

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Nematofágní houby a jejich význam při ochraně proti
hád'átku řepnému**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Ivana Střížková

Vedoucí práce: Ing. Miloslav Zouhar, Ph.D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Nematofágní houby a jejich význam při ochraně proti hád'átku řepnému" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové 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 diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 8. 4. 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Miloslavovi Zouharovi, Ph.D. za pomoc a čas, který věnoval konzultacím a vedení této práce, stejně jako ostatním zaměstnancům katedry, kteří mi ochotně v mnohém pomohli při práci v laboratoři. Rovněž bych chtěla poděkovat své rodině za podporu, kterou mi poskytla během celého studia.

Nematofágní houby a jejich význam při ochraně proti hád'átku řepnému

Souhrn

Fytofágní hád'átka jsou škodlivé organismy, jež způsobují významné hospodářské ztráty. Z důvodu neúčelné chemické ochrany a její environmentální náročnosti, jsou vyvíjeny nové způsoby ochrany proti zmíněným hád'átkům.

Mezi jedním z možných biologických způsobů ochrany, se jeví aplikace nematofágních hub zkoumaných v této práci. Jejich účinnost však není zcela jednoznačná, neboť ve skličkové kultuře se zkoumané druhy hub (*Dactylella oviparasitica*, *Lecanicillium muscarium*, *Pleurotus ostreatus*, *Stropharia rugosoannulata* a směs izolátů *Arthrobotrys oligospora*, izoláty *A. oligospora* A5/10 a A10/10, přípravek Gliorex obsahující konidie *Clonostachys rosea* a *Trichoderma harzianum*) projeví jako účinné organismy při regulaci hád'átka řepného (*Heterodera schachtii*), neboť u všech druhů byl prokázán statisticky významný rozdíl v mortalitě vylíhlých J2 larev oproti kontrolní variantě. V nádobovém pokusu však nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl ve snížení počtu cyst a u druhů *Dactylella oviparasitica* a směsi izolátů *Arthrobotrys oligospora* bylo zaznamenáno zvýšení počtu cyst oproti kontrolní variantě.

V praxi tento způsob ochrany není dostatečně spolehlivý, pro případné uvedení do praxe je nutné pokračovat ve výzkumu.

Klíčová slova: *Heterodera schachtii*, nematofágní houby, řepa cukrová

Nematophagous fungi and their impact against to sugar beet cyst nematod

Summary

Plant parasitic nematodes are pests that cause significant economic losses. Due to ineffective chemical protection and its environmental demands, new ways of protection against the aforementioned nematodes are being developed.

Nematophagous fungi studied in this thesis seem to be one of the possible ways of biological protection. Their effectiveness, however, is not entirely clear, because the slide culture of the surveyed fungi species (*Dactylella oviparasitica*, *Lecanicillium muscarium* *Pleurotus ostreatus*, *Stropharia rugosoannulata*, and a mixture of *Arthrobotrys oligospora* isolates, isolates *A. oligospora* A5/10 and A10/10, and the Gliorex preparation containing conidia *Clonostachys rosea* and *Trichoderma harzianum*) proved as effective organisms in regulating the beet cyst nematode (*Heterodera schachtii*), as all species showed a statistically significant difference in mortality of the hatched J2 larvae compared to the control variant.

The pot experiment, however, showed no statistically significant difference in reducing the number of cysts, and in the species *Dactylellaoviparasitica* and a mixture of *Arthrobotrysoligospora* isolates, the number of cysts increased in comparison with the control variant.

In practice, this method of protection is not sufficiently reliable, and it is necessary to continue the research before its possible introduction into practice.

Keywords: *Heterodera schachtii*, nematophagous fungi, sugar beet

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíl práce a vědecká hypotéza	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Hádátko řepné (<i>Heterodera schachtii</i>)	10
1.1.1 Vývojový cyklus	11
Samice	11
Samci	12
Průnik	12
1.1.2 Feromony	13
1.1.3 Struktura cyst	13
1.1.4 Struktura vajíček	13
1.1.5 Vliv difuzátů na líhnutí	14
3.2 Houby	15
1.1.6 Průnik	15
Kutikula	15
Vajíčka	16
1.1.7 Rozdělení nematofágních hub	16
1.1.8 Lapací zařízení	17
Nemodifikované lepivé hyfy	17
Lepivé větve (výběžky).....	17
Lepivé sítě	18
Lepivé uzlíky.....	18
Fixní oka	18
Stahující (škrťící) oka.....	18
Stefanocysty	19
Akantocyty	19
1.1.9 Zkoumané nematofágní houby.....	19
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	19
<i>Clonostachys rosea</i>	21
<i>Trichoderma harzianum</i>	21
<i>Dactylella oviparasitica</i>	22
<i>Lecanicillium muscarium</i>	23
<i>Pleurotus ostreatus</i>	24
<i>Stropharia rugosoannulata</i>	25

3.3	Škodlivost	25
3.4	Ochrana	26
4	Metodika	28
4.1	Extrakce cyst z půdy	28
4.2	Napěstování hub	29
4.2.1	Příprava mycelia pro pokusy.....	29
4.3	Nádobový pokus.....	29
4.4	Skličková kultura	30
4.4.1	Líhnutí a příprava larev	30
4.5	Statistické vyhodnocení.....	31
4.5.1	Nádobový pokus	31
4.5.2	Skličková kultura	31
5	Výsledky.....	32
5.1	Nádobový pokus.....	32
5.2	Skličková kultura	33
5.3	Nádobový pokus vs. sklíčková kultura.....	36
6	Diskuse	37
6.1	Líhnutí larev pro sklíčkovou kulturu	37
6.2	<i>Dactylella oviparastica</i>	37
6.3	<i>Lecanicillium muscarium</i>	38
6.4	<i>Stropharia rugosoannulata</i>	39
6.5	<i>Pleurotus ostreatus</i>	39
6.6	<i>Arthobotrys oligospora</i>	40
6.7	Gliorex	40
7	Závěr.....	42
8	Seznam použité literatury.....	43
9	Přílohy	58
9.1	Obrázky.....	58
9.2	Tabulky	65
9.3	Grafy	67

1 Úvod

Fytofágní háďátka jsou celosvětově rozšířena a způsobují významné škody. V České republice se mimo dalších fytofágních háďátek běžně vyskytuje háďátko řepné (*Heterodera schachtii*), které způsobuje významné ztráty při produkci cukrové řepy (*Beta vulgaris* var. *altissima*). Ztráty jsou kvantitativní i kvalitativní, neboť bulvy nedorůstají své maximální velikosti a při napadení dochází ke snížení cukernatosti.

Díky významným hospodářským ztrátám, které háďátka způsobují, je nutné nezanedbávat preventivní ochranná opatření při pěstování cukrové řepy, která vycházejí ze správné agrotechnické práce, jako je např. dodržování vhodného osevního postupu, pěstování „nepřátelských rostlin“, hubení plevelných hostitelských druhů a podobně. Pokud se již háďátka na pozemku vyskytnou, lze aplikovat nematocidy. Toto opatření však není příliš výhodné, co se týče účinnosti, a představuje velkou zátěž pro životní prostředí. Z těchto důvodů je snaha o objevení alternativní ochrany citlivých odrůd cukrové řepy.

Alternativní ochranu může představovat aplikace nematofágních hub zkoumaných v této práci na úrovni sklíčkové kultury a nádobového pokusu, které různými lapacími mechanismy hubí háďátka.

2 Cíl práce a vědecká hypotéza

Cílem práce bylo otestovat vliv vybraných mikroskopických hub na mortalitu háďátka řepného *Heterodera schachtii*.

Vědecká hypotéza: Existují nematofágní houby, které mohou být využity při ochraně rostlin proti háďátku řepnému.

3 Literární rešerše

3.1 Hád'átka řepné (*Heterodera schachtii*)

Klasifikace dle Ravichandra (2014):

Říše (Regnum): *Animalia*

Kmen (Phylum): *Nemtoka*

Třída (Classis): *Secernentea*

Řád (Ordo): *Tylenchida*

Podřád (Subordo): *Tylenchina*

Nadčeleď (Superfamilia): *Tylenchoidea*

Čeleď (Familia): *Heteroderidae*

Rod (Genus): *Heterodera*

Lorenzen (1985) považuje hád'átka za evolučně velmi úspěšné pseudocoelomatiné živočichy rozmanitých velikostí, kteří mohou být parazity rostlin i zvířat. Jejich tělo je kryto kutikulou, pod kterou se nachází epidermis a dále podélná svalovina, umožňující vlnivý a mrskavý pohyb. Jejich evoluční úspěšnost je rovněž daná tím, že složení kutily je velmi variabilní. Liší se v rámci rodů, čeledí, druhů a dokonce mezi jedinci stejného druhu (Brid and Brid, 1991). K jejich úspěšné životní strategii patří schopnost upadnout do hluboké anabiózy a v ní přežít nepříznivé podmínky, stejně jako jejich vysoká reprodukční schopnost (Womersley et al., 1989).

Ravichandra (2008) řadí *H. schachtii* mezi poloendoparazitická hád'átka, neboť jejich tělo je částečně ukryto v kořenu a částečně na povrchu. Tento rod zařadil konkrétně do skupiny hád'átek přisedlých. Avšak Bridge and Starr (2007) stejně jako Perry and Wright (1998), či Brid and Brid (1991) řadí rod *Heterodera* mezi hád'átka přisedlá endoparazitická. Podle druhu napadají endoparazitická hád'átka kořenová pletiva částí nebo celým tělem. Rod *Heterodera* parazituje na cévnatých rostlinách pomocí styletu, který je delší než 17 μm (Kůdela a Braunová, 2007), podle Ravichandry (2014) má *H. schachtii* stylet dlouhý 18 – 20 μm .

Některé druhy začínají po proniknutí do kořene ihned parazitovat, jiné se nejdříve přemístí na optimální místo, kterým bývá střední válec, a v něm začnou přijímat potravu a stávají se přisedlými. Aby se však ke střednímu válci dostaly, musí proniknout skrz rhizodermis a primární kůru kořene (Perry and Wright, 1998). Celý vývojový cyklus dle

Ravachandra (2014) trvá kolem 30 dní. Www 2 uvádí jako dobu vývoje jedné generace 4 – 8 týdnů. V České republice se každoročně může vyvinout 1 – 3 generace *H. schachtii*.

H. schachtii má široký hostitelský okruh rostlin zahrnující 218 druhů z 23 čeledí (Steele, 1965). Ravichandra (2014) uvádí kromě cukrové řepy (*Beta vulgaris* var. *altissima*) jako další důležité hostitelské rostliny zelí (*Brassica oleracea* var. *capitata*), brokolici (*Brassica oleracea* var. *botrytis italica*), miřík celer (*Apium graveolens*), ředkev setou (*Raphanus sativus* var. *sativus*), tuřín (*Brassica napus* var. *napobrassica*) a dokonce řepku olejku (*Brassica napus* subsp. *napus*). Na té však nebyla v praxi prokázána žádná přímá poškození (Kazda a kol., 2010). Dále napadá špenát (*Spinacia oleracea*), hořčici setou (*Sinapis alba*) a může parazitovat rovněž na obilninách. Na nich však výskyt nebývá pravidelný ani v zamořených oblastech (Stoklasa a Vaňha, 1985).

1.1.1 Vývojový cyklus

Vývojový cyklus (obrázek 1) probíhá v několika fázích a od určité vývojové fáze se liší životní cyklus samečků a samic. Prvním pohyblivým stadiem jsou larvy 2. instaru (J2), jedná se o takzvané invazní stadium, které se vyvinulo ve vajíčku v cystě (Chen et al., 2004). Jejich líhnutí z vajíček uložených v cystách lze vyprovokovat difuzáty, které stimulují stylet, díky němuž se larvy vylíhnou (Grundler et al., 1991). Tyto larvy vstupují do rostlinných pletiv, kde začínají přijímat potravu a vyvíjejí se. Samičky se stávají imobilními a zvětšují své tělo, až dojde k ruptuře rostlinné tkáně. (Perry and Wright, 1998). J2 napadají přednostně kořeny v elongační fázi a po vniknutí do kořenů migrují intracelulárně ke střednímu válci, kde se stávají imobilními (Doncaster and Seymour, 1973). J2 však ještě nejsou sexuálně diferenciovány. Diferenciace pohlaví probíhá pravděpodobně až na základě množství a kvality přijaté potravy. Samci se pravděpodobně vyvinou z larev, které přijaly menší množství potravy, případně méně kvalitní potravy. K diferenciaci na samice naopak dochází, pokud larvy přijaly větší množství potravy, popřípadě kvalitnější potravy (Betka et al., 1991; Grundler and Wyss, 1995; Grundler and Bröckenhoff, 1997).

Samice

Ravichandra (2014) uvádí, že pokud se z J2 začne diferencovat samice, dochází ke změně těla larvy na tvar citrónkovitý. Samice jsou 0,5 – 0,8 mm dlouhé. Www 2 uvádí obdobné rozměry, konkrétně 0,6 – 0,8 mm. Při přeměně samic do citrónkovitých tvarů dochází k ultrastrukturálním a kolagenovým změnám v kutikule (Reddigari et al., 1986).

Samice jsou nejdříve bělavé (obrázek 28), nažloutlé a později hnědnou. V časných fázích vývoje jsou v těle samice stočeny štíhlé vaječníky, které produkují vajíčka, dokud nedojde k naplnění jejich tělní dutiny (Ravichandra, 2014). Ravichandra (2008) uvádí, že po smrti samičky se její tělo stává cystou chránící vajíčka. Jako ochrana před predátory slouží samičce suberystalinová vrstva kryjící část těla vyčnívající z kořene, stejně jako slizovitá hmota vytlačovaná z vulvální oblasti obklopující zadní konec těla. Tato vrstva je následně pokryta půdními částicemi. Samičky přijímají potravu po celý svůj život (Ravichandra, 2014).

Samci

Jsou dlouzí obvykle 1,3 – 1,6 mm (Ravichandra, 2014). Jako J2 larvy mají červovitý tvar těla, který se mění po dosažení kořenů, kde začínají přijímat potravu, rostou a mění svůj tvar těla z červovitého na váčkovitý a stávají se nemobilní. Samčí larvy přijímají potravu pouze do konce třetího larválního stadia, kdy žijí v primární kůře (Ravachandra, 2014). Jako J4 se z nich opět stávají pohybliví jedinci a po posledním svlékání hledají pomocí sexuálních feromonů samičky (Aumann, 1994).

Průnik

Larvy druhého vývojového stupně *H. schachtii*, stejně jako larvy ostatních cystotvorných háďátek, protrhávají svou vaječnou blánu a přemísťují se z cysty ke kořínkům, kde pomocí styletu pronikají do kořenů a intracelulárně v nich migrují, což jim usnadňují enzymy degradující buněčné stěny (Lee, 2002). Jednotlivé kořenové buňky jsou v elongační zóně během dlouhivého růstu proděravněny styletem (Gundler et al., 1991; Clemens et al., 1994). J2 nejdříve proniknou přes rhizodermis do kořene, kde intracelulárně migrují do středního válce (Perry and Wright, 1998). Zde vytvoří neustále se zvětšující syncytiální buňky. Jedná se o buňky vzniklé z více buněk, u kterých došlo ke sloučení buněčných stěn díky metabolickým změnám uvnitř buněk a vakuolárního systému (Grundler et al., 1998). Při tomto procesu se některá plasmodesmata rozšiřují a rozpouštějí a dochází k promíchání protoplastu původně sousedních buněk (Staeheiling, 1997). Tímto způsobem může být spojeno až 250 buněk (Hussey and Grundler, 1998). Zde se larvy po několik týdnů živí z těchto speciálních buněk, vytvořených v kořenech hostitelských rostlin.

1.1.2 Feromony

U háďátek rodu *Heterodera* byly na základě biologického testu provedeného na agarovém mediu detekovány sexuální feromony. Na agarovém nosiči byli odděleni samci od samic celofánem a sexuální feromony způsobily, že obě pohlaví k sobě byla přitahována, takže se larvy hromadily u celofánu. Tento pokus probíhal na několika druzích háďátek rodu *Heterodera* a *Globodera*. Na základě tohoto pokusu byla prokázána i mezidruhová přitažlivost u většiny jedinců. Mezi těmito rody existuje nejméně 6 atraktantů, feromonů (Green, 1980).

1.1.3 Struktura cyst

Cysty jsou stejného tvaru a velikosti jako jsou samičky, neboť se utvořily z jejího mrtvého těla (Lee and Atkinson, 1976). To znamená, že jsou citronkovitého tvaru a dlouhé 0,6 – 0,8 mm. Barva je v různých odstínech hnědé se zřetelnou vrásčitou skulpturou, která je tvořena stěnou dělohy. Uvnitř jsou ukryta vajíčka, která opouští larvy ve 2. instaru (tzv. invazní stadium) (Gaur and Perry, 1991). J2 jsou bílé, hadovité larvy a asi 0,45 mm dlouhé a 0,048 mm tlusté (Stoklasa a Vaňha, 1985).

1.1.4 Struktura vajíček

V závislosti na druhu je složena z 1 až 5 vrstev, nejčastěji však z 3 vrstev (Clarke et al., 1967).

- 1) **Vnější vrstva** je lipoproteinová.
- 2) **Prostřední vrstva** bývá nejsilnější, obsahuje chitin, kolagen (Clarke et al., 1967) a proteiny.
- 3) **Vnitřní vrstva** bývá lipidová a je permeabilní. Obvykle je složena z 2 až 3 lipoproteinových membrán (Bird and McClure, 1976; Perry et al., 1982), u *Heterodera schachtii* je však čtyřvrstvá (Perry and Trett, 1986).

Vajíčka jsou ledvinovitého tvaru o velikosti 110 x 43 μm a v každé cystě jich bývá 200 – 300 (Lee, 2002). Kazda a kol. (2010) uvádí, že v 1 cystě může být až 500 vajíček. U rodu *Heterodera* vajíčka přežívají v půdě v cystách (Gaur and Perry, 1991). Podle Perry and Moens (2013) jsou schopny zůstat životaschopné několik let, podle www 2 mohou zůstat životaschopné až 7 let.

1.1.5 Vliv difuzátů na líhnutí

Aby invazivní larvy začaly opouštět vajíčka a líhnout se, musí zaznamenat příznivé podmínky prostředí, což bývá vhodná teplota, dostatečné množství kyslíku v půdě, příznivá půdní vlhkost, vhodná struktura půdy a absence fyziologických bariér, jako je diapauza. Líhnutí naopak brání nepříznivé podmínky, jako je sucho, či zamokřená půda (Lee, 2002).

V laboratorních podmínkách je možné podpořit líhnutí kořenovými difuzáty. Tato metoda je běžná u cystotvorných háďátek a rovněž u *M. hapla* či *R. reniformis* (Brzeski and Hendricks, 1971). Účinnost rostlinných difuzátů ovlivňuje mnoho faktorů. Těmito faktory je např. stáří rostliny, kultivar, stejně jako kondice, ve které rostlina je (Greco and Brandoniso, 1986). V souladu s tímto tvrzením Winslow and Ludwig (1957) zjistili, že cukrová řepa pěstovaná za krátkých dní produkuje rostlinné difuzáty, které více podporují líhnutí larev *H. schachtii* než rostliny pěstované za dlouhých dní. Mezi umělé látky podporující líhnutí patří například močovina, některé aminokyseliny a cukry (Clarke and Shepherd, 1967). V polních podmínkách mohou líhnutí podpořit thiokarbamátové herbicidy (Feyaerts and Coosemans, 1992).

Cystotvorná háďátka lze dle Khan (1985) na základě líhnutí v přítomnosti kořenových difuzátů rozdělit do 3 kategorií:

- 1) Několik J2 se líhne ve vodě, většina se však líhne v kořenových difuzátech (*G. Pallida*, *H. cruciferae*, *H. corotae*, *H. goettingiana*, *H. humuli*).
- 2) Ve vodě se líhne více J2 larev, většina se však líhne v kořenových difuzátech (*H. trifolii*, *H. galepsidis*, *H. glycines*).
- 3) Velké množství J2 se líhne ve vodě, nejvíce larev se však rovněž vylíhne ve vodě s kořenovými difuzáty (*H. schachtii*, *H. avenae*).

Líhnutí J2 larev v kořenových difuzátech je lepší strategií pro přežití druhu, neboť nedochází k líhnutí larev, pokud v blízkosti nejsou hostitelské rostliny, které uvolňují požadované kořenové difuzáty. Tím pádem vylíhlé larvy nehynou v důsledku nemožnosti najít hostitelskou rostlinu, která by jim poskytla potravu (Nijs and Lock, 1992).

Kolem nelíhnoucích se nestimulovaných J2 byla zaznamenána perivitelinová tekutina obsahující trehalosu, která způsobuje dehydrataci J2 a tím zabraňuje jejich líhnutí. Její koncentrace je různá v závislosti na druhu (Clarke et al., 1978). U *H. schachtii* byla zaznamenána koncentrace 0,3 M (Perry et al., 1980) a u *H. goettingiana* 0,5 M trehalosy. Začátek líhnutí je tedy iniciován propustností membrány, která umožní únik trehalosy z perivitelinové tekutiny přes vaječný obal. U každého druhu je permeabilita membrány rozdílná. U *H. schachtii* je membrána relativně snadno propustná, proto se vylíhne velké

množství larev i v čisté vodě (Perry et al. 1983). Allelochemikálie obecně ovlivňují funkci Ca^{2+} iontů, které ovlivňují propustnost membrány (Atkinson et al., 1980). Propustnost membrány tedy ovlivňují kořenové difuzáty hostitelských rostlin. Z toho důvodu dojde k dalšímu líhnutí larev *H. schachtii*, jakmile dojde k dostatečnému snížení koncentrace trehalosy, neboť dojde ke zvýšení metabolické aktivity a larvy opouští svá vajíčka (Matrin, 1994). Ochranné lipoproteinové membrány mohou být poškozeny, pokud na ně začnou působit lipázy, jež uvolňují nematofágní houby. Vajíčka v cystách však nejsou nikterak poškozena působením lipáz a pro vylíhnutí mohou vyžadovat kořenové difuzáty (Perry and Trett 1986).

3.2 Houby

Půdní háďátka (*Nematoda*) představují důležitou složku půdní fauny a jsou důležitým zdrojem energie pro další půdní organismy, jako jsou roztoči (*Acarina* spp.), chvostoskoci (*Collembola* spp.) (Lee and Widden, 1996), a kořeny masožravých rostlin rod (*Phileoxia* spp.) (Pereira et al, 2002). Dalšími přirozenými nepřáteli jsou ploštěnky (*Turbellaria* spp.), či želvušky (*Tardigrada* spp.) (Yeates and Wardle, 1996). Lee (2002) řadí mezi nepřátele fytoparazitických háďátek rovněž bakterie, neboť některé druhy jsou schopné je parazitovat. Nicméně háďátka jsou jako potrava nejdůležitější pro půdní houby, (Janson and Lopez-Llorca, 2004), které se v půdě podílejí na recyklaci uhlíku, dusíku a dalších prvků pocházejících z těl ulovených háďátek (Mankau, 1980).

Nematofágní houby jsou mikroorganismy schopné potlačit populace fytoparazitických háďátek a to díky lapacím mechanismům nebo toxinům, které produkují (Yang et al., 2007). Objeveny byly rovněž houby (*Acremonium* spp.), které produkují toxiny, jež brání rostliny před herbivory, hmyzem a omezují přijímání potravy a množení háďátek (Hallmann and Sikora, 1994). Nematofágní houby jsou nevíce rozšířeny v půdách, jež obsahují vysoký obsah organické hmoty a jsou dostatečně aerované (Gray, 1987).

1.1.6 Průnik

Kutikula

Extracelulární hydrolytické enzymy, jako jsou proteázy, kolagenázy a chitinázy umožňují průnik přes kutikulu a následné buněčné trávení ulovených háďátek (Lopez-Llorca and Robertson, 1992; Lopez-Llorca et al., 2002). Tento proces mnohdy usnadňuje produkce

toxinů, které hostitele imobilizují, a houba může snadněji zahájit proces penetrace (Grenache et al., 1996).

Vajíčka

Infekce vajíček probíhá většinou pomocí chytináz a proteáz, neboť vaječný obal většiny hád'átek má vnější vitelinovou membránu a všechny vrstvy vaječného obalu mají chitinovou a lipidovou vrstvu, které se liší svou tloušťkou. Zmíněné enzymy vaječný obal rozloží a houba může začít parazitovat (Perry and Trett, 1986).

1.1.7 Rozdělení nematofágních hub

Podle (Siddiqui and Mahmood, 1996; Li et al., 2000; Nordring-Hertz et al. 2011) lze nematofágní houby rozdělit dle způsobu získávání potravy do 3 skupin na:

1) Lapací

Tyto houby jsou hostitelsky méně specifické a mohou žít i saprofytickým způsobem života (Gray, 1987, Dackman and Nordring-Hertz 1992). Mají různá lapací zařízení z lepivých hyf, sítí, uzlíků nebo větví a škrťících ok (Nordring-Hertz et al., 2011), které jsou tvořeny vrstvami extracelulárních polymerů (Tunlid et al., 1991).

2) Parazitické

Většinou se jedná o obligátní parazity (Barron, 1977; Gray, 1987). Tyto houby produkují nelepivé spory, které larvy musí pozřít nebo lepivé spory, které přilnou ke kutikule larvy (Jansson et al., 1987; Barron, 1982). Spory atakující svého hostitele v něm vyklíčí, kolonizují jej a následně ho zabíjí. Z mrtvého hostitele prorůstají svými hyfami a poté vytváří konidiofor (Barron, 1969). Parazitické houby neprodukují lapací sítě a vaječný obal může být jedinou hlavní bariérou bránící vajíčka před infekcí. Před penetrací musí nejdříve spory pomocí apresorií přilnout. To se děje díky želatinové vrstvičce, která byla pozorovaná mezi apresorií a skořápkou, či povrchem kutikuly (Gray, 1987).

3) Produkující toxiny

Tyto houby jsou schopné produkovat toxiny, popřípadě útvary, jako jsou akantocyty nebo stefanocysty, které umožňují nematofágní houbě ulovit hád'átka (Luo et al., 2004; Luo et al., 2006).

Podle ekologického hlediska lze nematofágní houby rozdělit do 4 skupin: na endoparazitické houby, dravé houby, houby parazitující vajíčka, případně samičky cystotvorných a hálkotvorných hád'átek a houby produkující toxiny (Barron and Thorn, 1987).

1.1.8 Lapací zařízení

Lapací zařízení mohou být tvořena spontánně nebo v reakci na přítomnost hád'átek (Jansson and Nordring-Hertz, 1980). Aktivita daného lapacího zařízení záleží na stavu živin v substrátu (Cooke, 1962). Různé parazitické houby se vyskytují vždy při určitém stupni rozkladu organického materiálu v půdě. Pouze několik druhů je aktivní po víc než několik týdnů. Právě tyto druhy jsou hojně rozšířeny na stanovištích, kde se vyskytují hád'átka, na kterých parazitují (Lee, 2002).

Nemodifikované lepivé hyfy

Jedná se o lapací zařízení, které je typické pro Zygomycetes, neboť díky nepřehrádkovanému mycelimu nemohou vytvářet speciální lapací útvary (obrázek 2). Hyfy jsou buď lepivé po celé ploše, nebo je adhezivní látka pouze v místě, kde došlo ke kontaktu s hád'átkem (Gray, 1987).

Lepivé větve (výběžky)

Jedná se o nejjednodušší morfologickou lapací strukturu zastupující nemodifikované hyfy. Jsou tvořeny z 1 – 3 buněk. Větve jsou lepivé celé a mohou se spojovat do oblouků nebo tvořit dvourozměrné sítě (obrázek 3) (Gray, 1987).

Lepivé sítě

Lepivé sítě (obrázek 4, obrázek 5) se vyvinuly z lepivých větví. Jedná se o trojrozměrné lapací sítě, jejichž povrch je celý lepivý. Hád'átka se přichytí a zaplete do sítě. Lepivé sítě se tvoří ze vzpřímených postranních větví vyrůstajících z vegetativních hyf. Následně se stáčí a spojují se s nosnou hyfou. Další postranní hyfa se tvoří z nosné hyfy nebo již vzniklé smyčky (oka) a tvoří další smyčku. Tento proces probíhá, dokud se nevytvoří síť spojených ok mimo nosnou hyfu. Nejznámějším představitelem tohoto lapacího ústrojí je *Arthrotrrys oligospora* (Gray, 1987).

Lepivé uzlíky

Jedná se o kulovité buňky pokryté adhezivní látkou (obrázek 6). Tvoří se na konidiích, vegetativních hyfách nebo stopkách - přehrádkovaném vlákne tvořeném na vegetativní hyfě. Jednotlivé lepivé buňky mohou pokračovat v růstu a tvořit řetězce a následně prstence. Při zachycení hád'átek dochází k vytvoření silné vrstvy lepivé látky. Pokud se při pokusu o osvobození oddělí lepivý uzlík od hyfy, není jeho funkce narušena a houba proniká mechanicky i enzymaticky skrz kutikulu (Gray, 1987). U kmene Basidiomycota bývají ve tvaru přesýpacích hodin (Barron, 1977).

Fixní oka

Fixní oka (obrázek 7) jsou málo častý lapací mechanismus. Oka jsou tvořena vzpřímenými laterálními větvemi vyrůstajícími z vegetativní hyfy. Nejdříve vzniká tenká hyfální větev, která tloustne a zakřivuje se. Výsledkem je 3 až 4 buněčné oko (Gray, 1987) na jehož vnitřní straně bývá adhezivní vrstva (Dowsett and Reid, 1979).

Stahující (škrťící) oka

Mechanické nelepivé lapací útvary tvořené 3 buňkami spojenými do prstence, který je spojen s nosnou hyfou krátkým několika buněčným útvarem (obrázek 8). Pokud hád'átka vstoupí do prstence, aktivují vnitřní stranu buněk a do několika sekund dojde k jejich stažení (obrázek 9). Pokud se prstenec oddělí od hyfy, nedochází ke ztrátě jeho funkce (Gray, 1987).

Stefanocysty

Tyto lapací struktury (obrázek 10) jsou tvořeny dvoubuněčnými útvary složenými z bazální buňky podobné pohárku a terminální kulovité buňky. V místě jejich spojení jsou lepidivé výrůstky (Gray, 1987), na které se mohou přichytit háďátka. Jakmile se tak stane, vytvoří rychle infekční hyfu atakující lapená háďátka, která prorostou myceliem (Liou et Tzean, 1992).

Akantocyty

Jsou velké ostnaté hvězdicovité buňky (obrázek 11), které mohou probodnout tělo (obrázek 12) háďátek a tím jej znehybnit a usmrtit (Luo et al., 2006).

1.1.9 Zkoumané nematofágní houby

Arthrobotrys oligospora

Klasifikace (www 4):

Říše (Regnum): *Fungi*

Kmen (Phylum): *Ascomycota*

Pododdělení (Subdivision): *Pezizomycotina*

Třída (Classis): *Orbiliomycetes*

Podtřída (Subclassis): *Orbiliomycetidae*

Řád (Ordo): *Orbiliales*

Čeleď (Familia): *Orbiliaceae*

Rod (Genus): *Arthrobotrys*

Arthrobotrys oligospora je hlavně saprofytická houba vyskytující se na rozkládajícím se organickém materiálu, odkud získává živiny. Je považována za nejběžněji se vyskytující houbou schopnou lapat háďátka (Niu and Zhang, 2011). Konidiofory vznikající při nepohlavním způsobu rozmnožování vyrůstají ze substrátu či vzdušného mycelia. Jsou nevětvené, 350 – 450 μm dlouhé a nesou několik skupin sympodiálně tvořených vejčitých či hruškovitých konidií (22 – 27 μm x 8 – 15 μm) (Domsch et al., 1980). Woronin (1870) zjistil, že *A. oligospora* může vytvářet lapací síť tvořenou ze vztyčené boční větve rostoucí z vegetační hyfy a zakřivující se k rodičovské hyfě a tím vytvářet smyčky. Také pozoroval, že

konidiofory se mohou přímo vyvinout v lepidivou lapací síť, nicméně tehdy ještě neznal účel těchto struktur. Tento fakt potvrdili Dackman and Nordring-Hertz (1992), kteří popsali i funkci vytvořených struktur. Je zjištěno, že *A. oligospora* produkuje chemické substance - nematotoxiny, které paralyzují hád'átka (Oltholf and Estey, 1963). Tato houba produkuje rovněž kolagenázy (Tosi et al., 2002), které jsou důležité při rozkladu kutikuly hád'átek, neboť většina proteinů v jejich kutikule je tvořena kolagenem (Tosi et al., 2002). *A. oligospora* dále produkuje extracelulární serin proteázu PII, která umožňuje penetraci do kutikuly hád'átek a vnitrotělní trávení hostitele (Ahman et al., 2002) stejně jako umožňuje rozklad kaseinu, želatiny a vaječného obalu (Tunlid et al., 1994; Zhao et al., 2004; Wang et al., 2006a,b). *A. oligospora* potlačuje výskyt hád'átek, nepůsobí však negativně na mikroorganismy, podílející se na mykorrhize, ani na bakterie vážící dusík (Niu and Zhang, 2011). Popisovaná houba vytváří několik druhů myceliálních struktur, které uplatňuje při predaci. Může se jednat o konidiální pasti, hyfální spirály a nedávno objevená apresoria stejně jako o troj dimenzální síť (Nordring-Hertz, 2004).

Gliorex

Jedná se o pomocný rostlinný přípravek, jehož výrobcem je FYTOVIA, s. r. o. Gliorex je dispergovatelný prášek bělavé barvy obsahující konidie hub *Clonostachys rosea*, *Trichoderma harzianum* a inertní plnidlo. Zmíněné druhy se přirozeně vyskytují v půdě, kde rozkládají organické zbytky, čímž zvyšují příjem živin z půdy. Tím dochází ke zvýšení počtu vzešlých rostlin, zvýšení dynamiky růstu a ke zvýšení celkové odolnosti a výnosnosti rostlin (www 3). Tento efekt může být také způsoben faktem, že se houby podílí na endomykorrhize a endomykorrhize. Při aplikaci Gliorexu je také možné přes zimu rozložit sklerocia některých hub (*Claviceps* spp., *Sclerotinia* spp., *Botrytis* spp., *Rhizoctonia* spp. a *Verticillium* spp.) a to již od 7°C (www 1).

Clonostachys rosea

Klasifikace (www 10):

Říše (Regnum): *Fungi*

Kmen (Phylum): *Ascomycota*

Pododdělení (Subdivision): *Pezizomycotina*

Třída (Classis): *Sordariomycetes*

Podtřída (Subclassis): *Hypocreomycetidae*

Řád (Order): *Hypocreales*

Čeleď (Familia): *Bionectriaceae*

Rod (Genus): *Clonostachys*

Clonostachys rosea je houba schopná potlačit populaci háďátek i sporulaci patogenické houby *Botrytis cinerea* (Zhang et al., 2008). Karlsson et al. (2015) ji označují jako mykoparazitickou houbu, která obsahuje malé množství chitináz oproti druhům *Trichoderma*. Li et al., (2006) uvádí, že *C. rosea* produkuje stejně jako *A. oligospora* také serine proteázy usnadňující parazitaci.

Průběh infekce

Při parazitaci dochází nejdříve během 1 – 2 dní k přilnutí konidie na povrch kutikuly háďátek (obrázek 13), jejich imobilizaci a následné smrti. Poté dochází ke klíčení konidií a jejich invazi (obrázek 14) do těla hostitelů s pomocí hydrolytických enzymů, jako jsou proteázy a chitinázy (Lopez-Llorca et al., 2002; Zhao et al., 2005; Li et al., 2006; Gan et al., 2007). Následně dochází k růstu mycelia uvnitř parazitovaného těla, rozkládání tkání a jejich využití jako potravního zdroje, k čemuž obvykle dochází 3. den. Během dalších 1 – 2 dní dochází k prorůstání mycelia na povrch těla. Během následujících 2 dní dochází k postupné degradaci těla háďátek a růstu nových konidií (Zhang et al., 2008).

Trichoderma harzianum

Klasifikace (www 9):

Říše (Regnum): *Fungi*

Kmen (Phylum): *Ascomycota*

Pododdělení (Subdivision): *Pezizomycotina*

Třída (Classis): *Sordariomycetes*

Podtřída (Subclassis): *Hypocreomycetidae*

Řád (Order): *Hypocreales*

Čeleď (Familia): *Hypocreaceae*

Rod (Genus): *Trichoderma*

Trichoderma harzianum byla popsána jako účinný bioregulátor regulující hád'átka *Meloidogyne* sp. Tato houba hád'átka zabíjí svými toxiny stejně jako hyfami. Dochází k omezení líhnutí larev a jejich pohybuschopnosti (Pérez et al., 2006). Účinnost této houby byla prokázána rovněž Rodríguez et al. (2006) u *Meloidogyne* spp. Nematocidní účinky houby *Trichoderma harzianum* byly popsány rovněž u borovicového hád'átka *Bursaphelenchus xylophilus*, u kterého *T. harzianum* napadá třetí vývojové stadium (Maehara, 2008).

Dactylella oviparasitica

Klasifikace (www 8):

Říše (Regnum): *Fungi*

Kmen (Phylum): *Ascomycota*

Pododdělení (Subdivision): *Pezizomycotina*

Třída (Classis): *Orbiliomycetes*

Podtřída (Subclass): *Orbiliomycetidae*

Řád (Order): *Orbiliales*

Čeleď (Familia): *Orbiliaceae*

Rod (Genus): *Dactylella*

Davies and Spiegel (2011) označili *Dactylella oviparasitica* za fakultativního parazita a saprofytickou houbu schopnou využít jako zdroj potravy také vajíčka hád'átek rodu *Heterodera*. Tato houba je rovněž schopna parazitovat na samicích *Heterodera* spp., což potvrzuje i Sayre (1986). Není však známo, proč někdy dojde k potlačení výskytu hád'átek a jindy ne. Mohou to ovlivňovat fyzikální či chemické vlastnosti půdy, přírodní podmínky či organická hmota v půdě a další faktory (Davies and Spiegel, 2011). Stirling and Mankau (1979) popsali rychlý průnik hyf *D. oviparasitica* do vajíček hád'átka rodu *Meloidogyne* a vznik apresorií při kontaktu s vajíčky. Houba pravděpodobně proniká vaječným obalem mechanicky, ačkoli je schopna penetrace rovněž pomocí chitinázy a dalších enzymů.

U háďátek *Meloidogyne* bylo rovněž zjištěno napadení samiček. Toto zjištění bylo mimo jiné prokázáno i u *H. schachtii*. Výzkum prokázal, že vajíčka obsahující J2 parazitaci většinou unikla, ačkoli J2 mimo vajíčka byla parazitována, z čehož vyplývá, že zralá vajíčka jsou odolnější napadení, než vajíčka nezralá.

Tato houba produkuje rovněž spory, avšak ve vajíčkách klidové spory, jako jsou chlamydospory, neprodukuje. V jiných studiích byly ve vajíčkách příležitostně sledovány konidie. Produkované spory se stávají nástrojem pro parazitaci, neboť díky želatinové vrstvičce vytvořené mezi apesorii a skořápkou mohou ke svému hostiteli přilnout (Stirling and Mankau, 1979).

Lecanicillium muscarium

Klasifikace (www 5):

Říše (Regnum): *Fungi*

Kmen (Phylum): *Ascomycota*

Třída (Classis): *Ascomycetes*

Rod (Genus): *Lecanicillium*

Rod *Lecanicillium* má v biologické ochraně široké použití, neboť působí jako antagonist fytoparazitických háďátek, některých druhů hmyzu, či jako antagonist fytoparazitických hub. Z hmyzu potlačuje mšice či molice, do nichž proniká mechanicky i enzymaticky. Pokud se jedná o potlačování fytoparazitických hub, dochází ke kolonizaci rostlinných tkání a následnému spuštění indukované systémové rezistence (Goettel et al., 2008). *L. muscarium* takto působí proti padlí (Verhaar et al., 1997, Verhaar et al., 1998, Askary et al., 1998, Dik et al., 1998 and Miller et al., 2004), či rodu *Phytium* (Benhamou and Brodeur, 2001). Při potlačování populace háďátek dochází k infikování a následné kolonizaci samiček, cyst a jejich vajíček (Meyer et al., 1997). Ke kolonizaci začíná docházet již 16 hodin po inokulaci. 3 dny po inokulaci byly pozorovány penetrační otvory v samičkách a stěnách cyst (Meyer and Wergin, 1998). K průniku skrz kutikulu, případně jiné struktury, dochází pomocí chytináz a v menší míře rovněž díky produkci proteáz a lipáz. Po proniknutí dochází ke kolonizaci hostitele a růstu konidií (Mulyati et al., 2015). *L. muscarium* je také schopno produkovat sekundární metabolity, jenž působí toxicky na háďátka, konkrétně mohou znemožňovat líhnutí J2. Tuto schopnost však mají pouze některé kmeny (Shinya et al., 2008). K napadení jsou náchylnější nezralá vajíčka v porovnání se zralými vajíčky, která obsahují J2 (Chen and Chen, 2003, Irving and Kerry, 1986; Kim and Riggs, 1991).

Pleurotus ostreatus

Klasifikace (www 6):

Říše (Regnum): *Fungi*

Kmen (Phylum): *Basidiomycota*

Třída (Classis): *Agariomycetes*

Podtřída (Subclassis): *Agariomycetidae*

Řád (Order): *Agaricales*

Čeled' (Familia): *Pleurotaceae*

Rod (Genus): *Pleurotus*

Houby rodu *Pleurotus* paralyzují háďátka toxocystami. Jedná se o blastokonidie obklopené kapičkami obsahující toxin. Toxocysta byla poprvé popsána jako lepivý uzlík (Thorn and Barron, 1984), nicméně nejsou k háďátkům tak přilnavé jako pravé lepivé uzlíky a polapí pouze 30 – 50 % chycených háďátek. Místo toho během 30 sekund háďátka znehybní toxinem obsaženým v tekutině (Thorn and Barron, 1984; Saikawa and Wada, 1986; Barron and Thorn, 1987; Stalpers et al., 1991). Paralyzovaná, nikoli polapená oběť je napadena specializovanými hyfami pronikajícími otvory do hostitele, kde ho začne trávit (Thorn and Barron, 1984; Saikawa and Wada, 1986; Barron and Thorn, 1987). To je odlišné od lepivých uzlíků, u kterých dochází k infekci skrz epidermis, v místě kontaktu s uzlíkem a povrchem háďátka. Útok pomocí toxinů je pro háďátka druhově specifický a dochází k paralyzaci háďátek i jejich parazitů (Barron, 2003). Účinky jedu jsou nevratné. Působí destruktivně na nervovou soustavu stejně jako na svaly, neboť ovlivňuje propustnost membrán. Tento toxin má rovněž fatální důsledek na některé duhy hmyzu a hub (Kwok et al., 1992).

Povrch kapiček obsahující toxin je kryt pružným obalem. Jakmile se háďátka přiblíží, dojde k přilnutí kapičky k jejich tělu a následnému prasknutí pružného obalu (Truong et al., 2007).

Toxocyt se vyvíjejí současně při tvorbě plodnic, k čemuž dochází v nepřítomnosti háďátek. Vyvíjejí se pouze ze vzdušných hyf, které dokončily jaderné dělení. V časném vývoji toxocyst vytéká tekutina ze špičky sterigmat a určité látky původně obsažené v tekutině vytváří na povrchu kapičky zmíněný pružný obal (Truong et al., 2007). Jako další úloha, kterou zastávají toxocysty, se jeví kromě získávání živin z háďátek také ochranná funkce proti fungivorním háďátkům a jiné mikrofauně (Barron, 2003).

Stropharia rugosoannulata

Klasifikace (www 7):

Říše (Regnum): *Fungi*

Kmen (Phylum): *Basidiomycota*

Třída (Classis): *Agariomycetes*

Podtřída (Subclassis): *Agariomycetidae*

Řád (Order): *Agaricales*

Čeleď (Familia): *Strophariaceae*

Rod (Genus): *Stropharia*

Tato houba roste v lese, na loukách, kompostech, zvířecím hnoji (Luo et al., 2006), či nepříliš hojně na kůře a rozkládající se slámě v zahradách, parcích a na loukách. Jedná se o americký druh pěstovaný na zahradách (Antonín, 2006). Tato houba může produkovat buňky nazývané akantocyty (Farr, 1980), které působí jako lapací zařízení hád'átek (Luo et al., 2006). Ačkoli je tato houba predačně velmi účinná, není v půdě příliš saprofytický konkurenceschopná, neboť růst mycelia a tvorba akantocytů je energeticky náročný proces a je houbou upřednostňován před predací (Gray, 1987). Aby byla *S. rugosoannulata* na poli účinná, je potřebné ji do půdy dodat v dostatečném množství (Poppe, 2000).

3.3 Škodlivost

Hád'átka jsou škodlivé organismy způsobující celosvětově v zemědělství velké ztráty (Oka et al., 2000). Barker (1998) uvádí, že hád'átka celosvětově v zemědělství a lesnictví každoročně způsobují ztráty dosahující 78 miliard dolarů.

Cystotvorná hád'átka mají relativně rychlý reprodukční cyklus, vysokou reprodukční kapacitu a nízký práh škodlivosti (Davies and Spiegel, 2011). Jako kritické množství se uvádí 20 – 40 cyst na 100 g půdy, což znamená 1000 – 1500 vajíček nebo larev (Kazda a kol., 2010).

Poškození se projevuje krněním rostliny, její bledší barvou a za horkých dní horší schopností obnovit turgor. Spodní listy postupně žloutnou, klesají k zemi a následně odumírají. Srdéčkové listy nadále rostou, jejich vývoj je však zpomalen. Pokud není napadení příliš velké, napadené řepy na podzim obnovují svůj růst. Při sklizni však nejsou zcela vyzrálé. To dokazují i svěže zelené srdéčkové listy. Následkem nevyzrálosti může při skladování docházet k hnilobám (Stoklasa a Vaňha, 1985). Na kořenovém systému se

poškození projevuje zkrácením hlavního kořene a celerovitostí. Bulvy mají mnoho postranních kořínků se zachycenými samicemi nebo cystami. Dochází k tzv. voustatosti řepy. Napadení bývá ohniskovité a klesá při něm cukernatost kořene (www 2).

3.4 Ochrana

V boji proti fytoparazitickým hád'átkům lze použít pesticidy (nematicidy), nicméně ty mohou způsobit řadu dalších problémů, jako je znečištění životního prostředí a zanechání dlouhodobých reziduí v půdě. Z těchto důvodů je snaha o vyvinutí kvalitních biologických prostředků kontroly a to formou biologických agens, jako jsou právě nematofágní houby (Siddiqui and Mahmood, 1996; Nordring-Hertz et al., 2011; Yang et al., 2007)

U specifických parazitů však bývá problém, že významně redukuje populaci hád'átek teprve, pokud jejich populace dosahuje vysoké hustoty. Jako další problém u typu této regulace může být i fakt, že některé houby nezabrání hád'átkům v napadení rostlin, neboť parazitují až na jejich vajíčkách (Davies and Spiegel, 2011).

Předpokladem úspěšné ochrany je nevytvářet příznivé podmínky pro fytoparazitická hád'átka. V tomto případě se jedná především o zajištění nepřítomnosti hostitelských rostlin, lépe řečeno jejich likvidaci, pokud se jedná o plevele, tj. merlíky (*Chenopodium* spp.), lebedy (*Atriplex* spp.), ředkev ohnici (*Raphanus raphanistrum*), hořčici (*Sinapis* spp.), kokošku pastuší tobolku (*Capsella bursa pastoris*) (Kazda a kol., 2010), ptačinec obecný (*Stellaria media*), pampelišku (*Taraxacum* spp.), lilek obecný (*Solanum nigrum*), či hluchavku objímavou (*Lamium amplexicaule*) (Stoklasa a Vaňha, 1985). Pokud se jedná o jiné hostitelské rostliny, pěstované plodiny, je nevhodné pěstovat je před cukrovou řepou (*Beta vulgaris* var. *altissima*). Jedná se o opakované pěstování cukrové řepy na stejném pozemku, pěstování řepky olejně (*Brassica napus* subsp. *napus*) nebo jiné brukvovité předplodiny. Naopak je vhodné zařazovat do osevního postupu „nepřátelské rostliny“, jakými jsou např. žito seté (*Secale cereale*), kukuřice setá (*Zea mays*), vikev setá (*Vicia sativa*), hrách setý (*Pisum sativum*), koňský bob (*Vicia faba*), cibule kuchyňská (*Allium cepa*) nebo česnek kuchyňský (*Allium sativum*) (Kazda a kol., 2010).

Jako další preventivní opatření je vhodné provádět zelené hnojení, díky kterému dojde ke zvýšení půdní mikrobiální aktivity a tím podpoře antagonistů fytoparazitických hád'átek (Lee, 2002). K závěru, že existuje korelace mezi potlačením výskytu *H. schachtii* a mikrobiální aktivitou půdy dospěli rovněž Borneman and Becker (2007).

Významně lze také omezit výskyt háďátek aplikací kompostu. To ve své práci potvrdili Renčo et al. (2007), kdy do květináčů smíchali půdu infikovanou cystami rodu *Globodera* s kompostovanou zemínou. Výzkum prokázal, že všech pět typů kompostu (a různě koncentrovaného) potlačilo do různé míry výskyt vajíček i larev háďátek rodu *Globodera*. Další studie toto zjištění potvrzují a dodávají, že tímto způsobem dochází k podpoře užitečných volně žijících háďátek (McSorley and Frederick, 1999) jako je *Rhabditidae* a *Cephalobidae*, což jsou saprofytická háďátka (Hunt et al., 1973). Díky dodání organického materiálu dochází rovněž k podpoře odolnosti rostlin proti napadení háďátky díky stimulaci růstu rostlin a jejich kořenů (Renčo et al., 2007). Kaplan and Noe (1993), Ryckeboer and Coosemans (1996a), Sharma et al. (1997), Verma et al. (1997), Riberio et al. (1998) a Chen et al. (2004) ve svých studiích dokazují, že přidáním kompostu nejen že dojde ke snížení početnosti populace háďátek, ale rovněž ke zvýšení výnosu. Tyto pozitivní účinky kompostu však nebyly zaznamenány u všech typů kompostu použitých v jiných studiích, jak dokládají Szczech et al. (1993), McSorley et al. (1997), či Zhao et al. (2003). Významné snížení populace *Heterodera schachtii* při pěstování v kompostované zemině zaznamenal rovněž Schlang (1993) a Ryckeboer and Coosemans (1996b). Zaznamenali také snížení pohyblivosti J2 larev u *H. schachtii* při pěstování rostlin v kompostované zemině.

Pro potlačení výskytu fytoparazitických háďátek lze také uplatnit nematocidy, avšak v praxi se tato přímá chemická ochrana neprovádí. Na trhu se však již vyskytují tolerantní nebo rezistentní odrůdy (Kazda a kol., 2010).

V minulosti se jako nejúčinnější metoda jevila metoda pěstování vyhlazovacích rostlin, při které se na husto vysévaly druhy bohatě kořenících hostitelských rostlin. Většinou se jednalo o jarní řepici nebo řepku. Tyto rostliny byly vysévány 10. – 15. dubna a porost byl likvidován 20. – 30. května. Tento proces se mohl opakovat v závislosti na intenzitě napadení. Podstatou této metody bylo vyprovokovat larvy k líhnutí a napadení vyhlazovacích rostlin, které byly ve vhodném termínu zaorány, čímž došlo k zaschnutí kořínků, na kterých již larvy parazitovaly a jejich následnému úmrtí (Stoklasa a Vaňha, 1985).

4 Metodika

V pokusu byl testován alternativní způsob ochrany proti *H. Schachtii* na citlivé odrůdě cukrové řepy Alpaca. Ochrana byla založena na základě aplikace nematofáních hub. Konkrétně byly použity houby *Dactylella oviparasitica*, *Pleurotus ostreatus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Lecanicillium muscarium*, a *Arthobotrys oligospora* (směs izolátů a izoláty A5/10 a A10/10) a Gliorex obsahující *Clonostachys rosea* a *Trichoderma harzianum*.

4.1 Extrakce cyst z půdy

Cysty pro pokus byly částečně získány z půdy z pole, na kterém byl zaznamenán výskyt *H. schachtii*, a částečně z infikovaných rostlin cukrové řepy, jež byly pěstovány v květináčích ve skleníku.

Půda obsahující cysty, byla nejdříve vysušena a následně proplavena ve Fenwickově konvi (obrázek 15), kde došlo k oddělení cyst od podstatné části půdy a jejich zachycení spolu s dalšími organickými a anorganickými materiály na sítku (Southey, 1986) o velikosti ok 0,255 mm. Následně byly cysty vybírány a ukládány do 2 ml mikrozkušavky typu Eppendorf těmito způsoby:

1) Vybíráním cyst pod binolupou OLYMPUS SZ 61

Při tomto způsobu vybírání cyst dochází k vybírání cyst pomocí nematologické jehly (obrázek 16).

2) Nasáváním

Sítka s vyplavenými cystami bylo ponecháno k vyschnutí. Následně byly cysty vybírány pomocí Zařízení pro manuální sběr cyst fytoparazitických hádčatek druhu *Globodera rostochiensis* (obrázek 18) a nasávány do 50 ml zkumavky.

3) Odvalováním

Proplavený suchý materiál ze sítka byl rozprostřen na horní část nakloněné roviny, jež byla umístěna na třepačce IKA KS 260 basic (obrázek 17), která byla zapnuta na 320 RPM. Zároveň byl proplavený materiál pro vyšší výtěžnost cyst protírán štětečkem. Díky citrónkovitému tvaru cyst došlo k jejich skutálení do Petriho misky umístěné pod třepačkou.

4.2 Napěstování hub

Jednotlivé houby byly pěstovány a udržovány na pevném mediu složeném z ovesného agaru (72 g/l) (obrázek 19), na který byly následně naočkovány (obrázek 20). Kultivovány byly v termoboxu při teplotě 23°C.

Pro pokusy bylo mycelium množeno v tekutém kultivačním mediu (obrázek 21) o složení Malt Extract Powder, Refined (30 g/l) + Peptone Bacteriological (5 g/l) při teplotě 24 °C.

4.2.1 Příprava mycelia pro pokusy

Vysterilizované a vychladlé medium z Malt Extract Powder, Refined a Peptone Bacteriological, bylo umístěno do Erlenmeyerových baněk s disruptory a naočkováno zkoumanými druhy hub. Erlenmeyerovy baňky byly umístěny na třepačku IKA KS 260, která byla nastavena na 160 RPM a byly zde ponechány při teplotě 24°C 14 dní, během kterých mycelium jednotlivých druhů hub dostatečně narostlo.

Následně bylo mycelium promyto pod tekoucí vodou v sítku o průměru ok 0,040 mm (obrázek 22) a naředěno destilovanou vodou v poměru 1:1 (s výjimkou Gliorexu, který nebyl promýván). Naředěné mycelium (obrázek 23) bylo namixováno přístrojem Ultra turax IKA (obrázek 24) při 8 000 otáčkách a tím připraveno k inokulaci.

4.3 Nádobový pokus

Skleníkový pokus byl založen do květináčů o objemu 500 ml. Pokus byl založen v 9 variantách a 7 opakováních. Pro pokus byla použita autoklávovaná půda při teplotě 121°C po dobu 20 minut.

Do každého květináče byla zaseta do hloubky cca 2 cm 3 semena cukrové řepy. Na dno každého květináče byl umístěn čtvereček z netkané textilie, aby se zabránilo propadání hlíny. Na textilií byla vložena cca 1,5 cm vrstva půdy, na kterou bylo vloženo 5 plných cyst (obrázek 25), které byly následně zasypány půdou. Následně byl každý květináč zalit 20 ml mycelia (obrázek 26).

Rostliny byly pěstovány v izolátoru Japan po dobu 5 měsíců (obrázek 27). Rostly tedy v neřízených podmínkách, které byly ovlivněny venkovním počasím. Řízena byla pouze zvlaha.

Pokus bys vyhodnocen na základě vyplavení cyst z půdy a jejich následným vybráním ze sítka pomocí nematologické jehly a binolupy OLYMPUS SZ 61. Výsledky byly poté statisticky vyhodnoceny (viz kapitola 4.5).

4.4 Sklíčková kultura

Sklíčková kultura byla založena na podložních sklíčkách vybavených mikrojamkami pro tesování živých kultur v 9 variantách, ve 4 opakováních (obrázek 30). Do každého sklíčka bylo umístěno 25 živých larev *H. schachtii*, 15 μ l připraveného mycelia a 500 μ l okysličené vody. Mortalita larev byla vyhodnocována každých 24 hodin počítáním pod binolupou OLYMPUS SZ 61.

4.4.1 Líhnutí a příprava larev

Nejdříve bylo zjišťováno, v jakých podmínkách se larvy líhnou nejlépe. Jejich líhnutí bylo zkoušeno v čisté vodě a v difuzátech z ředkvičky seté a cukrové řepy. Difuzáty byly připraveny v 50 ml zkumavkách, jež byly z 1/2 vysypány skleněnými vysterilizovanými kuličkami, které byly zalaty destilovanou vodou. Na povrch skleněných kuliček byla umístěna 3 semena. Rostliny do 1 týdne při teplotě 24°C vyrostly a vytvořily difuzáty. Nebyly však zaznamenány přílišné rozdíly v množství vylíhlých larev, tudíž larvy pro pokus byly líhnuty v čisté okysličené vodě.

Cysty získané vyplavením byly nadrceny (obrázek 35) a umístěny na šikmé sítko s průměrem ok 0,03 mm (obrázek 31), které bylo umístěno v zaparafilmané Petriho misce. Zde bylo sítko ponecháno při teplotě 24°C 14 dní. Za tuto dobu se vylíhlo dostatečné množství larev pro pokus.

Některé larvy však byly mrtvé, proto byla pro jejich oddělení od živých larev uplatněna **Baermannova metoda**:

Do nálevky zakončené hadičkou a uzavřené tlačkou bylo vloženo sítko a jedna vrstva papírového kapesníčku, do kterého se nalila voda s vylíhlými larvami. Do nálevky byla dolita voda tak, aby byl kapesníček ponořen (obrázek 32). Takto byla nálevka ponechána 16 hodin. Za tu dobu živé larvy pronikly do spodní části hadičky, odkud je bylo možné odpustit do kádinky (Baermann, 1917).

Příprava pokusu

Takto získané larvy byly následně promyty v 1,5 ml zkumavkách typu Eppendorf v centrifuze 4x destilovanou vodou a 2x okysličenou vodou při otáčkách 8000 RFC po dobu 10 minut. Promývání probíhalo tak, že po proběhnutí centrifugačního cyklu bylo odebráno ze zkumavky polovina objemu vody (750 µl). Stejný objem byl následně do zkumavky opět napipetován a celý proces se opakoval, dokud nebyly larvy dostatečně promyty a připraveny pro použití na sklíčkový pokus.

Tento pokus byl založen po dobu 6 dní, během nichž každých 24 hodin probíhalo pomocí světelné mikroskopie na přístrojích OLYMPUS SZ 61 a NIKON TMS (obrázek 33) počítání živých a mrtvých larev a následné zaznamenání a vyhodnocení výsledků.

4.5 Statistické vyhodnocení

Výsledky byly zhodnoceny ve statistickém programu STATISTICA 12 na hladině průkaznosti $\alpha=0,05$.

4.5.1 Nádobový pokus

Výsledky byly vyhodnoceny pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA).

4.5.2 Sklíčková kultura

Získaná data byla převedena na % mortality (tabulka 2), aby bylo dosaženo Gaussova rozdělení. Procentuální data byla transformována pomocí arcsin root square values metody podle vzorce:

$$y = \arcsin \sqrt{\frac{x}{100}}$$

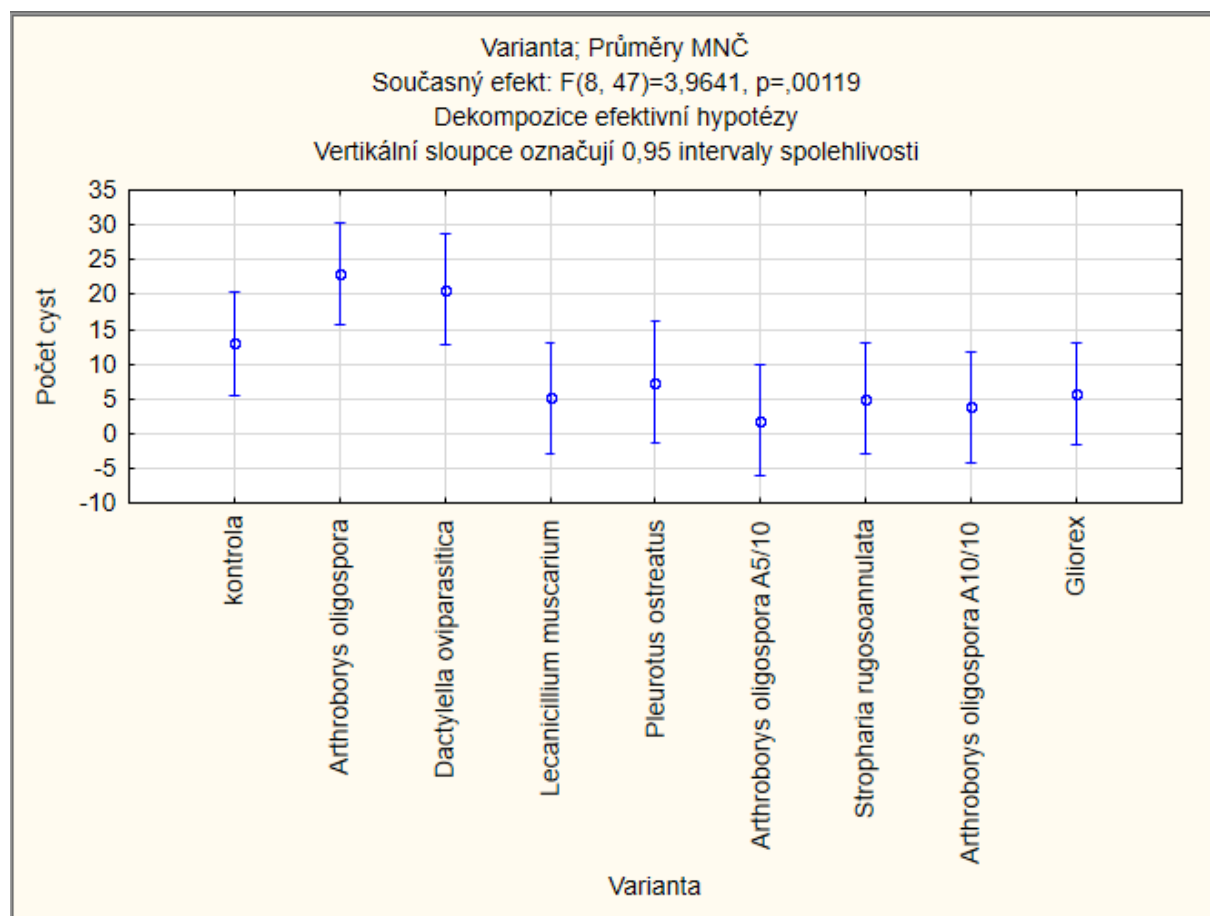
Tranformovaná data byla vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu.

5 Výsledky

5.1 Nádobový pokus

Pro nádobový pokus bylo třeba získat cysty. Ty lze získat jednou z 3 výše uvedených metod. Jako nejméně účinná metoda se projevilo získávání cyst pomocí odvalovací metody, neboť zmíněná metoda byla primárně vynalezena pro získávání kulovitých cyst *Globodera rostochiensis* a *H. schachtii* má cysty citrónkovitého tvaru, které se poměrně neochotně odvalovaly do sběrné Petriho misky. Vybírání cyst pomocí nasávání se jeví jako nejrychlejší metoda, avšak mnohé cysty se přilepily na stěny sběrné hadice, a spolu s cystami se do sběrné zkumavky dostaly i další nečistoty. Vybírání cyst pod binolupou bylo časově nejnáročnější, avšak nedocházelo zde k žádným ztrátám a vybraný materiál neobsahoval další nečistoty.

Po proplavení půdy, v níž byla pěstována cukrová řepa v izolátoru typu Japan, byly vyplaveny cysty (tabulka 1). Statistické vyhodnocení je vidět na grafu 1.



Graf 1 Statistické vyhodnocení nádobového pokusu

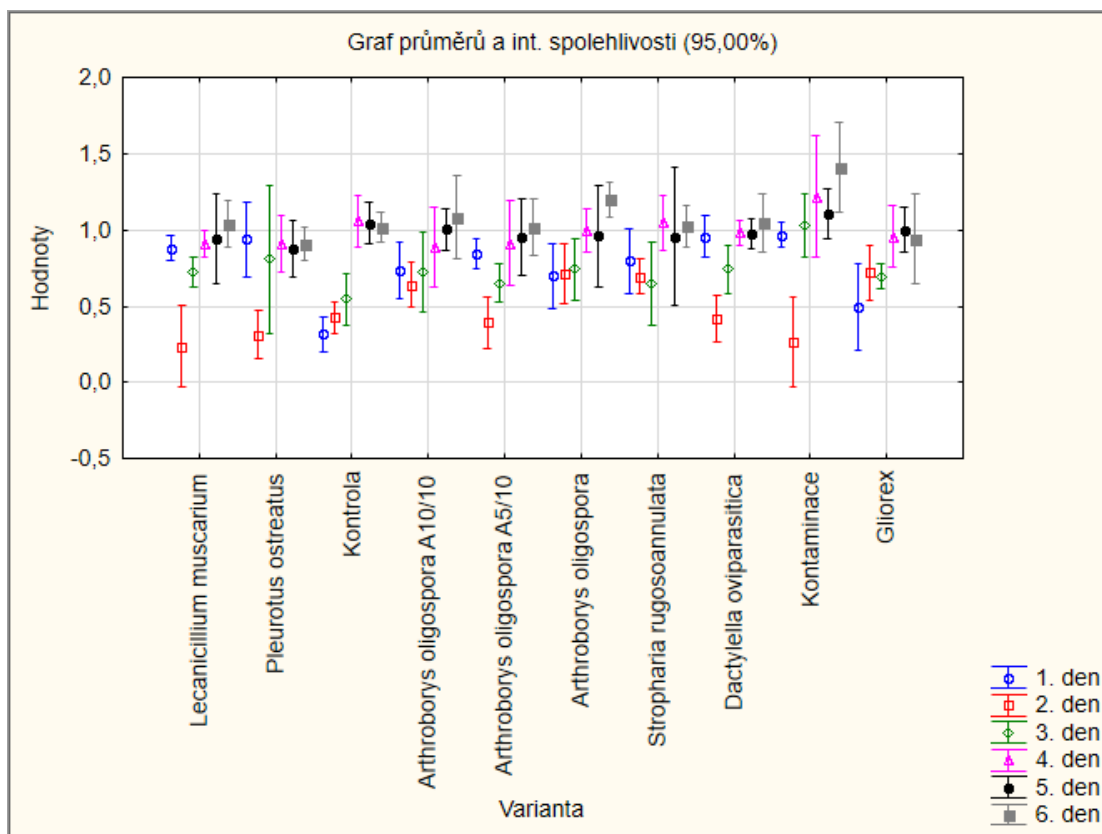
Na grafu 1 nejsou sledovány žádné statisticky významné rozdíly. Je ovšem sledován trend snížení počtu cyst vzhledem k neošetřené kontrole a to v případě všech aplikovaných hub s výjimkou houby *Dactylella oviparasitica* a *Arthrobotrys oligospora*. Z grafu je také patrné, že jednotlivé izoláty *Arthrobotrys oligospora* mají rozdílnou účinnost. *Arthrobotrys oligospora* A5/10 má téměř totožnou účinnost jakko *Arthrobotrys oligospora* A10/10. Účinnost těchto izolátů se však výrazně liší od účinnosti směsi izolátů této houby.

5.2 Sklíčková kultura

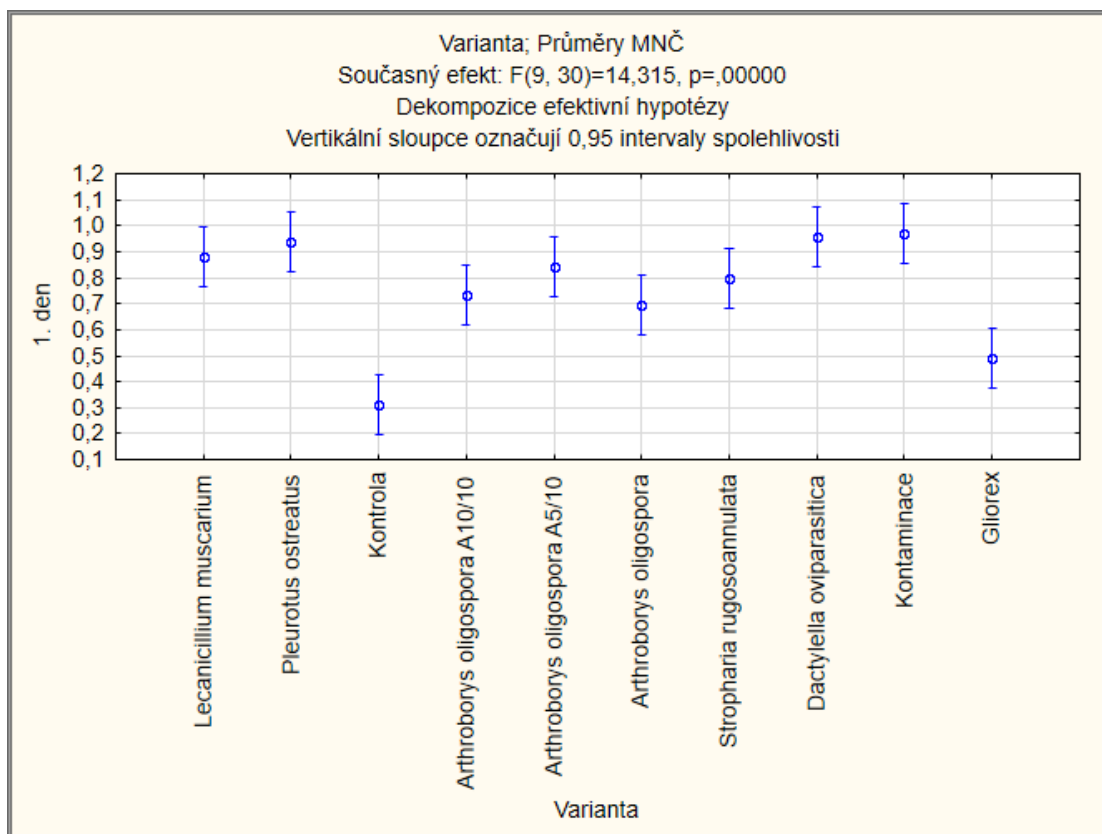
V této části experimentu byla každý den pokusu zjišťována mortalita J2 larev (obrázek 34), které byly pro pokus předlíhnuté. Líhnutí probíhalo v difuzátech a okysličené vodě, avšak nebyly zaznamenány žádné rozdíly v líhnutí. Množství vylíhlých larev se lišilo v závislosti na ročním období, kdy se od října larvy líhly ve velmi malém množství. Průměrně se ze 40 cyst vylíhlo 15 larev. Larvy se začaly opět líhnout v lednu, když byly cysty nejméně týden umístěny v ledničce, která imitovala zimní období. Je tedy pravděpodobné, že *H. schachtii* má „vnitřní biologické hodiny“, které jí znemožňují líhnutí larev před zimním obdobím.

Při napěstování mycelia došlo ke kontaminaci houby *Dactylella oviparasitica*, čímž došlo k napěstování neznámého druhu houby. Pro zajímavost bylo v pokusu pokračováno i s touto houbou, která je ve výsledcích označena jako Kontaminace.

Na základě statistického vyhodnocení je patrné, že statisticky významné rozdíly mezi zkoumanými variantami jsou pouze první 2 dny. 3. den je zaznamenán statisticky významný rozdíl pouze u kontaminované varianty. Po zbytek dní pokusu není zjištěn mezi žádnou variantou a kontrolou žádný statisticky významný rozdíl. Toto zjištění vyplývá z grafu 2.



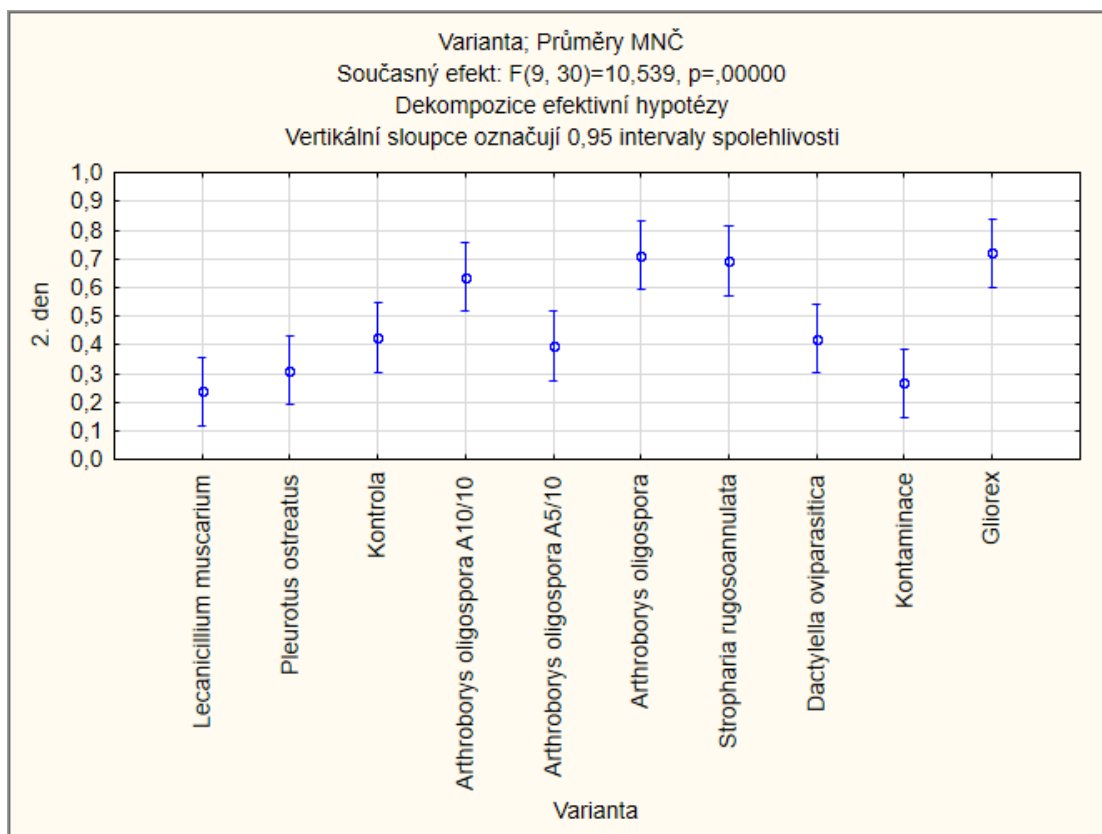
Graf 2 Zhodnocení významnosti variant v průběhu pokusu



Graf 3 Sklíčková kultura - 1. den

Z Graf 3 lze vyčíst, že první den byl patrný výrazný statisticky významný rozdíl v působení na mortalitu J2 larev u všech variant, až na variantu s Gliorexem. Nejvýrazněji na vylíhlé larvy působila neznámá houba – Kontaminace, následně *Dactylella oviparasitica* a *Pleurotus ostreatus*.

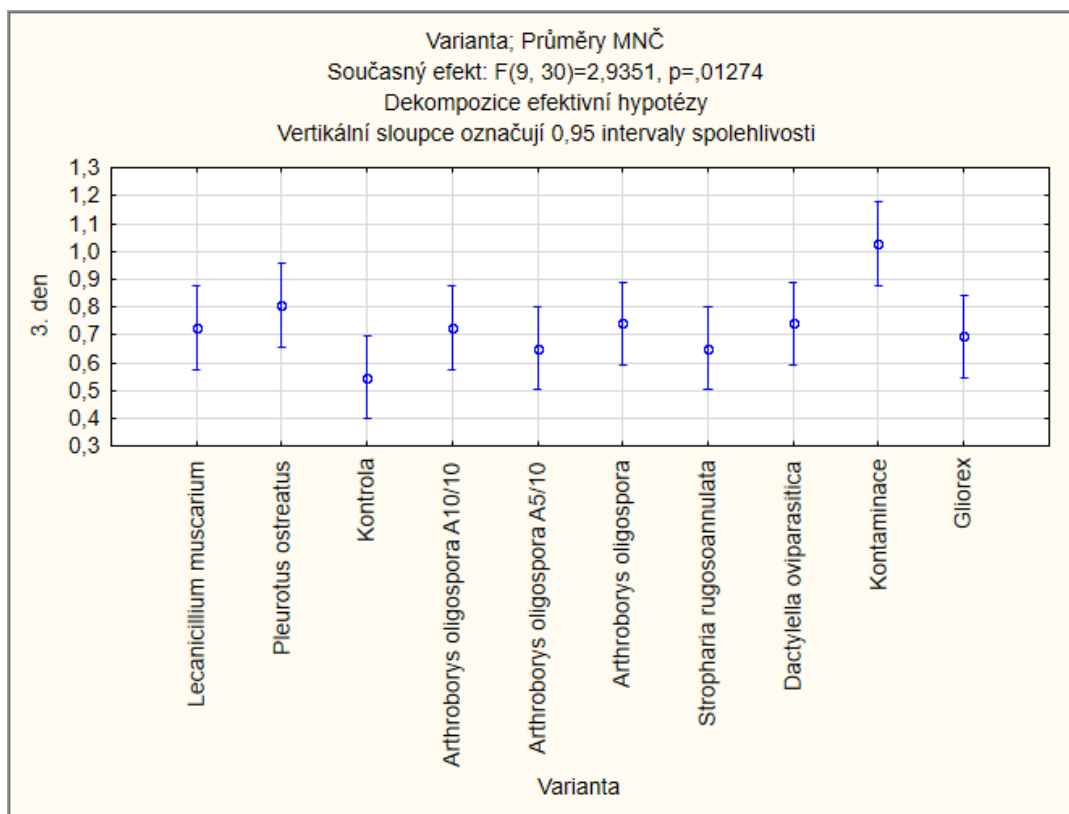
První den pokusu nebyl příliš zřetelný rozdíl v působení jednotlivých izolátů *A. oligospora*, avšak jako nejvíce účinný se projevil izolát A5/10.



Graf 4 Sklíčková kultura - 2. den

Druhý den pozorování (graf 4) byly zaznamenány statisticky významné rozdíly pouze u Gliorexu, *Arthrobotrys oligospora* a *Stropharia rugosoannulata*. Ostatní varianty se svou účinností neprojevily jako statisticky významné a s výjimkou *Arthrobotrys oligospora* A10/10 nedošlo ke zvýšení mortality larev oproti kontrolní variantě.

Z grafu je patrné, že různé izoláty jednoho druhu hub mají odlišnou účinnost. Oproti 1. dni pokusu došlo k prohloubení rozílů v účinnosti jednotlivých variant. Jako nejúčinnější se zde projevila směs izolátů *Arthroborys oligospora*, méně účinná byla *A. oligospora* A10/10 a jako nejméně účinná se projevil izolát houby *A. oligospora* A5/10.



Graf 5 Sklíčková kultura - 3. den

Třetí den pozorování (graf 5) byl zaznamenán statisticky významný rozdíl pouze u kontaminované varianty. U ostatních variant byla zaznamenána pouze nepatrně vyšší mortalita J2 larev. Jednotlivé izoláty *Arthrobotrys oligospora* se již neprojevovaly příliš rozdílným účinkem.

5.3 Nádobový pokus vs. sklíčková kultura

Při porovnávání účinnosti jednotlivých variant ve sklíčkové kultuře a nádobovém pokusu jsou zřejmé rozdíly v účinnosti jednotlivých druhů hub. Z výsledků rovněž vyplývá, že na účinnost mají vliv také podmínky, ve kterých je pokus prováděn (nádobový pokus x sklíčková kultura).

V nádobovém pokusu vyšlo, že aplikace jednotlivých hub není pro ochranu příliš účinná. Ve sklíčkové kultuře se však všechny druhy hub, včetně *Dactylella oviparasitica* a *Arthrobotrys oligospora*, u kterých v nádobovém pokusu došlo ke zvýšení počtu cyst, projeví jako účinné.

6 Diskuse

Nematofágní houby jsou živé organismy, tudíž jejich účinnost a výskyt jsou silně ovlivněny podmínkami, ve kterých se vyskytují. Z tohoto důvodu může být jejich účinnost a chování značně rozdílné.

6.1 Líhnutí larev pro sklíčkovou kulturu

Ovlivnitelnost *H. schachtii* okolními podmínkami se projevila již při přípravě sklíčkové kultury, kdy se jako významný líhnoucí faktor projevilo roční období, neboť od jara až do srpna se larvy ochotně líhly. Od října se larvy téměř přestaly líhnout (v průměru se ze 40 cyst vylíhlo 15 larev). Opětovné líhnutí larev nastalo v lednu. Není však známo, zda se larvy začaly líhnout díky změně ročního období nebo následkem teplotního šoku, který utrpěly, neboť byly na 1-3 týdny umístěny do chladničky. U cyst, které byly v chladničce uloženy 1 týden, byl zaznamenán vyšší počet vylíhlých larev, oproti cystám, které byly stále v pokojové teplotě. Ještě vyšší počet vylíhlých larev byl zaznamenán u cyst, které byly v chladničce 2 týdny. U cyst umístěných v chladničce 3 týdny bylo zaznamenáno největší množství vylíhlých larev.

Vzhledem k problematickému líhnutí larev, byla zkoušena také podpora líhnutí larev pomocí rostlinných difuzátů z ředkvičky seté a cukrové řepy. Nebyl však zaznamenán žádný významný rozdíl v množství vylíhnutých larev v okysličené vodě a difuzátech. Tento závěr je v rozporu s tvrzením Khan (1985), který uvádí, že ačkoli se velké množství larev *H. schachtii* líhne v čisté vodě, ještě více larev se vylíhne ve vodě s kořenovými difuzáty.

6.2 *Dactylella oviparasitica*

Vliv půdních podmínek na účinnost nematofágních hub dokládá pokus Yin et al. (2003), ve kterém byla z půd, kde byl výskyt *H. schachtii* nejvíce potlačen, zjištěna v cystách přítomnost houby *Dactylella oviparasitica*. Nematofágní účinky *Dactylella oviparasitica* potvrdili také Olatinwo et al. (2006a), kteří zmíněnou houbu indikovali na supresivních půdách. Naopak na půdách, které nebyly supresivní, nebyla tato houba téměř detekovatelná.

Na základě těchto zjištění Olatinwo et al. (2006b) založili nádobový pokus, v němž inokulovali houbou *Dactylella oviparasitica* fumigovanou půdu. Za 11 týdnů došlo ke stejnému potlačení háďátek (82 %), jako na supresivních půdách. Při pokračování pokusu trvajícím dalších 5 týdnů, bylo zjištěno, že *H. schachtii* byla v nádobovém pokusu potlačena

z 98 % a v nefumigovaných půdách byla potlačena z 94 – 97 %. Tento trend zvyšující se účinnosti podpořili Stirling and Mankau (1979), když prokázali, že čím delší dobu je *Meloidogyne* v kontaktu s *D. oviparasitica*, tím se zvyšuje množství napadených vajíček. Zmíněné zjištění je však v rozporu s výsledky této práce, neboť v nádobovém pokusu trvajícím 5 měsíců došlo oproti kontrole k nárůstu množství cyst.

Rozdílné působení *D. oviparasitica* je očividné i při porovnání nádobového pokusu a sklíčkové kultury, jež byly prováděny v této práci, neboť v nádobovém pokusu vyšlo rozdílné působení *D. oviparasitica* na *H. schachtii* oproti sklíčkové kultuře. Účinnost houby *D. oviparasitica*, jež se projevila první den pokusu sklíčkové kultury, je v souladu se zjištěním Stirling and Mankau (1979), kteří u háďátka rodu *Meloidogyne* zaznamenali, že hyfy začínají pronikat do vajíčka již 18 hodin po inokulaci a po 60 hodinách bylo možno ve vajíčkách pozorovat viditelné hyfy. Účinnost této nematofágní houby dokazují rovněž výsledky třídního sklíčkového pokusu Zouhara a kol. (2010), kteří uvádí, že *D. oviparasitica* zabíjí kolem 40 % háďátek *Ditylenchus dipsaci*, kolem 21 % *Globodera rostochiensis* a kolem 41 % *Meloidogyne hapla*.

6.3 *Lecanicillium muscarium*

Lecanicillium muscarium se v nádobovém pokusu prokázalo jako účinné, neboť došlo oproti kontrolní variantě ke snížení počtu cyst, avšak tento výsledek nebyl statisticky významný. Účinností druhu této houby se zabývali Shinya et al. (2008) na *Heterodera glycines* a zjistili, že určité kmeny inhibují líhnutí larev z vyvinutých vajíček. Jiné kmeny působí nematocidně díky prokázané vysoké toxicitě vůči vajíčkům, ve kterých se nebyly schopny vyvinout J2 larvy. Většina kmenů působí nematocidně díky své schopnosti zneškodnit J2 larvy. V souladu s výsledky této práce potvrdili Uziel and Sikora (1992) na svém dvouměsíčním experimentu účinnost *L. muscarium* a u všech zkoumaných izolátů prokázali napadení cyst *Globodra pallida* konidii od 4 do 63 % cyst podle zkoumaného izolátu. Většina izolátů napadla 45-63 % cyst. Ještě vyšší účinnost zaznamenali Meyer and Huettel (1996), kteří zjistili 85% snížení množství cyst *H. glycine* oproti kontrolní variantě. Nižší účinnost *L. muscarium* byla zaznamenána při současné aplikaci sexuálních feromonů, které se používají ke znemožnění nalezení samičky samcem, neboť samec ji není schopen najít díky absenci přirozeného gradientu sexuálního feromonu. Při současném použití *V. lecanii*-vanilínová kyselina a *V. lecanii*-syringová kyselina, byla zaznamenána účinnost z 68 % a 80 %.

Ve sklíčkové kultuře byl zaznamenán rychlý nástup účinnosti, což dokazuje statisticky významná účinnost zjištěná první den pokusu. Toto tvrzení je v souladu se zjištěním Meyer and Wergin (1998), kteří zjistili, že *Lecanicillium muscarium* je schopné začít kolonizovat vajíčka háďátek během 16 hodin a do samiček začíná pronikat tělními otvory po 3 dnech od inokulace. Toto zjištění by mohlo být důvodem, proč byla třetí den pokusu zaznamenána zvýšená mortalita larev v porovnání s kontrolní variantou.

6.4 *Stropharia rugosoannulata*

Stropharia rugosoannulata je schopná imobilizovat volně žijící háďátka *Panagrellus redivivus* během několika minut a během 24 až 28 hodin je zcela degradovat. Během několika hodin je schopna imobilizovat *Bursaphelenchus xylophilus* (Luo et al., 2006). Toto zjištění je v souladu s výsledky této práce, neboť ve sklíčkové kultuře byla po první 2 dny zaznamenána statisticky významná mortalita larev. Rovněž Zouhar et al. (2013) potvrdili, že během prvního dne, konkrétně již po 4 hodinách od inokulace, znehybňuje *S. rugosoannulata* larvy a po 24 hodinách bylo v pokusu prokázáno znehybnění téměř 100 % larev. K obdobnému výsledku dospěli také Luo et al. (2006), kteří zaznamenali, že dojde ke znehybnění 90 % *Bursaphelenchus xylophilus* již po 15 minutách v blízkosti mycelia této houby.

Stropharia rugosoannulata je velmi účinná v laboratorních podmínkách, avšak v polních podmínkách je znevýhodněna svou nižší konkurenceschopností, což je dáno tím, že tvorba akanthocytů je energeticky náročná, stejně jako tvorba mycelia (Gray, 1987). Tato houba se neprojevila jako příliš významný bioregulátor ani v nádobovém pokusu prováděném v této práci.

6.5 *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus ostreatus se v nádobovém pokusu neprojevila jako příliš účinná biologická kontrola proti *H. schachtii*. Došlo ke snížení množství cyst, avšak tento rozdíl nebyl oproti kontrole statisticky významný. Ve sklíčkové kultuře se *P. ostreatus* projevila jako účinná, neboť první den došlo ke zjištění statisticky významné mortality, respektive nehybnosti larev. Následující dny již nebyly účinky statisticky významné. Zjištěný rychlý znehybňující účinek podporují výsledky pokusu Barron and Thorn (1987), kteří zaznamenali, že ke znehybnění larev dojde během 30 sekund až několika minut. To je v souladu se zjištěním Truong et al. (2007), kteří udávají, že ke znehybnění larev dojde během 50 – 60 sekund působením toxocyst. Pokud se však larvy dostanou mimo působení toxinů, například umístěním do čisté

vody, dojde k vymizení účinků toxocyst a larvy opět začnou vegetovat. Absence toxinů tedy může být příčinou snížené účinnosti v dalších dnech pokusu a hlavní příčinou zjištěné mortality může být pouze přirozená mortalita larev. Toto tvrzení je však v rozporu s Kwok et al. (1992), kteří tvrdí, že účineky jednu jsou nevratné.

Larvy nejsou schopny opětovného vegetování ani po umístění do čisté vody, pokud se k ošetření použije extrakt z plodnic hub. V tomto případě je zaznamenána úmrtnost u háďátek různých rodů při použití *Pleurotus ostreatus* 77 %. Jako ještě účinnější se projevila *P. florida* s 99% mortalitou háďátek a se 100% mortalitou *P. citronopileatus* (Khan et al., 2014).

6.6 *Arthobotrys oligospora*

Tato houba se v nádobovém pokusu nejevila jako účinná biologická ochrana, neboť nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly oproti kontrole a ve variantě směsi izolátů došlo k navýšení počtu cyst oproti kontrolní variantě. Ve sklíčkové kultuře však byla vyhodnocena, jako významná nematofágní houba, neboť první den se jevily jako statisticky významné oproti kontrole oba izoláty, stejně jako směs izolátů této houby. Druhý den se jako statisticky významná svým nematofágním účinkem jevila pouze směs izolátů, což může být dáno širším spektrem enzymů, jež produkují jednotlivé izoláty. Nicméně ve shodě s našimi výsledky ze sklíčkové kultury Zouhar a kol. (2010) uvádí, že je tato houba schopná zabít téměř 97 % larev *Ditylenchus dipsaci*. Ještě vyšší účinnost byla prokázána u háďátek *Globodera rostochiensis*, kde byla zaznamenána průměrná mortalita 100 %. Nižší účinnost se projevila u *Meloidogyne hapla*, kde bylo prokázáno napadení téměř 80 %. Tyto výsledky byly zaznamenány při třídenním sklíčkovém pokusu. Timper and Brodie (1993) prokázali také účinnost na háďátko *Pratylenchus penetrans*. Zouhar et al. (2013) zaznamenali účinnost této houby již po jejím 4 hodinovém působení od inokulace. Za stejnou dobu působení se však jako účinnější projevila *Stropharia rugosoannulata*.

6.7 Gliorex

Při aplikaci a následném vyhodnocení napěstované *Clonostachys rosea* a *Trichoderma harzianum* z přípravku Gliorex, nebyla v nádobovém pokusu zjištěna oproti kontrole statisticky významná účinnost, ačkolí Rodríguez (2006), či Maehara (2008) ve svých pokusech (viz níže) zjistili vysokou účinnost zkoumaných hub.

Ve sklíčkové kultuře se směs *Clonostachys rosea* a *Trichoderma harzianum* projevila jako statisticky významná až druhý den pokusu. První a třetí den byla zaznamenána vyšší

mortalita oproti kontrolní variantě, nejednalo se však o statisticky významné výsledky. Vysokou účinnost těchto hub zaznamenali rovněž Baloyi et al. (2011) (viz níže).

Clonostachys rosea

Baloyi et al. (2011) prokázali účinnost této houby na háďátcích parazitujících v ovcích. Při prováděném fekálním testu, při němž se ke zhomogenizovanému trusu přidala *C. rosea*, bylo zjištěno, že její účinnost se pohybuje od 44 do 69,9 %. Vyšší účinnost zmíněné houby autoři zaznamenali při druhém pokusu, v němž vyextrahovali larvy z trusu a následně je infikovali *C. rosea*. V tomto případě byla zaznamenána vyšší mortalita larev pohybující se mezi 62,7 a 89,3 %.

Trichoderma harzianum

Trichoderma harzianum se jeví jako účinná houba při ochraně proti háďátku borovicovému *Bursaphelenchus xylophilus*, neboť byla zaznamenána infekce 80 % inokulovaných brouků *Monochamus alternatus*, kteří následkem napadení touto houbou přenášejí méně larev *Bursaphelenchus xylophilus* Maehara (2008). Při pěstování zeleniny se tato houba projevila jako účinný bioregulátor háďátek rodu *Meloidogyne* spp. Byla zjištěna 52 – 82% úspěšnost oproti kontrole (Rodríguez, 2006). Při napadení rajčat *Meloidogyne* spp. byla prokázána účinnost mnoha izolátů *T. harzianum*. Jako další pozitivní účinek bylo zaznamenáno zvýšení růstu rostlin (Dababat et al., 2005).

Rovněž další druhy rodu *Trichoderma* spp. mají nematocidní účinky na *Meloidogyne incognita*. *Trichoderma asperellum* je schopná potlačit na rajčeti J2 larvy až z 80 %. *Trichoderma brevicompactum* je schopná snížit produkci vajíček až o 86 % a následkem toho zvýšit produkci až o 30 %. Ještě většího účinku dosahuje *T. asperellum* na mrkvi, kdy dochází až k 94% snížení J2 larev v porovnání s kontrolní variantou (Affokpon et al., 2011).

7 Závěr

Tato diplomová práce se zabývala jedním z alternativních způsobů ochrany cukrové řepy proti *H. schachtii*.

Na základě výsledků bylo zjištěno:

- Působení hub se liší v závislosti na podmínkách, ve kterých byly pokusy prováděny. Vyšší nematofágní účinnost byla prokázána ve sklíčkové kultuře v porovnání s nádobovým pokusem. Lze tedy předpokládat, že v polních podmínkách se účinnost bude opět lišit a bude závislá rovněž na množství aplikovaného inokula.
- Rychlost působení jednotlivých hub se odvíjí od mechanismu jejich účinku.
- Ve sklíčkové kultuře se všechny zkoumané druhy prokázaly významným nematofágním účinkem.
- Byly prokázány rozdíly v účinnosti jednotlivých izolátů *Arthrobotrys oligospora*.
- Významným nematofágním účinkem se projevila také varianta kontaminovaná neznámým druhem houby.

Tato závěrečná práce prokázala, že nematofágní houby mohou být považovány za potenciální úspěšné regulátory *H. schachtii*. Aby však byla zajištěna jejich spolehlivá účinnost v praxi, je třeba nadále pokračovat ve výzkumu.

8 Seznam použité literatury

Affokpon, A., Coyne, D. L., Htay, C.C., Agbèdè, R. D., Lawouin, L., Coosemans, J. 2011. Biocontrol potential of native *Trichoderma* isolates against root-knot nematodes in West African vegetable production systems. *Soil Biology and Biochemistry*. 43 (3). 600-608.

Ahman, J., Johansson, T., Olsson, M. et al. (2002) Improving the pathogenicity of a nematode-trapping fungus by genetic engineering of a subtilisin with nematotoxic activity. *Applied and environmental microbiology*. 68 (7). 3408-3415.

Antonín, V. 2006. Encyklopedie hub a lišejníků. Academia. Praha. 472 s. ISBN: 80-200-1476-4.

Askary, H., Carrière, Y., Bélanger, R. R., Brodeur, J. 1998. Pathogenicity of the fungus *Verticillium lecanii* to aphids and powdery mildew. *Biocontrol Science and Technology*. 8 (1). 23-32.

Atkinson H. J., Taylor, J. D., Ballantyne, A. J. 1980. The uptake of calcium prior to the hatching of the second-stage juvenile of *Globodera rostochiensis*. *Annals of Applied Biology*. 94 (1). 103-109.

Aumann, J. 1994. The chemical nature of the amphidial and 'excretory' system secretions of *Heterodera schachtii* (Nematoda: Heteroderidae). *Males. Fundamental and Applied Nematology*. 17 (2). 186-189.

Baermann, G. 1917. Eine einfache methode zur auffindung von ankylostomum (Nematoden) larven in erdproben. *Geneeskunding Tijdschrift voor Nederlandsch-Indië*. 57. 131-137.

Baloyi, M. A., Laing, M. D., Yobo, K. S. 2011. Isolation and in vitro screening of *Bacillus thuringiensis* and *Clonostachys rosea* as biological control agents against sheep nematode. *African Journal of Agricultural Research*. 6 (22). 5047-5054.

Barker, K. R. 1998. Introduction and synopsis of advancements in nematology. In: Barker, K. R., Pederson, G. A., Windham, G. L. (eds.). *Plant and nematode interactions*. American Society of Agronomy. Madison. 1-20. ISBN: 0-89118-136-9.

- Barron, G. L. 1969. Isolation and maintenance of endoparasitic nematophagous hyphomycetes. *Canadian Journal of Botany*. 47 (12). 1899-1902.
- Barron, G. L. 1977. *Nematode-Destroying Fungi*. Canadian Biological Publications. Guelph. p. 140. ISBN: 0920370004.
- Barron, G. L. 1982. Nematode destroying fungi. In: Burns, R. G., Slater, J. H. (eds.). *Experimental Micro- biological Ecology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 533-552.
- Barron, G. L. 2003. Predatory fungi, woody decay, and the carbon cycle. *Biodiversity*. 4 (1). 3-9.
- Barron, G. L., Thorn, R. G. 1987. Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. *Canadian Journal of Botany*. 65 (4). 774-778.
- Benhamou, N., Brodeur, J. 2001. Evidence for antibiosis and induced host defense reactions in the interaction between *Verticillium lecanii* and *Penecillium digitatum*, the causal agent of green mold. *Phytopathology*. 90 (9). 932-943.
- Betka, M., Grundler, F., Wyss, U. 1991. Influence of changes in the nurse cell system (syncytium) on the development of the cyst nematode *Heterodera schachtii*: Single amino acids. *Phytopatolgy*. 81 (1). 75-79.
- Bird, A. F., McClure, M. A. 1976. The *Tylenchid* (Nematoda) egg shell: structure, composition and permeability. *Parasitology*. 72 (1). 19-28.
- Borneman, J., Becker, J. O. 2007. Identifying microorganism involved in specific pathogen suppresion in soil. *Phytopathology*. 45 (1). 153-172.
- Brid, A. F., Brid, J. 1991. *The structure of Nematodes*. 2nd ed. Academic Press. San Diego. p. 316. ISBN: 978-0-12-099651-3.
- Bridge, J., Starr, J. L. 2007. *Plant Nematodes of Agricultural Importance: A Color Handbook*. Wiley-Blackwell. London. p. 152. ISBN: 978-1-84076-063-7.
- Brzeski, M. W., Hendricks, E. K. 1971. The overwintering and hatching of *Meloidogyne hapla* Chitw. *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*. 121. 235-244.

- Clarke, A. J., Cox, P. M., Shepherd, A. M. 1967. The chemical composition of the egg shells of the potato cyst nematode, *Heterodera rostochiensis* Woll. Biochemical Journal. 104 (3). 1056-1060.
- Clarke, A. J., Perry, R. N., Hennessy, J. 1978. Osmotic stress and hatching of *Globodera rostochiensis*. Nematologica. 24 (4). 384-392.
- Clarke, A. J., Shepherd, A. M. 1967. Flavianic acid as a hatching agent for *Heterodera cruciferae* Franklin and other cyst nematodes. Nature. 213. 419-420.
- Clemens, C. D., Aumann, J., Spiegel, Y., Wyss, U. 1994. Attractant-mediated behaviour of mobile stages of *Heterodera schachtii*. Fundamental and Applied Nematology. 17 (6). 569-574.
- Cooke, R. C. 1962. Behaviour of nematode-trapping fungi during decomposition of organic matter in soil. Transactions of the British Mycological Society. 45 (3). 314-320.
- Dababat, A. A., Richard A., Sikora, R. A., Hauschild, R. 2005. Use of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* for the biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato. Communications in agricultural and applied biological sciences. 71 (3 Pt B). 953-961.
- Dackman, C., Nordring-Hertz, B. 1992. Conidial traps – a new survival structure of the nematode trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. Mycological Research. 96 (3). 194 – 98.
- Davies, K., Spiegel, Y. (eds). 2011. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Building Coherence between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms. Springer. New York. p. 311. ISBN: 978-1-4020-9647-1.
- Den Nijs, L. J. M. F., Lock, C. A. M. 1992. Differential hatching of the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. Pallida* in root diffusates and water of differing ionic composition. European Journal of Plant Pathology. 98 (2). 117-128.
- Dik, A. J., Verhaar, M. A., Bélanger, R. R. 1998. Comparison of three biological control agents against cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in semi-commercial-scale glasshouse trials. European Journal of Plant Pathology. 104 (4). 413-423.
- Domsch, K. H., Gams, W., Anderson, T. 1980. Compendium of soil fungi. Volume 1. Academic Press. London Ltd. p 859. ISBN: 0122204026.

- Doncaster, C. C., Seymour, M. K. 1973. Exploration and selection of penetration site by Tylenchida. *Nematologica*. 19 (2). 137-145.
- Dowsett, J. A., Reid, J. 1979. Observation on the trapping of the nematodes by *Dactylaria scaphoides* using optical, transmission and scanning-electron-microscopic techniques. *Mycologie*. 71 (2). 379-391.
- Farr, D. F. 1980. The acanthocyte, a unique cell type in *Stropharia (Agaricales)*. *Mycotaxon*. 11 (1). 241-249.
- Feyaerts, H., Coosemans, J. 1992. Influence of the thiocarbamate herbicide cycloate on the attraction of beet-cyst nematodes (*Heterodera schachtii* Schmidt) by their host plants. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*. 57 (3A). 839-846.
- Gan, Z. W., Yang, J. K., Tao, N., Yu, Z. F., Zhang, K. – Q. 2007. Cloning and expression analysis of a chitinase gene Crchil from the mycoparasitic fungus *Clonostachys rosea* (syn. *Gliocladium roseum*). *Journal of Microbiology*. 45 (5). 422-430.
- Gaur, H. S., Perry, R. N. 1991. The biology and control of the plant parasitic nematode *Rotylenchulus reniformis*. *Agricultural Zoology Reviews*. 4. 177-212.
- Goettel, M. S., Koike, M., Kim, J. J., Aiuchi, D., Shinya, R., Brodeur, J. 2008. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *Journal of Invertebrate Pathology*. 98 (3). 256-261.
- Gray, N. F. 1987. Nematophageous fungi with particular reference to their ecology. *Biological revue*. 62 (3). 245-304.
- Greco, N., Brandoniso, A. 1986. The biology of *Heterodera carotae*. *Nematologica*. 32 (4). 447-460.
- Green, C. D. 1980. Nematode sex attractants. *Helminthological Abstracts, Series B*. 49 (3). 81-93.
- Grenache, D. G., Caldicott, I., Albert, P. S., Riddle, D. L., Politz, S. M. 1996. Environmental induction and genetic control of surface antigen switching in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 93 (22). 12388-12393.

- Grundler, F. M. W., Bröckenhoff, A. 1997. Physiology of nematode feeding and feeding sites. Developments in Plant Pathology. 10. 107-119. In: Fenoll, C., Grundler, F.M.W., Ohl, S.A. (eds.). Cellular and Molecular Aspects of Plant-Nematode Interactions. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. p. 286. ISBN: 978-94-011-5596-0.
- Grundler, F. M. W., Sobczak, M., Golinowski, W. 1998. Formation of cell wall openings in root cells of *Arabidopsis thaliana* following infection by the plant-parasitic nematode *Heterodera schachtii*. European Journal of Plant Pathology. 104 (6). 545-551.
- Grundler, F. M. W., Wyss, U. 1995. Strategies of root parasitism by sedentary plant parasitic nematodes. Pathogenesis and host specificity in plant diseases. 2. 309-319.
- Grundler, F., Schnibbe, L., Wyss, U. 1991. In vitro studies on the behaviour of second-stage juveniles of *Heterodera schachtii* (Nematoda: Heteroderidae) in response to host plant root exudates. Parasitology. 103 (1). 149-155.
- Hallman, J., Sikora, R. A. 1994. Occurrence of plant parasitic nematodes and non-pathogenic species of *Fusarium* in tomato plants in Kenya and their role as mutualistic synergists for biological control of root-knot nematodes. International Journal of Pest Management. 40 (4). 321-325.
- Hunt, P. G., Smart Jr, G. C., Eno, C. F. 1973. Sting nematode, *Belonolaimus longicaudatus*, immotility induces by extracts of composted municipal refuse. Journal of Nematology. 5 (1). 60-63.
- Hussey, R. S., Grundler, F. M. W. (eds.). 1998. Nematode Parasitism of Plants. In: Perry, R. N., Wright, D. J. (eds.). The Physiology and Biochemistry of Free-living and Plant-parasitic Nematodes. CAB International. Wallingford. p. 213-245. ISBN: 0-85199-231-5.
- Chen, J., Abawi, G. S., Zuckerman, B. M. 2000. Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii* and *Streptomyces costaricanus* with and without organic amendment against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. Journal of Nematology. 32 (1). 70-77.
- Chen, S. Y., Chen, F. J. 2003. Fungal parasitism of *Heterodera glycines* eggs as influenced by egg age and pre-colonization of cysts by other fungi. Journal of Nematology. 35 (3). 271-277.

- Chen, Z. X., Chen, S. Y., Dickson, D. W. (eds.). 2004. Nematology Advances and Perspectives, Volume 2 – Nematode Management and Utilization. CABI. Wallingford. p. 608. ISBN: 978-0851996462.
- Irving, F., Kerry, B. R. 1986. Variation between strains of the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium* Goddard. II. Factors affecting parasitism of cyst nematode eggs. *Nematologica*. 32 (4). 474-485.
- Jansson, H. B., Lopez-Llorca, L. V. 2004. Control of nematodes by fungi. In: Arora, D. K. (ed.). Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications. Marcel Dekker. New York. 205-215. ISBN: 0-8247-4770-4.
- Jansson, H. B., Dackman, C., Zuckman, B. M. 1987. Adhesion and infection of plant parasitic nematodes by the fungus *Drechmeria coniospora*. *Nematologica*. 33 (4). 480-487.
- Jansson, H. B., Nordring-Hertz, B. 1980. Interactions between nematophagous fungi and plant-parasitic nematodes: attraction, induction of trap formation and capture. *Nematologica*. 26 (4). 383-389.
- Kaplan, M., Noe, J. P. 1993. Effect of chicken excrement amendments on *Meloidogyne arenaria*. *Journal of Nematology*. 25 (1). 71-77.
- Karlsson, M., Durling, M. B., Choi, J., Kosawang, C., Lackner, G., Tzelepis, G. D., Nygren, K., Dubey, M. K., Kamou, N., Levasseur, A., Zapparata, A., Wang, J., Amby, D. B., Jensen, B., Sarrocco, S., Panteris, E., Lagopodi, A. L., Pöggeler, S., Vannacci, G., Collinge, D.B., Hoffmeister, D., Henrissat, B., Lee, Y.H., Jensen, D.F. 2015. Insights on the evolution of mycoparasitism from the genome of *Clonostachys rosea*. *Genome biology and evolution*. 7 (2). 465-480.
- Kazda, J., Mikulka, J., Prokinová, E. 2010. Encyklopedie ochrany rostlin. Profi Press. Praha. 399 s. ISBN: 978-80-86726-34-2.
- Khan, A., Saifullah, Iqbal, M., Hussain, S. 2014. Organic control of phytonematodes with *Pleurotus* species. *Pakistan Journal of Nematology*. 32 (2). 155-161.
- Khan, F. A. 1985. Hatching response of *Rotylenchus reniformis* to root leachates of certain hosts and nonhosts. *Revue de Nématologie*. 8 (2). 319-393.

- Kim, J. J., Riggs, R. D. 1991. Characteristics and efficacy of a sterile hyphomycete (ARF18), a new biocontrol agent for *Heterodera glycines* and other nematodes. *Journal of Nematology*. 23 (3). 275-282.
- Kůdela, V., Braunová, M. (eds.). 2007. Česko-anglická rostlinolékařská terminologie: Czech-English Plant health terminology. Academia. Praha. 874 s. ISBN: 978-80-200-1550-1.
- Kwok, O. C. H., Plattner, R., Weisleder, D., Wicklow, D. T. 1992. A nematocidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526. *Journal of Chemical Ecology*. 18 (2). 127-136.
- Lee, D. L., Atkinson, H. J. 1976. *Physiology of nematodes*. 2nd ed. Macmillan. London. p. 215. ISBN: 0-333-18600-1.
- Lee, L. D. (ed.). 2002. *The Biology of Nematodes*. CRC Press. London. p. 635. ISBN: 978-0-415-27211-7.
- Lee, Q., Widden, P. 1996. *Folsomia candida*, a “fungivorous” collembolan, feeds preferentially on nematodes rather than soil fungi. *Soil Biology and Biochemistry*. 28 (4). 689-690.
- Li, J., Yang, J. K., Huang, X. W., Zhang, K. – Q. 2006. Purification and characterization of an extracellular protease from *Clonostachys rosea* and its potential as a pathogenic factor. *Process Biochemistry*. 41 (4). 925-929.
- Li, T. F., Zhang, K. – Q., Liu, X. Z. 2000. In: Yang, J., Tian, B., Liang, L., Zhang, K. – Q. 2007. Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. 75 (1). 21-31.
- Liou, J. Y., Tzean, S. S. 1992. *Staphanocystis* as nematode-trapping and infecting propagules. *Mycologia*. 85 (4). 786-790.
- Lopez-Llorca, L. V., Ovivares-Bernabeu, C., Salians, J., Jansson, H. B., Kolattukudy, P. E. 2002. Prepenetration events in fungal parasitism of nematode eggs. *Mycological research*. 106 (4). 499-506.
- Lopez-Llorca, L. V., Robertson, W. M. 1992. Immunocytochemical localization of a 32-kDa protease from the nematophagous fungus *Verticillium suchlasporium* in infected nematode eggs. *Experimental Mycology*. 16 (4). 261-267.

- Lorenzen, S. 1985. Phylogenetic aspects of pseudocoelomate evolution. In: Perry, R. N., Wright, D. J. (eds.). 1998. *The Physiology and Biochemistry of Free-living and Plant-parasitic Nematodes*. CAB International. Wallingford. p. 438. ISBN: 0-85199-231-5.
- Luo H., Mo, M. H., Huang, X. W., Li, X., Zhang, K. – Q. 2004. *Coprinus comatus*: a basidiomycete fungus forms novel spiny structures and infects nematodes. *Mycologia*. 96 (6). 1218-1225.
- Luo, H., Li, X., Pan, Y. B., Li, G. H. Zhang K. Q. 2006. Acanthocytes of *Stropharia rugosoannulata* function as a nematode-attacking device. *Applied Environmental Microbiology*. 72 (4). 2982-2987.
- Maehara, N. 2008. "Reduction of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) population by inoculating *Trichoderma* spp. into pine wilt-killed trees. *Biological Control* 44 (1). 61-66.
- Mankau, R. 1980. Biological control of nematode pests by natural enemies. *Annual Review of Phytopathology*. 18 (1). 415-440.
- Martin, B. 1994. Development of a reliable assay for potato cyst nematode hatching factors. MSc thesis. The University of Aberdeen. UK.
- McSorley, R., Fredrick, J. J. 1999. Nematode population fluctuations during decomposition of species organic amendments. *Journal of Nematology*. 31 (1). 37-44.
- McSorley, R., Stansly, P. A., Noling, J. W., Obreza, T. A., Conner, J. M. 1997. Impact of organic soil amendments and fumigation on plant parasitic nematodes in a southern Florida vegetable field. *Nematropica*. 27 (2). 181-189.
- Meyer, S. L. F., Huettel, R. N. 1996. Application of a Sex Pheromone, Pheromone Analogs, and *Verticillium lecanii* for Management of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*. 28(1). 36-42.
- Meyer, S. L. F., Johnson, G., Dimock, M., Fahey, J. W., Huettel, R. N. 1997. Field efficacy of *Verticillium lecanii*, sex pheromone, and pheromone analogs as potential management agents for soybean cyst nematode. *Journal of Nematology*. 29 (3). 282-288.

- Meyer, S. L. F., Wergin, W. P. 1998. Colonization of Soybean Cyst Nematode Females, Cysts, and Gelatinous Matrices by the Fungus *Verticillium lecanii*. *Journal of Nematology*. 30 (4). 436-450.
- Miller, T. C., Gubler, W. D., Laemmlen, F. F., Geng, S. 2004. Potential for using *Lecanicillium lecanii* for suppression of strawberry powdery mildew. *Biocontrol Science and Technology*. 14 (2). 215-220.
- Mulyati, Y., Himawan, T., Arumingtyas, E. L., Abadi, A. L., 2015. The Optimal Culture Media for Chitinase Production of *Lecanicillium lecanii* Based on Three Virulence Characters: Chitinase Activity, Sporulation and Colony Growth. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*. 6 (6). 4500-4507.
- Niu, X. – M., Zhang, K. – Q. 2011. *Arthrobotrys oligospora*: a model organism for understanding the interaction between fungi and nematodes. *Mycology*. 2 (2). 59-78.
- Nordring-Hertz, B. 2004. Morphogenesis in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* – an extensive plasticity of infection structures. *Mycologist*. 18 (3). 125-133.
- Nordring-Hertz, B., Jansson, H. B., Tunlid, A. Nematophagous fungi. *Encyclopedia of Life Sciences* [online]. November 2011. [cit. 2016-03-18]. Dostupné z <<http://www.els.net/WileyCDA/ElsArticle/refId-a0000374.html>>.
- Oka, Y., Koltai, H., Bar-Eyal, M., Sharon, E., Chet, I., Spoegel, Y. 2000. New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. *Pest Management Science*. 56 (11). 983-988.
- Olatinwo, R., Becker, J.O., Borneman, J. 2006a. Suppression of *Heterodera schachtii* populations by *Dactylella oviparasitica* in four soils. *Journal of Nematology*. 38 (3). 345–348.
- Olatinwo, R., Borneman, J., Becker, J. O. 2006b. Induction of Beet-Cyst Nematode Suppressiveness by the Fungi *Dactylella oviparasitica* and *Fusarium oxysporum* in Field Microplots. *Phytopathology*. 96 (8). 855-859.
- Oltholf, T. H. A., Estey, R. H. 1963. A Nematotoxin produced by the Nematophagous Fungus *Arthrobotrys oligospora* Fresenius. *Nature*. 197. 514-515.
- Pérez, J.M., Pérez, C., Acosta, O., Gandarilla, H., Pérez, A., Rodríguez, R.C., Basterrechea, M., Fernández, E., Stefanova, M., Robaina, N., Olivares, N., Santana, T., González, M., Lluvides, J., Devesa, L. J., Gutiérrez, E., Andreu, C. 2006. *Trichoderma*, alternativa para el control biológico de nematodos dentro de una agricultura sostenible. *Fitosanidad*. 10 (2). 165.

- Perry, R. N., Clarke, A. J., Hennessy, J. 1980. The influence of osmotic pressure on the hatching of *Heterodera schachtii*. *Revue de Nématologie*. 3 (1). 3-9.
- Perry, R. N., Clarke, A. J., Hennessy, J. Beane, J. 1983. The role of trehalose in the hatching mechanism of *Heterodera goettingiana*. *Nematologica*. 29 (3). 324-335.
- Perry, R. N., Moens M. (eds.). 2013. *Plant Nematology*. 2nd ed. CABI. Boston. p. 568. ISBN: 978-1-78064- 151-5.
- Perry, R. N., Trett, M. W. 1986. Ultrastructure of the eggshell of *Heterodera schachtii* and *Heterodera glycines* (Nematode: Tylenchida). *Revue Nématologie*. 9 (4). 399-403.
- Perry, R. N., Wharton, D. A., Clarke, A. J. 1982. The structure of the egg-shell of *Globodera rostochiensis* (Nematoda: Tylenchida). *International Journal for Parasitology*. 12 (5). 481-485.
- Perry, R. N., Wright, D. J. (eds.). 1998. *The Physiology and Biochemistry of Free-living and Plant-parasitic Nematodes*. CAB International. Wallingford. p. 438. ISBN: 0-85199-231-5.
- Poppe, J. 2000. Use of the agricultural waste materials in the cultivation of mushrooms. *Mushroom Sci*. 15 (1). 3-23.
- Ravichandra, N. G. 2008. *Plant Nematology*. I. K. International Publishing House. New Delhi. p. 720. ISBN: 978-8189866617.
- Ravichandra, N. G. 2014. *Horticultural Nematology*. Springer. New York. p. 412. ISBN: 978-8132218401.
- Reddigari, S. R., Jansma, P. L., Premachandran, D., Hussey, R. S. 1986. Cuticular collagenous proteins of second-stage juveniles and adult females of *Meloidogyne incognita*: Isolation and partial characterization. *Journal of Nematology*. 18 (3). 294 - 302.
- Renčo, M., D'Addabbo, T., Sasanelli N., Papajová, I. 2007. The effect of five composts of different origin on the survival and reproduction of *Globodera rostochiensis*. *Nematology*. 9 (4). 537-543.

- Riberio, R. C., Mizobutsi, E. H., Silva, D. G., Pereira, J. C. R., Zambolim, L. 1998. Control of *Meloidogyne javanica* on lettuce with organic amendments. *Fitopatologia Brasileira*. 23 (1). 42-44.
- Rodríguez, R. C., Corbea, O., Barroso, R., Cardoso, E. M. 2006. Evaluación de la efectividad de *Trichoderma harzianum* en el control de *Meloidogyne incognita* en la agricultura urbana de la provincia de Matanzas, Cuba. *Fitosanidad*. 10 (2). 175.
- Ryckeboer, J., Coosemans, J. 1996a. The influence of biowaste composts on *Pythium* and root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* on tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in vivo. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Universiteit Gent*. 60 (2b). 25-29.
- Ryckeboer, J., Coosemans, J. 1996b. The influence of the GFT-compost extracts on the motility of juveniles of *Heterodera schachtii* in vitro. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Universiteit Gent*. 60. 25-29.
- Saikawa, M., Wada, N. 1986. Adhesive knobs in *Pleurotus ostreatus* (the oyster mushroom), as trapping organs for nematodes. *Transactions of the Mycological Society of Japan*. 27 (2). 113-118.
- Sayre, R. M. 1986. Pathogens for biological control of nematodes. *Crop protection*. 5 (4). 268-276.
- Sharma, S. K., Sharma, G. L., Baheti, B. L. 1997. Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato through soil amendment with various composts. *Indian Journal of Nematology* 26 (2). 263-265.
- Shinya, R., Aiuchi, D., Kushida, A., Tani, M., Kuramochi, K., Koike, M. 2008. Effects of fungal culture filtrates of *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) hybrid strains on *Heterodera glycines* eggs and juveniles. *Journal of Invertebrate Pathology*. 97 (3). 291-297.
- Schlang, J. 1993. Controlling nematodes by composting. *Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft Mitteilungen- Agar Inform* 108. 30-31.
- Siddiqui, Z. A., Mahmood, I. 1996. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: a review. *Bioresource Technology*. 58 (3). 229-239.

- Southey, J. F. 1986. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. HMSO. London. P 202. ISBN: 0112427545.
- Stachelin, L. A. 1997. The plant ER: a dynamic organelle composed of a large number of discrete functional domains. *The Plant Journal*. 11 (6). 1151-1165.
- Stalpers, J. A., Seifert, K. A., Samson, R. A. 1991. A revision of the genera *Antromyces*, *Sclerostilbum*, and *Tilachlidiopsis* (Hyphomycetes). *Canadian Journal of Botany*. 69 (1). 6-15.
- Steele, A. E. 1965. The host range of the sugar beet nematode, *Heterodera schachtii* Schmidt. *Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists*. 13 (7). 573-603.
- Stirling, G. R., Mankau, R. 1979. Mode of Parasitism of *Meloidogyne* and Other Nemaioide Eggs by *Dactylella oviparasitica*. *Journal of Nematology*. 11 (3). 282-288.
- Stoklasa, J., Vaňha, J. 1895. Hlísti řepy cukrové. Spolek pro průmysl cukrovarnický. Praha. 91 s.
- Szczzech, M., Rondonanski, W., Brzeski, M. W., Smolinska, U., Kotowski, J. F. 1993. Suppressive effect of a commercial earthworm compost on some root infecting pathogens of cabbage and tomato. *Biological Agriculture and Horticulture*. 10 (1). 47-52.
- Thorn, R. G., Barron, G. L. 1984. Carnivorous mushrooms. *Science*. 224 (4644). 76-78.
- Timper, P., Brodie, B. B. 1993. Infection of *Pratylenchus penetrans* by nematode-pathogenic fungi. *Journal of Nematology*. 25 (2). 297-302.
- Tosi, S., Annovazzi, L., Tosi, I., Iadarola, P., Caretta, G. 2002. Collagenase production in an Antarctic strain of *Arthrobotrys totor* Jarowaja. *Mycopathologia*. 153 (3). 157-162.
- Truong, B. – N., Okazaki, K., Fukiharu, T., Takeuchi, Y., Futai, K., Le, X. – T., Suzuki, A. 2007. Characterization of the nematocidal toxocyst in *Pleurotus* subgen. *Coremiopleurotus*. *Mycoscience*. 48 (4). 222-230.
- Tunlid, A., Johansson, T., Nordring-Hertz, B. 1991. Surface polymers of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Microbiology*. 137 (6). 1231-1240.

- Tunlid, A., Rosen, S., Ek, B., Rask, L. 1994. Purification and characterization of an extracellular serine protease from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Microbiology*. 140 (7). 1687-1695.
- Uziel, A., Sikora, R. A. 1992. Use of on-target isolates of the entomopathogen *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas to control the potato cyst nematode, *Globodera pallida* (Stone). *Nematologica*. 38 (1). 123-130.
- Verhaar, M. A., Hijwegen, T., Zadoks, J. C. 1998. Selection of *Verticillium lecanii* isolates with high potential for biocontrol of cucumber powdery mildew by means of components analysis at different humidity regimes. *Biocontrol Science and Technology*. 8 (4). 465-477.
- Verhaar, M. A., Ostergaard, K. K., Hijwegen, T., Zadoks, J. C. 1997. Preventive and curative applications of *Verticillium lecanii* for biological control of cucumber powdery mildew. *Biocontrol Science and Technology*. 7 (4). 543-552.
- Verma, R. D., Mahendra, S., Samar, R., Sharma, G. L. 1997. Effect of soil amendment against root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on bootlegourd. *Indian Journal of Nematology*. 27 (2). 255-256.
- Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Česká zemědělská univerzita v Praze. Zařízení pro sběr cyst fytoparazitických háďátek druhu *Globodera rostochiensis*. Česká republika. PUV - národní s žádostí o zapsání do rejstříku. 29244. 16. 3. 2016.
- Wang, M., Yang, J. K., Zhang, K. – Q. 2006a. Characterization of an extracellular protease and its cDNA from the nematode-trapping fungus *Monacrosporium microscaphoides*. *Canadian Journal of Microbiology*. 52 (2). 130-139.
- Wang, R. B., Yang, J. K., Lin, C., Zhaang, K. – Q. 2006b. Purification and characterization of an extracellular serine protease from the nematode-trapping fungus *Dactylella schizishanna*. *Letters in applied microbiology*. 42 (6). 589-594.
- Winslow, R. D., Ludwig, R. A. 1957. Studies on hatching stimulation in the beet nematode *Heterodera schachtii* Schmidt. *Canadian Journal of Botany*. 35 (5). 619-634.

- Womersley, C., Ching, C. 1989. Natural dehydration regimes as a prerequisite for the successful induction of anhydrobiosis in the nematode *Rotylenchulus reniformis*. *Journal of Experimental Biology*. 143 (1). 359-372.
- Woronin, M. 1870. *Sphaeria lemneae*, *Sordaria coprophila*, *Arthrobotrys oligospora*. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze III. Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft. 7. 325-360.
- Yang, J. K., Tian, B. Y., Liang, L. M., Zhang, K. – Q. 2007. Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. *Applied microbiology and Biotechnology*. 75 (1). 21-31.
- Yeates, G. W., Wardle, D. A. 1996. Nematodes as predators and prey: relationships to biological control and soil processes. *Pedobiologia*. 40 (1). 43-50.
- Yin, B., Valinsky, L., Gao, X., Becker, J. O., Borneman, J. 2003. Identification of fungal rDNA associated with soil suppressiveness against *Heterodera schachtii* using oligonucleotide fingerprinting. *Phytopathology*. 93 (8). 1006-1013.
- Zhang, L., Yang, J., Niu, Q., Zhao, X., Ye, F., Liang, L., Zhang, K. - Q. 2008. Investigation on the infection mechanism of the fungus *Clonostachys rosea* against nematodes using the green fluorescent protein. *Applied microbiology and biotechnology*. 78 (6). 983-990.
- Zhao, M. L., Huang, J. S., Mo, M. H., Zhang, K. – Q. 2005. A potential virulence factor involved in fungal pathogenicity: serine-like protease activity of nematophagous fungus *Clonostachys rosea*. *Fungal Diversity*. 19. 217-234.
- Zhao, M. L., Mo, M. H., Zhang, K. – Q. 2004. Characterization of a neutral serine protease and its full-length cDNA from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Mycologia*. 96 (1). 16-22.
- Zhao, Y. X., Liu, Q. Z., Cao, Z. P., Wu, W. L. 2003. Effect of fertilizer on population dynamics of plant parasitic nematodes. *Plant Protection* 29. 19-22.
- Zouhar, M., Douda, O., Nováková, J., Doudová, E., Mazáková, J., Wenzlová, J., Ryšánek, P., Renčo, M. 2013. First report about the trapping activity of *Stropharia rugosoannulata* acanthocytes for Northern Root Knot Nematode. *Helminthologia*. 50 (2). 127-131.

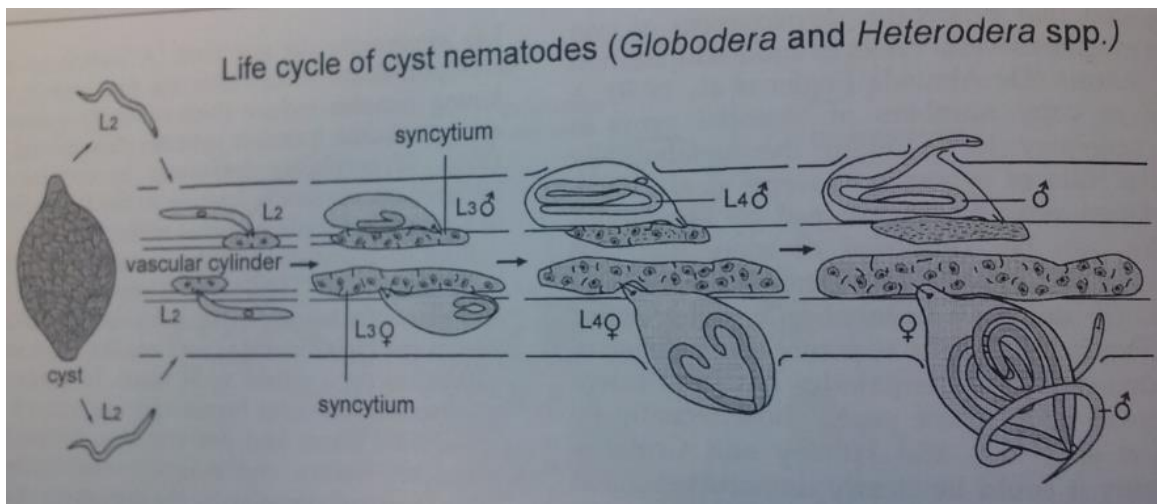
Zouhar, M., Douda, O., Novotný, D., Nováková, J., Mazáková, J. 2010. Evaluation of the pathogenicity of selected nematophagous fungi. *Czech Mycology*. 61 (2). 139-147.

- 1) <http://www.agritec.cz/cs/aktuality/gliorex>
- 2) http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#ior|met:097a4ac9ec868121c8cd4d6f9a00146a|kap1:skudci|kap:2eb5788ffd084b2d28065f0ae36f2487
- 3) http://www.fytovita.cz/useruploads/files/GLIOREX_etiketa.doc
- 4) http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&MycoBankNr_=149365
- 5) http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&MycoBankNr_=484535
- 6) <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=22136&Fields=All>
- 7) <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=26574&Fields=All>
- 8) <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=34240&Fields=All>
- 9) <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=39566&Fields=All>
- 10) <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=51343&Fields=All>

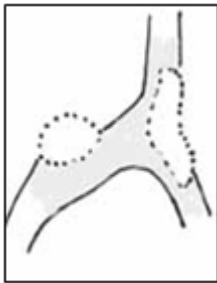
9 Přílohy

9.1 Obrázky

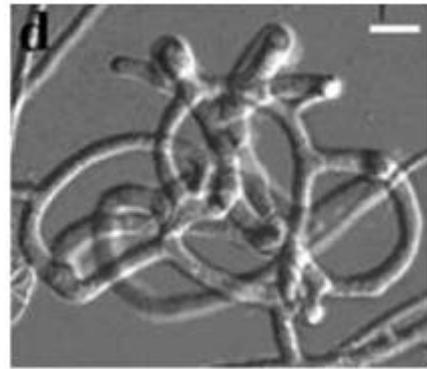
Obrázek 1 Vývojový cyklus <i>H. schachtii</i> (Lee, 2002)	59
Obrázek 2 Lapací struktury - nemodifikované lepidivé hyfy (Gray, 1987).....	59
Obrázek 3 Lapací struktury - lepidivé větve (výběžky) (Gray, 1987).....	59
Obrázek 4 Lapací struktury - lepidivé sítě (Gray, 1987).....	59
Obrázek 5 Lepivá síť <i>A. oligospora</i> (Yang et al., 2007)	59
Obrázek 6 Lapací struktury - lepidivé uzlíky (Gray, 1987).....	59
Obrázek 7 Lapací struktury - fixní oka (Gray, 1987)	59
Obrázek 8 Lapací struktury - stahující (škrťící) oka (Gray, 1987)	60
Obrázek 9 Larva chycená ve škrťivém prstenu <i>Arthrobotrys</i> sp. a kolonizovaná (Sayre, 1986)	60
Obrázek 10 Lapací struktury – stefanocysty (Gray, 1987).....	60
Obrázek 11 Lapací struktury – akantocyty (Yang et al., 2007)	60
Obrázek 12 Meloidogyne hapla znehybněná acanthocyty <i>S. rugosoannulata</i> (Zouhar et al., 2013).....	60
Obrázek 13 Přilnuté konidie <i>C. rosea</i> na J2 larvě	60
Obrázek 14 Kolonizovaná J2 larva houbou <i>C.rosea</i>	61
Obrázek 15 Fenwickova konev na proplavování	61
Obrázek 16 Binolupa OLYMPUS SZ 61	61
Obrázek 17 Extrakce cyst odvalováním	61
Obrázek 18 Schéma Nasávacího zařízení pro extrakci cyst (Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Česká zemědělská univerzita v Praze, 2016).....	61
Obrázek 19 Příprava agaru do Petriho misek	62
Obrázek 20 Očkování hub	62
Obrázek 21 Tekuté médium připravené ke sterilizaci a následnému naočkování	62
Obrázek 22 Síto používané pro propláchnutí napěstovaného mycelia	62
Obrázek 23 Napěstované mycelium před namixováním.....	62
Obrázek 24 Ultra turax IKA mixující mycelium	62
Obrázek 25 Příprava nádobového pokusu: Na netkané textilii umístěna 1,5 cm vrstva půdy s 5 cystami	62
Obrázek 26 Založený nádobový pokus: Inokulace mycelia jednotlivých druhů hub.....	63
Obrázek 27 Nádobový pokus před vyhodnocením	63
Obrázek 28 Nezralé cysty na kořenech cukrové řepy	63
Obrázek 29 Vysychání půdy z nádobového pokusu	63
Obrázek 30 Sklíčková kultura ve vlhké komůrce.....	63
Obrázek 31 Líhnutí larev z nadrcených cyst.....	63
Obrázek 32 Baermannova metoda	64
Obrázek 33 Mikroskop NIKON TMS	64
Obrázek 34 J2 larva <i>Heterodera schachtii</i>	64
Obrázek 35 Vajíčka uvolňující se z nadrcené cysty.....	64
Obrázek 36 Vajíčko <i>Heterodera schachtii</i> s J2 larvu před vylíhnutím	64



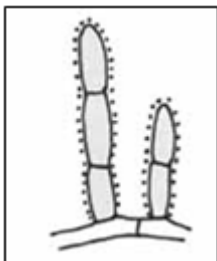
Obrázek 1 Vývojový cyklus *H. schachtii* (Lee, 2002)



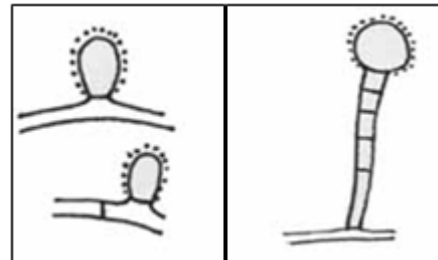
Obrázek 2 Lapací struktury - nemodifikované lepké hyfy (Gray, 1987)



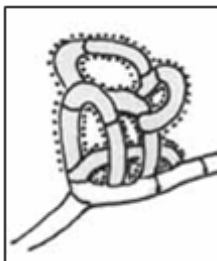
Obrázek 5 Lepivá síť *A. oligospora* (Yang et al., 2007)



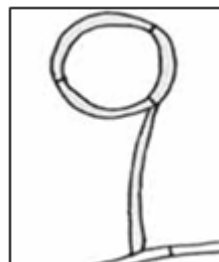
Obrázek 3 Lapací struktury - lepké větve (výběžky) (Gray, 1987)



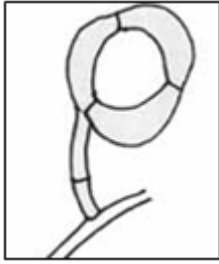
Obrázek 6 Lapací struktury - lepké uzlíky (Gray, 1987)



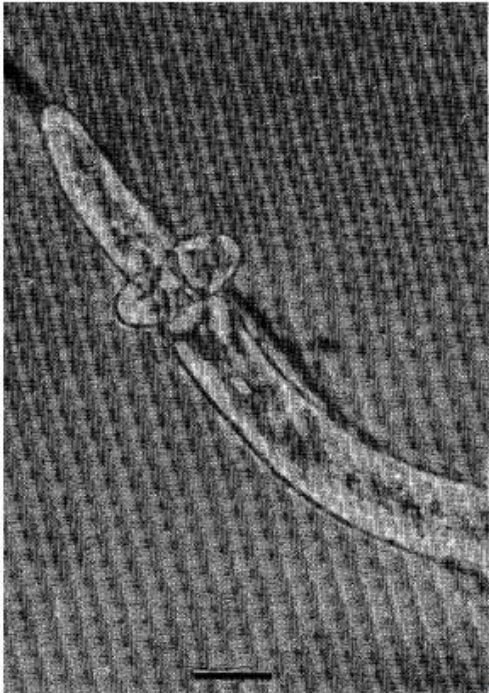
Obrázek 4 Lapací struktury - lepké síť (Gray, 1987)



Obrázek 7 Lapací struktury - fixní oka (Gray, 1987)



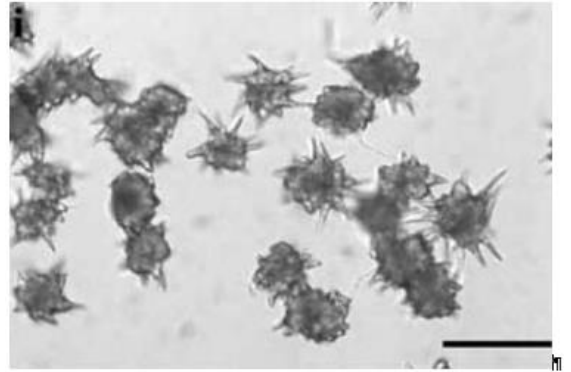
Obrázek 8 Lapací struktury - stahující (škrťící) oka (Gray, 1987)



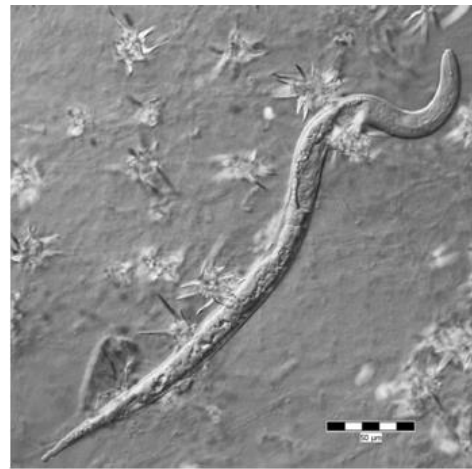
Obrázek 9 Larva chycená ve škrťivém prstenu *Arthrobotrys* sp. a kolonizovaná (Sayre, 1986)



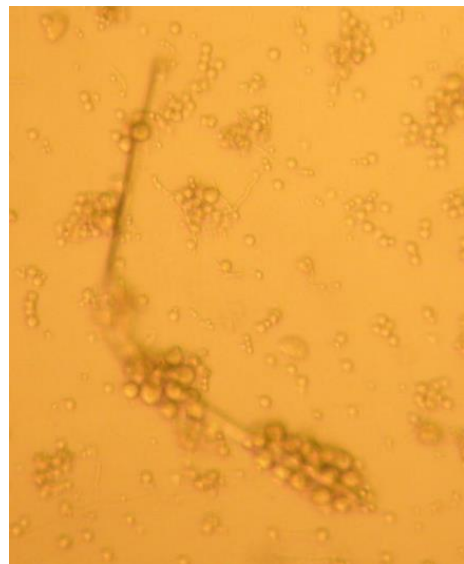
Obrázek 10 Lapací struktury – stefanocysty (Gray, 1987)



Obrázek 11 Lapací struktury – akantocyty (Yang et al., 2007)



Obrázek 12 *Meloidogyne hapla* znehybněná acanthocyty *S. rugosoannulata* (Zouhar et al., 2013)



Obrázek 13 Přilnuté konidie *C. rosea* na J2 larvě



Obrázek 14 Kolonizovaná J2 larva houbou *C.rosea*



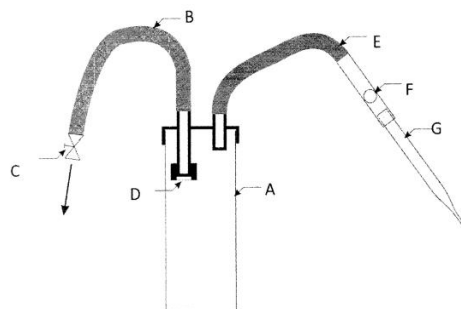
Obrázek 16 Binolupa OLYMPUS SZ 61



Obrázek 15 Fenwickova konev na proplavování



Obrázek 17 Extrakce cyst odvalováním



Obrázek 18 Schéma Nasávacího zařízení pro extrakci cyst (Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Česká zemědělská univerzita v Praze, 2016)



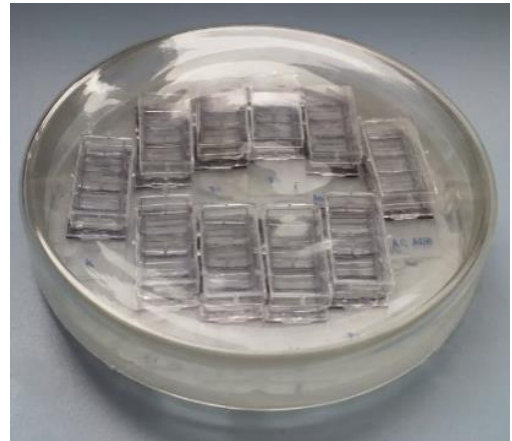
Obrázek 26 Založený nádobový pokus: Inokulace mycelia jednotlivých druhů hub



Obrázek 29 Vysychání půdy z nádobového pokusu



Obrázek 27 Nádobový pokus před vyhodnocením



Obrázek 30 Sklíčková kultura ve vlhké komůrce



Obrázek 28 Nezralé cysty na kořenech cukrové řepy



Obrázek 31 Lihnutí larev z nadrcených cyst



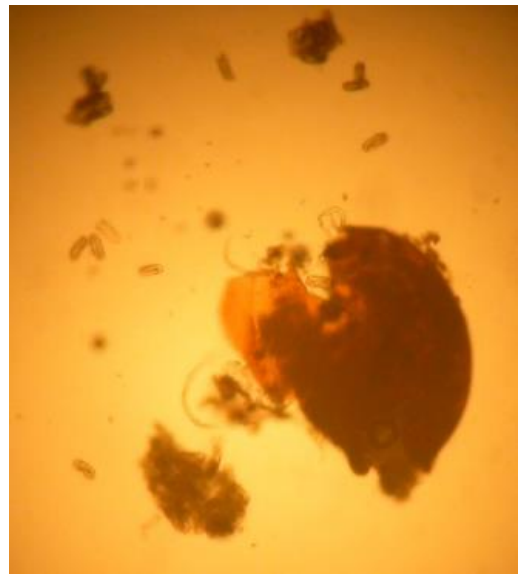
Obrázek 32 Baermannova metoda



Obrázek 33 Mikroskop NIKON TMS



Obrázek 34 J2 larva *Heterodera schachtii*



Obrázek 35 Vajíčka uvolňující se z nadrcené cysty



Obrázek 36 Vajíčko *Heterodera schachtii* s J2 larvu před vylíhnutím

9.2 Tabulky

Tabulka 1 Nádobový pokus – cysty65

Tabulka 2 Mortalita larev (× 100 %)66

Tabulka 1 Nádobový pokus – cysty

Kontrola				<i>Arthroborys oligospora</i>			
Opakování	Bílé cysty	Hnědé cysty	Prázdné cysty	Opakování	Bílé cysty	Hnědé cysty	Prázdné cysty
1	5	12	7	1	6	31	13
2	11	5	7	2	26	32	5
3	0	34	16	3	3	6	9
4	5	5	5	4	12	11	16
5	4	5	6	5	3	6	19
6	56	23	16	6	64	60	26
7	0	7	7	7	0	15	17
<i>Dactylella oviparasitica</i>				<i>Lecanicillium muscarium</i>			
Opakování	Bílé cysty	Hnědé cysty	Prázdné cysty	Opakování	Bílé cysty	Hnědé cysty	Prázdné cysty
1	105	117	35	1	0	2	10
2	11	15	18	2	9	10	16
3	108	44	12	3	0	3	11
4	0	5	6	4	10	33	13
5	8	6	13	5	1	4	9
6	15	33	14	6	5	9	16
7	0	21	19	7	0	3	8
<i>Pleurotus ostreatus</i>				Gliorex			
Opakování	Bílé cysty	Hnědé cysty	Prázdné cysty	Opakování	Bílé cysty	Hnědé cysty	Prázdné cysty
1	0	5	15	1	1	5	10
2	4	5	12	2	0	4	9
3	47	28	19	3	50	9	13
4	125	39	14	4	34	7	7
5	4	3	13	5	1	7	15
6	25	13	8	6	1	4	14
7	9	11	13	7	0	4	20
<i>Arthroborys oligospora</i> A5/10				<i>Arthroborys oligospora</i> A10/10			
Opakování	Bílé cysty	Hnědé cysty	Prázdné cysty	Opakování	Bílé cysty	Hnědé cysty	Prázdné cysty
1	30	62	23	1	2	3	6
2	2	3	15	2	2	5	4
3	0	0	19	3	4	6	8
4	0	0	15	4	7	15	10
5	0	1	8	5	1	2	7
6	0	4	9	6	0	3	18
7	0	3	13	7	3	4	15
<i>Sropharia rugosoannulata</i>							
	Bílé cysty	Hnědé cysty	Prázdné cysty				
1	32	17	15				
2	2	6	10				
3	4	6	8				
4	1	4	19				
5	8	6	6				
6	0	6	10				
7	0	2	10				

Tabulka 2 Mortalita larev (× 100 %)

	1. den	2. den	3. den	4. den	5. den	6. den
<i>Lecanicillium muscarium</i>	0,886077	0	0,722734	0,937744	1,209429	1,167739
<i>Lecanicillium muscarium</i>	0,934664	0,387597	0,684719	0,848062	0,785398	0,955317
<i>Lecanicillium muscarium</i>	0,886077	0,27055	0,684719	0,874098	0,886077	0,977597
<i>Lecanicillium muscarium</i>	0,814827	0,292843	0,811726	0,974053	0,886077	1,064352
<i>Clonostachys rosea</i>	0,599314	0,57051	0,659058	0,927295	0,982794	0,886077
<i>Clonostachys rosea</i>	0,231477	0,830916	0,765393	0,986422	0,927295	0,862628
<i>Clonostachys rosea</i>	0,523599	0,785398	0,693981	0,803921	0,955317	0,803921
<i>Clonostachys rosea</i>	0,61548	0,693981	0,659058	1,107149	1,140622	1,217055
<i>Pleurotus ostreatus</i>	0,955317	0,339837	0,584374	1,047198	1,047198	0,974053
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1,064352	0,237941	0,633052	0,886077	0,835482	0,835482
<i>Pleurotus ostreatus</i>	0,713724	0,225513	0,75907	0,76158	0,785398	0,955317
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1,021329	0,440511	1,249046	0,934664	0,841069	0,874098
Kontrola	0,286757	0,463648	0,511973	1,000286	0,940025	1,000286
Kontrola	0,411517	0,496932	0,647285	1,107149	1,150262	0,955317
Kontrola	0,321751	0,353742	0,61548	1,1832	1,047198	1,006854
Kontrola	0,237941	0,387597	0,411517	0,940025	1,034735	1,107149
<i>Arthroborys oligospora</i> A10/10	0,636132	0,636132	0,75907	0,937744	1,006854	1,197004
<i>Arthroborys oligospora</i> A10/10	0,636132	0,75907	0,918545	0,9056	1,096811	0,955317
<i>Arthroborys oligospora</i> A10/10	0,876816	0,536061	0,693981	1,047198	1,021329	1,257068
<i>Arthroborys oligospora</i> A10/10	0,785398	0,61548	0,523599	0,659058	0,886077	0,911738
<i>Arthroborys oligospora</i> A5/10	0,878528	0,408638	0,729728	0,821143	0,916526	0,916526
<i>Arthroborys oligospora</i> A5/10	0,894969	0,25268	0,61548	0,901832	0,803921	1,079914
<i>Arthroborys oligospora</i> A5/10	0,845543	0,411517	0,557599	0,766875	0,927295	0,927295
<i>Arthroborys oligospora</i> A5/10	0,75907	0,50974	0,701674	1,167739	1,175697	1,150262
<i>Arthroborys oligospora</i>	0,864677	0,684719	0,897445	1,107149	1,006854	1,240374
<i>Arthroborys oligospora</i>	0,538663	0,673352	0,785398	0,955317	0,668964	1,107149
<i>Arthroborys oligospora</i>	0,713724	0,601264	0,665196	0,9056	1,175697	1,175697
<i>Arthroborys oligospora</i>	0,668964	0,886077	0,61548	1,021329	0,986422	1,271462
<i>Stropharia rugosoannulata</i>	0,807144	0,76158	0,823898	1,192568	1,085747	0,955317
<i>Stropharia rugosoannulata</i>	0,785398	0,61548	0,643501	1,000286	1,047198	1,047198
<i>Stropharia rugosoannulata</i>	0,633052	0,743683	0,719994	1,069703	1,159279	1,140622
<i>Stropharia rugosoannulata</i>	0,955317	0,652251	0,420534	0,923511	0,536061	0,969532
<i>Dactylella oviparasitica</i>	0,830916	0,387597	0,684719	1,021329	0,901832	1,107149
<i>Dactylella oviparasitica</i>	0,982794	0,330423	0,693981	0,9056	1,021329	1,1832
<i>Dactylella oviparasitica</i>	0,986422	0,411517	0,886077	1,006854	0,955317	0,927295
<i>Dactylella oviparasitica</i>	1,028157	0,555121	0,696698	1,000286	1,034735	0,971482
Kontaminace	0,911738	0,306277	1,167739	1,130286	1,249046	1,570796
Kontaminace	0,934664	0	0,982794	1,570796	1,069703	1,220691
Kontaminace	0,997593	0,339837	0,869122	0,982794	1,107149	1,570796
Kontaminace	1,028157	0,420534	1,089521	1,1832	1,006854	1,289761

9.3 Grafy

Graf 1 Statistické vyhodnocení nádobového pokusu	32
Graf 2 Zhodnocení významnosti variant v průběhu pokusu	34
Graf 3 Sklíčková kultura - 1. den	34
Graf 4 Sklíčková kultura - 2. den	35
Graf 5 Sklíčková kultura - 3. den	36