

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroekologie a rostlinné produkce



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Využití vybraných mikroorganismů k ošetření osiva a
ochraně rostlin hrachu setého a sóji luštinaté v
ekologickém zemědělství**

Diplomová práce

Bc. Karolina Nejedlová

Zemědělství a rozvoj venkova, Ekologické zemědělství

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

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Využití vybraných mikroorganismů k ošetření osiva a ochraně rostlin hrachu setého a sóji luštinaté v ekologickém zemědělství" 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19.4.2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé práce prof. Ing. Ivaně Capouchové, CSc. za ochotu, trpělivost, a hlavně pomoc při psaní této diplomové práce. Dále bych velmi ráda poděkovala mým kolegyním Bc. Markétě Mičudové a Bc. Ivaně Opletalové za nekončící podporu při psaní.

Využití vybraných mikroorganismů k ošetření osiva a ochraně rostlin hrachu setého a sóji luštinaté v ekologickém zemědělství

Souhrn

Luskoviny díky své schopnosti poutat vzdušný dusík sehrávají klíčovou roli v osevních postupech v ekologickém zemědělství. Zatímco hrách setý patří v ekologickém zemědělství k tradičně pěstovaným luskovinám, pěstování sóji luštinaté je v ekologickém systému spíše na počátku. Problémem při pěstování luskovin je jejich náchylnost vůči chorobám a škůdcům. Platí to zejména pro ekologické zemědělství, kde není možnost využívání tradičních chemických přípravků na ochranu rostlin a je tedy třeba hledat alternativní možnosti ochrany, šetrné vůči životnímu prostředí.

Tato práce si kladla za cíl vyhodnotit vliv vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení (BMK), entomopatogenních (EPF) a mykoparazitických (MEH) hub, použitých jednak k ošetření osiva hrachu setého (odrůda Avatar) a sóji luštinaté (odrůda Abaca), jednak k aplikaci na list během vegetace na vybrané produkční a kvalitativní parametry hrachu a sóji v rámci přesného polního pokusu, realizovaného v ekologickém systému pěstování na VS Praha-Uhřetěves v roce 2023.

U hrachu setého byl zaznamenán určitý pozitivní efekt ošetření osiva sledovanými mikroorganismy na vzházivost porostu; naproti tomu v případě sóji luštinaté ošetření osiva počet rostlin na m² po vzejití pozitivně neovlivnilo. V počáteční fázích růstu hrachu i sóji byly provedeny dva odběry rostlin pro posouzení vlivu ošetření osiva na vybrané vegetační parametry. Rozdíly mezi variantami s ošetřením osiva a neošetřenou kontrolou byly u obou plodin statisticky neprůkazné, ale u variant s osivem ošetřeným BMK, MEH i EPF se projevil mírně pozitivní efekt v podobě delších kořenů i nadzemní biomasy, a také větší hmotnosti sušiny kořenů a nadzemní části rostlin ve srovnání s kontrolou.

U sóji luštinaté dosáhly nejvyšších výnosů varianty s kombinovaným ošetřením MEH osivo a BMK list, a BMK osivo a MEH list; u těchto variant byly současně stanoveny nejvyšší hodnoty HTS. U hrachu setého patřily naopak právě tyto varianty k výnosově nejslabším a jejich HTS dosahovala nejnižších hodnot. Sledované jakostní ukazatele (obsah N-látek a škrobu v sušině semen hrachu a sóji; u sóji ještě navíc obsah oleje v sušině semen) nebyly použitím mikroorganismů nijak ovlivněny.

Celkově je možné uvést, že u hrachu ani u sóji jsme nezaznamenali ani u jednoho ze sledovaných mikroorganismů zřetelný trend lepších či horších výsledků; efekt jejich použití byl

nejednoznačný a většinou nevýrazný. U obou plodin byl pokus ovlivněn některými nepříznivými okolnostmi – např. poškozením ptáky během vzcházení a v počátečních fázích růstu a zaplevelením především ve druhé polovině vegetace. To možná přispělo k tomu, že efekt použití testovaných mikroorganismů byl nižší, než jsme očekávali.

Klíčová slova: hrách, sója, ekologické zemědělství, biologická ochrana, výnosy, kvalita produkce

Use of selected microorganisms for seed treatment and plant control of field pea and soybean in organic farming

Summary

Legumes play a key role in crop rotation practices in organic farming due to their ability to bind atmospheric nitrogen. While peas are among the traditionally cultivated legumes in organic agriculture, the cultivation of soybeans is still in its early stages within organic systems. A challenge in legume cultivation is their susceptibility to diseases and pests. This is especially true for organic agriculture, where the use of traditional chemical plant protection products is not an option, necessitating the search for alternative environmentally friendly protection methods.

The objective of this work is aimed at evaluating the impact of selected strains of lactic acid bacteria (LAB), entomopathogenic fungi (EPF), and mycoparasitic fungi (MEH) when used for treating the seeds of peas (Avatar variety) and soybeans (Abaca variety), as well as for foliar application during vegetation, on selected production and quality parameters of peas and soybeans. The study took place within a precise field experiment conducted in the organic farming system at VS Praha-Uhřetěves in 2023.

For peas, a certain positive effect of seed treatment with the monitored microorganisms on crop emergence was observed. On the contrary, for soybeans, seed treatment did not positively affect the number of plants per square meter after emergence. Two plant samplings were conducted during the initial vegetation period of both peas and soybeans to assess the impact of seed treatment on selected vegetative characteristics. Differences between variants of plants grown from treated seeds and untreated control samples were statistically insignificant for both crops. However, variants with seeds treated with LAB, MEH, and EPF showed a slightly positive effect, such as longer roots and aboveground biomass, as well as greater dry weight of roots and aboveground parts compared to the untreated control samples.

For soybeans, the highest yields were achieved with variants combining MEH seed treatment and LAB foliar application, as well as LAB seed treatment and MEH foliar application. These variants also had the highest values of TKW (Thousand Kernel Weight). Conversely, for peas, these variants belonged to the lowest yielding ones, with the lowest HTS values. Quality indicators (content of nitrogen compounds and starch in the dry matter of pea and soybean seeds, and additionally oil content in the dry matter of soybean seeds) were not affected by the application of microorganisms.

Overall, no clear trend of better or worse results was observed for either peas or soybeans with any of the monitored microorganisms. The effect of their use was ambiguous and mostly inconspicuous. Both crops in the experiment were influenced by some adverse factors, such as bird damage during emergence and early growth stages, and weed infestation mainly in the second half of the vegetation period. This may have contributed to the lower-than-expected effect of using the tested microorganisms.

Keywords: peas, soybeans, organic agriculture, biological control, yielding, quality of production

Obsah

1	Úvod	- 10 -
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	- 11 -
3	Literární rešerše	- 12 -
3.1	Luskoviny, jejich význam a uplatnění	- 12 -
3.1.1	Hrách setý	- 12 -
3.1.2	Sója luštinatá	- 14 -
3.2	Biologická ochrana v rostlinné produkci	- 14 -
3.2.1	Přínosy a negativa biologické ochrany rostlin	- 15 -
3.2.2	Způsoby využití biologické ochrany	- 15 -
3.3	Entomopatogenní houby	- 16 -
3.3.1	Faktory ovlivňující entomopatogenní houby a jejich působení	- 16 -
3.3.2	Vývoj entomopatogenních hub	- 18 -
3.3.3	Nejvýznamnější zástupci entomopatogenních hub	- 19 -
3.3.4	Biopreparáty na bázi entomopatogenních hub	- 22 -
3.4	Mykoparazitické houby	- 22 -
3.4.1	Mykoparazitismus	- 23 -
3.4.2	Soupeření hub s patogeny o prostor a živiny	- 24 -
3.4.3	Vliv faktorů prostředí na účinnost prostředků pro biokontrolu hub	- 25 -
3.5	Bakterie mléčného kvašení	- 26 -
3.5.1	Význam a využití bakterií mléčného kvašení	- 26 -
3.5.2	Antimikrobiální aktivita bakterií mléčného kvašení	- 27 -
4	Metodika	- 30 -
4.1	Půdně-klimatické podmínky pokusných lokalit	- 30 -
4.2	Založení přesných polních pokusů, použitá agrotechnika	- 31 -
4.3	Ošetření osiva a příprava preparátů pro použití během vegetace	- 31 -
4.4	Hodnocení porostů hrachu setého a sóji luštinaté během vegetace, sledované produkční a kvalitativní parametry	- 32 -
4.5	Statistické hodnocení	- 33 -
5	Výsledky	- 34 -
5.1	Vliv ošetření osiva a aplikace BMK, MEH a EPF na list na vybrané vegetační znaky a produkční parametry hrachu setého a sóji luštinaté	- 34 -
5.1.1	Počet rostlin na m ² po vzejití	- 34 -
5.1.2	Vliv ošetření osiva hrachu setého a sóji luštinaté BMK, MEH a EPF na vybrané parametry rostlin (odběry rostlin v počátečních fázích vegetace)	- 35 -
5.1.3	Hodnocení výskytu chorob a škůdců v porostu hrachu setého a sóji luštinaté	- 38 -
5.1.4	Výška porostu hrachu setého a sóji luštinaté před sklizní	- 40 -
5.1.5	Počet větví a lusků na rostlinu hrachu setého a sóji luštinaté	- 41 -

5.1.6	Výnosy semen hrachu setého a sóji luštinaté.....	- 43 -
5.1.7	Hmotnost tisíce semen (HTS) hrachu setého a sóji luštinaté.....	- 44 -
5.2	Vliv ošetření osiva a aplikace BMK, MEH a EPF na list na vybrané kvalitativní parametry hrachu setého a sóji luštinaté.....	- 45 -
6	Diskuse	- 48 -
7	Závěr	- 52 -
8	Literatura.....	- 53 -

1 Úvod

K nejvýznamnějším součástem dnešního zemědělství patří ochrana pěstovaných plodin před chorobami a škůdci. K této ochraně jsou využívány pesticidy, jejichž úkolem je chránit rostlin, ale i pozitivně ovlivňovat jejich růst a uchovávat rostlinné produkty. Využívání tradičních chemických pesticidů je bohužel spojeno s řadou rizik, jak pro životní prostředí, tak i pro zdraví konzumentů (Rajak et al. 2023).

Rezidua pesticidů v potravinách mohou mít škodlivé účinky na lidské zdraví, včetně akutní a chronické neurotoxicity, chemických popálenin, poškození plic a methemoglobinémie kojenců. Tato rezidua mohou být také spojena s některými malignitami, včetně hematologických nádorů, a imunologickými abnormalitami s reprodukčními a vývojovými důsledky. Problémem byl celkový přístup společnosti k ignorování otázky budoucnosti a udržitelnosti frekvence používání chemických pesticidů. K tomuto účelu vznikají směrnice a nařízení, které jejich použití omezují nebo úplně zakazují (Wahab et al. 2022).

V posledních letech se však v ochraně rostlin soustřeďuje pozornost na využívání postupů a metod, šetrných vůči životnímu prostředí a bezpečných pro konzumenty a hledají se možnosti náhrady tradičních chemických pesticidů různými biologickými prostředky pro ochranu rostlin. S využíváním alternativních nechemických metod a postupů v ochraně rostlin je spjato zejména ekologické zemědělství, kde se již využívají např. některé přípravky biologické ochrany na bázi mikroorganismů, a je zapotřebí intenzivně hledat další možnosti v této oblasti (Elnahal et al. 2022).

K nejperspektivnějším mikroorganismům, využitelným v biologické ochraně rostlin, patří entomopatogenní houby. Ty mají schopnost napadnout parazitující hmyz a tím pomohou s jejich regulací na polních plodinách. Entomopatogenní houby infikují hmyz přímým vstupem přes pokožku, kde díky svým enzymům a toxinům vyvolají infekci a následnou smrt. (St leger & Wang 2009).

Jako velmi perspektivní se jeví i využívání mykoparazitických hub využívajících parazitování na jiných houbách, které ztrácí schopnost odolat a využijí jejich živiny (Mukherjee et al. 2022).

Bakterie mléčného kvašení jsou další možností pro využití v biologické ochraně rostlin; jsou zcela nezávadné pro organismus konzumenta a tradičně se využívají pro konzervaci řady potravin. Právě schopnost produkovat antibakteriální a antimykotické látky dává bakteriím mléčného kvašení potenciál bioochrany (Gajbhiye & Kapadnis 2016); v poslední době se zvyšuje zájem o možnosti jejich využití jako biohnojiv a biostimulátorů v rostlinné výrobě (Murindangabo et al. 2023).

Vývoj alternativních metod ochrany polních plodin má před sebou ještě dlouhou cestu, ale rozhodně můžeme říct, že je to správná cesta k dosažení udržitelnosti zemědělství a dostupnosti zdravých a bezpečných potravin (Lahlali et al. 2022).

Svým dílem se o to snaží i výzkum, jehož součástí je i tato diplomová práce, kde je věnována pozornost možnostem využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub při ošetření osiva a v ochraně rostlin hrachu setého a sóji luštinaté v podmínkách ekologického zemědělství.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza

Využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub k ošetření osiva hrachu setého a sóji luštinaté a ochraně rostlin během vegetace podpoří polní vzcházivost a zapojení porostu,lepší zdravotní stav rostlin a povede k navýšení výnosu.

Cíle práce

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 parametry hrachu setého a sóji luštinaté a vybrat varianty, které se osvědčily nejlépe.

3 Literární rešerše

3.1 Luskoviny, jejich význam a uplatnění

Zajištění potravinové bezpečnosti, snížení rizik změny klimatu a udržitelnost zemědělské produkce patří v současnosti k nejsledovanějším problémům v našem moderním světě. Luskoviny by mohly v tomto problému být výrazně nápomocné, neboť slouží jako celosvětový zdroj kvalitních potravin a krmiv s dobrou výživovou hodnotou (Stagnari et al. 2017).

Luskoviny jsou cennou součástí osevních postupů zejména díky své schopnosti poutat vzdušný dusík prostřednictvím symbiózy s hlízkovými bakteriemi rodu *Rhizobium*; současně jsou zdrojem kvalitní organické hmoty pro půdu a usnadňují koloběh živin a vody v půdě (Stagnari et al. 2017). Těmito schopnostmi se výrazně liší např. od obilovin, které k dostatečné produkci potřebují externí dodávku dusíku skrze hnojiva, která mohou následně znečišťovat životní prostředí a pronikat do podzemních i povrchových vod. Vzhledem ke vzniku nadměrného množství skleníkových plynů je pěstování luskovin považováno za efektivní a důležité pro udržitelné zemědělství a ochranu klimatu (Rudakova 2015). Čeleď bobovitých, kam luskoviny patří, čítá okolo 800 rodů a více jak 20 000 druhů. Jejich rozmanitost je jedním z důvodů, proč je tato čeleď nepostradatelným komponentem zemědělství, neboť kromě biologické fixace dusíku a vysoké předplodinové hodnoty zvyšují biologickou rozmanitost v ekosystémech (Rudakova 2015).

Luštěniny hrají klíčovou roli ve výživě milionů lidí po celém světě (Ríos-Castillo et al. 2018). Pokrývají téměř 14 % celkové obdělávané plochy na světě. Představují důležitý zdroj tuků, mikroživin, bílkovin a vlákniny (Raza et al. 2020).

3.1.1 Hrách setý

Hrách setý (*Pisum sativum* L.) je nejvýznamnějším rodem luskovin pěstovaným v mírném střeoevropském pásmu. Hrách setý se v zemědělství využívá jak na zelenou hmotu, tak na suchá semena k potravinářskému, krmivářskému či konzervářskému účelu (McPhee et al. 1999).

Produkce hrachu ve světě dosahuje rozmezí 10 až 12 milionů tun ročně. Na prvním místě v množství vyprodukovaného hrachu stojí Kanada, USA, dále Indie a Francie. Výnosnost je v průměru poměrně nízká, pohybuje se okolo 1,558 tun na hektar (Hýbl 2014). Z průzkumů Českého statistického úřadu vyplývá, že v roce 2023 bylo v České republice vyprodukováno 46 954 ha hrachu na zrno. Oproti roku předchozímu je zaznamenán nárůst o 6 000 ha (ČSÚ, 2024).

V praxi se ukázala být výhodná forma hrachu se sníženou listovou plochou z důvodu nižšího poléhání porostu, které dále komplikuje sklizeň kombajnem a přispívá k nerovnoměrnému dozrávání. Luskoviny jsou všeobecně charakteristické nízkou konkurenceschopností k plevelu, takže lépe se v tomto směru osvědčily odrůdy s vyšším růstem (Lahola 1990).

Novější odrůdy hrachu se dokáží dobře přizpůsobit prostředí, ve kterém jsou pěstované. Prostřednictvím šlechtění se zvyšuje výnosový potenciál, ale i tak jsou výnosy značně ovlivňovány pěstitelskou lokalitou. Ideálním substrátem pro pěstování se jeví hlinitá,

hlinitopísčítá půda nebo písčitohlinitá půda s dobře rozloženými srážkami během roku (Houba et al. 2009).

Pro správnou výživu rostlin je důležitá symbióza s hlízkovými bakteriemi, ale přispívá k ní i vhodně zpracovaná půda, bohatá na makro – i mikroorganismy, s dostatečnou zásobeností fosforem a vápníkem a neutrální až mírně kyselou reakcí. Pokud má pozemek utuženou podorniční vrstvu, zvyšuje se zde riziko kořenových a krčkových chorob (Houba et al. 2009). Pro efektivní zvýšení výnosu je nezbytné, aby vybraný pozemek byl urovnaný, bezplevelný a nevyznačoval se vysokým obsahem kamenů. Nevhodné jsou půdy kyselého charakteru a půdy lehké nebo štěrkovité. Vliv počasí na tvorbu výnosu je tím větší, čím větší jsou nedostatky v agrotechnice nebo nerespektování požadavků jednotlivých odrůd na pěstování (Hosnedl & Hochman 1994).

Převážná většina registrovaných odrůd hrachu je intermediálního růstového typu. Existují také druhy s determinantním vzrůstem, kde povětrnostní podmínky neovlivní dokončení kvetení a dozrávání oproti ostatním typům, které za vlhčího počasí pokračují nadále v růstu a kvetení (Hýbl et al. 1998). Průměrná HTS je v rozmezí 200–220 g (Pavelková et al. 1986).

Zařazení do osevního postupu je podstatné z hlediska biologického fungování a vytváření vhodných podmínek, které vedou k dobré produktivitě celého osevního postupu a zvýšení výnosu. Všechny aspekty, které se zařazením hrachu do osevního postupu přicházejí, lze jen těžko nahradit zvýšenou intenzitou výživy nebo agrotechnikou. Důležitými prvky jsou například respekt vůči odrůdovým požadavkům, kvalita osiva, termín samotného výsevu, případné hnojení dusíkem. Hrách reaguje na starou půdní sílu, fyzikální a mikrobiální stav půdy. Optimální je zařazení hrachu nejvýše do třetí trati po hnojených okopaninách; pokud je zařazený dále, musí se předpokládat nižší výnos. Po sobě na jedné půdě může být hrách v opakování 4-5 let (Powers & Thavarajah 2019).

Hrách se používá v osevních postupech zejména pro svoje fyto-sanitární účinky (např. proti fusariové hnilobě kořenů). Je ideálním přerušovačem sledů, ve kterých dominují převážně obiloviny. Plodinou, která dokáže nejlépe využít předplodinovou hodnotu hrachu, je právě pšenice ozimá (nejpěstovanější plodina v České republice) (Powers & Thavarajah 2019).

Pro aktivitu a tvorbu hlízek je důležitá hladina dusíku v půdě; pokud je koncentrace vyšší, zpomaluje se příjem dusíku ze vzduchu. Hrách velmi dobře reaguje na zaorání slámy, a pokud je to možné, zaoráme ji před setím hrachu a můžeme tím podpořit fixaci dusíku (Šarapatka 2003).

Přirozený proces fixace dusíku lze nahradit hnojením chlévskou mrvou, či močůvkou. Bohužel tato náhrada není dostatečná a z pohledu výnosu a následné půdní úrodnosti je při pěstování hrachu na zrno až škodlivá. Dalším ovlivňujícím prvkem aktivity hlízek je pH půdy, v optimu hodnot 6,2-7. Pokud pH hlesne pod kritickou hodnotu, je třeba využít vápnění mletým vápencem (Šarapatka 2003).

Na kvalitu semen hrachu a odolnost vůči abiotickým i biotickým stresům se celosvětově zaměřují všichni šlechtitelé. Pro šlechtitelské účely vznikly mapovací programy, které poskytují materiál pro kompletní, ucelené přístupy k informacím.

Hrách patří k plodinám náchylným vůči chorobám a škůdcům, proto šlechtění na rezistenci vůči nim stojí v popředí zájmu práce šlechtitelů. K nejsledovanějším druhům patří *Pisum fulvum*, který je rezistentní proti zrnokazu hrachovému (*Bruchus pisorum* L.). Tento druh se zároveň používá k výzkumu týkajícího se rezistence proti padlí hrachovému (*Erysiphe pisi*)

(Clement et al. 2009). Částečná odolnost ke rzi hrachové (*Uromyces pisi*) a hnědé strupovitosti (*Mycosphaerella pinodes*) byla objevena u druhů *Pisum sativum* a i *Pisum fulvum* (Fondevilla et al. 2005).

V České republice funguje šlechtitelský program, který se zaměřuje na šlechtění a semenářství odrůd dřeňového hrachu (*Pisum sativum* subsp. *sativum* var. *medullare*) pro použití v režimu ekologickém zemědělství pod záštitou semenářské firmy SEMO a.s. Smržice. V tomto programu se nejvíce pozornosti věnovalo rezistenci k houbovým a virovým chorobám. Odrůdy šlechtěné v rámci tohoto programu jsou odolné k padlí, fusáriovému vadnutí a semenem přenosné virové mozaice (Konvalina et al. 2011).

3.1.2 Sója luštinatá

Sója luštinatá (*Glycine max*/L./Merrill) je jedním z hospodářsky nejvýznamnějších zástupců čeledi bobovitých (*Fabaceae*). V posledních dvaceti letech se její pěstování díky novým chladuvzdornějším kultivarům rozšířilo i v České republice z plocho okolo 1000 ha na současný stav, který kolísá mezi 25 – 30 000 ha (Procházka et al. 2023).

Sója luštinatá se vyznačuje širokou škálou možností uplatnění a využití, jak v potravinářském průmyslu, tak i v krmivářství. Díky vysokému obsahu tuku je řazena i mezi olejninu (Houba 2018).

Výše výnosu se odvíjí od dodržení agrotechnických nařízení. Nepostradatelný význam má sója díky pozitivním účinkům na půdu stejně jako ostatní dusíkem obohacující plodiny a přerušovače obilných sledů (Houba 2018).

Také porost sóji může být negativně ovlivňován chorobami a škůdci. Mezi nejčastější choroby sóji luštinaté patří komplex kořenových a krčkových chorob, virózy nebo bakteriózy. (Houba 2018).

Podle Procházky et al. (2023) patří mezi nejvýznamnější škůdce sóji sviluška chmelová (*Tetranychus urticae*) a mšice, která škodí sáním na listech, případně i na luscích. K nejvýznamnějším chorobám náleží plíseň sóje (*Peronospora manshurica*), diaportová stonková nekróza sóji (*Diaporthe phaseolum* var. *caulivora*) a bakteriální spála sóji (*Pseudomonas syringae* pv. *Glycinea*).

3.2 Biologická ochrana v rostlinné produkci

Biologickou ochranou rostlin se rozumí využívání bioagens či přírodních přípravků za účelem regulace patogenních činitelů u zemědělských plodin. Cílem této regulace je udržet populace škodlivých činitelů pod ekonomickým prahem škodlivosti. Zároveň usilujeme o zpomalování a oddalování vzniku rezistence vůči pesticidům a snižování kontaminace životního prostředí a reziduí v potravinách (Martinková & Honěk 2008).

V rámci biologické ochrany lze využívat např. prostředky na ochranu rostlin obsahující živé bezobratlé makroorganismy, jmenovitě parazity, parazitoidy anebo predátory, kteří bývají i přirozenými nepřáteli škůdců. Parazité získávají živiny z hostitele, čímž ho poškozují a oslabují, avšak neusmrcují (Votýpka et al. 2018). U parazitoidů probíhá vývojový cyklus uvnitř anebo na povrchu hostitelova těla a na konci vývoje parazitoid svého hostitele usmrtí a často ho i zkonzumuje. Predátoři svou kořist (škůdce) usmrtí a konzumují (Price et al. 2011).

Dále se v rámci biologické ochrany rostlin využívají viry, bakterie, houby, prvoci, hlístice a mikrobiální patogeny, které mohou například zlepšovat odolnost rostlin anebo potlačovat patogeny či škůdce plodin. Dále se sem řadí látky, které jsou z extrahované z rostlin a mají podpůrný účinek pro cílené rostliny (Van Driesche & Bellows Jr 1996). Je nutno podotknout, že základem úspěšné biologické ochrany je správné určení organismu, který poškozuje rostliny a výběr vhodného biologického preparátu (Kazda et al. 2010).

V rámci České republiky se při používání biologické ochrany od 70. let 20. století využívají někteří bioagens ve sklenicích (především parazitoidi z řádu blanokřídlí (*Hymenoptera*), či v sadech (predátoři, a to kupříkladu draví roztoči z řádu čmelíkovci (*Mesostigmata*) (Navrátilová 1999). Z hlediska mikroorganismů je rozšířená aplikace přípravků s obsahem tyčinkovité bakterie *Bacillus thuringiensis* (Berliner 1915) především vůči housenkám mnoha druhů motýlů (Falta 2018). Z dalších mikroorganismů je často využívána houba *Pythium oligandrum*, která je přímým mykoparazitem fytopatogenních hub (Kuthan 2022). Dále jsou v České republice registrovány entomopatogenní houby rodu *Beauveria*, které jsou účinné proti molicím (*Aleayrodoidea*) či třásnokřídlim (*Thysanoptera*) (Ondráčková 2017). Entomopatogenní houby, konkrétně *Bauveria bassiana* a *Metarhizium anisopliae*, patří do skupiny přirozených nepřátel agroekosystémových škůdců a mohou být nadějí pro budoucnost biologické kontroly v mírném pásmu (Meyling & Eilenberg 2007).

3.2.1 Přínosy a negativa biologické ochrany rostlin

Mezi benefity biologické ochrany patří skutečnost, že neznečišťuje životní prostředí a zároveň má pozitivní vliv na ekosystém, omezuje negativní účinky na necílové organismy i člověka a v některých případech je i ekonomicky výhodnější nežli konvenční ošetření. V případě správného využití biologické ochrany bývá dosažena dlouhodobá ochrana rostlin proti specifickému škůdci nebo chorobě v porovnání s ochranou chemickou (Kazda et al. 2010).

Mezi nevýhody můžeme zařadit opožděnou účinnost biologické ochrany, jelikož přípravky na biologické bázi obvykle působí pomaleji nežli chemické přípravky. Dále se výběr biologických přípravků musí přizpůsobit s ohledem na abiotické faktory v oblasti (např. vlhkosti), druhu škůdce či patogenu a plodiny, jinak hrozí, že zvolený typ ochrany nebude dostatečně účinný. Také je dobré podotknout, že není cílem daného škůdce z oblasti zcela odstranit, ale pouze ho udržet pod hranicí škodlivosti (Pultar 2008).

3.2.2 Způsoby využití biologické ochrany

Využití biologické ochrany má více možností. Základním způsobem je podpora a udržení užitečných organismů, přirozených nepřátel, která je dosažena vytvořením příznivých podmínek, které jsou podpořeny například zakládáním biopásů, šetrnou agrotechnikou a šetrnou chemickou aplikací (Honěk et al. 2021). Takto můžeme podporovat dravé roztoče a některé druhy hmyzu z řádu brouci (*Coleoptera*) - slunéčko sedmítečné (*Coccinella septempunctata* (Linnaeus 1758) anebo z řádu síťokřídli (*Neuroptera*) - zlatoočka obecná (*Chrysoperla carnea* (Stephens 1836)). V mnoha případech se dospělci žijí nektarem z květů a larvy jsou dravé (pestřenky, lumci, zlatoočky) (Kazda et al. 2010).

Dalším způsobem je introdukce nových užitečných organismů z odlišné zeměpisné oblasti. V České republice je tato metoda zatím využívána velmi málo. Navíc je zde velké riziko

vlivu na ekosystém a jeho přirozenou rovnováhu. Třetím a častým způsobem je umělé masové množení a následné vysazení užitečných mikro i makroorganismů, které jsou chovány či produkovány a jednorázově nebo periodicky nasazovány do již postižených zemědělských plodin nebo pouze za účelem prevence. Cílem je okamžitý efekt, ale i dlouhodobá kontrola populací druhů škůdců po celou dobu vegetace, zvýšení účinnosti i na generace, které se vyvíjí až po introdukci. Celý tento postup je vysoce technologicky náročný a podmínkou jsou masové chovy a umělé produkce. V komerčním případě probíhá realizace standardními prostředky a přípravky biologické ochrany. Introdukce probíhající několikrát během jednoho vegetačního období se používá pouze v komplexní biologické ochraně (Kazda et al. 2010).

3.3 Entomopatogenní houby

Hmyz je v zemědělských systémech problémem, který způsobuje značné ztráty na produktivitě a skladování plodin. V poslední několika desítkách let se tato problematika řešila pomocí chemických pesticidů, jejichž užívání má zpravidla negativní dopad na životní prostředí. Díky novým poznatkům vznikají bezpečnější účinné alternativy ochrany porostu vůči škůdcům. Byly např. popsány druhy hub, které hmyzí škůdce potlačují či likvidují (Poveda 2021).

Entomopatogenní houby jsou nejdéle známé a nejběžněji klasifikované entomopatogenní mikroorganismy. Na rozdíl od ostatních skupin je jejich růst možné celkem snadno pozorovat na povrchu těl různých hostitelů (Landa 1994). Velká část druhů je využívána pro výzkum biologické ochrany, protože jsou schopny výrazně regulovat hmyzí populace, které napadají a poškozují rostliny (Butt & Goettel 2000).

Entomopatogenní houby jsou přirozenými nepřáteli hmyzích škůdců běžně napadajících rostliny (Meyling & Eilenberg 2007). Tyto houby dokážou vyvolat primární onemocnění v různých vývojových stádiích hmyzích škůdců (Landa 1998). Entomopatogenní houby mají schopnost růstu nejen na hmyzu, ale i na mrtvém organickém substrátu ze zbytků (Weiser 1966). Velkou odlišností od bakterií je způsob, jakým entomopatogenní houby vyvolávají onemocnění hostitele. Zatímco bakterie musí proniknout přímo do těla hostitele, entomopatogenní houby, které infikují hmyz přímým vstupem přes pokožku (St Leger & Wang 2009). Již byla potvrzena existence 700 druhů entomopatogenních hub, které jsou odpovědné za onemocnění hmyzu (Hajek & Eilenberg 2018).

3.3.1 Faktory ovlivňující entomopatogenní houby a jejich působení

Stejně jako na veškeré živé organismy, tak i na entomopatogenní houby působí široké spektrum faktorů, které ovlivňuje jejich růst, vývoj i samotné přežití. Tyto faktory se všeobecně dají rozdělit do dvou kategorií, a to na abiotické a biotické faktory. Výrazná reakce na vnější faktory odráží sezónní charakter těchto hub. Pro snadné přichycení na povrch hmyzu vytvářejí hydrofobní konidie (McCoy et al. 2001). Přichycení těchto konidií je zajišťováno interakcí mezi dvěma hydrofobními povrchy, tedy konidií houby a kutikulou hmyzu, pomocí elektrostatických sil nebo molekulárními interakcí mezi látkami, které jsou přítomny jak na povrchu konidií, tak na povrchu kutikuly hostitele (McCoy et al. 1988).

Abiotické faktory

Abiotické faktory jsou neživé složky prostředí, které ovlivňují fungování organismů a ekosystémů. Hrají zásadní roli při utváření životního prostředí a určují typy organismů, které mohou v určité oblasti přežít. Abiotické faktory jsou zásadní pro pochopení toho, jak se organismy přizpůsobují svému prostředí a jak jsou ekosystémy strukturovány. Aby se houby dobře šířily a prospívaly v prostředí, potřebují pro své fungování specifikované abiotické faktory. Mezi významné faktory patří množství vody a vlhkosti v prostředí, nadmořská výška a výkyvy teplot, proudění a kvalita vzduchu, délka a intenzita světla, charakteristika půdy a fáze půdní vody. Jak bude cyklus dlouhý, je přímo závislé na teplotě, ale nemůžeme opomenout ani ostatní faktory (Symphonia & Senthil 2019).

Entomopatogenní houby žijící v půdě jsou chráněny proti vysokým teplotám, vysychání, UV záření (Jaronski 2007) a právě typy půd, které jsou pro houby životním prostředím, velmi ovlivňují aktivitu, jak hub, tak ostatních obyvatel půd včetně půdního hmyzu a patogenů (Villani et al. 1994). Složení a texturu půdy houba výrazně promítá do sporulace a navázání kontaktu s hostitelem, a její kvalita může zároveň ovlivnit četnosti konidií (Li & Holdom 1993).

Do hloubky jednoho metru se půda charakterizuje vysoce heterogenním prostředím, jelikož hostí velké množství organismů a probíhají zde hlavní cykly uhlíku v půdě (Jaronski 2007). Téměř všechny druhy hub respektují širokou škálu pH (5-10), ale preferují neutrální půdní reakce okolo pH 7 (McCoy et al. 2001).

Dalším faktorem ovlivňující houby je sluneční záření. Každý druh entomopatogenních hub má jinou míru citlivosti k záření, jedním z důvodů může být odlišná pigmentace. Poškození zářením je nevratný stav pro konidie, blastosporu a hyfy (Ignoffo & Garcia 1992). Důsledkem vystavení konidií UV záření je pokles rychlosti klíčivosti (Moore et al. 2008). Běžné denní záření o vlnové délce 290–400 nm ovlivňuje perzistenci hub na povrchu listů a méně na substrátech. Výhodou v přežívání pod slunečním zářením mají propagule, které jsou chráněny rostlinným pokryvem (Inglis et al. 1993).

Konvenční zemědělství zařazuje do běžného používání insekticidy, herbicidy a fungicidy, které mohou výrazně ovlivnit cyklus hub. Pro řešení problémů s patogeny se využívají sloučeniny fungicidového typu, které mohou nepříznivě narušit vývoj populace entomopatogenních hub. Vzhledem k výsledkům dosud dostupných studií k účinkům chemických pesticidů na entomopatogenní houby můžeme říci, že nejvíce škodlivé byly fungicidy, a naopak insekticidy a herbicidy se prokázaly jako méně škodlivé (Klingen & Haukeland 2006).

Pro entomopatogenní houby je naprosto nepostradatelná dostatečná vlhkost. Pro klíčení, infekci a sporulaci musí dosahovat až výši 90 %, zároveň je velmi kritickou pro vývoj onemocnění. Se zvýšenou vlhkostí se zvyšuje i pravděpodobnost vzniku onemocnění. (Hesketh et al. 2009). Dostatek vody hraje roli v konidiogenezi na povrchu mrtvého hostitele. Konidie jsou stabilnější ve studených a suchých podmínkách (Inglis et al. 2001). Jediný případ, kdy není nutná vysoká vlhkost, je při proniknutí patogenu do tělní dutiny a prorůstání mycelia na povrch těla. Vliv teploty a vlhkosti je na sebe navázán (Landa 1994).

Jak bylo již řečeno, tak teplota úzce souvisí s vlhkostí, a to převážně proto, že podle teploty se dá určit vhodná vlhkost pro správný růst hub. Vhodná teplota pro většinu entomopatogenních hub se pohybuje mezi 20-25 °C. Teplota ovlivňuje rychlost klíčení a smrt hostitele s tvorbou konidií. Infekce a vznik onemocnění u těchto mezofilní organismů začíná

mezi 15-30 °C, při 37 °C růst již ustává (Weiser 1966). Pro uchování kmenů v laboratorních podmínkách se využívá dlouhodobého hlubokého zmražení, díky schopnosti se adaptovat na dlouhodobé nízké teploty. Entomopatogenní houby nejsou schopné růst při teplotě lidského těla, což je neopomenutelný faktor při registraci biopreparátů na trh (Inglis et al. 2001).

Biotické faktory

Biotické faktory hrají podstatnou roli při utváření životního prostředí prostřednictvím vzájemných interakcí a interakcí s abiotickými faktory. Biotické faktory mohou ovlivňovat své prostředí i sebe navzájem různými způsoby, jako je soupeření o zdroje, predace a přenos nemocí. Jejich přítomnost nebo nepřítomnost může ovlivnit dynamiku ekosystému, rozšíření a početnost druhů, tok energie a celkový stav ekosystému. Příkladem biotických faktorů jsou rostliny, živočichové, mikroorganismy, a dokonce i člověk (Indrasnil & Bandyopadhyay 2020).

Podle studie, kterou provedl McCoy et al., bylo v půdě identifikováno 464 druhů hub, kvasinek, bakterií a aktinomycet. Jejich význam a role se odvíjí od fyziologických a morfologických vlastností půd. Infekčnost a přežití entomopatogenních hub v ekosystému závisí na půdních mikroorganismech a jejich sekundárních metabolitech (McCoy et al. 2001).

Schopnost vyvolat onemocnění v hmyzí populaci nazýváme patogenita a původce se označuje jako patogen (Inglis et al. 2001). Pro zvýšení šance na úspěšnou kontrolu hmyzí populace je důležité vybrat vhodného jedince, který má schopnost penetrovat a infikovat škůdce. U entomopatogenních hub může vlivem dlouhodobého skladování a opětovné kultivaci na umělých půdách docházet ke snížené schopnosti virulence nebo k její úplné ztrátě (Goettel 1992). Tomuto problému jde předejít pasážováním přes přirozeného hostitele (Hirte et al. 1989).

Rozvoj onemocnění, za kterými stojí entomopatogenní houby, je ovlivněn fyziologickými a morfologickými faktory. Těmito faktory jsou populační hustota, chování a bionomie hostitele, stádium vývoje, potrava, genetika, poranění mechanické, chemické, či způsobené predátory. Nejdůležitějším faktorem je přesto stres. Pokud prochází organismus stresovou situací, je mnohem více náchylný pro vznik onemocnění způsobené entomopatogenní houbou. Stresovou situací může být nedostatek potravy, teplota, chemické stresory. Přežívání propagulí na rostlinách taktéž ovlivňuje produkce chemických látek, růst a samotná morfologie rostliny (Inglis 2001).

3.3.2 Vývoj entomopatogenních hub

Infekční cyklus můžeme rozdělit do 5 částí. V první fázi dojde k přichycení spory na tělo hostitele. Ve druhé fázi vytvoří spora klíček. Ve třetí části dochází k penetraci kutikulou, ve čtvrté části je zahájen vegetativní růst a v poslední fázi probíhá konidiogeneze (Osborne & Landa 1992).

Vznik epizootií houbového původu ve hmyzích populacích způsobují virulentní konidie (Boucias et al. 1988), které mají dostatek energie bez potřeby absorbovat externí živiny. K jejich šíření nejčastěji dochází nad povrchem půdy větrem nebo dešťovou vodou. V částicích půdy konidie cestují za pomoci pohybu vody v půdě. Ve hmyzí populaci dochází k nakažení populačními procesy kladení vajíček, rozmnožování a migrace. Jako první je nutné, aby se konidie uchytila na povrchu možného hostitele. Některé konidie jsou vybaveny mucilageny

neboli adhezivními substancemi, díky kterým vytvářejí vazbu s hostitelem již při prvním kontaktu. Jiné druhy mají zase konidie suché se silným strukturovaným povrchem (Vestergaard et al. 1999).

Klíčení konidií ovlivňují abiotické a biotické podmínky (Hesketh et al. 2009). Dalšími vlivy jsou externí živiny a látky s inhibiční funkcí na povrchu hostitele, jako jsou mastné kyseliny a melanin (Inglis et al. 2001). V první části samotného klíčení dochází k výraznému nabobtnání s celkovou přestavbou stěn a tvorbou primárních klíčků (Boucias et al. 1988). Během tohoto procesu vznikají také další struktury (zduřelá špička klíčku, extracelulární pouzdro, apresorium), ze kterých se následně vyvíjí hyfy pronikající do těla potenciálního hostitele (Sosa-Gomez et al. 1997). Při dalších fázích klíčení je patogen závislý na vnějším nutričním zdroji (Boucias et al. 1988).

Přímý průnik kutikulou funguje pomocí kombinace enzymů a mechanických penetrujících prvků. První fáze probíhá v plochém terčovitém útvaru na hyfách, který leží na těle hostitele a obsahuje degradující enzymy. Tyto enzymy se nazývají endoproteázy, esterázy, lipázy, chitinázy, chitobiázy a nejdůležitější exoproteázy (Butt et al. 1998). Koncová špička napadající hyfy proniká tlakem kutikulou hostitele do těla. Nejběžnějším místem průniku jsou méně sklerotizované části povrchu těla. Entomopatogenní houby využívají k průniku do těla také přirozené otvory hostitelů (Boucias & Pendland 1984).

Bezprostředně po proniknutí hyfy do těla nastupuje parazitická fáze. Patogen kolonizuje tělní dutinu, kde začne vytvářet blastospory (hyfová tělíška) (Inglis et al. 2001), která nemají buněčnou stěnu a jsou pokryty tenkou fibrilózní vrstvou. Blastospory se množí pučením a během krátkého časového úseku zaplňují tělní dutinu a skrz hostitelovu lymfu cestují po těle, až nakonec napadají orgány a tkáně, což způsobí hostitelovu smrt. Smrtí hostitele je ukončena parazitická část (Inglis et al. 2001).

Celý vývojový cyklus zakončuje saprofytická část, kdy většina deuteromycet tvoří masu uvnitř těla usmrčeného hostitele a tzv. ho mumifikuje. Z této masy se na povrch dostává mycelium, které poukazuje na finální část cyklu patogena a to je konidiogeneze (Landa 1994). Během této fáze jsou nejrozpoznatelnější druhové rozdíly entomopatogenních hub, a to podle tvaru, velikosti konidií a jejich uspořádání. Saprotrofní fáze končí sporulací a k jeho šíření dochází pasivně prouděním vzduchu, vodou a kontaktem zdravých s nakaženými jedinci (Osborne & Landa 1992).

3.3.3 Nejvýznamnější zástupci entomopatogenních hub

U většiny entomopatogenních hub nebylo objeveno a popsáno jejich pohlavní stádium (forma telemorfy) a vyskytují se pouze v nepohlavním stádiu (anamorfy). Z tohoto důvodu bylo v minulosti vytvořeno několik umělých pomocných taxonů, které tyto organismy řadí podle morfologických podobností a většina entomopatogenních hub bývá řazena do pomocného oddělení *Fungi imperfecti* (houby nedokonalé), nazývané *Deuteromycota* (Hajek & Delalibera 2010). Ve světě jsou v rámci biologické ochrany nejvíce využívány přípravky hub z řádu masenkovitě (*Hypocreales*), a jedná se o rody: *Beauveria*, *Isaria*, *Metarhizium* a *Lecanicillium* (Ondráčková 2017).

Entomopatogenní houby z čeledi *Hypocreales*

Infekční cyklus těchto hub začíná za vhodných podmínek při kontaktu spory s kutikulou náchylného hmyzu, kde začnou klíčit a prorůstat skrz. Jakmile houba svého hostitele usmrtí, tak prorůstá z kutikuly zpět ven, pokryje hmyz vrstvou bílého mycelia a produkuje konidie, které vytváří infekční konidiospory, které mohou infikovat další jedince (Molnár et al. 2010).

Některé skupiny hub této čeledě si vyvinuly mechanismy, které jim zlepšují účinnost patogenity a schopnosti rozmnožování a rozvoje v ekosystému. Patří sem například strategie endofytů anebo tvorba sekundárních metabolitů, které ovlivňují chování anebo fyziologii napadeného hmyzu (Molnár et al. 2010). Endofytem označujeme houby (případně bakterie či sinice), které část svého života žijí v těle rostlin. Endofytická houba kolonizuje všechna rostlinná pletiva a při napadení hmyzího organismu například slouží její mycelium jako kanál, který dodává dusík z infikovaného hmyzího jedince rostlinnému hostiteli (Behie et al. 2012). Na oplátku rostlina poskytuje prostředí, kde se houby mohou rozrůstat, což využívají kupříkladu ke strategii nazývané latentní infekce, kdy na povrchu rostliny houba vytvoří spory, které mohou infikovat hmyz, který se na rostlině usadí (Meyling et al. 2011).

Mezi strategie změny chování patří kupříkladu snížení příjmu potravy, vyhledávání teplejšího prostředí, anebo tzv. vrcholové chování, kdy je hmyz před svým usmrcením přinucen vylézt na vrchol rostliny, což usnadňuje šíření spor, které se na něm následně vytvoří (Roy et al. 2006).

Čeď *Hypocreales* vytváří jednoduché či větvené přehrádkované hyfy s vrstevnatou stěnou, které vytváří konidiofory, na nichž probíhá konidiogeneze za vytvoření nepohlavních spor konidií (Kepler et al. 2017).

Houby rodu *Beauveria*

K nejvýznamnějším zástupcům entomopatogenních hub patří houby rodu *Beauveria*, který byl oficiálně popsán počátkem 20. století a byl mylně zařazen pod řád *Moniliales*. Později byl na základě molekulární identifikace zařazen do řádu masenkovité (*Hypocreales*) a čeledi *Cordycipitaceae* (Imoulan et al. 2017).

Rod *Beauveria* může být snadno identifikován pomocí morfologických znaků (Rehner 2005), avšak druhy nelze dle morfologických struktur jasně identifikovat, neboť se jejich znaky mohou prolínat a měnit, a tudíž se pro upřesnění využívají molekulární metody (Imoulan et al. 2017).

Na konidioforech a konidiogenních sympodiálních buňkách se vytvářejí kulovité až elipsoidní spory o velikosti 2,5 – 3,5 μm , s apikální zubatou řasou, která jim dává klikatý vzhled. Konidiogenní buňky vytváří jednobuněčné, přisedlé, hyalinní a holoblastické konidie (Rehner 2005). V podmínkách *in vitro*, v založené kultuře, rostou pomalu a mají bílou či nažloutlou barvu (Rehner et al. 2011).

B. bassiana se v přírodě může vyskytovat v půdě, v rostlinách či v již napadeném hmyzu. V půdě tato houba přežívá ve formě saprofytického mycelia, nebo jako dormantní propagule (propagulí se rozumí jakákoliv struktura, která slouží k následnému šíření životního cyklu) do doby, než se přichytí na vhodného hostitele ve svém okolí anebo se propojí s okolními rostlinami jako endofyt (Zimmermann 2007).

Houby rodu *Beauveria* jsou nejběžnějšími kosmopolitními entomopatogenními houbami, které parazitují na více než 700 druhů hmyzu (Zimmermann 2007), proto jsou vhodné jako biologické mykoinsekticidy a dále je lze velmi snadno masově produkovat. Další výhodou je

mechanismus infekce hmyzu, který spočívá v mechanickém tlaku a tvorbou enzymů, které degradují kutikulu (Pedrini et al. 2007). Houby se v napadeném organismu rozrůstají ve formě hyf a využívají živiny z hemolymfy k dalšímu růstu a produkci toxinů, které nakonec hmyz usmrtí (Valero-Jiménez et al. 2016). Po vyčerpání živin hyfy prorůstají na povrch napadeného usmrceného jedince a vzniká tak mumifikované tělo, na kterém se dále vytváří bílý povlak mycelia a konidie (Goettel et al. 2005).

Mezi řády, které tyto houby napadají, patří: motýli (*Lepidoptera*), brouci (*Coleoptera*), blanokřídlí (*Hymenoptera*), dvoukřídlí (*Diptera*), polokřídlí (*Hemiptera*), třásnokřídlí (*Thysanoptera*), všekazi (*Isoptera*), síťokřídlí (*Neuroptera*), pavouci (*Araneae*) a jiné (Zimmermann 2007). Ovšem i přes důkazy širokého spektra hostitelů bylo zjištěno, že většina izolátů těchto hub má omezené hostitelské spektrum (Vestergaard et al. 2003), a to z důvodu rozdílného původu infikovaného materiálu (půdy, hmyzu), ze kterých byl izolát vytvořen, jelikož druhy rodu *Beauveria* bývají univerzálně izolovány z půdy, nebo z mrtvých těl hmyzu pomocí selektivních médií anebo metodou hmyzí návnady (Imoulan et al. 2011). Proto je nutné provést screening stupně infekce izolátů vůči cílovému druhu hmyzu, aby bylo možné vybrat ten nejúčinnější (Zimmermann 2007).

V rámci České republiky je *B. bassiana* registrována ve dvou přípravných (Naturalis a BotaniFard OD), a to do zeleniny a okrasných rostlin, vůči třásněnkám, molicím, svilušce chmelové a drátovcům (Ministerstvo zemědělství 2024).

Letální účinky byly také v laboratorních a polních pokusech prokázány na území České republiky u larev listopase čárkovaného na hrachu a housenek záředníčka polního na zelí (Ondráčková 2017).

Ačkoliv mají tyto houby široké spektrum účinnosti vůči hmyzu, ze studií vyplývá, že přípravky, které jsou v ochraně rostlin využívány, nemají ve velké míře negativní účinky na přirozené nepřátele škůdců a jiné necílové druhy hmyzu (Traugott et al. 2005; Goettel et al. 2021). Negativní vliv na necílový organismus byl zjištěn v ojedinělých případech, a to například u brouka *Hippodamia convergens* z čeledi sluněčkovitých (*Coccinellidae*) (James et al. 2010).

Houby rodu *Metarhizium*

Jedná se o rod entomopatogenních hub, u kterého je dnes známo kolem 30 druhů. Tyto houby jsou všudypřítomné a přirozeně se vyskytující. Jejich výskyt je ovlivněn typem stanoviště, klimatickými podmínkami, asociací rostlin a hmyzu. Houby rodu *Metarhizium* jsou rovněž využívány v biologické ochraně rostlin ke kontrole hmyzích škůdců. Tato houba se ukazuje jako velmi slibná alternativa k chemickým insekticidům s relativně nízkým dopadem na životní prostředí a lidské zdraví (Brunner-Mendoza et al. 2019). Projevuje silnou patogenitu vůči škále hostitelů z řad členovců (Mesquita et al. 2023).

První zmínka o patogenitě byla popsána v literatuře již v roce 1879. Pro projevy infekce není nutné přímé pozření, proniká přímo kutikulou napadeného hmyzu (Brunner-Mendoza et al. 2019). Obvykle se používá v suchých nebo kapalných přípravných s velkým množstvím konidií. Konidie mohou přímo infikovat členovce tím, že pronikají jejich kutikulární vrstvou. Účinnost hubení škůdců je snadno ovlivnitelná podmínkami prostředí, jako je vlhkost, teplota a ultrafialové záření (Gašić & Tanović 2013). Lze zvýšit virulenci pomocí genového inženýrství nebo vývojem vhodného přípravku, což by mohlo výrazně zlepšit aplikaci a účinnost (Peng et al. 2022).

3.3.4 Biopreparáty na bázi entomopatogenních hub

Větší část entomopatogenních hub má schopnost dokončit vývojový cyklus i v jiných systémech bez přímé vazby na hostitele. Tímto organismem jsou fakultativní paraziti umožňující pomocí velkokapacitních biotechnologií produkci infekčních jednotek (konidií). Tento proces je základem pro technologické zvládnutí vývoje a tržní produkce biopreparátu (Goettel et al. 2005)

Biopreparáty jsou vytvářeny in vitro za použití substrátů. Tato metoda má dvě fáze, v první je vyprodukováno čisté inokulum, které se ve druhé fázi použije na ošetření substrátu. Preparát je použitelný po 2-3 týdnech kultivace a následném upravení (př. mletí) komplexu „patogen-substrát“. Díky zpracování obnovitelných a odpadních produktů je tato metoda upřednostňována, ale preparáty jsou nestandardní v kvalitativních a kvantitativních parametrech a tím pádem je registrace ve vyspělých zemích nemožná (Grimm 2001).

Další metodou je Kybalova metoda, také nazývána „pytlová metoda“, při které jsou spory entomopatogenních hub v aerobním prostředí na myceliu porůstajícím povrch sterilního tekutého média uzavřeno v PVC pytlích, které jim poskytnou ideální prostředí pro růst. Po finální úpravě mletím jsou spory smíchány s nosičem (mletá křemelina) (Weiser 1991).

Nejvýznamnějším způsobem vývoje mykoinsekticidů a mykofungicidů je velkokapacitní submerzní kultivace vláknitých hub. V klíčové části vývoje dochází k proniknutí patogena do hostitele v semiaerobních podmínkách skrz hemolymfu a vytváření tenkostěnných nestabilních útvarů blastospor (neboli hyfových tělísek) (Humber 2012). Většina komerčních preparátů na bázi hub je vytvořena pomocí submerzní kultivace (Wraight & Carruthers 1999).

Pro registraci biopreparátů, která podléhá zákonu číslo 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči, je důležité splňovat řadu kritérií kvalitativního i kvantitativního charakteru. K hlavním parametrům patří druh a kmen patogena, aktivní a doplňkové složky v biopreparátu a maximální koncentrace cizorodých příměsí. Mezi hlavní kvantitativní a kvalitativní parametry patří (Inglis et al. 2001):

- Infekční jednotky a jejich počet ($1,0 \times 10^8$ – $1,0 \times 10^{10}$ konidií v 1 g/ml biopreparátu)
- Klíčivost konidií (vitalita v %)
- CFU – Colony Forming Unit, údaj o kvalitě povahy, udávající z kolika jednotek patogenu se v 1 g/ml biopreparátu po kultivaci vytvoří samostatná kolonie (Inglis et al. 2001).

3.4 Mykoparazitické houby

Prospěšné houby využívají různé biologické kontrolní mechanismy (samostatné nebo kombinační) k potlačení chorob rostlin přímo nebo nepřímo prostřednictvím několika mechanismů. Mezi tyto mechanismy se řadí: kompetice o prostor a živiny, mykoparazitismus, antibiόza, křížová ochrana pomocí mykovirů (MMCP) a indukovaná systémová rezistence (ISR). Správné pochopení mechanismů působení je nezbytné pro správnou účinnost biologické ochrany pomocí mykopatogenních hub (Ghorbanpour et al. 2018).

3.4.1 Mykoparazitismus

Parazitované houby (hostitele) jinou napadeny houbou (mykoparazitem) a tento jev se obecně nazývá „mykoparazitismus“. Mykoparazit pro své přežití přijímá alespoň část živin z jiné houby parazitickým způsobem. Mykoparazitismus je zprostředkován proniknutím mykoparazita do hostitelských hyf pomocí zvláštních orgánů, jako jsou haustoria. Zároveň vypouští enzymy nebo sekundární metabolity, které degradují houbové struktury napadené houby s následným příjmem živin/metabolitů z hostitelské houby (Mukherjee et al. 2022).

Trichoderma je typická mykoparazitická houba. Analýza genomů *T. atroviride*, *T. virens* a *T. reesei* ukázala, že mykoparazitismus je životním stylem hub tohoto rodu (Kubíček et al. 2011). Enzymy degradující buněčnou stěnu jsou velmi podstatné pro přežití těchto hub. Hlavními extracelulárními enzymy degradující buněčnou stěnu hub jsou endochitinázy, β -1,3glukanázy a proteázy (Lopes et al. 2012). Dále *Trichoderma* spp. potřebují specifické proteiny vázající sacharidy nazývané lektiny pro rozpoznávání hostitelské buňky. Tento jev byl prokázán v experimentu s použitím nylonových vláken potažených lektinem (Inbar & Chet 1992). Po prvotním rozpoznání hostitele se hyfy *Trichoderma* spp. stočí kolem hyf patogena a proniknou do hostitelské buňky (vytvářejí háčky a tělíska podobná apresoriu), zatímco rozkládají chitin pomocí enzymů chitináza a glukanáza. Nadále hyfy mykoparazitické houby uvolní antibiotické sloučeniny, které prostupují napadenými hyfami a inhibují obnovu buněčné stěny a zde je mykoparazitismus doprovázen dalším způsobem působení, a to antibiózou (Ghorbanpour et al. 2018).

Chitinázy jsou nejdůležitější lytické enzymy vylučované *Trichoderma* spp., které pomáhají degradaci buněčných stěn (vytvořených z chitinu) pravých hub. Chitinolitická kapacita v *T. harzianum* souvisí s různými chitinázovými geny. Rozmanitost enzymů by mohla být spojena s vyšší mykoparazitickou aktivitou proti patogenům (Seidl et al. 2005).

Trichoderma zároveň vylučuje různé druhy celulózových enzymů, které působí synergicky a hydrolyzují biomasu ignocelulózy a buněčné stěny patogenů oomycet včetně druhů rodu *Pythium* a *Phytophthora* (Gajera et al. 2013). V mykoparazitické aktivitě *Trichoderma* spp. jsou podstatné proteolytické enzymy, jako jsou endo – a exoproteázy, které ovlivňují aktivitu a stabilitu exocelulárních enzymů, které se také podílejí na modifikacích celulózy poté co je vyloučena vně houby (Kredics et al. 2005).

V důsledku používání pesticidů obsahujících kovy se dostávají těžké kovy do půdy, což negativně ovlivňuje růst a funkci hub. Růst mycelia byl velmi ovlivněn po expozici kovy, nejmenší vliv měla měď, a naopak největší hliník. S výjimkou rtuti, která by mohla významně inhibovat aktivity extracelulárních enzymů při velmi nízké koncentraci, zůstaly enzymy aktivní i po expozici jinými kovy. To naznačuje potenciál šlechtění kmenů *Trichoderma* spp. rezistentních na kovy pro použití v podmínkách toxicity kovů. Rezistentní kmeny *Trichoderma* spp. k těžkým kovům se vyprodukovaly pomocí mutagenezí a výsledkem byly účinní antagonisté k houbovým patogenům. Faktory související se změnou klimatu, jako je hladina UV záření CO₂, mohou ovlivnit účinek látek pro biologickou ochranu rostlin (Gajera et al. 2013).

Sklerocie *Sclerotinia sclerotiorum* a *Sporidesmium sclerotiorum* jsou dalším příkladem mykoparazitismu, u kterého bylo prokázáno, že úspěšně potlačuje hnilobu stonků sóji v polních podmínkách (Del Rio et al. 2002). K dalším mykoparazitickým houbám, již poměrně často

využívaným v biologické ochraně, patří houby rodu *Pythium*, které napadají mnoho druhů hub a vyskytují se v půdách na celém světě (Gajera et al. 2013).

Cyklus *Pythia* začíná kontaktem s napadenou houbou, kdy následně z oosporů vznikají hyfy, jež za pomoci enzymu oligandrin rozkládají mycelium hostitelské houby, a berou z něj živiny pro svůj metabolismus. Na hyfech se vytváří zoosporangium, ze kterého se po jeho prasknutí uvolňují zoospory s dvěma bičíky, které znovu vyhledají nového hostitele, vytvoří hyfy a berou od něj živiny. Celý tento proces se opakuje, dokud nevyimizí hostitelská houba (Ghorbanpour et al. 2018). V České republice jsou registrovány například přípravky Polyversum (na bázi *Pythium oligandrum*) nebo Green Doctor.

3.4.2 Soupeření hub s patogeny o prostor a živiny

Užitečné houby nenapadají patogeny jen přímo, ale zároveň je připravují o prostor a živiny tím, že kolonizují sdílené stanoviště, jako jsou rostlinné tkáně, rhizosféru nebo fylosféru. K vytlačení invazních patogenů v oblasti niky a živin prospěšné houby potřebují účinné strategie kolonizace rostlin a měly by udržet vysokou hustotu populace v rámci pokrytí stanovišť (Ghorbanpour et al. 2018).

Druhy mykoparazitických hub *Trichoderma* spp. jsou všudypřítomné napříč ekosystémy a lze je nalézt téměř ve všech typech půdy (pole, lesy, bažiny a poušť) a ve všech klimatických pásmech (včetně mírných a tropických regionů, Antarktidy a tundry) (Waghunde et al. 2016). Všudypřítomný výskyt je způsoben jejich dobře vyvinutými a velmi různorodými strategiemi pro kolonizaci rozmanitých nik. Například schopnost druhů *Trichoderma* spp. pokrýt kořenový systém rostlin je spojena se zvýšenou aktivitou hydrofobních genů právě během kolonizace kořenů, což usnadňuje připojení hyf k hydrofobním povrchům kořenů (Guzmán-Guzmán et al. 2017).

Enzymy schopné degradace rostlinné buněčné stěny (jako je endopolygalakturonáza ThPG1) a proteiny podobné expansinu schopné rozpoznávat celulózu (jako je swollenin TasSwo) se také objevují mezi sekrety hub rodu *Trichoderma* a napomáhají k jejich rozšíření do prostředí (Brotman et al. 2008). Kromě toho jsou kmeny *Trichoderma* spp. rezistentní vůči většině antimikrobiálních sloučenin produkovaných rostlinami (jako jsou fytoalexiny, fenoly a flavonoidy), což jim dává výhodu při obsazení kořenů a rhizosféry (Błaszczyk et al. 2014).

Některé kmeny *Trichoderma* spp. produkují siderofory, což jsou sloučeniny schopné chelátovat železo. Zachycováním železitých iontů mohou druhy *Trichoderma* spp. inhibovat růst a aktivitu půdních a posklizňových patogenů, jako je *Botrytis cinerea* (Harman et al. 2004). Toto je dobrý příklad, kdy vyčerpání jedné živiny může být funkčním mechanismem biologické kontroly. Studie in vitro o interakcích mezi *T. harzianum* a vybranými kořenovými patogeny (izoláty *Fusarium acuminatum*, *Alternaria alternata* a *A. infectoria*) prokázaly, že „vyhladovění“ bylo jednou z nejčastějších příčin smrti testovaných patogenních hub, což je dobrý příklad toho, jak i nedostatek jedné živiny může být rozhodujícím faktorem (Hamitou & Dehimat 2013).

Přítomnost *Trichoderma* spp. v rostlině může mít také za následek omezení fyzického přístupu patogenů k rostlinným tkáním. Druhy *Trichoderma* spp. mohou v některých případech účelně modifikovat rostlinné uspořádání a stavbu hostitelské buňky, což vede ke zpomalení a

omezení postupu houbových patogenů do epidermálních a kortexových mezibuněčných prostorů, kde by mohli rostlině škodit (Hamitou & Dehimat 2013).

Arbuskulární mykorhiza (AM)-zprostředkovaná bioprotekce proti chorobám rostlin byla přijata a využívána jako klíčový postup biologické kontroly. AM houby se za posledních 400 milionů let vyvíjely společně s kořeny rostlin a přijaly účinné strategie pro kolonizaci kořenového systému a rhizosféry, díky čemuž jsou lepšími konkurenty nad rostlinnými patogeny. Uhlík se zdá být klíčovým zdrojem, který podléhá konkurenci mezi AM houbami a společně obývajícími patogeny (Vos et al. 2014). Různé AM houby se však mohou lišit ve svých schopnostech biologické kontroly (na základě konkurence), protože se liší v síle pohlcování uhlíku (Lerat et al. 2003). AM houby mohou také nepřímo omezovat vývoj intracelulárních patogenů v kořenech tím, že udělují hostiteli fyziologické a anatomické změny. Tyto změny zahrnují posílení lignifikace kořenové hmoty, zesílení stěny hostitelské buňky pektinem, indukci aktivity chitinázy a také nasměrování proteinu-1 a souvisejícího s patogenezí (PR-1a) do místa infikovaného intracelulárním patogenem. Ektomykorhizní houby také chrání rostliny před kořenovými patogeny prostřednictvím mechanismů, jako je vytváření fyzické bariéry uvnitř (Hartigova síť) a kolem (hyfální plášť) kořenů, které omezují přístup patogenů k místům infekce a fotosyntátům (Marx 1969).

3.4.3 Vliv faktorů prostředí na účinnost prostředků pro biokontrolu hub

Účinnost biologické ochrany rostlin může být ovlivněna mnoha faktory prostředí, což vede ke snížení nebo zvýšení jejich antagonistických schopností. Organismus biologické ochrany by měl být schopný přežít a zároveň prosperovat (čímž chrání rostliny) v rámci stanoviště vhodného pro patogen. Teplota, dostupnost vody, pH, přítomnost pesticidů/fungicidů, iontů kovů/těžkých kovů a antagonistických mikroorganismů patří mezi klíčové faktory ovlivňující přežití a funkčnost mykopatogenních hub (Kredics et al. 2005). Teplota je velmi podstatný faktor pro houby rodu *Trichoderma*, které většinou spadají mezi mezofilní organismy, a jejich biokontrolní aktivita může být při nízké teplotě snížena (Kredics et al. 2005). Kupříkladu mykoparazitismus na sklerociích *S. sclerotiorum* pomocí *T. harzianum* byl vyšší při 25 °C než při 15 °C. Nadále *T. virens* produkoval nižší množství antibiotického gliotoxinu při 15 °C ve srovnání s 25-30 °C. Domingues et al. (2016) ve své studii zjistili, že izoláty *T. asperellum* rostly při teplotách v rozmezí 12 až 37 °C a za ideální teplotu určili 27 °C. Přesto některé druhy *Trichoderma* spp. fungují lépe při nižších teplotách. Například mykoparazitismus na sklerociu (patogen bílé hniloby *S. cepivorum* způsobený *T. viride*) byl nejvyšší při 10 °C a vykazoval klesající trend s rostoucí teplotou (Clarkson et al. 2004).

Vliv pH na aktivitu *Trichoderma* spp. závisí hlavně na daném druhu a v tomto ohledu nebyl pozorován žádný obecný trend. Mondal et al. (1996) zjistili, že kyselé podmínky zvyšují aktivitu *T. koningii* a *T. viride* v půdě. Nebyl nalezen žádný rozdíl v populacích *T. harzianum* T22 mezi pH 8,0 a pH 6,4. Studie na podobném principu ukázaly, že izoláty *Trichoderma* spp. kolonizují kořeny rostlin při různých výších pH v rozmezí od 5 do 7 (MiJeong et al. 1997). Sleduje se i vliv na in vitro aktivity extracelulárních enzymů *Trichoderma* spp. Enzymy stejně jako samotné houby reagují odlišně na různé úrovně pH.

Přítomnost a dostupnost vody je obecně považována za klíčový faktor pro životaschopnost, růst a funkčnost houbových hyf mykopatogenních hub, hlavně kvůli

vysokému poměru plochy povrchu ku objemu, který je činí velmi snadno náchylnými k dehydrataci. Právě nízká úroveň osmotolerance hub *Trichoderma* spp. je jedním z hlavních omezení jejich použití pro biologickou ochranu. Především klíčení spor, růst hyf a produkce enzymů mohou být nepříznivě ovlivněny nadměrnou přítomností vody (Lupo et al. 2002). Kredics et al. (2000) ve své studii pozorovali téměř lineární závislost mezi vodním potenciálem a rychlostí růstu mycelia.

3.5 Bakterie mléčného kvašení

3.5.1 Význam a využití bakterií mléčného kvašení

Tyto bakterie jsou všudypřítomné, grampozitivní probiotické mikroorganismy. Vyskytují se na běžné bázi v širokém spektru prostředí, od potravin, lidského střeva až po kůži různých organismů, a především ve fermentovaných a rozkládajících se prostředích. Jejich funkce spočívá v ochraně a bezpečnosti potravin, podpory růstu a ochrany rostlin, zlepšování zdraví půdy, zvířat, ale i lidí. Pro udržitelné způsoby hospodaření jsou nepostradatelné pro svoji rezistenci k chemickým pesticidům (Murindangabo et al. 2023).

Bakterie mléčného kvašení byly dlouho zkoumány v oblasti konzervace potravin a lidského zdraví. Poslední dobou se zvyšuje zájem i o možnostech jejich využití jako biohnojiv a biostimulátorů v rostlinné výrobě (Murindangabo et al. 2023). Jejich název je odvozen od konečného produktu neboli kyseliny mléčné, není to ale jediná sloučenina, kterou produkují. Řadí se do několika rodů, například *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*. Rod *Lactobacillus* je nejpočetnějším, obsahuje více než 100 druhů, které jsou bohaté na obsah sacharidů (Mokoena 2017).

V konzervaci potravin jsou preferovány pro svoji nezávadnost v konzumaci, zlepšování chuti a inhibici růstu bakterií, které by potraviny znehodnocovaly. Mezi nejlepší konzervanty se dostaly díky svojí schopnosti produkovat organické kyseliny, antimikrobiální houbové a bakteriální metabolity. Bakterie mléčného kvašení se využívají také jako přídavek do krmiva pro hospodářská zvířata, který zlepšuje trávení, podporují střevní mikroflóru a posilují imunitní systém v podobě probiotik. Bakterie používané jako probiotika musí projít přísným výběrem, který je regulovaný a existuje pro tyto účely regulační orgán (Corcionivoschi et al. 2010).

Kromě rozkladu makromolekulárních látek v organickém materiálu a nestravitelných polysacharidů dokážou společně s dalšími mikroorganismy zvyšovat uvolňování živin nezbytných pro půdní úrodnost, růst rostlin a jejich ochranu. Dosavadní studie prokázaly zvýšení délky kořenů, biomasy rostlin v porovnání s neošetřenou kontrolou (Hamed et al. 2011).

Po zředění bakterií mléčného kvašení s dalšími živinami je možné je aplikovat na výhonky a listy nebo i na semena, u kterých povzbuzuje klíčení a zároveň chrání před vznikem houbových chorob. V případě předávkování klesá míra sladkosti u plodů (Hamed et al. 2011).

Skupina bakterií mléčného kvašení se řadí do fyly *Firmicutes* třídy *Bacilli* a řádu *Lactobacillales*. Tuto klasifikaci rozpoznáváme podle buněčné morfologie, typu fermentace glukózy, růstových teplot a způsobu využití cukrů (Mokoena 2017). Většina druhů rodu *Lactobacillus* byla izolována z trávicího traktu lidí i zvířat. Druhým největším místem výskytu

je zelenina a produkty po její fermentaci. Jiné rody jsou izolovány například z chlazeného masa, vín nebo mléčných výrobků (Mokoena 2017).

3.5.2 Antimikrobiální aktivita bakterií mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení mohou být použity jako bezpečná biologická ochrana, neboť se využívají pro biokonzervaci různých potravin a jsou nezávadné. Tato schopnost biokonzervace je způsobena produkcí několika širokospektrých antimykotických sloučenin. Za mechanismy biologické ochrany považujeme hyperparazitismus, predaci, produkci antibiotik, lytických enzymů a indukce rezistence hostitele. A tak schopnost produkovat antibakteriální a antimykotické látky dává bakteriím mléčného kvašení potenciál bioochrany. Mnohé z nich nesou status „obecně považovaných za bezpečné“ a jsou bezpečné jak z hlediska člověka, tak i životního prostředí (Gajbhiye & Kapadnis 2016).

Bakterie mléčného kvašení produkují cyklické dipeptidy, bílkovinné sloučeniny, organické kyseliny, mastné kyseliny a reuterin, které patří k antifungální látce. Biokontrolní potenciál těchto látek od bakterií mléčného kvašení pozorujeme v přírodě při prevenci houbových infekcí ovoce (př. jablek a hroznů). Je možné připravit živé buňky nebo přípravky z protiplísňových bakterií mléčného kvašení a použít je jako alternativní technologie biologické kontroly (Gajbhiye & Kapadnis 2016).

Antimykotické sloučeniny produkovány bakteriemi mléčného kvašení jsou různého typu. Za antifungální účinek vděčíme směsi více než jedné sloučeniny, která může zahrnovat organické a mastné kyseliny, bílkovinné sloučeniny, cyklické dipeptidy, fenolové sloučeniny a H_2O_2 . Ve studiu antifungálních sloučenin produkovány bakteriemi mléčného kvašení dominuje rod *Lactobacillus*, neboť většina výzkumníků uvádí izolaci látek právě z tohoto rodu. Do roku 2007 byla izolace antifungálních sloučenin z bakterií mléčného kvašení málo popsána, ale v dalších letech se mnoha výzkumníkům podařilo tyto sloučeniny izolovat a identifikovat. Bakterie mléčného kvašení z různých stanovišť produkují různé typy antifungálních sloučenin (Gajbhiye & Kapadnis 2016).

Organické kyseliny

Syntéza kyseliny mléčné a kyseliny octové je jedním z hlavních procesů zodpovědných za biokonzervaci (Trias et al. 2008). Produkce kyselin způsobuje pokles pH v okolí a dochází tak k inhibici růstu hub a zároveň molekuly kyselin narušují buněčné membrány. Nízké pH zároveň působí přeměnu disociované molekuly kyselin na nedisociované molekuly kyselin (Piper et al. 2001). Toto je důležité, protože molekuly kyselin jsou aktivní v nedisociované formě, když jsou zároveň lipofilní, a mohou procházet cytoplazmatickou membránou do hub. V důsledku vysokého intracelulárního pH kyselina uvolňuje protony a anionty (konjugované báze), a narušuje tak membránovou protonovou hybnou sílu čímž nenávratně poškodí škůdce (Höving et al. 2024).

Dalším z mechanismů je hromadění protonů, které okyseluje cytoplazmu hub (Abral et al. 2020) a inhibuje metabolické aktivity buňky, což způsobuje snížení výtěžnosti ATP. Inhibice houbových patogenů organickými kyselinami může zahrnovat také inhibici aktivit enzymů (Gerez et al. 2010). Při poklesu pH vznikají nejdříve nedisociované molekuly kyseliny octové a teprve pak nedisociované molekuly kyseliny mléčné. Kyselina octová je zároveň účinnější při

inhibici růstu hub než kyselina mléčná (Souza et al. 2022). Některé studie ale uvádějí, že kyselina octová není účinná proti některým kvasinkám a plísním. (Gajbhiye & Kapadnis 2016) si ve své studii všimli neúčinnosti kyseliny octové při zásahu proti *Fusarium avenaceum*. Podobná zjištění uvedli (Gerez et al. 2010) při testování kyseliny octové proti *Penicillium digitatum*. Na druhou stranu uvádějí ve svých studiích produkci směsi organických kyselin bakteriemi *Leuconostoc* spp. a *Weissella* spp. a jejich využití při biokonzervaci k zabránění růstu kazivých hub. Kyselina octová byla zároveň popsána jako hlavní antifungální látka produkovaná *Lact. plantarum* UFG 108 a *Lact. plantarum* UFG 121, která inhibuje růst širokého spektra hub, a to konkrétně *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *F. culmorum*, *P. roqueforti*, *P. expansum*, *P. chrysogenum* a *Cladosporium* spp. (Russo et al. 2017).

Kyselina 3-fenylmléčná, jako další produkt bakterií mléčného kvašení, působí inhibičně vůči plísním a bakteriím. Již se prokázalo, že kyselina 3-fenylmléčná inhibuje růst *Candida pulcherrima*, *C. parapsilosis* a *Rhodotorula mucilaginosa* (Schwenninger et al. 2008). U bakterií mléčného kvašení byla aktivita kyseliny 3-fenylmléčné z *Lact. plantarum* 21 B poprvé prokázána ve studii publikované Lavermicocca et al. (2003). Kyselinu 3-fenylmléčnou extrahovali z filtrátu kultury v ethylacetátu. Pak byla sloučenina získána silikagelovou chromatografií s následnou spektroskopií. Supernatant *Lact. plantarum* 21 B inokulovaný na médium zcela zabránil růstu několika houbových patogenů, a to přesněji *Eurotium repens*, *E. rubrum*, *P. corylophilum*, *P. roqueforti*, *P. expansum*, *Endomyces fibuliger*, *A. niger*, *A. flavus*, *Monilia sitophila* a *F. graminearum* (Lavermicocca et al. 2003)

Gerez et al. (2010) ve své studii prokázali, že aktivita kultur bakterií mléčného kvašení je způsobena převážně kyselinami uvedenými výše (kyselinou mléčnou, octovou a fenylmléčnou). *P. digitatum* a *Geotrichum citri-aurantii* byly použity jako indikátorové houby k posouzení účinku těchto organických kyselin a jako neúčinnější se ukázala kyselina 3-fenylmléčná (Gerez et al. 2010).

Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou dalším produktem bakterií mléčného kvašení, u kterých byl zaznamenán antifungální účinek. Zároveň je známo, že mastné kyseliny způsobují inhibici plísní. Ze supernatantu kultury *Lact. plantarum* MiLAB 14 byly izolovány čtyři typy antifungálních hydroxylových mastných kyselin, a to kyselina 3-(R)-hydroxydekanová, kyselina 3-hydroxy-5-cis-dodekanová, kyselina 3-(R)-hydroxydodekanová a kyselina 3-(R)-hydroxytetradekanová. Všechny hydroxylové mastné kyseliny byly syntetizovány během fáze růstu, ale přesný mechanismus účinku hydroxylových mastných kyselin není dosud dobře znám. Obecný mechanismus by teoreticky mohl spočívat v tom, že narušují bakteriální buněčné membrány a tím se zvyšuje propustnost membrán a uvolňují intracelulární elektrolyty a proteiny z houbových buněk (Sjögren et al. 2003).

Bílkovinné sloučeniny

Mnohé publikace se věnují tvorbě antifungálních bílkovinných látek bakteriemi mléčného kvašení. Existence proteinových antifungálních látek byla prokázána pomocí zamezení aktivity supernatantu kultury po ošetření proteázami produkovanými bakteriemi mléčného kvašení (chymotrypsin, trypsin a pronase E). Nové bílkovinné sloučeniny účinné proti houbám se stále objevují a zde si uvedeme jen některé z nich (Yang et al. 2024).

Různí výzkumníci zmínili několik antifungálních cyklických dipeptidů a dalších cyklických sloučenin z bakterií mléčného kvašení. Antifungální aktivita kultivačního supernatantu z *Lact. casei* ssp. *pseudoplantarum* se snížila po přidání tripsinu nebo chemotrypsinu. Antifungální sloučeniny proteinové povahy byly izolovány z *Lact. coryniformis*. Antimykotická aktivita byla prokázána i u některých cyklických dipeptidů. Například bakterie *Achromobacter xylosoxidans* produkuje cyklo-(Leu-Pro) s těmito účinky (Yan et al. 2004). Ve většině těchto studií byly antifungální proteiny a peptidy získány z *Lact. plantarum*. Pro všechny tyto produkty bakterií mléčného kvašení je charakteristická aktivita při nízkém pH a synergické působení při antifungálním účinku (Gajbhiye & Kapadnis 2016).

Ostatní sloučeniny

Výše uvedené sloučeniny nejsou jediné, které mohou pomáhat při ochraně rostlin. Některé bakterie mléčného kvašení také produkují peroxid vodíku (H_2O_2), který přirozeně inhibuje růst mnoha mikrobů. Za produkci peroxidu vodíku je zodpovědná přítomnost flavoproteinoxidázy u většiny bakterií mléčného kvašení (Grizon et al. 2024). Kvůli nedostatku enzymu katalázy nejsou bakterie mléčného kvašení schopny odbourávat H_2O_2 , který se tak následně hromadí a oxiduje membránové lipidy a proteiny citlivých organismů v okolí (Lindgren & Dobrogosz 1990).

Reuterin (3-hydroxypropionaldehyd), který vzniká rozkladem glycerolu, je další důležitou antimikrobiální sloučeninou, která byla objevena u bakterií mléčného kvašení. Za anaerobních podmínek ji produkují *Lact. reuteri*, *Lact. brevis*, *Lact. buchneri* (Khalil et al. 2021), *Lact. collinoides* a *Lact. coryniformis* (Khalil et al. 2021).

4 Metodika

Tato diplomová práce vznikla v rámci grantového projektu NAZV MZe, který se věnuje možnostem ekologické intenzifikace produkce leguminóz, s využitím bakterií mléčného kvašení, entomopatogenních a mykoparazitických hub v pěstební technologii hrachu setého a sóji luštinaté.

Hodnocení vlivu ošetření osiva hrachu setého a sóji luštinaté vybranými kmeny bakterií mléčného kvašení (BMK), mykoparazitických hub (MEH) a entomopatogenních hub (EPF), vlivu ošetření těmito mikroorganismy formou postřiku na list během vegetace a vlivu kombinovaného ošetření (osivo i list) na vybrané vegetační znaky, produkční a kvalitativní parametry hrachu setého a sóji luštinaté probíhalo v roce 2023, s využitím přesných polních maloparcelkových pokusů na Výzkumné stanici KARP FAPPZ v Praze-Uhřetěvesi.

Pokusy byly vedené v ekologickém systému hospodaření, na certifikovaných pozemcích VS Praha-Uhřetěves, 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 leží v nadmořské výšce 295 m n. m., průměrná roční teplota je 8,5 °C, suma ročních srážek 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; půdní druh je stanoven jako půda jílovitohlinitá.

Přehled průměrných měsíčních teplot a úhrnů srážek během vegetace 2023 na VS Praha-Uhřetěves je uveden v tabulce č. 1. Vegetační období 2023 bylo na pokusné lokalitě Praha srážkově nadprůměrné (březen, duben, červenec, srpen), naproti tomu období května, června a září bylo celkově srážkově pod dlouhodobým průměrem. Teplotně bylo období jarní vegetace nad dlouhodobým průměrem (s výjimkou dubna a května).

Tabulka 1: Průměrné měsíční teploty a úhrny srážek za sledované 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
Září	19,42	14,4	5,02	11,7	48,4	-36,72

4.2 Založení přesných polních pokusů, pokusné varianty a použitá agrotechnika

V přesných polních pokusech bylo použito certifikované osivo hrachu setého, odrůdy Avatar, výsevek 1,1 MKS/ha a sóji luštinaté, odrůdy Abaca, výsevek 0,75 MKS/ha. Osivo nebylo inokulováno bakteriemi rodu *Rhizobium*. Hrách byl vysetý do běžných úzkých řádků 125 mm, sója byla vyseta do řádků o šířce 250 mm. Předplodinou byl jetel luční. Pokusy byly založeny metodou znárodných bloků, ve 3 opakováních, velikost pokusné parcely 12 m².

Přehled variant pokusu uvádí tabulka č. 2; pokus zahrnoval jednu variantu kontrolní a deset variant použití testovaných mikroorganismů (BMK, MEH a EPF); ty zahrnovaly jednak varianty s předsetovým ošetřením osiva, varianty s aplikací mikroorganismů postřikem na list během vegetace a varianty s kombinací těchto metod.

Tabulka 2: Varianty pokusu

Kontrola
Ošetření osiva BMK
Ošetření osiva MEH
Ošetření osiva EPF
Ošetření postřikem BMK na list během vegetace
Ošetření postřikem MEH na list během vegetace
Ošetření BMK – osivo i list
Ošetření MEH – osivo i list
Ošetření EPF – osivo i list
Ošetření BMK na osivo a MEH na list
Ošetření MEH na osivo a BMK na list

Přehled použité agrotechniky a ošetřování pokusu uvádí tabulka č. 3.

4.3 Ošetření osiva a příprava preparátů pro použití během vegetace

Osivo vybraných variant hrachu setého a sóji luštinaté (viz tabulka č. 2) bylo před setím ošetřeno s využitím izolátů vybraných kmenů BMK, MEH a EPF, které pocházely ze sbírek Katedry rostlinné výroby Fakulty zemědělské a technologické JU v Českých Budějovicích a VÚ mlékárenského v Českých Budějovicích. Na pracovišti FZT JU České Budějovice bylo provedeno vlastní ošetření (namoření) osiva hrachu a sóji testovanými kmeny mykoparazitické houby *Trichoderma virens*, entomopatogenní houby *Metarhizium brunneum* a bakterií mléčného kvašení *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus pentosus*. Osivo hrachu i sóji bylo obaleno suspenzí testovaných mikroorganismů. Suspenze byla adjustována na standardní titr, 1x10⁶ spor u *T. virens*, 1x10⁶ spor u *M. brunneum* a 1x10⁷ spor *Lactobacillus* spp. v 1 ml suspenze. Namořené osivo, rozvážené na jednotlivé parcely, bylo předáno pracovníkům KARP FAPPZ ČZU k vysetí na VS Praha-Uhřetěves.

V době vegetace hrachu setého a sóji luštinaté (BBCH 59-61, počátek květu) byla provedena u vybraných variant aplikace sledovaných mikroorganismů postřikem na list. Pro větší množství aplikační suspenze bylo nutné vybrané kmeny *T. virens* a *M. brunneum* na pracovišti FZT JU České Budějovice produkovat na přirozeném substrátu, *Lactobacillus* spp. byly produkovány v tekuté živné půdě a distribuovány jako roztok. Získaný materiál byl opět předán pracovníkům KARP a použit k aplikaci na list.

Tabulka 3: Agrotechnika a ošetřování pokusu

Datum	Operace
21.3. + 23.3. 2023	Předset'ová příprava
24.3. 2023	Hrách – setí + válení po zasetí
3.5. 2023	Sója - setí + válení po zasetí
3.5. 2023	Hrách – první odběr rostlin
12.5. 2023	Vláčení proti plevelům
29.5.2023	Hrách – druhý odběr rostlin
7.6. 2023	Ruční odplevelování porostu
8.6. 2023	Sója – první odběr rostlin
20.6. 2023	Sója – druhý odběr rostlin
11.6. 2023	Hrách – postřik BMK a MEH na list
27.6. 2023	Sója – postřik BMK a MEH na list
16.8. 2023	Hrách – sklizeň
25.9. 2023	Sója – sklizeň

4.4 Hodnocení porostů hrachu setého a sóji luštinaté během vegetace, sledované produkční a kvalitativní parametry

Po vzejití porostu byl stanoven počet rostlin na m². V BBCH 13-17 (rozevření třetího a dalších listů) a v BBCH 22–28 (větvení rostlin) byly provedeny u variant s ošetřením osiva odběry rostlin hrachu a sóji a u odebraných rostlin byla stanovena průměrná délka nadzemní části rostlin a kořenů a počtu hlízek na rostlinu a hmotnost sušiny nadzemní části a kořenů na rostlinu (z každého opakování bylo provedeno stanovení z deseti náhodně vybraných rostlin).

Na počátku květu (BBCH 59-61) byla u vybraných variant provedena aplikace testovaných mikroorganismů postřikem na list. 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 m², počet větví a 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 a sóji (dle Kjeldahla, ČSN ISO 1871) a obsahu škrobu v sušině semen hrachu a sóji (polarimetricky dle Ewerse, ČSN EN 10520). U sóji bylo ještě navíc provedeno stanovení obsahu oleje v sušině semen (s využitím NIR techniky, OmegaAnalyzer G, Bruins Instruments, Německo)

4.5 Statistické hodnocení

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny testem dle Tukeye na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ v programu SAS, verze 9.4.

5 Výsledky

Část „Výsledky“ zahrnuje vyhodnocení vybraných vegetačních znaků, produkčních a kvalitativních parametrů hrachu setého a sóji luštinaté ve vztahu k jednotlivým variantám ošetření osiva, aplikace vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení (BMK), mykoparazitických hub (MEH) a entomopatogenních hub (EPF) na list během vegetace a kombinací těchto opatření a stanovení průkaznosti rozdílů mezi průměry variant (způsobů použití mikroorganismů) pomocí Tukeyeho testu.

5.1 Vliv ošetření osiva a aplikace BMK, MEH a EPF na list na vybrané vegetační znaky a produkční parametry hrachu setého a sóji luštinaté

5.1.1 Počet rostlin na m² po vzejití

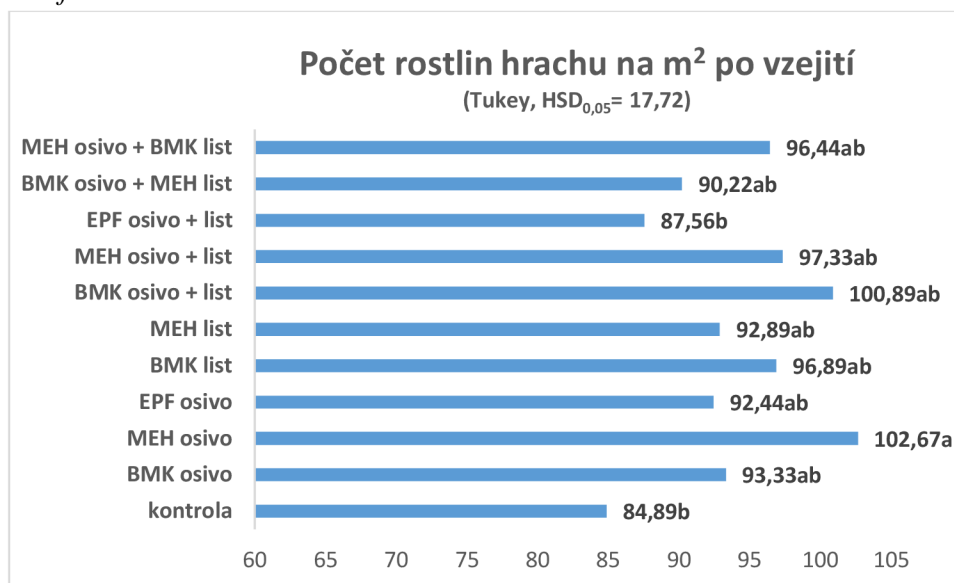
Prvním hodnoceným parametrem byl počet rostlin hrachu setého a sóji luštinaté na m² po vzejití porostu; výsledky jsou uvedeny v grafech č. 1 a 2.

Z grafu č. 1 je patrné, že hrách setý vykázal nejvyšší hodnotu počtu rostlin na m² po vzejití u varianty s ošetřením osiva MEH. Tato varianta se statisticky průkazně lišila od neošetřené kontroly. Mezi ostatními variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly, ale vzhledem k tomu, že po variantě s ošetřením osiva MEH následovala varianta s kombinovaným ošetřením BMK osivo a list a varianta MEH osivo a list, je patrný určitý pozitivní efekt ošetření osiva na počet rostlin na m² po vzejití. Na druhou stranu, rozdíly mezi variantami, kde bylo použito ošetření osiva a variantami, kde bylo provedeno ošetření testovanými mikroorganismy postřikem na list během vegetace, byly nevelké a někdy dokonce varianta, kde byla použita pouze aplikace příslušného mikroorganismu na list během vegetace, překonala variantu s ošetřením osiva.

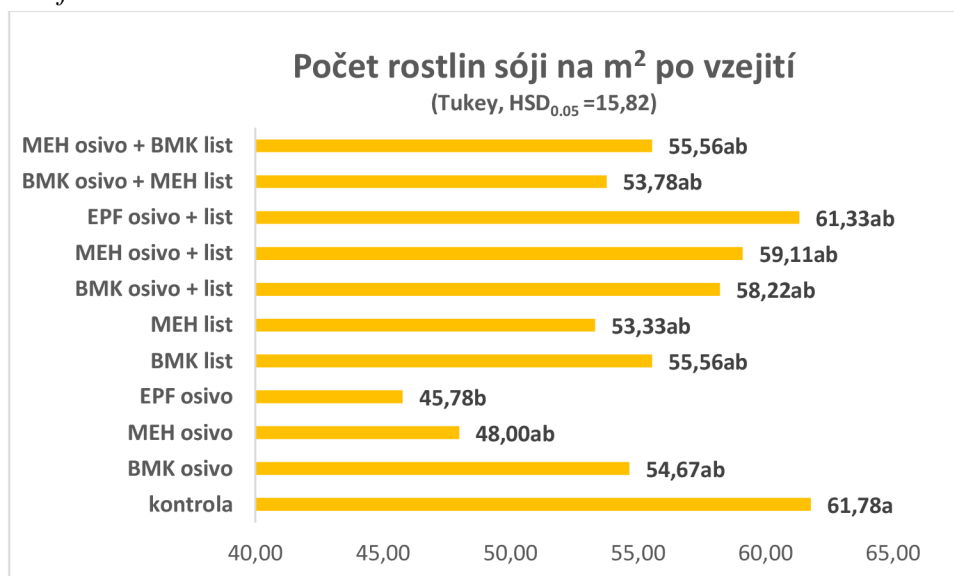
V případě sóji luštinaté byl oproti očekávání dosažen nejvyšší počet rostlin na m² po vzejití u neošetřené kontroly (graf č. 2). Tato varianta se v tomto znaku statisticky průkazně lišila od varianty s ošetřením osiva EPF, kde byl počet rostlin na m² po vzejití výrazně podprůměrný. Ostatní varianty se již v počtu rostlin na m² po vzejití od sebe statisticky průkazně nelišily, ale je vidět, že i varianty s ošetřením osiva BMK a MEH dosáhly v počtu rostlin na m² po vzejití u sóji luštinaté spíše nižších hodnot. Je tedy možné uzavřít, že v případě sóji ošetření osiva sledovanými mikroorganismy počet rostlin na m² po vzejití pozitivně neovlivnilo.

Z porovnání výsledků hrachu setého a sóji luštinaté lze říci, že shodný trend v počtu rostlin na m² ve vztahu k ošetření osiva obou plodin zaznamenán nebyl. Lze to určitě přičíst i působení dalších biotických i abiotických faktorů, které budou zmíněny a popsány v části „Diskuse“.

Graf 1:



Graf 2:



5.1.2 Vliv ošetření osiva hrachu setého a sóji luštinaté BMK, MEH a EPF na vybrané parametry rostlin (odběry rostlin v počátečních fázích vegetace)

Hodnocení výsledků prvního odběru rostlin

První odběr rostlin (nadzemní biomasa + kořeny) hrachu setého a sóji luštinaté byl proveden v BBCH 13-17 (rozevření třetího a dalších listů). Výsledky hodnocení vlivu ošetření osiva na sledované parametry hrachu a sóji jsou uvedeny v tabulkách č. 4 a 5.

Z uvedených údajů vyplývá, že u hrachu dosáhla v průměru nejvyššího počtu hlízek na rostlinu varianta s osivem ošetřeným EPF, která se statisticky průkazně lišila od varianty s osivem ošetřeným MEH, kde byl naopak počet kořenových hlízek na rostlinu nejnižší. Sója naproti tomu vůbec žádné hlízky nevytvořila. Jak již bylo uvedeno, osivo hrachu ani sóji nebylo před setím inokulováno příslušným druhem hlízkových bakterií *Rhizobium* spp. To, že sója

hlízky netvořila, nejspíše souvisí s tím, že na daném pozemku se nikdy nepěstovala a přirozeně se vyskytující příslušný druh hlízkových bakterií, který by mohl kořenový systém sóji osídlit, tedy nebyl k dispozici.

V délce nadzemní části rostlin nebyly v případě hrachu setého zjištěny statisticky průkazné rozdíly; mírně vyšší délky dosáhla v průměru varianta s osivem ošetřeným BMK, nejnižší varianta s osivem ošetřeným EPF. Statisticky průkazné rozdíly v délce nadzemní části rostlin nebyly zaznamenány ani v případě sóji; stejně jako u hrachu, i zde byla zjištěna mírně vyšší délka nadzemní části rostlin u varianty s ošetřením osiva BMK, nejnižší pak u neošetřené kontroly.

V průměrné délce kořenů rostlin se v případě hrachu od sebe jednotlivé varianty ošetřené osiva statisticky průkazně nelišily. Mírně delší kořeny měla opět varianta s osivem ošetřeným BMK, nejkratší kořeny byly u neošetřené kontroly. U sóji dosáhla největší průměrné délky kořenů varianta s osivem ošetřeným EPF, která se statisticky průkazně lišila od neošetřené kontroly, která měla kořeny nejkratší.

Dalším sledovaným parametrem byla hmotnost sušiny nadzemní části na rostlinu. V tomto znaku nebyly v případě hrachu zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi jednotlivými variantami, ale přesto dosáhly varianty s osivem ošetřenými sledovanými mikroorganismy mírně vyšších hodnot hmotnosti sušiny nadzemní části než neošetřená kontrola. Obdobná situace byla zjištěna i u sóji. Zde dosáhla nejvyšší průměrné hmotnosti sušiny nadzemní části na rostlinu varianta s osivem ošetřeným BMK; tato varianta se statisticky průkazně lišila od neošetřené kontroly, která dosáhla hodnoty nejnižší.

Pozitivní efekt ošetření osiva sledovanými užitečnými mikroorganismy se projevil i při hodnocení hmotnosti sušiny kořenů na rostlinu. U hrachu byla zjištěna nejvyšší průměrná hmotnost sušiny kořenů na rostlinu u varianty s osivem ošetřeným BMK; tato varianta se statisticky průkazně lišila od neošetřené kontroly. Podobná situace byla zaznamenána i u sóji, kde se varianta s nejvyšší průměrnou hmotností sušiny kořenů na rostlinu (ošetření osiva EPF) statisticky průkazně lišila od neošetřené kontroly.

Celkově je možné uvést, že u vybraných parametrů hrachu a sóji, které byly hodnoceny v rámci prvního odběru rostlin, byl zaznamenán určitý pozitivní efekt ošetření osiva testovanými mikroorganismy – ten se projevil především u délky kořenů rostlin, a také u hmotnosti sušiny nadzemní části na rostlinu a hmotnosti sušiny kořenů na rostlinu.

Tabulka 4: Vliv ošetření osiva na sledované parametry hrachu setého (odběr rostlin – 3.5. 2023) (Tukey, HSD_{0,05})

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Počet hlízek na rostlinu	Délka rostliny (cm)	Délka kořenů (cm)	Hmotnost sušiny nadzemní části na rostlinu (g)	Hmotnost sušiny kořenů na rostlinu (g)
Kontrola	6,95ab	10,00a	7,20a	0,53a	0,39b
BMK osivo	6,77ab	12,35a	8,33a	0,61a	0,60a
MEH osivo	5,59b	11,28a	7,93a	0,61a	0,49ab
EPF osivo	8,44a	9,88a	7,93a	0,60a	0,48ab
HSD _{0,05}	2,75	4,58	2,97	0,18	0,20

Tabulka 5: Vliv ošetření osiva na sledované parametry sóji luštinaté (odběr rostlin – 8.6. 2023) (Tukey, $HSD_{0,05}$)

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Počet hlízek na rostlinu	Délka rostliny (cm)	Délka kořenů (cm)	Hmotnost sušiny nadzemní části na rostlinu (g)	Hmotnost sušiny kořenů na rostlinu (g)
Kontrola	0	13,93a	11,47b	3,23b	0,60b
BMK osivo	0	15,53a	12,00ab	4,19a	0,77ab
MEH osivo	0	14,40a	13,33ab	3,78ab	0,78ab
EPF osivo	0	14,73a	14,47a	4,15ab	0,83a
$HSD_{0,05}$	-	3,08	2,74	0,93	0,21

Hodnocení výsledků druhého odběru rostlin

Druhý odběr rostlin hrachu a sóji byl realizován v BBCH 22–28 (větvení rostlin). Výsledky jsou uvedené v tabulkách č. 6 a 7.

V případě hrachu setého byla při druhém odběru rostlin hodnocena pouze nadzemní biomasa, protože podmínky v době odběru hrachu (značné utužení půdy vlivem sucha) nedovolily odebrat nepoškozený kořenový systém, takže výsledky by byly zkreslené. U sóji se naproti tomu i při druhém odběru podařilo kořenový systém odebrat bez výrazného poškození, díky větší vlhkosti půdy v době odběru rostlin.

Z uvedených výsledků je vidět, že u hrachu nebyly zjištěny v délce nadzemní části rostlin statisticky průkazné rozdíly, ale kontrolní varianta dosáhla druhé nejnížší délky nadzemní části rostlin ze všech hodnocených variant ošetření osiva. Obdobná situace byla zjištěna i v případě sóji; ani zde sice nebyly zjištěny v délce nadzemní části rostliny statisticky průkazné rozdíly mezi hodnocenými variantami, ale kontrola měla délku nejnížší.

Statisticky průkazně se od sebe u hrachu i u sóji nelišily ani jednotlivé varianty hmotnosti sušiny nadzemní biomasy na rostlinu, ale i zde se projevil určitý pozitivní efekt ošetření osiva sledovanými mikroorganismy. U hrachu dosáhla nejvyšší průměrné hmotnosti sušiny nadzemní biomasy na rostlinu varianta s osivem ošetřeným BMK, nejnížší neošetřená kontrola. U sóji měla nejvyšší hodnotu průměrné hmotnosti sušiny nadzemní biomasy na rostlinu opět varianta s osivem ošetřeným BMK, nejnížší opět neošetřená kontrola.

Délka kořenů a hmotnost sušiny kořenů na rostlinu byla stanovena pouze u sóji. Ani u těchto dvou znaků nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi jednotlivými variantami, ale opět se potvrdilo, že jak v délce kořenů, tak i v hmotnosti sušiny nadzemní části kořenů na rostlinu dosáhla neošetřená kontrola nejnížších hodnot.

I v případě vyhodnocení výsledků z druhého odběru rostlin je možné celkově konstatovat určitý pozitivní vliv ošetření osiva sledovanými mikroorganismy na hodnocené parametry.

Tabulka 6: Vliv ošetření osiva na sledované parametry hrachu setého (odběr rostlin – 29.5.2023) (Tukey, $HSD_{0,05}$)

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Délka rostliny (cm)	Hmotnost sušiny nadzemní části na rostlinu (g)
Kontrola	50,50a	8,98a
BMK osivo	51,83a	11,90a
MEH osivo	50,13a	9,37a
EPF osivo	51,33a	10,25a
$HSD_{0,05}$	3,65	2,98

Tabulka 7: Vliv ošetření osiva na sledované parametry sóji luštinaté (odběr rostlin – 20.6.2023) (Tukey, $HSD_{0,05}$)

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Počet hlízek na rostlinu	Délka rostliny (cm)	Délka kořenů (cm)	Hmotnost sušiny nadzemní části na rostlinu (g)	Hmotnost sušiny kořenů na rostlinu (g)
Kontrola	0	27,60a	18,07a	9,90a	1,81a
BMK osivo	0	29,80a	19,53a	11,57a	2,02a
MEH osivo	0	29,20a	18,60a	10,30a	2,01a
EPF osivo	0	29,53a	19,53a	10,67a	2,03a
$HSD_{0,05}$	-	3,06	1,69	1,69	0,68

5.1.3 Hodnocení výskytu chorob a škůdců v porostu hrachu setého a sóji luštinaté

Pro vizuální hodnocení výskytu chorob a škůdců v porostu hrachu setého a sóji luštinaté byla použita devítibodová stupnice, kde 9 bodů znamená porost zcela zdravý a 1 bod porost totálně napadený. Výsledky uvádí tabulky č. 8 a 9.

Aplikace testovaných mikroorganismů postřikem na list byla u vybraných variant provedena na počátku květu hrachu a sóji (BBCH 59–61). Hodnocení výskytu chorob a škůdců bylo pak provedeno 8–10 dní po aplikaci. Příprava materiálu (mikroorganismů pro aplikaci na list) probíhala na společném pracovišti Fakulty zemědělské a technologické JU v Českých Budějovicích a vzhledem ke kapacitním možnostem se podařilo zajistit materiál pouze pro jednu aplikaci.

Tabulka 8: Hodnocení zdravotního stavu hrachu setého

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Mšice hrachová (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)	Zrnokaz hrachový (<i>Bruchus pisorum</i>)	Padlí hrachu (<i>Erysiphe pisi</i>)
	Bodové hodnocení 1 – 9 bodů		
kontrola	8,0a	6,3a	7,3a
BMK osivo	8,0a	6,3a	7,3a
MEH osivo	8,3a	6,7a	7,3a
EPF osivo	8,3a	6,7a	7,3a
BMK list	8,7a	6,7a	8,7a
MEH list	9,0a	6,3a	8,7a
BMK osivo a list	8,7a	6,3a	8,7a
MEH osivo a list	9,0a	6,3a	8,7a
EPF osivo a list	9,0a	7,0a	8,3a
BMK osivo a MEH list	8,7a	6,7a	7,7a
MEH osivo a BMK list	9,0a	6,7a	8,0a
<i>HSD</i> _{0,05}	1,35	1,15	1,67

U hrachu setého byl zjištěn nízký výskyt mšice hrachové, která škodí sáním na listech a generativních orgánech. Varianty, kde byl proveden postřik na list, dosáhly nepatrně vyššího, a tedy lepšího bodového hodnocení, ale rozdíly mezi všemi variantami byly statisticky neprůkazné, a jak už bylo zmíněno, minimální. Dále byl zaznamenán vyšší výskyt zrnokaze hrachového, na úrovni 6–7 bodů. Efekt postřiku na list se prakticky neprojevil, rozdíly mezi variantami byly opět statisticky neprůkazné. Nicméně právě výskyt zrnokaze byl nejspíše jedním z faktorů, který negativně ovlivnil výslednou hmotnost tisíce semen hrachu (ta byla velmi nízká). Padlí hrachu bylo jedinou chorobou, která byla v porostu hrachu zaznamenána. Výskyt padlí byl na úrovni 7–8 bodů. Rozdíly mezi variantami byly opět statisticky neprůkazné, varianty, kde bylo provedeno ošetření postřikem na list, dosáhly nepatrně lepšího bodového hodnocení.

U sóji luštinaté byl zjištěn pouze nízký výskyt plísně sóji, na úrovni 8–9 bodů. Mezi jednotlivými variantami opět nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly; varianty, kde bylo provedeno ošetření postřikem na list, opět dosáhly nepatrně vyššího bodového hodnocení oproti neošetřené kontrole a variantám s ošetřením osiva.

Tabulka 9: Hodnocení zdravotního stavu sóji luštinaté

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Plíseň sóji (<i>Perenospora mashurica</i>)
	Bodové hodnocení 1 – 9 bodů
kontrola	8,0a
BMK osivo	8,0a
MEH osivo	8,3a
EPF osivo	8,0a
BMK list	9,0a
MEH list	8,7a
BMK osivo a list	8,7a
MEH osivo a list	8,7a
EPF osivo a list	8,3a
BMK osivo a MEH list	8,7a
MEH osivo a BMK list	8,7a
<i>HSD</i> _{0,05}	1,25

5.1.4 Výška porostu hrachu setého a sóji luštinaté před sklizní

Z údajů v grafu č. 3, který znázorňuje výšku porostu hrachu setého před sklizní, vyplývá, že nejdelší rostliny se v průměru vyskytovaly u varianty s osivem ošetřeným EPF, naopak v průměru nejkratší rostliny měla neošetřená kontrola. Rozdíly mezi variantami nebyly statisticky průkazné. S výjimkou kontroly a varianty s osivem ošetřeným MEH (kde byly rostliny znatelněji nižší), byla výška porostu hrachu před sklizní poměrně vyrovnaná.

Výška porostu sóji luštinaté před sklizní je znázorněna v grafu č. 4. Nejvyšší porost před sklizní měla varianta MEH osivo + BMK list, nejnižší byl v průměru porost u varianty BMK list a dále pak u neošetřené kontroly. Mezi variantami opět nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

U obou plodin patřila neošetřená kontrola k variantám s nejnižší výškou porostu před sklizní; vliv různých způsobů ošetření mikroorganismy na výšku porostu před sklizní byl nejednoznačný a zpravidla nevýrazný.

Graf 3:



Graf 4:



5.1.5 Počet větví a lusků na rostlinu hrachu setého a sóji luštinaté

Výsledky hodnocení vlivu ošetření testovanými mikroorganismy na počet větví a lusků na rostlinu u hrachu setého jsou uvedeny v tabulce č. 10, výsledky stejného hodnocení u sóji luštinaté uvádí tabulka č. 11.

Z výsledků je dobře patrný rozdílný habitus hrachu a sóji. Zatímco u hrachu byl poměrně vysoký průměrný počet větví na rostlinu, a tím pádem relativně nízký počet lusků na větev, sója větvila jen minimálně a většina vytvořených lusků se nacházela na terminálu.

Nejvyššího počtu větví na rostlinu dosáhl hrách ve variantě MEH list, nejnižší v kombinované variantě MEH osivo a list. Jednotlivé varianty se od sebe statisticky průkazně neodlišovaly. Sója dosáhla nejvyššího počtu větví na rostlinu u varianty MEH osivo a nejnižšího shodně u kombinovaných variant MEH osivo a list, BMK osivo a MEH list a u

varianty MEH osivo a BMK list. Z výsledků hrachu ani sóji není patrný žádný trend vlivu různých způsobů ošetření mikroorganismy na větvení rostlin.

Jak už bylo zmíněno, hrách větvil poměrně intenzivně, a tak byl průměrný počet lusků na větev nízký. Nejvyšší počet lusků na větev byl zjištěn u kontroly, nejnižší u varianty BMK osivo. Rozdíly mezi variantami však byly minimální a statisticky neprůkazné. U sóji výrazně převažoval počet lusků na terminálu, a zde byl v průměru zaznamenán nejvyšší počet lusků ve variantě MEH osivo a BMK list, nejnižší pak shodně ve variantách BMK osivo a list, MEH osivo a list a EPF osivo a list. Co se týče počtu lusků na větvích sóji, nejvíce jich bylo ve variantě EPF osivo, nejméně ve variantě MEH osivo. Stejně jako v případě hrachu setého, i v případě sóji byly rozdíly v počtu lusků na větvích i terminálu mezi jednotlivými variantami statisticky neprůkazné.

Tabulka 10: Počet větví a lusků na rostlinu hrachu setého (Tukey, HSD_{0,05})

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Počet větví na rostlinu	Počet lusků na větev	Počet lusků na rostlinu
kontrola	14,50a	0,52a	7,50a
BMK osivo	15,67a	0,36a	5,67a
MEH osivo	13,83a	0,45a	6,17a
EPF osivo	14,50a	0,51a	7,33a
BMK list	14,83a	0,45a	6,67a
MEH list	16,00a	0,41a	6,50a
BMK osivo a list	14,00a	0,43a	6,00a
MEH osivo a list	13,83a	0,47a	6,50a
EPF osivo a list	14,50a	0,41a	6,00a
BMK osivo a MEH list	15,83a	0,46a	7,33a
MEH osivo a BMK list	14,33a	0,44a	6,33a
HSD _{0,05}	4,78	0,18	3,41

V celkovém počtu lusků na rostlinu sója výrazně překonala hrách; počet lusků na rostlinu sóji byl oproti hrachu cca dvojnásobný. Nejvyššího průměrného počtu lusků na rostlinu dosáhla sója u varianty BMK osivo, kombinace MEH osivo a BMK list a u kontroly, nejnižšího u varianty MEH osivo a list a varianty EPF osivo a list. Hrách dosáhl nejvyššího počtu lusků na rostlinu u kontroly, nejnižšího u varianty BMK osivo. U hrachu ani u sóji se ani v počtu lusků na rostlinu jednotlivé varianty od sebe statisticky průkazně nelišily. Dále je opět patrné, že ani v celkovém počtu lusků na rostlinu nebyl u obou plodin zaznamenán zjevný trend ve vztahu k ošetření mikroorganismy.

Tabulka 11: Počet větví a lusků na rostlinu sóji luštinaté (Tukey, HSD_{0,05})

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Počet větví na rostlinu	Počet lusků na větvích	Počet lusků na terminálu	Počet lusků na rostlinu
kontrola	0,67a	2,22a	11,56a	13,78a
BMK osivo	0,67a	2,00a	11,78a	13,78a
MEH osivo	1,11a	1,78a	10,89a	12,67a
EPF osivo	0,78a	2,89a	9,78a	12,67a
BMK list	0,89a	2,22a	10,67a	12,89a
MEH list	0,78a	2,00a	11,67a	13,67a
BMK osivo a list	0,78a	2,11a	9,56a	11,67a
MEH osivo a list	0,44a	1,00a	9,56a	10,56a
EPF osivo a list	0,67a	1,00a	9,56a	10,56a
BMK osivo a MEH list	0,44a	1,56a	9,66a	11,22a
MEH osivo a BMK list	0,44a	1,00a	12,78a	13,78a
HSD _{0,05}	1,75	2,13	5,02	6,45

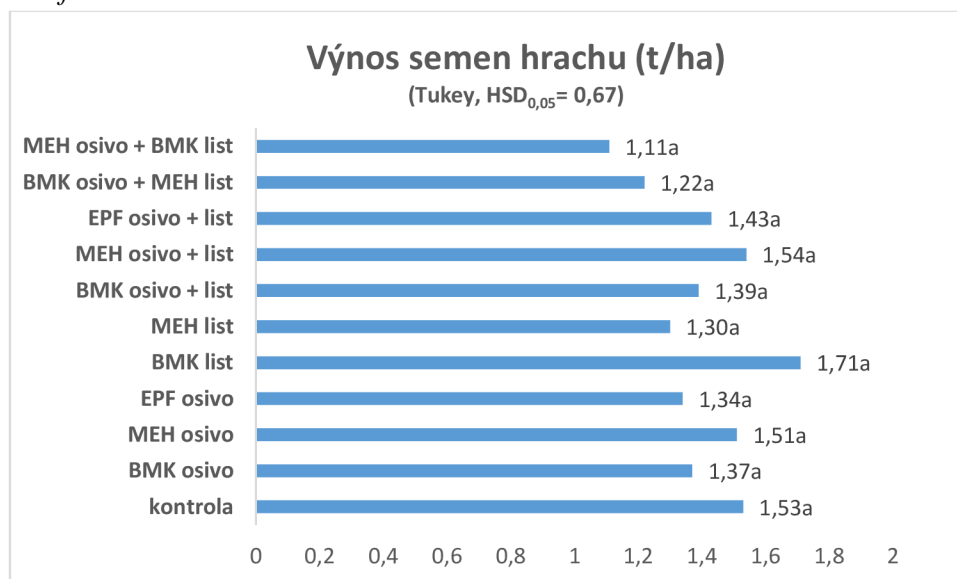
5.1.6 Výnosy semen hrachu setého a sóji luštinaté

Výnosy hrachu setého a sóji luštinaté jsou znázorněné v grafech č. 5 a 6. Z výsledků vyplývá, že hrách dosáhl nejvyššího výnosu semen u varianty BMK list, nejnižšího u varianty s kombinovaným ošetřením MEH osivo a BMK list. Neošetřená kontrola dosáhla třetího nejvyššího výnosu v pořadí všech jedenácti variant. Rozdíly mezi všemi variantami byly statisticky neprůkazné, přestože nebyly úplně malé. Bylo to patrně ovlivněno většími rozdíly ve výnosu mezi jednotlivými opakováními, což se projevilo vysokými hodnotami minimální průkazné difference. Obdobně jako v případě předchozích produkčních ukazatelů, ani u výnosu nebylo možné vysledovat zjevný trend týkající se ošetření mikroorganismy. Celkově je možné označit dosažené výnosy hrachu setého za průměrné.

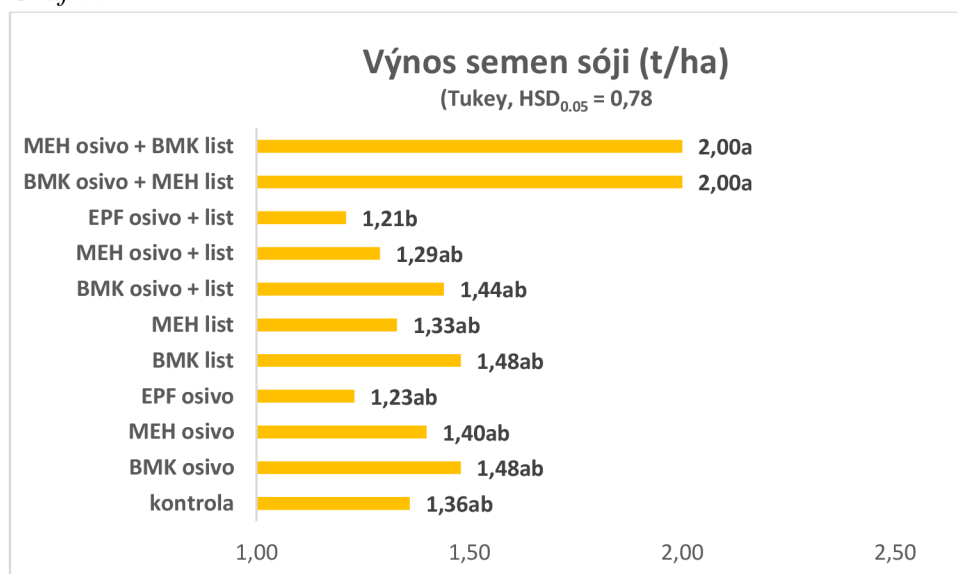
Sója luštinatá měla nejvyšší výnos ve variantách ošetřených kombinacemi MEH osivo a BMK list, a BMK osivo a MEH list. Tyto dvě varianty se statisticky průkazně lišily od varianty s nejnižším výnosem, kterého dosáhla kombinace EPF osivo a list. Ostatní varianty se od sebe statisticky průkazně neodlišovaly, opět nejspíše díky větším rozdílům mezi opakováními. Kontrola dosáhla u sóji luštinaté sedmého nejvyššího výnosu mezi jedenácti variantami.

Celkově můžeme uvést, že u sóji varianty s nejvyššími výnosy (shodně kombinace ošetření MEH osivo a BMK list, a BMK osivo a MEH list) překonaly ostatní varianty poměrně výrazně, což pravděpodobně ovlivnila skutečnost, že u těchto variant byly stanoveny nejvyšší hodnoty hmotnosti tisíce semen (HTS). U hrachu patřily právě tyto varianty k výnosově nejslabším a jejich HTS dosahovala nejnižších hodnot (viz následující kapitola).

Graf 5:



Graf 6:

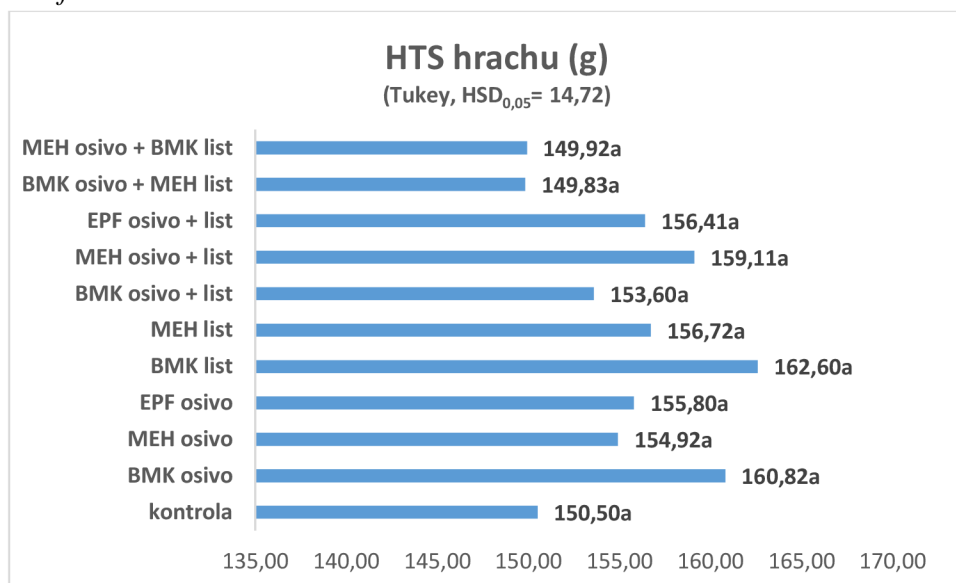


5.1.7 Hmotnost tisíce semen (HTS) hrachu setého a sóji luštinaté

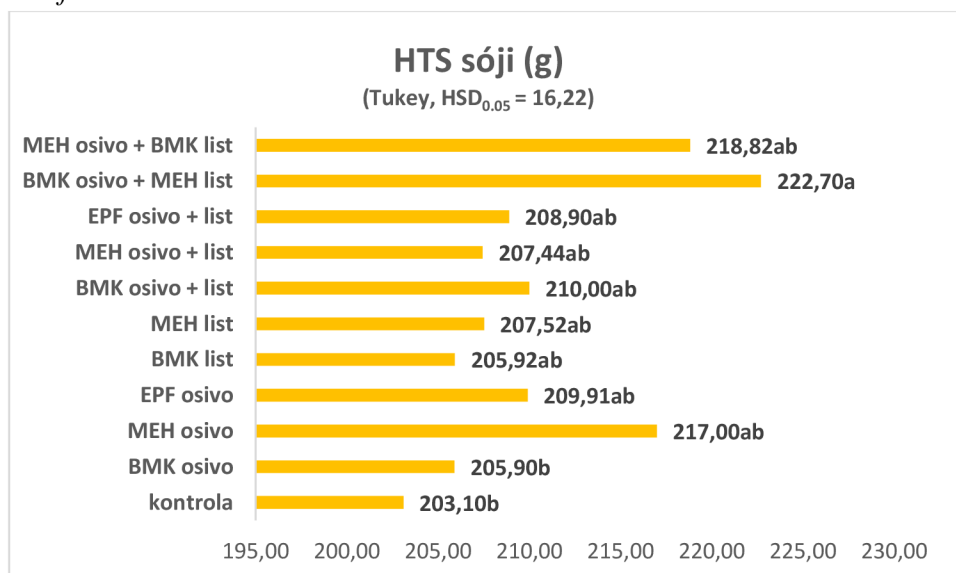
Výsledky hodnocení HTS hrachu setého a sóji luštinaté znázorňují grafy č. 7 a 8.

Hrách setý dosáhl nejvyšší průměrné HTS u varianty s ošetřením BMK list (tato varianta dosáhla celkově nejvyššího výnosu semen ze všech hodnocených variant a také mírně nadprůměrného počtu lusků na rostlinu). Nejnížší HTS byla, jak už bylo zmíněno, stanovena u variant s kombinacemi ošetření MEH osivo a BMK list, a BMK osivo a MEH list; tyto varianty také dosáhly nejnížšího výnosu. Jednotlivé varianty se v tomto znaku od sebe statisticky průkazně neodlišovaly, přestože rozdíly mezi variantami nebyly zanedbatelné.

Graf 7:



Graf 8:



U sóji luštinaté byla naopak zjištěna nejvyšší HTS u variant ošetřených kombinacemi MEH osivo a BMK list, a BMK osivo a MEH list, přičemž varianta s kombinací BMK osivo a MEH list se statisticky průkazně lišila od variant s nejnižší průměrnou HTS (BMK osivo a kontrola). Varianty s nejvyšší HTS dosáhly rovněž nejvyššího výnosu semen.

5.2 Vliv ošetření osiva a aplikace BMK, MEH a EPF na list na vybrané kvalitativní parametry hrachu setého a sóji luštinaté

Výsledky hodnocení hlavních kvalitativních parametrů semen hrachu setého a sóji luštinaté jsou uvedeny v tabulkách č. 12 a 13. U obou plodin byl hodnocen obsah N-látek a obsah škrobu v sušině semen, u sóji ještě navíc obsah oleje v sušině semen.

Nejvyšší průměrný obsah N-látek v sušině semen hrachu setého byl naměřen u varianty EPF osivo, nejnižší u varianty BMK list. Rozdíly mezi variantami nebyly velké, přesto v řadě případů statisticky průkazné. U sóji luštinaté byl dle předpokladu obsah N-látek v sušině semen vyšší ve srovnání s hrachem. Nejvyšší obsah N-látek byl stanoven u varianty s kombinací ošetření BMK osivo a MEH list, nejnižší u neošetřené kontroly.

Zjištěné hodnoty obsahu N-látek v sušině semen sóji luštinaté byly vyrovnané, přesto se některé varianty od sebe statisticky průkazně odlišovaly. Vliv ošetření mikroorganismy na obsah N-látek v sušině semen hrachu a sóji nebyl patrný.

Nejvyššího obsahu škrobu v sušině semen v průměru dosáhla u hrachu setého varianta s ošetřením EPF osivo, nejnižšího varianta ošetřená kombinací EPF osivo a list. Hodnoty obsahu škrobu v sušině semen hrachu byly opět poměrně vyrovnané, přesto v některých případech byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi variantami.

U sóji luštinaté byl obsah škrobu v sušině semen celkově výrazně nižší. Nejvyšší obsah škrobu v sušině semen sóji byl stanoven u kontroly, nejnižší u varianty s kombinací ošetření MEH osivo a BMK list. Hodnoty obsahu škrobu v sušině semen byly opět vyrovnané, přesto se některé varianty od sebe statisticky průkazně odlišovaly. Ani v případě obsahu škrobu v sušině semen nebyl zaznamenán patrný trend ve vztahu k ošetření testovanými mikroorganismy.

Poměrně vyrovnané byly i hodnoty obsahu oleje v sušině semen sóji luštinaté. Nejvyšší obsah oleje v sušině semen byl v průměru zjištěn u kontroly, nejnižší u varianty MEH osivo. Vliv ošetření mikroorganismy na obsah oleje v sušině semen sóji luštinaté se opět neprojevil.

Tabulka 12: Vybrané kvalitativní parametry hrachu setého (Tukey, $HSD_{0,05}$)

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Obsah N-látek v sušině semen (%)	Obsah škrobu v sušině semen (%)
Kontrola	27,18bcd	51,92cd
BMK osivo	27,25bc	52,57b
MEH osivo	27,20bcd	52,00c
EPF osivo	28,66a	53,92a
BMK list	26,32f	51,17f
MEH list	26,78cdef	51,26e
BMK osivo a list	26,92bcde	51,72cde
MEH osivo a list	26,50ef	51,31ef
EPF osivo a list	27,41b	50,03g
BMK osivo a MEH list	28,43a	50,95f
MEH osivo a BMK list	26,72efd	51,41de
$HSD_{0,05}$	0,52	0,55

Tabulka 13: Vybrané kvalitativní parametry sóji luštinaté (Tukey, $HSD_{0,05}$)

Varianta (ošetření mikroorganismy)	Obsah N-látek v sušině semen (%)	Obsah škrobu v sušině semen (%)	Obsah oleje v sušině semen (%)
kontrola	32,45c	24,99a	19,63a
BMK osivo	33,33abc	24,92abc	19,40abc
MEH osivo	34,10a	24,87bc	19,05c
EPF osivo	32,82bc	24,94abc	19,60a
BMK list	33,40abc	24,88abc	19,63a
MEH list	33,81ab	24,88abc	19,18bc
BMK osivo a list	33,88ab	24,86bc	19,19bc
MEH osivo a list	33,22abc	24,93abc	19,41abc
EPF osivo a list	32,80bc	24,97ab	19,48ab
BMK osivo a MEH list	34,15a	24,87bc	18,15bc
MEH osivo a BMK list	33,98a	24,83c	19,16bc
$HSD_{0,05}$	1,12	0,11	0,40

6 Diskuse

V našich pokusech s odrůdou hrachu setého Avatar a odrůdou sóji luštinatě Abaca, které byly vedeny v ekologickém systému pěstování na výzkumné stanici v Uhřetěvsi, jsme sledovali, zda a jak ovlivní různé formy použití vybraných mikroorganismů – bakterií mléčného kvašení (BMK), mykoparazitických (MEH) a entomopatogenních (EPF) hub zdravotní stav, produkční a jakostní ukazatele těchto luskovin.

Jako první ukazatel byl sledován počet rostlin sóji a hrachu na m^2 po vzejití, kde jsme hodnotili, zda se ošetření osiva výše uvedenými mikroorganismy projeví na polní vzcházivosti. König et al. (2005) uvádějí, že polní vzcházivost může být významně ovlivněna průběhem povětrnostních podmínek, zejména množstvím srážek a vlhkostními poměry v půdě během klíčení a vzcházení, ale také přítomností škodlivých činitelů, tedy chorob a škůdců jak na osivu, tak v půdním prostředí. To se může negativně projevit právě v ekologickém systému hospodaření, kde nelze osivo ošetřit pomocí chemických mořidel s fungicidním a insekticidním působením. V našem pokusu s hrachem vykázala nejvyšší počet rostlin na m^2 po vzejití varianta s osivem ošetřeným MEH (102 rostlin/ m^2), nejnižší neošetřená kontrola (85 rostlin/ m^2). Vzhledem k tomu, že po variantě s ošetřením osiva MEH následovaly varianty s kombinovaným ošetřením BMK osivo a list a MEH osivo a list, je možné říci, že určitý pozitivní efekt ošetření osiva na počet vzešlých rostlin se projevil. U sóji luštinatě byl oproti očekávání zjištěn nejvyšší počet rostlin na m^2 po vzejití u neošetřené kontroly (61 rostlin/ m^2), nejnižší u varianty s osivem ošetřeným EPF (45 rostlin/ m^2), kde byl výrazně podprůměrný. Celkově můžeme říci, že v případě sóji se ošetření osiva testovanými mikroorganismy na polní vzcházivosti pozitivně neprojevovalo.

Při použití prostředků biologické ochrany lze očekávat nižší účinnost než v případě použití chemických prostředků (Pultar 2008; Satranský et al. 2023), vzhledem k výraznému vlivu podmínek prostředí na biologické činitele. V našich pokusech byl těsně před setím hrachu a sóji, a dále pak po vzejití rostlin proveden odběr půdních vzorků; tyto vzorky byly podrobeny analýze na společném pracovišti FZT JU České Budějovice a výsledky Konvaliny et al. (2024) potvrdily přítomnost testovaných mikroorganismů v půdě v oblasti kořenové zóny rostlin. To naznačuje, že uvedené mikroorganismy „nevymizely“, ale určitým způsobem působily a jistý pozitivní efekt, který se projevil u hrachu, tak bylo možné očekávat. To, že se tento efekt neprojevil u sóji, mohlo být ovlivněno poškozováním vzcházejícího porostu ptactvem (vytahování rostlin), které bylo náhodné a postihovalo pokusné parcely bez ohledu na ošetření osiva.

Celkově je ale třeba uvést, že jak u hrachu, tak i u sóji, dosahoval počet vzešlých rostlin poměrně vysokých hodnot, nepochybně i díky výsevkům, které byly zvoleny na horní doporučené hranici. Houba et al. (2018) doporučují u hrachu výsevek 1,0 – 1,1 MKS/ha, u sóji 0,6 – 0,8 MKS/ha; v našich pokusech byl výsevek hrachu na úrovni 1,1 MKS/ha a u sóji 0,75 MKS/ha.

Ve fázi rozevření prvních listů a ve fázi větvení byly u hrachu i sóji provedeny odběry rostlin (včetně kořenů) pro posouzení vlivu ošetření osiva na vybrané vegetační parametry. Při prvním odběru hrachu byly sice rozdíly v průměrné délce nadzemní části rostlin i délce kořenů a hmotnosti sušiny nadzemní části na rostlinu statisticky neprůkazné, ale neošetřená kontrola

zpravidla dosáhla nepatrně lepších výsledků. Pouze u hmotnosti sušiny kořenů na rostlinu byly rozdíly mezi variantami výraznější a neošetřená kontrola, kde byla hodnota hmotnosti sušiny na rostlinu nejnižší, se statisticky průkazně lišila od varianty s ošetřením osiva BMK, kde byla hmotnost kořenů nejvyšší. Obdobně sója dosáhla ve variantách s ošetřením osiva jak v délce rostlin a kořenů, tak i v průměrné hmotnosti sušiny nadzemní části i kořenů na rostlinu mírně vyšších hodnot ve srovnání s neošetřenou kontrolou a v některých případech se dokonce kontrola statisticky průkazně lišila od variant s ošetřeným osivem. Při druhém odběru rostlin ve fázi větvení se výše uvedené trendy u hrachu i sóji udržely, ale rozdíly mezi variantami byly ve všech případech statisticky neprůkazné.

Kromě uvedených parametrů byl v rámci odběrů rostlin hodnocen i počet kořenových hlízek na rostlinu. Podle Šarapatky (2003) je pro jejich tvorbu a aktivitu důležitá hladina dusíku v půdě; pokud je vyšší, zpomaluje se příjem dusíku ze vzduchu. Houba et al. (2009) uvádějí, že pro zajištění dostatečného množství kořenových hlízek se doporučuje naočkování osiva přípravkem Rhizobin, a to zejména v případě, že daná luskovina nebyla na daném pozemku pěstována; současně dodávají, že není vhodné kombinovat očkování osiva hlízkovými bakteriemi s mořením osiva. V našich pokusech jsme očkování osiva hrachu ani sóji hlízkovými bakteriemi nepoužili, abychom vyloučili případné vzájemné ovlivnění s mikroorganismy použitými k ošetření osiva. Počet hlízek na kořenech hrachu se pohyboval mezi 6–8 hlízkami, což je podle Houby et al. (2009) průměrná hodnota. Na kořenovém systému sóji se nevytvořily vůbec žádné hlízky, ale to bylo možné předpokládat, protože sója se na daném pozemku ještě nikdy nepěstovala. Vliv ošetření osiva na tvorbu hlízek u hrachu byl nejednoznačný; nejvyšší průměrný počet hlízek na rostlinu měla varianta s osivem ošetřeným EPF, nejnižší varianta s osivem ošetřeným MEH.

Podle řady autorů (Clement et al. 2009; Houba et al. 2009; Procházka et al. 2023) patří luskoviny k plodinám náchylným vůči chorobám a škůdcům. V našich pokusech byla u vybraných variant pokusu provedena na počátku květu luskovin aplikace testovaných mikroorganismů postřikem a cca 10 dní po aplikaci bylo pomocí bonitační stupnice provedeno vizuální posouzení výskytu chorob a škůdců. U hrachu byl zjištěn nízký výskyt mšice hrachové a padlí hrachu a varianty, kde byl proveden postřik na list, dosáhly nepatrně lepšího bodového hodnocení; rozdíly mezi všemi variantami ale byly minimální a statisticky neprůkazné. Dále jsme zaznamenali vyšší výskyt zrnokaze (na úrovni 6–7 bodů) – to ale bylo v pozdějším období, na mladých luscích, a aplikace mikroorganismů jeho výskyt nijak neovlivnila. U sóji luštinaté byl zjištěn pouze nízký výskyt plísně sóji, a vliv ošetření postřikem na list se opět neprojevil. Podle našeho názoru při aplikaci prostředků biologické ochrany během vegetace, na list, není jedna aplikace dostačující; pro zajištění vyšší účinnosti by měla být toto ošetření provedeno minimálně dvakrát i vícekrát.

Houba et al. (2008) uvádějí, že délka rostlin v době sklizně u současných odrůd hrachu se zpravidla pohybuje okolo 70 cm i více. V našich pokusech se délka rostlin hrachu před sklizní pohybovala mezi 70–77 cm. Butt et al. (1998) uvádějí, že optimální délka rostlin odrůd sóji se pohybuje mezi 70–90 cm, Procházka et al. (2023) uvádějí na základě výsledků svých pokusů obdobné údaje - délka rostlin se pohybovala mezi 75 – 95 cm. V našem pokusu dosáhla sója nižší výšky porostu, pouze mezi 60–68 cm. U obou luskovin patřila kontrola k variantám s nejnižší výškou porostu před sklizní, ale vliv různých způsobů ošetření mikroorganismy na délku rostlin byl nejednoznačný.

Před sklizní byl v našich pokusech u hrachu i sóji sledován průměrný počet větví na rostlinu, počet lusků na větev a počet lusků na rostlinu. Z výsledků je dobře patrný rozdílný habitus hrachu a sóji. U hrachu byl zaznamenán poměrně vysoký počet větví na rostlinu (mezi 14 až 16 větvemi) a tím pádem nízký počet lusků na větev (0,4 – 9,5), sója větvila jen minimálně (0,4 – 0,8 větví na rostlinu) a dosahovala v průměru cca 1–2 lusků na větvích a 10–12 lusků na rostlinu. Celkově dosáhl hrách v průměru cca 6–7 lusků na rostlinu a sója cca 10–13 lusků na rostlinu. Procházka et al. (2023) uvádějí, že v jejich pokusech dosahovala sója 0,7 – 1,8 větví na rostlinu, 1,7 – 5,9 lusků na větvích 24–29 lusků na rostlinu; jejich výsledky tedy byly velmi variabilní (v závislosti na odrůdě a meziřádkové vzdálenosti). Z výsledků hrachu i sóji v našich pokusech nevyplýval žádný trend, který by naznačoval vliv ošetření mikroorganismy, ať už ve formě ošetření osiva, nebo ve formě postřiku na list či kombinovaného ošetření (osivo i list) na výše uvedené parametry. U hrachu i sóji byly rozdíly mezi všemi variantami pokusu u těchto znaků statisticky neprůkazné.

Houba et al. (2009) uvádějí, že výnos hrachu se v našich podmínkách zpravidla pohybuje nad 2 t/ha, ale může být i znatelně vyšší. Všetečka (2019) uvádí, že v roce 2016 dosáhl ve svých pokusech výnosu sóji na úrovni 2,93 t na ha a Procházka et al. (2023) uvádějí na základě svých pokusů výnos sóji mezi přesahující 3 t/ha, podobně jako Štranc et al. (2010), kteří dosáhli výnosů sóji v rozmezí 2,6 – 3,3 t/ha. V našich pokusech se výnosy hrachu pohybovaly pouze mezi 1,11 t/ha (varianta s kombinovaným ošetřením MEH osivo a BMK list) a 1,71 t/ha (varianta BMK list). Kontrola dosáhla třetího nejvyššího výnosu v pořadí všech jedenácti variant. Rozdíly mezi všemi variantami byly statisticky neprůkazné, což bylo nejspíše ovlivněno poměrně silným zaplevelením ve druhé polovině vegetace; výskytem myší a pravděpodobně i poškozením ptactvem v počátečních fázích vegetace. Opět nebylo možné sledovat zjevný trend týkající se možného vlivu ošetření mikroorganismy na výnos semen.

U sóji se v našich pokusech výnosy pohybovaly pouze mezi 1,21 t/ha (varianta s kombinovaným ošetřením EPF osivo a list) a 2,00 t/ha (shodně varianty s kombinovaným ošetřením MEH osivo a BMK list, a BMK osivo a MEH list). Variantami s nejvyššími výnosy sóji současně dosáhly nejvyšších hodnot HTS. Kontrola dosáhla u sóji luštinaté sedmého nejvyššího výnosu mezi jedenácti variantami.

Houba et al. (2018) uvádějí, že hmotnost tisíce semen (HTS) hrachu setého se zpravidla pohybuje mezi 225 až 280 g. V našich pokusech byla HTS hrachu výrazně podprůměrná, pohybovala se pouze mezi cca 150–160 g, přičemž varianty s nejnižší HTS současně dosáhly nejnižších výnosů. Takto nízká HTS byla pravděpodobně ovlivněna jednak výskytem zrnokaze, ale nejspíše i silným zaplevelením ve druhé polovině vegetace, které se nedařilo uspokojivě zvládat.

Podle Procházkovy et al. (2023) dosahuje HTS sóji zpravidla hodnot mezi 180 a 230 g. V našich pokusech se HTS sóji mezi 203 a 222 g, přičemž nejvyšší HTS byla zjištěna u nejvýnosnějších variant s kombinovaným ošetřením BMK osivo a list, a MEH osivo a list.

V rámci posklizňového hodnocení jakostních parametrů semen hrachu a sóji bylo provedeno stanovení obsahu N-látek a škrobu v sušině semen, a u sóji navíc i obsah oleje v sušině semene.

Dle Bobrecka-Jamro et al. (2018) je obsah N-látek v semeni sóji odrůdově specifický, a je ovlivněn také ročníkem a dalšími faktory prostředí. Prugar (2008) zmiňuje průměrný obsah N-látek u sóji na úrovni 36 % a Procházka et al. (2023) uvádějí na základě svých výsledků, že

se obsah N-látek v sušině semen sóji pohyboval mezi 37–51 %. V našich pokusech se obsah N-látek v sušině semen sóji pohyboval okolo 33 %; rozdíly mezi jednotlivými variantami byly jen malé (i když v některých případech statisticky průkazné) a zřetelnější trend ve vztahu k ošetření mikroorganismy nebyl patrný.

Boye et al. (2010) uvádějí, že obsah N-látek v semeni hrachu se pohybuje v rozmezí 20–25 %; Houba et al. (2009) uvádějí podobné rozmezí hodnot, mezi cca 22 a 24 %. V našich pokusech byl obsah N-látek v sušině semen hrachu mírně vyšší a pohyboval se okolo 27 %. Vliv ošetření mikroorganismy opět nebyl zřejmý.

Stevenson et al. (2006) ve své studii uvádějí, že 20 dní před sklizní obsahuje sója 10,9 – 11,7 % škrobu v sušině, a tento obsah se postupně do sklizně zvyšuje. V našem pokusu se obsah škrobu v sušině semene sóji pohyboval okolo 24 %. Wu et al. (2023) uvádí, že průměrný obsah škrobu v semeni hrachu se pohyboval v rozmezí od 39,44 % do 46,23 %, Houba et al. (2009) uvádějí hodnoty obsahu škrobu v sušině semen hrachu okolo 50 %. V našem pokusu se obsah škrobu v sušině semen hrachu pohyboval mezi 50–52 %. Ani v případě obsahu škrobu se u obou luskovin neprojevil vliv ošetření mikroorganismy na tento jakostní parametr.

U sóji byl hodnocen i obsah oleje (tuku) v sušině semene, a ten dosahoval hodnot okolo 19 % (opět nebyl zaznamenán vztah k ošetření mikroorganismy). Naše hodnoty obsahu tuku v sušině semen sóji byly mírně vyšší, než uvádějí Procházka et al. (okolo 17 %) a byly na obdobné úrovni, kterou zmiňují Štranc et al. (19 %).

Celkově můžeme na základě výsledků uvést, že v našich pokusech jsme zaznamenali určitý pozitivní efekt ošetření osiva testovanými mikroorganismy na porosty hrachu i sóji, a to zejména na počátku vegetace. Vliv ošetření porostů hrachu a sóji prospěšnými mikroorganismy formou postřiku na list na počátku květu nevykázal zjevný dopad. Ve druhé polovině vegetace se negativně projevoval výskyt pozdních plevelů; toto zaplevelení postihlo pokusné pozemky nerovnoměrně a spolu s výskytem myši nepochybně ovlivnilo sledované produkční parametry. Efekt ošetření mikroorganismy tak už byl zkreslený, nebo se neprojevil.

7 Závěr

Cílem práce bylo vyhodnocení vybraných vegetačních znaků, produkčních a kvalitativních parametrů hrachu setého a sóji luštinaté v závislosti na ošetření osiva a aplikaci vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení (BMK), entomopatogenních (EPF) a mykoparazitických (MEH) hub formou postřiku na list během vegetace.

- U hrachu setého byl zaznamenán určitý pozitivní efekt ošetření osiva sledovanými mikroorganismy na vzcházivost porostu; naproti tomu v případě sóji luštinaté ošetření osiva nemělo na počet rostlin na m² po vzejití pozitivní dopad
- V počátečním období vegetace hrachu i sóji byly provedeny dva odběry rostlin pro posouzení vlivu ošetření osiva na vybrané vegetační znaky. Přestože rozdíly mezi variantami s ošetřením osiva a neošetřenou kontrolou byly u obou plodin statisticky neprůkazné, projevil se u variant s osivem ošetřeným BMK, MEH i EPF mírný pozitivní efekt v podobě delších kořenů i nadzemní biomasy, a také větší hmotnosti sušiny kořenů a nadzemní části rostlin ve srovnání s kontrolou.
- Při vizuálním hodnocení zdravotního stavu porostů byl zaznamenán u hrachu nízký výskyt mšice hrachové a padlí hrachu a vyšší výskyt zrnokaze hrachového, který se nejspíše podepsal na výrazně podprůměrné hmotnosti tisíce semen hrachu; zdravotní stav sóji byl dobrý a byl zjištěn pouze nízký výskyt plísně sóji. Lze se domnívat, že aplikace testovaných mikroorganismů formou postřiku na list nevykázala žádný zjevný dopad na výsledný výnos ani na další produkční parametry.
- U sóji luštinaté dosáhly nejvyšších výnosů varianty s kombinovaným ošetřením MEH osivo a BMK list, a BMK osivo a MEH list; u těchto variant byly současně stanoveny nejvyšší hodnoty HTS
- U hrachu setého patřily naopak právě tyto varianty k výnosově nejslabším a jejich HTS dosahovala nejnižších hodnot
- Sledované jakostní ukazatele (obsah N-látek a škrobu v sušině semen hrachu a sóji; u sóji ještě navíc obsah oleje v sušině semen) nebyly aplikací mikroorganismů nijak ovlivněny
- Celkově je možné uvést, že u hrachu ani u sóji jsme nezaznamenali ani u jednoho ze sledovaných mikroorganismů zřetelný trend lepší či horší účinnosti; efekt jejich použití byl nejednoznačný a většinou nevýrazný
- Jak u hrachu, tak i u sóji byl pokus ovlivněn některými nepříznivými činiteli – např. poškozením ptáky během vzcházení a v počátečních fázích růstu a zaplevelením především ve druhé polovině vegetace. To možná přispělo k tomu, že efekt použití testovaných mikroorganismů byl nižší, než jsme očekávali.

8 Literatura

- Abral H, Arikxa J, Mahardika M, Handayani D, Aminah I, Sandrawati N, Pratama AB, Fajri N, Sapuan SM, Ilyas RA. 2020. Transparent and antimicrobial cellulose film from ginger nanofiber. *Food Hydrocolloids* **98**:105266.
- Behie SW, Zelisko PM, Bidochka MJ. 2012. Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. *Science (New York, N.Y.)* **336**:1576–1577.
- Boucias DG, Pendland JC. 1984. Nutritional requirements for conidial germination of several host range pathotypes of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. *Journal of Invertebrate Pathology* **43**:288.
- Boucias DG, Pendland JC, Latge JP. 1988. Nonspecific Factors Involved in Attachment of Entomopathogenic Deuteromycetes to Host Insect Cuticle. *Applied and Environmental Microbiology* **54**:1795–1805.
- 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 & Francis.
- Butt TM, Goettel MS. 2000. Bioassays of entomogenous fungi. Pages 141–195 in Navon A, Ascher KRS, editors. *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. CABI publishing, Wallingford. Available from <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/9780851994222.0141> (accessed February 27, 2024).
- Butt TM, Segers RJ, Leal SCM, Kerry BR. 1998. Variation in the subtilisins of fungal pathogens of insects and nematodes. Pages 149–169 in Bridge P, Couteaudier Y, Clarkson J, editors. *Molecular Variability of fungal pathogens*. CAB International, Wallingford.
- Český statistický úřad. 2024. Osevní plochy zemědělských plodin. Available from https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystup-objekt&pvo=ZEM02A&z=T&f=TABULKA&skupId=346&katalog=30840&evo=v2266_!_ZEM02A-2023T_1&fbclid=IwAR09_RCdc0w0OxrKs4xBIC2K1RTKVsuI_8GVMB3ZS9sW1IyfWsxI6N5XWAA#w= (accessed March 3, 2024).
- Clement S, Mcphee K, Elberson L, Evans M. 2009. Pea weevil, *Bruchus pisorum* L. (Coleoptera: Bruchidae), resistance in *Pisum sativum* X *Pisum fulvum* interspecific crosses. *Plant Breeding* **128**:478–485.
- Elnahal ASM, El-Saadony MT, Saad AM, Desoky E-SM, El-Tahan AM, Rady MM, AbuQamar SF, El-Tarabily KA. 2022. The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: A review. *European Journal of Plant Pathology* **162**:759–792.
- Falta V. 2018. Přípravky a metody pro ochranu v ekologické a bezreziduální produkci. Available from [https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-](https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a)

pestovani/skudci/pripravky-a-metody-pro-ochranu-v-ekologicke-a-bezrezidualni-produkci (accessed March 3, 2024).

- Fondevilla S, Avila C, Cubero J, Rubiales D. 2005. Response to *Mycosphaerella pinodes* in a germplasm collection of *Pisum* spp. *Plant Breeding* **124**:313–315.
- Gajbhiye MH, Kapadnis BP. 2016. Antifungal-activity-producing lactic acid bacteria as biocontrol agents in plants. *Biocontrol Science and Technology* **26**:1451–1470. Taylor & Francis.
- Gašić S, Tanović B. 2013. Biopesticide formulations, possibility of application and future trends. *Pesticidi i fitomedicina* **28**:97–102.
- Gerez C I., Carbajo M s., 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.
- Ghorbanpour M, Omidvari M, Abbaszadeh-Dahaji P, Omidvar R, Kariman K. 2018. Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biological Control* **117**:147–157.
- Goettel MS. 1992. Fungal agents for biocontrol. Pages 122–132 in Lomer CJ, Prior C, editors. *Biological control of Locusts and Grasshoppers*. CAB International, Wallingord.
- Goettel MS, Douglas Inglis G, Duke GM, Lord JC, Jaronski ST. 2021. Measurement of internal *Beauveria bassiana* to ascertain non-target impacts on arthropods in field environments. *Biocontrol Science and Technology* **31**:834–849. Taylor & Francis.
- Goettel MS, Eilenberg J, Glare T. 2005. Entomopathogenic Fungi and their Role in Regulation of Insect Populations. Pages 361–405 in Gilbert LI, editor. *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Amsterdam. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0444519246000880> (accessed March 3, 2024).
- Grimm C. 2001. Economic feasibility of a small-scale production plant for entomopathogenic fungi in Nicaragua. *Crop Protection* **20**:623–630.
- Grizon A, Theil S, Helinck S, Gerber P, Bonnarme P, Chassard C. 2024. Genomic Characterization of Wild *Lactobacillus delbrueckii* Strains Reveals Low Diversity but Strong Typicity. *Microorganisms* **12**:512.
- Hajek AE, Delalibera I. 2010. Fungal pathogens as classical biological control agents against arthropods. *BioControl* **55**:147–158.
- Hajek AE, Eilenberg J. 2018. *Natural Enemies: An Introduction to Biological Control*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hashemi M et al. 2023. The mycoparasite *Pythium oligandrum* induces legume pathogen resistance and shapes rhizosphere microbiota without impacting mutualistic interactions. *Frontiers in Plant Science* **14**:1–17. Frontiers.

- Hesketh H, Roy HE, Eilenberg J, Pell JK, Hails RS. 2009. Challenges in modelling complexity of fungal entomopathogens in semi-natural populations of insects. *The Ecology of Fungal Entomopathogens*:55–73.
- Hirte WF, Glathe I, Adam H. 1989. Produktion und applikation eines mikrobiellen Präparates auf der basis von *Aschersonia*-Sporen. *Zentralblatt für Mikrobiologie* **144**:151–162.
- Hosnedl V, Hochman M. 1994. *Základy pěstování hrachu*. Institut výchovy a vzdělávání MZEe, Praha.
- Houba M. 2018. *Luskoviny - charakteristika, pěstování, využití* 1. Profi Press, Praha.
- Houba M, Dostálová R, Hýbl M. 2009. *Hrách setý*. Pages 67–74 in Houba M, Hochman M, Hosnedl V, editors. *Luskoviny pěstování a užití*. Kurent, České Budějovice.
- Höving S, Akermann M, Schiller A, Franzke J, Schwendemann D, Brandt S. 2024. Functionalization of Cyclic Olefin Copolymer for Enhanced Electrical Conductivity in Material Extrusion 3D-Printing: Potential Applications in Laboratory Environments and Small-Scale Experiments. *3D Printing and Additive Manufacturing* DOI: 10.1089/3dp.2023.0304. Mary Ann Liebert, Inc., publishers. Available from <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/3dp.2023.0304> (accessed April 4, 2024).
- Humber R. 2012. Identification of entomopathogenic fungi. Pages 151–187 in Lacey LA, editor. *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Academic press, Oxford.
- Hýbl M. 2014. *Hrách setý (Pisum sativum L.)*. Pages 205–228 in Konvalinka P, editor. *Pěstování vybraných plodin v ekologickém zemědělství*. Jihočeská univerzita, České Budějovice.
- Hýbl M, Zelenov A, Václavíková J. 1998. Determinantní formy hrachu (*Pisum sativum L.*) a jejich využití ke zlepšení významných hospodářských vlastností. Pages 148–153 *Konference s mezinárodní účastí*. VÚP Troubsko, Brno.
- Ignoffo CM, Garcia C. 1992. Influence of Conidial Color on Inactivation of Several Entomogenous Fungi (Hyphomycetes) by Simulated Sunlight. *Environmental Entomology* **21**:913–917.
- Imoulan A, Alaoui A, El Meziane A. 2011. Natural occurrence of soil-borne entomopathogenic fungi in the Moroccan Endemic forest of *Argania spinosa* and their pathogenicity to *Ceratitis capitata*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **27**:2619–2628.
- Imoulan A, Hussain M, Kirk PM, El Meziane A, Yao Y-J. 2017. Entomopathogenic fungus *Beauveria*: Host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. *Journal of Asia-Pacific Entomology* **20**:1204–1212.
- Indrasnil S, Bandyopadhyay S. 2020. Emergence of antimicrobial-resistant bacteria in environment. Pages 39–45 in Indranil S, Bandyopadhyay S, editors. *Antimicrobial resistance in agriculture*. Academic press, Cambridge.

- Inglis G, Goettel M, Butt M, Strasser H. 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. Pages 23–69 *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*. CABI publishing, Wallingford.
- Inglis GD, Goettel MS, Johnson DL. 1993. Persistence of the Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana*, on Phylloplanes of Crested Wheatgrass and Alfalfa. *Biological Control* **3**:258–270.
- James RR, SHAFFER BT, CROFT B, LIGHTHART B. 2010. Field Evaluation of *Beauveria bassiana*: Its Persistence and Effects on the Pea Aphid and a Non-target Coccinellid in Alfalfa. *Biocontrol Science and Technology* **5**:425–438. Taylor & Francis.
- Jaronski S. 2007. Soil ecology of the entomopathogenic Ascomycetes: a critical examination of what we (think) we know. *Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management*:91–143.
- Kazda J, Mikulka J, Prokinová E. 2010. *Encyklopedie ochrany rostlin*. Profi Press, Praha.
- Kepler RM, Maul JE, Rehner SA. 2017. Managing the plant microbiome for biocontrol fungi: examples from Hypocreales. *Current Opinion in Microbiology* **37**:48–53.
- Khalil N, Dabour N, El-Ziney M, Kheadr E. 2021. Food Bio-Preservation: An Overview with Particular Attention to *Lactobacillus plantarum*. *Alexandria Journal of Food Science and Technology* **18**:33–50.
- Klingen I, Haukeland S. 2006. Klingen, I. & Haukeland, S. 2006. The soil as a reservoir for natural enemies of pest insects and mites with emphasis on fungi and nematodes. In: *An ecological and societal approach to biological control*. Series: Progress in biological control, Vol. 2 Spr. Pages 145–211 in Eilenberg J, Hokkanen HMT, editors. *An ecological and societal approach to biological control*. Springer, Berlin.
- Konvalina P, Stehno Z, Capouchová I, Moudry J, Konvalina P, Stehno Z, Capouchová I, Moudry J. 2011. Wheat Growing and Quality in Organic Farming. Page Research in Organic Farming. IntechOpen. Available from <https://www.intechopen.com/chapters/25091> (accessed February 25, 2024).
- Konvalina P. et al. 2024. Průběžná zpráva o realizaci projektu NAZV Mze QK22010255 za rok 2023. 20s.
- Kuthan A. 2022. Lze nahradit syntetické pesticidy biologickými přípravky? Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/lze-nahradit-synteticke-pesticidy-biologickymi-pripravky> (accessed March 3, 2024).
- Lahlali R, Ezrari S, Radouane N, Kenfaoui J, Esmael Q, El Hamss H, Belabess Z, Barka EA. 2022. Biological Control of Plant Pathogens: A Global Perspective. *Microorganisms* **10**:596. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Lahola J. 1990. *Luskoviny pěstování a využití*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Landa Z. 1994. *Entomopatogenní houby v biologické ochraně rostlin*. Habilitační práce. Zemědělská fakulta Jihočeské University, České Budějovice.

- Landa Z. 1998. Biopreparáty na bázi entomopatogenních hub. *Agro* **10**:7–12.
- Lavermicocca P, Valerio F, Visconti A. 2003. Antifungal Activity of Phenyllactic Acid against Molds Isolated from Bakery Products. *Applied and Environmental Microbiology* **69**:634–640. American Society for Microbiology.
- Li DP, Holdom DG. 1993. Effect of Soil Matric Potential on Sporulation and Conidial Survival of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Invertebrate Pathology* **62**:273–277. Elsevier Science.
- Lindgren SE, Dobrogosz WJ. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiology Reviews* **7**:149–163.
- Martinková Z, Honěk A. 2008. Úvod. Page in Martinková Z, Honěk A, editors. *Význam predátorů a parazitoidů v integrovaných systémech ochrany rostlin*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.
- McCoy C, Quintela E, Faria M. 2001. Environmental persistence of entomopathogenic fungi. Pages 1–9. University Agricultural Center, Louisiana.
- McPhee KE, Tullu A, Kraft JM, Muehlbauer FJ. 1999. Resistance to *Fusarium Wilt* Race 2 in the *Pisum* Core Collection. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **124**:28–31. American Society for Horticultural Science.
- Mesquita E, Hu S, Lima TB, Golo PS, Bidochka MJ. 2023. Utilization of *Metarhizium* as an insect biocontrol agent and a plant bioinoculant with special reference to Brazil. *Frontiers in Fungal Biology* **4**:1276287.
- Meyling N, 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.
- Meyling NV, Thorup-Kristensen K, Eilenberg J. 2011. Below- and aboveground abundance and distribution of fungal entomopathogens in experimental conventional and organic cropping systems. *Biological Control* **59**:180–186.
- Ministerstvo zemědělství. 2024. Registr přípravků na ochranu rostlin. Available from <https://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Detail.aspx?id=38698&stamp=638461425427611065> (accessed March 16, 2024).
- Mokoena MP. 2017. Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry* **22**:1255.
- Molnár I, Gibson DM, Krasnoff SB. 2010. Secondary metabolites from entomopathogenic Hypocrealean fungi. *Natural Product Reports* **27**:1241.
- Moore D, Bridge P, Higgins P, Bateman R, Prior C. 2008. Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. *Annals of Applied Biology* **122**:605–616.

- Mukherjee PK, Mendoza-Mendoza A, Zeilinger S, Horwitz BA. 2022. Mycoparasitism as a mechanism of Trichoderma-mediated suppression of plant diseases. *Fungal Biology Reviews* **39**:15–33.
- Murindangabo YT, Kopecký M, Perná K, Nguyen TG, Konvalina P, Kavková M. 2023. Prominent use of lactic acid bacteria in soil-plant systems. *Applied Soil Ecology* **189**:104955.
- Navrátilová M. 1999. Results of the efficacy evaluation of biological control agents in glasshouses in the Czech Republic 1. *EPPO Bulletin* **29**:69–72.
- Ondráčková E. 2017. Entomopatogenní houby v ochraně rostlin proti škůdcům. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/entomopatogenni-houby-v-ochrane-rostlin-proti-skudcum> (accessed March 3, 2024).
- Osborne LS, Landa Z. 1992. Biological Control of Whiteflies with Entomopathogenic Fungi. *The Florida Entomologist* **75**:456–471. Florida Entomological Society.
- Pavelková A, Moravec J, Hájek D, Bareš I, Sehnalová J. 1986. Klasifikátor genus *Pisum* L. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.
- Pedrini N, Crespo R, Juárez MP. 2007. Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP* **146**:124–137.
- Peng Z-Y, Huang S-T, Chen J-T, Li N, Wei Y, Nawaz A, Deng S-Q. 2022. An update of a green pesticide: *Metarhizium anisopliae*. *All Life* **15**:1141–1159. Taylor & Francis.
- Piper P, Calderon CO, Hatzixanthis K, Mollapour M. 2001. Weak acid adaptation: the stress response that confers yeasts with resistance to organic acid food preservatives. *Microbiology (Reading, England)* **147**:2635–2642.
- Poveda J. 2021. Trichoderma as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. *Biological Control* **159**:104634.
- Powers SE, Thavarajah D. 2019. Checking Agriculture's Pulse: Field Pea (*Pisum Sativum* L.), Sustainability, and Phosphorus Use Efficiency. *Frontiers in Plant Science* 10. Available from <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2019.01489> (accessed March 3, 2024).
- Price PW, Denno RF, Eubanks MD, Finke DL, Kaplan I. 2011. *Insect ecology: Behavior, population and communities*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Procházka P et al. 2023. *Sója luštinatá*. Agrární komora ČR, Praha.
- Pultar O. 2008. Základní metodiky použití biologické ochrany rostlin v temperovaných prostorách. Pages 22–39 in Martínková Z, Honěk A, editors. *Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha*.

- Rajak P, Roy S, Ganguly A, Mandi M, Dutta A, Das K, Nanda S, Ghanty S, Biswas G. 2023. Agricultural pesticides – friends or foes to biosphere? *Journal of Hazardous Materials Advances* **10**:100264.
- Raza A, Zahra N, Hafeez MB, Ahmad M, Iqbal S, Shaukat K, Ahmad G. 2020. Nitrogen Fixation of Legumes: Biology and Physiology. Pages 43–74 in Hasanuzzaman M, Araújo S, Gill SS, editors. *The Plant Family Fabaceae: Biology and Physiological Responses to Environmental Stresses*. Springer, Singapore. Available from https://doi.org/10.1007/978-981-15-4752-2_3 (accessed March 3, 2024).
- Rehner S. 2005. Phylogenetic of the insect pathogenic genus *Beauveria*. Pages 3–27 in Vega FE, Blackwell M, editors. *Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution*. Oxford University Press, Oxford.
- Rehner SA, Minnis AM, Sung G-H, Luangsa-ard JJ, Devotto L, Humber RA. 2011. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycologia* **103**:1055–1073.
- Ríos-Castillo I, Acosta E, Samudio-Núñez E, Hruska A, Gregolin A, Ríos-Castillo I, Acosta E, Samudio-Núñez E, Hruska A, Gregolin A. 2018. Nutritional, Agro-ecological and Commercial Benefits of Legumes. *Revista chilena de nutrición* **45**:8–13. Sociedad Chilena de Nutrición, Bromatología y Toxicología.
- Roy HE, Steinkraus DC, Eilenberg J, Hajek AE, Pell JK. 2006. BIZARRE INTERACTIONS AND ENDGAMES: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Hosts. *Annual Review of Entomology* **51**:331–357.
- Rudakova SI. 2015. Phytosanitary Study Of Pea Crop Protection From *Fusarium* Root Rot Depending On The Precursor. *Research Journal of Agricultural Science* **47**:239–244.
- Russo P, Arena MP, Fiocco D, Capozzi V, Drider D, Spano G. 2017. *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity: A promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products. *International Journal of Food Microbiology* **247**:48–54.
- Sankaranarayanan A, Amaresan N. 2020. *Pythium oligandrum*. Available from <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/pythium-oligandrum> (accessed March 17, 2024).
- Šarapatka B. 2003. *Ekologické zemědělství*. MŽP, Praha.
- Schwenninger SM, Lacroix C, Truttmann S, Jans C, Spöndli C, Bigler L, Meile L. 2008. Characterization of low-molecular-weight antiyeast metabolites produced by a food-protective *Lactobacillus-Propionibacterium* coculture. *Journal of Food Protection* **71**:2481–2487.
- Sjögren J, Magnusson J, Broberg A, Schnürer J, Kenne L. 2003. Antifungal 3-Hydroxy Fatty Acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. *Applied and Environmental Microbiology* **69**:7554–7557. American Society for Microbiology.

- Sosa-Gomez DR, Boucias DG, Nation JL. 1997. Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes. *Journal of Invertebrate Pathology* **69**:31–39.
- Souza LV, Martins E, Moreira IMF, de Carvalho AF. 2022. Strategies for the Development of Bioprotective Cultures in Food Preservation. *International Journal of Microbiology* 2022:6264170.
- St Leger R, Wang C. 2009. Entomopathogenic Fungi and the Genomics Era. Pages 365–400 *Insect Pathogens: Molecular Approaches and Techniques*.
- Stagnari F, Maggio A, Galieni A, Pisante M. 2017. Multiple benefits of legumes for agriculture sustainability: an overview. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* **4**:2.
- Symphonia T, Senthil N. 2019. Abiotic factors. *Palaeontologia Electronica* DOI: 10.26879/811. Available from <https://palaeo-electronica.org/content/2019/2677-taxonomy-recent-foraminifera> (accessed March 17, 2024).
- Traugott M, Weissteiner S, Strasser H. 2005. Effects of the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii* on the non-target predator *Poecilus versicolor* (Coleoptera: Carabidae). *Biological Control* **33**:107–112.
- 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.
- Valero-Jiménez CA, Wieggers H, Zwaan BJ, Koenraadt CJM, van Kan JAL. 2016. Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology* **133**:41–49.
- Van Driesche R, Bellows Jr T. 1996. *Biological control*. Kluwe academic publisher, Boston.
- Vestergaard S, Butt TM, Bresciani J, Gillespie AT, Eilenberg J. 1999. Light and Electron Microscopy Studies of the Infection of the Western Flower Thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) by the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* **73**:25–33.
- Vestergaard S, Cherry A, Keller S, Goettel M. 2003. Safety of Hyphomycete Fungi as Microbial Control Agents. Pages 35–62 in Hokkanen HMT, Hajek AE, editors. *Environmental Impacts of Microbial Insecticides*. Springer Netherlands, Dordrecht. Available from http://link.springer.com/10.1007/978-94-017-1441-9_3 (accessed March 16, 2024).
- Villani M, Krueger S, Schroeder P, Consolie F, Consolie N, Preston-Wilsey L, Roberts D. 1994. Soil Application Effects of *Metarhizium Anisopliae* on Japanese Beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) Behavior and Survival in Turfgrass Microcosms. *Environmental Entomology* **23**:502–513.
- Votýpka J, Kolářová I, Horák P. 2018. *o parazitech a lidech*. Triton, Praha.
- Wahab S, Muzammil K, Nasir N, Khan MS, Ahmad MF, Khalid M, Ahmad W, Dawria A, Reddy LKV, Busayli AM. 2022. Advancement and New Trends in Analysis of Pesticide Residues in Food: A Comprehensive Review. *Plants* **11**:1106.

- Weiser J. 1966. *Nemoci hmyzu*. Academia, Praha.
- Weiser J. 1991. Mikrobiální insekticidy. Pages 30–43 in Hrdý I, editor. *Biopesticidy v zemědělství*. Ministerstvo zemědělství, Praha.
- Wraight SP, Carruthers RI. 1999. Production, Delivery, and Use of Mycoinsecticides for Control of Insect Pests on Field Crops. Pages 233–269 in Hall FR, Menn JJ, editors. *Biopesticides: Use and Delivery*. Humana Press, Totowa, NJ. Available from <https://doi.org/10.1385/0-89603-515-8:233> (accessed March 3, 2024).
- Yan P-S, Song Y, Sakuno E, Nakajima H, Nakagawa H, Yabe K. 2004. Cyclo(l-Leucyl-l-Prolyl) Produced by *Achromobacter xylosoxidans* Inhibits Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus*. *Applied and Environmental Microbiology* **70**:7466–7473. American Society for Microbiology.
- Yang Z, Xiao Z, Tan L, Wang C, Li P, Deng Y, Xie H, Wu S, Hu Q. 2024. Interdomain ecological network analysis infers the endophytic bacteria protect against *Fusarium* root rot invasion. *Plant Stress* **11**:100358.
- Zimmermann G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* **17**:553–596.