

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**

**Zemědělská fakulta**

Katedra rostlinné výroby

Studijní program : M 4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor : Všeobecné zemědělství – sp. rostlinolékařství

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

Využití biologické ochrany při pěstování ovsa

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

Autor diplomové práce : Jana Šimková

**2007**

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma : „Využití biologické ochrany při pěstování ovsa“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které uvádím v seznamu literatury.

**V Českých Budějovicích dne 20. 4. 2007**

---

Jana Šimková

## **Poděkování**

Mé poděkování patří doc. Ing. Bohumile Voženílkové, CSc., vedoucí diplomové práce, za odborné vedení a pomoc při vyhodnocování výsledků a zpracování diplomové práce, RNDr. Josefu Hýskovi, CSc. za determinaci druhů patogenních hub, dále pracovníkům katedry RV za pomoc při ošetřování pokusů a rovněž všem ostatním, kteří mi poskytli užitečné rady.

## Anotace

Při ošetření ovsa byla použita jako bioagens houba *Trichoderma harzianum*. Houba, která působí antagonisticky proti houbám způsobujícím onemocnění na obilí. Byla aplikována ve dvou dávkách na parcelky s pluchatým ovsem o rozměru 8m<sup>2</sup>. Odrůdy pěstovaného ovsa byly Neklan a Atego. První aplikace houby proběhla krátce po vzejití ovsa společně s granulovaným hnojivem NPK 11-7-7 (v roce 2005) a NPK 15-10-10 (v roce 2006), druhá aplikace byla pak provedena ve formě postřiku Supresivitem S2. Porost byl sklizen upravenou sklízecí mlátičkou a z výmlatu byly odebrány vzorky k další analýze. Závěrečné vyhodnocení proběhlo ve VÚRV Ruzyně.

For oat protection was used *Trichoderma harzianum* as a bioagent. The fungus that antagonizes other fungi causing diseases on corn. It was applied in two doses on glumed oat allotment with the acreage 8m<sup>2</sup>. The grown oat varieties were Neklan and Atego. The first application of the fungus was made shortly after the oat emergence in the form of granula together with the NPK 11-7-7 (in 2005) and NPK 15-10-10 (in 2006) fertilizer, the second application was made in the form of solution of Supresivit S2. The crop was yield by the special harvester and from the threshing the samples for next analyse were taken. The final appraisal was made. in VÚRV Ruzyně.

Klíčová slova: oves, biologická ochrana, *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., výnosové charakteristiky

Key words : oat, biological control, *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., yield characterizations

# Obsah

<b>1. Úvod .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Literární přehled.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Metody ochrany rostlin.....</b>	<b>3</b>
2.1.1. Preventivní metody ochrany rostlin.....	3
2.1.2. Využívání chemické ochrany.....	4
2.1.3. Integrované systémy ochrany.....	5
2.1.4. Biologická ochrana.....	5
2.1.4.1. Způsoby zavádění do prostředí.....	6
2.1.4.2. Nevýhody biologické ochrany.....	7
2.1.4.3. Zvyšování účinnosti biopreparátů.....	8
<b>2.2. Houby rodu <i>Trichoderma</i>.....</b>	<b>10</b>
2.2.1. Zařazení v systému.....	10
2.2.2. Morfologie.....	10
2.2.3. Podmínky růstu a působení.....	11
2.2.4. Působení na ostatní mikroorganismy.....	12
2.2.4.1. Antibiotická aktivita.....	14
2.2.5. Mechanismus účinku hub rodu <i>Trichoderma</i> .....	15
2.2.6. Využití houby <i>Trichoderma harzianum</i> .....	18
2.2.6.1. Ochrana nadzemních částí rostlin.....	19
2.2.6.2. Ochrana kořenových částí rostlin.....	19
2.2.6.3. Vedlejší účinky.....	22
2.2.7. Možnosti využití.....	23
2.2.8. Biopreparáty.....	25
2.2.8.1. Supresivit.....	25
<b>2.3. Houby rodu <i>Fusarium</i>.....</b>	<b>27</b>
2.3.1. Morfologie.....	27
2.3.2. Onemocnění způsobená houbami rodu <i>Fusarium</i> .....	27
2.3.2.1. Napadení klasů obilnin.....	28
2.3.2.2. Napadení kořenů, stébel a listů obilnin.....	30
2.3.3. podmínky vhodné pro rozvoj patogena.....	30
2.3.4. Mykotoxiny.....	31
2.3.5. Možná ochranná opatření.....	33
2.3.6. Nejběžněji se vyskytující druhy.....	33
2.3.6.1. <i>Fusarium solani</i> .....	33
2.3.6.2. <i>Fusarium oxysporum</i> .....	34
2.3.6.3. <i>Fusarium poae</i> .....	34
2.3.6.4. <i>Fusarium culmorum</i> .....	34
2.3.6.5. <i>Fusarium graminearum</i> .....	35
<b>2.4. Ostatní diagnostikovaní patogeni.....</b>	<b>35</b>
2.4.1. <i>Mucor hiemalis</i> .....	35
2.4.2. <i>Acremonium</i> spp.....	36
2.4.3. <i>Stachybotrys</i> spp.....	36
2.4.4. <i>Epicoccum</i> spp.....	36
2.4.5. <i>Alternaria</i> spp.....	37
2.4.6. <i>Aspergillus</i> spp.....	37

<b>3. Experimentální část.....</b>	<b>38</b>
<b>3.1. Materiál a metodika.....</b>	<b>38</b>
3.1.1. Použitý materiál.....	38
3.1.1.1. Odrůda Atego.....	40
3.1.1.2. Odrůda Neklan.....	40
3.1.2. Charakteristika pozemku.....	40
3.1.3. Použité pomůcky a prostředky při ošetřování porostu a při následné kultivaci kultur.....	42
3.1.3.1. Bioagens.....	42
3.1.3.2. NPK obohacené houbou <i>Trichoderma harzianum</i> .....	42
3.1.3.3. Umělé živné půdy.....	42
3.1.3.4. Petriho misky.....	42
3.1.4. Založení polního pokusu a jeho hodnocení.....	43
3.1.5. Hodnocení výnosových ukazatelů a klíčivosti.....	43
3.1.6. Hodnocení povrchové mikroflóry.....	44
<b>3.2. Pokusný rok 2005.....</b>	<b>45</b>
3.2.1. Založení a ošetřování pokusu.....	45
3.2.2. Kultivace <i>in vitro</i> .....	46
3.2.3. HTZ pluchatého ovsa v roce 2005.....	46
3.2.4. OH pluchatého ovsa u sledovaných odrůd Neklan a Atego.....	46
3.2.5. Klíčivost u odrůd Neklan a Atego.....	47
3.2.6. Povrchová mikroflóra.....	48
<b>3.3. Pokusný rok 2006.....</b>	<b>51</b>
3.3.1. Založení a ošetřování pokusu.....	51
3.3.2. Kultivace <i>in vitro</i> .....	51
3.3.3. HTZ u pluchatého ovsa v pokusném roce 2006.....	52
3.3.4. OH u odrůd Neklan a Atego.....	53
3.3.5. Hodnocení klíčivosti u sledovaných odrůd pluchatého ovsa .....	53
3.3.6. Povrchová mikroflóra.....	54
3.3.7. Mykotoxiny.....	56
<b>3.4. Vyhodnocení pokusů.....</b>	<b>57</b>
3.4.1. Statistické vyhodnocení pokusu.....	57
3.4.2. Srovnání napadení obilek povrchovou mikroflórou v roce 2005 a 2006.....	57
3.4.3. Srovnání OH u pluchatého ovsa v letech 2005,2006.....	61
3.4.4. Srovnání HTZ u odrůd Neklan a Atego v letech 2005 a 2006.....	61
3.4.5. Srovnání klíčivosti v letech 2005, 2006.....	62
<b>4. Diskuse.....</b>	<b>64</b>
<b>5. Závěr.....</b>	<b>67</b>
<b>6. Seznam literatury.....</b>	<b>68</b>
<b>7. Přílohy.....</b>	<b>73</b>

## 1. Úvod

Průměrný věk lidstva se neustále prodlužuje a je to dáno nejen prostředím, zvyšující se úrovní medicíny a mnoha dalšími faktory, ale především také kvalitou potravin. Z důvodu rostoucích nároků na výživu nachází své opodstatnění i potraviny dosud nevyužívané, případně i ty, které byly v průběhu vývoje postupně z jídelníčku vytlačeny. Jednou z takových potravin je i oves. V dřívějších válečných dobách velice oblíbený a využívaný, později spíše opomíjený. Přesto se tato plodina v posledních letech těší stále větší oblibě a rovněž její uplatnění ve zdravé stravě roste.

Nelze však hovořit pouze o plodině jako takové, ale hlavně o způsobu jejího pěstování, protože při nevhodné strategii může být jako potravina zcela znehodnocena. Jedná se hlavně o zvolené ochranné prostředky, které mají zabránit jejímu napadení různými patogenními organismy, zejména houbovými. Při pěstování ale nesmí být vynechány ani vhodné podmínky prostředí, ve kterém se plodina nachází. Vhodností výběru pozemku a zejména předplodiny lze rovněž výrazně omezit napadení chorobami. Proto by se na tyto nepřímé metody ochrany nemělo zapomínat.

Ovšem přímých metod jak plodiny ochránit bylo v průběhu vývoje zemědělské výroby vypracováno mnoho. Při používání jakékoli ochrany plodin je hlavním cílem jejich ochrana před patogenními organismy a zároveň případné zvyšování jejich výnosu. Bohužel se stále nejvíce používá ochrana chemická, která je ekonomicky nejvýhodnější. Tím není myšlena pouze pořizovací cena chemických prostředků, ale hlavně jejich rentabilita. Protože jejich účinnost je stále nejvyšší, je rovněž jejich uplatnění nejširší. V případě používání tohoto druhu ochrany výrazně převažují požadavky ekonomické nad ekologickými.

Z důvodu druhých jmenovaných se dnes již častěji přistupuje k využívání tzv. integrované ochrany, což je sloučení ochrany chemické a biologické a jejich současné použití. Tímto způsobem není chemická ochrana vynechána úplně, ale je alespoň částečně nahrazena.

Biologická ochrana se stále častěji objevuje, nejen vzhledem k nepřiměřenému zatěžování prostředí chemickými látkami, ale rovněž v souvislosti s jejich negativním vlivem na lidské zdraví. Tomu je možno částečně zabránit používáním biologické ochrany. Samotná biologická ochrana stále nenalézá své širší uplatnění v klasickém polním zemědělství. Je to dáno hlavně tím, že většina organismů, které se v biologické ochraně používají, potřebuje ke svému životu a vývoji regulovatelné prostředí a nezřídka i omezený prostor. Z tohoto důvodu jim nejvíce vyhovují skleníky, případně jiné uzavřené prostory, ale jsou úspěšně využívány

například i v ovocných sadech. V těchto podmínkách je biologická ochrana aplikována již delší dobu. Tím ale samozřejmě není řečeno, že by neexistovaly organismy vhodné pro aplikaci na polní kultury. Jedním z takových organismů je například *Trichoderma harzianum*, kterou jsme používaly v našem pokusu prostřednictvím obohaceného NPK a přípravku Supresivit.

Houby rodu *Trichoderma* se používají jako antagonisté houbových patogenů, čímž snižují jejich výskyt ve finálním produktu. Přítomnost těchto patogenů je významná z toho důvodu, že produkují zdraví škodlivé mykotoxiny. Ty pak mohou po konzumaci vyvolávat různé nežádoucí účinky na lidské zdraví.

Pokusy byly provedeny jako maloparcelkové, ve dvouletém opakování a jejich výsledky jsou shrnuty v následující práci, byly prováděny na pluchatém ovsu, na odrůdách Atego a Neklan. Jejich cílem bylo zjištění výnosových charakteristik ( HTZ, OH) a klíčivosti a dále prokázání přítomnosti patogenních mikroorganismů na obilkách, obzvlášť pak hub rodu *Fusarium* na variantách kontrolních, tedy neošetřených žádným prostředkem a variantách ošetřených, u nichž bylo použito NPK obohacené houbou *Trichoderma harzianum* a postřikem přípravkem Supresivit.



## **2. Literární přehled**

### **2.1. Metody ochrany rostlin**

Podstatou rychlého růstu zemědělství byla jeho industrializace, založená v některých oblastech na silné specializaci a koncentraci (monokulturní pěstování některých plodin) a růstu vkladů do pěstitelského systému. Zcela jednoznačně byl a je takovým intenzifikačním prvkem růst dávek průmyslových hnojiv, která představují velký energetický input. Dále je to použití pesticidů, regulátorů růstu a dalších agrochemikálií zabezpečujících ochranu před škodlivými činiteli a regulující výnosotvorný proces.

Naším současným úkolem při hospodaření na půdě, v krajině, je nalézt takové způsoby, které by vedly k nápravě či odstranění minulých škod, které by vedly k respektování zájmů ekonomických i zájmů ekologických (jde o systémy přírodu šetřící) (Petr, Húska, 1997).

#### **2.1.1. Preventivní metody ochrany rostlin**

Princip ochrany rostlin spočívá v nepřímé, preventivní ochraně. Důraz se klade na výběr vhodných odrůd a posílení odolnosti rostlin optimálním organickým hnojením. Významnou roli zde hraje tvorba podmínek pro užitečné živočichy (okraje polí, plevelná flóra), které ovlivňují populace škůdců. Biologická ochrana umožňuje i nasazení „protihráčů“, tj. predátorských druhů a použití pesticidů získaných z přírodních látek (Urban, Šarapatka a kol., 2003).

Správnou lokalizací kultur můžeme snížit nebezpečí poškození plodin, zejména vytrvalých, mrazem, větrem, apoplexií apod. (Čača, 1990).

Jak Čača (1990) dále uvádí, tak se do popředí dostaly především biologické a agrotechnické způsoby ochrany, které bezprostředně vycházejí ze znalostí a využití biologických vztahů mezi rostlinami a škodlivými činiteli a z vytvoření optimálních podmínek pro zdárný růst kulturních rostlin.

Úprava vlastností půdního prostředí a její modifikace je základním činitelem biologické ochrany proti celé řadě původců chorob pěstovaných rostlin. Obvykle jde o změny podmínek a vlastností půdního prostředí, respektive využití dodání vhodných živných substrátů pro rychlou kolonizaci, rozmnožení a zvýšenou aktivitu mikrobiálních společenstev, která mohou inhibovat nebo zahubit fytopatogeny.

Z výše uvedeného lze odvodit, že preventivní metody ochrany rostlin spočívají hlavně ve správném výběru lokality pro pěstování, dále ve výběru odrůdy vhodné pro dané prostředí a zvolení vhodné agrotechniky. Rovněž je nutné v případě potřeby uzpůsobit půdní reakce,

dodržet izolační vzdálenosti či podmínky karanténních opatření. Všechny tyto požadavky se opírají o znalosti pěstitele a jeho schopnost aplikovat je v praxi.

### **2.1.2. Využívání chemické ochrany**

Dosavadní praktická ochrana se zaměřovala na rychlé a účinné zásahy proti jednotlivým škodlivým činitelům, které měly snížit jejich výskyt na minimum, a tak přispět k zajištění odpovídajícího výkonu rostlin. Tento cíl optimálně splňoval především chemický způsob ochrany, což přispělo k tomu, že se tento způsob stal dominantní metodou ochrany a dále se již neuvažovalo o jiných možnostech, jimiž by se mohlo předejít výskytu a rozšíření škodlivých činitelů (Čača, 1990).

Nebezpečí používání chemické ochrany spočívá ve vzniku rezistence. Jak uvádí Šebesta (1991), virulentní rasy (patotypy) se namnoží v důsledku překonání zavedených typů rezistence v pěstovaných odrůdách. V případě chemické ochrany dochází k namnožení kmenů parazita rezistentních k používanému fungicidu.

Tím, že se zvyšuje a rozšiřuje rezistence škodlivých činitelů k pesticidům, snižuje se účinnost dříve velmi efektivních chemických zásahů. Nemalou úlohu v postupném odklonu od prostředků chemické ochrany a v nástupu prostředků biologické ochrany budou mít stále více kromě důvodů ekologických také důvody ekonomické. Perspektivním cílem je vypracování a postupné zavádění tzv. integrované ochrany. Čím vyšší podíl biologické ochrany bude v rámci této integrované ochrany používán, tím vyšší úroveň ekologizace celého ochranného systému se dosáhne ( Zídek, 1992).

Ve využívání chemické ochrany sehrává svou úlohu také postoj pěstitele, kdy si může vybrat, zda použije elegantnější biologickou ochranu nebo hrubý zásah chemikálií s často těžko předvídatelnými důsledky. Ale jak dále Jirátko (1990) uvádí, spočívá jedna z nesporných výhod chemických preparátů v tom, že je možno je skladovat dlouhou dobu bez větších nároků na podmínky skladování, biologické prostředky mají trvanlivost omezenou. To vše klade vyšší nároky na zemědělské podniky a obchodní síť, které si musí zajistit vhodná skladovací zařízení, i na výrobce, který musí být schopen pružně reagovat na měnící se požadavky pěstitelů v průběhu roku.

Zřejmě se nedá předpokládat, že by tento způsob ochrany mohl být někdy úplně nahrazen. Je ale možné očekávat, že se podíl využívání chemické ochrany jako takové zmenší a tudíž se otevře širší prostor pro uplatnění metod ochrany šetrnějších k životnímu prostředí.

### **2.1.3. Integrované systémy ochrany**

Pokud se pěstitel rozhodne, že nebude plně využívat pouze chemickou ochranu, je zde možnost využít integrovanou ochranu. Čača (1990) uvádí hlavní zásadu integrované ochrany a tou je ohled na biocenózy a agrocenózy, a zejména na udržení biologické rovnováhy v zemědělských kulturách. Velká pozornost se věnuje hlavně znalostem vzájemných vztahů mezi hostitelskou rostlinou a škodlivými činiteli, jakož i vlivu jednotlivých prvků vnějšího prostředí. Integrovaná ochrana rostlin si neklade za cíl vyhubit škodlivé činitele, nýbrž využít všechny významné složky ekosystému k udržení škodlivých činitelů pod prahy škodlivosti.

Baker, Scher (1987) vidí příležitost v integraci biologické a chemické ochrany v používání fungicidů, které jsou účinné proti relativně úzkému spektru rostlinných parazitů a zároveň neúčinkují na bioagens.

### **2.1.4. Biologická ochrana**

O biologické ochraně se v poslední době hovoří stále více. Ve většině případů se jedná o ochranu proti hmyzím škůdcům, ale nezřídka je zmiňována rovněž v souvislosti s houbovými či jinými onemocněními rostlin. Jak uvádí Urban, Šarapatka a kol. (2003), není biologická ochrana rostlin v praxi ještě dostatečně rozšířená, ale je velmi perspektivní.

Biologické způsoby ochrany proti škodlivým činitelům se v ochraně rostlin využívaly mnohem dříve než chemické přípravky. Bouřlivý rozvoj chemie v posledních desetiletích způsobil, že biologické způsoby ochrany byly zatlačeny do pozadí a začaly se nedoceňovat (Čača, 1990).

Biologická ochrana proti fytopatologickým mikroorganismům vychází z obecného poznatku, že mezi hostitelem, patogenem a vnějším prostředím existuje přirozená rovnováha v rámci daného ekosystému (Čača, 1990).

Podle Tiché (2001) je jednou z nesporných výhod fakt, že tato ochrana pracuje s přírodě vlastními prostředky, takže nezatěžuje životní prostředí a díky vysoce specifickému účinku zpravidla neohrožuje necílové organismy. Působí při tom dlouhodobě, nepotřebuje drahá zařízení, příliš mnoho vody či energie, ani náklady na kompenzaci poškození lidského zdraví a životního prostředí. Jirátko (1990) rovněž uvádí přednosti biologických metod jako jsou specifická a metodická, takže zpravidla nenarušují přirozenou rovnováhu v biocenózách a nepředstavují nebezpečí pro užitečnou entomofaunu, kulturní rostliny, hospodářská zvířata ani pro člověka.

Biologická ochrana už byla popsána mnoha různými způsoby. Například Heinz, Driesche a Parella (2004) ji popsali jako využití žijících přirozených nepřátel na potlačení populací škodlivých organismů a rovněž připojili, že nechemická ochrana proti škodlivým organismům, které nevyužívají živé přirozené nepřátele – jako feromony, lepící pasti nebo šlechtění rostlin – nejsou označovány jako biologická ochrana. S tím ovšem tak úplně nesouhlasil Čača (1990), který označuje šlechtění na rezistenci jako nejúčinnější a nejefektivnější způsob biologické ochrany a součást biologického boje proti celé řadě původců chorob pěstovaných rostlin.

Biologické metody ochrany se nabízejí především tam, kde mají v praxi šance takové metody regulace hustoty populací škodlivých organismů, jež dovolují určité zbytkové napadení. O tom rozhodují v principu korelace mezi napadením a ztrátami.

Ve většině případů, na rozdíl od chemických pesticidů, nezaručují akutní a téměř úplný účinek na škodlivé organismy, ale spočívají většinou na principech kompetice nebo jiných interakcích mezi antagonisty a škodlivými organismy. Nepůsobí eradikačně, ale pouze regulačně. Ostatně zbytkové napadení je nutné pro uchování populací antagonistů, a tudíž prodloužení doby jejich působení (Jirátko, 1990).

Dále ještě Jirátko (1990) uvádí speciální oblast pro použití biologických metod, kterou představuje alternativní (biologické) zemědělství, které se dobrovolně zříká použití chemických pesticidů. Vhodné jsou biologické metody i pro ochranná pásma vodních zdrojů nebo při zvláště přísných požadavcích na hygienickou nezávadnost potravin (suroviny pro dětskou výživu).

Jak narůstají různá omezení, ať už dobrovolná (např. v alternativním zemědělství) nebo nedobrovolná (rezistence škodlivého činitele, zákaz pesticidů v pásmech hygienické ochrany vodních zdrojů), tak se stávají nechemické metody ochrany rostlin atraktivnějšími. O biologické ochraně existuje ohromné množství informací, jsou však zřídka seriózně posouzeny z hlediska možnosti komerčního využití (Okrouhlá, 1993).

#### **2.1.4.1. Způsoby zavádění do prostředí**

Zavádění biologické ochrany je mnohem úspěšnější v relativně stálém prostředí, jakým jsou například skleníky nebo různá uzavřená átria budov. Tyto prostory označují za nejvhodnější i Heinz, Driesche a Parella (2004), kteří jejich vhodnost dokládají tím, že stálost porostu dovoluje omezit změny teplot a využívání vlhkosti, což později umožní dlouhodobé přežití populací přirozených nepřátel.

K tomuto tvrzení se připojuje i Jirátko (1990), který dále uvádí, že pěstování v kolísavých povětrnostních podmínkách, jak je tomu u polních plodin, zpravidla neodpovídá předpokladům pro optimální účinnost. Ovšem dále nehovoří pouze o stabilním prostředí ve sklenících, ale rovněž o tom, že podobné poměry jsou také v půdě, kde podmínky kolísají v menších amplitudách a mění se pomaleji. V těchto dvou oblastech bylo tedy dosaženo největších úspěchů při použití biologických pesticidů.

Pokusy s biologickou ochranou proti fytopatogenům jsou nejčastější ve spojení s aplikací antagonistických mikroorganismů na rostliny. Aby takový zásah byl úspěšný, antagonistista musí být schopen se rozmnožit a osidlovat povrchy rostlin. Základní biologickou metodou, se kterou biologická ochrana počítá je inokulace. Vychází právě z předpokladu, že inokulovaný mikroorganismus se v daném prostředí pomnoží. Avšak v přírodních půdních podmínkách, kde se inokulovaný organismus dostává do kompetice s aktivní mikroflórou, nevede obvykle inokulace k potřebnému efektu. Z hlediska praktického, za nadějně je možno považovat inokulaci semen a sadby nebo postřiky nadzemních částí rostlin biopreparáty (Hrdý, 1991).

Při použití antagonistů patogenů pak přicházejí v úvahu např. aplikace tuhého inokula do půdy při setí, závlivka řádků tekutým inokulem, ošetření osiva, aplikace do obalu osiva apod. S dobrými výsledky byla vyzkoušena i aplikace entomopatogenů i antagonistů původců chorob rostlin závlahovými systémy (Jirátko, 1990).

V praxi se nejčastěji uplatňuje biologická ochrana proti bakteriózám, která spočívá v aplikaci bioagens na povrch rostliny (nadzemní části nebo kořeny). Bioagens mohou být buď přirozeně se vyskytující organizmy (získané selekcí), nebo geneticky modifikované kmeny (Kůdela, 1998).

Více než jedno bioagens může být použito v kombinaci, ale biopreparáty mohou být rovněž používány společně s chemikáliemi pro zlepšení ochrany (Vavrač a kol., 1997).

Směs různých bioagens kolonizujících kořeny může poskytnout lepší výsledky než jedno bioagens použité samostatně (Harman a kol., 2004).

#### **2.1.4.2. Nevýhody biologické ochrany**

Aktivita bioagens je hluboce ovlivněna podmínkami prostředí. Pesticidy používané pro chemickou ochranu jsou mnohem méně ovlivňovány těmito faktory, což vysvětluje, proč je v některých případech účinek biologických prostředků mnohem méně předvídatelný než účinek prostředků chemických. Přestože fyzikální faktory, jako je vlhkost půdy a pH, ovlivňují aktivitu bioagens, stále nejvýznamnějším limitujícím faktorem je pro ně teplota.

Například, když Harman a kol. (1981) ošetřovali semena konidii houby *Trichoderma* spp. při teplotě nepříznivé pro růst bioagens, byl výsledek padání klíčnicích rostlin v důsledku napadení houbami *Pythium* spp. nebo *Rhizoctonia* spp. stejný jako u neošetřených semen. Na rozdíl od toho téměř kompletní ochrana před výskytem je při teplotách blízkých optimu pro růst antagonistů (Baker, Scher, 1987).

Tyto podmínky nejsou důležité pouze v okamžiku aplikace, ale především v průběhu následujícího střetu antagonisty se škodlivým organismem (Jirátko, 1990).

Biopreparát neúčinkuje okamžitě (není tak razantní jako pesticid), jeho účinnost však trvá delší dobu. Nemá výrazně kurativní účinky a při vysokém infekčním tlaku často působí nedokonale. Při porovnání jistoty zásahu je zřejmé, že účinek biopreparátu je více ovlivněn prostředím (tedy i rostlinou a půdou) než chemický přípravek. V případě dalších kritérií jsou významné výhody na straně biologických přípravků: nemají na rozdíl od pesticidů škodlivé vedlejší účinky na teplokrevné živočichy, nezanechávají v prostředí rezidua, nekontaminují tedy podzemní vody ani potraviny, riziko rezistence je pro ně výrazně nižší. Jsou především laickou veřejností lépe přijímány. Z hlediska krátkodobé ziskovosti bývají vhodnější pro výrobce i uživatele pesticidy, avšak z hlediska dlouhodobého přínosu pro společnost stojí výhody na straně biopreparátů (Becker, Schwinn, 1993).

Cílená ochrana antagonistů také vyžaduje vývoj metod směřujících k uchování dostatečných populací kořisti, resp. hostitelů obecně, případně k zabezpečení doplňkových zdrojů potravy pro antagonisty (Jirátko, 1990).

Okrouhlá (1993) došla při porovnání využití biologické ochrany proti škůdcům a proti chorobám k závěru, že metody biologické ochrany proti chorobám jsou v současné době daleko méně propracované.

#### **2.1.4.3. Zvyšování účinnosti biopreparátů**

Zvýšení účinnosti biologického preparátu je možno dosáhnout optimalizací metody aplikace. Rozhoduje se např., zda je výhodnější aplikace na počátku výskytu škůdce nebo choroby, nebo periodické introdukce antagonisty, případně chov antagonisty v otevřených chovných jednotkách po celou dobu pěstování plodiny. Výběr zde závisí nejen na použitém antagonistovi, ale i na plodině atd..

V posledních letech se ve stále větší míře zdůrazňuje význam tzv. nepřímé biologické ochrany. Vychází se ze skutečnosti, že význam škodlivého organismu je v podstatě určován souběžným výskytem, hustotou a účinností přirozeně se vyskytujících antagonistů jako hlavních regulátorů populací škůdců, patogenů a plevelů (Jirátko, 1990).

Někdy mohou biopreparáty potírat choroby, pro které není v současné době k dispozici žádný účinný způsob hubení. Navíc je dnes mezi biopreparáty na trhu minimální konkurence (Okrouhlá, 1993).

Jak uvádí Baker a Scher (1987), mohou být bioagens rovněž aplikovány dohromady, ale v tom případě se musí dávat pozor na to, aby jeden mikroorganismus negativně neovlivňoval další. Může k tomu dojít například jiným spektrem potravy, kdy jeden může druhému ubírat životně důležité prvky apod. Takovým případem je například společná aplikace *Trichoderma hamatum* a *Pseudomonas* sp.. Brožová (2004) ještě přidává používání některých chemických přípravků, které svými účinky účinnost ochrany dále zvyšují a lépe tak zabraňují napadení rostlin původci chorob.

Jak je zřejmé lze účinnost biopreparátu celkem úspěšně zvyšovat, ale rovněž může být mikroorganismus poškozen a jeho účinek nebude žádný. Proto je důležité se pozorně věnovat všem informacím o používaných mikroorganismech, aby nedošlo k jejich znehodnocení nesprávnou aplikací.

## 2.2. Houby rodu *Trichoderma*

### 2.2.1. Zařazení v systému

Houby rodu *Trichoderma* patří mezi *Deuteromycetes*, neboli houby nedokonalé. Podle Fassatiové (1979) jsou to nepohlavní stádia většinou vřeckatých hub, v menší míře stopkovýtusých. Nejčastější způsob rozmnožování je pomocí konidií, které vznikají buď na konidioforech vyrůstajících volně na myceliu, nebo v dutinkách (pyknidy), popř. ložiskách (acervuly). Zvláštním případem jsou pučící buňky.

Harman (2004) souhlasí s tím, že rod *Trichoderma* je rod asexuálně se rozmnožujících hub, které jsou často zastoupené v půdě. Ale dodává i fakt, že tyto houby kolonizují dřevo a rostlinné zbytky, na kterých je mnohem častěji nalézána sexuální teleomorfa (rod *Hypocrea*).

Nejznámějšími druhy jsou *Hypocrea rufa* (masenka ryšavá), tvořící stromata masově červené barvy (anamorfa je běžná houba *Trichoderma viride*) a *H. lactea*, masenka citrónová, jejíž stromata jsou citrónově žlutá (Váňa, 1996).

Ačkoli u mnoha kmenů, které jsou používány jako bioagens, není sexuální stádium známo (Harman a kol., 2004).

Podle Váni (1996) je teleomorfa řazena do:

Oddělení: *Hyphochytriomycota*

Pododdělení: *Ascomycotina* (vřeckovýtrusné houby)

Třída: *Ascomycetes*

Řád: *Hypocreales*

Rod: *Hypocrea*

Anamorfní stádium do:

Pomocné pododdělení: *Deuteromycotina* (Fungi imperfecti)

Pomocná třída: *Hyphomycetes*

Pomocný řád: *Moniliales*

Rod: *Trichoderma*

Pododdělení *Deuteromycotina* je uměle vytvořená skupina organismů, které jsou sem řazeny pouze podle morfologické podoby a není u nich známo pohlavní stádium (teleomorfa).

### 2.2.2. Morfologie

Anamorfní stadium je tvořeno hyfami, které u některých rodů mohou vytvářet sklerocia. Nepohlavní rozmnožování převažuje a uskutečňuje se pomocí blastokonidií (nejčastěji



fialospor). Konidie vznikají na jednoduchých nebo charakteristicky větvených konidioforech, které se mohou spojovat v konidiomata (sporodochia, koremie).

Plodnice jsou živě zbarvené (červeně, modře, zeleně aj., nikdy však černě). Jedná se o kulovitá až hruškovitá perithecia poměrně masité konzistence. Vytváří dobře vyvinutá, obvykle živě zbarvená stromata, v nichž jsou uložena perithecia (Váňa, 1996).

Myceliální porosty velmi rychle rostou, jsou bílé, vatovité nebo řídce vločkovité. Konidie mají sliznatou stěnu, a proto setrvávají po určitou dobu na vrcholku fialid v balíčcích. Časté jsou také chlamydospory, interkalární nebo terminální, hyalinní, kulovité nebo elipsoidní (Fassatiová, 1979).

Do rodu *Trichoderma* patří velké množství saprotrofních hub, které se běžně nacházejí v půdě, na odumřelém dřevě a na rostlinných zbytcích a mohou být snadno rozpoznány díky typickému zelenému zbarvení spor. Ačkoli je rozpoznání houby *Trichoderma* spp. relativně snadné, identifikace druhů je mnohem obtížnější. Rifai v roce 1969 rozdělil houby *Trichoderma* do devíti skupin podle rodů. Přesto je i v jednotlivých skupinách určitý stupeň různorodosti (Dubos, 1987).

Kolonie rostou rychle, ve zralosti jsou tmavě zelené. Konidiofory pravidelně větvené, stromečkovité. Fialidy lahvovité, často ve skupinách až po pěti. Fialospory zelené, hladké obvejčité (Nesrsta, 1991).

### 2.2.3. Podmínky růstu a působení

*Trichoderma* spp., která se používá jako bioagens do obilí pěstovaného v polních podmínkách, vyžaduje vysoké teplotní optimum, takže může účinkovat v teplém podnebí, ale zároveň může být neúčinná na studených půdách. Tomu se můžeme vyhnout pozdějším setím, kdy jsou podmínky pro aktivitu bioagens optimální a můžeme tedy zabezpečit mnohem efektivnější ochranu (Baker, Scher, 1987).

Chet a Backer (1980, cit. Chet, 1987) zjistili, že i mírně zvýšené pH může redukovat účinnost *T. harzianum* a že tato houba přežívá v půdě déle, je-li půda vlhká. Při studiu teplotních podmínek se ukázalo, že houby rodu *Trichoderma* rostou optimálně při teplotách 15-25 °C. Byly však nalezeny také izoláty účinné při 2 °C a zároveň je popsán kmen *T. harzianum*, který preferuje teploty nad 32 °C .

Domsch a kol. (1980) objevili, že pH 3,7-4,7 je optimální pro maximální produkci biomasy *Trichoderma harzianum*.

Více autorů upozorňuje, že jsou antagonistické houby, tedy i *T. harzianum*, účinnější při aplikaci do sterilizované půdy nebo do půdy (substrátu) s nižším infekčním tlakem, tedy méně zamořené patogeny (Okrouhlá, 1993).

Znalost epidemiologie parazita je rovněž předpokladem pro praktickou aplikaci biologické ochrany. Pokrok v této oblasti je částečnou zásluhou vývoje matematických modelů, které pomohly vytvořit kontrolní strategie proti parazitům /antagonistickým vztahům, které jsou díky tomu mnohem lépe aplikovány do prostředí a splňují ekonomické požadavky na zemědělství (Dubos, 1987).

#### **2.2.4. Působení na ostatní mikroorganismy**

Některé druhy rodu *Trichoderma* mohou být využívány v ochraně rostlin díky svým mykoparazitickým a dalším vlastnostem. Druhy, které jsou schopny efektivně potlačit rostlinné patogeny v dostatečně širokém spektru podmínek prostředí, jsou kompetentní s rhizosférou a mají pozitivní vliv na růst a vývoj rostlin, jsou shromažďovány a udržovány (Koutecká, Dušková, 1998).

Mezi jednotlivými mikroorganismy mohou být velmi rozmanité biologické vztahy-neutrální, symbiotické nebo antagonistické. Antagonismus je takový vzájemný vztah mezi různými organismy, při kterém jeden organismus částečně nebo úplně inhibuje růst druhého nebo jej usmrcuje (Kůdela a kol., 1989).

Je přírodním fenoménem, který se vyskytuje ve volné přírodě objektivně a nezávisle na lidské činnosti. Tato přirozená biologická regulace přispívá k udržování biologické rovnováhy v daném případě mezi původci chorob rostlin a jejich antagonisty. Protagonisté přirozené biologické ochrany-antagonisté tuto svoji úlohu splňují v podmínkách přírodních botanických formací, méně často až nepozorovatelně na zemědělsky obdělávaných plochách. V zemědělských kulturách je patrná tendence ke snižování počtu antagonistů, zejména mykoparazitických hub. Má to souvislost s druhem a historií zemědělské praxe na konkrétní lokalitě (Zídek, 1992).

Antagonistické působení hub rodu *Trichoderma* je známo už dlouhou dobu, první publikace, kde o ní byla zmínka, vyšla v roce 1887 (Vuillemin). Výzkumy zabývající se fenoménem antagonismu a jeho možného využití jako ochrany proti parazitům pěstovaných rostlin, začaly mezi světovými válkami. Příklady studií pojednávaly v podstatě o půdních parazitech, ačkoliv Wood již v roce 1951 doložil účinnost *Trichoderma viride* proti *Botrytis cinerea* na salátu (Dubos, 1987).

Schopnost antagonistického působení je výsledkem několika různých procesů:

1. boj o stejné energetické zdroje, které využívají ve stejném prostředí
2. antibiotická aktivita, která vzniká díky sekreci antibiotik a produktů metabolismu, které inhibují aktivitu parazita
3. přímá predace nebo parazitace patogena - tento jev se zdá být vyvoláván rozpoznáním buněčné stěny lektiny

Mohou být rovněž vyvolány další mechanismy, které způsobují modifikaci prostředí, které je nepříznivé pro parazita (Dubos, 1987).

Mikroorganismy na sebe mohou působit třemi možnými způsoby, je to kompeticí, kdy jedinci jednoho nebo více druhů soutěží o životně důležité faktory, antibiózou, kdy dochází k inhibici růstu mikroorganismů působením toxických produktů výměny látkové nebo přímým parazitismem. Podle Okrouhlé (1993) se mohou při působení hub rodu *Trichoderma* projevovat všechny tři výše zmíněné vztahy.

Stejně jako houby rodu *Trichoderma* mají např. i houby rodu *Fusarium* více různých mechanismů antagonismu proti rostlinným patogenům a indukce rezistence a všechny tyto mechanismy jsou důležité v biologické ochraně (Harman a kol., 2004).

Už mnoho let je známo, že tyto houby produkují široké spektrum antibiotik a že parazitují ostatní houby. Rovněž mohou být konkurenty ostatních mikroorganismů např. o klíčové exudáty ze semen, které stimulují klíčení propagulí rostlinných patogenů v půdě (Elad, 1996) a mnohem obecněji si s půdními mikroorganismy konkurují o živiny a prostor. Mimoto inhibují nebo degradují pektinázy a další enzymy, které jsou nezbytně nutné pro fytopatogenní houby, jako je *Botrytis cinerea*, aby byly schopné penetrovat přes povrch listů rostlin (Zimand, Elad, Chet, 1996).

Chet (1987) ve své práci zmiňuje počátky využívání hub rodu *Trichoderma*, které učinili Weindling a Emerson již v roce 1936, kdy pozorovali její účinky proti *Rhizoctonia solani*. Označili ji proto jako houbu vhodnou jako bioagens proti půdním patogenním houbám. Webster potom v roce 1971 popsal její antagonistické působení prostřednictvím produkce antibiotik. A nakonec Wells v roce 1972 uskutečnil první polní pokus, kdy houby *Trichoderma* spp. aplikoval proti *Sclerotium rolfsii* způsobem, kdy zamořil půdu houbou *T. harzianum* předpěstovanou v autoklávu na semenech jílku smíchaných s půdou.

Chet dále uvádí, že společně se Zamirem v roce 1985 objevili, že rozdílné izoláty houby *Trichoderma* spp. obsahují charakteristické isoenzymy, které mohou sloužit jako markery. Ty se pak dají využívat i při určování rozdílných druhů houby. Rovněž zmiňuje, že některé houby, proti kterým byla houba *Trichoderma* spp. použita, nevykázaly žádnou změnu v růstu

ani následný účinek. Různé izoláty taktéž prokázaly rozdílnou schopnost v napadání patogena.

Slibných výsledků bylo docíleno již dříve s různými druhy mikroorganismů. Mezi nimi se často objevovaly i druhy rodu *Trichoderma*. Podílejí se na tvorbě tzv. supresivních půd (tj. půd, ve kterých patogen nemá takové podmínky, aby došlo k přemnožení jeho populace a tím ke vzniku onemocnění a pokud se usídí, choroba se nevyskytne nebo je intenzita napadení rostlin slabá). Houby rodu *Trichoderma* zpravidla završují sukcesní řetěz rozkladu nahromaděné organické hmoty (Okrouhlá, 1993).

Podle Dubos (1987), byly účinky hub rodu *Trichoderma* zkoumány na mnoha plodinách a byla prokázána i jejich příznivá účinnost. Jednou z plodin, na které byly prováděny pokusy je vinná réva, proti patogenovi rodu *Botrytis*. Jednou z podmínek úspěšnosti byla rovněž současná aplikace takových fungicidů, které budou kompatibilní s houbami rodu *Trichoderma*. Účinnost stoupala přímo úměrně s rostoucím množstvím spor v 1 ml biopreparátu. Rovněž záleží i na vhodném termínu aplikace a příznivých teplotách.

První pozitivní výsledky získal Grosclaude v roce 1970 při sledování stříbřitosti listů. Mohou být považovány za východisko při výzkumu využití houby *Trichoderma* spp. v biologické ochraně proti chorobám rostlin (Dubos, 1987).

Ve vzácných případech mohou být části některých kmenů hub *Trichoderma* spp. patogenní pro rostliny a způsobovat onemocnění obilí, stejně jako jablek, kukuřice a vojtěšky a některé kmeny mohou rovněž produkovat vysoce fyto toxické metabolity (Bailey, Lumsden, 1998).

Tyto houby ovšem nemusí mít pouze antagonistický účinek na ostatní mikroorganismy. Harman a kol. (2004) doložili, že užitečné houby zvyšují příjem nutričních látek a efektivnější využití dusíku a mohou také rozpouštět nutriční látky v půdě a rovněž pomáhají rostlinám překonávat stresy způsobené abiotickými faktory. A jak dále uvádí, mají stejné nebo podobné vlastnosti i jiné houby, jako například některé druhy hub *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. a *Phoma* spp.

#### **2.2.4.1. Antibiotická aktivita**

Druhy rodu *Trichoderma* produkují hojně antibiotika. Produkci antibiotik je nejvíce známa *Trichoderma viride*.

Antifungální antibiotika jsou popisována také u dalších zástupců rodu *Trichoderma*. U druhů tohoto rodu může být antagonistické působení prostřednictvím antibiotické aktivity

významné více, u jiných méně (Chet, 1987). Antibiotika působí synergisticky s enzymy (Benítez a kol., 2004).

Podle Okrouhlé (1993) byly původně sledovány účinky metabolitů hub rodu *Trichoderma* na klíčivost semen okurek, rajčat a květáku, kdy se vycházelo hlavně z vlivu produkováných antibiotik na některé mikroorganismy. Zjistilo se, že samotné metabolity působí toxicky. Je známo, že metabolity některých zástupců hub rodu *Trichoderma* vykazují jak stimulační, tak toxický vliv na růst a vývoj rostlin. Tyto pokusy prováděla Prokinová.

Kmeny hub *Trichoderma* spp. neprodukují pouze přímo vlastní antibiotika, ale rovněž silně stimulují rostliny k produkci jejich vlastních antimikrobiálních sloučenin (Harman a kol., 2004).

### **2.2.5. Mechanismus účinku hub rodu *Trichoderma***

Při preventivním použití osídlí houba *Trichoderma harzianum* povrch klíčících rostlin a substrát, kde brání šíření jiných hub (Hluchý, Zacharda, 1994).

Parazitace probíhá následovně : *T. harzianum* po setkání s patogenem vyklíčí, rostoucí mycelium oplétá svými hyfami hyfy patogena, vytváří haustoria a po rozpuštění buněčné stěny patogena proniká dovnitř a postupně způsobí jeho rozklad (Okrouhlá, 1993).

Mechanismus mykoparazitismu podle Harmana a kol. (2004): Jako první kmeny hub rodu *Trichoderma* detekují jiné houby a rostou směrem k nim (Chet, Harman, Backer, 1981), zachytí ho pomocí produkováného enzymu, který degraduje buněčné stěny. Houby produkují nízkou dávku extracelulární exochitinázy. Později houba přejde do přímého kontaktu s hostitelem a může se kolem něj ovinout a vytvořit na jeho povrchu apresoria. V této fázi produkují houby rodu *Trichoderma* několik fungitoxických enzymů rozkládajících buněčnou stěnu a pravděpodobně také antibiotika. Kombinace těchto aktivit způsobí u cílové houby rozklad buněčné stěny. Apresoria mohou způsobit proděravění povrchu houby a umožnit tak vstup hyf houby *Trichoderma* spp. do jejího lumen. V průběhu tohoto procesu je produkováno 20-30 známých genů, proteinů a dalších metabolitů, které se přímo reakce zúčastňují a jsou tedy součástí typického systému, který používají tyto houby při interakcích s dalšími organismy.

V užším smyslu může být mykoparazitismus brán pouze jako přímý kontakt mykoparazitických hub s potencionálním hostitelem. To může vyvolat navinutí kolem jeho struktur, případně jejich penetraci, rozvoj haustorií v biotrofním organismu, absorpci živin z cytoplazmy hostitele a její destrukci. Z praktického hlediska, produkce antagonistických metabolitů, které předcházejí fyzickému kontaktu nutnému k invazi mycelia potencionálního

hostitele může být rovněž významná pro vznik části esenciální reakce, která vede ke zjevnému fyzickému parazitizmu hostitele. Morfologické děje související s invazí do hostitelské houby jsou bezpochyby indukované biochemickými reakcemi. Např. hyfy mykoparazita mohou prokázat přímý růst směrem k potencionálnímu hostiteli přes atraktivní po rozptýlené metabolity (Evans, Cooke, 1982) nebo díky fimbriím přes povrch hostitele (Rghei a kol., 1992) nebo může být stimulován blízkostí potencionálního hostitele k produkci hydrolytických enzymů schopných degradovat stěny druhého. Čili mykoparazitické vztahy významné v širším smyslu, by mohly zahrnovat biochemické a fyziologické reakce, které předchází mikroskopicky viditelným jevům ovíjení, formování apresorií, penetrace, formování haustorií a degradace cytoplasmy (Jeffries, 1997).

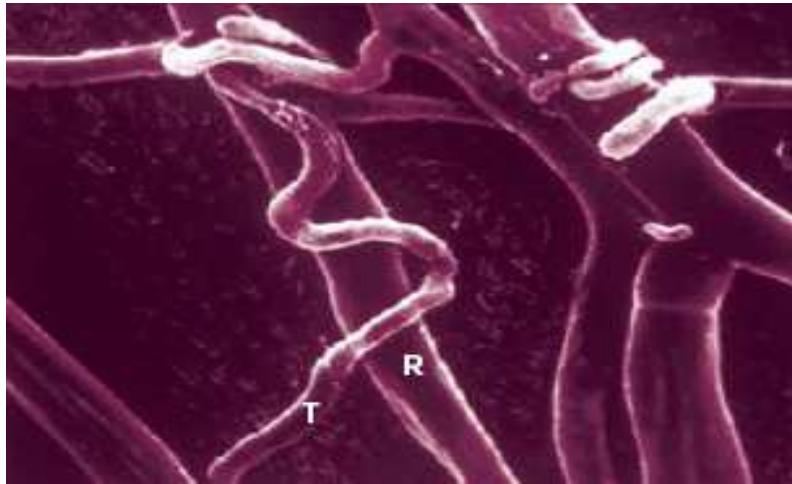
Vznik extracelulárních metabolitů produkovaných mykoparazitem při procesu parazitizmu je dobře zdokumentovaný. Relativní důležitost sekrece hyfálního enzymu degradujícího stěny je někdy sporná (Jeffries, 1997).

Jsou rozšířenými producenty extracelulárních proteinů a jsou jedni z nejznámějších díky své schopnosti produkovat enzymy, které rozkládají celulózu a chitin, přesto produkují i další užitečné enzymy. Například různé kmeny produkují více než 100 různých metabolitů s antibiotickou aktivitou (Harman, Kubicek, 1998).

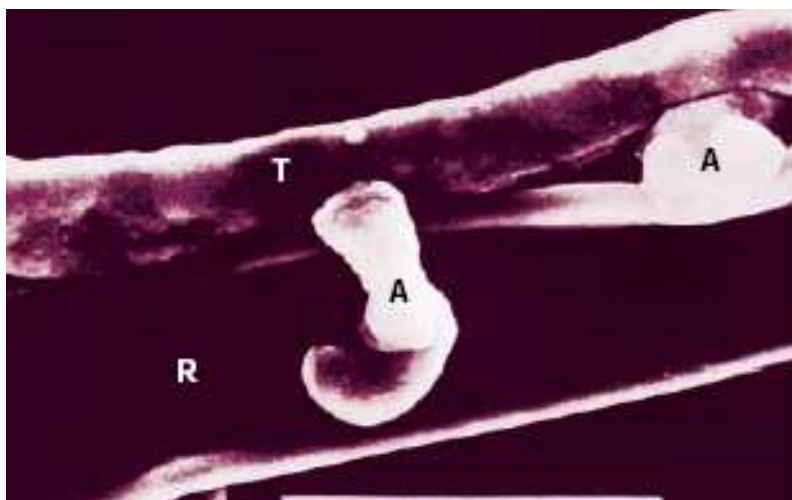
Na základě schopnosti houby *T. harzianum* potlačovat růst houby *Botrytis cinerea*, která je rozšířeným patogenem rostlin, byl vyvinut biopreparát na ochranu nadzemních částí rostlin. Bylo zjištěno, že mykoparazit je schopen najít zdroje výživy na povrchu rostlin a chránit rostlinné pletivo proti útoku dalších houbových patogenů (Brožová, 2004).

Reakce jednotlivých izolátů půdních patogenů *Rhizoctonia solani*, *R. cerealis*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* a *F. culmorum*, *Phytophthora nicotiana*, *P. cinnamoni*, *P. parasitica* a *P. cactorum* na houbu *Trichoderma harzianum* byly různé. Vyvýšení vrstvy mycelia, pigmentované nebo bezbarvé zóny a růst mezi myceliem, byly příznaky vyskytující se v místě styku mycelií. Přítomnost houby *Trichoderma harzianum* ovlivnila poměr jednotlivých izolátů v rychlosti růstu, především houby *Rhizoctonia* spp. a *Fusarium* spp. (Koutecká, Dušková, 1998).

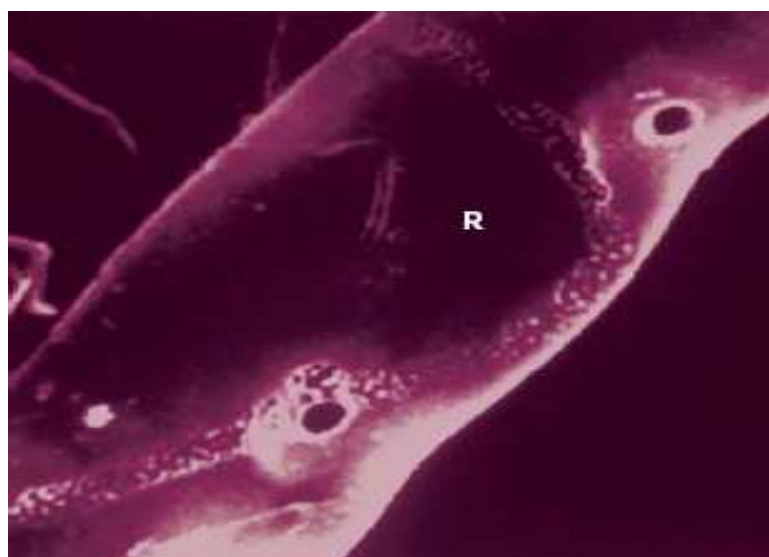
Rostliny reagují na invazi hub syntézou a akumulací fytoalexinů, flavonoidů a terpenoidů, fenolických derivátů, aglykonů a dalších antimikrobních látek (Benitez a kol., 2004).



**Obr.1** Hyfa houby *Rhizoctonia solani* parazitovaná houbou *Trichoderma* spp.



**Obr.2** Interakce mezi houbami *Trichoderma* spp. a *Rhizoctonia* spp., vytvoření struktur podobných aporesoriím



**Obr.3** Hyfa houby rodu *Rhizoctonia* po odstranění houby rodu *Trichoderma* z povrchu

### 2.2.6. Využití houby *Trichoderma harzianum*

Nejčastěji sledovaným druhem je *T. harzianum*. Dále byly některými autory pokusně ověřovány druhy *T. viride* a *T. hamatum* a ojediněle i další druhy (*T. lignorum*, *T. koningii*, *T. aureroviride*, *T. polysporum* a *T. pseudokoningii*). Ochrana rostlin antagonistickou houbou *T. harzianum* může být zaměřena na ochranu proti patogenům napadajícím oblast kořenů (ochrana rhizoplánu a proti patogenům napadajícím oblast nadzemních částí rostlin (ochrana fyloplánu) (Okrouhlá, 1993).

*Trichoderma harzianum* je anamorfní půdní houba rozšířená po celém světě. Je to fakultativní parazit širokého spektra hub, ale může rovněž žít saprofytický (Mulligan, Deacon 1992, cit. Brožová, 2004).

Michrina, Michalíkova a kol. (1995) prováděli s touto houbou pokusy tak, že pěstováním hub v systému protirostoucích kultur stanovili vysoký stupeň antagonizmu testovaných kmenů *Trichoderma harzianum* k fytopatogenní houbě *Fusarium culmorum*. Antagonistické působení nativního izolátu *Trichoderma harzianum* (B1) a jeho dvou benomyl-tolerantních mutací (1T a 4T) spočívalo v zastavení radiálního růstu houby *Fusarium culmorum* a v následném porůstání povrchu kolonie patogena. Všechny 3 testované kmeny *Trichoderma harzianum* vylučovali do prostředí extracelulární metabolity antibiotické povahy inhibující růst houby *Fusarium culmorum*. Nejvyšší stupeň inhibice radiálního růstu houby *Fusarium culmorum* (46,98%) pozorovali vlivem prchavých a neprchavých metabolitů (42,30%). Prchavé metabolity s nejvyšším inhibičním účinkem na růst fytopatogenního kmene houby *Fusarium culmorum* (37,61%) vylučoval mutant *Trichoderma harzianum* 4T.

Další testy, které Michrina, Michalíková a kol. (1995) provedli, zahrnovali i dvoukulturový test, který ukázal, že testované kmeny *Trichoderma harzianum* mohou být označeny jako vysoce antagonistické proti houbě *Fusarium culmorum* (ohodnoceno podle Bellovy stupnice). Každý kmen *Trichoderma harzianum* byl schopen zastavit radiální růst *Fusarium culmorum* a přerůst 10-15 mm zónu patogenní kolonie. Touto cestou kmen B1 kolonizoval 60,6 %, 1T a 4T obsadily 59,6 % a 60,4 %. Porůstání bylo spojeno se silnou sporulační kapacitou houby *Trichoderma* spp.. Při kontaktu obou kolonií byla pozorována ztráta červeného houbového pigmentu *Fusarium culmorum*. Za touto zónou byla pozorována další penetrace hyf houby *Trichoderma harzianum* do kolonie *Fusarium culmorum* ve formě slabé sporulace antagonisty na povrchu kolonie patogenní houby. Touto cestou kmen B1 zaujal 29,6 % povrchu kolonie. 1T a 4T kolonizoval 27,8 % a 25,9% povrchu.



Na působení houby může mít vliv i způsob její aplikace, neboť jak uvádí Kovach a kol. (2000, cit. Brožová, 2004) během čtyřletých polních pokusů v USA, *T. harzianum* přenášená čmeláky nebo včelami, poskytuje lepší ochranu jahod před *Botrytis* spp. než sprejová aplikace. Navíc tito přenašeči houbě *Trichoderma harzianum* poskytují stejnou nebo lepší úroveň ochrany proti *Botrytis* spp. jako komerční fungicidy aplikované na květy.

Antagonistická houba *Trichoderma harzianum* T35 chrání rostliny proti onemocnění způsobenému houbou *Fusarium oxysporum* konkurencí skrze kolonizaci rhizosféry i bojem o živiny, přičemž se snižující se koncentrací živin se zvyšuje efektivita biologického účinku (Tjamos, Papavizas, Cook, 1992).

### **2.2.6.1. Ochrana nadzemních částí rostlin**

Houby rodu *Trichoderma* jsou velice dobře známy pro svou schopnost kolonizovat kořeny, ale konidie *Trichoderma* byly rovněž aplikovány na ovoce, květiny a listy a jejich aplikace se využívá při ochraně rostlin proti chorobám všech zmíněných částí rostlin (Harman, 2000).

Okrouhlá (1993) uvádí tři strategie, které se uplatňují při biologické ochraně rostlin proti chorobám nadzemních částí rostlin. Těmito jsou: potlačení infekce, potlačení sporulace patogena a potlačení přežívání patogena.

Biologická ochrana nadzemních částí rostlin je méně propracována než ochrana v prostředí půdy, neboť v půdě se mohou antagonisté snadněji udržet a dostupnost levných a účinných fungicidů odradila od výzkumu biologické ochrany nadzemních částí rostlin (Okrouhlá, 1993).

### **2.2.6.2. Ochrana kořenových částí rostlin**

Jak uvádí Becker a Schwinn (1993) je 80 procent prací publikovaných v časopise *Phytopathology* v letech 1989-1991 věnovaných biologické ochraně proti půdním patogenům. To rovněž svědčí o významu půdou přenosných patogenů. Napadením kořenového systému je postižena celá rostlina, neboť kořeny neplní svoji základní funkci-výživu rostliny. Půdní patogeny napadající klíčící a vcházející rostlinky mohou působit jejich uhynutí, což je kritické z hlediska výnosu celého porostu. Z fytopatologického hlediska je tedy možno pohlížet na rhizosféru jako na „první linii obrany“ v ochraně před patogeny (Okrouhlá, 1993).

Pokusů zaměřených na použití antagonistických hub rodu *Trichoderma* a zvláště druhu *T. harzianum* bylo provedeno mnoho. Při výsadbě rostlin nebo jejich částí je většinou ošetřován substrát případně ta část rostliny, která přijde do půdy. Při výsevu semen plodin je ošetřováno

osivo. Někdy byla *T. harzianum* aplikována při výsevu osiva s pevným nosičem nejružnějšího složení (drcené zbytky rostlin, rašelina, jíl, uhlí, otruby) s eventuálním přídavkem potravní báze pro *T. harzianum* nebo dalších látek podporujících její růst (Okrouhlá, 1993).

Chet (1987) shrnul pozitivní výsledky, kterých bylo dosaženo při aplikaci *T. harzianum* na oddenky kosatců proti *R. solani* a *S. rolfsii*. Dobrých výsledků bylo dosaženo také při aplikaci *T. harzianum* ve směsi otrub a rašeliny (1:1) proti *R. solani*, *S. rolfsii* a *Fusarium* spp. Na pšenici, melounu a bavlníku.

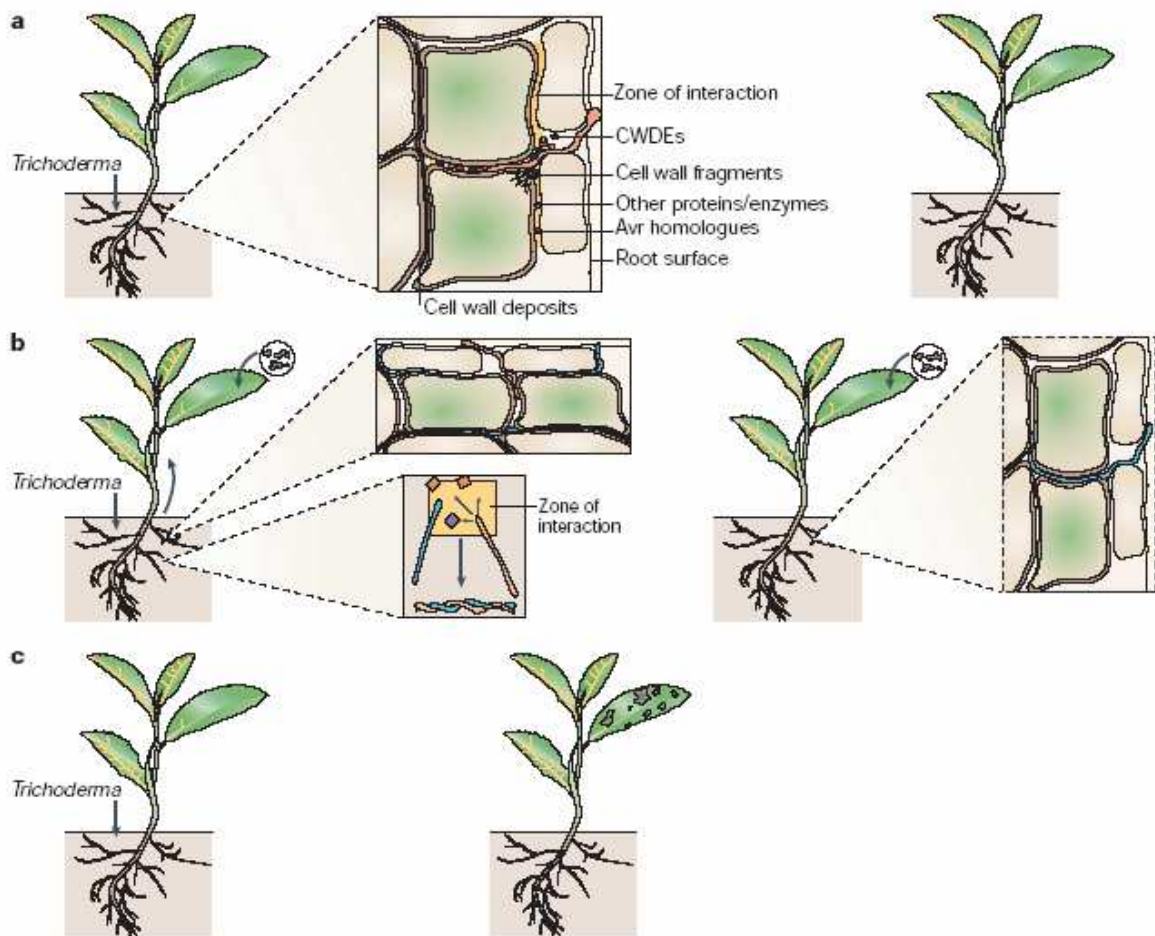
Kmeny houby *Trichoderma* spp. přidané do rhizosféry chrání rostliny proti mnoha patogenům, např. těm, které jsou přenášeny vzdušnými infekcemi, jako jsou viry, bakterie a houboví patogeni, kteří vyvolávají reakce podobné mechanismům hypersensitivity, získané systémové rezistence a indukované systémové rezistence v rostlinách (Harman a kol., 2004).

Aplikují se konidie nebo chlamydospory nebo směs obou přímo do půdy. Bioagens se může aplikovat samotné či ve směsi, pevné nebo kapalné. Lze k němu přidat adjuvanty (emulgátory, suspenzní látky, adheziva apod.). Může být finalizováno v pevné formulaci (prášek, granule, smáčitelný prášek) nebo v tekuté. Směs by měla obsahovat minimálně  $10^3$  nebo lépe  $10^7$  spor na gram přípravku (Chet, 1988, cit. Okrouhlá, 1993).

Aplikací antagonistů působících v rhizosféře může dojít ke snížení účinnosti infekce a následnému snížení schopnosti patogena pronikat přes kořenové špičky (Baker, Sher 1987).

Houba *Trichoderma harzianum* se na zdravých kořenech objevila pouze povrchově, zatímco mucinózní sliz kořenového vlášení a přilehlé části poraněných oblastí nebo poškozených částí kořenů byly značně kolonizovány (Thrane, Trosmo, Jensen, 1997).

Houba *Trichoderma harzianum*, kmen T-22 je v širší míře používán k ochraně proti chorobám namísto chemických fungicidů, protože je bezpečnější pro pěstitele, jeho ochranný efekt trvá déle než je tomu u chemických pesticidů, rovněž je levnější než chemické fungicidy, a růst kořenů může být stejný nebo lepší než je dosaženo pomocí pesticidů (Harman, 2000).



**Obr.4** Vliv přítomnosti houby rodu *Trichoderma* na kořenech rostlin

Harman a kol. (2004) předložili toto schéma, na jehož levé straně je znázorněna rostlina, na jejíchž kořenech je přítomna houba rodu *Trichoderma*. Ve žlutém poli (b) je oblast interakce s patogenem. Oranžový kosočtverec představuje enzymy produkované houbou *Trichoderma* spp., které rozpouští buněčnou stěnu patogena. Rovněž mohou být produkována antibiotika (fialový kosočtverec). Posledním krokem je samotná parazitace a produkce množství synergistických enzymů degradujících buněčnou stěnu hostitele a dalších substancí, následnou infekcí a smrtí patogena. Bez přítomnosti houby *Trichoderma* spp. (pravá část obrázku) je kořenový systém infikován patogenem a ten zde vyvolá onemocnění rostliny. Ta je rovněž nechráněná proti infekci listů, stonků i květů. Všechny části rostliny jsou slabší a trpí více onemocněními.

### 2.2.6.3. Vedlejší účinky

Houba *Trichoderma* spp. může ovlivňovat patogeny v půdě, může však také ovlivňovat rostliny vylučováním regulačního hormonu, který může zpětně zvyšovat rychlost růstu nebo využitelnost přijatých živin (Chet, 1987).

Chet (1987) uvádí, že aplikace houby *T. harzianum* v dávce nad  $10^5$  cfu na gram půdy do množárenských substrátů či skleníkové zeminy podpořila významně růst rostlin, což se projevilo ve zvýšení hmotnosti rostlin, jejich výšky, produkce květů a postranních výhonů u chryzantém a petunií. Dále uvádí výsledky jiných pokusů, kdy došlo po přidání konidií tohoto antagonisty k časnějšímu klíčení, prodloužení růstu rostlin, k nárůstu listové plochy a sušiny melounů, rajčat, okurek, paprik, ředkviček a fazolí. Bylo rovněž zaznamenáno časnější kvetení, což je u okrasných rostlin a zeleniny žádoucí. Stimulace růstu se projevila i po obalování osiva.

Jak uvádí Okrouhlá (1993) je řada autorů, kteří pozorovali zvýšení výnosu při používání přípravku Supresivit, hlavně jako mořidla.

Oves má mohutnou kořenovou soustavu. Druhotné, svazčité kořeny tvoří krátce po vzejití, při vytvoření 3. a 4. listu, během odnožování. Vše, co podporuje tvorbu kořenů, velmi kladně ovlivňuje výnos (Moudrý, 1993).

Zvýšení úrody může dosáhnout až 300% po přidavku houby *Trichoderma hamatum* nebo *Trichoderma koningii*. Ve sklenicích byly provedeny pokusy, které prokázaly zvýšení výnosu u rostlin, jejichž semena byla ošetřena sporami houby *Trichoderma* spp. (Chet, Inbar, Hadar, 1997).

První jasný důkaz o indukované rezistenci způsobené houbou *Trichoderma* spp. byl publikován v roce 1997 Brigirimanem et al.. Ukazuje, že půda obsahující houby *Trichoderma harzianum*, kmen T-39 způsobila vznik rezistence listů fazolu k nemocem způsobeným houbovými patogeny *Botrytis cinerea* a *Colletotrichum lindemuthianum*, přestože T-39 byl přítomen pouze na kořenech rostlin, nikoli na listech (Harman a kol., 2004).

Extrémně vysoké hustoty populace hub *Trichoderma* spp. změní houbu na patogenní pro osivo obilovin. Přesto může houba působit pro svou bujnou aktivitu jako bioagens velice dobře (Baker, 1986).

### 2.2.7. Možnosti využití

Možnost použít tyto houby jako bioagens byla navrhována již v raných stádiích výzkumu. Velký rozmach výroby a používání fungicidů zatlačil tuto šanci do zapomnutí. Teprve intenzivní celosvětové úsilí 80. let vedlo k vývoji komerčních biopreparátů na bázi této houby. Houby rodu *Trichoderma* patří mezi nejslibnější bioagens v boji proti rostlinným patogenům. Navíc se poměrně snadno a v širším měřítku vyrábějí a snášejí případnou společnou aplikaci s některými pesticidy. Jejich biologická účinnost může být rozšířena genovou manipulací. Mykoparazitické houby jsou přirozenými nepřáteli fytopatogenních hub, původců chorob (Okrouhlá, 1993).

Úspěch kmenů *Trichoderma* spp. jako bioagens je dán jejich vysokou schopností reprodukce, schopností přežívat nepříznivé podmínky, efektivní příjem živin, schopnost přizpůsobovat si rhizosféru, vysoká agresivita proti fytopatogenním houbám a efektivní podpora růstu rostlin a jejich obranných mechanismů (Benitez a kol., 2004).

Snadno dosažitelná a trvalá tolerance k fungicidům naznačuje, že antagonistické izoláty houby *Trichoderma* spp. mohou být vhodné pro program integrované ochrany proti houbovým chorobám rostlin (Vyas, Vyas, 1995). O tomto jevu se zmiňuje i Okrouhlá (1993), která říká, že se vědci snažili pomocí genové manipulace vytvořit kmen s optimálním spektrem účinnosti nebo kmen tolerantní vůči některým nejvýznamnějším pesticidům používaným v praxi.

Okrouhlá (1993) ale také upozorňuje na to, že rezistence *T. harzianum* vůči jednotlivým druhům pesticidů je vázána na její jednotlivé kmeny a nelze v tomto směru zobecňovat.

Houba *Trichoderma* spp. je ve skutečnosti vysoce rezistentní k mnoha toxinům a xenobiotickým sloučeninám, včetně antibiotik produkovaných ostatními mikroorganismy, rostlinným antimikrobním sloučeninám a chemickým fungicidům (Harman a kol., 2004).

Houby r. *Trichoderma* se osvědčily jako účinné bioagens v ochraně rostlin proti celé řadě ekonomicky důležitých, půdou i vzduchem přenosných patogenů. Účinné jsou různé druhy rodu *Trichoderma*. I v rámci jednoho druhu *T. harzianum* lze pozorovat různou účinnost v závislosti na izolátu eventuálně kmeni. Tak např. Chet (1987) uvádí ve svém přehledu, že byl jeden izolát *T. harzianum* účinný proti *R. solani* (padání klíčnicích rostlin fazolí, rajčat a lilku), ale neúčinný proti patogenu *R. rolfsii*. Pak objevili účinnější izolát, který působil také proti *R. rolfsii*.

První pokusy byly s houbou *Trichoderma* spp. uskutečněny na hrachu, poté následovaly další na bavlně a nakonec na rajčatech, jahodách a dalších plodinách.

Podle půdních vzorků, které byly odebrány v zemědělských regionech byla zjištěna přirozená populace hub *Trichoderma* spp. poměrně nízká, obvykle nepřekračovala  $10^2$  konidií v 1g půdy (Chet, 1987).

V tabulce č. 1 jsou uvedeny patogenní organismy, kterou mohou být hostiteli houby *Trichoderma harzianum*.

**Tab.1 Hostitelé houby *Trichoderma harzianum***

<b>hostitelé <i>Trichoderma harzianum</i></b>	odkazy
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	Ondřej (1997)
<i>Botrytis cinerea</i>	De Meyer et al. (1998)
	Míša (1997)
<i>Cephalosporium gramineum</i>	Martyniuk (1995)
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Ondřej (1997)
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	Bigirimana et al. (1997)
<i>Fusarium culmorum</i>	Michalíková, Michrina (1997), Koutecká, Dušková (1998)
<i>Fusarium culmorum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	Sivan a Chet (1989)
<i>Fusarium graminearum</i>	Ondřej (1997)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i>	Lifshitz et al. (1986)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i>	Sivan a Chet (1989)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lisi</i>	Koutecká a Dušková (1998)
<i>Fusarium solani</i>	Koutecká a Dušková (1998)
<i>Fusarium</i> sp.	Roháčik et al. (1991)
<i>Gaeumannomyces graminis</i> v. <i>tritici</i>	Martyniuk (1995)
<i>Glomus intraradices</i>	Rousseau et al. (1996)
<i>Mycocentrospora acerina</i>	Ondřej (1997)
<i>Phomopsis diachenii</i>	Ondřej (1997)
<i>Phytophthora cactorum</i>	Koutecká a Dušková (1998)
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	Koutecká a Dušková (1998)
<i>Phytophthora nicotiana</i>	Koutecká a Dušková (1998)
<i>Phytophthora parasitica</i>	Koutecká a Dušková (1998)
<i>Phytophthora</i> sp.	Dušková (1995)
<i>Pythium anhanidermatum</i>	Sivan et al. (1984)
<i>Pythium graminicola</i>	Lo et al. (1996)
<i>pythium</i> sp.	Lifshitz et al. (1986)
<i>Phizoctonia batati-cola</i>	Dušková (1995)
<i>Rhizoctonia cerealis</i>	Vyas a Vyas (1995)
<i>Rhizoctonia solani</i>	Koutecká a Dušková (1998), Lo et al. (1996)
<i>Rhynchosporium secalis</i>	Kulichová a Gregušová (1997)
<i>Sclerotinia homoeocarpa</i>	Lo et al. (1996)
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Ondřej (1997)

### 2.2.8. Biopreparáty

Biopreparáty obsahující živé organismy, které působí proti rostlinným patogenům, jsou v poslední době stále více používány v ochraně rostlin. Aplikace těchto přípravků minimálně zasahuje životní prostředí. Jedná se o antagonisty patogenních mikroorganismů, např. fytopatogenních hub přenosných semenem nebo půdou. Jednou z variant jejich introdukce do prostředí je jejich dokonalá homogenizace s minerálními hnojivy. Aplikací takovýchto směsí jsou spojeny 2 agrotechnické zásahy- výživářský a ochrannářský (Hýsek, Vach, Brožová, 2001).

Jednotlivé izoláty, se kterými byl a je vykonáván každoročně bezpočet pokusů u nás i v zahraničí, se ve svých účincích velmi liší. Pro praktické použití má cenu jen ten preparát, který je dostupný komerčně. Aby jej bylo možno účelně využít, je nutné vypracovat komplexní metodiky a účelně je propojit s technologií pěstování, zvláště u jednotlivých druhů okrasných rostlin a dalších plodin (Okrouhlá, 1993).

Tři komerční produkty na základě hub rodu *Trichoderma* používané v zahraničí jsou Trichodex, Binab TF WP a Roothshield.

Hýsek a Vach (2006) ve své práci na jarním ječmeni poukazují na to, že vlivem působení biopreparátů klesá počet patogenních fuzárií asi o polovinu jejich celkového počtu. Proto je napadení kořenů nižší a výnos se zvýší. K uvedenému jevu došlo na všech pokusných plochách ošetřených biopreparáty. Z pokusů vyplývá, že antagonistické mikroorganismy (*Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*) nepotlačují růst uvedené houby v takové míře jako růst patogenních fuzárií.

#### 2.2.8.1. Supresivit

Biofungicid Supresivit byl připraven v ČR a registrován v roce 1994, původně pro využití na hrachu. Přípravek obsahuje konidie *Trichoderma harzianum* v počtu  $1,4 \cdot 10^{10} \cdot g^{-1}$ . Efektivní kmeny byly vytvořeny spojením protoplastů dvou přírodních kmenů a jsou charakterizovány kompatibilitou s rhizosférou, tolerancí k mancozebu a dikarboximidovým fungicidům, rychlým růstem a mykoparasitickou aktivitou (Okrouhlá, 1993).

Pro potřeby alternativního zemědělství byl hledán biopreparát, který by mohl nahradit konvenční pesticidní mořidla a případně fungicidní ošetření během vegetace. V maloparcelkových pokusech proto byla testována na jarním ječmeni a bezpluchém ovsu biologická účinnost biopreparátu Supresivit. Toto biologické ošetření bylo porovnáno s chemickým mořením osiva Rovralem TS (ú.l. *iprodione*) a neošetřenou kontrolou. Bylo vyhodnoceno napadení porostů houbovými chorobami (padlím, rzí, sněťí aj.). Vysoké teploty

panující během léta 1992 a intenzivní sluneční záření vedly k poklesu infekčního tlaku a hodnocení účinnosti preparátu proti chorobám je proto limitováno. Zajímavé však bylo porovnání výnosů. Na variantě ošetřené Supresivitem bylo dosaženo nejlepších výnosových parametrů (nejvyšší hmotnosti 1000 zrn a objemové hmotnosti) (Voženílková, 1993).

Základem biofungicidu jsou konidie antagonistické houby *Trichoderma harzianum*. Tato houba potlačuje růst mnoha parazitických a saprofytických hub. Velmi rychle osidluje různá organická média, přerůstá i mnohé houby kultivované na Petriho miskách na umělých živných půdách i v přírodních podmínkách. Ve směsi s minerálním hnojivem má však omezenou dobu životaschopnosti (Hýsek, Vach, Brožová, 2001).

Finální preparát obsahuje spory a mycelium mykoparazitické houby *T. harzianum* v inertním anorganickém plnidle. Titr minimálně  $1,4 \cdot 10^{10} \cdot \text{g}^{-1}$ , klíčivost spor minimálně 70 procent. Přípravek není patogenní pro člověka ani pro hospodářská zvířata. Účinnou složku tvoří kmen *T. harzianum* Rifai aggr. SMTN/RH/Su, získaný fúzí protoplastů dvou kmenů (přírodních izolátů) a vyznačující se zvýšenou kompatibilitou s kořenovou soustavou rostlin, rychlým růstem a vysokou mykoparazitickou aktivitou (Okrouhlá, 1993).

Podle Duškové (1995), použité kmeny neprodukují antibiotika ani gliotoxin. Neinhibují cysty bakterií na luštěninách ani vztahy mykorrhizy. Je registrován pro použití do obilí, kukuřice, řepky, zeleniny, okrasných rostlin, okrasných stromů a jehličnanů proti houbovým chorobám.

Pro správnou účinnost biopreparátu je důležitá doba aplikace a vhodný termín pozorování napadení, protože jak uvádí Hýsek a kol. (2001), je nižší napadení rostlin houbovými chorobami nejlépe patrné v době minimálně 1 měsíc před sklizní, nikoli v době sklizně, kdy se zevní příznaky zejména u obilovin již těžko odlišují. Opakovaná aplikace hnojiv s biofungicidem na jaře má význam pro opětovné potlačení patogenních hub, které v tomto období zvyšují svou aktivitu. Účinek biopreparátu se projevil na celkovém výnosu, na HTZ a na počtu semen v klase nebo v šešulích, neboť ten může být také redukován fytopatogenními houbami (např. rodu *Fusarium*).

Supresivit ovlivňuje šíření infekce, ale nemá léčebné účinky (Dušková, 1991) a je účinný proti komplexu půdních fytopatogenních mikroorganismů jako např.: *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Pythium*, *Colletotrichum*, *Veticillium*, *Phomopsis* spp. aj. V pokusech in vitro se potvrdil antagonistický účinek na laboratorní kmeny fuzárií i na izoláty *Fusarium* spp., pocházející z pěstitelských ploch v různých lokalitách (Ujhelyiová et al. 1993, cit. Okrouhlá 1993).

Aktivní složka Supresivitu (vzdušné spory) se připravuje povrchovou fermentací v umělém kapalném médiu (Okrouhlá, 1993).



## 2.3. Houby rodu *Fusarium*

### 2.3.1. Morfologie

Houby rodu *Fusarium* patří do třídy *Ascomycetes* (anamorfní stádium patří mezi *Fungi imperfecti*). Houby vytvářejí bohaté myceliální porosty světlých barev, plstnaté nebo vatovité, s provazcovitými myceliálními svazky, které vzlínají po stěnách kultivačních nádobek. Spodní strana kultury bývá pestře zbarvena (Fassatiová, 1979).

Konidiofory jsou málo nebo hojněji větvené. Na ose konidioforu se tvoří vstřícně nebo přeslenovitě protáhlé fialidy, které plodí konidie, nebo se nejprve vytvoří větévky, které nesou vlastní konidionosné buňky. Jsou známy mikrokonidie, které jsou jednobuněčné, elipsoidní, oválné nebo široce vejčité, a makrokonidie, jež mohou být dvou až vícebuněčné a mají rohlíčkovitý tvar (Fassatiová, 1979).

Houby (*Fungi*) jsou eukaryotické, stélkaté organismy, jejichž heterotrofie je odkazuje k saprofytickému, parazitickému nebo symbiotickému způsobu výživy (Leišová, 2006).

Rod *Fusarium* zahrnuje jak fytopatogenní, tak nepatogenní kmeny a rasy. Nepatogenní druhy jsou známy tím, že mají silnou biologickou aktivitu, nedávno byla u těchto hub prokázána indukce rezistence k patogenním kmenům a rasám hub rodu *Fusarium* nebo *Pythium ultimum* (Harman a kol., 2004).

### 2.3.2. Onemocnění způsobená houbami rodu *Fusarium*

Druhy tohoto rodu žijí saprofytický v půdě, na rostlinných částech, ale jsou i parazitické na vyšších rostlinách. Způsobují hniloby některých plodin (např. jablek, rajčat, kukuřice), dále onemocnění celková, která se šíří cévními svazky (tracheomykózy). Velmi často parazitují na semenáčcích obilnin, u nichž způsobují hnilobu mladých stonků. Nákaza se přenáší z půdy nebo semeny. Tyto houby žijí v půdě v tzv. rhizosféře, tj. v nejbližší zóně okolo kořínků. Pokud nedochází k parazitické činnosti, vytváří se určitá volnější symbióza mezi nimi a kořenovými buňkami (Fassatiová, 1979).

Leišová (2006) poukazuje na to, že nejčastějšími chorobami obilnin jsou právě choroby způsobené houbovými patogeny. Způsobují značné ekonomické ztráty, a proto se jejich studiu věnuje stále větší pozornost.

Výskyt fuzarióz na území České republiky je sledován v rámci studie prováděné ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou. V současné době jsou k dispozici výsledky získané sběrem klasů podezřelých z napadení fuzariózou klasu, který probíhal ve třech ročních (2003-2005) (Chrpová a kol., 2006).

Ačkoli jsou prováděna různá ochranná opatření, význam fuzarióz na obilninách v posledních letech vzrostl. Čača (1990) spatřuje důvod ve vytvoření příznivých předpokladů pro jejich výskyt a rozšíření zvýšením zastoupení a koncentrace obilnin. Na obilninách se vyskytuje početné spektrum druhů hub z rodu *Fusarium*, které napadají nadzemní části rostlin. Proto také i symptomy napadení hostitelů jsou různé a velmi početné. V krajních případech podmiňují fuzariózy vyzimování obilnin, na druhé straně předčasné zbělení především klasů a odumírání celých rostlin.

Jako příčinu onemocnění můžeme najít asi 15 druhů tohoto rodu ve všech fázích vývoje rostlin. Nákaza může být přenášena osivem. Napadené obilky mají klíčky často deformované a zkroucené a většinou zahynou ještě před vzejitím. Infikované mohou být též okolní rostliny, které jsou však správným mořením po určitou dobu chráněny. Významnějším zdrojem infekce jsou napadené rostlinné zbytky v půdě (Sychrová, Chrpová, Šíp, 2006).

Kromě výše zmíněného vyzimování, které je způsobeno druhem *Fusarium nivale*, uvádí Čača (1990) i další zástupce rodu *Fusarium*, kteří škodí na obilninách. Největší areál rozšíření má *Fusarium culmorum*, velmi časté jsou *Fusarium graminearum* a *Fusarium avenaceum*, časté jsou *Fusarium oxysporum* a *Fusarium moniliforme*. Napadají hostitele ve všech obdobích růstu, a to podzemní i nadzemní části, takže se napadení projevuje mnoha různými symptomy.

Loiveke (2004) prováděl v letech 1973-1981 výzkumy na různých obilninách, při kterých zjistil, že oves je k napadení fuzárií velice náchylný. Infekce byla zjištěna u 87% vzorků a průměrné napadení bylo 33% .

### **2.3.2.1. Napadení klasů obilnin**

Původce chorob klasů obvykle vnímáme jako patogeny přenosné osivem (i když patogen přenosný osivem nemusí nutně vyvolat chorobu zrna, obvykle je původcem onemocnění vzcházející a starší rostliny) (Prokinová, 2005).

Mimořádná komplikovanost ochrany proti klasovým fuzáriím spočívá mimo jiné také v tom, že se ve skutečnosti jedná o ,komplex chorob, na kterém se účastní různé patogenní druhy. Kromě toho, že důsledkem napadení může být redukce výnosu a pokles zpracovatelské kvality, kontaminují původci klasových fuzarióz obiloviny svými toxickými produkty, mykotoxiny (Polišenská, Nedomová, Tvarůžek, 2007).

Patogen se v porostech šíří konidii a askosporami. Prvním příznakem napadení fuzárií v klasech jsou drobné skvrnky na plevách nebo bělení květních obalů až celých klásků u pšenic. U fuzarióz při postupujícím vývinu patogena se za příznivých podmínek (dostatečné

vlhkosti) brzy začnou na napadeném pletivu tvořit růžové až rumělkové povlaky a vrstvy konidií, které jsou zřetelným příznakem napadení (Sychrová, Chrpová, Šíp, 2006).

Jejich vysoký výskyt je podmíněn hlavně deštivým počasím v době kvetení a zrání. Byla prokázána i souvislost mezi silným výskytem mšic a četnějším napadením rostlin-hlavně listů-houbami rodu *Fusarium*. Napadené listy mohou být zdrojem infekce klasů (Prokinová, 2001).

Při úspěšné infekci se vytváří velké množství mycelia, které prorůstá cévními svazky a brání transportu živin. Výsledkem je vybělení takovéto části klasu nebo i celého klasu (Ort, 2005).

Fuzariózy klasů byly donedávna považovány za problém pouze u pšenice a ječmene. Problém spočívá v tom, že na rozdíl od těchto plodin, kde jsou příznaky napadení zřejmé již za vegetace, u ovsa nemusí být napadení fuzárií v polních podmínkách vůbec viditelné. Patogeny *Fusarium* spp. však oves v příznivých klimatických podmínkách zcela běžně napadají a také jej kontaminují svými toxickými produkty (Polišenská, Nedomová, Tvarůžek, 2007).

Škodlivost fuzárií v klasech spočívá nejen ve snížení výnosu, ale zejména v horší kvalitě produkce-nižší HTS, a zejména v nežádoucí produkci mykotoxinů (Bezdíčková, 2006). Snížení produkce rovněž uvádí i Sychrová, Chrpová, Šíp (2006) a zmiňují navíc i ohrožení použitelnosti zrna k potravinářským a krmným účelům nebo jako osiva.

K napadení klasů dochází v období kvetení a zelené zralosti. Infekční jsou spory hub, které jsou na klasy zanášeny pohybem vzduchu, deštěm, popř. na těle hmyzu. Spory produkují houby, které osidlují mrtvou organickou hmotu na povrchu pozemku. Houby rodu *Fusarium* jsou běžnou součástí mikroflory půdy a organických zbytků. Intenzitu napadení klasů ovlivňuje řada faktorů. Nejznámější je vliv předplodiny, význam má i způsob zpracování půdy (Prokinová, 2005). Další faktory uvádí Bezdíčková (2006). Jsou jimi bezorebné zpracování půdy, vysoké zastoupení obilnin v osevním postupu, husté porosty, případně přehnojené dusíkem a náchylné odrůdy.

Dosavadní výsledky pokusů ukazující míru kontaminace zrn houbami rodu *Fusarium* nemají přímou souvislost s výnosem. Podle vyhlášky 175/2004 Sb. je přípustné napadení zrn osiva ve všech stupních do 10 % (Prokinová, 2005).

Fuzária napadají paty stébel, listy a klasy. Škody, které vznikají po napadení klasů, jsou určitě nejvýznamnější. Zejména dva nejčastější druhy (*Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*) jsou velmi nebezpečné svou produkcí mykotoxinů (Ort, 2005).

### 2.3.2.2. Napadení kořenů, stébel a listů obilnin

V ČR se nejčastěji vyskytuje *Fusarium graminearum* (v teplejších oblastech), *Fusarium culmorum* (v chladnějších oblastech, *F. avenaceum* a *F. poae*). Fuzária napadají báze stébel, listy i klasy (Bezdíčková, 2006).

*Fusarium rozeum* se podílí na tzv. hynutí klíčících a vzcházejících rostlin a je také součástí komplexu chorob pat stébel (Ort, 2005).

Patogeny z rodu *Fusarium* napadají kořeny obilnin a působí jejich hnilobu. Napadené kořeny jsou hnědé, jindy nažloutlé, narůžovělé až červené. Na listech se mohou objevit vodnaté oválné tmavěji zelené skvrny, někdy i dost velké. Během zrání porostů z podmínek příznivých pro patogeny je lze nalézt na stéblech i uvnitř stébel, na kolénkách spodních internodií tvoří někdy porosty konidií (Sychrová, Chrpová, Šíp, 2006).

Z výsledků výzkumů, které ve své práci uvádí Joffe (1986) vyplývá, že největším zdrojem toxických hub je půda (11,2%), méně se jich nachází v zrna (10,7%) a nejméně ve vegetativních částech obilnin (6,2%).

### 2.3.3. Podmínky vhodné pro rozvoj patogena

Rozhodujícím faktorem pro napadení klasů jsou povětrnostní podmínky v době květu obilnin. Nejvhodnější pro šíření infekce jsou teploty kolem 20 °C při dostatečné vlhkosti vzduchu. Drobné srážky střídané krátkými obdobími slunečního svitu podporují šíření patogena a napadení kvítků. U časně napadených kvítků se většinou obilka nevyvine nebo je drobná, deformovaná, často jen slupka. Pozdější napadení obilek (při rozrůstání patogena v klasu) má za následek jejich deformaci, jsou scvrklé a lehké. Takto poškozená zrna se většinou při sklizni odfouknou do odpadu. Větší nebezpečí představují obilky napadené až v době mléčného nalévání, dozrávání a později. Nové infekce obilek a šíření patogena v klasu může probíhat po celou dobu zrání až do sklizně. Silně napadené obilky, kde původce prorostl až do endospermu, jsou bělavé až bílé (někdy mají i slabě růžový nádech) a křehké, snadno se lámou nebo rozdrťí, obsah mykotoxinů ve zbělených zrnech bývá vysoký. Pokud se vlivem vnějších podmínek prodlužuje zrání, nebezpečí rozvoje choroby a produkce mykotoxinů stoupá (Sychrová, Chrpová, Šíp, 2006).

Také podle Orta (2005) je faktorem, který významně zvyšuje nebezpečí výskytu těchto chorob, průběh počasí v době květu. Nebezpečí se zvyšuje v souvislosti s opožděním sklizně.

Účinnost fungicidů proti klasovým fuzáriím je všeobecně nižší než účinnosti fungicidů dosahované proti listovým chorobám. Zásadním momentem pro úspěšnost ošetření je kromě volby fungicidů jeho správné načasování (Bezdíčková, 2006).

Je třeba sledovat informace ÚKZÚZ, které jsou každoročně aktualizovány a vycházejí jak z výsledků získaných z široké pokusné báze při přirozené infekci v provokačním prostředí, tak z výsledků provokačních testů (Sychrová, Chrpová, Šíp, 2006).

Kontaminace obilnin toxiny produkovanými houbami rodu *Fusarium* je celosvětový problém, který se vyskytuje v různých geografických oblastech a různých ekologických podmínkách. Nejvhodnější substráty pro produkci toxinů jsou malé zrniny (pohanka, rýže, pšenice, ječmen, žito, oves a čirok) a samozřejmě kukuřice. Výsledky výzkumů ukazují, že toxické kultury jsou narozdíl od netoxických kryofilní (Joffe, 1986).

#### **2.3.4. Mykotoxiny**

V současné době nestačí jenom nabídnout zdravotně nezávadné, kvalitní a biologicky plnohodnotné potraviny. Je nutné poskytnout také jasné a nezpochybnitelné důkazy o sledování zdravotní nezávadnosti potravin, okamžitě využívat nejnovější vědecké poznatky a předkládat o tom přesvědčivé důkazy ve srozumitelné a spotřebiteli přístupné formě (Váňová, Tvarůžek, Hajšlová, 2005).

Hospodářský význam fuzarióz závisí na jejich rozšíření a stupni napadení rostlin. I když se s nimi setkáváme ve všech výrobních oblastech, častější výskyt je registrován při extrémních podmínkách, za vlhčího počasí, na oslabených porostech. Některé uvedené houby produkují mykotoxiny, které nepříznivě ovlivňují zdravotní stav zvířat a lidí (Čača, 1990).

Houby rodu *Fusarium* jsou významnými podmíněně patogenními houbami, které jsou přenášeny půdou a větrem a za vhodných podmínek působí choroby obilnin (Hýsek, Vach, 2006).

V současné době je v ČR, jako v jednom ze členských států Evropské unie, laegislativně omezen obsah mykotoxinů deoxynivalenolu (DON) a zearalenonu (ZEA) v obilovinách určených pro potravinářské využití. Zatímco u pšenice a ječmene jsou klasová fuzária a s nimi související problém výskytu mykotoxinů diskutovány v odborné praxi již dlouhou dobu, informace o tom, že tento problém je vysoce aktuální i u tak tradičně „zdravé plodiny“, jakou je oves, je poměrně nová (Polišenská, Nedomová, Tvarůžek, 2007).

Je známo více než 100 popsanych mykotoxinů produkovaných houbami rodu *Fusarium* a jejich počet roste, neboť se zdokonalují metody na jejich stanovení (Váňová, Tvarůžek, Hajšlová, 2005) a jak dodává Sychrová, Chrpová a Šíp (2006) je obsah mykotoxinů i nově sledovaným parametrem pro nákup produkce obilnin. Limity maximálního obsahu fuzariových toxinů v obilninách podle nařízení komise (ES) č. 466/2001 (včetně novely nařízení č. 856/2005) jsou následující: deoxynivalenol (DON) – 1,25 mg/kg, zearalenon

(ZEA) – 0,1 mg/kg, pro nezpracované obilniny kromě pšenice tvrdé, ova a kukuřice s účinností od 1. 7. 2006.

Většina druhů produkuje mykotoxiny trichothecenového typu jako jsou deoxynivalenol (DON), diacetoxyscirpenol (DAS), nivalenol (NIV), T-2 toxin, HT-2 toxin a další, které kontaminují potraviny. Druhy rodu *Fusarium* mohou též produkovat zearalenon, což je toxická látka podobné chemické struktury jakou jsou steroidní hormony. Druhy rodu *Fusarium* přežívají v půdě zvláště na rostlinných zbytcích a to jednak na zbytcích různých plevelů, ale i na zbytcích obilnin (Hýsek, Vach, 2006).

Jak uvádí Ort (2005), je toxicita mykotoxinů velmi vysoká jak pro lidi, tak i pro zvířata. Závažné poškození působí již při velmi nízkých koncentracích. A za nejzávažnější z uvedených mykotoxinů označil nivalenol (NIV), deoxynivalenol (DON) a zearalenon (ZEA).

V Evropě jsou na ovsu často udávány nálezy *F. langsethiae*, které je morfologicky podobné *F. poae* a také stejně jako tento druh produkuje T-2 a HT-2 toxin. Sledování ve Velké Británii v letech 2002-2005, kdy byl zkoumán obsah mykotoxinů u 324 běžně pěstovaných vzorků ova, ukázala, že právě tyto mykotoxiny se v ovsu často vyskytují a to poměrně ve velkých koncentracích (Polišenská, Nedomová, Tvarůžek, 2007).

Podle výzkumů Sychrové, Chrpové a Šípa (2006) se jako rozhodující pro akumulaci mykotoxinu DON ukázaly (a studie to také potvrdily) teplotní a vlhkostní podmínky 4-7 dní před kvetením a 3-6 dní po kvetení. Při rozhodování by mohly být prospěšné též modely predikce vývoje choroby na základě vyhodnocování meteorologických údajů, které jsou používány např. v Kanadě.

Infikované zrno se může následně dostat do potravin nebo krmiv a zde se mykotoxiny stávají velkým nebezpečím pro lidi i zvířata (Ort, 2005).

Fuzariové toxiny se v tělech zvířat nemusí rozkládat a jsou transportovány do produktů - vajec, masa, mléka a mají tak vliv na lidské zdraví (Schachermayr, Fried, 2000).

Mnoho vědců rovněž prokázalo, že většina toxinů je termostabilní, takže se nerozkládají ani během termálních procesů, jakými jsou vaření, ovařování, dušení a jsou obsaženy i v tmavém i světlém chlebu (Obenauf, 2002).

Ke kontaminaci produktů mykotoxiny může dojít v období před sklizní a nebo během skladování (Váňová, Tvarůžek, Hajšlová, 2005)

### 2.3.5. Možná ochranná opatření

Boj proti této závažné chorobě je založen na agrotechnických opatřeních, fungicidní ochraně, pěstování odrůd s vyšší odolností ke klasové fuzarióze a k akumulaci mykotoxinů, pozornost se věnuje i možnostem biologické ochrany. Ochranná opatření by měla vycházet z podmínek příslušného ročníku, při rozhodování o aplikaci fungicidu je třeba brát v úvahu předplodinu, způsob zpracování půdy i to, zda v dané oblasti již byly problémy s nadlimitním obsahem mykotoxinů. V problematických oblastech je vhodné volit odrůdu s vyšší odolností. Je zřejmé, že ke snížení rizik je třeba použít komplex opatření (Chrpová a kol., 2006).

Tento názor sdílí i Váňová, Tvarůžek a Hajšlová (2005), kteří doporučují jak fungicidní ochranu, tak uplatnění takových technologií pěstování, které budou snižovat nebezpečí tvorby silných zdrojů infekce na zbytcích hostitelských rostlin nepřestanou mít svůj význam .

Problém při výkupu zrna a následném zpracování představuje výskyt snětí a fuzarióz (Sychrová, Chrpová, Šíp, 2006).

Políšenská (2006) ve své práci uvádí, že při sklizni může být kontaminace obilí redukována čištěním bezprostředně po sklizni, dalším následným čištěním, obrušováním a vymíláním. Při skladování potom prevence spočívá v rychlosti sušení zrna a vhodných podmínkách skladování.

### 2.3.6. Nejběžněji se vyskytující druhy

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

Zastoupení jednotlivých druhů hub *Fusarium* závisí nejen na druhu obilniny, ale rovněž na ročníku. V suchých letech bylo zastoupení druhů nejmenší (Loiveke, 2004).

#### 2.3.6.1. *Fusarium solani*

Mycelium šedobílé, vločkovité, spodní strana modrá nebo hnědomodrá (na bramboroglukosovém agaru). Makrokonidie se vytvářejí na bohatě větvených konidioforech, jsou válcovité až srpovité, někdy širší u báze a se zřetelně vyvinutou nožkou. Vyskytuje se v půdě a napadá příležitostně bramborové hlízy, plody rajčat a semena obilí, ovšem jen druhotně na poraněných místech nebo současně s jiným houbovým parazitem (Fassatiová, 1979).

### **2.3.6.2. *Fusarium oxysporum***

Vzdušné mycelium na sladinovém agaru poměrně nízké, pavučinovitě se rozrůstající, většinou fialově růžové nebo červenofialové, právě takové je i substrátové mycelium. Zřídka je porost bílý. Makrokonidie jsou větvenovitě srpovitě, elipticky zahnuté nebo téměř přímé, stejně široké na obou koncích s postupně se zužující vrchní buňkou, spodní buňka má jasně vytvořenou nožku. Mají 3 až 5 přepážek.

Je to na celém světě velmi hojný druh, v půdě i na rostlinných částech jako saprofyt. Existuje řada forem, které parazitují a jsou specializovány na určité druhy rostlin (např. na len, cukrovku, hrách, rajčata, brambory, cibuli atd.) (Fassatiová, 1979).

### **2.3.6.3. *Fusarium poae***

Vzdušné mycelium na sladinovém agaru roste velmi rychle, je bílé, bíločervené nebo červené. Substrátové mycelium krvavě červené nebo okrově žluté až hnědé. Makrokonidie vznikají na vzdušném myceliu, jsou větvenovitě srpovitě, s pozvolna se zužující vrchní buňkou, se slabě vytvořenou nožkou.

Vyskytuje se hojně v půdě, na rostlinných zbytcích, jako parazit na zrnech obilí, na některé zelenině a byl zjištěn i na hmyzu a vyšších houbách. Produkuje toxin fusariogenin, zvláště na přezimujících obilkách na poli, který může způsobit u lidí aleukie a hemorhagie (Fassatiová, 1979).

Tyto houby produkují toxické trichotheceny, které se v přírodě hojně vyskytují především v regionech s mírným klimatem a mají souvislost s výskyty intoxikací u lidí i zvířat. *F. poae* vykazuje aktivní růst v rozmezí teplot od 25 do -7 °C. Při poklesu teplot níže než -7 °C je jeho růst zastaven (Joffe, 1986).

### **2.3.6.4. *Fusarium culmorum***

Porosty na sladinovém agaru velmi rychle rostou a vytvářejí bílé vločkovité mycelium, které později žloutne až červená od pigmentu, který se vytváří v substrátovém myceliu a prolíná i na spodní stranu kultury.

Makrokonidie se zřetelně vytvořenými 3 přehrádkami. Parazituje na řadě rostlin dvouděložných i jednoděložných, velmi často na kulturních trávách. V přírodě se na přirozeném substrátu pozná podle korálově zbarvených sporodochií na rozdíl od *F. avenaceum*, které tvoří sporodochia oranžová (Fassatiová, 1979).

Optimální teploty pro růst jsou kolem 25 °C, minimální teplota je potom 0 °C a maximální, při které houba ještě roste je 31 °C. Kolonie mají rychlý růst a jsou růžové až



vínové. Makrokonidie jsou ve srovnání s ostatními fuzarií relativně krátké a široké, mikrokonidie nejsou produkovány. Tento patogen je rozšířen celosvětově zvláště v půdě a na cereáliích. Způsobuje krčkové i kořenové hniloby u obilnin a napadá i uskladněné brambory a cukrovou řepu. Produkuje řadu mykotoxinů, zvláště trichotheceny a zearalenon (anonym 1).

#### **2.3.6.5. *Fusarium graminearum***

Kultury na glukoso-bramborovém agaru po 5 dnech šedořůžové až živě červené, později hnědočervené, se sektory bílými nebo šedožlutými. Vzdušné mycelium vločkovité, zpočátku bílé. Vzhled kultury i její zbarvení je značně závislé na typu živné půdy a pH. Makrokonidie jsou srpovité s protáhlou nebo i zkrácenou apikální buňkou, jindy zřetelně dorziventrálně stavěné s nápadně vyvinutou nožkou na bazální buňce. Bývají se 3 až 7 přepážkami.

Produkuje toxiny zvané scirpény (zearalenon), které způsobují gastroenterotoxikózy u vepřového dobytka, ovcí a koní. Napadená skladovaná kukuřice působí u vepřů a drůbeže abortivně (Fassatiová, 1979).

Způsobuje onemocnění na pšenici, ječmeni, rýži a ovsu. Patogen může rovněž infikovat další rostlinné druhy bez zjevných projevů onemocnění. Způsobuje nejvážnější onemocnění v mírných a subtropických oblastech. Je schopen v několika týdnech zničit potenciálně vysokou úrodu. Způsobuje ztráty na výnosu a kvalitě kvůli vzniklé sterilitě kvítků, diskoloraci zrn, jejich odumírání a nízkou váhu (Goswami, Kistler, 2004).

Houba přezimuje jako saprofytické mycelium a ve vlhkém jaru jsou optimální podmínky pro produkci konidií a peritécií, které produkují askospory infikující kvetoucí obilné klasy (Markell, Francl, 2003).

## **2.4. Ostatní diagnostikovaní patogeni**

### **2.4.1. *Mucor hiemalis***

Porost je bílý, světle šedý nebo žlutavý, vysoký 10 až 20 mm. Sporangia velká, v době zralosti šedohnědá. Pro spory je typické, že mají velmi nestejný tvar, jsou dlouze oválné nebo ledvinité, nahloučeny mají barvu temně hnědou až zelenou. Velmi rozšířený druh zvláště v lesních půdách. Byl izolován ze skladů různých potravin, z uskladněné kukuřice i z dalších rostlinných substrátů. Mohutně produkuje organické kyseliny. Osazuje organický substrát jako první, po nich teprve následují houby nedokonalé a vřeckaté (Fassatiová, 1979).

Má mnohojaderné mycelium bez přehrádek, ty se tvoří pouze pod rozmnožovacími orgány a ve stáří nepravidelně v průběhu mycelia. Úseky s hustší plazmou slouží po rozpadu mycelia jako základ pro obnovu stélky.

Nepohlavní rozmnožování se uskutečňuje především sporangiosporami nebo pomocí konidií. Pohlavní rozmnožování probíhá splýváním dvou konců vláken buď téhož mycelia nebo dvou různých mycelií. Splývající konce vláken jsou odděleny přepážkou a mají funkci gametangií. Po rozpuštění buněčné stěny vzniká zygota, která je diploidní.

Při určování druhů je třeba mít na zřeteli, že jejich morfologická měnivost je značná a že bývá ovlivněna kvalitou živného substrátu, vlhkostí ovzduší, teplem, světlem a dalšími činiteli (Fassatiová, 1979).

#### **2.4.2. *Acremonium* spp.**

Patří mezi vláknité houby, jejich kolonie pomalu rostou a tvoří nízké, většinou světlé porosty, plstnaté, chmýřité nebo provazčité, někdy hladké a lesklé. Mycelium je hyalinní, velmi jemné, větvené. Konidie jsou jednobuněčné. Protože mají v membráně mnoho slizu, shlukují se u ústí fialidy v lavicovité shluky. Při určování jsou potíže s variabilními konidiiemi a pro podobnost s rody *Verticillium* Nees a *Fusarium* Link, jehož mikrokonidie se tvoří stejným způsobem.

Jde vesměs o půdní saprofyty na zbytcích rostlin nebo parazity hmyzu, popř. plodnic vyšších hub (Fassatiová, 1979).

#### **2.4.3. *Stachybotrys* spp.**

Patří rovněž mezi houby vláknité. Mycelium vytváří svazky tmavých hyf. Konidiofory hyalinní až šedé, v horní části někdy bradavčité, jednoduché nebo sympodiálně větvené. Na konci konidioforu se tvoří svazek fialid, které jsou rovněž šedě zbarvené a které vytvářejí jednobuněčné černošedé, často bradavčité konidie, setrvávající po několika ve slizové hlavici (Fassatiová, 1979).

#### **2.4.4. *Epicoccum* spp.**

Vláknité houby, na přirozeném substrátu vytváří polokulovitá, kulovitá nebo mozečkovitá stromata, z nichž vyrůstají hyalinní konidiofory ve sporodochiích. Každý konidiofor vytváří na konci jednu vícebuněčnou, tmavou, přibližně kulovitou konidii.

*Epicoccum nigrum* - Sporodochia jsou práškovitá, hnědá až černá, řídce na substrátu rozptýlená nebo hustě seskupená. Konidiofory jsou palicovité, krátké, nanejvýš třibuněčné,

hladké, hyalinní. V čisté kultuře tvoří různě zbarvené mycelium, růžové, červené, žluté, olivově zelené až hnědé. Je to velmi rozšířený a hojný druh v půdě, na hmyzu, na rostlinných částech, textiliích, na lidské kůži atd. Většinou je saprofytický, pouze příležitostně slabě parazitický na rostlinách (Fassatiová, 1979).

Růstové optimum je 23-28 °C, minimum (-3) 4 °C, maximum 45 °C. Tmavé výrazně bradavčité, zaoblené konidie ve sporodochiích, s oranžovým myceliem. Saprotrófní mikromycety osidlující především mrtvý rostlinný substrát. Bývá však izolován i z půdy, z obilovin, a zřídka i z lidské kůže nebo ze sputa (Anonym 1).

#### **2.4.5. *Alternaria* spp.**

Druhy tohoto rodu jsou velmi rozšířeny v přírodě na rostlinných zbytcích (zvláště listech), v půdě i na živých rostlinách. Některé druhy jsou převážně saprofytické a jen příležitostně parazitují na rostlinách, jiné jsou specializovaní paraziti. Některé druhy žijí epifyticky na povrchu listů, stonků i na plodech živých rostlin spolu s druhy rodu *Cladosporium*.

Charakteristické pro rod *Alternaria* jsou způsob tvoření a struktura konidií. Vegetativní mycelium je zčásti hyalinní, zčásti tmavě hnědě zbarvené. Konidie poměrně velkých rozměrů, mají širší bazální část a užší apikální část.

Na přirozeném substrátu tvoří tyto druhy nízké, černošedé, olivově hnědé sametové porosty. V kultuře na agarových půdách vyrůstá bohatší vegetativní mycelium.

#### **2.4.6. *Aspergillus* spp.**

Diagnosticky je důležitá barva a vzhled kolonie, které jsou podmíněny zvláště barvou a tvarem konidiálních hlavic. Charakteristické pro rod *Aspergillus* je lahvicovité zakončení konidioforu. Ten vyrůstá buď přímo ze substrátu, nebo ze vzdušných hyf, je hyalinní, žlutě nebo hnědě zbarvený, se stěnou hladkou, zdrsňelou, zoubkatou nebo ostnitou.

Některé druhy vytvářejí mimo konidiální stadium i stadium pohlavní s plodničkami. Vřečka jsou kulovitá s 8 askosporami, vejčitého, oválného nebo lukovitého tvaru, s prstenci nebo rýhou v ekvatoriální rovině.

V krajinách mírného pásma se vyskytují v teplejších oblastech. Najdeme je v půdě, na rostlinných i živočišných zbytcích. Mnohé z nich jsou patogenní pro živočichy i člověka. Pro některé druhy už byly vypracovány sérologické metody v jejich diagnostice. V posledních letech se věnuje zvláštní pozornost druhům, které produkují do substrátu rostlinného původu velmi silné toxiny (Fassatiová, 1979).

### 3. Experimentální část

#### 3.1. Materiál a metodika

##### 3.1.1. Použitý materiál

K založení pokusu byl použit pluchatý oves (*Avenuda sativa*), odrůdy Neklan a Atego. Jak uvádí Dostálová (1992), je to obilnina vhodná pro naše zeměpisné šířky, neboť se jí daří v chladném a vlhkém klimatu.

Oves je plodinou málo náročnou na klimatické a půdní podmínky. Má malé požadavky na dodatečné vstupy (agrotechniku), ale také na ně nejméně ze všech obilnin reaguje. Houbové choroby nejsou pro oves velkým nebezpečím, oves je jimi ze všech obilnin nejméně napadán. Virové choroby jsou přenášeny savým hmyzem. Žlutá virová zakrslost ječmene (YBDW) je virovou chorobou šířící se ze západu, přenášenou savým hmyzem, především mšicemi. Ze škůdců jsou v ovsu regulovány bzunky, třásněnky, mšice a ostruhovník průsvitný (Moudrý, 1993).

V poslední době se rozšiřuje využití ovsa k lidské výživě pro jeho dietetické vlastnosti (Petr, Húska, 1997).

Oves je plodinou, která má zejména v některých oblastech naší republiky dlouhou pěstitelskou tradici. Jeho plochy byly v první polovině minulého století srovnatelné s ostatními obilovinami, ale s postupující změnou struktury pěstovaných plodin a klesající poptávkou po ovsu jako krmné plodině jeho výměry postupně klesaly až k hodnotám okolo 50-60 tis. ha, což představuje cca 3,5% plochy obilovin. Dnes je oves typickou plodinou tzv. marginálních oblastí. Je schopen se vyrovnat s horšími půdně-klimatickými podmínkami a nevyžaduje tak intenzivní pěstitelskou technologii ve srovnání s pšenicí a ječmenem (Polišenská, Nedomová, Tvařůžek, 2007).

Patří k nejmladším plodinám. Oves setý vypěstovali pravděpodobně staří Evropané z ovsa hluchého (*Avena fatua*), který rostl divoce ve střední Evropě za doby stepní. Koncem 18. století bohužel oves své významné místo ve výživě obyvatel ztratil. Renesance ovsa nastává teprve ve 20. století, kdy lékaři začali upozorňovat na jeho významné výživové a dietetické vlastnosti, především na význam vlákniny v prevenci mnoha tzv. civilizačních onemocnění včetně nemocí kardiovaskulárních a rakoviny (Dostálová, 1992).

Listy vzcházejícího ovsa jsou levotočivé, delší, ostře špičaté a sytě zelené. Na přechodu listové pochvy a čepele se nachází vyvinutý jazýček, ouška obvykle chybějí. Zbarvením listů oves nejcitlivěji reaguje na podmínky prostředí (výživa, vláha, některé choroby) (Moudrý, 1993).

Oves málo odnožuje. Průměrně tvoří 2-6 odnoží z nichž jen necelá desetina je plodných. Stéblo ovsa je střední až vyšší podle odrůdy a prostředí. U pluchatých ovsů je středně, u nahých více odolné proti poléhání (Moudrý, 1993).

Pokles zájmu pěstitelů o oves souvisí především s redukcí stavu koní a orientací na obilniny s lepší výnosovou reakcí na intenzifikační opatření, především na hnojení dusíkem (Dostálová, 1992). Ovesná sláma je nejhodnotnější obilní slámou. Také ovesné plevy mají vysokou krmnou hodnotu (Moudrý 1993).

Květenstvím ovsa je lata složená z větví vyrůstajících ve 4-6 přeslenech. Klásky mají obvykle 2-4 kvítky. Oves je samosprašný, kvete od vrcholu k bázi laty. V klásku dozrávají obvykle 1-3 zrna, v horní části laty více, ve spodní méně. Klásek ovsa obepínají plevy. Zrno pluchatých ovsů je pevně obepnuto pluchami. Pluchy ovsa tvoří 22-35% hmotnosti zrna, po sklizni chrání klíček i obilku před poškozením a zvyšují tak klíčivost (Moudrý, 1993).

Oves je ze všech obilovin největším zdrojem poměrně hodnotných bílkovin. Výhodou rostlinných bílkovin je, že jejich příjem není spojen s příjmem nasycených tuků a cholesterolu, jak je tomu u bílkovin živočišných (Dostálová, 1992). Kromě toho, že obsahuje vzhledem k ostatním obilovinám nejvíce proteinů (12,4-24,5%), mají tyto proteiny některé zvláštnosti, zejména mnohem vyšší podíl albuminů a globulinů (Polišenská, Nedomová, Tvarůžek, 2007).

Pravidelná konzumace výrobků z ovsa napomáhá korigovat některé nedostatky ve výživě zdravých osob. Významné místo zaujímá oves ve výživě speciálních skupin populace jako jsou děti, staří lidé a sportovci (Dostálová, 1992).

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

Výrobky z ovsa kromě pozitivních účinků na lidské zdraví mohou působit i negativně v důsledku eventuálně přítomného vyššího obsahu cizorodých toxických látek. Z cizorodých látek jsou u ovsa nejaktuálnější těžké kovy, především kadmium a mykotoxiny (Dostálová, 1992).

### 3.1.1.1. Odrůda Atego

Je středně raná odrůda registrovaná v ČR od roku 2002. Odrůda je pluchatá, s pluchatostí 25 %. Zrno je žluté a může dosahovat hmotnosti tisíce semen 36 g. Rostliny jsou nízké s vysokou odolností proti poléhání. Porost má průměrnou výšku 97 cm a schopnost vytvořit 538,4 produktivních stébel na 1 m<sup>2</sup>. Zdravotní stav je vcelku bezproblémový, tato odrůda je odolná padlí travnímu a rzi ovesné střední. Odrůda je význačná především vysokým výnosem ve všech polohách vhodných pro pěstování ovsa. Dále je důležitý vysoký obsah bílkovin a nízký obsah nestravitelné vlákniny v zrnu.

### 3.1.1.2. Odrůda Neklan

Jedná se o středně ranou odrůdu, registrovanou v ČR v roce 1998. Je žlutozrná a v optimálních podmínkách je schopna dosahovat hmotnosti tisíce zrn 37 g a počtu 510,5 produktivních stébel na 1 m<sup>2</sup>. Rostliny jsou nízké, porost dosahuje průměrné výšky 102 cm. Zrno je středně velké. Odrůda je vhodná do všech podmínek, kde se pěstuje oves. Nemá žádná výrazná pěstitelská rizika ani přednosti. Pluchatost této odrůdy je 24%.

### 3.1.2. Charakteristika pozemku

Pozemek, který byl vybrán pro založení pokusu je pozemek Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Leží v nadmořské výšce 383 m n.m.. Celá oblast je klasifikována jako bramborářský výrobní typ, půdní druh je zde zastoupen půdou hlinitou s jemnou zrnitostí, půdní typ je hnědozem.

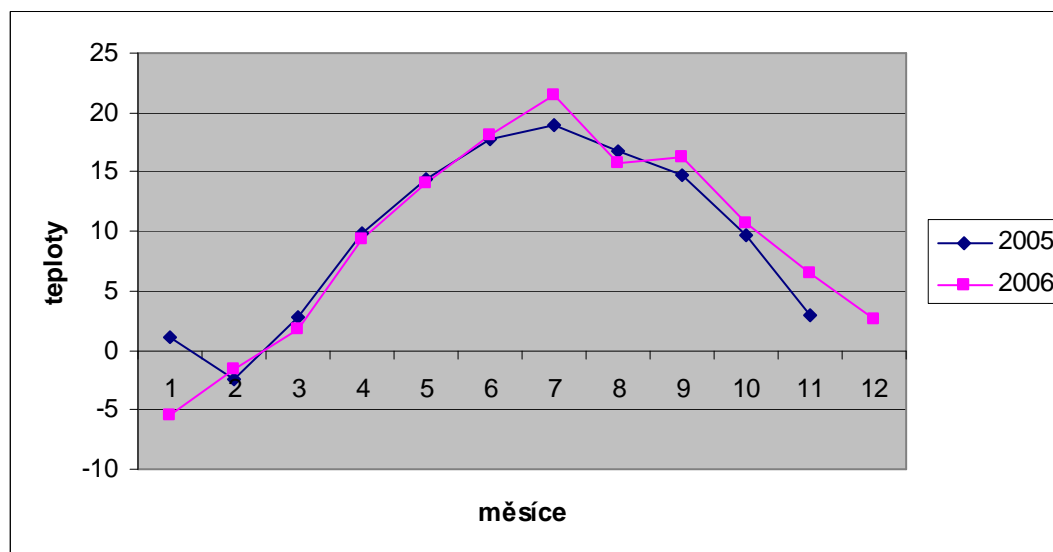
Klimatické charakteristiky se v době pěstování pokusné plodiny výrazně lišily od charakteristiky v předchozích letech. Hlavně se jedná o průměrné teploty (tab. 2) a úhrny srážek (tab. 3), které byly v období setí a sklizně v obou letech nadprůměrně vysoké. Oproti předcházejícím dvěma letům více než dvojnásobně.

Tab. 2 Průměrné měsíční teploty v letech 2005 a 2006

hodnoty °C	leden	únor	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen	listopad	prosinec	průměr
2005	1,1	-2,5	2,8	9,9	14,4	17,7	19	16,8	14,8	9,7	2,9	-0,5	8,8
2006	-5,4	-1,6	1,7	9,4	14	18,1	21,5	15,7	16,3	10,7	6,5	2,7	9,1

Na grafu č. 1 lze vidět teploty vysoko nad dlouhodobým průměrem a to zejména v letních měsících roku 2006. Tyto teploty byly ovšem vysoké i v předchozím roce.

**Graf 1 Průběh teplot v roce 2005 a 2006**

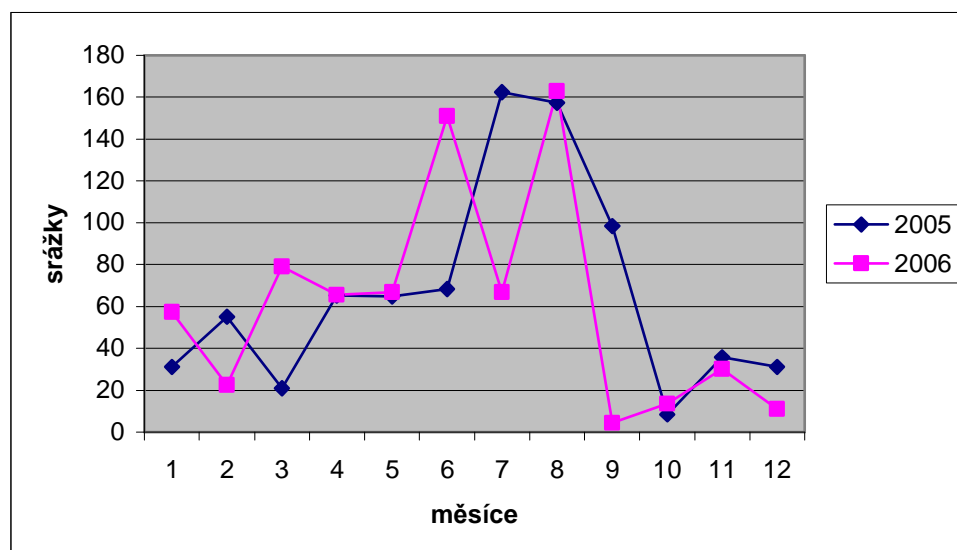


Jak je patrné z předchozí tabulky (č.2) a grafu (č.1), neklesly průměrné teploty od června do září pod 15 °C a to jak v roce 2005, tak i v roce následujícím. V tabulce č.3 a na grafu č.2 jsou shrnuty srážky, které byly naopak v létě nadprůměrně vysoké, zvláště v roce 2005, kdy vedly ke zpoždění sklizně a ke zhoršení stavu sklizeného zrna, což se negativně projevilo jak na výskytu houbových onemocnění, hlavně na druhovém zastoupení patogenů, tak i na ostatních výnosových charakteristikách.

**Tab. 3 Průměrné měsíční srážky v letech 2005 a 2006**

hodnoty mm	leden	únor	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen	listopad	prosinec	průměr
2005	31,2	55	20,9	65,3	64,7	68,3	162,3	157,3	98,3	8,4	35,6	31	798,3
2006	57,4	22,5	79,1	65,6	66,9	150,9	66,8	162,9	4,4	13,6	30,1	10,9	731,1

**Graf 2 Průběh srážek v roce 2005 a 2006**



### **3.1.3. Použité pomůcky a prostředky při ošetřování porostu a při následné kultivaci kultur**

#### **3.1.3.1. Bioagens**

Jako bioagens byl použit přípravek Supresivit. Jedná se o biologický fungicidní přípravek ve formě lehce dispergovatelného prášku určený k ochraně proti komplexu patogenů. Mezi hlavní výhody patří ochrana rostlin během celé vegetace. V České republice byl tento přípravek registrován v roce 1994. Účinnou látkou jsou vzdušné konidie *Trichoderma harzianum*. Přípravek tedy obsahuje přibližně  $1,4 \cdot 10^{10} \cdot \text{g}^{-1}$  spor, které mají klíčivost minimálně 70%. V našem pokusu byl použit přípravek od firmy Fytovita, spol. s r.o., který měl registrační číslo 1508-0. Supresivit se používá jak k ošetřování substrátu před výsadbou, tak k moření osiva nebo přímému ošetření plodiny v průběhu vegetace. Druhá zmíněná možnost byla použita v případě našeho pokusu. Pro dobrou účinnost přípravku je nutná teplota substrátu nad 5 °C. Reakce substrátu nehraje významnou roli. Zvýšená koncentrace iontů vápníku nepůsobí inhibičně na růst a rozvoj mycelia. Udržování přiměřené vlhkosti substrátu je pro tuto houbu stejně potřebné jako pro rostlinu.

#### **3.1.3.2. NPK obohacené houbou *Trichoderma harzianum***

NPK je tříložkové hnojivo, které obsahuje dusík, fosfor a draslík. Použité hnojivo od firmy Agroracio Skalica bylo NPK 11-7-7 v roce 2005 a NPK 15-10-10 v roce 2006. Kombinace hnojiva a účinné látky, tedy houby *Trichoderma harzianum*, má zajistit ochranu před patogeny prostřednictvím zmíněné houby a výživu pro vzcházející porost a jeho podporu v dalším růstu díky přítomnému hnojivu.

#### **3.1.3.3. Umělé živné půdy**

Při pěstování patogenní mikroflóry v podmínkách *in vitro* byl použit peptonový a sladinkový agar. Obě tyto živné půdy byly připraveny ze standardního předem namíchaného práškového agaru, který byl smíchán s vodou, uvařen a ve sterilním prostředí rozlit do připravených Petriho misek.

#### **3.1.3.4. Petriho misky**

Tyto misky byly použity pro pěstování kultur mikroorganismů v podmínkách *in vitro*. Mohou být jak skleněné, tak i plastové, v případě našeho pokusu se jednalo o plastové misky s víčkem o průměru 90 mm.



### 3.1.4. Založení polního pokusu a jeho hodnocení

Pozemek, na kterém byl pokus založen byl na podzim zorán a povrch byl upraven branami. Před vlastním setím byl povrch pozemku nakypřen a bylo provedeno setí. Selo se neseným secím strojem, který byl upraven pro podmínky pozemku. Všechny pozemky byly po zasetí zakryty plastovou sítí, aby nedošlo k poškození vzcházejícího porostu. Tato síť byla odstraněna až po úplném vzejití porostu.

Pokus byl tedy založený jako maloparcelkový, kdy rozměry parcelek pro jednotlivé odrůdy byly 8m<sup>2</sup>, přičemž každá parcelka byla ještě dále rozdělena na polovinu. Jedna polovina byla použita jako kontrolní, takže nebyla ošetřena žádným přípravkem, na druhé polovině byla pak provedena aplikace hnojiva obohaceného houbou *T. harzianum* a přípravku Supresivit S2.

Hodnocení porostu bylo prováděno vizuální kontrolou ve třech termínech. Byla použita metodika podle Dixona a Doodsona (1971), která byla částečně pozměněna, aby vyhovovala našim podmínkám. Vyhodnocení sledovaného porostu bude uvedeno v následujících kapitolách. Kontroly byly konzultovány s Doc. Ing. B. Voženílkovou, CSc..

**Tab. 4 Procentické vyjádření stupně napadení rostliny patogenem**

Stupeň napadení	% napadení
9	0
8	1-6
7	6 -14
6	15-30
5	31-50
4	51-70
3	71-90
2	91-99
1	100

### 3.1.5. Hodnocení výnosových ukazatelů a klíčivosti

Toto hodnocení se provádělo v laboratorních podmínkách. Všechny ukazatele se zjišťovaly podle předepsaných postupů. Všechna měření byla několikrát opakována, aby byly výsledky objektivní a uvedené hodnoty jsou aritmetickým průměrem jednotlivých měření.

Zjišťované výnosové ukazatele byly objemová hmotnost (OH) a hmotnost tisíce zrn (HTZ). Tyto charakteristiky byly měřeny jak u ošetřených tak u neošetřených variant, aby bylo možné provést jejich srovnání.

Hmotnost zrna je odrůdový znak. Závisí na pluchatosti a průběhu počasí během dozrávání. Odrůdy, které vytvářejí velké množství zrn v latě, mají obvykle zrno drobnější a

HTZ nižší. U ovsa rozhoduje o výnosu především počet zrn v latě. Oves je schopen kompenzovat nízkou hustotu porostu vysokou produktivitou laty.

HTZ se stanovila váhově, kdy byla napřed ručně odpočítána zrna, která byla následně zvážena na analytických vahách.

OH se měřila na obilném měřiči, který má kalibrovanou odměrnou nádobu o objemu 1000 ml, do které se vsype obilí a následně je zváženo. Postup měření je přesně stanoven v normě ČSN 461011, č.5.

Testy klíčivosti se prováděly na klíčovkách, což je plastová miska naplněná vodou, nad kterou je deska obalená filtračním papírem tak, aby mohla nasáknout vodu a na její vrchní straně jsou rozmístěna zrna. Na každém klíčovce byla 4 opakování, kdy v každém bylo použito 100 zrn, která byla ručně odpočítána. Po uplynutí 7 dnů byla vyhodnocena celková klíčivost podle počtu nevyklíčených zrn. Toto počítání bylo rovněž provedeno ručně. Za klíčivá jsou označována zrna, která mají klíček alespoň 3 mm dlouhý a minimálně 2 kořínky.

### **3.1.6. Hodnocení povrchové mikroflóry**

Cílem bylo zjistit jaká povrchová mikroflóra se vyskytuje na zrnech sklizených z pozemku. Byla proto provedena kultivace na umělé živné půdě (agar PDA a sladinka). Semena byla napřed upravena tím způsobem, že byla ponechána 3 minuty v 1 % roztoku NaClO a po uplynutí této doby byla důkladně propláchnuta destilovanou vodou. Po této úpravě byla po deseti kladena na Petriho misky, ve kterých bylo připraveno kultivační medium. Všechny připravené misky byly popsány a uloženy do temna, kde byla teplota 21°C. Kultivace probíhala 7 dní. Poté bylo zhodnoceno napadení jednotlivými mikroorganismy a tyto byly přeočkovány na nově připravené živné půdy stejného charakteru jako byly ty původní a znovu uloženy do temna po dobu dalších 7 dnů. U těchto vzorků byla poté provedena determinace hub rodu *Fusarium* ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby u RNDr. Hýska, CSc.

## **3.2. Pokusný rok 2005**

### **3.2.1. Založení a ošetřování pokusu**

Pokus byl založen jako maloparcelkový na školním pozemku. Obě odrůdy pluchatého ovsa (Neklan a Atego) byly zasety současně 6.4.2005. Za polojasného počasí, kdy teplota dosahovala 16 °C a bylo bezvětří.

Porost vzešel 18. 4. a jako první byla provedena aplikace hnojiva NPK 11-7-7, obohaceného o houbu *Trichoderma harzianum*, v dávce 250 g na 4m<sup>2</sup> dne 21.4.2005. Jednalo se o granule, které byly poházeny po povrchu na pokusné polovině obou parcel. Při druhé aplikaci, která proběhla 16.6.2005, kdy se rostlina nacházela v době metání v růstové fázi 51 DC, byl použit přípravek Supresivit S2 ve formě postřikové jíchy. Jícha byla připravena ze 4g přípravku rozmíchaných ve 2l vody. Postřik byl proveden ručním postřikovačem.

Bonitace porostu byla provedena v průběhu vegetace. Byly provedeny tři biologické kontroly porostu. První vstup byl proveden deset dní po vzejití porostu 28.4.2005 (porost vzešel 18.4.2005). V době první kontroly mělo obilí dva listy a nebyly nalezeny žádné symptomy onemocnění.

Druhý vstup byl proveden 31.5.2005, kdy byl porost již na počátku sloupkování, v růstové fázi 31 DC, podle stupnice uvedené v metodice byl porost ohodnocen stupněm číslo 9. Poslední vstup do porostu byl uskutečněn 14.6.2005, kdy obilí sloupkovalo a porost byl opět označen jako zdravý.

V žádné ze všech tří provedených agrobiologických kontrol nebyly nalezeny známky napadení chorobami ani škůdci.

Ke sklizni byla použita maloparcelková klasová mlátička. Porost byl sklizen 28. 8. a obilí bylo uskladněno na katedře rostlinné výroby a posléze bylo použito pro laboratorní pokusy.

### **3.2.2. Kultivace *in vitro***

Kultivace obilek probíhala v laboratorních podmínkách. Byla zahájena 26.10, kdy byla zrna podle uvedené metodiky vložena na živnou půdu (PDA a SL) a po uplynutí určené doby, což je minimálně 7 dní, byly patogenní kultury dne 7. 11. přeočkovány na stejné živné půdy, na kterých byla zahájena kultivace. Podrobná determinace byla provedena ve VÚRV ve dnech 23. a 24. 11.

### 3.2.3. HTZ pluchatého ovsa v roce 2005

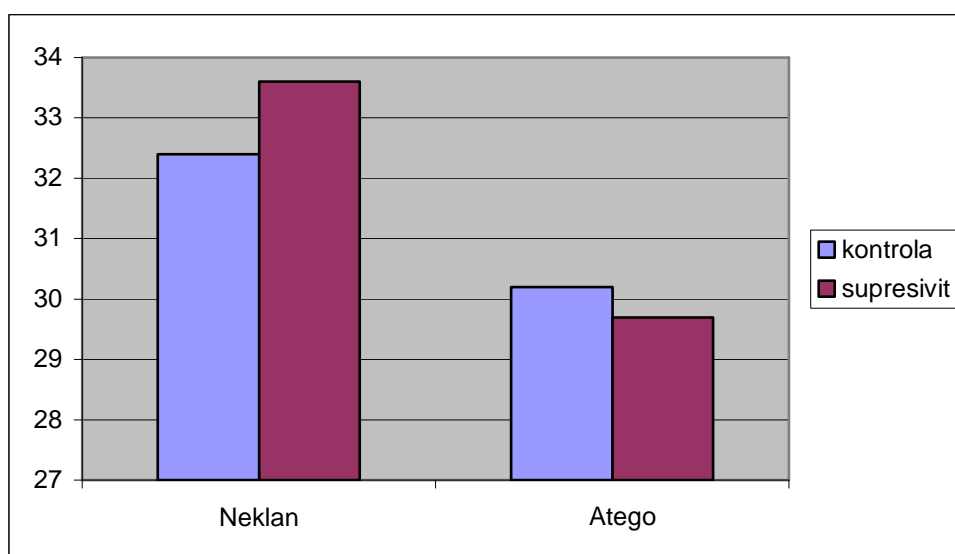
Hmotnost tisíce zrn byla měřena v laboratoři na analytických vahách. Naměřené hodnoty jsou shrnuty v tabulce 5.

Tab. 5 HTZ (g) pluchatého ovsa, odrůdy Neklan a Atego

varianta	Neklan	Atego
kontrola	32,4	30,2
supresivit	33,6	29,7

Z výsledků shrnutých v tab. 5 vyplývá, že v tomto roce nebyly výrazné změny mezi oběma odrůdami ani mezi ošetřenou a neošetřenou variantou, kdy dokonce u odrůdy Atego byla HTZ u varianty ošetřené NPK obohacným houbou *T. harzianum* a přípravkem Supresivit (29,7 g) nižší než u varianty neošetřené (30,2 g). To bylo pravděpodobně způsobeno nepříznivými podmínkami počasí před sklizní, kdy dlouhodobě přšelo. Hodnoty jsou graficky znázorněny v grafu 3.

Graf 3 HTZ (g) pluchatého ovsa



### 3.2.4. OH pluchatého ovsa u sledovaných odrůd Neklan a Atego

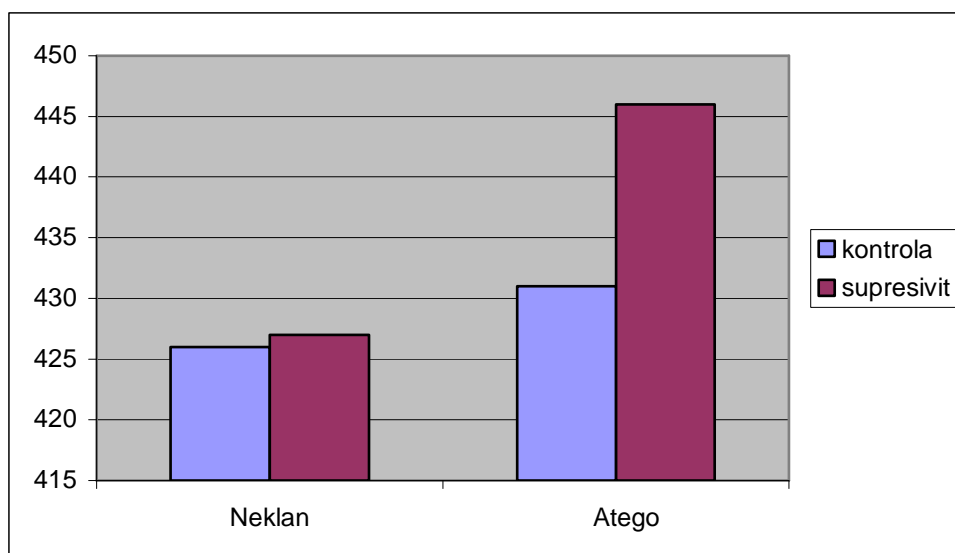
Objemová hmotnost zjišťovaná na obilném měřiči je zaznamenána v tabulce č. 6. Byla měřena hmotnost 1000 ml obilek.

Tab. 6 OH ( $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) u pluchatého ovsa

varianta	Neklan	Atego
kontrola	426	431
supresivit	427	446

Jak je patrné z tab. 6, liší se v OH jak odrůdy, tak i obě varianty. Tentokrát je u varianty ošetřené Supresivitem OH vyšší (odrůda Neklan  $427 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ , odrůda Atego  $446 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ), než u varianty neošetřené (odrůda Neklan  $426 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ , odrůda Atego  $431 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Ovšem u odrůdy Neklan je tento rozdíl prakticky zanedbatelný. Je to dobře vidět na grafickém vyjádření výsledků (graf 4).

Graf 4 OH ( $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) v roce 2005



### 3.2.5. Klíčivost u odrůd Neklan a Atego

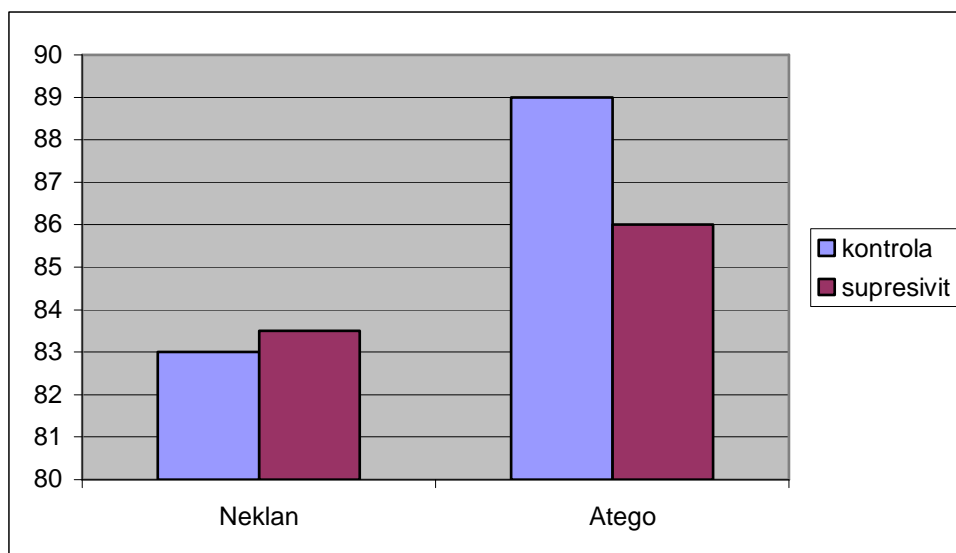
Klíčivost u sledovaných obilíků dosahovala různých hodnot. Více méně se jednalo o hodnoty příznivé. Pokus byl založen 26.10. a vyhodnocen 2.11.. Nejnižší hodnoty byly naměřeny u odrůdy Neklan, u neošetřené varianty (83%). Tato odrůda ovšem nevykázala vysokou klíčivost ani u varianty ošetřené obohacným NPK a Supresivitem (83,5%).

**Tab. 7 Klíčivost semen pluchatého ovsa**

varianta	odrůda	klíčivá semena	neklíčivá semena	klíčivost %	průměr %
kontrola	Neklan	84	16	84	83
		82	18	82	
		85	15	85	
		81	19	81	
	Atego	89	11	89	89
		91	9	91	
		88	12	88	
		88	12	88	
supresivit	Neklan	81	19	81	83,5
		86	14	86	
		82	18	82	
		85	15	85	
	Atego	84	16	84	86
		88	12	88	
		79	21	79	
		93	7	93	

Nejvyšší hodnota klíčivosti byla zjištěna u odrůdy Atego, u kontrolní varianty (89%). U odrůdy Neklan byl rozdíl mezi klíčivostí u ošetřené a u neošetřené varianty pouze 0,5 % (tab. 7). Rozdíly jsou dobře patrné na grafu 5.

**Graf 5 Klíčivost obilok (%) v pokusném roce 2005**



### 3.2.6. Povrchová mikroflóra

Hodnocení povrchové mikroflóry bylo nejnáročnější ze všech pokusů, které byly provedeny. Hodnotila se mikroflóra, která byla nakultivovaná podle metodiky popsané na začátku experimentální části (str. 44). Pokus byl hlavně zaměřen na houby rodu *Fusarium*,

kteře byly také podrobně determinovány ve VÚRV Ruzyně. U všech patogenů se jednalo o druh a o procentické zastoupení daného patogena na kultuře.

V první fázi se provádělo hodnocení zastoupení patogenů, které je shrnuto v následující tabulce (č.8).

**Tab. 8 Procentické napadení obiliek patogenními organismy**

odrůda	Neklan				Atego			
půda	SL		PDA		SL		PDA	
choroba	<i>Fusarium</i> spp.	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	ostatní
kontrola	65	10	20	10	80	0	30	5
	10	0	70	5	35	10	75	0
	20	25	15	30	0	25	10	20
supresivit	35	5	0	0	0	30	15	20
	45	20	75	5	75	5	40	0
	20	0	30	20	25	10	55	15

Po určení procentického zastoupení patogenů bylo provedeno přeočkování patogenních organismů na stejné živné půdy, které byly použity pro kultivaci zrn (PDA, SL) a určení jednotlivých druhů.

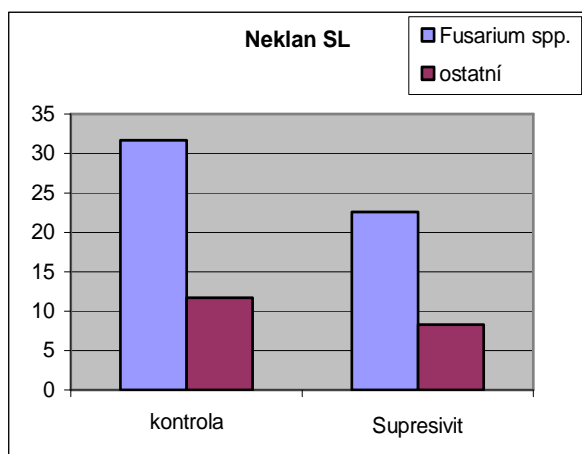
**Tab. 9 Druhové zastoupení sledovaných patogenů**

odrůda	Neklan				Atego			
varianta	SL		PDA		SL		PDA	
kontrola	<i>Fusarium</i>	<i>oxysporum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>oxysporum</i>	<i>Fusarium</i> spp.	<i>oxysporum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	
		<i>poae</i>		<i>poae</i>		<i>Mucor hyemalis</i>		
		<i>graminearum</i>		<i>graminearum</i>	<i>Mucor hyemalis</i>	<i>Acremonium</i>		
		<i>culmorum</i>		<i>culmorum</i>	<i>Acremonium</i>	<i>Stachybotrys</i>		
	<i>Mucor hyemalis</i>	<i>Mucor hyemalis</i>	<i>trisinctum</i>	<i>Stachybotrys</i>				
	<i>Acremonium</i>		spp.	<i>Trichothecium roseum</i>				
	<i>Cytospora</i>							
		<i>Acremonium</i>						
Supresivit	<i>Fusarium</i>	<i>oxysporum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>oxysporum</i>	<i>Fusarium</i> spp.	<i>oxysporum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	
		<i>poae</i>		<i>poae</i>		<i>Fusarium poae</i>		
		spp.		<i>graminearum</i>	spp.	spp.		
	<i>Acremonium</i>	<i>Stachybotrys</i>	<i>Stachybotrys</i>	<i>Stachybotrys</i>				
		<i>Acremonium</i>	<i>Acremonium</i>	<i>Acremonium</i>				

Rod *Fusarium* byl zastoupen mnoha různými druhy (tab. 9). Je tomu tak z důvodu, že v období bezprostředně před sklizní bylo velké množství srážek, což má vliv právě na druhové zastoupení tohoto patogena.

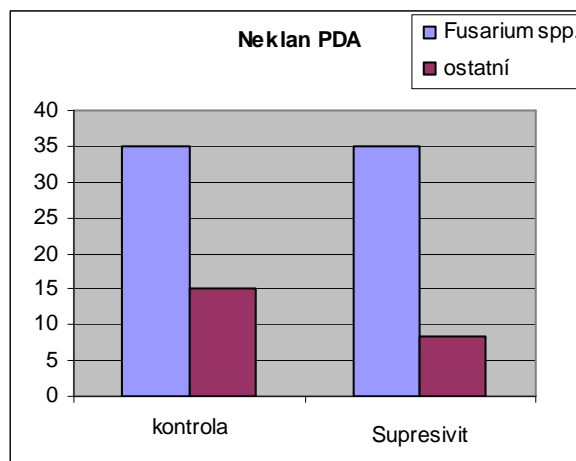
**Graf 6 Napadení obilek houbami *Fusarium* spp.**

**Odrůda Neklan, SL**



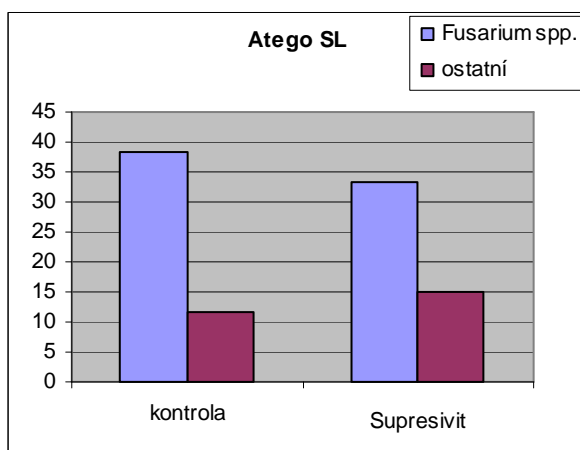
**Graf 7 Napadení obilek houbami *Fusarium* spp.**

**Odrůda Neklan, PDA**



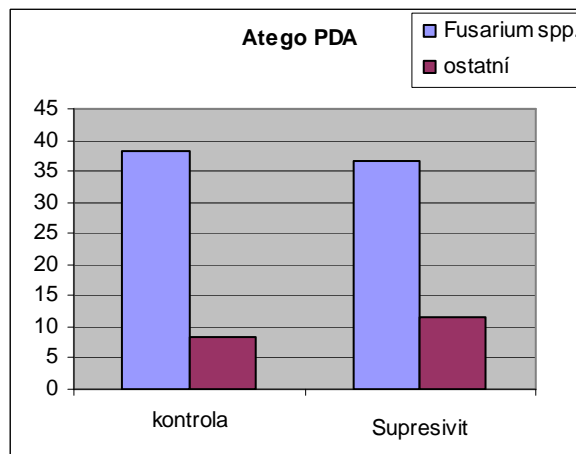
**Graf 8 Napadení obilek houbami *Fusarium* spp.**

**Odrůda Atego, SL**



**Graf 9 Napadení obilek houbami *Fusarium* spp.**

**Odrůda Atego, PDA**



Na předchozích grafech (č. 6, 7, 8 a 9) je znázorněn poměr napadení houbami *Fusarium* spp. a ostatními patogeny podle jednotlivých variant pokusů. Je zde rozdíl jak mezi oběma odrůdami, tak i mezi výskytem patogenů na obou použitých živných půdách (PDA, SL). Jak je patrné nejmenší napadení ostatními patogeny bylo u odrůdy Neklan na obou živných půdách u varianty ošetřené přípravkem Supresivit a u odrůdy Atego na PDA u kontrolní varianty.

Z ostatních patogenů vyskytujících se na obilkách bylo nejčastěji zjištěno *Acremonium* spp. a druhým nejběžnějším druhem byl *Mucor hyemalis*.



### 3.3. Pokusný rok 2006

#### 3.3.1. Založení a ošetřování pokusu

Pokus byl založen rovněž druhým rokem na pozemku zemědělské fakulty Jihočeské univerzity. Výsev byl proveden stejnou technikou jako v loňském roce dne 25.4., kdy bylo polojasné počasí a bezvětří. Rovněž odrůdy byly shodné, jednalo se o Atego a Neklan. Parcelky měly stejné charakteristiky jako v předchozím roce.

Obilí vzešlo přibližně 10.5. a na pozemek bylo 16.5. aplikováno hnojivo NPK 15-10-10 od výrobce Agroracio Skalica MP SR č. 26/2001, které bylo obohacené houbou *Trichoderma harzianum*, v dávce 250 g na 4 m<sup>2</sup>. Porost byl už úplně vzešlý. Počasí bylo obdobné jako při setí a zhruba po dvou dnech po aplikaci mírně přšelo, což přispělo k zapravení hnojiva do půdy a tedy i k jeho lepšímu využití rostlinami.

Další ošetření porostu bylo provedeno 3.7., kdy se aplikoval Supresivit (registrační číslo použitého přípravku bylo 1508-0, výrobce Fytovita, spol. s r.o.). Provedla se ve formě postřiku, kdy byla jácha připravena rozmícháním 4g prášku Supresivitu ve 2 l vody. Postřik byl proveden za bezvětřného počasí, což omezilo úlet postřiku. Ošetřeny byly stejné parcelky jako u NPK a zbylé parcelky byly použity jako kontrolní.

Agrobiologická kontrola byla opět provedena ve třech různých termínech. První vstup do porostu byl opět deset dní po vzejití porostu, tedy 20.5. a v porostu nebyly nalezeny žádné příznaky chorob ani napadení živočišnými škůdci. Druhá kontrola proběhla 10.6., kdy porost byl ve fázi sloupkování a opět byl označen číslem 9, tedy jako zdravý. Poslední vstup byl 3.7., obilí kvetlo a v porostu bylo zaznamenáno mírné poškození kohoutkem modrým, ale nejednalo se o poškození většího rozsahu.

V tomto roce nedošlo k žádným komplikacím se sklizní kvůli počasí, jak tomu bylo v loňském roce. Sklizeň proběhla 18.8. maloparcelkovou klasovou mlátičkou a obilí bylo uloženo na katedře rostlinné výroby. Později bylo použito ke zjišťování výnosových ukazatelů a přítomnosti povrchové mikrobiologie.

#### 3.3.2. Kultivace *in vitro*

Na podzim byla započata kultivace na umělých živných půdách (PDA a SL), přesně dne 25. 10., kdy byla zrna po předchozí povrchové úpravě vložena na zmíněné živné půdy. Tyto byly opět uloženy do temna a dne 1. 11. byla provedena kontrola stavu povrchové mikrobiologie a její přeočkování na nově připravené půdy. Nechaly se opět týden ve tmě a 9. 11. byla ve VÚRV Ruzyně provedena determinace jednotlivých druhů hub rodu *Fusarium*.

Dále byly změřeny výnosové ukazatele a navíc byl v tomto roce proveden test na přítomnost mykotoxinů. Obilí bylo připraveno jednoduchým rozemletím na elektrickém mlýnku, šrot byl vložen do papírových sáčků a odeslán na vyhodnocení do VÚRV Ruzyně. Výsledky testů budou uvedeny níže.

### 3.3.3. HTZ u pluchatého ovsa v pokusném roce 2006

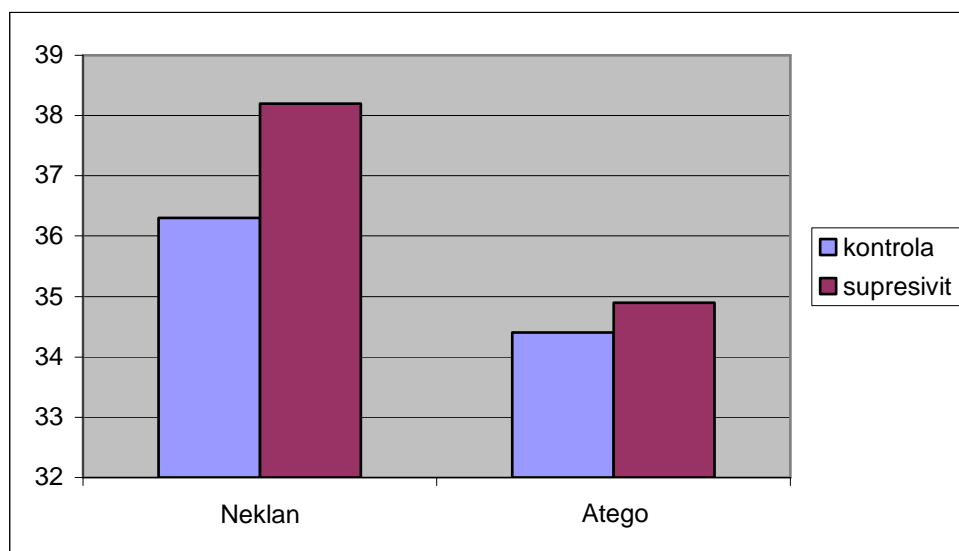
Tento výnosový ukazatel byl opět měřen stejnou metodou jako v předchozím roce, měření bylo provedeno dne 20.11. a naměřené hodnoty jsou shrnuty v následující tabulce (č.10).

Tab. 10 HTZ (g) u odrůd Neklan a Atego

varianta	Neklan	Atego
kontrola	36,3	34,4
supresivit	38,2	34,9

Jak je patrné z tabulky 10, byla nejvyšší HTZ naměřena u odrůdy Neklan, u varianty, která byla ošetřena jak hnojivem NPK obohaceným houbou *Trichoderma harzianum*, tak i přípravkem supresivit (38,2 g). Naopak nejnižší hmotnost tisíce zrn byla změřena u odrůdy Atego u kontrolní varianty (34,4 g). Graficky jsou rozdíly znázorněny v grafu 10.

Graf 10 HTZ (g) u pluchatého ovsa



Jak je vidět v případě odrůdy Neklan byl rozdíl mezi ošetřenou a neošetřenou variantou výraznější než tomu bylo u obou variant odrůdy Atego.

### 3.3.4. OH u odrůd Neklan a Atego

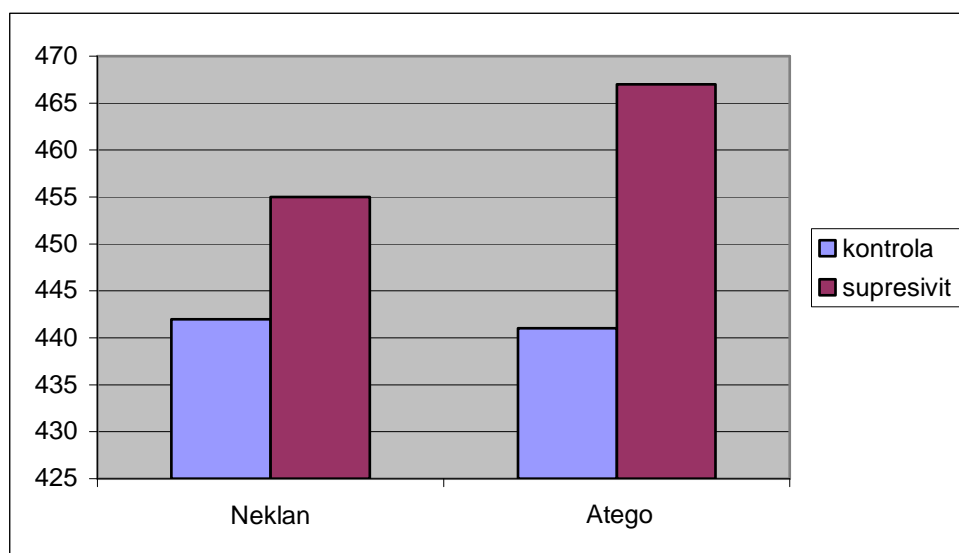
Ve stejný den, kdy byla měřena hmotnost tisíce zrn byla měřena rovněž objemová hmotnost obilek odrůd Neklan a Atego na obilním měřiči. Výsledky obsahuje tabulka 11.

Tab. 11 OH(g\*l<sup>-1</sup>) v roce 2006

varianta	Neklan	Atego
kontrola	442	441
supresivit	455	467

V případě odrůdy Atego byl rozdíl mezi ošetřenou a neošetřenou variantou jednoznačně největší (26 g\*l<sup>-1</sup>), u odrůdy Neklan nebyl rozdíl tak výrazný (13 g\*l<sup>-1</sup>).

Graf 11 OH (g\*l)



Na grafickém znázornění (graf 11) je tento rozdíl naprosto evidentní. Varianta odrůdy Atego ošetřená oběma již výše zmíněnými způsoby dosáhla nejvyšší hodnoty objemové hmotnosti.

### 3.3.5. Hodnocení klíčivosti u sledovaných odrůd pluchatého ovsa

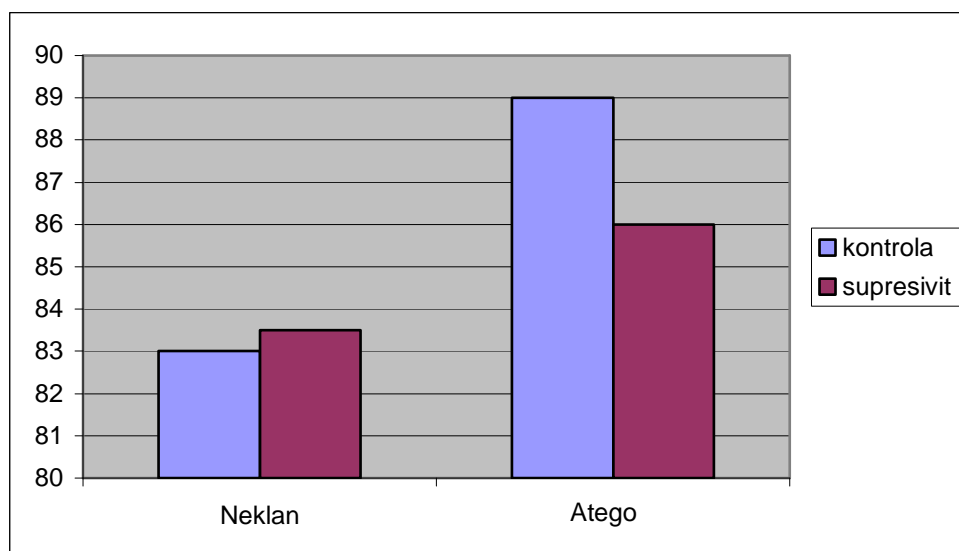
Pokus byl zahájen dne 16. 11. a vyhodnocen dne 23.11.. Byl proveden u obou odrůd, u obou variant (ošetřená i neošetřená). Všechny varianty byly ponechány při pokojové teplotě. Klíčivost byla stanovována na klíčovkách.

**Tab. 12 Klíčivost semen pluchatého ovsa**

varianta	odrůda	klíčivá semena	neklíčivá semena	klíčivost %	průměr %
kontrola	Neklan	85	15	85	86,25
		87	13	87	
		88	12	88	
		85	15	85	
	Atego	86	14	86	87
		88	12	88	
		89	11	89	
		85	15	85	
supresivit	Neklan	89	11	89	88,25
		87	13	87	
		88	12	88	
		89	11	89	
	Atego	90	10	90	89
		89	11	89	
		87	13	87	
		90	10	90	

Klíčivost byla v případě všech variant poměrně vysoká (tab. 12). Nejvyšší potom dosáhla odrůda Atego, ošetřená varianta (89%), nejnižší odrůda Neklan u kontrolní varianty (86,25%).

**Graf 12 Klíčivost obilek pluchatého ovsa (%)**



### 3.3.6. Povrchová mikroflóra

Hodnocení povrchové mikroflóry bylo z hlediska celé práce jedním z nejvýznamnějších ukazatelů. Při zakládání pokusu na živných půdách i při jeho dalších úpravách byla snaha zachovat při manipulaci co nejsterilnější prostředí, aby nemohlo dojít ke kontaminaci

z okolního prostředí. Veškeré manipulaci s odkrytým materiálem byly proto prováděny ve flow boxu, ve sterilním prostředí.

**Tab. 13 Procento napadených obilek pluchatého ovsa**

odrůda	Neklan				Atego			
	SL		PDA		SL		PDA	
půda	<i>Fusarium</i> spp.	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	ostatní	<i>Fusarium</i> spp.	ostatní
kontrola	80	5	30	5	55	10	45	5
	95	0	50	0	70	0	20	15
	20	0	30	15	90	5	40	10
supresivit	60	5	15	0	60	10	50	0
	15	10	25	0	45	10	15	0
	60	0	10	15	85	0	25	20

Druhové zastoupení patogenů je znázorněno v tabulce 13. V tomto roce se na obilkách nevyskytovalo tak široké druhové zastoupení jako v roce předchozím, z důvodu suchého a teplého počasí, které je vhodné pouze pro některé druhy rodu *Fusarium*, viz. tabulka 14.

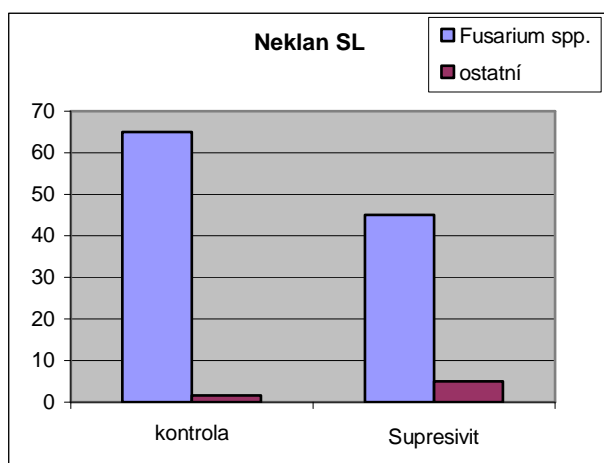
**Tab. 14 Druhové zastoupení patogenů**

odrůda	Neklan		Atego			
	SL	PDA	SL		PDA	
kontrola	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium</i>	<i>poae</i>	<i>Fusarium</i>	<i>poae</i>
	<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>		<i>Fusarium</i>	<i>solani</i>
		<i>Alternaria</i>			<i>Alternaria</i>	
supresivit	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium</i>	<i>poae</i>	<i>Fusarium poae</i>	
	<i>Epicoccum nigrum</i>		<i>Fusarium</i>	<i>solani</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	
			<i>Aspegillus</i>			

Na grafech (13, 14, 15 a 16) je znázorněno napadení patogeny z rodu *Fusarium* spp. (%) a ostatními druhy.

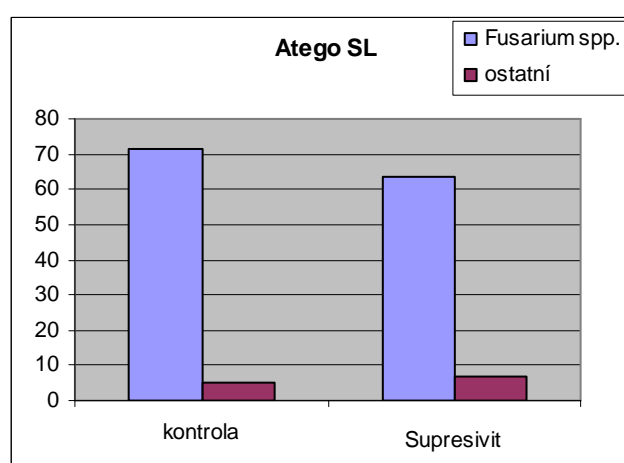
**Graf 13 Napadení obilek houbami *Fusarium* spp.**

Odrůda Neklan, SL

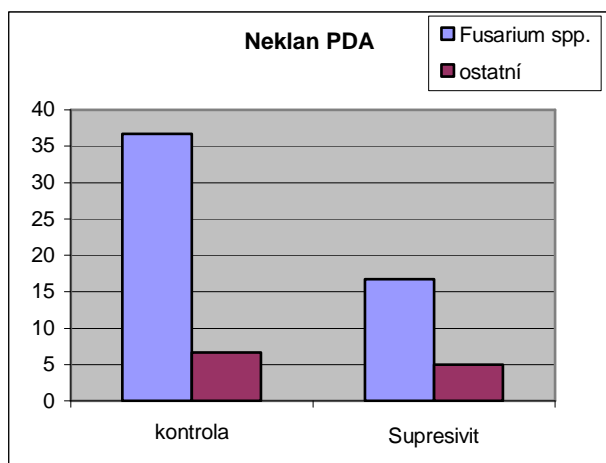


**Graf 14 Napadení obilek houbami *Fusarium* spp.**

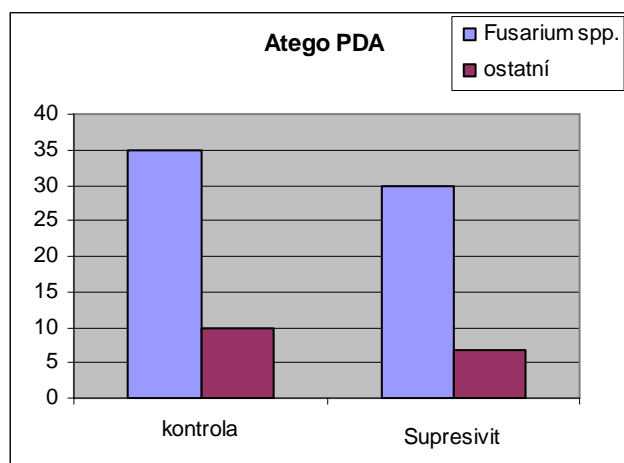
Odrůda Atego, SL



**Graf 15 Napadení obilek houbami *Fusarium* spp.  
Odrůda Neklan, PDA**



**Graf 16 Napadení obilek houbami *Fusarium* spp.  
Odrůda Atego, PDA**



Z patogenů přítomných na obilkách je jednoznačně nejpočetněji zastoupen rod *Fusarium*. Například při porovnání variant u odrůdy Neklan pěstovaných na sladince, je přítomnost ostatních patogennů prakticky zanedbatelná, narozdíl od přítomnosti hub rodu *Fusarium* spp. Nejvyšší průměrné napadení bylo u odrůdy Atego, kontrolní varianta na SL a to 71,67%, naopak nejnižší u odrůdy Neklan, ošetřená varianta na PDA, 16,67 %.

### 3.3.7. Mykotoxiny

Test na výskyt mykotoxinů byl proveden pouze v pokusném roce 2006. Po odeslání vzorku sešrotovaných obilek (obilky byly sešrotovány na elektrickém mlýnku a uloženy v papírových sáčcích), proběhl tento test ve VÚRV Ruzyně. Podle výsledků činila výtěžnost metody 96,9% a výsledky byly přepočteny. Pro výpočet výtěžnosti byl použit referenční materiál D14 DON (2.6 ppm) od firmy R-Biopharm. Limit kvantifikace pro oves, označovaný LOQ je 0,36 ppm. V případě zaslaných vzorků z obou odrůd (Neklan a Atego) ve všech variantách (neošetřené a ošetřené zároveň NPK obohaceným o *T. harzianum* a Supresivitem) nebyl tento limit překročen ani v jednom případě. Ve vzorcích se tedy nevyskytovalo nadlimitní množství mykotoxinů.

### 3.4. Vyhodnocení pokusů

#### 3.4.1. Statistické vyhodnocení pokusu

Statistické vyhodnocení celého dvouletého pokusu bylo vyhodnoceno pouze základními statistickými metodami, kterými jsou průměr, směrodatná odchylka, maximum, minimum, modus a medián. Veškeré hodnoty jsou vyjádřeny v následující tabulce č. 15. Zhodnocení bylo zpracováno pro jednotlivé varianty na obou živných půdách. Je možné porovnat jak odrůdy a jejich ošetřené a neošetřené varianty, tak i výskyt hub na jednotlivých živných půdách. Hlavní důraz byl kladen na zhodnocení výskytu napadení houbami rodu *Fusarium*. Ostatní druhy nebyly zastoupeny v tak hojné míře, aby se dalo dělat zhodnocení pro každý jednotlivý druh zvlášť. Byly proto zhodnoceny společně a označeny jako druhy ostatní. Tyto druhy se liší v obou letech, nikoli však výrazně u obou odrůd. V roce 2005 bylo rozmezí výskytu od 8,33 do 15 %, v roce 2006 od 1,67 do 10 %.

Tab. 15 Statistické vyhodnocení povrchové mikroflóry na pluchatém ovsu

varianta	průměr	směr.odch	max	min	modus	median
Neklan PDA						
kontrola	35,85	18,8	70	15	30	30
supresivit	25,85	24,05	75	0	-	20
Neklan SL						
kontrola	48,35	33	95	10	20	42,5
supresivit	39,15	17,66	60	15	60	40
Atego PDA						
kontrola	36,65	20,75	75	10	-	35
supresivit	33,35	15,99	55	15	15	32,5
Atego SL						
kontrola	55	30,28	90	0	-	62,5
supresivit	48,3	29,11	85	0	-	52,5

#### 3.4.2. Srovnání napadení obilí povrchovou mikroflórou v roce 2005 a 2006

Srovnání napadení povrchovou mikroflórou je možné početně znázornit pouze u procentického výskytu hub rodu *Fusarium* spp., ale nikoli z hlediska jeho druhového zastoupení. To bylo jednoznačně rozmanitější v roce 2005, z důvodu pozdní sklizně, která musela být takto odložena kvůli deštivému počasí, které nastalo krátce před dozráním porostu.

**Tab. 16 Průměrné napadení obilek pluchatého ovsa houbami rodu *Fusarium* v roce 2005**

průměrné napadení <i>Fusarium</i> spp. v roce 2005				
odrůda	Neklan		Atego	
varianta	PDA	SL	PDA	SL
kontrola	35	31,7	38,3	38,3
supresivit	35	33,3	36,7	33,3

Jak je z předchozí tabulky (č. 16) patrné, bylo v ní vyjádřeno průměrné procentické napadení u obou odrůd, v obou variantách. Toto napadení bylo nejvyšší u odrůdy Atego, kdy byly kultury pěstované na živné půdě PDA, a to jak u varianty ošetřené (38,3%) , tak u varianty neošetřené (36,7%). Naopak nejnižší napadení prokázala odrůda Neklan a to v případě, kdy byly kultury pěstované na živné půdě SL. Je patrné, že obě živné půdy se liší v procentu výskytu patogena v průběhu kultivace.

**Tab. 17 Průměrné napadení obilek pluchatého ovsa houbami rodu *Fusarium* v roce 2006**

průměrné % napadení <i>Fusarium</i> spp. v roce 2006				
odrůda	Neklan		Atego	
varianta	PDA	SL	PDA	SL
kontrola	36,7	65,45	35	71,7
supresivit	16,7	33,3	30	63,3

Podle tabulky 17 bylo nejvyšší napadení u odrůdy Atego v kontrolní variantě na půdě SL (71,7%), naopak nejnižší u odrůdy Neklan u varianty ošetřené na PDA (16,7%). Na rozdíl od předchozího roku nebylo vyjímečné napadení přesahující 70% (u obou odrůd).

Pro shrnutí byla vypočtena a sestavena poslední tabulka (č. 18), která vyjadřuje průměrné hodnoty z obou sledovaných let současně.

**Tab. 18 Průměrné napadení obilek pluchatého ovsa houbami rodu *Fusarium* v letech 2005, 2006**

průměrné % napadení rodem <i>Fusarium</i> spp.				
odrůda	Neklan		Atego	
varianta	PDA	SL	PDA	SL
kontrola	35,85	48,35	36,65	55
supresivit	25,85	39,15	33,35	48,3

Při srovnání průměrného napadení obilek v procentech v obou ročnících bylo nejnižší celkové napadení (25,85%) u odrůdy Neklan u ošetřené varianty a nejvyšší celkové potom u odrůdy Atego u kontrolní varianty, a to 55 %. V tomto případě byla překročena hranice 50%.



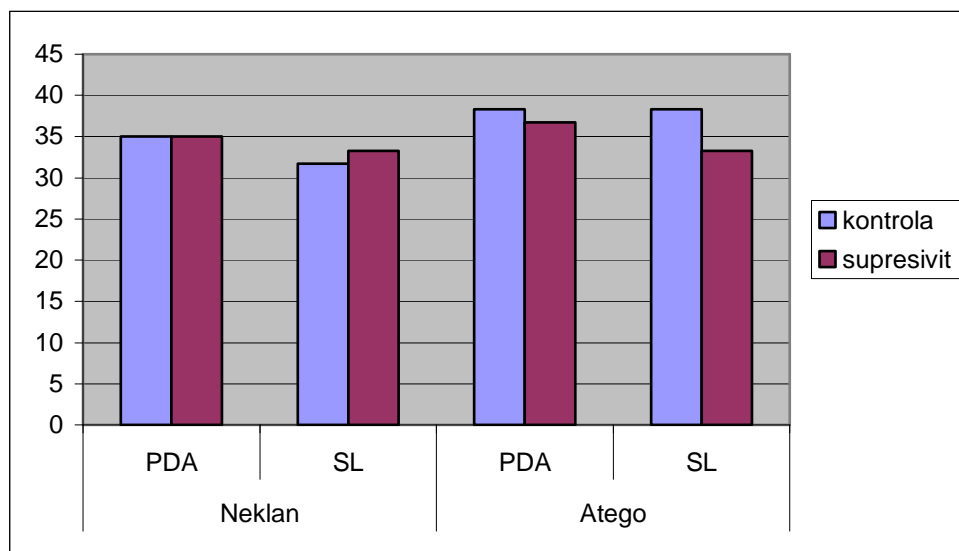
Napadení se u všech ostatních variant drželo pod touto hranicí (50%), i když u kontrolní varianty u odrůdy Neklan bylo napadení 48,35% a u ošetřené varianty odrůdy Atego se hodnoty k této hranici výrazně blížily (48,3%).

**Tab. 19** Zatoupené druhy patogenů na obilkách pluchatého ovsu v letech 2005, 2006

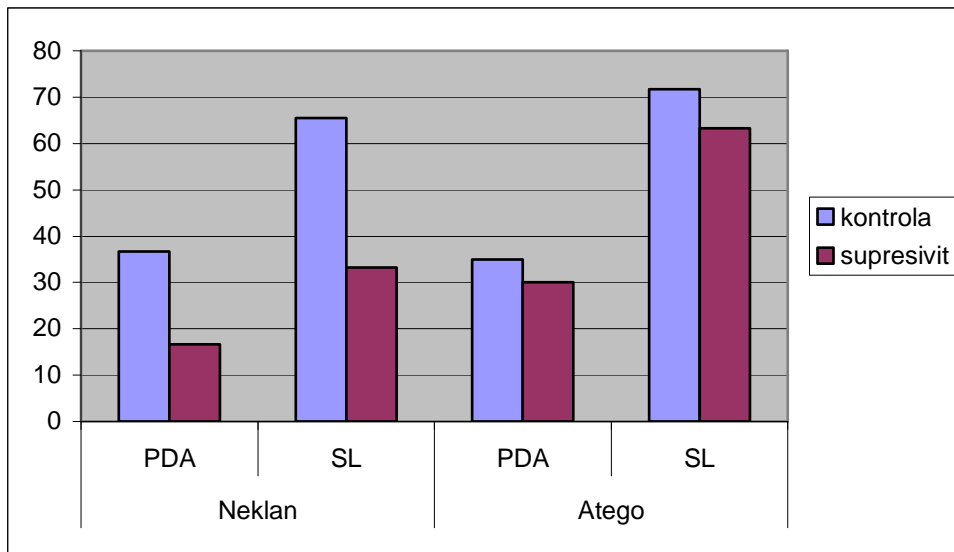
odrůda		Neklan				Atego			
druh		2005		2006		2005		2006	
		kontrola	supresivit	kontrola	supresivit	kontrola	supresivit	kontrola	supresivit
Fusarium	<i>culmorum</i>								
	<i>graminearum</i>								
	<i>oxysporum</i>								
	<i>poae</i>								
	<i>solani</i>								
	<i>tricinctum</i>								

V této tabulce (č. 19) je znázorněno druhové zastoupení na jednotlivých variantách. Jednoznačně nejvíce druhů bylo zaznamenáno na odrůdě Neklan v roce 2005 (5 druhů). Nejméně u odrůdy Neklan, varianta ošetřená (Supresivit a obohacené NPK) a to pouze 1 druh (*Fusarium poae*).

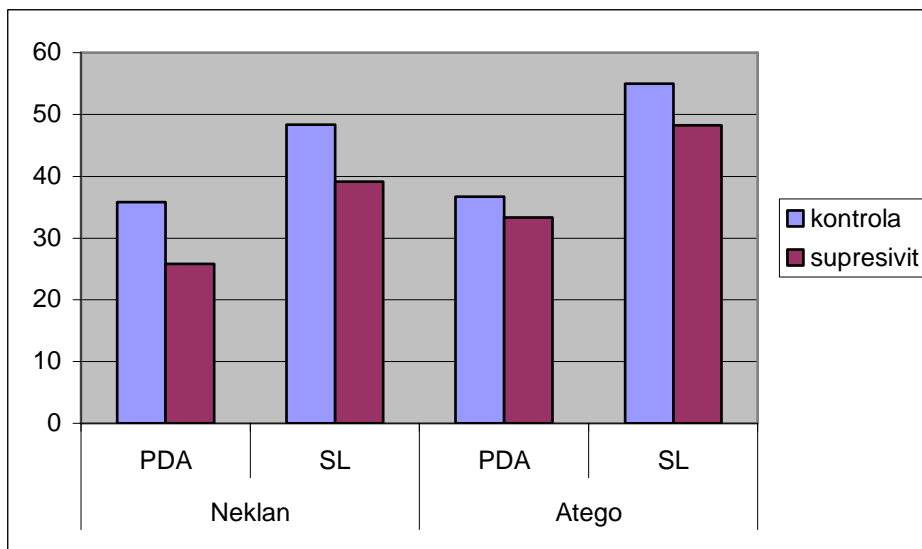
**Graf 17** Porovnání procentického napadení houbami rodu *Fusarium* v roce 2005 u odrůd Neklan a Atego



**Graf 18 Porovnání procentického napadení houbami rodu *Fusarium* v roce 2006 u odrůd Neklan a Atego**



**Graf 19 Průměrné napadení pluchatého ovsa houbami *Fusarium* spp. v letech 2005, 2006**



Na stránkách 59 a 60 byly graficky znázorněny rozdíly (graf 17, 18, 19), které byly předtím popsány v tabulkách (16, 17, 18). Z grafů je patrné, že větší procento napadení se projevilo u kontrolních variant ( V roce 2005 bylo nejvyšší u odrůdy Atego 38,3 %, v roce 2006 rovněž u odrůdy Atego 71,7 %). Pouze u odrůdy Neklan v pokusném roce 2005 tomu tak nebylo. Na živné půdě PDA bylo napadení u obou variant shodné (35%) a u této odrůdy bylo rovněž na SL napadení u kontrolní varianty dokonce nižší než u ošetřené a to o 1,6% (kontrolní varianta měla 31,7 % a ošetřená 33,3 % napadení houbami *Fusarium* spp.).

Absolutně nejnižší napadení bylo zaznamenáno u odrůdy Neklan v pokusném roce 2006 u ošetřené varianty a to pouze 16,7%. Tento údaj je o 9,15% nižší než byl celkový zjištěný průměr.

Druhové zastoupení hub rodu *Fusarium* bylo mnohem rozmanitější v roce 2005 než v roce 2006 (tab. 19). Jak už bylo výše zmíněno bylo to dáno povětrnostními podmínkami.

### 3.4.3. Srovnání OH u pluchatého ovsa v letech 2005, 2006

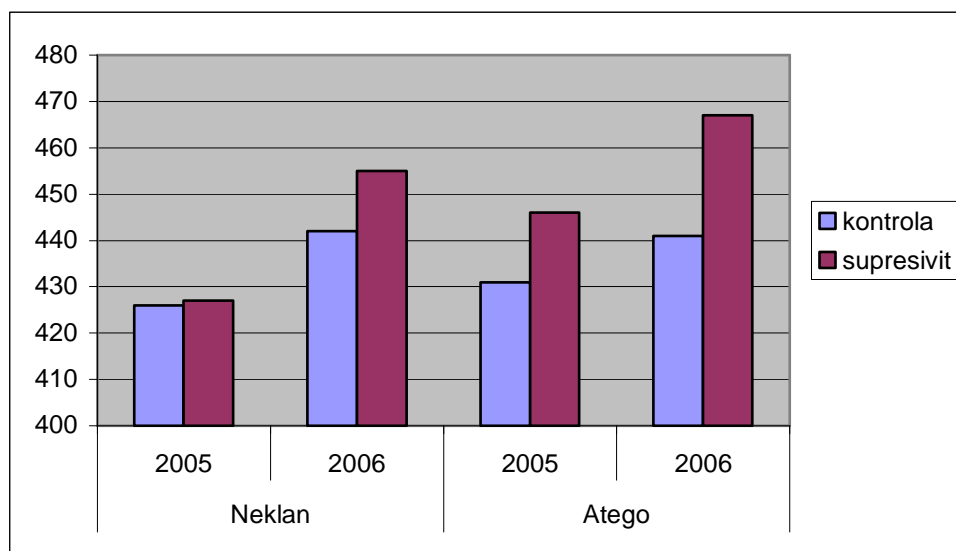
Při srovnávání objemových hmotností naměřených v obou letech byly výsledky shrnuty do následující tabulky (č. 20). Z ní je patrné, že objemové hmotnosti u odrůdy Atego se nijak výrazně v obou letech neliší, u odrůdy Neklan byla OH v roce 2005 o něco nižší než v roce 2006. Tento rozdíl byl výraznější u varianty ošetřené přípravkem Supresivit.

Tab. 20 Porovnání OH v zjištěných v letech 2005, 2006

OH g*l <sup>-1</sup>	Neklan		Atego	
varianta	2005	2006	2005	2006
kontrola	426	442	431	441
supresivit	427	455	446	467

Na grafickém znázornění (graf 20) je tento rozdíl dobře patrný a zvyrazňuje se nám zde i rozdíl u odrůdy Atego u ošetřených variant, kdy v roce 2006 byla OH vyšší než v roce předchozím.

Graf 20 Srovnání OH u odrůd Neklan a Atego v letech 2005 a 2006



### 3.4.4. Srovnání HTZ u odrůd Neklan a Atego v letech 2005 a 2006

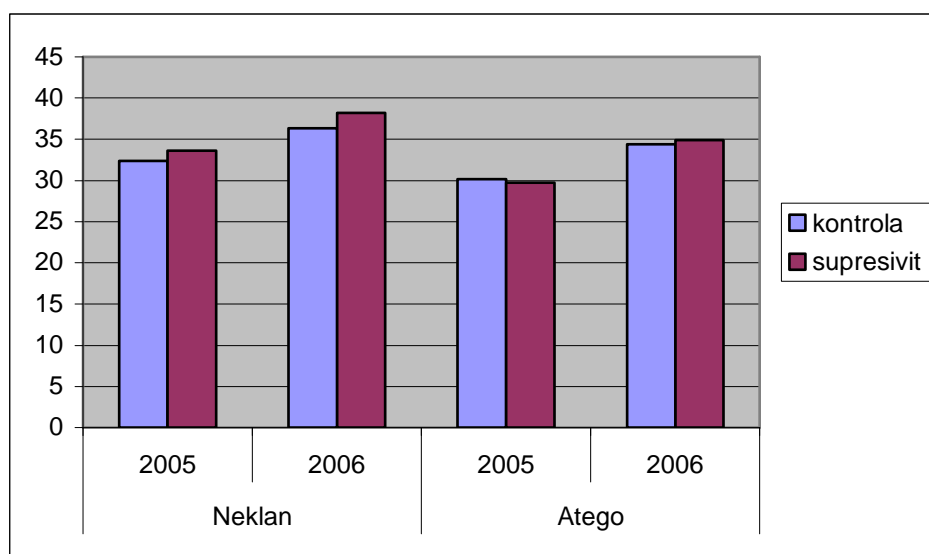
Nejnižší hmotnost tisíce zrn byla naměřena v roce 2005 u odrůdy Atego u ošetřené varianty a to pouze 29,7 g. Naopak nejvyšší byla v roce 2006 u ošetřené varianty odrůdy Neklan, 38,2 g. V roce 2006 byla u odrůdy Atego u ošetřené varianty naměřena HTZ o 5,2 g vyšší než v roce 2005 (tab. 21).

**Tab. 21 Porovnání hodnot HTZ pluchatého ovsa v letech 2005, 2006**

HTZ (g)	Neklan		Atego	
	2005	2006	2005	2006
kontrola	32,4	36,3	30,2	34,4
supresivit	33,6	38,2	29,7	34,9

Grafické znázornění (graf 21) ještě více podtrhuje nejvyšší hodnoty dosažené u materiálu odrůdy Neklan ošetřeného obohaceným hnojivem NPK a postřikem Supresivit.

**Graf 21 Srovnání HTZ u odrůd Neklan a Atego v roce 2005 a 2006**



### 3.4.5. Srovnání klíčivosti v letech 2005, 2006

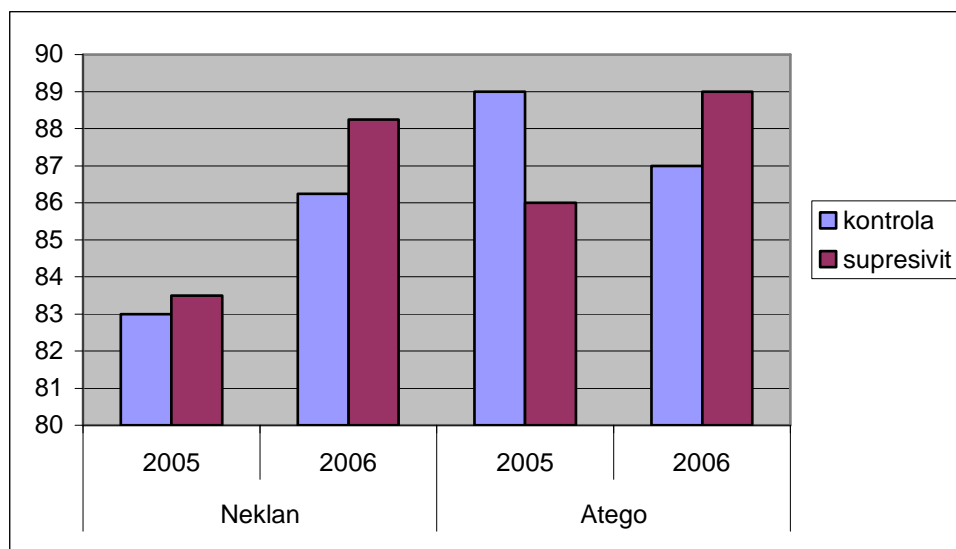
Jednoznačně vyšší klíčivosti dosáhla v provedených pokusech odrůda Atego a to jak v obou ročnících, tak i u obou testovaných variant (tab. 22). Celkové nejvyšší hodnoty byly dosaženy u této odrůdy v roce 2005 u kontrolní varianty (89%) a v roce 2006 u ošetřené varianty (89%).

**Tab. 22 Průměrná klíčivost v obou letech**

klíčivost %	Neklan		Atego	
	2005	2006	2005	2006
kontrola	83	86,25	89	87
supresivit	83,5	88,25	86	89

To, že bylo v roce 2005 dosaženo nejvyšší klíčivosti u odrůdy Atego v kontrolní, tedy neošetřené variantě vyniká na následujícím grafu (č. 22). Nejnižších hodnot klíčivosti bylo dosaženo u odrůdy Neklan v roce 2005 u obou variant (ošetřená 83,5% a neošetřená 83%).

**Graf 22 Porovnání klíčivosti u odrůd Neklan a Atego v letech 2005 a 2006**



## 4. Diskuse

V diplomové práci jsem se pokusila popsat vliv použití houby *Trichoderma harzianum*, která byla aplikována prostřednictvím přípravku s obchodním názvem Supresivit a pomocí hnojiva NPK obohaceného touto houbou (*T. harzianum*), na patogenní organismy vyskytující se na ovsu setém (*Avena sativa*). K maloparcelkovým pokusům byly použity dvě odrůdy pluchatého ovsa, odrůda Neklan a odrůda Atego. Obě odrůdy byly pěstovány ve stejných podmínkách a v pokusech byla prováděna stejná měření a kontroly.

Aby mohly být výsledky reprezentativní, byly pokusy provedeny ve dvouletém sledování (v roce 2005 a 2006). V obou letech byla použita stejná metodika založení i ošetřování porostu, aby se daly výsledky hodnotit společně a měly určitou vypovídací schopnost. Ovšem vzhledem k tomu, že byly pokusy zakládány na malých plochách, jsou tímto faktem výsledky částečně zkresleny. Na maloparcelkových pokusech totiž netrpí plodina takovým množstvím chorob a rovněž je nižší přítomnost abiotických vlivů.

Prvními kontrolami, které se prováděly, byly kontroly zdravotního stavu v porostu. Jednalo se o tři kontroly a bylo potvrzeno to, co uvádí například Moudrý (1993), že oves je plodina s fyto-sanitárním účinkem a působí tedy jako vhodný přerušovač obilných sledů.

Dalšími faktory, které jsme se pokusili potvrdit byly i výnosové charakteristiky. Protože jak uvádí řada autorů, je možné aplikací houby *Trichoderma harzianum* dosáhnout značného zvýšení výnosu. Například Chet, Inbar a Hadar (1997) uvedli zvýšení výnosu až o 300%. V tomto případě se ovšem jednalo o pěstování ve sklenících. Benítez a kol. (2004) popsali zefektivnění příjmu živin a schopnost přizpůsobovat si rhizosféru, což vede samozřejmě k již zmíněnému zvýšení výnosu. A Hýsek a kol. (2001) prokázali zvýšení výnosu u obilnin, po aplikaci hnojiva NPK obohaceného o houbu *Trichoderma harzianum*, o 3,5 -6,5 %. V našich pokusech byla ve všech případech naměřena vyšší objemová hmotnost ošetřeného materiálu než u neošetřeného, ovšem o výraznější rozdíl se jednalo pouze v roce 2006 u odrůdy Atego u již zmíněné varianty, která byla ošetřena jak NPK obohaceným o houbu *T.harzianum*, tak přípravkem Supresivit. Rozdíl mezi kontrolní a ošetřenou variantou zde byl 26 g.l<sup>-1</sup>. Nejmenší rozdíl potom vykazala odrůda Neklan a její kontrolní varianta v roce 2005, kdy byl rozdíl mezi ošetřenou a neošetřenou variantou pouze 1 g.l<sup>-1</sup>. Tento výsledek odpovídá tomu, že v tomto pokusném roce, čili v roce 2005, bylo nezvykle horké léto a v období sklizně dlouhodobě pršelo, tudíž sklizeň se výrazně opozdila. Z toho důvodu byly jak výnosové charakteristiky, tak i napadení houbovými chorobami vyšší než v následujícím roce (2006).

To uvádí například i Sychrová, Chrpová a Šíp (2006), kteří zmiňují, že rozhodujícím faktorem pro napadení klasů jsou právě povětrnostní podmínky v době květu obilnin. Nejvhodnější pro šíření infekce jsou teploty kolem 20 °C při dostatečné vlhkosti vzduchu. Drobné srážky střídané krátkými obdobími slunečního svitu podporují šíření patogena.

Pokud bychom posuzovali hmotnost tisíce zrn, pak nejvyšší hmotnost byla dosažena v roce 2006 u odrůdy Neklan u ošetřené varianty, kdy tato hmotnost byla 38,2 g. Naopak nejnižší HTZ měla ošetřená varianta odrůdy Atego v roce 2005 a to pouze 29,7 g. Tento rozdíl je celkem výrazný. Jedná se však o rozdíl mezi oběma odrůdami. Pokud se zaměříme na jednotlivé odrůdy a roky, tak rozdíly mezi kontrolní a ošetřenou variantou nejsou tak vysoké. Tento fakt je v souladu s tím, co uvádějí Baker a Scher (1987), kteří zjistili, že *Trichoderma* spp., která se používá jako bioagens do obilí pěstovaného v polních podmínkách, vyžaduje vysoké teplotní optimum, takže může účinkovat v teplém podnebí, ale zároveň může být neúčinná na studených půdách.

Na účinek houby *Trichoderma harzianum* má vliv i pH půdy, jak to uvádí Chet a Backer (1980). A stejně tak jak ovlivňuje počasí působení hub rodu *Trichoderma*, tak má stejný vliv i na patogenní organismy, které se mohou lépe vyvíjet v podmínkách pro antagonistu nepříznivých. O tomto faktu svědčí i první rok pokusů, tedy rok 2005, kdy byly vydatné srážky v období sklizně a to ovlivnilo druhové zastoupení patogenů. Jelikož jsme se blíže zabývali pouze patogenními houbami rodu *Fusarium*, jsou v tabulkách uváděny hlavně tyto houby. Bylo prokazatelně zjištěno, že v roce 2005 bylo druhové spektrum těchto patogenů mnohem širší než tomu bylo v roce následujícím, kdy se jednalo prakticky pouze o dva nejběžnější druhy tohoto patogena. Byl to druh *Fusarium poae* a *Fusarium solani*. Oproti tomu v roce 2005 bylo na povrchu zrn zjištěno 5 druhů hub rodu *Fusarium* (*F. culmorum*, *graminearum*, *oxysporum*, *poae*, *tricinctum*). Výsledek byl jednoznačně ovlivněn průběhem počasí během léta.

Poslední ze zjišťovaných hodnot byla klíčivost. Tato charakteristika není přímo ovlivněna přítomností hub *Trichoderma* spp., ale nepřímo na ni působí přítomnost patogenních organismů vyskytujících se na povrchu obilí. Čím více patogenů se na obilkách nacházelo, tím nižší byla klíčivost. V pokusech, které jsme prováděli byla klíčivost vyšší u odrůdy Atego a to v obou letech. Ani u jedné odrůdy v žádné variantě se nepodařilo překročit hranici 90% klíčivosti. U odrůdy Atego byly nejvyšší hodnoty 89 % (u kontrolní varianty v roce 2005 a u ošetřené varianty v roce 2006) a u odrůdy Neklan 88,25% (u ošetřené varianty v roce 2006).

Ani v jedné z výnosových charakteristik se nepodařilo dosáhnout hodnoty, kterou by měla daná odrůda podle nabídkových katalogů osiv splňovat. Domníváme se, že je to způsobeno hlavně extrémními povětrnostními podmínkami, které v obou letech panovaly.

Pokud se jedná o další kultivaci patogenů *in vitro*, byly použity dvě živné půdy a to sladinkový agar a PDA. Na obou těchto půdách bylo zastoupení patogenů různé a procento pokryvnosti kolonií bylo rozdílné. Pouze v roce 2005 byl výskyt patogenních organismů na PDA a SL u odrůdy Neklan shodný. Ale ani rozdíly mezi ostatními variantami nebyly nijak výrazné. Vzhledem k tomu, že nebyly použity živné půdy selektivní pouze pro houby rodu *Fusarium*, vyskytovali se na těchto půdách i další patogeny, ale ty nebyli ve větším procentuálním zastoupení. Výskyt bakteriálních kultur byl prakticky zanedbatelný. U obou odrůd v obou letech bylo napadení vyšší u kontrolní varianty, pouze u odrůdy Neklan v roce 2005 bylo vyšší u varianty ošetřené. Jednalo se však o rozdíl pouhých 1,6%.

Celkově bylo napadení patogenními organismy vyšší v roce 2006, ale druhové spektrum hub rodu *Fusarium* bylo vyšší v roce 2005. Ve výnosových charakteristikách se jednotlivé odrůdy, varianty ani roky víceméně neliší. Jak již bylo uvedeno, bylo to způsobeno hlavně průběhem povětrnostních podmínek v obou letech.



## 5. Závěr

Celá práce byla zaměřena na praktické využití hub rodu *Trichoderma* při pěstování pluchatého ovsa. Vzhledem k tomu, že se biologická ochrana v polních podmínkách příliš nepoužívá, byly pokusy prováděny jako maloparcelkové na školním pozemku. Obě pěstované odrůdy byly odrůdy pluchatého ovsa (*Avena sativa*). Jednalo se o odrůdy Neklan a Atego. Na tyto odrůdy byl aplikován přípravek Supresivit ve formě postřiku ručním postřikovačem. Tento přípravek má jako účinnou látku již zmíněnou houbu *Trichoderma harzianum*. Součástí ošetření byla ještě aplikace granulovaného hnojiva NPK obohaceného houbou *T. harzianum*. Toto hnojivo bylo aplikováno po vzejití porostu.

Výsledky byly hodnoceny v laboratoři a smyslem práce bylo zjistit výnosové charakteristiky obou odrůd a napadení všech variant (ošetřených i neošetřených) houbovými patogeny, zvláště pak patogenními houbami rodu *Fusarium*.

U výnosových charakteristik nebylo pozorováno jejich výrazné zvýšení u ošetřených a neošetřených variant. Pouze u objemové hmotnosti byly u variant ošetřených NPK a Supresivitem naměřeny vyšší hodnoty. Co se týče hmotnosti tisíce zrn, nebyl mezi ošetřenou a neošetřenou variantou u obou odrůd v obou letech zjištěn významný rozdíl. U klíčivosti byly vyšší hodnoty zjištěny v obou letech u odrůdy Atego.

Pokud budeme hodnotit zastoupení patogenů, pak vyšší napadení bylo v roce 2006, kdy napadení kolísalo od 16,7 % až do 71,7 %, což jsou hodnoty vyšší než v roce 2005, kdy toto rozpětí bylo 31,7-38,3 %. Ovšem v roce 2005 bylo bohatší druhové zastoupení patogenů.

V obou letech byly nepříznivé povětrnostní podmínky, které napomáhaly šíření patogenů v porostu a tím snižovaly i výnosové charakteristiky. Projevilo se to tím, že ani u jedné odrůdy nebylo dosaženo hodnot (OH ani HTZ), které uvádějí prodejci těchto odrůd jako hodnoty standardní. Srážky v průběhu července a srpna v roce 2005 byly průměrně nad 150 mm a průměrné teploty od května do září neklesly v obou letech (2005, 2006) pod 15 °C.

Jak bylo zmíněno v mnoha člancích, je účinnost biologické ochrany příliš ovlivněna přírodními podmínkami. Proto se konvenční zemědělství raději obrací na spolehlivé chemické prostředky. Ovšem vzhledem k nepřiměřenému zatěžování životního prostředí chemickými látkami je otázkou času, kdy tato ochrana, tedy biologická, bude jedinou možnou volbou bez ohledu na zisk.

## 6. Seznam literatury

1. Baker, R. (1986): Biological Control:an Overview.Can. J. Plant. Pathol., 8, s.218-221, Cit. dle Brožová, J. (2004) :Mycoparasitic fungi *Trichoderma* spp. in plant protection, Plant protection science 2(40), s. 63-74, ISSN 0862-8645
2. Baker, R.,Scher, F.M. (1987):Enhancing the aktivivity of biological control agents, In Chet, I.:Innovative approaches to plant disease control, The Hebrew university of Jerusalem, Rehovot, Izrael, ISBN 0 471-80962-4
3. Becker, J. O., Schwinn, F. J. (1993): Control of soil-borne pathogens with living bacteria and fungi, Pestic.Sci, 37(4),s.355-363, Cit dle Okrouhlá, M. (1993):Biologické zdroje pro nechemickou ochranu rostlin (II. *Deuteromycetes*, *Trichoderma harzianum* Rifai aggr.), Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, ISSN 0862-3562
4. Benitez, T., Rincon, A. M., Limon,M. C. (2004): Mecanismos de biocontrol de cepas de *Trichoderma*, Int. Microbiology, 17(4), S.249-260, ISSN 1139-6709
5. Bezdíčková, A. (2006):Fuzária v klasech ozimé pšenice,možnosti ochrany, Agromanuál (profesionální ochrana rostlin) 1 (6):s.16-17, ISSN 1801-7673
6. Brožová, J. (2004):Mycoparasitic fungi *Trichoderma* spp. in plant protection, Plant protection science 2(40), s. 63-74, ISSN 0862-8645
7. Cejp, K. (1957): Houby, 1.-2. díl, Nakladatelství československé akademie věd, Praha
8. Čača, Z. (1990): Ochrana polních a zahradních plodin, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, ISBN 80-209-0171-X
9. Červenka, M., a kol. (1972): Klíč na určovanie výtrusných rastlín, II. díl (slizovky a huby), Slovenské pedagogické nakladateľstvo, Bratislava
10. Dixon, G. R., Doodson, J. K. (1971): Assisment keys for some diseases of vegetable, fodder and herbage crops J. natn. Instit. Agric. Bot., 12, s. 299-307
11. Domsch, K. H., Gams, W.j, Anderson, T. H. (1980):Compendium of soil fungi, Academia press, s.794-809, cit. dle Brožová, J. (2004):Mycoparasitic fungi *Trichoderma* spp. in plant protection, Plant protection science 2(40), s. 63-74, ISSN 0862-8645
12. Dostálová, J. (1992):Uplatnění ovsa v lidské výživě, Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha
13. Dubos, B. (1987): Fungal antagonism in cereal agrobiocenoses, In Chet, I.:Innovative approaches to plant disease kontrol, The Hebrew university of Jerusalem, Rehovot, Izrael, ISBN 0 471-80962-4
14. Dušková, E. (1991) : Průzkum účinnosti biologického fungicidu Supresivit proti půdním patogenům u okrasných rostlin, Cit. dle Brožová, J. (2004): Mycoparasitic fungi *Trichoderma* spp. in plant protection, Plant protection science 2(40), s. 63-74, ISSN 0862-8645
15. Dušková, E. (1995): Biologické fungicidy-použití v marginálních podmínkách, Sbor. Ref. Mezinárodní Věd. Konf. k 35. výročí založení fakulty, JU, Zemědělská fakulta,s. 197

16. Evans, G. H., Cooke, R. C. (1982): Studies on Mucoralean mycoparasites, III. Duffusible factors from *Mortierella vinacea* Dixon-Stewart that direct germ tube growth of *Piptocephalis fimbriata* Richardson and Leadbeater, *New Phytol.*,91, s.245-253, Cit dle Jeffries,P. (1997):Mycoparasitism, Research Schooll of Biosciences, The Mycota IV, Envirnmntal and Microbial Relationships, Springer-Verlag, Berlin, ISSN0305-7364
17. Fassatiová, O. (1979):Plísňě a vláknité houby v technické mikrobiologii (příručka k určování),SNTL-nakladatelství technické literatury, Praha
18. Goswami, R.S., Kistler, H.C. (2004):Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops, *Molecular plant pathology*, 5(6), s. 515-525
19. Harman, G. E. (2000) : Myths and dogmas of biocontrol, changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum*, *Plant disease* 70, s.377-393, cit dle Harman, G. E., Howell, Ch. R., Vitebro, A., Chet, I., Lorito, M. (2004): *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts, *Nature reviews microbiology*, 5(2), s.43-56, ISSN 1740-1526
20. Harman, G. E., Howell, Ch. R., Vitebro, A., Chet, I., Lorito, M. (2004): *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts, *Nature reviews microbiology*, 5(2), s.43-56, ISSN 1740-1526
21. Harman, G. E., Kubicek, C. P. (1998): *Trichoderma* and *Gliocladium*, vol. 2, Cit. dle Harman, G. E., Howell, Ch. R., Vitebro, A., Chet, I., Lorito, M. (2004): *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts, *Nature reviews microbiology*, 5(2), s.43-56, ISSN 1740-1526
22. Heinz, K.M., Van Driesche, R. G., Parella, M. P. (2004):Bio control in protected culture, Ball Publishing, Illinois, ISBN 1-883052-39-4
23. Hluchý, M., Zacharda, M. (1994):Prostředky a systémy biologické ochrany rostlin, Biocont Laboratory s.r.o., Brno, ISBN 80-901874-0-4
24. Howell, C. R. (2002):Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp., *Phytopathology* 92, s.177-180, Cit. dle Harman, G. E., Howell, Ch. R., Vitebro, A., Chet, I., Lorito, M. (2004): *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts, *Nature reviews microbiology*, 5(2), s.43-56, ISSN 1740-1526
25. Hrdý, I. (1991): Biopesticidy v zemědělství, Ministerstvo zemědělství ČR, Praha, ISBN 80-7084-041-2
26. Hýsek, J., Vach, M. (2006): Diagnostika a hodnocení fytopatogenních hub rodu *Fusarium* (Posuny v houbovém spektru po aplikaci biopreparátů při pěstování jarního ječmene), In: Diagnostika a hodnocení chorob rostlin, se zaměřením na obilniny, Odborný seminář, VÚRV Praha, ISBN 80-86555-92-5
27. Hýsek, J., Vach, M., Brožová, J. (2001):Směsi minerálních hnojiv s biopreparátem Supresivit v ochraně rostlin, *Rostlinolékař*, 1/2001, s.7-8, ISSN 1211-3565
28. Chet, I. (1987):*Trichoderma* application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi, In Chet, I.:Innovative approaches to plant disease kontrol, The Hebrew university of Jerusalem, Rehovot, Izrael, ISBN 0 471-80962-4
29. Chet, I., Harman, G. E., Baker, R. (1981): *Trichoderma hamatum* its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp., *Microb. Ecol*, 7, s.29-38, Cit. dle Harman, G. E., Howell, Ch. R.,

Vitebro, A., Chet, I., Lorito, M. (2004): *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts, Nature reviews microbiology, 5(2), s.43-56, ISSN 1740-1526

30. Chet, I., Inbar, J., Hadar, I. (1997): Fungal antagonists and mycoparasites, In: Wicklow, D.T., Söderström, B. : The Mycota IV: Environmental and microbial relationships, Springer-Verlag, Berlin, s. 165-184

31. Chrpová, J., Šíp, V., Sychrová, E., Matějová, E. (2006): Klasové fuzariózy u pšenice, In: Diagnostika a hodnocení chorob rostlin, se zaměřením na obilniny, Odborný seminář, VÚRV Praha, ISBN 80-86555-92-5

32. Jeffries, P. (1997): Mycoparasitism, Research School of Biosciences, The Mycota IV, Environmental and Microbial Relationships, Springer-Verlag, Berlin, ISSN 0305-7364

33. Jirátko, J. (1990): Biologická ochrana rostlin-možnosti a perspektivy, Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha

34. Joffe, A. Z. (1986): *Fusarium* species: Their biology and toxicology, A Wiley-Interscience publication, New York, ISBN 0-471-82732-0

35. Koutecká, J., Dušková, E. (1998) : Interactions of soilborne pathogenic and nonpathogenic fungi and their effects on cucumber germinating plants, Horticultural science, 25, s. 109-113, ISSN 0862-867X

36. Kúdela, V. (1998): Obecná fytopatologie (Fytopatogenní prokaryota), Jihočeská univerzita-zemědělská fakulta, České Budějovice, ISBN 80-7040-275-X

37. Leišová, L. (2006): Hodnocení a diagnostika chorob obilnin způsobených houbovými patogeny s využitím molekulárně-biologických metod, In: Diagnostika a hodnocení chorob rostlin, se zaměřením na obilniny, Odborný seminář, VÚRV Praha, ISBN 80-86555-92-5

38. Lõiveke, H. (2004): *Fusarium* spp. as an important problem in cereal production in Estonia, Agronomijas Vēstis (Latvian Journal of Agronomy), Jelgava, no 7, s.84-88, ISBN 9984-55-89-6

39. Markell, S.G., Franc, L. J. (2003): *Fusarium* head blight inoculum : species prevalence and *Gibberella zeae* spore type, Plant Disease 87, s.814-820 , Cit. dle Goswami, R.S., Kistler, H.C. (2004): Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops, Molecular plant pathology, 5(6), s. 515-525

40. Michrina, J., Michalíková, A., Roháček, R., Kulichová, R. (1995): Antibiosis as a possible mechanism of antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium culmorum*, Ochrana rostlin-Plant protection, 31 (3), ISSN 0862-8645

41. Moudrý, J. (1993): Základy pěstování ovsa, Institut výchovy a vzdělávání ministerstva zemědělství ČR, Praha, ISBN 80-7105-044-X

42. Nesrsta, M. (1991) : Produkce antibiotik a toxinů u rodu *Trichoderma*, ZD Blatnice, č.6, s.9-27, cit. dle Okrouhlá, M. (1993): Biologické zdroje pro nechemickou ochranu rostlin (II. *Deuteromycetes*, *Trichoderma harzianum* Rifai aggr.), Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, ISSN 0862-3562

43. Obenauf, U. (2002): Fusarien machen auch im Norden probleme, DLZ Agrarmagazin, 5, s.20-25, cit. dle Lõiveke H. (2004): *Fusarium* spp. as an important problem in cereal production in Estonia, Agronomijas Vēstis (Latvian Journal of Agronomy), Jelgava, no 7, s.84-88, ISBN 9984-55-89-6

44. Okrouhlá, M. (1993): Biologické zdroje pro nechemickou ochranu rostlin (II. *Deuteromycetes, Trichoderma harzianum* Rifai aggr.), Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, ISSN 0862-3562
45. Ort, P. (2005): Fuzariózy-Choroby vyžadující velkou pozornost, Agro (měsíčník aktuálních informací pro rostlinnou výrobu), 10(5), s. 27, ISSN 1211-362X
46. Petr, J., Húska, J., a kol. (1997): Speciální produkce rostlinná –I. (obecná část, obilniny), Agronomická fakulta ČZU, Praha, ISBN 80-213-0152-X
47. Polišenská, I. (2006): Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách v ČR, Zborník prednášok odborného semináru s medzinárodnou účasťou, VÚRV Praha
48. Polišenská, I., Nedomová, L., Tvarůžek, L. (2007): Fuzáriové mykotoxiny v ovsu, Obilnářské listy (časopis pro agronomy nejen s obilnářskými informacemi), 15 (1), s. 9-11, ISSN 1212-138X
49. Prokinová, E. (2001): Pravděpodobnost výskytu chorob obilnin, Rostlinolékař, 2/2001, s. 2-3, ISSN 1211-3565
50. Prokinová, E. (2005): Choroby klasů, Agro (měsíčník aktuálních informací pro rostlinnou výrobu), 10(5), s. 21-22, ISSN 1211-362X
51. Rghei, N. A., Castle, A. J., Manocha, M. S. (1992): Involvement of fimbriae in fungal host-mycoparasite interaction, *Physiol. Mol. Plant. Pathol.*, 41, s.139-148, Cit dle Jeffries, P. (1997): *Mycoparasitism*, Research School of Biosciences, The Mycota IV, Environmental and Microbial Relationships, Springer-Verlag, Berlin, ISSN 0305-7364
52. Schachermayr, G., Fried, M. P. (2000): Problemkreis Fusarien und ihre Mykotoxine, *AGRAR Forschung*, 7(6), s.252-257, cit. dle Löiveke H. (2004): *Fusarium spp. as an important problem in cereal production in Estonia*, *Agronomijas Vēstis (Latvian Journal of Agronomy)*, Jelgava, no 7, s.84-88, ISBN 9984-55-89-6
53. Sychrová, E., Chrpová, J., Šíp, V. (2006): Klasové fuzariózy, výskyt, infekčnost, bionomie a ochrana obilnin, *Agromanuál (profesionální ochrana rostlin) 1 (6)*:s.20-21, ISSN 1801-7673
54. Šebesta, J. (1991): Hodnocení chorob polních plodin z hlediska šlechtění na odolnost, Ústav vědeckotechnologických informací pro zemědělství, Praha
55. Thrane, Ch., Trosmo, A., Jensen, D. F. (1997) :Endo-1,3-beta-glucanase and cellulase from *Trichoderma harzianum*: purification and partial characterization, induction of and biological activity against plant pathogenic *Pythium spp.*, *Plant Pathology*, 103, s.331-344
56. Tichá, K. (2001): Biologická ochrana rostlin, Grada Publishing, Praha, ISBN 80-247-9043-2
57. Tjamos, E. C., Papavizas, G. C., Cook, R. J. (1992): Biological control of plant diseases, Progress and challenges for the future, Plenum Press, Cit. dle Benitez, T., Rincon, A. M., Limon, M. C. (2004): Mecanismos de biocontrol de cepas de *Trichoderma*, *Int. Microbiology*, 17(4), S.249-260, ISSN 1139-6709
58. Urban, J., Šarapatka, B., a kol. (2003): Ekologické zemědělství (Základy ekologického zemědělství, agroenvironmentální aspekty a pěstování rostlin, učebnice pro školy i praxi), MŽP, Praha, ISBN 80-7212-274-6
59. Váňa, J. (1996): Systém a vývoj hub a houbových organismů, Univerzita Karlova, vydavatelství Karolinum, Praha, ISBN 80-7184-175-7

60. Váňová, M., Tvarůžek, L., Hajšlová, J. (2005): Fuzária ohrožují prodejnost obilovin doma i v zahraničí, Agro (měsíčník aktuálních informací pro rostlinnou výrobu), 10(9,10), s. 22-24, ISSN 1211-362X
61. Vavrač, J., Michalíková, A., Odřej, M. (1997): Impact studies on a mixture of beneficial rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO and some strains of bioprotective fungi *Trichoderma* spp. in a suppression of *Rhizoctonia solani* damping-off disease of cucumbers, Proc. XIV. Slovak and Czech Plant Protect. Conf., Nitra, s. 299-300
62. Vyas, S. C., Vyas, S. (1995): Integrated control of dry root of soybean, 11th Int. Symp. Modern Fungicides and Antifungal Compounds, Thuringia, Germany, s. 565-572, Cit. dle Brožová, J. (2004): Mycoparasitic fungi *Trichoderma* spp. in plant protection, Plant protection science 2(40), s. 63-74, ISSN 0862-8645
63. Wood, R. K. S. (1982): Active defense mechanisms in plants, NATO advanced study institutes series, New York, ISBN 0-306-40814-7
64. Zídek, T. (1992): Nechemická ochrana rostlin, Brázda, Praha, ISBN 80-209-0237-6
65. Zimand, G., Elad, Y., Chet, I. (1996) : Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity, Phytopathology 86(11), s. 1255-1260, ISSN 0031-949X

Internetové zdroje:

Anonym 1: <http://www.sci.muni.cz/mikrob/miniatlas/obsah.htm>  
<http://www.scabuse.org>  
<http://www.broad.mit.edu/annotation/fungi>  
<http://www.scielo.isciii.es/scielo.php>  
[http://weizmann.ac.il/Biological\\_chemistry/scientist/Chet/Chet.html](http://weizmann.ac.il/Biological_chemistry/scientist/Chet/Chet.html)  
<http://www.EPA.gov>  
<http://www.nysaes.cornell.edu/biocontrol/pathogens/trichoderma.html>  
<http://www.mendelu.cz>  
<http://www.webofknowledge.cz>

Další použité zdroje:

1. Hamouz, K a kol. (1993) : Cvičení z rostlinné výroby, 16. vyd., VŠZ, Praha, ISBN 80-213-0140-6
2. Katalog odrůd jaro 2006, Oseva pro s.r.o
3. Propagační materiály společnosti Selgen a.s.

Počítačové programy:

Microsoft Word, Microsoft Excel

## **7. Přílohy**





**Obr. 1** NPK aplikované na pozemku jako první ošetření



**Obr. 2** Houba *Trichoderma harzianum* v čisté kultuře. Aplikovaná jako účinná látka v přípravku Supresivit



**Obr. 3** Setí ovesa pomocí neseného secího stroje







**Obr. 4** Plastové sítě, kterými byly parcelky po zasetí přikryty



**Obr. 5** Rozdílná kvalita porostu po ošetření NPK



**Obr. 6** Viditelný rozdíl mezi pohnojenou a nepohnojenou částí pozemku, pohled z boku







**Obr. 7** Aplikace přípravku Supresivit prováděná ručním postřikovačem



**Obr. 8** Zdravé rostliny ovsa při agrobiologické kontrole



**Obr. 9** Laty ovsa při metání







**Obr. 10** Kultivace obiliek na živné půdě PDA v podmínkách *in vitro*, spodní strana Petriho misky



**Obr. 11** Pohled na kulturu patogenních hub na živné půdě PDA na odrůdě Neklan



**Obr. 12** Kultura patogenních hub na sladinkovém agaru na odrůdě Neklan



**Obr. 13** Kultura patogenních hub na PDA na odrůdě Atego



**Obr. 14** Povrchová mikroflóra u neošetřené varianty odrůdy Neklan



**Obr. 15** Petriho miska po ukončení 7 denní kultivace

