

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zahradnictví



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Účinné látky některých herbicidů a jejich rozklad pomocí hub

Bakalářská práce

Miroslav Matoušek

Obor studia: Zahradnictví (HORTIB)

Vedoucí práce: Ing. Ivan Jablonský, CSc.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Účinné látky některých herbicidů a jejich rozklad pomocí hub“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a jsou uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jakou autor dále prohlašuji, že jsem při psaní práce neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce panu Ing. Ivanovi Jablonskému, CSc. za odborné konzultace, veškeré rady a všestrannou pomoc, kterou mi po celou dobu psaní bakalářské práce a provádění pokusů nabízel a poskytoval.

Dále bych chtěl poděkovat panu doc. Ing. Alešovi Hančovi, Ph.D. za mou částečnou účast na pokusu se žížalami a též za rady a pomoc, které mi v tomto ohledu poskytl.

Na závěr bych chtěl moc poděkovat i svým rodičům, kteří celou dobu během mého studia stáli při mně a velmi mě podporovali.

Účinné látky některých herbicidů a jejich rozklad pomocí hub

Souhrn

Herbicide Corello a Mustang Forte jsou hojně využívanými herbicidy v zemědělství. Část herbicidů je při použití vstřebáno ošetřovanou plodinou či plevelem, ale zbylá část herbicidů se dostane do půdy, kde tvoří rezidua. Rezidua mohou být problémem pro životní prostředí, živočichy i půdní mikroorganismy. Mohou také negativně ovlivňovat ošetřované plodiny a následné plodiny na ošetřené ploše. Mezi citlivé plodiny může patřit například kukuřice či sója. Na etiketách obou herbicidů je zmíněno, že by se herbicidy neměly využívat na slámu pro pěstování hub.

V této bakalářské práci byly provedeny 4 pokusy. Prvním pokusem byl vliv ošetřených slámových substrátů na růst mycelia *Pleurotus ostreatus*. Dalším pokusem byl vliv ošetřených substrátů na výnosy plodnic *Pleurotus ostreatus*. Třetím pokusem bylo zkoumání vlivu aminopyralidu a pyroxsulamu na růst mycelia tří hub (*Cladosporium sp.*, *Geotrichum sp.* a *Pleurotus ostreatus* kmen *Spopo*. v tekutých půdách. Posledním pokusem bylo podání vyplozeného substrátu po hlívě ústříčné kalifornským žížalám (*Eisenia andrei*).

Při pokusu s růstem mycelia na ošetřených slámách se ukázalo, že nejrychlejší růst mycelia byl u celkově na substrátu ošetřeným herbicidem Corello a naopak nejpomalejší růst mycelia byl zaznamenán na substrátu ošetřeným Mustangem. Výnosy plodnic následně ukázaly, co se předem očekávalo, a to, že *Pleurotus ostreatus* měl výrazně vyšší výnosy na substrátech ošetřených použitými herbicidy oproti kontrole. Nejvyšší biologická efektivita byla zjištěna u substrátu ošetřeným herbicidem Mustang. Poslední pokus nebyl dokončen, jelikož vyplozený substrát od hlívy ústříčné nevykazoval známky rozložení. Mělo se v něm zjistit, jaký vliv budou mít využití herbicidy na kalifornské žížaly. Pokus pokračuje ještě po uzavření této bakalářské práce, nicméně už bez mé účasti.

Klíčová slova: Houby, herbicidy, pyroxsulam, aminopyralid, žížaly

Active substances of some herbicides and their decomposition by fungi

Summary

Corello and Mustang Forte herbicides are widely used herbicides in agriculture. Some of the herbicides are absorbed by the treated crop or weed when applied, but the remaining herbicides reach the soil where they form residues. Residues can be a problem for the environment, animals and soil micro-organisms. They can also adversely affect treated crops and subsequent crops in the treated area. Sensitive crops may include, for example, maize or soya beans. The labels of both herbicides mention that the herbicides should not be used on straw for growing mushrooms.

In this bachelor thesis 4 experiments were performed. The first experiment was the effect of treated straw substrates on the growth of *Pleurotus ostreatus* mycelia. The next experiment was the effect of treated substrates on the yield of *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies. The third experiment was to investigate the effect of aminopyralid and pyroxsulam on the mycelial growth of three fungi (*Cladosporium* sp., *Geotrichum* sp. and *Pleurotus ostreatus* strain Spopo. in liquid soils. The last experiment was the administration of the flattened substrate of oyster mushroom to California earthworms (*Eisenia andrei*).

The mycelial growth experiment on treated straws showed that the fastest mycelial growth overall was on the substrate treated with Corello herbicide, while the slowest mycelial growth was recorded on the substrate treated with Mustang. Consequently, the yields of the fruiting bodies showed what was expected, namely that *Pleurotus ostreatus* had significantly higher yields on substrates treated with the herbicides used compared to the Control. The highest biological efficiency was found for the substrate treated with the herbicide Mustang. The last trial was not completed as the flattened oyster mushroom substrate showed no signs of decomposition. It was to determine the effect of the herbicides used on California earthworms. The experiment continues after the conclusion of this thesis, however, without my participation.

Keywords: Fungi, herbicides, aminopyralid, pyroxsulam, earthworms

Obsah

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1 Úvod..... | 7 |
| 2 Vědecká hypotéza a cíle práce..... | 8 |
| 3 Literární rešerše..... | 9 |
| 3.1 Dělení herbicidů..... | 9 |
| 3.2 Degradace herbicidů..... | 10 |
| 3.2.1 Degradace pesticidů houbami bílé hniloby..... | 10 |
| 3.2.1.1 Rozklad pesticidů houbami v pěstebním substrátu..... | 11 |
| 3.2.1.2 Výsledky degradace pesticidů..... | 11 |
| 3.2.1.3 Výsledky degradace houbami v pěstebním substrátu..... | 12 |
| 3.2.2 Degradace herbicidů v půdě..... | 12 |
| 3.2.2.1 Chemická degradace..... | 12 |
| 3.2.2.2 Fotolýza..... | 13 |
| 3.2.2.3 Metabolismus rostlin..... | 13 |
| 3.2.2.4 Mikrobiologická degradace..... | 13 |
| 3.2.3 Vliv herbicidu glyfosátu na strukturu půdních mikrobiálních společenstev..... | 14 |
| 3.3 Vliv některých pesticidů | |
| 3.3.1 Toxikologický účinek některých běžně používaných pesticidů (herbicidů, insekticidů a fungicidů) na půdní houby..... | 14 |
| 3.4 Obsahové látky aminopyralid a pyroxsulam..... | 15 |
| 3.4.1 Aminopyralid..... | 15 |
| 3.4.1.1 Škodlivost aminopyralidu na rostliny a houby..... | 15 |
| 3.4.2 Pyroxsulam..... | 16 |
| 3.4.2.1 Škodlivost pyroxsulamu na rostliny a houby..... | 16 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.5 Citlivost různých plodin na herbicidy..... | 17 |
| 3.5.1 Vliv herbicidů na plodiny..... | 17 |
| 3.5.1.1 Vliv herbicidu Corello na některé plodiny..... | 17 |
| 3.5.1.2 Vliv herbicidu Mustang Forte na různé plodiny..... | 18 |
| 3.6 <i>Cladosporium</i> a herbicidy..... | 19 |
| 3.6.1 <i>Cladosporium</i> a glyfosát..... | 19 |
| 3.6.2 <i>Cladosporium</i> a sloučeniny fosforu a uhlíku..... | 19 |
| 3.6.3 <i>Cladosporium</i> a dascufloron s butoxonem..... | 19 |
| 3.7 <i>Geotrichum</i> a herbicidy..... | 20 |
| 3.7.1 <i>Geotrichum</i> a glyfosát..... | |
| 3.7.2 <i>Geotrichuma</i> propanil..... | 19 |
| 3.8 Žížaly a herbicidy..... | 20 |
| 3.8.1 Žížaly a rezidua..... | 21 |
| 3.8.2 Žížaly a glyfosát s 2,4-D..... | 21 |
| 3.8.3 Rizika pesticidů na žížaly druhů <i>Eisenia fetida fetida</i> nebo <i>Eisenia fetida andrei</i> | 21 |
| 3.8.4 Žížaly a herbicidy obsahující glyfosát..... | 22 |
| 4 Metodika..... | 23 |
| 4.1 Materiál..... | 23 |
| 4.1.1 Použité druhy hub..... | 23 |
| 4.1.2 Slámový substrát..... | 23 |
| 4.1.3 Použitá média pro submerzní kultivaci..... | 23 |
| 4.1.4 Použité technické vybavení..... | 23 |
| 4.1.5 Použité herbicidní přípravky s účinnými látkami..... | 23 |
| 5 Metody..... | 24 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1 Vliv herbicidů Corello a Mustang Forte v ošetřeném substrátu na růst mycelia..... | 25 |
| 5.2 Vliv herbicidů Corello a Mustang Forte na výnosy hlívy ústříčné (<i>Pleurotus ostreatus</i>)..... | 25 |
| 5.3 Porovnání vlivu účinných látek aminopyralidu a pyroxsulamu na produkci podhoubí 3 druhů hub na živných půdách..... | 26 |
| 5.4 Sledování reakcí žížal na substráty ošetřené herbicidy Mustang Forte a Corello..... | 29 |
| 6 Výsledky..... | 32 |
| 6.1 Výsledky vlivu herbicidů Corello a Mustang Forte v ošetřeném substrátu na růst mycelia houby <i>Pleurotus ostreatus</i> ve zkumavkách..... | 32 |
| 6.2 Výsledky pokusu vlivu herbicidů Corello a Mustang Forte na výnosy hlívy ústříčné (<i>Pleurotus ostreatus</i>)..... | 33 |
| 6.3 Výsledky vlivu účinných látek aminopyralidu a pyroxsulamu na produkci podhoubí 3 druhů hub na živných půdách..... | 36 |
| 6.4 Výsledky hodnocení vlivu vyplozených substrátů na kalifornské žížaly (<i>Eisenia Andrei</i>)..... | 39 |
| 7 Diskuze..... | 40 |
| 8 Závěr..... | 42 |
| 9 Literatura..... | 43 |
| 9.1 Internetové zdroje..... | 47 |
| 10 Samostatné přílohy..... | 49 |

1 Úvod

Houbaření je velmi oblíbená a populární aktivita, kterou nejen v České republice provozuje mnoho lidí. Výživové hodnoty některých hub jsou nezaměnitelné, a proto jsou velmi vyhledávané i v obchodních centrech, které jsou pěstovány v laboratořích. Málokdo však do těchto laboratoří nahlédne a vidí vývoj a následné chemické a fyziologické procesy hub od začátku až do konce.

V této práci se budu zabývat problematikou o účinných látkách pesticidů, vlivu na některé druhy hub a žížaly. Obecně zde budu popisovat i jednotlivé herbicidy a obsahové účinné látky. Vlastní pokus bude zaměřen na výnosu hlívy ústříčné v závislosti na některých herbicidech, pěstební substrát bude následně dále zpracovávat a bude použit na pokus se žížalami, kde se bude zkoumat vliv na jejich schopnost žítí v těchto substrátech ošetřených herbicidy.

Veškeré pokusy byly prováděny v laboratořích ČZU a na odloučeném pracovišti v Červeném Újezdě.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza: Vybrané izoláty hub mají schopnost rozkládat některé účinné látky v herbicidech. Žížaly urychlují rozklad aminopyralidu a pyroxulamu.

Cíle této bakalářské práce:

- Otestování některých izolovaných půdních hub na kultivačních roztocích obsahujících zvyšující se koncentrace aminopyralidu a pyroxulamu a následné zjištění schopnosti hub tyto látky rozkládat.
- Zjistit, zda má přítomnost látek aminopyralid a pyroxulam v ošetřené slámě vliv na aktivitu kalifornských žížal

3 Literární rešerše

3.1. Dělení herbicidů

Herbicidy jsou látky používané k regulaci a hubení nežádoucích rostlin (plevelů). Existuje několik typů herbicidů, z nichž každý má svůj specifický mechanismus účinku.

Dělení dle účinku na:

1. Selektivní herbicidy – Působí na určité druhy rostlin, zatímco žádoucí rostliny (plodiny) ponechávají bez úhony. Mezi takovéto herbicidy patří např. glyfosát. Je to velmi využívaný herbicid a selektivně zasahuje dvouděložné plevele, zatímco trávy ponechá bez úhony. Je velmi proto velmi důležitý pro využívání v trávnicích (Zafido 2023).
2. Neselektivní či totální herbicidy – Likviduje veškeré rostliny včetně plodin a trávniku. Využívá se například při realizacích zahrad, když je potřeba založit novou trávnickovou plochu. U tohoto typu je tedy důležité dbát na opatrnost při používání. Mezi tyto herbicidy patří například všeobecně známý Roundup (DeVe shop 2014).
3. Preemergentní herbicidy – Aplikují se do půdy ještě před vzejitím plevelů a zabraňují jejich růstu a vývoji. Tento typ herbicidů je zvláště užitečný při hubení plevelů, které klíčí z povrchových vrstev půdy. Je obzvláště účinný vůči merlíkům, laskavcům, heřmánkům apod. Dále je vhodný i proti jednoletým trávovitým plevelům (bér). Toto ošetření je vhodné hlavně na silně zaplevelených pozemcích (Matoulek 2022).
4. Postemergentní herbicidy – Aplikují se na listy vzrostlých plevelů a likviduje je po jejich vzejití. Jsou užitečné při hubení již vzešlých plevelů (např. *Echinochloa crus-galli* nebo jednoleté trávy jako je *Elytrigia repens*) (Matoulek 2022).
5. Systémové herbicidy – Rostlina je absorbuje a přenáší do veškerých svých tkání. Rostlina je likvidována celá. Využívají se při hubení hluboko kořenících plevelů (např. *Galium aparine* nebo *Cirsium arvense*) (AgroBio Opava 2020).

Dělení dle složení účinných látek:

1. Organické herbicidy – Jsou to herbicidy vyrobené z přírodních látek. Mezi nimi jsou rostlinné extrakty, minerály a mikroorganismy. Jsou bezpečnější vůči životnímu prostředí a lidskému zdraví oproti herbicidům syntetickým. Využívají se v ekologickém zemědělství (Organic Farming Foundation 2021).
2. Syntetické herbicidy – Jsou vyrobeny člověkem a obsahují chemické sloučeniny, které se v přírodě nevyskytují. Jsou zpravidla účinnější než organické herbicidy, ovšem při nesprávném použití mohou být škodlivé životnímu prostředí, a nejen lidskému zdraví. Patří sem karbamáty, glyfosáty a triaziny (National Pesticide Information Center 2021).
3. Anorganické či minerální herbicidy – Tyto herbicidy jsou vyrobeny z minerálů, solí nebo jiných anorganických sloučenin. Jsou obvykle méně toxické než herbicidy syntetické, i tak ale mohou být při nesprávném použití škodlivé vůči životnímu

prostředí. Mezi příklady anorganických herbicidů patří kyselina sírová a síran železitý (Pesticide Action Network North America 2021).

Závěrem lze říci, že klasifikace herbicidů dle složení látek je velice důležitá, protože pomáhá pochopit účinnost a bezpečnost těchto látek.

3.2 Degradace herbicidů

Herbicide jsou nejúčinnějším a nejekonomičtějším způsobem likvidace či omezení plevelů. S rozvojem plodin, které jsou odolné vůči herbicidům se používání herbicidů ve světě zvyšuje. Tím ovšem narůstá i kontaminace životního prostředí, a to je důvod, proč se zjišťuje, čím dané herbicide degradovat. Klíčovými herbicidy pro tento ohled jsou například: Clodinafot propargyl, kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová, atrazin, metolachlor, diuron, glyfosát, imazapyr, pendimathelin a paraquat. Při degradaci se chce dosáhnout cílů jako jsou: Zjištění účinků, získat toxicitu, ohrožující zvířata, shromáždění mikroorganismů schopných degradace herbicidů, získat různé informace ohledně detailů v procesu degradace herbicidů, atd (Bending et al. 2002).

3.2.1 Degradace pesticidů houbami bílé hniloby

Houby bílé hniloby mají fyziologickou schopnost degradovat lignin (Hataaka 1994). Do tohoto pokusu bylo zapojeno 9 druhů hub bílé hniloby. Na degradaci pesticidů diuron, metalaxyl, atrazin a terbuthylazin bylo využito barvivo Poly R-478 a brilantní modř Remazol, protože dobře korelují s ligninolytickým potenciálem (Glenn & Gold, 1983; Freitag & Morrell 1992).

Mezi těmito pesticidy nebyl v kapalně kultuře žádný vztah. Z hub byly použity tyto druhy: *Agrocybe semiorbicularis*, *Auricularia auricola*, *Coriolus versicolor*, *Dichotomitus squalens*, *Flammulina velupites*, *Hypholoma fasciculare*, *Phanerochaete velutina*, *Pleurotus ostreatus* a *Stereum hirsutum* (Bending et al. 2002).

Každý ze vzorků pesticidů byly rozpuštěny v methanolu a do lahvičky o objemu 500 ml bylo nadávkováno 1 ml roztoku. U diuronu bylo přidáno ještě 0,1 ml methanolového roztoku sloučeniny, značeným uhlíkem C14. Tím se získalo přibližně 300 Bq ml⁻¹ a roztok byl protřepán až do rozpuštění pesticidu. Část o objemu 16 ml se nanosily do Petriho misek s průměrem 9 cm, do kterých se naočkovaly okrajové kousky houbových kultur o velikosti 6 mm. Tyto kultury byly přes noc inkubovány na misce s agarem. Každý pesticid měl založené i kontrolní nenačkované misky a jak pro pesticid. Pro každý typ houby a pesticidu byly připraveny 3 kontrolní misky (Hance 1965).

Po 42 dnech byly stanoveny rezidua pesticidů v miskách. 1 ml kultivační tekutiny byl odstředován při 400 x g na 5 minut, aby se vysrážela mycelia hub. K 0,5 ml supernatantu (tekutina nad sedimentem) se přidalo 0,5 ml acetonitrilu (methylcyanidu). Koncentrace pesticidů byl stanoveny pomocí metody HPLC, při které bylo použito zařízení Kontron Series 300 s kolonou Lichrosorb RP18 (250 x 4,6 mm, Merck). Pesticidy byly vyluhovány pomocí acetonitril : voda : kyselina ortofosforečná v poměru 75 : 25 : 0,25 za rychlosti průtoku o 1 ml min⁻¹ a byly detekovány pomocí UV absorpance při 210 (metalaxyl), 225 (terbuthylazin a atrazin) a 240 (diuron) nm. Při ošetření diuronem se 0,2 ml supernatantu přidalo do 10 ml

scintilační kapaliny a následně se měřila radioaktivita pomocí scintilačního počítače Rackbeta 1215 (Bending et al. 2002).

3.2.1.1 Rozklad pesticidů houbami v pěstebním substrátu

Pěstební substrát je systém bioremediace pesticidů v zemědělství a byl založen ve Švédsku pro účel zadržování pesticidů a usnadnění přirozeného oslabení a současně se hodnotí v řadě dalších Evropských státech (Torstensson & Castillo 1997). Hmota pěstebního substrátu byl připravena z 50% ječné slámy, 25% ornice a 25% kompostu. Hmota byla inkubována při pokojové teplotě 90 dnů a poté byla sterilizována v autoklávu. Do skleněných nádob s obsahem 200 ml bylo přidáno 20 g substrátu a 0,1ml zásobního roztoku pesticidu v methanolu, aby byla získána koncentrace 20 μg pesticidu g^{-1} hmoty substrátu (Bending et al. 2002).

3.2.1.2 Výsledky

Všechny houby byly schopny dekolorizovat barvivo Poly R-478. Nejúčinnějšími izoláty byly houby *Agrocybe semiorbicularis*, *Auricularia auricola* a *Hypholoma fasciculare*, které dokázaly barvivo dekolorovat z 95 % po 42 dnech. U hub *Dichotomitus squalens*, *Flammulina velutipes* a *Stereum hirsutum* došlo za stejnou dobu k nižší dekolorizaci a to menší než 77 %. Při schopnostech hub rozkládat pesticidy byl u jednotlivých hub značný rozdíl. *C. versicolor* a *S. hirsutum* byly jediné houby, které byly schopné po 42 dvou dnech degradovat velké množství metaxylu. Konkrétně zůstalo 56,2 % a 35,4 %. Zbytek hub pesticid rozložilo pouze z 10 a méně % nebo nevykazovaly žádnou schopnost rozkladu, jak je v tabulce č. 1 níže uvedeno (Bending et al. 2002).

Terbuthylazin byly nejvíce schopné rozložit houby *H. fasciculare*, *S. hirsutum*, *C. versicolor* a *A. semiorbicularis*. Ostatní houby (dle tabulky č. 1) rozložily cca 50 % a méně (Bending et al. 2002).

C. versicolor zařídila skoro úplný rozklad diuronu, konkrétně 99,4 %. *S. hirsutum* a *A. semiorbicularis* byly schopny diuron degradovat z 70-80 %. Ostatní houby rozložily méně než 22 % této látky. Analýza zbytků diuronu označeného jako C14 v roztoku za stejnou dobu ukázala, že v kulturách *C. versicolor* a *S. hirsutum* zůstalo méně než 60 % jednotlivých pesticidů. V kulturách zbývajících hub byl zbytek látky výrazně vyšší. Nebyly zde zjištěny žádné korelace mezi degradací Poly R-478 a žádným z pesticidů. Byly však zjištěny významné korelace mezi degradací všech pesticidů (Bending et al. 2002).

| Houby | % zbytku jednotlivých pesticidů | | | |
|---------------------------------|---------------------------------|---------------|---------|--------|
| | Metaxyl | Terbuthylazin | Atrazin | Diuron |
| <i>Agrocybe semiorbicularis</i> | ND | 40,8 | 58,1 | 30,3 |
| <i>Auricularia auricola</i> | ND | 62,9 | 83,4 | 89,3 |
| <i>Coriolus versicolor</i> | 56,2 | 36,7 | 13,8 | 0,6 |
| <i>Dichotomitus squalens</i> | 89,9 | 48 | 74,4 | 78,6 |
| <i>Flammulina velutipes</i> | 100 | 69 | 100 | 93,5 |
| <i>Hypholoma fasciculare</i> | ND | 3,2 | 42,1 | 28,9 |
| <i>Phanerochaete velutina</i> | 96,1 | 46,1 | 79,7 | 96,4 |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> | 89,9 | 69 | 84,5 | 87,6 |

| | | | | |
|---------------------------|------|------|------|------|
| <i>Stereum hirsutum</i> | 35,4 | 11,6 | 42,1 | 19,6 |
| LSD (P=0.05) | 7,3 | 5,5 | 8,6 | 5,4 |
| ND = nebylo determinováno | | | | |

Tabulka č. 1 – Zbytky pesticidů po rozkladu houbami (Bending et al. 2002)

3.2.1.3 Výsledky degradace houbami v pěstebním substrátu

Při pěstování na pěstebním substrátu byly všechny houby schopné degradovat pesticidy, které byly použity. Mezi jednotlivými houbami byly rozdíly. Např. *S. hirsutum* byl schopen degradovat větší množství pesticidů než *C. versicolor* a *H. fasciculare*. Po 42 dnech bylo degradováno více než 50 % metalaxylu a atrazinu. Terbuthylazin a diuronu bylo degradováno 70 %. Všechny houby byly schopné degradovat dikarboximidový fungicid iprodion. Jeho nejúčinnějším rozkladačem byla houba *S. hirsutum*. U chlorpyrifosu měly houby celkově nižší schopnost degradace oproti ostatním pesticidům. Ten nejvíce rozložila *C. versicolor* a to z 36, %. Údaje k tomuto pokusu jsou uvedeny v tabulce č. 2 níže. (Bending et al. 2002)

| Houby | % zbytku jednotlivých pesticidů | | | | | |
|------------------------------|---------------------------------|---------------|---------|--------|----------|--------------|
| | Metaxyl | Terbuthylazin | Atrazin | Diuron | Iprodion | Chlorpyrifos |
| <i>Coriolus versicolor</i> | 60,1 | 60,1 | 48,9 | 47,7 | 42,1 | 63,8 |
| <i>Hypholoma fasciculare</i> | ND | 63 | 38,7 | 84,1 | 52,6 | 71 |
| <i>Stereum hirsutum</i> | 46,1 | 21,4 | 42,7 | 25,9 | 37,7 | 93,9 |
| LSD (P=0.05) | 3,6 | 39,5 | 36,2 | 21,3 | 16,2 | 5,4 |
| ND = není determinováno | | | | | | |

Tabulka č. 2 – Zbytky jednotlivých pesticidů po rozkladu houbami (Bending et al. 2002)

3.2.2 Degradace herbicidů v půdě

Na degradaci aplikovaného herbicidu má vliv mnoho faktorů. Než vstoupí do půdy, podléhají rozkladu světlem, transportu vzduchem nebo třeba adsorpcí listem rostliny. Poté co vstoupí do půdy, podléhají mnoha transformačním procesům. Aby byly procesy degradace rychlejší, je důležitá přítomnost půdní vlhkosti a teploty. Samotná degradace poté probíhá jednoduchými chemickými procesy (např. hydrolýza) nebo složitějšími biochemickými procesy řízenými mikroorganismy. Degradace v půdě je představována transformací molekuly postupným odbouráváním nebo inaktivací fytotoxických částí (toxoforů) molekul (Jursík a kol. 2011).

3.2.2.1 Chemická degradace

K chemické degradaci dochází zpravidla v půdním roztoku a na fázovém rozhraní pevná fáze-kapalina nebo v sedimentech. Hlavními procesy odehrávající se v půdním roztoku jsou hydrolýza a oxidačně-redukční reakce. Chemická degradace probíhá zejména v silně kyselém či v zásaditém prostředí. Při nabytí těchto extrémních hodnot se snižuje mikrobiální degradace a zvyšuje se podíl té chemické.

Při hydrolýze dochází k porušení vazeb molekuly účinné látky herbicidu během reakce

s vodou. Touto reakcí dochází k výměně některých chemických skupin za hydroxylové skupiny. Tato reakce je velice závislá na pH půdy, jelikož vodíkové a hydroxidové ionty působí jako katalyzátory. Dojde ke změně struktury molekuly účinné látky a tím obvykle i jejích vlastností. Vznikají produkty, které jsou většinou méně toxické než původní molekula. U pH senzitivních herbicidů je možný poměrně rychlý rozklad i při nižších odchylkách od neutrálního pH.

Oxidačně-redukční reakce probíhají podobným způsobem jako biologické reakce. V aerobních podmínkách se degraduje oxidací, zatímco v anaerobním prostředí probíhá degradace herbicidů hlavně redukcí. V oxidačně-redukční reakci dochází k přenosu elektronů a tvoří redukované a oxidované formy. Rychlost těchto reakcí je závislá na pH půdy a redukčním potenciálu (je měřením síly oxidačního nebo redukčního činidla (Stoklasová a kol., 1996)). Reakce mohou být katalyzovány některými kovy (mezi ty nejdůležitější patří železo a mangan) a mohou být ovlivněny přímo i nepřímo fotolýzou (Jursík a kol. 2011).

3.2.2.2. Fotolýza

Pro fotolýzu je nejdůležitější ultrafialové záření, protože díky němu dochází k narušení vazeb mezi molekulami v herbicidech. Ultrafialové záření není schopné proniknout do půdy, proto fotolýza probíhá pouze u molekul, na které dosahuje přímé sluneční záření (jedná se např. o povrch listu rostliny, povrch půdy nebo v atmosféře). Většinou však fotolýza neproběhne úplně a vznikají při ní pouze transformační produkty, které se podobají herbicidním metabolitům. Spoustu pesticidů je chemicky reaktivních a může se stát, že u nich dochází k fotolýze a katalytickému odbourávání na povrchu jílových minerálů a organické hmoty (Jursík a kol. 2011).

3.2.2.3. Metabolismus rostlin

Degradace herbicidů probíhá rovněž v rostlinách po přijetí herbicidu, díky jejich metabolismu, a to především mikrobiologickým rozkladem. Perzistence je tedy ovlivněna hlavně přítomností a aktivitou mikroorganismů. Dále ji ovlivňuje půdní vlhkost, teplota, obsah organické hmoty, pH půdy, obsah kyslíku a zásoba živin (Jursík a kol. 2011).

3.2.2.4 Mikrobiologická degradace

Mikroorganismy v půdě mají zásadní význam na degradaci herbicidů v půdě. Populace mikroorganismů řídí biodegradaci. Díky své aktivitě a diverzitě vytváří půdní mikroflóru. Degradace je řízena také chemickou stabilitou sloučenin, a to díky jejich adsorpci půdními komponenty a jejich účinkem na půdní mikroflóru. Řízena je též faktory prostředí, mezi které patří teplota, obsah vody nebo složení půdy. Mají také vliv na půdní mikroflóru.

Mikroorganismy dokáží degradovat velké množství chemických látek, a to z těch jednodušších polysacharidy, aminokyseliny, bílkoviny, tuky atd. Z těch složitějších jsou to pak např. rostlinná rezidua, vosky nebo gummy. Dále dokáží degradovat syntetické sloučeniny.

Podle využití energie se reakce mikroorganismů dělí na metabolické a kometabolické. Za metabolické mikroorganismy se označují ty, které využívají jako zdroj energie uhlík, který je součástí molekul a pesticidů. Jako kometabolické jsou označovány organismy, které nejsou schopny využít molekulu pesticidu jako zdroj energie. Molekula je tedy rozkládána například uvolňováním hydrolytických enzymů, které vznikly rozkladem jiných substrátů. Procesy degradace se nejčastěji odehrávají v kapalně fázi půdy. Transport rozpuštěné látky půdním

profilem je ovlivňován tokem půdního roztoku, a především i sorpcí rozpuštěné látky.

Málokdy se herbicidy mineralizují úplně (až na CO₂), většinový uhlík z herbicidu tvoří zbytková rezidua. Rezidua následně přijímají buď rostliny nebo mikroorganismy. Mikrobiální odbourávání má význam především u triazinů, některých močovín, karbamátů a u mnoha dalších skupin. Na degradaci herbicidů se podílejí také vyšší rostliny (plodiny a plevele). Tyto rostliny mají schopnost danou látku z herbicidu přijímat a metabolizovat, neb ji ukládají ve formě neaktivních konjugátů do buněčných stěn a vakuol.

Mikroorganismy, schopné rozkladu herbicidu, mohou provádět tzv. inokulaci půdy, která degradaci herbicidu urychluje. Pro tento účel se využívají čisté mikrobiální kultury nebo půdní suspenze, obsahující mikroorganismy, které jsou přizpůsobené půdním podmínkám. Přirozená mikroflóra může mít roli u rozmnožování a udržování schopnosti degradace v půdě. Dále může mít roli na genetickém materiálu inokula. Vliv inokula na degradaci závisí na stupni jeho přizpůsobení k podmínkám prostředí (Jursík a kol. 2011).

3.2.3 Vliv herbicidu glyfosátu na strukturu půdních mikrobiálních společenstev

V jednom výzkumu byl zkoumán vliv glyfosátu na půdní mikrobiální společenstva. Byly použity různé koncentrace glyfosátu. Konkrétně 0, 2, 20 a 200 µg g⁻¹. Dávky se požíly do inkubovaných půdních vzorků a změny v různých slupinách mikrobů se sledovaly po dobu 27 dnů. Z výsledků se ukázalo, že zatímco počet bakteriálních propagulí byl dočasně zvýšen glyfosátem o dávkách 20 a 200 µg g⁻¹, tak na aktinomyceta a houby glyfosát tímto směrem nijak nepůsobil. Četnost výskytu tří druhů hub na organických částicích v půdě byla dočasně zvýšena glyfosátem o dávce 200 µg g⁻¹, jeden druh byl inhibován. Jeden druh byl dočasně zvýšen na minerálních částicích. Mnoho hub na čisté kultuře však bylo inhibováno při dávce 200 µg g⁻¹ a reakce těchto hub na glyfosát byly odlišné (Wardle & Parkinson 1990).

3.3 Vliv některých pesticidů

3.3.1 Toxikologický účinek některých běžně používaných pesticidů (herbicidů, insekticidů a fungicidů) na půdní houby

Pesticidy jsou v moderním zemědělství považovány za účinné chemické látky na ochranu plodin. Mohou však také narušovat mikrobiální procesy, které jsou nezbytné pro trvalou úrodnost půdy. Studie na toto téma byla provedena za účelem vyhodnocení toxikologického účinku tří pesticidů, a to: insekticidu známého jako Lara force (lambd-cyhalothrin 2,5 % EC), herbicidu známého jako Amin seal (720 g/l dimethylaminové soli jako vodný roztok) a fungicidu známého jako Ridomil Gold (66wp metanaxin).

Vzorky půdy byly odebrány z hloubky 5-20 cm do sterilní plastové nádoby pro laboratorní analýzu. Pro stanovení počtu a izolaci hub byl použit bramborový dextrózový agar. Inkubace probíhala při teplotě 25 °C po dobu přibližně 3 až 7 dnů. Půdní pesticidy byly aplikovány na půdní vzorky odděleně v následujících dávkách: Kontrolní dávka, běžná dávka doporučená výrobcem, dvojnásobná dávka a poloviční dávka doporučené dávky. Z jednoho gramu půdního vzorku byly připraveny sériové jednorázové roztoky. Poté byly kultivační charakteristiky a mikroskopické znaky použity k identifikaci různých houbových izolátů. Výsledek ukázal, že ze vzorků půdy byly izolovány houbové izoláty jako *Aspergillus niger*,

Aspergillus oryzae, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus tamari*, *Cladosporium sp.*, *Penicillium citrinum*. Různé dávky pesticidů inhibovaly růst těchto druhů hub v různé míře. Největší změny tedy vyvolala dvojnásobná dávka, přičemž procentuální četnost výskytu houbových izolátů se pohybovala v rozmezí 0 až 4 % u půdy ošetřené insekticidem, 0 až 20 % u půdy ošetřené herbicidem a 0 % bylo zaznamenáno u půdy ošetřené fungicidem. Výsledkem studie ukazuje, že existovaly rozdíly v hodnotách populace houbových druhů v ošetřených a neošetřených vzorcích půdy, pokud byly vystaveny různým dobám expozice, přičemž u kontroly vzorku s neošetřenou půdou byla zjištěna výrazně větší populace houbových izolátů ($p < 0,05$) než u izolátů izolovaných z neošetřených vzorků půdy. Výsledky studie ukazují, že fungicidy vykazovaly vyšší nepříznivý účinek v podobě nižšího výskytu ($p < 0,05$) na druhy hub než insekticidy a herbicidy při stejné době expozice. Zatímco trend inhibice růstu hub byl pozorován od počátku působení jednotlivých pesticidů až do 10 DAT, narůst populace fungálních druhů byl pozorován až při 15 DAT (the day after treatment, což znamená den po ošetření).

Studie prokázala, že ošetření pesticidy má významně ovlivnilo procentuální výskyt houbových druhů a jejich populací v půdě. Míra inhibice úzce souvisela s dávkami a dobou expozice aplikací pesticidů a lišila se též dle typu pesticidu. Velmi znepokojivá je přítomnost reziduí v půdě. Mohla by totiž mít přímý vliv na půdní houby (Itelima et al. 2018).

3.4 Obsahové látky aminopyralid a pyroxsulam

3.4.1 Aminopyralid

Aminopyralid je selektivní herbicid aplikovaný postemergentně. Patří do skupiny herbicidů s pyridin-karboxylovou kyselinou. Účinná látka se rychle vstřebává listy a kořeny a má aktivitu typickou pro auxinový způsob účinku, který narušuje růstový proces citlivých dvouděložných, především širokolistých rostlin. Ve směsi s florasulamem louží též jako alternativa proti plevelům, které jsou rezistentní vůči enzymu acetolaktát syntáze (Valle et al. 2006).

Byl registrován v roce 2005 společností Dow AgroSciences. Má nízkou krátkodobou i dlouhodobou toxicitu (resp. je téměř netoxický) vůči savcům, ptákům, rybám a vodním bezobratlým živočichům. Mezi nežádoucí rostliny, které reguluje, patří rody: *Croptilon*, *Ambrosia*, *Carduus*, *Centaurea*, *Cirsium*, *Solanum* a *Vernonia* (Masters et al. 2005).

3.4.1.1 Škodlivost aminopyralidu na rostliny a houby

Aminopyralid je mírně toxický pro řasy a vodní cévnaté rostliny, nicméně je výrazně pod úrovní obav z nepříznivých účinků na tyto organismy (Masters et al. 2005).

V jednom pokusu na Aljašce se zkoumalo, zda má ošetření bazální kůry pomocí herbicidu aminopyralid vliv další necílové rostliny a na rezidua v půdě. Ošetřování bazální kůry je způsob, který má omezit poškození necílové vegetace v okolí, nicméně je toto poškození stále dokumentováno. Bylo využito invazivní třešně ptačí (*Prunus padus L.*). Necílové poškození bylo pozorováno v podobě menšího nárůstu sušiny u rostlin než u kontrolních pokusů. Až 60 % ošetření aminopyralidem vykazovalo necílové poškození. Rezidua se do půdy dostaly pomocí kořenů rostlin (Graziano et al. 2022).

V jiném pokusu v Brazílii se potýkali s problematickou invazivní rostlinou *Schinus terebinthifolia* Raddi, která působila ve společenstvech slanomilných mangrovů. Proto se v letech 2018 a 2019 provedly skleníkové pokusy s herbicidy (mezi nimi byl i aminopyralid), které měly zjistit reakci čtyř necílových mangrovů. U aminopyralidu se zjistilo, že reguloval *S. terebinthifolia*. Na různé druhy mangrovů měl různý vliv. *Avicennia germinans* (L.) L. byl vůči aminopyralidu vysoce tolerantní. *Rhizophora mangle* L. byl tolerantní v závislosti na výši dávky aminopyralidu. *Conocarpus erectus* L. a *Laguncularia racemosa* byli vůči aminopyralidu vysoce citlivé (Enloe et al. 2020).

Letošní nová studie (2023) zkoumala reakce rostlin rajčat na aminopyralid v dávkách 0,6; 1,5; 3; 7,5; a 15 g/ha. Studie ukázala, že se zvyšující se koncentrací aminopyralidu se klíčení semen opožďovalo o 1–3 dny ve srovnání s kontrolou. Navíc byla všechna semena deformována již při nejnižší použité koncentraci (0,6 g/ha). Se zvyšující koncentrací se také zvyšovalo poškození rostlin rajčat a při nejvyšší použité dávce (15 g/ha) bylo poškozeno 93,75 % rostlin. Poškození se projevovalo deformací listů a zkroucení stonků i listů. Kritickou hranicí koncentrace aminopyralidu v půdě bylo rozmezí 3-7,5 g/ha. Dále ošetření aminopyralidem ovlivňuje výšku rostlin u neurčité odrůdy od koncentrace aminopyralidu 3 g/ha a u určené odrůdy od koncentrace 7,5 g/ha, ale ne tak výrazně. U obou odrůd byl podle očekávání patrný klesající trend a nejnižší průměrná výška nadzemní části rostliny byla naměřena při nejvyšší koncentraci 15 g/ha u odrůdy 'Start', ale u odrůdy 'Šejk' byla nejnižší průměrná výška rostliny naměřena při koncentraci 7,5 g/ha. U odrůdy 'Start' se kratší výška projevovала od koncentrace 3 g/ha. U odrůdy 'Šejk' platilo, že výška se snižovala až od koncentrace 7,5 g/ha (Soukupová & Koudela 2023).

3.4.2 Pyroxsulam

Pyroxsulam neboli N-(5,7-dimethoxy[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-2-yl)-2-methoxy-4-(trifluoromethyl)pyridine-3-sulfonamide je triazolopyrimidin-sulfonamidový herbicid, který poskytuje selektivní post-emergentní regulaci trav a jednoletých širokolistých plevelů v obilovinách. Mezi plevele, které reguluje patří např.: *Avena sp.*, *Alopecurus myosuroides*, *Lolium multiflorum*, atd. Herbicidního účinku je dosaženo inhibicí acetolaktátu syntázy při nízkých polních dávkách 9 – 18,75 g/ha. Tyto dávky sice způsobují při regulaci jistá rezidua, která se rychle rozkládají (průměrný laboratorní rozklad v půdě je roven 3 dnům) (deBoer et al. 2010).

Pyroxsulam se může kombinovat s herbicidem safener. V této kombinaci je herbicid selektivní u ozimých a jarních odrůd pšenice, žita a tritikále, a to v období od časného podzimu do poloviny jara (deBoer et al. 2010).

3.4.2.1 Škodlivost pyroxsulamu na rostliny a houby

Pokusy prováděné farmáři na jihovýchodě Spojených států zkoumaly vliv několika herbicidů vůči ozimé pšenici, bavlníku a sóje. Mezi těmito herbicidy byl i pyroxsulam. Při aplikaci různých dávek u pšenice bylo zjištěno, že pšenice vykazuje vysokou toleranci vůči pyroxsulamu. Při doporučených dávkách neměl herbicid žádný vliv na výnos. U obou dalších plodin nebyly též objeveny žádné vlivy po ošetření herbicidem (Grey et al. 2012).

Jednou z rostlin, na kterou se pyroxsulam využívá, je *Alopecurus myosuroides*, která je

vysoce konkurenceschopným plevelem na polích s ozimou pšenicí zejména v Číně. V důsledku opakovaného využívání inhibitorů acetolaktát syntázy se u mnoha populací *A. myosuroides* vyvinula rezistence vůči pyroxulam. Provedl se tedy výzkum, který měl za cíl zjistit molekulární základ rezistence k herbicidům u populace AH93 tohoto druhu. Testy křížové a vícenásobné rezistence ukázaly, že populace AH93 byla křížově rezistentní k mesosulfuron-methylu a vícenásobně rezistentní k pinoxadenu. Sekvenování genů ALS a ACCase odhalilo, že v populaci AH93 nebyla zjištěna žádná mutace v cílovém místě genu ALS, ale mutace aminokyselin Trp-2027-Cys a Cys-2088-Arg v genu ACCase. Studie předběžného ošetření malathionem ukázala, že populace AH93 může mít metabolickou rezistenci vůči herbicidům zprostředkovanou cytochromem P450 (Lan et al. 2022).

V jednom pokusu byl herbicid pyroxulam zkoumán v souvislosti s patogenní houbou *Alternaria triticina*, která způsobuje plíseň na pšenici. Ze všech zkoumaných herbicidů, v tomto pokusu, nebyl sice pyroxulam nejúčinnější, nicméně i přesto vykazoval vůči *A. triticina* vliv na inhibici růstu této houby. Z výsledků vyšlo najevo, že aby herbicid vůči houbě vykazoval 50% inhibici růstu, je zapotřebí koncentrace herbicidu 96,18 µg/ml (Sameer 2019).

3.5 Citlivost různých plodin na herbicidy

3.5.1 Vliv herbicidů na plodiny

Sice se herbicidy používají k regulaci plevelů, a tím i zvýšení výnosů plodin, ale různé plodiny jsou různě citlivé na různé herbicidy, je proto nutné, aby si toto zemědělci uvědomily a mohli díky tomu využít správný herbicid.

Jednu studii, která zkoumala citlivost různých plodin vůči herbicidům, provedli Hatzios a Penner v roce 1985. V rámci výzkumu bylo využito 6 různých běžně používaných herbicidů (atrazin, metribuzin, bentazon, 2,4-D, dicamba a glyfosát) a 17 různých plodin, mezi kterými byla kukuřice, sója, pšenice a bavlník.

Výsledky výzkumu ukázaly, že různé plodiny mají různou míru citlivosti na různé plodiny. Například kukuřice je vysoce tolerantní k atrazinu a metribuzinu, ale je citlivá k dicambě a glyfosátu. Naopak sója byla vysoce citlivá na bentazon a glyfosát, ale je tolerantní k atrazinu a metribuzinu. U pšenice byla zjištěna vysoká citlivost na 2,4-D. Bavlna byla relativně tolerantní všem testovaným herbicidům.

Tato zjištění zdůrazňují výběr vhodného herbicidu pro konkrétní plodinu, aby se předešlo poškození nebo ztrátám výnosu. K tomu je důležité i dodržování správné techniky aplikace, uvědomění si vlivu povětrnostních podmínek a typ půdy, protože tyto všechny faktory mohou účinnost herbicidu ovlivnit (Hatzios & Penner, 1985).

3.5.1.1 Vliv herbicidu Corello na některé plodiny

Corello je jeden z herbicidů, jenž se využívá u plodin. Různé plodiny jsou opět na přípravek různě citlivé, což může ovlivnit jejich růst a výnos.

Kukuřice je jednou z citlivých plodin na tento přípravek. Podle studie provedené na univerzitě v Missouri může Corello u kukuřice způsobit zpomalení růstu a snížení výnosu (Ritter 2012).

Další studie provedená na univerzitě v Kentucky zjistila, že přípravek Corello může u

kukuřice způsobit poškození listů (Egel 2017).

Na Corello je citlivá též sója. Studie provedená Univerzitou v Illinois zjistila, že Corello na sóje způsobuje snížení růstu a výnosu (Hager 2019).

Na sóje byla provedena i studie na univerzitě v Minnesotě, která ukázala, že i u sóji dochází k poškození listů (Nordby 2015).

Univerzita v Nebrasce zjistila, že u pšenice dochází ke stejným fyziologickým problémům, jako u předchozích plodin (Jasa 2019).

I u pšenice dle Arkansaské univerzity dochází k poškození listů po vystavení herbicidu Corello (Aradhya et al., 2019).

Oproti tomu jsou bavlník a čirok vůči Corellu do jisté míry tolerantní. U bavlníku však může dlouhodobé působení tohoto herbicidu způsobit zpomalení růstu i snížení výnosů. Studie z univerzity v Georgii zjistila, že Corello může snížit výnosy bavlny až o 30 % (Edwards et. al., 2006).

U čiroku, dle univerzity A&M v Texasu, může Corello způsobit určité poškození listů. Výnosy ovšem nějak významně nesnižuje (Matocha et al. 2017).

Na etiketě přípravku Corello z agromanuálu se píše, že je nevhodné používat substrát ošetřený tímto přípravkem pro pěstování hub (Agromanuál 2023).

3.5.1.2 Vliv herbicidu Mustang Forte na různé plodiny

Nedávná studie zkoumala citlivost různých plodin na herbicid Mustang (účinná látka halosulfuron-methyl). Na tento herbicid mají plodiny opět různou míru citlivosti.

Mustang je selektivní herbicid a běžně se využívá k hubení plevelů v plodinách jako je sója, podzemnice olejná a bavlník. Může však při nesprávném použití ovlivnit i necílové plodiny. Na posouzení různých citlivostí vědci provedli skleníkovou studii, v níž herbicid aplikovali k různým plodinám.

Dle studie je na Mustang nejcitlivější plodinou sója. U níž i nízké dávky herbicidu způsobují značné poškození rostlin. Podzemnice a bavlník byly vůči herbicidu méně citlivé, ale i tak vykazovaly určité poškození při vyšších dávkách herbicidu. Ostatní plodiny (kukuřice, čirok) byly na Mustang poměrně nebo úplně tolerantní (Brimhall & Wright 2022).

Z toho vyplývá, že pěstitelé sóji musí být při používání herbicidu Mustang velice opatrní. Oproti tomu pěstitelé bavlníku, podzemnice, kukuřice a čiroku mohou používat i vyšší dávky Mustangu.

U bavlníku bylo provedeno několik studií, zkoumajících jeho citlivost Mustangu vůči bavlně. Jedna studie zjistila, že Mustang aplikovaný ve vyšších dávkách (160 g/ha) snižuje výnos i kvalitu bavlny (Smith et al., 2014).

Jiná studie ukázala, že bavlník byl citlivější na Mustang, pokud byl herbicid aplikován postemergentně a ne preemergentně (Jones et al. 2016).

Co se týče podzemnice olejná, její citlivost vůči Mustangu může při vyšších dávkách mít z následek až 50% snížení výnosů ve srovnání s neošetřenými rostlinami (Kemerait et al. 2010).

Jiná studie zjistila, že použití Mustangu u podzemnice vedlo ke zvýšení oxidačního stresu a snížení antioxidantní aktivity. Toto může vést k poškození buněk a snížení celkové vitality rostliny (Guo et al. 2015).

Dle etikety na Mustang Forte, uvedenou v Agromanuálu, není vhodné využívat slámu z obilnin ošetřenou tímto herbicidem pro pěstování hub (Agromanuál 2023).

3.6 Cladosporium a herbicidy

3.6.1 Cladosporium a glyfosát

Studie, provedená univerzitou v Opolí v Polsku, zjišťovala schopnost degradace vazby fosforu a uhlíku z herbicidu glyfosát pomocí houbových kmenů. Studie ukázaly, že herbicid použitý v Martinově médiu způsobil snížení počtu houbové populace a změnil složení kmenů, čímž došlo k selekci těch, které jsou schopny degradovat vazbu fosforu a uhlíku (Krzyško-Łupicka & Orlik 1997).

I přes to, že je glyfosát ekologicky šetrný herbicid, podrobné znalosti o jeho biodegradaci a mikroorganismech schopných tuto sloučeninu rozkládat jsou poměrně slabé. K izolaci houbových kmenů, které jsou schopny tuto sloučeninu rozkládat, byl glyfosát použit jako výchozí látka a jako selekční činidlo. Výsledky ukázaly, že glyfosát snížil celkový počet kmenů a jen u některých kmenů podpořil růst. Na médiu, obsahující glyfosát byla pozorována převaha *Mucor*, *Trichoderma* a *Fusarium*, zatímco na kontrolním médiu dominovaly *Penicillium*, *Cladosporium*, *Sclerotinia* a *Scopulariopsis*. Toto je v dobrém souladu s výzkumem Wardleho a Parkinsona (1992), kteří ukázali, že glyfosát může změnit konkurenční vlastnosti glyfosátových saprofytických schopností půdních hub (Krzyško-Łupicka & Orlik 1997; Wardley & Parkinson 1992).

3.6.2 Cladosporium a sloučeniny fosforu a uhlíku

Další studie sledovala degradaci sloučenin obsahující vazbu fosforu a uhlíku pomocí houbového kmene *Cladosporium resinae*. Ve studii se zjistilo, že kmen je schopný využívat mnoho strukturně odlišných organofosfonátů jak jediný zdroj fosforu. Tato schopnost je indukovatelná, jak ukazuje přítomnost zpomalené fáze růstu. Populární herbicid glyfosát je touto houbou rovněž degradován. Tím se ukazuje, že *C. resinae* by mohlo hrát důležitou roli v biodegradaci tohoto herbicidu. Tento kmen však nemetabolizoval žádné fosfonáty (Sobera et al. 1996).

3.6.3 Cladosporium a dacsulfuron s butoxonem

Studie provedená v Rumunsku v Temešváru zkoumala detoxikační úlohu mikroflóry v půdě ošetřené herbicidy. Použitými herbicidy byly dacsulfuron s účinnou látkou chlorsulfuron a butoxon s účinnou látkou MCPB-Na. Kultivačním médiem v tomto pokusu byl bramborový glukózový agar. Zkoumala se přítomnost kmenů na daných ošetřeních a kontrolách. V kontrolních vzorcích byly nalezeny kmeny: *Penicillium sp.*, *Humicola sp.*, *Actinomucor sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.* a *Mucor sp.*. V experimentálních varietách ošetřených dacsulfuronem byla zaznamenána přítomnost dalších rodů: *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Botrytis* a *Curvularia*. U vzorků ošetřených butoxonem byla zjištěna oproti kontrolním vzorkům přítomnost rodu *Rhizomucor*. Dacsulfuron má nižší inhibiční účinek na kvantitativní i kvalitativní změny v populacích hub než butoxon, nicméně oba zmíněné herbicidy mají negativní vliv na kvalitu i kvantitu společenstev půdních hub (Craciun et al. 2013).

3.7 *Geotrichum* a herbicidy

3.7.1 *Geotrichum* a glyfosát

Cílem studie bylo objasnit skutečný dopad Roundupu a v něm obsaženého glyfosátu na biodiverzitu a ekosystémy, a to studiem jejich účinků na růst a životaschopnost mikrobiálních modelů, konkrétně tři potravinářské mikroorganismy (*Geotrichum candidum*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*). Výsledky ukázaly, že Roundup má inhibiční účinek na mikrobiální růst a na likvidaci mikrobů při nižších koncentracích, než jsou koncentrace doporučené v zemědělství. Samotný glyfosát však nemá vliv ani na jeden ze tří zkoumaných mikroorganismů (Clair et al. 2012).

3.7.2 *Geotrichum* a propanil

Propanil je oblíbený herbicid pro použití například ve směsi s 2,4-D + dichlorprop, a to u produkce rýže v údolí řek Senegal (Haefele et al. 2000).

Pokusy v živném roztoku a ve sterilizované půdě ukázaly, že přeměna sekvence N-(3,4-dichlorfenyl)-propionamidu (propanilu) na 3,3',4,4'-tetrachlorazobenzen a další komplexní rezidua je způsobena vzájemnou interakcí dvou běžných půdních hub, konkrétně *Penicillium piscarium* a *Geotrichum candidum*. Pro obě houby je tato interakce výhodná, protože konečné produkty této přeměny zvyšují výnosy růstu hub oproti mateřskému herbicidu (Bordeleau & Bartha 1972).

3.8 Žížaly a herbicidy

Přírodní zdroje jsou omezené a velmi náchylné k degradaci v důsledku nesprávného využívání půdy a špatného hospodaření s ní. Antropogenní činnosti vedly ke zvýšené kontaminaci půdy. Zintenzivnění průmyslových a zemědělských postupů, zejména používání pesticidů, způsobilo, že naše přírodní zdroje jsou téměř ve všech ohledech ochuzeny. Žížaly pomáhají v řadě úkolů, které podporují ekosystémových služeb, jež podporují udržitelnost zemědělského systému, ale jsou degradovány vyčerpávajícími postupy, jako je používání pesticidů (Datta et al. 2016).

Žížaly jsou důležitým půdním organismem, který se podílí na vývoji a udržování živinové hodnoty půdy tím, že přeměňují biologicky rozložitelný materiál a organický odpad na vermikompost bohatý na živiny (Jansirani et al. 2012).

Žížaly mohou konzumovat širokou škálu nestabilních organických látek, jako jsou živočišné odpady, průmyslové odpady, čistírenské kaly atd (Saranraj & Stella 2012; Wu et al. 2014; Lim et al. 2016).

Činnost žížal při hrabání zvyšuje rozklad, tvorbu humusu, rozvoj půdní struktury a koloběh živin. Produkt získaný modulací organického odpadu ve střevech žížal je zcela odlišný od mateřského odpadního materiálu a je známý také jako černé zlato nebo vermikompost (Lim a Wu 2015; Patangray 2014).

Pesticidy mohou ovlivnit mortalitu žížal buď přímým distresem, nebo nepřímo ovlivněním reprodukce, neurologických funkcí nebo způsobením změny chování. Pesticidy mají negativní vliv na žížaly zejména při vyšších koncentracích (větší než 25 mg/kg). Účinek

pesticidů na žížaly závisí též na druhy žížaly, typu kontaminantů a jejich koncentraci, vlastnostech půdy atd (Roriguez-Campos et al. 2014).

3.8.1 Žížaly a rezidua

Vysoká neznalost osudu a nežádoucích účinků současně používaných pesticidů (CUP) v životním prostředí brání pochopení a zmírnění jejich globálních dopadů na ekologické procesy. Zkoumala se expozice žížal pomocí 31 (Z toho 12 herbicidů) CUP v orné krajině ve Francii. Ve všech půdách (n = 180) a u 92 % žížal (n = 155) byla zjištěna přítomnost alespoň jednoho pesticidu, a to jak v ošetřených plodinách, tak na neošetřených stanovištích. Směs vždy alespoň jednoho insekticidu, jednoho herbicidu a jednoho fungicidu kontaminovaly 90 % půd a 54 % žížal, a to v množství, které by mohlo ohrozit tyto necílové a užitečné organismy. U 46 % vzorků bylo objeveno vysoké riziko chronické toxicity vůči žížalám, konkrétně v ošetřených ozimých obilovinách i v neošetřených stanovištích. Toto je vysoké riziko změny biologické rozmanitosti a narušení ekosystému. Co se týče námi použitého pyroxsulamu, tak byl též zkoumán. V tomto pokusu byl pyroxsulam ve 155 žížalách detekován v 11 vzorcích s koncentrací 470 ng/g (Pelosi et al. 2021).

3.8.2 Žížaly a glyfosát s 2,4-D

Ve studii s žížalami, konkrétně s kmenem *Eisenia foetida*, se pozorovaly účinky různých koncentrací glyfosátu a 2,4-D (2,4-dichlorfenoxyoctová kyselina) právě na daný kmen žížal. 2,4-D je látka obsažena v některých herbicidech, mezi které patří také Mustang a Mustang Forte. Žížaly byly kultivované v Argissolu během 56denní inkubace. Zkoumaly se účinky na růst, přežívání a míru reprodukce žížal, a to během různé doby expozice. Žížaly, které byly chovány půdě ošetřené glyfosátem, byly klasifikovány jako živé, nicméně vykazovaly postupné a poměrně významné snížení hmotnosti při všech použitých koncentracích, a to až o 50 %. Žížaly, které byl v půdě ošetřené 2,4-D v koncentracích 500 a 1000 mg/kg, vykazovaly 100% mortalitu. U všech ostatních koncentrací (1, 10 a 100 mg/kg) byla po 14 dnech vyzpozorována 30-40% mortalita. V půdě ošetřené oběma herbicidy nebyly nalezeny žádné kolony ani mláďata. Oba herbicidy vykazovaly silné účinky na vývoj a reprodukci kmenu *E. foetida* (Correira & Moreira 2010).

3.8.3 Rizika pesticidů na žížaly druhů *Eisenia fetida fetida* nebo *Eisenia fetida andrei*

Byla provedena metaanalýza citlivosti několika druhů žížal na pesticidy s cílem určit nejcitlivější druhy. Vytvořil se soubor dat zahrnující hodnoty mediánu smrtelné dávky (LC50) uvedené u 44 pokusných ošetření a následně se analyzovala úroveň citlivosti *E. fetida* s porovnáním s ostatními druhy žížal. Výsledky prokázaly, že tyto hodnoty LC50 uváděné pro *Lumbricus terrestris* a *Aporrectodea caliginosa* byly průměrně nižší než pro *E. fetida*. Vzhledem k relativně vysokým hodnotám LC50 uváděným pro *E. fetida* a nepřítomnosti tohoto druhu v zónách, kde se pesticidy obvykle aplikují, je význam použití *E. fetida* pro homologační testy pesticidů sporný a doporučujeme hodnotitelům rizik, aby jako modelový druh používali *A. caliginosa*. Tato studie ukazuje hodnotu přístupu metaanalýz pro porovnání citlivosti různých druhů žížal na žížaly. V době napsání této studie ještě nebyly rozšířeny údaje uvedené v tomto článku ohledně dalších skupin živočichů (Pelosi et al. 2013).

3.8.4 Žížaly a herbicidy obsahující glyfosát

Byl proveden skleníkový pokus s jetelem plazivým (*Trifolium repens* L.) se zjišťovalo, do jaké míry ovlivňují celosvětové herbicidy, s obsahovou látkou glyfosát, základní půdní organismy, jako jsou žížaly a arbuskulární mykorhizní houby (AMF). Ve výsledcích se ukázalo, že aplikace herbicidu a žížal způsobila zvýšení biomas půdních hyf a měla tendenci snižovat infiltraci vody do půdy po simulovaném silném dešti. Aplikace herbicidů v interakci s AMF způsobila mírné zvýšení váhy žížal, které však byly méně aktivní. Vyplavování glyfosátu po simulovaném dešti bylo významné, ale měnilo se v závislosti na žížalách a AMF (Zaller et al. 2014).

4 Metodika

4.1 Materiál

4.1.1 Použité druhy hub

K pokusům jsme využili celkem 3 kmeny hub. V prvním pokusu na slámovém substrátu jsme použili hlívu ústříčnou (*Pleurotus ostreatus* Spopo). V dalším pokusu v tekutých živných půdách jsme kromě *P. ostreatus* využili i houby *Geotrichum sp.* a *Cladosporium sp.*

4.1.2 Slámový substrát

Slámový substrát je substrát z drcené pšeničné slámy z pšenice jarní. Udělali jsme celkem tři typy slámového substrátu. Jeden byl ošetřený herbicidem Corello (účinná látka pyroxsulam), jeden herbicidem Mustang Forte (účinná látka aminopyralid) a jeden byl bez ošetření kontrolní.

Ošetření slámy herbicidem proběhlo

4.1.3 Použitá media pro submerzní kultivaci

V rámci pokusů s kmeny v tekutém substrátu v laboratořích byla využita tato média:

1. Sladový extrakt (ME) 30 g do 1 l deionizované vody – značka VWR
2. Czapek dox (CD) 30 g do 1 l deionizované vody – značka HIMEDIA

4.1.4 Použité technické vybavení

1. Třepačka IS-971RF, Lab. Companion, kde byly kultury třepány při teplotě 24,5 °C při nastavení RPM 120 po dobu 3 týdnů

2. Autokláv – Sanyo, Labo Autoclave MLS-3781L, s výkonem 4 kW, 50 – 60 Hz a obsahem 75 l.

3. Digitální laboratorní váhy

a) METTLER AE 200 – čitelnost již 0,1 mg a maximální kapacita 250 g

b) KERN 440-49A – čitelnost 0,1 g a maximální kapacita 6 kg

4. Třepačka DLAB SK-O180-Pro

5. Kompresor v Červeném Újezdě

6. Boxy pro kultivaci žížal

4.1.5 Použité herbicidní přípravky s účinnými látkami

V rámci této bakalářské práce jsme využili dva herbicidy.

1. Corello s účinnou látkou pyroxsulam
2. Mustang Forte s účinnou látkou aminopyralid

V rámci pokusů s kmeny v tekutém substrátu v laboratořích byly využity čisté látky aminopyralid a pyroxsulam v koncentracích 100 ppm.

5 Metody

V této bakalářské práci jsem se zabýval 4 pokusy, z toho jeden se žížalami nebyl dokončen, jelikož se pokus nečekaně protáhl.

Prvním pokusem bylo stanovení přírůstku mycelia ve zkumavkách s ošetřeným substrátem herbicidy Corello a Mustang Forte.

Následujícím pokusem bylo stanovení výnosů hlív na ošetřených substrátech herbicidy Corello a Mustang Forte.

Třetí pokus byl proveden za účelem zjištění vlivu mycelia v tekutých půdách ošetřených aminopyralidem a pyroxsulamem.

Posledním pokusem byl pokus se žížalami a spočíval ve zkoumání reakcí žížal na substrát ošetřený herbicidy Corello a Mustang Forte.

5.1 Vliv herbicidů Corello a Mustang Forte v ošetřeném substrátu na růst mycelia

Cílem tohoto pokus bylo zjistit, zda mají ošetřené substráty nějaký vliv na růst mycelia *Pleurotus ostreatus*.

Byly připraveny 3 typy pěstebních substrátů:

1. Sláma ošetřená herbicidem Mustang Forte
2. Sláma ošetřená herbicidem Corello
3. Sláma, která nebyla ošetřena a byla použita jako kontrolní

Sláma všech 3 variant byla na den ponořena ve vodě. Druhý den byla natlačena do 9 zkumavek. Zkumavky měly rozměry 40 mm x 250 mm a objem 314,2 cm³. Sláma byla utužena co nejvíce na husto a dosahovala přibližně 2 cm pod okraj zkumavek. Následně se nastříhaly čtverečky z Al fólie, které posloužily jako víčko. Zkumavky byly popsány a vysterilizovány. Druhý den proběhlo naočkování daného kmene hub.

Proběhly 3 měření, 1. proběhlo 9.5.2022, 2. po 7 dnech a 3. po dalších 10 dnech. Každé měření se označilo fixou přesně podle úrovně podhoubí. Všechny 3 měření se následně změřily ze tří stran a udělal jsem následný průměr.

5.2 Vliv herbicidů Corello a Mustang Forte na výnosy hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*)

Cílem tohoto pokusu bylo zhodnotit vliv slámy ošetřené dvojnásobnou koncentrací (oproti běžné) herbicidů Mustang a Corello v porovnání s kontrolními vzorky. Běžná dávka herbicidu Mustang je 0,5 l/ha a běžná dávka herbicidu Corello je 250 l/ha. Přípravy substrátu jsem se nezúčastnil já osobně, nicméně byl připraven tímto způsobem: Sláma se namočila v horké vodě po dobu 24 hodin a poté byla vyjmuta a zbavena přebytečné vody. Po těchto krocích byla osázena sadbou hlívy ústříčné kmenem Spoppo.

| K1 | K2 | K3 | K4 | K5 | K6 | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 | M7 | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 |
|-----|-----|----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|----|-----|----|-----|-----|-----|----|
| 8,1 | 9,4 | 9 | 8,2 | 9,1 | ? | 8,6 | 8,2 | 8,9 | 7,5 | 8,6 | 8,2 | 10 | 9 | 11 | 8,2 | 10 | 9,2 | 7,8 | 8,8 | ? |

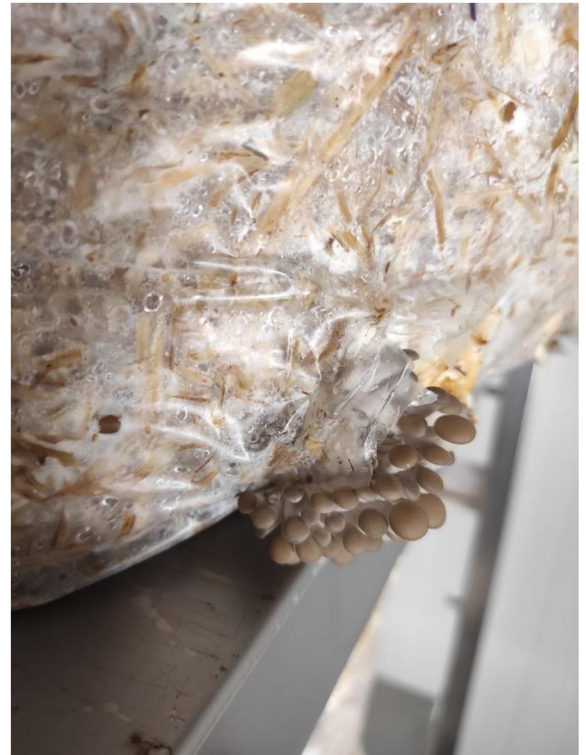
Tabulka č. 3 – Váhy jednotlivých bloků se substrátem již a naočkovanou hlívou. Označení vyplývá z ošetření herbicidem (K = Kontrola, M = Mustang, C = Corello).

Po ošetření byly jednotlivé bloky přesunuty do laboratoře naproti, kde se následně vyskládaly a nechaly nějakou dobu u otevřeného okna. Zde se zjistilo, že sláma byla zprvu málo zbavena vody, jelikož z pytlů stále vytékala voda na stoly. Po nějaké době, kdy bylo viditelné rozrostlé mycelium, se pytle přenesly do chladírny (do pěstírny se zatím nemohly dát z toho důvodu, že tam ještě probíhal cizí předchozí pokus).

Do pěstírny byly bloky přeneseny 10.6.2022., kdy se už povedlo sklídit první vzorky hlívy. Následně byl pokus ponechán, než začnou ostatní hlívy plodit a přes léto až do 11.7.2022 probíhaly postupně sklizně a každá byla zvážena a zaznamenána. Po poslední sklizni byl pokus ukončen a pytle se substráty se uskladnily v Červeném újezdě až do začátku pokusu se žížalami (viz kapitola 5.4).



Obrázek č. 1 – *Pleurotus ostreatus* na substrátu ošetřeném Corellem



Obrázek č. 2 – Vytvářející se plodnice *Pleurotus ostreatus*

5.3 Porovnání vlivu účinných látek aminopyralidu a pyroxsulamu na produkci podhoubí 3 druhů hub na živných půdách

Cílem tohoto pokusu bylo zjistit, zda má koncentrace aminopyralidu a pyroxsulamu vliv na růst mycelia, popřípadě zda je houba schopná tuto látku rozkládat.

V tomto pokusu byly použity dva typy živných půd:

1. Sladový extrakt (ME) 30 g do 1 l deionizované vody
2. Czapek-Dox (CD) 30 g do 1 l deionizované vody

Bylo využito 3 druhů hub:

1. *Pleurotus ostreatus* Spopo
2. *Geotrichum* sp.
3. *Cladosporium* sp.

Použité účinné látky:

1. Aminopyralid – koncentrace 100 ppm tj. 100 mg látek na 1 l (150 mg/1500 ml)
2. Pyroxsulam – koncentrace 100 ppm tj. 100 mg látek na 1 l (150 mg/1500 ml)

| Sladový extrakt | Použité houby | | |
|-----------------|----------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| | <i>Pleurotus ostreatus</i> Spopo | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Geotrichum</i> sp. |
| Kontrola | 4 | 4 | 4 |
| Aminopyralid | 4 | 4 | 4 |
| Pyroxsulam | 4 | 4 | 4 |

Tabulka č. 4 – Schéma počtu baněk jednotlivých hub (Sladový extrakt)

| Czapek dox | Použité houby | | |
|--------------|----------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| | <i>Pleurotus ostreatus</i> Spopo | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Geotrichum</i> sp. |
| Kontrola | 4 | 4 | 4 |
| Aminopyralid | 4 | 4 | 4 |
| Pyroxsulam | 4 | 4 | 4 |

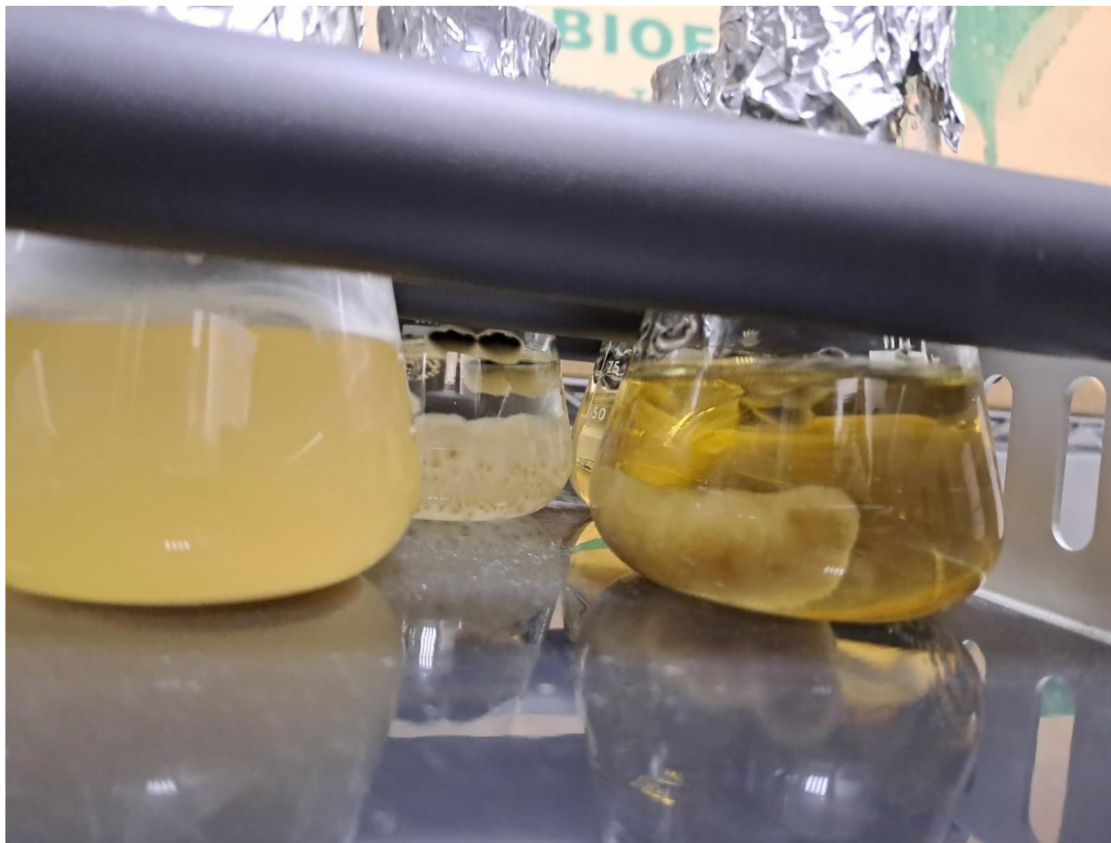
Tabulka č. 5 – Schéma počtu baněk jednotlivých hub (Czapek dox)

Postup:

Byly připraveny 3 kmeny, 2 kultivační roztoky a 1 kontrola. Každá varianta byla po 4 opakováních (Celkem tedy 36 baněk od každé půdy). Opakování tvořily Erlenmayerovy baňky. Do každé baňky se připravilo 75 ml živné půdy a celkem od každé půdy bylo 1500 ml (ze všech baněk). Inokulum na očkování bylo předem připraveno a nechalo se kultivovat 14 dní. Narostlé inokulum se rozmixovalo a následně se začalo očkovat ve Flow boxu za sterilních podmínek. Do každé baňky bylo přidáno 1 ml media s rozmixovaným myceliem hub. Baňky se pevně utěsnily Al fólií ihned po naočkování a následně se vložily do třepačky. Třepačka se nastavila na teplotu 24,5 °C. Do třepačky se nevešly všechny baňky, proto některé byly v malé neuzavřené třepačce (DLAB SK-O180-Pro). Nechalo se třepat 3 týdny a poté se mycelium separovalo na odsávačce s Bucherovou hlavici a dalo zamrazit. Zamražené vzorky sedaly lyofilizovat a poté se mycelium zvažilo, jak bude uvedeno v tabulce 5.



Obrázek č. 3 – Rozmixovaná a nerozmixovaná mycelia (Zleva *Cladosporium*, *Geotrichum* a *Spo*)



Obrázek č. 4 – Narostlá mycelia na třepačce po 10 dnech na třepačce



Obrázek č. 5 – Mixování mycelia

5.4 Sledování reakcí žížal na substráty ošetřené herbicidy Mustang Forte a Corello

Tento pokus navazoval na pokus z kapitoly 5.2. Bylo využito vyplozených substrátů po skončení plození hlívy ústříčné. Substrát tedy obsahoval herbicid Corello a herbicid Mustang.

Bylo využito kompresoru v Červeném Újezdě, který nastavený na průtok 4 l/1 minutu a po každých 35 minutách. Komprese se nastavila 26.10.2022 a skončila 7.12.2022, kdy se založil pokus se žížalami.

Jako přídavek do substrátu bylo využito fugátu.

Na následné založení pokusu se žížalami se využilo čtverhranných nádob se sítkou.

Postup: Komprese substrátů začala 26.10.2022. Pytle s vyplenými substráty od hlívy ústříčné. Navážilo se 25 kg od každého typu substrátu (Ošetřený herbicidem Mustang, ošetřený herbicidem Corello a neošetřený kontrolní). Substrát se musel pořádně rozmíchat a naložit do sudů. Poznatek z míchání: Substráty ošetřené herbicidy byly vysoce utužené a měly na sobě pevnou krustu, která se musela rozrušit. Do každého substrátu se přimíchalo 2 l fugátu. Po pořádném promíchání se zpracovaný substrát naložil do nádob (sudů) a proběhla komprese.



Obrázek č. 6 – Substráty v nádobách



Obrázek č. 7 – Zapojené nádoby pro kompresi

Komprese trvala až do 7.12.2022, kdy se v Červeném Újezdě začalo zakládání pokusu. Postupně se vyjímaly vzorky napůl rozložených substrátů ze sudů do nádob, kde došlo k roztřídění substrátu. Nejprve se znovu promíchal a následně se rozdělil po 4 kg do menších nádob, kam byly následně přidány i žížaly. Do každé čtvercové nádoby bylo přidáno 4 kg substrátu, kam následně byla přidána další dávka fugátu o objemu 2 l. Substrát byl od směsi na chov žížal oddělen sítkou (viz obrázek č. 7). Boxy byly následně převezeny do sklepa v pokusné budově v Červeném Újezdě a tam byly vloženy do polic a přikryty víčky. Boxy byly připraveny v 6 variantách. Každá varianta byla rozdělena do 3 boxů, celkem bylo tedy využito 18 boxů. Do variant 1-6 nebyly přidány žížaly, do variant 4 – 6 ano.

Následně jsme 3.1.2023 jeli do Červeného Újezdu s tím, že se do pokusů přidají pokrutiny z vylisovaného máku, aby zvýšily obsah dusíku v organické formě.

| Ošetření herbicidem | Hmotnost po kompresi (kg) | Výluh (ml) |
|-------------------------|---------------------------|------------|
| Bez ošetření - Kontrola | 22,00 | 900 |
| Corello | 22,10 | 2200 |
| Mustang | 22,80 | 1400 |

Tabulka č. 6 – Výsledné vzorky po kompresi



Obrázek č. 8 – Směs s kalifornskými žížalami



ošetřená vyplená sláma, vpravo substrát obsahující žížaly)

6 Výsledky

6.1 Výsledky vlivu herbicidů Corello a Mustang Forte v ošetřeném substrátu na růst mycelia houby *Pleurotus ostreatus* ve zkumavkách

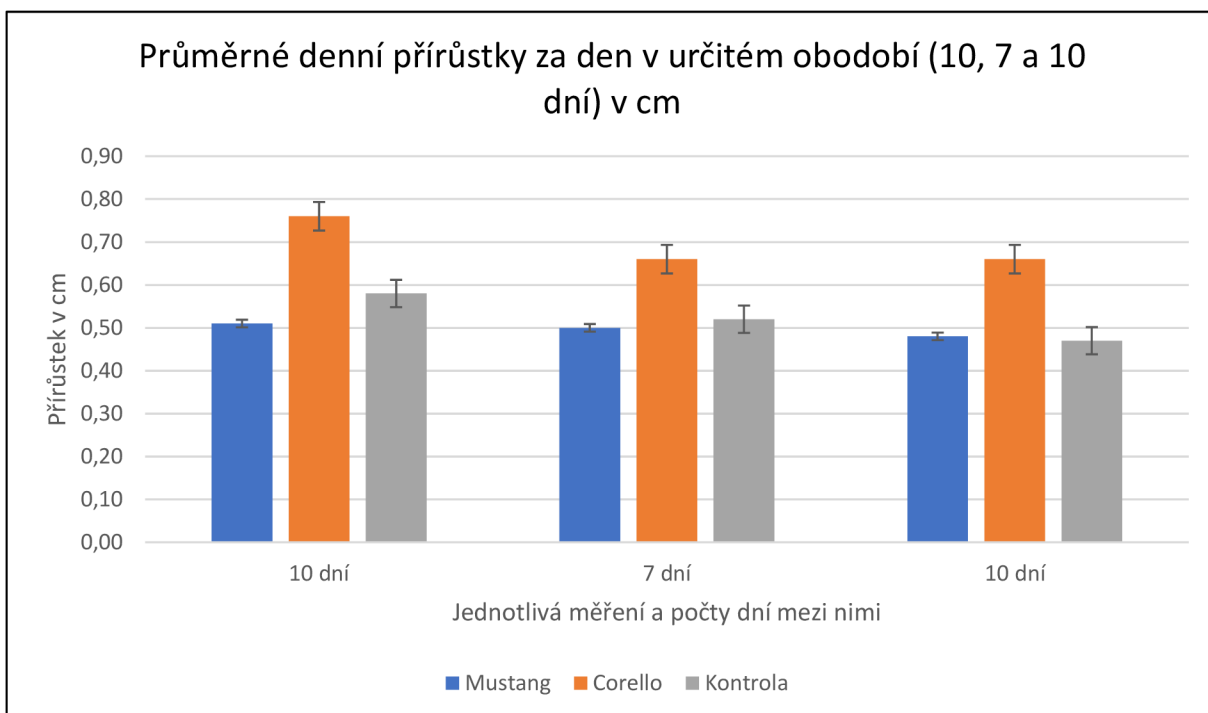
Naočkováno bylo 29.4.2022 a následně probíhalo měření na třikrát v následující posloupnosti: 1. měření proběhlo 9.5.2022, 2. měření po 7 dnech a 3. měření po dalších 10 dnech.

Bylo zjištěno, že na slámě ošetřeno herbicidem Corello byl průměrný denní přírůstek mycelia za prvních 10 dní od naočkování o 0,76 cm. Denní přírůstek po dalších 7 dnech vykazoval 0,66 cm. Poslední měření proběhlo po dalších 10 dnech, a to ukázalo, že denní přírůstek mycelia byl o 0,66 cm.

V substrátu ošetřeném herbicidem Mustang byly naměřeny přírůstky o něco nižší. Během prvního měření po 10 dnech byl denní přírůstek mycelia o 0,51 cm. V druhém měření za 7 dní byl denní přírůstek naměřen o 0,50 cm. A během posledního měření, které proběhlo po 10 dnech byl denní přírůstek naměřen o 0,48 cm.

V substrátu, s herbicidy neošetřené slámy, tedy ve variantě Kontrola byly naměřeny podobné přírůstky jako u varianty Mustang. Po prvních 10 dnech byl denní přírůstek mycelia naměřen o 0,58 cm. V druhém měření po 7 dnech byl denní přírůstek o 0,50 cm. Při posledním měření po dalších 10 dnech byl denní přírůstek naměřen o 0,48 cm.

Z výsledků je patrné, že na růst mycelia má nejvíce pozitivní vliv slámový substrát ošetřený herbicidem Corello. Substráty ošetřené herbicidem Mustang a neošetřené Kontroly vykazovaly poměrně podobný vliv na růst mycelia *Pleurotus ostreatus*. I přesto jsou však rozdíly mezi vlivem Mustangu a zbylými dvěma poměrně nepatrné v porovnání s celkovou délkou zkumavky (250 mm).



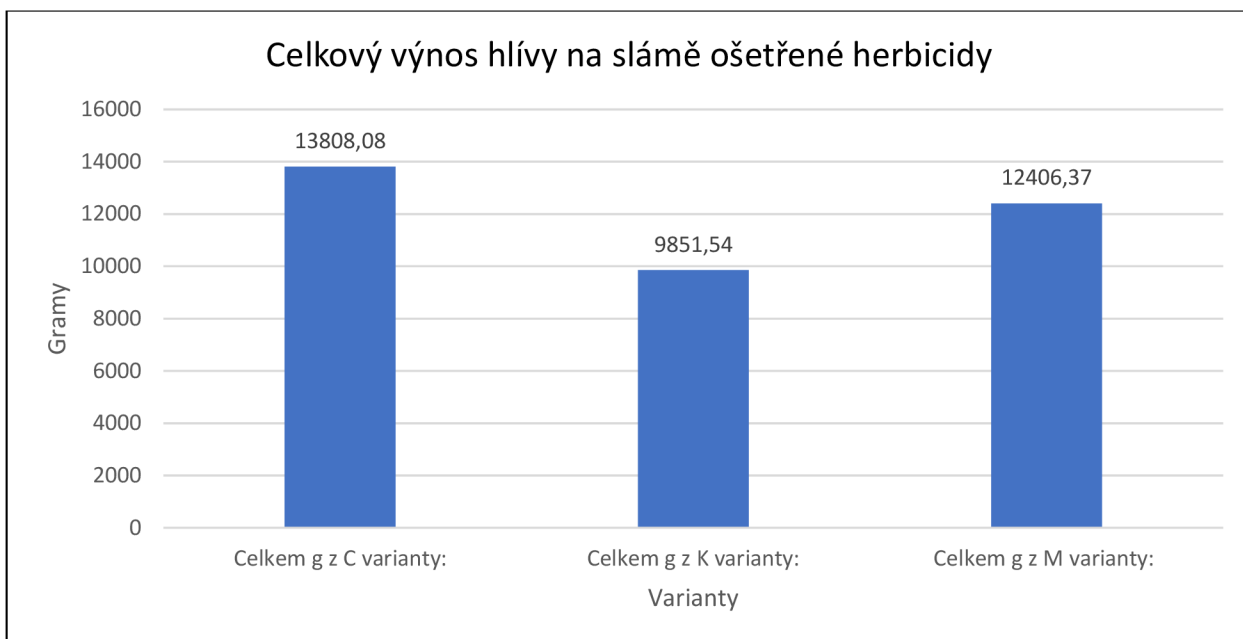
Graf č. 1 – Průměrné denní přírůstky mycelia *Pleurotus ostreatus*

6.2 Výsledky pokusu vlivu herbicidů Corello a Mustang Forte na výnosy hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*)

V tomto pokusu byly pozorovány jisté rozdíly v termínech nasazení plodnic. Bylo zjištěno, že nejrychleji nasadila hlíva ústříčná plodnice na substrátu ošetřeném herbicidem Corello, a to už v již zmíněném chladícím boxu, kde byly bloky uskladněny dočasně, než se uvolní pěstírna s příznivými podmínkami. Tyto sklizené, předčasně vyplazené plodnice díky nepříznivým podmínkám v chladícím boxu (zejména chybějící osvětlení) vykazovaly viditelnou deformaci tvarů. Plodnic byly i tak sklizeny, zváženy a použity do výnosů (10.6.2022). Jednalo se konkrétně o bloky C4 a C7 a bylo z nich sklizeno celkem 311 g. Na téže bloku C4 byly již patrné další vyvíjející plodnice, které bylo nutno sklídit už po dalších třech dnech. Podle výsledků lze tedy říci, že hlívy na substrátu ošetřeném herbicidem Corello nasazovaly plodnice o něco dříve, a to již za nepříznivých podmínek.

Co se týče rychlosti nasazení plodnic obou zbylých variant (Mustang a Kontrola), tak lze říci, že začaly plodit poměrně stejně až na výjimečné bloky, jinými slovy nebyly zjištěny zásadní rozdíly termínech sklizně.

Sklizně probíhaly od 10.6.2022 do 11.7.2022. Za toto období bylo sklizen celkem 36065,99 g (36,06599 kg). Celková gramáž sklizených plodnic z jednotlivých variant je znázorněna na následujícím grafu (Graf č.2). Z grafu je patrné, že největší výnosy vykazovala varianta ošetřená herbicidem Corello a nejméně naopak kontrolní varianta. Lze tedy říci, že varianty ošetřené herbicidy vykazovaly jistý pozitivní vliv na růst plodnic.

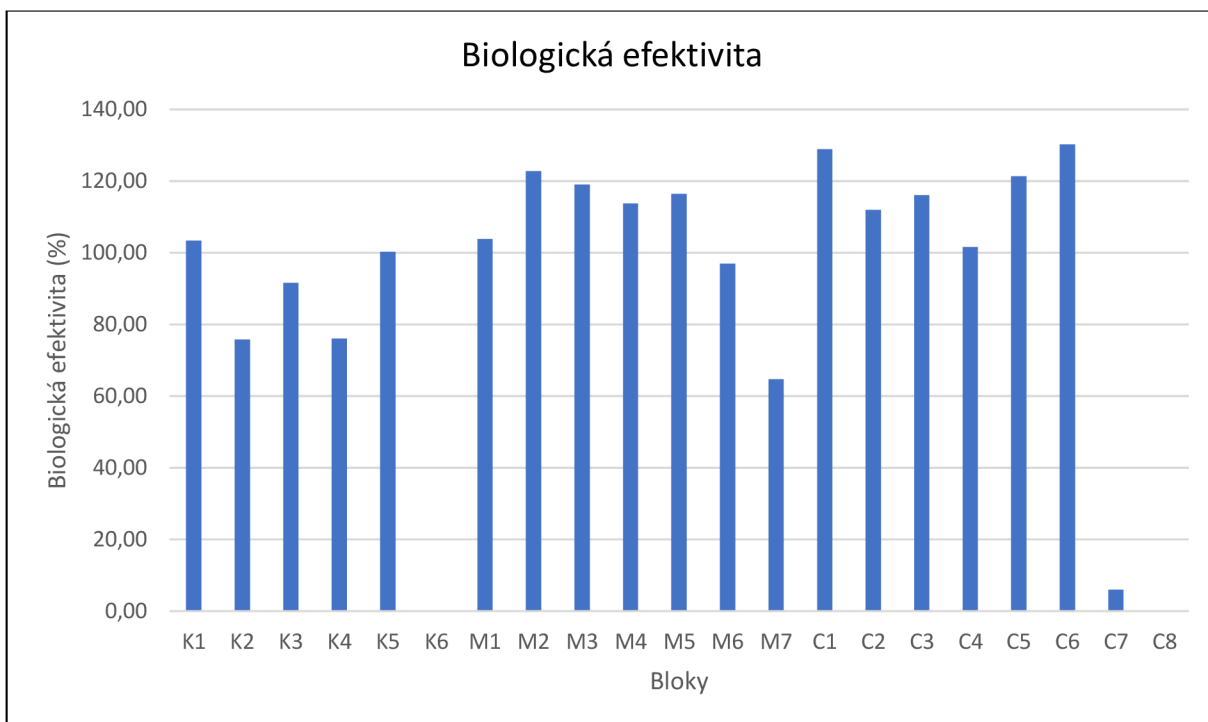


Graf č. 2 – Celkové hmotnosti sklizených plodnic z jednotlivých variant uvedené v gramech

V rámci tohoto pokusu byla dále počítána biologická efektivita. Ta se počítá na základě hmotnosti sklizní z jednotlivých bloků a obsahu sušiny (sušina musí být též v gramech) jednotlivých bloků. Vzorec, dle kterého bylo počítáno byl: Celková hmotnost sklizně jednotlivého bloku (g)/ Sušina bloků jednotlivého bloku (g) * 100.

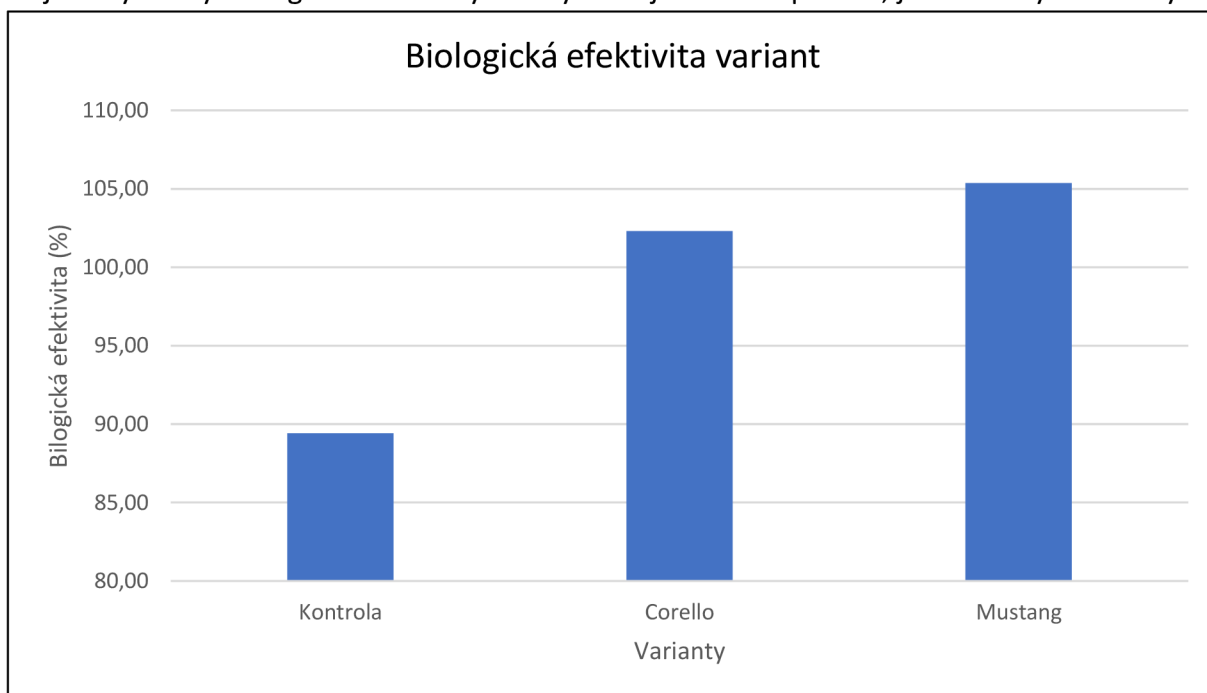
| | |
|----------|-------|
| Kontrola | 20,9 |
| Corello | 18,6 |
| Mustang | 19,75 |

Tabulka č. 7 – Obsah sušiny jednotlivých variant pro převedení na gramy



Graf č. 3 – Biologická efektivita dle jednotlivých bloků (%)

Z grafu je patrné, že ošetřené bloky vykazují výnosy nad 100 %. U varianty K6 a C8 nejsou výsledky biologické efektivity známy a ani je nelze dopočítat, jelikož váhy bloků chybí.



Graf č. 4 – Průměrná biologická efektivita jednotlivých variant

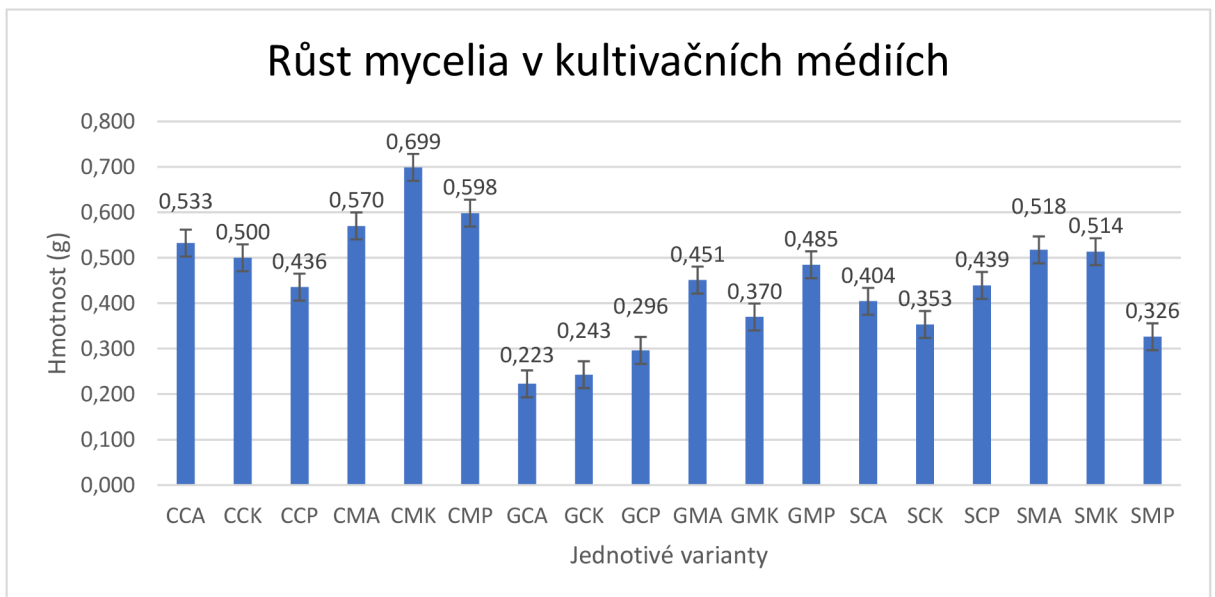
6.3 Výsledky vlivu účinných látek aminopyralidu a pyroxsulamu na produkci podhoubí 3 druhů hub na živných půdách

Po 3 týdnech kultivace na třepačce byly Erlenmeyerovy baňky vyjmuty a po zmražení se nechaly lyofilizovat. Po lyofilizaci byly u nich pozorovány jednotlivé hmotnosti. Vážilo se na laboratorní váze a vážilo se tímto postupem: Nejprve se zvažila hmota v sáčku. Následně byla hmota ze sáčku vyjmuta a přendána do sáčku jiného a byl zvážen původní

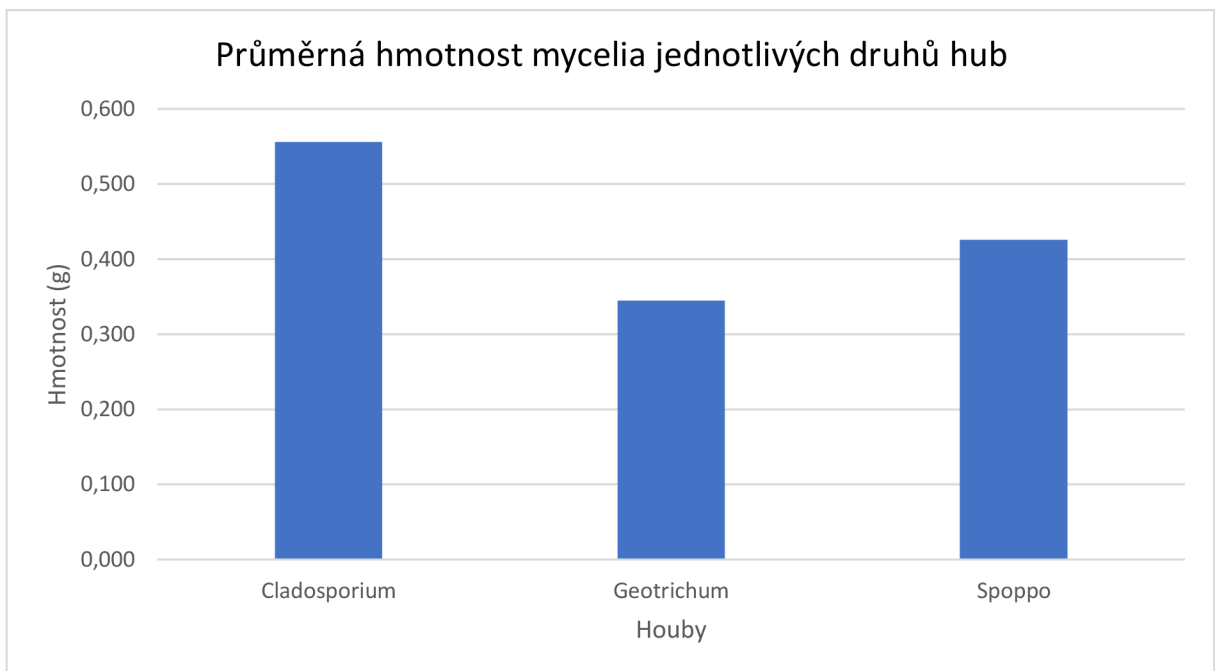
| | | | | | | | |
|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|
| CMP1 | 0,709 | CMA3 | 0,655 | SMK1 | 0,521 | GCA3 | 0,244 |
| CMP2 | 0,663 | CMA4 | 0,651 | SMK2 | 0,482 | GCA4 | 0,205 |
| CMP3 | 0,395 | CCP1 | 0,614 | SMK3 | 0,569 | GMA1 | 0,492 |
| CMP4 | 0,626 | CCP2 | 0,602 | SMK4 | 0,482 | GMA2 | 0,532 |
| SPC1 | 0,437 | CCP3 | 0,278 | SMP1 | 0,447 | GMA3 | 0,496 |
| SPC2 | 0,46 | CCP4 | 0,248 | SMP2 | 0,383 | GMA4 | 0,284 |
| SCP3 | 0,435 | CMK1 | 0,622 | SMP3 | 0 | GCK1 | 0,309 |
| SCP4 | 0,425 | CMK2 | 0,817 | SMP4 | 0,475 | GCK2 | 0,259 |
| SCK1 | 0,289 | CMK3 | 0,658 | SMA1 | 0,516 | GCK3 | 0,174 |
| SCK2 | 0,364 | CMK4 | 0,699 | SMA2 | 0,498 | GCK4 | 0,229 |
| SCK3 | 0,387 | CCA1 | 0,556 | SMA3 | 0,532 | GMK1 | 0,466 |
| SCK4 | 0,373 | CCA2 | 0,645 | SMA4 | 0,524 | GMK2 | 0,494 |
| SCA1 | 0,446 | CCA3 | 0,623 | GCP1 | 0,398 | GMK3 | 0,519 |
| SCA2 | 0,426 | CCA4 | 0,306 | GCP2 | 0,259 | GMK4 | 0 |
| SCA3 | 0,437 | CCK1 | 0,526 | GCP3 | 0,257 | GMP1 | 0,466 |
| SCA4 | 0,308 | CCK2 | 0,464 | GCP4 | 0,271 | GMP2 | 0,486 |
| CMA1 | 0,281 | CCK3 | 0,502 | GCA1 | 0,235 | GMP3 | 0,51 |
| CMA2 | 0,694 | CCK4 | 0,508 | GCA2 | 0,207 | GMP4 | 0,477 |

sáček. Následně se odečetla hmotnost sáčku od celkové hmoty a vyšla čistá hmotnost hmoty.

Tabulka č. 8 – Jednotlivé váhy u různých variant (značení je odvozeno od použité houby (1. písmeno), typu kultivačního média (2. písmeno) a variantě (3. písmeno))



Graf č. 5 – Průměrné hmotnosti lyofilizovaných vzorků



Graf č. 6 – Průměrné hmotnosti jednotlivých druhů hub

Graf č. 4 vznikl provedením průměru vždy vzorků 1-4 a tím zjištění průměrného nárůstu (v gramech) mycelia daných hub na daných kultivačních médiích. Z grafu je očividně patrné, že největší hmotnosti obecně vykazovala houba *Cladosporium sp.* (označena prvním písmenem C), a to ve všech variantách. Nejmenší hmotnosti pak vykazovala houba *Geotrichum sp.*, konkrétně když byla kultivována na médiu Czapek dox a to se všemi ošetřeními

(Aminopyralid, pyroxsulam i Kontrola). Ostatní výsledky hmotností se pak liší různě v závislosti na všech faktorech. Je vidět například u kmenu Spoppo, že na růst mycelia v kultivačním roztoku mu nejvíce prospívá ošetření sladovým extraktem a je poměrně jedno, jestli je ošetřen aminopyralidem či pyroxsulamem, jelikož vykazují rozdíl 4 gramů. Nejméně výhodné jsou pro kmen Spoppo pak varianty SCA (kultivační médium Czapek dox a aminopyralid) a SMP (kultivační médium sladový extrakt a pyroxsulam).

6.4 Výsledky hodnocení vlivu vyplozených substrátů na kalifornské žížaly (*Eisenia Andrei*)

Tento pokus bohužel nebyl dokončen, a tudíž nevznikl žádné výsledky. Bylo přidáno několik dávek ledku, ale materiál po vyplozených substrátech se rozkládá velice pomalu a neobsahuje prakticky žádné žížaly. Veškeré žížaly zůstaly jen 1. třetině kultivačního boxu, tedy v původním substrátu obsahující žížaly (viz obrázek č. 9).

7 Diskuze

Pro některé pokusy v této bakalářské práci byla využita houba bílé hniloby, konkrétně *Pleurotus ostreatus*. Byla vybrána jako potenciální rozkladač účinných látek v herbicidech Corello a Mustang. V literatuře se, že některé houby bílé hniloby jsou velice perspektivní co se rozkladů herbicidů týče. Literatura například uvádí, že mezi houbami schopné rozkládat pesticidy diuron, metalaxyl, atrazin a terbuthylazin je i *Pleurotus ostreatus*. (Bending et al. 2002) Celkově ale literatury o rozkladu pomocí této houby není příliš mnoho a také samotní výrobci obou herbicidů (Mustang Forte a Corello) uvádějí na etiketě výrobku, že slámu ošetřenou těmito herbicidy není vhodné používat pro pěstování hub. (Agromanuál 2023) Proto byly tyto herbicidy a tato houba (*Pleurotus ostreatus*) vybrány do tohoto pokusu, aby nějaké pokusy v tomto ohledu vznikly a ověřilo se, zda je toto upozornění aktuální. Pokus v této bakalářské práci (6.2) ukázal, že *Pleurotus ostreatus* má na ošetřených substrátech herbicidem Corello a Mustang výrazně vyšší výnosy než substrát neošetřený, tudíž přítomnost herbicidů nezabránila v kolonizaci substrátu i tvorbě plodnic.

Tento pokus navazoval na pokus v Diplomové práci Jany Březinové z roku 2022 a výsledky se s touto prací ztotožňuje. I zde se ukázalo, že na variantách ošetřených stejnými herbicidy měla *Pleurotus ostreatus* výrazně vyšší výnosy ve srovnání s Kontrolou. (Březinová 2022)

Sameer (2019) uvedl, že ve svém pokusu s pyroxsulamem (Obsažen v herbicidu Corello) zkoumal jeho souvislost s houbou *Alternaria trititica*. Vůči této houbě vykazoval pyroxsulam značný vliv na inhibici růstu. (Sameer 2019)

Naopak v našem pokusu bylo s houbou *Pleurotus ostreatus* zjištěno, že herbicid Corello, který tuto látku obsahuje, růst této houby podporuje. Již v pokus v kapitole 6.1 vykazuje silnou podporu růstu podhoubí. Tímto pokusem je ukázáno, že je možné, že tato látka má na různý typ houby různý vliv. Bylo by proto dobré v tomto ohledu a s těmito herbicidy provést další pokusy i s dalšími houbami a zjistit, jaký vliv má na ostatní skupiny hub.

Dle Polské studie (kapitola 3.6.1) může být houba *Cladosporium* inhibována či ovlivněna herbicidem glyfosát. Tato houba byla zde spíše pozorována na kontrolních vzorcích než na vzorcích ošetřených. (Krzyško-Łupicka & Orlik 1997)

Dle Sobera et al. (1996) je houba *Cladosporium resinae* glyfosát schopna degradovat. Je též schopna rozkládat organofosfáty a využívat je jako zdroj fosforu. (Sobera et al. 1996)

Vůči *Cladosporium* byly testovány i herbicidy dascuforon a butoxon (kapitola 3.6.3). Oba herbicidy měl negativní vliv na kvalitu i množství společentev půdních hub včetně *Cladosporia*. (Craciun et al. 2013)

Geotrichum bylo zkoumáno z pohledu vlivu vůči Roundupu. (3.7.1) Byly využity různé koncentrace, ale již při nižších koncentracích, než jsou doporučené koncentrace k využití v zemědělství vykazoval Roundup inhibici růstu a likvidaci zkoumané houby. (Clair et al. 2012)

Ve výzkumu Bordeleau a Bartha (1972) bylo *Geotrichum candidum* zkoumáno na účinky vůči herbicidu propanil. Ukázalo se, že v kombinaci s *Penicillium piscarium* dokáže přeměnit propanil na látku, kterou pak obě houby dokáží využít pro svůj růst a vyšší výnosy.

V diplomové práci Březinové (2022) byly tyto houby též využity po pokus v tekutém médiu. Při stejné koncentraci, jako byla využita v této práci v pokusech v kapitole 5.3 (tedy 100 ppm), bylo zjištěno mírné zvýšení hmotnosti mycelia všech tří hub (viz. odstavec níže) oproti kontrolnímu vzorku. Nebyl tedy prokázán inhibiční účinek, nýbrž mírně pozitivní vliv. (Březinová 2022)

V souvislosti s tímto byly provedeny pokusy (kapitola 6.3), které měly přinést výsledky vlivu látek pyroxsulam i aminopyralid na podhoubí hub *Cladosporium sp.*, *Geotrichum sp.* a *Pleurotus ostreatus* Soppo. Výsledky v této práci ukázaly podobné hmotnosti jako byly v diplomové práci Březinové (2022). Stejně jako v pokusu z této diplomové práce, tak i této bakalářské práci vykazuje nejvyšší hmotnost houba *Cladosporium sp.* Oproti zmíněné diplomové práci se ovšem liší hmotnost hub *Geotrichum* a *Pleurotus*. V diplomové práci je ve výsledcích uvedeno, že při koncentraci 100 ppm dosáhlo vyšší hmotnost mycelium houby *Geotrichum* než houba *Pleurotus*. V této práci se ukázal opak.

V pokusu nebyla prokázána inhibice růstu mycelia, jen při porovnání jednotlivých hmotností bylo zjištěno, že nejnižší hmotnosti vykazovala houba *Geotrichum* na médiu Czapek dox.

Correira a Moreira (2010) zkoumali vliv žížal *Eisenia foetida* na účinky koncentrací glyfosátu a 2,4-D. Bylo zde zjištěno, že žížaly měly výrazně sníženou hmotnost v půdě s přípravkem 2,4-D. Ve vyšších koncentracích byla dokonce zjištěna 100% mortalita. Oba herbicidy působily záporně na růst a reprodukci žížal druhu *Eisenia foetida*. (Correira & Moreira 2010)

Zaller et al. (2014) zjistili, že herbicidy, které obsahovaly glyfosát, způsobily u žížal mírné zvýšení váhy a menší aktivitu. (Zaller et al. 2014)

Byly proto provedeny pokusy (kapitola 5.4), které měly zjistit, jaký vliv mají herbicidy Corello a Mustang na kalifornské žížaly (*Eisenia andrei*). Bylo očekáváno, že se použitý ošetřený substrát rozloží a následně se žížaly pokusí zpracovat a účinné látky herbicidů v něm rozložit. K tomu nedošlo z důvodu velice pomalého rozkladu použitých substrátů a žížaly zůstaly pouze v počátečním substrátu se žížalami (viz. obrázek č. 9). Tento pokus bude dokončen později.

8 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo na základě provedených a zpracovaných pokusů otestování některých izolovaných půdních hub na kultivačních roztocích obsahujících koncentrace aminopyralidu a pyroxsulamu a zjištění schopnosti hub tyto látky rozkládat. Dalším cílem bylo zhodnotit vliv herbicidů Corello a Mustangu Forte na výnosy některých hub. Posledním cílem zda má přítomnost látek aminopyralidu a pyroxsulamu vliv na aktivitu a reprodukci kalifornských žížal.

Z výsledků plyne, že vliv použitých herbicidů má na použitou houbu (hívu ústříčnou) pozitivní vliv, co se výnosů týče. Nejvyšší biologickou efektivitu vykazoval substrát ošetřený Mustangem, nejhorší pak kontrolní a herbicidy neošetřený substrát. Na rozdíl od výnosů plodnic u růstu mycelia ve zkumavkách měl substrát ošetřený Mustangem nejpomalejší nárůst mycelia, avšak velmi srovnatelný s Kontrolou. nejrychlejší efekt měl substrát ošetřený herbicidem Corello.

U lyofilizovaných vzorků mycelia v živných půdách se ukázalo, že nejvyšší hmotnost měla houba *Cladosporium sp.*, může to tedy znamenat, že by měla být schopná aminopyralid i pyroxsulam poměrně dobře rozkládat. Naopak dle výsledků by nejhůře tyto látky rozkládalo *Geotrichum sp.*

Cíle posledního pokusu se žížalami bohužel nemohly být pro tuto práci naplněny, jak je již uvedeno ve výsledcích a diskuzích, substrát, který byl ošetřený herbicidy Corello a Mustang se nestihl v časovém rozmezí, které bylo poskytnuto, rozložit a tak nevykazoval žádný obsah žížal.

9 Literatura

Aradhya M, Mann D, Oliver L. 2019. Identifying Herbicide Injury in Wheat. University of Arkansas Extension. 1-4.

Bending GD, Friloux M, Walker A. 2002. Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential. *Microbiology Letters* 212: 59–63. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11245.x>

Bordeleau LM & Bartha R. 1971. Ecology of a herbicide transformation: Synergism of two soil fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 3(4): 281-284. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(71\)90036-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(71)90036-8)

Brimhall N & Wright D. 2022. Sensitivity of soybean, cotton, peanut, corn, and sorghum to halosulfuron-methyl. *Weed Technology*: 1-7.

Březinová J. 2022. Dekontaminace slámy obsahující aminopyralid a pyroxsulam pomocí vybraných druhů hub [Diplomová práce]. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.

Clair E, Linn L, Travert C, Amiel C, Séralini G-E, Panoff J-M. 2012. Effects of Roundup® and Glyphosate on Three Food Microorganisms: *Geotrichum candidum*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Current Microbiology* 64: 486-491. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0098-3>

Correia FV, Moreira JC. 2010. Effects of Glyphosate and 2,4-D on Earthworms (*Eisenia foetida*) in Laboratory Tests. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 85: 264-268. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0089-7>

Craciun M-A, Borozan AB, Bordean DM, Verdes D, Popescu R. 2013. The influence of herbicides on fungus communities from soil. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology* 18(1): 164-169. Dostupné na: <https://www.proquest.com/openview/3b02632e0aaeadba691ca117108d4200/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2031963&fbclid=IwAR0n7xbfSztuO3RXal725X5cBqUGTF2af3OzYpzv6HsNOqfNLOmWOLynThw>

Datta S, Singh J, Singh S, Singh J. 2016. Earthworms, pesticides and sustainable agriculture: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 8227-8243. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6375-0>

deBoer GJ, Thornburgh S, Gilbert J, Gast RE. 2010. The impact of uptake, translocation and metabolism on the differential selectivity between blackgrass and wheat for the herbicide pyroxsulam. *Pest Management Science* 69: 279-286. Dostupné na: <https://doi.org/10.1002/ps.2062>

- Edwards J, Grey, T, Hoy D. 2006. Herbicide Persistence in Soil and Water in Southern Cotton Fields. University of Georgia Cooperative Extension. Dostupné na: <https://www.caes.uga.edu/content/dam/caes-website/extension-outreach/commodities/field-crops/soil-nutrition/herbicide-persistence-in-soil-and-water-in-southern-cotton-fields.pdf>
- Egel D. 2017. Herbicide Injury in Corn. University of Kentucky Cooperative Extension Service. Dostupné na: <https://www.uky.edu/ccd/herbicide-injury-corn>
- Enloe S, Leary J, Prince C, Sperry B, Lauer D. 2020. Brazilian peppertree and mangrove species response to foliar-applied novel auxin-type herbicides. *Invasive Plant Science and Management* 13(2), 102-107. Dostupné na: <https://doi.org/10.1017/inp.2020.14>
- Freitag M & Morrell JJ. 2011. Decolorization of the polymeric dye poly R-478 by wood-inhabiting fungi. *Canadian Journal of Microbiology* 38(8): 811-822. Dostupné na: <https://doi.org/10.1139/m92-133>
- Glenn JK & Gold MH. 1983. Decolourization of special polymeric dyes by the lignin degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology* 45(6): 1741-1747. <https://doi.org/10.1128/aem.45.6.1741-1747.1983>
- Graziano G, Tomco P, Seefeldt S, Mulder C, Redman Z. 2022. Herbicides in unexpected places: Non-target impacts from tree root exudation of aminopyralid and triclopyr following basal bark treatments of invasive chokecherry (*Prunus padus*) in Alaska. *Weed Science* 70(6), 706-714. Dostupné na: <https://doi.org/10.1017/wsc.2022.61>
- Grey T, Braxton L, Richburg J. 2012. Effect of Wheat Herbicide Carryover on Double-Crop Cotton and Soybean. *Weed Technology* 26(2): 207-212. Dostupné na: <https://doi.org/10.1614/WT-D-11-00143.1>
- Guo L, Liu X, Wang Q, Zhang Y, Li M, Zhao Y. 2015. The effect of flumioxazin on the growth, oxidative stress, and antioxidant system of peanut seedlings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63(15): 4020-4027.
- Haefele SM, Johnson DE, Diallo S, Wopereis MCS, Janin I. 2000. Improved soil fertility and weed management is profitable for irrigated rice farmers in Sahelian West Africa. *Field Crops Research* 66(2): 101-113. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00066-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00066-6)
- Hager A. 2019. Herbicide Injury Symptoms in Soybean. *Illinois Field Crop Disease Blog* 5: 7-10.
- Hance RJ. 1965. Observations on the relationship between the adsorption of diuron and the nature of the adsorbent. *Weed Research* 5: 108-114. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1965.tb00333.x>

- Htazios KK & Penner D. 1985. Herbicide selectivity and crop safety in field crops. *Weed Science* 33(3): 369-383. Dostupné na: <https://www.jstor.org/stable/4044651>
- Itelima JU, Ogboona AI, Cletus ST. 2018. Toxicological Effect of some commonly used Pesticides (Herbicides, Insecticides and Fungicides) on Soil Fungi. *Direct Research Journal of Agriculture and Food Science* 6(8): 212-219. Dostupné na: <https://irepos.unijos.edu.ng/jspui/handle/123456789/2501>
- Jansirani D, Nivethitha S, Singh MVP, Vijay M. 2012. Production and utilization of vermicast using organic wastes and its impact on *Trigonella foenum* and *Phaseolus aureus*. *International Journal of Reesearch in Biological Scinces* 2(4): 187-189. Dostupné na: https://www.researchgate.net/publication/333432830_Production_and_utilization_of_vermicast_using_organic_wastes_and_its_impact_on_Trigonella_foenum_and_Phaseolus_aureus
- Jasa P. 2019. Wheat Herbicide Injury. University of Nebraska-Lincoln. Dostupné na: <https://cropwatch.unl.edu/2019/wheat-herbicide-injury>
- Jones CA, Everman WJ, Jordan DL. 2016. Response of cotton to pre- and postemergence applications of halosulfuron. *Weed Technology*, 30(1), 94-98.
- Jursík M, Kočárek M, Soukup J, Holec J, Hamouz P. 2011. Chování herbicidů v prostředí. *Listy Cukrovarnické a Řepařské* 127(7/8): 223-230. Dostupné na: http://www.cukr-listy.cz/on_line/2011/PDF/223-230.pdf
- Kemerait RC, Brenneman TB, Baldwin JL, Hare WW. 2010. The sensitivity of peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars to flumioxazin. *Peanut Science* 37(2): 107-113.
- Krzyśko-Łupicka T & Orlik A. 1997. The use of glyphosate as the sole source of phosphorus or carbon for the selection of soil-borne fungal strains capable to degrade this herbicide. *Chemosphere* 34(12): 2601-2605. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00103-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00103-3)
- Lan Y, Sun Y, Liu Z, Wei S, Huang H, Cao Y, Li W, Huang Z. 2022. Mechanism of Resistance to Pyroxsulam in Multiple-Resistant *Alopecurus myosuroides* from China. *Plants* 11, 1645. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/plants11131645>
- Lim SL, Wu TY, Clarke C. 2014. Treatment and biotransformation of highly polluted agro-industrial wastewater from a palm oil mill into vermicompost using earthworms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62(3): 691-698. Dostupné na: <https://doi.org/10.1021/jf404265f>

Lim SL, Wu TY. 2015. Determination of maturity in the vermicompost produced from palm oil mill effluent using spectroscopy, structural characterization and thermogravimetric analysis. *Ecological Engineering* 84: 515-519. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.09.050>

Masters RA, Burch PL, Breuninger JM, Carrithers VF, Jachetta JJ, Kline WN, Hare DD, Chemello AA, Troth JL, Schultz RD. 2005. confex.com. Dow AgroSciences, Indianapolis. Dostupné na: <https://a-c-s.confex.com/a-c-s/2005am/techprogram/P7003.HTM> (accessed April 2023)

Matocha M, Schnell R, Baughman T. 2017. Sorghum Herbicide Injury. Texas A&M AgriLife Extension. Dostupné na: <https://agrilifeextension.tamu.edu/library/crop-production/sorghum-herbicide-injury/>

Nordby D. 2015. Herbicide Injury in Soybeans. University of Minnesota Extension. Dostupné na: <https://extension.umn.edu/soybean-pest-management/herbicide-injury-soybeans>

Patangray AJ. 2014. Vermicompost: beneficial tool for sustainable farming. *Asian Journal of Multidisciplinary Studies* 2(8): 254-257. Dostupné na: https://scholar.google.co.in/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=AoRlOpYAAAAJ&citation_for_view=AoRlOpYAAAAJ:u-x6o8ySG0sC

Pelosi C, Bertrand C, Daniele G, Coeurdassier M, Benoit P, Nélieu S, Lafay F, Bretagnolle V, Gaba S, Vulliet E, Fritsch C. 2021. Residues of currently used pesticides in soils and earthworms: A silent threat?. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 305. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.107167>

Pelosi C, Joimel S, Makowski D. 2013. Searching for a more sensitive earthworm species to be used in pesticide homologation tests – A meta-analysis. *Chemosphere* 90(3): 895-900. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.034>

Ritter W. 2012. Herbicide Injury Symptoms in Corn. *Missouri Environment and Garden* 8: 12-15.

Roriguez-Campos J, Dendooven L, Alvarez-Bernal D, Contreras-Ramos SM. 2014. Potential of earthworms to accelerate removal of organic contaminants from soil: A review. *Applied Soil Ecology* 79: 10-25. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.02.010>

Sameer WM. 2019. Effect of herbicides on tan spot and leaf blight diseases pf wheat leaves. *Egyptian Journal of Plant Protection Research Institute* 7(4): 25-34. Dostupné na: https://www.researchgate.net/publication/339800376_EFFECT_OF_HERBICIDES_ON_TAN_SPOT_AND_LEAF_BLIGHT_DISEASES_OF_WHEAT_LEAVES

Saranraj P & Stella D. 2012. Vermicomposting and its importance in improvement of soil nutrients and agricultural crops. *Novus Natural Science Research* 1(1): 14-23. Dostupné na:

https://www.researchgate.net/publication/259495486_Vermicomposting_and_its_importance_in_improvement_of_soil_nutrients_and_agricultural_crops

Smith WH, Walker TW, Wamishe YA, Francis CA. 2014. Response of cotton cultivars to halosulfuron-methyl. *Weed Technology*, 28(1), 74-78.

Sobera M, Wieczorek P, Lejczak B, Kafarski P. 1996. Organophosphonate utilization by the wild-type strain of *cladosporium resinae*. *Toxicological and Environmental Chemistry* 61(1-4): 229-235. Dostupné na: <https://doi.org/10.1080/02772249709358488>

Soukupová M & Koudela M. 2023. Impact of Aminopyralid on Tomato Seedlings. *Horticulturae*: 9(4): 456. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/horticulturae9040456>

Stoklasová A, Křížala J, Šiman P. 1996. *Obecná, fyzikální a anorganická chemie pro studující medicíny*. Karolinum, Praha.

Torstensson L & Castillo MDP. 1997. Use of biobeds in Sweden to minimize environmental spillages from agricultural spraying equipment. *Pesticide Outlook* 8(3): 24-27. Dostupné na: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB1997039456>

Wardley DA & Parkison D. 1990. Influence of the herbicide glyphosate on soil microbial community structure. *Plant and Soil* 122: 29-37. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/BF02851907>

Wardley DA & Parkison D. 1992. The influence of the herbicide glyphosate on interspecific interactions between four soil fungal species. *Mycological Research* 96(3): 180-186. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80963-5](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80963-5)

Wu TY, Lim SL, Lim PN, Shak KPY. 2014. Biotransformation of biodegradable solid wastes into organic fertilizers using composting or/and vermicomposting. *Chemical Engineering Transactions* 39: 1579-1584. Dostupné na: <https://doi.org/10.3303/CET1439264>

Zaller J, Heigl F, Ruess L, Grabmaier A. 2014. Glyphosate herbicide affects belowground interactions between earthworms and symbiotic mycorrhizal fungi in a model ecosystem. *Scientific Reports* 4: 5634. Dostupné na: <https://doi.org/10.1038/srep05634>

9.1 Internetové zdroje

AgroBio Opava. 2020. AgroBio Opava. Dostupné na: <https://agrobio.cz/poradna/clanek/166> (accessed April 2023)

DeVe shop. 2014. Deveshop. Dostupné na: <https://www.deveshop.cz/clanky-2/rozdil-mezi-selektivnim-a-totalnim-herbicidem/> (accessed April 2023)

Etiketa Corello. 2023. Agromanual.cz Dostupné na: https://www.agromanual.cz/download/pdf_etiketa/e_corello.pdf (accessed April 2023)

Etiketa Mustang Forte. 2023. Agromanual.cz Dostupné na: https://www.agromanual.cz/download/pdf_etiketa/e_mustang_forte.pdf (accessed April 2023)

Matoulek J. 2022. Agromanual.cz. Dostupné na: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/plevele/zakladni-preemergentni-a-casne-postemergentni-herbicidni-osetreni-kukurice> (accessed April 2023)

National Pesticide Information Center. 2021. Synthetic herbicides. Dostupné na: <https://npic.orst.edu/ingred/ptype/synthetic.html> (accessed February 2023)

Organic Farming Research Foundation. 2021. Organic herbicides. Dostupné na: <https://ofrf.org/organic-herbicides> (accessed February 2023)

Pesticide Action Network North America. 2021. Inorganic Herbicides. Dostupné na: <https://www.panna.org/resources/inorganic-herbicides> (accessed February 2023)

Valle DN, Alfarano L, Bosco V, Zaffagnini V. 2006. AGRIS. Atti delle Giornate Fitopatologiche, Italy. Dostupné na: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IT2007601725> (accessed April 2023)

Zafido. 2023. Zafido. Dostupné na: https://www.zafido-eshop.cz/SELEKTIVNI-c23_80_2.htm (accessed April 2023)

10 Samostatné přílohy

Výnosy plodnic hlívy ústříčné (g)

| | 10.06.2022 | 13.06.2022 | 15.06.2022 | 16.06.2022 | 18.06.2022 | 20.06.2022 | 22.06.2022 |
|----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| K1 | 0 | 0 | 0 | 335,77 | 1055,41 | 0 | 0 |
| K2 | 0 | 0 | 0 | 172,75 | 1316,71 | 0 | 0 |
| K3 | 0 | 0 | 0 | 384,69 | 1052,33 | 0 | 0 |
| K4 | 0 | 0 | 0 | 806,88 | 399,68 | 0 | 0 |
| K5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1227,26 | 320,13 | 33,94 |
| K6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1389,67 | 0 | 0 |
| M1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1331,73 | 0 | 8,88 |
| M2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1418,62 | 83,07 | 0 |
| M3 | 0 | 0 | 0 | 1029,1 | 667,07 | 0 | 16,63 |
| M4 | 0 | 0 | 0 | 1080,53 | 330,49 | 0 | 0 |
| M5 | 0 | 0 | 0 | 353,23 | 1209,05 | 0 | 0 |
| M6 | 0 | 0 | 0 | 370,54 | 1089,72 | 0 | 0 |
| M7 | 0 | 0 | 0 | 542,61 | 223,11 | 0 | 0 |
| C1 | 0 | 0 | 0 | 918,58 | 688,18 | 0 | 0 |
| C2 | 0 | 0 | 0 | 1524,75 | 444,59 | 0 | 0 |
| C3 | 0 | 0 | 0 | 1390,35 | 140,68 | 0 | 0 |
| C4 | 213,26 | 580,26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 565,76 |
| C5 | 0 | 0 | 0 | 636,11 | 912,57 | 0 | 0 |
| C6 | 0 | 0 | 0 | 690,94 | 799,98 | 0 | 0 |
| C7 | 97,74 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C8 | 0 | 0 | 1370 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| | 26.06.2022 | 30.06.2022 | 04.07.2022 | 05.07.2022 | 07.07.2022 | 11.07.2022 | Celkem: |
|----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|---------|
| K1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 353,95 | 0 | 1745,13 |
| K2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1489,46 |
| K3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 286,56 | 1723,58 |
| K4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 93,34 | 1299,9 |
| K5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 324,8 | 1906,13 |
| K6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 297,67 | 1687,34 |
| M1 | 0 | 0 | 0 | 422,65 | 0 | 0 | 1763,26 |
| M2 | 0 | 0 | 486,9 | 0 | 0 | 0 | 1988,59 |
| M3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 378,82 | 0 | 2091,62 |
| M4 | 5,56 | 0 | 0 | 0 | 108,98 | 159,75 | 1685,31 |
| M5 | 0 | 393,36 | 0 | 22,18 | 0 | 0 | 1977,82 |
| M6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 109,28 | 1569,54 |
| M7 | 0 | 0 | 0 | 564,51 | 0 | 0 | 1330,23 |
| C1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 551,36 | 2158,12 |
| C2 | 0 | 0 | 341,8 | 0 | 0 | 0 | 2311,14 |
| C3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 228,8 | 0 | 1759,83 |
| C4 | 531,06 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1890,34 |
| C5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 520,7 | 2069,38 |
| C6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 399,03 | 1889,95 |
| C7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 97,74 |
| C8 | 0 | 261,58 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1631,58 |