

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroekologie a rostlinné produkce



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Využitelnost bakterií a hub při regulaci škůdců brambor
v systému ekologického zemědělství**

Bakalářská práce

**Autor práce: Natálie Čáslavská
Program studia: Ekologické zemědělství**

Vedoucí práce: Ing. Petr Dvořák, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Využitelnost bakterií a hub při regulaci škůdců brambor v systému ekologického zemědělství " jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 23.4. 2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Ing. Petru Dvořákovi, Ph.D. za veškerou pomoc, cenné rady a trpělivost při vedení mé bakalářské práce. Zároveň bych ráda poděkovala své rodině za podporu během studia.

Využitelnost bakterií a hub při regulaci škůdců brambor v systému ekologického zemědělství

Souhrn

Ekologické zemědělství je stále rozvíjející se obor, který k potlačování plevelů, chorob a škůdců využívá metody šetrné k životnímu prostředí, zejména mechanické metody a přípravky na bázi přírodních látek. Obecně dbá na soulad agroekosystému, biologickou pestrost a na upřednostňování obnovitelných zdrojů energie a recyklaci materiálů.

Mezi plodiny v ekologickém zemědělství patří brambory, které jsou z hlediska přípravy půdy a ochrany proti chorobám a škůdcům náročné. Tyto faktory významně ovlivňují výnosy a kvalitu hlíz. Představeny jsou hlavní škůdci brambor (mandelinka bramborová, mšice, drátovci, dřepčící či háďátka). K regulaci těchto škůdců u brambor jsou v ekologickém režimu využívány nepřímé metody ochrany, postupy mechanické regulace a stále častěji se využívá biologická ochrana. Ta spočívá v podpoře či využití přirozených nepřátel škůdců i jejich patogenů k jejich cílené kontrole a regulaci. Tato ochrana funguje na základě omezení rozmnožování či číření škůdce. Syntetické insekticidy jsou v ekologickém režimu zakázány.

Detailněji je představena regulace škůdců brambor pomocí přípravků na bázi bakterií a hub. Z bakterií se využívají zejména druhy *Bacillus thuringiensis*, *Chromobacterium subtsuage* a *Saccharopolyspora spinosa*. Z hub jsou pak využitelné druhy *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Tolypocladium niveum*, *Isaria fumosorosea* a některé druhy z rodu *Trichoderma*. Výhodou těchto přípravků je, že téměř vůbec, či jen minimálně, ovlivňují životní prostředí a necílové organismy. Nevýhodou je závislost či limitování účinnosti přírodními podmínkami a okolnostmi před a významně také po aplikaci těchto přípravků.

Klíčová slova: bioinsekticidy, bakterie, houby, škůdci brambor

Usability of bacteria and fungi in the control of potato pests in the system of organic farming

Summary

Organic farming is a growing field that uses environmentally friendly methods to control weeds, diseases and pests, especially mechanical methods and natural-based products. In general, it is concerned with agro-ecosystem harmony, biodiversity and a preference for renewable energy sources and recycling of materials.

Organic crops include potatoes, which are demanding in terms of soil preparation and disease and pest control. These factors significantly affect yields and tuber quality. The main pests of potatoes (Colorado potato beetle, aphids, wireworms, Epitrix or nematodes) are presented. To control these pests in potatoes, indirect control methods, mechanical control procedures and increasingly biological control are used in the organic regime. This consists of promoting or using the natural enemies of pests and their pathogens for targeted control and regulation. This control works by limiting the reproduction or spread of the pest. Synthetic insecticides are prohibited in the organic regime.

The control of potato pests using bacteria and fungi-based products is presented in more detail. Of the bacteria, the species used are mainly *Bacillus thuringiensis*, *Chromobacterium subtsuage* and *Saccharopolyspola spinosa*. Among fungi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizum anisopliae*, *Tolypocladium niveum*, *Isaria fumosorosea* and some species of the genus *Trichoderma* are useful. The advantage of these products is that they have little or no impact on the environment and non-target organisms. The disadvantage is the dependence or limitation of efficacy on natural conditions and circumstances before and, significantly, after the application of these products.

Keywords: bioinsecticides, bacterias, fungi, potato pests

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíl práce.....	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Ekologické zemědělství.....	3
3.1.1	Základní filozofie ekologického zemědělství	3
3.1.2	Právní rámec ekologického zemědělství v České republice a Evropské unii3	
3.2	Pěstování brambor v systému ekologického zemědělství	4
3.2.1	Zařazení v osevním postupu	4
3.2.2	Příprava půdy	4
3.2.3	Ošetření během vegetace	4
3.2.4	Skřízeň	5
3.3	Škůdci brambor	6
3.3.1	Mandelinka bramborová	6
3.3.2	Hádátka bramborové.....	8
3.3.3	Drátovci.....	10
3.3.4	Dřepčící rodu <i>Epitrix</i>	12
3.3.5	Mšice	14
3.4	Biologická ochrana rostlin.....	17
3.4.1	Mechanismy působení.....	18
3.4.2	Aplikace.....	19
3.4.3	Obchodní využití	19
3.5	Bakterie	20
3.5.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	21
3.5.2	<i>Chromobacterium subtsugae</i>	27
3.5.3	<i>Saccharopolyspora spinosa</i>	27
3.6	Houby	30
3.6.1	<i>Beauveria bassiana</i>	31
3.6.2	<i>Metarhizium anisopliae</i> syn. <i>robertsii</i>	33
3.6.3	<i>Tolypocladium niveum</i>	35
3.6.4	<i>Trichoderma</i> spp.	36
3.6.5	<i>Isaria fumosorosea</i>	37
4	Závěr	39
5	Literatura.....	40

1 Úvod

Ekologické zemědělství je nepřetržitě se rozvíjející obor, což je dáno nejen národními a evropskými dotacemi, ale také zvyšující se poptávkou spotřebitelů. Ti jsou v dnešní době vedeni dvěma motivacemi. Prvním důvodem je zájem o technologie a výrobky, které byly vyprodukovány v souladu s trvale udržitelným rozvojem. Druhý důvod souvisí s větší osvětou a relativně diskutovaným společenským tématem ochrany životního prostředí (Náhlovský 2009).

Jedním z největších rozdílů mezi konvenčním a ekologickým zemědělstvím je způsob ochrany rostlin před škůdci. Zatímco v konvenčním zemědělství se jedná primárně o pesticidy, v ekologickém zemědělství jde převážně o využití přirozených nepřátel (Urban et al. 2006).

Pěstování brambor v režimu ekologického zemědělství klade na pěstitele značné nároky. Pěstitelé se musí vypořádat s absencí chemických přípravků na ochranu rostlin, průmyslových hnojiv, dosažením dostatečného výnosu a dobré kvality hlíz. To vše s nutností uplatňovat všechna opatření k vytvoření vhodných podmínek pro růst a vývoj rostlin (Vokál et al. 2004).

2 Cíl práce

Cílem práce bylo zmapovat využitelnost bakterií a hub při regulaci škůdců u brambor. Zhodnotit jejich používání v současném systému ekologického zemědělství v České republice a v několika vybraných zemích. Popsat výhody a nevýhody jejich využívání, podrobněji charakterizovat některé vybrané organismy a biologické prostředky, postup při jejich aplikaci a účinnost.

3 Literární rešerše

3.1 Ekologické zemědělství

3.1.1 Základní filozofie ekologického zemědělství

Filozofií ekologického zemědělství je, pěstování rostlin a chov zvířat s cílem minimalizovat negativní dopad hospodaření na okolní prostředí. Zemědělci jde zejména o produkci zdravých potravin, pro jejichž výrobu nebyly použity žádné chemické přípravky. Zemědělská půda je brána jako primární zdroj, snažíme se zlepšit půdní úrodnost a chránit půdu před erozí (Hrudová 2015).

Dalším klíčovým aspektem je udržování biodiverzity, na kterou se nahlíží v širší souvislosti s okolní krajinou. Jsou vytvářena nová stanoviště, zakládány remízky a obnovovány meze poskytující rozvoj odlišných druhů živočichů a rostlin (Hrudová 2015).

3.1.2 Právní rámec ekologického zemědělství v České republice a Evropské unii

Podmínky pro hospodaření v režimu ekologického zemědělství jsou dány národními a evropskými právními předpisy (Dvorský & Urban 2014).

Hlavním evropským předpisem je nařízení rady 834/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů a o zrušení nařízení č. 2092/91, nařízení Komise č. 889/2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady č. 834/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů a nařízení Komise č. 1235/2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady č. 834/2007, pokud jde o opatření pro dovoz ekologických produktů ze třetích zemí (Dvorský & Urban 2014).

Národním předpisem je zákon 242/2000 Sb. o ekologickém zemědělství a o změně zákona č. 368/1992 Sb. o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů a vyhláška Ministerstva zemědělství č. 16/2006 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona o ekologickém zemědělství (Ministerstvo zemědělství 2000).

Dohled nad dodržováním těchto zákonů a předpisů Evropské unie provádí Ministerstvo zemědělství prostřednictvím certifikovaných kontrolních organizací, kterými v České republice jsou KEZ o.p.s., ABCERT AG, BIOKONT CZ, s.r.o. a Bureau Veritas Czech Republic, spol. s.r.o. (Dvorský & Urban 2014).

3.2 Pěstování brambor v systému ekologického zemědělství

3.2.1 Zařazení v osevním postupu

Střídání plodin se v boji proti dormantním a aktivním stádiím patogenů zaměřuje na vynechání hostitelských rostlin, zásobení půdy organickými substráty s cílem narušit dormanci patogenů, pěstování předplodin a následných plodin, které kořenovými výhonky vyprovokují klidová stadia patogenů ke klíčení. Po vyklíčení nenacházejí patřičnou hostitelskou rostlinu a nevytvářejí reprodukční orgány. Například po lupině je nižší frekvence poškození brambor *Rhizoctonii* (Kalinová 2007).

Při zařazení brambor je nutné brát ohled na svažitost pozemku, obsahu kamení v ornici a přijatelnou půdní reakci (Urban & Šarapatka 2006).

Brambory patří mezi nejdůležitější plodiny ekologického zemědělství. Část nebo celá produkce se zpeněžuje v zemědělském podniku. Jsou pěstovány ve většině ekologických podniků (Urban & Šarapatka 2006).

Není vhodné zařazovat brambory po sobě, a to zejména z důvodu zamoření pozemku háďátkem bramborovým, rakovinou brambor, obecné strupovitosti brambor, plísni bramborovou a kořenomorky bramborové. Ze škůdců je to především zvýšený výskyt mandelinky bramborové (Urban & Šarapatka 2006).

Vhodnými předplodinami jsou vojtěška, jetel a víceleté trávy. Zaorávku drnu je nutné provést na podzim, na jaře je nevhodná hlavně z důvodu ztížení přípravy půdy, výsadby a pozdního uvolňování živin. Zelenému hnojení se připisuje vliv na snížení strupovitosti hlíz (Konvalina et al. 2007). V praxi se brambory pěstují převážně po obilninách (Urban et al. 2006). Brambory jako předplodina zanechávají půdu v dobrém strukturním stavu po mechanickém intenzivním ošetření (Konvalina et al. 2007).

3.2.2 Příprava půdy

Po sklizni předplodiny je nutno provést podmítku a na podzim kvalitní orbu. Součástí orby je zaklopení organických zbytků, chlévského hnoje nebo zeleného hnojení (Konvalina et al. 2007). Orbu není vhodné provádět za vlhka, kdy hrozí nebezpečí vzniku hrud. Cílem jarní přípravy je vytvoření ideálních podmínek pro rychlé vzcházení a růst brambor (Urban & Šarapatka 2006).

K jarní přípravě půdy je třeba přistoupit včas, nikoliv předčasně. Na lehčích půdách je dostatečné jedno kypření v hloubce 15-18 cm před výsadbou. Na rozdíl od těžších půd, kde je příhodné postupné prokypřování půdy. Kypření se provádí za vhodných vlhkostních podmínek, aby nedocházelo k tvoření hrud (Urban & Šarapatka 2006).

3.2.3 Ošetření během vegetace

Je důležité, aby byl plevel v co nejrozměnějším stádiu potlačen. K tomu se osvědčilo střídání vláčení a proorávky. Plečky mohou být použity proti větším a vytrvalým plevelům. Platí, že čím větší je bramborový trs, tím opatrněji plečkujeme. Poslední úkon, nahrnování, je

nutné provést hrobkovacími tělesy. Dle půdních podmínek se volí plečky s pasivním nebo aktivním pracovním ústrojím (Urban & Šarapatka 2006).

Mechanické ničení škůdců a původců chorob je velmi náročný, pracný způsob, který je uplatnitelný jen na menších plochách. Řadí se sem chytání škůdců do pastí, nebo jejich ruční sběr, který může být snazší za použití lákadel. Například rostliny lilku na okraji pozemku s bramborami jsou pro mandelinku atraktivnější, než samotné brambory, a proto mohou být místem s lehčí eliminací mandelinky (Kalinová 2007).

Základním opatřením, které snižuje význam a škody vyvolané virózami, je použití zdravou, nejlépe uznanou sadbu. Je možné zvolit odrůdu s nižší vnímavostí k virózám (Urban & Šarapatka 2006).

Pro použití v ochraně proti škůdcům je možno použít polní vakuovou jednotku, která hubí hmyz vháněním vzduchu z bočních průduchů na rostlinu za současného vysávání shora. V některých pokusech s touto jednotkou bylo dosaženo snížení populace o 50-75 % (Weintraub et al. 1996).

Plíseň bramborová (*Phytophthora infestans*) negativně ovlivňuje výnos a kvalitu hlíz (Urban & Šarapatka 2006). Za příznivých podmínek prostředí pro patogen se může choroba šířit velmi rychle a způsobovat velké ztráty na úrodě (Arora et al. 2014). Choroba se projevuje jako vodou nasáklými nepravidelně světle zelenými skvrnami, většinou v blízkosti špiček a okrajů listů, které se rychle rozrůstají do velké hnědé až purpurově černé nekrotické skvrny. V současné době se ve většině systémů ekologické produkce používají k regulaci této choroby ochranné postřiky měďnatými fungicidy (Stephan et al. 2005).

Rhizoctonia solani způsobující černou skvrnitost a rakovinu stonků brambor představuje hospodářsky významné choroby. Komplex chorob způsobených *R. solani* je běžný a vyskytuje se v produkčních oblastech brambor po celém světě (Banville 1978, 1989; Jeger et al. 1996; Stevenson et al. 2001). Stejně jako jiné patogeny přenášené osivem (Rowe 1993; Tsrer et al. 1999) se *R. solani* přenáší kontaminovanými hlízami osiva, což představuje mechanismus jeho šíření na velké vzdálenosti. Jakmile se usadí v půdě, může mycelium a sklerocia patogenu poskytnout další zdroj primárního inokula (Tsrer 2010). V ochraně proti výskytu kořenomorky bramborové je pozitivní vliv zaznamenán při použití hydroxidu hořečnatého. Význam ovšem mají převážně nepřímá opatření, jako je volba vhodných pozemků, kvalitní agrotechnika, sadba s nízkým výskytem sklerocií kořenomorky a včasná sklizeň (Urban & Šarapatka 2006).

3.2.4 Sklizeň

Bramborová nať je obvykle ničena plísní, u které hrozí riziko přechodu na hlízy za deštivého počasí. Proto se jeví jako vhodnější mechanické ničení natě (Urban et al. 2006). Vyrání hlíz zajistíme dodržením odstupu 2-3 týdnů po rozbití a zaschnutí natě. Slupka brambor se zpevní a hlízy jsou méně mechanicky poškozované (Konvalina 2007). K vyorávání hlíz by nemělo docházet při teplotě 5 °C a nižší, při teplotách vyšších než 20 °C a za deště či krátce po dešti (Urban & Šarapatka 2006).

3.3 Škůdci brambor

3.3.1 Mandelinka bramborová

Popis a výskyt škůdce

Mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata*) je nejvýznamnějším hmyzím škůdcem brambor, který může zcela zničit jejich úrodu (Alyokhin 2009). Dospělci mají délku 6–11 mm, mají oranžovožlutou bravu s deseti charakteristickými černými pruhy na krovkách. Larvy jsou oranžovorůžové barvy, mají velký, devíti článkový zadeček, černou hlavu, viditelné průduchy a v posledním instaru mohou dosahovat délky až 15 mm. Larva prochází během vývoje 4 fázemi. Hlava zůstává černá, ale štít změní barvu z černé na oranžovohnědé ohraničení ve třetím instaru, ve čtvrtém instaru je polovina štítu zbarvena světle hnědě (Jacques 2000).

Výskyt mandelinky se zjišťuje počítáním dospělých brouků a ohnisek larev na 1 hektaru. Záleží na koncentraci ploch a četnosti zařazování brambor v osevních postupech, příznivých podmínkách pro přezimování a průměrné teplotě v oblasti. Dospělci dobře přezimují v chladnějších zimách se stálým počasím, naopak při kolísavém počasí a častém rozmrzání půdy přežívá méně jedinců, v teplých zimách jsou více napadány plísněmi a bakteriemi. Prognózu lze provádět dle množství dospělých jedinců v porostech na jaře. Předpokladem potřeby zásahu je za výskytu 100 brouků na jaře po náletu. Za práh škodlivosti se považuje 14 ohnisek larev na 1 ha nebo výskyt 5000 larev na 1 ha. V praxi je však známo, že výskyt škůdce v porostu je nestejněměrný. Obzvláště plochy o více hektarech nevyžadují přímé zásahy na celé ploše (Hausvater & Doležal 2014).

Životní cyklus

Dospělý brouk přezimuje v půdě v hloubce 10-40 cm, úspěšnost přezimování závisí na kvalitě a dostatku potravy na konci vegetace a na průběhu zimy. Vyšší úspěšnost přezimování je v méně proměnlivých vlhkostních a teplotních podmínkách a na lehčích písčitéch půdách. Brouci vylézají zpravidla v polovině května po zvýšení teplot v půdě nad 14 °C, kdy začínají hledat potravu a pářit se. K oplození samic může dojít už na podzim. Vajíčka kladou na spodní stranu listů ve snůškách 30-35 vajíček. Embryonální vývoj závisí na teplotě, při 20 °C se larvy za cca 10 dnů líhnou. Larvy procházejí čtyřmi vývojovými stádii. Po dokončení vývoje zalézají do půdy, do hloubky 5-10 cm, kde se kuklí a po 14 dnech se začínají líhnout dospělci, kteří mohou být v příznivých podmínkách základem druhé generace. K tomu u nás dochází v ranobramborářských oblastech (Hausvater & Doležal 2014).

Příznaky napadení

V České republice škodí zejména v Polabí, jižní a jihovýchodní Moravě. Díky příznivému podnebí zde mohou vzniknout až dvě generace. Při značném rozmnožení dochází k holožiru,

čímž se snižuje výnos až o 80 %. Škodí jak dospělí brouci, tak i larvy, které se živí listy, stonky, popřípadě hlízkami bramboru. Další nebezpečí spočívá v nebezpečí rozšíření na ostatní rostliny rodu lilkovité, jako jsou rajčata, lilek, paprika a další (Rasocha 2005). Vyznačuje se vysokou plodností a jedna samice je schopna naklást 300 až 800 vajíček. Larvy spotřebují v průběhu vývoje 40 cm² listové plochy, dospělý brouk pak 10 cm² listové plochy za den. Výnos tak může poklesnout o desítky procent a být limitujícím faktorem v produkci brambor. Mandelinka bramborová patří ke škůdcům s největší pravděpodobností selekce rezistentních populací k insekticidům, a to díky adaptaci na obranné látky rostlin, které je schopna mandelinka detoxifikovat či tolerovat. Vznik rezistence ovlivňuje také schopnost migrace, vysoká plodnost a úzké spektrum hostitelských rostlin. Z agronomických činitelů je nejvýznamnější četnost aplikací za rok a koncentrace pěstování brambor v regionu (Hausvater & Doležal 2014).

Regulace

V ochraně proti mandelince bramborové byly testovány stovky chemických přípravků. Vysoký selekční tlak společně s přirozenou tendencí mandelinky k přizpůsobení na toxické látky vedou k velkému počtu rezistentních populací. Už v 60. letech minulého století se potvrdila rezistence mandelinky vůči DDT, organofosfátům a pyretroidům. Na přelomu tisíciletí se začaly používat insekticidy ze skupiny neonikotinoidů a záhy byly objeveny rezistence místních populací škůdce. Od poloviny 20. století je známa rezistence proti nejméně 52 různým látkám ze všech hlavních tříd insekticidů. Rezistence bude patrně hlavním problémem ochrany proti mandelince i v budoucnu. Vzniku rezistence se nelze vyhnout, ale lze ji potlačit racionálním používáním insekticidů v rámci integrované ochrany, která spočívá v agrotechnických opatřeních, v přímém ničení škůdce biologickými, mechanickými nebo chemickými metodami a v jejich kombinaci (Hausvater & Doležal 2014).

Prevence spočívá hlavně v zařazení brambor po sobě na jednom pozemku s odstupem 3-4 let v rámci osevní sledu, protože larvy se kuklí a přezimují přímo na pozemku, kde se pěstují brambory. Tímto opatřením ovšem nelze napadení rostlin v následujícím roce úplně omezit, hlavně při větší koncentraci ploch brambor v daném obvodu. Brouci se při vyhledávání potravy přesouvají na relativně velké vzdálenosti. Populaci přezimujících dospělců snižuje pečlivé obdělávání půdy, kdy část jedinců uhyne, je poraněna a sesbívána hmyzožravými ptáky. Především použití rotačních kypřičů likviduje řadu jedinců. To stejné se týká odkameňování, kdy jsou přezimující brouci ničeni během prosévání půdy. Je známo, že mandelinka upřednostňuje odrůdy, které mají v natí menší obsah solaninů a na listech menší hustotu a délku trichomů. Tento fakt je prakticky málo využitelný, protože pěstitel při výběru odrůd dává přednost kvalitě a výnosu (Hausvater & Doležal 2014).

Na malých plochách je možnost sběru brouků a jejich následná likvidace. Zaměřuje se nejvíce na jarní brouky vyskytující se v květnu a červnu. Díky včasnému sběru a likvidaci zamezíme vykladení vajíček. Stejně tak mechanicky likvidujeme vajíčka a larvy. Pro větší plochy v režimu ekologického zemědělství se používají stroje, které odsávají brouky a larvy

z napadených porostů. Tato mechanizace u nás nemá význam z důvodu malého podílu ekologicky pěstovaných brambor (Hausvater & Doležal 2014).

Cílené využití původních predátorů mandelinky není v našich podmínkách reálná z důvodu poměrně malé redukce výskytu mandelinky bramborové. K nejčastějším predátorům tohoto škůdce v našich agrobiocenózách patří ptactvo, ploštice, střevlíci, slunéčka, škvoři a někteří pavouci. Úspěšnější možností je použití biologické ochrany pomocí mikroorganismů, hlavně houby *Beauveria bassiana* a bakterie *Bacillus thuringiensis*. Přípravky na jejich bázi při správně načasované aplikaci vykazují dostatečnou účinnost, takové přípravky však u nás nejsou registrovány. K dispozici jsou dva insekticidy na bázi přírodních látek, a to NeemAzal T/S a SpinTor. NeemAzal obsahuje výtažek ze semen rostliny *Azadirachta indica*. Tento přípravek mandelinku přímo nehubí, ale zastavuje žír brouků a larev. Přípravek SpinTor obsahuje spinosad, což je přírodní produkt získaný fermentační činností bakterií *Saccharopolyspora spinosa* vyskytující se běžně v půdě. Jejich uplatnění má velký význam v ekologickém zemědělství i v integrované ochraně rostlin při konvenčním pěstování brambor jako složka antirezistentní strategie (Hausvater & Doležal 2014). Účinnost ochrany vyhodnocujeme pomocí mortality larev a dospělců. U insekticidní ochrany by účinnost měla po 24 hodinách po aplikaci dosahovat 85-95 % (Rostlinolékařský portál 2022a).

3.3.2 Hádátka bramborové

Popis a výskyt škůdce

Hádátka bramborové (*Globodera rostochiensis*) je rostlinolékařsky významný druh kmene hlístic (*Nematoda*), řádu hádátka (*Tylenchida*). Vizuálně lze určit pouze některá stadia hádátka, pro dokonalou diagnostiku je nutné použít mikroskop a speciální určovací klíč. Cysty hádátka jsou kulovitého tvaru, avšak liší se ve zbarvení dle stáří – od bílé barvy přes žlutou až po hnědou. Larvy i dospělci mají červovitý tvar. Larvy dosahují délky 470 μm se silným stiletem v ústní části. Samci jsou v dospělosti dlouzí 1200 μm s kopulačními orgány v blízkosti zadní části těla, která je tupě zakončená. Samičky měří 450 μm s vyčnívající stopkou, která obsahuje jícen, stilet a žlázy, žije přisedle a saje na kořenech rostlin (Mendelova univerzita 2022).

Životní cyklus

Cysty přezimující v půdě obsahují larvy druhého vývojového stupně, které po uvolnění z cysty vyhledávají kořeny brambor, kde se živí na jejich skupinách buněk. Během sání na kořenech prochází vývojovými stupni, kdy se formuluje pohlaví. Samičky zvětšují svůj objem a zůstávají přisedlé sát na kořenech. Samečci se pohybují okolo samiček a páří se s nimi, poté hynou. Samičky se mění v cysty, kdy každá obsahuje 200-1000 vajíček. Cysty stárnou a odpadávají z kořenů do půdy, kde zůstávají v klidovém stádiu a vyčkávají až se na pozemek opět vysadí brambory (Mendelova univerzita 2022). V podmínkách mírného pásma bývá nejčastěji jedna generace během roku. Dalšími hostiteli jsou lilek rajče, paprika, blín černý, lilek vejcoplodý apod. Hádátka bramborové má celou řadu patotypů, které se od sebe liší

schopností napadat rozdílné rostlinné druhy i odrůdy. Nejrozšířenějším patotypem u nás je Ro1 (Rostlinolékařský portál 2022b).

Příznaky napadení

Napadené rostliny nevykazují zjevné příznaky, nebo jsou příznaky slabé. Na zamořeném pozemku si lze všimnout slabšího růstu rostlin, často v ohniscích, která se zvětšují s každým následným pěstováním brambor. Rostliny žloutnou, tvoří málo stonků, kořenový systém je slabý, listy jsou malé, žloutnou a opadávají. Proces změny barev probíhá odspodu nahoru. Násada hlíz je malá a už při slabých příznacích na listech se velikost hlíz zmenšuje. Od poloviny června lze na kořenech náchylných odrůd pozorovat přítomnost samiček, později cyst. Roční ztráty způsobené háďátkem se odhaduje na 9 % celosvětové produkce brambor. Na zamořených pozemcích dochází ke snížení výnosu až o 80 %, u pozdních odrůd 30 % (Rostlinolékařský portál 2022b).

Regulace

Dle prováděcího nařízení Komise (EU) 2019/2072, přílohy II se háďátka bramborové řadí mezi karanténní škodlivé organismy pro EU, jejichž výskyt je na území EU znám. Prováděcí nařízení Komise (EU) mimo jiné zakazuje dovoz sadby bramboru ze všech třetích zemí kromě Švýcarska. Rostliny určené k pěstování s kořeny, vypěstované ve volné půdě, pocházející ze třetích zemí, musí pocházet z pozemku, o kterém se ví, že je prostý háďátkem. Totožný požadavek platí pro přemísťování rostlin s kořeny vypěstovaných ve volné půdě v rámci Evropské unie. Nesadbové hlízy přemísťované v rámci EU musí mít na obalu, v případě volně ložených hlíz přepravovaných ve velkém množství v průvodních dokumentech, uvedeno registrační číslo, které potvrzuje, že hlízy byly vyprodukovány úředně registrovaným pěstitelům, nebo že pocházejí ze společných sadů či expedičních středisek úředně registrovaných a umístěných v oblasti produkce, a dokládající, že byla splněna ustanovení práva EU týkající se potírání háďátka. Ustanovení EU pro boj proti háďátku bramborovému jsou uvedena ve směrnici Rady 2007/33/ES a pro území České republiky ve vyhlášce č. 75/2010 Sb., o opatřeních k zabezpečení ochrany proti zavlékání a šíření háďátka bramborového a háďátka nažloutlého a o změně vyhlášky č. 332/2004 Sb., ve znění pozdějších předpisů. Vyhláška stanovuje mimo jiné požadavky na pozemky, na nichž se mají pěstovat sadbové brambory, pokyny k zjišťování a evidenci výskytu háďátka bramborového a háďátka nažloutlého a opatření při zjištění podezření z výskytu těchto háďátek a po potvrzení jejich výskytu. Háďátka bramborové je zařazeno v Seznamu A2 Evropské a středozevní organizace pro ochranu rostlin (EPPO), v němž jsou uvedeny škodlivé organismy vyskytující se na území EPPO a které EPPO doporučuje členským státům regulovat jako karanténní škodlivé organismy (Rostlinolékařský portál 2022b).

Z preventivních opatření se doporučuje sázet jen úředně uznanou sadbu brambor odrůd rezistentních proti háďátku bramborovému, patotypu Ro1, případně střídat odrůdy náchylné

a rezistentní. Dále nepěstovat brambory na stejném pozemku v intervalech kratších než 4 roky. Nepoužívat na dalších pozemcích stroje a nářadí, které byly použity na zamořeném či ze zamoření podezřelém pozemku, nebo je používat až po řádném očištění a omytí, popřípadě dezinfekci. Zeminu a zbytky rostlin nenechávat na orné půdě, na hnoji a kompostech. Nepoužívat statková hnojiva, která pocházejí z karanténního území s výskytem háďátka bramborového a chlévskou mrvu vyprodukovanou při zkrmování zamořených ne ze zamoření podezřelých syrových brambor nebo škrobárenských zdrtek, pokud nebyla speciálně ošetřena. Nepoužívat usazeninu k dohnojování půdy z pracích vod závodů zpracovávajících brambory. Po uskladnění brambor důkladně vyčistit, případně dezinfikovat skladovací prostory, veškeré zařízení a nářadí, které přišlo do styku s bramborami. Počet háďátek na zamořeném pozemku zmenšuje pěstování jetele, ovsa, řepky, žita, lnu, konopí, pohanky, hrachu a různých druhů trav (Rostlinolékařský portál 2022b).

Mezi odrůdy odolné vůči háďátku bramborovému se řadí Cidlina, Dagmar, Liliana, Marcela, Julinka, Kariera, Lada, Alice, Bella, Madona, Zuza, Katy, Mariannka, Dominika, Jasmína, Jindra, Red Anna, Suzan, Vysočina, Monika, Nancy, Primarosa, Axa, Valkýra, Valy a Valmont (ČMŠSA, 2019).

Chemická ochrana se používá jen výjimečně kvůli omezené účinnosti, negativního dopadu na životní prostředí a finanční náročnosti. Aplikovat lze přípravky s účinnou látkou dazomet, dusíkaté vápno nebo granulovanou močovinu (Rostlinolékařský portál 2022b).

3.3.3 Drátovci

Popis a výskyt škůdce

Drátovci jsou larvy brouků čeledi kovaříkovitých (*Elateridae*), kteří se zařazují do podřádu všežraví (*Polyphaga*), což do značné míry napovídá o jejich spektru potravy. Kovaříci mají poměrně ploché a dozadu se zužující tělo, délky kolem 8-15 mm. Většinou jsou nenápadní, hnědé až černé barvy. Jejich velmi známou schopností je vymršťovat se při položení na krovky prudkým trhnutím štítu a obrátit se na nohy. Někteří dospělci významných druhů nelétají nebo lítají málokdy. Živí se šťávami z listů trav, popřípadě nektarem. Rozlišení jednotlivých druhů je těžké a vyžaduje určitou entomologickou praxi, pro larvy to platí dvojnásob. Ty lze rozlišit bezpečně až v dospělosti, případně odchovem od imaga, což je u kovaříků poněkud složité. Larvy mají žlutou až hnědou barvu, jsou silně sklerotizované a hladké, s plochou hlavou, krátkými tříčlankovými tykadly a třemi páry silných nohou. Poslední článek jejich těla je špičatý, vykrojený, nebo s výrůstkem (Hausvater & Doležal 2019).

Drátovci způsobují škody u mnoha druhů planých a kulturních rostlin. Na zemědělské půdě se přirozeně nejvíce vyskytují v trvale travních porostech, víceletých píceňkách a v ozimech. Zde mají drátovci příznivé mikroklima a dostatek potravy. Vývoj larev příznivě ovlivňuje vyšší vlhkost půdy, ale ztráty na plodinách jsou většinou vyšší v obdobích s přísuškem, kdy larvy přecházejí na živé části rostlin (Hausvater & Doležal 2019).

Výskyt drátovců a jimi způsobených škod je u brambor nejčastější v zahradách a na menších pozemcích, které sousedí s travními porosty, nebo pokud jsou brambory vysázeny po

pícninách či trvalých travních porostech. V poslední době poškození hlíz brambor drátovci stoupá také v souvislosti s minimalizací obdělávání půdy a se změnou struktury rostlinné výroby. Například zvyšující se plochy kukuřice v bramborářské oblasti a množství nerozložených rostlinných zbytků po této plodině poskytují pro dřepčíky dostatek potravy a při jejich dlouhodobém vývoji se tvoří vysoký potenciál těchto škůdců pro následující plodiny (Hausvater & Doležal 2019).

Životní cyklus

Dospělci se po přezimování objevují na polích v dubnu a květnu. Oplodněné samičky kladou vajíčka velikosti přibližně 0,5 mm poměrně mělce do prasklin v půdě, pod hroudy apod. Vajíčka pro svůj vývoj, který trvá kolem 30 dní, vyžadují vlhkost před 90 %. Jedna samička naklade 100-200 vajíček. Vylíhlé larvy jsou velké 2-2,5 mm, živí se hlavně humusem a přijímají vodu s koloidními organickými látkami. Až později požírají rostlinné zbytky a podzemní části rostlin. Postupně dosahují délky 10-30 mm. Larvy mají dlouhý vývoj trvající 3-5 let a za tu dobu se až 9× svlékají. Po ukončení vývoje se larvy kuklí v půdě v průběhu léta v hloubce 10-30 cm. Stadium kukly trvá přibližně měsíc, ale dospělec přezimuje a půdu opouští až na jaře následujícího roku (Hausvater & Doležal 2019).

Příznaky napadení

U brambor vyžírají drátovci v hlízách dírky a chodbičky, které jsou vyplněné tmavým trusem, do různé hloubky dle druhu a velikosti. Škodí převážně larvy vyšších vývojových stádií. Znehodnocují kvalitu konzumních hlíz a mohou do nich zanášet některé původce hnilob. Drátovce nelze často zastihnout přímo v napadené hlíze, neboť při manipulaci s hlízami při sklizni je rychle opouštějí a vypadávají do půdy. Drátovci se vyskytují už na matečných hlízách, u nových hlíz se jejich poškození zvyšuje v závěru vegetace a v době mezi jejím ukončením a sklizní. K napadení hlíz dochází nejen z důvodu doplnění potravy, ale v době přísušku jsou živá rostlinná pletiva důležitým zdrojem vody pro larvy (Hausvater & Doležal 2019). Škodlivé výskyty jsou ohniskovité až plošné. Poškození klíčících a vzházejících rostlin spočívá v jejich vykousání (Rostlinolékařský portál 2014d). Prahem škodlivosti u konzumních brambor je výskyt 10 drátovců na 1 m² (Hausvater & Doležal 2019).

Regulace

Ochrana proti drátovcům je problematická a u brambor je možné využít aktuálně jen agrotechnické metody. Z tohoto důvodu je nutné s drátovci bojovat v rámci osevního sledu. Ke snížení výskytu přispívá pečlivé mechanické obdělávání půdy a v osevním sledu zařazovat plodiny, které jsou méně napadány drátovci, jako jsou luštěniny, řepka, len, hořčice, nebo cibule. Bezorebné způsoby hospodaření a minimální kultivace půdy naopak výskyt drátovců podporují. Častá manipulace s půdou je nejefektivnějším zásahem proti těmto škůdcům.

Orba a podmítka způsobují částečné ztráty larev jejich úhynem a účinné je také použití rotavátorů, zvláště pokud je opakované. Velmi vhodná je u brambor technologie odkameňování, při které dochází k významnému úhynu drátovců. Brambory v osevním sledu by měly být zařazeny nejdříve čtvrtým rokem po lučních porostech nebo víceletých pícninách. Je nutné dbát i na odplevelení pozemku u všech plodin v rámci osevního postupu, protože výskyt drátovců se zaplevelením pozemku zvyšuje. Významným opatřením je také včasná sklizeň, neboť napadení hlíz stoupá v období od ukončení vegetace do sklizně, z čehož vyplývá, že dříve sklizené hlízy jsou napadeny podstatně méně (Hausvater & Doležal 2019).

Účinnost biologické ochrany použitím feromonů nebo entomofágních hub je poměrně nízká a u nás není zatím registrován takovýto prostředek. Z chemické ochrany nelze aktuálně u brambor uplatnit žádný chemický přípravek. V minulosti hojně propagované dusíkaté vápno nebo kainit mají na drátovce jen omezený vliv (Hausvater & Doležal 2019).

3.3.4 Dřepčící rodu *Epitrix*

Popis a výskyt škůdce

Nejvýznamnějším hostitelem dřepčίκů rodu *Epitrix* je lilek brambor, ale obecně se mohou vyvíjet na dalších rostlinách z čeledi lilkovité, jako je lilek rajče, tabák virginský, paprika setá, kustovnice, rulíku zlomocném, lilku černém nebo blínu černém. K úživnému žiru dospělců dochází i na rostlinách z dalších čeledí, např. merlíkovitých, tykvoovitých a bobovitých. Preferovány jsou však rostliny z čeledi lilkovité (Růžička 2011).

Brouci jsou 1,5-2 mm velcí, většinou tmavě až černě zbarvení. V případě druhu *Epitrix subsrinita* jsou brouci červení až tmavě hnědí. Tělo je oválné, z bočního pohledu více či méně vypouklé, na štítu a krovkách chloupkovité, oči jsou poměrně velké. Tykadla jsou nitkovitá a složena z jedenácti článků. Tečkování krovek je uspořádáno do rýžek, mezirýží jsou poměrně úzká. Vajíčka jsou drobná, bělavá a eliptická. Larvy dorůstají 5 mm, jsou válcovité, štíhlé, bělavé, se třemi páry krátkých hrudních končetin, poslední stadia larev mají hnědou hlavu (Rostlinolékařský portál 2022c).

Nejpravděpodobnějším způsobem šíření těchto škůdců na větší vzdálenosti je mezinárodní obchod s hlízami bramboru. Riziko představují zejména zásilky hlíz s příměsí zeminy, která může obsahovat vývojová stadia dřepčίκů. Méně významnými cestami šíření ze zemí výskytu jsou dodávky zakořeněných hostitelských i nehostitelských rostlin s půdou, dodávky zeminy a pěstebních substrátů, a půda ulpělá na zemědělských strojích dopravovaných ze zemí s výskytem škůdců. Za méně významnou možnost šíření se považuje i přirozené šíření dřepčίκů v regionu OPPO, i přesto, že rychlost létavého druhu *E. similis* v Portugalsku signalizuje, že i tato by mohla být významnou (Růžička 2011).

Životní cyklus

Larvy a kukly se vyskytují v půdě, dospělci taktéž přezimují v půdě. Larvy žijí v kořenovém systému rostlin. *E. tuberix* vytváří obvykle dvě generace ročně, v některých oblastech Severní Ameriky až tři. Brouci vylézají z půdy od května do začátku července. Při

vyhledávání hostitelských rostlin mohou přeletovat na poměrně velké vzdálenosti. Samice klade vajíčka po skupinách do půdy v blízkosti báze hostitelských rostlin, průměrně jich naklade 187. Období kladení trvá 35-55 dní, larvy se líhnou po 3-14 dnech a vývoj larvy trvá 2-4 týdny. Larva se kuklí v půdě, dospělci se líhnou po 4-10 dnech. Vývoj druhé generace už trvá déle než vývoj první. Vylíhlí brouci druhé, popř. třetí, generace tráví diapauzu v půdě, zejména na okrajích polí, kde se pěstovaly brambory. *E. cucumeris* má, na rozdíl od *E. tuberix* pouze jednu generaci za rok a brouci nelétají. Vývoj probíhá podobně jako u *E. tuberis*, dospělí brouci po vylíhnutí opouštějí půdu a do přezimování se živí na listech rostlin. Přezimují v půdě nebo pod zbytky vegetace. Informace o biologii *E. similaris* a *E. subcrinita* nejsou dostupné, ale předpokládá se, že jejich vývoj je velmi podobný (Růžička 2011).

Příznaky napadení

Brouci vyžírají drobné oválné otvory, většinou o průměru do 1,5 mm. Dospělci se můžou nacházet na všech nadzemních částech rostlin, nebo na povrchu půdy. Poškození nadzemních částí rostlin bramboru dospělci obvykle nemá hospodářský význam. Larvy poškozují brambory žírem vzhled hlíz, ale hlouběji do dužiny nepronikají. U *Epitrix cucumeris* pronikají larvy do hlíz výjimečně a zanechávají rozpraskané stopy nebo malé chodbičky vyplněné korkovým pletivem. Larvy *Epitrix similaris* a *Epitrix tuberix* vytváří na povrchu hlíz dlouhé klikaté korkovité žlábký a malé bradavičky. Požerky *E. tuberix* dosahují do hloubky až 1 cm dužiny hlízy, zatímco ostatní druhy obvykle nepronikají pod 0,5 cm, i přesto jsou požerky viditelné po oloupání hlízy (Růžička 2011).

Poškozené hlízy nejsou prodejné jako konzumní brambory a možnosti jejich je omezena na průmyslové zpracování a ke krmným účelům. Požerky larev nezpůsobují na listech bramboru závažné škody, ale usnadňují napadení hlíz bakteriálními a houbovými patogeny. U dalších hostitelských rostlin se nepředpokládá vznik významných škod, přestože dospělí brouci mohou žírem poškozovat dozrávající plody hostitelských rostlin (Růžička 2011).

Regulace

Z běžných agrotechnických opatření se v oblastech, kde dřepčící škodí na bramboru, se doporučuje udržovat čisté, nezaplevelené porosty a zapravovat posklizňové zbytky k omezení možnosti přezimování (Růžička 2011).

Cílená insekticidní ochranná opatření v místech škodlivého výskytu dřepčících mohou vést k omezení rozsahu populace, avšak nemohou vést k úplné eradikaci, protože dřepčící přežívají na zemědělsky nevyužívaných a neošetřovaných plochách, odkud se mohou opakovaně šířit na zemědělské plodiny. Dalším faktorem je poměrně dlouhé období, během kterého vylézají brouci ze zimního úkrytu. V oblastech intenzivního pěstování bramboru může být stav populace dostatečně regulován insekticidy, které se používají k ochraně proti dalším živočišným škůdcům, zejména mandelince bramborové. V USA bylo zjištěno, že opakované používání stejných účinných látek může vyvolat rezistenci v populaci dřepčících (Růžička 2011).

Prováděcí rozhodnutí Komise 2012/270/EU v platném znění stanovuje mimořádná opatření proti zavlékání dřepčků *Epitrix cucumeris*, *Epitrix papa*, *Epitrix subcrinita* a *Epitrix tuberis* do EU a proti jejich rozšiřování na území EU. V ČR jsou tato opatření stanovena nařízením Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského o mimořádných rostlinolékařských opatřeních k ochraně proti zavlékání a rozšiřování již zmíněných dřepčků. Podle tohoto nařízení se při dovozní rostlinolékařské kontrole hlíz bramboru, dovážených ze třetích zemí, kde se tyto dřepčci vyskytují, kontroluje i nepřítomnost těchto dřepčků. Hlízy musí být opatřeny rostlinolékařským osvědčením potvrzující, že byly pěstovány v oblasti prosté dřepčků, nebo že byly omyté či okartáčované tak, aby zbytkový podíl zeminy nebyl větší jak 0,1 %, nebo byly ošetřeny rovnocennou metodou s cílem odstranit dřepčky. Rostlinolékařské osvědčení musí obsahovat informace o tom, že hlízy byly bezprostředně před vývozem úředně prohlédnuty a shledány prostými dřepčků, veškerých příznaků jimi způsobených, neobsahují více než 0,1 % zeminy a že obalový materiál, ve kterém jsou hlízy dováženy, je čistý (Rostlinolékařský portál 2022c).

Při zjištění výskytu dřepčků v České republice by ÚKZÚZ vymežil území, ve kterém se provádějí mimořádná rostlinolékařská opatření, tvořené zamořenou a nárazníkovou zónou. Ve vymezeném území by ÚKZÚZ nařídil mimořádná rostlinolékařská opatření zahrnující opatření vedoucí k rychlé eradikaci nebo izolaci dřepčků, včetně ošetření a dezinfekce, jakož i zákaz pěstování hostitelských rostlin, dále dozor nad přemísťováním hlíz bramboru z vymezeného území a intenzivní úřední sledování výskytu dřepčků (Rostlinolékařský portál 2022c).

3.3.5 Mšice

Popis a výskyt škůdce

Mšice jsou velice hojný a hromadně se vyskytující hmyz s proměnou nedokonalou, patřící do řádu stejnořídlí. V České republice žije přibližně tisíc druhů o velikosti 0,5-6 mm. Za ideálních podmínek se jejich populace ve vegetaci rychle, většinou partenogeneticky, množí. Mšice se mohou rozmnožovat na jednom nebo několika hostitelích v celém cyklu, nebo se po přezimování přesouvají na jiného hostitele, často dřevinu. Samci bývají jak okřídlení, tak i neokřídlení, samičky jsou okřídlené živorodé, bezkřídle živorodé a bezkřídle vejcorodé. Samičky rodí až stovky larev, které dokážou dospívat už v jednom týdnu, takže se během vegetace vystřídá mnoho generací. Okřídlené formy se šíří pomocí vzdušných proudů na velké vzdálenosti (Hausvater et al. 2014).

V porostech brambor se vyskytuje několik desítek druhů mšic. Pro většinu vznik je však rostlina bramboru pouze příležitostným hostitelem a nejsou na nich zakládány okřídlené populace, nebo jen výjimečně při kalamitním přemnožení. Z pohledu přenosu virů jsou důležité okřídlené formy mšic, které mohou přenášet virové choroby na velké vzdálenosti. Neokřídlené formy se na přenosu virových chorob podílejí méně, a to v bezprostřední blízkosti zdrojů infekce. Nejvýznamnějšími přenašeči všech závažných virů bramboru jsou zejména

mšice broskvoňová *Myzus persicae*, mšice řesetláková *Aphis nasturtii* a mšice chmelová *Phorodon humuli* (Hausvater et al. 2014).

Výskyt mšic v ČR je závislý na úspěšném přezimování mšic a na povětrnostních podmínkách, které ovlivňují rozmnožování a infekčnost. První nálety mšic do porostů brambor bývají nejčastěji kolem poloviny května. V tomto období jsou rostliny k virové infekci velmi vnímavé. Maximálních hodnot nabývají nálety od poloviny července do začátku srpna. Platí, že čím ranější je nálet mšic, tím větší je riziko šíření virových chorob (Hausvater et al. 2014).

Životní cyklus

Mšice broskvoňová střídá během roku 2 hostitele – primárního a sekundárního. Černá vajíčka přezimují na primárním hostiteli v kůře broskvoní a kustovnice cizí, na kterých se vyvíjejí 2-3 generace. V květnu přelétává na sekundárního hostitele (fazol obecný, sója luštinatá, řepka olejka, lilek brambor, lilek rajče, paprika setá, lilek vejcoplodý, réva vinná, plevelné a okrasné rostliny), na kterém má 6-10 generací za rok. Jakmile se začne zkracovat den, snižovat teplota a klesat obsah výživových látek v sekundárních hostitelských rostlinách, vyvíjí se generace samiček, které produkují jedince obou pohlaví. Tato generace migruje zpátky na primárního hostitele, kde dojde k páření a kladení vajíček. Tato mšice je schopna přežít zimu, pokud teplota neklesne pod -12 °C jako dospělá samička nebo nymfa. Přezimovat mohou také v krytých prostorách skleníků. K přemnožení dochází po časném náletu mšic za suchého a teplého počasí. Mšice se vyskytuje zejména jednotlivě na spodní straně starších listů, nikoli v koloniích (Rostlinolékařský portál 2022e).

Mšice řesetláková přezimuje ve stadiu vajíček obvykle na stoncích *Malus* spp. Na začátku března se vajíčka začínají líhnout na bezkřídlé samičky, které se začnou rozmnožovat partenogenezí. Na tomto primárním hostiteli zplodí obvykle tři generace larev (Minks & Harrewijin 1987). V květnu přelétává na sekundární hostitele, jimiž jsou nejrůznější rostliny včetně brambor a rajčat (Alford 2013). Na podzim se vrací na řesetlák naklást vajíčka. Mšice je značně odolná vůči mrazu. Často se vyskytuje ve společných koloniích s mšicí makovou (Fryč & Rychlý 2014).

Oplozená vajíčka mšice chmelové přezimují na primárních hostitelích rodu *Prunus* spp. Nakladena jsou většinou po jednom na letorostech, v paždí listových pupenů, nebo na zdrsnělých místech kůry. Z vajíček se, ještě před rozpuštěním pupenů, líhnou tmavě zelené nymfy, které po 4 svlékáních dospívají v bezkřídlou samici. Na primárním hostiteli se zpravidla vyvíjí ještě jedna generace mšic. Potomstvo této generace už dospívá v okřídlené mšice, které jsou schopny přelétnout na sekundární hostitele (chmel otáčivý, lilek brambor). Na těchto hostitelích vytváří 5-8 virginogenních generací. Koncem srpna se objevují okřídlené samičky a samečkové, kteří přelétávají zpět na primárního hostitele. První vajíčka kladou samičky ve třetí dekádě září. Vajíčka jsou odolná, což dokazuje skutečnost, že v našich podmínkách jich přezimuje až 90 % (Rostlinolékařský portál 2022f).

Příznaky napadení

Přímé škody jsou v porostech brambor většinou zanedbatelné. Při větším výskytu se však objevuje prosvětlení pletiv, zvlnění až zkroucení listů a může docházet ke tvorbě nekrot. Vážným problémem je, že mšice jsou u brambor významným přenašečem virů, a to virové svinutky bramboru, A – virózy, M – virózy, S – virózy a Y – virózy bramboru (Hausvater et al. 2014).

Přenos virů

Viry se rozlišují na perzistentní a neperzistentní, což ovlivňuje účinnost jednotlivých způsobů ochrany proti jejich přenašečům. Perzistentní viry se do zažívacího traktu mšice dostanou spolu s potravou, poté do jeho hemolymfy a slin, kterými se následovně při sání infikuje rostlina. Proces trvá poměrně dlouho a přenašeč zůstává vironosný. Tímto způsobem se přenáší zejména svinutka. Neperzistentní viry mohou být přeneseny savým ústrojím mšic už při následném vpichu. Klimatické podmínky ČR jsou pro rozšiřování chorob poměrně vhodné, jelikož je zde vyšší výskyt mšic než v přímořských pěstitelských oblastech (Hausvater et al. 2014).

Regulace

Produkce základní a certifikované sadby je kontrolována předpisy, ve kterých se odrážejí prvky preventivních opatření proti přenosu virových chorob. Zejména pěstování množitelských porostů je omezeno převážně do bramborařské výrobní oblasti. Základní sadba je produkována v uzavřených pěstebních oblastech, které jsou uvedeny v příloze 2 zákona č. 219/2013 Sb. Tyto oblasti se vyznačují poměrně nízkým výskytem mšic a vhodnými půdními a klimatickými podmínkami. Veškeré porosty zde pěstované, včetně drobných pěstitelů, musí pocházet z uznané sadby. Dále musí být dodržovány předepsané izolační vzdálenosti od ostatních porostů a u většiny množitelských stupňů je povinné ukončení vegetace desikací, jehož termín by měl být odvozen jak od velikosti hlíz, tak od aktuálního náletu mšic. Důležité jsou také včas a kvalitně provedené negativní výběry, správná biologická příprava sadby a vhodná agrotechnika, u které je cílem urychlit růst rostlin bramboru v období s nižším náletem vektorů virových chorob a vytvořit podmínky pro rychlejší nástup rezistence stářím (Hausvater et al. 2014).

Mezerovité a zaplevelené porosty jsou více infikovány. Mezerovité z důvodu atraktivního kontrastu pro mšice mezi zelenou barvou a prázdnými místy. Zaplevelené porosty jsou atraktivní pro více druhů mšic. Po desikaci je nutné odstraňovat případné obrosty, které jsou velmi náchylné k infekci. Vhodnější je však přecházení tvorby porostů prostřednictvím včasné sklizně, nejlépe 2-3 týdny po ukončení vegetace (Hausvater et al. 2014).

Významným prvkem ochrany je prognóza a monitoring náletu mšic, který provádí ÚKZÚZ. Na základě toho lze usměrňovat intenzitu přímých zásahů proti mšicím. Prognóza se

provádí sledování letové aktivity pomocí nasávacích pastí. Aktuální nálet se sleduje přímo v sadbových porostech brambor za pomoci žlutých misek typu Lamberse, čímž je prováděna i jejich druhová příslušnost. Výskyt neokřídlených mšic se zjišťuje pomocí listových zkoušek (Hausvater et al. 2014).

Často používanou a účinnou metodou proti neperzistentním virům je aplikace minerálních olejů, zejména parafinových. Ty se používají v koncentraci 0,75-1 % při které je velmi nízké nebezpečí fytotoxicity. Oleje způsobují změnu chování mšic, odpuzují je, zpochybňují sání a ucpávají stiletý. Působí přímo toxicky na jejich přežití a zkracují dobu, po kterou je virus přítomen v jejich sacím ústrojí. Účinnost se zvyšuje při současné aplikaci insekticidů. Nevýhodou je potřeba opětovných postřiků po 7-10 dnech dle dávky a počasí. Jejich aplikaci nelze kombinovat s některými fungicidy proti plísni bramboru. Minerální oleje jsou doporučovány i do ekologických systémů pěstování, avšak u nás nejsou takovéto oleje registrovány (Hausvater et al. 2014).

Chemická ochrana je efektivnější proti perzistentním virům. U neperzistentních je efektivita ochrany nižší, a proto musí být prováděna v komplexu s preventivními opatřeními. Příčinou je zejména možnost přenosu viru na rostlinu dříve, než mšice uhynie. Účinnost postřikových insekticidních přípravků je ovlivněna dobou aplikace, nejúčinnější je aplikovat insekticid ihned po vzejití rostlin, kdy jsou k virové infekci velice náchylné. Je třeba vybírat insekticidy s rychlým iniciálním účinkem, aby zasažené mšice uhynuly co nejdříve. Ošetření je třeba opakovat dle doby účinnosti použitého přípravku, intenzity přízpusobení konkrétnímu náletu mšic a výskytu populací neokřídlených jedinců. Krom přímých postřiků je vhodné moření sadby, kdy jsou rostliny chráněny již od vzejití a odpadá tak riziko přerušení insekticidní clony při nepříznivém počasí. Po ukončení účinnosti mořidla je nutné prodloužit insekticidní clonu postřiky insekticidy až do ukončení vegetace. Pro zabránění rezistence mšic k insekticidům je třeba střídat přípravky s účinnými látkami s různým mechanismem účinku (Hausvater et al. 2014).

Možná je i ochrana porostu mulčováním sadbových porostů, které je doporučováno zejména na základě finských experimentů. Princip spočívá v zakrytí hrůbků před vzejitím brambor slaměným mulčem. Rostliny jsou díky tomu chráněny na 1-3 týdny po vzejití před mšicemi (Kirchner et al. 2014).

3.4 Biologická ochrana rostlin

Problematika biologické ochrany se významnou měrou zkoumá od poloviny 20. století. Biologickou ochranou se označuje inhibice růstu, snižování množství infekčních částic, omezení rozmnožování a šíření jednoho organismu druhým, včetně indukce hostitelské rezistence (Cook 1993). Biologická ochrana využívá přirozených nepřátel škůdců a patogenů k jejich úplné eradikaci, zpravidla ale ke kontrole jejich populace. Toho se dosahuje podporou přirozeného výskytu prospěšných organismů (Heydari & Pessarakli 2010). Biologická ochrana je součástí integrované ochrany proti škůdcům a lze do ní zahrnout i veškeré agrotechnické postupy jako je střídání plodin, setí a výsadba odolných kultivarů včetně omezení posklizňových zbytků (Bleša 2019).

Tato problematika je omezována znalostmi životních cyklů účastníků se organismů, jejich vzájemnou interakcí, etologií a lokálními podmínkami prostředí, což je jeden z důvodů proč pěstitelé často spoléhají spíše na aplikaci chemických pesticidů (Heydari & Pessaraki 2010). Ovšem v dnešní době je přísná legislativa ohledně chemických pesticidů a lze si všimnout společenského a politického tlaku na odstranění co nejvíce škodlivých látek z prodeje. Navíce se nárůstem rezistence ukázalo, že pomocí chemických přípravků nelze eradikovat závažné choroby z agrosystémů úplně (Pimentel et al. 1992). Z těchto důvodů se firmy vyrábějící chemické přípravky snaží o vývoj a aplikaci alternativních metod a přípravků pro kontrolu škůdců a onemocnění. Biologická ochrana rostlin se ukazuje jako vhodná alternativní metoda pro kontrolu chorob rostlin.

3.4.1 Mechanismy působení

V rámci hyperparazitismu je patogen přímo atakován specifickým bioagens poškozující přímo patogena, nebo jeho infekční částice. Mezi hyperparazity se řadí hypoviry, fakultativní paraziti, obligátní bakteriální patogeny a částečně i predátoři. Mikrobiální predace je v porovnání s hyperparazitismem mnohem obecnějším a nespecifickým typem interakce, a jde hůře předpovídat její vliv na rostliny. Často dochází působením okolních podmínek k úpravě životních strategií (Benhamou & Chet 1997).

Dále existuje velké množství mikroorganismů produkující látky s antibiotickým účinkem. Efekt antibiotického působení není vždy specifický, avšak okolní organismy jsou různě citlivé vůči tomuto působení. Důležitou podmínkou je dostatečná produkce látky (Haas & Défago 2005). Produkce metabolitů se prolíná s antibiotickými účinky, s rozdílem, že je specifikovaná pouze tvorbou látek sekundárního metabolismu. Patří sem látky omezující výskyt a růst patogenu. Jedná se o látky typu lytických enzymů, které štěpí polymery jako je chitin, proteiny, celulózu, hemicelulózu, nukleové kyseliny a látky jako je kyanovodík, který blokuje enzym cytochromoxidázu v respiračním cyklu aerobních organismů i ve velmi malých koncentracích (Shahraki et al. 2009). Bylo prokázáno, že některé produkty enzymatického štěpení mají nepřímý účinek vůči rostlinným patogenům. Například polysacharidy štěpené z buněk hyf jsou signálními molekulami v rostlinných pletivech a navozují obrannou reakci rostlin (Radman et al. 2003).

Bylo pozorováno, že nepatogenní mikroorganismy asociované s rostlinami chrání rostlinu před náhlým napadením pomocí kolonizace substrátu, případně zabráním stanoviště. Kompetice o mikro prvky a hůře dostupné prvky v závislosti na pH substrátu má také vliv na složení edafonu a výskyt patogenů. Například v okysličené půdě je železo imobilizované a jeho využitelná forma tvoří limitní faktor, díky čemu je velká část organismů schopna vylučovat siderofory s vysokou schopností vázat železo z půdy a jiných organismů (Shahraki et al. 2009).

V současné době zkoumají fytopatologové cesty indukované rezistence stimulované pomocí biokontrolních látek a dalších nepatogenních organismů. První cestou je získání systematické odolnosti, která je mediovaná kyselinou salicylovou, který vede k syntéze proteinů související s patogenem, které jsou schopny přímo lyzovat napadající buňky, zesílit buněčnou stěnu, nebo lokálně vyvolat apoptózu. Další cestou je indukování systematické

odolnosti, která je spojena s kyselinou jasmonovou a ethylenem. Kyselina jasmonová slouží jako induktor tvorby sekundárních metabolitů, alkaloidů, případně je pozorován vliv na zvýšení atraktivity pro hyperparazity (Pozo et al. 2004). Jasmonátová a salicylová cesta obrany jsou přirozeně antagonistické, čehož využívají některé mikroorganismy, například *Pseudomonas syringe*. (Robatzek & Saijo 2008).

3.4.2 Aplikace

Úspěšná aplikace biologických prostředků vyžaduje mnoho vědomostí o jejich použití v terénu ke vhodným genotypům šlechtěných rostlin, případně pro ošetření osiva. Introdukované organismy mají za cíl posílit přirozené populace benefičních organismů, nebo přímo snižují škody způsobené patogeny. Důležitou součástí tohoto procesu by mělo být zjištění příčiny snížené přirozené populace. To může být způsobeno fumigací, nevhodnou plodinou, chemickými a fyzikálními vlastnostmi půdy. Mikroorganismy přirozeně se vyskytující v ekosystému napomáhají omezovat choroby. Rovněž je vhodnější použití biologické ochrany jako prevenci před možným vypuknutím nebo rozvojem choroby, zatímco léčení již probíhající infekce je zpravidla méně účinné (Irtwange 2006).

Aplikace na stanoviště probíhá formou přímé aplikace na patogen, mořením osiva, nebo umístěním do půdního profilu. V závislosti na druhu organismu se aplikují biologické přípravky jednou, nebo opakovaně. K redukci a kontrole patogenních organismů může přispět použití kompostovaného materiálu jako biologického hnojiva. K efektivitě kompostu při redukci populací půdních patogenů dochází pomocí teplotních nárůstů, rozkladu organické hmoty a nové kolonizace vhodnými mikroorganismy (Mehta et al. 2014).

Rostlinné patogeny jsou rozsáhlou skupinou organismů využívající značnou škálu účinků na různé rostlinné orgány a pletiva, anebo působí systematicky. Stejným způsobem fungují i biologické agens, což je důvod, proč je často těžké sjednotit tyto životní strategie. Většina výzkumů biologické ochrany se provádí na chorobách, které se přenáší půdou, než na chorobách napadající nadzemní části a patogenech napadající uskladněné plodiny. Aplikace biologického přípravku do půdy může ovlivnit rozvoj patogenu nadzemních částí pouze nepřímo (Heydari & Pessarakli 2010).

Do přípravků s biologickými látkami se mnohdy přidávají nejrůznější aditiva kvůli vytvoření ideálních podmínek pro rozvoj symbiózy a posílení stavu hostitele. V případě specifických povrchově aktivních látek může dojít ke zpomalení růstu patogenního organismu. U preparátů s živými organismy musí být prokazatelné, že organismy jsou stále infekční, živé a schopné reprodukce. Pomocí aplikace biologických přípravků na nadzemní části rostlin je snaha zabránit infekcím padlí, případně infekcím způsobených patogenem *Botrytis cinerea* (Malik et al. 2013).

3.4.3 Obchodní využití

Možnost využití nových druhů organismů a jejich biotechnologická produkce je limitována je omezována kvůli rozdílným projevům v závislosti na okolních podmínkách. S tím

je spojeno studium vnějších a vnitřních faktorů, které ovlivňují efektivitu výsledného produktu. V současné době je na trhu dostupných několik přípravků, zejména proti houbovým chorobám. Z důvodu komplikované registrační a testovací procedury se mnohé přípravky s biokontrolními látkami prodávají pod označením typu růstový simulátor, posilovač růstu rostlin, bez zmínky o jejich ochranné schopnosti. Všechny biologické přípravky používané v České republice jsou zařazeny v registru přípravků na ochranu rostlin vydávaném Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (Bleša 2019).

V biologické ochraně proti houbovým chorobám v průběhu vegetační sezóny, nebo v rámci ochrany uskladněných produktů se využívá velkého množství kmenů *Lactobacillus* a to zejména u procesovaných produktů. Dále rody *Lactococcus*, *Acetobacter* a kmeny *Bacillus cereus* a *Bacillus subtilis*. Mohou se používat i některé druhy kvasinek a hub z rodů *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Yarrowia*, *Penicillium*, *Clonostachys* a další (Salas et al. 2017). U aplikace do půdy jsou nejčastěji využívány například *Pseudomonas putida*, *Trichoderma* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Paenibacillus polymyxa*, *Pythium oligandrum*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, nebo *Burkholderia cepacia* (Haas & D'Éfago 2005).

3.5 Bakterie

Bakterie jsou spolu s houbami hlavními obyvateli půdy, rhizosféry a rostlinných tkání. Zapojují se do interakcí, jejichž výsledek může být jak pozitivní, tak i negativní. Mezi prospěšné interakce se řadí např. antagonistická aktivita bakterií vůči fytopatogenním houbám (Bonfante & Anca 2009, Garbaye 1994).

Tím, že bakterie antagonizují nepřátele rostlin, zajišťují kontinuální přísun kořenových exudátů a zároveň minimalizují konkurenci o tyto exudáty odpuzováním heterotrofních hub. Mechanismy, kterými jsou půdní bakterie schopny inhibovat houby způsobující choroby plodin, jsou velmi rozmanité a sahají od vyčerpání železa jejich houbového konkurenta prostřednictvím produkce sideroforů (Kloepper et al. 1980), až po degradaci faktorů virulence hub (Schoonbeek et al. 2007) nebo produkci antifungálních sloučenin (Lugtenberg & Kamilova 2009). Dalším způsobem, jak bakterie pomáhají rostlinám bránit se proti houbám, je indukce systémové rezistence, pomocí níž mohou nepatogenní rhizosférické bakterie vyvolat v rostlině stav pohotovosti, který vede k lepší obraně proti různým patogenním organismům (van Loon 2007).

Bakteriální biopesticidy jsou nejběžnější a nejlevnější formou mikrobiálních pesticidů. Jako insekticidy jsou obecně specifické pro jednotlivé druhy molů, motýlů, brouků, much a komárů. Aby byly účinné, musí přijít do kontaktu s cílovým škůdcem a mohou vyžadovat pozření, aby účinkovaly (Silvia-Opps 2013). Entomopatogenní bakterie získaly obrovský význam, patří mezi ně sporulující a nesporulující bakterie patřící do čeledí *Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Pseudomonadaceae* a *Streptococcaceae* (Tanada & Kaya 1993). Bakterie patřící do těchto čeledí s výjimkou *Bacillaceae* netvoří spory a jsou považovány za potenciální patogeny, pokud se dostanou do hemocoelu hmyzu. Ačkoli nesporulující bakterie hrají zásadní roli při přirozeném propuknutí onemocnění populace

škůdců, jsou ve velké míře využívány bakterie tvořící spory, protože jsou odolnou formou a jejich tvorba jim umožňuje přežít delší dobu mimo tělo hostitele (Valicente et al. 2010).

3.5.1 *Bacillus thuringiensis*

Popis

Bacillus thuringiensis je aerobní, grampozitivní, tyčinkovitá bakterie s vegetativní buňkou širokou 1-1,2 μm a dlouhou 3-5 μm , obvykle pohyblivou pomocí peritrichózních bičíků, přirozeně nepočetných. Bičík se může vázat na buňky hmyzu a je důležitý pro virulenci (Zhang et al. 1995). Spory této bakterie mají elipsoidní tvar, ale většinou jsou válcovité a nacházejí se v centrální nebo paracentrální oblasti, pokud jsou uvnitř mateřské buňky. Tento druh je nestriktně aerobní s teplotním rozsahem růstu mezi 10-5 °C a 40-45 °C. Hlavním znakem, který tento druh odlišuje od ostatních zástupců téhož rodu, je intracelulární přítomnost bílkovinného krystalu (Höfte et al. 1986; Höfte & Whiteley 1989; Glare & O'Callaghan 2000). Většina kmenů je kataláza pozitivní, oxidáza negativní, kasein, želatina a škrob jsou hydrolyzovány. Voges-Proskauer pozitivní a jako jediný zdroj uhlíku je využíván citrát. Dusičnany jsou redukovány a tyrosin je rozkládán. Fenylyalanin není deaminován. *B. thuringiensis* je toxická a specifická pro larvy Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Nematoida, Protozoa, Trematoda, Acari (Goldberg & Margalit 1997; Dulmage 1981; Zhong et al. 2000), Hymenoptera, Hemiptera, Orthoptera, Isoptera a Mallophaga (Feitelson et al. 1992; De Maagd et al. 2001; Castilhos-Fortes et al. 2002; Cavados et al. 2001).

Většina kmenů využívá sacharózu a další cukry, ale *B. thuringiensis serovars israelensis* tento disacharid nefermentuje (Garitty 2005). *B. thuringiensis* má během vývoje buněk dvě odlišné fáze – vegetativní dělení buněk a tvorbu spor (Bulla et al. 1980; Ibrahim et al. 2010). Vývoj spor a krystalu zahrnuje sedm odlišných fází – fázi tvorby axiálních filamentů, fázi tvorby foresporové přepážky, fázi prvního výskytu parasporálních krystalků a tvorba forespory, fázi tvorby exospor, primordiální buněčné stěny a přeměna spórového nukleoidu, a fázi zrání spory a lýza buňky (Bulla et al. 1980; Bechtel & Bulla 1982; Ibrahim et al. 2010). Klasifikace *B. thuringiensis* neodráží patotyp bakterií, který je v podstatě definován delta-endotoxiny, které tvoří charakteristickou krystalickou inkluzi kmenů. Tyto insekticidní proteiny jsou syntetizovány po II. stadiu sporulace a hromadí se v mateřské buňce ve formě krystalů, které mohou tvořit až 25 % suché hmotnosti sporulovaných buněk (Ribier & Lecadet 1973; Enwistle et al. 1993). Poslední autoři uvádějí, že tyto krystaly mohou mít různé formy – bipyramidální, pyramidální, kubické, ploché, kosočtverečné, sférické a obdélníkové. Nejběžnější formou je bipyramidální krystal. Krystaly mohou obsahovat jeden nebo více delta-endotoxinů, neboli Cry proteinů, které mají molekulovou hmotnost mezi kDa30 a kDa140 a které se po požití cílovými škůdci, převážně hmyzem, přeměňují na toxické peptidy (Enwistle et al. 1993; Pinto et al. 2009; Fiuza 2009). Ve studii o aplikaci gama záření k eliminaci spor v biopesticidtech na bázi *B. thuringiensis serovar israelensis* bylo prokázáno, že záření zajišťuje úplnou inaktivaci spor v insekticidu, aniž by se změnila larvicidní aktivita (Rabinovich et al. 2014).

Cry proteiny

Skupina třídoménových Cry (3d-Cry) toxinů je největší skupinou Bt toxinů, která obsahuje 55 podskupin, některé z nich jsou aktivní proti motýlům, broukům, dvoukřídlým a hlísticím. Do této skupiny patří Cry31 a Cry41 toxiny, které se také nazývají parasporiny 1 a 3, protože vykazovaly aktivitu vůči lidským rakovinným buňkám a nevykazovaly toxicitu pro různý hmyz (Ohba et al. 2009). Bylo navrženo, že protoxiny jsou larvami pozřeny a ihned se rozpouštějí díky vysokému pH a redukčním podmínkám ve střevě hmyzu. Protoxiny jsou štěpeny proteázami středního střeva, což vede ke vzniku fragmentů toxinů odolných vůči další proteolýze (Pardo-López et al. 2013). Aktivovaný toxin se postupně váže na různé receptorové molekuly, aby nakonec vstoupil do membrány buněk středního střeva a vytvořil póry, které tyto buňky protrhnou, což vede ke smrti larev. Aktivovaný toxin se nejprve váže s nízkou afinitou na alkalické fosfatázy a aminopeptidázy, které se v membráně vyskytují ve velkém množství. Díky této interakci se toxin dostane do blízkosti membrány mikrovilů, kde se nachází další receptor, protein kadherin. Interakce s tímto proteinem vyvolá štěpení aminoterciální oblasti toxinu včetně šroubovice alfa-1 a části šroubovice alfa-2a. Následuje konformační změna, která vede k oligomerizaci toxinu (Gómez et al. 2002; Pardo-López et al. 2013). Cry35 a Cry34 tvoří binární toxin, který je vysoce účinný proti larvám hádátek, jako je *Diabrotica virgifera*, která je hlavním škůdcem kukuřice v USA. Tento hmyz se živí kořeny kukuřice a jeho regulace je komplikovaná, protože jsou chráněny před kontaktem s insekticidy. Toxiny Cry35 a Cry34 jsou rovněž pórtvorné toxiny. Cry35 má některé společné rysy s binárními Bin-toxiny produkovanými bakterií *Lysinibacillus sphaericus*, které jsou aktivní proti larvám dvoukřídlým (Neves et al. 2014). Oba proteiny společně jsou schopny vytvářet iontové kanály v syntetických membránách, ale jednotlivě nevykazovaly žádnou toxicitu pro larvy hmyzu (Masson et al. 2004). Rostliny, které vyjadřovaly oba proteiny, vykazaly účinnější kontrolu larev *D. virgifera*, a proto se předpokládá, že kombinace obou proteinů by mohla pomoci oddálit vývoj rezistentního hmyzu (Prasifka et al. 2013).

Dalších několik Cry proteinů patří do skupiny Cry podobné moskyticidním toxinům, jako jsou Cry 15, Cry23, Cry33 a Cry38, které jsou účinné proti hmyzu z čeledi *Coleoptera*, Cry60, který působí proti dvoukřídlým a Cry 50, který je aktivní proti larvám brouků a ploštic. Cry46 a Cry64 jsou také nazývány parasporiny 4 a 5 a vykazují aktivitu proti rakovinným buňkám (Crickmore et al. 1995). Cry23 se spojuje s Cry37 a vytváří binární toxin s pórtvornou aktivitou (de Maagd et al. 2001). Cry51 působí proti nymfám savého hmyzu *Lygus hesperus* a *Lygus lincolaris*, které jsou významnými škůdci bavlny v USA. Tento toxin je rovněž účinný proti hádátce bramborovému. Mechanismus účinku tohoto toxinu zůstává neznámý, ale předpokládá se, že se s největší pravděpodobností jedná o toxin tvořící póry (Baum et al. 2012).

Některé Cry proteiny nejsou příbuzní s žádnou již zmíněnou skupinou. Patří mezi ně Cry64a, která je rovněž pórtvorným toxinem, jenž vykazuje insekticidní aktivitu proti larvám hlístic a hlísticím jako takovým. Tento toxin vykazuje strukturu s určitou podobností s jinými

pórtovornými toxiny, jako je hemolysin z *Escherichia coli* a nehemolytický toxin z *Bacillus cereus* (Dementiev et al. 2016).

Cyt proteiny

Kromě Cry proteinů mohou izoláty *B. thuringiensis* syntetizovat proteiny zvané Cyt, které mají in vitro cytolytickou aktivitou a in vivo specifitu vůči dvoukřídlým (Höfte & Whitheley 1989). Podle Soberóna et al. (2013) jsou Cyt toxiny schopny ovlivňovat buňky středního střeva hmyzu a mohou zvyšovat insekticidní aktivitu některých Cry toxinů. Některé izoláty *Bt* syntetizují bílkoviny známé jako beta-exotoxiny. Jeden z nich, thuringiensin, je nespecifický a termostabilní protein toxický pro obratlovce (Sebesta et al. 1981). Protože je nespecifický, izoláty, které jsou schopny jej produkovat, jej nemohou používat při výrobě biopesticidů (Bishop et al. 1999; Siegel 2001). Na druhou stranu jsou proteiny Vip rozděleny do čtyř skupin podle aminokyselinové identity. Proteiny Vip1 a Vip2 působí jako binární toxin a jsou toxické pro některé druhy *Coleopter* a *Hemipter* (Chakroun et al. 2016). Kromě výše uvedených proteinů mohou *Bt* produkovat fosfolipázy, proteázy, chitinázy a enterotoxiny (Schnepf et al. 1998; Rabinovitch et al. 1998; Zahner et al. 2005). Enterotoxin je podobný enterotoxinu produkovaného *B. cereus*, jehož požití vede k intoxikaci (Taybali & Seligy 2000). Z hlediska zdraví produkuje *Bt* některé třídy baktericidů, které jsou důležité pro kontrolu patogenních mikroorganismů a kontaminace potravin (Salazar-Marroquin et al. 2016).

Ghassemi-Kahrizeh & Aramideh (2014) popsali účinek *B. thuringiensis* na *Leptinotarsa decemlineata*, přičemž zjistili, že pouze 15 % přeživších jedinců se stalo dospělými a mortalita kukel přeživších larev byla přibližně 50 %. Existoval předpoklad, že larvy mandelinky bramborové zůstávají na rostlinách i po aplikaci *B. thuringiensis* a způsobují značné škody. Larvy však nejsou schopny se samy žít, a i když se živí, byla zaznamenána vysoká mortalita ve stadiu kukel a došlo ke zpoždění vývoje dospělců. Kromě toho, i když larvy dospějí, nebudou mít tyto dospělci obvyklou morfologii a fyziologii. Pouhé počítání míry úmrtnosti larev v krátkém období nemůže poskytnout dobrý odhad úrovně ochrany kultur získané aplikací *Bt*. Proto bude mortalita způsobená aplikací biopesticidů na bázi *Bt* vyšší než odhadované hodnoty. Kromě subletálního účinku je v literatuře málo zpráv o účinku *Bt* na dospělce *Lepidopter*. Negativní účinky na dlouhověkost dospělců nebo dokonce nízká mortalita byly pozorovány u *Heliothis virescens* a *Spodoptera exigua* (Grove et al. 2001). Zhang et al. (2013) uvedli, že *Bt* snižuje dlouhověkost dospělců, páření, přenos spermií a kladení vajíček u *Spodoptera frugiperda* a *Heliothis armigera*.

Byly zaznamenány 3 skupiny cytotoxinů – Cyt1, Cyt2 a Cyt3. Cyt1 a Cyt2 jsou aktivní proti larvám dvoukřídlých a vykazují hemolytickou aktivitu při testování in vitro s různými červenými krvinkami (Soberón et al. 2013). Specifičnost Cyt3 není známa (Crickmore et al. 1995). Jednou z nejdůležitějších vlastností cytotoxinů je jejich schopnost synergizovat aktivitu toxinů Cry4Aa, Cry4Ba a Cry11Aa (Crickmore et al. 1995) a překonávat rezistenci vůči těmto Cry toxinům u rezistentních populací *Culex quinquefasciatus* (Wirth et al. 2005).

Vip proteiny

Byly popsány tři hlavní skupiny vegetativních insekticidních proteinů (Vip). První z nich zahrnuje toxiny Vip1 a Vip2, které tvoří binární toxin účinný proti larvám čeledi *Coleoptera* a mšicím, zatímco druhou skupinu tvoří toxiny Vip3 účinné proti škůdcům čeledi *Lepidoptera*. Tyto proteiny jsou produkovány během vegetativní fáze růstu a jsou vylučovány mimo bakterii (Crickmore et al. 1995). Binární Vip1/Vip2 byl transformován do rostlin kukuřice, ale exprese těchto toxinů byla pro rostliny letální. Byl vytvořen proenzym Vip2, kde byla přidána propeptidová sekvence, která blokovala aktivitu Vip2A v rostlinné buňce, ale po pozření larvami byl peptid štěpen proteázami středního střeva a obnovila se insekticidní aktivita (Jucovic et al. 2008). Vip3 je vylučován do prostředí jako protoxin, je proteolyticky aktivován na aktivní toxin proteázami středního střeva larvy. Identita receptorů není známa, váže se na různé proteiny u několika druhů hmyzu a tato vazebná místa se liší od vazebných míst Cry toxinů, nebyla tedy pozorována konkurence s Cry toxiny (Lee et al. 2003; Mahon et al. 2012). Také Vip3A je toxin tvořící póry, tento protein byl exprimován v rostlinách kukuřice, které vykazovaly ochranu proti napadení *Helicoverpa Zea*, *Ostrinia nubialis* a *Spodoptera frugiperda*. Pyramidální exprese Vip3A s Cry1Ab zvyšuje účinnost kontroly hmyzu u těchto Bt rostlin (Burkeness et al. 2010).

Provedené studie

Stark & Banks (2003) navrhli novou metodu hodnocení toxicity pro cílový organismus, protože expozice toxické látky může vést k úmrtí i k vícečetným subletálním účinkům. Demografické studie byly navrženy jako žádanější způsob hodnocení celkové toxicity. Tyto studie se navíc obvykle provádějí po celou dobu života organismu, a poskytují tak úplnou zprávu o úmrtnosti. Demografické toxikologické studie nebo experimenty s reakcí na tabulku stupnice života poskytují měřítko účinku na rychlost růstu populace. Velmi užitečným nástrojem pro tento účel jsou tabulky „stupnici života“, které vystavují skupiny jednotlivců, u nichž se v průběhu života zvyšují dávky nebo koncentrace toxické látky. Zaznamenává se denní úmrtnost a reprodukce a tyto údaje se pak používají k vytvoření parametrů tabulek života. Vzhledem k tomu, že se tyto tabulky vytvářejí v laboratoři a údaje se generují spíše pro jednotlivce než pro populace, nezíská se reálné měřítko rychlosti růstu populace. Ukázalo se však, že vlastní rychlost růstu je přesnějším měřítkem toxického účinku než odhady letální koncentrace (LC₅₀). Sedaratian et al. (2012) popsali účinky Bt na *H. armigera* pomocí tabulek života. Délka trvání jednotlivých fází života u ošetřených *H. armigera* byla ošetřeními významně ovlivněna. Kromě toho byla negativně ovlivněna i plodnost samic vyvinutých z larev ošetřených Bt *kurstaki*, přičemž míra líhnutí vajíček dosáhla nuly. Subletální koncentrace Bt *kurstaki* snížily čistou rychlost reprodukce (R₀) a mezi těmito hodnotami byly rovněž významné rozdíly u všech ošetření. Vnitřní a konečná míra nárůstu byly signifikantně nižší u hmyzu ošetřeného Bt *kurstaki*. U *H. armigera* ošetřeného přípravkem bylo rovněž zaznamenáno

snížení rychlosti vývoje. Průměrná doba mezi generacemi a dobou zdvojením byla významně vyšší u hmyzu vystaveného Bt.

Provedené výzkumy ukazují, že bakterie je účinná proti larvám mandelinky bramborové (Ferro & Gelernter 1989; Zehnder & Gelernter 1989; Hough-Goldstein et al. 1991; Arpaia & Ricchiuto 1993; Ferro et al. 1993; Johnson et al. 1993; Wierenga et al. 1996; Ferro et al. 1997; Ghassemi-Kahrizeh et al. 2004). Polanczyk & Alves (2005) potvrdili, že *B. thuringiensis* ovlivnil biologické parametry *Spodoptera frugiperda*, zejména hmotnost larev a kukel, a v některých případech se tyto účinky přenesly do dalších stádií životního cyklu, což ovlivnilo kladení a plodnost vajíček. Santos Junior et al. 2009 ověřili subletální účinky *B. thuringiensis* u *Helicoverpa zea* na základě snížení hmotnosti larev a kukel.

Přípravky

Většina komerčních produktů pro hubení hmyzu na zemědělských pozemcích jsou prášky nebo koncentrované tekuté suspenze obsahující toxin. Tyto přípravky se aplikují přímo na listy, nebo jiné části rostlin, kde se živí larvy. Nejúspěšnější aplikací Bt toxinů pro regulaci zemědělských škůdců jsou geneticky modifikované rostliny, známé jako Bt rostliny, kde byly do genomu plodin, jako bavlník, kukuřice a sója, geneticky vneseny Bt geny kódující specifické Cry nebo Vip toxiny. Bt rostliny byly poprvé komerčně využity v roce 1966, a od té doby jejich používání každoročně roste. (Fiuza et al. 2017). Expresí Cry toxinů v Bt rostlinách vedla k významnému snížení postřiků chemickými insekticidy, zejména v rozvojových zemích (Qaim & Zilberman 2003). Kromě toho Bt produkuje insekticidní proteiny, vysoce specifické proti hmyzu rodu *Diptera*, který je přenašečem několika lidských onemocnění, jako je například horečka dengue, chikungunya, zika a malárie. Komerční formulace Bt sup. *Israelensis* byla poprvé k dispozici v roce 1981 a WHO ji často využívala v západní Africe k řešení problému onchocerkózy (de Barjac & Sutherland 1990). Tyto přípravky byly také použity v boji proti komárům v dalších zemích, například v Brazílii a Německu, což vedlo ke snížení populace komárů o více než 90 %, aniž by byl prokázán jakýkoliv škodlivý vliv na životní prostředí (Becker 1997). Na českém trhu je k dispozici několik přípravků s účinnou látkou *Bacillus thuringiensis*, ale ani jeden není registrován k aplikaci na brambory (ÚKZÚZ 2022).

Geneticky modifikované plodiny

Geneticky modifikované plodiny mohou ovlivnit přirozené nepřátele několika způsoby – živěním se tkáněmi GM rostlin, jako je tomu v případě všežravých predátorů, nebo vyvoláním změny v agroekosystému a emisí těkavých látek, které přitahují přirozené nepřátele (Fiuza et al. 2017). GM plodiny také mohou nepřímo ovlivňovat přirozené nepřátele v důsledku změn ve vzájemných interakcích (rostlina – herbivor – parazitoid – predátor) v různých potravních řetězcích (Han et al. 2016). V polních podmínkách byl hodnocen potenciální vliv Bt rostlin na biodiverzitu přirozených nepřátel u kukuřice, bavlníku, rýže a brambor (Ferry et al. 2007; Yang et al. 2015; Resende et al. 2016; Schoenly & Barrion 2016). Biodiverzita u konvenční a

transgenní kukuřice byla ve studii provedené v sedmi městech státu Minas podobná. Bohatství a rozmanitost hmyzu závisí na místních a dalších faktorech, jako je používání pesticidů (Resende et al. 2016). Jiné studie provedené s Bt kukuřicí obsahující pouze protein Cry1Ab ověřily, že účinek Bt kukuřice na přirozené nepřátele je minimální a nižší než účinky způsobené pesticidy (Rose & Dively 2007; Alcantara 2012). Lu et al. (2012) na základě údajů shromážděných v letech 1990-2010 ze severní Číny ověřili výrazný nárůst početností tří typů predátorů – slunéček, zlatooček a pavouků, a pokles početnosti škůdců v souvislosti s plošným zavedením Bt bavlny a snížením postřiků pesticidy. Zachování některých vzájemných interakcí Bt bavlně přispělo k udržitelnějšímu řízení necílových škůdců posílením jejich přirozené biologické kontroly.

Rezistence

Definice rezistence hmyzu vůči Bt proteinům a plodinám je předmětem neustálých diskusí (Fiuza et al. 2017). Národní rada pro výzkum (1986) definovala rezistenci vůči specifickému insekticidu jako "geneticky dědičné změny v populaci způsobující snížení citlivosti vůči specifickému insekticidu", aniž by se zabývala dopadem rezistence na účinnost produktu na polní úrovni. Tabashnik et al. (2008; 2009) definovali polní rezistenci jako geneticky založené snížení citlivosti populace k toxinu způsobené vystavením populace toxinu na poli. Tato definice však neznamená ztrátu ekonomické činnosti Bt proteinu nebo plodiny na poli, protože nezohledňuje faktory, jako je vliv velikosti rezistence (prostorově nebo časově), nebo rozsah změn účinnosti produktu. Spíše se často opírá o čtení a prezentaci laboratorních výsledků, aniž by brala v úvahu ekologii škůdce. Podle Sumerforda et al. (2013) je navíc pro potvrzení rezistence hmyzu vůči Bt proteinu nebo plodině na poli nezbytné prokázat dědičný základ pro změnu náchylnosti a schopnost jedinců, kteří vlastní alely způsobující změnu náchylnosti, dokončit svůj vývoj na rostlinách exprimující Bt proteiny, což jim umožní vzájemné páření a přenos alel rezistence na jejich potomstvo. Programy řízení rezistence hmyzu vůči Bt plodinám jsou navrženy a prováděny tak, aby zpomalily rychlost vývoje rezistence hmyzu, a tím maximalizovaly účinnou životnost Bt plodiny, ale nikoli aby rezistenci zabránily (Head & Greenplate 2012). Rychlost, jakou se může vyvinout rezistence hmyzu vůči Bt plodinám, je ovlivněna několika faktory, včetně použití přípravku, který vede k úhynu veškerého nebo téměř veškerého heterozygotního hmyzu, četnosti alel rezistence v populaci hmyzích škůdců a dostupnosti útočišť tvořených rostlinami neobsahující Bt protein, které poskytují náchylný hmyz, jenž přispívá ke snižování rezistence prostřednictvím náhodného páření s plně rezistentním hmyzem (Gould 1998; Roush 1994; Tabashnik et al. 2013). Rychlost evoluce rezistence je navíc významně ovlivněna počtem Bt proteinů exprimovaných v Bt plodině a úrovní a konzistencí exprese každého Bt proteinu (Head & Greenplate 2012). Na základě matematického modelování by se rezistence měla vyvíjet pomaleji vůči Bt plodinám s více Bt proteiny, než vůči plodinám s jedním Bt proteinem (Roush 1998). Kromě toho je ideální exprese každého Bt proteinu v Bt plodině po celou sezónu na

dostatečně vysoké úrovni pro kontrolu cílového hmyzu, který je heterozygotní pro všechny geny rezistence (EPA 1998).

3.5.2 *Chromobacterium subtsugae*

Popis

Chromobacterium subtsugae je fakultativně aerobní, pohyblivá, gramnegativní betaproteobakterie s polárními bičíky. Kolonie tvoří 2-3 dny na L-agaru při 25 °C, které jsou zpočátku zbarveny krémově, během následujících 24 hodin se však postupně mění na světle až tmavě fialové zbarvení. Bylo také prokázáno, že buňky lyzují v 30 % roztoku KOH. Toxicita této bakterie byla testována tak, že byla podávána larvám mandelinky bramborové na lyofilizované stravě. V první biologické zkoušce více než 78 % larev 2. instaru brouka krmených dietou obsahující kmen bakterie PRAA4-1 uhynulo během 3 dnů. Prvním příznakem toxicity bylo zastavení žíru larev (Martin et al. 2007).

Přípravky

Společnost Marrone Organic Inovations získala licenci na technologii založenou na novém druhu *Chromobacterium* od ministerstva zemědělství Spojených států a vyvíjí ji jako mikrobiální bioinsekticid. Vývoj zahrnuje optimalizaci prostředí s cílem maximalizovat výtěžnost sekundárních metabolitů zodpovědných za insekticidní aktivitu, stejně jako vývoj složení pro zvýšení účinnosti a stability při skladování. Bioaktivní sloučeniny jsou extrahovány z fermentačních výluhů a výsledné surové extrakty jsou frakcionovány pro izolaci a identifikaci sloučenin. Insekticidní aktivita fermentačních výluhů se vyvíjí v průběhu času a shoduje se s odumíráním buněk během stacionární fáze růstu. Bezbuněčné extrakty mají dobrou aktivitu proti hmyzím škůdcům. Zdá se, že aktivní sloučeniny v celobuněčném výluhu jsou tepelně stabilní, ale část aktivity se ztrácí během sušení mrazem. Stále probíhají práce na optimalizaci prostředí, vývoji přípravků a identifikaci účinných látek. Pokračuje testování spektra proti různým hmyzím škůdcům prostřednictvím biologických testů, skleníkových a polních studií (Koivunen et al. 2009).

3.5.3 *Saccharopolyspora spinosa*

Popis

S. spinosa je chemoroganický heterotrof, který rozkládá organické látky za účelem získání energie. Některé z nich zahrnují acetát, butyrát, citrát, mravenčan, laktát, malát, proprionát, pyruvát a sukcinát (Mertz & Yao 1990).

Saccharopolyspora spinosa produkuje metabolity nazývané spinosyny A a D, které jsou z hlediska hospodářského, ekologického a zemědělského důležité. Bylo zjištěno, že spinosyny mají pesticidní vlastnosti, které jsou účinné na mnoho druhů roztočů a hmyzu (Salgado 1998;

Bond et al. 2004; Cloyd 2009; Thompson et al. 2000; Watson GB 2001; Hertlein et al. 2011) a nemají žádný známý toxický účinek na člověka (Bond et al. 2004; Pan et al. 2011; Kuhr & Motoyama 1998; Sparks et al. 1998). Studie prokázaly, že spinosad není pro savce karcinogenní, mutagenní ani teratogenní (Thompson et al. 2000; Kirst 2010). Kromě toho mají spinosady také nízkou toxicitu a nízké riziko pro mnoho vodních a ptačích živočichů (Kirst 2010). Spinosad je lákavým nástrojem ochrany rostlin proti škůdcům, neboť se rychle rozkládá prostřednictvím fotolýzy (West 1997; Thompson et al. 2002; Kirst 2010).

Spinosyny jsou vytvářeny *S. spinosa* v aerobním fermentačním výluhu, který se skládá z nezbytných metabolických živin a organismů *S. spinosa*. Spinosyny mají dva způsoby účinku, které pomáhají předcházet vzniku rezistence. Proto jsou pesticidy obsahující spinosyny atraktivní možností ochrany proti škůdcům v zemědělství (Huang et al. 2009).

Provedené studie

Dosavadní studie dospěly k závěru, že mechanismus, kterým spinosyn působí insekticidně, se liší od mechanismů jiných známých látek, a proto má spinosyn jedinečný, i když dosud neúplně definovaný mechanismus účinku (MOA). Tento závěr je založen na tom, že spinosyn nemá žádný pozitivní ani negativní vliv na vazbu jiných známých insekticidů na jejich specifické receptory (Orr et al. 2009). Původní výzkumy dospěly k závěru, že primární účinek spinosadu A působí na nervový systém hmyzu a narušuje nervovou činnost tím, že stimuluje motorické neurony a způsobuje mimovolní svalové kontrakce, což nakonec vede k paralýze a smrti (Salgado 1998; Salgado et al. 1998). Pozdější studie zjistily, že spinosyn interagoval jak s receptory kyseliny γ -aminomáselné, tak s nikotinovými acetylcholinovými receptory, čímž se tyto receptory podílely na MOA, i když odlišným způsobem od interakcí jiných insekticidů (Watson 2001). Následné studie poskytly další důkazy o takovém jedinečném MOA, které zahrnovaly neidentifikovatelný podtyp receptorů kyseliny γ -aminomáselné (Orr et al. 2009; Millar & Denholm 2007). Nejnovější studie u vyřazení *Drosophila melanogaster* ukázaly, že cílovým místem spinosynu je podjednotka $\text{D}\alpha 6$ nikotinového acetylcholinového receptoru (Perry et al. 2007).

Rezistence

Zpočátku se křížená rezistence mezi spinosynem a ostatními látkami nevyskytovala, nebo byla nízká (Scott et al. 2000; Scott 1999). Tento výsledek podporuje návrh na jedinečný MOA. Nicméně, jak je dobře známo u jiných insekticidů, pokračující používání pravděpodobně vyvolá selekční tlak na hmyz, a nakonec vyvolá rezistenci. V důsledku toho je vždy zásadní předvídat a včas plánovat strategie a postupy řízení, které minimalizují a řídí speciální vývoj a šíření rezistence (Thompson et al. 2000). Je obtížné vyvozovat obecné závěry, protože publikované výsledky jsou obvykle individuální případy, které mají mnoho proměnných, jako je druh hmyzu a jeho vývojové stádium, typ ošetřovaných rostlin, lokalita, klima, způsob obhospodařování, typ testu, vliv prostředí atd. Jeden z prvních případů rozvoje rezistence byl

zaznamenán u zápředníčka polního na Havaji, ačkoliv změny v postupech hospodaření obnovily citlivost, což naznačuje, že rezistence je reverzibilní. Mezi příklady z různých studií se rezistence u larev obaleče jablečného liší (od nulové po problematickou) (Kirst 2010). Rezistence byla zaznamenána u čtyř z pěti polních populací blýskavky červivcovi v Mexiku (Osorio et al. 2008). Nedávná studie uvádí, že makadlovka bavlníková na bavlníku v Pákistánu zůstává relativně náchylná (Ahmad & Arif 2009). U různých škůdců byl zaznamenán různý stupeň zkřížené rezistence mezi spinosadem a některými, ale ne všemi dalšími přípravky. Navzdory mnoha rozdílům v detailech je převažujícím závěrem studií, že pro zvládnutí problémů s rezistencí je rozhodující střídání různých mechanistických tříd insekticidů (Kirts 2010). Jako prostředek k minimalizaci rezistence byly zvažovány kombinace insekticidů (Nayak & Daglish 2007).

Mnoho hmyzích škůdců, na které jsou spinosyny zaměřeny, patří mezi nejvýznamnější hmyzí škůdce, kteří mají historii vývoje rezistence vůči široké škále insekticidů. Do této skupiny patří černopáska bavlníková a řada druhů blanokřídlých (Whalon et al. 2008). Před uvedením spinosadu na trh byl proto zaveden program řízení rezistence vůči insekticidům, který zahrnuje specifická doporučení pro jeho použití (Thompson et al. 2000; Zhao et al. 2002). Nesprávné používání jakéhokoliv insekticidu může vést k rozvoji rezistence, a spinosady nejsou výjimkou. Kromě četných laboratorních studií rezistence bylo zaznamenáno několik případů, kdy nadměrné nesprávné použití přípravku vedlo k rozvoji rezistence vůči spinosadu (Geng et al. 2013). Tato rezistence byla prokázána v řadě studií v laboratořích i v terénu (Hsu & Feng 2006; Hsu et al. 2012; Kakani et al. 2010; Watson et al. 2010). Geng et al. (2013) zjistili, že ve 14 studiích byl identifikován mechanismus rezistence založený na cílovém místě, a v několika případech byla rezistence vůči spinosynu spojena se zvýšeným metabolismem spinosadu pomocí monoxygenáz a v jednom případě byla rezistence způsobena kombinací mutací několika genů.

Provedené studie

Vzájemné vztahy mezi *S. spinosa* a jinými organismy nebyly dosud důkladně prozkoumány. Nicméně ve studii s hádátkem bramborovým způsobily bioagens získané ze *S. spinosa* významný inhibiční vliv na množení hádátka, což nasvědčuje možnému antagonistickému vztahu s tímto organismem v přírodě (Trifonova 2010).

V České republice je dostupný prostředek pod obchodním názvem SpinTor či Červivost jabloní STOP od společnosti AGRO CS a.s. a mimo mandelinky bramborové je dále účinná proti obaleči napadající vinnou révu, housenky motýlů napadající květák, hlávkové zelí, růžičkovou kapustu a brokolici, proti můře zelné, obaleči jablečnému, obalečům slupkovým a pupenovým, třásněnce zahradní a západní. Registrován je také prostředek pod obchodním názvem Mandelinka STOP, a to od již zmíněné společnosti. Tento přípravek má stejné použití jako předchozí a jako přípravek SpinTor od několika odlišných společností – AGRO CS a.s., AgroBio Opava, s.r.o., LOVELA Terežín s.r.o., BIOCONT LABORATORY, spol. s.r.o., Corteva Agriscience Czech s.r.o. (ÚKZÚZ 2022).

3.6 Houby

V přírodě se vyskytuje poměrně velký počet hub z různých taxonomických skupin, které jsou patogenní pro škůdce rostlin jako jsou roztoče, háďátka a hmyz. Některé z nich mají široký okruh hostitelů, jiné jsou specifické pouze pro jeden cílový druh škůdce nebo omezený počet druhů, ale jsou neškodné pro rostliny a obratlovce. Mnohdy vyvolávají přirozené epizootie v populacích škůdců, čímž se řadí mezi významné mikroorganismy regulující četnost těchto populací. Na bázi některých druhů byly vyvinuty biologické přípravky (Koubová 2009).

Houby mají mnoho žádoucích vlastností, které podporují jejich rozvoj jako biologických kontrolních činitelů. Představují minimální riziko pro užitečné necílové organismy, jako jsou včely, žížaly a chvostoskoci, kteří jsou klíčovými poskytovateli ekosystémových funkcí a přirozenými nepřáteli z řad členovců, jako jsou parazitické vosy a draví brouci. To zvyšuje jejich úlohu v integrovaném systému ochrany proti škůdcům. Zachování přirozených nepřátel jim umožňuje přispívat k celkové regulaci škůdců a zachování biologické rozmanitosti je stále více uznáváno jako rozhodující pro dlouhodobou produktivitu zemědělských podniků a lesů. Jejich nově zjištěné vlastnosti poskytují možnost jejich využití ve více funkcích, například kromě regulace členovců i současné potlačování rostlinných patogenů a rostlinných parazitických hlístic (Lacey et al. 2015)

Vztahy mezi houbami a hmyzem jsou velmi pestré. Lze zde nalézt vztahy mutualistické, saprofytické, symbiotické, ale i parazitické. Zvláštní skupinu hub tvoří druhy vyvolávající primární onemocnění různých vývojových stádií hmyzu, tzv. entomopatogenní houby (Landa 1998). Tyto houby infikují své hostitele přes vnější kutikulu a jsou patogenní pro hmyz jak s měkkým, tak i s tvrdým tělem, ale i řadu dalších členovců. Invaze do kutikuly umožňuje houbám infikovat savý hmyz, jako jsou mšice, molice, nebo červci. V důsledku toho byly houby vyhodnoceny jako regulační činitelé pro nejrůznější škodlivé členovce zemědělského a zahradnického významu. Ačkoli entomopatogenní houby byly považovány za patogeny členovců, nedávné studie naznačují, že v přírodě hrají i další role. O mnohých je nyní známo, že jsou endofyty rostlin, antagonisty chorob rostlin, kolonizátory rhizosféry a stimulanty růstu rostlin. Několik masenkotvarých entomopatogenních hub je důležitou součástí přírodních systémů i agroekosystémů a zdá se, že jsou všudypřítomnými obyvateli půd po celém světě (Lacey et al. 2015).

K regulaci hmyzu entomopatogenními houbami dochází, když se dostatečné množství infekčních propagulí (obvykle konidií) dostane do kontaktu s vnímavým hostitelem a nastanou vhodné podmínky pro vznik letální mykózy. Houby mohou být použity k regulaci půdních škůdců přímým vpravením konidií, myceliových pelet, mikrosklerotia, nebo inertních či živých granulí obsahující houbové propagule. Na škůdce živící se na listech rostlin se obvykle používají postřiky obsahující konidie. Virulence izolátů hub vůči různým hostitelům se liší. Virulence se obecně snižuje při opakované subkultivaci na umělých médiích a často ji lze znovu získat průchodem hostitele. Virulenci lze také zvýšit cílenou genetickou manipulací, kdy se do genomu hub vloží specifické geny, které podporují expresi toxinů zvyšující virulenci mateřských organismů. Tento přístup má potenciál zlepšit usmrcování hmyzu, nebo snížit

množství inokula potřebného k regulaci populace škůdců. Kromě toho lze fúzi protoplastů využít ke zvýšení virulence a zvětšení dosahu hostitele. Takováto fúze byla použita s několika kmeny a druhy *Lecanicium* k vývoji hybridních kmenů s vícenásobnými účinky proti rostlinným parazitickým háďátkům, rostlinným patogenům a mšicím, díky čemuž jsou tyto kmeny slibné pro vývoj jako širokospektrální mikrobiální pesticidy zaměřené na rostlinné patogeny, hmyz a parazitická háďátka (Lacey et al. 2015).

Entomoforální houby při příznivých podmínkách aktivně vyvrhují spory, které mohou rychle infikovat vnímavý hmyz, i přesto, že tyto podmínky panují jen krátkou dobu. Tato vlastnost dává těmto patogenům velký epizootický potenciál a u mnoha skupin hmyzu patří k nejdůležitějším faktorům přirozené mortality. Naproti tomu spory masenkotvorných hub *Beauveria* a *Metarhizium* spp. se šíří spíše pasivně, prostřednictvím větrných proudů nebo dešťových srážek, ačkoli k přenosu může dojít i při kontaktu vnímavého hmyzu s infikovanými jedinci, nebo se konidie mohou šířit na tělech jiných členovců (Lacey et al. 2015).

Nejčastěji jsou parazitické mykózy zjišťovány na druzích spadající do řádů brouci, dvoukřídli, motýli, ploštice, rovnokřídli, stejnokřídli a třásnokřídli. Nejčastěji infikovaným stadiem jsou larvy, eventuálně kukly. Méně často jsou infikováni dospělci a vajíčka hmyzu (Landa 1998).

Některé houby jsou široce polyfágní a iniciují nákazy nejen na zástupcích z mnoha řádů hmyzu v různých vývojových stádiích, ale i na fytofágních roztočích a některých druzích háďátek. Jiné druhy entomopatogenních hub mají podstatně užší patogenicitu s působností omezenou na úroveň hmyzích řádů (Landa 1998), přičemž i různé izoláty v rámci jednoho druhu houby mohou vykazovat různou hostitelskou specifitu (Koubová 2009).

Houby mohou v půdě přetrvávat několik let, přičemž po úspěšné infekci a kolonizaci vnímavého hostitele dochází k novým přísunům inokula. To vede k lokálním vysokým koncentracím infekčních konidií a větší šanci k infekci hmyzu. Zdá se však, že dlouhodobé přežívání entomopatogenních hub v prostředí je závislé na přístupu k náchylným hostitelům, protože jsou obecně považovány za slabé saprofyty. Nedávné objevy jejich funkce jako endofytů nebo rhizosféricky kompetentních organismů však vyžadují v tomto ohledu další zkoumání. U druhů s relativně úzkým hostitelským spektrem může nedostatek hostitelů omezovat jejich přirozený výskyt a dlouhověkost (Lacey et al. 2015).

3.6.1 *Beauveria bassiana*

Popis

Houba *Beauveria bassiana* je prvním mikroorganismem, u něhož byla prokázána patogenita (Bassi 1835). Parazituje na stádiích hmyzu vyskytující se v půdě. V sortimentu hostitelů jsou zástupci z řádu rovnokřídli, brouci, larvy a kukly motýlů a dvoukřídliých. V poslední době byly izolovány kmeny *B. bassiana* vykazující vysokou virulenci na různých druzích stejnokřídleho hmyzu (Landa 1998). *B. bassiana* je kosmopolitně rozšířený druh, běžně zaznamenáván jako původce onemocnění na spoustě druzích hmyzu, zejména na býložravých druzích, které jsou zčásti vývoje vázány na půdu (Landa et al. 2007).

Mechanismus účinku

K infekci hmyzu dochází konidiami klíčící na povrchu kutikuly a po krátkém růstu na povrchu vstoupí vlákna kolmo do chitinového pokryvu kutikuly a pronikají do tělní dutiny. Tam, kde větší svazek pronikl do kutikuly, se pozvolna začne vytvářet černý nepravidelný terčík, což je reakce fenoloxidázy na přístup vzduchu zvenčí. Hyfová tělíska oddělená od houbového vlákna jsou pomocí hemolymfy rozváděna po celém těle. Hyfy při svém růstu spotřebovávají živiny v hemolymfě. Hmyz hyne, pokud jsou zničeny všechny lymfocyty. Uvnitř těla se vytváří fruktifikační vlákna, na kterých vznikají endokonidie. Z těch vyrůstají nové hyfy, které opět fruktifikují, čímž dochází k nárůstu myceliární hmoty a úplnému vyplnění těla hmyzu. Na povrchu mumifikovaného těla se zdvihají vlákna, na kterých se vyvíjejí vzdušné konidie (Weiser 1966). Konidie jsou globoidního až subgloboidního tvaru o velikosti $2-3 \times 2-2,5 \mu\text{m}$. Konidiogenní struktury tvoří husté hrozny nebo shluky (Diribeková et al. 1991). Další cesta infekce je možná přijímáním potravy, na které ulpěly konidie. Infekce začíná prorůstáním trávicího traktu hmyzu a následuje šíření v organismu (Koubová 2009).

K důležitým primárním metabolitům patří enzymy, které houba produkuje při průniku hostitele kutikulou. Aby k tomu mohlo dojít, musí tato houba produkovat alespoň 2 rozdílné druhy enzymů v určitém pořadí. Po proniknutí dovnitř hostitele houba produkuje sekundární metabolit beauvericin, která oslabuje imunitní systém hostitele. Po smrti hostitele houba produkuje antibiotikum oosperin, díky kterému dokáže konkurovat střevním bakteriím.

Tato houba je významným přirozeným nepřítelem mandelinky bramborové (Koubová 2009). S vysokou úrovní přirozené infekce se lze nejčastěji setkat v populacích prepupa, kukel a dospělců v půdě, avšak larvální stádia jsou také velmi citlivá a *B. bassiana* má dlouhou historii vývoje jako larvicid na ochranu listů. Výsledky však byly velmi proměnlivé a listová aplikace obecně neposkytovala komerčně přijatelnou kontrolu (Wraight & Ramos 2002). Galaini (1984) prokázal účinnost aplikací prováděných v 3-4 denních intervalech ve srovnání se 7 denními intervaly. Důvodem byla skutečnost, že týdenní interval by v běžných polních podmínkách umožnil vývoj larev do odolnějšího stádia.

Martin et al. (1999) uvádějí, že houba *B. bassiana* má široké spektrum insekticidní aktivity. Jako bioagens užívaný v biologické ochraně proti mandelince bramborové, je tato houba uváděna jako velice variabilní činitel v různých polních studiích. Tato proměnlivost je dána formulačními problémy v biopreparátech, senzitivitou k UV záření a k vlhkosti. Klíčení a následný vývoj této houby jsou rozhodujícími faktory při infekci a ochraně proti mandelince bramborové. Z důvodu neschopnosti klíčit při vysokých teplotách nelze předpokládat, že ochrana proti škodlivému hmyzu bude účinná v klimatu s vysokými teplotami. Avšak může být účinná brzy na jaře nebo v chladném klimatu během vegetace.

Tuto houbu lze snadno kultivovat jak na pevných, tak i tekutých živných půdách. Pro masovou produkci se využívají dvoufázové a submerzní technologie kultivace. Během submerzní kultivace často vzniká směs blastospor a konidií. Konidie vznikají téměř stejně rychle jako blastospory, ale jsou více stálější. V zahraničí je k dispozici spousta biopreparátů

založených na bázi konidií nebo blastospor. Tyto preparáty jsou využívány proti škůdcům polních plodin, rychlené zeleniny a okrasných květin (Koubová 2009).

Polsko-česko-americké pokusy, které se paralelně uskutečnily v Poznani, Havlíčkově Brodě a Beltsville, byly zaměřené na ochranu proti mandelince bramborové a ukázaly, že dobré výsledky vykazuje biopreparát Mycotrol GH-OF (Rod 2001). Tento biopreparát vyvinula firma Mycoteh Corporation na bázi *B. bassiana* systémem dvoufázové produkční technologie. Jako aktivní část obsahuje tento přípravek kmen GHA. Mycotrol je určen pro redukci populací fytofágního hmyzu, třásněnek, molic, svilušek aj., které škodí na polních plodinách, zelenině a ovoci. Aplikaci přípravku nelze sloučit s fungicidy, ale naopak je kompatibilní s mnohými insekticidy. Optimální teplota růstu je 23-26 °C při vlhkosti 80-100 % (Koubová 2009). Rozdíly ve výnosech bramborových hlíz ošetřených tímto přípravkem ve srovnání s ošetřením biopreparátem Novodor a chemickým insekticidem Karate nebyly významné, ale byly zhruba dvojnásobné než v neošetřené kontrole (Rod 2001). Vzhledem k tomu, že je mandelinka bramborová schopna vytvořit si během krátké doby rezistenci vůči insekticidům, jeví se možnost použití přípravků na bázi *B. bassiana* jako velmi perspektivní. Ovšem kvůli slabšímu účinku je nutno přistoupit k aplikaci přípravku dříve, než tomu je u syntetických přípravků. Optimální dobou se označuje první výskyt larev 1 a 2 stadia. Další případné ošetření je nutné provést v době masového výskytu těchto larev (Koubová 2009).

Přípravky

V Německu je registrován bioinsekticid Naturalis na bázi klíčivých spor *B. bassiana*. Přípravek vyvinula firma Intrachem Bio Deutchland GmbH a je určen ke snížení napadení brambor drátovci. Naturalis je možné mísit s fungicidem Moncern a hnojivý Proradix a roztokem ledku amonného s močovinou. Je možno jej kombinovat také s měďnatými přípravky. Hnojiva obsahující mangan nevykazují žádný dlouhodobý účinek na Naturalis. Naopak mořidlo Risolex výrazně redukuje klíčivost spor účinného agens tohoto přípravku, proto se společná aplikace těchto dvou přípravků nedoporučuje (Koubová 2009).

V České republice byl registrován v biopreparát Boverol obsahující *B. bassiana* a byl primárně určen pro regulaci larev mandelinky bramborové, ale bylo možné jej použít i při regulaci dalších škůdců, například zavíječi kukuřičném, obaleči jablečném a dalších druhů obalečů u ovocných kultur. Dále proti ponravám chroustů, larvám nosatců na kořenech užitkových rostlin atd. (Koubová 2009). Tento přípravek byl však v roce 1996 stažen z trhu a v roce 1997 bylo jeho používání ukončeno. V současné době je v České republice celkově registrováno 5 přípravků na bázi *Bauveria bassiana*, avšak žádný z nich není určen k aplikaci na brambory (ÚKZÚZ 2022).

3.6.2 *Metarhizium anisopliae* syn. *robertsii*

Popis

Metarhizium anisopliae je kosmopolitně rozšířena, anamorfní entomopatogenní houba z řádu *Hypocreales* a je přirozeným antagonistou celé řady druhů hmyzu a pavoukoců

(Roberts & St Leger 2004). *M. anisopliae* byla první houba na světě, která byla masově vyráběna a používána k hubení hmyzích škůdců (Krassiltschik 1888).

M. anisopliae je vázána na mírné a vlhké klima. Její tepelné optimum je v rozsahu 20-25 °C a vyžaduje poměrně vysokou vlhkost. Může však tvořit konidii i při vlhkosti nižší než 50 %. Proti vyšším teplotám je málo odolná, škodí jí i UV záření. Proto se nejčastěji vyskytuje u stádií hmyzu žijících v půdě. V biologické ochraně se používají spory i mycelium. Formulují se do granulí nebo prášku, při větších objemech se houba vyrábí v submerzních kulturách a poté je formulována jako prášek. Biopreparáty jsou na bázi této houby velkoplošně používány hlavně v zemích Jižní Ameriky (Koubová 2009).

Mechanismus účinku

Vývojový cyklus začíná kontaktem s kutikulou hostitele. Konidie přilnou k povrchu a začnou klíčit, následuje proniknutí kutikuly nebo prorůstání povrchu hostitele. Při chemickém proniknutím hyfy nejdříve zlyžuje v místě průniku epikutikulou a prokutikulou, přitom absorbuje kutikulární komponenty a poté kolonizuje tkáň hostitele a tvoří mycelium nebo blastospory. Hostitel umírá ještě před úplnou kolonizací houbou následkem destruxinů. Když se vyčerpají zásoby těla hostitele, začne houba prorůstat na povrch těla, kde se tvoří konidiofory. Na nich dozrají konidie, které jsou typické cylindrickým tvarem a uspořádáním v paralelních řetězcích. Cely proces je ukončen mumifikací hostitele. Během porůstání povrchu hostitele může *M. anisopliae* využít pro svou výživu lipidy kutikuly (Blaser et al. 2004).

Onemocnění touto houbou se často nazývá zelená muskardinóza, a to kvůli zelenému zbarvení jejích výtrusů. Když se tyto mitotické výtrusy dostanou do kontaktu s tělem hmyzího hostitele, vyklíčí a hyfy proniknou kutikulou. Houba se pak vyvíjí uvnitř těla a po několika dnech hmyz usmrtí. Tento smrtící účinek je velmi pravděpodobně podpořen produkcí insekticidních cyklických peptidů, destruxinů. Pokud je okolní vlhkost dostatečně vysoká, roste na těle hmyzu bílá plíseň, která se díky tvořícím sporům změnila na zelenou (Freimoser et al. 2003).

Tomilova et al. (2016) zkoumali kombinovaný účinek avermektinů a houby *Metarhizium robertsii* na larvy mandelinky bramborové. Při ošetření *M. robertsii* bylo dosaženo 64 % celkové mortality, při ošetření avermektiny 85 % a při smíšeném ošetření 100 % po dobu 11 dnů. Kombinované ošetření tedy bylo 1,2-1,6 krát účinnější než monoterapie. Doba přežívání hmyzu se po kombinovaném ošetření významně snížila. Pololetální doba pro kombinované ošetření činila čtvrtý den, namísto desátého dne potřebného pro houbovou infekci a osmého dne pro ošetření avermektinem. Synergický účinek mezi avermektiny a *M. robertsii* byl zaznamenán od třetího do desátého dne pokusu. K tvorbě hyfových tělísek *M. robertsii* v hemocoelu po ošetření samotnou houbou došlo až s dvoudenním zpožděním oproti společnému ošetření. Významný nárůst procenta larev s hyfovými tělísky v hemolymfě byl zaznamenán v pátém, šestém a sedmém dni po společném ošetření ve srovnání s variantou ošetření bez avermektinů. Ukázalo se, že houbová infekce zvyšuje celkový počet hemocytů. Naproti tomu avermektiny snižovaly celkový počet hemocytů u larev infikovaných i neinfikovaných houbou. Během infekce houbou byl zaznamenán významný nárůst počtu

imunokompetentních buněk, jako jsou plazmocyty. Ošetření avermektiny neměla významný vliv na počet plazmocytů. Infekce houbou vedla k výraznému snížení počtu granulárních buněk, zatímco avermektiny vedly k dramatickému snížení počtu granulárních buněk u larev infikovaných i neinfikovaných *M. robertsii*. Ošetření samotnou houbou nezměnilo fenoloxidázu v hemolymfě třetí den po expozici, avšak vlivem avermektinů bylo zaznamenáno zvýšení aktivity fenoloxidázy v hemolymfě. Jak avermektiny, tak *M. robertsii* zvýšili aktivitu fenoloxidáz v integumentech. Při kombinovaném ošetření bylo zjištěno silné zvýšení, jednalo se však o kumulativní účinek, neboť nebyly zjištěny významné interakce mezi ošetřením houbou a ošetřením avermektiny. Samotné ošetření houbou nemělo vliv na aktivitu glutationu (GST) v hemolymfě a tukovém tělese. Léčba avermektiny však tuto aktivitu zvýšila. K nejvýraznějšímu zvýšení aktivit GST došlo při současném ošetření obou prostředků. Byly tak prokázány významné interakce mezi léčbou houbami a léčbou avermektiny v plazmatické aktivitě GST v hemolymfě a tukovém tělese. Ze všech zmíněných faktorů vyplývá, že společné ošetření avermektiny a *M. robertsii* má silný synergický účinek na mortalitu larev mandelinky bramborové. Souhrnně výsledky ukazují na potlačení a narušení imunitní obrany hmyzu při ošetření avermektiny – účinky, které mohou zvýšit náchylnost larev k houbové infekci a vést k synergii mezi těmito látkami. Společné použití *M. robertsii* spolu s nízkými dávkami přírodního komplexu avermektinů proti larvám *L. decemlineata* tak poskytuje silný insekticidní účinek v co nejkratší době. Takový způsob představuje novou perspektivu pro vývoj vícesložkových bioinsekticidů.

3.6.3 *Tolypocladium niveum*

Popis

Druhy rodu *Tolypocladium* jsou široce rozšířené půdní houby, z nichž některé jsou patogenní vůči hmyzu, zatímco jiné existují jako saprofyty (Bisett 1983; Samson & Soares 1984). Dále tyto druhy produkují širokou škálu metabolitů včetně cyklosporinů, efrapeptinů, elvapeptinů a antibiotika (Dreyfuss et al. 1976; Jackson et al. 1979; Bullough et al. 1982; Krasnoff et al. 1991; Gupta et al. 1992; Reháček 1995; Tsantrizos et al. 1996).

Weiser & Matha (1988) prokázali, že extrakty *T. niveum* a *T. cylindrosporum* jsou toxické pro *Galleria mellonella*, *Drosophila melanogaster* a *Culex pipiens*. Toxin označili jako tolypin, ale Krasnoff et al. (1991) ukázali, že účinné látky jsou efrapeptidy. Pět identifikovaných efrapeptinů se ukázalo jako užitečné taxonomické markery (Krasnoff & Gupta 1992; Hodge et al. 1996). Krasnoff et al. (1991) ukázali, že efrapeptiny mají antifungální a insekticidní vlastnosti, ale jejich studie se omezily na foliární pokusy. Surové extrakty efrapeptinu rozprašované na listy byly toxické pro mandelinku bramborovou, *Spodoptera eridania*, *Chloridea virescens* a svilušce chmelové, přičemž mandelinka bramborová byla nejcitlivější. Navzdory jejich insekticidním a domnělým antifungálním vlastnostem je velmi málo známo o produkci těchto sloučenin in vitro a jejich ekologickém významu, tj. roli v přežívání hub na polích a patogenitě vůči hmyzím hostitelům.

Bandani et al. (2000) zjistili, že surový extrakt *T. niveum* s obsahem přibližně 46 % efrapeptinu byl insekticidní i v dávce 0,3 mg/ml, přičemž nejcitlivější byly larvy rodu *Galleria*, *Calliophora* a *Tenebrio*. Zároveň při této dávce hmyz nevykazoval žádné příznaky okamžité paralýzy, ale při dávce 1 mg/ml došlo k paralýze a úhynu hmyzu. Rychlost paralýzy a smrti byla závislá na dávce. Po ochrnutí se hmyz již nezotavil.

V současné době není v České republice registrován žádný přípravek na bázi *T. niveum* (ÚKZÚZ 2022).

3.6.4 *Trichoderma* spp.

Popis

Mechanismy biologické kontroly, které vykazují druhy rodu *Trichoderma*, jsou studovány již několik desetiletí (Harman et al. 2004; Lorito et al. 2010). Tyto nepatogenní půdní mikroorganismy mají schopnost antagonizovat a mykoparazitovat houbové patogeny, kolonizovat kořenový systém rostlin a vyvolávat obranné reakce rostlin (Hermosa et al. 2012). Tato symbióza je vedena schopností *Trichodermy* získávat sacharózu nebo jiné živiny z rostlin výměnou za posílení imunity rostlin proti napadení patogeny a zlepšení fotosyntetických schopností (Shoresh & Harman 2008; Vargas et al. 2009; Vargas et al. 2011).

Trichoderma spp. jsou nejúspěšnějšími biofungicidy používanými v současném zemědělství – více než 60 % celosvětově registrovaných biofungicidů je na bázi *Trichodermy* (Verma et al. 2007).

Po dobu dvou let zkoumali Wang et al. (2019) schopnost mikrobiálního produktu získaného z rhizosféry, složeného ze společenství kmene *Bacillus subtilis* a kmene *Trichoderma harzianum*, potlačovat běžnou strupovitost brambor způsobenou *Streptomyces* spp. V ošetřeních, v nichž bylo aplikováno 300 kg/ha mikrobiálního přípravku, se index choroby snížil o 30,6-46,1 % a výnos se zvýšil o 23-32,2 %. Bakteriální společenstva přítomná v rhizosféře byla hodnocena v rané fázi tvorby hlíz, kdy jsou hlízy náchylné ke strupovitosti. Rostliny bramboru, u nichž bylo v půdě aplikováno 225 nebo 300 kg/ha mikrobiálního přípravku, obsahovaly rhizosférickou mikrobiotu s nižší α -diverzitou a zvýšeným zastoupením taxonů reprezentující prospěšné bakterie.

Z výsledků studie Mohamed et al. (2020) vyplývá, že použití *Trichoderma asperellum* a *Enterobacter cloacae* úspěšně potlačilo *Ralstonia solanacearum*, způsobující vadnutí brambor, in vitro, in vivo i in situ. Způsobilo snížení závažnosti choroby a zvýšilo výnos plodiny na úrovni blízké *T. asperellum*. Hlavní mechanismus účinku bakteriálního kmene byl způsoben produkcí antibakteriální látky a indukci systémové rezistence rostliny bramboru. Úspěšná aplikace bakteriálního kmene v polním rozsahu dvě po sobě jdoucích sezón, vybízí k uplatnění ve velkém měřítku při biologické ochraně rostlin proti chorobám a byl doporučen další výzkum s cílem nalézt vhodnou formulaci a schválit aplikaci nového kmene pro širokou škálu chorob rostlin.

Etebarian et al. (2000) zkoumali vliv izolátů *Trichoderma harzianum* a *Trichoderma virens* na myceliální růst *Phytophthora erythroseptica* způsobující hnilobu brambor. Růst *P.*

erythroseptica byl redukován o 49-71 % při využití *T. virens* a 49-54 % u *T. harzianum*. U kultur *P. erythroseptica* na médiu předem pokrytém *T. virens* nebyl pozorován žádný růst bez ohledu na to, zda byl *T. virens* na médiu inkubován 1 nebo 2 dny. Neočkované kontrolní hlízy a hlízy odrůdy Pontiac očkované samotnou *T. harzianum* nebo *T. virens* zůstaly zdravé. Hlízy odrůdy Pontiac a Russet Burbank se při očkování samotnou bakterií *P. erythroseptica* značně zabarvily, a to jak na povrchu, tak i uvnitř, ale nebyly zjištěny žádné známky bakteriální měkké hniloby. Obecně se choroba na hlízách odrůdy Pontiac jevila závažnější v pokusu, kdy byly hlízy naočkovány izolátem *P. erythroseptica* a následně antagonistou, než v druhém pokusu, kdy byly hlízy naočkovány antagonistou a až poté izolátem *P. erythroseptica*.

Ommati & Zaker (2012) se ve své studii zabývali účinek izolátů rodu *Trichoderma* proti vadnutí brambor způsobené *Fusarium solani*. Během laboratorních testů vykazovaly *Trichoderma brevicompactum* a *Trichoderma asperellum* nejlepší účinnost při inhibici růstu patogenu v přímém kontaktu a vytvářely závitě kolem mycelia původce, ale nejvyšší inhibiční účinek proti *F. solani* měly těkavé a netěkavé inhibitory *T. longibrachiatum*. Ve skleníkových podmínkách bylo snížení výskytu choroby na nejvyšší úrovni tam, kde se jednalo o *T. longibrachiatum*. Lze tedy tvrdit, že tento izolát by mohl produkovat silné inhibitory a při dalším zkoumání v polních pokusech by mohl vykazovat lepší účinnost vůči chorobě.

Metz & Hausladen (2022) prokázali potenciál *Trichodermy* regulovat *Alternarii solani* v bramborách ve všech třech fázích testování – od laboratoře přes skleník až po pole. Ukázalo se, že výběr jednoho kmene *Trichodermy* může silně ovlivnit výsledek a že kmeny stejného druhu mohou mít různou aplikační účinnost. V pokusech in vitro částečně pozorovali různou míru inhibice růstu v závislosti na testovaném izolátu *A. solani*. To by mohlo být náznakem toho, že některé izoláty *A. solani* jsou již méně citlivé na jeden nebo více mechanismů *Trichodermy* než jiné. Pokud by se podobné trendy projevíly i ve skleníkových pokusech, mohou zjištění pomoci optimalizovat screening neselektivních biologických přípravků. Na základě kontrolní analýzy je přímá přenositelnost z in vitro nebo skleníkových pokusů na polní obtížná a velmi závislá na jednotlivých kmenech *Trichodermy*. Proto jsou polní pokusy nezbytné k získání co nejlepšího srovnání s pozdějšími výsledky na poli. Pro zlepšení účinnosti by bylo důležité získat podrobnější znalosti o způsobu aktivity. Tyto znalosti by pomohly přizpůsobit metody aplikace – ošetření hlíz, půdy nebo listů. Budoucí studie aditiv, například pro zvýšení odolnosti proti dešti, by pravděpodobně pomohly optimalizovat a stabilizovat účinnost na poli. Dalším aspektem budoucího výzkumu by byl vliv odrůdy brambor na úspěšnost ošetření.

V České republice je registrován jediný přípravek působící proti fuzariózám, kořenomorce a sclerotinii, a to Trianum P od společnosti Koppert s účinnou látkou *Trichoderma harzianum* (ÚKZÚZ 2022).

3.6.5 *Isaria fumosorosea*

Popis

Isaria fumosorosea byla více než 30 let známá jako *Paecilomyces fumosoroseus*, ale byla převedena do rodu *Isaria*. Genetická analýza prokázala existenci nejméně

monofelytických skupin *I. fumosorosea*. Vzhledem k vysoké úrovni genetické diverzity a obtížím při přesné identifikaci je třeba na *I. fumosorosea* nahlížet jako na druhový komplex. Tato houba se běžně vyskytuje v půdě, ale byla zaznamenána i na rostlinách, ve vodě a méně často i ve vzduchu na všech kontinentech kromě Antarktidy (Zimmermann 2008). Mezi vnímavé organismy patří nosatci, střevlíkovití, brouci, mšice, molice, merovití, vosy, termiti, třásnokřídílí a široká škála motýlů a mūr (Dunlap et al. 2007). Proto se mu dostalo značné pozornosti jako možnému biologickému prostředku pro několik hospodářsky významných hmyzích škůdců zemědělských plodin (Kim et al. 2010).

Mechanismus účinku

Své hostitele infikuje porušením kutikuly. Enzymy proteáza, chitináza, chitosanáza a lipáza umožňují houbě fyzicky proniknout do hostitele, inhibovat jeho regulační systém a rozptýlit se v hemocoelu. *I. fumosorosea* produkuje beauvericin, sloučeninu, která paralyzuje hostitelské buňky (Hajek & Leger 1994). Vnímavý hmyz vystavený blastosporám a konidiím vykazuje snížený růst a vysokou mortalitu (Dunlap et al. 2007).

Hussein et al. (2016) ve své studii zjistili, že nejvyšší citlivost k *I. fumosorosea* kmene CCM 8367 vykazovaly larvy posledního instaru mandelinky bramborové, následované prepupou a kuklami. Kumulativní mortalita na konci pokusu dosáhla 90 %, 85 % a 77,1 % u larev posledního instaru, prepup a kukel. Analýza přežití odhalila významný vliv vývojového stádia na citlivost k houbě. Všichni uhynulí jedinci vykazovali příznaky infekce *I. fumosorosea* myceliem rostoucím na kadaveru obvykle 4-5 dní po inokulaci.

Přípravky

Komerčně využitelný přípravek by měl mít nízké výrobní náklady, aby mohl výhodně konkurovat konvenčním insekticidům. Přípravek by si měl rovněž zachovat vysokou životaschopnost, virulenci a dlouhou dobu skladovatelnosti. V ideálním případě by látky použité v komerčních formulacích měly také poskytovat určitou ochranu proti vysokým teplotám, nízké vlhkosti a ultrafialovému záření, což jsou hlavní překážky prostředí, které brání usídlení entomopatogenních hub po aplikaci (Vega FE 2017).

Různé kmeny *I. fumosorosea* jsou úspěšně používány při biologické kontrole mnoha druhů škůdců a roztočů. V Americe, Evropě nebo Asii bylo vyvinuto několik komerčně vyráběných mykopesticidů založených buď na samotném *I. fumosorosea*, nebo v kombinaci s jinými entomopatogenními druhy (Zimmermann 2008).

V Evropě je registrován přípravek PreFeRal, který se smí používat v Belgii, Nizozemsku, Francii, Švédsku a Finsku. Tento přípravek poskytuje vynikající ochranu proti molicím na rajčatech, okurkách a okrasných rostlinách. Obsahuje spory *I. fumosorosea* kmene Apopka 97 a je vysoce účinný proti všem stádiím molic (vajíčka, larvy, kukly a dospělci) (Biobest 2022).

4 Závěr

V ekologickém zemědělství nelze použít stejné přípravky na ochranu rostlin, jako je tomu u zemědělství konvenčního. V ekologickém zemědělství je důležitá prevence, do které spadají osevní postupy, výběr odrůd a především agrotechnika. Pokud i přesto k rozvoji chorob a škůdců dojde, lze použít biologické přípravky, nebo přípravky, které jsou povoleny v ekologickém režimu hospodaření.

V poslední době dochází k rozvoji biologických přípravků na bázi bakterií a hub. Velkou výhodou je absence reziduí a minimální účinek na životní prostředí a necílové organismy. Nevýhodou je vliv prostředí na účinek těchto přípravků a složitá registrace, kdy v některých státech jsou některé přípravky povoleny, zatímco v jiných je tomu naopak. Z hlediska budoucnosti má tento způsob ochrany rostlin velký potenciál.

Jako perspektivní se jeví využitelnost bakterií a hub při regulaci škůdců u brambor. Podrobně byly charakterizovány a naznačeny účinky bakterie *Bacillus thuringiensis*, *Chromobacterium subtsugae*, *Saccharopolyspora spinosa* a houby *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Tolypocladium niveum*, rod *Trichoderma* a *Isaria fumosorosea*.

Tato bakalářská práce a použitá literatura mohou být použity pro další výzkum v této oblasti.

5 Literatura

- Ahmad M, Arif MI. 2009. Resistance of Pakistani field population of spotted bollworm *Earias vittela* (Lepidoptera: Noctuidae) to pyrethroid, organophosphorus and new chemical insecticides. *Pest Management Science*. **65**: 433-439.
- Alcantara EP. 2012. Post commercialization monitoring of the long-term impact of Bt corn on non-target arthropod communities in commercial farms and adjacent riparian areas in the Philippines. *Environmental Entomology*. **41**: 1268-1276.
- Alford DV. 2013. Ravageurs des végétaux d'ornement. Arbres, arbustes et fleurs. Éditions Quae. Paris.
- Alyokhin A. 2009. Colorado potato beetle management on potatoes: current challenges and future prospects. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*. **1**: 10-19.
- Arora RK, Sharma S, Singh BP. 2014. Late blight disease of potato and its management. *Potato Journal*. **41**: 16-40.
- Arpaia S, Ricchiuto B. 1993. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxin extracts on feeding behaviour and development of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae. *Environmental Entomology*. **22**: 334-338.
- Bandani AR, Khambay B, Nicklin JN, Newton RP, Deadman M, Butt TM. 2000. Production of efrapeptins by *Tolypocladium* species and evaluation of their insecticidal and antimicrobial properties. *Mycological Research*. **104**: 537-544.
- Banville GJ. 1978. Studies on the Rhizoctonia disease of potatoes. *American Potato Journal*. **55**: 56.
- Banville GJ. 1989. Yield losses and damage to potato plants caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. *American Potato Journal*. **66**: 821-834.
- Bassi A. 1835. Del mal del segno, calcinaccio o moscardino: malattia che affligge i bachi da seta. Lodi: Dalla tipografia Orcesi. Itálie.
- Baum JA, Sukuru UR, Penn SR, Meyer SE, Subbarao S, Shi X, Flasinski S, Heck GR, Brown RS, Clark TL. Cotton plants expressing a hemipteran-active *Bacillus thuringiensis* crystal protein impact the development and survival of *Lygus Hesperus* (Hemiptera: Miridae) nymphs. *Journal of Economic Entomology*. **105**: 616-624.
- Bechtel DB, Bulla LA. 1982. Ultrastructural analysis of membrane development during *Bacillus thuringiensis* sporulation. *Journal of Ultrastructure Research*. **79**: 121-132.
- Becker N. 1997. Microbial control of mosquitoes: management of the upper Rhine mosquito population as model programme. *Parasitology Today*. **13**: 485-487.
- Benhamou N, Chet I. 1997. Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Biobest. 2022. Preferal WG. Biobest Group NV. Belgie. Available from <https://www.biobestgroup.com/en/biobest/products/biological-pest-control-4463/biopesticides-4482/preferal-wg-4621/>. Accessed April 2022.

- Bisett J. 1983. Notes on *Tolypocladium* and related genera. Canadian Journal of Botany. **61**: 1311-1329.
- Bishop AH, Johnson C, Perani M. 1999. The safety of *Bacillus thuringiensis* to mammals investigated by oral and subcutaneous dosage. World Journal of Microbiology and Biotechnology. **15**: 375-380.
- Blaser M, Keiser A, Keller S. 2004. Insekten tötender Bodenpilz in Schweizer Kartoffelfelder. Agrarforschung. **11**: 92-97.
- Bleša D. 2019. Úvod do problematiky biologické ochrany rostlin. Obilnářské listy. **27**: 10-13.
- Bond JG, Marina CF, Williams T. 2004. The naturally derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes* and *Anopheles* mosquito larvae. Medical and Veterinary Entomology. **18**: 50-56.
- Bonfante P, Anca IA. 2009. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. Annual Review of Microbiology. **63**: 363-383.
- Bulla LA, Bechtel DB, Kramer KJ, Shethna YI. 1980. Ultrastructure, physiology, and biochemistry of *Bacillus thuringiensis*. Critical Reviews in Microbiology. **8**: 147-204.
- Bullough DA, Jackson CG, Henderson JF, Beechey RB, Linnett PE. 1982. The isolation and purification of the elvapeptins: a family of peptide inhibitors of mitochondrial ATPase activity. FEBS Letters. **145**: 258-262.
- Burkeness EC, Dively G, Patton T, Morey AC, Hutchinson WD. 2010. Novel Vip3A *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize approaches high-dose efficacy against *Helicoverpa Zea* (Lepidoptera: Noctuidae) under field conditions: implications for resistance management. GM Crops. **1**: 337-343.
- Castilhos-Fortes R, Matsumura ATS, Diehl E, Fiuza LMM. 2002. Susceptibility of *Nasutitermes ehrhardti* (Isoptera: Termitidae) to *Bacillus thuringiensis* subspecies. Brazilian Journal of Microbiology. **33**: 219-222.
- Cavados CFG, Fonseca RN, Chaves JQ, Rabinovitch L, Araújo-Coutinho CJPC. 2001. Identification of Entomopathogenic Bacillus Isolated from *Simulium* (Diptera, Simuliidae) Larvae and Adults. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. **96**: 1017-1021.
- Cloyd RA. 2009. Western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) management on ornamental crops grown in greenhouses: have we reached an impasse? OFA Bulletin. **918**: 24-29.
- Cook RJ. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology. **31**: 53-80.
- Crickmore N, Bone EJ, Williams JA, Ellar DJ. 1995. Contribution of the individual components of the δ -endotoxin crystal to the mosquitocidal activity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. FEMS Microbiology Letters. **131**: 249-254.
- Chakroun M, Banyuls N, Bel Y, Escriche B, Ferré J. 2016. Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from Entomopathogenic bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews. **80**: 329-350.

- ČMŠSA – Šlechtitelská komise – Skupina českých šlechtitelů brambor. 2019. České odrůdy konzumních brambor. Poradenský svaz „Bramborářský kroužek“, z.s. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.
- De Barjac H, Sutherland DJ. 1990. Bacterial control of mosquitoes & black flies. Springer. Dordrecht.
- De Maagd RA, Bravo A, Crickmore N. 2001. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. Trends in Genetics. **17**: 193-199.
- Dirlbeková O, Nesrsta M, Dirlbek J, Jedlička M. 1991. Biologické zdroje pro nechemickou ochranu rostlin (I. *Deuteromycetes*, *Beauveria bassiana* [Bals.] Vuill.). Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství. Praha.
- Dreyfuss M, Härrí E, Hofmann H, Kobel H, Pache W, Tscherter H. 1976. Cyclosporin A and C. European journal of applied microbiology and biotechnology. **3**: 125-133.
- Etebraian HR, Scott ES, Wicks TJ. 2000. *Trichoderma harzianum* T39 and *T. virens* DAR 74290 as potential biological control agent for *Phytophthora erythroseptica*. European Journal of Plant Pathology. **106**: 329-337.
- Dementiev A, Booard J, Sitatam A, Hey T, Kelker MS, Xu X, Hu Y, Vidal-Quist C, Chikwana V, Griffin S, McCaskill D, Wang NX, Hung SC, Chan MK, Lee MM, Hughes J, Wegener A, Aroian RV, Narva KE, Berry C. 2016. The pesticidal Cry64a toxin from *Bacillus thuringiensis* is structurally similar to HlyE-family alpha pore-forming toxins. BMC Biology. **14**: 71.
- Dulmage HT. 1981. Insecticidal activity of isolated of *Bacillus thuringiensis* and their potential for pest control. Microbial control of pests and plant diseases. **1981**: 193-222.
- Dunlap CA, Jackson MA, Wright MS. 2007. A foam formulation of *Paecilomyces fumosoroseus*, an entomopathogenic biocontrol agent. Biocontrol Science and Technology. **17**: 513-523.
- Dvorský J, Urban J. 2014. Základy ekologického zemědělství podle nařízení Rady (ES) č. 837/2007 a nařízení Komise (ES) č. 889/2008 s příklady. ÚKZÚZ. Brno.
- Entwistle PF, Cory JS, Bailey MJ, Higgs S. 1993. *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice. Wiley. West Sussex.
- Environmental Protection Agency. 1998. FIFRA scientific advisory panel, subpanel on *Bacillus thuringiensis* (Bt) plant pesticides and resistance management. EPA. Washington, DC.
- Feitelson J, Payne J, Kim L. 1992. *Bacillus thuringiensis*: Insects and beyond. Bio/Technology. **10**: 271-275.
- Ferro DN, Gelernter WD. 1989. Toxicity of a new strain of *Bacillus thuringiensis* to Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology. **82**: 750-755.
- Ferro DN, Slocombe C, Mercier CT. 1997. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): residual mortality and artificial weathering of formulated *Bacillus thuringiensis* subsp. tenebrionis. Journal of Economic Entomology. **90**: 574-582.

- Ferro DN, Yuan QC, Slocombe A, Tuttle AF. 1993. Residual activity of insecticides under field conditions for controlling the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*. **86**: 511-516.
- Ferry N, Mulligan EA, Majerus MEN, Gatehouse AMR. 2007. Biotrophic and tritrophic effects of Bt Cry3A transgenic potato on beneficial, non-target, beetles. *Transgenic Research*. **16**: 795-812.
- Fiuza LM. 2009. Mecanismo de ação de *Bacillus thuringiensis*. *Biotecnologia, Ciência e desenvolvimento*. **38**: 32-35.
- Fiuza LM, Polanczyk RA, Crickmore N. 2017. *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus* characterization and use in the field of biocontrol. Springer Nature. Švýcarsko.
- Freimoser FM, Screen S, Bagga S, Hu G, St Leger RJ. 2003. Expressed sequence tag (EST) analysis of two subspecies of *Metarhizium anisopliae* reveals a plethora of secreted proteins with potential activity in insect hosts. *Microbiology*. **149**: 239-247.
- Fryč D, Rychlý S. 2014. Mšice: Malý atlas do ruky, 1. díl. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Olomouc.
- Galaini S. 1984. The efficacy of foliar applications of *Beauveria bassiana* conidia against *Leptinotarsa decemlineata*. Cornell University. Ithaca.
- Garbaye J. 1994. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*. **128**: 197-210.
- Garrity G. 2005. Bergey's manual of systematic bacteriology, volume 2. Springer. New York.
- Geng C, Watson GB, Sparks TC. 2013. Nicotinic acetylcholine receptors as spinosyn targets for insect pest management. *Advances in Insect Physiology*. **44**: 101-210.
- Ghassemi-Kahrizeh A, Aramideh S. 2014. Sub-lethal effects of *Bacillus thuringiensis* Berliner on larvae of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. **48**: 259-267.
- Ghassemi-Kahrizeh A, Safaralizadeh MH, Pourmirza AA. 2004. The effect of *Bacillus Thuringiensis* subsp. *kurstaki* on Colorado potato beetle larvae *Leptinotarsa Decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) and role of henna as a synergist in increasing of its efficiency. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*. **11**: 91-99.
- Glare TR, O'Callaghan M. 2000. *Bacillus thuringiensis* biology, ecology and safety. John Wiley & Sons.
- Goldberg L, Margalit J. 1997. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Mosquito News*. **37**: 355-358.
- Gómez I, Sánchez J, Miranda R, Bravo A, Soberón M. 2002. Cadherin-like receptor binding facilitates proteolytic cleavage of helix α -1 in domain I and oligomer pre-pore formation of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. *FEBS Letters*. **513**: 242-246.
- Gould F. 1998. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *Annual Review of Entomology*. **43**: 701-726.

- Grove M, Kimble W, McCarthy WJ. 2001. Effects of individual *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins on adult *Heliothis virescens* (F.) and *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *BioControl*. **46**: 321-335.
- Gupta SK, Krasnoff S, Roberts D, Renwick J, Brinen L, Clardy J. 1992. Structure of efrapeptins from the fungus *Tolypocladium niveum*: peptide inhibitors of mitochondrial ATPase. *Journal of Organic Chemistry*. **57**: 2306-2313.
- Haas D, D'Éfago G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonas. *Nature Reviews Microbiology*. **3**: 307-319.
- Hajek AE, Leger RJ. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*. **39**: 293-322.
- Han P, Velasco-Hermández MC, Ramirez-Romero R, Desneux N. 2016. Behavioral effects of insect-resistant genetically modified crops on phytophagous and beneficial arthropods: a review. *Journal of Pest Science*. **89**: 859-883.
- Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M. 2004. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. **2**: 43-56.
- Hausvater E, Doležal P. 2014. Metodika integrované ochrany brambor proti mandelince bramborové (*Leptinotarsa decemlineata*). Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o. Poradenský svaz „Bramborářský kroužek“, z.s.
- Hausvater E, Doležal P. 2019. Drátovci a osenice u brambor. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o. Poradenský svaz „Bramborářský kroužek“, z.s.
- Hausvater E, Doležal P, Baštová P. 2014. Mšice – přenašeči virových chorob brambor a ochrana proti nim. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.
- Head GP, Greenplate J. 2012. The design and implementation of insect resistance management programs for Bt crops. *GM Crops & Food*. **3**: 144-153.
- Hermosa R, Viterbo A, Chet I, Monte E. 2012. Plant – beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*. **158**: 17-25.
- Hertlein MB, Thompson GD, Subramanyam B, Athanassiou CG. 2011. Spinosad: A new natural product for stored grain protection. *Journal of Stored Products Research*. **47**: 131-146.
- Heydari A, Pessarakli M. 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *Journal of Biological Sciences*. **10**: 273-290.
- Hodge HT, Krasnoff SB, Humber RA. 1996. *Tolypocladium infaltum* is the anamorph of *Cordyceps subsessilis*. *Mycologia*. **88**: 715-719.
- Höfte H, De Greve H, Seurink J, Jansens S, Mahillon J, Ampe C, Vanderkerckhove J, Vanderbruggen H, Vanmontagu M, Zabeau M, Vaeck M. 1986. Structural and functional analysis of a cloned delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* berliner 1712. *European Journal of Biochemistry*. **161**: 273-280.
- Höfte H, Whiteley HR. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*. **53**: 242-255.
- Hough-Goldstein J, Tisler AM, Zehnder W, Uyeda KA. 1991. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) consumption of foliage treated with *Bacillus thuringiensis*

- var. san diego and various feeding stimulants. *Journal of Economic Entomology*. **84**: 87-93.
- Hrudová E. 2015. *Ochrana rostlin v ekologickém zemědělství*. Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta. Brno.
- Hsu JC, Feng HT. 2006. Development of resistance to spinosad in oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in laboratory selection and cross-resistance. *Journal of Economic Entomology*. **99**: 931-936.
- Hsu JC, Feng HT, Wu WJ, Geib SM, Mao C, Vontas J. 2012. Truncated transcripts of nicotinic acetylcholine subunit gene *Bdα6* are associated with spinosad resistance in *Bactrocera dorsalis*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. **42**: 806-815.
- Huang K, Xia L, Zhang Y, Ding X, Zahn JA. 2009. Recent advances in the biochemistry of spinosys. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **82**: 13-23.
- Hussein HM, Habuštová OS, Půža V, Zemek R. 2016. Laboratory evaluation of *Isaria fumosorosea* CCM 8367 and *Steinernema feltiae* Ustinov against immature stages of the Colorado potato beetle. *PLoS ONE*. **11**: e0152399.
- Ibrahim MA, Griko N, Junker M, Bulla LA. 2010. *Bacillus thuringiensis*: a genomics and proteomics perspective. *Bioengineered Bugs*. **1**: 31-50.
- Irtwange SV. 2006. Application of biological control agents in pre- and postharvest operations. International Commission of Agricultural Engineering. Nigeria.
- Jackson CG, Linnett PE, Beechey RB, Henderson PJ. 1979. Purification and preliminary structural analysis of the efrapeptins, a group of antibiotics that inhibit the mitochondria1 adenosine triphosphatase. *Biochemical Society Transactions*. **7**: 224-226.
- Jacques RL. 2000. Featured creatures. University of Florida. Available from https://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/leaf/potato_beetles.htm. Accessed March 2022.
- Jeger MJ, Hide GA, Van Den Boogert PHJF, Termorshuizen AJ, Van Baarlen P. 1996. Pathology and control of soil-borne fungal pathogens of potato. *Potato Research*. **39**: 437-469.
- Johnson TB, Slaney AC, Donovan WP, Rupar MJ. 1993. Insecticidal activity of EG 4961, a novel strain of *Bacillus thuringiensis* toxic to larvae and adults of southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) and Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*. **86**: 330-333.
- Jucovic M, Walters FS, Warren GW, Palekar NV, Chen JS. 2008. From enzyme to zymogen: engineering Vip2, an ADP-ribosyltransferase from *Bacillus cereus*, for conditional toxicity. *Protein Engineering, Design & Selection*. **21**: 631-638.
- Kakani EG, Zygouridis NE, Tsoumani KT, Seraphides N, Zalom FG, Mathiopoulos KD. 2010. Spinosad resistance development in wild olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) populations in California. *Pest Management Science*. **66**: 447-453.
- Kalinová J. 2007. *Půdní úrodnost, výživa a hnojení rostlin v ekologickém zemědělství*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, zemědělská fakulta. České Budějovice.
- Kim JS, Je YH, Roh JY. 2010. Production of thermotolerant entomopathogenic *Isaria fumosorosea* SFP-198 conidia in corn-corn oil mixture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. **37**: 419-423.

- Kirchner SM, Hiltunen LH, Santala JM, Döring T, Ketola J, Kankaala A, Virtanen E, Valkonen JPT. 2014. Comparison of straw mulch, insecticides, mineral oil, and birch extract for control of transmission of potato virus Y in seed potato crops. *Potato Research*. **57**: 59-75.
- Kirst HA. 2010. The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *The Journal of Antibiotics*. **63**: 101-111.
- Kloepper JW, Leong J, Teintze M, Schroth MN. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*. **286**: 885-886.
- Koivunen M, Chanbusarakum L, Fernández L, Asolkar R, Tan E, Wallner D, Marrone P. 2009. Development of a new microbial insecticide based on *Chromobacterium subtsugae*. *IOBC/WPRS Bulletin*. **45**: 183-186.
- Konvalina P, Moudrý J, Moudrý J, Kalinová J. 2007. Pěstování rostlin v ekologickém zemědělství. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, zemědělská fakulta. České Budějovice.
- Koubová D. 2009. Využití hub v biologické ochraně rostlin proti škůdcům. ÚZEI. Praha.
- Krasnoff SB, Gupta S. 1992. Efraeptin production by *Tylopocladium* fungi (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Intra- and interspecific variation. *Journal of Chemical Ecology*. **8**: 1727-1741.
- Krasnoff SB, Gupta S, Leger RJ, Renwick JAA, Roberts DW. 1991. Antifungal and insecticidal properties of the efraeptins: Metabolites of the fungus *Tylopocladium niveum*. *Journal of Invertebrate Pathology*. **58**: 180-188.
- Krassiltschik IM. 1888. La production industrielle des parasites vegetaux pour la destruction des insectes nuisibles. *Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*. **19**: 461-472.
- Kuhr RJ, Motoyama N. 1998. Pesticides and the future: Minimizing chronic exposure of humans and the environment. IOS Press. USA.
- Lacey LA, Grzywacz D, Shapiro-Ilan DI, Frutos R, Brownbridge M, Goettel MS. 2015. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology*. **132**: 1-41.
- Landa Z. 1998. Biopreparáty na bázi entomopatogenních hub. *AGRO-ochrana rostlin*. **10**: 7-12.
- Landa Z, Křenová Z, Vojtěch O. 2007. Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému. *Lesnická práce*. **86**: 14-15.
- Lee Mk, Walters FS, Hart H, Palekar N, Chen JS. 2003. The mode of action of the *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A differs from that of Cry1Ab delta-endotoxin. *Applied and Environmental Microbiology*. **69**: 4648-4657.
- Lorito M, Woo SL, Harman GE, Monte E. 2010. Translation research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. *Annual Review of Phytopathology*. **48**: 395-417.
- Lu Y, Wu K, Jiang Y, Guo Y, Desneux N. 2012. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. *Nature*. **487**: 362-365.
- Lugtenberg B, Kamilova F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*. **63**: 541-556.
- Mahon RJ, Downes SJ, James B. 2012. Vip3A resistance alleles exist at high levels in Australian targets before release of cotton expressing this toxin. *PLoS One*. **7**: e39192.

- Malik A, Grohmann E, Alves M. 2013. Management of microbial resources in the environment. Springer. Dordrecht.
- Martin PAW, Rindal DG, Blackburn M, Buyer J. 2007. *Chromobacterium subtsugae* sp. nov., a betaproteobacterium toxic to Colorado potato beetle and other insect pests. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. **57**: 993-999.
- Martin PAW, Schroeder RFW, Poprawski TJ, Lipa JJ, Sosnowska D, Hausvater E, Rasocha V. 1999. Vliv vysokých teplot na citlivost mandelinky bramborové (Coleoptera: Chrysomelidae) k *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin v Polsku, Českém republice a v USA. Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. **13**: 69-77.
- Masson L, Schwab G, Mazza A, Brousseau R, Potvin L, Schwartz JLA. 2004. Novel *Bacillus thuringiensis* (PS149B1) containing a Cry34Ab1/Cry35Ab1 binary toxin specific for the western corn rootworm *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte forms ion channels in lipid membranes. Biochemistry. **43**: 12349-12357.
- Mehta CM, Palni U, Franke-Whittle IH, Sharma AK. 2014. Compost: its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. Waste Management. **34**: 607-622.
- Mendelova univerzita. 2022. Škůdci brambor a řepy. Mendelova univerzita v Brně. Brno. Available from https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=2990&typ=html. Accessed April 2022.
- Mertz FP, Yao RC. 1990. *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. **40**: 34-39.
- Metz N, Hausladen H. 2022. *Trichoderma* spp. as potential biological control agent against *Alternaria solani* in potato. Biological Control. **166**: 1-10.
- Millar NS, Denholm I. 2007. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. Invertebrate Neuroscience. **7**: 53-66.
- Ministerstvo zemědělství. 2000. Zákon č. 242/2000 Sb., o ekologickém zemědělství a o změně zákona č. 368/1992 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů. Pages 3499 - 3512 in Sběrka zákonů České republiky, 2000, částka 73. Česká republika.
- Minks AK, Harrewijn. 1987. Aphids: their biology, natural enemies and control, world crop pests, volume 2A. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam.
- Mohamed BFF, Sallam NMA, Alamri SAM, Abo-Elyousr KAM, Mostafa YS, Hashem M. 2020. Approving the biocontrol method of potato wilt caused by *Ralstonia solanacearum* (Smith) using *Enterobacter cloacae* PS14 and *Trichoderma asperellum* T34. Egyptian Journal of Biological Pest Control. **30**: 61.
- Náhlavský P. 2009. Ekologické zemědělství [MSc. Thesis]. Masarykova univerzita, Brno.
- National Research Council. 1986. Pesticide resistance: strategies and tactics for management. National Academic Press. Washington, D.C.
- Nayak MK, Daglish GJ. 2007. Combined treatments of spinosad and chlorpyrifos-methyl for management of resistant psocid pests (Psocoptera: Liposcelididae) of stored grain. Pest Management Science. **63**: 104-109.

- Neves MH, Berry C, Regis L. 2014. *Lysinibacillus sphaericus*: toxins and mode of action, applications for mosquito control and resistance management. *Advances in Insect Physiology*. **47**: 89-176.
- Ohba M, Mizuki E, Uemori A. 2009. Parasporin, a new anticancer protein group from *Bacillus thuringiensis*. *Anticancer Research*. **29**: 427-433.
- Ommati F, Zaker M. 2012. In vitro and greenhouse evaluations of *Trichoderma* isolates for biological control of potato wilt disease (*Fusarium solani*). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. **45**: 1-9.
- Orr N, Shaffner AJ, Richey K, Crouse GD. 2009. Novel mode of action of spinosad: Receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **95**: 1-5.
- Osorio A, Martínez AM, Schneider MI, Díaz O, Corrales JL, Avilés MC, Smaghe G, Pineda S. 2008. Monitoring of beet armyworm resistance to spinosad and methoxyfenozide in Mexico. *Pest Management Science*. **64**: 1001-1007.
- Pan Y, Yang X, Li J, Zhang R, Hu Y, Zhou Y, Wang J, Zhu B. 2011. Genome sequence of the Spinosyns-producing bacterium *Saccharopolyspora spinosa* NRRL 18395. *Journal of Bacteriology*. **193**: 3150-3151
- Pardo-López L, Soberón M, Bravo A. 2013. *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. *FEMS Microbiology Reviews*. **37**: 3-22.
- Perry T, McKenzie JA, Batterham P. 2007. A Da6 knockout strain of *Drosophila melanogaster* confers a high level of resistance to spinosad. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. **37**: 184-188.
- Pimentel D, Acquay H, Biltonen M, Rice P, Silva M, Nelson J, Lipner V, Giordano A, Horowitz A, D'Amore M. 1992. Environmental and economic costs of pesticide use. Oxford University Press.
- Pinto LMN, Berlitz DL, Raquel CF, Fiuza Lm. 2009. Toxinas de *Bacillus thuringiensis*. *Biotecnologia, Ciência e desenvolvimento*. **38**: 24-31.
- Polanczyk RA, Alves SB. 2005. Biological parameters of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (*Lepidoptera*: Noctuidae) assayed with *Bacillus thuringiensis* berliner. *Scientia Agricola*. **62**: 464-468.
- Pozo MJ, Van Loon LC, Pieterse C. 2004. Jasmonates – signals on plant-microbe interactions. *Journal of Plant Growth Regulation*. **23**: 211-222.
- Prasifka PL, Rule DM, Storer NP, Nolting SP, Hendrix WH. 2013. Evaluation of corn hybrids expressing Cry34Ab1/Cry35Ab1 and Cry3BbL against the western corn rootworm (*Coleoptera*: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*. **106**: 823-829.
- Qaim M, Zilberman D. 2003. Yield effects of genetically modified crops in developing countries. *Science*. **299**: 900-902.
- Rabinovich L, Cavados CFG, Lima MM. 1998. *Bacillus* entomopatogênicos. Dos *Bacillus* entomopatogênicos: o que se espera? *Ciência e desenvolvimento*. **6**: 40-41.

- Rabinovich L, Del Mastro NL, Silva CMB, Santos BS, Resende MC, Vivoni AM, Alves RSA. 2014. Selective inactivation of spore maintaining larvicidal activity in *Bt* serovar *israelensis* irradiated with gamma rays. *Neotropical Biology and Conservation*. **9**: 120-124.
- Radman R, Saez T, Bucke C, Keshavarz. 2003. Elicitation of plants and microbial cell systems. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. **37**: 91-102.
- Rasocha V. 2005. Ochrana brambor proti mandelince bramborové. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. Havlíčkův brod.
- Reháček Z. 1995. The cyclosporins. *Folia Microbiologica*. **40**: 68-88.
- Resende DC, Mendes SM, Marucci RC, Silva AC, Campanha MM. 2016. Does Bt maize cultivation effect the non-target insect community in the agro-ecosystem. *Biological Control and Crop Protection*. **60**: 82-93.
- Ribier J, Lecadet MM. 1973. Electron microscope and kinetic studies of sporulation in *Bacillus thuringiensis* var. Berliner 1715. Observations concerning the production of parasporal inclusion. *Annales de Microbiologie*. **124**: 311-344.
- Robatzek S, Saijo Y. 2008. Plant immunity from A to Z. *Genome Biology*. **9**: 304.
- Roberts DW, St Leger RJ. 2004. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. *Advances in Applied Microbiology*. **54**: 1-70.
- Rod J. 2001. Mandelinka bramborová v Polsku. *Rostlinolékař*. **2**: 15.
- Rose R, Dively GP. 2007. Effects of insecticide-treated and Lepidoptera-Active Bt transgenic sweet corn on the abundance and diversity of arthropods. *Environmental Entomology*. **36**: 1254-1268.
- Rostlinolékařský portal. 2022a. Mandelinka bramborová. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%222eb5788ffd084b2d28065f0ae314042c%22#r|p|so|skudci|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c263e14. Accessed March 2022.
- Rostlinolékařský portal. 2022b. Hádátka bramborové. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%222eb5788ffd084b2d28065f0ae314042c%22#r|p|so|skudci|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c8c3505. Accessed March 2022.
- Rostlinolékařský portál. 2022c. Dřepčící rodu Epitrix. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key%0b=%222eb5788ffd084b2d28065f0ae314042c%22#r|p|so|skudci|detail:076ce40c437581befd8e2e2c82ed588b. Accessed April 2022.
- Rostlinolékařský portál. 2022d. Larvy kovařikovitých. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key%0b=%222eb5788ffd084b2d28065f0ae314042c%22#r|p|so|skudci|detail:2eb5788ffd084b2d28065f0ae3042b4b. Accessed April 2022.
- Rostlinolékařský portál. 2022e. Mšice broskvoňová. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%222eb5788ffd084b2d28065f0ae314042c%22#r|p|so|skudci|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c2c8c33. Accessed April 2022.

- Rostlinolékařský portál. 2022f. Mšice chmelová. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key%0b=%222eb5788ffd084b2d28065f0ae314042c%22#r|p|so|skudci|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c56d2ac. Accessed April 2022.
- Roush RT. 1994. Managing pests and their resistance to *Bacillus thuringiensis*: can transgenic crops be better than sprays? *Biocontrol Science and Technology*. **4**: 501-516.
- Roush RT. 1998. Two-toxin strategies for management of insecticidal transgenic crops: can pyramiding succeed where pesticide mixtures have not? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. **353**: 1777-1786.
- Rove RC. 1993. *Potato health management*. APS Press. Minnesota.
- Růžička T. 2011. *Dřepčící rodu Epitrix*. Ministerstvo zemědělství ČR, Státní rostlinolékařská správa. Praha.
- Salas ML, Mounier J, Valence F, Coton M, Thierry A, Coton E. 2017. Antifungal microbial agents for food biopreservation – a review. *Microorganisms*. **5**: 37.
- Salazar-Marroquin EL, Galan-Wonga LJ, Moreno-Medin VR, Reyes-Lopez Ma, Pereyra-Alfereza B. 2016. Bacteriocins synthesized by *Bacillus thuringiensis*: generalities and potential applications. *Reviews in Medical Microbiology*. **27**: 95-101.
- Salgado VL. 1998. Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **60**: 91-102.
- Salgado VL, Sheets JJ, Watson GB, Schmidt AL. 1998. Studies on the mode of action of spinosad: the internal effective concentration and the concentration dependence of neural excitation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **60**: 103-110.
- Samson RA, Soares GG. 1984. Entomopathogenic species of the *Hyphomycete* genus *Tolyocladium*. *Journal of Invertebrate Pathology*. **43**: 133-139.
- Santos Junior HJG, Marques EJ, Polanczyk RA, Pratisoli D, Rondelli VM. 2009. Suscetibilidade de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep., Noctuidae) a *Bacillus Thuringiensis* Berliner (Bacillaceae). *Arquivos do Instituto Biologico*. **76**: 625-631.
- Schoenly KG, Barrion A. 2016. Designing standardized and optimized surveys to assess invertebrate biodiversity in tropical irrigated rice by using structured inventory and species richness models. *Environmental Entomology*. **45**: 446-464.
- Sebesta K, Farkas J, Horska K. 1981. Thuringiensin, the beta-exotoxin of *Bacillus thuringiensis*. *Microbial Control of Pests and Plant Diseases*. **8**: 249-281.
- Sedaratian A, Fathipour Y, Talaei-Hassanloui R, Jurat-Fuentes JL. 2012. Fitness costs of sublethal exposure to *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera*: a carryover study on offspring. *Journal of Applied Entomology*. **137**: 540-549.
- Schnepf E, Crickmore N, Van Rie J, Baum J, Feitelson J, Zeigler DR, Dean DH. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticide crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **62**: 775-806.
- Schoonbeek H, Jacquat-Bovet AC, Mascher F, Métraux JP. 2007. Oxalate-Degrading Bacteria Can Protect *Arabidopsis thaliana* and Crop Plants Against *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. **20**: 1535-1544.

- Scott JG. 1999. Toxicity of spinosad to susceptible and resistant strains of house flies, *Musca domestica*. Pesticide Science. **54**: 131-133.
- Scott JG, Alefantis TG, Kaufman PE, Rutz DA. 2000. Insecticide resistance in house flies from caged-layer poultry facilities. Pest Management Science. **56**: 147-153.
- Shahraki M, Heydari A, Hasanzadeh N. 2009. Investigation of antibiotic, siderophore and volatile metabolite production by bacterial antagonists against *Rhizoctonia solani*. Journal of Biology. **22**: 71-84.
- Shoresh M, Harman GE. 2008. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzanium* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. Plant Physiology. **147**: 2147-2163.
- Siegel JP. 2001. The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. Journal of Invertebrate Pathology. **77**: 13-21.
- Silva-Opps M. 2013. Current progress in biological research. Intech Open. London.
- Soberón M, Lopez-Díaz JA, Bravo A. 2013. Cyt toxins produced by *Bacillus thuringiensis*: a protein fold conserved in several pathogenic microorganisms. Peptide. **41**: 87-93.
- Sparks TC, Thompson GD, Kirst HA, Hertlein MB, Larson LL, Worden TV, Thibault ST. 1998. Biological Activity of the Spinosys, New Fermentation Derived Insect Control Agents, on Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae. Journal of Economic Entomology. **91**: 1277-1283.
- Stark JD, Banks JE. 2003. Population-level effect of pesticides and other toxicants on arthropods. Annual Review of Entomology. **48**: 505-519.
- Stephan D, Schmitt A, Carvalho SM, Seddon B, Koch E. 2005. Evaluation of biocontrol preparations and plant extracts for the control of *Phytophthora infestans* on potato leaves. European Journal of Plant Pathology. **112**: 235-246.
- Stevenson WR, Loria R, Franc GD, Weingartner DP. 2001. Compendium of potato diseases. APS Press. Edinburgh.
- Sumerford D, Head GP, Shelton A, Greenplate J, Moar W. 2013. Field-evolved resistance: assessing the problem and ways to move forward. Journal of Economic Entomology. **106**: 1525-1534.
- Tabashnik BE, Brévault T, Carriere Y. 2013. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. Nature Biotechnology. **31**: 510-521.
- Tabashnik BE, Gassmann AJ, Crowder DW, Carriere Y. 2008. Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. Nature Biotechnology. **26**: 199-202.
- Tabashnik BE, Van Rensburg JBJ, Carriere Y. 2009. Field-evolved insect resistance to Bt crops: definition, theory, and data. Journal of Economic Entomology. **102**: 2011-2025.
- Tanada Y, Kaya HK. 1993. Insect Pathology. Academic Press, Inc. San Diego.
- Tayabali AF, Seligy VL. 2000. Human cell exposure assays of *Bacillus thuringiensis* commercial insecticides: production of *Bacillus cereus*-like cytolytic effects from outgrowth of spores. Environmental Health Perspective. **108**: 919-930.
- Thompson GD, Dutton R, Sparks TC. 2000. Spinosad – a case study: an example from a natural products discovery programme. Pest Management Science. **56**: 696-702.

- Thompson GD, Harris BJ, Lanteigne LJ, Buscarini TM, Chartrand DT. 2002. Fate of spinosad in litter and soils of a mixed conifer stand in the Acadian Forest region of New Brunswick. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**: 790-795.
- Tomilova OG, Kryukov VY, Duisembekov BA, Yaroslavtseva ON, Tyurin MV, Kryukova NA, Skorokhod V, Dubovskiy IM, Glupov VV. 2016. Immune-physiological aspects of synergy between avermectins and the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* in Colorado potato beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*. **140**: 8-15.
- Trifonova ZT. 2010. Studies on the efficacy of some bacteria and fungi for control of *Globodera restochiensis*. *Journal of Agricultural Sciences*. **55**: 129-143.
- Tsantrizos YS, Pischos S, Sauriol F. 1996. Structural assignment of the peptide antibiotic LP237-F8, a metabolite of *Tolypocladium geodes*. *Journal of Organic Chemistry*. **61**: 2118-2121.
- Tsrer L. 2010. Biology, epidemiology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. *Journal of Phytopathology*. **158**: 649-658.
- Tsrer L, Aharon A, Erlich O. 1999. Survey of bacteria and fungal seedborne diseases in imported and domestic potato seed tubers. *Phytoparasitica*. **27**: 215-226.
- Urban J, Šarapatka P., 2006. *Ekologické zemědělství v praxi* 1. vydání. Pro-Bio, Svaz ekologických zemědělců. Praha.
- Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. 2022. Registr přípravků na ochranu rostlin. Ministerstvo zemědělství. Available from <https://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/>. Accessed March 2022.
- Valicente FH, Tuelher ES, Leite MIS, Freire FL. 2010. Production of *Bacillus thuringiensis* biopesticide using commercial lab medium and agricultural by-products as nutrient sources. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. **9**: 1-11.
- van Loon LC. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology*. **119**: 243-254.
- Vargas WA, Crutcher FK, Kenerley CM. 2011. Functional characterization of a plant-like sucrose transporter from the beneficial fungus *Trichoderma virens*. Regulation of the symbiotic association with plants by sucrose metabolism inside the fungal cells. *The New Phytologist*. **189**: 777-789.
- Vargas WA, Mandawe JC, Kenerley CM. 2009. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plants. *Plant Physiology*. **151**: 792-808.
- Vega FE. 2017. The entomopathogen *Paecilomyces fumosoroseus*. Peoria. Internet Archive The Wayback Machine. Available from <https://web.archive.org/web/20170510052944/http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf403.html>. Accessed April 2022.
- Verma M, Brar SK, Tyagi RD, Surampalli RY, Valéro JR. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*. **37**: 1-20.
- Vokál B, Čepl J, Čížek M, Domkářová J, Hausvater E, Rasoča V, Diviš J, Hamouz K. 2004. *Technologie pěstování brambor: (rozhodovací systémy pro optimalizaci pěstitelských technologií u jednotlivých užitkových směrů brambor)*. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha.

- Wang Z, Li Y, Zhuang L, Yu Y, Liu J, Zhang L, Gao Z, Wu Y, Gao W, Ding G, Wang Q. 2019. A rhizosphere-derived consortium of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzanium* suppress common scab of potato and increases yield. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. **17**: 645-653.
- Watson GB. 2001. Actions of Insecticidal Spinosyns on γ -Aminobutyric Acid Responses from Small-Diameter Cockroach Neurons. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **71**: 20-28.
- Watson GB, Chouinard SW, Cook KR, Geng C, Gifford JM, Gustafson GD, Hasler JM, Larrinua IM, Letherer TJ, Mitchell JC, Pak WL, Salgado VL, Sparks TC, Stilwell GE. 2010. A spinosyn-sensitive *Drosophila melanogaster* nicotinic acetylcholine receptor identified through chemically induced target site resistance, resistance gene identification, and heterologous expression. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. **40**: 376-384.
- Weintraub PG, Arazi Y, Horowitz AR. 1996. Management of insect pests in celery and potato crops by pneumatic removal. *Crop Protection*. **15**: 763-769.
- Weiser J. 1966. *Nemoci hmyzu*. Academia. Praha.
- Weiser J, Matha V. 1988. Tolylin, a new insecticidal metabolite of fungi of the genus *Tolypocladium*. *Journal of Invertebrate Pathology*. **51**: 94-96.
- West SD. 1997. Determination of the naturally derived insect control agent spinosad and its metabolites in soil, sediment, and water by HPCL with UV detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **45**: 3107-3113.
- Whalon ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM. 2008. *Global pesticide resistance in arthropods*. CAB International. Cambridge.
- Wierenga JM, Norris DL, Whalon ME. 1996. Stage-specific mortality of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) feeding on transgenic potato. *Journal of Economic Entomology*. **89**: 1047-1052.
- Wirth MC, Park HW, Walton WE, Federici BA. 2005. Cyt of *Bacillus thuringiensis* delays evolution of resistance to Cry11A in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Applied and Environmental Microbiology*. **71**: 185-189.
- Wraight SP, Ramos ME. 2002. Application parameters affecting field efficiency of *Beauveria bassiana* foliar treatments against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Biological control*. **23**: 164-178.
- Yang B, Ouyang F, Parajulee M, Ge F. 2015. Crop dominance exerts specific effects on foliage-dwelling arthropods in *Bacillus thuringiensis* cotton. *Agricultural and Forest Entomology*. **17**: 225-238.
- Zahner V, Cabral DA, Régua-Mangia AH, Rabinovitch L, Moreau G, McIntosh D. 2005. Distribution of genes encoding putative virulence factors and fragment length polymorphisms in the *vrA* gene among Brazilian isolates of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*. **71**: 8107-8114.
- Zehnder GW, Gelernter WD. 1989. Activity of the M-ONE Formulation of a New Strain of *Bacillus thuringiensis* Against the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): Relationship Between Susceptibility and Insect Life Stage. *Journal of Economic Entomology*. **82**: 756-761.

- Zhang MY, Lovgren A, Lauden R. 1995. Adhesion and cytotoxicity of *Bacillus thuringiensis* to cultured *Spodoptera* and *Drosophila* cells. *Journal of Invertebrate Pathology*. **66**: 46-51.
- Zhang Y, Ma Y, Wan PJ, Mu LL, Li GQ. 2013. *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins affect lifespan and reproductive performance of *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera exigua* adults. *Journal of Economic Entomology*. **106**: 614-621.
- Zhao JZ, Li YX, Collins HL, Gusukuma-Minuto L, Mau RFL, Thompson GD, Shelton AM. 2002. Monitoring and Characterization of Diamondback Moth (*Lepidoptera*: Plutellidae) Resistance to Spinosad. *Journal of Economic Entomology*. **95**: 430-436.
- Zhong C, Ellar DJ, Bishop A, Johnson C, Lin S, Hart ER. 2000. Characterization of a *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin which is toxic to insects in three orders. *Journal of Invertebrate Pathology*. **76**: 131-139.
- Zimmermann G. 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa*. (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology*. **18**: 865-901.