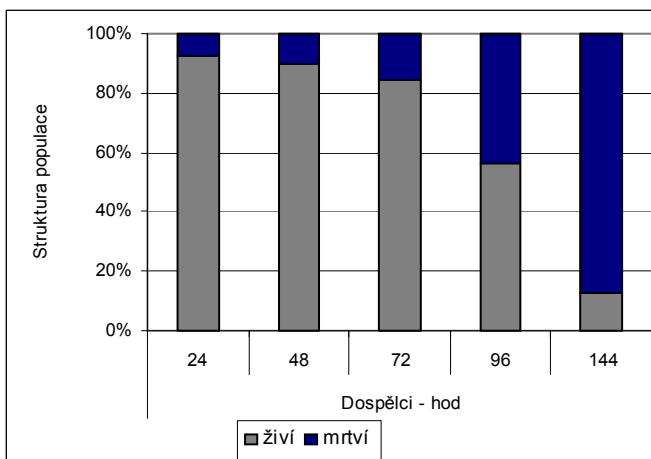
Trend vývoje průměrného ISP – TRIACT 90 EC - 0,05% ($NEEM\ 0,05\% = -0,0447 + 0,0061 * x$)



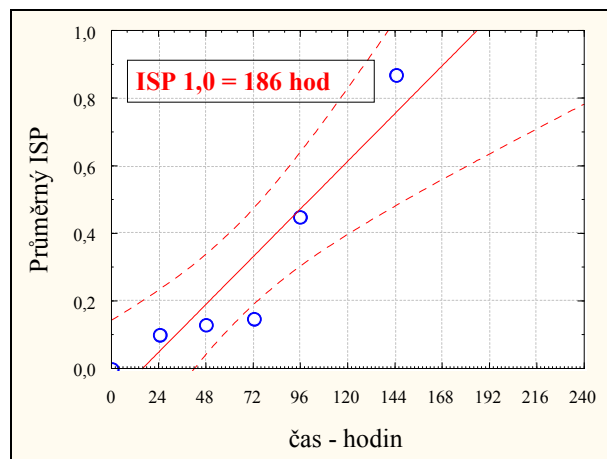
Mezi dospělci svlušky *T. urticae* vystavenými působení NEEM v koncentraci 0,05% stoupal počet mrtvých jedinců z 12,19% (hodnoceno po 24 hodinách) až na 87,81% (v době ukončení testu).

Char. 41. Charakteristika akaricidní účinnosti subletální dávky akaricidu OMITE – koncentrace 0,005%

Struktura populace dospělců svlušky *T. urticae* ošetřené akaricidem OMITE – koncentrace 0,005%



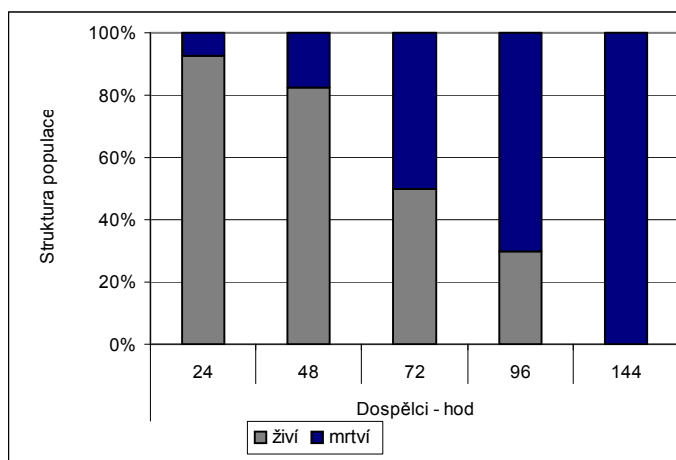
Trend vývoje průměrného ISP – OMITE 0,005% ($Omite\ 0,005\% = -0,0934 + 0,0059 * x$)



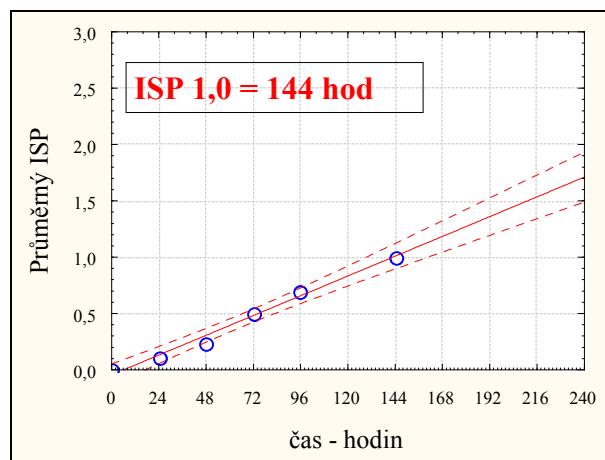
V populaci svlušky chmelové ošetřené akaricidem OMITE v koncentraci 0,005% byl sledován nárůst mrtvých jedinců z 7,69% při hodnocení po 24 hodinách až na hodnotu 87,18% v době ukončení testu.

Char. 42. Charakteristika akaricidní účinnosti subletální dávky akaricidu OMITE - koncentrace 0,01%

Struktura populace dospělců svlušky *T. urticae* ošetřené akaricidem OMITE – koncentrace 0,01%



Trend vývoje průměrného ISP – OMITE 0,01%
(Omite 0,01% = $-0,0449+0,0073*x$)



Mezi dospělci svlušky *T. urticae* vystavenými působení akaricidu OMITE v koncentraci 0,01% stoupal počet mrtvých jedinců z 7,50% (hodnoceno po 24 hodinách) až na 100% (v době ukončení testu).

Tab. 47. Vliv přírodního insekticidu TRIACT™ a selektivního akaricidu OMITE® na dospělé svlušky chmelové *T. urticae*.

	počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod
Kontrola	20,0±0,00 (781)	0,0±0,0 (0%;0)	b 0,0±0,0 (0%;0)	b 11,17±8,08 (3,75%;0,75)	c 14,48±2,39 (6,24%;1,25)	b 15,89±2,76 (7,49%;1,50)
0,05% „neem oil“ ^z	20,50±0,50	20,44±4,33 (12,18%;2,50)	a 26,21±2,56 (19,49%;4,00)	a 33,52±2,71 (30,46%;6,25)	b 47,80±4,54 (54,84%;11,25)	a 69,56±4,91 (87,76%;18,00)
0,1% „neem oil“ ^z	20,00±0,71	18,43±5,17 (9,99%; 2,00)	a 20,70±5,37 (12,49%;2,50)	a 36,27±3,58 (34,97%;7,00)	b 52,24±5,62 (62,46%;12,50)	a 75,52±7,45 (93,72%;18,75)
0,005% Omite	19,50±0,50	16,10±2,80 (7,68%; 1,50)	a 18,68±5,81 (10,25%;2,00)	a 23,09±6,86 (15,37%;3,00)	b 42,06±6,30 (44,83%; 8,75)	a 69,02±11,01 (87,14%;17,00)
0,01% Omite	20,00±0,00	15,89±2,76 (7,49%;1,50)	ab 24,73±5,44 (17,48%;3,50)	a 45,00±4,56 (49,96%;10,00)	a 56,79±8,50 (69,95%;14,00)	a 90,00±0,00 (100,0%;20,00)

a,b,c, Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty $[\arcsin\sqrt{(\text{počet všech mrtvých svlušek} / \text{celkový počet všech svlušek})}]$. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svlušek jsou uvedeny v závorkách.

Po 48 hodinách byla u všech testovaných variant zaznamenána v populaci svlušky chmelové mortalita přesahující 10%, v době ukončení testu přesáhla kumulovaná mortalita hodnotu 85%. 100% účinnost byla sledována po aplikaci přípravku OMITE®. Vliv ošetření na celkovou mortalitu v populaci svlušky chmelové byl statisticky průkazný ve všech sledovaných dnech (Tab. 48 a, b).

Tab. č. 48 a. Statistické hodnocení vlivu přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ a akaricidu OMITE[®] na mortalitu dospělců svlušky chmelové *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	1422,084	74,439***	1	3829,996	121,913***	1	17996,54	444,823***
Varianta	4	104,213	5,455**	4	270,983	8,626***	4	1116,62	27,600***
chyba	15	19,104		15	31,416		15	40,46	

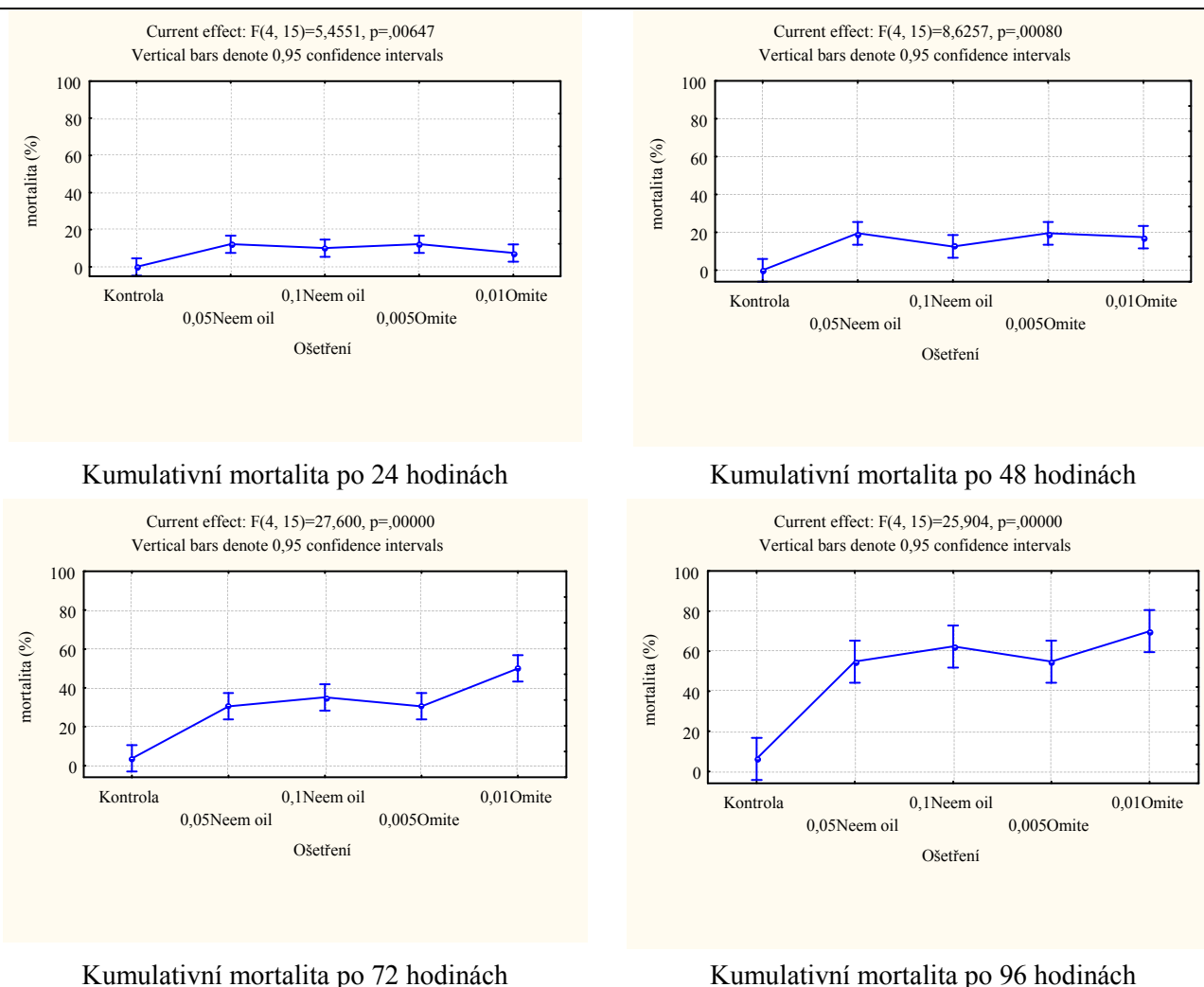
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

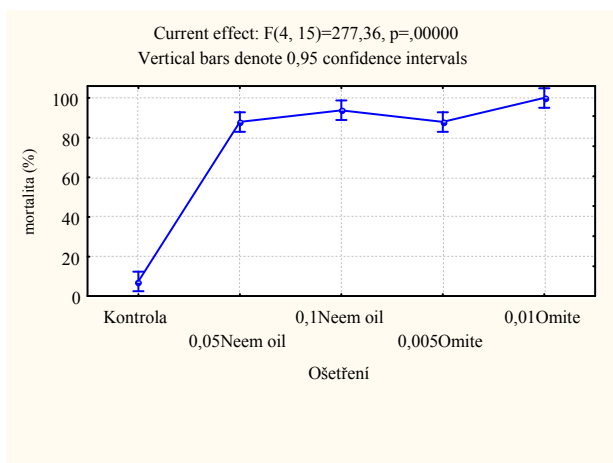
Tab. č. 48 b. Statistické hodnocení vlivu přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ a akaricidu OMITE[®] na mortalitu dospělců svlušky chmelové *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	49264,39	507,790***	1	113707,8	5376,372***
Varianta	4	2513,13	25,904***	4	5866,0	277,357***
chyba	15	97,02		15	21,1	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf 13. Hodnocení vlivu přírodního insekticidu TRIACT[™] a selektivního akaricidu OMITE[®] na mortalitu dospělců svlušky chmelové *T. urticae*.





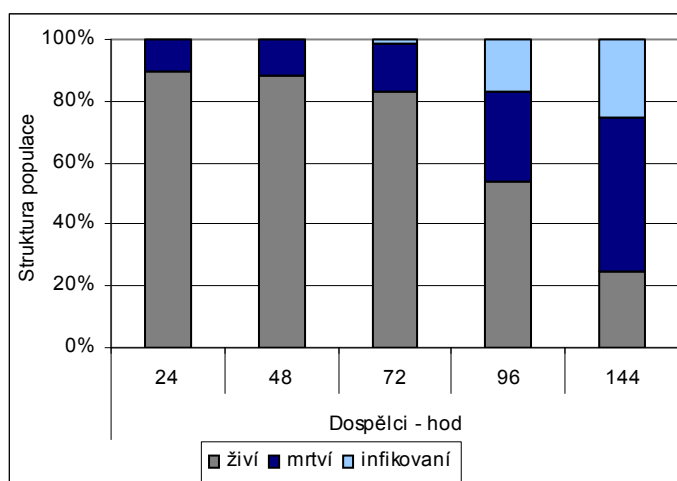
Kumulativní mortalita po 144 hodinách

5.3.2. Využití systému polyfaktoriální charakterizace akaropatogenních účinků houby *Beauveria bassiana* pro hodnocení kompatibility s vybranými pesticidy.

Pro studii kompatibility s vybranými pesticidy byl použit kmen A 25 houby *B. bassiana*. Před aplikací byla suspenze spor houby v příslušné koncentraci pesticidu ponechána po dobu 2 hodin (tank-mix). Stupeň kompatibility byl stanoven pomocí *in vitro* testu (klíčivost %, vývoj patogena – průměrný IVP) a pomocí standardního *in vivo* biotestu na dospělých svlušky chmelové (struktura populace, průměrný ISP a doba potřebná k dosažení průměrného ISP – 1,5).

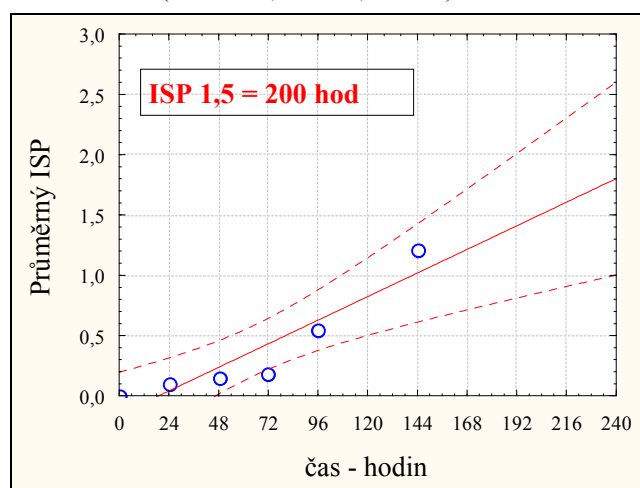
Char. 43. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *Beauveria bassiana* - kmen A25

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *B. bassiana* kmen A25



Klíčivost (24 hod) 99 %

Trend vývoje průměrného ISP – *B. bassiana* kmen A 25 ($A_{25} = -0,1549 + 0,0081 * x$)

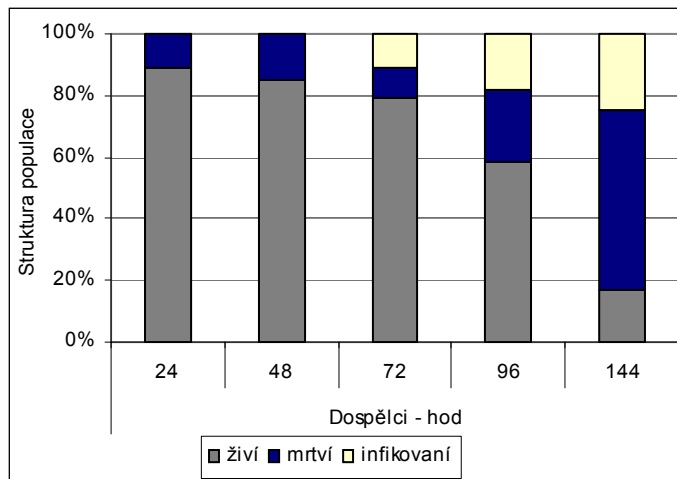


IVP *in vitro* (24 hod) $1,97 \pm 0,2111$

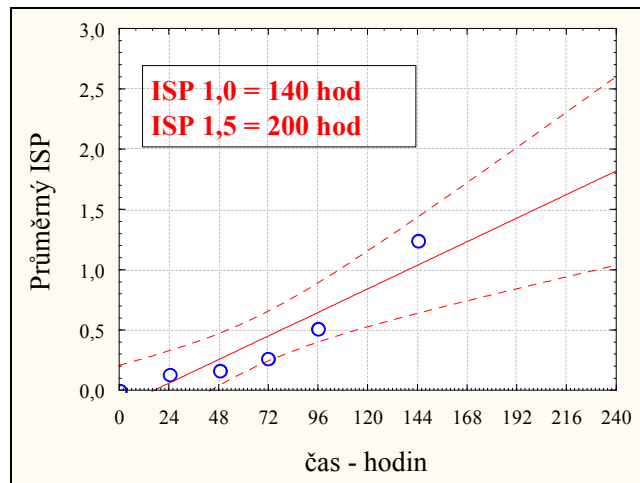
Při sledování vlivu houby *B. bassiana* kmen A25 na populaci dospělců svlušky byla v době ukončení testu zaznamenána sporulace na 19,23% jedinců.

Char. 44. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *Beauveria bassiana* - kmen A25 aplikované v kombinaci s NEEM 0,05%

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *B. bassiana* kmen A25 v kombinaci s NEEM 0,05%



Trend vývoje průměrného ISP *B. bassiana* kmen A 25 + NEEM 0,05% ($A_{25}+NEEM\ 0,05 = -0,1361 + 0,0081 \cdot x$)



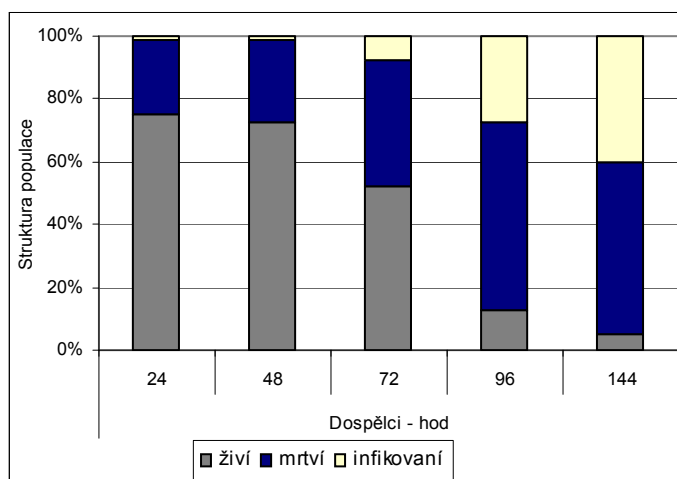
Klíčivost (24 hod) 99 %

IVP *in vitro* (24 hod) $1,97 \pm 0,2227$

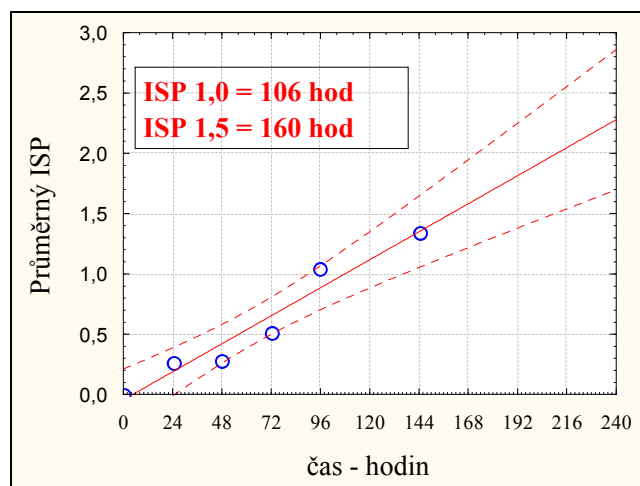
Při sledování účinnosti kombinace houby *B. bassiana* kmen A25 a NEEM 0,05% na dospělé svlušky chmelové byla po 72 hodinách zaznamenáno nejvyšší procento jedinců s myceliem na povrchu těla (10,98%). Po 144 hodinách byla zaznamenána sporulace na povrchu 17,07% svlušek.

Char. 45. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *Beauveria bassiana* - kmen A25 aplikované v kombinaci s NEEM 0,1%

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *B. bassiana* kmen A25 v kombinaci s NEEM 0,1%



Trend vývoje průměrného ISP - *B. bassiana* kmen A25+NEEM 0,1% ($A_{25}+NEEM\ 0,1\% = -0,0444 + 0,0097 \cdot x$)



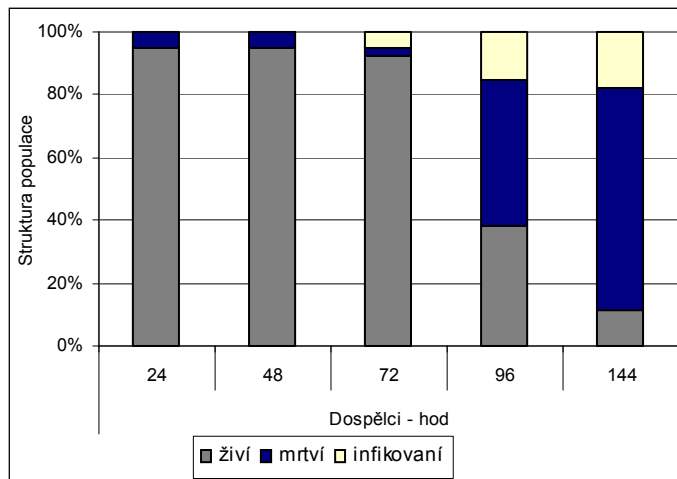
Klíčivost (24 hod) 99 %

IVP *in vitro* (24 hod) $1,97 \pm 0,2000$

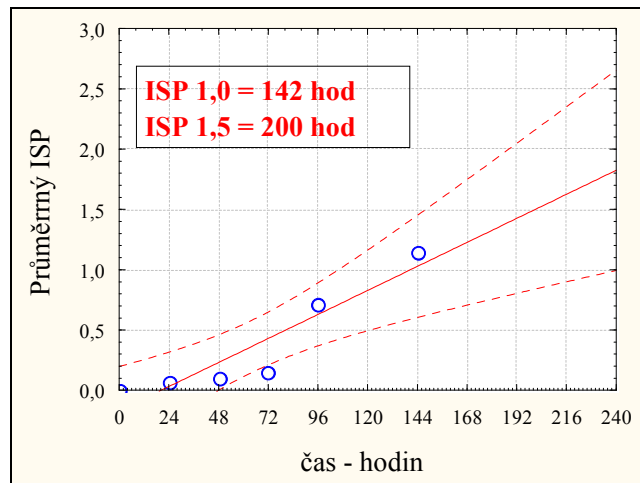
Při hodnocení účinnosti kombinace huby *B. bassiana* kmen A25 a NEEM 0,1% bylo po 72 hodinách sledováno 7,50% dospělců se saprotrofní fází vývoje houby, u 1,25% jedinců se již objevila myceliální síť (ISP 2,0).

Char. 46. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *Beauveria bassiana* - kmen A25 aplikované v kombinaci s akaricidem OMITE® v koncentraci 0,005%

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *B. bassiana* kmen A25 v kombinaci s OMITE 0,005%



Trend vývoje průměrného ISP - *B. bassiana* kmen A 25 + OMITE 0,005% ($A25 + OMITE 0,005\% = -0,1677 + 0,0083 \cdot x$)



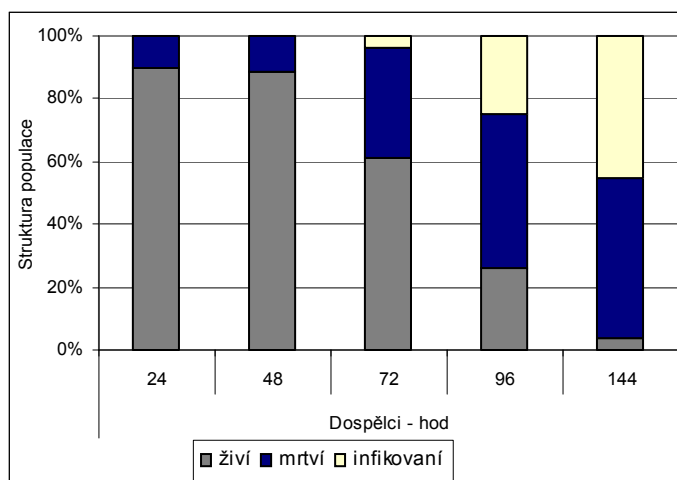
Klíčivost (24 hod) 98 %

IVP *in vitro* (24 hod) $1,92 \pm 0,3102$

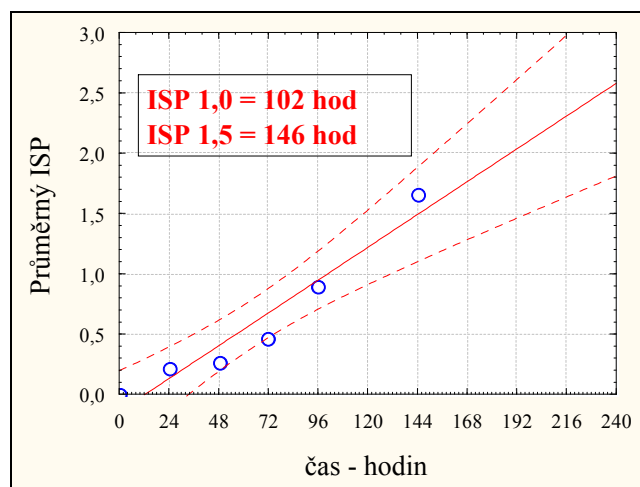
Při hodnocení účinnosti kombinace houby *B. bassiana* kmen A25 a akaricidu OMITE® 0,005% bylo po 72 hodinách zjištěno 5,12% dospělců se saprotrofní fáze vývoje houby, u 2,56% jedinců se již objevila myceliální síť.

Char. 47. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *Beauveria bassiana* - kmen A25 aplikované v kombinaci s akaricidem OMITE® v koncentraci 0,01%

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *B. bassiana* kmen A25 v kombinaci s OMITE 0,01%



Trend vývoje průměrného ISP - *B. bassiana* kmen A 25 + OMITE 0,01% ($A25 + OMITE 0,01\% = -0,142 + 0,0113 \cdot x$)



Klíčivost (24 hod) 99 %

IVP *in vitro* (24 hod) $1,94 \pm 0,2426$

Po 144 hodinách bylo u kombinace účinku houby *B. bassiana* kmen A25 a akaricidu OMITE® 0,01% zaznamenáno nejvíce dospělců (25,98%) se sporujícími patogenem na povrchu hostitele.

Tab. 49. Akaropatogenní účinnost kmene A 25 houby *B. bassiana* aplikovaného v kombinaci se subletálními dávkami pesticidů - analýza struktury populace dospělců *T. urticae* v kategorii infikovaní jedinci (% jedinců hodnocených indexy >1,0)

Kombinace	Infikovaní jedinci ^I (%, 72 h)	Sporulace II (%, 144 hod)	ISP 1,5 ^{III} (hod)
<i>B. bassiana</i> kmen A25	1,28 (1,28 + 0 + 0 + 0)	19,23	200
<i>B. bassiana</i> kmen A25 + OMITE 0,01	3,90 (3,90 + 0 + 0 + 0)	25,98	146
<i>B. bassiana</i> kmen A25 + OMITE 0,005	5,12 (2,56 + 2,56 + 0 + 0)	10,26	200
<i>B. bassiana</i> kmen A25 + NEEM 0,1	7,50 (6,25 + 1,25 + 0 + 0)	10,00	160
<i>B. bassiana</i> kmen A25 + NEEM 0,05	10,98 (10,98 + 0 + 0 + 0)	17,07	200

^I % celkem infikovaných jedinců (z toho % jedinců hodnocených indexy 1,5 + 2,0 + 2,5 + 3,0)

^{II} % jedinců v populaci s patogenem sporulujícím na povrchu těla (ISP 2,5 – 3,0)

^{III} Doba (hod) nutná pro dosažení průměrného ISP 1,5 (stanoveno pomocí grafů trendu vývoje ISP)

Pomocí standardního laboratorního biotestu na dospělých svlušky *T. urticae* bylo zjištěno, že po 72 hodinách došlo v populacích dospělců ošetřených houbou *Beauveria bassiana* kmen A25 v kombinaci s přípravky na bázi „neem oil“ a OMITE[®] k navýšení počtu infikovaných jedinců. Vyšší hodnoty byly sledovány u kombinace s přípravkem na bázi „neem oil“, nejvyšší sledovaná hodnota byla 10,98% infikovaných jedinců u kombinace houby *B. bassiana* kmen A25 s přípravkem na bázi „neem oil“ v koncentraci 0,05%.

Při hodnocení po 144 hodinách byla sledována sporulace u všech variant. K navýšení jedinců se sporulujícím patogenem na povrchu došlo pouze u kombinace s OMITE[®] 0,1% (25,98%).

Tab. 50. Vliv kmene A25 entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* v kombinaci se subletálními dávkami přírodního insekticidu TRIACT[™] a akaricidu OMITE[®] na mortalitu dospělců *T. urticae*.

	počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod
Kontrola	20,0±0,00 (781)	0,0±0,0 (0%;0)	b 0,0±0,0 (0%;0)	c 11,17±8,08 (3,75%;0,75)	c 14,48±2,39 (6,24%;1,25)	e 15,89±2,76 (7,49%;1,50)
A25	19,50±0,50	18,68±5,44 (10,25%;2,00)	b 19,86±4,75 (11,53%;2,25)	bc 24,09±5,93 (16,65%;3,25)	bc 42,79±3,33 (46,12%;9,00)	cd 60,43±1,34 (75,59%;14,75)
A25+0,05% „neem oil“	20,50±0,50	19,35±4,90 (10,96%;2,25)	b 22,49±3,05 (14,62%; 3,00)	b 27,09±3,04 (20,71%; 4,25)	b 40,08±2,97 (41,43%; 8,50)	d 65,59±6,96 (82,88%; 17,00)
A25+0,1% „neem oil“	20,00±0,00	30,00±2,35 (24,98%;5,00)	a 31,63±3,62 (27,47%; 5,50)	a 43,57±2,49 (47,46%; 9,50)	a 69,30±2,18 (87,46%;17,50)	a 77,08±6,78 (94,97%; 19,00)
A25+0,005% Omite	19,50±0,87	13,09±9,48 (5,12%; 1,00)	b 13,09±9,48 (5,12%; 1,00)	bc 16,10±8,14 (7,68%; 1,50)	bc 51,67±4,35 (61,49%;12,00)	bc 70,14±5,86 (88,42%; 17,25)
A25+0,01% Omite	19,25±0,83	18,80±3,25 (4,93%; 2,00)	b 19,99±4,63 (11,68%; 2,25)	bc 38,62±4,56 (38,93%; 7,50)	a 59,36±5,94 (73,98%;14,25)	ab 78,62±5,71 (96,08%; 18,50)

a,b,c, Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{\text{počet všech mrtvých svlušek} / \text{celkový počet všech svlušek}}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svlušek jsou uvedeny v závorkách.

Účinnost kmene A25 entomopatogenní houby *B. bassiana* v kombinaci s přírodním insekticidem na bázi „neem oil“ a akaricidem OMITE[®] byla testována na populaci dospělců svlušky chmelové. Celková kumulativní mortalita byla sledována 1., 2., 3., 4. a 6. den po aplikaci. Po 2 dnech byl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl ($F=10,594$; $df=5;18$; $p=0,0001$) na celkovou mortalitu dospělců svlušky. Po 48 hodinách byla v populaci ošetřených pouze kmenem A25 zaznamenána 12% mortalita, zatímco ošetření kmene A25 s přírodním insekticidem na bázi 0,1% „neem oil“ způsobilo 27% mortalitu a aplikace 0,05% „neem oil“ v kombinaci s patogenem na dospělé svlušky indukovala

mortalitu 15%. Kombinace kmene A25 s akaricidem OMITE[®] nevykazovala po 24 i 48 hodinách výrazný účinek na mortalitu dospělců svlušky. Po 96 hodinách byla zaznamenána výrazně vyšší mortalita i v populaci svlušky ošetřené kmenem A25 v kombinaci s OMITE[®] (0,005% koncentrace - 61% a 0,01% koncentrace - 74%). Po aplikaci kmene A25 v kombinaci s přírodním insekticidem na bázi 0,1% „neem oil“ dosáhla mortalita 87%. O 46% nižší mortalita byla zaznamenána ve variantě, ve které byl patogen aplikován v kombinaci s 0,05% „neem oil“. Po 144 hodinách se celková mortalita pohybovala v rozmezí od 76% do 96%. V kontrolní variantě byla zaznamenána pouze 7% mortalita. Vliv ošetření na celkovou mortalitu v populaci svlušky chmelové byl statisticky průkazný ve všech sledovaných dnech (Tab. 51 a, b).

Tab. 51 a. Statistické hodnocení vlivu přírodního insekticidu TRIACT[™] a akaricidu OMITE[®] na účinnost kmene A25 entomopatogenní houby *B. bassiana* proti dospělcům *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	2537,246	96,567***	1	3308,613	115,127***	1	12206,87	280,606***
Varianta	5	278,349	10,594***	5	349,500	12,161***	5	1201,43	27,618***
chyba	18	26,274		18	28,739		18	43,50	-

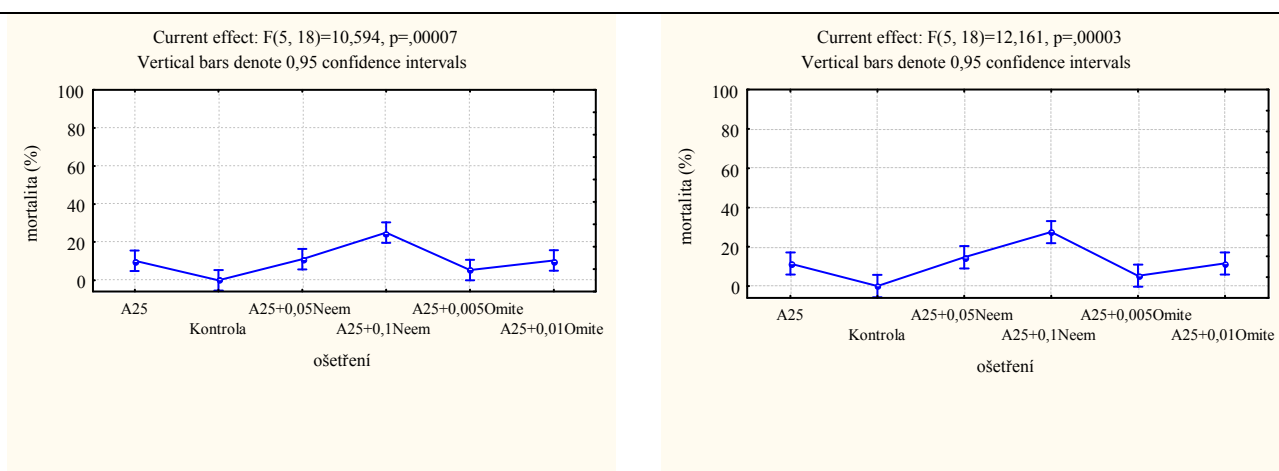
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Tab. 51 b. Statistické hodnocení vlivu přírodního insekticidu TRIACT[™] a akaricidu OMITE[®] na účinnost kmene A25 entomopatogenní houby *B. bassiana* proti dospělcům *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	66845,87	1447,371***	1	132448,5	4439,218***
Varianta	5	3257,30	70,528***	5	4518,1	151,432***
chyba	18	46,18		18	29,8	

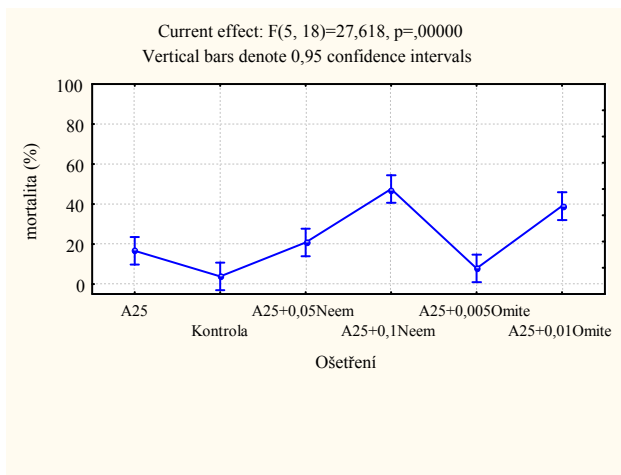
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf 14. Hodnocení akaropatogenní účinnosti kmene A25 houby *B. bassiana* v kombinaci s přírodním insekticidem na bázi „neem oil“ a s akaricidem OMITE[®] proti dospělcům *T. urticae*.

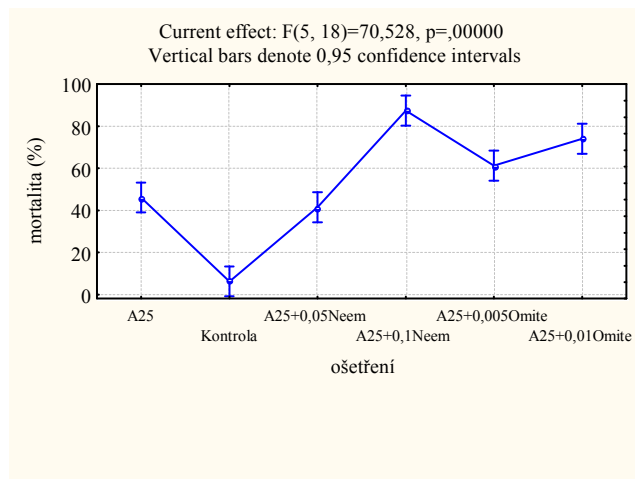


Kumulativní mortalita po 24 hodinách

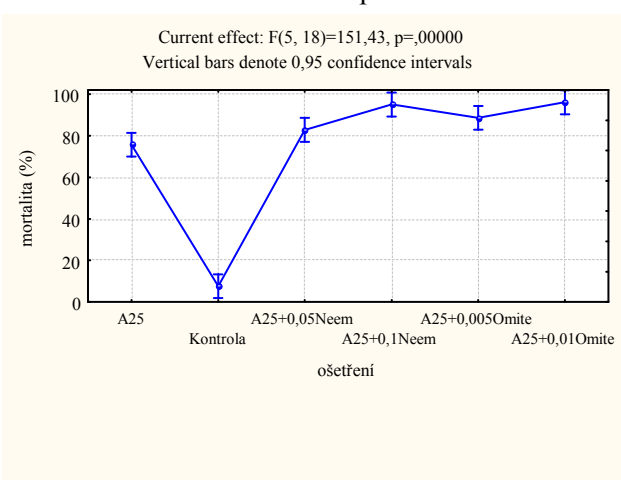
Kumulativní mortalita po 48 hodinách



Kumulativní mortalita po 72 hodinách



Kumulativní mortalita po 96 hodinách



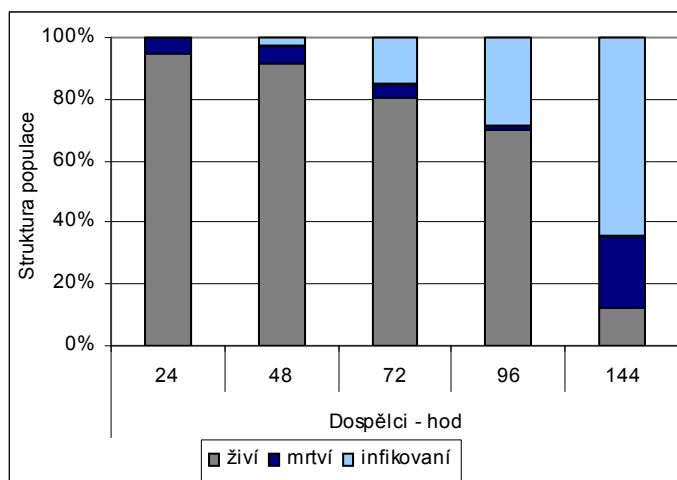
Kumulativní mortalita po 144 hodinách

5.3.3. Využití systému polyfaktoriální charakterizace akaropatogenních účinků houby *Lecanicillium lecanii* pro hodnocení kompatibility s vybranými pesticidy.

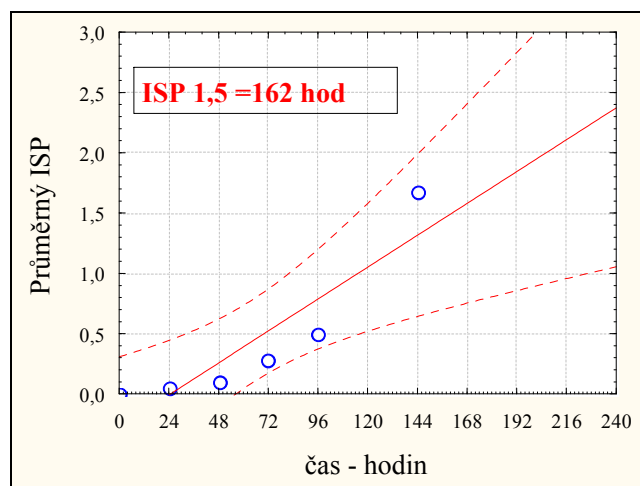
Pro studii kompatibility s vybranými pesticidy byl použit kmen I9 houby *L. lecanii*. Před aplikací byla suspenze spor houby v příslušné koncentraci pesticidu ponechána po dobu 2 hodin (tank-mix). Stupeň kompatibility byl stanoven pomocí *in vitro* testu (klíčivost %, vývoj patogena – průměrný IVP) a pomocí standardního *in vivo* biotestu na dospělých svlušky chmelové (struktura populace, průměrný ISP a doba potřebná k dosažení průměrného ISP – 1,5).

Char. 48. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* kmen I9.

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen I9



Trend vývoje průměrného ISP – *L. lecanii* kmen I9 ($Lle - I9 = -0,2714 + 0,011 * x$)



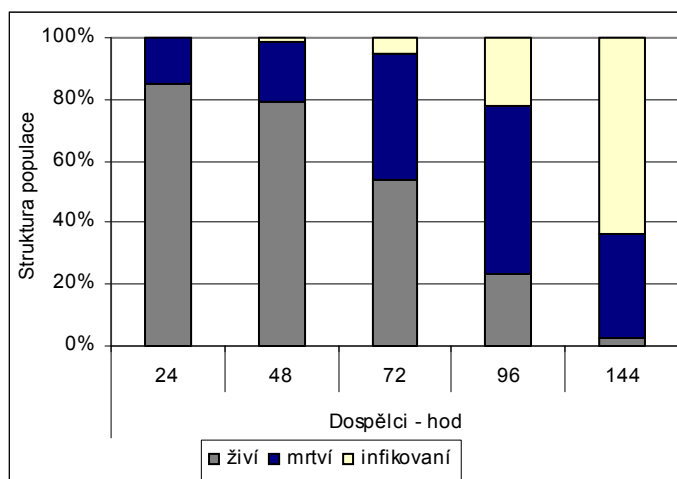
Klíčivost (24 hod) 100 %

IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

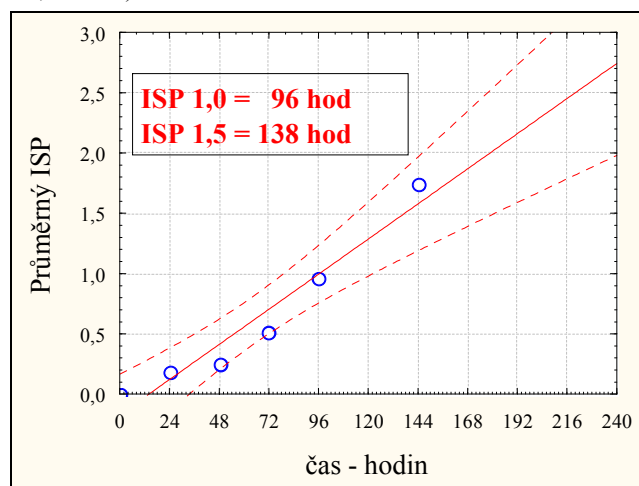
Při sledování vlivu houby *L. lecanii* kmen I9 na dospělé svlušky byla po 144 hodinách zaznamenána sporulace na povrchu těla 27,16% sledovaných jedinců.

Char. 49. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* - kmen A25 aplikované v kombinaci s NEEM - 0,05%

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen I9 v kombinaci s NEEM 0,5%



Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen I9 + NEEM 0,05% ($Lle I9 + NEEM 0,05\% = -0,1697 + 0,0121 * x$)



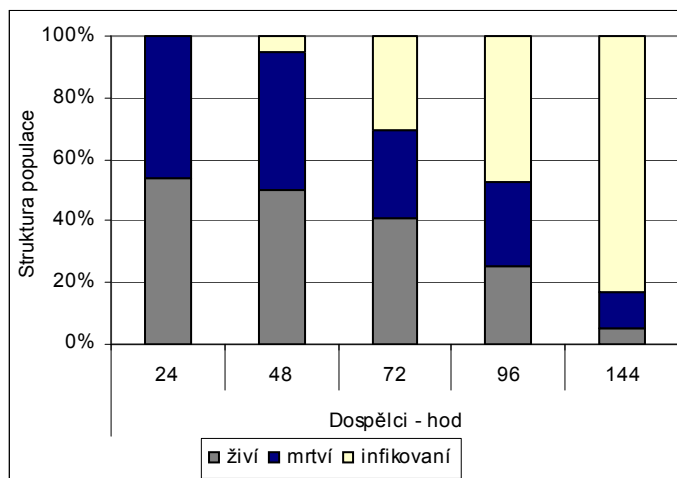
Klíčivost (24 hod) 100 %

IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

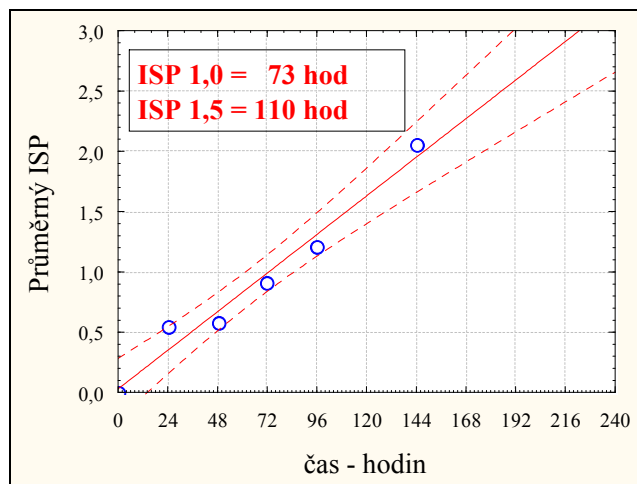
V populaci dospělců svlušky chmelové ovlivněné kombinací houby *L. lecanii* kmen I9 a NEEM 0,05% bylo po 72 hodinách trvání testu zaznamenáno mycelium na povrchu (4,88% jedinců) a počátek sporulace (1,22% dospělců).

Char. 50. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* - kmen A25 aplikované v kombinaci s NEEM - 0,1%

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen I9 v kombinaci s NEEM 0,1%



Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen I9+NEEM 0,1% ($Lle\ I9 + NEEM\ 0,1\% = 0,03 + 0,0133 \cdot x$)



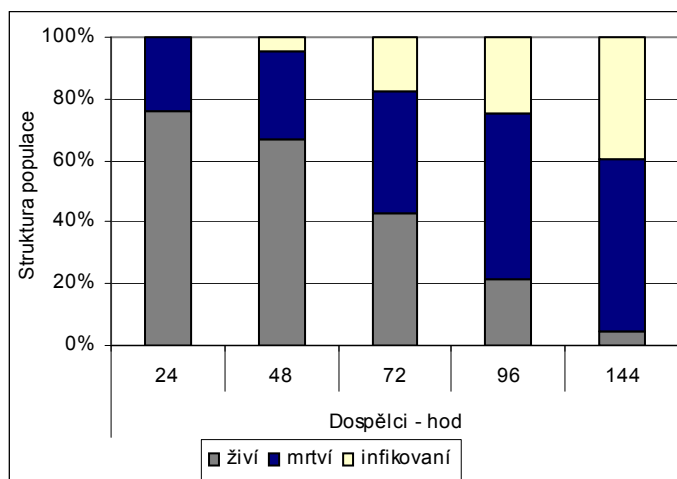
Klíčivost (24 hod) 100 %

IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

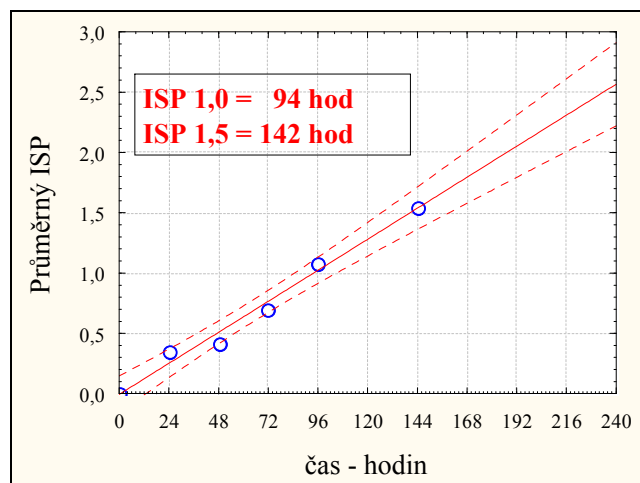
Při hodnocení účinku houby *L. lecanii* kmen I9 a NEEM 0,1% bylo po 72 hodinách trvání testu zaznamenáno nejvyšší procento jedinců s myceliem na povrchu těla (30,77%), ve stejné době byl zaznamenán již i počátek sporulace patogena v myceliu na povrchu hostitele (7,69).

Char. 51. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* - kmen A25 aplikované v kombinaci s akaricidem OMITE® v koncentraci 0,005%

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen I9 v kombinaci s OMITE 0,05%



Trend vývoje průměrného ISP-*L. lecanii* kmen I9 + OMITE 0,005% ($Lle\ I9 + OMITE\ 0,005\% = -0,0057 + 0,0107 \cdot x$)



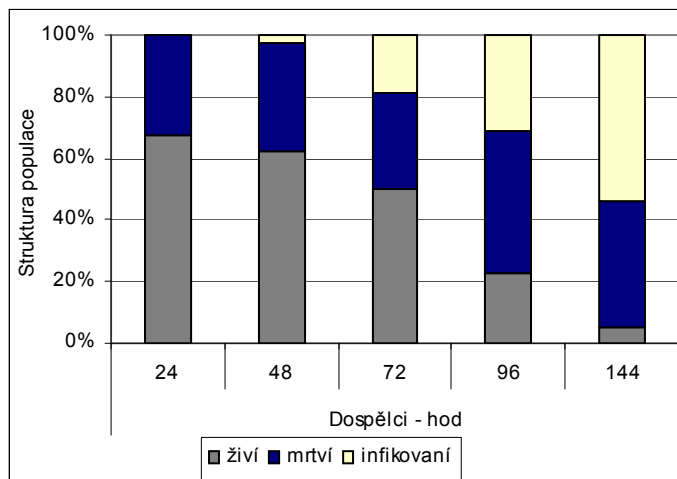
Klíčivost (24 hod) 100 %

IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

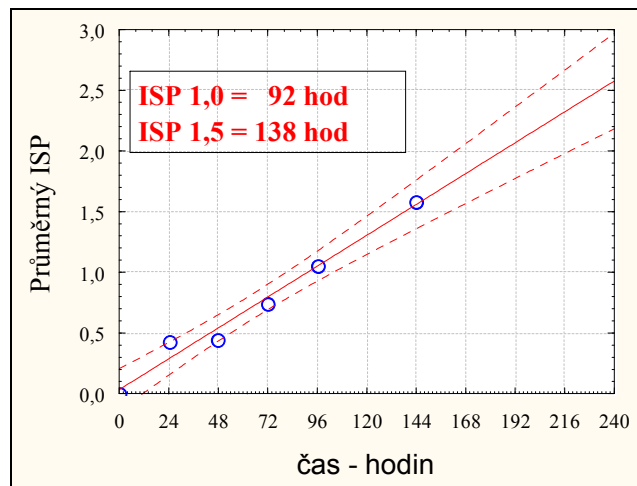
Při hodnocení účinku houby *L. lecanii* kmen I9 a OMITE® 0,005% byla po 72 hodinách zaznamenána saprotrofní fáze vývoje houby u 17,85% dospělců, po 144 hodinách dospěl patogen do stádia sporulace u 21,43% jedinců.

Char. 52. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *L. lecanii* - kmen A25 aplikované v kombinaci s akaricidem OMITE® v koncentraci 0,01

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *L. lecanii* kmen I9 v kombinaci s OMITE 0,01



Trend vývoje průměrného ISP - *L. lecanii* kmen I9 + OMITE 0,01% ($Lle\ I9 + OMITE\ 0,01\% = 0,0336 + 0,0106 \cdot x$)



Klíčivost (24 hod) 100 %

IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

Při hodnocení účinku houby *L. lecanii* kmen I9 a OMITE® 0,01 byla po 72 hodinách zaznamenána saprotrofní fáze vývoje houby u 18,75% dospělců, po 144 hodinách dospěl patogen do stádia sporulace u 16,25% jedinců.

Tab. 52. Akaropatogenní účinnost kmene I9 houby *Lecanicillium lecanii* aplikovaného v kombinaci se subletálními dávkami pesticidů - analýza struktury populace dospělců *T. urticae* v kategorii infikovaní jedinci (% jedinců hodnocených indexy >1,0)

Kombinace	Infikovaní jedinci (%, 72 hod)	Sporulace (%, 144 hod)	ISP 1,50 (hod)
<i>L. lecanii</i> kmen I9 + NEEM 0,05	4,88 (0 + 3,66 + 1,22 + 0)	19,51	138
<i>L. lecanii</i> kmen I9	14,81 (11,11 + 3,70 + 0 + 0)	27,16	162
<i>L. lecanii</i> kmen I9 + OMITE 0,005	17,85 (10,71 + 7,14 + 0 + 0)	21,43	142
<i>L. lecanii</i> kmen I9 + OMITE 0,01	18,75 (6,25 + 12,50 + 0 + 0)	16,25	138
<i>L. lecanii</i> kmen I9 + NEEM 0,1	30,77 (6,41 + 16,67 + 7,69 + 0)	38,46	110

^I % celkem infikovaných jedinců (z toho % jedinců hodnocených indexy 1,5 + 2,0 + 2,5 + 3,0)

^{II} % jedinců v populaci s patogenem sporulujícím na povrchu těla (ISP 2,5 – 3,0)

^{III} Doba (hod) nutná pro dosažení průměrného ISP 1,5 (stanoveno pomocí grafů trendu vývoje ISP)

Pomocí standardního laboratorního biotestu na dospělých svlušky *T. urticae* bylo zjištěno, že po 72 hodinách došlo v populacích dospělců ošetřených houbou *Lecanicillium lecanii* kmen I9 v kombinaci s přípravky na bázi „neem oil“ a OMITE® k navýšení počtu infikovaných jedinců. Nižší hodnota byla sledována pouze u kombinace s přípravkem na bázi „neem oil“ 0,05%. U obou variant s přípravkem na bázi „neem oil“ však již byl sledován počátek sporulace na povrchu těla hostitele. U varianty s přidávkem přípravku na bázi „neem oil“ v koncentraci 0,1% bylo pozorováno nejvíce infikovaných jedinců (30,77%).

V době ukončení testu byla sledována sporulace u všech variant. K navýšení jedinců se sporulujícím patogenem na povrchu došlo pouze u kombinace s přídatkem přípravku na bázi „neem oil“ v koncentraci 0,1% (38,46%).

Tab. 53. Akaropatogenní účinnost kmene I9 entomopatogenní houby *Lecanicillium lecanii* v kombinaci se subletálními dávkami přírodního insekticidu TRIACT™ a akaricidu OMITE® proti dospělcům *T. urticae*.

	počet	24 hod		48 hod		72 hod		96 hod		144 hod
Kontrola	18,75±0,83	9,40±6,82 (2,66%; 0,50)	d	13,35±0,30 (5,33%; 1,00)	e	13,35±0,30 (5,33%; 1,00)	b	13,35±0,30 (5,33%; 1,00)	c	14,96±2,41 (6,66%; 1,25)
I9	20,25±0,43	12,84±6,65 (4,93%; 1,00)	d	17,10±2,33 (8,63%; 1,75)	de	26,39±3,90 (19,73%; 4,00)	b	32,98±4,66 (29,60%; 6,00)	b	69,43±4,41 (87,61%; 17,75)
I9+0,05% „neem oil“	20,50±0,50	22,49±7,19 (14,62%; 3,00)	cd	27,09±7,44 (20,71%; 4,25)	cd	42,90±4,14 (46,30%; 9,50)	a	61,23±4,55 (76,78%; 15,75)	a	81,02±6,30 (97,54%; 20,00)
I9+0,1% „neem oil“	19,50±0,50	42,79±3,03 (46,12%; 9,00)	a	45,00±3,80 (49,96%; 9,75)	a	50,17±6,01 (58,93%; 11,50)	a	71,32±0,25 (89,71%; 17,50)	a	80,79±7,98 (97,41%; 19,00)
I9+0,005% Omite	21,00±0,71	29,21±4,19 (23,79%; 5,00)	bc	35,26±1,81 (33,30%; 7,00)	bc	49,11±7,25 (57,10%; 12,0)	a	62,42±5,49 (78,53%; 16,50)	a	77,40±6,61 (95,21%; 20,00)
I9+0,01% Omite	20,00±0,00	34,76±3,44 (32,47%; 6,50)	ab	37,76±3,32 (34,47%; 7,50)	ab	44,28±3,74 (48,71%; 9,75)	a	61,68±7,31 (77,45%; 15,50)	a	77,08±6,78 (94,97%; 19,00)

a,b,c, Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{\text{počet všech mrtvých svlušek} / \text{celkový počet všech svlušek}}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svlušek jsou uvedeny v závorkách.

Účinnost kmene I9 v kombinaci s přírodním insekticidem TRIACT™ a akaricidem OMITE® byla ověřována na dospělých svlušky chmelové. Nejvyšší mortalita byla zaznamenána v populacích ošetřených kmene I9 v kombinaci s 0,1% „neem oil“ (1. den - 46% až 97% 6. den), nicméně obdobný trend byl zaznamenán i ve variantě, ve které byla použita i nižší koncentrace „neem oil“. Při použití samotného kmene I9 byl zaznamenán poněkud pozvolný vzestup mortality. K výrazné mortalitě došlo v časovém rozmezí od 96 hodin do 144 hodin. V tomto časovém rozmezí došlo ke zvýšení mortality téměř o 60%. Po aplikaci kmene I9 v kombinaci s akaricidem OMITE® vykazovaly obě koncentrace téměř shodné účinnosti. V první fázi pokusu způsobila vyšší mortalitu v populaci dospělců svlušky kombinace patogena s 0,1% OMITE®, zatímco v druhé fázi byla zaznamenána vyšší mortalita v populaci dospělců po aplikaci kmene I9 v kombinaci s nižší koncentrací OMITE®. Ve všech sledovaných dnech byl prokázán statistický průkazný vliv ošetření na celkovou kumulativní mortalitu dospělců svlušky chmelové (Tab. 54 a, b).

Tab. 54 a. Statistické hodnocení vlivu přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ a akaricidu OMITE® na akaropatogenní účinnost kmene I9 houby *L. lecanii* proti svlušce *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	10378,08	243,679***	1	16109,05	356,787***	1	37062,33	435,059***
Varianta chyba	5	1125,89	26,436***	5	1214,95	26,909***	5	1897,44	22,273***
	18	42,59		18	45,15		18	85,19	

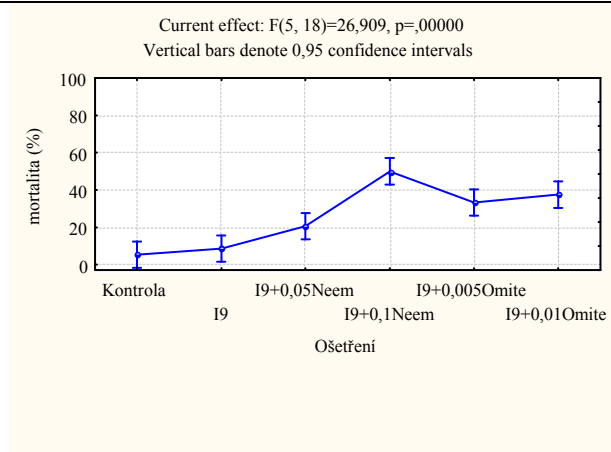
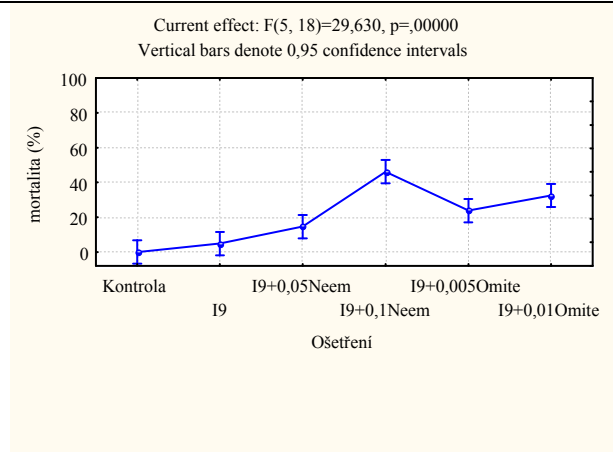
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Tab. 54 b. Statistické hodnocení vlivu přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ a akaricidu OMITE® na akaropatogenní účinnost kmene I9 houby *L. lecanii* proti svlušce *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	85257,98	1493,239***	1	153325,3	9455,182***
Varianta	5	4589,91	80,389***	5	5207,7	321,148***
chyba	18	57,10		18	16,2	

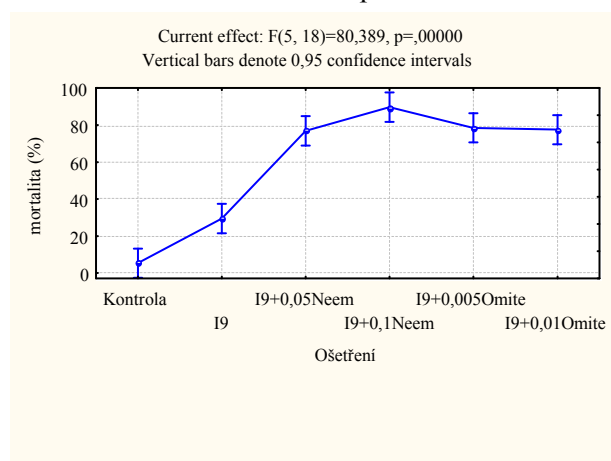
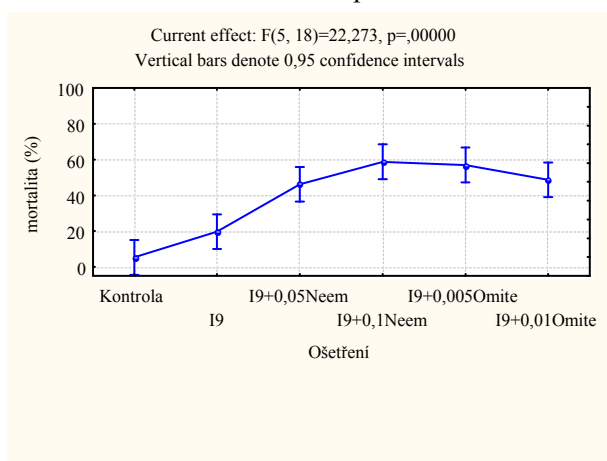
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf 15. Hodnocení účinnosti kmene I9 entomopatogenní houby *L. lecanicillium* v kombinaci se subletálními dávkami přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ a s akaricidem OMITE® na mortalitu dospělců svlušky *T. urticae*.



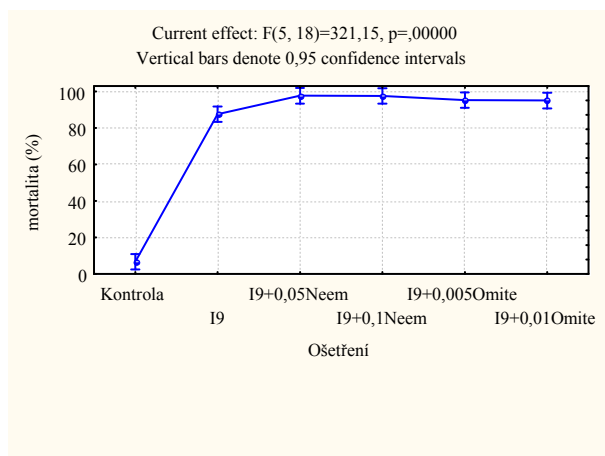
Kumulativní mortalita po 24 hodinách

Kumulativní mortalita po 48 hodinách



Kumulativní mortalita po 72 hodinách

Kumulativní mortalita po 96 hodinách



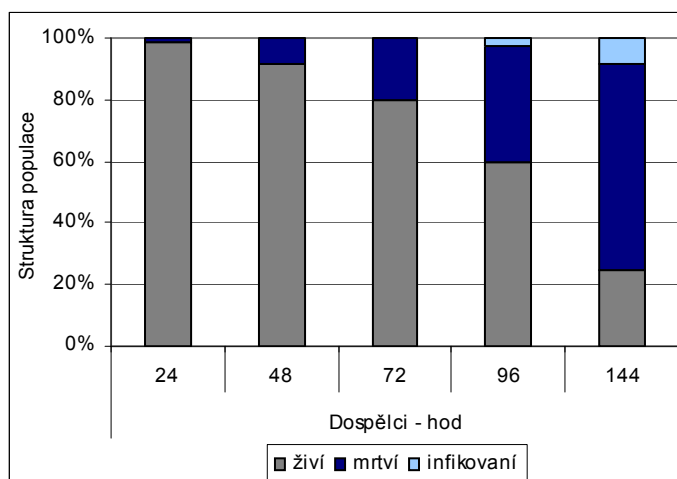
Kumulativní mortalita po 144 hodinách

5.3.4. Využití systému polyfaktoriální charakterizace akaropatogenních účinků houby *Metarhizium anisopliae* pro hodnocení kompatibility s vybranými pesticidy.

Pro studii kompatibility s vybranými pesticidy byl použit kmen M 072 houby *M. anisopliae*. Před aplikací byla suspenze spor houby v příslušné koncentraci pesticidu ponechána po dobu 2 hodin (tank-mix). Stupeň kompatibility byl stanoven pomocí *in vitro* testu (klíčivost %, vývoj patogena – průměrný IVP) a pomocí standardního *in vivo* biotestu na dospělých svlušky chmelové (struktura populace, průměrný ISP a doba potřebná k dosažení průměrného ISP – 1,5).

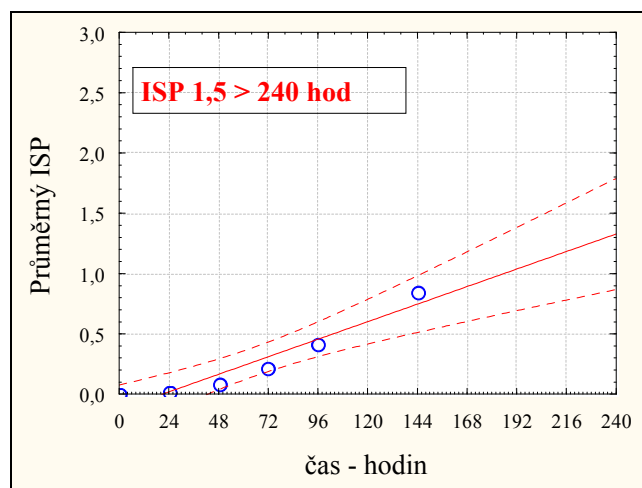
Char. 53. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* kmen M072

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M072



Klíčivost (24 hod) 80 %

Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M072 ($\text{Man-MO72} = -0,1261 + 0,0061 \cdot x$)

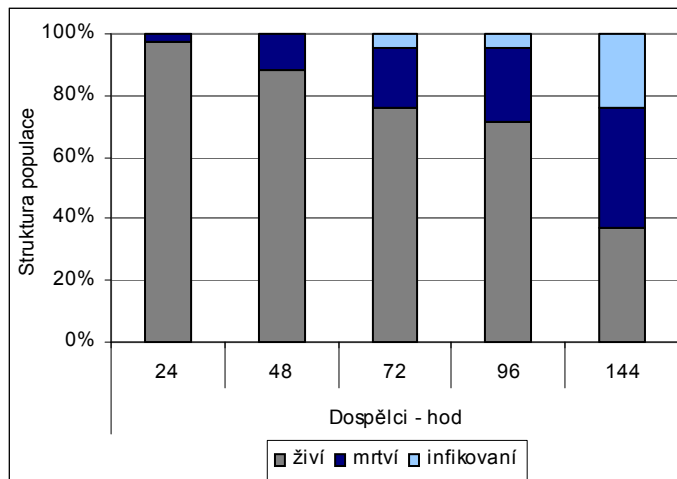


IVP *in vitro* (24 hod) $0,54 \pm 0,8682$

Při sledování vlivu houby *M. anisopliae* kmen M072 byla v době ukončení testu sledována sporulace na povrchu těla pouze u 4,76% dospělců.

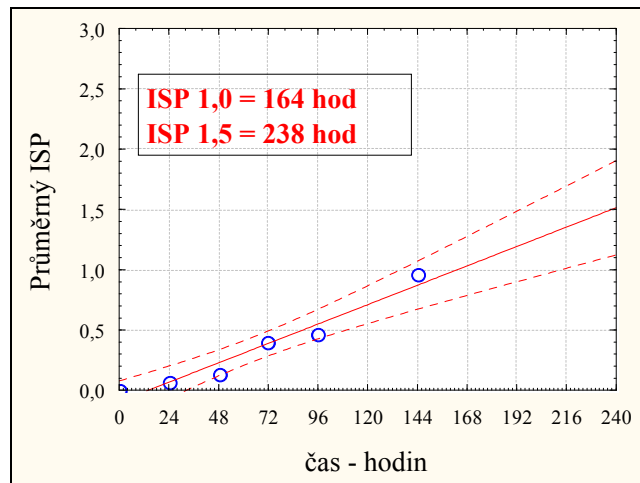
Char. 54. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* - kmen A25 aplikované v kombinaci s NEEM 0,05%

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M072 v kombinaci s NEEM 0,05%



Klíčivost (24 hod) 79 %

Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M072+ NEEM 0,05% (Man-M072+NEEM 0,05% = -0,0936+0,0067*x)

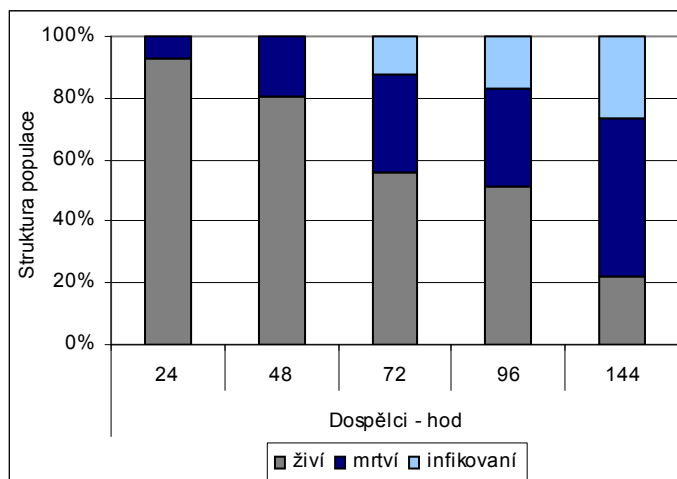


IVP *in vitro* (24 hod) 1,50 ± 0,8227

Po aplikaci *M. anisopliae* kmen M072 v kombinaci s Neem 0,05% byla v době ukončení biotestu na povrchu těla 9,25% dospělců zaznamenána sporulace houby.

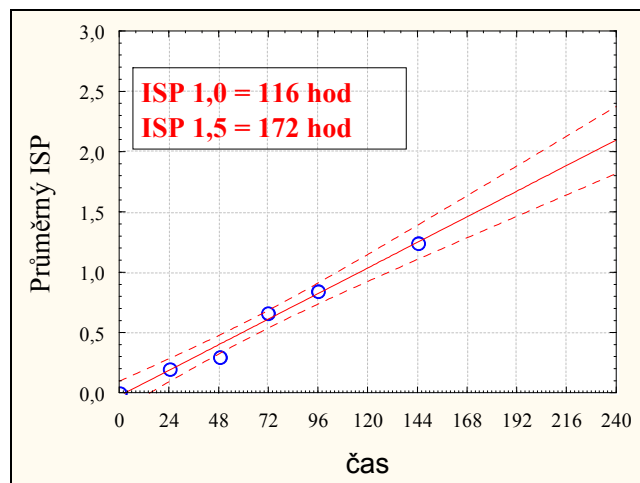
Char. 55. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* - kmen A25 aplikované v kombinaci s NEEM v koncentraci 0,1%

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M072 v kombinaci s NEEM 0,1%



Klíčivost (24 hod) 49 %

Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M072+ NEEM 0,1% (Man-M072+NEEM 0,1% = -0,0257+0,0088*x)

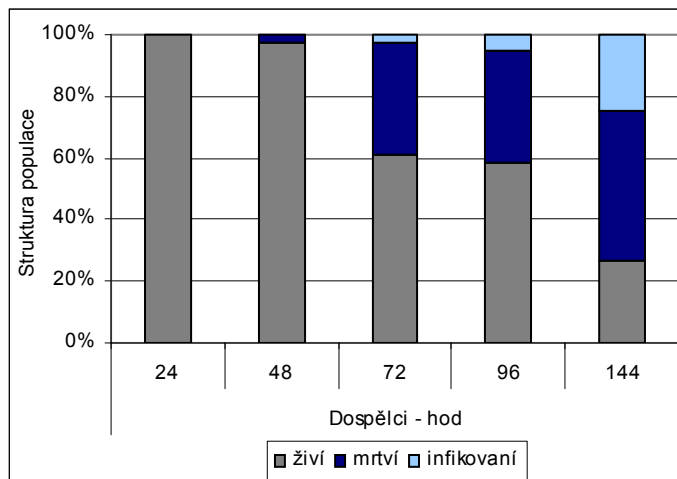


IVP *in vitro* (24 hod) 0,96 ± 0,9901

Při sledování vlivu houby *M. anisopliae* kmen M072 v kombinaci s NEEM 0,1% bylo po 72 hodinách sledováno mycelium na povrchu nejvyššího počtu jedinců (12,19%). V době ukončení testu byla pozorována sporulace na povrchu nejvyššího počtu dospělců (19,51%).

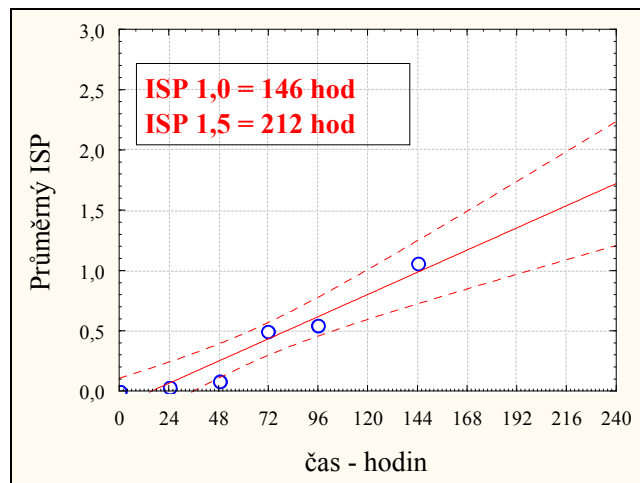
Char. 56. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* - kmen A25 aplikované v kombinaci s akaricidem OMITE® v koncentraci 0,005%

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M072 v kombinaci s OMITE 0,005%



Klíčivost (24 hod) 29 %

Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M072 + OMITE 0,005% (Man M072+OMITE 0,005% = -0,119+0,0077*x)

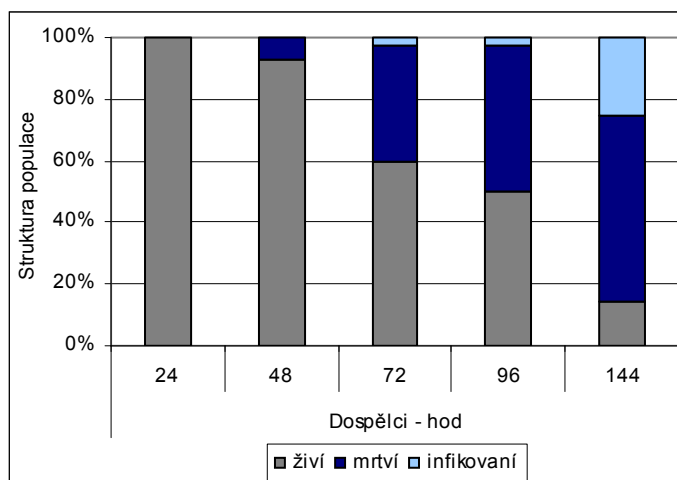


IVP *in vitro* (24 hod) 0,54 ± 0,8682

Při hodnocení vlivu houby *M. anisopliae* kmen M072 aplikované v kombinaci s akaricidem OMITE® v koncentraci 0,005% byla v době ukončení testu zaznamenána sporulace na povrchu 8,54% dospělců.

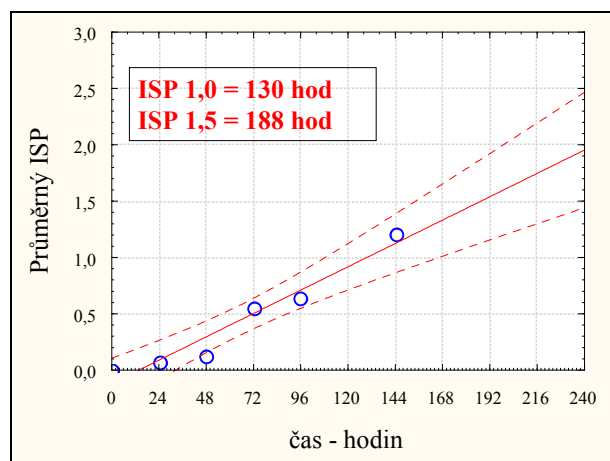
Char. 57. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *M. anisopliae* - kmen A25 aplikované v kombinaci s akaricidem OMITE® v koncentraci 0,01%

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M072 v kombinaci s OMITE 0,01%



Klíčivost (24 hod) 12 %

Trend vývoje průměrného ISP - *M. anisopliae* kmen M072 + OMITE 0,01% (Man-M072+OMITE 0,01% = -0,1194+0,0086*x)



IVP *in vitro* (24 hod) 0,21 ± 0,5911

Při hodnocení vlivu houby *M. anisopliae* kmen M072 a akaricidu OMITE® 0,01% byla v době ukončení testu sledována sporulace na povrchu 9,52% dospělců.

Tab. 55. Akaropatogenní účinnost kmene M072 houby *Metarhizium anisopliae* aplikovaného v kombinaci se subletálními dávkami pesticidů - analýza struktury populace dospělců *T. urticae* v kategorii infikovaní jedinci (% jedinců hodnocených indexy >1,0)

Kombinace	Infikovaní jedinci ^I (%, 72 hod)	Sporulace ^{II} (%,144 hod)	ISP 1,50 ^{III} (hod)
<i>M. anisopliae</i> kmen M072	0 (0 + 0 + 0 + 0)	4,76	>240
<i>M. anisopliae</i> kmen M072 + OMITE 0,01	2,38 (2,38 + 0 + 0 + 0)	9,52	188
<i>M. anisopliae</i> kmen M072 + OMITE 0,005	2,44 (2,44 + 0 + 0 + 0)	8,54	212
<i>M. anisopliae</i> kmen M072 + NEEM 0,05	4,76 (2,38 + 2,38 + 0 + 0)	9,52	238
<i>M. anisopliae</i> kmen M072 + NEEM 0,1	12,19 (2,44 + 9,75 + 0 + 0)	19,51	172

^I % celkem infikovaných jedinců (z toho % jedinců hodnocených indexy 1,5 + 2,0 + 2,5 + 3,0)

^{II} % jedinců v populaci s patogenem sporulujícím na povrchu těla (ISP 2,5 – 3,0)

^{III} Doba (hod) nutná pro dosažení průměrného ISP 1,5 (stanoveno pomocí grafů trendu vývoje ISP)

Pomocí standardního laboratorního biotestu na dospělých svlušky *T. urticae* bylo zjištěno, že po 72 hodinách není v populaci svlušky ošetřené houbou *M. anisopliae* kmen M072 žádný jedinec se myceliem na povrchu těla. U kombinací s přípravky na bázi „neem oil“ a OMITE[®] došlo k urychlení vývoje houby, již se objevili jedinci s viditelným projevem infekce. Nižší hodnoty byly sledovány u kombinací s přípravkem OMITE[®] (koncentrace 0,01% – 2,38%; koncentrace 0,005% - 2,44%), nejvíce infikovaných jedinců bylo po ošetření houbou *M. anisopliae* kmen M072 v kombinaci s přípravkem na bázi „neem oil“ v koncentraci 0,1% (12,19%).

Po 144 hodinách byla zaznamenána sporulace u všech sledovaných variant. U kombinace s přípravkem OMITE[®] došlo k navýšení o 3,78% (koncentrace 0,005%), resp. o 4,76% (koncentrace 0,01%). Nejvyšší procento jedinců se sporulující houbou na povrchu těla hostitele bylo sledováno u kombinace s přípravkem na bázi „neem oil“, oproti samostatnému použití houby *M. anisopliae* kmen M072 byla zaznamenána hodnota vyšší o 14,75%.

Tab. 56. Porovnání vlivu přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ a akaricidu OMITE[®] na akaropatogenní účinnost kmene M 072 houby *M. anisopliae* proti dospělcům svlušky chmelové *T. urticae*.

	počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod
Kontrola	20,50±0,87	0,0±0,0 (0%;0)	a 8,98±6,30 (2,44%;0,50)	a 14,30±7,89 (6,09%;1,25)	c 15,69±8,34 (7,31%;1,50)	c 16,99±8,57 (8,53%;1,75)
M072	21,00±2,45	6,26±5,74 (1,19%;0,25)	a 16,78±9,36 (8,33%;1,75)	a 26,74±4,96 (20,22%;4,25)	bc 39,51±4,49 (40,44%;8,50)	ab 60,00±5,36 (74,95%;15,75)
M072+5% „neem oil“	21,00±0,00	8,88±6,30 (2,38%;0,50)	a 20,18±6,64 (11,89%;2,50)	a 29,21±0,00 (23,79%;5,00)	abc 32,31±3,03 (28,55%;6,00)	b 52,59±3,13 (63,05%;13,25)
M072+0,1% „neem oil“	20,50±0,50	15,69±11,10 (7,31%;1,50)	a 26,21±11,17 (19,49%;4,00)	a 41,50±7,95 (43,87%;9,00)	a 44,30±4,94 (48,74%;10,00)	a 62,06±2,06 (78,00%;16,00)
M072+0,005% Omite	20,50±1,12	0,0±0,0 (0%;0)	a 8,98±6,55 (2,44%; 0,50)	a 38,66±0,93 (38,99%;8,00)	ab 40,08±1,44 (41,43%;8,50)	ab 58,80±4,67 (73,12%;15,00)
M072+0,01% Omite	21,00±1,00	0,0±0,0 (0%;0)	a 15,50±3,06 (7,14%;2,73)	a 39,51±5,89 (40,44%;8,50)	ab 45,00±5,50 (49,96%;10,50)	a 67,79±0,56 (85,67%;18,00)

a,b,c, Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty $[\arcsin(\sqrt{\text{počet všech mrtvých svlušek} / \text{celkový počet všech svlušek}})]$. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svlušek jsou uvedeny v závorkách.

Kompatibilita a účinnost *M. anisopliae* v kombinaci s přírodním insekticidem na bázi „neem oil“ a akaricidu OMITE[®] byla testována na dospělých svlušky chmelové *T. urticae*. Kumulativní mortalita dospělců byla sledována ve 24 hodinových intervalech po aplikaci. V neošetřené populaci měla přirozená mortalita mírně vzestupnou tendenci (2. den – 2,44 %; 3. den – 6,09 % a 6. den – 8,53%). Ve všech ostatních variantách byla kumulovaná mortalita podstatně vyšší, nicméně po 24 hodinách ($F=2,259$; $df=5;18$; $p=0,0925$) ani po 48 hodinách ($F=2,289$; $df=5;18$; $p=0,0892$) nebyla zaznamenána mezi jednotlivými variantami statistická průkaznost. K statisticky průkazným rozdílům došlo až po 72 hodinách ($F=10,477$; $df=5;18$; $p=0,0001$), kdy se mortalita v populaci dospělců pohybovala od 20,22% (kmen M072) do 43,87 (M072 v kombinaci s 0,1% „neem oil“). Po 96 hodinách byl kmen M072 v kombinaci s vyšší dávkou přípravku TRIACT[™] i OMITE[®] účinnější než v kombinaci s nižší dávkou sledovaných přípravků ($F=16,473$; $df=5;18$; $p=0,0000$). Po 144 hodinách byla zaznamenána nejvyšší mortalita (86%) v populaci svlušky chmelové po aplikaci kmene M072 v kombinaci s 0,01% OMITE[®]. I v tento sledovaný den byly zaznamenány statisticky průkazné rozdíly v mortalitě dospělců svlušky chmelové ($F=80,002$; $df=5;18$; $p<0,0000$).

Tab. č. 57 a. Statistické hodnocení vlivu přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ a OMITE[®] na akaropatogenní účinnost kmene M072 houby *M. anisopliae* proti dospělcům *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	78,331	5,696***	1	1811,377	25,989***	1	20002,23	248,088***
Varianta	5	31,070	2,259	5	159,548	2,289	5	844,70	10,477***
chyba	18	13,752		18	69,697		18	80,63	

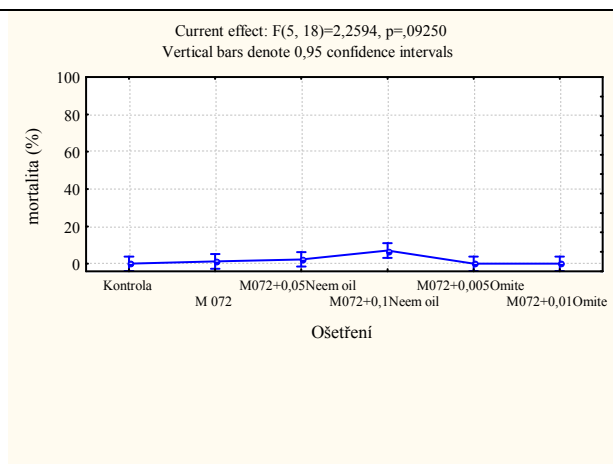
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Tab. č. 57 b. Statistické hodnocení vlivu přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ a OMITE[®] na akaropatogenní účinnost kmene M072 houby *M. anisopliae* proti dospělcům *T. urticae*.

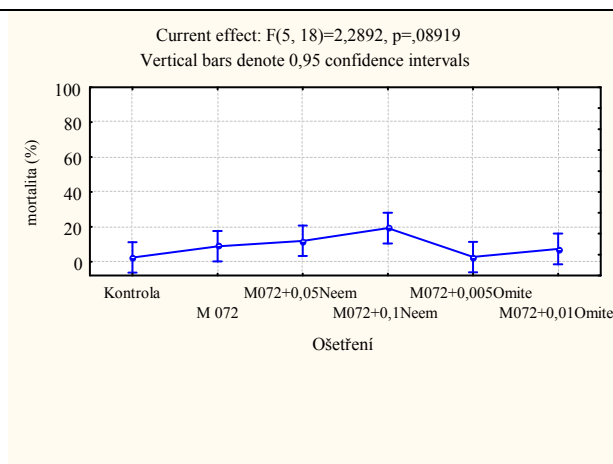
Parametr	Arc sin mortalita						
	96 hod			144 hod			
	df	MS	F	df	MS	F	F
Intercept	1	31231,22	500,153***	1	97824,46	2467,111***	
Varianta	5	1028,63	16,473***	5	3172,19	80,002***	
chyba	18	62,44		18	39,65		

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

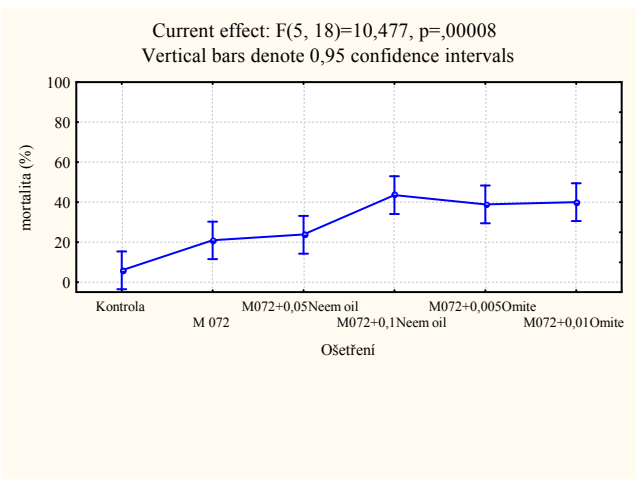
Graf 16. Hodnocení akaropatogenní účinnosti kmene M072 houby *M. anisopliae* v kombinaci s přírodním insekticidem TRIACT[™] a akaricidem OMITE[®] na mortalitu dospělců *T. urticae*.



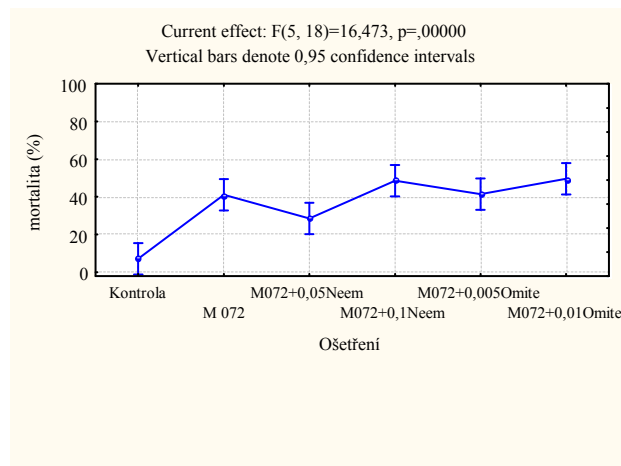
Kumulativní mortalita po 24 hodinách



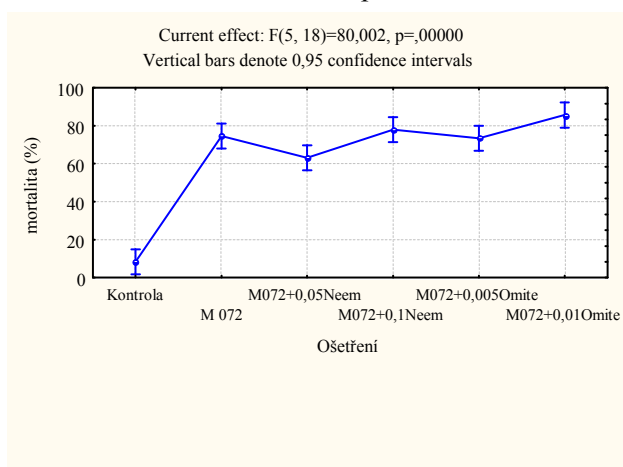
Kumulativní mortalita po 48 hodinách



Kumulativní mortalita po 72 hodinách



Kumulativní mortalita po 96 hodinách



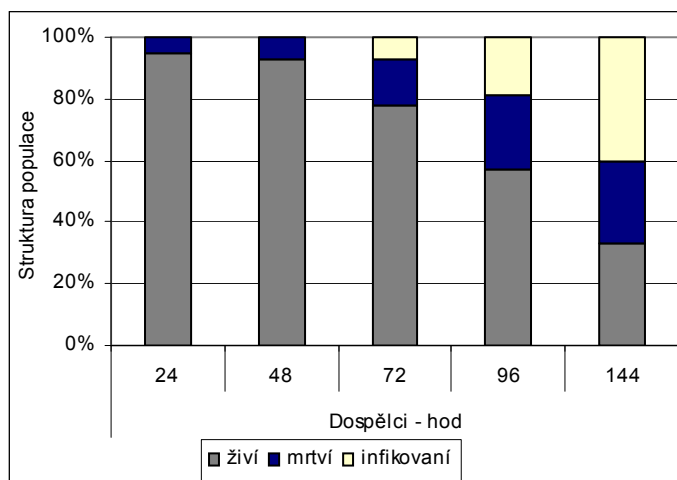
Kumulativní mortalita po 144 hodinách

5.3.5. Využití systému polyfaktoriální charakterizace akaropatogenních účinků houby *Paecilomyces fumosoroseus* pro hodnocení kompatibility s vybranými pesticidy.

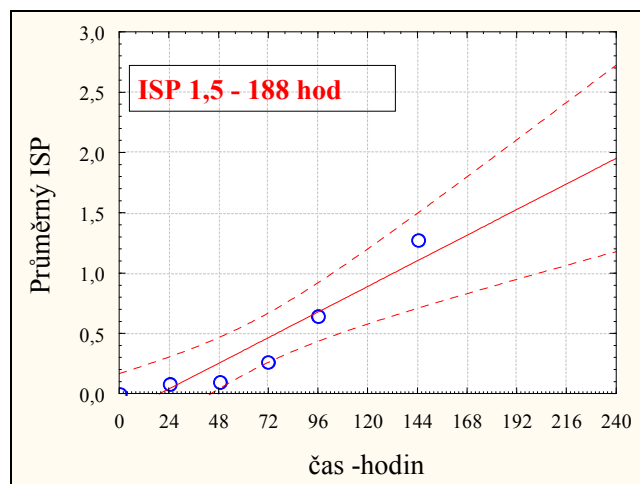
Pro studii kompatibility s vybranými pesticidy byl použit kmen PFR 97 houby *P. fumosoroseus*. Před aplikací byla suspenze spor houby v příslušné koncentraci pesticidu ponechána po dobu 2 hodin (tank-mix). Stupeň kompatibility byl stanoven pomocí *in vitro* testu (klíčivost %, vývoj patogena – průměrný IVP) a pomocí standardního *in vivo* biotestu na dospělých svlušky chmelové (struktura populace, průměrný ISP a doba potřebná k dosažení průměrného ISP – 1,5).

Char. 58. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* - kmen PFR 97.

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97



Trend vývoje průměrného ISP –*P. fumosoroseus* kmen PFR 97 (PFR 97 = $-0,1731+0,0089*x$)



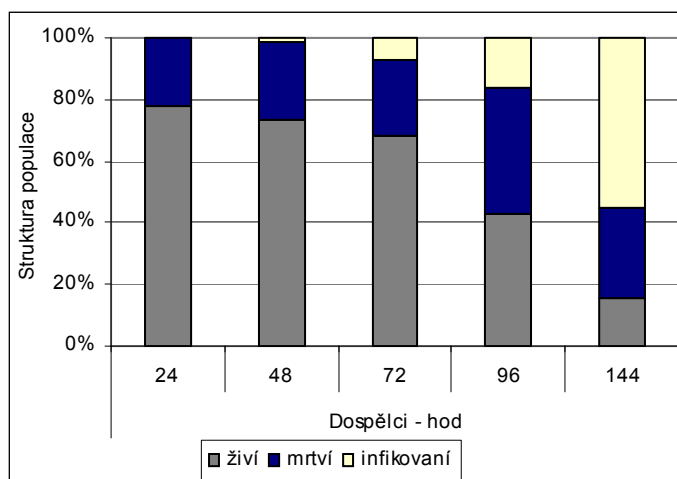
Klíčivost (24 hod) 100 %

IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

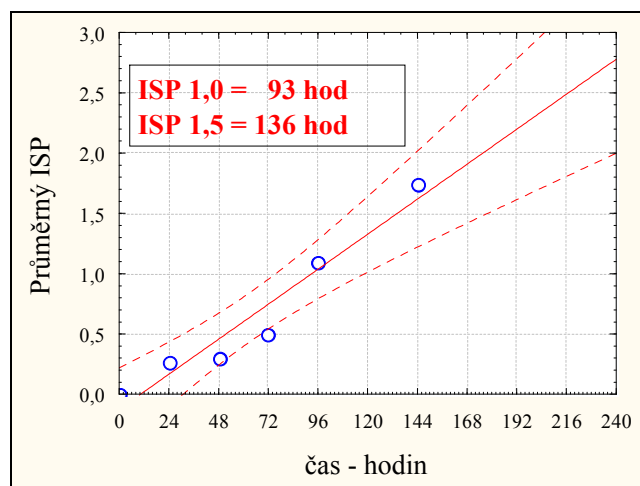
Při sledování vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 se po 72 hodinách objevilo vlákno (index 1,5) na povrchu 7,32% dospělců. Po 144 hodinách sporulovala houba na 23,17% sledovaných jedinců.

Char. 59. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 aplikované v kombinaci s NEEM v koncentraci 0,05%

Struktura populace svlušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 v kombinaci s NEEM 0,05



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 + NEEM 0,05% (PFR 97+NEEM 0,05% = $-0,1237+0,0121*x$)



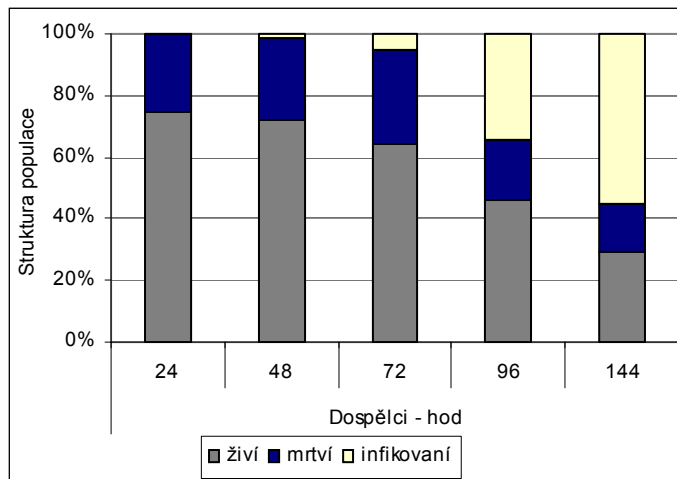
Klíčivost (24 hod) 100 %

IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

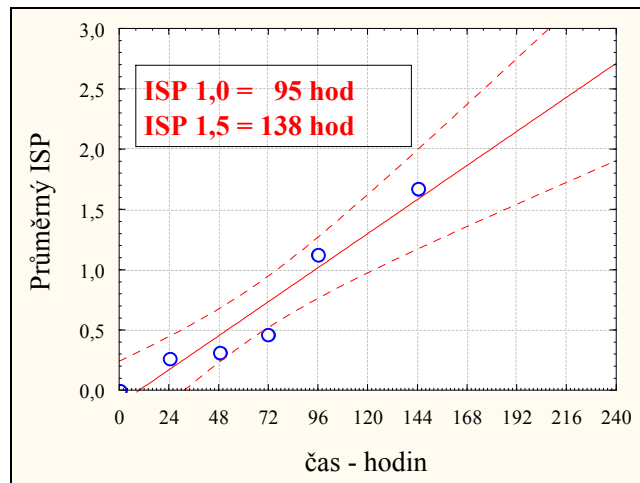
Při hodnocení účinku houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 v kombinaci s NEEM 0,05% byla saprotrofní fáze vývoje patogena zaznamenána také u 7,32% jedinců, ovšem u části (2,44%) již bylo možno sledovat plnou sporulaci houby. V době ukončení pokusu byla sporulace sledována u 35,37% dospělců.

Char. 60. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 aplikované v kombinaci s NEEM v koncentraci 0,1%

Struktura populace svilušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 v kombinaci s NEEM 0,1%



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 + NEEM 0,1% ($PFR\ 97+NEEM\ 0,1\% = -0,1131 + 0,0118 \cdot x$)



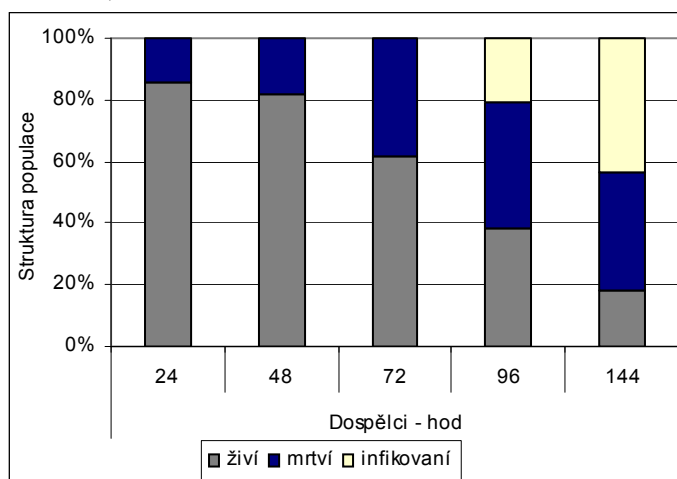
Klíčivost (24 hod) 100 %

IVP *in vitro* (24 hod) $2,00 \pm 0,0000$

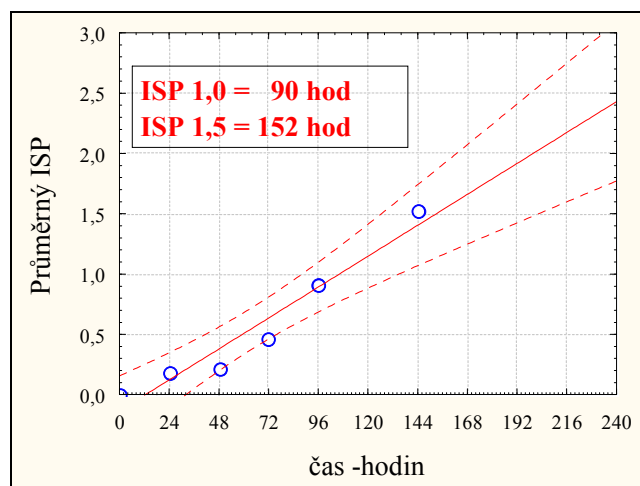
Při hodnocení účinku houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 v kombinaci s NEEM 0,1% se po 72 hodinách objevilo vlákno na povrchu 5,13% dospělců, po 144 hodinách byla sporulace zaznamenána u nejvyššího procenta sledovaných jedinců (42,31%).

Char. 61. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 aplikované v kombinaci s akaricidem OMITE® v koncentraci 0,005%

Struktura populace svilušky *T. urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 v kombinaci s OMITE 0,005%



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 + OMITE 0,005% ($PFR\ 97+OMITE\ 0,005\% = -0,1334 + 0,0107 \cdot x$)



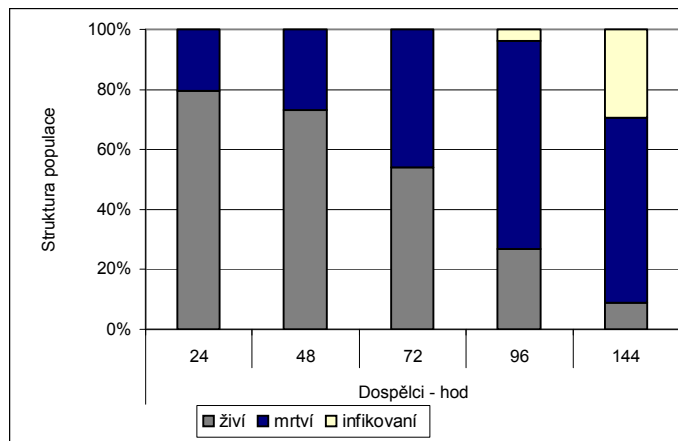
Klíčivost (24 hod) 100 %

IVP *in vitro* (24 hod) $1,95 \pm 0,1946$

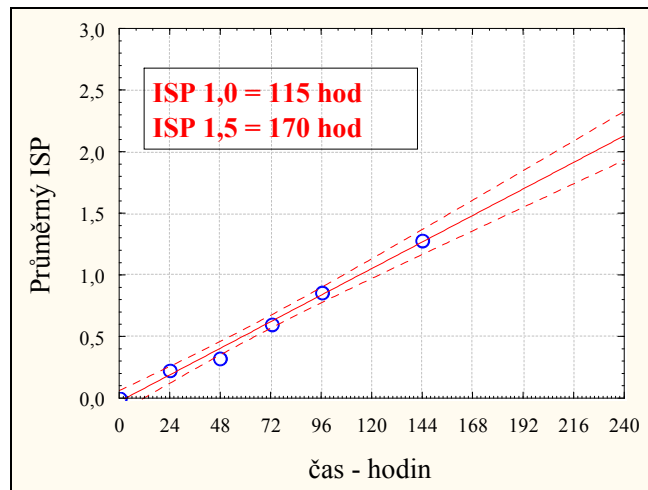
Při hodnocení vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen 97 v kombinaci s OMITE 0,005% nebyla po 72 hodinách zaznamenána saprotrofní fáze vývoje patogena, po 144 hodinách sporulovala houba na povrchu 25,64% jedinců.

Char. 62. Charakteristika akaropatogenní účinnosti houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 aplikované v kombinaci s akaricidem OMITE® v koncentraci 0,01%

Struktura populace svlušky *T.urticae* ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 v kombinaci s OMITE 0,01



Trend vývoje průměrného ISP - *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 + OMITE 0,01% (PFR 97+OMITE 0,01% = - 0,0261+ 0,009*x)



Klíčivost (24 hod) 99 %

IVP *in vitro* (24 hod)

1,93 ± 0,2932

Při hodnocení vlivu houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 v kombinaci s Omite 0,01% nebyla po 72 hodinách zaznamenána saprotrofní fáze vývoje patogena, po 144 hodinách byla sledována sporulace u nejnižšího počtu jedinců (8,97%).

Tab. 58. Akaropatogenní účinnost kmene PFR 97 houby *Paecilomyces fumosoroseus* aplikovaného v kombinaci se subletálními dávkami pesticidů - analýza struktury populace dospělců *T. urticae* v kategorii infikovaní jedinci (% jedinců hodnocených indexy >1,0)

Kombinace	Infikovaní jedinci ^I (%, 72 hod)	Sporulace ^{II} (%, 144 hod)	ISP 1,50 ^{III} (hod)
<i>P. fumosoroseus</i> kmen PFR 97 + OMITE 0,01	0 (0 + 0 + 0 + 0)	8,97	170
<i>P. fumosoroseus</i> kmen PFR 97 + OMITE 05	0 (0 + 0 + 0 + 0)	25,64	152
<i>P. fumosoroseus</i> kmen PFR 97 + NEEM 0,1	5,13 (3,85 + 1,28 + 0 + 0)	42,31	138
<i>P. fumosoroseus</i> kmen PFR 97	7,32 (7,32 + 0 + 0 + 0)	23,17	188
<i>P. fumosoroseus</i> kmen PFR 97 + NEEM 0,05	7,32 (2,44 + 2,44 + 0 + 2,44)	35,37	136

^I % celkem infikovaných jedinců (z toho % jedinců hodnocených indexy 1,5 + 2,0 + 2,5 + 3,0)

^{II} % jedinců v populaci s patogenem sporulujícím na povrchu těla (ISP 2,5 – 3,0)

^{III} Doba (hod) nutná pro dosažení průměrného ISP 1,5 (stanoveno pomocí grafů trendu vývoje ISP)

Pomocí standardního laboratorního biotestu na dospělcích svlušky *T. urticae* nebyli v populacích ošetřené houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 v kombinaci s přípravkem OMITE® zjištěni jedinci s myceliem na povrchu těla. Shodné procento infikovaných dospělců bylo vyhodnoceno v populaci ovlivněné kmenem PFR 97 houby *P. fumosoroseus* a v populaci ovlivněné tímto kmenem v kombinaci s přípravkem na bázi „neem oil“ v koncentraci 0,05%, u této kombinace však již byla zaznamenána sporulace houby na povrchu těla hostitele.

Po 144 hodinách trvání testu byla zaznamenána sporulace u všech variant. Nejnižší hodnota byla sledována v populaci ovlivněné houbou *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 v kombinaci s přípravkem

OMITE[®] (koncentrace 0,01%). U ostatních kombinací došlo k navýšení účinnosti v porovnání se samostatným použitím houby *P. fumosoroseus* kmen PFR 97, nejvíce u kombinací s přípravkem na bázi „neem oil“. U koncentrace 0,05% se zvýšilo procento dospělců ohodnocených indexem 3,0 (plná sporulace) o 12,52%, u koncentrace 0,1% o 19,14%.

Tab. 59. Akaropatogenní účinnost kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* v kombinaci se subletálními dávkami přírodního insekticidu TRIACT[™] a akaricidu OMITE[®] na dospělé svlušky *T. urticae*.

	počet	24 hod	48 hod	72 hod	96 hod	144 hod
Kontrola	19,75±3,03	9,16±6,57 (2,53%;0,50)	d 9,16±6,57 (2,53%;0,50)	c 11,24±5,91 (3,79%;0,75)	c 11,24±5,91 (3,79%;0,75)	e 13,00±7,17 (5,06%;1)
PFR 97	23,75±3,77	13,26±8,07 (5,26%;1,25)	cd 24,23±4,29 (16,83%;4,00)	b 34,19±5,64 (31,55%;7,50)	b 39,23±4,43 (39,97%;9,50)	d 43,17±6,25 (46,77%;11,00)
PFR 97+0,05% „neem oil“	20,50±0,50	27,94±1,73 (21,93%;4,50)	ab 31,20±1,16 (26,80%;5,50)	ab 34,27±2,28 (31,68%;6,50)	b 53,51±3,96 (64,59%;13,25)	bc 66,54±1,44 (84,10%;17,25)
PFR 97+0,1% „neem oil“	19,50±0,50	30,42±2,46 (25,62%;5,00)	a 32,08±3,50 (28,18%;5,50)	a 36,81±2,59 (35,87%;7,00)	ab 47,21±2,15 (53,80%;10,50)	cd 57,11±2,53 (70,47%;13,75)
PFR97+0,005% Omite	19,50±0,43	22,06±2,14 (14,09%;2,75)	bc 25,07±2,98 (17,93%;3,50)	b 38,33±2,31 (38,43%;7,50)	ab 66,91±8,37 (78,53%;16,50)	a 64,93±3,80 (82,01%;16,00)
PFR 97+0,01% Omite	19,50±0,50	27,83±2,70 (21,77%;4,25)	ab 31,26±1,73 (26,90%;5,25)	ab 42,79±3,74 (46,12%;9,00)	a 58,74±6,11 (73,03%;14,25)	ab 69,02±7,44 (87,14%;17,00)

a,b,c., Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty $[\arcsin(\sqrt{\text{počet všech mrtvých svlušek} / \text{celkový počet všech svlušek})]$. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svlušek jsou uvedeny v závorkách.

Účinek *P. fumosoroseus* kmene PFR 97 v kombinaci s přípravky obsahujícími a.i. „neem oil“ a propargite byl testován prostřednictvím populace dospělců svlušky chmelové. Po 144 hodinách dosáhla přirozená mortalita v populacích na kontrolních rostlinách 5,06%. V populacích ošetřených pouze suspenzí konidií kmene PFR 97 byla zaznamenána vždy nižší mortalita než po aplikaci kmene PFR 97 v kombinaci s oběma přípravky TRICACT[®] a OMITE[®]. Po 24 hodinách způsobila nejvyšší mortalitu v populaci svlušky chmelové aplikace kmene PFR 97 v kombinaci s 0,01% „neem-oil“, zatímco kombinace PFR 97 s 0,005% OMITE[®] vykazovala kumulovanou mortalitu o 11,5% nižší. Po 48 hodinách opět způsobila nejvyšší mortalitu kombinace kmene PFR 97 s „neem oil“ ve srovnání s kombinací kmene s akaricidem OMITE[®]. Po 72 hodin došlo k výraznému navýšení mortality ve prospěch kombinace OMITE[®] s kmenem PFR 97. Po 144 hodinách způsobila kombinace PFR 97 s 0,01% OMITE[®] 87% mortalitu, zatímco po aplikaci kmene PFR 97 s 0,05% „neem oil“ byla zaznamenána o 3% nižší mortalita a v kombinaci PFR 97 s 0,1% „neem oil“ až o 17% nižší mortalita v populaci dospělců svlušky chmelové.

Analýzou rozptylu na hladině významnosti $\alpha=0,05$ bylo prokázáno, že účinnost kmene PFR 97 na dospělé svlušky chmelové se výrazně zvyšovala v kombinaci s přírodním insekticidem na bázi „neem oil“ i v kombinaci s akaricidem OMITE[®]. Statisticky významné rozdíly při hladině významnosti $p<0,05$ dle parametrického Tukey HSD testu mezi jednotlivými variantami jsou znázorněny v tabulce (Tab. 60 a, b).

Tab. 60 a. Statistické hodnocení vlivu subletálních dávek přírodního insekticidu TRIACT[™] a OMITE[®] na akaropatogenní účinnost kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* proti dospělům svlušky *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita								
	24 hod			48 hod			72 hod		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	5649,054	324,843***	1	9509,928	465,523***	1	23592,14	616,976***
Varianta chyba	5	354,295	20,373***	5	382,289	18,714***	5	824,70	21,567***
	18	17,390		18	20,428		18	38,24	

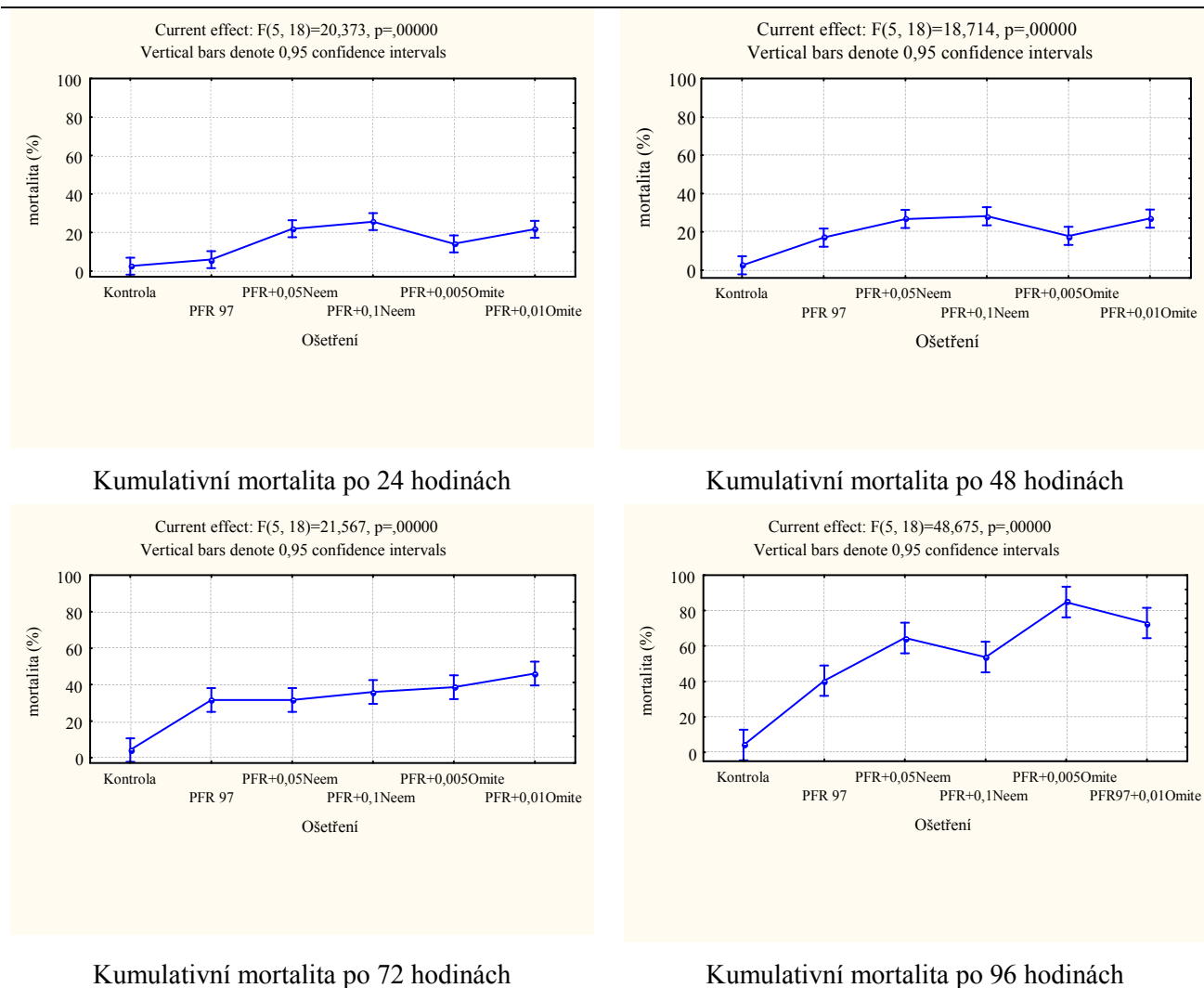
Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

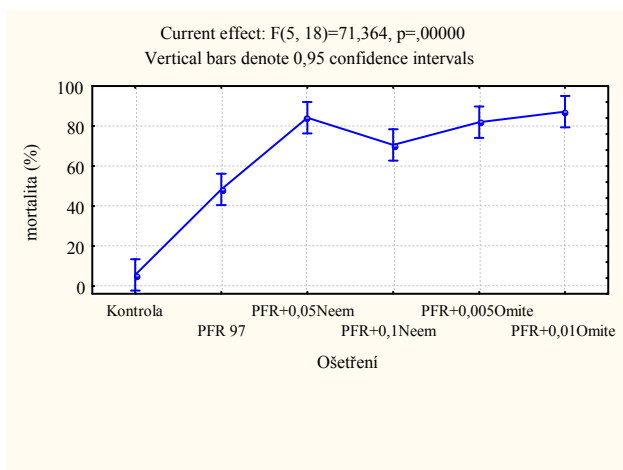
Tab. 60 b. Statistické hodnocení vlivu subletálních dávek přírodního insekticidu TRIACT™ a OMITE® na akaropatogenní účinnost kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* proti dospělcům svlušky *T. urticae*.

Parametr	Arc sin mortalita					
	96 hod			144 hod		
	df	MS	F	df	MS	F
Intercept	1	68674,22	1021,043***	1	95022,79	1707,434***
Varianta	5	3273,84	48,675***	5	3971,58	71,364***
chyba	18	67,26		18	55,65	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Graf 17. Hodnocení akaropatogenní účinnosti kmene PFR 97 v kombinaci s přírodním insekticidem na bázi „neem oil“ a akaricidem OMITE® na mortalitu dospělců *T. urticae*.





Kumulativní mortalita po 144 hodinách

5.4. Porovnání akaropatogenních účinků biopreparátů na bázi entomopatogenních hub.

Struktura částečně synchronizované populace svlušky chmelové *T. urticae* byla hodnocena 14 dní po aplikaci biopreparátů na rostliny fazolu obecného.

Tab. 60. Vliv biopreparátů na bázi entomopatogenních hub na vývoj populace svlušky chmelové *T. urticae*

Varianta	Kontrola	PFR 97 TM	MYCOTAL [®]	VERTALEC [®]	BOTANIGARD [®]
Log.-No. ^y všichni jedinci	1,80±0,0266 (63,40)	1,72±0,0929 (53,20)	1,59±0,0311 (38,30)	1,45±0,1503 (28,30)	1,68±0,0434 (47,00)
živá	47,90±3,36 (54,98%;34,90)	27,44±5,25 (21,21%;11,30)	18,85±4,92 (10,43%;4,00)	34,76±4,80 (32,47%; 9,20)	31,73±4,38 (27,62%;13,00)
vajíčka					
mrtvá	12,13±6,59 (4,41%; 2,80)	25,83±6,64 (18,96%;10,10)	12,87±5,09 (4,95%; 1,90)	15,81±7,89 (7,41%; 2,10)	32,00±4,61 (28,05%;13,20)
infikovaná	0,00±0,00 (0,00%;0,00)	25,56±3,89 (18,58%;9,90)	21,40±8,78 (13,30%;5,10)	12,85±7,65 (4,94%; 1,40)	7,95±5,95 (1,19%; 0,90)
živá	38,16±4,51 (38,12%;24,20)	23,12±6,18 (15,39%; 8,20)	27,56±5,84 (21,38%; 8,20)	41,65±4,78 (44,11%;12,50)	28,50±5,96 (22,73%;10,70)
nymfy a dospělci					
mrtvá	8,85±6,54 (2,36%; 1,50)	25,28±4,84 (18,21%; 9,70)	30,22±7,27 (25,29%; 9,70)	15,42±7,75 (7,06%; 2,00)	24,53±4,27 (17,21%; 8,10)
infikovaná	0,00±0,00 (0,00%;0,00)	15,91±3,71 (7,51%; 4,00)	29,70±4,91 (24,51%; 9,40)	11,37±7,64 (3,88%; 1,10)	8,80±6,31 (2,34%; 1,10)
arcsin ^z mortalita (%)	15,10±7,08 (6,77%;4,30)	52,74±5,99 (63,28%;33,70)	55,64±5,13 (68,08%;26,10)	28,88±5,89 (23,29%; 6,60)	44,76±5,55 (49,51%;23,30)
Tukey HSD	d	a	a	c	b

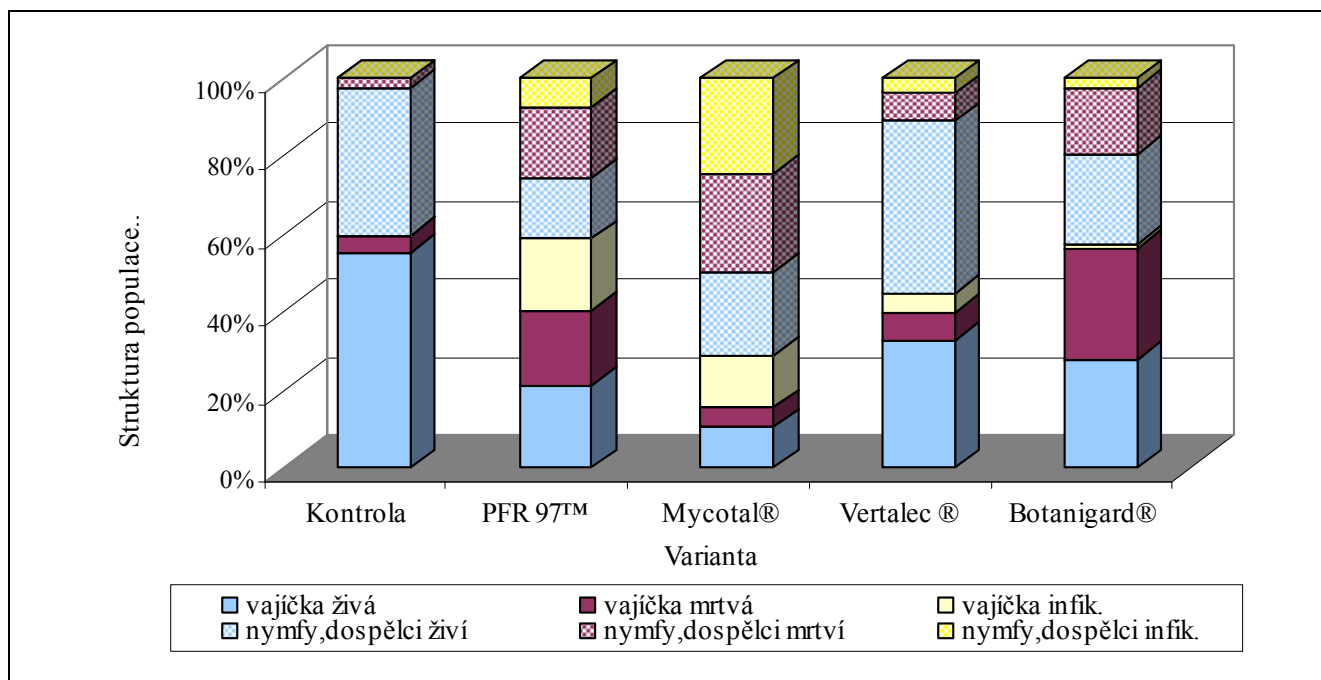
a,b,c.-Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{\text{počet všech mrtvých svlušek/ celkový počet všech svlušek}}$].

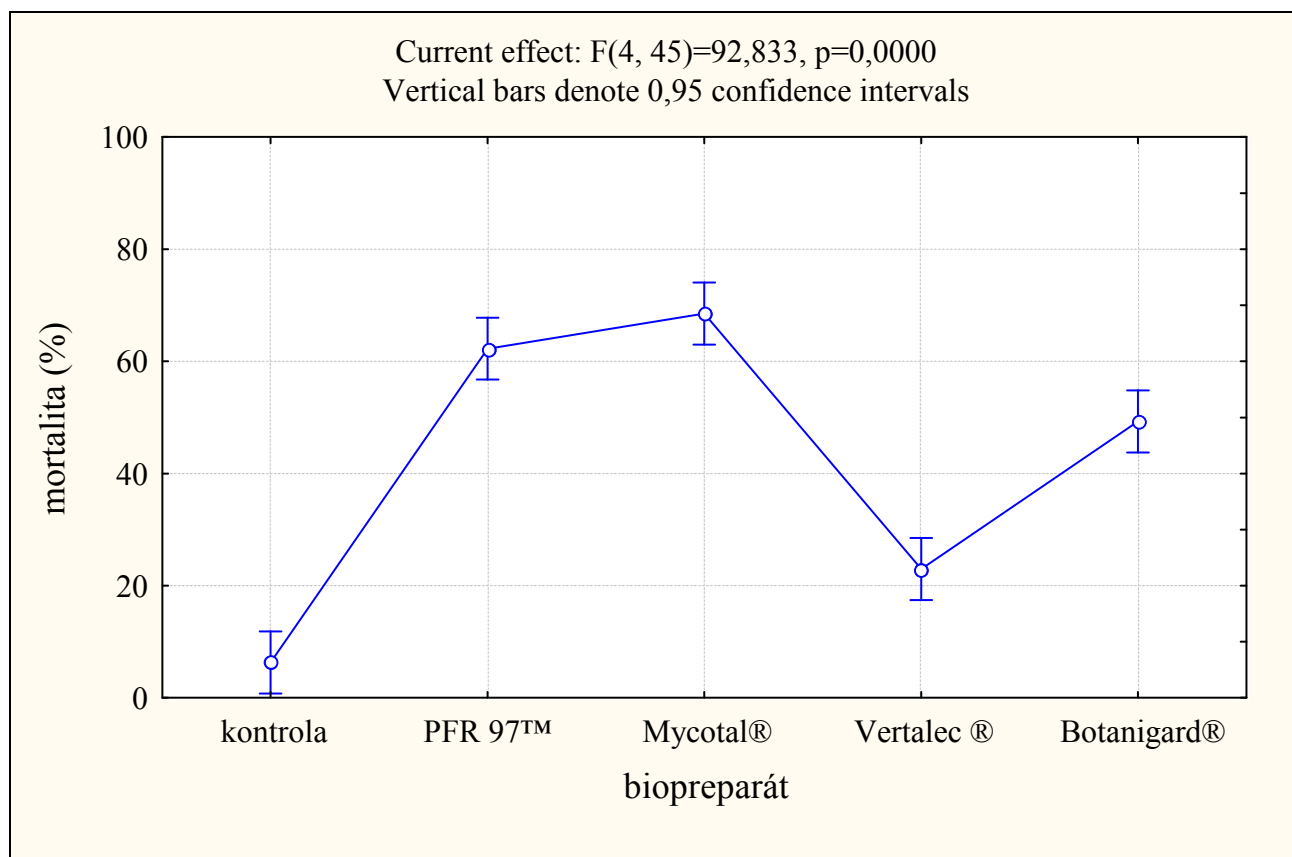
Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svlušek jsou uvedeny v závorkách.

^y Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako logaritmičké hodnoty [$\log(\text{počet všech svlušek}+1)$]. Netransformovaná data jsou uvedeny v závorkách.

Graf 18. Struktura populace svlušky *T. urticae* po aplikaci komerčních biopreparátů na bázi entomopatogenních hub (fazole obecný, 24±1°C, fotoperioda 16/8 hod., 14. den po aplikaci).



Graf 19. Kumulovaná mortalita v populaci *T. urticae* ošetřené biopreparáty na bázi entomopatogenních hub (fazole, 14. den po aplikaci, 24±1°C, fotoperioda 16/8 hod.).



Tab. 61. Statistické hodnocení porovnání vlivu různých druhů biopreparátů na bázi entomopatogenních hub na strukturu populace svlušky chmelové *T. urticae* (fazol obecný, 14. den po aplikaci, 24±1°C, fotoperioda 16/8).

Parametr	df	MS	F
Intercept	1	87690,26	1161,411***
Varianta	4	7009,20	92,833***
chyba	45	75,50	

Pozn.: Hladina významnosti α . *=0,05; **=0,01; ***=0,001

Statistická analýza prokázala významné rozdíly ve vlivu jednotlivých druhů hub na mortalitu a konečnou strukturu populace svlušky chmelové *T. urticae* a rozdíly mezi jednotlivými variantami byly statisticky průkazné ($F=92,833$; $df=4;45$; $p<0,0000$). Přípravky MYCOTAL[®] a PFR 97TM na bázi entomopatogenní houby *L. lecanii* a *P. fumosoroseus* prokazatelně indukovaly nejvyšší kumulovanou mortalitu v populaci svlušky chmelové (68,08 resp. 63,28 %) a prokázaly tak svůj akaropatogenní účinek. Nicméně, i akaropatogenní účinnost přípravku BOTANIGARD[®] na bázi *B. bassiana* (49,51%) lze také charakterizovat jako velmi dobrou. Nejnižší akaropatogenní účinnost byla zaznamenána po aplikaci přípravku VERTALEC[®] na bázi houby *L. lecanii* (23,29%). Ve variantě ošetřené přípravkem MYCOTAL[®] převažovala mortalita prokazatelně související s patogenem, protože převážný podíl v kumulované mortalitě představovala kategorie „infikované“, tedy vajíčka, nymfy a dospělci, na kterých byl prokazatelně zaznamenán růst, případně i sporulace patogena. Obdobné tendence vykázala i aplikace přípravku PFR 97TM, kdy patogen *P. fumosoroseus* vyvolal zjevnou infekci převážně na vajíčkách svlušky chmelové, nicméně i v kategorii nymfy a dospělci byla zaznamenána sporulace na povrchu těla hostitele. Po aplikaci přípravku BOTANIGARD[®] bylo zastoupení infikovaných vajíček, nymf a dospělců výrazně nižší.

5.5. Vliv entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* kmen H20 a přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ na mortalitu svilušky chmelové *T. urticae*.

V rámci hodnocení stavu populace svilušky chmelové po aplikaci patogena *P. fumosoroseus* kmene PFR 97 pasážovaného přes svilušku chmelovou (H20) v kombinaci s „neem oil“ do porostu okurky seté v provozních sklenících a následné inkubaci náhodně vybraných listů v podmínkách vlhké komůrky po dobu 7 dnů bylo zjištěno, že aplikace samotné suspenze konidií PFR 97 indukovala v populaci svilušky chmelové vysokou mortalitu 84%. Pro porovnání, v populaci ošetřené pouze přírodním insekticidem „neem oil“ byla zaznamenána o 7% nižší mortalita a po aplikaci suspenze konidií PFR 97 v kombinaci s přírodním insekticidem „neem oil“ byla nižší mortalita o 10%.

Na listech ošetřených samotným patogenem byla zaznamenána výrazně vyšší mortalita nymf a dospělců (35% resp. 31%), zatímco patogen v kombinaci s „neem oil“ vykázal vysokou mortalitu zejména v kategorii nymf (44%). V populaci svilušky na ošetřených rostlinách „neem oil“ došlo k vysokému úhynu nymf (35% H20) a (44% H20+„neem oil“) dospělců. Po 7 dnech inkubace bylo v populaci ošetřené patogenem zaznamenáno 18% všech mrtvých vajíček, zatímco v dalších dvou variantách byla mortalita vajíček nižší.

Tab. 62. Vliv aplikace kmene PFR 97 - H20 entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* a přírodního insekticidu na bázi „neem oil“ na strukturu populace svilušky chmelové *T. urticae* (okurka setá, 7 dní inkubace po aplikaci, 24±11°C, 16/8 hod fotoperioda).

Kategorie	Statut	Varianta (celkový počet/počet listů)		
		H20 (PFR 97) (1216) 17 listů	Neem oil (5902) 35 listů	H20+Neem oil (572) 19 listů
Log ^y		1,86±0,38 (71,53)	2,23±0,22 (168,63)	1,49±0,30 (30,11)
	živá	17,59±11,51 (9,11%;6,53)	19,21±11,32 (10,81%;18,26)	14,73±9,48 (6,46%;1,95)
vajíčka	mrtvá	9,48±7,89 (2,71%;1,94)	19,54±6,20 (11,17%;18,86)	19,86±15,20 (11,52%;3,47)
	infikovaná	23,28±9,17 (15,60%;11,18)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	4,15±6,14 (0,52%;0,16)
	živé	13,88±9,31 (5,75%;4,12)	17,69±7,39 (9,22%;15,57)	19,70±10,89 (11,35%;3,42)
nymfy	mrtvé	22,36±13,73 (14,45%;10,35)	29,36±7,12 (24,01%;40,54)	40,47±17,47 (42,08%;12,68)
	infikované	27,08±7,74 (20,69%;14,82)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	7,60±6,51 (1,75%;0,53)
	živí	5,46±4,23 (0,90%;0,65)	10,36±4,72 (3,23%;5,46)	12,55±8,27 (4,71%;1,42)
dospělci	mrtví	6,79±4,32 (1,40%;1,00)	40,15±9,61 (41,53%;70,12)	24,85±10,72 (17,63%;5,32)
	infikovaní	32,90±10,00 (29,46%;21,1)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	11,52±7,42 (3,98%;1,20)
arcsin ^z mortalita (%)		66,59±14,75 (84,15%;60,24)	61,14±12,01 (76,63%;129,34)	59,54±12,81 (74,23%;22,37)

^y Průměr dat ($x \pm \text{SEM}$), vyjádřeny jako logaritmické hodnoty [$\log(\text{počet všech svilušek}+1)$]. Netransformovaná data jsou uvedeny v závorkách.

^z Průměr dat ($x \pm \text{SEM}$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{(\text{počet všech mrtvých svilušek} / \text{celkový počet všech svilušek})}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svilušek jsou uvedeny v závorkách.

Tab. 63. Vliv režimu vlhkosti na strukturu mortality v populaci svilušky chmelové ošetřené kmenem PFR 97 H20 houby *P. fumosoroseus* v kombinaci s přírodním insekticidem na bázi „neem oil“ (okurka setá, 14 dní po ošetření).

Varianta	H20 (PFR 97)		Neem oil		H20+Neem oil		
	vlhko	sucho	vlhko	sucho	vlhko	sucho	
Log-No ^y všichni jedinci	1,97±0,13 (93,0)	2,15±0,18 (139,2)	1,99±0,40 (97,3)	2,08±0,59 (118,2)	2,44±0,19 (273,6)	2,57±0,53 (372,4)	
vajíčka	živá	5,95±5,07 (1,07%;1,0)	17,37±5,25 (8,89%;12,4)	12,69±5,56 (4,82%;13,2)	13,60±2,68 (5,52%;20,6)	16,66±10,58 (8,21%;8,0)	28,20± 5,58 (22,30%;26,4)
	mrtvá	17,42±9,31 (8,95%;8,3)	35,18±6,02 (33,15%;46,2)	35,18±6,82 (33,14%;90,8)	37,40±8,05 (36,85%;137,4)	27,92±6,79 (21,89%;21,3)	25,68±10,96 (18,76%;22,2)
	infik.	15,92±4,45 (7,52%;7,0)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	17,01±8,55 (8,55%;8,3)	2,36±2,05 (0,17%;0,2)
nymfy	živá	17,77±9,75 (9,31%;8,7)	14,73±7,88 (6,46%;9,0)	18,31±10,21 (9,85%;27,0)	20,44±8,69 (12,17%;45,40)	10,66±12,84 (3,42%;3,3)	9,17±6,44 (2,53%;3,0)
	mrtvá	28,62±9,59 (22,91%;21,3)	34,47±5,20 (32,00%;44,6)	35,13±4,42 (33,07%;90,6)	28,90±2,94 (23,33%;87,0)	12,65±6,50 (4,79%;4,7)	34,85±6,71 (32,61%;38,6)
	infik.	29,82±8,69 (24,70%;23,0)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	27,68±14,50 (21,55%;21,0)	8,53±5,28 (2,20%;2,6)
dospělci	živá	9,75±5,40 (2,86%;2,7)	8,44±5,04 (2,15%;3,00)	8,08±4,97 (1,97%;5,4)	10,77±4,91 (3,49%;13,0)	4,75±5,50 (0,68%;0,7)	7,47±7,53 (1,69%;2,0)
	mrtvá	17,06±2,72 (8,59%;8,0)	24,53±3,53 (17,22%;24,0)	24,37±3,95 (17,01%;46,6)	25,50±2,79 (18,50%;69,0)	15,56±12,68 (7,18%;7,0)	25,56±4,32 (18,59%;22,0)
	infik.	22,04±6,66 (14,07%;13,1)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	0,0±0,0 (0,0%;0,0)	29,09±16,72 (23,60%;23,0)	5,78±3,45 (1,01%;1,2)
arcsin ^z mortalita (%)	68,64±12,03 (86,68%;80,7)	65,25±9,69 (82,41%;114,8)	65,91±10,90 (83,27%;228,0)	62,58±7,24 (78,72%;293,4)	69,44±17,80 (87,61%;85,3)	58,97±6,97 (73,37%;86,8)	

a,b,c..Průměry ve sloupci se stejným písmenkem nejsou statisticky rozdílné (ANOVA metoda, $\alpha=0,05$; Tukey HSD test)

^y Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako logaritmické hodnoty [$\log(\text{počet všech svilušek}+1)$]. Netransformovaná data jsou uvedeny v závorkách.

^z Průměr dat ($x \pm SEM$), vyjádřeny jako úhlové hodnoty [$\arcsin\sqrt{(\text{počet všech mrtvých svilušek} / \text{celkový počet všech svilušek})}$]. Mortalita (%) a netransformované počty všech mrtvých svilušek jsou uvedeny v závorkách.

Optimální podmínky v počáteční fázi vývoje patogena způsobily v populaci svilušky chmelové mortalitu dosahující 87%. Nicméně, i v suboptimálních podmínkách (skleník, bez zvýšení vlhkosti v prvních dnech po aplikaci) byla prokázána významná kumulovaná mortalita indukovaná kurativní aplikací pasáže H20 houby *P. fumosoroseus* (82%). Aplikace kmene H20 v kombinaci s přírodním insekticidem nevedlo k relevantnímu navýšení mortality ani neindukovalo zvýšenou proliferaci patogena na mrtvých sviluškách.

6. DISKUZE

V obecné rovině bylo hlavním cílem doktorské práce ověřit, zda vybrané druhy mitosporických entomopatogenních hub vykazují, vedle deklarovaného entomopatogenního účinku i účinek akaropatogenní, a je li možné akaropatogenní účinnost jednotlivých kmenů hub objektivně hodnotit pomocí standardních laboratorních postupů. Pro ověření základní hypotézy byl vypracován a zaveden polyfaktoriální hodnotící systém umožňující odlišit jednotlivé kmeny hub a parametrizovat jejich vlastnosti, které vystupují jako klíčové pro další využití akaropatogenních hub v systémech ochrany rostlin. Z dostupných literárních zdrojů je známo, že při hodnocení účinku jednotlivých druhů entomopatogenních/akaropatogenních hub nejsou ani tak významné obecné „druhové“ vlastnosti, ale že významné jsou pouze znalosti vlastností partikulární kmenů, protože každý druh sestává z kmenů mnohdy diametrálně odlišných. V tomto kontextu bylo cílem doktorské práce přispět nejen k rozšíření znalostí týkajících se možných vedlejších účinků vybraných druhů a kmenů entomopatogenních hub, ale i naznačit možnosti objektivní charakterizace sbírkových kmenů entomopatogenních hub. Pro tyto cíle byl zvolen modelový interakční systém „sviluška chmelová – entomopatogenní houby“. Volba modelového systému reflektuje jak předchozí zkušenosti z oblasti experimentálně potvrzené schopnosti některých druhů/kmenů entomopatogenních hub vyvolat onemocnění i v populacích fytofágních roztočů (Osborne, Landa 1992), tak i skutečnost, že v praktické biologické ochraně jsou čím dál častěji používány mykopreparáty konstruované na bázi entomopatogenních hub, jejichž aplikace jsou cíleny na jiné druhy škůdců (zejména molice, mšice a třásněnky) a jen velmi málo je doposud známo o jejich účincích na ostatní druhy klíčových škůdců. V rámci zvoleného experimentálního rámce bylo jedním z hlavních záměrů navrzení a zavedení standardních metodických postupů a hodnocení akaropatogenní účinnosti entomopatogenních hub umožňující objektivních charakterizaci jednotlivých druhů resp. kmenů hub.

Sviluška chmelová, *Tetranychus urticae* Koch, je celosvětově rozšířený škůdce. Je polyfágním druhem, který si vyvinul rezistenci k mnoha chemickým pesticidům. Jsou vyselektovány kmeny rezistentní k širokému spektru účinných látek, např. fenpyroximate, acrinathrin, benzoximate, propargite, abamectin, fenbutatin oxide, fenprothrin, pyridaben, pyridaben + bifenthrin a tebufenpyrad. Rovněž byla u svilušky *T. urticae* zaznamenána zkřížená rezistence (=cross resistance) (např. Campos *et al.* 1996; Beers *et al.* 1998; Kim *et al.* 2004). Dokonce byl zaznamenán případ rezistence svilušky *Panonychus ulmi* k účinné látce hexythiazox ještě před registrací přípravku na bázi této účinné látky (Reissig, Hull 1991). Rezistentní populace se mohou objevit velice brzy, u svilušky *Tetranychus cinnabarinus* se 100x znásobila rezistence k účinné látce dicofol během 6-16 generací (Dagli, Tunc 2001). Jako odpověď na rezistenci se zvyšovalo využití biologických metod regulace, ať již podporou přirozených nepřátel a/nebo aplikací dravých roztočů. Nicméně, tyto strategie nebyly často dostatečně úspěšné a stále bylo nezbytné použít i chemickou ochranu. S ohledem na rezistenci k chemickým látkám a potřebu omezit rezidua pesticidů v prostředí by bylo vhodné, jako alternativu k chemickým látkám, využít i dostatečně účinný mikrobiální biopreparát. Význam a úspěšné použití kombinace biologických agens již byly ověřeny. Příkladem je úspěšný program biologické ochrany proti třásněnce západní *Frankliniella occidentalis*, ve kterém byla použita kombinace dravého roztoče *Neoseiulus (Amblyseius) cucumeris* a entomopatogenní houby (Jacobson *et al.* 2001). Jako nejslibnější mikrobiální agens se jeví entomopatogenní resp. akaropatogenní houby, které jsou schopny prorůstat kutikulu hostitele. Proto jsou schopny proniknout také do hmyzu a roztočů sajících buněčné šťávy, jako je sviluška *T. urticae*, u kterých je nepravděpodobná infekce *per os*. (Chandler *et al.* 2005).

Mitosporické houby vystupují jako přirození nepřátelé členovců, více pozornosti bylo věnováno houbovým patogenům hmyzu než vztahu mezi roztoči a entomopatogenními resp. akaropatogenními houbami. Nicméně, existuje široké spektrum druhů, které jsou asociovány s roztoči a mohou být potenciale využitelné k jejich regulaci. Akaropatogenní houby tvoří patrně funkční podskupinu uvnitř entomopatogenních hub, vyskytují se ve stejné fylogenetické skupině, bývají však méně diverzní (Poinar, Poinar 1998). Některé druhy, např. *Hirsutella thompsonii* a *Neozygites*

floridana, jsou specifickými patogeny roztočů, ostatní druhy jsou schopny usmrtit jak zástupce hmyzu tak roztoče.

Entomopatogenní houby představují významný prvek v biologické ochraně. Druhy jako např. *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* a *Paecilomyces fumosoroseus* mají potenciál využití pro regulaci roztočů, neboť se běžně vyskytují v jejich populacích (Chandler *et al.* 2000). Nicméně, ověřených poznatků o vztahu roztočů a hub rodů *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Metarhizium* a *Paecilomyces* není mnoho. Příkladem může být studie zaměřená na letální efekt způsobený druhy *B. bassiana*, *M. anisopliae* a *P. fumosoroseus* po aplikaci na vajíčka svlušky *T. cinnabarinus* (Shi, Feng 2004). V rámci této studie byla zaznamenána rozdílná mortalita v závislosti na použitém druhu/kmenu entomopatogenních hub, vyšší mortalita byla zaznamenána u izolátů *B. bassiana* a *P. fumosoroseus*, hodnoty zaznamenané u izolátů *M. anisopliae* byly zřetelně nižší. Wekesa *et al.* (2005) se ve své studii věnovali možnostem regulace populací svlušky *Tetranychus evansi*. Ačkoliv jsou pro regulaci četnosti populací ostatních druhů svlušek běžně používáni draví roztoči čeledi Phytoseiidae, v případě svlušky *T. evansi* nebyl doposud objeven žádný dostatečně účinný predátor vhodný pro její regulaci. Z toho důvodu byla ověřována patogenita hub *B. bassiana* a *M. anisopliae* k svlušce *T. evansi*. Všechny sledované izoláty hub *B. bassiana* a *M. anisopliae* byly schopny infikovat dospělce, mezi jednotlivými izoláty však byly značné odlišnosti. Z výsledků studie vyplývá, že entomopatogenní houby mají velký potenciál pro ochranu proti svlušce *T. evansi*, především při formulaci infekčních propagulí (konidie) v oleji. Chandler *et al.* (2005) testovali 40 izolátů entomopatogenních hub *B. bassiana*, *Hirsutella* sp., *H. necatrix*, *H. thompsonii*, *M. anisopliae*, *L. lecanii*, *Paecilomyces farinosus*, *P. fumosoroseus*, *Tolypocladium inflatum* a *T. niveum*. V laboratorních biotestech byla zaznamenána pouze nízká úroveň mortality, což mohlo být způsobeno allelochemikáliemi rajčete (=hostitelská rostlina svlušky *T. urticae* v pokuse), které inhibují entomopatogenní houby. Vyšší mortalita byla zaznamenána u kontrolní varianty (0,01% Triton X-100), nicméně u pokusů se svluškami je obtížné dosáhnout nízké mortality v kontrole díky krátké době života a vysoké reakci na stresující faktory během biotestů. Bylo obtížné srovnat mortalitu v kontrole, neboť u některých experimentů není uváděna (Alves *et al.* 2002; Sáenz-de-Cabezón Irigaray *et al.* 2002). Ve skleníkových pokusech byla sledována lepší účinnost testovaných izolátů. Pozoruhodné bylo, že *M. anisopliae* izolát 442.99 vykázal nejvyšší virulenci. Nicméně, s výjimkou aplikace Naturalis-L (na bázi *B. bassiana*), byly testované houby aplikovány ve vysoké koncentraci (1×10^8 v 1ml). Nejlepších výsledků ve skleníkových pokusech bylo dosaženo při použití Naturálie-L, kdy byla populace svlušky *T. urticae* redukována více jak o 97%, resp. o 89% při společném použití s dravým roztočem *Phytoseiulus persimilis*.

Obdobná obecná zjištění jednoznačně potvrzují i výsledky této doktorské práce. V průběhu experimentů bylo zjištěno, že všechny druhy entomopatogenních hub použitých v pokusech (*B. bassiana*, *B. brongniartii*, *L. lecanii*, *M. anisopliae* a *P. fumosoroseus*) vykazují též akaropatogenní status. Prakticky všechny kmeny použité v pokusech byly schopny v laboratorních podmínkách realizovat kompletní vývojový cyklus na dospělcích i vajíčkách svlušky *T. urticae* a vyvolat statisticky významnou mortalitu v ošetřených populacích. Nicméně, obecná schopnost vybraných druhů entomopatogenních hub vyvolávat onemocnění vajíček i dospělců *T. urticae* se velmi významně lišila na úrovni kmenů. Lze konstatovat, že v rámci experimentálních skupin (různé kmeny téhož druhu entomopatogenní houby) byla prokázána výrazně odlišná virulence jednotlivých kmenů. Relevantní rozdíly byly také zaznamenány v rychlosti vývoje jednotlivých kmenů a ve schopnosti dosáhnout konečné fáze vývoje – sporulace. Sporulace hraje významnou roli při vzniku a v průběhu epizootií. Při porovnávání izolátů hub *M. anisopliae* a *B. bassiana* bylo zjištěno, že izoláty houby *B. bassiana* s rychlejší sporulací (dva dny po smrti hostitele *Coptotermes formosanus*) nevykazovaly vyšší virulenci a lepší přenos v populaci hostitele. Izolát houby *M. anisopliae* dosáhl nejlepších hodnot ve všech sledovaných kategoriích (virulence, rychlost a intenzita sporulace) a lépe indukoval vznik epizootie ve sledované populaci hostitele (Sun *et al.* 2003). Obdobné rozdíly byly zaznamenány i při charakterizaci některých kmenů entomopatogenních hub. V části věnované polyfaktoriálnímu hodnocení jednotlivých kmenů hub bylo zaznamenáno nejvíce dospělců s patogenem sporulujícím na povrchu těla u populací

ošetřených kmeny houby *L. lecanii*, dále byly vysoké hodnoty zaznamenány po ošetření kmeny A77 houby *B. brongniartii* a PFR 97 houby *P. fumosoroseus*. V případě synchronizované populace vajíček byla nejvyšší frekvence vajíček porostlých sporulujícím myceliem zaznamenána po ošetření kmeny houby *M. anisopliae*.

Metodické aspekty

Pro parametrizaci virulence resp. akaropatogenní účinnosti jednotlivých kmenů entomopatogenních hub byla využita zejména schopnost jednotlivých kmenů vyvolávat v ošetřené populaci mortalitu. Nicméně, s ohledem na průběh infekce a vývoj hub na přirozeném hostiteli bylo zároveň cílem zaznamenat i všechny významné fáze vývoje patogena (klíčení konidií, pronikání do hostitele, usmrcení hostitele, povrchová proliferace, sporulace) a rozšířit tak charakteristiku jednotlivých kmenů o další parametry detailněji definující akaropatogenní status kmene. Zaznamenání mortality a odlišení zdravých a mrtvých jedinců v populacích svilušky chmelové není jednoduché a při hodnocení musí být využívány různé symptomy. Pomocí některých specifických makroskopických symptomů lze nicméně poměrně spolehlivě odlišit živé a mrtvé dospělce, resp. živá a mrtvá vajíčka. V interakčních systémech „roztoč-houba“ bylo nutno symptomy indikující vliv patogena na vajíčko nebo dospěléce využívat pouze do momentu povrchové proliferace (=růst mycelia houby na povrchu), protože v žádném z pokusů nebyl zaznamenán případ živého jedince s myceliem porůstajícím povrch těla. V tomto smyslu experimenty potvrdily známý fakt, že povrchová proliferace hub (růst a tvorba vzdušného mycelia, včetně sporulace) symptomaticky koreluje s mrtvým jedincem a reprezentuje saprotrofní fázi vývojového cyklu. S ohledem na tento aspekt byla při hodnocení pokusů odlišována mortalita pravděpodobně indukovaná patogenem, pesticidem či jiným vlivem (symptomy) od mortality prokazatelně způsobené patogenem (přítomnost mycelia na povrchu hostitele). Tento způsob detailního hodnocení byl zvolen proto, že hodnocení v rozsahu živí/mrtví nemusí být dostatečné, neboť následky ošetření se odlišují dle použité metody a přípravku, resp. kmene houby. Po šetření některými přípravky dochází k částečné paralýze, roztoči nepohybují nohama a jsou označeni jako mrtví. Pohyby nohou může být v rozpětí koordinovaných a silných pohybů až ke slabým a křečovitým. Křečovitě pohyby jsou někdy pozorovány u umírajících jedinců, kteří jsou někdy ohodnoceni jako živí (např. u „slide dip bioassay“), jindy jako mrtví („leaf disc bioassay“). Zařazení umírajících roztočů je v bipolárních systémech logické, pokud sledovaný jedinec přestává přijímat potravu, klást vajíčka a nastává brzy smrt. (Kabir *et al.* 1993)

V pokusech zařazených do doktorské práce bylo pro hodnocení ovlivnění populace dospělců svilušky chmelové využito indexové stupnice v rozmezí 0,0 – 3,0, ve které index 0,0 odpovídal živému dospělci bez viditelných změn, index 0,50 naznačoval změny (svilušky byly živé, objevovaly se u nich ale morfologické změny, křečovitě a/nebo nekoordinované pohyby). Tento „mezistupeň“ umožňuje zachytit počáteční změny v populaci, více byly tyto změny pozorovány u jedinců ošetřených insekticidy (ať již přírodními nebo syntetickými). Index 1,00 v použité stupnici odpovídal mrtvému jedinci, rozmezí hodnocení do 1,00 korespondoval s parazitickou fází vývoje hub uvnitř hostitele. Vzhledem k tomu, že na rozdíl od účinků pesticidů je v případě entomopatogenních hub nutno hodnotit též vývoj patogena po usmrcení hostitele, byla hodnotící stupnice koncipována právě s ohledem na tento fenomén. Index 1,5 byl použit v případě, kdy na povrchu těla usmrcených jedinců byl zaznamenán růst mycelia, index 2,0 byl použit v případech kdy na povrchu těla dospělců nebo vajíček byl zaznamenán intenzivní povrchový růst mycelia. Jinak řečeno, indexy 1,5 a 2,0 signalizují externí proliferaci hub a tvorbu vzdušného mycelia, což je předpoklad dalšího vývoje – sporulace. Sporulace byla zaznamenávána pomocí indexů 2,5 (počátek sporulace) a 3,0 (plná sporulace). Výsledky byly interpretovány s důrazem na zaznamenání kumulované mortality (průměrný index 1,0) a následně i na zaznamenání rozdílů v následujícím vývoji jednotlivých kmenů hub, tj. zaznamenání rychlosti porůstání povrchu těla myceliem (indexy 1,5 a 2,0) a konidiogeneze (indexy 2,5 a 3,0). Toto hodnocení představuje klíčový metodický aspekt práce a bylo použito prakticky ve všech experimentech.

Metody listových terčů byly sledovány více podobné polním podmínkám, jsou však často ovlivněny samovolným únikem svlušek z povrchů pokusné arény (listový disk) do okolí. Ve studii hodnotící akaricidy samovolné úniky svlušek vyskytly ve všech testových variantách (Kabir *et al.* 1993). Někteří autoři (např. Riedl, Shearer 1991) zahrnují únik svlušek (tzv. „run-off“) do kumulované mortality z důvodů zjednodušení vyhodnocování a analýzy. V jiných studiích byly naopak svlušky, které samovolně pokusné arény opouštěly z hodnocení vyřazeny a to právě z důvodů neznalosti příčiny vedoucí k opuštění terčů (např. Kabir *et al.* 1993). V provedených studiích, kdy bylo testováno samostatné působení entomopatogenních hub na dospělce svlušky *T. urticae*, nebyl sledován významný podíl svlušek, které by opouštěly terč.

Studie zaměřené na vajíčka svlušek se odlišují od testování vztahu mezi houbami a dospělci, vajíčka jsou malých rozměrů, je obtížné s nimi manipulovat bez ovlivnění biotestu. Při testování ovicidního účinku a vývoje patogena na vajíčkách svlušky *T. urticae* bylo využito kladení vajíček na povrch listových terčů, následně byl použit ponořovací test („dip test“), kdy byly ponořeny celé terčůky, na jejichž povrchu byla časově synchronizovaná skupina vajíček. Terčůky byly následně umístěny na povrch agar v Petriho misce, otočením misky byla umožněna přirozená expozice listů. U dospělců se tento systém nedal využít, neboť dospělci opouštěli terčůky po povrchu ztuhlého agaru. Proto byla využita jiná varianta diskových terčů coby pokusných arén, ve které byly disky kladeny na povrch vaty smočené vodou a mezi jednotlivými listovými disky tak vznikla vodní bariéra, která poměrně dobře bránila samovolnému úniku samic z disků. Z hlediska metodického se jedná o jednu z možných verzí standardního laboratorního testu, který se alespoň částečně blíží podmínkám ve sklenicích nebo v jiném prostředí. Nicméně, cílem studie bylo porovnat akaropatogenní účinnost entomopatogenních hub pomocí standardního laboratorního biotestu s důrazem na zaznamenání i malých odlišností v účinnosti jednotlivých kmenů.

Úvodní modelové studie byly zaměřeny na detailní charakterizaci vybraných kmenů entomopatogenních hub ve vztahu ke svlušce *T. urticae*. Výsledky potvrzují akaropatogenní status testovaných druhů hub, všechny použité druhy, *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *L. lecanii*, *P. fumosoroseus* a *M. anisopliae*, byly schopny realizovat parazitickou i saprotrofní část vývoje hub na vajíčkách i dospělých svlušky chmelové. Z dílčích výsledků vyplývá, že jednotlivé kmeny je možno odlišit na základě několika rozdílných parametrů – mortality, rychlosti vývoje v podmínkách *in vitro*, rozdílech ve vývoji na vajíčkách a dospělých svlušky chmelové, schopnosti realizovat celý vývojový cyklus na vybraném hostiteli, rychlosti a intenzity sporulace.

Houby rodu *Beauveria*

Pro hodnocení vitality konidií byl ve všech případech použit standardní laboratorní test klíčivosti, pomocí kterého lze stanovit nejen podíl vitálních konidií (% klíčivost), ale též parametrizovat každý kmen z hlediska rychlosti vývoje v podmínkách *in vitro* (průměrný index vývoje patogena - IVP). Všechny kmeny *B. bassiana* použité v experimentech prokázaly velmi vysokou vitalitu a poměrně rychlý vývoj. Klíčivost kmenů hub rodu *Beauveria* se pohybovala v rozmezí 93 až 98% (po 24 hod) a postupný nárůst průměrných hodnot IVP prokázal obecně rychlý vývoj použitých kmenů, nicméně i velmi výrazné rozdíly mezi jednotlivými kmeny. Při hodnocení kmenů hub rodu *Beauveria* byly po 24 hodinách inkubace zaznamenány průměrné IVP v rozmezí 0,72 - 1,92. Nejnižší hodnota byla zaznamenána v případě kmene A77 houby *B. brongniartii* (v populaci konidií byly zaznamenány převážně konidie s krátkými klíčky). Naopak nejrychlejší vývoj byl zaznamenán v případě kmene A25 houby *B. bassiana*, u kterého byla stanovena průměrná hodnota IVP 1,92 (fáze dlouhých primárních hyf resp. sekundárního větvení primárních hyf). Lze konstatovat, že všechny kmeny *B. bassiana* a *B. brongniartii* vykázaly vynikající vitalitu.

Houby rodu *Beauveria* mají širší spektrum hostitelů, mezi kterými se objevují také roztoči. Sáenz-de-Cabezón Irigaray *et al.* (2003) shrnuli ve své studii pokusy sledující vzájemný vztah mezi houbou *B. bassiana* a svluškou chmelovou. Účinky různých kmenů entomopatogenních hub oscillovaly od nízké účinnosti, přes mortalitu nepřesahující 50% až po mortalitu přesahující 70%.

V jiných studiích byly získány obdobné výsledky, které byly interpretovány tak, že jedním z důvodů odlišné akaropatogenity může být široká genetická variabilita mezi jednotlivými izoláty, které se odlišují patogenitou, enzymatickými a DNA charakteristikami (Almeida *et al.* 1997; Moino *et al.* 1998). Výsledky získané při standardní charakterizaci akaropatogenních kmenů hub *B. bassiana* a *B. brongniartii* tyto zkušenostmi potvrzují.

Při charakterizaci kmenů hub rodu *Beauveria* bylo zjištěno, že testované kmeny hub *B. bassiana* a *B. brongniartii* se odlišují virulencí a v mortalitě, kterou vyvolávají v populacích dospělců a vajíček svlušky *T. urticae*. Po 6 dnech byla u houby *B. bassiana* zjištěna mortalita 21 – 76%, u houby *B. brongniartii* kmen A77 bylo dosaženo nejvyšší kumulované mortality 81%. Účinnost testovaných kmenů na mortalitu dospělců i vajíček svlušky byla statisticky průkazná ve všech sledovaných intervalech.

Rychlost vývoje patogena se odráží též v době potřebné pro dosažení průměrného ISP 1,5. Překročením této hranice se sledovaná populace dostává do stavu, kdy dominantně přechází do saprotrofní fáze vývoje, dochází ke sledu kroků od objevení se mycelia na povrchu těla hostitele ke sporulaci. Čas nutný pro dosažení průměrného ISP 1.5 je udáván v hodinách a je možné jej označit za alternativu parametru, který je používán při hodnocení rychlosti účinku pesticidů (L_T – *lethal time*), přičemž čím nižší hodnota, tím rychlejší je vývoj testované kmene houby. Při porovnávání hub rodu *Beauveria* se v tomto parametru od ostatních kmenů výrazně odlišil kmen A 77 houby *B. brongniartii*, který průměrnou hodnotu ISP 1,5 dosáhl již za 164 hodin. Z ostatních kmenů druhu *B. bassiana* byl poměrně rychlý vývoj zaznamenán ještě u kmene A25, který dosáhl stejné hranice po 200 hodinách.

Vajíčka jsou v porovnání s ostatními vývojovými stádii vůči účinkům houby *B. bassiana* odolnější. Důvodem může být buď topografie povrchu vajíčka (St. Leger *et al.* 1991) a/nebo nedostatek nutričních zdrojů (lipidů) pro vývoj houby (Bidochka, Khachatourians 1992). S tímto zjištěním korelují i výsledky zaznamenané v pokusech. Při charakterizaci kmenů hub rodu *Beauveria* byla sporulace patogena na povrchu vajíček v době ukončení testu zaznamenána pouze u dvou kmenů – hodnoty 10,37% bylo dosaženo u kmene A25 houby *B. bassiana* a hodnoty 4,18% u kmene A77 houby *B. brongniartii*.

Faktor umožňující předvídat další vývoj akaropatogenních hub v populaci svlušky je sporulace patogena na povrchu hostitele. V biotestech na dospělcích *T. urticae* se testované kmeny hub rodu *Beauveria* odlišovaly v rychlosti a intenzitě sporulace. Sporulace byla obvykle zaznamenána až při hodnocení po 6 dnech a pohybovala se v rozmezí 10 – 32% (kmen A77 houby *B. brongniartii*). V populaci ošetřené kmenem A38 houby *B. bassiana* nedošla během sledované doby houba do fáze sporulace ani na dospělcích ani na vajíčkách svlušky *T. urticae*.

Kromě schopnosti sporulace a následného šíření v prostředí je důležitou vlastností, která ovlivňuje použití hub pro praktickou biologickou ochranu, kompatibilita s ostatními používanými agens. V této souvislosti potvrdili Jacobson *et al.* (2001) v laboratorních a skleníkových podmínkách kompatibilitu houby *B. bassiana* s dravým roztočem *Neoseiulus cucumeris*, nebyl sledován nepříznivý vliv na populaci predátora.

Lecanicillium lecanii

Všechny testované kmeny houby *L. lecanii* prokázaly shodnou vitalitu při klíčení v podmínkách *in vitro*, neboť dosáhly po prvním dnu trvání testu hranice 2,00 (IVP) při 100% klíčivosti sledovaných populací konidií, nebyly zaznamenány rozdíly v rychlosti vývoje jednotlivých kmenů. V následné sérii pokusů zaměřených na testování v podmínkách *in vitro* byl statisticky průkazný vliv na mortalitu dospělců až při hodnocení po 96 a 144 hodinách. Významným zjištěním bylo, že u všech populací dospělců svlušky *T. urticae* ovlivněných kmeny houby *L. lecanii* bylo indexu stavu populace (ISP) = 1,5 dosaženo za méně než 240 hodin. Houba *L. lecanii* prokázala nejrychlejší vývoj ze sledovaných druhů hub, kmen A47 se vyvíjel nejrychleji, byla u něj zaznamenána hodnota ISP=1,5 již za 134 hodin. První sporulace houby *L. lecanii* na povrchu těla dospělců svlušky *T. urticae* byla zaznamenána po 72 hodinách trvání testu a to u dvou kmenů, A47 a C1. V době

ukončení testu dosáhly konečné fáze vývoje (sporulace na povrchu usmrceného hostitele) všechny kmeny houby *L. lecanii* použité v experimentech. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána v populaci ošetřené *L. lecanii* kmen A47, kde fáze sporulace patogena (ISP 3.0) byla zaznamenána na polovině sledovaných svilušek. Houba *L. lecanii* dospěla do fáze sporulace na povrchu více jak čtvrtiny dospělců také u populací ošetřených kmeny I9 a C1. Z hlediska akaropatogenity se jako nejučinnější jevíly kmen A47 a I9, neboť způsobily nejen nejvyšší mortalitu v populaci dospělců, ale zároveň v nejvyšší míře realizovaly i finální fázi saprotrofní části vývojového cyklu (sporulace).

Porovnáním 12 odlišných kmenů houby *L. lecanii* ovlivňujících populaci vajíček svilušky *T. urticae* byly zjištěny statistické rozdíly. Po 72 hodinách se mortalita pohybovala v rozmezí 1,50% (kmen P1) až 29,17% (kmen I9). Více jak čtvrtina mrtvých vajíček se objevila také v populaci vajíček ovlivněných kmenem A47 houby *L. lecanii*. Po 6 dnech bylo nejméně mrtvých vajíček v populaci, která byla ošetřena kmenem C1 houby *L. lecanii*, nejvyšší procento mrtvých jedinců bylo zjištěno u populace ovlivněné kmeny I24 (70%), I30 (68,76%) a I9 (64,31%). Ve stejné době byla v kontrolní variantě zaznamenána kumulovaná mortalita 4%. Detailněji je možno sledovat vztah mezi hostitelem a patogenem pomocí indexu stavu populace (ISP), který umožňuje odlišit jednotlivé fáze saprotrofního vývoje houby na vajíčkách svilušky *T. urticae*. Po 72 hodinách se výrazně odlišily pouze 2 kmeny – kmen I9 (ISP = 0,36) a kmen A47 (ISP = 0,40), u zbývajících kmenů bylo dosaženo pouze hodnot v rozmezí 0,02 – 0,08. Po 144 hodinách pokročil vývoj nejdále v populacích kmene I9 (ISP = 1,44) a A47 (ISP = 1,33), index ohodnocující celou populaci ukazuje, že průměrně docházelo k rozvoji mycelia na povrchu těla hostitele. Hodnot přesahující 1,00, kdy průměrně bylo dosaženo mortality v populaci, bylo dosaženo ještě u populací vajíček ošetřených kmeny I24 a I34 houby *L. lecanii*. Naopak nejpomalejší vývoj byl pozorován u kmenů C1, F6 a P1, kdy ISP nepřesáhl hranici 0,50. Nezbytným faktorem pro následné šíření hub v prostředí je sporulace patogena na povrchu těla hostitele. U sledované skupiny kmenů houby *L. lecanii* ne všechny kmeny dospěly do stádia sporulace na vajíčkách svilušky *T. urticae*. Při prvním hodnocení byla sporulace sledována pouze u třech kmenů – A47, I34 a I36. Po 6 dnech byla více jak čtvrtina vajíček se sporulujícím patogenem na povrchu těla u dvou kmenů – I9 a A47, 9% bylo sledováno u populací ošetřených kmeny A45 a I34, sporulace byla dále sledována ještě u kmenů I24, I36 a C1.

Při testování vybraných kmenů houby *L. lecanii* bylo zaznamenáno, že kmeny odizolované z *Ips typographus* vykazují vyšší účinnost v porovnání s kmeny reizolovanými z komerčně využívaných biopreparátů VERTALEC® a MYCOTAL®. Toto zjištění lze považovat za velmi významné, protože dokladuje potenciál, který představují kmeny hub přirozeně se vyskytujících v různých ekosystémech a zároveň potvrzují význam hodnocení kmenů a definování jejich vlastností. Tento závěr potvrzují též výsledky, které byly zaznamenány při charakteristice kmenů neizolovaných z biopreparátů, neboť tyto biopreparáty nejsou primárně určeny k regulaci populací roztočů. Vzhledem k způsobu jejich použití v agroekosystému, kde běžně vystupuje sviluška chmelová jako jeden ze škůdců, však naznačují, že by bylo možno využít tohoto efektu pro zapojení hub do systému regulace populací roztočů, případně tuto účinnost – byť jako doplňkovou – deklarovat na etiketě preparátů.

Metarhizium anisopliae

M. anisopliae je široce rozšířeným druhem s rozsáhlým spektrem hostitelů a kmeny výrazně se lišících virulencí. St. Leger *et al.* (1992) stanovovali genetickou variabilitu 120 izolátů houby *M. anisopliae* a seskupili je do 48 genetických skupin. Podle dřívější interpretace dendrogramu byly rozděleny do 9 světově rozšířených skupin. Fylogenetická analýza rodu *Metarhizium* za pomoci rDNA sekvenční analýzy ukázala 10 geograficky výrazně oddělených skupin (Driver *et al.* 2000).

Batta (2003) prokázal, že houba *M. anisopliae* v laboratorních i polních podmínkách způsobuje statisticky významnou mortalitu jak v populacích kolice bavlníkové *Bemisia tabaci* tak i v populacích svilušky *Tetranychus cinnabarinus*. Houba *M. anisopliae* byla také zaznamenána jako druh vysoce patogenní ke klíšťatům (Acari: Ixodidae), např. druhu *Ixodes scapularis*, který je primárním vektorem původce lymfské boreliózy na východě USA. Díky širokému spektru hostitelů byl sledován též vliv

některých kmenů *M. anisopliae* na necílové druhy. Při použití vysokých koncentrací (10^8 spor/1 ml) byla houba *M. anisopliae* patogenní k taxonomicky různorodé skupině hmyzu, včetně brouků a cvrčků. Nicméně, byla zaznamenána nízká patogenita k ploštici *Oncopeltus fasciatus* ukazující na odlišnosti ve vnímavosti hmyzu. Výsledky studie sledující horizontální přenos houby prokázaly, že k šíření dochází přenosem spor z kutikuly ošetřeného cvrčka na neošetřeného, buď přímo kontaktem nebo nepřímo přes substrát (Ginsberg *et al.* 2002). Podobné výsledky byly popsány u houby *Beauveria bassiana* a vos (Hartus *et al.* 2000).

Houba *M. anisopliae* prokázala v provedených testech schopnost realizovat celý vývojový cyklus na dospělých svlušky *T. urticae*, po 6 dnech byla zaznamenána sporulace u všech sledovaných kmenů. V porovnání s ostatními druhy se objevilo v populaci dospělců méně jedinců se zjevným projevem infekce, zároveň také méně jedinců se sporulujícím patogenem, hodnoty se pohybovaly v rozmezí 5-13%.

U všech kmenů houby *M. anisopliae* byl sledován pomalejší počáteční vývoj vyjádřený indexem vývoje populace (IVP) *in vitro*, jehož hodnoty byly v rozpětí 0,58 – 1,60. V podmínkách tohoto testu využívá konidie ke klíčení a následnému vývoji pouze energii vlastních zdrojů, nejpomalejší vývoj byl u kmene M065, po 24 hodinách byla populace sledovaných konidií ohodnocena průměrně indexem odpovídajícím klíčení, naopak nejrychleji se ze sledovaného spektra kmenů *M. anisopliae* vyvíjel kmen M072, který ve stejné době dospěl již do stádia výskytu dlouhých nebo již sekundárně se větvicích hyf (IVP 2.0). Po 24 hodinách bylo v podmínkách *in vitro* zjištěno, že klíčivost sledovaných populací konidií se pohybuje pouze v rozmezí 42 – 80%. Testované kmeny houby *M. anisopliae* začaly v podmínkách *in vitro* sporulovat až po 72 hodinách. Pomalejší počáteční vývoj se odrazil také ve vztahu *M. anisopliae* k dospělcům svlušky *T. urticae*. Vyhodnocením pomocí ISP = 1,5 bylo zjištěno, že pouze jeden kmen, M066, dosáhl této hranice za méně jak 240 hodin. Vývoj všech kmenů v populacích dospělců *T. urticae* byl obdobný, po 144 hodinách nebyl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl v mortalitě dospělců svlušky. Celková kumulovaná mortalita v době ukončení testu se pohybovala v rozmezí od 66 do 78%, všechny kmeny však vykazovaly index stavu populace nižší než 1,50 což naznačuje, že houby *M. anisopliae* prodělávala pouze parazitickou fázi vývojového cyklu. Poměrně vysoká mortalita a současně nízké hodnoty průměrného ISP naznačují, že ve spektru účinků kmenů houby *M. anisopliae* mohou být výrazněji zastoupeny i toxické metabolity.

Houba *M. anisopliae* prokázala ovicidní účinek na vajíčka svlušky chmelové, všechny sledované kmeny houby *M. anisopliae* prokázaly schopnost realizovat celý vývojový cyklus na vajíčcích svlušky chmelové. Po 72 hodinách vykázaly všechny kmeny srovnatelnou účinnost, mortalita ve věkově synchronizované populaci vajíček se pohybovala od 33% do 52%. V kontrolní variantě byla zaznamenána mortalita pouze u 2% vajíček. Po 144 hodinách došlo již k odlišení účinnosti testovaných kmenů, což bylo prokázáno statistickou analýzou dat ($F=42,240$; $df=5,90$; $p<0,0000$). Kmeny M072 a M066 způsobily mortalitu na úrovni 70%, nejnižší ovicidní účinek byl prokázán po aplikaci kmene M063, kdy byla zaznamenána mortalita pouze 48% vajíček. Již po 72 hodinách byl u populací vajíček svlušky *T. urticae* ošetřených kmeny houby *M. anisopliae* zaznamenán ISP v rozmezí 0,39 – 0,76. Hodnoty přesahující 0,50 indikují, že v populaci dochází k prvním viditelným změnám. Nejnižším indexem byla ohodnocena populace ovlivněná kmenem M063, stejně jako při závěrečném hodnocení, kdy ISP nepřesáhl hodnotu 1,00. U ostatních kmenů byly sledované hodnoty nad 1,50, průměrně tedy přecházela houba *M. anisopliae* do saprotrofní fáze vývoje na vajíčcích svlušky chmelové. Po 144 hodinách byla u třech kmenů (M066, M072 a M082) zaznamenána sporulace na povrchu více jak poloviny sledovaných vajíček.

Paecilomyces fumosoroseus

Vstupním ohodnocením v podmínkách *in vitro* bylo zjištěno, že téměř všechny kmeny dosáhly za 24 hodin fáze dlouhých klíčků resp. sekundárního větvení při 100% klíčivosti. Výjimkou byl kmen I10, u kterého byla ve stejné době zaznamenána pouze 43% klíčivost a hodnota IVP = 0,55, což odpovídá počátku klíčení konidií.

Houba *P. fumosoroseus* je schopna realizovat celý vývojový cyklus na vajíčcích i dospělých svlušky *T. urticae*. V době ukončení testu byla zaznamenána sporulace na povrchu těla dospělců u všech sledovaných populací ošetřených vybranými kmeny houby *P. fumosoroseus*. Nejvíce jedinců porůstajících myceliem patogena bylo zaznamenáno v populaci ošetřené kmenem I 10 (7%), I2 (13%) a PFR 97 (29%). Stejně kmeny také sporulovaly na nejvyšším počtu vajíček (kmen I10 -11%; I2 - 19% a PFR 97 - 39%). Několik vajíček se sporulujícím patogenem bylo zaznamenáno také u synchronizované populace ovlivněné kmeny A102 a I4.

Vliv ošetření vybraných kmenů entomopatogenní houby *P. fumosoroseus* na dospělé svlušky chmelové byl statisticky průkazný po 72 hodinách trvání testu. Při prvních čtyřech hodnoceních byla nejvyšší mortalita zaznamenána v populaci ovlivněné kmenem PFR 97, při posledním hodnocení však byla u tohoto kmene zaznamenána nejnižší mortalita. V době ukončení testu byl kumulovaná mortalita nižší než 50% sledována ještě u populace ovlivněné kmenem I10. Nejvyšší kumulovaná mortalita byla zapříčiněna ošetřením kmeny A102 (73,76%) a A48 (69,57%). V kontrolní variantě dosáhla mortalita 5%.

Ze sledované skupiny kmenů houby *P. fumosoroseus* se v kritériu rychlosti vývoje na dospělých svlušky chmelové výrazně oddělil kmen PFR 97, u kterého byla dosažena průměrná hodnota ISP = 1,5 za 192 hodin. U ostatních kmenů přesáhla tato hodnota 240 hodin. Vývoj entomopatogenních hub na dospělých svlušky chmelové, vyjádřený indexem stavu populace (ISP), nedospěl v době ukončení testu u žádného kmene do hodnoty 1,00 (přechod z parazitické do saprotrofní fáze vývoje). Nejvíce se této hodnotě přibližovaly kmeny A48 (ISP = 0,98) a A102 (ISP = 0,95).

Jednotlivé kmeny houby *P. fumosoroseus* vykazovaly výrazné rozdíly ve vývoji na vajíčcích svlušky chmelové. Po 72 hodinách byl vyšší ISP zaznamenán u kmenů A66, A102 a PFR 97, s nejvyšší hodnotou 0,23. Po 144 hodinách trvání testu se oddělily tři skupiny, v první, s nejnižším ISP na úrovni 0,4, byl kmen I2; ve druhé skupině, s IVP 0,7, kmeny A48 a A66 a do třetí skupiny, u které byla překonána hranice ISP 1,00, spadaly ostatní sledované kmeny. Hodnoty přesahující 1,00 vykazují populace, u kterých došlo k nevratným změnám.

Po 72 i 144 hodinách byl vliv ošetření houbou *P. fumosoroseus* na synchronizovanou populaci vajíček svlušky *T. urticae* statisticky významný. Při prvním hodnocení byla vyšší mortalita sledována po ošetření houbou *P. fumosoroseus* kmenem A102 (8,81%), kmenem PFR 97 (9,31%) a A66 (16,02%). U těchto kmenů byl také zaznamenán rychlejší vývoj patogena vyjádřený indexem stavu populace (ISP). Po 144 hodinách přesáhla kumulativní mortalita 60% u kmenů A102, I2 a I10, více jak 50% mrtvých vajíček bylo sledováno také po ošetření kmeny A48 a A66.

Akaropatogenní charakteristiky kmenů Lecanicillium lecanii pasážovaných přes různé hostitele a substráty

Část doktorské práce byla zaměřena na studium možností záměrného ovlivňování účinnosti vybraných kmenů entomopatogenních hub. Za jednu z možností bylo zvoleno cílené pasážování přes vybrané druhy hostitelů a substrátů umožňují navýšit obecnou vitalitu i virulenci jednotlivých kmenů entomopatogenních hub (Landa 1994). Hodnocení vlivu pasážování bylo provedeno opět systémem polyfaktoriálního hodnocení zaměřeného na vztah entomopatogenní houby a svlušky chmelové. Při hodnocení vývoje pasáží kmene P1 houby *L. lecanii* v podmínkách *in vitro* nebyly po 24 hodinách zaznamenány rozdíly, všechny pasážované kmeny shodně dospěly do fáze dlouhých klíčků, resp. sekundárního větvení (IVP = 2,00), při 100 % klíčivosti sledovaných konidií. Lze konstatovat, že v tomto parametru nebyl zaznamenán žádný negativní vliv kontinuálního pasážování na vitalitu konidií a vývoj pasážovaných kmenů, naopak obě charakteristiky (% klíčivost, rychlost vývoje) signalizují pozitivní vliv kontinuálního pasážování na vitalitu kmenů.

U všech sledovaných pasáží byla zachována schopnost původního kmene P1 realizovat celý vývojový cyklus na dospělých svlušky chmelové. U pasáží 102 (přes molice a svlušky) a 112 (přes molice) bylo po 144 hodinách sledováno více jedinců se sporulujícím patogenem v porovnání

s původním kmenem P1, u pasáže 112 došlo k nejvyššímu navýšení o 13%. Při hodnocení mortality dospělců způsobené houbou *L. lecanii* kmen P1 pasážovanou přes různé druhy hostitelů a definovaný substrát byl zaznamenán statisticky průkazný vliv ošetření. V době ukončení testu se odlišila skupina, u které se mortalita pohybovala kolem 50%, spadají do ní pasáže 106 (pasážováno přes molice a PDA), 112 (pasážováno přes molice) a 113 (pasážováno přes mšice a PDA). Původní kmen vyvolal v populaci svilušky *T. urticae* mortalitu 73%. Nejvyšší kumulovaná mortalita, dosahující hodnot kolem 90%, byla dosažena u populací ovlivněných pasážemi 102 (pasážováno přes molice a svilušky), 103 (pasážováno přes molice) a 111 (pasážováno přes PDA). Porovnání rychlosti, s jakou jednotlivé pasáže kmene P1 houby *L. lecanii* dosáhly hodnoty ISP 1,5, prokázalo u čtyřech pasáží urychlení vývoje. Nejrychleji bylo této hodnoty dosaženo u pasáže 103 (pasážováno přes molice), rozdíl vzhledem k původnímu kmenu P1 byl téměř dvoudenní (42 hodin). U zbývajících dvou pasáží, které byly pasážovány nejprve přes živého hostitele (molice a mšice) a následně přes umělou živnou půdu (PDA), nedošlo k urychlení vývoje.

Hodnocením ovidního účinku jednotlivých pasáží byl statisticky potvrzen vliv ošetření na synchronizovanou populaci vajíček svilušky *T. urticae*. Po 6 dnech došlo k odlišení tří skupin, nejnižší mortalita v rozmezí 17 až 34% byla zaznamenána u původního kmene P1 a pasáží 106 (přes molice a PDA), 112 (přes molice) a 113 (přes mšice a PDA). Střední skupiny tvořily pasáže 102 a 111, s kumulovanou mortalitou 55 a 63%, nejvyšší mortalita 90% byla způsobena ošetřením kmenem P1 pasáží 103 (přes molice). U původního kmene P1 nebyla v průběhu testu zaznamenána sporulace na povrchu vajíček svilušky *T. urticae*. Po pasážování houby přes živé hostitele a definovaný umělý substrát byla sporulace zaznamenána u všech sledovaných pasáží. U pasáže 111 (přes PDA) se sporulace objevila již po 72 hodinách, v době ukončení testu se sporulace projevila na povrchu více jak poloviny vajíček. Vysoké zastoupení přesahující 30% měla sporulace také u pasáží 102 (přes molice a svilušky) a 103 (přes molice). Pomocí indexu stavu populace (ISP) ve vztahu k vajíčkům svilušky *T. urticae* byly po 72 hodinách u všech pasáží zaznamenány vyšší hodnoty v porovnání s původním kmenem P1. U původního kmene byla zjištěna hodnota 0,02, většina pasáží dosáhla hodnot pohybující se kolem 0,20, oddělila se pasáž 111 (pasážováno přes PDA), u které bylo zaznamenána hodnota 0,83. Po 144 hodinách byla u pasáže 102 překročena hranice 1,00, vyjadřující ve vztahu k celé synchronizované populaci vajíček, že průměrný stav je „mrtvý jedinec“. Ve stejné době byla u dvou pasáží, 103 (pasážováno přes molice) a 111 (pasážováno přes PDA), překročena hodnota 1,50, ukazující, že průměrně došlo k přechodu do saprotrofní fáze vývoje hub.

Po 144 hodinách nelze jednoznačně usoudit, zda došlo vlivem manipulace formou pasážování k navýšení účinnosti, protože původní kmen P1 vykázal v některých parametrech vyšší hodnoty v porovnání s pasážemi odvozenými od tohoto kmene.

Akaropatogenní charakteristiky kmenů Paecilomyces fumosoroseus pasážovaných přes různé hostitele a substráty

Obdobně i ve studii zaměřené na charakteristiku pasáží odvozených od původního kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* nebyly v podmínkách *in vitro* zjištěny rozdíly. Při porovnání po 24 hodinách byla u všech sledovaných pasáží zaznamenána hodnota 2,00 odpovídající dlouhým klíčkům resp. sekundárnímu větvení. U testovaných pasáží klíčily všechny sledované konidie.

Při hodnocení mortality vyvolané ošetřením dospělců svilušky *T. urticae* pasážemi kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* byl o zjištěno, že vliv ošetření je statisticky průkazný. Již po 48 hodinách byla v populacích dospělců ovlivněných pasážemi H5 (izolát 172, pasážováno přes otruby), H10 (izolát 172, pasážováno přes molice) a H15 (izolát 172, pasážováno přes mšice) sledována mortalita přesahující 40%. Po šesti dnech byla v porovnání s původním kmenem PFR 97 sledována nižší mortalita pouze u pasáže H20 (izolát 172, pasážováno přes svilušky). U populací ošetřených izoláty 172 a 173 bylo dosaženo kumulované mortality kolem 50%. Další skupinu tvořily pasáže H10 (izolát 172, pasážováno přes molice), H15 (izolát 172, pasážováno přes mšice) a H25 (izolát 172, pasážováno přes PDA), u kterých byla zaznamenána mortalita v rozmezí 64-68%. Kumulovaná mortalita 80% byla

dosažena u populace svilušky po ošetření pasáží H5 (izolát 172, pasážováno přes otruby) kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus*. Nejvyšší mortalita, 92 a 99%, byla zaznamenána po ošetření populací pasážemi odvozenými od izolátu 173.

Jedním z faktorů, který umožňuje vyhodnotit, jak ovlivňuje pasážování kmene PFR 97 účinnost houby *P. fumosoroseus* na dospělce svilušky *T. urticae*, je sledování rychlosti s jakou je dosaženo ISP 1,5. Mírné zrychlení o 6 hodin bylo sledováno u pasáže H25 (izolát 172, pasážováno přes PDA), výraznější u pasáží H5 (izolát 172, pasážováno přes otruby) a H10 (izolát 172, pasážováno přes molice) – ISP 1,5 bylo dosaženo za 134 a 138 hodin. Nejrychleji bylo hodnoty ISP 1,5 dosaženo u pasáží H40 (izolát 173, pasážováno přes mšice) a H45 (izolát 173, pasážováno přes svilušky). V porovnání s původním kmenem PFR 97 dospěla populace do fáze přechodu do saprotrofní fáze o 86 resp. 88 hodin dříve.

Za pomoci ISP bylo zjištěno, že po 48 hodinách byly u populací dospělců ovlivněných pasážemi H5, H10 a H15 zaznamenány hodnoty kolem 0,50. Za dalších 24 hodin byla tato hranice překročena ještě u populací ošetřených původním kmenem PFR 97 a pasážemi odvozenými od izolátu 173. Po 144 hodinách přesáhly průměrné hodnoty ISP populace ovlivněné původním kmenem PFR 97, izolátem 172 a pasáží H25 hranici 1,00 (mrtví jedinci). Hodnota 1,50, rovnající se přechodu do saprotrofní fáze vývoje patogena, byla překročena u populací ošetřených pasážemi H5 a H10. Stav populací ovlivněných pasážemi odvozenými od izolátu 173 byl vyjádřen hodnotami přesahujícími 2,00 (silný růst mycelia a přechod ke sporulaci patogena na povrchu hostitele).

Porovnáním rychlosti vývoje jednotlivých pasáží kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* na vajíčcích svilušky *T. urticae* byly rozdíly zaznamenány již po 72 hodinách. Vyjádření pomocí průměrného ISP oddělilo pasáže, které nedosáhly hodnoty 0,50 – původní kmen PFR 97, H10 (izolát 172, pasážováno přes molice), H15 (izolát 172, pasážováno přes mšice) a H45 (izolát 173, pasážováno přes svilušky). Vyšší hodnoty v rozmezí ISP 0,64-0,73, které vyjadřují, že v populaci se objevila mrtvá vajíčka a byly zaznamenány nevratné změny, byly zaznamenány při hodnocení izolátů 172 a 173 a pasážím H25 (izolát 172, pasážováno přes PDA) a H40 (izolát 173, pasážováno přes mšice). Naprosto ojedinělá byla hodnota blízká se průměrnému ISP 3,00 (plnou sporulace patogena na povrchu vajíček), která byla zaznamenána v synchronizované populaci vajíček ošetřené suspenzí konidií pasáže H20 (izolát 172, pasážováno přes svilušky). Po 144 hodinách byly hodnoty nižší než 1,00 sledovány pouze u pasáží H10 a H15, u původního kmene přesáhla sledovaná hodnota tuto hranici. Průměrné hodnoty ISP se u většiny pasáží se pohybovaly v rozmezí 1,50 a více, což jednoznačně indikuje nejen vysokou mortalitu, ale i schopnost přechodu do saprotrofní fáze vývoje patogena. Hranice průměrného ISP 2,00 (porůstání povrchu těla hostitele myceliem) byla kromě pasáže H20 překročena ještě u pasáže H25.

Vyhodnocením ovicidního účinku bylo zjištěno, že vliv ošetření je statisticky průkazný. K mírnému navýšení kumulované mortality v porovnání s původním kmenem PFR 97 došlo u synchronizované populace vajíček ovlivněné pasážemi odvozenými od izolátu 173. Mortalita pohybující se v rozmezí 60-66% byla sledována po ošetření izoláty 172 a 173 a pasáží H5. K navýšení kumulované mortality o 30% došlo u populace ovlivněné pasáží H25. Nejvyšší hodnota, kdy byla sledována mortalita o 50% vyšší v porovnání s původním kmenem, byla vyhodnocena u pasáže H20. Při vyhodnocování účinnosti jednotlivých pasáží na synchronizované populaci vajíček svilušky *T. urticae* byl sledován rychlejší vývoj většiny pasáží v porovnání s původním kmenem PFR 97, u kterého nedospěla houba po 72 hodinách ještě do stádia sporulace. V této době již u některých pasáží byly zaznamenány hodnoty přesahující 10% (izolát 173, pasáž H40), u pasáže H20 byla dokonce zaznamenána hodnota přesahující 96%. Po 144 hodinách bylo vyhodnoceno, že u izolátů 172 a 173 a pasáže H45 dospěla do stádia sporulace houba na větším počtu jedinců než u původního kmene PFR 97 (do 10%). U pasáží odvozených od izolátu 173 byla sledována sporulace pohybujících se kolem 50%, u pasáže H25 71% a u pasáže H20 byla sporulace zaznamenána takřka na všech sledovaných jedincích (99%). Sporulace patogena na povrchu těla usmrceného hostitele je klíčovým předpokladem pro šíření a následnou kolonizaci prostředí. U všech sledovaných pasáží proběhl celý vývojový cyklus až do fáze plně sporulaci jak na dospělcích, tak na vajíčcích svilušky. U většiny pasáží byla sporulace na povrchu dospělce sledována již po 72 hodinách trvání testu. Nejvyšší hodnoty přesahující 16% byly

zaznamenány u pasáží odvozených od izolátu 173. Populace ošetřené těmito pasážemi kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* vykázaly nejvyšší procentuální zastoupení sporulace také po 6 dnech, v porovnání s původním kmenem PFR 97 došlo k navýšení o 30%. Vyšší hodnoty byly sledovány také u pasáží H5 a H10, zde se hodnoty zvýšily o 12 resp. 8%.

Akaropatogenní charakteristiky kmenů entomopatogenních hub - souhrnné hodnocení

Mezi kmeny všech druhů entomopatogenních hub byly prokázány velmi významné akaropatogenní účinky. Při porovnání jednotlivých druhů hub použitých v testech bylo sledováno, že nejrychleji probíhal vývoj houby *L. lecanii*. U všech kmenů byl zaznamenán index ISP 1,5 za méně než 240 hodin. Před ukončením testu (po 144 hodinách) byl ISP 1,5 zaznamenán pouze u populací svlušky *T. urticae* ovlivněné houbou *Lecanicillium lecanii* kmen A47. Ostatní použité kmeny houby *L. lecanii* patřily do skupiny, ve které bylo dosaženo ISP 1,5 za méně než 240 hodin. Z ostatních druhů hub byla hodnota $ISP\ 1,5 < 240$ zaznamenána vždy pouze u jediného kmene: *Beauveria brongniartii* kmen A77, *Paecilomyces fumosoroseus* kmen PFR 97, *Beauveria bassiana* kmen A25 a *Metarhizium anisopliae* kmen M066.

Akaropatogenní účinky vybraných kmenů entomopatogenních hub aplikovaných v kombinaci s pesticidy

Současné použití mykoinsekticidu a syntetického pesticidu může být doprovázeno různými jevy. Poměrně častý je negativní vliv syntetického přípravku na vitalitu (klíčivost konidií) nebo virulenci patogena (Landa 1994). Nicméně, byl zaznamenán i jev zcela opačný, kdy kombinace entomopatogenní houby se syntetickým pesticidem vykázala podstatně vyšší účinek a to na úrovni naznačující synergismus, což umožňuje účelně využít kombinaci „patogen-pesticid“ nejen pro přímé navýšení účinnosti, ale i pro záměrné snížení dávky pesticidů nebo v případě potřeby regulovat četnost populace rezistentní (Boman 1980). Například, a.i. triflumuron může být a priori „pravým synergistou“, který působí jako významný stresor navozující náchylnost hmyzu k onemocnění a ulehčuje pronikání entomopatogenní houby do hmyzu ztenčením kutikuly (Sáenz-de-Cabezón Irigaray *et al.* 2003). Při použití akaricidů OMITE 50 WP[®] (a.i. propargite) a TRIACT[™]90 EC[®] (přípravek na bázi „neem oil“) společně s entomopatogenními houbami nebyla zaznamenána inhibice klíčení a vývoje testovaných druhů/kmenů hub. Sáenz-de-Cabezón Irigaray *et al.* (2003) dosáhli podobného výsledku při použití kombinace houby *B. bassiana* a účinné látky triflumuron, nicméně jako statisticky významné bylo zaznamenáno následné omezení myceliálního růstu. Dimetry *et al.* (1993) ve své studii také sledovali vliv přípravků na bázi extraktu ze semen *A. indica* („neem seeds“, přípravky Margosan-O a Neem azal-S) na populaci svlušky *T. urticae* a mimo jiné zaznamenali i repelentní účinek, inhibici růstu a negativní vliv na plodnost samiček. Zaznamenali mortalitu v rozpětí 25% (koncentrace 0,025% Neem azal-S) až 100% (při koncentraci 0,4% přípravku Neem azal-S). Byl sledován vliv rozdílných subletálních dávek azadirachtinu na populaci svlušky *T. urticae* (Dimetry *et al.* 1993). V jiné studii bylo po použití dávky 80 ppm přežití dospělců redukováno o 50% (Martinez-Villar *et al.* 2005) a výsledky byly interpretovány tak, že přípravky na bázi „neem oil“ by mohly být zahrnuty do programů integrované ochrany. Odlišný způsob, jakým by bylo možno ovlivnit vývoj svlušky chmelové na hostitelské rostlině, byl naznačen studií, kdy byla testována aplikace přípravku na bázi azadirachtinu-A ke kořenovému systému *Populus tremuloides*, následná translokace a perzistence v rostlině. Následně bylo zaznamenáno statisticky významné ovlivnění populace svlušky *T. urticae* (Sundaram *et al.* 1995). V kontextu těchto poznatků byla realizována modelová studie zaměřená na sledování vlivu aplikace suspenzí vybraných druhů entomopatogenních hub v kombinaci s vybranými pesticidy.

Při vyhodnocování účinnosti akaricidních přípravků bylo použito stejné indexové stupnice jako při hodnocení populace ovlivněné houbami, byla však využita pouze část hodnotící škály v rozmezí 0,00-1,00, která je shodná pro všechny varianty (odpovídá rozmezí zdravý – mrtvý jedinec). Při hodnocení účinnosti kombinací akaricidů a hub byl použit index stavu populace (ISP) = 1,0. Hodnota

ISP = 1,0 odpovídá populaci svlušky sestávající pouze z mrtvých jedinců. Tato hodnota byla zvolena jako hraniční pro populace ošetřené buď samotnými akaricidními přípravky, nebo v kombinaci s testovanými kmeny hub, neboť tak bylo umožněno srovnání s běžně používaným pesticidem (OMITE 50 WP®). Rychlost dosažení ISP = 1,0 v hodinách pak napovídá, jak rychlá je mortalita způsobená po ošetření testovanou variantou. Porovnáním ISP = 1,0 samotných akaricidních přípravků a jejich kombinací s houbami bylo zjištěno, že téměř u všech variant (kromě varianty houby *B. bassiana* kmen A25 s Neem 0,05%) došlo k navýšení mortality. U kombinací s houbou *L. lecanii* kmen I9 bylo sledováno nejvýraznější zkrácení času potřebného k dosažení průměrné hodnoty ISP = 1,0. V případě kombinace s Neem 0,1% se v porovnání s populací ošetřenu samotným Neem 0,1% zkrátila tato doba na polovinu. Výslednou hodnotu, (ISP = 1,0 dosažen za 73 hodin) je možno přirovnat k rychlosti účinku odpovídající dobře působícího pesticidu.

Analýzou rozptylu na hladině významnosti $\alpha=0,05$ bylo prokázáno, že účinnost houby *B. bassiana* kmen A25, *L. lecanii* kmen I9, *M. anisopliae* kmen M072 a *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 na dospělé svlušky chmelové se výrazně zvyšovala jak v kombinaci s přírodním insekticidem na bázi „neem oil“ tak i v kombinaci s akaricidem OMITE 50 WP®. V kontrolních variantách byla v době ukončení testu zaznamenána kumulovaná mortalita v rozmezí 5 – 9%. Vliv ošetření na celkovou mortalitu v populaci svlušky chmelové byl statisticky průkazný ve všech testovaných kombinacích.

Pro varianty kombinací s houbami byla při hodnocení využita také hodnota ISP = 1,5. Dosažení tohoto indexu vypovídá, že u populace bylo dosaženo fáze proliferace patogena - počátku růstu mycelia na povrchu těla hostitele (přechod do saprotrofní fáze vývoje). Srovnáním hodnot dosažených u samotných akaricidních přípravků s jejich kombinacemi s testovanými kmeny hub bylo zaznamenáno, že došlo k rychlejšímu dosažení průměrné hodnoty ISP = 1,5 u všech testových variant. Nejrychleji bylo hodnoty ISP = 1,5 dosaženo opět u kombinací obou pesticidů s houbou *L. lecanii* kmen I9.

Nejvyšší mortalita byla zaznamenána v populacích ošetřených houbou *L. lecanii* kmen I9 v kombinaci s 0,1% „neem oil“ (46% 1. den až 97% 6. den). Po 72 hodinách se sporulace na povrchu těla hostitele objevila u kombinací Neem 0,1% s *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 a *L. lecanii* kmen I9. Po 144 hodinách byla zaznamenána sporulace u všech testovaných variant, nejvyšší hodnoty byly sledovány u kombinací *L. lecanii* kmen I9 s Neem 0,1% (38,46%) a *P. fumosoroseus* kmen PFR 97 s Neem 0,1% (42,31%). V porovnání s populací ovlivněnou pouze entomopatogenní houbou došlo k navýšení o 11,13, resp. 19,14%.

Porovnání akaropatogenních účinků komerčně dostupných biopreparátů na bázi entomopatogenních hub.

V pokusech byl porovnáván akaropatogenní účinek biopreparátů na bázi hub *B. bassiana*, *L. lecanii* a *P. fumosoroseus*, které jsou přednostně doporučovány k ochraně skleníkových plodin a kultur proti mšicím (VERTALEC®, BOTANIGARD®) a molicím (MYCOTAL®, PFR 97™20%WDG, BOTANIGARD®), případně i dalším škůdcům. Z testovaných přípravků pouze biopreparát BOTANIGARD® deklaruje na etiketě jako vedlejší též účinnost na fytofágní roztoče, včetně svlušky chmelové. Srovnávací testy prokázaly, že s výjimkou biopreparátu VERTALEC® vykazují všechny ostatní testované biopreparáty akaricidní účinek na úrovni deklarovatelné minimálně jako „výrazný vedlejší účinek“. Přípravky MYCOTAL® a PFR 97™20%WDG na bázi entomopatogenní houby *L. lecanii* a *P. fumosoroseus* prokazatelně indukovaly nejvyšší kumulovanou mortalitu v populaci svlušky chmelové (68,08 resp. 63,28 %) a prokázaly akaricidní účinek a vzhledem k povrchové proliferaci hub i účinek akaropatogenní. Nicméně, i akaropatogenní účinnost přípravku BOTANIGARD® na bázi *B. bassiana* (mortalita 49,51%) lze také charakterizovat jako velmi dobrou. Nejnižší akaropatogenní účinnost byla zaznamenána po aplikaci přípravku VERTALEC® na bázi houby *L. lecanii* (23,29%).

Za zdůraznění stojí skutečnost, že při porovnání obecných akaropatogenních charakteristik kmenů, na jejichž bázi jsou uvedené biopreparáty konstruovány, s obdobnými charakteristikami jiných kmenů použitých v experimentech, byly u všech druhů zaznamenány kmeny, jejichž akaropatogenní

účinek byl v porovnání s „komerčními kmeny“ prokazatelně vyšší. Význam tohoto zjištění lze demonstrovat na účinnosti kmene I 9 houby *L. lecanii*. Tento kmen byl získán v průběhu monitoringu entomopatogenních hub asociovaných s lýkožroutem smrkovým *Ips typographus* na jedné z lokalit NP a CHKO Šumava (Kvilda) a byl izolován z dospělého lýkožrouta smrkového odchyceného pomocí feromonového lapače. Ve srovnávacích testech kmen I 9 vykázal nejen velmi vysokou akaropatogenní účinnost, ale též vynikající účinek na molici skleníkovou. Charakteristiky tohoto kmene naznačují, že se jedná o velmi cenný kmen. Obdobně lze jako potenciálně zajímavé označit i další kmeny houby *L. lecanii* resp. všech druhů entomopatogenních hub, které byly do studie zařazeny.

Introdukce entomopatogenní houby P. fumosoroseus do porostů rychlených okurek

V rámci řešení projektu této doktorské práce byl založen též pokus, jehož cílem bylo ověřit, zda po aplikaci suspenze blastospor houby *P. fumosoroseus* – kmen H 20 dojde k uchycení se patogena v cílovém agroekosystému. V pokuse byla ověřována též možnost kombinované aplikace s přípravkem na bázi „neem oil“. Tato studie nebyla zaměřena na ověření přímých akaricidních resp. akaropatogenních účinků, protože v pokusném skleníku již byly aplikovány některé akaricidy a do porostů byl introdukován dravý roztoč *Phytoseiulus persimilis*, a tak by nebylo možné odlišit mortalitu vyvolanou vlastní aplikací kmene H 20 od mortality vyvolané jinými činiteli. Nicméně, cílem studie bylo prokázat, zda ve standardních skleníkových podmínkách může daný kmen houby *L. lecanii* realizovat kompletní vývojový cyklus a vytvořit tak podmínky pro následné samovolné šíření. Pokus prokázal schopnost kmene H 20 kolonizovat povrch listů ošetřených rostlin a přítomnost patogena byla následně prokázána opakovanými analýzami listových výřezů po dobu více než 2 měsíce. Z výše uvedených důvodů je nutné tento pokus chápat jako orientační. Vzhledem k omezeným možnostem nebylo možné pokus koncipovat a realizovat na odpovídající experimentální úrovni, nicméně výsledky pokusu jsou natolik zajímavé, že i přes nižší metodickou úroveň byla studie do této práce zařazena.

7. ZÁVĚRY

1. Byl vypracován standardizovaný systém charakterizace akaropatogenních vlastností mitosporických hub umožňující definovat kmenově specifické charakteristiky (např. vitalita konidií, akaropatogenní účinnost na vajíčka resp. dospělé svlušky chmelové, schopnost realizovat celý vývojový cyklus na vybraném hostiteli, rychlosti a intenzita sporulace).
2. Pro hodnocení akaropatogenních vlastností entomopatogenních hub byl zaveden a ověřen systém hodnocení využívající indexovou stupnici, která je použitelná jak pro hodnocení přímých akaricidních účinků, tak i v případech, kdy je cílem zaznamenat též odlišnosti v saprotrofní fázi vývojového cyklu mitosporických hub.
3. Pro účely objektivní parametrizace akaropatogenních účinků mitosporických hub byl též využit parametr charakterizující rychlost a průběh infekce v populaci svlušky resp. doby nutné k dosažení klíčové ireverzibilní fáze vývoje mitosporických hub na přirozených hostitelích (ISP 1,5 – počátek povrchové proliferace houby na usmrceném hostiteli).
4. Bylo prokázáno, že vybrané druhy entomopatogenních hub mohou realizovat celý vývojový cyklus na dospělých i vajíčcích svlušky chmelové. Zároveň však bylo též prokázáno, že mezi kmeny jednotlivých druhů entomopatogenních hub jsou v oblasti akaropatogenní účinnosti velmi výrazné rozdíly.
5. V průměru nejvyšší akaropatogenní účinnost byla zaznamenána u kmenů houby *Lecanicillium lecanii*, ale i u všech ostatních druhů mitosporických hub byly zaznamenány velmi účinné kmeny.
6. Kmeny houby *M. anisopliae* vykazovaly poměrně vysokou akaricidní účinnost, ale jejich akaropatogenní statut byl v porovnání s kmeny ostatních druhů mitosporických hub nejnižší.
7. Opakované kontinuální pasážování vybraných monosporových izolátů kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* přes vybrané druhy přirozených hostitelů resp. umělé živné půdy nebo přirozené substráty má kladný vliv na vitalitu izolátů, a v některých případech navodilo výrazně vyšší akaropatogenní účinnost. Prokazatelně nejvyšší vliv na akaropatogenní účinnost byl prokázán po kontinuálním pasážování jednoho z monosporových izolátů kmene PFR 97 houby *P. fumosoroseus* přes svlušku chmelovou.
8. Manipulací s kmeny odvozenými od referenčního kmene P1 houby *L. lecanii* prostřednictvím pasážování došlo ke změnám v biologické účinnosti některých pasáží ve vztahu ke svlušce *T. urticae*. Nelze však jednoznačně říci, že se pasážováním přes živé hostitele navyšuje akaropatogenní účinnost, neboť v některých sledovaných parametrech nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly. U všech pasáží kmene P1 však byla zaznamenána sporulace na vajíčcích svlušky, zatímco u původního kmene P1 nedospěl vývoj patogena do fáze sporulace na hostiteli.
9. Při použití kombinace vybraných kmenů hub s přípravky OMITE 50 WP (účinná látka propargite) a TRIACT™90 EC (přípravek na bázi „neem oil“) nebyla zaznamenána inhibice klíčení a vývoje entomopatogenních hub.
10. V pokusech sledujících kompatibilitu entomopatogenních hub se subletálními dávkami přípravků OMITE 50 WP (a.i. propargite) a TRIACT™90 EC (přípravek na bázi „neem oil“) nebyla zaznamenána inhibice klíčení a vývoje entomopatogenních hub.

bylo zaznamenáno zvýšení mortality v populacích svilušky *T. urticae* ošetřených suspenzí konidií kombinovaných a aplikovaných formou tank-mix“ s uvedenými pesticidy.

11. Po aplikaci hub v kombinaci s pesticidy došlo nejen ke zvýšení mortality (akaricidní účinek, dosažení průměrné hodnoty ISP 1,0), ale i k rychlejšímu vývoji hub v saprotrofní fázi vývojového cyklu a u všech testovaných kmenů bylo zaznamenáno rychlejší dosažení hranice ISP 1,5.
12. U komerčně produkováných biopreparátů BOTANIGARD[®], MYCOTAL[®], PFR 97TM20% WDG a VERTALEC[®] byl prokázán akaropatogenní účinek a kmeny, na jejichž bázi jsou tyto biopreparáty konstruovány byly schopny na svilušce chmelové realizovat celý vývojový cyklus i ve skleníkových podmínkách. Přípravky MYCOTAL[®], PFR 97TM20% WDG a BOTANIGARD[®] vykazaly akaropatogenní účinnost na úrovni přesahující charakteristiku „vedlejší účinek“ a při jejich aplikaci lze předpokládat významný akaropatogenní účinek, který na preparátech (s výjimkou přípravku BOTANIGARD[®]) není deklarován.
13. Kmen H20 houby *P. fumosoroseus* vykázal schopnost realizovat kompletní vývojový cyklus na svilušce chmelové na okurkách v podmínkách typických produkčních skleníků. Úroveň kolonizace povrchu rostlin a dlouhodobé přežívání kmene na rostlinách naznačuje možnost tohoto kmene dlouhodobě ovlivňovat populaci svilušky chmelové, případně i jiných druhů škůdců.

8. SUMMARY

9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Aleshina, O.A., 1980: Composition and prospects for study of the entomopathogenic fungi of the USSR. *Review of Applied Entomology*, 68: 83-84.
- Almeida, J.E.M., Alves, S.B., Pereira, R.M., 1997: Selection of *Beauveria* spp. isolates for control of the termite *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1958). *Journal of Applied Entomology*, 121: 539-543.
- Alves, S.B., Rossi, L.S., Lopes, R.B., Tamai, M.A., Pereira, R.M., 2002: *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 81: 70-77.
- Amano, H., Chant, D.A., 1978: Mating behavior and reproductive mechanisms of two species of predacious mites, *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot and *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acarina: Phytoseiidae). *Acarologia*, 20: 196-213.
- Anonym, 2006: A flying biological predator of red spider mite. (on-line available <http://www.biobest.be>, 15/01/06).
- Bajan, C., 1973: *Paecilomyces fumoso-roseus* (WIZE) - pathogenic agent of Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Saz.). *Ekologia Polska*, 24: 705 - 712.
- Baker, J.R., Neunzig, H.H., 1968: *Hirsutella thompsonii* as a fungus parasite of the blueberry bud mite. *Journal of Economic Entomology*, 61: 1117-1118.
- Barber, A., Campbell, C.A.M., Crane, H., Lilley, R., Tregidga, E., 2003: Biocontrol of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* on dwarf hops by the phytoseiid mites *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus*. *Biocontrol Science and Technology*, 13: 275-284.
- Bartoš, J., Štajf, J., Táborský, V. 1978: Dravý roztoč *Phytoseiulus riegeli* Dosse a jeho použití v biologickém boji proti sviluškám ve sklenicích. *ÚVTIZ*, 1-19.
- Batta, Y.A., 2003: Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Crop Protection*, 22: 415-422.
- Beers, E.H., Riedl, H., Dunley, J.E., 1998: Resistance to Abamectin and Reversion to Susceptibility to Fenbutatin Oxide in Spider Mite (Acari: Tetranychidae) Populations in the Pacific Northwest. *Journal of Economic Entomology*, 91: 352-360.
- Ben-Ze'ev, L.S., 1993: Check-list of Fungi Pathogenic to Insects and Mites in Israel, Updated through 1992. *Phytoparasitica*, 3: 213-237.
- Bergman, J.M., Tingey, W.M., 1979: Aspects of interaction between plant genotypes and biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 25: 275-279.
- Bidochka, M.J., St Leger, R.J., Roberts, D.W., 1997: Induction of novel proteins in *Manduca sexta* and *Blaberus giganteus* as a response to fungal challenge. *Journal of Invertebrate Pathology*, 70: 184-189.
- Bidochka, M.J., Kasperski, J.E., Wild, G.A.M., 1998: Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-northern habitats. *Canadian Journal of Botany*, 76: 1198-1204.
- Bing, L.A., Lewis, L.C., 1992: Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in corn: the influence of the plant growth stage and *Ostrinia nubilalis* (Hübner). *Biocontrol Science and Technology*, 2: 39-47.
- Boethel, D.J., Eikenbary, R.D., 1986: Interactions of Plant Resistance and Parasitoids and Predators of Insects. *Ellis Horwood, Chichester*, 224 pp.
- Boman, H.G., 1980: Insect responses to microbial infections. In: Burges, H.D. (Ed.), *Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1970-1980*. *Academic Press, New York*, 769-784.
- Boucias, D.G., Pendland, J.C., Latge, J.P., 1988: Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic Deuteromycetes to host insect cuticle. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1795-1805.

- Boys, F.E., Burbulis, P.P., 1972: Influence of *Phytoseiulus persimilis* on populations of *Tetranychus turkestanii* at the economic threshold on roses. *Journal of Economic Entomology*, 65: 114-117.
- Brandenburg, R.L., Kennedy, G.G., 1981: Overwintering of the pathogen *Entomophthora floridana* and its host, the twospotted spider mite. *Journal of Economic Entomology*, 74: 428-431.
- Brandenburg, R.L., Kennedy, G.G., 1982: Relationship of *Neozygites floridana* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) to twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) populations in field corn. *Journal of Economic Entomology*, 75: 691-694.
- Brown, G.C., Hasibuan, R., 1995: Conidial discharge and transmission efficiency of *Neozygites floridana*, an entomopathogenic fungus infecting two-spotted spider mites under laboratory conditions. *Journal of Invertebrate Pathology*, 65: 10-16.
- Butt, T.M. 2002: Use of Entomogenous Fungi for the Control of Insect Pests.. In: Kempken, F. (Ed.): The Mycota XI. Agricultural applications. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, pp. 110-134.
- Butt, T.M., Ibrahim, L., Clark, S.J., Beckett, A., 1995: The germination behaviour of *Metarhizium anisopliae* on the surface of aphid and flea beetle cuticles. *Mycological research*, 99: 945-950.
- Butt, T.M., Hajek, A.E., Humber, R.A., 1996: Gypsy moth immune defenses in response to hyphal bodies and natural protoplasts of entomophthoralean fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*, 68: 278-285.
- Cabanillas, E., Barker, K.R., Nelson, L.A., 1989: Growth of isolates of *Paecilomyces lilacinus* and their efficacy in biocontrol of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Journal of Nematology*, 21: 164-172.
- Campos, F., Krupa, D.A., Dybas, R.A., 1996: Susceptibility of populations of Twospotted Spider Mites (Acari: Tetranychidae) from Florida, Holland, and the canary Islands to Abamectin and Characterization of Abamectin Resistance. *Journal of Economic Entomology*, 89: 594-601.
- Cant, D.A., 1961: An experiment in biological control of *Tetranychus telarius* (L.) (Acarina: Tetranychidae) in a greenhouse using the predacious mite *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Phytoseiidae). *Canadian Entomologist*, 93: 437-43.
- Carey, J.R., Bradley, J.W., 1982: Developmental rates, vital schedules, sex ratios and life tables for *Tetranychus urticae*, *T. turkestanii* and *T. pacificus* (Acarina: Tetranychidae) on cotton. *Acarologia*, 23: 333-345.
- Carner, G.R., 1976: A description of the life cycle of *Entomophthora* sp. in the two-spotted mite. *Journal of Invertebrate Pathology*, 28: 245-254.
- Carner, G.R., Canerday, T.D., 1968: Field and laboratory investigations with *Entomophthora fresenii*, a pathogen of *Tetranychus* spp. *Journal of Economic Entomology*, 61: 956-959.
- Cehrnin, L., Gafni, A., Mozes-Koch, R., Gerson, U., Szejnberg, A., 1997: Chinolytic activity of the acaropathogenic fungi: *Hirsutella thompsonii* and *H. necatrix*. *Canadian Journal of Microbiology*, 43: 440-446.
- Clark, T.B., Kellen, W.R., Fukuda, T., Lindegren, J.E., 1968: Field and laboratory studies of the pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* to three genera of mosquitoes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 11: 1-7.
- Cloyd, R., 2005: The Entomopathogen *Verticillium lecanii*. (on-line available <http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf612.html>, 12/12/2005).
- Costa, S.D., Gaugler, R., 1989: Influence of *Solanum* host plants on Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) susceptibility to the entomopathogen *Beauveria bassiana*. *Environmental Entomology*, 18: 531-536.
- Dabrowski, Z.T., 1973: Studies on the relationships of *Tetranychus urticae* Koch and host plants. II. Gustatory effect of some plant extracts. *Bulletin entomologique de Pologne*, 43: 127-138.
- Dagli, F., Tunc, I., 2001: Dicofol resistance in *Tetranychus cinnabarinus*: resistance and stability of resistance in populations from antalya, Turkey. *Pest Management Science*, 57: 609-614.
- Daniel, M., 1971: Podřád Sametkovci – *Trombidiformes*. In Daniel, M., Černý, V. 1971: Klíč zvířeny ČSSR IV. *Academia, Praha*, 603 str.

- Da-Silva, J.C., de Siquiera, J.P. Jr., Marcondes, C.B., 1989: Selection of *Metarhizium anisopliae* for extracellular enzyme production and virulence toward *Triatoma infestans*. *Rev. Brasil. Genet. (Brasil. J. Genet.)*, 12: 1-7.
- Daoust, R.A., Roberts, D.W., 1983a: Studies on the prolonged storage of *Metarhizium anisopliae* conidia: effect of temperature and relative humidity on conidial viability and virulence against mosquitoes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 41: 143-150.
- Daoust, R.A., Roberts, D.W., 1983b: Studies on the prolonged storage of *Metarhizium anisopliae* conidia: effect of growth substrate on conidial survival and virulence against mosquitoes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 41: 161-170.
- Delalibera, I., Sosa Gomez, D.R., De Moraes, G.J., Allencar, J.A., Farias Araujo, W., 1992: Infection of *Mononychellus tanajoa* (Acarina: Tetranychidae) by the fungus *Neozygites* sp. (Entomophthorales) in northeastern Brazil. *Florida Entomologist*, 75: 145-147.
- Dick, G.L., Buschman, L.L., 1995: Seasonal occurrence of a fungal pathogen, *Neozygites adjarica* (Entomophthorales: Neozygitaceae), infesting Bank grass mites, *Oligonychus pratensis* and twospotted spider mites, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in field corn. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 68: 425-436.
- Dick, G.L., Buschman, L.L., Ramoska, W.A., 1992: Description of a species of *Neozygites* infecting *Oligonychus pratensis* in the western Great Plains of the United States. *Mycologia*, 84: 729-738.
- Dicke, M., 2000: Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28: 601-617. In: Horiuchi, J.-I., Arimura, G.-I., Ozawa, R., Shimoda, T., Takabayashi, J., Nishioka, T., 2003: A comparison of the response of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) to volatiles emitted from lima bean leaves with different levels of damage made by *T. urticae* or *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*, 38: 109-116.
- Dimetry, N.Z., Amer, A.A., Reda, A.S., 1993: Biological activity of two neem kernel extracts againsts the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Applied Entomology*, 116: 308-312.
- Dirlbeková, O., 1991: Biologické zdroje pro mechanickou ochranu rostlin (I. Deuteromycetes, *Beauveria bassiana* [Bals.] Vuill.) Studie VTR, ÚVTIZ, Ř. Rostl. Výr. 11: 10 - 21.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H., 1980: Compendium of soil fungi. Vol. I. *Academic Press, New York*, 859 pp.
- Driver, F., Milner, R.J., Trueman J.W., 2000: A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. *Mycological Research*, 104: 134-150.
- Dufour, R., 2001: Biointensive integrated pest management (IPM). Attra, [cit. 2006-05-03], available on <http://attra.ncat.org/attra-pub/PDF/ipm.pdf>.
- Elliot, S.L., Sabelis, N.W., Janssen, A., van der Geest, L.P.S., Beerling, E.A.M., Franssen, J., 2000: Can plants use entomopathogens as bodyguards? *Ecology Letters*, 3: 228-235.
- Eyal, J., Walter, J.F., Osborne, L., Landa, Z., 1994: Method for production and use of pathogenic fungal preparation for pest control. *United states Patent Number 5,360,607*.
- Fargues, J., Goettel, M.S., Smits, N., Ouedraogo, A., Vidal, C., Lacey, L.A., Lomer, C.J., Rougier, M., 1996: Variability in susceptibility to stimulated sunlight of conidia among isolates of entomopathogenic Hyphomycetes. *Mycopathologia*, 135: 171-181.
- Fargues, J., Ouedraogo, A., Goettel, M.S., Lomer, C.J., 1997: Effects of temperature, humidity and inoculation method on susceptibility of *Schistocerca gregaria* to *Metarhizium flavoviride*. *Biocontrol Science and Technology*, 7: 345-356.
- Feng, Z., Carruthers, R.I., Roberts, D.W., Robson, D.S., 1985: Age-specific dose-mortality effects of *Beauveria bassiana* on the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 46: 259-264.
- Feng, M.G., Poprawski, T.J., Khachatourians, G.G., 1994: Production, Formulation and Application of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* for Insect Control: Current Status. *Biocontrol Science and Technology* 4: 3-34.

- Ferro, D.N., Southwick, E.E., 1984: Microclimates of small arthropods: estimating humidity within the leaf boundary layer. *Environmental Entomology*, 13: 926-929.
- Ferron, P., 1978: Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*, 23: 409-442.
- Ferron, P., 1981: Pest control by the fungus *Beauveria* and *Metarhizium*. In: Burges, H.D., (ed.): Microbial Control of Pests and Plant Disease. *Academic Press, New York*, 465-482.
- Force, D.C., 1967: Effect of temperature on biological control of twospotted spider mites by *Phytoseiulus persimilis*. *Journal of Economic Entomology*, 60: 1308-11.
- French, N., Parr, W.J., Gould, H.J., Williams, J.J., Simmonds, S.P., 1976: Development of biological methods for control of *Tetranychus urticae* on tomatoes using *Phytoseiulus persimilis*. *Annals of Applied Biology*, 83: 177-189.
- Fry, J.D., 1989: Evolutionary adaptation to host plants in a laboratory population of the phytophagous mite *Tetranychus urticae* Koch. *Oecologia*, 81: 559-565.
- Gagne, R.J., 1995: Revision of Tetranychid (Acarina) mite predators of the genus *Feltiella* (Diptera: Cecidomyiidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 88: 16-30.
- Gardner, W.A., Oetting, R.D., Storey, G.K., 1982: Susceptibility of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, to the fungal pathogen *Hirsutella thompsonii* Fisher. *Florida Entomologist*, 65: 458-465.
- Gaugler, R., Costa, S.D., Lashomb, J., 1989: Stability and efficacy of *Beauveria bassiana* soil inoculations. *Environmental Entomology*, 18: 412-417.
- Gerson, U., Kenneth, R., Muttath, T.I., 1979: *Hirsutella thompsonii*, a fungal pathogen of mites. II. Host-pathogen interaction. *Annals of Applied Biology*, 91: 29-40.
- Gillespie, D.R., Roitberg, B., Basalyga, E., Johnstone, M., Opit, G., Rodgers, J., Sawyer, N., 1998. Biology and application of *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae) for biological control of twospotted spider mites on greenhouse vegetable crops. *Pacific Agri-Food Research Centre (Agassiz) Technical Report, No. 145. Agriculture and Agri-Food Canada*.
- Gillespie, D.R., Opit, G., Boitberg, B., 2000: Effect of Temperature and relative Humidity on Development, Reproduction, and Predation in *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera:Cecidomyiidae). *Biological Control*, 17: 132-138.
- Gillespie, J.P., Bailey, A.M., Cobb, B., Vilcinskas, A., 2000: Fungi as elicitors of insect immune responses. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 44: 49-68.
- Ginsberg, H.S., Lebrun, R.A., Heyer, K., Zhioua, E., 2002: Potential Nontarget Effects of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) Used for Biological Control of Ticks (Acari: Ixodidae). *Environmental Entomology*, 31: 1191-1196.
- Goettel, M.S., Poprawski, T.J., Vanderberg, J.D., Li, Z., Roberts, D.W., 1990: Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. In: Laird, M., Lacey, L.A., Davidson, E.W., (eds), Safety of microbial Insecticides. *CRC Press, Boca Ratón, FL*, 209-231.
- Gottwald, T.R., Tedders, W.L., 1984: Colonization, transmission, and longevity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotiny: Hyphomycetes) on pecan weevil larvae (Coleoptera: Curculionidae) in the soil. *Environmental Entomology*, 13: 557-560.
- Gould, H.J., 1970: Preliminary studies of an integrated control programme for cucumber pests and an evaluation of methods of introduction *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot for the control of *Tetranychus urticae* Koch. *Annals of Applied Biology*, 66: 505-13.
- Gould, H.J., Light, W.I.St.G., 1971: Biological control of *Tetranychus urticae* on stock plants of ornamental ivy. *Plant Pathology*, 20: 18-20.
- Greco, N.M., Liljestrom, G.G., Sanchez, N.E., 1999: Spatial distribution and coincidence of *Neoseiulus californicus* and *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) on strawberry. *Experimental and Applied Acarology*, 23: 567-580.
- Hajek, A.E., St. Leger, R.J., 1994: Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39: 293-322.

- Hamlen, R.A., Lindquist, R.K., 1981: Comparison of two *Phytoseiulus* species as predators of twospotted spider mites on greenhouse ornamentals. *Environmental Entomology*, 10: 524-527.
- Hare, J.D., Andreadis, T.G., 1983: Variation in the susceptibility of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) when reared on different host plants to the fungal pathogen, *Beauveria bassiana* in the field and laboratory. *Environmental Entomology*, 12: 1871-1896.
- Hartus, R.J., Harcourt, T.R., Glare, T.R., Rose, E.A.F., Nelson, T.J., 2000: Susceptibility of *Vespula vulgaris* (Hymenoptera: Vespidae) to Generalist Entomopathogenic Fungi and Their Potential for Wasp Control. *Journal of Invertebrate Pathology*, 75: 251-258.
- Hedgecock, S., Moore, D., Higgins, P.M., Prior, C., 1995: Influence of moisture content on temperature tolerance and storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in an oil formulation. *Biocontrol Science and Technology*, 5: 371-377.
- Helle, W., Overmeer, W.P.J., 1973: Variability in tetranychid mites. *Annual Review of Entomology*, 18: 97-120.
- Herbert, H.J., 1981: Biology, life tables, and innate capacity for increase of the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acarina: Tetranychidae). *Canadian Entomologist*, 113: 371-378.
- Hong, T.D., Ellis, R.H., Moore, D., 1997: Development of a model to predict the effect of temperature and moisture on fungal spore longevity. *Annals of Botany*, 79: 121-128.
- Horiuchi, J.-I., Arimura, G.-I., Ozawa, R., Shimoda, T., Takabayashi, J., Nishioka, T., 2003: A comparison of the response of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) to volatiles emitted from lima bean leaves with different levels of damage made by *T. urticae* or *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*, 38: 109-116.
- Hornák, P., 2004: Monitoring přirozeného výskytu entomopatogenních hub v půdních ekosystémech. *Zemědělská fakulta, JU v Českých Budějovicích (disertační práce), České Budějovice*, 42-47.
- Humber, R.A., 1989: Synopsis of a revised classification for the Entomophthorales (Zygomycotina). *Mycotaxon*, 34: 441-460.
- Humber, R.A., 1997: Fungi: identification. In: Lacey, L.A., (ed.) *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, London, 153-185.
- Hussey, N.W., Parr, W.J., 1963a: Dispersal of the glasshouse red spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 6: 207-214.
- Hussey, N.W., Parr, W.J., 1963b: The effect of glasshouse red spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) on the yield of cucumbers. *J. Hort. Sci.*, 38: 255-63.
- Hussey, N.W., Scopes, N., 1985: Biological pest control. The glasshouse experience. *Cornell University Press*, 240 pp.
- Hýsek, J., Kúdela, V., 2001: Rostlinolékařská terminologie 8. Charakteristika fytopatogenních hub. *Plant Protection Science*, 37 (2), I-LII.
- Chandler, D., Davidson, G., Pell, J.K., Ball, B.V., Shaw, K., Sunderland, K.D., 2000: Fungal Biocontrol of Acari. *Biocontrol Science and Technology*, 10: 357-384.
- Chandler, D., Davidson, G., Jacobson, R. J., 2005: Laboratory and glasshouse evaluation of entomopathogenic fungi against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), on tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Biocontrol Science and Technology*, 15: 37 - 54.
- Chant, D.A., 1961: An experiment in biological control of *Tetranychus telarius* (L.) (Acarina:Tetranychidae) in a greenhouse using the predacious mite *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Phytoseiidae). *Can. Entomol.*, 93: 437-43.
- Ignoffo, C.A., Garcia, C., Hostetter, D.L., Pinnel, R.E., 1977: Vertical movement of conidia of *Nomurea rileyi* through sand and loam soils. *Journal of Economic Entomology*, 70: 163-164.
- Inglis, G.D., Goettel, M.S., Johnson, D.L., 1993: Persistence of the Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana*, on Phylloplanes of Crested Wheatgrass and Alfalfa. *Biological Control*,: 258-270.

- Inglis, G.D., Johnson, D.L., Goettel, M.S., 1996: Effects of Temperature and Thermoregulation on Mycosis by *Beauveria bassiana* in Grasshoppers. *Biological Control*,: 131-139.
- Inglis, G.D., Ivie, T.J., Duke, G.M., Goettel, M.S., 2000: Influence of formulations on rainfastness of *Beauveria bassiana* conidia on potato leaves and Colorado potato beetle larvae. *Biological Control*, 18: 55-64.
- Inglis, G.D., Goettel, M.S., Butt, T.M., Strasser, H., 2001: Use of Hyphomycetes Fungi for Managing Insect Pests. In: Butt, T.M., Jackson, C.W., Magan, N. (eds.): Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. *CABI Publishing*, 23-69.
- Jackson, C.W., Heale, J.B., Hall, R.A., 1985: Traits associated with virulence to the aphid *Macrosopiniella sonborni* in eighteen isolates of *Verticillium lecanii*. *Annals of Applied Biology*, 106: 39-48.
- Jacobs, H., Gray, S.N., Crump, D.H., 2003: Interactions between nematophagous fungi and consequences for their potential as biological agents for the control of potato cyst nematodes. *Mycological research*, 107: 47-56.
- Jacobson, R.J., Chandler, D., Cejlon, J., Russell, M., 2001: Compatibility of *Beauveria bassiana* (Baldami) Vuillemin with *Amblyseius cucumeris* Oudemans (Acarina: Phytoseididae) to control *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber plants. *Biocontrol Science and Technology*, 11: 391-400.
- Janošik, V., 2005: Růst a regulace populací. *Academia*, 170 str.
- Jeppson, L.R., Keifer, H.H., Baker, E.W., 1975: Mites Injurious to Economic Plants. *University of California Press, Berkeley*, 614 pp. In: Osborne, L.S., Ehler, L.E., Nechols, J.R., 1985: Biological control of the twospotted spider mite in greenhouses. *University of Florida, Gainesville*, 40 pp.
- Joshi, L., St. Leger, R.J., 1999: Cloning, expression and substrate specificity of MeCPA, a zinc carboxypeptidase that is secreted into infected tissues by the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Biological Chemistry*, 274: 9803-9811.
- Kabir, K.H., Chapman, R.B., Pentan, D.R., 1993: Midicide bioassay with spider mites (Acari: Tetranychidae): effect of test method, exposure period and mortality criterion on the precision of response estimates. *Experimental and Applied Acarology*, 17: 695-708.
- Karban, R., Carey, J.R., 1984: Induced resistance of cotton seedlings to mites. *Science*, 225: 53-54.
- Karban, R., Myers, J.H., 1989: Induced plant responses to herbivory. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 331-348.
- Keller, S., 1991: Arthropod-pathogenic Entomophthorales of Switzerland. II. *Erynia*, *Eryniopsis*, *Neozygites*, *Zoophthora* and *Tarichtum*. *Sydowia*, 43, 39-122. In: Chandler, D., Davidson, G., Pell, J.K., Ball, B.V., Shaw, K., Sunderland, K.D., 2000: Fungal Biocontrol of Acari. *Biocontrol Science and Technology*, 10: 357-384.
- Keller, S., Woest, J., 1983: Observations on three species of *Neozygites* (Zygomycetes: Entomophthoraceae). *Entomophaga*, 28: 123-134.
- Keller, S., Zimmermann, G., 1989: Mycopathogens of soil insects. In: Wilding, N., Collis, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F., (eds): Insect-Fungus Interactions. *Academic Press, London*, 239-270.
- Kenneth, R., Wallis, G., Gerson, U., Plaut, H.N., 1972: Observations and experiments on *Triplosporium floridanum* (Entomophthorales) attacking spider mites in Israel. *Journal of Invertebrate Pathology*, 19: 366-369.
- Kenneth, R., Muttath, T.I., Gerson, U., 1979: *Hirsutella thompsonii*, a fungal pathogen of mites. I. Biology of the fungus *in vitro*. *Annals of Applied Biology*, 91: 21-28.
- Kim, Y.J., Lee, S.H., Lee, S.W., Ahn, Y.J., 2004: Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *Pest Management Science*, 60: 1001-6.

- Krips, O.E., Willems, P.E.L., Dicke, M., 1999: Compatibility of host plant resistance and biological control of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* in the ornamental crop Gerbera. *Biological Control* 16: 155 - 163.
- Kucera, M., 1980: Proteases from the fungus *Metarhizium anisopliae* toxic for *Galleria melonella* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 35: 304-310.
- Kůdela, V., Polák, Z., 1999: Rostlinolékařská terminologie 3. Interakce mezi hostitelem a patogenem. *Plant Protection Science*, 35 (1), I-XXXVI.
- Laing, J.E., 1968: Life history and life table of *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot. *Acarologia*, 10: 578-88.
- Laing, J.E., 1969: Life history and life table of *Tetranychus urticae* Koch. *Acarologia*, 11: 32-42.
- Laing, J.E., Huffaker, C.B., 1969: Comparative studies of predation by *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot and *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acarina: Phytoseiidae) on populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Researches on Population Ecology*, 11: 105-26.
- Lamberty, M., Ades, S., Uttenweiler-Joseph, S., Brookhart, G., Bushey, D., Hoffmann, J.A., Bulet, P., 1999: Isolation from the lepidopteran *Heliothis virescens* of a novel insect defensin with potent antifungal activity. *Journal of Biological Chemistry*, 274: 9320-9326.
- Landa Z. 1994: Entomopatogenní houby v biologické ochraně rostlin (habilitační práce). *ZF JU, České Budějovice*, 204 str.
- Landa, Z., Bobková, P., Bohatá, A., 2002: Rostlinolékařská terminologie 13. Biologická ochrana. *Plant Protection Science*, 38 (3), I-XXXIV.
- Lecuona, R., Clement, J-L., Riba, G., Joulie, C., Juarez, P., 1997: Spore germination and hyphal growth of *Beauveria* sp. on insect lipids. *Journal of Economic Entomology*, 90: 119-123.
- Lipa, J.J., 1971: Microbial control of mites and ticks. In: Burges, H.D., Hussey, N.W., (eds): *Microbial Control of Insects and Mites*. Academic Press, London, UK, 357-373.
- Liu, W.-Z., Boucias, D.G., McCoy, C.W., 1995: Extraction and characterization of the insecticidal toxin hirsutellin A produced by *Hirsutella thompsonii* var. *thompsonii*. *Experimental Mycology*, 19: 254-262.
- Legaspi, J.C., Poprawski, T.J., Legaspi, B.C., 2000: Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* against sugarcane stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae) in the Lower Rio Grande Valley of Texas. *Journal of Economic Entomology*, 93: 54-59.
- Maeda, T., Takabayashi, J., 2001: Production of herbivore-induced plant volatiles and their attractiveness to *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) with changes of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) density on a plant. *Applied Entomology and Zoology*, 36: 47-52.
- Mahr, S., 1997: Know your friends - The entomopathogen *Beauveria bassiana*. Midwest Biological Control Online, IV., 10. (on-line available <http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf410.html>).
- Maimala, S., Tartar, A., Boucias, D., Chandrapatya, A., 2002: Detection of the toxin Hirsutellin A from *Hirsutella thompsonii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 80:112-126.
- Malais, M., Ravensberg, W.J., 1992: Knowing and recognizing. The biology of glasshouse pests and their natural enemies. *Koppert B.V., Berkel en Rodenrijs, the Netherlands*, 110 pp.
- Martinez-Villar, E., Saenz-De-Cabezón, F.J., Moreno-Grijalba, F., Marco, V., Perez-Moreno, I., 2005: Effects of azadirachtin on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 35: 215-22.
- Mazet, I., Vey, A., 1995: Hirsutellin A, a toxic protein produced in vitro by *Hirsutella thompsonii*. *Microbiology*, 141: 1343-1348.
- McCammon, S.A., Rath, A.C., 1994: Separation of *Metarhizium anisopliae* strains by temperature dependent germination rates. *Mycological research*, 98: 1253-1257.
- McCoy, C.W., 1981: Pest control by the fungus *Hirsutella thompsonii*. In: Burges, H.D. (ed.): *Microbial Control of Pests and Plant Disease, 1970-1980*. Academic Press, London, UK, 499-512.

- McCoy, C.W., 1996: Pathogen of eriophyoid mites. In: Lindquist, E.E., Sabelis, M.W., Bruin, J., (eds.): Eriophyoid Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. *Elsevir, Amsterdam, The Netherlands*, 481-490. In: Chandler, D., Davidson, G., Pell, J.K., Ball, B.V., Shaw, K., Sunderland, K.D., 2000: Fungal Biocontrol of Acari. *Biocontrol Science and Technology*, 10: 357-384.
- McCoy, C.W., Kanavel, R.F., 1969: Isolation of *Hirsutella thompsonii* from the citrus rust mite, *Phyllocoptruta oleivora* and its cultivation on various synthetic media. *Journal of Invertebrate Pathology*, 14: 386-390.
- McGregor, R.R., Gillespie, D.R., Quiring, D.M.J., Foisy, M.R.J., 1999: Potential use of *Dicyphus hesperus* Knight (Heteroptera: Miridae) for the biological control of pests of greenhouse tomatoes. *Biological Control*, 16: 104-110.
- McMurtry, J.A., Huffaker, C.B., van de Vrie, M., 1970: Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: a review. I. Tetranychid enemies: their biological characters and the impact of spray practices. *Hilgardia*, 40: 331-90.
- Milner, R.J., 1997: Prospects for biopesticides for aphid control. *Entomophaga*, 42: 227-239.
- Milner, R.J., Miller, L., Lutton, G.G., Driver, F., 1996: Biological control of black field cricket *Teleogryllus commodus* walker (Orthoptera: Gryllidae) using fungal pathogen *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Plant Protection*, 11: 9-13.
- Mittal, N., Saxena, G., Mukerji, K.G., 1995: Integrated control of root-knot disease in three crop plants using chitin and *Paecilomyces lilacinus*. *Crop Protection*, 14: 647-651.
- Moino, A., Alves, S.B., Pereira, R.M., 1998: Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored-grain pests. *Journal of Applied Entomology*, 122: 301-305.
- Muller-Kogler, E., Zimmermann, G., 1986: Viability of *Beauveria bassiana* (Blas.) Vuill. In contaminated soil under field and laboratory conditions. *Entomophaga*, 31: 285-292.
- Mwangi, E.N., Dipeolu, O.O., Newson, R.M., Kaaya, G.P., Hassan, S.M., 1991: Predators, parasitoids and pathogens of ticks: a review. *Biocontrol Science and Technology*, 1: 147-156.
- Odour, G.I., Yaninek, J.S., van der Geest, L.P.S., de Moraes, G.J., 1995: Survival of *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) in mummified cassava green mites and viability of its primary conidia. *Experimental and Applied Acarology*, 19: 479-488.
- Odour, G.I., de Moraes, G.J., van der Geest, L.P.S., Yaninek, J.S., 1996: Production and germination of primary conidia of *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) under constant temperatures, humidities and photoperiods. *Journal of Invertebrate Pathology*, 68: 213-222.
- Odour, G.I., Yaninek, J.S., de Moraes, G.J., van der Geest, L.P.S., 1997: The effect of pathogen dosage on the pathogenicity of *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) to *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 70: 127-130.
- Omoto, C., McCoy, C.W., 1998: Toxicity of purified fungal toxin hirsutellin A to the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora* (Ash.). *Journal of Invertebrate Pathology*, 72: 319-322.
- Osborne, L.S., Ehler, L.E., Nechols, J.R., 1985: Biological control of the twospotted spider mite in greenhouses. *University of Florida, Gainesville*, 40 pp.
- Osborne, L.S., Landa, Z., 1992: Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomologist*, 75: 456-471.
- Osborne, R.S., Leppa, N.C., Osborne, L.S., 2002: *Feltiella acarisuga*. (on-line available <http://creatures.ifas.ufl.edu/index.htm>, 08/02/2006).
- Ouedraogo, A., Fargues, J., Goettel, M.S., Lomer, C.J., 1997: Effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviridae*. *Mycopathologia*, 137: 37-43.
- Papierok, B., Valadão, B., Tôrres, L., Arnauld, M., 1984: Contribution to the study of the specificity of the entomopathogenic fungus *Zoophthora radicans* (Zygomycetes: Entomophthorales). *Entomophaga*, 29: 109-119.
- Paris, S., Ferron, P., 1979: Study of the virulence of some mutants of *Beauveria brongniartii* (= *Beauveria tenella*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 34: 71-77.

- Pell, J.K., Eilenberg, J., Hajek, A.E., Steinkraus, D.C., 2001: Biology, Ecology and Pest Management Potential of Entomophthorales. In: Butt, T.M., Jackson, C.W., Magan, N. (eds.), 2001: Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. *CABI Publishing*, 71-153.
- Pena, J.E., Osborne, L.S., Duncas, R.E., 1996: Potential of fungi as biocontrol agents of *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae). *Entomophaga*, 41: 27-36.
- Poinar, G., Poinar, R., 1998: Parasites and pathogens of mites. *Annual Review of Entomology*, 43: 449-469.
- Poprawski, T.J., Greenburg, S.M., Ciomperlik, M.A., 2000: Effect of host plant on *Beauveria bassiana*- and *Paecilomyces fumosoroseus*-induced mortality of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Environmental Entomology*, 29: 1048-1053.
- Prior, C., Jollands, P., Patourel, G., 1988: Biological control of locusts: The potential for the exploitation of pathogens. *Plant Protection Bulletin*, 37: 37-48.
- Pruszyński, S., 1976: Observations on the predacious behavior of *Phytoseiulus persimilis*. *Bull. SROP/WPRS*, 4:39-44.
- Pundt, L., 2005: Managing two-spotted mites in the greenhouse. (on-line available <http://www.hort.uconn.edu/IPM/greenhs/htms/2spotmite.htm>, 12/12/2005).
- Ramoska, W.A., Todd, T., 1985: Variation in efficacy and viability of *Beauveria bassiana* in the chinch bug (Hemiptera: Lygaeidae) as a result of feeding activity on selected host plants. *Environmental Entomology*, 14: 146-148.
- Rath, A.C., Worledge, D., Koen, T.B., Rowe, B.A., 1995: Longterm field efficacy of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* against the subterranean scarab, *Adoryphorus couloni*. *Biocontrol Science and Technology*, 5: 439-451.
- Reissig, W.H., Hull, L.A., 1991: Hexythiazox resistance in a field population of European red mite (Acari: Tetranychidae) on apples. *Journal of Economic Entomology*, 84: 727-735.
- Remaudiere, G., Keller, S., 1980: Systematic revision of genera of the Entomophthoraceae with entomopathogenic potential. *Mycotaxon*, 11: 323-338.
- Ridsdill-Smith, T.J., Annells, A.J., 1997: Seasonal occurrence and abundance of redlegged earth mite *Halotydeus destructor* (Acari: Penthalpidae) in annual pastures of southwestern Australia. *Bulletin of Entomological Research*, 87: 413-423.
- Riedl, H., Shearer, P.W., 1991: Double leaf disk residue assay for assessing the toxicity of repellent acaricides to spider mites (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 11: 149-157.
- Sabelis, M.W., 1981: Biological control of twospotted spider mites using phytoseiid predators. I. Agric. Res. Report 910. Pudoc, Wageningen, the Netherlands. In: Osborne, L.S., Ehler, L.E., Nechols, J.R., 1985: Biological control of the twospotted spider mite in greenhouses. *University of Florida, Gainesville*, 40 pp.
- Sabelis M.W., Vermaat J.E., Groeneveld A., 1984: Arrestment response of the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis*, to steep odor gradients of a kairomone. *Physiological Entomology*, 9, 4: 437-446.
- Sáenz-de-Cabezón Irigaray, F.J., Marco-Mancebón, V., Pérez-Moreno, I., 2002: The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and its compatibility with triflumuron: effect on the twospotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Biological Control*, 26: 168-173.
- Samson, R.A., 1974: *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. *Studies in Mycology*, 6: 1-43.
- Samson, R.A., Rombach, M.C., 1985: Biology of the *Verticillium* and *Aschersonia*. In: Hussey, N.V., Scopes, N.E.A.: Biological pest control - the glasshouse experience. *Cornell Univ. Ithaca Press*, N.Y., 32 - 42.
- Samson, R.A., Ramakers, P.M.J., Oswald, T., 1979: *Entomophthora thripidum*, a new fungal pathogen of *Thrips tabaci*. *Canadian Journal of Botany*, 57: 1317-1323.
- Samson, R.A., McCoy, C.W., O'Donnell, K.L., 1980: Taxonomy of the acarine parasite *Hirsutella thompsonii*. *Mycologia*, 72: 359-377.

- Samson, R.A., Evans, H.C., Latge, J.-P., 1988: Atlas of entomopathogenic fungi. *Springer Verlag, Berlin, Germany, 187 pp.*
- Samšišňáková, A., 1963: Entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* (Bals. - Criv.) Vuill. a její submerzní kultivace. *Doktorská disertační práce, Entomologický ústav ČSAV, Praha, 128 str.*
- Sances, F.V., Wyman, J.A., Ting, I.P., 1979: Physiological responses to spider mite infestations on strawberries. *Environmental Entomology, 8: 711-714.*
- Shaw, P.B., 1982: Analysis and simulation of the population dynamics of a predator-prey system consisting of *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acarina: Phytoseiidae) and *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) – with particular regard to the significance of the life history parameters of both species, the functional response, the components of the numerical response, and temperature. PhD. Thesis. University of California, Davis, Kalifornia, 22 pp.
- Shi, W.-B., Feng, M.-G., 2004: Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. *Biological Control, 30: 165-173.*
- Shih, C.T., Poe, S.L., Cromroy, H.L., 1976: Biology, life table, and intrinsic rate of increase of *Tetranychus urticae*. *Annals of the Entomological Society of America, 69: 362-64.*
- Schreiter, G., Butt, T.M., Beckett, A., Vestergaard, S., Moritz, G., 1994: Invasive and development of *Verticillium lecanii* in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Mycological research, 98: 1025-1034.*
- Siddiqui, Z.A., Mahmood, I., 1996: Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review. *Bioresource Technology, 58: 229-239.*
- Siebeneicher, S.R., Vinson, S.B., Kenerley, C.M., 1992: Infection of the red imported fire ant by *Beauveria bassiana* through various routes of exposure. *Journal of Invertebrate Pathology, 59: 280-285.*
- Soper R.S., Smith, L.F.R., Delyzer, A.J., 1976: Epizootiology of *Massospora levispora* in an isolated population of *Okanagana rimosa*. *Annals of the Entomological Society of America, 69: 275-28.*
- Sosa-Gómez, D.R., Boucias, D.G., Nation, J.L., 1997: Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the Southern Green Stink Bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes. *Journal of Invertebrate Pathology, 69: 31-39.*
- Smith, R.J., Grula, E.A., 1982: Toxic components on the larval surface of the corn earworm (*Heliothis zea*) and their effects on germination and growth of *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology, 39: 15-22.*
- Smith, R.J., Grula, E.A., 1981: Nutritional requirements for conidial germination and hyphal pathology of *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology, 37: 222-230.*
- Smitley, D.R., Kennedy, G.G., Brooks, W.M., 1986: Role of the entomogenous fungus, *Neozygites floridana*, in population declines of the twospotted mite, *Tetranychus urticae*, on field corn. *Entomologia Experimentalis et Applicata, 41: 255-264.*
- St. Leger, R.J., Goettel, M., Roberts, D.W., Staples, R.C., 1991: Prepenetration events during infection of host cuticle by *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology, 58: 168-179.*
- St. Leger, R.J., May, B., Allee, L.L., Frank, D.C., Staples, R.C., Roberts, D.W., 1992: Genetic differences in allozymes and in formulation of infection structures among isof of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology, 60: 89-101.*
- St. Leger R.J., Screen S. 2001: Prospects for strain improvement of fungal pathogens of insects and weeds. In: Butt, T.M., Jackson, C., and Morgan, N., (eds.). *Fungal biocontrol agents: Progress, problems and potential. CAB International, 219-238.*
- Storey, G.K., Gardner, W.A., 1988: Movement of an aqueous spray of *Beauveria bassiana* into the profile of four Georgia soils. *Environmental Entomology, 17: 135-139.*
- Storey, G.K., Gardner, W.A., Tollner, E.W., 1989: Penetration and persistence of commercially formulated *Beauveria bassiana* conidia in soil of two tillage systems. *Environmental Entomology, 18: 835-839.*

- Strasser, H., Vey, A., Butt, T.M., 2000: Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactivity metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species? *Biocontrol Science and Technology*, 10: 717-735.
- Studdert, J.P., Kaya, H.K., Duniway, J.M., 1990: Effect of water potential, temperature, and clay-coating on survival of *Beauveria bassiana* conidia in a loam and peat soil. *Journal of Invertebrate Pathology*, 55: 417-427.
- Sun, J., Fuxa, J.R., Henderson, G., 2003: Effects of virulence, sporulation, and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* laboratory transmission in *Coptotermes formosanus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 84: 38-46.
- Sundaram, K.M.S., Campbell, R., Sloane, L., Studens, J., 1995: Uptake, translocation, persistence and fate of azadirachtin in aspen plants (*Populus tremuloides* Michx.) and its effect on pestiferous two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Crop Protection*, 14: 415-421.
- Sztejnberg, A., Doron-Shloush, S., Gerson, U., 1997: The biology of the acaropathogenic fungus *Hirsutella kirchneri*. *Biocontrol Science and Technology*, 7: 577-590.
- Van den Boom, T.A., van Beek, T.A., Dicke, M., 2003: Difference among plant species in acceptance by the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Applied Entomology*, 127: 177-183.
- Van Driesche, R.G., Bellows, T.S. (eds.), 1993: Steps in Classical Biological Control. *Thomas Say Publications in Entomology*, ESA, Lanham, MD, USA.
- Van der Geest, L.P.S., Elliot, S.L., Breeuwer, J.A.J., Beerling, E.A.M., 2000: Diseases of mites. *Experimental and Applied Acarology*, 24: 497-560.
- Van Impe, T., Hance, T., 1993: Une technique d'évaluation de la sensibilité variétale au tétranyque tisserand, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Application au haricot, au concombre, à la tomate et au fraisier. *Agronomie*, 13: 739-749.
- Van de Vrie, M., Murtry, J.A., Huffaker, C.B., 1972: Ecology of mites and their natural enemies. A review. III Biology, ecology, and pest status, and host plant relations of Tetranychids. *Hilgardia*, 41: 354-432.
- Vega, F.E., Dowd, P.F., McGuire, M.R., Jackson, M.A., Nelsen, T.C., 1997: *In vitro* effects of secondary plant compounds on germination of blastospores of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Invertebrate Pathology*, 70: 209-213.
- Vega, F.E., 2005: The entomopathogen *Paecilomyces fumosoroseus*. (on-line available <http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf403.html>, 12/12/2005).
- Vestergaard, S., Butt, T.M., Gillespie, A.T., Schreiter, G., Eilenberg, J., 1995: Pathogenicity of the hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Science and Technology*, 5: 185-192.
- Vey, A., Hoagland, R., Butt, T.M., 2001: Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. In: Butt, T.M., Jackson, C.W., Magan, N. (eds.) *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 311-345.
- Vidal, C., Fargues, J., Lacey, L.A., 1997: Intraspecific variability of *Paecilomyces fumosoroseus*: Effect of temperature on vegetative growth. *Journal of Invertebrate Pathology*, 70: 18 - 26.
- Vilcinskas, S.A., Matha, V., Gotz, P., 1997a: Inhibition of phagocytic activity of plasmatocytes isolated from *Galleria mellonella* by entomogenous fungi and their secondary metabolites. *Journal of Insect Physiology*, 43: 475-483.
- Vilcinskas, S.A., Matha, V., Gotz, P., 1997b: Effects of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its secondary metabolites on morphology and cytoskeleton of plasmatocytes isolated from the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Journal of Insect Physiology*, 43: 1149-1159.
- Walstad, J.D., Anderson, R.F., Stambaugh, W.J., 1970: Effects of environmental conditions of two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 16: 221-226.

- Watson, T.F., 1964: Influence of host plant condition on population increase of *Tetranychus telarius* (Linnaeus) (Acarina: Tetranychidae). *Hilgardia*, 35: 273-322.
- Watson, D.W., Mullens, B.A., Peterson, J.J., 1993: Behavioural fever response of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to infection by *Entomophthora muscae* (Zygomycetes: Entomophthorales). *Journal of Invertebrate Pathology*, 61: 10-16.
- Watson, D.W., Geden, C.J., Long, S.J., Rutz, D.A., 1995: Efficacy of *Beauveria bassiana* for Controlling the House Fly and Stable Fly (Diptera: Muscidae). *Biological Control*, 5: 405-411.
- Weiser, J., 1966: Houbová onemocnění hmyzu, 232 - 324, in: Weiser, J.: Nemoci hmyzu, *Academia, Praha*.
- Weiser, J., Muma, M.H., 1966: *Entomophthora floridana* n. sp. (Phycomycetes: Entomophthoraceae). A parasite of the Texas citrus mite, *Eutetranychus banksi*. *Florida Entomologist*, 49: 155-159.
- Wekesa, V.W., Maniania, N.K., Knapp, M., Boga, H.I., 2005: Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to the tobacco spider mite *Tetranychus evansi*. *Experimental and Applied Acarology*, 36: 41-50.
- Wright, S.P., Carruthers, R.I., Bradley, C.A., Jaronski, S.T., Lacey, L.A., Wood, P., Galaini-Wright, S., 1998: Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 71: 217-226.
- Wright, S.P., Carruthers, R.I., Jaronski, S.T., Bradley, C.A., Garza, C.J., Galaini-Wright, S., 2000: Evaluation of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for Microbial Control of the Silverleaf Whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control*, 17: 203-217.
- Yaninek, J.S., Saizonou, S., Onzo, A., Zannou, I., Gnanvossou, D., 1996: Seasonal and habitat variability in the fungal pathogen, *Neozygites floridana* and *Hirsutella thompsonii*, associated with cassava mites in Benin, West Africa. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 23-33.
- Zare, R., Gams, W., 2001: A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium*. *Nova Hedwigia*, 73: 1-50.
- Zare, R., Gams, W., 2001: A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium*. *Nova Hedwigia*, 73: 271-292.
- Zimmermann, G., 1986: Insect pathogenic fungi as pest control agents. In: Franz, J.M. (ed.): Biological Plant and Health Protection. *Fischer, Stuttgart*, 217 - 231.
- Zimmermann, G., 1993: The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *J. Pest. Sci.* 37: 375-379.

Grafický list 1. Demonstrace metodických aspektů práce – sviluška chmelová



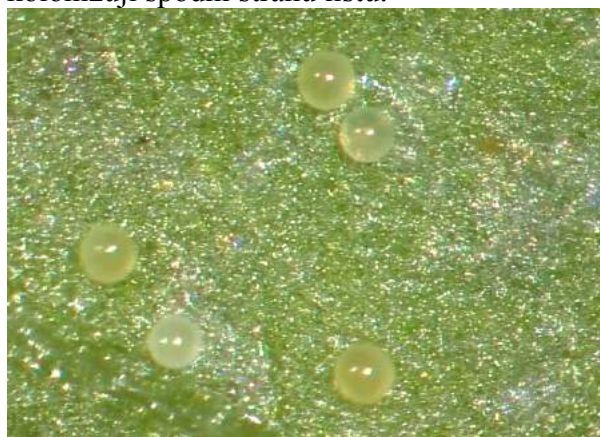
Chov svilušky chmelové (*T. urticae*), hostitelská rostlina *Phaseolus vulgaris*



Sviluška chmelová na živné rostlině - počáteční vývoj populace, list zelený, svilušky kolonizují spodní stranu listu.



List s příznaky napadení sviluškou chmelovou – svrchní strana listu. Počátek napadení rostliny, bez přítomnosti pavučinky.



Zdravá vajíčka svilušky chmelové – kulovitý tvar, lesklá, bělavě průhledná. Odchytky od těchto znaků umožňují odlišit vajíčka zdravá a časně infikovaná.



Dospělá sviluška chmelová *T. urticae* - změny v pohyblivosti, barvě a chování umožňují odlišení zdravých jedinců od časně infikovaných.



Dospělec svilušky chmelové porostlý myceliem houby *P. fumosoroseus*, nepravidelný tvar a barva vajíčka indikují časnou infekci houbou *P. fumosoroseus*

Grafický list 2. Demonstrace metodických aspektů práce



Reaktivace houby *Metarhizium anisopliae* kmen M080 – sporulace na povrchu pelety



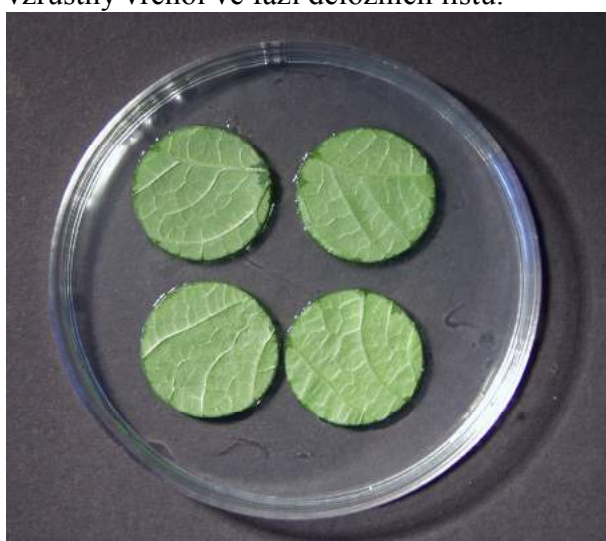
Kultivace na povrchu umělé živné půdy – 14-denní kultura houby *B. bassiana* kmen A 38



Čisté rostliny (*Phaseolus vulgaris*) určené k získání terčíků. Rostlinám byl odstraněn vrůstný vrchol ve fázi děložních listů.



Pokusná jednotka - listové terčíky se svluškou chmelovou *T. urticae*. Terčíky jsou položeny na povrchu ovlhčené buničiny.

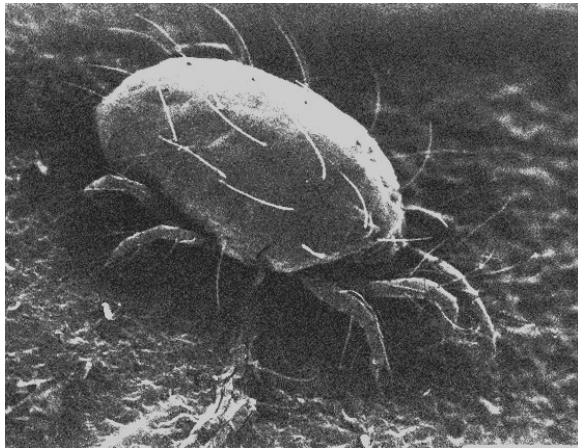


Pokusná jednotka - listové terčíky s *T. urticae* na povrchu 2% agaru.



Pokusná jednotka – přirozená expozice listů (obrácená Petriho miska)

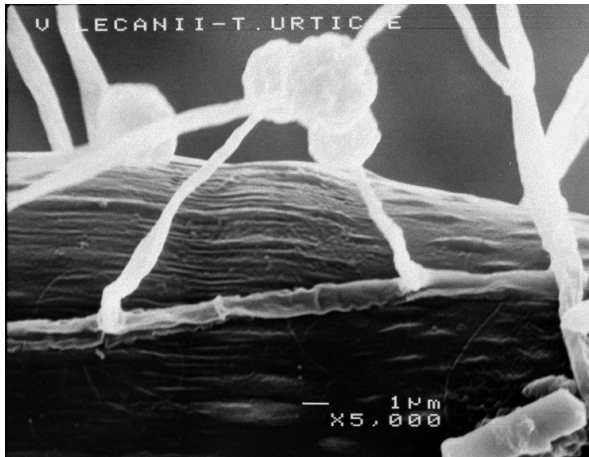
Grafický list 3. Demonstrace akarifágního statusu houby *Lecanicillium lecanii*



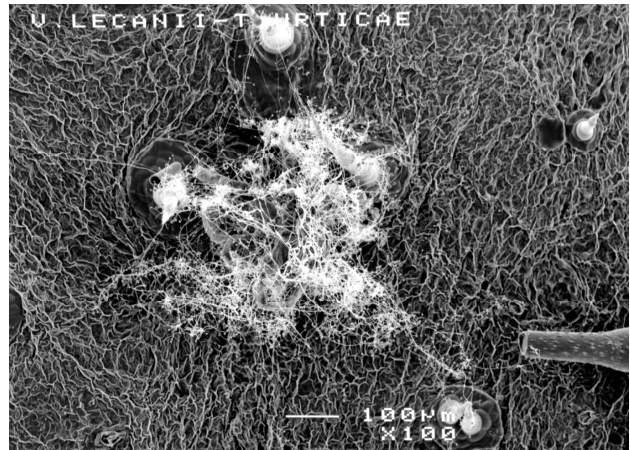
Dospělec svilušky chmelové *T. urticae*



Sporulace houby *Lecanicillium lecanii* na povrchu svilušky chmelové (SEM, 500x)



Detail sporulace houby *Lecanicillium lecanii* na povrchu svilušky chmelové (SEM, 5000x)



Sviluška chmelová porostlá plně sporulujícím myceliem houby *L. lecanii* (SEM, 100x)

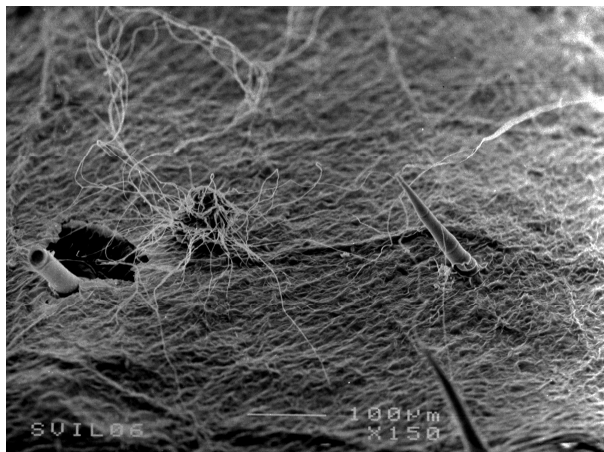


Sviluška chmelová porostlá myceliem houby *L. lecanii*, uchycena v trichomech rostliny

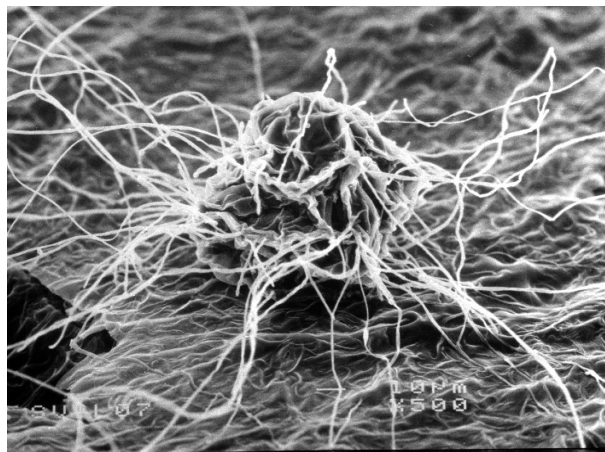


Plná sporulace houby *L. lecanii* na povrchu svilušky chmelové (SEM, 100x)

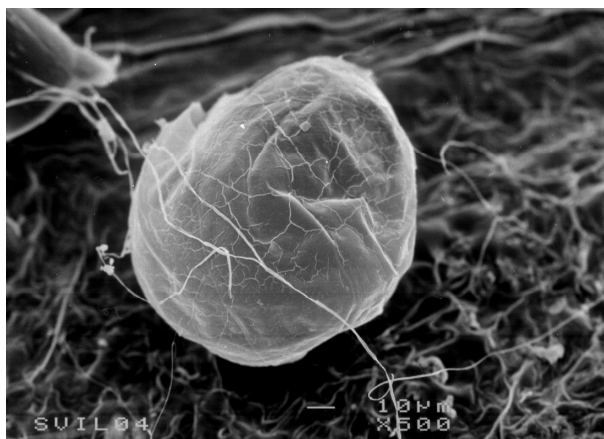
Grafický list 4. Demonstrace akaropatogenního statusu houby *P. fumosoroseus*



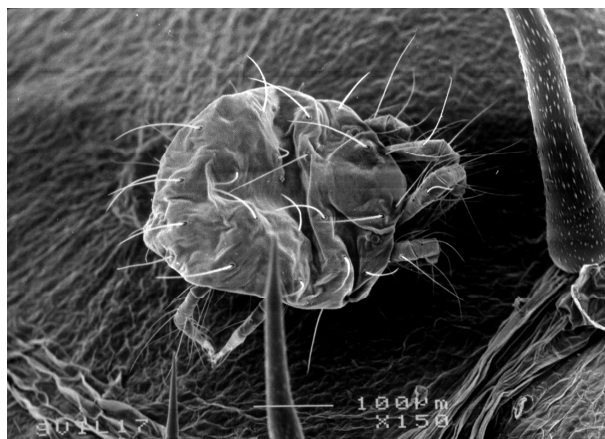
Vajíčko svlušky chmelové infikované houbou *P. fumosoroseus* – mycelium patogena se rozrůstá do okolí vajíčka (SEM, 150 x)



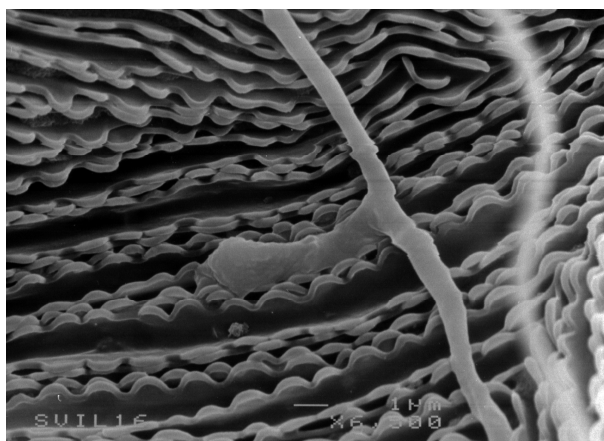
Detail vajíčka svlušky chmelové plně porostlé myceliem *P. fumosoroseus* (SEM, 500 x)



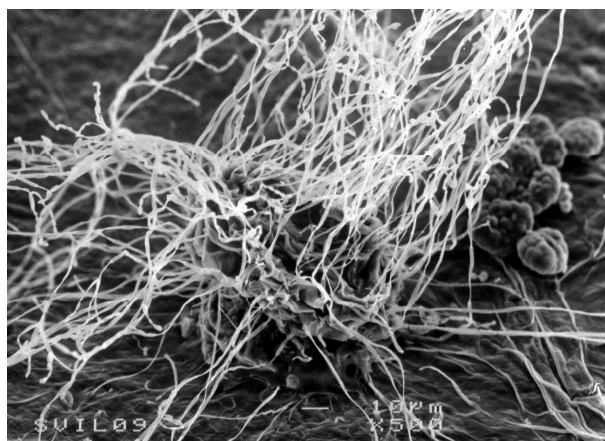
Detail vajíčka svlušky chmelové – utváření myceliální sítě (SEM, 500x)



Mrtvý dospělec svlušky chmelové – změněný tvar (SEM, 150x)



Detail růstu patogena na povrchu hostitele (SEM, 6 500x)



Plná sporulace houby *P. fumosoroseus* na povrchu svlušky chmelové (SEM, 500x)