

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroekologie a rostlinné produkce



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických
a entomopatogenních hub v ochraně rostlin
Bakalářská práce**

Autor: Anna Pichugina

Ekologické zemědělství

Vedoucí práce: Ing. Martin Král, Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

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

V Praze dne 21.04.2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Martinu Královi, Ph.D za vstřícný přístup, pomoc, ochotu, cenné rady i čas, který mi věnoval. Dále děkuji panu Ing. Petru Dvořákovi, Ph.D. za poskytnutou literaturu a pomoc.

Využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub v ochraně rostlin

Souhrn

Tato bakalářská práce se zaměřuje na využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub v biologické ochraně rostlin. V literární rešerši byly představeny vlastnosti a mechanismy účinku bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub, které umožňují potlačovat růst a šíření patogenních mikroorganismů a hmyzu. Bakterie mléčného kvašení jsou studovány pro své antimikrobiální vlastnosti a schopnost produkovat organické kyseliny a antimikrobiální peptidy. Mykoparazitické houby jsou považovány za přirozené biofungicidy a jsou schopny produkovat enzymy a toxiny, které potlačují růst patogenních mikroorganismů. Entomopatogenní houby jsou považovány za přirozené bioinsekticidy a jsou schopny zabíjet hmyz.

Dále byly uvedeny výhody a nevýhody použití biologických pesticidů oproti chemickým pesticidům a jsou popsány základní postupy pro aplikaci biologických pesticidů.

Výsledky ukázaly, že využití mikroorganismů jako přírodních prostředků k ochraně rostlin může být účinné a ekologicky šetrné řešení. Bakterie mléčného kvašení, mykoparazitické a entomopatogenní houby byly schopny účinně potlačit růst patogenů a omezit výskyt škůdců na rostlinách. Také bylo zjištěno, že účinnost mikroorganismů závisí na druhu rostliny a patogenu, koncentraci a způsobu aplikace.

Závěrem lze konstatovat, že využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub v ochraně rostlin může být účinným a ekonomicky výhodným řešením. Je však nutné provést další výzkumy, aby se potvrdila jejich účinnost a možnosti aplikace v praxi.

Klíčová slova: bioinsekticidy, bakterie, houby, škůdci

Use of lactic acid bacteria, mycoparasitic and entomopathogenic fungi in plant protection

Summary

This bachelor thesis focuses on the use of lactic acid bacteria, mycoparasitic and entomopathogenic fungi in biological plant protection. The literature review presented the properties and mechanisms of action of lactic acid bacteria, mycoparasitic and entomopathogenic fungi, which allow suppressing the growth and spread of pathogenic microorganisms and insects. Lactic acid bacteria are studied for their antimicrobial properties and ability to produce organic acids and antimicrobial peptides. Mycoparasitic fungi are considered natural biofungicides and are able to produce enzymes and toxins that suppress the growth of pathogenic microorganisms. Entomopathogenic fungi are considered natural bioinsecticides and are capable of killing insects.

Furthermore, the advantages and disadvantages of using biological pesticides compared to chemical pesticides were presented and the basic procedures for applying biological pesticides are described.

The results showed that the use of microorganisms as natural means to protect plants can be an effective and environmentally friendly solution. Lactic acid bacteria, mycoparasitic and entomopathogenic fungi were able to effectively suppress the growth of pathogens and reduce the occurrence of plant pests. It was also found that the effectiveness of microorganisms depends on the type of plant and pathogen, concentration and method of application.

In conclusion, it can be stated that the use of lactic acid bacteria, mycoparasitic and entomopathogenic fungi in plant protection can be an effective and economically advantageous solution. However, it is necessary to carry out further research in order to confirm their effectiveness and the possibilities of application in practice.

Keywords: bio-insecticides, bacteria, fungi, pests

Obsah

1	Úvod	8
2	Cíl práce	10
3	Literární rešerše	11
3.1	Biologická ochrana	11
3.1.1	Aplikace biologických přípravků	13
3.1.2	Historický vývoj biologické ochrany	14
3.1.3	Současnost biologické ochrany	16
3.1.4	Biologická ochrana v EU a České republice	17
3.1.5	Výhody a nevýhody biologické ochrany rostlin.....	19
3.1.6	Organismy využitelné pro biologickou ochranu	20
3.1.6.1	Mikroorganismy	21
3.1.6.2	Makroorganismy	22
3.2	Entomopatogenní houby	22
3.2.1	Charakteristika entomopatogenních hub	23
3.2.2	Klasifikace entomopatogenních hub	24
3.2.3	Vývojový cyklus entomopatogenních hub	25
3.2.4	Využití EPF v biologické kontrole rostlin.....	28
3.2.5	Biopreparáty na bázi entomopatogenních hub	29
3.3	Mykoparazitické houby	31
3.3.1	Mykoparazitismus	32
3.3.2	Nejvýznamnější druhy mykoparazitických hub	34
3.3.2.1	<i>Trichoderma virens</i>	34
3.3.2.2	<i>Coniothyrium minitans</i>	35
3.3.2.3	<i>Pythium oligandrum</i>	36
3.3.3	Biologické přípravky na bázi mykoparazitických hub.....	37
3.4	Bakterie mléčného kvašení	38
3.4.1	Charakteristika bakterií mléčného kvašení.....	38
3.4.2	Morfologie bakterií mléčného kvašení	40
3.4.3	Metabolismus bakterií mléčného kvašení	41
3.4.4	Jednotlivé rody mléčných bakterií. Taxonomie a charakteristika	43
3.4.4.1	<i>Lactococcus</i>	43
3.4.4.2	<i>Enterococcus</i>	44
3.4.4.3	<i>Streptococcus</i>	44
3.4.4.4	<i>Lactobacillus</i>	45
3.4.4.5	<i>Pediococcus</i>	46
3.4.4.6	<i>Leuconostoc</i>	46

3.4.4.7	<i>Weissella</i>	46
3.4.5	Bakterie mléčného kvašení jako prostředky biologické kontroly	47
3.4.6	Antimikrobiální aktivita LAB	48
3.5	Biopesticidy	50
4	Závěr	53
5	Použitá literatura	55

1 Úvod

V dnešní době je ochrana rostlin jedním z nejdůležitějších faktorů zajišťujících stabilní a bezpečné zemědělství. S rostoucí populací lidí je stále větší potřeba zvýšit výnosy a kvalitu plodin, což vede k častějšímu používání pesticidů a chemických látek, které mohou mít negativní vliv na životní prostředí a zdraví člověka (Hajek 2004).

Důvodem a výhodou použití pesticidů a chemických látek je relativně nízké náklady na jejich použití. Pesticidy a chemické látky jsou obvykle snadno dostupné a aplikace je relativně jednoduchá a okamžitá účinnost (Ahmad et al. 2011). To znamená, že zemědělci mohou rychle a efektivně ochránit své plodiny před škůdci a chorobami bez nutnosti složitých postupů nebo drahé technologie. Nicméně, při použití pesticidů a chemických látek je důležité dbát na bezpečnost a minimalizovat negativní vliv na životní prostředí a lidské zdraví. Nadměrné použití může mít negativní dopad na půdu, vodu a vzduch a může také vést k rezistenci škůdců vůči používaným látkám. Proto je důležité dodržovat správné postupy při použití pesticidů a chemických látek a mít na paměti jejich potenciální dopady na životní prostředí a lidské zdraví (Chandler et al. 2008; Anwer 2017).

Rezidua pesticidů používaná v konvenčním zemědělství mohou být potenciálně škodlivá pro lidské zdraví a životní prostředí. Rezidua pesticidů jsou zbytky pesticidů, které zůstanou na plodinách po aplikaci pesticidů a mohou zůstat v půdě, vodě a ovzduší. Konzumace potravin s rezidui pesticidů může představovat zdravotní riziko, zejména pro děti, těhotné ženy a osoby s oslabeným imunitním systémem. Tyto látky mohou ovlivnit ekosystémy, ovlivňovat populaci zvířat a rostlin a snižovat biodiverzitu. Problémem dnešní společnosti je její krátkozrakost, s níž se nesnaží omezit na úkor osobních potřeb a snížit tak dopad své činnosti na planetu. Je důležité přijímat opatření ke snižování reziduí pesticidů v potravinách a ochraně životního prostředí. K tomuto účelu jsou v různých zemích stanovena pravidla a limity pro používání pesticidů a jejich reziduí v potravinách, které jsou určeny k ochraně zdraví a životního prostředí (Chandler et al. 2008).

Proto se v poslední době stále více pozornosti věnuje alternativním způsobům ochrany rostlin, mezi něž patří využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub. Tyto mikroorganismy se používají jako biologické prostředky k ochraně rostlin před škůdci a chorobami (Anwer 2017).

Bakterie mléčného kvašení, jako jsou například rody *Lactobacillus* a *Streptococcus*, jsou druhy bakterií, které jsou schopny fermentovat laktózu obsaženou v mléčných výrobcích a dalších potravinách. Tyto bakterie jsou běžné v probiotických potravinách, jako jsou jogurty, kefíry, kysané zelí a kimchi (Ross et al. 2002). Při fermentaci laktózy produkuje tato skupina bakterií kyselinu mléčnou, která snižuje pH a tím zabraňuje růstu patogenních mikroorganismů, také vykazuje schopnost produkce látek, které mohou ovlivnit růst a vývoj rostlin a zlepšit jejich odolnost vůči škodlivým faktorům (Caplice & Fitzgerald 1999).

Mykoparazitické houby, jako jsou například rody *Trichoderma* a *Gliocladium*, specializují se na parazitování na jiných houbách. Tyto houby jsou schopné vyvíjet útok na buňky jiných hub a využívat jejich živiny. V důsledku toho jsou mykoparazitické houby často považovány za přirozené biologické řídicí prvky hub, které jsou patogenní pro rostliny. Jsou také známé svou schopností produkovat enzymy, které rozkládají celulózu a chitin v půdě, což přispívá k cyklu živin v půdě a pomáhá zvyšovat úrodnost (Prokinová 1996).

Entomopatogenní houby, jako jsou například rody *Beauveria* a *Metarhizium*, jsou schopny parazitovat na hmyzu a mohou tak snížit jejich početnost a výskyt. Tyto houby využívají svých enzymů a toxinů k infekci a usmrcení různých druhů hmyzu, jako jsou mšice, brouci, moli a mnoho dalších. Po infekci hmyzu se houby množí v jeho těle a postupně ho zabíjí (Starnes et al. 1993).

Moderní biologické metody kontroly škůdců jsou účinné a dlouhodobé, a přitom bezpečné pro lidské zdraví a životní prostředí. Mají minimální nebo žádnou toxicitu pro jiné druhy organismů, než jsou cílové škůdci, což z nich činí udržitelnější alternativu pro zemědělství (Kuthan & Trubská 2017).

Takto využívané biologické prostředky zvyšují ekologickou udržitelnost zemědělství a přispívají k ochraně biodiverzity, což je důležité pro zachování ekosystémů a podpory životního prostředí. Biologické látky jsou nejen bezpečné pro lidské zdraví a životní prostředí, jsou obvykle méně toxické a mají menší riziko negativních dopadů na lidské zdraví než chemické pesticidy, mohou pomoci snižovat riziko rezistence, také vhodné pro použití v alternativních systémech zemědělství (Smutný et al. 2018).

Vývoj biologických metod ochrany rostlin je stále v běhu a stále existují některé výzvy, jako je potřeba zlepšení účinnosti biologických prostředků a zvýšení jejich dostupnosti pro zemědělce. Nicméně, biologická ochrana rostlin je důležitým krokem k udržitelnější a zdravější budoucnosti našeho zemědělství (Kuthan & Trubská 2017).

2 Cíl práce

Cílem práce je zmapovat využitelnost bakterií a hub v ochraně rostlin. Zhodnotit jejich používání v současném systému ekologického zemědělství v České republice a srovnat s potenciálem v zahraničí. Popsat výhody a nevýhody jejich využívání, podrobněji charakterizovat některé vybrané organismy a biologické přípravky, postup při jejich aplikaci a účinnost.

3 Literární rešerše

3.1 Biologická ochrana

Biologická ochrana (angl. biological control, biocontrol) zahrnuje různé obory, jako je entomologie, patologie rostlin, chemie, fyziologie rostlin a ekologie. Je založena na principu udržení přirozené rovnováhy v ekosystému. Tento přístup využívá biologických kontrolních mechanismů, které mohou být přirozenými nepřáteli škůdců, jako jsou dravci, parazité a mikroorganismy (Landa 2002).

Národní akademie věd Spojených států amerických definuje biologickou kontrolu jako použití přírodních nebo modifikovaných organismů, genů nebo genových produktů ke snížení účinků nežádoucích organismů a k upřednostnění žádoucích organismů, jako jsou plodiny, stromy, zvířata, hmyz a užitečné mikroorganismy. V rámci fytopatologie se biologická ochrana označuje jako potlačení populace škůdců působením jejich přirozených nebo introdukovaných nepřátel (Thomashow & Weller 1996).

Biologická ochrana rostlin se liší od tradičních způsobů ochrany rostlin, které často zahrnují použití chemických pesticidů a mohou tak mít negativní dopad na životní prostředí a lidské zdraví. Na rozdíl od chemických pesticidů, které často mají širší spektrum účinku a mohou mít negativní dopady na ekosystémy, se biologická ochrana rostlin zaměřuje na přirozené procesy v ekosystémech a snaží se využít přírodních mechanismů pro ochranu rostlin (Tichá 2001).

Během posledních let se zvýšilo úsilí o vývoj alternativ k pesticidům, jako je biologická kontrola, sestávající z živých mikroorganismů (Biological Control Agents, BCA) se schopností zabránit nebo snížit vývoj patogenu a následně jeho infekci (Janisiewicz & Bors 1995). Cílem aplikované biologické kontroly je regulace škůdců pod prahem hospodářské škodlivosti (Smutný et al. 2018).

V dnešní době je biologická ochrana odborníky chápána jako ekologicky, hygienicky i ekonomicky nejvhodnější metoda k úspěšnému potlačování škůdců (Tichá 2001). Biologická kontrola a biologická ochrana dobře zapadají do konceptu udržitelného zemědělství, protože využívají přírodní cykly se sníženým dopadem na životní prostředí (Spadaro & Guillino 2004). Všichni ekologičtí zemědělci jsou povinni používat pouze ekologickou ochranu proti škůdcům. V systému integrované ochrany rostlin má její použití nejvyšší prioritu. Do této skupiny látek patří nejen bio-pesticidy, ale také feromony hmyzu, přírodní organismy a látky, které zvyšují odolnost rostlin vůči nepříznivým vlivům, škůdcům a chorobám (Kuthan & Trubská 2017).

Populace všech organismů jsou do určité míry redukovány fyzickým působením predátorů, škůdců, konkurentů a patogenů. Tento proces se nazývá „přirozená kontrola“, zatímco záměrné zavádění škůdců do agroekosystému se nazývá „biologická kontrola“ a organismy zapojené do biologické kontroly se nazývají přirození nepřátelé (Tichá 2001).

V širším smyslu se používá ve prospěch organismů zapojených do boje proti škůdcům a v omezeném smyslu pro zavádění uměle vypěstovaných užitečných organismů, tzv. biologických činitelů (podobně jako termín agent, což znamená účinná látka) (Tichá 2001). Cílem biologické kontroly není zcela eliminovat populace škůdců, ale udržovat jejich počty na úrovni, která nepoškozuje produkci plodin. To umožňuje udržet rovnováhu v ekosystému a minimalizovat negativní dopad zemědělské činnosti na životní prostředí (Van Driesche & Heinz 2004).

Účinnost látek používaných k biologické kontrole závisí na abiotických a nebiotických podmínkách prostředí a zároveň působí pomaleji než chemické látky. Jedním z hlavních omezení praktického použití biologických látek je proměnlivost jejich účinnosti (Veselá 1986).

Intenzivní rozvoj biologické ochrany rostlin proti škůdcům nastal velmi pozdě. První biologické kontroly hmyzu a chorob u rostlin sahají do 19. století, kdy byly použity predátorské brouci k omezení populace jiných hmyzích škůdců. Nicméně, v té době byla chemická ochrana rostlin v plném proudu a biologická ochrana nebyla příliš populární. Intenzivnější rozvoj biologické ochrany rostlin začal až ve 20. století, kdy se stala ekologická a udržitelná zemědělství stále více důležitými tématy (Hajek 2004).

V minulosti bylo používání pesticidů, které obsahovaly škodlivé chemikálie, běžné a rozšířené. Tyto pesticidy se často používaly bez dostatečného vědeckého zkoumání jejich vlivu na životní prostředí a zdraví lidí. To vedlo k širokému rozšíření pesticidů, vysokým nákladům na jejich používání a za následek vysokou úmrtnost necílových druhů. Po likvidaci přirozených nepřátel rostlin, jako jsou dravci, parazitoidi a patogeny, mohou škůdci rychleji rozmnožovat a šířit se, což může vést k většímu poškození rostlin a ztrátám sklizně (Davidson 2006). Navíc, když jsou použity chemické pesticidy, mohou mít škodlivé účinky na životní prostředí a zdraví lidí a zvířat. To může vést k riziku kontaminace potravin, půdy a vody, což může mít dlouhodobé dopady na životní prostředí a zdraví. A také může mít významný vliv na vznik populací škůdců, které jsou vůči účinným látkám chemických přípravků rezistentní (Bleša 2019).

V současné době se vývoj nových účinných látek zaměřuje na selektivní působení na cílové škůdce, jako jsou přirození nepřátelé, hmyz opylovačů a další, a na pesticidy šetrné k životnímu prostředí. Tyto nové přípravky jsou často založeny na přírodních látkách nebo jejich derivátech a mají snížené riziko negativního vlivu na životní prostředí a lidské zdraví. Vývoj takovýchto produktů je důležitým krokem ke snížení negativního dopadu zemědělské produkce na životní prostředí a udržitelnému zemědělství (Davidson 2006).

Výzkum přípravků s užitečnými mikroorganismy a makroorganismy je v současné době velmi intenzivní a bioregulátory pro regulaci plevelů přitahují velkou pozornost. Proto se vynakládají značné finanční prostředky na výzkum a hledání jiných vhodných biologických činidel. Výzkumné týmy po celém světě zkoumají, jak tyto organismy působí na rostliny a jak se dají využít k ochraně proti škůdcům a nemocem. Zvláštní pozornost se věnuje výběru a

optimalizaci podmínek pro pěstování a uchování užitečných mikroorganismů, aby byly co nejeftivnější v boji proti škůdcům a nemocem (Ahmad et al. 2011). Slibné druhy, které jsou účinné pouze v laboratorních podmínkách, se často potýkají s problémem, že nejsou schopny přežít v reálných podmínkách prostředí zemědělských polí. Přestože tedy biologická kontrola dosáhla významného pokroku, má mnoho nedostatků a zůstává důležitá pouze pro některé plodiny a některé škůdce. Proto je důležité, aby byly nové biologické přípravky testovány nejen v laboratoři, ale také v polních podmínkách a pod různými klimatickými podmínkami (Starnes et al. 1993).

Biologická ochrana rostlin je práce s živými organismy, a proto vyžaduje důkladné znalosti biologie a ekologie škůdců i přirozených nepřátel. Při používání biologických metod je také důležité zvolit vhodný druh, správnou aplikaci a čas aplikace, aby byla účinnost co nejvyšší (Hofmanová 2003).

Okrouhla (1993) dodává, že praktickou hodnotu mají pouze veřejně dostupné přípravky. Pro jednotlivé druhy, zejména okrasné, je cestou k efektivnímu využití vývoj integrované metodiky a následné propojení s pěstitelskými technikami.

Biologická ochrana rostlin je důležitá zejména v současném kontextu, kdy se snažíme minimalizovat použití chemických látek a pesticidů, které mohou mít negativní dopady na životní prostředí a lidské zdraví. Nejenže pomáhá minimalizovat použití chemických pesticidů, ale také pomáhá udržovat ekosystém v rovnováze tím, že podporuje přirozené predátory škůdců a zvyšuje biodiverzitu. Biologická ochrana rostlin také snižuje riziko vzniku rezistence škůdců a chorob na chemické pesticidy, což je velmi důležité z hlediska udržitelnosti (Davidson 2006).

3.1.1 Aplikace biologických přípravků

Vlastní aplikace biologických přípravků, bioagensů je důležitou součástí biologické ochrany. Tyto metody se používají v různých systémech ochrany, jako je integrovaná ochrana proti škůdcům, integrovaná produkce a ekologické zemědělství, ale v různé míře podle požadavků jednotlivých systémů (Veselá 1986).

Aplikace biologických přípravků se provádí pomocí různých metod, jako jsou například postřiky, aplikace do půdy nebo aplikace na semena (Janisiewicz & Bors 1995).

Při aplikaci pomocí postřiků se biologické přípravky aplikují přímo na rostlinu pomocí spreje nebo rozprašovače. Tento způsob aplikace se nejčastěji používá pro biologické přípravky určené k ochraně listů a plodů rostlin (Veselá 1986).

Aplikace do půdy se provádí aplikací biologických přípravků přímo do půdy, kde mají účinnost proti škůdcům a chorobám, které se v půdě vyskytují. Tento způsob aplikace se

nejčastěji používá pro biologické přípravky, které mají účinnost proti půdním nemocem a škůdcům (Veselá 1986; Verner & Špaková 2009).

Aplikace na semena se provádí před výsadbou semen biologickými přípravky. Tento způsob aplikace pomáhá zajistit, že rostlina bude chráněna již od začátku svého růstu (Verner & Špaková 2009).

Výsledky aplikace bioagensů jsou závislé na řadě faktorů, jako jsou typ přípravku, dávkování, způsob aplikace, typ rostliny a podmínky prostředí. Také, v závislosti na druhu organismu aplikujeme na stanoviště jednou, příležitostně dle potřeby nebo opakovaně – sezónně (Heydari et al. 2004).

Důležitou součástí postupů šetrných k životnímu prostředí je také používání nových a „inteligentních“ technologií pro aplikaci přípravků nebo zavádění různých strategií, jako je zónový nebo cílený postřik (Davidson 2006).

Nejjednodušším způsobem, jak začlenit biologické metody do systémů ochrany rostlin, je podpora přirozených užitečných organismů. Například, záměrně vytvářet neošetřené plochy a biokoridory, aby se podpořila populační dynamika užitečných druhů a zachovala se rozmanitost stanovišť (Okrouhla 1993).

Do přípravků s bioagens často přidávají nejrozličnější aditiva, aby se vytvořily optimální symbiotické podmínky a zlepšily stav hostitele (Bleša 2019). Některé povrchově aktivní látky (surfaktanty) mohou zpomalovat růst patogenních mikroorganismů. U biologických přípravků je nutné prokázat, že organismus je stále infekční, živý a schopný reprodukce – to se liší i na typu aplikace – forma granulí (vyšší životaschopnost, nízké množství infekčních částí) – forma spreje, prášku (nižší životaschopnost, velké množství propagule (Janisiewicz & Bors 1995). Aplikace biologických přípravků má potenciál přinést významné změny do zemědělského sektoru (Kuthan & Trubská 2017).

3.1.2 Historický vývoj biologické ochrany

Historie biologické ochrany sahá až do starověku, kdy byly používány přirozené nepřátele škůdců k ochraně rostlin. Například v Číně se již před 2000 lety používaly dravé vosy k ochraně citrusovníků před škůdci. Podobně byli v Evropě využíváni ptáci, žáby a ještěrky ke kontrole škůdců v zemědělských oblastech. Rok 1683, kdy holandský přírodovědec Antoni van Leeuwenhoek objevil bakterie, je považován za přelomový nejen pro rostlinnou bakteriologii, ale i pro celou vědu (Primack 2014).

V 19. století se začaly objevovat první vědecké důkazy o účinnosti biologické ochrany. Francouzský entomolog Charles V. Riley zkoumal využití původního druhu hmyzu zvaného lacewings k ovládnutí mšic na ovoci v USA. Ve 20. století byla biologická ochrana dále rozvíjena a zkoumány byly nové druhy přirozených nepřátel škůdců. V 50. a 60. letech 20.

století byla biologická ochrana stále častěji využívána v zemědělství, ale její využití bylo omezeno kvůli nedostatku dostupných biologických agens (Kůdela et al. 2002).

Bacillus alvei, pojmenovaný FR Cheshirem v roce 1884, byl první bakterií napadající hmyz (Primack 2014).

První poznatky a pokusy o využití biologické ochrany proti škodlivým organismům jsou známy již z druhé poloviny 19. století. Koncem 19. století byla v Evropě a USA věnována značná pozornost využití biologické ochrany proti škůdcům. První úspěchy byly zaznamenány při boji proti mšicím, kdy byly použity různé druhy dravých brouků a vosiček. V roce 1888 byl také úspěšně využit druh brouka *Rodolia cardinalis* ke kontrole mšic na Havajských ostrovech (Hajek & Delalibera 2010). Od té doby bylo k biologické kontrole rostlin použito mnoho desítek organismů z různých biologických říší.

V roce 1965 byl v Sovětském svazu vytvořen první přípravek na bázi hub. byl vyvinut jako biologický insekticid proti různým druhům hmyzu, včetně molice a brouků. Boverin byl založen na mykoparazitické houbě *Beauveria bassiana*, která parazituje na povrchu těla hmyzu a postupně jej zabíjí. Byl používán ke kontrole mandelinky bramborové (*Leptinotarsa decimlineata*) a obaleče jablečného (*Cydia pomonella*). Prvním komerčním bakteriálním biopesticidem byl Sporeine na bázi *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), který byl k dispozici na trhu ve Francii v roce 1938 (Davidson 2006; Ravensberg 2010; Anwer 2017). *Bt* se využívá k ochraně rostlin proti hmyzu, především proti housenkám motýlů a mūr. *Bacillus thuringiensis* produkuje toxin, který po požití hmyzem poškozuje jeho střevní buňky a způsobuje jeho smrt (Starnes et al. 1993).

Termín „biologická kontrola“ byl poprvé použit v roce 1919 britským entomologem Albertem Smithem, který tak označil využití přirozených nepřátel škodlivých organismů k jejich kontrole (Johnson 2000).

K významnému rozvoji biologických metod kontroly populací škůdců došlo zejména na konci 20. století. V té době se začalo více věnovat výzkumu a vývoji biologických prostředků, jako jsou biopesticidy, feromony a parazitoidi, a jejich aplikaci v zemědělství. Byly také vyvinuty nové technologie a postupy pro výrobu a aplikaci biologických prostředků, což umožnilo jejich širší využití (Kůdela et al. 2002).

V roce 1915 byla v USA založena biologická laboratoř, která se zabývala výzkumem biologických přípravků. Tato laboratoř byla součástí Amerického ministerstva zemědělství a jejím cílem bylo vytvářet nové metody biologické kontroly a propagovat ji mezi zemědělci. Dnes je tato instituce známá jako Ústav pro ochranu rostlin a životní prostředí Amerického ministerstva zemědělství (USDA). V roce 1926 byl v Německu založen Institut biologické ochrany rostlin, který se stal jedním z předních center pro výzkum biologické ochrany. K jeho širšímu uplatnění v praxi přispěl lepší přístup k novým informacím a znalostem a ekologické zemědělství, které pro hubení populací škůdců plodin nepoužívá konvenční přípravky chemické ochrany (Vondrášková 2008).

3.1.3 Současnost biologické ochrany

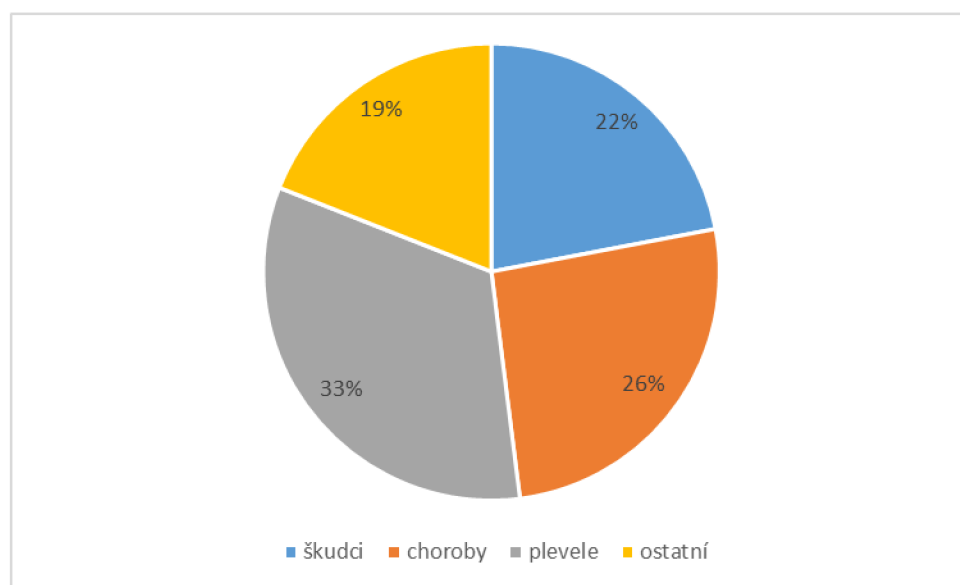
Dnes jsou biologické přípravky běžně používány v zemědělství, zahradnictví, lesnictví a ochraně přírody. V mnoha zemích jsou podporovány vládou a podnikateli, kteří vidí v biologické ochraně udržitelnou alternativu ke škodlivým chemickým pesticidům (Verner & Špaková 2009).

Hajek (2004) ve své knize uvádí, že využití biologické ochrany vzrostlo kvůli nutnosti řešit problém, že chemické pesticidní přípravky nefungují jako ochrana proti některým škůdcům.

Biologické přístupy k ochraně rostlin jsou perspektivní, i když v praxi zatím nejsou dostatečně rozšířené (Šarapatka & Urban 2006).

Metody biologické ochrany se uplatňují především tam, kde je to prakticky možné a kde lze tolerovat určitou míru zbytkové invaze. To je dáno především korelací mezi napadením a ztrátou výnosu (Hajek 2004).

Podle Ahmad et al. (2011) způsobují škůdci ztráty na výnosech plodin v rozmezí 10-22 %, choroby 14-26 % a plevely 12-33 %. Z toho je zřejmé, že hlavním cílem ochrany rostlin je minimalizace těchto ztrát. Diagram s těmito údaji vidíme na obrázku číslo 1.



Obr. č. 1: Diagram ztráty na výnosech plodin (Podle Ahmad et al. 2011).

V roce 2017 bylo podle organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů (FAO) zjištěno, že na každý hektar orné půdy byla aplikována řada různých chemických pesticidů po celém světě. Čína byla zaznamenána jako země s nejvyšším objemem použitých pesticidů na hektar, a to 13 kg, zatímco v Evropě se největší množství pesticidů používá v Nizozemsku s

7,9 kg. Naopak, zeměmi s nejnižším množstvím použitých pesticidů byly Finsko a Švédsko, kde bylo použito pouze 0,6 kg na hektar.

Podle Anwera (2017) jsou nejčastěji používané chemické pesticidy po celém světě herbicidy, které tvoří 45 % z celkového množství, následované insekticidy s podílem 36 % a fungicidy s 17 %. Nicméně, v poslední době roste zájem o biologickou ochranu rostlin jako alternativu k chemickým pesticidům. Biologické pesticidy, včetně bioinsekticidů, získávají na popularitě a stávají se čím dál tím více používanou metodou ochrany rostlin.

Podle Ndolo et al. (2019) bioinsekticidy tvoří pouze 5-6 % celosvětového trhu s pesticidy, s celkovou hodnotou 3-4 miliard dolarů. Mezi nejúspěšnější bioinsekticidní společnosti patří čtyři evropské společnosti (Synergita AG, Švýcarsko; BASF SE, Německo; Koppert Biological Systems, Nizozemsko; Isagro SpA, Itálie), pět amerických společností (Marrone Bio Innovations, BioWorks Inc, Valent BioSciences Corporation, Corteva Agriscience a FMC Corporation) a UPL Limited v Indii (Fortune Business Insights 2021).

Zajímavé je, že ztráty na výnosech plodin jsou z velké části způsobeny škůdci (10-22 %), chorobami (14-26 %) a plevely (12-33 %), což ukazuje na nutnost minimalizovat tyto ztráty (Ahmad et al. 2011).

Podle Ravensberga (2011) tvoří bioinsekticidy na mikrobiální bázi pouze 1-2 % všech pesticidů prodaných celosvětově a jen malé množství z nich je skutečně úspěšných. Nicméně, v posledních deseti letech se v důsledku postupného úbytku chemických pesticidů projevuje rostoucí trend v používání bioinsekticidů mikrobiálního původu.

Výzkum v oblasti biologické ochrany rostlin stále pokračuje a v budoucnu se můžeme těšit na další inovace a nové biologické přípravky. Biologická ochrana je přínosem pro životní prostředí i pro zemědělství a zahrádkářství, a proto by měla být podporována a rozvíjena (Anwer 2017).

3.1.4 Biologická ochrana v EU a České republice

Před použitím nových přípravků na ochranu rostlin musí být v Evropské unii splněna řada přísných požadavků na bezpečnost a účinnost. Tyto požadavky jsou stanoveny v rámci legislativního rámce EU, včetně nařízení o rostlinných ochranných přípravcích, které stanoví postupy pro registraci, povolení a prodej pesticidů v EU. Registrace pro jejich široké zemědělské použití probíhá v souladu s nařízením Rady 91/414/(EHS). Při registraci nového pesticidu musí být provedena řada testů na účinnost a bezpečnost pro lidi, zvířata a životní prostředí, včetně hodnocení rizik pro životní prostředí, zdraví lidí a zvířat a zajištění, že produkt nezpůsobí nežádoucí účinky na nedělní organismy. Použití nového pesticidu musí být v souladu s podmínkami povolení, které zahrnují stanovení maximálního povoleného množství látky, která může zůstat na potravinách, a omezení času a způsobu aplikace, aby se minimalizovaly nežádoucí účinky na lidské zdraví a životní prostředí (Finquh et al. 2015).

Kromě toho musí být registrace přípravků na ochranu rostlin v souladu s nařízením Komise (ES) č. 889/2008, které stanoví prováděcí pravidla pro nařízení Rady (ES) č. 834/2007, které se týká ekologické produkce, označování a kontroly ekologických produktů. Kromě požadavků na bezpečnost a účinnost musí být registrace přípravků na ochranu rostlin v souladu s tímto nařízením v případě, že jsou určeny pro použití v ekologickém zemědělství.

Nařízením Komise (ES) č. 889/2008 stanoví prováděcí pravidla pro ekologickou produkci a označování ekologických výrobků v Evropské unii. Toto nařízení upravuje celý řetězec výroby, zpracování a prodeje ekologických produktů. Obsahuje konkrétní pravidla a požadavky na použití pesticidů v ekologickém zemědělství a stanoví, že přípravky na ochranu rostlin musí být biologicky rozložitelné a nesmějí obsahovat syntetické látky, GMO, umělá barviva nebo příchutě. V Evropské unii jsou biopesticidy definovány jako přípravky na ochranu rostlin založené na mikroorganismech (bakteriích, virech, houbách a jiných organismech) a používané k regulaci škůdců. V ekologickém zemědělství lze používat pouze geneticky nemodifikované organismy (Dvorský & Urban 2014).

Každá země Evropské unie má však svá vlastní pravidla. V jedné zemi jsou určité přípravky povoleny, v jiné zemi mohou být stejné přípravky zakázány. Jako příklad můžeme uvažovat Novodor na bázi bakterie *Bacillus thuringiensis* ssp. *tenebrionis* proti larvám mandelinky bramborové. V České republice není Novodor registrován, ale v zahraničí je běžně dostupný (Šarapatka & Urban 2006).

V České republice roste popularita biologické ochrany, avšak převážně se stále využívají tradiční chemické pesticidy. V roce 2020 bylo použito téměř 6000 tun těchto pesticidů, jak uvádí Ministerstvo životního prostředí ČR (2023).

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) vede oficiální registr přípravků na ochranu rostlin v České republice. Tento registr obsahuje přípravky registrované podle zákona č. 326/2004 Sb. o rostlinolékařské péči a vyhlášky č. 132/2018 Sb., o přípravcích na ochranu rostlin, v platném znění (ÚKZÚZ 2022). Ke dni 18. února 2023 bylo v České republice registrováno celkem 6257 záznamů použitelných přípravků k ochraně rostlin v konvenčním zemědělství.

Podpora využití biologických metod v ochraně rostlin je důležitá a Česká republika má v této oblasti bohatou tradici výzkumných aktivit a využívání biologických přípravků (Šarapatka & Urban 2006).

Z přehledu povolených biopreparátů v České republice je zřejmé, že většina z nich slouží k ochraně polních plodin a trvalých kultur. Dotace na biologickou ochranu jsou přidělovány pouze pro přípravky biologické ochrany rostlin, které jsou zapsané v registru přípravků na ochranu rostlin vedeném ÚKZÚZ (ÚKZÚZ 2022).

3.1.5 Výhody a nevýhody biologické ochrany rostlin

Podle Ravensberga (2010) představují bioinsekticidy založené na mikroorganismech pouze 1-2 % z celkového prodeje pesticidů po celém světě a jen malé množství produktů bylo úspěšně uvedeno na trh. Anwer (2017) uvádí, že existuje přibližně 150 mikroorganismů, které jsou v současné době známy pro své využití v biologické ochraně rostlinných škůdců.

O některých z těchto mikroorganismů je známo, že se používají pro biologickou ochranu rostlinných škůdců (Anwer 2017). Podle Lacey et al. (2015) Některé z těchto mikroorganismů jsou známy pro své schopnosti infikovat škůdce, kolonizovat jejich tělo a vyčerpávat jejich zdroje, což vede k redukci populace škůdců a minimalizaci potřeby používání chemických pesticidů.

Mikroorganismy, které se používají jako biopesticidy, jsou obecně méně toxické než chemické pesticidy. Biopesticidy mohou být specifické pro určité druhy škůdců, což zajišťuje menší dopad na neškodné organismy a snižuje riziko negativních dopadů na životní prostředí. Přestože jsou biopesticidy považovány za bezpečnější než chemické pesticidy, mohou stále mít vedlejší účinky na necílové organismy, a proto by měly být používány s opatrností (Tichá 2001). Jsou ekologicky šetrné, pomáhají chránit biologickou rozmanitost a snižovat negativní vlivy na životní prostředí (Lacey et al. 2015; Anwer 2017).

Některé mikroorganismy, které jsou používány v zemědělství jako biopesticidy nebo biostimulátory, mohou mít pozitivní vliv na růst kořenů rostlin. Tyto mikroorganismy mohou zlepšit příjem živin rostlinou, posílit imunitu rostlin proti patogenům a podporovat tvorbu kořenového systému. Díky těmto účinkům mohou rostliny lépe absorbovat vodu a živiny z půdy a tím se zlepšit výnos a kvalita plodin (Usta 2013; Anwer 2017). Na základě současných poznatků nebyly zaznamenány žádné závažné dlouhodobé negativní účinky používání mikroorganismů na půdu, vodu a ovzduší. Tyto mikroorganismy málokdy způsobují poškození rostlin a jejich rezidua jsou neškodná pro lidské a zvířecí zdraví, což je výhodou oproti chemickým látkám. Díky tomu lze použít tyto mikroorganismy před sklizní. Avšak u citlivých jedinců hrozí riziko imunosuprese v případě použití entomopatogenních hub (Anwer 2017).

Navzdory mnoha výhodám biologických pesticidů a novým poznatkům výzkumu v této oblasti, stále existují velké omezení v aplikaci přípravků na mikrobiální bázi v polních podmínkách. Jedním z důvodů je nedostatečná konzistence a reprodukovatelnost výsledků týkajících se ochrany rostlin (Usta 2013).

Omylem, který se často vyskytuje při přímém použití biopesticidů, je domněnka, že jsou stejně účinné proti všem patogenům bez ohledu na typ půdy, klimatické podmínky nebo různé scénáře produkce. Účinnost biopesticidů závisí na mnoha faktorech, jako je například populace organismů použitých k regulaci rostlin a koncentrace, která může být potřebná k regulaci patogenů, může být tisíckrát vyšší než u jiných mikroorganismů, aby se výrazně snížila populace patogenů. Tyto faktory jsou ovlivněny i typem půdy a klimatickými

podmínkami, což znamená, že účinnost biopesticidů může být specifická pro určité prostředí a situace produkce (Finckh et al. 2009).

Abiotické podmínky mohou také ovlivnit úspěšné použití biopesticidu. Suché, horké a slunečné podmínky mohou snížit aktivitu mikroorganismů a tím i účinnost biopesticidů. Je tedy důležité pečlivě zvažovat vhodné podmínky pro aplikaci biopesticidů a přizpůsobit je konkrétním potřebám a podmínkám pěstovaných plodin. Pro bakterie a houby je zásadní vlhkost (ideálně nad 90 %) a teplota (nejméně 15 °C, nejlépe kolem 25 °C). V aplikaci biopesticidů v kontrolovaných prostředích jako jsou skleníky se obvykle dosahují lepších výsledků, protože takové prostředí jim umožňuje ideální podmínky pro růst a šíření a také umožňuje jejich účinnou aplikaci (Koubová 2009; Finckh et al. 2015).

Biopesticidy musí být použity relativně rychle po zakoupení, aby dosáhly maximální účinnosti. Musí obsahovat speciální látky (aditiva), které udržují mikroorganismy v klidovém stavu, ale živé. Ve srovnání s chemickými pesticidy mají biologické pesticidy obvykle selektivnější účinek a působí pouze na určité druhy škůdců, což může být výhodou, pokud je potřeba cíleně omezit populaci specifických škůdců, aniž by se narušila rovnováha ekosystému. Na druhou stranu mohou být biologické pesticidy méně účinné proti škůdcům, které nejsou jejich cílovým druhem, což může znamenat, že je třeba použít větší množství přípravku nebo kombinovat s jinými metodami ochrany rostlin (Usta 2013).

Biologická ochrana rostlin může vyžadovat delší časový horizont než chemická ochrana, než se projeví účinnost. To může vést k poškození rostlin předtím, než se přirození nepřátelé dostanou do plného účinku, což může být problematické, zejména pokud jsou škůdci již silně rozšířeni (Koubová 2009).

Omezení přístupu k biokontrolním přípravkům nastává v důsledku předpisů, které nové pesticidy musí splňovat, aby mohly být použity v zemědělských oblastech. I když existují globální předpisy a povolení pro tyto přípravky v EZ, postupy ochrany plodin se na místní úrovni liší v závislosti na národních standardech, předpisech, komerčních aktivitách a zemědělských tradicích (Finckh et al. 2015).

3.1.6 Organismy využitelné pro biologickou ochranu

Přirozené nepřátele jsou součástí přirozeného ekosystému a mohou být k dispozici pro biologickou kontrolu škůdců a ochranu rostlin. Nicméně ne všechny jsou vhodné pro biologickou ochranu. Někteří přirození nepřátelé mohou být účinnější než jiní v kontrole určitých škůdců, zatímco jiní se mohou specializovat na určité druhy rostlin nebo živočichů (Usta 2013).

Existuje mnoho druhů přirozených nepřátel, kteří jsou schopni kontrolovat škůdce v různých prostředích. Mezi nejčastěji používané přirozené nepřátele v biologické kontrole patří, včetně dravých hmyzů a roztočů, parazitických hmyzů a hád'átek a mikrobiálních

patogenů hmyzu a roztočů, které jsou dostupné po celém světě (Ravensberg 2010). Avšak v porovnání s konvenčními pesticidy je počet přirozených nepřátel relativně malý. Konvenční pesticidy jsou vysoce účinné v boji proti škůdcům, ale často mají negativní dopad na životní prostředí, včetně ohrožení přirozených nepřátel a snižování biodiverzity. Kromě toho je aplikace biologické ochrany obvykle náročnější než použití chemických látek a vyžaduje specifické znalosti a pozornost (Honěk et al. 2008).

Biologické postupy pro ochranu rostlin (v úzkém významu, tedy bez využití transgenních rostlin) zahrnují využití rostlinných extraktů nebo metabolitů mikroorganismů a jsou založeny na antagonistických interakcích mezi druhy, které jsou ovlivněny různými faktory. Stejný biologický faktor může mít v různých prostředích zcela odlišné účinky. Následující organismy jsou využívány pro biologickou ochranu (Ravensberg 2010).

3.1.6.1 Mikroorganismy

Prospěšné mikroorganismy, jako jsou bakterie, houby, chromista, viry, viroidy, řasy a prvoci, se široce využívají jako biohnojiva a biokontrolní inokula. Aplikace těchto mikroorganismů na semena je považována za užitečný a praktický nástroj pro zavedení prospěšných mikroorganismů do půdy a rhizosféry rostlinných tkání (Bennett et al. 2006). Tyto mikroorganismy nemají schopnost aktivně vyhledávat hostitele a spoléhají na pasivní prostředky k dosažení svých cílů.

Nejvíce prozkoumanými mikroorganismy jsou bakterie a houby. Bakterie se využívají jako biopesticidy v řadě aplikací, včetně ochrany rostlin, kontrolou škůdců a biodegradace toxinů. Tyto mikroorganismy jsou schopné rychle se reprodukovat, jsou odolné vůči mnoha abiotickým stresům a mohou být snadno geneticky modifikovány pro zlepšení svých vlastností. Podle Usty (2013) jsou bakteriální bioinsekticidy nejúspěšnějšími přípravky založenými na mikroorganismech.

Houby jsou také důkladně studovány a využívají se pro regulaci chorob rostlin, jako jsou například mykoparazitické a entomopatogenní houby (Koubová 2009).

Běžně se tyto mikroorganismy využívají ke kontrole chorob rostlin, ale některé z nich mohou být také využity k hubení škůdců zvířat na polích a regulaci nežádoucích rostlin (Honěk et al. 2008).

Pro účinné využití těchto mikroorganismů v provozních podmínkách je nezbytná standardizace výroby biopreparátů a zajištění optimálních podmínek pro jejich aplikaci v terénu. To zahrnuje například správné skladování a transport biopreparátů, volbu vhodného způsobu aplikace a aplikace v optimálním časovém okně, a zajištění vhodné vlhkosti, teploty a dalších faktorů pro maximální účinnost. Důležité je také sledování účinnosti aplikací a optimalizace procesů v průběhu času (Anwer 2017).

3.1.6.2 Makroorganismy

Mezi makroorganismy patří dravci – jako jsou dravé brouci, dravé roztoče, dravé plošnice; parazitoidi – tyto organismy kladou vajíčka uvnitř hostitelského organismu a poté se z vajíček líhnou larvy, které konzumují hostitele; paraziti z kmene členovci (*Arthropoda*), včetně hmyzu, roztočů a pavouků; parazitické hlístice z kmene *Nematoda*. Tyto organismy mohou být velmi účinné při regulaci škůdců a jsou často používány jako biologická kontrola při ochraně rostlinných plodin a produktů. Pokud jsou tyto organismy správně použity a spravovány, mohou být velmi účinnou alternativou k chemickým pesticidům (Lacey et al. 2015).

Pro efektivní aplikaci těchto mikroorganismů v praktických podmínkách je klíčová dostatečná bioregulační kapacita, která zahrnuje několik faktorů. Jedním z nich je vývojový cyklus, který by měl být kratší než u hostitele, aby bylo možné rychleji ovlivnit populaci škůdců. Dále je důležitá vysoká plodnost a schopnost přizpůsobit se měnícím se podmínkám v prostředí. Tyto mikroorganismy musí být také schopné aktivně vyhledávat hostitele a být tolerantní vůči pesticidům. Kromě toho musí být tyto organismy relevantní druhy, které se snadno množí v umělých podmínkách a jsou ekonomicky rentabilní. To vše jsou klíčové faktory pro úspěšné využití biologické ochrany rostlin v praxi (Hajek 2004).

Biologická regulace může probíhat několika způsoby. Například, přirozeně působením volně žijících antagonistů (např. dravců, parazitoidů, patogenů). Tato regulace se vyskytuje v přírodě bez zásahu člověka, když se organismy přirozeně regulují navzájem, a to jak mezi druhy, tak i uvnitř druhu. Další způsob je aplikace biologických přípravků obsahujících živé organismy nebo jejich metabolity (např. entomopatogenních hub, bakterií, virů), což je účinné zejména v dlouhodobých kulturách, jako jsou například ovocné sady, vinice nebo pole s ozimou pšenicí. V těchto prostředích je možné aplikovat biologické přípravky v určitých intervalech, což umožňuje udržovat populaci škůdců pod kontrolou a minimalizovat vnější vlivy na biologickou regulaci (Koul 2004).

3.2 Entomopatogenní houby

Entomopatogenní houby (EPF) jsou druhem hub, které se specializují na parazitování a zabíjení hmyzu. Tyto houby jsou schopné produkovat určité toxiny a enzymy, které mohou napadnout a způsobit smrt hmyzu, který je infikován. Oni mají významnou úlohu při regulaci populace hmyzu jako přirození regulátoři, protože mnoho druhů hmyzu infikují. Entomopatogenní houby jsou specializované na infikování a zabíjení některých škůdců (hmyz, roztoči, háďátka) a nejsou obvykle škodlivé pro jiné druhy organismů, jako jsou rostliny nebo savci (Samson et al. 1988).

Dříve se entomopatogenní houby považovaly pouze za patogeny členovců, ale nedávné výzkumy ukázaly, že mají velký ekologický význam, protože pomáhají podporovat růst rostlin v rhizosféře (Lacey et al. 2015).

3.2.1 Charakteristika entomopatogenních hub

Bylo identifikováno více než 750 druhů nižších hub, které mohou způsobovat onemocnění mnoha druhů hmyzu a fungovat jako obligátní nebo fakultativní patogeni. Už od druhé poloviny 19. století se entomopatogenní houby používají jako biologická kontrola hmyzu (Woods 1974). Podle Sewify (2014) jsou entomopatogenní houby první a nejčastěji popsané mikroorganismy interagující s hmyzem, což z nich činí jedny z nejvýznamnějších entomopatogenních mikroorganismů.

Entomopatogenní houby se vyskytují přirozeně v půdě a na rostlinách, ale jsou také často využívány jako biologická kontrola škůdců v zemědělství a zahradnictví. Tyto houby jsou obecně považovány za bezpečné pro lidi a zvířata, protože se specializují pouze na určité druhy hmyzu a nepoškozují jiné organismy. Tyto houby jsou často používány jako alternativa k syntetickým pesticidům, které mohou mít negativní dopad na životní prostředí a lidské zdraví (Lacey et al. 2015; Litwin et al. 2020).

Entomopatogenní houby byly pravděpodobně snadno odhaleny díky tomu, že růst těchto hub na povrchu těla hmyzu je dobře viditelný, což se liší od jiných skupin entomopatogenních organismů. Většina entomopatogenních hub působí jako buď obligátní nebo fakultativní patogeni hmyzu. To znamená, že potřebují živou hostitelskou buňku k životu. Obligátní parazité mohou přežít jen v hostitelské buňce, zatímco fakultativní parazité mohou žít v hostitelské buňce i mimo ni. Entomopatogenní houby se často vyskytují v půdě a v jiných prostředích, kde čekají na vhodného hostitele, na kterém se mohou usadit a rozmnožovat. Některé z nich mohou fungovat jako symbionti za určitých podmínek (Landa 2002).

Ačkoli entomopatogeny mohou napadat všechna stádia vývoje hmyzu, jsou nejčastěji pozorovány u larev, kukel a dospělců, zatímco infekce vajíček jsou vzácné. Některé druhy entomopatogenních hub mohou infikovat více hostitelů z různých řádů hmyzu a mohou také infikovat různá stádia vývoje jednoho hostitele (např. *Paecilomyces fumosoroseus*) (Samson et al. 1988).

Naopak, některé druhy entomopatogenních hub jsou specializované pouze na určité druhy hmyzu a jejich účinnost může být omezená. Například houba *Nomuraea rileyi*, která napadá pouze larvy motýlů. Zatímco houby z rodu *Beauveria* jsou známé svou schopností infikovat brouky, jako jsou mandelinky a mandelinkovití brouci, zatímco houby z rodu *Metarhizium* jsou často používány k zabíjení komárů, much a klíšťat (Goettel et al. 2008). Žádná jiná skupina entomopatogenních organismů nevykazuje takovou rozmanitost potenciálu pro praktickou biologickou kontrolu jako entomopatogenní houby (Landa 2002).

3.2.2 Klasifikace entomopatogenních hub

Existuje mnoho druhů entomopatogenních hub, které se liší svými biologickými vlastnostmi a účinností při zabíjení hmyzu. Přehled nejvýznamnějších a nejdůležitějších entomopatogenních druhů hub je vidět v tabulce číslo 1 (Samson et al. 1988).

K neznámějším rodům patří *Beauveria*, *Hirsutella*, *Isaria*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces* a také *Verticillium* (Landa 1994; Goettel et al. 2008). Mnoho druhů těchto rodů zahrnuje přibližně 25 druhů, které jsou v současné době využívány jako standardní biopreparáty v oblasti praktické biologické ochrany. Z hlediska této ochrany jsou nejvýznamnějšími entomopatogenními houbami jsou *Beauveria*, *Metarhizium* a *Paecilomyces* (Goettel et al. 2008).

Tab. č. 1: Přehled nejvýznamnějších a nejdůležitějších entomopatogenních druhů hub (Samson et al. 1988).

Skupina	Řád	Rod
<i>Chytridiomycota</i>	<i>Chytridiales</i>	<i>Coelomycidium</i>
	<i>Blastocladales</i>	<i>Coelomomyces</i>
<i>Oomycota</i>	<i>Saprolegniales</i>	<i>Leptolegnia</i>
<i>Zygomycota</i>	<i>Entomophthorales</i>	<i>Conidiobolus</i>
	<i>Entomophthorales</i>	<i>Entomophthora</i>
	<i>Entomophthorales</i>	<i>Erynia</i>
	<i>Entomophthorales</i>	<i>Neozygites</i>

<i>Ascomycota</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascospaera</i>
	<i>Hypocreales</i>	<i>Calonectria</i>
	<i>Hypocreales</i>	<i>Cordyceps</i>
	<i>Hypocreales</i>	<i>Myriangium</i>
<i>Deuteromycota</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Beauveria</i>
	<i>Moniliales</i>	<i>Nomuraea</i>

3.2.3 Vývojový cyklus entomopatogenních hub

Entomopatogenní houby se mohou reprodukovat jak pohlavním, tak i nepohlavním způsobem. Nicméně, v kontextu biologické ochrany rostlin jsou nejvíce využívány komerční kmeny, které jsou produktem selekce a šlechtění, a ty se reprodukují pouze nepohlavním způsobem. Tento proces zahrnuje množení houb pomocí spor a myceliálního růstu, které jsou pak použity k výrobě biopreparátů. Probíhá bez střídání jaderných fází. Tento proces se nazývá mitóza a je zodpovědný za dělení buněk a vytváření nových jedinců bez nutnosti páření. Navíc, reprodukce může probíhat jak na haploidním, tak i dikaryotickém myceliu, což umožňuje houbám vytvářet nové jedince rychleji a účinněji (Královec 2012).

Entomopatogenní houby se mohou reprodukovat buď dělením buněk nebo fragmentací hyf. Dělení buněk se nazývá mitóza a je procesem, při kterém se jedna buňka dělí na dvě nové, z nichž každá obsahuje stejný počet chromozomů jako původní buňka. Fragmentace hyf znamená rozdělení myceliálního vlákna na menší části, které se následně mohou rozvinout do nových jedinců. Díky této schopnosti reprodukce mohou houby úspěšně kolonizovat různé prostředí, rychleji se množit a přizpůsobit se měnícím se podmínkám (Landa 1994).

Celkově se vývojový cyklus entomopatogenních hub liší v závislosti na druhu houby a hostiteli, ale tyto hlavní fáze jsou společné většině entomopatogenních hub.

Hlavní fáze vývojového cyklu entomopatogenních hub lze definovat jako:

- Přichycení a klíčení konidií na povrchu kutikuly hostitele

První aktivní fází interakce mezi entomopatogenními houbami a hostitelskými organismy je klíčení konidií, které mnoho hub tvoří a které nemusí přijímat živiny z vnějšího prostředí, jelikož mají dostatek energie pro klíčení. Kutikula je vrstva tvořená vosky a jinými látkami, která chrání povrch těla hmyzu před dehydratací a infekcemi. Konidie entomopatogenních hub mohou překonat tuto bariéru díky enzymům, které rozkládají vosky a další látky v kutikule (Boucias et al. 1988). Obvykle se produkují na hostitelském hmyzu nebo na substrátu v prostředí.

Konidie jsou malé, jednobuněčné struktury, které jsou produkovány houbami za účelem šíření do okolí a založení nových kolonií. Klíčení konidií entomopatogenních hub je ovlivněno mnoha faktory, jako jsou teplota, vlhkost, chemické látky na povrchu kutikuly hostitele a fyziologický stav konidií. Teplota je jedním z nejdůležitějších faktorů, které ovlivňují klíčení konidií (Landa 1994). Jsou schopny přetrvávat v prostředí v klidovém stavu po dlouhou dobu, dokud nenarazí na vhodného hostitele k infekci. Konidie jsou schopny přežít extrémní podmínky, jako jsou vysoké nebo nízké teploty, nedostatek vlhkosti a některé chemické látky (Inglis et al. 1996).

- Pronikání patogena do tělní dutiny, interní proliferace a vytváření povrchové myceliální sítě (parazitická fáze vývojového cyklu)

Po přichycení a klíčení konidií na povrchu kutikuly hostitele následuje fáze pronikání patogena do tělní dutiny hostitele. Konidie buď vyrůstají dovnitř kutikuly a následně do hmyzího těla nebo přímo pronikají dovnitř tělní dutiny hostitele (Boucias et al. 1988).

Běžně vstupují do hostitele skrz různé otvory, jako jsou dýchací nebo řitní otvory, či ústa. Jakmile jsou v tělní dutině hostitele, obvykle rychle kolonizují různé tkáně a orgány (Inglis et al. 1996). Některé druhy entomopatogenních hub tvoří při klíčení speciální struktury, jako jsou například apesoria nebo haustoria, které jim umožňují snadněji pronikat do těla hostitele (Landa 1994).

Během této fáze cyklu růstu dochází k přechodu z vláknitých forem hub k tělískům, jako jsou hyfová tělíška nebo blastospory, které se rychle dělí a rozmnožují. Mycelium se skládá z multinukleárních buněk, což znamená, že obsahuje více jader v jedné buňce. Tato charakteristika je důležitá pro vývoj EPH, protože umožňuje rychlý růst a účinné získávání živin. Tyto tělíška obsahují nové konidie, které se mohou šířit a infikovat další hostitele. V konečné fázi se hostitel mumifikuje, což znamená, že jeho tělo ztrácí vodu a získává suchou a křehkou konzistenci (Castrillo et al. 2005).

- Externí sporulace a tvorba konidií nové generace (saprofytická fáze vývojového cyklu)

Saprofytická fáze vývojového cyklu entomopatogenních hub je období růstu myceliální sítě uvnitř tělní dutiny hostitele. V této fázi se houba živí tkáněmi hostitele a využívá ho jako zdroj živin pro svůj růst a reprodukci. Konidie jsou produkovány na konidioforu, což je specializovaný výrůstek buňky houby, která umožňuje konidiím snadnější šíření do okolí. Nové konidie zůstávají v dormantním stavu týdny až měsíce, dokud se nedostanou na povrch nového vhodného hostitele, kde se konidie přichytí a začnou růst a šířit se (Landa 1994).

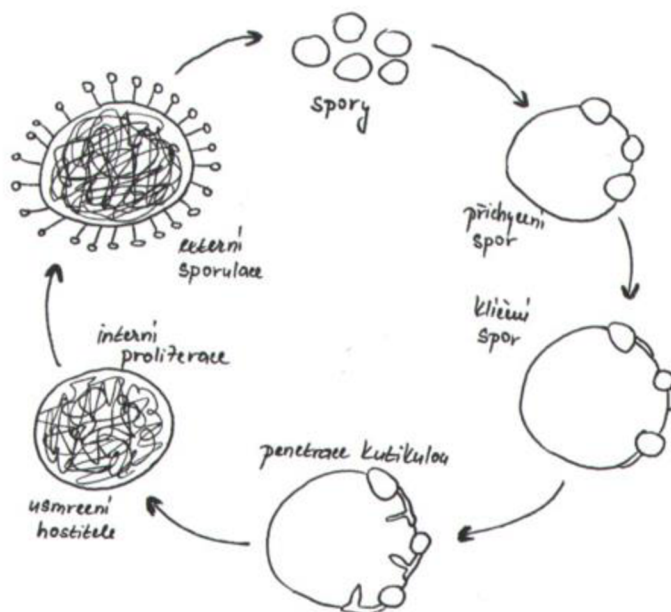
Po určité době vývoje houby se na povrchu hostitele začnou tvořit plodnice. Plodnice jsou reprodukční struktury, které obsahují spory, jež jsou rozptýlovány do prostředí buď větrem nebo kontaktem s jiným hmyzem a pak mohou infikovat další hostitele (Usta 2013).

Životní cyklus se opakuje. Spory vytvořené v plodnicích se šíří do prostředí a čekají na dalšího vhodného hostitele, kde se cyklus opakuje (Castrillo et al. 2005).

Houbová infekce obvykle začíná vitálními a virulentními konidiemi, které se šíří prostřednictvím vody a vzduchu, jako jsou déšť, vítr, pohyb vody v půdě a vodní pára (Jaronski et al. 2007).

Existuje několik běžných způsobů, jak se mykózy mohou šířit v populacích hmyzu. Mykózy se mohou šířit přímým nebo nepřímým kontaktem s infikovanou osobou nebo zvířetem. Některé druhy hub se mohou šířit vzduchem, zejména v místnostech s nízkou vlhkostí a špatnou ventilací. Některé druhy hub mohou infikovat rostliny a půdu a přenášet se na lidi, kteří se dotýkají nebo manipulují s těmito rostlinami nebo půdou (Srivastava et al. 2009).

Někdy se mykózy také šíří biologickými přenašeči, jako jsou roztoči, háďátka a jiný hmyz. Přichycení konidií na povrch těla hostitele je klíčovým faktorem pro vznik houbových onemocnění (Inglis et al. 1996). U některých druhů hub jsou konidie schopny použít adhezivní látky již při prvním kontaktu s hostitelem, aby se pevně přilepily na kutikulu. Saprofytická fáze je velmi důležitá pro úspěšnou infekci hostitele, protože rychlý růst myceliální sítě umožňuje houbě rychle se usídlit a vytvořit patogenní účinek (Královec 2012). Níže na obrázku č. 2 můžeme vidět vývojový cyklus entomopatogenních hub.



Obr. č. 2: Schéma vývojového cyklu entomopatogenní houby (Landa 1994).

3.2.4 Využití EPF v biologické kontrole rostlin

Houby mohou napadat různá stadia životního cyklu hmyzu, včetně larev, kulek dospělých jedinců, a dokonce i vajíček. Konidie entomopatogenních hub se přichytí k povrchu těla hostitele, například kutikule, a za pomoci mechanického tlaku a enzymatického trávení se dostanou dovnitř těla hmyzu. Kutikula hmyzu slouží jako ochranná vrstva proti infekcím a vysychání, a tak je pro konidie důležité ji překonat, aby se mohly dostat k vnitřním orgánům a způsobit infekci (Starnes et al. 1993).

Entomopatogenní houby mohou produkovat různé druhy toxinů, které pomáhají při infekci hmyzu. Mezi nejznámější patří mykotoxiny, proteiny a enzymy, které mohou ovlivnit fyzické a biochemické procesy v těle hostitele a narušit jeho normální fungování. Vstupovým místem infekce u hmyzu entomopatogenními houbami obvykle bývá záhyb článků na nohách, antény, kusadla nebo průduchy, kde je kutikula měkčí a vlhčí, což usnadňuje klíčení konidií a růst houby (Usta 2013).

Postupné pronikání houby dovnitř těla hostitele umožňuje houbě účinně infikovat hostitele a vytvářet nové konidie, které mohou být následně rozptýleny v prostředí a infikovat další jedince (Koubová 2009).

Trvání infekčního procesu houby závisí na mnoha faktorech, jako je druh houby, druh hostitele, teplota, vlhkost, a další environmentální faktory, ale obvykle trvá několik dní až týdnů. Pokud jsou příznivé podmínky, houby začínají růst, šířit se po těle hostitele produkovat nové spory. Tyto spory mohou být šířeny větrem nebo deštěm do dalších oblastí (Kühne et al. 2006; Koubová 2009; Anwer 2017).

Biopreparáty používané v ekologické kontrole musí projít náročným hodnotícím procesem, aby splňovaly stanovená kvalitativní a kvantitativní kritéria. Mezi důležité faktory patří poměr aktivních a pomocných látek v biopreparátu, tolerovanou úroveň kontaminace, a také zajištění identity kmenu a patogenu. Kvantitativními kritérii jsou například počet infekčních jednotek, míra klíčení konidií a počet kolonií tvořících jednotku (Anwer 2017; Litwin et. al 2020).

Existuje mnoho druhů EPF, které lze použít v biologické kontrole rostlin. Mezi nejčastěji používané patří *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* a *Lecanicillium lecanii* a *Isaria fumosorosea*. Tyto houby jsou schopny infikovat škůdce prostřednictvím kontaktu, prostřednictvím spolupráce s ostatními biologickými kontrolními agenty nebo prostřednictvím aplikace přímo na rostlinu (Anwer 2017).

3.2.5 Biopreparáty na bázi entomopatogenních hub

Entomopatogenní houby (EH) jsou schopny pro svůj vývoj využívat alternativní systémy, jako je saprofytický cyklus, který nepotřebuje živého hostitele. Díky této schopnosti je možné využít velkokapacitní biotechnologie pro produkci biomas a infekčních jednotek entomopatogenních hub. Tato technologie je klíčová pro vývoj a výrobu standardizovaných biopreparátů (Koubová 2009).

V současné době je preferovaná výrobní technologie biopreparátů založená na kultivaci buněk a mikroorganismů v bioreaktorech. Tato technologie umožňuje vyrábět biopreparáty většími množstvími a s větší přesností ovládnutí procesu výroby. Kultivace buněk a mikroorganismů v bioreaktorech se obvykle provádí za použití speciálního živného média, které obsahuje všechny potřebné živiny pro růst a množení buněk. V bioreaktorech lze řídit podmínky kultivace, jako jsou teplota, pH, koncentrace kyslíku, proudění a agitace, což umožňuje optimalizovat výrobu biopreparátů a dosáhnout co nejvyššího výtěžku a čistoty produktu. Po dosažení požadovaného množství buněk nebo mikroorganismů se provádí proces získání produktu, jako je odfiltrování buněk, lyzování buněk nebo extrakce enzymů (Anwer 2017).

Přetížení mycelia je jednou z metod pěstování hub. Při této metodě se mycelia, rostoucí na povrchu sterilního tekutého média, nechají růst v aerobních podmínkách a postupně se uzavírají ve sterilních PVC pytlích, aby se omezil přístup kyslíku a vytvořily se anaerobní podmínky. V takových podmínkách mohou houby produkovat speciální metabolity, jako jsou například extracelulární enzymy, alkaloidy, terpeny a další bioaktivní látky, které mají využití ve farmacii, potravinářství a dalších oborech (Grimm 2001; Koubová 2009).

Tato metoda umožňuje vysokou produkci biomolekul s nízkými náklady a v kratším časovém období než jiné metody pěstování hub. Pytle jsou snadno sterilizovatelné a umožňují jednoduchou manipulaci s kulturami hub. Tuto metodu lze najít v České republice, kde byl

vyráběn komerčně dostupný bioprodukt na bázi *B. bassiana* s názvem Boverol (Weiser 1966; Grimm 2001).

Aby byly standardizované biopreparáty založené na entomopatogenních houbách účinné proti škůdcům, je nutné, aby splňovaly stanovené kvalitativní a kvantitativní parametry, což zahrnuje úplné registrační řízení (Lacey et al. 2015). Pro zajištění kvality a bezpečnosti standardizovaných biopreparátů založených na entomopatogenních houbách se používají různé kontroly kvality a certifikace, jako je například certifikace podle evropských standardů (např. ISO 9001, ISO 14001, OHSAS 18001) a certifikace podle standardů pro biologické výrobky (např. ECOCERT, USDA Organic).

Tabulka č. 2 zobrazuje údaje o komerčních biopreparátech EH registrované pro potřeby biologické ochrany proti hmyzím škůdcům.

Mezi klíčové požadavky patří:

- Určené druhy hmyzu: Biopreparáty musí být specifické pro daný druh hmyzu, který mají likvidovat.
- Standardizovaný obsah aktivních látek: Biopreparáty musí obsahovat stanovenou koncentraci aktivních látek, které jsou zodpovědné za likvidaci škůdců.
- Stabilita: Biopreparáty musí být stabilní po dobu skladování a transportu a zachovávat si svoji účinnost.
- Bezpečnost pro lidské zdraví a životní prostředí: Biopreparáty nesmí obsahovat žádné škodlivé látky pro lidské zdraví ani pro životní prostředí (Inglis et al. 1996).

Zhruba 25 druhů entomopatogenních hub se v současnosti používá jako biologické pesticidy k likvidaci škodlivých hmyzích populací. Tyto druhy hub jsou vybírány pro svou schopnost infikovat a způsobit nemoc u širokého spektra druhů hmyzu a zároveň se snaží minimalizovat negativní dopad na přírodní prostředí a neškodit při správném použití lidskému zdraví. Mezi nejčastěji používané druhy entomopatogenních hub patří *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea*, *Paecilomyces lilacinus* (Srivastava et al. 2009).

Tab. č. 2: Komerční biopreparáty EH registrované pro potřeby biologické ochrany proti hmyzím škůdcům (Srivastava et al. 2009).

Houba	Komerční biopreparát	Cílový škůdce	Výrobce	Oblast použití
<i>B. bassiana</i>	Ago Bio Bassiana	hmyz	Ago Biocontrol	Jižní Amerika
<i>M. anisopliae</i>	Ago Bio Metarhizium 50	motýli a brouci	Ago Biocontrol	Jižní Amerika
<i>L. lecanii</i>	Ago Bio Verticillium	zelené housenky	Ago Biocontrol	Jižní Amerika

	50			
<i>L. giganteum</i>	Laginex AS	komáři	Agraquest Inc	
<i>B. brongniartii</i>	Engerlingspilz	chroust obecný	Andermatt	Svýcarsko
<i>L. giganteum</i>	Leganidium giganteum	komáři	CA Dept of Health	-
<i>M. anisopliae</i> ESF 1	Bioblast	termiti	Ecoscience	USA
<i>M. anisopliae</i> ESF 1	Biopath Roach Chamber	švábi	Ecoscience/Terminex	USA
<i>M. flavoviride</i>	Green Muscle	kobylky, sarančata	International Institute of Bio. Con.	-
<i>L. lecanii</i>	Mycotal	molice	Koppert	Nizozemsko
<i>L. lecanii</i>	Vertalec	mšice	Koppert	Nizozemsko
<i>B. bassiana</i>	Botanigard	molice, třásněnky, mšice	Mycotech	Jižní Parkmont, USA
<i>B. bassiana</i>	Mycotrol	molice, třásněnky, mšice	Mycotech	Jižní Parkmont, USA
<i>B. brongniartii</i>	Betel	chroust obecný	NPP/Calliope	ostrov Reunion
<i>B. bassiana</i>	Ostrinil	<i>Oryctes nubilalis</i> , <i>O. funacalis</i>	NPP/Calliope	Francie
<i>I. fumosorosea</i> Apopka 97	PFR-97	molice, roztoči třásněnky, mšice	Thermo trilogy	-
<i>B. bassiana</i>	Naturalis	stejnokřídlí, brouci, ploštice	Troy bioscience	USA
<i>M. anisopliae</i>	Biogreen	švábi	Biocare	Rakousko
<i>I. fumosorosea</i>	Per97	molice	Grace	USA

V České republice existují registrované produkty založené na entomopatogenních houbách, které se využívají jako biologický prostředek v ochraně rostlin a proti škůdcům v hospodářských plodinách. Existuje také řada nezaregistrovaných produktů na bázi EPF, které se využívají v integrované ochraně rostlin (eAgri Registr přípravků na ochranu rostlin 2023).

Obecně se zdá, že v České republice neexistuje silná tendence ke využívání biologické ochrany. Avšak v roce 2007 byla entomopatogenní houba *B. bassiana* experimentálně použita k regulaci populací brouků lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*) na Šumavě. Cílem tohoto projektu bylo identifikovat možnosti a perspektivy využití EPF, což vedlo k shromáždění více než 150 kultur patogenních hub pro hmyz (Landa 2008). V zahraničí se biologická ochrana pomocí EPF v současnosti poměrně rozšířila. Například v Nizozemsku a Španělsku se téměř 90 % plodin pěstovaných ve sklenících ošetřuje přípravky EPF.

3.3 Mykoparazitické houby

Mykoparazitické houby jsou charakterizovány jako houby, které se živí jinými houbami a přirozeně ovlivňují fytopatogenní houby tím, že narušují jejich životní cyklus. Přítomnost těchto hub v půdním ekosystému může zlepšit stabilitu půdy a je považována za klíčovou

součást půdní suprese (Prokinová 1996). Tyto houby jsou aktivní pouze v těsné interakci s hostitelskými houbami, na větší vzdálenost jsou neaktivní (Okrouhlá 1993). Mykologové, kteří se zabývají studiem rostlinných chorob, poprvé popsali tyto organismy již v roce 1800 (Veselá 1986).

Podle Prokinové (1996) bylo zaznamenáno kolem 1000 až 2000 druhů mykoparazitických hub, které se vyskytují na více než 2500 druzích jiných hub.

Tyto mykoparazitické houby se často používají jako biologický prostředek v ochraně rostlin a hmyzu, protože mají několik výhod. Jednou z nich je jejich schopnost aktivně růst a kolonizovat hostitelské organismy, což umožňuje efektivní kontrolu škůdců a chorob. Ten děj zvyšuje jejich odolnost vůči stresovým faktorům a podporuje růst a vývoj rostlin. Tento proces se nazývá mykorhizní symbióza – vzájemný vztah mezi kořeny rostlin a houbami, který je pro obě strany přínosný. Další výhodou je, že tyto houby jsou přirozeně vyskytující se v přírodě a jsou ekologicky šetrné, což je důležité pro udržitelnost zemědělského hospodářství (Whipps & Lumsden 2001).

Některé druhy mykoparazitických hub mohou mít pozitivní vliv na růst a vývoj rostlin, a to zejména ty, které jsou schopny vytvářet mykorhizní symbiózu. Tyto houby jsou schopny stimulovat růst kořenů pomocí růstových hormonů a zlepšit přísun živin a vody do rostlin. V ekologickém zemědělství se často sáhne po těchto druzích hub jako alternativě k syntetickým hnojivům a stimulatorům růstu. Mezi ně patří druhy rodů *Fusarium*, *Pythium* a *Rhizoctonia*, ale i ty, které napadají nadzemní části rostlin, jako například *Ampelomyces quisqualis*, což je původce padlí rostlin (Sejketov 1982).

3.3.1 Mykoparazitismus

V roce 1870 de Bary poprvé pozoroval mykoparazitismus u hub *Piptocephalis freseniana* a *Cicinobulus cesati*. Tento jev spočívá v interakci mezi mykoparazitickými houbami, které mají schopnost parazitovat na jiných houbách, a mykohostitelem, který slouží jako hostitel pro parazitující houbu, tzv. mykoparazitická houba, se živí jinou houbou, tzv. hostitelskou houbou (Barnett et al. 1957).

Mykoparazitické houby mají schopnost připojit se k tělu svého hostitele a infiltrovat jeho tkáň. Po infekci začne mykoparazitická houba vyrůstat uvnitř hostitele a spotřebovávat jeho živiny. Výsledkem je smrt hostitele a vývoj nových spor, které mohou infikovat další hostitele. Tento vztah existuje u všech skupin hub, od oddělení *Chytridiomycota* až po oddělení *Basidiomycota* (Jeffries 1997).

Mykoparazitické houby mohou rozpoznat svého hostitele na základě chemických a fyzikálních signálů, které rostlina produkuje. Tyto signály mohou být vysílány z kořenů do půdy nebo do vzduchu nad půdou. Houby poté reagují vysláním svých vlastních signálů, které umožňují interakci s hostitelskou rostlinou (Barnett et al. 1957).

Některé rostliny mají mechanismy obrany proti houbám, které mohou zahrnovat tvorbu ochranných vrstev nebo látek, které jsou toxické pro houby. Je možné, že když se houba neprokousá hostitelským myceliem, ale pouze se obalí kolem něj, může to být projev rezistence hostitele proti infekci houbou. Nicméně, existují i jiné důvody, proč by se houba mohla pouze obalit kolem hostitelského organismu, jako je například nedostatek prostoru nebo živin (Veselá 1986).

Barnett a Binder (1973) klasifikovali mykoparazitické houby na základě typu hostitelského vztahu do dvou hlavních skupin – biotrofních nebo destruktivních (nekrotrofních). V tabulce níže můžeme pozorovat klasifikaci mykoparazitů podle hostitelsko-parazitických interakcí (viz tab. č.3).

Biotrofní parazité představují první skupinu, která se specializuje na parazitování na živých buňkách a potřebují živého hostitele k přežití a rozmnožování. Tito parazité se často specializují na určité druhy hostitelů a napadají jejich buňky, aby získali potřebné živiny (Lewis & Papavizas 1987).

Trichoderma spp. a *Clonostachys* spp. jsou zařazeny do biotrofní skupiny mykoparazitických hub. Tyto houby jsou schopny inhibovat růst patogenních hub a bakterií, které napadají rostliny (Lewis & Papavizas 1987).

Mezi biotrofní parazité mohou patřit druhy, které jsou specializované na jednom nebo několika cílových patogenech. Tito parazité degradují buď buněčnou stěnu nebo protoplasty hostitele, ale dlouho se nejeví vnějšími znaky a mohou být na hostiteli bez viditelných poškození po určitou dobu, kdy si berou živiny z přežívajícího mycelia. Oni obvykle nepřímo zabíjejí hostitele, ale k tomu dochází až po spotřebování většiny živin. Biotrofní houby obvykle nemají potřebu produkovat enzymy, antibiotika nebo exotoxiny, protože jejich životně důležitá funkce spočívá v udržování živého hostitele. Nicméně některé biotrofní houby produkují látky, které ovlivňují imunitní reakce hostitelské rostliny (Jeffries 1995).

Nekrotrofní mykoparazitické houby jsou druhem parazitických hub, které se specializují na infekci a poté zabítí jiných hub. Tyto houby se živí zdroji, které jsou k dispozici v mrtvých nebo umírajících buňkách svých hostitelů, a využívají je jako zdroj živin. Nekrotrofní mykoparazité mohou být užiteční při ochraně rostlin před patogenními houbami, ale také mohou být škodliví, protože mohou způsobit rozpad houbové komunity a destabilizaci ekosystému (Veselá 1986).

Tyto houby používají různé mechanismy působení, například přímé napadení hyf hostitele pomocí hydrolytických enzymů, produkci antibiotik a exotoxinů nebo soutěžení o živiny a prostor (Veselá 1986).

Mezi příklady nekrotrofních mykoparazitických hub patří například *Ampelomyces quisqualis*, *Fusarium* a *Sclerotinia sclerotiorum* (Ondráčková et al. 2019).

Tab. č. 3: Klasifikace mykoparazitů podle hostitelsko-parazitických interakcí (Jeffries 1997).

Nekrotrof

kontaktní nekrotrof mykoparazit roste v těsném kontaktu s hyfami hostitele, aniž by do nich pronikal.

invazivní nekrotrof hyfy mykoparazita pronikají do hyf hostitele a následně v nich rostou. To vede k nekróze hostitelských hyf a jejich rozkladu.

Biotrof

haustoriální biotrof používá krátké větve hyfy nazývané haustoria k proniknutí do hyfy hostitele.

vnitrobuněčný biotrof protoplast ze stélky mykoparazita proniká do napadené cytoplazmy hyfy hostitele po penetraci.

fúzijící biotrof při kontaktu hyf hostitele s hyfou mykoparazita se stěny obou hyf spojují a vytvářejí mezibuněčné kanálky, které propojují protoplasty hostitele a parazita. Hyfa hostitele není zjevně penetrací hyfou parazita prorážena.

3.3.2 Nejvýznamnější druhy mykoparazitických hub

3.3.2.1 *Trichoderma virens*

Trichoderma virens, známý také jako *Gliocladium virens*, je bakteriální parazit, který byl izolován z fytopatogenního sklerocia *Sclerotinia minor* v USA (Hebbar & Lumsden 1999). *Trichoderma* jsou vláknité houby, které běžně obývají půdu v polních a lesních ekosystémech a vyskytují se na tlejícím dřevě rostlin. *T. virens* je běžným členem mikroflóry různých typů půd, zejména těch s vysokým obsahem organické hmoty a vodních ekosystémů. Jeho výskyt se nejčastěji pozoruje v půdách mírného i tropického pásma. Množení této houby se může provádět buď vegetativně nebo pohlavně (ÚKZÚZ 2022).

Trichoderma virens je jedna z prvních mykoparazitických hub, které byly použity jako biologický agens pro kontrolu různých druhů patogenních hub. *T. virens* je schopná suprimovat růst a šíření patogenních hub a bakterií v půdě, čímž chrání rostliny před infekcemi; schopná produkovat celou řadu enzymů, včetně celuláz, chitináz, lipáz a proteáz, které pomáhají rozkládat organickou hmotu v půdě a uvolňovat živiny pro rostliny; schopná stimulovat imunitní systém rostlin, čímž zvyšuje jejich odolnost vůči patogenům; schopná produkovat růstové stimulanty, jako jsou auxiny a gibereliny; a taky schopna přežít a růst i v nepříznivých podmínkách, jako jsou sucho, nízké teploty nebo vysoká salinita půdy (Chet et al. 1997; Monte 2001). Díky těmto vlastnostem dokáže *Trichoderma* potlačit růst různých patogenů, například *Pythium*, *Rhizoctonia solani* a *Sclerotium rolfsii* (Váňa 1998).

Kromě vlhkosti, i teplota půdy ovlivňuje růst *Trichodermy*. *T. harzianum* preferuje teplejší oblasti, zatímco *T. polysporum* a *T. viride* jsou častější v chladnějších oblastech (Danielson et al. 1973). Tyto druhy jsou schopny růst v širokém rozmezí teplot. Mezi nejznámější hostitele *Trichodermy* patří *Fusarium* spp., *Sclerotinia* spp., *Verticillium* spp. a *Botrytis* spp. (Dennis & Webster 1971; Howell et al. 2000; Howell 2002).

Pro průmyslovou výrobu *Trichoderma virens* se obvykle používají metody a technologie fermentace. Fermentace se provádí v uzavřených bioreaktorech, kde se kultury houby umístí do optimálních podmínek pro růst a množení. Po dosažení požadovaného množství biomasy se kultura oddělí od média a může být použita pro další aplikace v zemědělství (Howell 2002; ÚKZÚZ 2022).

3.3.2.2 *Coniothyrium minitans*

Coniothyrium minitans je druh půdní houby, která je známa pro svou schopnost kontrolovat patogenní houby z rodu *Sclerotinia*. *Sclerotinia* jsou zodpovědné za mnoho významných rostlinných chorob včetně například bílé hniloby řepy, čočky a slunečnice. Tato houba má charakteristický černý vzhled a vytváří plodnice, které produkují konidiové spory. *Coniothyrium minitans* se vyskytuje v přírodě, zejména v půdě, a lze ji izolovat a množit pro použití v biologické ochraně rostlin (Whipps & Gerlagh 1992; Sandys-Winsch et al. 1993; Bennett et al. 2006).

Coniothyrium minitans je známá pro svou schopnost kontrolovat patogenní houby z rodu *Sclerotinia*, ale neovlivňuje houby z čeledi *Basidiomycota*. Tento druh houby napadá sklerocia, které jsou tvrdé houbové struktury, a parazituje na nich, čímž zabrání uvolnění spor patogenní houby a následné infekci rostlin (Whipps & Gerlagh 1992; Yang et al. 2007).

Coniothyrium minitans může infikovat sklerocie (tvrdé houbové struktury) přímo skrze tzv. appresoria, což jsou specializované struktury na povrchu houby, které se přichytávají k povrchu hostitelského organismu. Appresoria jsou schopna proniknout do sklerocií a umožnit tak houbě *Coniothyrium minitans* infikovat a parazitovat na nich. Po infekci vytváří *Coniothyrium minitans* mycelium, které postupně zničí sklerocia patogenních hub z rodu

Sclerotinia. Během tohoto procesu houba produkuje enzymy, které rozkládají buněčné stěny sklerocií a uvolňují živiny pro vlastní růst a vývoj (Bennett et al. 2006).

3.3.2.3 *Pythium oligandrum*

Pythium oligandrum je druh fycomycetového organismu, který patří do skupiny oomycetů (Brožová 2004) byl identifikován jako parazit na mnoha různých půdních patogenech. Tento druh oomycetů produkuje enzymy, které rozkládají buněčné stěny patogenů a také produkuje látky, které přímo napadají a ničí tyto patogeny. *Pythium oligandrum* může být aplikován jako preventivní ochrana, která snižuje riziko vzniku patogenních infekcí v rostlinách (Lewis et al. 1987).

Pythium oligandrum je schopen parazitovat na určitých druzích mikroskopických organismů, jako jsou například jiné druhy oomycetů, plísňe nebo houby. Například *P. ultimum*, *P. debaryanum*, *P. Oligandrum*. Všechny tyto druhy patogenů jsou známé svou škodlivostí pro rostliny a mohou způsobovat vážné poškození nebo dokonce úhyn rostlin. *Pythium oligandrum* může být použit jako přirozený způsob ochrany rostlin před těmito patogeny (Rod et al. 2002).

Oomycety mají schopnost množit se jak pohlavně, tak i nepohlavně. Pohlavní reprodukce u oomycet probíhá pomocí gametangióz, což jsou struktury podobné plodnicím, ve kterých se tvoří pohlavní buňky. Oomycety mají obvykle dvě typy gametangióz – samčí a samičí (Cliquet & Tirilly 2002).

Nepohlavní reprodukce se rozmnožují pomocí sporangióz, což jsou vegetativní spory, které se tvoří uvnitř sporangiu, které se vytváří na koncích vláken (hyf) oomycet. Sporangiozy jsou většinou kulaté nebo vejčité a obsahují mnoho buněk. Když je sporangium zralé, obvykle praskne a uvolní se z něj sporangiózy, které mohou být šířeny vodou nebo větrem. Sporangiozy se mohou usadit na novém místě a začít růst nový oomycet (Zvára & Táborský 1985). Dalším způsobem nepohlavní reprodukce u oomycet jsou zoosporangiózy. Tyto typy sporangióz obsahují aktivní pohyblivé buňky, které se nazývají zoosporangia. Tyto buňky se pohybují pomocí bičíků a umožňují oomycetům šířit se ve vodním prostředí (Cliquet & Tirilly 2002).

Mezi *P. oligandrum* a ostatními rostlinnými patogeny probíhá konkurence, která je zprostředkována jediným antimikrobiálním metabolitem. Proces, kterým se *P. oligandrum* zbavuje patogenních rostlinných patogenů, se nazývá mycoparazitismus. Při tomto procesu houba napadá a parazituje na jiných houbách, které jsou zodpovědné za choroby rostlin. *P. oligandrum* využívá různé strategie pro potlačení těchto patogenů, například fyzický kontakt, produkování antibiotik, konkurence o zdroje (Lewis & Papavizas 1987).

Vzhledem k tomu, že *P. oligandrum* je saprofytický organismus, tj. že dokáže využívat mrtvou rostlinnou hmotu jako zdroj potravy, může přispět k ochraně rostlin tím, že konkuruje

s patogenními organismy o zdroje živin a omezí jejich množení. Přítomnost tohoto mykoparazita má za následek aktivaci obranných mechanismů v ošetřených rostlinách. Spory *P. oligandrum*, které jsou aplikovány na rostliny, mohou být aktivovány rostlinným imunitním systémem, který následně reaguje na přítomnost houby. To vede k produkci různých obranných látek, jako jsou například fytohormony, proteiny, fenolické sloučeniny a další. Tyto látky mohou mít různé účinky, jako jsou například zvyšování pevnosti buněčných stěn, indukce apoptózy v postižených buňkách, aktivace obranných genů, produkce ROS (reaktivních forem kyslíku) a další (Rod et al. 2002).

3.3.3 Biologické přípravky na bázi mykoparazitických hub

Existuje několik druhů mykoparazitických hub, které se používají jako biologické přípravky k ochraně rostlin před patogeny. Například *Clonostachys rosea*, *Pythium oligandrum* a *Coniothyrium minitans* (Ondráčková et al. 2019). V seznamu ochranných přípravků pro rostliny v České republice jsou uvedeny mykoparazitické houby jako *Coniothyrium minitans* (Contans WG), *Pythium oligandrum* (Polyversum), *Trichoderma harzianum* (Trianum-P), *Trichoderma atroviride* (Vintec) a *Trichoderma asperellum* (Xilon) (Butt et al. 2001; eAgri Registr přípravků na ochranu rostlin 2023).

Biopreparát Contans® WG je komerční přípravek na bázi houby z rodu *Coniothyrium*, konkrétně *Coniothyrium minitans*. Tato houba je mykoparazitická a specifická pro patogenní druhy rodu *Sclerotinia*, kteří jsou zodpovědní za vážné choroby v mnoha plodinách, jako jsou například řepka olejka, sója, slunečnice, cibule, česnek a další (Hajek & Delalibera 2010).

Trianum-P je biologický přípravek na ochranu rostlin vyvinutý společností Koppert Biological Systems. Obsahuje kombinaci tří druhů hub z rodu *Trichoderma*: *T. harzianum*, *T. virens* a *T. atroviride*. Tyto druhy hub se vyznačují schopností posilovat imunitní systém rostlin a ochraňovat je proti patogenním houbám. Trianum-P se aplikuje na semena, kořeny nebo do půdy kolem kořenů rostlin. Po aplikaci houby *Trichoderma* kolonizují kořeny a půdu a vytvářejí symbiotický vztah s rostlinami (Hajek & Delalibera 2010; eAgri Registr hnojiv 2023).

Existují přípravky obsahující mykoparazitické houby, které nejsou zahrnuty v registru přípravků na ochranu rostlin. Tyto přípravky se často nazývají biostimulanty nebo biopreparáty a jejich cílem není přímo bojovat proti patogenním organismům, ale spíše podporovat růst a imunitní systém rostlin. Mezi příklady patří přípravky RootShield Plus WP – biopreparát obsahující mykoparazitickou houbu *Trichoderma harzianum*, Gliorex, Klonoplus a Rizocore obsahující účinné složky hub *Clonostachys rosea*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* nebo kombinace těchto hub (Ondráčková et al. 2019; eAgri Registr hnojiv 2023).

3.4 Bakterie mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení jsou skupinou bakterií, které se vyskytují přirozeně v prostředí, včetně půdy, vody a rostlin. Tyto bakterie mají schopnost přeměňovat cukry na kyselinu mléčnou a další látky (Klaban 2005).

Většinou se jedná o grampozitivní bakterie, které mohou být aerobní nebo anaerobní, nesporulující a acidorezistentní (Klaenhammer 1993). Mezi významné rody patří *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* a *Weissella* (Stiles & Holzapfel 1997).

3.4.1 Charakteristika bakterií mléčného kvašení

Laktobacily jsou aerotolerantní, což znamená, že bakterie je schopna přežít v prostředí s přítomností kyslíku, ale pro svůj růst a metabolické procesy nepotřebuje kyslík. Tyto bakterie mají schopnost tolerovat kyslík, aniž by byly poškozeny jeho přítomností, a mohou růst v anaerobních podmínkách. Bifidobakterie, která je výjimkou, preferuje anaerobní podmínky s 10 % CO² (Görner & Valík 2004).

Laktobacily jsou obvykle grampozitivní bakterie, tedy bakterie s pevnou vrstvou peptidoglykanu v jejich buněčné stěně, a jsou často aerotolerantní, tedy mohou růst jak v přítomnosti kyslíku, tak i v jeho absenci. Tyto bakterie jsou také typicky acidofilní, což znamená, že preferují nízké pH prostředí, a produkují kyseliny jako mléčnou kyselinu a octovou kyselinu, což jim umožňuje konkurovat ostatním bakteriím a chránit tak potravinu před škodlivými mikroorganismy. Bakterie mléčného kvašení jsou zařazeny mezi chemoorganotrofní organismy, což znamená, že používají organické látky jako zdroj energie a uhlíku pro svůj metabolismus (Kaprálek 1986).

Bakterie mléčného kvašení jsou schopny fermentovat cukry a další živiny, jako jsou bílkoviny a tuky, a produkují kyselinu mléčnou jako hlavní metabolický produkt (Šilhánková 2002).

Laktobacily jsou obvykle nehybné a mají tvar tyčinky. Jejich velikost se pohybuje mezi 0,5 a 2,5 mikrometry v průměru a 2 až 8 mikrometry v délce. Mají celulární stěnu tvořenou peptidoglykanem a některé druhy mají i kapsulu (Görner & Valík 2004).

BMK jsou schopny růstu při teplotách v rozmezí pod 5 °C a nad 45 °C, přičemž optimální teplota pro růst se pohybuje mezi 30-40 °C (Závodská 2006). Bakterie mléčného kvašení jsou acidofilní, což znamená, že preferují kyselé prostředí a mají optimální růstové pH v rozmezí mezi 4,0 a 6,5. Některé druhy, jako například *Lactobacillus acidophilus*, mohou růst i při pH kolem 3,5. Naopak některé druhy BMK jsou schopny růstu v prostředí s vyšším pH, například *Streptococcus thermophilus*, který je schopen růstu při pH kolem 7 (Kaplice & Fitzgerald 1999).

Laktobacily jsou klasifikovány na základě různých charakteristik, jako jsou genotypové, biochemické, fyziologické a morfologické vlastnosti. Genotypová klasifikace se opírá o analýzu sekvence genů, které jsou specifické pro různé druhy laktobacilů. Biochemické vlastnosti se týkají metabolismu cukrů a aminokyselin, které jsou důležité pro růst a metabolickou aktivitu laktobacilů. Fyziologické vlastnosti se týkají růstu v různých podmínkách, jako je teplota, pH a přítomnost kyslíku. Morfologické vlastnosti se týkají tvaru a velikosti buněk, přítomnosti kapsul a dalších struktur (Görner & Valík 2004).

Bakterie mléčného kvašení se dělí na homofermentativní a heterofermentativní druhy z biochemického hlediska (Schlegel et al. 1993; Bolsen et al. 1996). Tabulka č. 4 uvádí rozdělení mléčných bakterií dle způsobu fermentace, včetně příkladů druhů pro každý rod bakterií.

Homofermentativní bakterie mléčného kvašení jsou druhy, které fermentují cukry za vzniku pouze jednoho hlavního produktu – kyseliny mléčné, která tvoří přibližně 90 % celkového objemu produktu. Heterofermentativní bakterie mléčného kvašení jsou schopny fermentovat cukry za vzniku kyseliny mléčné a dalších vedlejších produktů, jako jsou etanol, kyselina octová a oxid uhličitý (Šilhánková 2002). Mechanismus kvašení se u homofermentativních bakterií mléčného kvašení a heterofermentativních bakterií mléčného kvašení liší. U homofermentativních bakterií mléčného kvašení probíhá kvašení glukózy nebo jiného cukru přímo na kyselinu mléčnou a energie se uvolňuje pouze v jedné reakci. U heterofermentativních bakterií mléčného kvašení dochází k rozkladu cukru na kyselinu mléčnou, etanol a oxid uhličitý, takže energie se uvolňuje v několika reakcích. Heterofermentativní bakterie tedy produkují méně kyseliny mléčné než homofermentativní bakterie (Hoďák 1972).

Tab. č. 4: Rozdělení mléčných bakterií dle způsobu fermentace (Schlegel et al. 1993; Bolsen et al. 1996).

Rod	Způsob fermentace	Příklady druhů
<i>Lactococcus</i>	Homofermentativní	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
<i>Streptococcus</i>	Homofermentativní	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Streptococcus salivarius</i>

Rod	Způsob fermentace	Příklady druhů
<i>Lactobacillus</i>	Homofermentativní	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Enterococcus</i>	Homofermentativní	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Pediococcus</i>	Homofermentativní	<i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Leuconostoc</i>	Heterofermentativní	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Leuconostoc lactis</i>
<i>Weissella</i>	Heterofermentativní	<i>Weissella cibaria</i> , <i>Weissella confusa</i>
<i>Lactobacillus</i>	Heterofermentativní	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i>

3.4.2 Morfologie bakterií mléčného kvašení

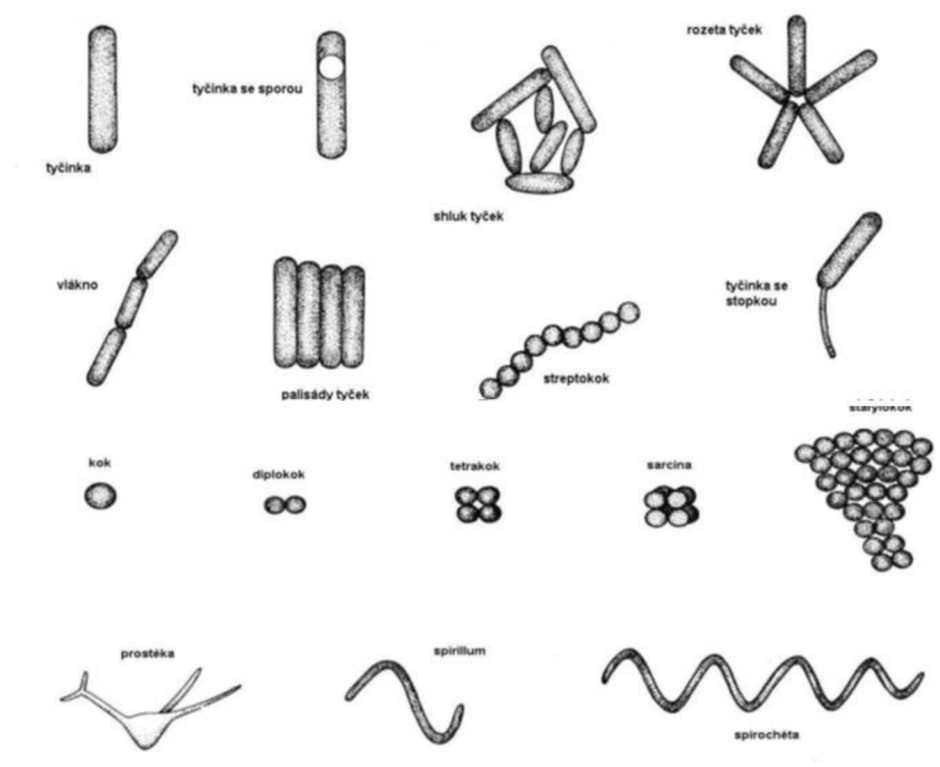
Charakteristický tvar a velikost jsou společné pro všechny skupiny bakterií. Avšak, velikost a tvar mohou být mírně odlišné v závislosti na konkrétním druhu bakterie (Minárik 1986).

Bakterie mléčného kvašení se v podstatě dělí na tři tvary buněk: kokovitý tvar – bakterie mají kulovitý nebo eliptický tvar, jako jsou například rody *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*; tyčinkovitý tvar – bakterie mají tvar tyčinky, jako jsou například rody *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*; spirálovitý tvar – bakterie mají spirálovitý tvar, jako je například rod *Leptospira*. (Madigan et al. 2018). Základní tvary bakteriálních buněk můžeme vidět na obrázku níže (viz obr. č. 3).

Koky jsou kulovité buňky, které se pod mikroskopem mohou jevit buď jako izolované koky, nebo jako charakteristické skupiny buněk, např. diplokoky (dvojice buněk), streptokoky

(řetězce buněk), sarciny (shluky buněk ve formě kostek) a stafylokoky (shluky buněk nepravidelného tvaru). Rozdělení buněk závisí na tom, zda se obě buňky oddělí ihned po rozdělení, nebo zůstanou po určitou dobu spojeny (Minárik 1986).

Bacily jsou úzké a protáhlé buňky, které se skládají z rovných a krátkých tyčinek. Během buněčného dělení mohou bacily zůstat srostlé, stejně jako koky, a vytvořit diplobacily nebo streptobacily, což jsou řetězce, které mohou mít různou délku a klikatost (Šilhánková 2002). Délka řetězců závisí na různých podmínkách, jako je kyselost média, teplota, přítomnost alkoholu, rychlost reprodukce a míchání kapaliny (Minárik 1986).



Obr. č. 3: Základní tvary bakteriálních buněk (Madigan et al. 2018).

3.4.3 Metabolismus bakterií mléčného kvašení

Organismy jsou otevřené systémy, které udržují své metabolismy prostřednictvím chemických reakcí, přeměn energie a interagují s okolním prostředím v daném okamžiku. Tyto interakce mohou zahrnovat výměnu hmoty, energie a informací mezi organismem a jeho okolím (Kaprálek 1986).

Metabolismus bakterií mléčného kvašení je chemoorganotrofní, což znamená, že získávají energii oxidací organických látek. Tyto bakterie dokáží využít mnoho různých typů cukrů, jako je glukóza, laktóza a sacharóza, a přeměnit je na kyselinu mléčnou, kyselinu octovou, etanol, diacetyl a další sloučeniny (Madigan et al. 2018).

Bakterie mléčného kvašení získávají energii především fermentací sacharidů za vzniku kyseliny mléčné dvěma různými způsoby (viz obr. č. 4) a tato cesta je užitečnou identifikační informací pro klasifikaci BMK (Hoďák 1972).

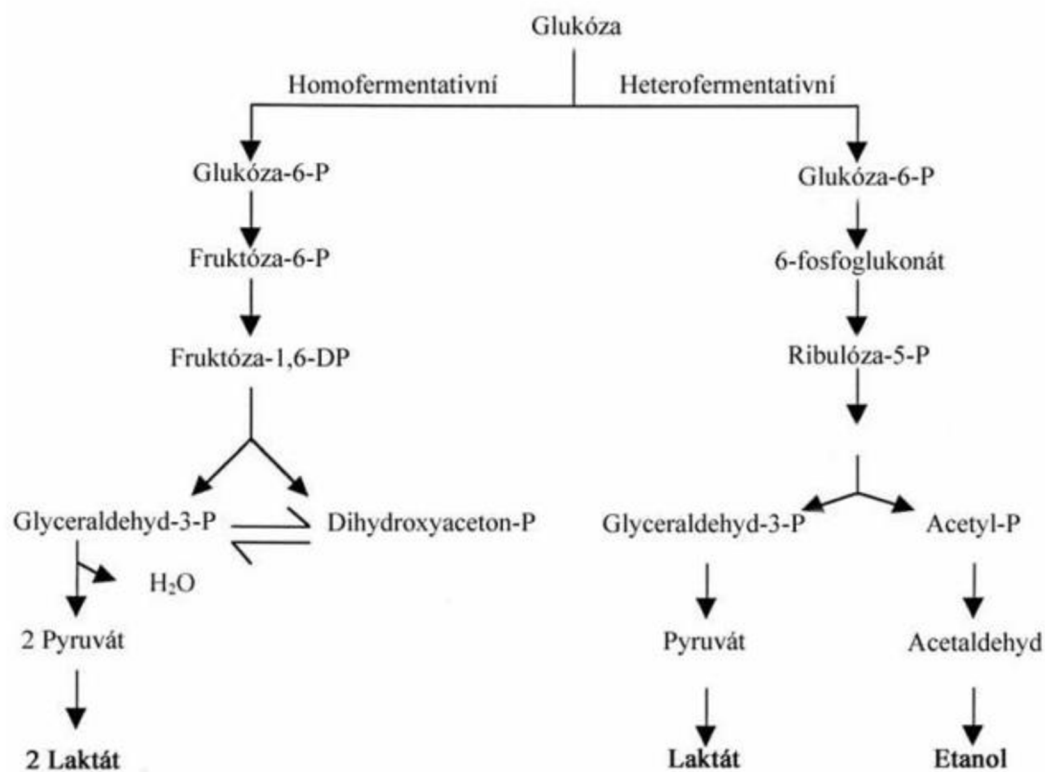
Glykolytická dráha (také známá jako Embden-Meyerhof-Parnasova dráha) je hlavním způsobem, jakým bakterie mléčného kvašení získávají energii. Tento proces probíhá v cytoplazmě buňky a zahrnuje řadu enzymatických reakcí, které vedou ke štěpení glukózy na dvě molekuly pyruvát (Caplice & Fitzgerald 1999).

Celková glykolytická dráha se skládá z deseti kroků. V prvním kroku se glukóza aktivuje pomocí fosforylace, což vede ke vzniku glukóza-6-fosfátu. Tento proces katalyzuje enzym hexokináza nebo glukokináza. Následně se glukóza-6-fosfát štěpí na dvě molekuly kyseliny pyrohroznové, přičemž se uvolňuje energie ve formě ATP. Tento proces katalyzuje série enzymů, včetně aldolázy, triózfosfát izomeráz a glycerol-3-fosfát dehydrogenázy. V dalších krocích se pyruvát vytváří oxidací kyseliny pyrohroznové. Při tomto procesu se uvolňuje energie, která se ukládá do molekul ATP. Katalyzují to enzymy jako pyruvát kinázy, enolázy a pyruvát dehydrogenázy. Nakonec dochází k redukci pyruvátu na kyselinu mléčnou za pomoci enzymu laktátdehydrogenázy, což vede ke vzniku kyseliny mléčné a regeneraci molekul NAD⁺ pro další štěpení glukózy (Caplice & Fitzgerald 1999; Osborne & Edwards 2005).

Bakterie, které provádějí heterofermentativní fermentaci, jsou schopny kromě mléčného kyseliny produkovat i další metabolity, jako jsou ethylalkohol, kyselina octová, glycerol a oxid uhličitý (tento produkt bývá často považován za charakteristický pro tento typ fermentace). Vzhledem k tomu, že těmto bakteriím chybí enzym aldoláza, produkují tyto bakterie různé produkty ve srovnání s bakteriemi, které provádějí homofermentativní fermentaci. Příkladem bakterií, které provádějí heterofermentaci, jsou některé druhy rodů *Leuconostoc*, *Lactobacillus* a *Weissella* (Kaprálek 1986).

Pentózofosfátová dráha, také nazývaná fosfoglukonátová dráha, je alternativní metabolická dráha, kterou mohou bakterie mléčného kvašení využívat pro získávání energie. Tato dráha je využívána zejména při metabolizaci pentóz (pětiuhlíkatých cukrů) a sacharózy (Hoďák 1972; Caplice & Fitzgerald 1999).

Pentózofosfátová dráha začíná oxidací glukózy-6-fosfátu za vzniku 6-fosfoglukonátu, který následně přeměňuje na ribulózu-5-fosfát a další pentózy. Tyto pentózy jsou dále využity pro syntézu nukleotidů a dalších důležitých biomolekul. Pentózofosfátová dráha se využívá zejména při růstu bakterií mléčného kvašení v prostředí s nízkým obsahem sacharózy a vysokým obsahem pentóz, například v půdě a v trávicím traktu některých živočichů (Osborne & Edwards 2005).



Obr. č. 4: Obecné schéma fermentace glukózy u bakterií mléčného kvašení (Caplice & Fitzgerald 1999).

3.4.4 Jednotlivé rody mléčných bakterií. Taxonomie a charakteristika

3.4.4.1 *Lactococcus*

Doména *Bacteria*, kmen *Firmicutes*, třída *Bacilli*, řád *Lactobacillales*, čeleď *Streptococcaceae* (Sedláček 2006).

Lactococcus je rod gram-pozitivních bakterií z čeledi *Streptococcaceae*. Tento rod obsahuje malé, kulaté nebo oválné bakterie, které jsou obvykle velké 0,5–1,5 μm . Jsou to fakultativně anaerobní mikroorganismy, což znamená, že mohou růst jak v přítomnosti kyslíku, tak v jeho nepřítomnosti (Šilhánková 2002; Sedláček 2006).

V současné době jsou popsány desítky druhů *Lactococcus*, které se liší vlastnostmi jako je schopnost fermentovat různé cukry, citlivost na teplotu a kyselost prostředí. Některé druhy *Lactococcus* jsou významné pro průmyslovou výrobu mléčných výrobků, jako je sýr, jogurt a další mléčné produkty (Sedláček 2006).

Mezi nevýznamnější zástupce patří *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. thermophiles*, *L. garvieae* (Klein et al. 1998).

3.4.4.2 *Enterococcus*

Doména *Bacteria*, kmen *Firmicutes*, třída *Bacilli*, řád *Lactobacillales*, čeleď *Enterococcaceae*. Dříve byly *Enterococcus* klasifikovány jako streptokoky. Nyní jsou označovány jako „mléčné koky“ (Sedláček 2006).

Enterococcus jsou grampozitivní, fakultativně anaerobní bakterie, které jsou součástí přirozené mikroflóry trávicího traktu člověka i zvířat. Nevytvářejí žádná pouzdra ani endospory, ale některé druhy mohou vykazovat pohyb díky nevýrazným bičíkům (Adams & Moos 2000).

Tyto bakterie fermentují sacharidy a vyrábějí kyselinu mléčnou L (+) bez tvorby plynů. *Enterococcus* jsou odolné vůči širokému spektru antibiotik a mohou představovat problém v léčbě infekcí (Adams & Moos 2000; Sedláček 2006).

Mezi nevýznamnější zástupce patří *E. durans*, *E. flavescens*, *E. faecalis*, *E. raffinosus*, *E. malodoratus* (Klein et al. 1998).

3.4.4.3 *Streptococcus*

Doména *Bacteria*, kmen *Firmicutes*, třída *Bacilli*, řád *Lactobacillales*, čeleď *Streptococcaceae* (Sedláček 2006).

Streptokok může existovat jako parazit, například jako komensál, nebo jako saprofyt. Tento patogen může vyrábět enzymy, které mohou způsobovat hemolýzu erytrocytů (Šilhánková 2002; Sedláček 2006).

Streptococcus jsou grampozitivní bakterie s kulatým nebo oválným tvarem buněk. Tvar se může lišit mezi různými kmeny a závisí i na typu kultivačního média. Tyto bakterie se vyskytují v párech nebo řetězcích a nevykazují pohyblivost ani tvorbu spor. Některé druhy streptokoků mají kapsulu (pouzdro) kolem buňky, které pomáhá chránit buňku před imunitním systémem hostitele. Při metabolismu produkují laktát a nevytvářejí plyny (Sedláček 2006).

Streptococcus je využíván v různých oblastech biotechnologií. Jednou z nejvýznamnějších oblastí je produkce mléčných výrobků (Šilhánková 2002).

Mezi nevýznamnější zástupce patří *S. bovis*, *S. salivarius*, *S. Thermophilus* (Klein et al. 1998).

3.4.4.4 *Lactobacillus*

Doména *Bacteria*, kmen *Firmicutes*, třída *Bacilli*, řád *Lactobacillales*, čeleď *Lactobacillaceae* (Sedláček 2006).

V roce 1901 byl rod *Lactobacillus* poprvé popsán německým mikrobiologem a botanikem Martinusem Beijerinckem. Jedná se o jeden z nejvýznamnějších rodů pro biotechnologie a potravinářský průmysl (Šilhánková 2002).

Tyto mikroorganismy se vyskytují jako pravidelně uspořádaná řada dlouhých tyčinek. Gramovou metodou jsou pozitivně barveny, tvoří spory a zřídka jsou pohyblivé. Jsou schopné růstu jako volitelně anaerobní nebo mikroaerofilní. Bylo prokázáno, že přítomnost 5 % CO² zvyšuje růst bakterií mléčného kvašení. Tyto mikroorganismy mají fermentativní metabolismus (Klein et al. 1998).

Laktobacily nejsou jednotným rodem a jejich klasifikace se liší v závislosti na výsledném fermentačním produktu a lze je rozdělit do tří skupin: obligátně homofermentativní, fakultativně heterofermentativní a obligátně heterofermentativní (Sedláček 2006).

- Obligátně homofermentativní – laktobacily jsou schopny fermentovat cukry za vzniku pouze jednoho produktu – kyseliny mléčné. To znamená, že jsou schopny provádět pouze glykolýzu a dále nejsou schopny oxidovat pyruvát. Mezi zástupce této skupiny patří například *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus bulgaricus* (Klein et al. 1998; Sedláček 2006).
- Fakultativně heterofermentativní – laktobacily jsou schopné fermentovat sacharidy jak homolakticky na kyselinu mléčnou, tak i heterolakticky s produkty jako kyselina mléčná, kyselina octová a oxid uhličitý. Tyto laktobacily mohou využívat více než jednu dráhu glykolýzy a produkce metabolitů závisí na konkrétních podmínkách růstu. Mezi fakultativně heterofermentativní laktobacily patří například *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum* a *Lactobacillus reuteri* (Klein et al. 1998; Sedláček 2006).
- Obligátně heterofermentativní – laktobacily jsou schopny fermentovat cukry za vzniku kyseliny mléčné a ethanolu nebo octové kyseliny a CO². Kyselina mléčná se v těchto laktobacilech vytváří pouze částečně, což je charakteristické pro fakultativně heterofermentativní laktobacily. Mezi nevýznamnější zástupce patří *L. buchneri*, *L. kefir*, *L. fermentum* (Klein et al. 1998; Sedláček 2006).

3.4.4.5 *Pediococcus*

Doména *Bacteria*, kmen *Firmicutes*, třída *Bacilli*, řád *Lactobacillales*, čeleď *Lactobacillaceae* (Sedláček 2006).

Pediococcus je rod gram-pozitivních, fakultativně anaerobních, kulovitých nebo oválných bakterií, které jsou součástí mikrobiální flóry mnoha potravin, včetně kyselých potravin jako jsou jogurty, sýry a kysané zelí. Mezi hlavní vlastnosti patří schopnost fermentovat glukózu a další sacharidy s tvorbou kyseliny mléčné a dalších organických kyselin, tvoří spory a jsou nepohyblivé. Některé druhy jsou také schopné fermentovat pentózy a hexózy (Sedláček 2006).

Pediococcus je velmi odolný vůči stresu, což zahrnuje nízkou pH, vysokou koncentraci soli a alkoholu, teploty a tlaku. Tyto vlastnosti umožňují *Pediococcus* přežít v těžkých podmínkách (Stiles & Holzapfel 1997).

Mezi nevýznamnější zástupce patří *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *P. acidilactici* (Klein et al. 1998).

3.4.4.6 *Leuconostoc*

Bakterie rodu *Leuconostoc* mají pomalý růst a jsou sou gram-pozitivní, nepohyblivé, aerotolerantní, anaerobní nebo fakultativně anaerobní kokobacily. Vyskytují se samostatně, v párech nebo v řetězcích (Sedláček 2006).

Tyto druhy jsou považovány za bezpečné pro lidskou konzumaci a jsou využívány v potravinářském průmyslu jako starterové kultury pro fermentaci mléka a dalších potravin (Stiles & Holzapfel 1997; Sedláček 2006). Na rozdíl od mnoha jiných mléčných kyselinových bakterií, *Leuconostoc* nefermentují glukózu přímo na kyselinu mléčnou. Místo toho metabolizují řadu sacharidů, včetně glukózy, pomocí pentózofosfátové dráhy, což zahrnuje tvorbu kyseliny mléčné jako vedlejšího produktu (Šilhánková 2002).

Mezi nejznámější druhy patří *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum* a *Leuconostoc lactis* (Klein et al. 1998).

3.4.4.7 *Weissella*

Doména *Bacteria*, kmen *Firmicutes*, třída *Bacilli*, řád *Lactobacillales*, čeleď *Leuconostocaceae* (Sedláček 2006).

Weissella je rod gram-pozitivních, kataláza-negativních bakterií se kuželovitým nebo zaobleným tvarem na koncích. Vyskytují se v párech nebo krátkých řetězcích (Sedláček 2006).

Weissella nevytvářejí žádné spory a nedochází u nich k pohybu. *Weissella* se vyskytuje v mnoha různých prostředích, včetně potravin, půdy a rostlin. Některé druhy *Weissella* se také nacházejí v lidském těle, včetně ústní dutiny, střev a genitálií. Některé druhy *Weissella* mají také potenciál jako probiotika, což jsou živé mikroorganismy, které poskytují zdravotní přínosy hostiteli, když jsou konzumovány v dostatečném množství (Šilhánková 2002).

Mezi nevýznamnější zástupce patří *W. viridescens* a *W. cibaria* (Klein et al. 1998).

3.4.5 Bakterie mléčného kvašení jako prostředky biologické kontroly

Metabolity produkované během fermentačních reakcí LAB jsou odpovědné za antimikrobiální účinky těchto bakterií (Caplice & Fitzgerald 1999). Tyto účinky jsou způsobeny kombinací organických kyselin (zejména kyseliny mléčné a octové), vodíkového peroxidu, diacetylů, bakteriocinů a dalších látek. Tyto látky mohou inhibovat růst a množení jiných mikroorganismů, včetně patogenních druhů. Kyseliny produkované během fermentace LAB mohou inhibovat aktivní transport u jiných mikroorganismů. To může vést k narušení metabolismu těchto mikrobů a následnému útlumu jejich růstu a reprodukce. Tento jev se nazývá bakteriostatický účinek a je jedním z mechanismů, jakým mohou LAB přispět k ochraně potravin před škodlivými mikroorganismy (Cleveland et al. 2001).

V různých zemích se úspěšně používá bakterií mléčného kvašení jako biologického prostředku k ochraně rostlin před různými chorobami (Sivan et al. 1987). Laktobacily, zejména, jsou běžně přítomny na povrchu rostlin a v jejich rhizosféře a ve velkém množství v rozkládajících se zbytcích rostlin. Podle teorie T. Higa jsou laktobacily považovány za „efektivní mikroorganismy“ (EM), které příznivě ovlivňují rostliny a přispívají k vyšším výnosům. Díky své vysoké antagonistické aktivitě proti rostlinným patogenům jsou laktobacily skutečně účinné a schopné chránit rostliny před biotickými stresy (Daranas et al. 2019).

Bylo navrženo, že použití LAB je slibnou alternativou pro kontrolu různých rostlinných chorob, jako například bakteriální skvrnitosti na pepři, bakteriální měkké hniloby zelí (Tsuda et al. 2016) a plísně na jabloních a hrušních (Roselló et al. 2013). Některé druhy LAB mají schopnost inhibovat více než jeden fytopatogen, což znamená, že mohou poskytnout širokou škálu ochrany pro rostliny (Trias et al. 2008).

LAB mají výhodu, že nejsou považovány za environmentální ani zdravotní riziko, což je jejich hlavní výhoda. Tyto rody bakterií mléčného kvašení jsou považovány za bakterie s nejnižším rizikem pro lidské zdraví a téměř všechny mají status GRAS – uznávané jako bezpečné pro lidi a zvířata. Díky tomu, že LAB nepředstavují žádné riziko pro produkci potravin, je možné vyhnout se nákladným a časově náročným regulačním schvalovacím procesům (Blom & Morvedt 1991).

Laktobacily byly prokázány jako účinné biohnojiva a biostimulanty, které zlepšují dostupnost živin, zmírňují biotické a abiotické stresy a přímo stimulují růst rostlin. BMK mohou také přispět k lepší konverzi krmiva u hospodářských zvířat (Hamed et al. 2011; Lamont et al. 2017).

3.4.6 Antimikrobiální aktivita LAB

Široké spektrum účinků LAB, které jsou schopny inhibovat růst patogenních bakterií a jiných mikroorganismů, je způsobeno mnoha mechanismy účinku. Antimikrobiální aktivita LAB závisí na mnoha faktorech, jako jsou druh a kmen LAB, pH prostředí, teplota, čas inkubace, přítomnost a koncentrace organických látek a dalších mikroorganismů (Caplice & Fitzgerald 1999).

Produkce organických kyselin (kyseliny mléčné, octové a propionové) je jedním z nich a působí antagonisticky na mikrobiotu tím, že inhibuje aktivní transportní procesy, reakce a modifikuje membránový potenciál (Cleveland et al. 2001). Kyselina octová, která je produkována LAB, má nejjzávažnější antimikrobiální účinky na houby, kvasinky a bakterie (Blom & Morvedt 1991).

Nedostatek katalázy v LAB vede k hromadění peroxidu vodíku (H_2O_2), který má schopnost inhibovat růst bakterií a hub (Caplice & Fitzgerald 1999). Kromě toho, produkce oxidu uhličitého během heterolaktické fermentace vytváří anaerobní podmínky, které jsou toxické pro některé aerobní bakterie a přispívají k acidifikaci prostředí (Cleveland et al. 2001).

Některé kmény LAB produkují proteinové sloučeniny, známé jako bakteriociny, které mají pozoruhodný antimikrobiální účinek. Některé bakteriociny jsou specifické pro určité druhy, jako jsou laktokoky, zatímco jiné mají široké spektrum účinku, jako například nisin (Ross et al. 2002).

Vysoce konkurenční biologický přípravek na bázi bakterií mléčného kvašení (BCA) dokáže kolonizovat a přežít v místě infekce a má účinnější systém využívání živin než patogeny (Köhl et al. 2019).

Tím, že BCA přímo interaguje s rostlinami, může je chránit před patogeny. Kromě toho může BCA nepřímo chránit rostliny tím, že aktivuje obranné mechanismy hostitele nebo

podporuje jejich růst (Köhl et al. 2019; Legein et al. 2020). BCA může zvýšit obranné mechanismy rostlin a spustit systémovou rezistenci, což vede k tvorbě strukturálních bariér a biochemických a molekulárních obranných reakcí, které chrání rostliny před širokou škálou patogenů. Kromě toho může BCA podporovat růst rostlin tím, že zvyšuje absorpci minerálů a vody nebo produkuje sloučeniny, jako jsou hormony, které stimulují růst rostlin a zlepšují jejich zdraví a kondici. To zajišťuje trvalý efekt biologické kontroly patogenních mikroorganismů v půdě (Ongena & Jacques 2008).

Identifikace mechanismů, které se účastní složitých interakcí mezi rostlinami, BCA a patogeny, představuje velkou výzvu. Pojetí mechanismu, který stojí za ochranným účinkem BCA, je klíčovým krokem k optimalizaci biologické kontroly. Důkladné pochopení těchto mechanismů umožní vytvořit optimální podmínky pro interakci mezi BCA, patogenem a hostitelem, což zahrnuje návrh vhodných formulací a způsobů aplikace. Tento proces také přispěje k posílení zdraví rostlin a udržitelnosti zemědělství (Elnahal et al. 2022).

Druhy *Bacillus* jsou jedny z nejvíce využívaných prospěšných bakterií jako biopesticidy. Tyto bakterie jsou distribuovány po celé půdě a površích rostlin, mají širokou fyziologickou schopnost a schopnost tvořit endospory, které jim propůjčují odolnost vůči nepříznivým podmínkám prostředí (Cawoy et al. 2015).

Navíc jsou *Bacillus* spp. schopné vyvinout antagonismus proti různým bakteriálním a houbovým rostlinným patogenům. *Bacillus* spp. jsou vynikající producenti bioaktivních sloučenin s cennými vlastnostmi pro zemědělské aplikace, jako jsou antimikrobiální metabolity, povrchově aktivní látky a látky, které podporují obranné reakce rostlin (Gardener 2004; Ongena & Jacques 2008).

Bakteriociny a podobné látky jsou peptidy, které jsou syntetizovány ribozomy a působí proti cílovým buňkám interferencí se syntézou buněčné stěny nebo tvořením pórů v membráně. V případě *Bacillus* spp. jsou produkovány různé bakteriociny s antimikrobiální aktivitou, jako je amylolysin, amylocyklin, amysin, subtilin, subtilosin A, subtilosin B, thuricin. Některé z těchto bakteriocinů byly úspěšně využity v biologické kontrole rostlinných patogenů (Abriouel et al. 2011).

Různé druhy *Bacillus* spp. jsou schopny vyvolat indukovanou systémovou rezistenci (ISR) u různých druhů rostlin, což zvyšuje obranné mechanismy proti různým patogenům. Několik studií ukázalo, že volatilní organické sloučeniny (VOC) a cyklolipeptidy (CLP), jako je surfaktin a fengycin, se podílejí na elicitaci imunitní odpovědi rostlin (Ongena & Jacques 2008; Cawoy et al. 2015). Například *B. amyloliquefaciens* produkuje sekundární metabolity, jako jsou surfaktin, fengycin a bacillomycin D, které aktivují genovou expresi pro obranu rostlin a přispívají ke snížení hniloby salátu (Chowdhury et al. 2015).

V jiném příkladu *Bacillus subtilis* zvyšuje hladiny růstových hormonů a obranných enzymů v rajčeti, což poskytuje ochranu proti rané a pozdní plísni (Chowdappa et al. 2013).

L. plantarum je příkladem účinných biopesticidů pro prevenci bakteriálních chorob rostlin. Tyto kmeny projevují široké spektrum antagonismu proti různým patogenním bakteriím díky produkci antimikrobiálních metabolitů a snížení infekcí inhibicí populace patogenů na povrchu rostlin. *Weissella cibaria* také vykazuje antimikrobiální aktivitu a účinně zabráňuje výskytu modré plísně prostřednictvím produkce organických kyselin a peroxidu vodíku (Trias et al. 2008; Roselló et al. 2013; Daranas et al. 2019).

3.5 Biopesticidy

Biopesticidy jsou přírodní látky nebo mikroorganismy používané k hubení škůdců, jako jsou hmyz, plevele a choroby rostlin. Tyto prostředky na ochranu rostlin jsou považovány za ekologicky šetrnější než jejich synteticky vyráběné chemické protějšky, protože se obvykle rychle rozkládají v prostředí, nemají negativní vliv na obratlovce a selektivněji cílí škůdce bez poškození hostitelských rostlin (Gupta & Dikshit 2010).

S narůstajícím trendem poptávky po udržitelně vyráběných potravinách se očekává, že bude význam používání biopesticidů v budoucnu stále větší. To je způsobeno také tím, že se škůdci stávají odolnějšími vůči syntetickým chemickým pesticidům a zároveň čelíme novým hrozbám ze strany exotických druhů škůdců (Chandler et al. 2008).

Biopesticidy jsou široce definovány a mohou zahrnovat různé druhy produktů a organismů, jako jsou živí predátoři, parazitoidi, hlístice, mikroorganismy a sekundární metabolity produkované těmito mikroorganismy, viry, transgenní geny, hmyzí feromony a látky narušující páření a rostlinné extrakty. Tyto produkty nejsou určeny k použití jako syntetické chemické pesticidy, ale nejlépe se používají, když jsou začleněny do dobře navrženého programu integrované ochrany proti škůdcům (Copping & Menn 2000).

Očekává se, že v budoucnosti bude význam používání biopesticidů stoupat, protože spotřebitelé požadují více udržitelně vyráběných potravin, a také kvůli rostoucí odolnosti škůdců vůči syntetickým chemickým pesticidům a novým hrozbám ze strany exotických druhů škůdců (Chandler et al. 2008).

Japonsko, Indie a některé další asijské země mají rozvinutou tradici využívání biopesticidů. Na rozdíl od toho má Evropa, i přes snahy politiků a podporu používání biopesticidů v zemědělství, pouze omezený počet skutečných biopesticidů k dispozici. Pouze

6 účinných látek (viz tabulka č. 4) je zařazeno na seznam účinných látek Annex I podle směrnice EU 91/414/CEE (ÚKZÚZ 2022).

Primární entomopatogenní bakterie patří do čeledi *Bacillaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae* a *Micrococcaceae*. Avšak nejvíce používanými a komerčně dostupnými biopesticidy jsou ty, které jsou formulovány z rodu *Bacillus* (Garczynski & Siegel 2007). Mezi nimi dominuje druh *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) na komerčním trhu, který byl registrován jako 200 produktů v roce 1998, zahrnující živé a neživé biopesticidy a přípravky na ochranu rostlin proti různým lepidopterům a selektivním druhům Coleopteranů (27 produktů bylo určeno k léčbě dvoukřídlých) (Ravensberg 2011).

Komerční produkt Novodor® od společnosti Valent BioScience Corp. se používá pro ochranu plodin z čeledi *Solanaceae* před mandelinkami bramborovými a také pro ochranu stínových stromů a okrasných rostlin před broukem jilmovým (*Pyrrhalta luteola*). Použitím produktů založených na *Bacillus thuringiensis* se zvyšuje odolnost proti hmyzím škůdcům. Nicméně, byla zaznamenána laboratorní rezistence larví můry diamantové, *Heliothis virescens* a řepy vůči *Bt kurstaki* (Schnepf et al. 1998). V poslední době byla prokázána polní rezistence bázlivce kukuřičného západního (*Diabrotica virgifera virgifera*) vůči *Bt* (Gassmann et al. 2011).

Biopesticidy jsou stále více využívány v zemědělství po celém světě jako alternativa k chemickým pesticidům, a to především kvůli své šetrnosti k životnímu prostředí a zdraví lidí a zvířat (Chandler et al. 2008).

Tab. č. 5: Biopesticidy uvedené v seznamu účinných složek v seznamu Annex 1 (ÚKZÚZ 2022).

Název	Termín registrace	Použití
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> , Apopka kmen: 97	06/30/11	insekticid
<i>Coniothyrium minitans</i> , kmen: CON/M/91-08	12/31/13	fungicid
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> , kmen: MA 342	09/30/14	fungicidní mořidlo
<i>Ampelomyces quisqualis</i> , kmen: AQ 10	03/31/15	fungicid
<i>Gliocladium catenulatum</i> , kmen: J1446	03/31/15	fungicid proti <i>Botrytis cinerea</i>
Laminarin	03/31/15	elicitor

4 Závěr

Závěr této bakalářské práce naznačuje, že využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub může být účinnou metodou při ochraně rostlin před škůdci a patogeny. Tyto mikroorganismy mají schopnost snižovat populaci škůdců a patogenů v půdě a na povrchu rostlin, což může vést ke zlepšení zdraví rostlin a zvýšení výnosů.

Biologická kontrola se stává stále více moderním přístupem v zemědělství, lesnictví a ochraně přírody. Na základě souhrnu informací a údajů se dnes biologická kontrola neobejde bez použití bakterií a hub popsanych v této práci.

Přípravky na bázi mikroorganismů jsou stále relativně novou technologií, a proto je třeba pokračovat v dalším výzkumu a vývoji v této oblasti. I když existují již některé přípravky na bázi mikroorganismů, stále je třeba zlepšit jejich účinnost, stabilitu a bezpečnost, aby mohly být široce využívány. Je také třeba provést více studií o dopadech těchto přípravků na životní prostředí, a to včetně vlivu na neútočné organismy a případného rizika akumulace v potravních řetězcích.

V práci byla provedena rozsáhlá rešerše, která shrnuje výsledky mnoha studií, které prokazují účinnost těchto mikroorganismů v boji proti škůdcům a patogenům. Byly také popsány různé mechanismy, jakými mikroorganismy ovlivňují škůdce a patogeny, jako je například konkurence o živiny, produkce antibiotik, enzymů a dalších látek, které mají potenciál inhibovat růst a vývoj škůdců a patogenů.

Dále byly diskutovány výhody a nevýhody použití těchto mikroorganismů v ochraně rostlin, včetně nákladů na výrobu a aplikaci a možných environmentálních dopadů. Bylo také připomenuto, že i přes mnoho pozitivních výsledků studií, je třeba dále provádět výzkum a vylepšovat technologie, aby bylo možné tuto metodu používat co nejúčinněji a bez negativních dopadů na životní prostředí.

Přehled literatury ukazuje, jak se možnosti registrace přípravků založených na těchto mikroorganismech v některých zemích liší. V některých zemích mohou být povolení přípravků založených na mikroorganismech velmi obtížné, zatímco v jiných jsou tyto přípravky široce využívány.

Trh s biopesticidy není v mnoha zemích dostatečně velký. Proto se společnosti v jedné zemi nevyplatí vynaložit velké úsilí a prostředky na získání registrace pro svůj biopesticid, pokud není jisté, že budou mít dostatečný trh a zákazníky. Proto mohou společnosti v některých zemích nechtít podstupovat náklady a rizika spojená s registrací biopesticidů, zatímco v jiných zemích mohou být ochotni investovat více prostředků do získání registrace, protože trh je větší a atraktivnější.

Situace s omezenými možnostmi registrace a používání biopesticidů v některých zemích by mohla být předmětem další diskuse na národní a evropské úrovni. Diskuse by mohla zahrnovat způsoby, jak podpořit výzkum a vývoj nových biopesticidů, aby byly účinnější a širší dostupnosti, a také snížení byrokracie a nákladů spojených s procesem registrace. Součástí diskuse by mohlo být také zvýšení povědomí o biopesticidech a jejich výhodách pro životní prostředí a lidské zdraví, aby se podpořilo jejich větší používání v zemědělství. Na úrovni systémů ekologického zemědělství by se mohla diskuse zaměřit na podporu ekologických zemědělců, kteří používají biopesticidy, a na zlepšení dostupnosti a šíření informací o těchto přípravcích mezi ekologickými zemědělci a spotřebiteli.

V závěru práce jsou shrnuty klíčové poznatky a doporučení pro další výzkum a využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub v ochraně rostlin. Je třeba dále zkoumat možnosti kombinace různých mikroorganismů a jejich interakcí s rostlinami a půdou, aby bylo možné dosáhnout co nejlepších výsledků.

Celkově lze konstatovat, že využití bakterií mléčného kvašení, mykoparazitických a entomopatogenních hub je perspektivní metodou pro ochranu rostlin.

5 Použitá literatura

- ABRIOUEL, H., FRANZ, C. M., OMAR, N. B., GÁLVEZ, A. 2011. Diversity and applications of *Bacillus bacteriocins*. FEMS microbiology reviews, 35(1), 201-232.
- ADAMS, M. R., MOOS, M. O. 2000. Food Microbiology. 2nd ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2000. 479 s. ISBN 0-85404-611-9.
- AHMAD, I., KHAN, M.S.A., AQIL, F., SINGH, M. 2011. Microbial Applications in Agriculture and the Environment: A Broad Perspective. Microbes and Microbial Technology. Springer, New York. DOI: 10.1007/978-1-4419-7931-5_1.
- ANWER, A. 2017. Biopesticides and Bioagents: Novel Tools for Pest Management. CRC Press, Boca Raton.
- BARNETT, H.L., BINDER, F.L. 1973. The fungal host-parasite relationship. Annu. Rev. Phytopathol, 11:273.
- BARNETT, H.L., LILLY V.G. 1957. Physiology of Fungi. McGraw-Hill, New York, NY, USA, 342-350.
- BENNETT, A.J., LEIFERT, C., WHIPPS, J.M. 2006. Survival of *Coniothyrium minitans* associated with sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. Soil Biology and Biochemistry, 38(1): 164-172.
- BLEŠA, D. 2019. Úvod do problematiky biologické ochrany rostlin. Obilnářské listy, 27, 10-13.
- BLOM, H., MORTVEDT, C. 1991. Antimicrobial substances produced by food-associated microorganisms. Biochem Soc Tans, vol. 19, pp. 694-698.
- BOLSEN, K. K., ASHBELL, G., WEINBERG, Z. 1996. Silage fermentation and silage additives – Review. Asian Austral J Anim, vol. 9, no. 5, pp. 483-494.
- BOUCIAS, D. G., PENDLAND, J. C., LARGO, J. P. 1988. Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic *Deuteromyces* to host insect cuticle. Appl. Environ. Mikrobiology, vol. 54, pp. 1759-1805.
- BROŽOVÁ, J. 2004. Biologická rozmanitost v České republice. Současný stav a trendy. Praha: Ministerstvo životního prostředí. ISBN 80-7212-344-0. pp. 7-18. životního prostředí. Praha, ISBN-80-7212-344-0, pp. 7-18.
- BUTT, T.M., JACKSON, C., MAGAN, N. 2001. Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential. CABI Publishing.
- CAPLICE, E., FITZGERALD, G.F. 1999. Food Fermentation: Role of Microorganisms in Food Production and Preservation. International Journal of Food Microbiology, 50, 131-149.
- CASTRILLO, L. A., ROBERTS, D. W., VANDENBERG, J. D. 2005. The fungal past, present, and future: Germination, ramification, and reproduction, Journal of Invertebrate Pathology, 89, 46-56.

- CAWOY, H., DEBOIS, D., FRANZIL, L., DE PAUW, E., THONART, P., ONGENA, M. 2015. Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis* amyloliquefaciens. *Microb. Biotechnol*, 8, 281-295.
- CLEVELAND, J., MONTVILLE, T.J., NES, I.F., CHIKINDAS, M.L. 2001. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int J Food Microbiol*, 71, 1-20.
- CLIQUET, S., TIRILLY, Y. 2002. Development of a defined medium for *Pythium oligandrum* oospore production. *Biocontrol Science and Technology*, 12(4), 455-467.
- COPPING, L. G., MENN, J. J. 2000. Biopesticides: A review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science*, 56, 651-676.
- DANIELSON, R. M., DAVEY, C. B. 1973. The abundance of *Trichoderma propagules* and the distribution of species in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 5(5), 485-494.
- DARANAS, N., ROSELLÓ, G., CABREFIGA, J., DONATI, I., FRANCÉS, J., BADOSA, E., SPINELLI, F., MONTESINOS, E., BONATERRA, A. 2019. Biological control of bacterial plant diseases with *Lactobacillus plantarum* strains selected for their broad-spectrum activity. *Annals of Applied Biology*, 174, 92-105.
- DAVIDSON, E. W. 2006. Big Fleas Have Little Fleas: How Discoveries of Invertebrate Diseases Are Advancing Modern Science. Tucson: University of Arizona Press.
- DENNIS, C., WEBSTER, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. Hyphal interaction. *Transactions of the British Mycological Society*, 57, 363. Available from http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/predpisy-es-eu/Legislativa-EU_x2006-2010_narizeniek-2008-889-EZ.html (accessed March 2023).
- DVORSKÝ, J., URBAN, J. 2014. Základy ekologického zemědělství. 2. vyd. Náměšť nad Oslavou, 114 s. ISBN 978-80-7401-098-9.
- EAGRI REGISTR HNOJIV. 2023. Available from: <https://eagri.cz/public/app/rhpub/hnojivaverejnostqf.do> (accessed March 2023).
- ELNAHAL, S. M., FARAG, M. R., FAHMY, S. A., SALEM, M. Z. M., AHMED, M. A. 2022. Use of compost, vermicompost, and biochar for enhancing the growth, yield, and nutritional status of wheat grown under saline conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. Vol. 22, no. 1, s. 1-16. ISSN: 0718-9508.
- FAO. 2017. FAOSTAT: Pesticides Use. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize> (accessed March 2023).
- FINCKH, M.R., BRUGGEN, A.H.C., TAMM, L. 2015. Plant Diseases and Their Management in Organic Agriculture. St. Paul, MN: Amer Phytopathological Society. ISBN 978-0-89054-473-8.
- FINQUH, E., ADU-GYAMFI, R., FRIMPONG, K., DZOMEKU, B. M. 2015. Soil fertility management and nematode infection of tomato in Ghana. *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics*. Vol. 116, no. 2, s. 129-137. ISSN: 1612-9830.

- FORTUNE BUSINESS INSIGHTS. 2021. Fortune Business Insights: Top 10 Companies in the Biopesticides Market. Maharashtra: Fortune Business Insights Pvt. Ltd. Available from: <https://www.fortunebusinessinsights.com/blog/top-10-companies-in-the-biopesticides-market-10480> (accessed March 2023).
- GARCZYNSKI, S. F., SIEGEL, J. P. 2007. Bacteria. In: LACEY, LA., KAYA, HK. (eds.), Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology, 2. vydání. Springer, Dordrecht. S. 175-197.
- GASSMANN, AJ., PETZOLD-MAXWELL, JL., KEWESHAN, RS., DUNBAR, MW. 2011. Field-evolved resistance to *Bt* maize by western corn rootworm. Plos ONE, 6, 1-7.
- GOETTEL, MS., KOIKE, M., KIM, JJ., AIUCHI, D., SHINYA, R., BRODEUR, J. 2008. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. Journal of Invertebrate Pathology, 98, 256-261.
- GÖRNER, F., VALÍK, L. 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívatín, 1. vydání. Bratislava: Malé centrum, TYPOSET. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.
- GRIMM, C. 2001. Economic feasibility of a small-scale production plant for entomopathogenic fungi in Nicaragua. Crop Protection, 20(7), 623-630.
- GUPTA, S., DIKSHIT, AK. 2010. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. Journal of Biopesticides, 3, 186-188.
- HAJEK, A. 2004. Natural enemies, an introduction to biological control. Cambridge University Press, United Kingdom, 378 p.
- HAJEK, A. E., I. DELALIBERA, J. R. 2010. Fungal pathogens as classical biological control agents against arthropods. Biocontrol. Roč. 55, č. 1, s. 147–158. ISSN 13866141.
- HAMED, H. A., MOUSTAFA, Y. A. a ABDEL-AZIZ, S. M. 2011. In vivo efficacy of lactic acid bacteria in biological control against *Fusarium oxysporum* for protection of tomato plant. Life Science Journal, 8, 462–468.
- HEBBAR, K. P. a LUMSDEN, R. D. 1999. Biological kontrol of seedling diseases. In: HALL, F. R. a MENN, J. J. (Eds.): Biopsticides-use and delivery. Humana Press, Totowa, New Jersey, 155-170.
- HEYDARI, A., PESSARAKLI, M., AGHAJANZADEH, S. a SHOUSHTARI, R. V. 2004. Interactive effects of salinity and zinc on growth, water status, and nutrient accumulation in tomato. Journal of Plant Nutrition, 27(4), 589-601.
- HOĎÁK, K. 1972. Fyziologie a biochemie bakterií. 1. Vyd. Brno: UJEP Brno, 263 s.
- HOFMANOVÁ, D. 2003. Predátoři a parazitoidi v ochraně rostlin, Úroda, Profi Press, Praha. Available from: <http://uroda.cz/predatori-a-parazitoidi-v-ochrane-rostlin/> (accessed March 2023).
- HONĚK, A., LUKÁŠ, J., MARTINKOVÁ, Z., PULTAR, O., ŘEZÁČ, M. 2008. Význam predátorů a parazitoidů v integrovaných systémech ochrany rostlin. Praha: VÚRV, 5 s.

- HOWELL, C. R. 2002. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 92(2), 177-180. ISSN 0031-949X.
- HOWELL, C. R., HANSON, L. E., STIPANOVIC, R. D., PUCKHABER, L. S. 2000. Induction of *Trichoderma* species. *Transactions of the British Mycological Society*, 71, 469-474. ISSN 0007-1536.
- CHANDLER, D., DAVIDSON, G., GRANT, W. P., GREAVES, J., TATCHELL, G. M. 2008. Microbial biopesticides for integrated crop management: an assessment of environmental and regulatory sustainability. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 275-283. ISSN 0924-2244.
- CHET, I., INBAR, J., HADAR, Y. 1997. Fungal antagonists and mycoparasites. In: Esser K., Lemke P.A. (Eds.): *The Mycota IV—Environmental and Microbial Relationships*. Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 165-184. ISBN 978-3-642-60445-5.
- CHOWDAPPA, P., KUMAR, S.P.M., LAKSHMI, M.J.K., UPRETI, K. 2013. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biological Control*, 65, 109-117.
- CHOWDHURY, S.P., UHL, J., GROSCH, R., ALQUÉRES, S., PITROFF, S., DIETEL, K., SCHMITT-KOPPLIN, P., BORRIS, R., HARTMANN, A. 2015. Cyclic Lipopeptides of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *Plantarum* colonizing the lettuce rhizosphere enhance plant defense responses toward the bottom rot pathogen *Rhizoctonia solani*. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 28, 984-995.
- INGLIS, G.D., JOHNSON, D.L., GOETTEL, M.S. 1996. Effects of temperature on mycosis by *Beauveria bassiana* in grasshoppers. *Biological Control*, 7, 131-139.
- JANISIEWICZ, W.J., BORS, B. 1995. Development of a microbial community of bacterial and yeast antagonists to control wound-invading postharvest pathogens of fruits. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 3261-3267.
- JARONSKI, S.T., FULLER-SCHAEFFER, C., JUNG, K., BOETEL, M., MAJUMDAR, A. 2007. Challenges in using *Metarhizium anisopliae* for biocontrol of sugarbeet root maggot, *Tetanops myopaeformis*. *Bulletin of the IOBC/WPRS*, 30(7), 119-124.
- JEFFRIES, P. 1995. Biology and ecology of mycoparasitism. *Canadian Journal of Botany*, 73, 1284-1290.
- JEFFRIES, P. 1997. Mycoparasitism. In: Esser K., Lemke P.A. (Eds.): *The Mycota IV—Environmental and Microbial Relationships*. Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 149-164.
- JOHNSON, M. W. 2000. *Biological Control of Pests*, ENTO 675, UH-Manoa, Fall, p. 1–5.
- KAPRÁLEK, F. 1986. *Fyziologie bakterií*. 1. Vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství. 604 s. ISBN 14-600-86.

- KLABAN, V. 2005. Ilustrovaný mikrobiologický slovník. 1. Vyd. Praha: Galén. 654 s. ISBN 80-7262-341-9.
- KLAENHAMMER, T.R. 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Reviews, 12, 39–85.
- KLEIN, G., PACK, A., BONAPARTE, Ch., REUTER, G. 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol. 41: 103–125.
- KÖHL, J., KOLNAAR, R., RAVENSBERG, W.J. 2019. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. Front. Plant Sci. 10, 845.
- KOUBOVÁ, D. 2009. Využití hub v biologické ochraně rostlin proti škůdcům. ÚZEI, Agronavigátor, Praha.
- KOUL, O. 2004. Microbial biopesticides.
- KRÁLOVEC, K. 2012. Impact of climate change on the occurrence of plant diseases in Central Europe. Plant Protection Science, 48(1), 1-12.
- KŮDELA, V., FUCIKOVSKY, L., NOVACKY, A. 2002. Rostlinolékařská bakteriologie. Academia, Praha.
- KÜHNE, S., BURTH, U., MARX, P. 2006. Biological plant protection in the field: Plant health in organic farming. Eugen Ulmer, Stuttgart.
- KUTHAN, M., TRUBSKÁ, K. 2017. The potential of plant growth-promoting bacteria and fungi in protecting cucumber plants against *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Cucumerinum*. Journal of Plant Diseases and Protection, 124(2), 103-110.
- LACEY, L.A., GRZYWACZ, D., SHAPIRO-ILAN, D.I., FRUTOS, R., BROWNBRIDGE, M., GOETTEL, M.S. 2015. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. Journal of Invertebrate Pathology, 132, 1-41.
- LAMONT, J. R., WILKINS, O., BYWATER-EKEGÄRD, M., & SMITH, D. L. 2017. From yogurt to yield: potential applications of lactic acid bacteria in plant production. Soil Biology & Biochemistry, 111, 1-9.
- LANDA, Z. 1994. Entomopatogenní houby v biologické ochraně rostlin. Habilitační práce, Jihočeská Univerzita, Zemědělská fakulta, České Budějovice.
- LANDA, Z. 2002. Biologická ochrana zahradních rostlin proti chorobám a škůdcům v polních podmínkách, ve sklenicích a fóliovnících. In: DEMO M., HRIČOVSKÝ I. (Eds.): Trvalo udržatelné technologie v záhradnictve. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 225-280.
- LANDA, Z. 2008. Současný stav a perspektivy využívání *B. Bassiana* ve smrčínách NP Šumava. Národní park Šumava.
- LEGEIN, M., SMETS, W., VANDENHEUVEL, D., EILERS, T., MUYSHONDT, B., PRINSEN, E., SAMSON, R., LEBEER, S. 2020. Modes of action of microbial biocontrol in the phyllosphere. Frontiers in Microbiology. Vol. 11, article 1619, pp. 1-16.

- LEWIS, J. A., PAPAVIDAS, G. C. 1987. Application of *Trichoderma* and *Gliocladium* in algináte pellets for control of Rhizoctonia damping-off. *Plant Pathology*. Vol. 36, pp. 438-446.
- LITWIN, A., NOWAK, M., RÓŽALSKA, S. 2020. Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 19(1): 23–42. DOI: 10.1007/s11157-020-09525-1.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., BENDER, K.S., BUCKLEY, D.H., STAHL, D.A. 2018. *Brock Biology of Microorganisms*.
- MINÁRIK, E., NAVARA, A. 1986. *Chémia a mikrobiológia vína*. 1. vydání. Bratislava. 319 s. ISBN 80-223-0084-4.
- MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. 2023. Integrovaná ochrana rostlin. ÚKZÚZ. Available from: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/skodlive-organismy/integrovana-ochrana-rostlin/> (accessed March 2023).
- MINISTERSTVO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ ČR. 2023. Ochrana přírody. Available from: https://www.mzp.cz/cz/ochrana_prirody (accessed March 2023).
- MONTE, E. 2001. Understanding *Trichoderma* between biotechnology and microbial ecology. *International Microbiology*. Vol. 4, pp. 1-4.
- NDOLO, D. et al. 2019. Research and Development of Biopesticides: Challenges and Prospects. *Outlooks on Pest Management*. Vol. 30, pp. 267-276.
- OKROUHLÁ, M. 1993. Biologické zdroje pro nechemickou ochranu rostlin, (II. *Deuteromycetes, Trichoderma harzianum Rifai aggr.*). Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, s. 42-48. ISSN 0862-3562.
- ONDRÁČKOVÁ, E., ONDŘEJ, M., PROKINOVÁ, E. 2019. Biologická ochrana rostlin s využitím mykoparazitických hub. *Časopis Agromanuál*. Available from: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/biologicka-ochrana-rostlin-s-vyuzitim-mykoparazitickyh-hub> (accessed April 2023).
- ONGENA, M., JACQUES, P. 2008. *Bacillus lipopeptides*: Versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.*, 16, 115–125.
- OSBORNE, J., EDWARDS, C. H. 2005. Bacteria important during winemaking. *Advances in Food and Nutrition Research*. Vol. 50, pp. 140-177.
- PRIMACK, R. B. 2014. *Essentials of conservation biology*. Sinauer Associates.
- PROKINOVÁ, E. 1996. Biologická ochrana proti houbovým chorobám rostlin. *Rostlinná výroba*. ÚZPI, s. 7-39.
- RAVENSBERG, W. 2010. The development of microbial pest control products for control of arthropods: a critical evaluation and a roadmap to success. Wageningen University, Ede.
- RAVENSBERG, W. J. 2011. General introduction and outline. In: *A Roadmap to the Successful Development and Commercialization of Microbial Pest Control Products for Control of Arthropods*. *Progress in Biological Control* 10. Dordrecht: Springer, s. 1-21.

- ROD, J., HLUCHÝ, M., PRÁŠIL, J., ZAVADIL, K., SOMSSICH, I. a ZACHARDA, M. 2002. *Obrazový atlas chorob a škůdců zeleniny střední Evropy*. Brno: Biocont Laboratory, spol s.r.o., 392 s.
- ROSELLÓ, G., BONATERRA, A., FRANCÉS, J., MONTESINOS, L., BADOSA, E., MONTESINOS, E. 2013. Biological control of fire blight of apple and pear with antagonistic *Lactobacillus plantarum*. *Eur. J. Plant. Pathol.*, 137, s. 621-633.
- ROSS, R.P., MORGAN, S., HILL, C. 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79, s. 3-16.
- SAMSON, R. A., EVANS, H. C., LATGÉ, J. P. 1988. *Atlas of entomopathogenic Fungi*. Berlin: Springer-Verlag, 187 p.
- SANDYS-WINSCH, C., WHIPPS, J. M., GERLAGH, M., KURSE, M. 1993. World distribution of the sclerotial mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *Mycol Res*, 97, 1175-1178.
- SEDLÁČEK, I. 2006. *Taxonomie prokaryot*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita. 270 s. ISBN 80-210-4207-9.
- SEJKETOV, G. Š. 1982. Griby rodu *Trichoderma* ich ispolzovanie v praktike nauka. Kazachskoj SSSR, Alma-Ata, 248 s.
- SEWIFY, G. H. 2014. Efficacy of Entomopathogenic Fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for Controlling Certain Stored Product Insects. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. ISSN 11101768.
- SCHLEGEL, GÜNTER, H., ZABOROSCH, C. 1993. *General microbiology*. 7th ed. Cambridge University Press, Cambridge [England]; New York, NY, USA.
- SCHNEPF, E., CRICKMORE, N., VAN RIE, J., LERECLUS, D. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62, 775-806.
- SIVAN, A., UCKO, O., CHET, I. 1987. Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. *Plant Disease*, 71(7), 587-592.
- SMUTNÝ, V., WINKLER, J., KLEM, K. 2018. *Integrovaná regulace plevelů v obilninách: certifikovaná metodika pro praxi*. Brno: Mendelova univerzita v Brně. ISBN 978-80-7509-628-9.
- SPADARO, D., GULLINO, M.L. 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *Int J Food Microbiol* 91, 185-194.
- SRIVASTAVA, C.N., MAURYA, P., SHARMA, P., MOHAN, L. 2009. Prospective role of insecticides of fungal origin. Review, *Entomological Research*, 341-355.
- STARNES, R.L., LIU, C.L., MARRONE, P.G. 1993. History, Use, and Future of Microbial Insecticides. *American Entomologist* 39(2): 83-91.
- STILES, M. E., W. H. HOLZAPFEL. 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol*. 36: 1-29.

- ŠARAPATKA, B., URBAN, J. 2006. Ekologické zemědělství v praxi. Šumperk: Pro-Bio, Svaz ekologických zemědělců.
- ŠILHÁNKOVÁ, L. 2002. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii. 3. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.
- THOMASHOW, L.S., WELLER, D.M. 1996. Current concepts in the use of introduced bacteria for biological disease control: mechanisms and antifungal metabolites.
- TICHÁ, K. 2001. Biologická ochrana rostlin. Grada Publishing, Praha. ISBN 80-247-9043-2.
- 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.
- TSUDA, K., TSUJI, G., HIGASHIYAMA, M., OGIYAMA, H., UMEMURA, K., MITOMI, M., KUBO, Y., KOSAKA, Y. 2016. Biological control of bacterial soft rot in Chinese cabbage by *Lactobacillus plantarum*.
- ÚKZÚZ. 2022. Právní předpisy ES/EU. Brno: Ministerstvo zemědělství. Available from: <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx> (accessed March 2023).
- USTA, C. 2013. Microorganisms in Biological Pest Control — A Review (Bacterial Toxin Application and Effect of Environmental Factors). *Current Progress in Biological Research*. DOI: 10.5772/55786.
- VAN DRIESCHE, R. G., HEINZ, K. M. 2004. Biological Control of Invasive Plants in the Eastern United States. USDA Forest Service Publication FHTET-2004-04.
- VÁŇA, J. 1998. Systém a vývoj hub a houbových organismů. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum. 164 s.
- VERNER, V., ŠPAKOVÁ, J. 2009. Biologická ochrana rostlin v ovocnářství a zahradnictví. 1. vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-3011-2.
- VESELÁ, D. 1986: Biologická ochrana proti chorobám kořenů vzcházejících rostlin. Sborník Ref. Z 1. Sem. „Biotechnologie v integrované ochraně rostlin. Mykopreparáty československé výroby a jejich využití v ochraně polních kultur, VÚRV Praha-Ruzyně.
- VONDRÁŠKOVÁ, Š. 2008. Využití dravého hmyzu v biologické ochraně rostlin.
- WEISER, J. 1966. Nemoci hmyzu, Academia, Praha, s. 232–324.
- WHIPPS, J.M., GERLAGH, M. 1992. Biology of *Coniothyrium minitans* and its potential for use in disease biocontrol. *Mycological Research*, 96, 897–907.
- WHIPPS, J.M., LUMSDEN, R.D. 2001. Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects. In: BUTT, T., JACKSON, C. and MAGAN, N. (eds.). *Fungal biocontrol agents – progress, problems and potential*. Wallingford: CAB International.
- WOODS, A. 1974. Pest control: A survey. *Pest control: A survey* / Arthur Woods. ISBN 0470960019.

- YANG, R., HAN, Y.C., LI, G.Q., JIANG, D.H., HUANG, H.C. 2007. Suppression of *Sclerotinia sclerotiorum* by antifungal substances produced by the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 411–420.
- ZÁVODSKÁ, E. 2006. Biocatalysis in the synthesis of pharmaceutical intermediates. *Chemical Papers*, 60(5), 333-340.
- ZVÁRA, J., TÁBORSKÝ, V. 1985. Cvičení z ochrany rostlin I. Provozně ekonomická fakulta v Českých Budějovicích, 66-67.