

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroekologie a rostlinné produkce



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a
entomopatogenních hub v ochraně hrachu setého**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Pavla Gregorová

Pěstování rostlin, specializace Rostlinná produkce

Vedoucí práce: prof. Ing. Ivana Capouchová, CSc.

© 2023/2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub v ochraně hrachu setého" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19.04.2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Ivaně Capouchové, CSc. za odbornou pomoc, ochotu a cenné rady při vedení této diplomové práce.

Využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub v ochraně hrachu setého

Souhrn

Stále větší snaha společnosti o snížení negativních dopadů lidské činnosti na životní prostředí podporuje rozvoj biologických způsobů ochrany rostlin, které by dokázaly nahradit stále více regulované a omezované použití chemických pesticidů.

Cílem této práce bylo zhodnotit možnosti využití vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení (*Lactobacillus* spp.), entomopatogenní houby (*Trichoderma virens*) a mykoparazitické houby (*Metarhizium brunneum*) k moření osiva a ochraně rostlin (foliární aplikace) hrachu setého, odrůdy Avatar, na ekologicky certifikovaných plochách dvou pokusných lokalit (Praha a Zvíkov).

V našich pokusech se projevil určitý pozitivní trend především v počátečním období vegetace hrachu setého, kdy varianty s osivem mořeným uvedenými mikroorganismy (zejména *Lactobacillus* spp. a *T. virens*) dosáhly oproti neošetřené kontrole mírně vyššího počtu vzešlých rostlin na m², větší délky nadzemní části rostlin i délky kořenů.

Vliv aplikace sledovaných mikroorganismů na výnos hrachu setého už však byl nejednoznačný a nevýrazný. Neprojevilo se ani shodný trend na obou pokusných lokalitách – varianty, které dosáhly nejvyšších výnosů na jedné lokalitě, ne vždy dosahovaly nejvyšších výnosů na lokalitě druhé. Neošetřená kontrola sice patřila k variantám s nižšími výnosy, ale ani na jedné lokalitě nedosáhla nejhorších výsledků. Celkově byl na obou lokalitách výnos hrachu nízký – ve Zvíkově v průměru 1,92 t/ha, v Praze 1,40 t/ha. HTS hrachu setého na lokalitě Zvíkov dosáhla v průměru 212 g a výrazně tak překonala HTS na lokalitě Praha (155 g); vliv použitých mikroorganismů byl opět nejednoznačný. Aplikace mikroorganismů neovlivnila ani sledované jakostní ukazatele – obsah N-látek a škrobu v sušině semen hrachu.

Z dosažených výsledků nelze říci, že by některý ze sledovaných mikroorganismů dosáhl lepších výsledků než jiný.

Vliv pokusné lokality na hodnocené produkční a jakostní ukazatele hrachu setého výrazně převážil nad vlivem sledovaných mikroorganismů, resp. způsobem jejich použití.

Pro následující období výzkumu se počítá s určitými úpravami metodiky, které by usnadnily eliminaci nepříznivých vnějších činitelů (např. zaplevelení, poškození ptactvem) a zvýšila se pravděpodobnost lepšího efektu použitých mikroorganismů.

Klíčová slova: hrách setý, biologická ochrana, moření osiva, foliární aplikace, pokusná lokalita

The use of lactic acid bacteria, mycoparasitic and entomopathogenic fungi in the protection of field pea

Summary

Society's growing desire to reduce the negative impact of human activity on the environment is encouraging the development of biological methods of plant protection to replace the increasingly regulated and restricted use of chemical pesticides.

The purpose of this work was to evaluate the possibility of using selected strains of lactic acid bacteria (*Lactobacillus* spp.), entomopathogenic fungi (*Trichoderma virens*) and mycoparasitic fungi (*Metarhizium brunneum*) for seed treatment and plant protection (foliar application) of sow pea, variety Avatar, in organically certified areas of two experimental sites (Prague and Zvíkov).

In our experiments, a certain positive trend was observed, especially in the initial period of pea vegetation, when the variants with seeds stained with mentioned microorganisms (especially *Lactobacillus* spp. and *T. virens*) achieved a slightly higher number of emerged plants per m², greater length of the above-ground part of the plants and root length compared to the untreated control.

However, the effect of the application of the studied microorganisms on the yield of pea was ambiguous and not significant. Nor was there an identical trend at both experimental sites - the variants that achieved the highest yields at one site did not always achieve the highest yields at the other site. The untreated control was one of the lower yielding variants, but did not achieve the worst results at either site. Overall, the yield of peas was low at both locations - in Zvíkov it averaged 1,92 t/ha, in Prague 1,40 t/ha. The HTS of sown peas at the Zvíkov site averaged 212 g and thus significantly exceeded the HTS at the Prague site (155 g); the effect of the micro-organisms used was again ambiguous. The application of micro-organisms did not affect the quality parameters monitored – the N-fibre and starch content of dry pea seeds.

From the results obtained, it cannot be said that any of the microorganisms studied achieved better results than another.

The influence of the experimental site on the production and quality parameters of sowing peas evaluated significantly outweighed the influence of the micro-organisms monitored or the way they were used.

For the next research period, some modifications to the methodology are envisaged to facilitate the elimination of unfavourable external factors (e.g. fouling, bird damage) and to increase the likelihood of a better effect of used microorganisms.

Keywords: field pea, biological control, seed treatment, foliar aplikation, experimental location

Obsah

1 Úvod	7
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	8
3 Literární rešerše.....	9
3.1 Biologická ochrana a její využití v rostlinné produkci.....	9
3.1.1 Co je biologická ochrana	9
3.1.2 Možnosti využití přípravků biologické ochrany rostlin.....	9
3.1.3 Příklady organismů využitelných v biologické ochraně rostlin	11
3.1.4 Přínosy a možná omezení biologické ochrany rostlin	12
3.1.5 Faktory ovlivňující účinnost biologické ochrany rostlin	14
3.1.6 Biologická ochrana ve světě a v ČR.....	16
3.2 Využití hub a bakterií v biologické ochraně rostlin.....	18
3.2.1 Bakterie mléčného kvašení	18
3.2.2 Mykoparazitické houby	19
3.2.3 Entomopatogenní houby	21
3.3 Luskoviny.....	23
3.3.1 Význam luskovin	23
3.3.2 Hrách setý – postavení v zemědělství v ČR	24
3.3.3 Využití biologické ochrany rostlin v pěstební technologii hrachu setého	24
4 Metodika	26
4.1 Půdně-klimatické podmínky pokusných lokalit.....	26
4.2 Založení přesných polních pokusů, přehled použité agrotechniky	27
4.3 Moření osiva a příprava preparátů pro foliární aplikaci.....	29
4.4 Sledované vegetační charakteristiky, produkční a jakostní ukazatele hrachu setého.....	29
4.5 Statistické hodnocení	29
5 Výsledky.....	30
5.1 Ovlivnění hodnocených vegetačních charakteristik, produkčních a jakostních ukazatelů hrachu setého sledovanými faktory a jejich interakcí.....	30
5.2 Hodnocení vybraných vegetačních charakteristik a produkčních ukazatelů hrachu setého	32
5.3 Hodnocení vybraných jakostních ukazatelů hrachu setého.....	45
6 Diskuze	49
7 Závěr	54
8 Literatura.....	55

1 Úvod

V současné společnosti je často diskutovaným tématem udržitelnost zemědělství a snížení jeho negativních dopadů na životní prostředí. Také upřednostňování kvality produktů je trend, který určuje směr zemědělství. Další tlak společnosti vede směrem k omezení používání chemických pesticidů a využívání šetrnějších postupů v ochraně zemědělských plodin proti škodlivým činitelům. Řada vyspělých zemí si tak v současnosti klade za cíl zařadit používání alternativních metod pro ochranu rostlin do svého programu pro udržitelné zemědělství (Regnault-Roger 2012).

Pro dodržení požadavků na zachování kvality a zároveň dostatečného množství produkce je využívána integrovaná rostlinná produkce a integrovaná ochrana rostlin, které v sobě kombinují doplňující se metody pro snížení populací škůdců a chorob pod ekonomické prahy škodlivosti a zároveň snižují dopady zemědělství na ostatní složky agroekosystémů. Dále ve svém programu dbají na zachování a dodržování potřeb producentů, celé společnosti a také životního prostředí. Cílem je, aby byla zaručena dostatečná produkce potravin, potravinářských surovin a krmiv pro hospodářská zvířata, aby se zemědělci svojí produkcí mohli uživit a aby byla zachována krajina nejen pro následnou produkci, ale i do budoucna pro další generace. Využívání chemických prostředků v integrované produkci není zcela vyloučeno, jako je tomu v ekologickém zemědělství, ale jejich využití je sníženo. Jejich použití musí být odůvodněné a mělo by být podpořeno dalšími metodami ochrany. Tento přístup také cílí na snahu o snížení rizika vzniku rezistence škůdců a chorob na chemické přípravky. Mezi podpůrné metody integrované ochrany rostlin patří biologická a fyzikální ochrana, různá agrotechnická opatření, využívání odolnějších a rezistentních odrůd plodin a systémů, které shromažďují informace a analýzy a pomáhají s procesem rozhodování při plánování ochranných zásahů (Chandler et al. 2008).

Moje diplomová práce byla součástí grantového projektu NAZV MZe ČR, který se zabývá možnostmi intenzifikace ekologické produkce leguminóz a jejím cílem bylo ověřit v rozdílných agroekologických podmínkách dvou pokusných lokalit možnosti využití vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub k moření osiva a ochraně rostlin hrachu setého.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce bylo zhodnotit vliv vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub, použitých jednak k ošetření osiva, jednak k aplikaci na list během vegetace, na vzcházivost porostu, zdravotní stav a vybrané produkční a jakostní ukazatele hrachu setého, vybrat varianty, které se osvědčily nejlépe a posoudit účinnost jednotlivých ošetření i ve vztahu k agroekologickým podmínkám dvou pokusných lokalit.

Hypotézy

- Využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub k ošetření osiva hrachu setého a ochraně rostlin během vegetace podpoří polní vzcházivost a zapojení porostu, zlepší zdravotní stav rostlin a povede k navýšení výnosu.
- Účinnost ošetření bude významně ovlivněna rozdílnými agroekologickými podmínkami sledovaných pokusných lokalit.

3 Literární rešerše

3.1 Biologická ochrana a její využití v rostlinné produkci

3.1.1 Co je biologická ochrana

Biologická ochrana využívá širokou škálu organismů a jimi produkováných látek jakožto činitelů či agens pro ochranu rostlin před škůdci, chorobami a plevely. Z živých organismů to jsou např. hmyzí predátoři, paraziti, parazitoidi, entomopatogenní nematoda a mikroorganismy, jako jsou viry, bakterie a houby. Dále se v biologické ochraně využívají přírodní látky, mezi které patří např. rostlinné extrakty a sekundární metabolity, které se využívají k potlačení šíření patogenních činitelů, omezení rozmnožovací schopnosti škůdců a snížení jejich počtu či hmyzí feromony, které lze využít při monitoringu výskytu škůdců, jejich odchyty a hubení (Copping & Menn 2000; Chandler et al. 2008; Bleša et al. 2021).

Důležité pro biologickou ochranu je, aby byli její činitelé přírodního původu a byli ekologickou a efektivní variantou potlačování patogenních činitelů. Je kladen důraz na minimální ohrožování životního prostředí a lidského zdraví (Gupta & Dikshit 2010).

Dobrá a mnohdy i lepší účinnost biologické ochrany, než v polních podmínkách byla prokázána ve sklenicích a uzavřených systémech pěstování, kde je např. využití mikroorganismů jednodušší a je s úspěchem využíváno již dlouhou dobu. Uzavřený prostor je také vhodný k využití hmyzích parazitoidů a predátorů. Vzhledem k dobře kontrolovatelným podmínkám prostředí ve sklenicích lze dosáhnout pozitivního vlivu biologických činitelů proti škůdcům a patogenům (Lamichhane et al. 2015).

3.1.2 Možnosti využití přípravků biologické ochrany rostlin

Způsob využití biologických činitelů může být preventivní, ale také reaktivní, kdy se přípravky aplikují až po zjištění výskytu škůdců a chorob na plodinách. Mikroorganismy mohou být aplikovány na osivo, případně později do porostu nebo ke kořenům. Jejich aplikace také může podporovat biologickou aktivitu v půdě a podporovat tak příjem živin hlavní plodinou. Biologičtí činitelé také zvyšují odolnost plodiny vůči škůdcům a chorobám a zvyšují kvalitu produkce (Matyjaszczyk 2015).

Mechanismy, kterými biologická ochrana působí, jsou různé. Například mohou biologičtí činitelé ovlivnit rostlinu, aniž by působili na patogen. Je tím myšlena podpora rezistence plodiny či přímé způsobení rezistence rostliny vůči chorobě. Nepřímo mohou dále působit na patogeny vytvořením kompetice o živiny a prostor. Přímé působení činitelů biologické ochrany na nežádoucí organismus je hyperparazitismus či inhibice růstu patogenu za pomoci antibiotických látek, které činitelé sami produkují. Hyperparazitismem je myšleno usmrcování houbových mycelií, spor a bakteriálních buněk (Köhl et al. 2019).

Rezistence u plodin může být vyvolána přítomností přírodních látek, jejichž působení vede ke vzniku prvků obrany proti škodlivým činitelům. Po vzniku rezistence je plodina

schopna bránit se daným škůdcům nebo chorobám (Copping & Menn 2000). Vytvořená rezistence může být podmíněna přítomností nekrotizujícího patogena, který na rostlinu útočí. Reakce buď probíhá pouze v určité části rostliny, případně může být rozvedena pomocí signalizace po celé rostlině. Druhý typ rezistence může vzniknout díky přítomnosti mikroorganismu, které v rostlině spustí obranné mechanismy pro případ potenciálního výskytu patogena. Oba tyto typy však působí pouze po dobu působení podnětu, ať už se jedná o patogen či o pomocný mikroorganismus. Pro dlouhodobě působící rezistenci je dobré na rostliny působit opakovaně delší dobu, aby získaly citlivost na podnět a použily razantnější způsob obrany (Köhl et al. 2019).

Strategie, které se používají v biologické ochraně, se dělí podle využití biologického činitele. První strategií je v případě biologické ochrany proti škůdcům potlačení patogenního činitele pod práh škodlivosti až na několik následujících let. Druhou strategií je krátkodobé potlačení patogena, kdy je biologická ochrana aplikována v počátečních stádiích vývoje populace škůdce. Patogen je opět potlačen pod práh škodlivosti. Nejběžnější strategií je využití specifického biologického činitele ochrany přímo pro daného patogenu. Jde o cílenou ochranu, která může být aplikována opakovaně, čímž dochází k nejlepším výsledkům (Federici 1999).

Klasický přístup biologické ochrany je použití přirozeného nepřítele škůdce v místě jejich původu. Tento přístup je založen na teorii, která tvrdí, že invazní druh se stane na novém stanovišti škůdcem, protože tam nemá přirozené nepřátele. Proto je vhodná introdukce jeho původního predátora do míst, kde nově škodí. Druhý přístup neočekává, že se predátor na novém místě aplikace usídí, pouze zde sníží populaci patogena a postupně jeho populace zanikne. Biologičtí činitelé se mohou v rámci populace rozmnožovat, což je označováno jako způsob očkovací. Druhým způsobem je inundace, kdy je aplikováno velké množství jedinců, u kterých se neočekává další množení (Chandler et al. 2008).

Mezi houbami se často nachází hyperparazitismus, což je vztah, při kterém je parazit hostitelem jiného parazita. V případě biologické ochrany právě biologický činitel parazituje na parazitickém patogenu. Jedním z nejnámějších biologických činitelů, kteří se využívají jako mykoparazité, jsou houby z rodů *Trichoderma* a *Clonostachys* (Köhl et al. 2019).

Látky získávané z rostlin byly již v historii využívány pro svoje léčebné, omamné i repelentní účinky. Tyto látky jsou účinné proti škůdcům. Označují se jako fytochemikálie, a jsou to bioaktivní látky, které samy rostliny využívají ke své ochraně. Mají spoustu vhodných vlastností mimo svoji funkci ochrany. Jsou biologicky rozložitelné a nesetrvávají dlouho v půdě. Biopesticidy na bázi těchto látek se někdy také nazývají botanické pesticidy. V prostředí se běžně přirozeně vyskytují, bývají dostupné ve velkém množství a jejich získávání není příliš finančně náročné. Mohou dále sloužit také jako insekticidy, inhibitory žíru, repelenty, larvicidy a ovicidy (Montesinos & Bonatterra 2009; Kala et al. 2019).

Biologický činitel, který je účinný pro potlačení patogenu, musí splňovat určité podmínky, aby mohl být využit pro výrobu komerčních přípravků. Například mikroorganismus musí být možné množit v průmyslovém měřítku, dále se musí dít dobře skladovat. Pro přípravu prostředků na ochranu rostlin musí být rovněž zajištěna biokompatibilita s různými přídatnými látkami, které jsou dodávány, aby pomáhala s aplikací a udržovaly stabilitu hotového výrobku.

První fází výroby je izolace čisté kultury mikroorganismu. Poté se kontroluje, zda lze kulturu pěstovat na živném médiu. Příkladem snadno kultivovatelných biopesticidních organismů je entomopatogenní houba *Paecilomyces* a biofungicidní bakterie *Pseudomonas chlororaphis*. Naopak nekultivovatelné jsou bakterie *Pasteuria penetrans*, což je vyřazuje z procesu výroby komerčních prostředků. V laboratoři se dále zjišťuje, jakými mechanismy potlačuje kultura patogen. Poté se přejde k pilotním zkouškám, kdy je snaha přiblížit podmínky prostředí co nejvíce k reálné situaci, ve které bude přípravek používán. Je dobré, aby byla zastoupena široká škála podmínek, ve kterých se prokáže účinnost daného mikroorganismu (Montesinos 2003).

Pro množení mikroorganismů pro velikou produkci jedinců lze využít fermentace. Existují dvě možnosti, které lze v procesu výroby přípravků pro biologickou ochranu použít. Fermentace může probíhat v kapalině nebo na pevném živném médiu. Fermentace v kapalině je výhodnější, protože umožňuje produkovat velké množství mikroorganismů v uzavřených a kontrolovaných podmínkách. Naopak u fermentace na pevném živném médiu hrozí kontaminace z okolí. Tento způsob na pevném médiu se využívá pro produkci houbových spor, které nelze získat při pěstování v kapalině (Kamilova & De Bruyne 2013).

Při procesu výroby přípravku pro biologickou ochranu rostlin se volí formulace, v které budou mikroorganismy uchovávány a následně aplikovány. Je tedy nutné správně vybrat formulaci, která daný mikroorganismus uchová po dobu skladování, usnadní aplikaci a mikroorganismy si zachovají svoji aktivitu a účinnost. Formy práškové či granulové umožňují přežívat mikroorganismům podmínky extrémního sucha. Nicméně tyto formy nejsou pro některé mikroorganismy vhodné. K formulaci se při výrobě mohou přidávat aditiva. Jsou to různé přenašeče, živiny a emulzifikátory (Kamilova et al. 2014).

Od formulace přípravku se pak odvíjí i jeho aplikace. Musí se však ještě přihlídnout k mechanismu působení mikroorganismu a k fázi růstu plodiny, aby byla vhodně zvolená aplikace. Na osivo lze použít práškový či tekutý přípravek na ochranu rostlin. Aplikuje se na osivo nebo přímo do půdy při setí. Použití granulí je vhodné pro pozvolnější uvolňování mikroorganismů z přípravku. Formulace rozpustné ve vodě či kapalné přípravky se aplikují přímo do půdy, případně mohou být aplikovány postřikovačem na pole (Kamilova et al. 2014).

3.1.3 Příklady organismů využitelných v biologické ochraně rostlin

Jako konkrétní příklady živých organismů využívajících se k biologické ochraně uvádí Gupta a Dikshit (2010) houby rodu *Trichoderma*, které se využívají jako biofungicidy.

Houby rodu *Trichoderma* potlačují např. choroby působené patogeny rodů *Fusarium*, *Pythium* a *Rhizoctonia*. Lze je využít např. ve sklenicích, k ochraně zeleniny, bylinek a okrasných rostlin, ale i trávníků. Další houby registrované na ochranu rostlin působí na půdní choroby. Jsou to například *Gliocladium catenulatum* a *Coniothyrium minitans*, který se používá k potlačení patogena *Sclerotinia sclerotiorum*. Na listové choroby působí např. *Ampelomyces quisqualis* účinkující na plíseň zelenin a hroznů (Whipps & Lumsden 2001; Ravensberg 2014). V poslední době je testována např. houba *Talaromyces flavus*, která účinkuje proti antraknózám působeným *Glomerella cingulata* (Damalas & Koutroubas 2018).

Využití hub v ochraně rostlin a jejich potenciál závisí mimo jiné i na biologii daného druhu. Například houby třídy *Hyphomycetes* mají širokou škálu hostitelů, lehce se produkují a dobře se skladují. Když jsou připraveny jako produkty použitelné pro ochranu rostlin, jsou odolné a lehce se aplikují. Pro zlepšení efektivity biopesticidů je vhodné vybírat odpovídající kmeny a pohlížet i na genetické vlastnosti a vyvíjet adekvátní způsoby aplikace (Goettel et al. 2005).

Endofytní houby žijí v prostředí uvnitř rostlin po celou délku trvání jejich životního cyklu, aniž by nějak poškozovaly hostitele. Jejich přínosem pro rostlinu je podpora jejího růstu a spouštění mechanismů, které pomáhají rostlině bránit se před patogeny. Mimo jiné také produkují sekundární metabolity, které negativně působí na patogeny. Příkladem této obrany je biologický činitel *Piriformospora indica*, který v rostlině *Arabidopsis thaliana* způsobuje produkci kyseliny jasmínové, rostlinného hormonu, který brání rostlinu před patogeny. Dalším příkladem biologických činitelů, využívaných v ochraně rostlin jsou např. bakterie rodu *Enterobacter*, které potlačují patogen *Fusarium graminearum* v kořenovém systému hostitelské rostliny a zároveň produkují látky potlačující růst jiných hub (Grabka et al. 2022).

Dále jsou využívány např. bakterie *Lactobacillus casei*, jež potlačují listovou skvrnitost způsobovanou *Xanthomonas fragariae* (Damalas & Koutroubas 2018). Choroby rostlin dále potlačují bakterie z kmenů *Bacillus amyloliquefaciens* a *B. subtilis*, dále pak bakterie rodů *Streptomyces*, *Pseudomonas* a *Rhizoctonia* (Ravensberg 2014).

K výrobě biopesticidů se často využívá bakterie *Bacillus thuringiensis*, která produkuje protein delta-endotoxin. Tento protein je také označován jako Cry protein. Účinkuje proti larvám motýlů, dvoukřídlých a brouků (Pérez-García et al. 2011).

Pro biologickou ochranu proti hmyzím škůdcům se využívají např. entomopatogenní houby *Beauveria bassina*, *Lecanicillium muscariu* a *Isaria fumosorosea*, které potlačují populace molic a třásněnek. Dále houby *Metarhizium anisopliae* a *Paecilomyce lilacinus*, které lze využít při biologické ochraně vůči nematodům (Ravensberg 2014; Litwin et al. 2020).

Verticillium lecanii je velmi účinné proti mšicím, třásněnkám, puklicím, sviluškám, molicím a roztočům. Používá se úspěšně ve sklenicích. Tato houba je velmi účinná na zamoření kávových plantáží kněžicí trávazelenou (Kulkarni 2015). *Verticillium* spp. jsou schopné rozpoznat patogen, ať už se jedná o hmyz nebo houbu a způsobit antibiózu či vyprodukovat hydrolytické enzymy pro potlačení rostlinného patogena (Benhamou & Brodeur 2000). Pomocí mechanické síly a hydrolytických enzymů proráží hmyzí pokožku a jsou schopné pronikat buněčnou stěnou (Goettel et al. 2008).

3.1.4 Přínosy a možná omezení biologické ochrany rostlin

Využívání přípravků biologické ochrany rostlin je výbornou alternativou k chemickým prostředkům, které negativně ovlivňují půdní úrodnost, celý ekosystém a také zvyšují náklady na produkci. Ošetřování plodin proti houbovými chorobami je nezbytné, protože jejich výskyt značně snižuje výnos. Použití látek biologické ochrany má dle výzkumu pozitivní efekt na

rhizobakterie, podporuje růst plodiny a zvyšuje její výnos. Pokusy se v současnosti ubírají směrem kombinace chemického fungicidního ošetření s biologickou kontrolou, která využívá kmeny *Bacillus subtilis* (Kumar et al. 2003).

Využití přípravků biologické ochrany méně zatěžuje životní prostředí a celkově způsobuje menší poškození agroekosystémů. Jejich účinek je zpravidla zaměřen na konkrétního patogena, případně na úzké spektrum patogenů. Často je aplikace přípravků biologické ochrany účinná již v malé dávce, látky se rychle rozkládají a neukládají se v prostředí. Zacházení s nimi je však obtížnější oproti aplikaci chemických látek. Pravděpodobnost, s jakou vzniká rezistence na biologické látky je malá a dosud není zdokumentovaný závažnější problém způsobený rezistencí na biologické látky. Dále se nijak významně neukázal negativní vliv těchto látek na pěstované plodiny a pomocné rostliny. Používání přípravků biologické ochrany je zejména preventivní a jejich trvanlivost není příliš dlouhá (Gupta & Dikshit 2010).

Vliv používání biopesticidů na životní prostředí je velmi důležitým ukazatelem pro jejich zavedení do praxe. Celkově se jejich vliv na životní prostředí ukazuje jako málo škodlivý. Rozhodující je dále působení biopesticidů na necílové organismy, které nejsou považovány za škůdce v agroekosystému. Posuzuje se nejen přímý vliv biologických látek na necílové organismy, ale také nepřímý vliv, který ovlivňuje složení a fungování společenstva v místě aplikace. Tento nepřímý vliv je však složité posoudit (Chandler et al. 2008).

Používání biologické ochrany a konkrétně mikroorganismů nemá závažný vliv na obratlovce a také nejsou nebezpečné pro člověka, užitková zvířata a volně žijící zvěř. Látky produkované organismy, které se pro ochranu používají nejsou toxické, ani nezanechávají rezidua. Některé biopesticidy jsou úzce zaměřené na konkrétního patogena, avšak jiné mohou působit i proti širší škále patogenních činitelů (Chandler et al. 2008).

Bohužel při pokusech v polních podmínkách nepřináší přípravky biologické ochrany požadované výsledky v porovnání s jejich úspěchem při laboratorních pokusech. Snižování efektivity těchto látek je převážně způsobeno jejich rozkladem a nestálostí. Dále je pro jejich účinnost nezbytné, aby byly velmi koncentrované, což stěžuje následnou manipulaci (Kala et al. 2019).

Podobně Copping a Menn (2000) uvádějí, že i přes dobré výsledky přípravků biologické ochrany v laboratorních podmínkách a v menším rozsahu i v provozech, potřebuje používání těchto prostředků další výzkum a podporu pro používání. Ve výzkumu se sleduje jejich vliv na plodiny, a hlavně působení na životní prostředí. Je nezbytné prokázat, že jsou nezávadné pro ekosystémy a jejich interakce nebudou mít v budoucnu negativní důsledky.

Další nevýhodou je relativně pomalé působení na cílový organismus a pouze úzké spektrum aktivity (Federici 1999).

Bonning a Hammock (1996) např. uvádí, že rychlost, s jakou virus zabije hmyzího škůdce, se pohybuje od několika dní až k několika týdnům od doby aplikace mikroorganismu. Záleží na teplotě, množství dodaných organismů, stáří hmyzích škůdců a také na jeho druhu. To znamená, že škůdce pokračuje v požeru plodiny i po ošetření biologickou ochranou, jejíž

účinky se tedy projeví s výrazným zpožděním. Navíc tato ochrana lépe působí na mladší hmyzí jedince.

Chandler et al. (2008) uvádějí, že omezení využívání přípravků biologické ochrany je velmi ovlivněno konkrétní legislativou daného státu a jeho regulačními procesy, které mohou bránit registraci biologického přípravku. Je třeba také počítat s nízkou účinností biologického přípravku na patogenní činitele a jeho případnou neefektivitou. Thomas a Willis (1998) doplňují, že dosud nejsou vyvrácena případná rizika, spojená s využíváním prostředků biologické ochrany a je obtížné stanovit nebezpečí, která organismy, jež jsou schopné se rychle rozmnožovat, mohou přinášet do budoucna.

3.1.5 Faktory ovlivňující účinnost biologické ochrany rostlin

Účinnost biologické ochrany je značně ovlivněna klimatickými podmínkami. Většina organismů podílejících se na biologické ochraně vyžaduje relativní vzdušnou vlhkost alespoň 70 %. Účinnost biologické ochrany se liší ročník od ročníku, závisí na počasí, tlaku patogenů a podmínkách prostředí. Organismy jsou schopné přežít období s nepříznivými podmínkami, ale musí se střídat s podmínkami, které jsou pro ně příznivé. Většinou se za příznivé podmínky považuje vysoká vlhkost a mírná teplota. Kompenzací podmínek prostředí může být dodání přídatných látek, které mimo jiné zvyšují účinnosti a také zlepšují rovnoměrné pokrytí povrchu rostliny ochrannými prostředky (Dik et al. 1998).

Například členovci, kteří byli zkoumáni jako činitelé biologické ochrany v oblasti jižní Afriky, dobře prospívali v teplejších podmínkách, kdežto v prostředí s chladnějšími podmínkami se dlouhodobě neudrželi. Také mikroklima v porostu plodiny má významný vliv na aktivitu biologických činitelů pro ochranu rostlin (Coetzee 2012).

Read (1986) sledoval v průběhu několika let aktivitu hmyzu, využitelného v biologické ochraně rostlin. Zaznamenal, že vliv teploty na jeho aktivitu je významný, kdežto rozdílné množství vody v půdě na populaci nemělo tak výrazný vliv.

Kombinace teploty i vlhkosti ovlivňuje rychlost vývoje biologického činitele mýry *Chillio partllus*. Vyšší teplota a vlhkost zkracuje délku vývoje od vajíčka po dospělce. Naopak čím je nižší teplota a vlhkost, tím delší je celý vývoj. Rychlý vývoj nemá vliv na kvalitu jedince (Tamiru et al. 2012).

Vzdušná relativní vlhkost ovlivňuje vajíčka hmyzu, což má vliv na celkový vývoj jedince. Hmyzí vajíčka mají relativně velký povrch a při nízké vlhkosti jsou náchylné k vysychání. Konkrétní příklad ovlivnění činitelů biologické ochrany počasím je potlačování invazní rostliny *Ambrosia artemisiifolia*, která byla v Číně a Japonsku úspěšně potlačena za pomoci brouka *Ophraella communa*. V Číně tento brouk dosahuje šest až sedm generací za rok, v Japonsku pouze čtyř až pěti generací, pravděpodobně kvůli chladnějšímu klimatu. Naopak v Evropě má tento brouk problémy s rozmnožováním a nevyhovuje mu ani relativní vzdušná vlhkost, která je pro něj příliš nízká. Z toho vyplývá, že v Evropě jej nelze použít k potlačení invazního druhu *Ambrosia* (Augustinus et al. 2020).

Vajíčka brouka *Trirhabda geminanta* pro svůj vývoj také potřebují dlouhodobou vysokou vzdušnou vlhkost. Optimální teplota jejich vývoje je 25 °C. Pokud v jejich okolí klesne vlhkost vzduchu, je vývoj embryí zastaven a vajíčka dokáží nepříznivé podmínky přečkat. Sucho však nesmí trvat příliš dlouho. V rámci tohoto rodu jsou velké rozdíly v adaptaci na nepříznivé podmínky a v některých oblastech mohou být vajíčka brouka *Trirhabda* lépe odolná suchu (Bethke & Redak 1996).

Při pokusech realizovaných Byrne et al. (2002) byl sledován brouk *Gratiana spadicea* a jeho vajíčka v měnících se hodnotách vzdušné vlhkosti. Bylo zjištěno, že množství stresu způsobeného suchem se kumuluje a negativní vliv stresu se sčítal. Největší stres hrozil v podzimním období, kdy je nízká vzdušná vlhkost a dospělci v tomto období nejvíce kladou vajíčka. Vliv na vajíčka a vlhkost v jejich okolí měli i listy rostlin a přítomnost rostlinných průduchů.

Biologická ochrana rostlin je s úspěchem využívána pro regulaci škůdců v podmínkách skleníků. Pokusy s biologickou ochranou prováděné v polních podmínkách nedosahují tak dobrých výsledků a jejich působení je více ovlivněno měnícími se vlivy prostředí. Tyto vnější vlivy, a hlavně jejich výkyvy mohou způsobovat stres činitelům biologické ochrany, jež se nachází v půdě v okolí kořenů plodin, ke kterým jsou aplikovány (Kawai et al. 2006).

Mykoparazitické houby rodu *Trichoderma* jsou značně závislé na úzkém rozpětí teplot pro svoji aktivitu. Většina kmenů *Trichoderma* spp. nedokáže ochránit klíčící semena plodiny před půdními chorobami, které dokáží fungovat za chladu. Nicméně kmeny *Trichoderma* spp. se v toleranci k nízkým teplotám liší a je jen otázkou testování a nalezení vhodného kmene, který by v chladnějších podmínkách aktivní byl. Houby rodu *Trichoderma* jsou dále závislé na dostatečném množství vody v půdě (Kredics et al. 2003).

Poměrně tolerantní k široké škále teplot je např. entomopatogenní houba *Verticillium lecani*. Nicméně aby dokázala šířit spory, potřebuje minimální vzdušnou vlhkost alespoň 85 %. Náročný na teplotu je organismus *Metarhizium flavovirede*, který pro klíčení a sporulaci potřebuje úzký rozptyl teplot kolem 25 °C. Negativní vliv mohou mít jak velmi nízké, tak velmi vysoké teploty (Abbaszadeh et al. 2011).

Sluneční záření a jím způsobovaný stres na mikroorganismus *Bacillus thuringiensis* zkoumal Frye et al. (1973) a zjistil, že UV záření působí stres tomuto mikroorganismu a snižuje jeho aktivitu. Podle počasí je tedy nutné upravit termín aplikace přípravku obsahujícího *B. thuringiensis*. Dále je nutné podle předpovědi počasí upravit velikost a koncentraci aplikované dávky. Největší vliv na populaci mají podmínky prvních 24 hodin po aplikaci. Jako vhodné se ukázalo aplikovat přípravek za soumraku, případně když je celý den zataženo.

Je prokázáno, že působení slunečního svitu je jedním z nejvíce určujících faktorů působících na mikroorganismy. Téměř všichni biologičtí činitelé jsou po vystavení se přímému záření do několika hodin zahubeni. Stejně tak mikroorganismy na povrchu listů plodiny hynou na přímém slunečním světle. Nicméně sluneční záření má i stimulační účinek na některé houby. Ochranou proti slunečnímu záření může být připravení mikroorganismu ve formulaci, ve které je proti záření odolnější. Při vniku mikroorganismu do hostitele na něj nejvíce působí teplota,

přičemž vysoká teplota zastavuje činnost mikroorganismů. Nízká teplota naopak utlumuje činnost hmyzu, případně ovlivňuje vztah mezi činitelem a hostitelem (Fuxa 1995).

V oblastech, kde je kratší vegetační období, je jen omezené množství plodin vhodných k pěstování. Tyto plodiny musí být odolné místním nepříznivým podmínkám. V těchto oblastech je také velmi omezený výběr vhodné biologické ochrany, protože podmínky nejsou ideální ani pro většinu využívaných mikroorganismů. Podle laboratorních pokusů se dá určit rozmezí podmínek, které je nezbytné pro fungování daného druhu biologického činitele. Následně se výsledky srovnají s počasím, jež je v dané lokalitě. Nicméně i tyto predikce nemusí zaručit, že se introdukovaný organismus v místě působení udrží. Je totiž pravděpodobné, že vzhledem k podmínkám nebude organismus úspěšný v rozmnožování a populace zanikne (McClay 1996).

Vhodnou reakcí na nepříznivé podmínky prostředí je zkombinování využití chemické a biologické ochrany. Díky signalizacím výskytu patogenních činitelů a předpovědím počasí je možné stanovit vhodnost použití chemických prostředků. Pokud je predikován příznivý průběh počasí, je vhodné zařadit biologickou ochranu, která bude šetrnějším zásahem a bude mít zaručené dobré podmínky pro svoji účinnost (Shtienberg & Elad 1997).

Výzkum biologické ochrany se mimo jiné ubírá směrem k nalezení vysoce efektivních a průbojných činitelů, které budou schopné fungovat i v širokém rozpětí přírodních podmínek. Snaha je hlavně o odolnost vůči slunečnímu svitu a suchému počasí (Ramanujam et al. 2014).

Další snahou je hledání mikroorganismů, které jsou aktivní v podobném rozpětí podmínek prostředí, jako je tomu u patogenu. V takovém případě, nejsou aktivní ani mikroorganismus biologické ochrany ani patogen, tudíž nehrozí tak závažné škody (Larkin & Fravel 2002).

3.1.6 Biologická ochrana ve světě a v ČR

Celosvětové zastoupení přípravků biologické ochrany na trhu bylo kolem roku 2010 něco přes 3000 tun biopesticidů za rok. Jejich výroba stabilně každý rok narůstá o dalších cca 10 % (Aneja et al. 2016). V současnosti tvoří biopesticidy asi pětinu z celkového množství všech přípravků na ochranu rostlin na trhu, kdy největší část tvoří přípravky chemické. Na Evropském trhu je podíl registrovaných biologických pesticidů nižší, než je tomu ve srovnání s Amerikou, Čínou a Indií. Může za to zejména složitější proces registrace přípravků biologické ochrany, který v Evropské unii kopíruje postup při registraci chemikálií používaných pro ochranu chemickou. Ve světě je tedy registrační proces snazší a přípravkům biologické ochrany umožňují rychleji se uplatnit na trhu (Damalas & Koutroubas 2018).

K prvním registrovaným produktům pro biologickou ochranu byly v Evropě přípravky používající mikroorganismus *Bacillus thuringiensis*. Konkrétní první přípravek byl vyvinut a zaregistrován ve Francii již v roce 1938. Prvním registrovaným biopesticidem v USA byl bakteriální insekticid na bázi *Bacillus popillae*. Jako úplně první houbový insekticidní přípravek, (šlo spíše o akaricid), byl v Americe přípravek Mycar, který byl registrovaný v roce

1981. Obsahoval mikroorganismus *Hirsutella thompsonii*, a ničil roztoče na citrusech. V Evropě se jako první používal produkt obsahující *Verticillium lecanii* a používal se na hubení mšic, molíc a trásněnek (Ravensberg 2011).

To, jak se přípravky biologické ochrany prosazují na trhu, je ovlivněno i ekonomikou, poměrem mezi náklady, vývojem a cenou výrobku vzhledem k jejich účinnosti a spolehlivosti. Takže i přes snahy tyto přípravky prosadit a začít více ve velkém využívat, není jejich vývoj a prodej pro větší firmy příliš lukrativní. Při porovnávání chemických a biologických přípravků se mnohdy chemické přípravky ukazují jako účinnější, a proto mnoho zemědělců spoléhá raději na jistotu provedeného zásahu běžnými chemickými ochrannými prostředky. Efektivita používání biologických přípravků totiž závisí na kombinaci výběru plodiny, která bude přípravkem ošetřena, na podmínkách daného ročníku, na tlaku škůdců a chorob. Závisí také na parametrech, které si nastavíme, že jsou pro nás při pěstování plodiny ekonomické, dále na pořizovací ceně přípravku, na podmínkách lokality, které účinnost také ovlivní a v neposlední řadě závisí na legislativních podmínkách používání přípravku dané státem (Federici 1999).

Snížení potenciálu komercializace přípravku pro biologickou ochranu na trhu je způsobeno velkou specifitou většiny přípravků na jednoho konkrétního patogenního činitele. Takže i přes pozitiva, která používání přípravků na biologickou ochranu provází, jako je nízká zátěž na prostředí, bývají tyto přípravky méně ekonomicky výhodné. Na ceně nejvíce přidávají náklady na polní testování, procesy výroby a výzkum vhodných formulací přípravků (Fravel et al. 1999).

Jedním z možných přístupů při výzkumu a hledání biologické ochrany pomocí bakterií je hledání nových bakteriálních kmenů, které by potlačovali více chorob než jen jednu, což by zlepšilo jejich ekonomickou hodnotu (Haidar et al. 2016).

Pro zavedení komerčních přípravků do povědomí farmářů a zpřístupnění jejich používání je nutné s nimi komunikovat a vysvětlovat principy a výhody jejich používání. Nejdůležitější při používání prostředků pro biologickou ochranu rostlin je znalost jejich správného používání a odpovídající aplikace prostředků. Jejich používání se liší od běžně používaných prostředků ochrany a některá specifika a pravidla mohou ztěžovat farmářům přijetí těchto metod. Dialog je tedy nezbytný pro prohloubení povědomí veřejnosti a seznámení se s biopesticidy. Biologickým prostředkům dále nepřidává na atraktivitě ani jejich nestálá účinnost, která je ovlivněna řadou faktorů. Závisí na správných podmínkách skladování, ochranou před kontaminací jinými organismy, správném použití a také na podmínkách na poli při aplikaci a po dobu jejich působení. Častou odpovědí na neúspěch přípravků biologické kontroly je problematika nařízení a regulací legislativy dané země. Další úskalí, která hrají v neprospěch biologických přípravků, jsou kontrola kvality a nacenění produktu (Mawar et al. 2021).

Vývoj a přijetí biologického prostředku pro ochranu rostlin, díky kterému je povoleno používat daný mikroorganismus, případně přírodní látky pro biologickou ochranu, je obsáhlý proces. Komerční výroba přípravku předpokládá velký objem výroby a samozřejmě odbyt produktu. V průběhu procesu povolování přípravku se musí odpovědět na otázky účinnosti přípravku proti patogenu, jeho dopadu na životní prostředí, na člověka a živočichy. Dále se

musí důkladně otestovat nejen v laboratorních podmínkách, ale také při polních pokusech a zhodnotit jeho chování. A v neposlední řadě se musí vyloučit toxicita biologického přípravku, který má být určený pro ochranu rostlin. Aby se zhodnotila nákladnost procesu výroby, pohlíží se také na způsob množení mikroorganismu a způsoby, kterými je možné finální produkt připravit pro následnou velkovýrobní produkci. A nesmí se ani zapomenout na legislativu dané země, schvalovací a uznávací proces, kterými přípravek musí projít, a protože firma, která bude přípravek vyrábět, chce mít z celého procesu zisk, musí zhodnotit, jestli půjde pro daný přípravek biologické ochrany připravit dobrý marketing. Tyto všechny otázky ovlivňují výběr mikroorganismu a jeho cestu ke komerčnímu výrobku sloužícímu jako biologická ochrana. Z nabízených možností se vyberou takové, které mají co nejlepší výsledky a vyplatí se do nich investovat (Köhl et al. 2011).

3.2 Využití hub a bakterií v biologické ochraně rostlin

3.2.1 Bakterie mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení jsou celkově vnímány jako mikroorganismy, které byly nejprve využívány v úpravě a konzervaci potravin. Jedním z prvních vědecky popsaných objevů těchto bakterií byl objev fermentace Luisem Pasteurem. Další vědec, který se zasloužil o popis a charakteristiku těchto bakterií, byl Lister, který jejich kultury izoloval (Stiles & Holzapfel 1997).

Důležitou roli bakterie mléčného kvašení hrají jako startovací kultury sýrů a zákysů, a také jsou příčinou fermentace velkého množství potravin; známá byla jejich schopnost fermentovat a srážet mléko, používají se k ošetřování potravin pro skladování a také například při silážování píče. Byly popsány jako grampozitivní nesporeující bakterie, které mají tvar tyčinkovitý nebo kulovitý (Visser et al. 1986; Stiles & Holzapfel 1997).

Bakterie mléčného kvašení se fylogeneticky řadí mezi grampozitivní bakterie, do pododdělení *Clostridium* a *Bacillus*. Rod *Lactobacillus* je propojen s rody *Pediococcus* a *Leuconostoc*. A zástupci bakterií mléčného kvašení se nachází napříč rody *Thermobacterium*, *Streptobacterium* a *Betabacterium*, *Lactococcus* (*Streptococcus*), a *Pediococcus* (Stackebrandt & Teuber 1988; Stiles & Holzapfel 1997). Díky jejich antimikrobiálnímu působení jsou vhodné k potlačování mikroorganismů jako např. *Aspergillus* spp., které produkují mykotoxiny a znehodnocují potraviny při skladování. Při pokusech se prokázala jejich schopnost potlačovat klíčení konidiospor a růstu mycelií *Aspergillus* spp. (Djossou et al. 2011). Enterokoky (konkrétně *Lactobacillus acidophilus*), jsou schopné inhibovat patogenní organismy. Příkladem jsou rody *Proteus*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Bacillus* a *Streptococcus*. Některé bakterie jsou schopné přežít v kyselém prostředí a jsou účinné proti patogenům škodícím na plodinách (Reis et al. 2012).

Využití bakterií mléčného kvašení v biologické ochraně rostlin

Bakterie mléčného kvašení se v ochraně potravin využívají již dlouhou dobu, proto se v oblasti ochrany rostlin nezpochybňuje jejich nezávadnost pro prostředí a pro člověka (Gerez et al. 2010). Jsou u nich prokázány antibakteriální účinky a také poskytují ochranu proti houbovým infekcím. Bakterie jsou schopné produkovat látky potlačující aktivitu hub v širokém rozpětí teplot a také v prostředí, které je slané. Největší aktivitu mají v prostředí kyselém (Crowley et al. 2013). Organické kyseliny, které bakterie mléčného kvašení produkují, jsou kyselina mléčná, octová, mravenčí, propionová a máselná. Díky těmto kyselinám redukuje pH prostředí. Dále produkují etanol, mastné kyseliny, peroxid vodíku, diacetyl atd. (Lutz et al. 2012; Reis et al. 2012). *Lactobacillus plantarum* produkuje 3-hydroxy mastné kyseliny a fenylkyseliny, které potlačují růst houbových kultur (Lan et al. 2012). Mechanismus jejich účinku je založen na snížení pH prostředí díky produkci kyseliny mléčné (Roselló et al. 2017; Daranas et al. 2019). Mohou být izolovány z čerstvé zeleniny a ovoce, případně z mléka (Shekhar et al. 2006; Trias et al. 2008).

Bakterie mléčného kvašení podporují kvalitu půdy a její úrodnost. Produkty metabolismu těchto bakterií podporují růst rostlin a tvorbu bohaté kořenové soustavy. Díky antagonistickému působení bakterií mléčného kvašení vůči patogenním činitelům mohou být také využity k potlačování růstu hub a bakterií v okolí kořenů a na dalších rostlinných orgánech. Ošetření osiva pomocí bakterií mléčného kvašení může potlačit rozvoj kořenových hnilob semenáčků. Aplikace vodního roztoku obsahujícího bakterie mléčného kvašení mohou potlačit růst bakterií kontaminujících potraviny. Látky vyučované bakteriemi mléčného kvašení působí negativně na bakteriální patogeny. Polycyklické peptidy ze skupiny lanthanoidů poškozují buňky grampozitivních bakterií (Raman et al. 2022). Kmeny bakterií mléčného kvašení se liší ve vlivu na vývoj plísní; pouze některé z testovaných kmenů měly vliv na růst mycelia, ale téměř všechny potlačovaly klíčení konidií (Gerez et al. 2009). Je vhodné také zvolit, jestli je cílem vybrat kmeny, které jsou specializované na jeden patogen nebo mají široké spektrum účinku (Daranas et al. 2019).

3.2.2 Mykoparazitické houby

Termín mykoparazitismus označuje vztah, který vzniká mezi parazitickou a hostitelskou houbou. Je prospěšný pouze pro jednu stranu vztahu, tedy pro parazita. Vliv parazita na hostitele může být nekrotrofní nebo biotrofní, kdy hostitel není zahuben, ale dál roste a poskytuje živiny parazitovi. U nekrotrofního parazitismu je míra poškozování hostitele závislá na schopnosti hostitele odolávat, na množství živin, které jsou dostupné a také na prostředí. Nekrotrofní mykoparazité ničí hostitele pomocí enzymů, které produkují či jiných toxických látek, a získávají živiny z mrtvých buněk hostitele (Barnett 1963).

Biotrofní mykoparazité mají schopnost získávat živiny z živých buněk hostitele. Je možné, že tyto parazité po letech žití v symbióze ztratili schopnost syntetizovat některé látky a jsou plně závislé na hostiteli (Barnett & Binder 1973).

Mezi mykoparazitické houby náleží dle Adamse (1990) např. houby rodu *Trichoderma*, dále pak *Gliocladium virens*, *Coniothyrium minitans*, *Laetisaria arvalis*, *Pythium nunn*, *Talaromyces flavus* a *Sporidesmium sclerotivorum*.

K významným mykoparazitickým nekrotrofním houbám patří *Clonostachys rosea*. Patří mezi houby vřekovýtrusné. Napadá patogenní houby, jako jsou *Alternaria* spp., *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* a *Sclerotinia sclerotiorum*. Mechanismus jejího působení je buďto přímý parazitismus patogenní houby, alelopatie, produkce enzymů ničících buněčné stěny, navození obranných mechanismů rostliny a také podpora růstu rostliny (Nygren et al. 2018). *Clonostachys rosea* je schopná obývat různá stanoviště, přičemž její nejčastější výskyt je v půdě. Potlačuje i nematoda (Sun et al. 2020).

Pythium oligandrum patří v současné době k nejznámějším mykoparazitickým houbám, nejužívanějším v biologické ochraně rostlin. Patří mezi oomykota a kolonizuje kořenové systémy mnoha plodin. Na rozdíl od jiných druhů rodu *Pythium* má schopnost chránit rostliny a podporovat jejich růst. *Pythium oligandrum* se rychle rozšiřuje, kompetuje s patogeny o prostor a živiny. Napadá přímo houbové patogeny v půdě, jako jsou houby vřekovýtrusné, stopkovýtrusné, jiná oomykota (Benhamou et al. 2012).

Již výše zmíněná *Trichoderma* je anamorfním stádiem *Hypocreaceae* z třídy *Ascomycota*. Produkuje konidie, což jsou nepohyblivé spory vzniklé nepohlavním rozmnožováním. Konidiospora je plodná hyfa, na které se nachází fialidy, jež produkují konidie. Sexuální stádium většina zástupců nemá, nicméně u některých je známé i sexuální teleomorfní stádium, jako je tomu například u *Hypocrea* a *Podostroma*. *Trichoderma* je popsána jako rychle rostoucí kolonie (Esposito & Da Silva 1998).

Bylo prokázáno, že houby rodu *Trichoderma* produkují bioaktivní látky, které mají antagonistický vliv na rostlinopatogenní houby a nematoda, jimž pomocí těchto látek zabraňuje pronikat do kořenů. Dále se využívá na potlačení chorob jako jsou verticiliové vadnutí, plísně šedá, kořenové hniloby, hnědá skvrnitost způsobovaná *Colletotrichum truncatum* a dalších (Verma et al. 2007; Sharon et al. 2011; Yao et al. 2023).

Houby rodu *Trichoderma* produkují celulózu, hemicelulózu, pentázu a 1,3-glukanázu, jež jsou komerčně využívány (Kulkarni 2015). Dále produkují látky trichodermin, suzukalcillin a alamethicin, které potlačují růst patogenních hub (Mukhopadhyay & Kumar 2020). Jsou odolné proti chemikáliím a toxinům (Tyśkiewicz et al. 2022).

Dle Srivastava et al. (2016) jsou houby rodu *Trichoderma* vhodným modelovým organismem, protože jsou schopné rychlého růstu a dokáží přežívat na různých substrátech; také se lehko izolují z půdy. Rovněž jsou odolné vůči toxickým látkám, které v půdě inhibují klíčení. Díky svému rychlému růstu rychle porůstají kořenový systém rostlin.

Využití mykoparazitických hub v biologické ochraně rostlin

Mykoparazitické houby jsou v biologické ochraně užívané již od roku 1932. Nicméně mnohé z nich se z ekonomického hlediska nevyplácí využívat (Adams 1990).

Díky mykoparazitismu jsou tyto houby schopné růst podél hyf hostitele, kde produkují enzymy, které degradují buněčné stěny. Dále využívají alelopatie, kdy vylučují do svého okolí toxické sekundární metabolity (Gerbore et al. 2013).

Pro biologickou ochranu se z mykoparazitických hub v biologických přípravcích nejběžněji využívá rod *Trichoderma*, dále pak *Clonostachys rosea*, *Pythium oligandrum* a *Coniothyrium minitans*. U nás je povolen např. přípravek Contans obsahující *Coniothyrium minitans*, Polyversum s houbou *Pythium oligandrum* či Gliorex obsahující houby *Clonostachys rosea* a *Trichoderma* spp. Dále lze mykoparazitické houby využívat jako pomocných látek v přípravcích užívaných k hnojení, tedy biohnojiv, pak také stimulantů rezistence a přípravků pro podporu růstu. Všechny tyto přípravky je vhodné užívat preventivně. Většina formulací je v pevné nebo kapalné formě. Působí především proti patogenům v půdě. Změny počasí, hlavně sucha, snižují účinnost prostředků ochrany (Gerbore et al. 2013; Ondráčková 2019; Meher et al. 2020; ÚKZÚZ 2024).

K přípravkům pro biologickou ochranu na bázi *Trichoderma* spp., které jsou registrované pro použití v České republice, patří dále Trianium-P, obsahující *Trichoderma harzianum*, kmen T-22. Jedná se o fungicid ve formě granulí, které jsou dispergovatelné ve vodě. Používá se na drobné ovoce, dřeviny, kořeninové zeleniny, množitelství materiál, trvalky. Dále na brukvovitou, plodovou, řapíkatou a listovou zeleninu. Potlačuje fuzariózy, rizoktoniové hniloby a pythiové hniloby. Dalším dostupným přípravkem je Vintec, který je obsahuje *Trichoderma atroviridae*, kmen SC1. Opět je to fungicid, který je ve formě granulí rozpustných ve vodě. Používá se na ochranu vinné révy, jejích roubů a podnoží a ve školkách na ochranu proti chřadnutí a odumírání. Nakonec přípravek Xilon obsahující *Trichoderma asperellum*, kmen T34, ve formě granulí. Používá se u kukuřice proti fuzariózám, u řepky olejky, slunečnice a sóji proti hlízence obecné (ÚKZÚZ 2024).

Houby rodu *Trichoderma* pro využití v biologické ochraně je též možné aplikovat jako ošetření na osivo. Po zasetí se houba rozmnoží a usídli se na kořenech klíčících rostlin, kde pomáhá fixovat dusík a přijímat živiny. Jiný způsob aplikace, který chrání mladé klíčící rostlinky, jež jsou náchylné k chorobám, je využití přípravku se sporami *Trichoderma* spp.. Dále je možné namáčet kořeny rostlin v roztoku vody a přípravku obsahujícího houbu. Případně mohou být houby rodu *Trichoderma* aplikovány pomocí granulí přímo do půdy (Ghazanfar et al. 2018).

3.2.3 Entomopatogenní houby

Entomopatogenní houby parazitují na hmyzu. Jsou schopné osídlit povrch těla krytý kutikulou a vypouštěním enzymů a toxických látek hubí hmyzí jedince. Rozšiřují se pomocí svých hostitelů. Pro jejich šíření je prospěšné, pokud je jejich hostitel ve velké populaci, takže

je jejich rozmnožování snazší při velkém počtu škodlivého hmyzu na kulturně pěstované plodině (Samson et al. 1988; Meyling & Eilenberg 2007).

Většina entomopatogenních hub patří do třídy *Entomophthorales* (zygomycety) nebo do třídy *Hyphomycetes* (deuteromycety). Jejich životní cyklus je přizpůsobený hmyzímu hostiteli a přírodním podmínkám. *Hyphomycetes* infikují širokou škálu hmyzích hostitelů. Produkují velké množství toxických látek, které přetíží hmyzí organismus. Naopak většina *Entomophthorales* kolonizují hostitele a způsobují jeho smrt bez použití toxických látek. Takovým příkladem je *Strongwellsea castrans* (Shah & Pell 2003).

K nejvýznamnějším zástupcům entomopatogenních hub náleží např. houby rodu *Metarhizium* potlačující hmyz, *Pochonia* negativně působící na nematoda, *Cordycepioideus* a další (Kepler et al. 2014).

Například *Metarhizium anisopliae* napadá dospělé komárů, termitů i klíšťat (Usta 2013; Sarven et al. 2020), *Metarhizium acridum* sarančata a kobylky (Aw & Hue 2017), *Metarhizium rileyi* motýly a můry. Pro proniknutí do těla hostitele produkuje enzymy, jejichž produkce se spustí po kontaktu houby s kutikulou hmyzu. Produkuje se konkrétně enzym lypáza. Ten má v kombinaci se sporulací ničivé účinky na hmyzí patogen. Tyto sekundární metabolity významnou rolí přispívají k potlačení patogenu (Fronza et al. 2017).

Dále k entomopatogenními houbám náleží např. *Aschersonia aleyrodis*, *Verticillium lecanii* a *Paecilomyces fumosoroseus*. Jsou parazité na molicích. Tyto houby často napadají hmyz ve sklenících (Osborne & Landa 1992). Dalšími houbami, které parazitují na hmyzu, jsou např. houby rodu *Beauveria* a *Massospora* (Shah & Pell 2003).

Využití entomopatogenních hub v biologické ochraně rostlin

Mechanismus infekce sestává z šesti fází: nejprve nastane adheze na povrch hostitele, následuje klíčení konidie, poté se tvoří speciální typ hyfy, apresorium, které slouží k pronikání do hostitelské buňky, následuje právě fáze pronikání, poté osídlení a nakonec extruze, což je vytlačení obsahu hostitelské buňky a sporulace (Aw & Hue 2017).

Metarhizium spp. se zpravidla aplikují jako myceliární granulát sloužící jako pesticid. Obývají tělo hostitelského hmyzu, který ničí zevnitř. Dále se používají ve formě konidií na médiu případně na zrna plodiny (Sandhu et al. 2012). Nepředstavují riziko pro životní prostředí, lidi ani pro obratlovce (Brunner-Mendoza et al. 2019).

V Evropské unii jsou registrovány přípravky na bázi *Metarhizium* spp., a sice *Metarhizium brunneum* kmen Ma 43 (European Commission 2024). V Americe jsou přípravky obsahující *Metarhizium brunneum* používány k potlačování klíšťat. Jedná se například o komerční přípravky Tick-Ex EC (kmen F52), Bio-blast Biological Termiticide (kmen ESC1) a další (Sullivan et al. 2022). Dále jsou v EU povoleny biologické přípravky, které obsahují mikroorganismy *Beauveria bassiana* a *Verticillium alboatrum* (Gerbore et al. 2013).

3.3 Luskoviny

Jak již bylo uvedeno, cílem této diplomové práce bylo ověření vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub pro moření osiva a aplikaci na list během vegetace v polních podmínkách na vybrané produkční a jakostní ukazatele hrachu setého, který je v ČR nejvýznamnější luskovinou.

3.3.1 Význam luskovin

Pěstování luskovin v Evropě bylo v posledních dvaceti letech na dlouhodobém ústupu, a to i přes jejich pozitivní působení v osevních postupech díky schopnosti poutat vzdušný dusík prostřednictvím bakterií rodu *Rhizobium*, vysoké předplodinové hodnotě a širokému využití v potravinářství, krmivářství, ale i farmacii. Důvodem byla výnosová nejistota, náchylnost vůči chorobám a škůdcům, nízká odolnost vůči nepříznivým podmínkám prostředí a omezené možnosti odbytu (Stoddard et al. 2009; Stoddard 2017; Ambika et al. 2022).

Luskoviny jsou zdrojem esenciálních minerálů pro člověka a jsou významné v jeho výživě (Grusak 2002). Jsou zdrojem bílkovin pro lidi i zvířata (Varshney & Kudapa 2013). Nejenže představují jeden z hlavních zdrojů bílkovin, ale pro vegetariány jsou jedním nejdůležitějších, protože obsahují lysin, což je esenciální aminokyselina, která se běžně v rostlinných bílkovinách nevyskytuje (Deshpande 1992).

Z výživového hlediska luštěniny obsahují 20 až 45 % bílkovin, esenciální aminokyseliny, kolem 60 % komplexních sacharidů a vlákninu. Dále také obsahují minerály a vitamíny. Neobsahují cholesterol a mají nízký obsah tuků, až na výjimky, jako jsou arašídy, cizrna a sója (Maphosa & Jideani 2017).

Velmi významná je jejich schopnost fixovat vzdušný dusík (Evans 1998), což umožňuje významné snížení spotřeby průmyslových dusíkatých hnojiv. Této schopnosti je hojně využíváno v integrovaném a ekologickém zemědělství (Carranca 2013).

Utváření hlízek na kořenech bobovitých je dáno přítomností bakterií rodu *Rhizobium*. Pokud je v půdě malý počet populací těchto bakterií, hlízky se příliš netvoří a fixace vzdušného dusíku tak není příliš efektivní (Alemneh et al. 2020).

Přínos bobovitých rostlin pro bakterie rodu *Rhizobium* je především získáváním energie a uhlíku z fotosyntézy, na oplátku *Rhizobia* poskytují rostlině hlavně dusík ve formě amonného kationtu (Liu et al. 2011).

Bobovité rostliny dále obsahují řadu fotochemikálií, jako jsou různé bioaktivní látky, inhibitory enzymů, oligosacharidy, saponiny a fenolické látky. Dodáváním těchto látek do organismu pomocí konzumace luštěnin pomáhají chránit před různými onemocněními. Bylo prokázáno, že výrazně pomáhají proti obezitě, ischemické chorobě srdeční, cukrovce a kombinaci těchto chorob. Díky vysokému obsahu vlákniny v luštěninách se snižuje glykemická reakce. Vysoký obsah vitamínu B, který obsahují, hraje významnou roli v tvorbě energie a v metabolické dráze mastných kyselin (Rebello et al. 2014).

Obsah vlákniny také pomáhá chránit zažívací trakt od některých forem rakoviny a také chrání srdce a snižuje riziko vzniku cukrovky. Vláknina bobovitých obsahuje pektin, slizy, celulózu, hemicelulózu a lignin. Mezi obsažené minerály patří železo, vápník, zinek, selen, hořčík, fosfor, měď a draslík (Kamboj & Nanda 2018).

3.3.2 Hrách setý – postavení v zemědělství v ČR

Hrách setý je v České republice tradičně pěstovanou luskovinou. U nás jej lze pěstovat na většině území, nejlépe se mu daří v řepařské a bramborářské oblasti (Pančíková 2018).

Před rokem 2000 významně poklesly plochy hrachu a celkově luskovin v ČR, a to hlavně kvůli ekonomice jejich pěstování, protože nemohly konkurovat stabilitě a velikosti výnosu obilí. V současnosti plochy ale opět mírně narůstají. Hráchu se pěstuje téměř 90 % ze všech luskovin. V České republice je z celkové produkce hrachu využíváno jen cca 10 % jako krmivo pro hospodářská zvířata, zbytek se využívá k potravinářským účelům. Jeho průměrný výnos dosahuje 2 t/ha. V České republice byla vyšlechtěna řada úspěšných odrůd, které dosáhly úspěchu i ve světě (Hýbl 2000).

3.3.3 Využití biologické ochrany rostlin v pěstební technologii hrachu setého

Nejvýznamnější choroby a škůdci hrachu setého

Mezi nejčastější choroby hrachu setého patří bakteriová spála, kořenové a krčkové hniloby, fusariové vadnutí, antraknózy a listové skvrnitosti a padlí. Nejčastějšími škůdci jsou mšice, kyjatka hrachová, trásněnky, obaleč hrachový, květílka všežravá a zrnokazi (Rubiales et al. 2015).

Bakteriální spála hrachu způsobovaná *Pseudomonas syringae* pv. *Pisi* se šíří převážně osivem a posklizňovými zbytky. Na jednotlivých rostlinách se objevují léze na listech ve tvaru vějíře. Napadeny mohou být také lusky, léze se nejprve projeví jako tmavě zelené oválné skvrny, které vypadají jako by byly podmáčené. Poté zhnědnou a mírně se propadnou pod povrch. Tato bakterie působí větší škody při nízkých teplotách. Větší napadení hrozí u hrachu vysetého brzy na podzim. Pro zamezení výskytu choroby je dobré zabránit šíření infikovaného osiva a ponechávání napadených rostlinných zbytků. Dále je vhodné dodržet střídání plodin. Chemická ochrana může být aplikována na osivo nebo do porostu (Hollaway et al. 2007).

Padlí náleží k řádu vřekovýtrusných hub z čeledi *Erysiphales*. Žije epifyticky a tvoří povlak bílých hyf na rostlinných orgánech. Nejprve probíhá fáze infikování, poté se houba rozmnožuje, a nakonec proniká do hostitele. Haustoria, která do rostlinných buněk proniknou, mohou odebírat živiny z rostliny. Na luskovinách tato choroba způsobuje významné škody. Na její potlačení se používají různé fungicidy, většinou na bázi síry. Ale také mohou být použity přípravky s benomylem, fenarimolem nebo chlorothalonilem. Nicméně ne všechny účinné látky jsou pro použití povoleny (Sulima & Zhukov 2022).

Antraknózy hrachu způsobují plodnice houby *Ascochyta pisi*, ale také další houby z rodu *Ascochyta*. Projevem choroby jsou hnědé až fialové skvrny, které mohou mít nepravidelný tvar. Choroba napadá i zrno, díky kterému se tato choroba dále šíří. Sušší oblasti nepodporují výskyt choroby. Prevencí výskytu antraknóz je tedy zdravé osivo (Sivachandra Kumar & Banniza 2017).

Mšice snižují výnos sáním na rostlinách. Větší riziko jejich napadení je však to, že mohou způsobovat přenos virových chorob. Používají se proti nim různé insekticidy, nicméně jsou popsány časté výskyty rezistence proti používaným chemickým přípravkům (Kamphuis et al. 2013).

Obaleč hrachový (*Cydia nigricana*) je běžně se vyskytující škůdce hrachu. Je to malá hnědá můra s bílým vzorováním na křídlech. Její kukly se vyvíjejí v podzemí, dospělci se živí na rostlinách hrachu, housenky vyžírají lusky zevnitř. Pro monitoring jejich výskytu se používají feromonové lapače, které zajistí včasný zásah pomocí insekticidů (Wall 1978).

Zrnokaz skvrnitý je brouk, který škodí na luskovinách. Jeho larvy se vyvíjejí v zrnu luskovin a živí se jimi. Dospělci již nežerou, ale pouze se rozmnožují. Larvy zrnokaze provrtávají zrna, následně se v nich zavíčkávají a dokončují svůj vývoj (Beck & Blumer 2014).

Perspektivy využití biologické ochrany v pěstební technologii hrachu setého

Přípravky biologické ochrany vhodné pro ošetření luskovin jsou například v podobě prášku, granulí a mikrogranulí. Na ošetření osiva se používá především prášková forma. Suché přípravky se mohou mísit s vodou, ve které se rozpustí. Kapalné přípravky jsou koncentrované a je potřeba je dále naředit vodou. Jedná se o suspenze a emulze (Mishra et al. 2018).

Činitelé biologické ochrany, které byly s úspěchem používány do luskovin, jsou především mikroorganismy obývající půdu. Jedná se o bakteriální endofyty rodu *Bacillus*, *Paenibacillus* a *Pseudomonas*. Dále jsou zkoumány houby rodu *Trichoderma*, *Metarhizium anisopliae* a *Bauvaria bassiana* (Mishra et al. 2018).

V biologické ochraně luskovin lze využít i parazitických vosiček, které napadají larvy patogenního hmyzu. Musí se však najít správné druhy parazitických vosiček, které jsou spolu s patogenními larvami kompatibilní. Ne vždy jsou tyto vosičky schopné efektivně hubit populace škůdce (Srinivasan et al. 2009).

4 Metodika

Pro hodnocení vlivu různých způsobů ošetření hrachu setého (moření osiva, foliární aplikace) vybranými kmeny bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub na produkční a jakostní ukazatele a vybrané vegetační charakteristiky hrachu setého byly využity přesné polní maloparcelkové pokusy, vedené v roce 2023 v ekologickém systému hospodaření na pokusných pozemcích výzkumné stanice Katedry agroekologie a rostlinné produkce FAPPZ ČZU v Praze-Uhřetěvsi a výzkumné báze, kterou využívá Katedra agroekosystémů Fakulty zemědělské a technologické JU ve Zvíkově u Lišova. Obě pokusné lokality disponují pokusnými pozemky, certifikovanými pro realizaci polních pokusů v režimu ekologického zemědělství, dle pravidel stanovených zákonem č. 242/2000 Sb., o ekologickém zemědělství, vyhláškou č. 16/2006 a podle zásad IFOAM, bez průmyslových hnojiv a pesticidů.

4.1 Půdně-klimatické podmínky pokusných lokalit

Výzkumná stanice ČZU Praha-Uhřetěves se nachází v nadmořské výšce 295 m n. m., průměrná roční teplota činí 8,5 °C, suma ročních srážek činí 575 mm. Nejvyšší průměrné teploty jsou dosahovány v červenci, nejvyšší úhrny srážek v červnu a červenci. Lokalita spadá do řepařské výrobní oblasti. Půdním typem je hnědozem; tato půda patří do skupiny jílovitých hlín.

Pokusné pozemky ve Zvíkově u Lišova, využívané Fakultou zemědělskou a technologickou Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích jsou situovány ve výšce 388 m n. m. Průměrná roční teplota dosahuje 8,3 °C a suma ročních srážek činí 627. Nejvyšších průměrných teplot je dosahováno v červenci. Nejvíce srážek spadne v průměru v červnu. Lokalita spadá do obilnářské výrobní oblasti. Půdní typ pozemku je typický pseudoglej a půdní druh je stanoven jako půda písčitohlinitá.

Přehled průměrných měsíčních teplot a úhrnů srážek během vegetace 2023 na sledovaných pokusných lokalitách uvádí tabulky č. 1 a 2.

Vegetační období 2023 bylo na pokusné lokalitě Praha srážkově nadprůměrné (březen, duben, červenec, srpen), naproti tomu období května a června bylo celkově srážkově pod dlouhodobým průměrem. Teplotně bylo období jarní vegetace nad dlouhodobým průměrem (s výjimkou května a června). Na lokalitě Zvíkov bylo v průběhu vegetace počasí teplotně nadprůměrné, s výraznými srážkovými deficity v červnu a červenci.

Tabulka 1: Průměrné měsíční teploty a úhrny srážek za vegetační období 2023, Praha-Uhřetěves

Měsíc	Teplota vzduchu (°C)			Srážky (mm)		
	Průměr	Dlouhodobý průměr	Rozdíl	Suma	Dlouhodobý průměr	Rozdíl
leden	3,52	-0,1	3,60	28,8	25,8	2,98
únor	2,88	1,2	1,64	24,6	24,6	0,00
březen	6,19	4,8	1,37	60,6	34,2	26,41
duben	7,96	10,0	-2,01	81,0	26,9	54,14
květen	14,13	14,5	-0,34	33,3	64,7	-31,45
červen	18,64	17,9	0,72	57,6	77,1	-19,49
červenec	21,26	19,7	1,61	85,5	77,5	8,04
srpen	20,43	19,3	1,18	115,5	70,8	44,71

Tabulka 2: Průměrné měsíční teploty a úhrny srážek za vegetační období 2023, Zvíkov

Měsíc	Teplota vzduchu (°C)			Srážky (mm)		
	Průměr	Dlouhodobý průměr	Rozdíl	Suma	Dlouhodobý průměr	Rozdíl
leden	2,2	-2,7	4,9	34,2	26,5	7,7
únor	1,8	-1,1	2,9	26,3	27,1	-0,8
březen	5,3	2,4	2,9	27,7	34,4	-6,7
duben	6,4	6,9	-0,5	99,8	48,6	51,2
květen	12,6	11,9	0,7	67,5	76,7	-9,2
červen	17,2	15,2	2,0	48,1	99,2	-51,1
červenec	20,1	16,8	3,3	36,3	84,6	-48,3
srpen	18,9	16,1	2,8	127,0	83,3	43,7

4.2 Založení přesných polních pokusů, přehled použité agrotechniky

Pro založení přesných polních pokusů na obou pokusných lokalitách bylo použito certifikované osivo hrachu setého, odrůda Avatar; byl použit výsevek 1,1 MKS/ha (340 kg/ha). Osivo nebylo inokulováno bakteriemi rodu *Rhizobium*. Hrách byl vyset do běžných úzkých řádků 125 mm, předplodinou byl na obou pokusných lokalitách jetel luční. Pokusy byly vedeny metodou znáhodněných bloků, ve 3 opakováních, velikost pokusné parcely 12 m².

Přehled variant pokusu (shodné na obou lokalitách) uvádí tabulka č. 3 – pokus zahrnoval jednu variantu kontrolní a deset variant použití vybraných mikroorganismů (bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub) – moření osiva, foliární aplikace v průběhu vegetace a kombinace obou metod.

Tabulka 3: Přehled variant pokusu

Číslo varianty	Popis varianty
I	Kontrola
II	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp.
III	Moření osiva <i>T. virens</i>
IV	Moření osiva <i>M. brunneum</i>
V	Foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.
VI	Foliární aplikace <i>T. virens</i>
VII	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.
VIII	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>T. virens</i>
IX	Moření osiva <i>M. brunneum</i> + foliární aplikace <i>M. brunneum</i>
X	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>T. virens</i>
XI	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.

Přehled použité agrotechniky na obou pokusných lokalitách uvádí tabulky č. 4 a 5.

Tabulka 4: Přehled použité agrotechniky, Praha-Uhřetěves

Datum	Agrotechnická operace
12.10. 2022	orba
21.3 + 23.3.2023	předset'ová příprava
24.3.2023	hrách setí + válení po zasetí
12.5.2023	vláčení proti plevelům
7.6.2023	ruční odplevelení porostů
11.6.2023	foliární aplikace mikroorganismů
6.8.2023	sklizeň hrachu

Tabulka 5: Přehled použité agrotechniky a ošetřování pokusu, Zvíkov

Datum	Agrotechnická operace
1.10.2022	orba
16.3.2023	předset'ová příprava
23.3. 2023	hrách setí
22.5. 2023	vláčení proti plevelům
13.6. 2023	foliární aplikace mikroorganismů
27.7. 2023	sklizeň hrachu

4.3 Moření osiva a příprava preparátů pro foliární aplikaci

Pro namoření osiva hrachu setého, použitého pro založení přesných polních pokusů na obou pokusných lokalitách (varianty II – IV a varianty VII – XI, viz tabulka č. 3) byly použity izoláty vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub ze sbírek Katedry rostlinné výroby Fakulty zemědělské a technologické JU v Českých Budějovicích a VÚ mlékárenského v Českých Budějovicích. Na pracovišti FZT JU Č. Budějovice také proběhlo vlastní namoření osiva mykoparazitickou houbou *Trichoderma virens*, entomopatogenní houbou *Metarhizium brunneum* a vybranými kmeny bakterií mléčného kvašení *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus pentosus*. Osivo hrachu setého bylo obaleno suspenzí testovaných mikroorganismů. Suspenze byla adjustována na standardní titr, 1×10^6 spor u *T. virens*, 1×10^6 spor u *M. brunneum* a 1×10^7 spor *Lactobacillus* spp. v 1 ml suspenze.

V době vegetace hrachu setého (BBCH 59-61, počátek květu) byla provedena foliární aplikace sledovaných mikroorganismů u variant V – XI. Pro větší množství aplikační suspenze bylo nutné kmeny *T. virens* a *M. brunneum* produkovat na přirozeném substrátu, *Lactobacillus* spp. byly produkovány v tekuté živné půdě a distribuovány jako roztok.

4.4 Sledované vegetační charakteristiky, produkční a jakostní ukazatele hrachu setého

Po vzejití porostu byl stanoven počet rostlin na m^2 . Na počátku vegetace (v BBCH 15-17 – rozevření třetího a dalších listů) byl proveden u variant s mořením osiva odběr rostlin hrachu pro stanovení průměrné délky nadzemní části rostlin a kořenů a počtu hlízek na rostlinu (z každého opakování bylo provedeno stanovení z deseti náhodně vybraných rostlin).

Na počátku květu (BBCH 59-61) byla provedena foliární aplikace sledovaných mikroorganismů u vybraných variant. Cca 8–10 dní po aplikaci bylo provedeno vizuální hodnocení výskytu chorob a škůdců s využitím bonitační stupnice 9–1, kde 9 bodů značí zcela zdravý porost, 1 bod porost totálně napadený. Před sklizní byl stanoven průměrný počet rostlin na m^2 , počet lusků na rostlinu a výška porostu. Po sklizni byl zjištěn výnos a stanovena hmotnost tisíce semen (HTS).

V rámci posklizňového hodnocení bylo provedeno stanovení obsahu N-látek v sušině semen hrachu (dle Kjeldahla, ČSN ISO 1871) a obsahu škrobu v sušině semen hrachu (polarimetricky dle Ewerse, ČSN EN 10520).

4.5 Statistické hodnocení

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny analýzou variance (ANOVA); rozdíly mezi průměry variant použití mikroorganismů a mezi průměry pokusných lokalit byly vyhodnoceny testem dle Tukeye na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ v programu SAS, verze 9.4.

5 Výsledky

5.1 Ovlivnění hodnocených vegetačních charakteristik, produkčních a jakostních ukazatelů hrachu setého sledovanými faktory a jejich interakcí

Míra ovlivnění jednotlivých hodnocených ukazatelů hrachu setého sledovanými faktory (pokusnou lokalitou a variantou aplikace jednotlivých mikroorganismů) a jejich interakcí je vyjádřena hodnotami testovacího kritéria F (ANOVA).

Z výsledků uvedených v tabulce 6 vyplývá, že počet rostlin hrachu setého na m^2 po vzejití byl ovlivněn statisticky průkazně jak způsobem aplikace mikroorganismů (moření osiva, postřik na list), tak i pokusnou lokalitou, přičemž mírně převažoval vliv pokusné lokality na tento parametr. Statisticky průkazně, i když v podstatně nižší míře, se uplatnil i vliv interakce obou sledovaných faktorů.

Vliv způsobu aplikace mikroorganismů na počet hlízek na rostlinu (hodnoceno v rámci odběru rostlinu na počátku vegetace – BBCH 15-17) byl statisticky neprůkazný; statisticky průkazná nebyla ani interakce mezi oběma faktory. Naproti tomu, vliv pokusné lokality na počet kořenových hlízek na rostlinu byl statisticky průkazný. Délka rostliny – opět hodnoceno v rámci odběru rostlin v BBCH 15-17 byla statisticky průkazně, výrazně převažujícím způsobem, ovlivněna pokusnou lokalitou; aplikace mikroorganismů naproti tomu délku rostlin v tomto období statisticky průkazně neovlivnila. Obdobná situace byla zaznamenána i v případě délky kořenů; i zde byl zaznamenán výrazně převažující, statisticky průkazný vliv pokusné lokality na tento parametr, aplikace mikroorganismů ani interakce obou faktorů se statisticky průkazně neuplatnily.

Výrazně převažující, statisticky průkazný vliv pokusné lokality byl zjištěn i v případě hodnocení počtu rostlin na m^2 před sklizní; tentokrát však byl zjištěn i statisticky průkazný, i když nižší, vliv způsobu aplikace mikroorganismů na tento parametr a statisticky průkazně se projevila i interakce obou faktorů. Počet lusků na rostlinu před sklizní byl ovlivněn statisticky průkazně oběma sledovanými faktory, přičemž byla opět zaznamenána vyšší míra ovlivnění tohoto znaku pokusnou lokalitou. Vliv interakce obou faktorů byl statisticky neprůkazný. Výška porostu před sklizní byla opět ovlivněna statisticky průkazně oběma sledovanými faktory, přičemž vliv pokusné lokality velice výrazně převažoval. Statisticky průkazně, i když ve výrazně menší míře, se uplatnila i interakce obou faktorů.

Také v případě HTS (hmotnosti tisíce semen stanovené po sklizni) byl zaznamenán statisticky průkazný a výrazně převažující vliv pokusné lokality na tento parametr; v menší míře se statisticky průkazně uplatnily i vliv způsobu aplikace mikroorganismů a interakce obou faktorů. Obdobná situace byla zaznamenána i v případě výnosu semen; opět výrazně převážil vliv pokusné lokality na tento znak, přestože statisticky průkazně byl výnos semen ovlivněn i v důsledku aplikace mikroorganismů a statisticky průkazně se uplatnila i interakce obou faktorů.

Tabulka 6: Míra ovlivnění jednotlivých hodnocených vegetačních charakteristik a produkčních ukazatelů hrachu setého sledovanými faktory a jejich interakcí (ANOVA, hodnoty testovacího kritéria F, dvoufaktorový model s interakcí)

Faktor/Ukazatel	Počet rostlin na m ² po vzejití	Počet hlízek na rostlinu	Délka rostliny	Délka kořenů	Počet rostlin na m ² před sklizní
Způsob aplikace mikroorganismů (A)	392,16***	6,24 ^{ns}	8,94 ^{ns}	3,78 ^{ns}	99,72**
Lokalita (L)	507,25***	18,35**	148,25***	232,15***	864,25***
(A) × (L)	12,17*	1,17 ^{ns}	3,76 ^{ns}	5,66 ^{ns}	22,36**
Faktor/Ukazatel	Počet lusků na rostlinu	Výška porostu před sklizní	HTS	Výnos semen	
Způsob aplikace mikroorganismů (A)	76,18**	178,72***	99,68**	214,74***	
Lokalita (L)	180,22***	2019,65***	1030,25***	870,65***	
(A) × (L)	4,12 ^{ns}	11,72*	20,14*	10,14*	

P<0,05*; P<0,01**; P<0,001***

Výsledky hodnocení míry ovlivnění hodnocených jakostních ukazatelů sklizených semen hrachu setého způsobem aplikace mikroorganismů a pokusnou lokalitou uvádí tabulka 7. Z výsledků je patrné, že jak obsah N-látek, tak i obsah škrobu v sušině semen hrachu setého byly ovlivněny převažujícím způsobem a statisticky průkazně pokusnou lokalitou; statisticky průkazně, i když v menší míře, se však projevil i faktor aplikace mikroorganismů. Interakce obou sledovaných faktorů obsah N-látek ani obsah škrobu v sušině semen statisticky průkazně neovlivnila.

Tabulka 7: Míra ovlivnění hodnocených jakostních ukazatelů hrachu setého sledovanými faktory a jejich interakcí (ANOVA, hodnoty testovacího kritéria F, dvoufaktorový model s interakcí)

Faktor/Ukazatel	Obsah N-látek v sušině semen	Obsah škrobu v sušině semen
Způsob aplikace mikroorganismů (A)	48,17**	98,51***
Lokalita (L)	75,22***	172,83***
(A) × (L)	2,17 ^{ns}	5,78 ^{ns}

P<0,05*; P<0,01**; P<0,001***

5.2 Hodnocení vybraných vegetačních charakteristik a produkčních ukazatelů hrachu setého

Následující část práce se věnuje podrobnému vyhodnocení průkaznosti rozdílů mezi průměry variant (způsobů aplikace mikroorganismů) a obou pokusných lokalit u jednotlivých sledovaných produkčních ukazatelů a vegetačních charakteristik hrachu setého prostřednictvím testu dle Tukeye.

Počet rostlin na m² po vzejití

Vliv aplikace vybraných mikroorganismů (bakterie mléčného kvašení, mykoparazitické a entomopatogenní houby) na počet rostlin na m² po vzejití na dvou pokusných lokalitách (Praha a Zvíkov) je uveden v tabulce č. 8 (při hodnocení počtu rostlin na m² po vzejití by se měl uplatnit případný vliv použitých mikroorganismů pouze u variant s mořením osiva, protože foliární aplikace v té době ještě nebyla realizována; varianty s mikroorganismy aplikovanými pouze na list by tedy měly vykazovat cca obdobné hodnoty počtu rostlin na m² po vzejití jako neošetřená kontrola).

Nejvyššího počtu rostlin na m² po vzejití dosáhly v průměru obou lokalit varianty číslo III (moření osiva *T. virens*) a VII (moření osiva *Lactobacillus* spp.+ foliární aplikace *Lactobacillus* spp.). Nejnižší počet rostlin na m² byl zjištěn u neošetřené kontroly (varianta I) a u varianty IX (moření osiva *M. brunneum* + foliární aplikace *M. brunneum*). Varianty III a VII se statisticky průkazně lišily od neošetřené kontroly (varianta I) a od varianty IX; ostatní varianty se od sebe statisticky průkazně neodlišovaly. Z výsledků je celkově patrný trend vyššího počtu rostlin na m² po vzejití u variant, kde bylo použito moření osiva, a to především *Lactobacillus* spp. (bakteriemi mléčného kvašení) a *T. virens* (mykoparazitická houba); efekt *M. brunneum* (entomopatogenní houba) aplikované na osivo byl naproti tomu nevýrazný a spíše se blížil variantám, kde nebylo moření osiva provedeno.

Z výsledků (tabulka č. 8) je dále zjevný statisticky průkazný rozdíl v počtu rostlin na m² po vzejití mezi oběma pokusnými lokalitami; na lokalitě Praha dosáhl průměrný počet rostlin na m² po vzejití 94,14 kusů, na lokalitě Zvíkov to bylo v průměru 103,70 rostlin na m².

Tabulka 8: Počet rostlin na m² po vzejití

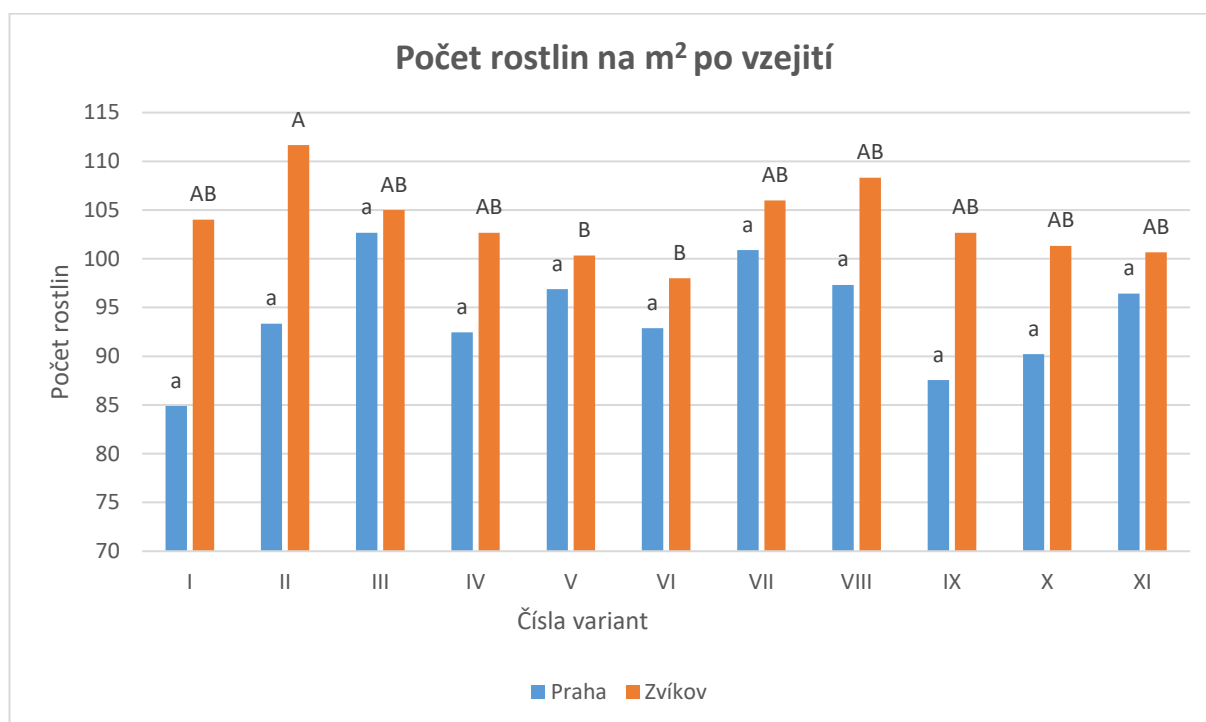
Číslo varianty	Popis varianty	Počet rostlin na m ² po vzejití (m ²)
I	Kontrola	94,45b
II	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp.	102,50ab
III	Moření osiva <i>T. virens</i>	103,84a
IV	Moření osiva <i>M. brunneum</i>	97,56ab
V	Foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	98,61ab
VI	Foliární aplikace <i>T. virens</i>	95,45ab
VII	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	103,45a
VIII	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>T. virens</i>	102,83ab
IX	Moření osiva <i>M. brunneum</i> + foliární aplikace <i>M. brunneum</i>	95,12b
X	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>T. virens</i>	95,78ab
XI	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	98,56ab
	<i>HSD</i> _{0,05}	8,64
	Praha	94,14b
	Zvíkov	103,70a
	<i>HSD</i> _{0,05}	3,97

Průkaznost rozdílů v počtu rostlin na m² po vzejití v závislosti na způsobu aplikace sledovaných mikroorganismů na jednotlivých pokusných lokalitách znázorňuje graf č 1. Na lokalitě Praha se průměrný počet rostlin na m² po vzejití pohyboval mezi 84,89 rostlinami (neošetřená kontrola) a 102,67 rostlinami (varianta III – moření osiva *T. virens*). Rozdíly mezi variantami nebyly úplně malé, přesto byly statisticky neprůkazné – nepochybně díky velké heterogenitě mezi opakováními (poškození ptactvem, výskyt myší).

V případě lokality Zvíkov byl celkově počet rostlina na m² po vzejití oproti Praze vyšší a pohyboval se mezi 98 rostlinami (varianta VI – foliární aplikace *T. virens*) a 111,67 rostlinami (varianta II – moření osiva *Lactobacillus* spp.), přičemž varianta II s nejvyšším počtem vzešlých rostlin a varianty V a VI s nejnižšími počty rostlin na m² se od sebe statisticky průkazně lišily.

Stejně jako v případě průměru obou pokusných lokalit se i na jednotlivých lokalitách projevil trend mírně vyššího počtu rostlin na m² po vzejití u variant, kde bylo použito moření osiva.

Graf 1:



Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; $HSD_{0,05} = 19,59$

Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; $HSD_{0,05} = 11,25$

Vliv moření osiva na parametry zjišťované při odběru rostlin hrachu setého na počátku vegetace

Vliv moření osiva hrachu setého sledovanými mikroorganismy (varianty II – IV) ve srovnání s neošetřenou kontrolou na vybrané parametry (průměrný počet hlízek na kořenech rostliny, průměrná délka kořenů a nadzemní části rostlin) zjišťované v rámci odběru rostlin na počátku vegetace hrachu setého (BBCH 15-17) uvádí tabulka č. 9.

V průměru obou pokusných lokalit nebyly zaznamenány statisticky průkazné rozdíly mezi jednotlivými variantami u žádného z výše uvedených hodnocených znaků (počet hlízek na rostlinu, délka nadzemní části rostliny a délka kořenů), nicméně neošetřená kontrola dosahovala mírně nižších hodnot sledovaných parametrů ve srovnání s variantami s mořením osiva.

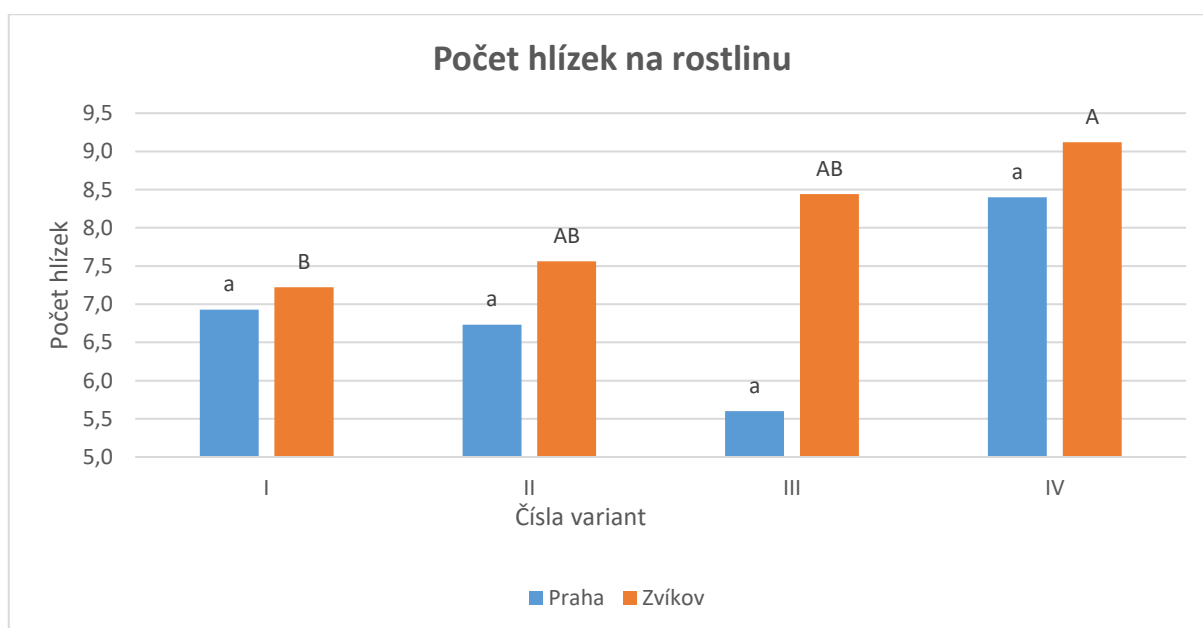
Naproti tomu, rozdíly mezi oběma lokalitami byly u všech sledovaných parametrů statisticky průkazné, přičemž vyšší hodnoty byly vždy zaznamenány na lokalitě Zvíkov.

Tabulka 9: Počet hlízek na rostlinu, délka rostliny a délka kořenů

Číslo varianty	Popis varianty	Počet hlízek na rostlinu	Délka rostliny (cm)	Délka kořenů (cm)
I	Kontrola	7,08a	11,99a	7,90a
II	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp.	7,15a	13,39a	8,78a
III	Moření osiva <i>T. virens</i>	7,02a	13,26a	8,89a
IV	Moření osiva <i>M. brunneum</i>	8,76a	12,08a	8,48a
	<i>HSD</i> _{0,05}	1,87	2,62	1,02
	Praha	6,92b	10,87b	7,85b
	Zvíkov	8,09a	14,49a	9,17a
	<i>HSD</i> _{0,05}	1,15	1,24	0,39

Vliv moření osiva na parametry hrachu, zjišťované v rámci odběru rostlin na počátku vegetace na jednotlivých lokalitách uvádí grafy č. 2–4. Na lokalitě Praha se průměrný počet kořenových hlízek na rostlinu pohyboval mezi 5,60 hlízkami (varianta III) a 8,40 hlízkami (varianta IV); na lokalitě Zvíkov to bylo mezi 7,22 hlízkami na rostlinu (kontrola) a 9,12 hlízkami na rostlinu (varianta IV) (graf č. 2). Zatímco v Praze se jednotlivé varianty v průměrném počtu hlízek na rostlinu od sebe statisticky průkazně nelišily, na lokalitě Zvíkov byl zjištěn mezi variantou s nejnižším a nejvyšším počtem hlízek na rostlinu statisticky průkazný rozdíl. Z výsledků dále vyplývá, že na obou pokusných lokalitách byl shodně zaznamenán nejvyšší průměrný počet hlízek na rostlinu u varianty IV (moření osiva *M. brunneum*). Nejnižší průměrný počet hlízek na rostlinu byl zjištěn na lokalitě Zvíkov u neošetřené kontroly, na lokalitě Praha to byla u varianty III (moření osiva *T. virens*).

Graf 2:

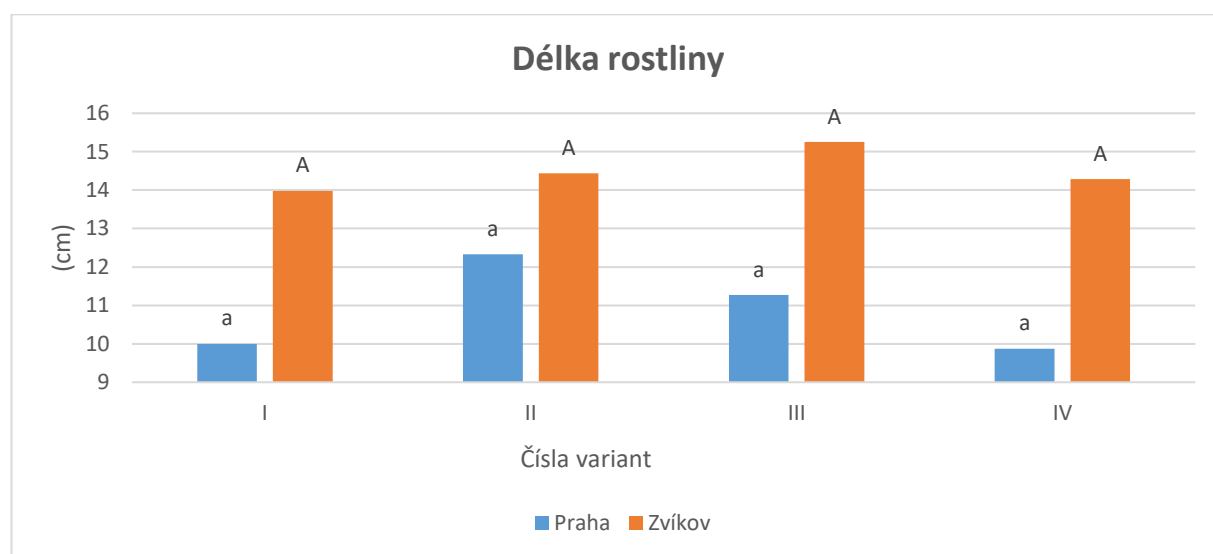


Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; *HSD*_{0,05} = 2,95
 Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; *HSD*_{0,05} = 1,97

Délka nadzemní části rostliny (graf 3), měřená v rámci odběru rostlin v BBCH 15–17 se na lokalitě Praha pohybovala mezi 9,87 cm (varianta IV) a 12,33 cm (varianta II); rozdíly mezi variantami byly statisticky neprůkazné.

Na lokalitě Zvíkov byla celkově délka rostlin větší (mohlo to být ovlivněno odběrem rostlin v mírně pokročilejší růstové fázi – v závislosti na podmínkách v době odběru) a pohybovala se mezi 13,98 cm (varianta I) a 15,25 cm (varianta III). Stejně jako v Praze nebyly v délce nadzemní části rostliny zaznamenány statisticky průkazné rozdíly.

Graf 3:



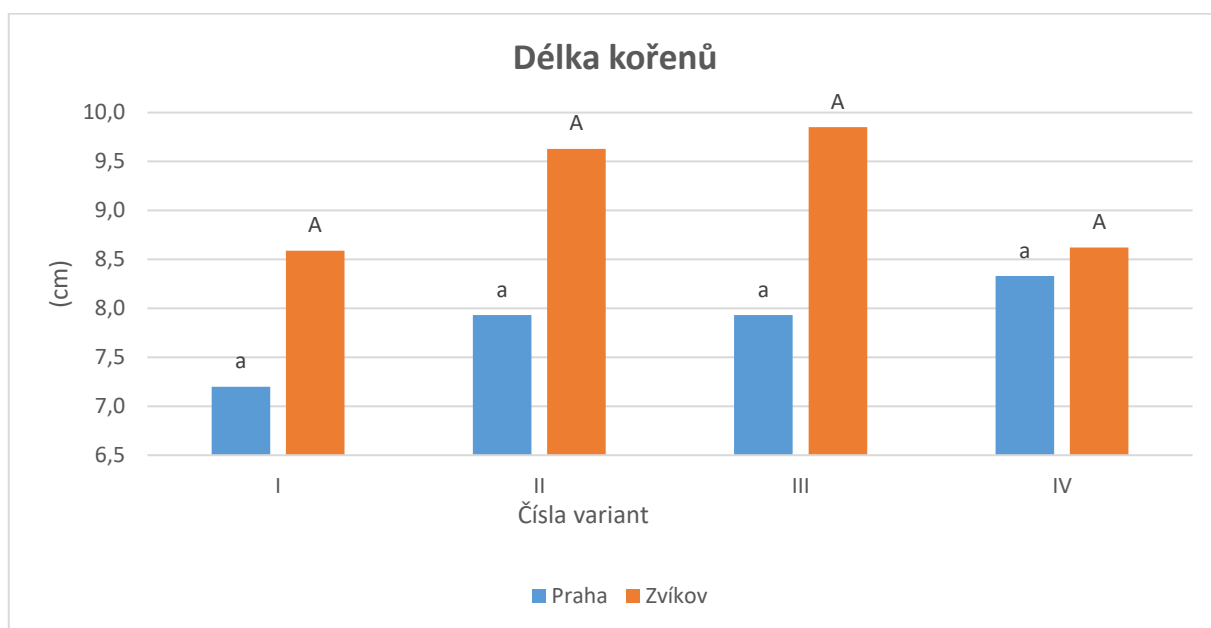
Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; HSD_{0,05} = 4,58

Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; HSD_{0,05} = 3,01

Výsledky hodnocení průměrné délky kořenů zjišťované v rámci odběru rostlin uvádí graf č. 4. Z výsledků vyplývá, že stejně jako v případě délky nadzemní části rostlin byla na pokusné lokalitě Praha zaznamenána i nižší průměrná délka kořenů na rostlinu – pohybovala se mezi 7,20 cm (kontrola) a 8,33 cm (varianta IV). Rozdíly mezi variantami byly statisticky neprůkazné.

Na pokusné lokalitě Zvíkov dosahovala průměrná délka kořenů hodnot mezi 8,59 cm (kontrola) a 9,85 cm (varianta III). Stejně jako v Praze se od sebe jednotlivé varianty statisticky průkazně nelišily. Na obou pokusných lokalitách byl zaznamenán trend mírně nižší délky kořenů v tomto období vegetace u neošetřené kontroly a mírně vyšší délky kořenů u variant s mořením osiva sledovanými mikroorganismy.

Graf 4:



Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; $HSD_{0,05} = 2,97$

Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; $HSD_{0,05} = 1,24$

Počet rostlin na m² před sklizní, počet lusků na rostlinu a výška porostu

Vliv různého způsobu aplikace sledovaných bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub na průměrný počet rostlin na m² před sklizní, počet lusků na rostlinu a na výšku porostu před sklizní uvádí tabulka č. 10.

Počet rostlina na m² před sklizní byl v průměru obou pokusných lokalit nejvyšší u varianty II (moření osiva *Lactobacillus* spp.), nejnižší pak u varianty VI (foliární aplikace *T. virens*). Varianty s nejnižším počtem rostlin na m² před sklizní (varianty I, III, V, VI, X a XI) se statisticky průkazně lišily od varianty s nejvyšším počtem rostlin na m² (varianta II); mezi ostatními variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Statisticky průkazný a poměrně výrazný rozdíl v průměrném počtu rostlin na m² před sklizní byl zjištěn mezi oběma pokusnými lokalitami. Lokalita Zvíkov dosáhla v průměru 87,24 rostlin na m² a značně tak převýšila lokalitu Praha, kde bylo v průměru zaznamenáno pouze 61,34 rostlin na m² (na redukci počtu rostlin na pokusné lokalitě Praha se nepochybně podepsalo poškození porostu ptactvem, výskyt myši a k redukci počtu rostlin pravděpodobně přispěla i vysoká intenzita zaplevelení pozdními plevele ve druhé polovině vegetace).

Výsledky hodnocení počtu rostlin na m² před sklizní na jednotlivých lokalitách znázorňuje graf č. 5. Je z něj opět vidět výrazný rozdíl mezi oběma lokalitami. Na lokalitě Praha se počet rostlin na m² před sklizní pohyboval v průměru mezi 57,00 rostlinami (varianty I a VI) a 65,42 rostlinami (varianta IX); rozdíly mezi variantami byly statisticky neprůkazné. Na lokalitě Zvíkov se průměrný počet rostlin na m² před sklizní pohyboval mezi 79,67 rostlinami (varianta VI) a 98,00 rostlinami (varianta II); mezi variantami II a VI byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl.

Vliv aplikace sledovaných mikroorganismů na výsledný počet rostlin na m² byl nejednoznačný. Neošetřená kontrola sice patřila na obou lokalitách k variantám s nižším počtem rostlin, ale, jak bylo již uvedeno výše, výsledný počet rostlin na m² před sklizní byl pravděpodobně ovlivněn i některými nepříznivými projevy (ptactvo, myši, zaplevelení), které se projevíly bez ohledu na aplikaci sledovaných mikroorganismů.

Počet lusků na rostlinu (tabulka č. 10) byl v průměru obou pokusných lokalit nejvyšší u varianty VIII (moření osiva *T. virens* + foliární aplikace *T. virens*) a nejnižší u varianty VI (foliární aplikace *T. virens*). Varianta VIII se v tomto znaku statisticky průkazně odlišovala od variant s nižším počtem lusků na rostlinu (VI, IX, XI). Statisticky průkazný rozdíl v průměrném počtu lusků na rostlinu byl zaznamenán mezi oběma lokalitami – na lokalitě Praha činil průměrný počet lusků na rostlinu 6,55 lusků, na lokalitě Zvíkov 5,78 lusků. Projevil se tak určitý kompenzační efekt, kdy lokalita s vyšším počtem rostlin na jednotku plochy dosáhla mírně nižšího počtu lusků na rostlinu a obráceně.

Výsledky hodnocení počtu lusků na rostlinu na jednotlivých lokalitách uvádí graf č. 6. Na lokalitě Praha se průměrný počet lusků na rostlinu pohyboval mezi 5,67 lusky (varianta II) a 7,50 lusky (kontrola); rozdíly mezi variantami byly statisticky neprůkazné. Lokalita Zvíkov dosáhla v průměru mezi 5,00 (varianty VI a X) lusky na rostlinu a 7,47 lusky na rostlinu (varianta VIII). Varianty s nižším počtem lusků na rostlinu se v některých případech statisticky průkazně odlišovaly od varianty s nejvyšším počtem lusků. Vliv aplikace sledovaných mikroorganismů na počet lusků na rostlinu byl opět nejednoznačný.

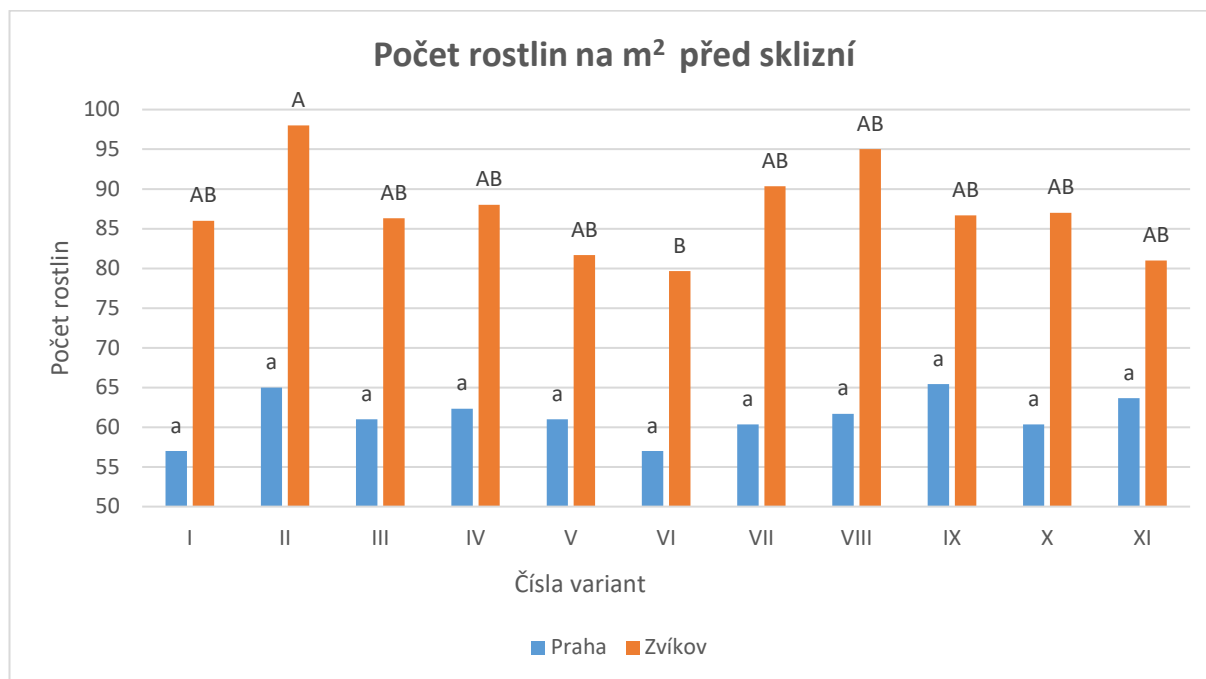
Výška porostu před sklizní v průměru obou lokalit (tabulka č. 10) nevykazovala ve vztahu k variantám aplikace sledovaných mikroorganismů patrnější efekt; byla poměrně vyrovnaná a hodnocené varianty se od sebe v tomto znaku zpravidla statisticky průkazně nelišily – výjimkou byly varianty I a XI, které dosáhly nejnižší výšky porostu a statisticky průkazně se lišily od ostatních variant s výjimkou varianty II. Poměrně výrazný a statisticky průkazný rozdíl byl opět zaznamenán mezi oběma lokalitami, kdy lokalita Zvíkov s průměrnou výškou porostu před sklizní 85,62 cm překonala lokalitu Praha (v průměru 73,89 cm).

Graf č. 7 znázorňuje výsledky hodnocení výšky porostu před sklizní na jednotlivých lokalitách. V Praze se výška porostu pohybovala mezi 69,67 cm (varianta XI) a 76,67 cm (varianta IV); rozdíly mezi variantami byly statisticky neprůkazné. Ve Zvíkově se výška porostu před sklizní pohybovala mezi 78,20 cm (varianta I) a 88,93 cm (varianta III); mezi variantami s nejvyšším a nejnižším porostem byly statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 10: Počet rostlin na m² před sklizní, počet lusků na rostlinu a výška porostu

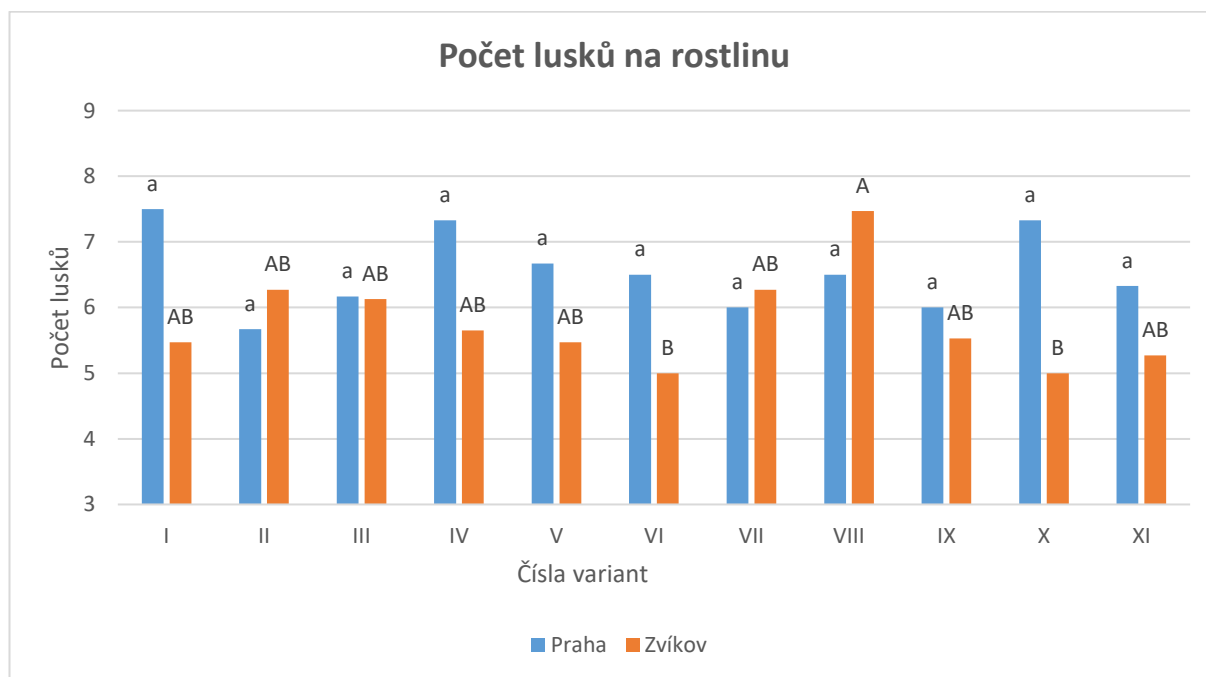
Číslo varianty	Popis varianty	Počet rostlin na m ² před sklizní	Počet lusků na rostlinu	Výška porostu (cm)
I	Kontrola	71,50b	6,49ab	75,27b
II	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp.	81,50a	5,97ab	78,60ab
III	Moření osiva <i>T. virens</i>	73,67b	6,15ab	79,80a
IV	Moření osiva <i>M. brunneum</i>	75,17ab	6,49ab	80,15a
V	Foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	71,34b	6,07ab	81,53a
VI	Foliární aplikace <i>T. virens</i>	68,34b	5,75b	81,17a
VII	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	75,33ab	6,14ab	81,43a
VIII	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>T. virens</i>	78,34ab	6,99a	81,25a
IX	Moření osiva <i>M. brunneum</i> + foliární aplikace <i>M. brunneum</i>	76,05ab	5,77b	79,62a
X	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>T. virens</i>	73,67b	6,17ab	81,82a
XI	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	72,34b	5,80b	76,70b
	<i>HSD</i> _{0,05}	7,30	1,10	4,32
	Praha	61,34b	6,55a	73,89b
	Zvíkov	87,24a	5,78b	85,62a
	<i>HSD</i> _{0,05}	4,03	0,46	2,02

Graf 5:



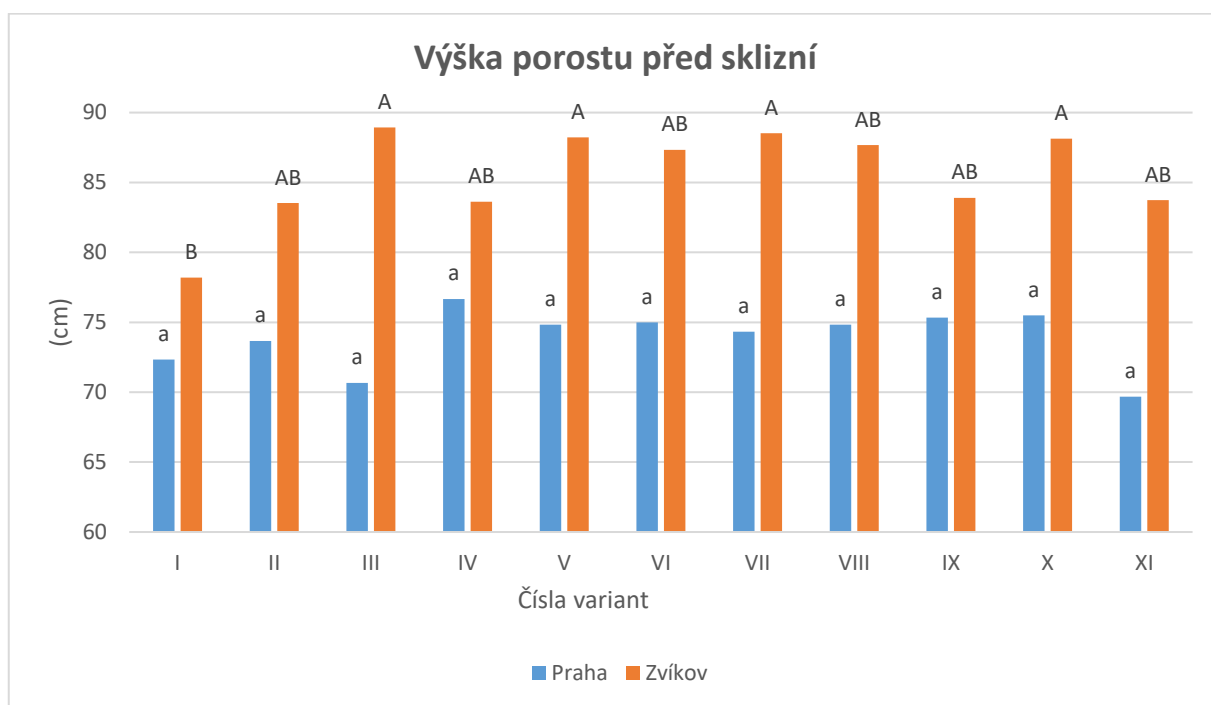
Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; HSD_{0,05} = 9,38
 Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; HSD_{0,05} = 18,28

Graf 6:



Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; HSD_{0,05} = 2,41
 Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; HSD_{0,05} = 2,35

Graf 7:



Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; $HSD_{0,05} = 8,59$

Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; $HSD_{0,05} = 9,60$

Výnos semen a hmotnost tisíce semen (HTS)

Vliv různých způsobů aplikace bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub na výnos semen a HTS hrachu setého uvádí tabulka č. 11.

V průměru obou lokalit dosáhla nejvyššího výnosu 1,93 t/ha varianta III (moření osiva *T. virens*), která se statisticky průkazně lišila od variant s nejnižším výnosem (varianta VI – foliární aplikace *T. virens* 1,44 t/ha; varianta X – moření osiva *Lactobacillus* spp. + foliární aplikace *T. virens* 1,56 t/ha; varianta XI – moření osiva *T. virens* + foliární aplikace *Lactobacillus* spp. 1,52 t/ha). Varianta I (neošetřená kontrola) dosáhla v průměru obou lokalit výnosu 1,69 t/ha a statisticky průkazně se nelišila ani od varianty s nejvyšším výnosem, ani od variant s nejnižšími výnosy.

Statisticky průkazný a poměrně výrazný rozdíl ve výnosu semen byl zjištěn mezi oběma lokalitami, kdy průměrný výnos na lokalitě Zvíkov činil 1,92 t/ha, na lokalitě Praha to bylo 1,40 t/ha.

Výsledky hodnocení výnosu na jednotlivých lokalitách znázorňuje graf č. 8. Na pokusné lokalitě Praha se výnosy hrachu pohybovaly v rozmezí od 1,11 t/ha (varianta XI – moření osiva *T. virens* + foliární aplikace *Lactobacillus* spp.) po 1,71 t/ha (varianta V – foliární aplikace *Lactobacillus* spp.). Rozdíly mezi variantami byly statisticky neprůkazné, což bylo pravděpodobně ovlivněno vyšší heterogenitou mezi opakováními. Na pokusné lokalitě Zvíkov se výnosy pohybovaly v rozmezí mezi 1,58 t/ha (varianta VI – foliární aplikace *T. virens*) a 2,35 t/ha (varianta III – moření osiva *T. virens*). Rozdíly mezi variantami byly zpravidla statisticky průkazné.

Vliv různých způsobů použití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub na výnos hrachu setého byl nejednoznačný. Neprojevilo se ani shodný

trend na obou pokusných lokalitách – varianty, které dosáhly nejvyšších výnosů na jedné lokalitě, ne vždy dosahovaly nejvyšších výnosů na lokalitě druhé. Neošetřená kontrolní varianta sice na obou lokalitách patřila spíše k variantám s nižšími výnosy, ale ani na jedné z lokalit nedosáhla nejhorších výsledků.

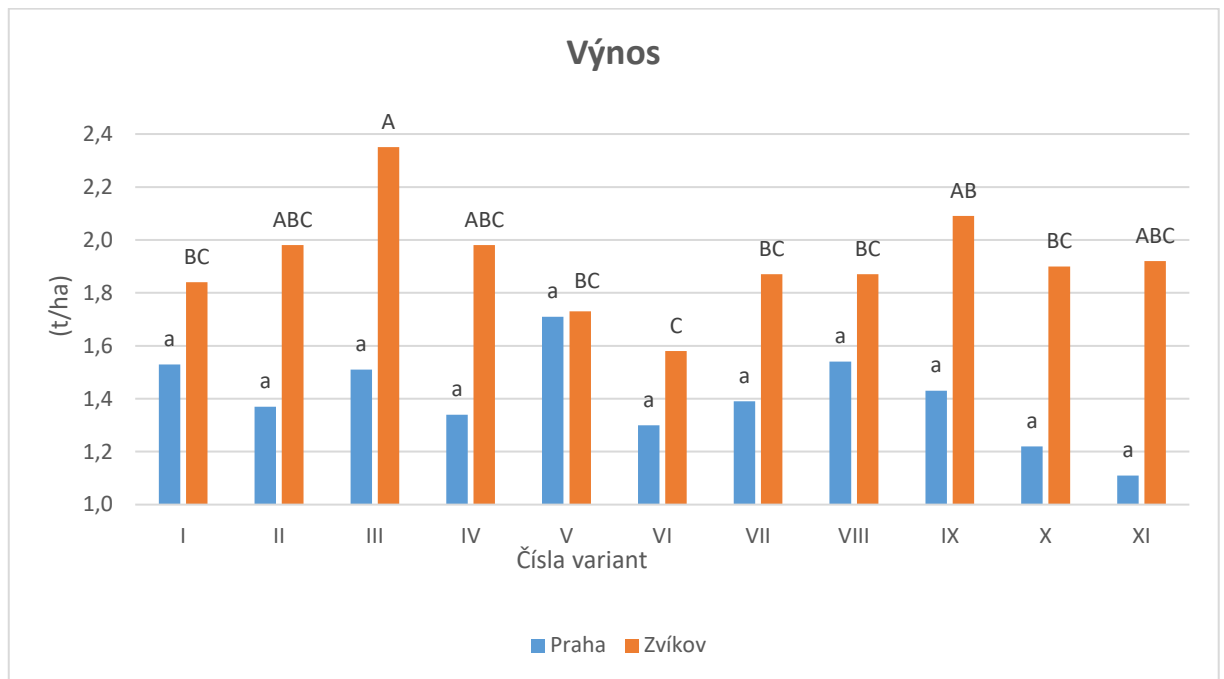
Hmotnost tisíce semen (HTS) (tabulka č. 11) se v průměru obou lokalit pohybovala mezi 178,87 g (neošetřená kontrola) a 190,33 g (varianta VIII – moření osiva *T. virens* + foliární aplikace *T. virens*). Tyto dvě varianty se od sebe statisticky průkazně lišily; statisticky průkazné rozdíly byly zaznamenány i mezi některými dalšími variantami. Velmi výrazný, statisticky průkazný rozdíl v HTS, byl zjištěn mezi oběma lokalitami – průměrná HTS na lokalitě Zvíkov dosáhla 212,55 g a výrazně tak překonala průměrnou HTS na lokalitě Praha – 155,48 g.

Výsledky hodnocení HTS na jednotlivých lokalitách znázorňuje graf č. 9. Na lokalitě Praha se hodnoty HTS pohybovaly mezi 149,92 g (varianta XI) a 162,60 g (varianta V); rozdíly mezi variantami byly statisticky neprůkazné. Na lokalitě Zvíkov byla zjištěna HTS v rozmezí od 205,25 g (varianta IV) po 221,54 g (varianta VIII); rozdíly mezi variantami byly opět statisticky neprůkazné. Stejně jako v případě výnosu semen nebyl vliv aplikace mikroorganismů na hodnoty HTS jednoznačný; naopak vliv pokusné lokality byl velmi výrazný, a právě nízká HTS se nepochybně podílela na nižších výnosech na lokalitě Praha.

Tabulka 11: Výnos semen a hmotnost tisíce semen (HTS)

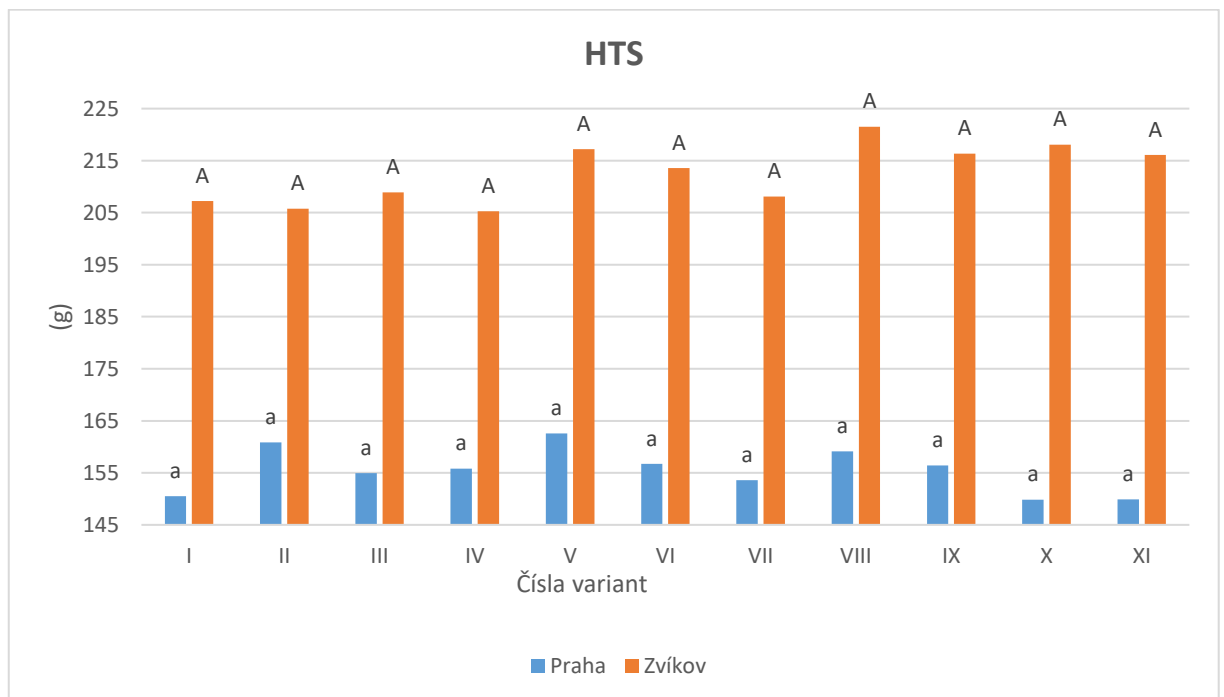
Číslo varianty	Varianta	Výnos (t.ha ⁻¹)	HTS (g)
I	Kontrola	1,69ab	178,87b
II	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp.	1,68ab	183,28ab
III	Moření osiva <i>T. virens</i>	1,93a	181,92b
IV	Moření osiva <i>M. brunneum</i>	1,66ab	180,53b
V	Foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	1,72ab	189,89a
VI	Foliární aplikace <i>T. virens</i>	1,44b	185,16ab
VII	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	1,63ab	180,86b
VIII	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>T. virens</i>	1,71ab	190,33a
IX	Moření osiva <i>M. brunneum</i> + foliární aplikace <i>M. brunneum</i>	1,76ab	186,39ab
X	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>T. virens</i>	1,56b	183,94ab
XI	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	1,52b	183,00ab
	<i>HSD</i> _{0,05}	0,35	8,10
	Praha	1,40b	155,48b
	Zvíkov	1,92a	212,55a
	<i>HSD</i> _{0,05}	0,11	4,92

Graf 8:



Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; $HSD_{0,05} = 0,67$
 Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; $HSD_{0,05} = 0,45$

Graf 9:



Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; $HSD_{0,05} = 14,72$
 Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; $HSD_{0,05} = 16,33$

Hodnocení zdravotního stavu porostů hrachu na pokusných lokalitách

Výsledky hodnocení zdravotního stavu na pokusných lokalitách jsou uvedeny v tabulkách č. 12 a 13. Hodnocení bylo prováděno vizuálně, pomocí devítibodové stupnice, kde 9 bodů znamená porost zcela zdravý, nenapadený; 1 bod znamená porost totálně napadený. V případě hodnocení výskytu chorob a škůdců nebylo provedeno statistické hodnocení, protože choroby a škůdci zaznamenaní na pokusné lokalitě Praha a na pokusné lokalitě Zvíkov byli rozdílní.

Foliární aplikace vybraných kmenů *Lactobacillus* spp. (bakterie mléčného kvašení), *Trichoderma virens* (mykoparazitická houba) a *Metarhizium brunneum* (entomopatogenní houba) byly provedeny v BBCH 59–61 (počátek květu); vizuální hodnocení bylo provedeno 8 - 10 dní po aplikaci. Vzhledem k určitým kapacitním omezením na FZT JU České Budějovice se pro foliární aplikaci podařilo zajistit materiál postačující pro pouze jeden postřík.

Na pokusné lokalitě Praha byl zaznamenán výskyt kyjatky hrachové, který se začal projevovat již před foliární aplikací sledovaných mikroorganismů, ale vzhledem k tomu, že byl velmi nízký, se působení kyjatky (sání na listech a generativních orgánech hrachu) nemělo šanci znatelně projevit. Větším problémem byl výskyt zrnokaze hrachového (působí tzv. muškovitost semen), který pravděpodobně nepříznivě ovlivnil i HTS sklizeného hrachu. Nicméně, vzhledem k tomu, že se začal objevovat až na mladých luscích, lze předpokládat, že jeho výskyt foliární aplikace na počátku květu neovlivnila. Z houbových chorob byl zaznamenán nižší výskyt padlí hrachu, které tvořilo bílý moučnatý povlak na listech, stoncích i luscích. Efekt sledovaných mikroorganismů, bez ohledu na způsob jejich aplikace, se znatelně neprojevil.

Tabulka 12: Výskyt chorob a škůdců hrachu setého na pokusné lokalitě Praha

Číslo varianty	Kyjatka hrachová (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)	Zrnokaz hrachový (<i>Bruchus pisorum</i>)	Padlí hrachu (<i>Erysiphe pisi</i>)
	Bodové hodnocení 1–9 bodů		
I	8,0	6,3	7,3
II	8,3	6,3	7,3
III	8,3	6,7	7,7
IV	8,0	6,3	7,3
V	8,7	6,7	8,0
VI	8,7	6,7	8,0
VII	8,7	6,3	8,7
VIII	9,0	7,0	8,7
IX	9,0	7,0	8,3
X	8,7	6,7	7,7
XI	8,7	6,7	7,7

Na pokusné lokalitě Zvíkov byl stejně jako v případě pokusné lokality Praha zaznamenán velmi nízký výskyt kyjaty hrachové. Vyšší výskyt byl zaznamenán u listopase čárkovaného, který škodil žírem na mladých rostlinách tvořících první listy. Z houbových chorob se objevilo fuzáriové vadnutí (identifikováno v laboratořích FZT JU České Budějovice), postihující vzrostlé rostliny (zaznamenáno koncem června a v průběhu července); v době dozrávání porostu hrachu se začaly vyskytovat listové skvrnitosti (laboratorní analýza na FZT JU České Budějovice prokázala přítomnost mikroskopických hub rodu *Alternaria*, *Cladosporium*, *Ascochyta* a *Fusarium*). Obdobně jako na pokusné lokalitě Praha se vliv aplikace sledovaných mikroorganismů při vizuálním hodnocení chorob a škůdců zřetelně neprojevil.

Tabulka 13: Výskyt chorob a škůdců hrachu setého na pokusné lokalitě Zvíkov

Číslo varianty	Kyjatka hrachová (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)	Listopas čárkovaný (<i>Sitona lineatus</i>)	Fuzáriové vadnutí (<i>Fusarium</i> spp.)	Listové skvrnitosti (komplex mikroskopických hub)
Bodové hodnocení (9–1)				
I	8,7	6,3	6,3	6,7
II	8,7	6,3	7,0	7,3
III	8,3	6,7	6,7	7,3
IV	8,7	7,0	7,0	7,7
V	8,7	6,3	7,3	6,7
VI	8,7	6,3	7,0	7,7
VII	9,0	7,0	7,3	7,3
VIII	8,3	6,7	6,7	7,7
IX	8,3	6,3	6,7	7,3
X	8,7	6,3	7,3	7,7
XI	8,7	6,3	6,7	7,0

5.3 Hodnocení vybraných jakostních ukazatelů hrachu setého

Vliv různých způsobů použití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub na obsah N-látek a škrobu v sušině semen na dvou lokalitách je uveden v tabulce č. 14.

Obsah N-látek v sušině semen hrachu byl v průměru obou pokusných lokalit nejvyšší u variant číslo IV (moření osiva *M. brunneum*) a X (moření osiva *Lactobacillus* spp. + foliární aplikace *T. virens*). Nejnižší obsah N-látek v sušině semen měly varianty V (foliární aplikace *Lactobacillus* spp.), VI (foliární aplikace *T. virens*) a XI (moření osiva *T. virens* + foliární aplikace *Lactobacillus* spp.). Rozdíly mezi variantami byly nevelké, přesto zpravidla statisticky průkazné.

Větší rozdíl v obsahu N-látek než mezi variantami byl zjištěn mezi oběma lokalitami, kdy na lokalitě Praha činil obsah N-látek v sušině semen v průměru 27,22 %, na lokalitě Zvíkov 24,50 %; rozdíl mezi lokalitami byl statisticky průkazný.

Výsledky hodnocení obsahu N-látek v sušině semen v závislosti na způsobu použití sledovaných mikroorganismů na jednotlivých lokalitách uvádí graf č. 10. V Praze dosáhly nejvyššího obsahu N-látek v sušině semen hrachu varianty IV (28,66 %) a X (28,43 %), nejnižšího pak varianty V (26,32 %) a VIII (26,50 %); jednotlivé varianty se od sebe v řadě případů statisticky průkazně odlišovaly. Na lokalitě Zvíkov byl nejvyšší obsah N-látek v sušině semen hrachu zjištěn u varianty IX (25,04 %), nejnižší u varianty VI (23,98 %); rozdíly mezi varianty byly opět zpravidla statisticky průkazné. Vztah mezi různými způsoby použití sledovaných mikroorganismů a obsahem N-látek v sušině semen hrachu ze zjištěných výsledků není patrný.

Nejvyšší obsah škrobu v sušině semen hrachu byl v průměru obou lokalit zjištěn u varianty IV (moření osiva *M. brunneum*), nejnižší u varianty IX (moření osiva *M. brunneum* + foliární aplikace *M. brunneum*). Obdobně jako v případě obsahu N-látek v sušině semen byly rozdíly v obsahu škrobu v sušině semen mezi variantami nevelké, přesto se některé varianty od sebe statisticky průkazně lišily.

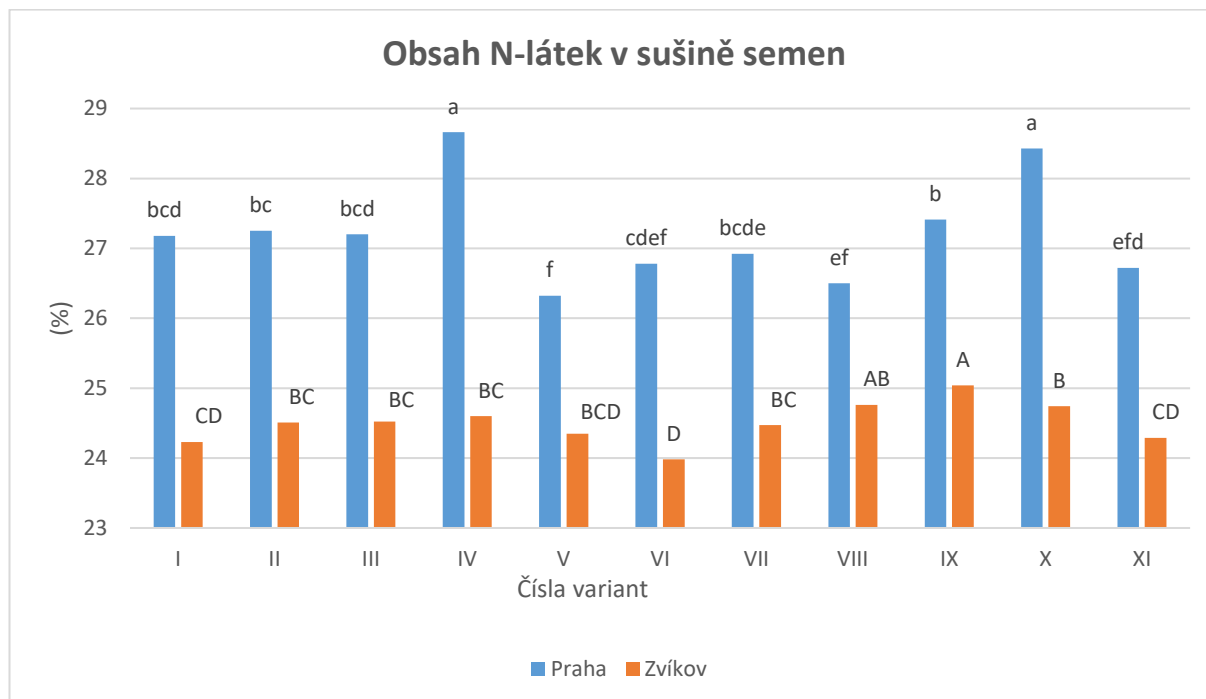
Opět byl zjištěn větší rozdíl v obsahu škrobu v sušině semen hrachu mezi oběma lokalitami než mezi variantami použití sledovaných mikroorganismů – na lokalitě Praha, která dosáhla vyššího průměrného obsahu N-látek v sušině semen, byl zjištěn v průměru nižší obsah škrobu v sušině semen (51,66 %), na lokalitě Zvíkov byl naopak průměrný obsah škrobu v sušině semen vyšší (55,80 %) a nižší byl průměrný obsah N-látek.

Hodnocení obsahu škrobu v sušině semen hrachu na jednotlivých lokalitách uvádí graf č. 11. Na pokusné lokalitě Praha měla nejvyšší obsah škrobu v sušině semen varianta IV (53,92 %), která se statisticky průkazně lišila od všech ostatních variant. Nejnižší obsah škrobu byl zjištěn u varianty IX (50,03 %), která se rovněž statisticky průkazně lišila od ostatních variant. Na lokalitě Zvíkov dosáhla nejvyššího obsahu škrobu v sušině semen varianta V (56,76 %) a nejnižšího varianta IV (54,42 %); mezi varianty opět zpravidla byly statisticky průkazné rozdíly. Ani v případě obsahu škrobu v sušině semen není zřejmý vztah mezi hodnotami tohoto znaku a způsobem použití sledovaných mikroorganismů; ani mezi variantami na jednotlivých lokalitách nebyl zaznamenán zjevný shodný trend.

Tabulka 14: Obsah N-látek a obsah škrobu v sušině semen hrachu

Číslo varianty	Varianta	Obsah N-látek v sušině semene (%)	Obsah škrobu v sušině semene (%)
I	Kontrola	25,71cd	53,99ab
II	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp.	25,88c	54,03ab
III	Moření osiva <i>T. virens</i>	25,86c	53,90bc
IV	Moření osiva <i>M. brunneum</i>	26,63a	54,17a
V	Foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	25,34d	53,97b
VI	Foliární aplikace <i>T. virens</i>	25,38d	53,93b
VII	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	25,70cd	53,71cd
VIII	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>T. virens</i>	25,63cd	53,85b
IX	Moření osiva <i>M. brunneum</i> + foliární aplikace <i>M. brunneum</i>	26,23b	52,94e
X	Moření osiva <i>Lactobacillus</i> spp. + foliární aplikace <i>T. virens</i>	26,59a	52,97e
XI	Moření osiva <i>T. virens</i> + foliární aplikace <i>Lactobacillus</i> spp.	25,51d	53,59d
	<i>HSD</i> _{0,05}	0,26	0,20
	Praha	27,22a	51,66b
	Zvíkov	24,50b	55,80a
	<i>HSD</i> _{0,05}	0,16	0,12

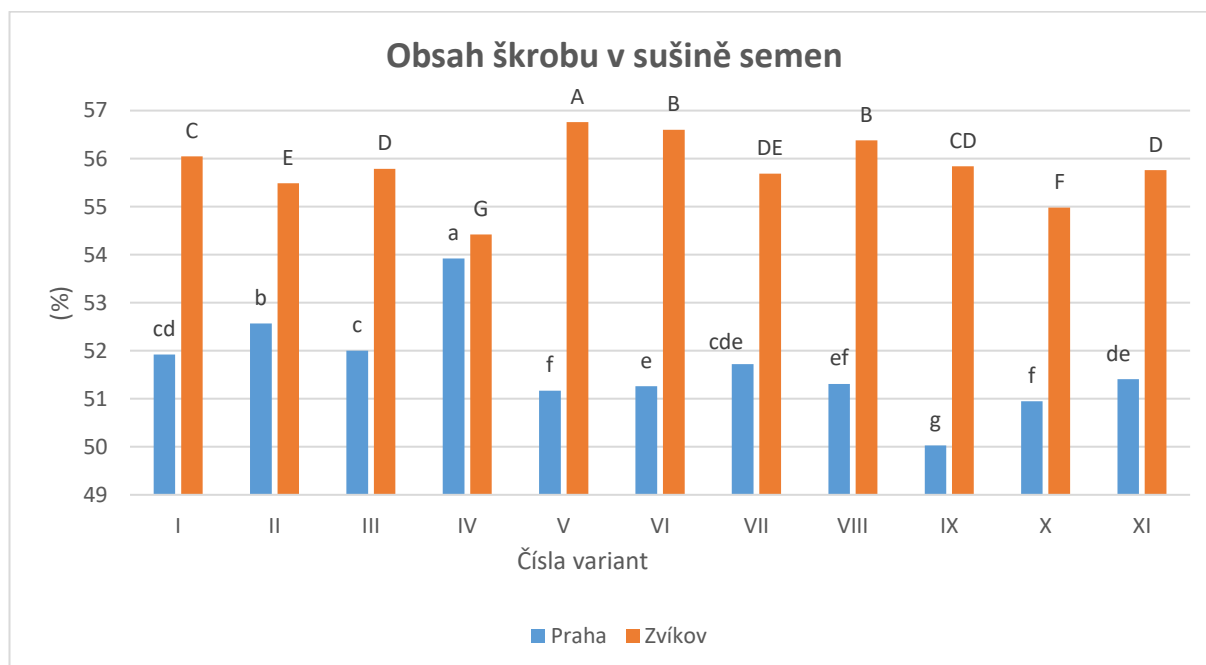
Graf 10:



Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; $HSD_{0,05} = 0,52$

Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; $HSD_{0,05} = 0,40$

Graf 11:



Praha: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena malými písmeny; $HSD_{0,05} = 0,55$

Zvíkov: průkaznost rozdílů mezi variantami je vyznačena velkými písmeny; $HSD_{0,05} = 0,24$

6 Diskuze

Součástí experimentální části bylo vyhodnocení vlivu způsobu ošetření osiva hrachu setého a rostlin během vegetace za pomoci bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub na hlavní produkční a jakostní ukazatele hrachu a posouzení vlivu rozdílných agroekologických podmínek dvou pokusných lokalit na sledované ukazatele.

Počet rostlin na m² dle Houby et al. (2009) by měl dosahovat minimálně 65 rostlin, ale optimální je 80 rostlin na m². V našich pokusech byly zaznamenány výrazně vyšší počty rostlin na m² po vzejití, než je běžně doporučováno. Pro dosažení optimálního počtu rostlin na m² po vzejití, což je dle Hýbla (2014) 75–85 rostlin, by se měl výsevek hrachu setého pohybovat kolem 0,9 – 1,1 milionu klíčivých semen na ha. V našich pokusech v ekologickém systému hospodaření byl použit výsevek na úrovni 1,1 MKS/ha, a počet rostlin na m² po vzejití se pohyboval na pokusné lokalitě v Praze v průměru na úrovni 94 rostlin, na pokusné lokalitě Zvíkov pak činil v průměru 104 rostliny na m², což by vzhledem k výsevku odpovídalo polní vzcházivosti na úrovni 85–95 %; to je více, než je u hrachu zpravidla uváděno – např. Houba et al. (2009) zmiňují polní vzcházivost u hrachu zpravidla na úrovni 70–80 %. Klíčivost a polní vzcházivost hrachu je ovlivněna dostupností vody, vzduchu i teplotou. Nepříznivě působí nízká či naopak příliš vysoká vlhkost, nízká teplota, půdní škraloup, špatně připravené seťové lůžko, ale také stav půdního prostředí (Castillo 1992). V našich pokusech hrách vzcházel v první polovině dubna, který se na obou pokusných lokalitách v průměru vyznačoval mírně podprůměrnými teplotami a poměrně výrazně nadprůměrnými srážkami; to mohlo vzcházivost hrachu pozitivně ovlivnit. Navíc, jak uvádí Procházka (2024) na základě své konkrétní zkušenosti, dodavatel osiva možná osivo poněkud „podcenil“, což se mohlo projevit tím, že zvolený výsevek, který činil 340 kg/ha, byl zbytečně vysoký. Nicméně, v průběhu vegetace došlo (zejména na pokusné lokalitě Praha), k poměrně značné redukci počtu rostlin díky poškození ptactvem, výskytem myší a poměrně intenzivnímu zaplevelení pozdními jarními plevelely (merlíky, laskavce, pět'our), které se bohužel nedařilo úspěšně eliminovat.

Wassermann et al. (2016) uvádějí, že pro ošetření osiva za pomoci *Metarhizium anisophiliae* použili 2x10⁸ konidií. Aw a Hue (2017) uvádějí, že při aplikaci *M. anisophiliae* měli úspěch s potlačováním hmyzích škůdců při použití 10¹⁰ spor na 1 ml suspenze. V našem případě byla při moření osiva použita koncentrace 1x10⁶ spor *M. brunneum*, 1x10⁶ spor *T. virens* a 1x10⁷ spor *Lactobacillus spp.* na 1 ml suspenze. V případě používání nekomerčních přípravků na bázi mikroorganismů je obtížné stanovit jejich optimální koncentraci, resp. dávkování, protože, jak uvádí Kala et al. (2019) a Copping & Menn (2000), při testování v laboratorních podmínkách zpravidla vykazují vyšší účinnost než v podmínkách polních. Dalším problematickým aspektem při moření osiva, zejména u velkosemenných plodin s hladkým povrchem semene, jako je hrách, může být horší ulpívání mořidla. Jak uvádí Kamilova et al. (2014), je proto vhodné přidat k biologickým činitelům aditiva, která pomáhají přilnutí mikroorganismů k povrchu osiva (to v našich pokusech nebylo provedeno).

Celkově můžeme na základě průměrných výsledků obou pokusných lokalit uvést, že byl zaznamenán určitý trend vyššího počtu rostlin na m² po vzejití u variant, kde bylo použito moření osiva, a to především *Lactobacillus spp.* a *T. virens*; efekt *M. brunneum* aplikované na osivo byl naproti tomu nevýrazný a spíše se blížil variantám, kde nebylo moření osiva

provedeno. Co se týče výsledků hodnocení vlivu moření osiva na počet rostlin na m² po vzejití na jednotlivých lokalitách, byly zjištěny určité rozdíly mezi variantami, a ty byly na lokalitě Zvíkov v některých případech statisticky průkazné. Na lokalitě Praha se jednotlivé varianty pokusu od sebe statisticky průkazně nelišily, přestože nebyly malé; nepochybně díky velkým rozdílům mezi opakováními (poškození ptactvem).

Na počátku vegetace hrachu byly na obou pokusných lokalitách provedeny odběry rostlin pro hodnocení případného vlivu moření osiva na počet hlízek na rostlinu, délku nadzemní části rostlin a délku kořenů. Množství hlízek, které se na kořenovém systému hrachu nachází, je závislé na řadě vnějších i vnitřních faktorů, především na stavu půdního prostředí, přítomnosti příslušných bakterií rodu *Rhizobium* (přirozeně se vyskytujících či dodaných předseťovým naočkováním osiva – to v našich pokusech nebylo provedeno), teplotě a vlhkosti, ale také mohutnosti a celkovém vývoji kořenového systému (Tricot et al. 1997; Alemneh et al. 2020). Vliv moření osiva sledovanými mikroorganismy na počet hlízek na rostlinu byl v průměru obou pokusných lokalit statisticky neprůkazný, byly však zaznamenány určité rozdíly. Shodně na obou lokalitách byl zjištěn nejvyšší počet hlízek na rostlinu u variant s osivem mořeným *M. brunneum*. Co se týče vlivu moření osiva na délku nadzemní části rostlin a kořenů, ukázalo se, že v průměru obou lokalit, ani na jednotlivých lokalitách se efekt moření na tyto charakteristiky statisticky průkazně neprojevil. Naproti tomu, statisticky průkazný byl vliv lokality, kdy jak v průměrné délce nadzemní části rostlin, tak i v průměrné délce kořenů pokusná lokalita Zvíkov znatelně překonala Prahu.

Problémem pěstování hrachu setého je jeho náchylnost vůči chorobám a škůdcům, dále pak výnosová nejistota a celkově nízká odolnost vůči nepříznivým podmínkám prostředí (Stoddard et al. 2009; Stoddard 2017; Ambika et al. 2022). Za nejčastěji se vyskytující choroby Rubiales et al. (2015) označují bakteriální spálu, kořenové a krčkové hniloby, fuzáriové vadnutí, antraknózy a listové skvrnitosti a padlí. Ke škůdcům, kteří se často nacházejí na hrachu, řadí mšice, kyjátku hrachovou, třásněnky, obaleče hrachového a zrnokaze (Rubiales et al. 2015). V našich pokusech na lokalitě Praha činil největší problémy výskyt zrnokaze, na lokalitě Zvíkov to byl výskyt listových skvrnitostí, fuzáriového vadnutí a listopase čárkovaného, který škodil na mladých rostlinách, tvořících první listy.

Foliární aplikace sledovaných mikroorganismů byla v našich pokusech provedena pouze jednou, v BBCH 59–61 (na počátku květu). Bylo to z především z důvodu omezených kapacitních možností společenstevního pracoviště Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, které dodávalo mikroorganismy k aplikaci pro všechny pokusné lokality. Řada autorů, např. Fuxa (1995), Federici (1999), Dik et al. (1998), Satranský (2023) a další uvádějí, že účinnost biologického přípravku je výrazně ovlivněna konkrétními podmínkami v době aplikace a že jednorázová foliární aplikace zpravidla nepřináší výraznější efekt. To se projevilo i v našich pokusech, kdy nebyl ani na jedné pokusné lokalitě zaznamenán zřetelnější vliv foliární aplikace mikroorganismů na zdravotní stav rostlin a jak vyplynulo z dalších výsledků, zpravidla ani na hodnoty produkčních ukazatelů.

Počet rostlin hrachu setého na m² před sklizní, žádoucí pro dobrý výnos, je kolem 75-80 rostlin na m² (Knott & Belcher 1998). V našich pokusech dosáhl průměrný počet rostlin na m² na pokusné lokalitě Zvíkov 87 rostlin, v Praze to bylo pouze 61 rostlin na m². Na rozdíl např. od obilnin, kde je nutné počítat s poměrně vysokou redukcí počtu rostlin v průběhu vegetace, i z důvodu mezirostlinné konkurence, u plodin, jako je hrách, by k výrazné redukcí počtu rostlin během vegetace docházet nemělo (Houba et al. 2009). Nicméně k němu docházet může, a to vlivem nepříznivých podmínek během vegetace. Projevilo se to zejména na pokusné lokalitě Praha – vysoký výskyt myší, zaplevelení především pozdními jarními plevele, které se (pokusy byly vedeny v ekologickém systému pěstování) nedařilo regulovat vláčením porostů plecími branami a v pozdějším období vegetace ani ručním pletím. Neosvědčily se ani úzké řádky výsevu hrachu na 12,5 cm, které neumožňovaly proplečkování.

Vliv aplikace sledovaných mikroorganismů na počet rostlin na m² před sklizní byl nejednoznačný. Neošetřená kontrola sice patřila na obou pokusných lokalitách k variantám s nižším počtem rostlin, ale výsledný počet rostlin na m² byl nejspíše ovlivněn i některými nepříznivými faktory, které se projevily bez ohledu na aplikaci mikroorganismů. Naproti tomu, vliv pokusné lokality byl, jak již bylo zmíněno výše, poměrně značný a lokalita Zvíkov výrazně překonala lokalitu Praha.

Počet lusků na rostlině je nejvariabilnějším výnosovým prvkem. K hlavním důvodům vysoké variability tohoto výnosového prvku patří vysoká citlivost druhů a odrůd luskovin na proměnlivé podmínky prostředí v období tvorby pupat, kvetení a na počátku tvorby lusků (Houba et al. 2009; Jiang et al. 2018). V našich pokusech byl v průměru obou pokusných lokalit nejvyšší počet lusků na rostlinu varianty moření osiva *T. virens* + foliární aplikace *T. virens*, nejnižší u varianty foliární aplikace *T. virens*, přičemž varianta s nejvyšším počtem lusků se statisticky průkazně lišila od varianty, která měla průměrný počet lusků na rostlinu nejnižší. Celkově však byl vliv aplikace sledovaných mikroorganismů na počet lusků na rostlinu nejednoznačný a spíše nevýrazný. Statisticky průkazný rozdíl v počtu lusků na rostlinu byl zjištěn mezi oběma lokalitami, kdy lokalita Praha v průměrném počtu lusků na rostlinu překonala lokalitu Zvíkov a statisticky průkazně se od něj odlišovala. Vzhledem k tomu, že na pokusné lokalitě Praha byl dosažen nižší průměrný počet rostlin na jednotku plochy v době sklizně, mohlo se vzhledem k vyššímu počtu lusků na rostlinu jednat o určitý kompenzační efekt.

Výška porostu před sklizní v průměru obou lokalit nevykazovala vzhledem k variantám aplikace mikroorganismů zřetelnější efekt a byla poměrně vyrovnaná. Velký rozdíl byl však zjištěn mezi oběma lokalitami, kdy lokalita Zvíkov výrazně překonala pokusnou lokalitu Praha a statisticky průkazně se od ní v tomto znaku odlišovala.

Hýbl (2000) uvádí, že průměrný výnos hrachu setého v České republice je 2 t/ha, Houba et al. (2009) dodávají, že v dobrých agroekologických podmínkách může být i vyšší. V našich pokusech se výnos semen v průměru obou lokalit pohyboval mezi 1,44 t/ha (varianta s foliární aplikací *T. virens*) a 1,93 t/ha (varianta s mořením osiva *T. virens*). Vliv různých způsobů použití sledovaných mikroorganismů na výnos hrachu setého byl nejednoznačný. Neprojevilo se ani shodný trend na obou pokusných lokalitách, protože nejvýnosnější varianty na jedné lokalitě

nepatřily vždy k nejvýnosnějším na lokalitě druhé. Neošetřená kontrola sice patřila k variantám s nižšími výnosy, ale ani na jedné lokalitě nedosáhla nejnižšího výnosu.

Houba et al. (2009) uvádějí, že hmotnost tisíce semen (HTS) hrachu setého se v našich podmínkách zpravidla pohybuje mezi 225–280 g a dodávají, že HTS je do značné míry odrůdovou záležitostí, ale může v závislosti na podmínkách ročníku kolísat o cca 20–30 %. HTS hrachu v našich pokusech dosáhla podprůměrných hodnot, a to především na pokusné lokalitě Praha, kde činila průměrná HTS pouze 155 g a výrazně se lišila od průměrné HTS na lokalitě Zvíkov (212 g). K nízké HTS na lokalitě Praha pravděpodobně přispělo poškození zrnokazem, ale možná i silné zaplevelení porostu vzrůstnými pozdními plevely, které mohly hrachu konkurovat o živiny a utiskovat ho.

Ohledně variant s aplikací mikroorganismů se HTS se v průměru obou lokalit pohybovala mezi 179 g (neošetřená kontrola) a 190 g (varianta moření osiva *T. virens* + foliární aplikace *T. virens*); tyto dvě varianty se od sebe statisticky průkazně lišily, ale statisticky průkazné rozdíly byly zjištěny i mezi některými dalšími variantami. Celkově můžeme říci, že vliv aplikace sledovaných mikroorganismů na HTS nebyl zcela jednoznačný, i když neošetřená kontrola dosáhla v průměru obou lokalit nejnižší HTS, a i na jednotlivých lokalitách patřila k variantám s nejnižší hmotností tisíce semen.

Z jakostních ukazatelů byl hodnocen obsah N-látek a obsah škrobu v sušině semen. Maphosa a Jideani (2017) uvádějí, že obsah N-látek v sušině hrachu se pohybuje mezi 20 a 45 %; Houba et al. (2009) uvádějí obvyklý obsah N-látek v sušině semen hrachu 22–24 %. K obdobným závěrům dospěla Dorušková (2024), která uvádí hodnoty obsahu N-látek v sušině semen hrachu na úrovni 20–25 %. V našich pokusech se v průměru obou lokalit pohyboval obsah N-látek v sušině semen mezi 25–26 %. Rozdíly mezi variantami byly poměrně malé, přesto zpravidla statisticky průkazné. Bylo tomu tak nejspíš díky tomu, že v případě obsahu N-látek v sušině semen byly zjištěny malé rozdíly mezi opakováními. Vliv aplikace sledovaných mikroorganismů se na obsahu N-látek v sušině zrna prakticky neprojevil. Výraznější byl vliv lokality na tento jakostní ukazatel – na lokalitě Praha činil průměrný obsah N-látek v sušině semen 27,22 %, na lokalitě Zvíkov pouze 24,50 %.

Posledním sledovaným ukazatelem byl obsah škrobu v sušině semen hrachu. Podle Doruškové (2024) je škrob v semeni hrachu zastoupen zpravidla 50–60 %. V průměru obou lokalit se v našich pokusech obsah škrobu v sušině semen hrachu pohyboval mezi 52–54 %, přičemž vliv aplikace mikroorganismů na obsah škrobu byl opět nezřetelný a nejednoznačný. Výraznější byl opět vliv pokusné lokality – na lokalitě Praha, která dosáhla vyššího obsahu N-látek v sušině semen hrachu, byl zjištěn nižší průměrný obsah škrobu (51,66 %), na lokalitě Zvíkov byl obsah škrobu v sušině semen celkově vyšší (v průměru 55,80 %).

Celkově je možné konstatovat, že v našich pokusech se vliv pokusné lokality u většiny sledovaných ukazatelů projevil podstatně výrazněji než efekt aplikace sledovaných mikroorganismů. U variant, kde bylo použito moření osiva, sice bylo na obou pokusných lokalitách patrné mírné navýšení počtu vzešlých rostlin oproti neošetřené kontrole; rozdíly mezi variantami však byly zpravidla statisticky neprůkazné. Mírně pozitivní trend u variant, kde bylo použito moření osiva, se oproti kontrole projevil i u délky nadzemní části rostlin a délky kořenů,

hodnocených při odběru rostlin na počátku vegetace. V průběhu vegetace však byly porosty hrachu vystaveny řadě nepříznivých vlivů (poškození ptactvem, výskyt myši, poměrně intenzivní zaplevelení, pravděpodobně i stres suchem v určitých obdobích vegetace), a na výsledném výnosu semen ani dalších produkčních a jakostních ukazatelích se už vliv aplikace sledovaných mikroorganismů takřka neprojevil, nebo byl jen nevýrazný a nejednoznačný.

7 Závěr

Z výsledků přesného polního pokusu, jehož cílem bylo zhodnotit vliv vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub, použitých jednak k moření osiva, jednak k foliární aplikaci během vegetace, na vzcházivost porostu, zdravotní stav a vybrané produkční a jakostní ukazatele hrachu setého na dvou pokusných lokalitách (Praha a Zvíkov) vyplynulo, že:

- V průměru obou lokalit dosáhly varianty s osivem mořeným *Lactobacillus* spp. a *T. virens* vyššího počtu rostlin na m² po vzejití oproti nemořené kontrole a variantám s osivem mořeným *M. brunneum*
- Varianty, kde bylo použito moření osiva sledovanými mikroorganismy, dosáhly mírně lepších hodnot vybraných parametrů hrachu setého, zjišťovaných v rámci odběru rostlin na počátku vegetace (rozevření několika prvních listů) – větší délky nadzemní části rostlin i délky kořenů
- Vliv různých způsobů použití sledovaných mikroorganismů na výnos semen hrachu setého byl nejednoznačný. Neprojevilo se ani shodný trend na obou pokusných lokalitách – varianty, které dosáhly nejvyšších výnosů na jedné lokalitě, ne vždy dosahovaly nejvyšších výnosů na lokalitě druhé.
- Neošetřená kontrola sice patřila k variantám s nižšími výnosy, ale ani na jedné lokalitě nedosáhla nejhorších výsledků
- Celkově byl na obou lokalitách výnos hrachu nízký – ve Zvíkově v průměru 1,92 t/ha, v Praze 1,40 t/ha
- HTS hrachu na lokalitě Zvíkov dosáhla v průměru 212 g a výrazně tak překonala HTS na lokalitě Praha (155 g); vliv použitých mikroorganismů byl opět nejednoznačný
- Použití mikroorganismů neovlivnilo ani sledované jakostní ukazatele – obsah N-látek a škrobu v sušině semen hrachu
- Z dosažených výsledků nelze říci, že by některý z testovaných mikroorganismů (*Lactobacillus* spp., *T. virens*, *M. brunneum*) dosáhl celkově lepšího efektu než jiný
- Vliv pokusné lokality na sledované vegetační charakteristiky, produkční a jakostní ukazatele hrachu setého výrazně převážil nad vlivem sledovaných mikroorganismů, resp. způsobem jejich použití
- V následujícím období bude výzkum pokračovat s tím, že budou provedeny určité úpravy metodiky, které by usnadnily eliminaci nepříznivých vnějších činitelů (např. zaplevelení, poškození ptactvem) a zvýšila se pravděpodobnost lepšího efektu sledovaných mikroorganismů (použití vícečetné foliární aplikace, případně úprava koncentrace a dávkování testovaných agens)

8 Literatura

- Abbaszadeh G, Dhillon MK, Srivastava C, Guatam RD. 2011. Effect of climatic factors on bioefficacy of biopesticides in insect pest management. *Biopesticides International* **7**:1–14.
- Adams PB. 1990. The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Annual review of phytopathology* **28**:59–72.
- Alemneh AA, Zhou Y, Ryder MH, Denton MD. 2020. Mechanisms in plant growth-promoting rhizobacteria that enhance legume–rhizobial symbioses. *Journal of Applied Microbiology* **129**:1133–1156.
- Ambika et al. 2022. Unraveling Origin, History, Genetics, and Strategies for Accelerated Domestication and Diversification of Food Legumes. *Frontiers in Genetics* **13**:1–21.
- Aneja KR, Khan SA, Aneja A. 2016. Biopesticides an eco-friendly pestmanagement approach in agriculture: status and prospects. *Kavaka* **47**:145–154.
- Augustinus B, Sun Y, Beuchat C, Schaffner U, Müller-Schärer H. 2020. Predicting impact of a biocontrol agent: integrating distribution modeling with climate-dependent vital rates. *Ecological Applications* **30**. Ecological Society of America.
- Aw KMS, Hue SM. 2017. Mode of infection of metarhizium spp. Fungus and their potential as biological control agents. *Journal of Fungi* **3**: 30.
- Barnett HL. 1963. The nature of mycoparasitism by fungi. *Annual Reviews in Microbiology* **17**:1–14.
- Barnett HL, Binder FL. 1973. The fungal host-parasite relationship. *Annual Review of Phytopathology* **11**:273–292.
- Beck CW, Blumer LS. 2014. *A Handbook on Bean Beetles, Callosobruchus maculatus*. National Science Foundation:1–17.
- Benhamou N, Brodeur J. 2000. Evidence for Antibiosis and Induced Host Defense Reactions in the Interaction Between *Verticillium lecanii* and *Penicillium digitatum*, the Causal Agent of Green Mold. *Phytopathology* **90**:932–943.
- Benhamou N, le Floch G, Vallance J, Gerbore J, Grizard D, Rey P. 2012. *Pythium oligandrum*: An example of opportunistic success. *Microbiology (United Kingdom)* **158**:2679–2694.
- Bethke JA, Redak RA. 1996. Temperature and Moisture Effects on the Success of Egg Hatch in *Trirhabda geminata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America* **89**:661–666.
- Bleša D, Matušinský P, Sedmíková R, Baláž M. 2021. The potential of rhizoctonia-like fungi for the biological protection of cereals against fungal pathogens. *Plants* **10**:1–16.
- Bonning BC, Hammock BD. 1996. Development of recombinant baculoviruses for insect control. *Annu Rev. Entomol* **41**:191–210.
- Brunner-Mendoza C, Reyes-Montes M del R, Moonjely S, Bidochka MJ, Toriello C. 2019. A review on the genus *Metarhizium* as an entomopathogenic microbial biocontrol agent with emphasis on its use and utility in Mexico. *Biocontrol Science and Technology* **29**:83–102. Taylor and Francis Ltd.

- Byrne MJ, Currin S, Hill MP. 2002. The influence of climate on the establishment and success of the biocontrol agent *Gratiana spadicea*, released on *Solanum sisymbriifolium* in South Africa. *Biological control* **24**:128–134.
- Carranca C. 2013. Legumes: properties and symbiosis. Pages 67–94 in Camisao AH, Pedroso CC, editors. *Symbiosis: Evolution, Biology and Ecological Effects*.
- Castillo AG. 1992. A study of production factors affecting seed vigour in garden peas (*Pisum sativum* L.) and the relationships between vigour tests and seed lot field and storage performance [Doctoral dissertation]. Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- Chandler D, Davidson G, Grant WP, Greaves J, Tatchell GM. 2008. Microbial biopesticides for integrated crop management: an assessment of environmental and regulatory sustainability. *Trends in Food Science and Technology* **19**:275–283.
- Coetzee JA. 2012. Meteorological weather station data can be used in climate matching studies of biological control agents. *Biocontrol Science and Technology* **22**:419–427.
- Copping LG, Menn JJ. 2000. Biopesticides: A review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science* **56**:651–676.
- Crowley S, Mahony J, van Sinderen D. 2013. Broad-spectrum antifungal-producing lactic acid bacteria and their application in fruit models. *Folia Microbiologica* **58**:291–299.
- ČSN ISO 1871. 2010. Potraviny a krmiva – Obecné pokyny pro stanovení dusíku metodou podle Kjeldahla. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, Praha.
- ČSN EN 10520. 1999. Přírodní škrob – Stanovení obsahu škrobu – Ewersova polarimetrická metoda. Český normalizační institut, Praha.
- Damalas CA, Koutroubas SD. 2018. Current status and recent developments in biopesticide use. *Agriculture* **8**: 13.
- Daranas N, Roselló G, Cabrefiga J, Donati I, Francés J, Badosa E, Spinelli F, Montesinos E, Bonaterra A. 2019. Biological control of bacterial plant diseases with *Lactobacillus plantarum* strains selected for their broad-spectrum activity. *Annals of Applied Biology* **174**:92–105.
- Deshpande SS. 1992. Food Legumes in Human Nutrition: A Personal Perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **32**:333–363.
- Dik AJ, Verhaar MA, Bélanger RR. 1998. Comparison of three biological control agents against cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in semi-commercial-scale glasshouse trials. *European Journal of Plant Pathology* **104**:413–423.
- Djossou O, Perraud-Gaime I, Lakhel Mirleau F, Rodriguez-Serrano G, Karou G, Niamke S, Ouzari I, Boudabous A, Roussos S. 2011. Robusta coffee beans post-harvest microflora: *Lactobacillus plantarum* sp. as potential antagonist of *Aspergillus carbonarius*. *Anaerobe* **17**:267–272.
- Dorušková V. 2024. Hrách setý. O. s. Přírodovědná společnost, BOTANY.cz. Available from <https://botany.cz/cs/pisum-sativum/> (accessed March 2024).
- Esposito E, Da Silva M. 1998. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Critical Reviews in Microbiology* **24**:89–98.
- European Commission. 2024. EU Pesticides Database. European Commission. Available from https://commission.europa.eu/index_en (accessed March 2024).

- Evans LT. 1998. *Feeding the Ten Billion*. . Cambridge University Press, Cambridge.
- Federici BA. 1999. Naturally Occurring Baculoviruses for Insect Pest Control. Pages 301–320 in *Biopesticides: use and delivery*.
- Fravel DR, Rhodes DJ, Larkin RP. 1999. Production and Commercialization of Biocontrol Products. Pages 365–376 in *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Springer, Dordrecht: Netherlands.
- Fronza E, Specht A, Heinzen H, de Barros NM. 2017. *Metarhizium (Nomuraea) rileyi* as biological control agent. *Biocontrol Science and Technology* **27**:1243–1264.
- Frye RD, Scholz EW, Funke BR. 1973. Effect of Weather on a Microbial Insecticide. *Journal of Invertebrate pathology* **22**:50–54.
- Fuxa JR. 1995. Ecological factors critical to the exploitation of entomopathogens in pest control. Pages 42–67 in *ACS Symposium Series*. American Chemical Society, Washington DC.
- Gerbore J, Benhamou N, Vallance J, Le Floch G, Grizard D, Regnault-Roger C, Rey P. 2014. Biological control of plant pathogens: Advantages and limitations seen through the case study of *Pythium oligandrum*. *Environmental Science and Pollution Research* **21**:4847–4860.
- Gerez CL, Carbajo MS, Rollán G, Torres Leal G, Font de Valdez G. 2010. Inhibition of citrus fungal pathogens by using lactic acid bacteria. *Journal of Food Science* **75**:M354–M359.
- Gerez CL, Torino MI, Rollán G, Font de Valdez G. 2009. Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control* **20**:144–148.
- Ghazanfar MU, Raza M, Raza W, Qamar MI. 2018. *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: A review. *Plant Protection* **2**.
- Goettel MS, Canada A-F, Eilenberg CJ. 2005. Entomopathogenic Fungi and their Role in Regulation of Insect Populations. Pages 361–405 in *Insect control: Biological and synthetic agents* .
- Goettel MS, Koike M, Kim JJ, Aiuchi D, Shinya R, Brodeur J. 2008. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *Journal of Invertebrate Pathology* **98**:256–261.
- Grabka R, D’entremont TW, Adams SJ, Walker AK, Tanney JB, Abbasi PA, Ali S. 2022. Fungal Endophytes and Their Role in Agricultural Plant Protection against Pests and Pathogens. *Plants* **11**: 384.
- Grusak MA. 2002. Enhancing mineral content in plant food products. *Journal of the American College of Nutrition* **21**:178S-183S.
- Gupta S, Dikshit AK. 2010. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. *Journal of Biopesticides* **3**:186–188.
- Haidar R, Deschamps A, Roudet J, Calvo-Garrido C, Bruez E, Rey P, Fermaud M. 2016. Multi-organ screening of efficient bacterial control agents against two major pathogens of grapevine. *Biological Control* **92**:55–65.
- Hollaway GJ, Bretag TW, Price T V. 2007. The epidemiology and management of bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) of field pea (*Pisum sativum*) in Australia: A review. *Australian Journal of Agricultural Research* **58**:1086–1099.

- Houba M, Hochman M, Hosnedl V. 2009. Luskoviny: pěstování a užití. Kurent, České Budějovice.
- Hýbl M. 2014. Hrách setý. Pages 205-228 in Konvalina P, editor. Pěstování vybraných plodin v ekologickém zemědělství. JČU, České Budějovice.
- Hýbl M. 2000. Status of grain legumes in the Czech Republic. Pages 50-53 in Report of a Working Group on Grain Legumes, Second meeting. Rome, Italy.
- Jiang Y, Lindsay DL, Davis AR, Wang Z, MacLean DE, Warkentin TD, Bueckert RA. 2020. Impact of heat stress on pod-based yield components in field pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science* **206**:76–89.
- Kala S, Sogan N, Agarwal A, Naik SN, Patanjali PK, Kumar J. 2019. Biopesticides: Formulations and delivery techniques. Pages 209–220 in *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control*. Elsevier.
- Kamboj R, Nanda V. 2018. Proximate composition, nutritional profile and health benefits of legumes – A review. *Legume Research* **41**:325–332.
- Kamilova F, De Bruyne R. 2013. Plant Growth Promoting Microorganisms: The Road from an Academically Promising Result to a Commercial Product. Pages 677–686 in *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture*. Springer International Publishing.
- Kamilova F, Okon Y, Deweerdt S, Horal K. 2014. Commercialization of microbes: Manufacturing, inoculation, best practice for objective field testing, and registration. Pages 319–327 in *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture*. Springer International Publishing.
- Kamphuis LG, Zulak K, Gao LL, Anderson J, Singh KB. 2013. Plant-aphid interactions with a focus on legumes. *Functional Plant Biology* **40**:1271–1284.
- Kawai A, Kusunoki K, Aiuchi D, Koike M, Tani M, Kuramochi K. 2006. Biological control of *Verticillium* black spot of Japanese radish using *Bacillus* spp. and genotypic differentiation of selected antifungal *Bacillus* strains with antibiotic marker. *Research bulletin of Obihiro University*:49–58.
- Kepler RM, Humber RA, Bischoff JF, Rehner SA. 2014. Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics. *Mycologia* **106**:811–829.
- Knott CM, Belcher SJ. 1998. Optimum sowing dates and plant populations for winter peas (*Pisum sativum*). *Journal of Agricultural Science* **131**:449–454.
- Köhl J, Kolnaar R, Ravensberg WJ. 2019. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science* **10**:1–19.
- Köhl J, Postma J, Nicot P, Ruocco M, Blum B. 2011. Stepwise screening of microorganisms for commercial use in biological control of plant-pathogenic fungi and bacteria. *Biological Control* **57**:1–12.
- Kredics L, Antal Z, Manczinger L, Szekeres A, Kevei F, Nagy E. 2003. Influence of Environmental Parameters on *Trichoderma* Strains with Biocontrol Potential. *Trichoderma Strains with Biocontrol Potential* **41**:37–42.

- Kulkarni S. 2015. Commercialisation of microbial biopesticides for the management of pests and diseases. Pages 1–10 in *Recent Advances in the Diagnosis and Management of Plant Diseases*. Springer India.
- Kumar VKK et al. 2003. Plant growth-promoting activities of *Bacillus subtilis* MBI 600 (Integral®) and its compatibility with commonly used fungicides in rice sheath blight management. Pages 487–508 in *International journal of Microbiology Research*. Humana Press.
- Lamichhane JR, Arendse W, Dachbrodt-Saaydeh S, Kudsk P, Roman JC, van Bijsterveldt-Gels JEM, Wick M, Messéan A. 2015. Challenges and opportunities for integrated pest management in Europe: A telling example of minor uses. *Crop Protection* **74**:42–47.
- Lan WT, Chen YS, Wu HC, Yanagida F. 2012. Bio-protective potential of lactic acid bacteria isolated from fermented wax gourd. *Folia Microbiologica* **57**:99–105.
- Larkin RP, Fravel DR. 2002. Effects of Varying Environmental Conditions on Biological Control of Fusarium Wilt of Tomato by Nonpathogenic Fusarium spp. *Phytopathology* **92**:1160–1166.
- Litwin A, Nowak M, Różalska S. 2020. Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* **19**:23–42.
- Liu Y, Wu L, Baddeley JA, Watson CA. 2011. Models of biological nitrogen fixation of legumes. *Sustainable Agriculture* **2**:883–905.
- Lutz MP, Michel V, Martinez C, Camps C. 2012. Lactic acid bacteria as biocontrol agents of soil-borne pathogens. *Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens* **78**:285–288.
- Maphosa Y, Jideani VA. 2017. The Role of Legumes in Human Nutrition. Page 103-122 in *Functional Food - Improve Health through Adequate Food*. InTech.
- Matyjaszczyk E. 2015. Products containing microorganisms as a tool in integrated pest management and the rules of their market placement in the European Union. *Pest Management Science* **71**:1201–1206.
- Mawar R, Manjunatha BL, Kumar S. 2021. Commercialization, Diffusion and Adoption of Bioformulations for Sustainable Disease Management in Indian Arid Agriculture: Prospects and Challenges. *Circular Economy and Sustainability* **1**:1367–1385.
- McClay AS. 1996. Biological control in a cold climate: Temperature responses and climatic adaptation of weed biocontrol agents. Pages 377–383 in Moran VC, Hoffman JH, editors. *Proceedings of the IX International Symposium on Biological Control of Weeds*. Stellenbosch, South Africa.
- Meher J, Rajput RS, Bajpai R, Basavaraj T, Sarma BK. 2020. Trichoderma: A Globally Dominant Commercial Biofungicide. Pages 195–208 in *Trichoderma: Agricultural Applications and Beyond*.
- Meyling N V., Eilenberg J. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological control* **43**:145-155.
- Ministerstvo zemědělství. 2000. Zákon č. 242 ze dne 29. června 2000 o ekologickém zemědělství a o změně zákona č. 368/1992 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů. Sbíрка zákonů České republiky, 2000. Česká republika.

- Ministerstvo zemědělství. 2006. Vyhláška č. 16 ze dne 6. ledna 2006, kterou se provádějí některá ustanovení zákona o ekologickém zemědělství. Sbírnka zákonů české republiky, 2006. Česká republika.
- Mishra RK et al. 2018. Utilization of biopesticides as sustainable solutions for management of pests in legume crops: Achievements and prospects. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **28**:1–11.
- Montesinos E. 2003. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *International Microbiology* **6**:245–252.
- Montesinos E, Bonaterra A. 2009. Pesticides, microbial. Pages 110–120 in *Encyclopedia of Microbiology*. Elsevier/Elsevier.
- Mukhopadhyay R, Kumar D. 2020. Trichoderma: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **30**:1–8.
- Nygren K, Dubey M, Zapparata A, Iqbal M, Tzelepis GD, Durling MB, Jensen DF, Karlsson M. 2018. The mycoparasitic fungus *Clonostachys rosea* responds with both common and specific gene expression during interspecific interactions with fungal prey. *Evolutionary Applications* **11**:931–949.
- Ondráčková E, Ondřej M, Prokinová E. 2019. Biologická ochrana rostlin s využitím mykoparazitických hub. *Časopis Agromanuál*. Available from: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/biologickaochrana-rostlin-s-vyuzitim-mykoparazitickyh-hub> (accessed April 2023).
- Osborne LS, Landa Z. 1992. Biological Control of Whiteflies with Entomopathogenic Fungi. *The Florida Entomologist* **75**:456–471.
- Pančíková J, 2018. Ekonomika pěstování hrachu při různém zpracování půdy. *Úroda* **10**.
- Pérez-García A, Romero D, de Vicente A. 2011. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: Biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Current opinion in biotechnology* **22**:187–193.
- Procházka P. 2024. (Ústní sdělení). Praha, 24.3.2024.
- Raman J, Kim JS, Choi KR, Eun H, Yang D, Ko YJ, Kim SJ. 2022. Application of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Sustainable Agriculture: Advantages and Limitations. *International Journal of Molecular Sciences* **23**:7784.
- Ramanujam B, Rangeshwaran R, Sivakmar G, Mohan M, Yandigeri MS. 2014. Management of Insect Pests by Microorganisms. *Proc Indian Natn Sci Acad* **80**:455–471.
- Ravensberg WJ. 2011. Critical Factors in the Successful Commercialization of Microbial Pest Control Products. Pages 295–356 in *A Roadmap to the Successful Development and Commercialization of Microbial Pest Control Products for Control of Arthropods*. Springer Netherlands.
- Ravensberg WJ. 2014. Commercialisation of microbes: Present situation and future prospects. Pages 309–317 in *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture*. Springer International Publishing.
- Read DC. 1986. Influence of weather conditions and microorganisms on persistence of insecticides to control root maggots (Diptera: Anthomyiidae) in Rutabagas. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **16**:165–173.

- Rebello CJ, Greenway FL, Finley JW. 2014. A review of the nutritional value of legumes and their effects on obesity and its related co-morbidities. *Obesity Reviews* **15**:392–407.
- Regnault-Roger C. 2012. Trends for commercialization of biocontrol agent (biopesticide) products. Pages 139–160 in Merillon JM, Ramawat KG, editors. *Plant Defence: Biological Control*. Springer Netherlands.
- Reis JA, Paula AT, Casarotti SN, Penna ALB. 2012. Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Engineering Reviews* **4**:124–140.
- Roselló G, Francés J, Daranas N, Montesinos E, Bonaterra A. 2017. Control of Fire Blight of Pear Trees with Mixed Inocula of two *Lactobacillus Plantarum* Strains and Lactic Acid. *Journal of Plant Pathology* **99**:111–120.
- Rubiales D, Fondevilla S, Chen W, Gentzbittel L, Higgins TJV, Castillejo MA, Singh KB, Rispaill N. 2015. Achievements and Challenges in Legume Breeding for Pest and Disease Resistance. *Critical Reviews in Plant Sciences* **34**:195–236.
- Samson RA, Evans H, Latgé J. 1988. Taxonomy of entomopathogenic fungi. *Atlas of entomopathogenic fungi*:5–16.
- Sandhu SS, Sharma AK, Beniwal V, Goel G, Batra P, Kumar A, Jaglan S, Sharma AK, Malhotra S. 2012. Myco-Biocontrol of Insect Pests: Factors Involved, Mechanism, and Regulation. *Journal of Pathogens* **2012**:1–10.
- Sarven MS, Hao Q, Deng J, Yang F, Wang G, Xiao Y, Xiao X. 2020. Biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea* with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Pathogens* **9**:213.
- Satranský M. 2023. Alternativní možnosti ošetření osiva a ochrany rostlin v rámci pěstitelské technologie máku setého. [Disertační práce]. ČZU Praha.
- Shah PA, Pell JK. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology* **61**:413–423.
- Sharon E, Chet I, Spiegel Y. 2011. Trichoderma as a Biological Control Agent. Pages 183–201 in *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes*: Springer Netherlands.
- Shekhar N, Sangeeta M, Bahadur S. 2006. Biological control and plant-growth promotion by *Bacillus* strains from milk. *Journal of microbiology and biotechnology* **16**:184–192.
- Shtienberg D, Elad Y. 1997. Incorporation of Weather Forecasting in Integrated, Biological-Chemical Management of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* **87**:332–340.
- Sivachandra Kumar NT, Banniza S. 2017. Assessment of the effect of seed infection with *Ascochyta pisi* on pea in western Canada. *Frontiers in Plant Science* **8**:933.
- Srinivasan R, Tamò M, Lee ST, Lin MY, Huang CC, Hsu YC. 2009. Towards developing a biological control program for legume pod borer, *Maruca vitrata*. *Grain legumes: genetic improvement, management and trade* :183–196.
- Srivastava M, Kumar V, Shahid M, Pandey S, Singh A. 2016. Trichoderma- a potential and effective bio fungicide and alternative source against notable phytopathogens: A review. *African Journal of Agricultural Research* **11**:310–316.
- Stackebrandt E, Teuber M. 1988. Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria. *Biochimie* **70**:317–324.
- Stiles ME, Holzapfel WH. 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology* **36**:1–29.

- Stoddard FL. 2017. Grain Legumes: an Overview. Pages 71–87 in Murphy-Bokern D, Stoddard F L, Watson C A, editors. Legumes in Cropping Systems. CAB International.
- Stoddard FL, Hovinen S, Kontturi M, Lindström K, Nykänen A. 2009. Legumes in Finnish agriculture: history, present status and future prospects. *Agricultural and Food Science* **18**:191–205.
- Sulima AS, Zhukov VA. 2022. War and Peas: Molecular Bases of Resistance to Powdery Mildew in Pea (*Pisum sativum* L.) and Other Legumes. *Plants* **11**:339.
- Sullivan CF, Parker BL, Skinner M. 2022. A Review of Commercial Metarhizium-and Beauveria-Based Biopesticides for the Biological Control of Ticks in the USA. *Insects* **13**:260.
- Sun ZB, Li SD, Ren Q, Xu JL, Lu X, Sun MH. 2020. Biology and applications of *Clonostachys rosea*. *Journal of Applied Microbiology* **129**:486–495.
- Tamiru A, Getu E, Jembere B, Bruce T. 2012. Effect of temperature and relative humidity on the development and fecundity of *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Crambidae). *Bulletin of Entomological Research* **102**:9–15.
- Thomas MB, Willis AJ. 1998. Biocontrol - risky but necessary? *Trends in Ecology & Evolution* **13**:325–329.
- Trias R, Bañeras L, Badosa E, Montesinos E. 2008. Bioprotection of Golden Delicious apples and Iceberg lettuce against foodborne bacterial pathogens by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* **123**:50–60.
- Tricot F, Crozat Y, Pellerin S. 1997. Root system growth and nodule establishment on pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Experimental Botany* **48**:1935–1941.
- Tyśkiewicz R, Nowak A, Ozimek E, Jaroszek-Ścisła J. 2022. Trichoderma: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth. *International Journal of Molecular Sciences* **230**:2329.
- ÚKZÚZ. 2024. Rostlinolékařský portál. ÚKZÚZ. Praha. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#rpldomu|uvod (accessed March 2024).
- Usta C. 2013. Microorganisms in Biological Pest Control — A Review (Bacterial Toxin Application and Effect of Environmental Factors). Pages 287–317 in *Current Progress in Biological Research*. InTech.
- Varshney RK, Kudapa H. 2013. Legume biology: The basis for crop improvement. *Functional plant biology* **40**:5-8.
- Verma M, Brar SK, Tyagi RD, Surampalli RY, Valéro JR. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* **37**: 1-20.
- Visser R, Holzapfel WH, Bezuidenhout JJ, M Kotze JE. 1986. Antagonism of Lactic Acid Bacteria against Phytopathogenic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* **52**:552–555.
- Wall C. 1978. Morphology and histology of the antenna of *Cydia nigricana* (F.) (Lepidoptera: Tortricidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* **7**:237-250.

- Wassermann M, Selzer P, Steidle JLM, Mackenstedt U. 2016. Biological control of *Ixodes ricinus* larvae and nymphs with *Metarhizium anisopliae* blastospores. *Ticks and Tick-borne Diseases* **7**:768–771.
- Whipps JM, Lumsden RD. 2001. Commercial Use of Fungi as Plant Disease Biological Control Agents: Status and Prospects. Pages 9–22 in *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*.
- Yao X, Guo H, Zhang K, Zhao M, Ruan J, Chen J. 2023. Trichoderma and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology* **14**: 1160551.