

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroekologie a rostlinné produkce



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Využití biologických přípravků pro zlepšení zdravotního
stavu a zvýšení výnosů porostů jetelovin**

Bakalářská práce

Radek Nedbal

Faremní hospodaření

Ing. Martin Pisarčík, Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Využití biologických přípravků pro zlepšení zdravotního stavu a zvýšení výnosů porostů jetelovin" jsem vypracoval 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 autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2023

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval svému vedoucímu bakalářské práce Ing. Martinu Pisarčíkovi, Ph.D. za odbornou pomoc a především za trpělivost. Dále bych chtěl poděkovat své rodině a přátelům, kteří mě podporovali po celou dobu mého studia.

Využití biologických přípravků pro zlepšení zdravotního stavu a zvýšení výnosů porostů jetelovin

Souhrn

Tato bakalářská práce obsahuje základní informace o pěstování jetelovin. Jeteloviny jsou víceleté pícniny, které slouží k produkci bílkovinné píce a také mají mimoprodukční využití. Jeteloviny mají velmi pozitivní roli v celkové bilanci dusíku, protože hektar jetele lučního anebo vojtěšky seté vyrobí až 300 kg dusíku ročně, což představuje úsporu 1200 kg emisí CO₂. Po zaorání v půdě zanechávají velké množství organické hmoty, které zároveň přispívá k produkci trvalého humusu. Jeteloviny hrají významnou roli v osevním postupu, protože výrazně zvyšují výnos následující plodiny.

Produkční potenciál porostů jetelovin není zcela využíván a to i kvůli napadání kořene a kořenového krčku houbovými chorobami. Kořenové a krčkové choroby mají důležitou roli při pěstování jetelovin. Ovlivňují zejména výnos a vytrvalost. V praxi zatím neexistuje přímá ochrana proti chorobám kořenů jetelovin. Vzhledem k malému účinku se neaplikují syntetické fungicidy.

Klíčová slova: jeteloviny; kořenové hniloby; *Pythium oligandrum*; biologická ochrana

Utilization of biological preparations for improving health and increasing of yield of forage legume crops

Summary

This bachelor thesis contains basic information about clover cultivation. Clover is a perennial forage crop that is used to produce protein forage and also has non-productive uses. Clover has a very positive role in the overall nitrogen balance, as a hectare of grass clover or alfalfa produces up to 300 kg of nitrogen per year, which represents a saving of 1200 kg of CO₂ emissions. After ploughing, they leave a large amount of organic matter in the soil, which also contributes to the production of permanent humus. Clover plants play an important role in crop rotation as they significantly increase the yield of the following crop.

The production potential of clover stands is not yet fully developed, partly because of fungal diseases affecting the root and root collar. Root and neck diseases play an important role in clover cultivation. In particular, they affect yield and persistence. In practice, there is as yet no direct protection against clover root diseases. Synthetic fungicides are not applied because of their small effect.

Keywords: clover; root rots; *Pythium oligandrum*; biological control

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíl práce.....	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Charakteristika a význam jetelovin.....	10
3.1.1 Jetel luční (<i>Trifolium pratense</i>)	11
3.1.1.1 Historie.....	11
3.1.1.2 Přírodní podmínky pro pěstování	11
3.1.1.3 Využití a význam pěstování.....	12
3.1.2 Vojtěška setá.....	12
3.1.2.1 Historie.....	12
3.1.2.2 Nároky na prostředí.....	13
3.1.3 Další významné jeteloviny	13
3.1.3.1 Jetel plazivý.....	13
3.1.3.2 Jetel zvrhlý	14
3.1.3.3 Jetel inkarnát	14
3.1.3.4 Štírovník růžkatý	14
3.2 Nejvýznamnější choroby u jetelovin.....	15
3.2.1 Bílá hniloba jetele	15
3.2.2 Padlí jetele	16
3.2.3 Krčkové a kořenové hniloby jetele	17
3.2.4 Cevní vadnutí vojtěšky	17
3.2.4.1 Verticiliové vadnutí vojtěšky.....	18
3.2.4.2 Fusariové vadnutí vojtěšky	18
3.2.5 Obecná skvrnitost vojtěšky.....	19
3.2.6 Virus mozaiky vojtěšky.....	19
3.3 Biologická ochrana.....	19
3.3.1 Biologická ochrana ve světě	20
3.3.2 Vznik a historie.....	20
3.3.3 Využití biologické ochrany	21
3.3.3.1 <i>Pythium oligandrum</i>	24
3.3.3.2 <i>Coniothyrium minitans</i>	27
3.3.4 Faktory ovlivňující biologickou ochranu	28
3.4 Způsoby regulace škodlivých organismů v porostech jetelovin.....	28

3.4.1	Osevní postup	28
3.4.2	Agrotechnika	28
3.4.3	Volba odrůdy	29
4	Závěr	30
5	Literatura.....	31

1 Úvod

Pícniny jsou v zemědělství důležité pro tvorbu krmiv pro hospodářská zvířata. Jsou pěstovány zhruba na 450 tis. ha. Nejpěstovanějšími jetelovinami jsou jetel luční a vojtěška setá. Tyto dvě plodiny se u nás pěstují přibližně na 130 tis. ha. Výhodou je vysoká produkce a že dokáží vázat vzdušný dusík do půdy. Jeteloviny a jetelotravní směsky plní produkční i mimoprodukční funkce na orné půdě. Jsou jedním z nejstabilnějších systémů a poskytují také vynikající ochranu proti erozi půdy. Obecně zvyšují biologickou aktivitu půdy.

Porosty jetelovin vlivem biotických a abiotických faktorů řídnu nebo zcela exitují. Nejdůležitějšími faktory jsou půda, vláha a teplota, ale i počet sečí, výška strniště a stáří porostu. Tyto faktory jsou zásadní pro růst a vývin, který ovlivňuje termín seče ve vztahu na kvalitu píce. Velice důležitým faktorem je vliv patogenů, nejvíce jsou napadány kořeny a kořenové krčky.

Jedním z nejčastěji zmiňovaných přípravků v biologické ochraně je Polyversum (*Pythium oligandrum*), který se osvědčil na dalších plodinách např. na rajčatech, vinné révě, cukrové řepě. Mnohé studie svými pokusy dokazují, že i u jetelovin by tento přípravek mohl být účinný.

2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je vypracování literární rešerše zaměřené na aktuální poznatky o možnostech uplatnění biologických přípravků v jetelovinách. Podrobněji jsou zpracovány kapitoly zaměřené na nejvýznamnější choroby našich hlavních jetelovin a potenciální využití biologické ochrany. Shrnutí poznatků o přímé i nepřímé ochraně proti nejvýznamnějším chorobám jetelovin. Zmapování možností využití biologické ochrany a to jak z pohledu napadení chorobami, tak i z hlediska výnosnosti píce a rozvoje kořenových znaků v porostech jetelovin.

3 Literární rešerše

3.1 Charakteristika a význam jetelovin

Je to uměle vytvořená skupina jetelu podobných jednoletých a víceletých rostlin. Jeteloviny řadíme podle botanického systému do čeledi bobovitých (*Fabaceae*) a řadíme sem rody: jetel (*Trifolium*), tolíce (*Medicago*), štírovník (*Lotus*), vikev (*Vicia*), čičorka (*Coronilla*), komonice (*Melilotus*), úročník (*anthyllis*) a vičenec (*Onobrychis*) (Velich 1994). Jedná se o rostliny, které mají význam zejména ve výživě hospodářských zvířat, zvláště k výrobě siláží a sena (Šantrůček et al. 2008).

Pícniny jsou důležitou součástí krmné základny přežvýkavců (Hrabě 2004). V následující tabulce je uveden vývoj pěstovaných pícnin na orné půdě za poslední roky (viz Tabulka 1.). Šantrůček et al. (2008) však uvádí, že krmivo není finálním výrobkem, neboť se zpeněžuje až prodejem živočišných produktů. Proto je třeba celkovou strukturu pícninářských ploch, jejich pěstování, sklizeň a ochranu podřídit potřebám zvířat, zejména skotu.

Tabulka 1. Vývoj pícnin na orné půdě (Český statistický úřad)

Plochy pěstovaných pícnin (ha)	2011	2013	2015	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Pícniny na orné půdě (ha celkem)	423 050	436 354	458 266	465 391	468 328	498 628	515 335	506 796	467 363
Jednoleté pícniny	243 201	265 030	280 893	275 884	275 129	290 670	296 273	283 245	257 219
Jetel luční	43 285	43 376	49 091	59 778	60 020	59 198	56 708	57 317	55 731
Vojtěška setá	61 177	55 884	57 074	62 508	65 412	74 896	79 404	80 077	75 328
Ostatní víceleté pícniny	34 132	31 855	33 316	32 960	34 588	36 359	38 361	42 499	39 544
Dočasné travní porosty a pastviny	41 255	40 210	37 891	34 261	33 180	37 504	44 589	43 658	39 541

Velká výhoda jetelovin pro zemědělství je kromě produkce krmiv ještě symbióza s hlízkovými bakteriemi, které obohacují půdu o dusík ve formě přijatelné pro další plodiny. Symbiotické soužití s hlízkovými bakteriemi asimilující vzdušný dusík, je jednou z nejdůležitějších vlastností jetelovin a luskovin (Velich 1994). Bakterie na rostlině nejprve parazitují a až po uběhnutí pár týdnů začínají být užitečné pro rostlinu. Hlízkové bakterie jsou schopny biologicky vázat vzdušný dusík N_2 , který se v průběhu procesu přeměny na NH_3 .

Energii a živiny, jenž bakterie k fixaci potřebují, získávají z hostitelských rostlin. Dusík ve formě NH_3 mohou fixovat kořeny rostlin za pomoci kyseliny oxaglutarové za vzniku kyseliny glutamové nebo dokonce glutaminu (Vaněk et al. 2016).

Jeteloviny mají velmi pozitivní roli v celkové bilanci dusíku, protože hektar vojtěšky seté nebo jetele lučního váže až 300 kg dusíku ročně, čímž se ušetří až 1200 kg emisí CO_2 (Pisarčík et al. 2019). U píce z jetelovin a jetelotravních porostů pěstovaných na orné půdě je kladen značný důraz na vysoký obsah živin (dusíkaté látky, glycidy, koncentrace energie, stravitelnost OH aj.), dietetickou hodnotu danou redukovaným obsahem antinutričních látek, ovlivňujících chutnost a přijímatelnost píce (Hrabě 2004). Z krmivářského hlediska mezi nejvýznamnější jeteloviny patří jetel luční a vojtěška setá. Využívají se v dočasných i trvalých porostech, v monokulturách i jako jetelotravní směsky (Loučka & Pozdíšek 1998). Píci jetelovin zařazujeme do bílkovinných plodin obsahující přibližně 25 % dusíkatých látek v sušině (Šantrůček et al. 2008).

Morfologicky se jedná o rostliny s výrazným kořenovým krčkem, jenž představuje místo k vytváření nových lodyh (Velich 1994). Podle struktury kořenového krčku lze jeteloviny rozdělit na trsnaté a výběžkaté. Trsnaté jsou vhodnější k seči a výběžkaté jeteloviny využíváme spíše na pastvinách. Kořenový systém je rozmístěn v orniční a podorniční vrstvě s typicky mohutným křovitým kořenem, zasahujícím do hloubky až 2 metry (Skládanka 2005). Listy rozlišujeme trojčetné (*Trifolium pratense* L.), pětičetné (*Lotus corniculatus* L.) a lichožpeřené (*Coronilla varia* L.). Počet lodyh závisí na prostředí. Tento znak má vyváženou schopnost, kdy při snižujícím se počtu rostlin na plochu se zvyšuje počet lodyh na rostlinu. Rozeznáváme 4 typy lodyh: vzpřímenou, poléhavou, vyplněnou dřeví a dutou. Plodem je většinou buď jednosemenný nebo vícesemenný lusk, případně jednosemenný či vícesemenný struk.

3.1.1 Jetel luční (*Trifolium pratense*)

3.1.1.1 Historie

Jetel je poměrně obsáhlý, celosvětově rozšířený rod, zahrnující asi 250 – 300 druhů (Deyl & Skočdoplová-Deylová 2001). Původním stanovištěm jetele lučního je pravděpodobně pobřeží Středozemního moře v jihovýchodní části Euroasie. Odsud se pak rozšířil do západní Evropy a díky své přizpůsobivosti se dokázal adaptovat na rozdílné typy prostředí, od vlhkého pobřežního až po suché kontinentální. První cílené pěstování jetele lučního se uskutečnilo pravděpodobně ve 13. století ve Španělsku. Roku 1663 byl dovezen do Ameriky a poté se rozšířil do zbytku světa (Taylor & Quesenberry 1996).

3.1.1.2 Přírodní podmínky pro pěstování

Jetel luční (*Trifolium pratense*) se celosvětově pěstuje přibližně na 4 milionech hektarů (Riday 2010). Pěstuje se spíše v podhorských oblastech a na stanovištích s dostatkem srážek (Vaněk et al. 2016). Jetel luční potřebuje, aby roční úhrn srážek byl minimálně 600 až 700 mm (Loučka & Pozdíšek 1998). Nejideálnější jsou pro jetel hlinité půdy, které jsou dobře

zásobeny živinami nebo jílovitohlinité a písčitoohlinité půdy, jsou-li humózní. Rozmezí reakce půdy je přijatelná kolem 6,2 – 6,8 pH, přičemž jetel snáší nižší hodnoty pH mnohem lépe než vojtěška (Šantrůček et al. 1995). Lépe snáší mělké, kyselejší a vlhčí půdy než vojtěška setá, a také lépe interaguje s trávami ve směskách (Hejduk 2015). K vytvoření generativních orgánů je ideální 14hodinový světelný den. Nepříznivě na porost jetele působí kolísání teplot, především v předjaří.

3.1.1.3 Využití a význam pěstování

V současné době dochází k postupnému nárůstu pěstování jetele lučního v České republice a v EU a to z několika příčin. První z nich je současná a vysoká cena energie, která je nezbytná pro výrobu dusíku z Haber-Boschovy syntézy. Druhou je moderní trend k větší ekologizaci zemědělství a třetí je zákaz krmení masokostních mouček v EU (Hejduk & Knot 2010).

V České republice se v současné době využívá i jako přerušovač obilných sledů. Dále se uvádí, že jetel by se měl pěstovat na stejném pozemku nejdříve za 4 roky po sobě, z důvodu jetelové únavy. Jetelová únava je jednostranné vyčerpání živin spojené s akumulací půdních patogenů. Současné odrůdy poskytují výnos přesahující hranici 10 t sena na ha. Jetel luční má dvě formy: jetel luční pozdní (jednosečný) a jetel luční raný (dvousečný) (Vaněk et al. 2016).

Můžeme zvolit jarní, letní i podzimní termín výsevu. Současně je možnost vybrat si mezi čistým výsevem a výsevem do krycí plodiny. Jako krycí plodinu lze použít prakticky cokoliv, pokud jde o obiloviny a luskoobilné směsky. Hnojení dusíkem se neprovádí. Fosforem a draslíkem hnojíme před založením porostu. Aplikace mikroživin může být jednou z možností, jak snížit závažnost patogenů způsobujících hnilobu kořenů. Růst kořenů činí půdu pórovitější, kde prvky jako mangan, měď, zinek, železo a hliník mohou být oxidovány za vzniku nerozpustných komplexů, které jsou pro rostliny méně dostupné (Stoltz & Wallenhammar 2012). Lewis (1973) tvrdí, že dostatek manganu a zinku snižuje výskyt kořenových chorob.

3.1.2 Vojtěška setá

3.1.2.1 Historie

Vojtěška se začala pěstovat už v ranném období zemědělství, téměř před 4 000 lety před naším letopočtem. Centrem původu, kde se pěstovaly první formy, jsou stepi Blízkého východu (území dnešního Turecka a Íránu). Představovala důležitou plodinu pro mnoho starověkých kultur Blízkého Východu, kde se využívala jako krmivo pro dobytek a pro koně (Summers & Putnam 2008). V České republice se vojtěška setá pěstuje od 17. století, ale výrazněji se prosadila až na začátku 20. století (Šantrůček et al. 1995).

3.1.2.2 Nároky na prostředí

Ideální je pěstování vojtěšky v kukuřičné a řepařské oblasti. Za ideálních podmínek poskytne 3 až 4 seče za rok (Křen et al. 2015). Je velmi náročná na světlo a řadíme ji k dlouhodobým rostlinám (Vaněk et al. 2016). Jestliže je délka světelného dne markantně kratší než 15 hodin, tak se výrazně u vojtěšky zpomaluje vývoj. Důležitá je intenzita osvětlení zejména při pěstování na produkci semen. Se zkracujícím se dnem se vývoj zeslabuje a postupně zastavuje (Klesnil et al. 1978). Vojtěška klíčí už při 5°C, při teplotě půdy 10 - 12°C vzhází za 7 – 10 dní. Snese mrazy až -25°C a pod sněhovou přikrývkou dokonce až - 40°C. Půdní reakce by se měla pohybovat v rozmezí 6,5 – 7,2 pH i v nižších vrstvách půdy. Ideální jsou jílovitohlinité, hlinité až písčitoohlinité půdy (Šantrůček et al. 1995).

Důležitou vlastností vojtěšky je její odolnost vůči suchu, přestože má mnohonásobně vyšší spotřebu vody než obiloviny nebo jetel luční. Klesnil et al. (1978) uvádí, že spotřeba vody je z 65 % přijímána z úhrnu srážek a zbytek je dodáván z podzemních vod. Zvýšená a především trvalá vlhkost je faktorem, který úspěšnému pěstování vojtěšky škodí více než sucho. Ideální roční úhrn srážek je okolo 600 mm (Petřík 1987).

V prvním roce kořen dosahuje hloubky 1,5 metru. Když rostliny po výsevu vzejdou, kořenový systém se zpočátku vyvíjí čtyřikrát rychleji než nadzemní část. V dalších letech kořeny dosahují hloubky 5 metrů i více a to jí umožňuje lépe získávat živiny z půdy. Díky svým hlubokým kořenům je nenáročná na půdní vláhu a dokáže z nižších vrstev půdy vynést živiny a po mineralizaci kořenů se zpřístupňují pro další rostliny. Celková hmotnost kořenové soustavy váhově dosahuje zhruba stejného výnosu jako suchá píce. Po zaorání se kořenová hmota pomalu rozkládá v celém půdním profilu a vojtěšku lze na stejném pozemku pěstovat za 5 let. Na úrodných půdách to může být méně, uvádí se za 2 – 3 roky. Oproti jetelu lučnímu je vytrvalejší a to značně (Šantrůček et al. 1995).

3.1.3 Další významné jeteloviny

3.1.3.1 Jetel plazivý

Mnoho publikací uvádí, že třetí nejvýznamnější pěstovanou jetelovinou u nás je jetel plazivý. Převážně je používán do směsek pro trvalé luční a hlavně pastevní porosty. Je vhodný pro dočasnou intenzivní pastvu. Dobře snáší sešlapávání a po spasení rychle obrůstá (Šantrůček et al. 1995). Vytrvalost porostu jetele plazivého je 3 – 5 let. Pro pěstování jsou vhodné mírně vlhké a na živiny bohaté hlinité až jílovité půdy se zásaditou až mírně kyselou reakcí. Snáší dlouhou sněhovou pokrýtku a mráz (Hejný 2003).

Jetel plazivý roste rychle po zasetí a kvete již v roce výsevu. Má vysoké nároky na světlo a proto nemůže přežívat ve vysokých porostech. Planým formám se daří i na sušších a chudších stanovištích. Jetel plazivý má nižší výnosy píce než ostatní vyšší jeteloviny. Zahušťuje porosty a zvyšuje výnosy, zejména v letním a podzimním pastevním cyklu. Má vysokou stravitelnost (75 %) a vyšší obsah dusíku než jetel luční a vojtěška, protože se skládá hlavně z listů a částečně z květů, kdežto stonky se plazí u země a nejsou zasaženy sklizní (Šantrůček et al. 2008). Proto je také menší riziko přestárnutí píce, pokud je termín sklizně prodloužen. U dočasných a trvalých travních směsí se v závislosti na jejich složení

předpokládá výsevek 1 až 3 kg na hektar. Stejně jako všechny druhy s malým výsevem vyžaduje pečlivou přípravu půdy před výsevem a kvalitní urovnání povrchu půdy (Šantrůček et al. 1995).

3.1.3.2 Jetel zvrhlý

Dvouletá až vytrvalá bylina, která kvete od června do září. Ideální pro pěstování v chladných podhorských až horských oblastech, na těžkých a vlhkých půdách s vyšší hladinou podzemní vody (Hejný 2003). Uplatňuje se především ve směsích trvalých travních porostů, jako meziplodina s jetelem plazivým nebo travami a ve směsích s jetelem červeným. Jetel zvrhlý je velmi náročný na vodu. Klíčí 12 až 14 dní po výsevu. V porostu dokáže vytrvat 3 až 6 let, v čistém porostu se však využívá pouze na 2 roky. Dává vysokou a zaručenou první seč, která probíhá o 10 až 14 dní později než u jetele lučního. Druhá seč je přibližně o 30 % nižší než první. Lze jej pěstovat 2 až 3 roky po sobě na stejném pozemku. Píce je jemná s nízkým obsahem ligninu (nestravitelných pletiv). V monokultuře má nadýmavý účinek (Šantrůček et al. 1995).

3.1.3.3 Jetel inkarnát

Nejdeálnější pro pěstování jsou lehké a teplé půdy s dostatkem vláhy. Jetel inkarnát je jednoletá jetelovina pěstovaná v teplejších oblastech. Dříve nejčastěji ve směsích s jíllem mnohokvětým a vikví ozimou jako tzv. Landsberská směska. Kořeny mohou zasahovat až do hloubky půl metru (Šantrůček et al. 1995).

3.1.3.4 Štírovník růžkatý

Jedná se o vytrvalou jetelovinu (6-12 let), která se po zasetí rychle vyvíjí a kvete v prvním roce růstu už od poloviny června (Šantrůček et al. 1995). Štírovník růžkatý je vytrvalá bylina, která má vysoký obsah bílkovin. Bohatě větvený kořen může být dlouhý až 1 metr. Kvete od června do září (Hejný 2003). Díky hlubokému kořenovému systému odolává dlouhým obdobím sucha. Dobře snáší pastvu a po pastvě a sečení rychle obrůstá (Šantrůček et al. 1995).

Snáší suchá i vlhká stanoviště, není náročný na půdní a klimatické podmínky. Je odolný vůči mrazu, ale nemá rád zasolenou půdu (Hejný 2003). Používá se především ve směsích s travami, většinou 3 – 5leté porosty používané k sečení nebo pastvě jako trvalé travní porosty. Nepěstuje se v čistých porostech, protože jeho výnos je přibližně o 40 % nižší než výnos jetele lučního nebo vojtěšky seté, ale předčí je v méně příznivých podmínkách, na méně úrodných, sušších, mělčích a svažitých půdách. Na takových stanovištích poskytuje 6 tun píce při dávce 50 kg/ha ve směsi například s kostřavou luční, bojínkem lučním nebo ovsíkem vyvýšeným. Špatně snáší vyšší dávky dusíku. Dříve se na těžkých, podmáčených půdách pěstoval štírovník bažinný, protože zvládne zužitkovat i surový humus (Šantrůček et al. 1995).

3.2 Nejvýznamnější choroby u jetelovin

Realita, že jetel luční je náchylný k chorobám kořenů, je známa již dlouho. Kořeny i kořenový krček bývají často napadeny chorobami houbového i bakteriálního původu, které snižují výnosnost, životnost rostliny a tím i vytrvalost porostů. Lawes & Gilbert (1880) vydali první písemnou publikaci o chorobách jetele, ve které vystihovali stav ve Velké Británii v období kolem roku 1849. V té době si již zemědělci uvědomovali, že opětovné pěstování jetele na stejném pozemku není kvůli chorobám možné a tyto choroby nazývali jako „clover sickness“ (Lawes & Gilbert 1880). Hniloby kořenů a krčků u jetele lučního výrazně snižují výnos a to až o 30 až 80 % (Novosiolova 2002). Záleží i na formě pěstování, jestli ekologické nebo konvenční, podle toho se odvíjí druhové složení patogenů (Yli-Mattila et al. 2010). Pisarčík et al. (2019) uvádí že, nejčastěji vyskytující se je *Fusarium avenaceum*, ale na ekologicky obhospodařovaných půdách se objevuje méně. Naproti tomu *Gliocladium* spp., *Trichoderma* spp. a *Rhizoctonia* spp. se častěji objevují na půdách, které jsou ekologicky obhospodařovány déle než 10 let.

Svobodová & Šantrůček (1992) uvádějí, že choroby kořenů a kořenového krčku vojtěšky snižují ve třetím roce růstu výnos o 15 – 24 %. V polním pokusu Šantrůčka (1989) bylo zjištěno teoretické snížení výnosu vlivem chorob kořenů až o 27%. Podle Kúdely (1978) způsobuje přirozená infekce patogenů vadnutí vojtěšky ztrátu o 9,35 % rostlin v prvním roce sklizně, o 47,05 % ve druhém roce sklizně a o 90,18 % ve třetím roce sklizně.

3.2.1 Bílá hniloba jetele

Vleugels et al. (2013) uvádí, že tuto chorobu způsobují patogeny *Sclerotinia trifoliorum* Erikks. a *Sclerotinia sclerotiorum*. Bílá hniloba jetele je rozšířena po celém světě v oblastech, kde bývají mírné zimy nebo zimy se sněhovou pokrývkou. Největší hospodářské a ekonomické ztráty způsobuje v severní Evropě, bývalém Sovětském svazu, Kanadě a některých částech USA (Pisarčík et al. 2019).

S.trifoliorum má velký okruh hostitelů, včetně následujících druhů: vojtěška setá (*Medicago sativa*), jetel luční (*Trifolium pratense*), jetel zvrhlý (*Trifolium hybridum*), tolíce dětelová (*Medicago lupulina*), štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*), jetel inkarnát (*Trifolium incarnatum*) a vičenes ligrus (*Onobrychis viciifolia*). Jetel plazivý je obecně považován za méně vhodného hostitele, ale není zcela odolný (Pisarčík et al. 2019). Tento patogen může zničit jetel luční už po první zimě, zejména pokud je deštivý podzim a poměrně teplá zima (Vleugels et al. 2013).

Obecně je tato choroba brána jako kořenová nebo krčková, ale může napadat i ostatní části rostlin. Jako první příznaky této choroby jsou malé hnědé skvrny na listech a řapících. Nejvíce napadené listy jsou šedohnědé a následně se pokryjí bílým myceliem, které se šíří ke krčku a kořenům (Hanson & Kreitlow 1953). Kořenový krček je poškozen, nadzemní část rostliny se může snadno oddělit a rostlina odumře (Tribe 1957). Rozvoj kořenové hniloby hodně závisí na klimatických podmínkách. Při nepříznivých podmínkách pro vývoj choroby se téměř neobjeví, zatímco za příznivých podmínek může tato nemoc zničit celý porost. Příznaky této hniloby se rychle objevují s rostoucími teplotami a tajícím sněhem (Klimenko et

al. 2010). Nízké sezónní teploty brání rozvoji této choroby (Tribe 1957). Mezi příznivé podmínky, které pomáhají v rozvoji této choroby, patří vlhký podzim a teplá, vlhká zima s krátkým obdobím mrazu (Vleugels et al. 2013).

Koncem zimy a začátkem jara se choroba šíří do kořenů. Některé části mycelia se mění v tvrdé útvary zvané sklerocia, které jsou rozhodující pro přežití patogenu v následujících letech. Velikost sklerocií můžeme přirovnat k velikosti semen jetele a hrachu. Když to podmínky dovolí, začnou sklerocia vytvářet apothecia, která produkují velká množství spor, která jsou rozprášena větrem a mohou infikovat jetel přímým průnikem (Pisarčík et al. 2019). Ty kolonizují nové rostliny a životní cyklus je dokončen (Hanson & Kreitlow 1953). V zimě, kdy jsou rostliny oslabeny zimním stresem, začíná *S. trifoliorum* kolonizovat celou rostlinu. Brzy na jaře se v napadených rostlinách tvoří nová sklerocia (Pisarčík et al. 2019). Některé populace jetele lučního vykazují určitý stupeň odolnosti, avšak úplné odolnosti proti *S. trifoliorum* pravděpodobně nebude nikdy dosaženo (Vleugels et al. 2013). Sclerocia mohou být schopna v půdě přežít až sedm let. Toto onemocnění se výrazněji projevuje při souběžné infekci s hád'átkem zhoubným, proto je třeba jeho případný výskyt sledovat (ÚKZÚZ 2019).

Kazda et al. (2010) uvádí, že nejlepší ochranou proti napadení *S. trifoliorum* je prevence a to především vyvážená výživa porostu a snaha co nejvíce zabránit mechanickému poškození rostlin. V případě *Sclerotinia trifoliorum* tkví ochrana v nejméně šestiletém přerušení pěstování jetele. Na podzim zabránit zarůstání porostu sečením nebo šetrnou pastvou téměř nasyceného dobytka. Dále můžeme půdu utužit válením. V případě silného napadení, porost po první seči hluboce zaorat a zasít jinou píci (hořčici, směsky). Také zajistit, aby byla půda dobře zásobena fosforem a vápníkem (ÚKZÚZ 2023).

3.2.2 Padlí jetele

Charakteristické příznaky během vegetačního období jsou bělavě práškovité povlaky na listových čepelích, tvořené myceliem. Napadení porostu může být už na podzim v prvním roce založení porostu (ÚKZÚZ 2023). Objevuje se hlavně koncem léta a začátkem podzimu a napadá především mladý porost. Napadnuté části rostlin časem hnědnou a odumírají (ÚKZÚZ 2019).

Patogen se šíří konidiiemi především v teplejších a sušších letních měsících. Dokáže přezimovat na posklizňových zbytcích. Dlouhodobé napadení má za následek ztráty na výnosech a zhoršuje odolnost a přezimovací schopnost rostlin. Narušená celistvost listového pletiva navíc umožňuje infekci jinými parazity. Zkrmování silně napadené píce může vést k zažívacím a jiným zdravotním problémům zvířat, protože houba stimuluje produkci antinutričních látek ze skupiny kyanogenních glykosidů. Jako preventivní opatření proti této chorobě je nejdůležitější dodržovat správné zásady používání agrotechniky, vyvážená výživa a odstraňování posklizňových zbytků, které tato choroba využívá ke svému přežití do dalšího roku. Dalším faktorem je výběr odrůdy (ÚKZÚZ 2023).

3.2.3 Krčkové a kořenové hniloby jetele

Krčková a kořenová hniloba jetele je dlouholetý problém v mnoha částech světa. V současnosti jsou za hlavní původce patologického poškození kořenových tkání považováni zástupci rodu *Fusarium* (Nedělník & Pokorný 2005). Fuzáriová hniloba je zapříčiněna druhy *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. avenaceum*, *F. culmorum* a *F. roseum* (Klimenko et al. 2010). Houby rodu *Fusarium* se na rostlinách makroskopicky projevují porušením pletiv kořenového krčku a kořenů viditelných na příčných a podélných řezech (ÚKZÚZ 2023).

Většina druhů tohoto daného rodu, bývají slabé patogeny, které způsobují škody pouze při oslabení nebo poranění rostlin (Hanson & Kreitlow 1953). *Fusarium solani* je široce rozšířená a patří k nejrychleji roustoucím fuzáriím na uměle vytvořených půdách. Mikrokonidie jsou oválné až válcovité. *Fusarium oxysporum* je svojí velikostí mnohem menší než *F. solani*. *F. oxysporum* je z fuzárií nejvariabilnější a má hodně speciálních forem, které parazitují na různých plodinách. *Fusarium avenaceum* tvoří štíhlé konidie. Její chlamydostry nejsou dosud známy (Hýsek et al. 2008).

Při invazním šíření choroba decimuje rostliny již v prvním roce založení porostu (Nedělník & Pokorný 2005). Obvykle se projevuje jako smíšená infekce, většinou hlavně v chladných a vlhkých letech. Infekce způsobuje padání klíčících rostlin. V dospělých porostech se projevuje vadnutím a hnilobou nebo trouchnivěním kořenového krčku a kořenů. Obvykle se šíří v řádcích nebo ohniscích. Hlavními zdroji infekce jsou rostlinné zbytky a přetrvávající struktury patogenu v půdě (ÚKZÚZ 2019).

Příznaky se projevují lokálně nebo jako celková hniloba na kterékoliv části kořenového systému. Postiženy mohou být primární, sekundární kořeny i kořenový krček. Nejnáchylnější k fuzáriové kořenové hnilobě je kořenová špička, přesněji řečeno spodní dva centimetry kořene (Leath & Kendal 1978). Barva napadených míst je hnědá až černá. Rostliny se snaží nahradit zničené kořeny dalšími sekundárními kořeny, ale tento způsob je obvykle pomalejší, takže rostliny do dalšího roku většinou odumírají (Hanson & Kreitlow 1953).

Mnoho studií tvrdí, že z čeledi bobovitých jsou nejnáchylnějšími rostlinami štirovník růžkatý a jetel plazivý. Jetel luční a vojtěška setá jsou méně náchylné (Leath & Kendal 1978). Pokusy ukázaly, že *F. roseum*, *F. oxysporum*, *F. solani* a *F. moniliforme* zpravidla způsobovaly vyšší četnost infekce, frekvenci lézí a inhibici růstu kořenů na rostlinách, ze kterých bylo inokulum odebráno, než na rostlinách, na které bylo následně přeneseno (Leath & Kendal 1978). To naznačuje, že přenos patogenu není pokaždé perfektní a že rostliny mají rozdílnou úroveň odolnosti (Pisarčík et al. 2019). Někteří autoři uvádějí, že tato choroba je nejčastější příčinou řídnutí porostů (Hanson & Kreitlow 1953; Riday 2010). Naopak Wallenhammar et al. (2006) tvrdí, že fuzáriová hniloba byla ve Švédsku až do počátku 70. let 20. století prakticky neznáma. Kazda et al. (2010) uvádí, že chemická ochrana není k dispozici.

3.2.4 Cevní vadnutí vojtěšky

Nejvýznamější choroba u vojtěšky seté. Jedná se o komplexní chorobu způsobenou houbovými patogeny *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo-atrum* a bakterií *Clavibacter*

michiganensis subsp. *insidiosus*. V dnešní době jsou zásadními původci onemocnění oba houbové organismy. Bakterie *Clavibacter michiganensis* subsp. *insidiosus* je regulovaným nekaranténním škodlivým organismem na osivu vojtěšky seté (ÚKZÚZ 2023). Bocsa et al. (1994) uvádí, že tyto patogeny jsou nejčastějším zdrojem nízké vytrvalosti u vojtěšky. Příznaky způsobené *Verticillium albo-atrum* jsou skoro totožné s příznaky způsobenými patogenem *Fusarium oxysporum*. Kazda et al. (2010) tvrdí, že při napadení *F. oxysporum* se na podélném řezu stonkem objevuje červenohnědé zbarvení cévních svazků, zatímco při napadení *V. albo-atrum* jsou vnitřní pletiva stonku šedá.

Za hlavní příznaky považujeme uvadání nadzemních částí, usychání listů a změnu barvy cévních svazků na kořenovém řezu (ÚKZÚZ 2023). Toto onemocnění zapříčiňuje předčasně odumírání rostlin, prořídnutí porostů, snížení výnosu píce a nutnost předčasné orby (Kúdela 1978). Napadené rostliny jsou mnohdy poškozeny a po seči zůstávají zakrnělé a tvoří jen malé lístky. Patogenní organismy využívají posklizňové zbytky a zbytky kořenové soustavy, na kterých přežívají (ÚKZÚZ 2019).

Jednou z možností preventivního opatření je volba vhodné odrůdy, zejména domácího původu s deklarovanou vyšší odolností proti původcům cévního vadnutí. Za účelem omezení šíření původce bakteriálního vadnutí se na dodávky osiva vztahují fytokaranténní opatření vymezená obecně závaznými právními předpisy (ÚKZÚZ 2023). Podle Kazdy et al. (2010) spočívá ochrana především ve vhodné agrotechnice. Cílem by mělo být co nejvíce omezit vnikání do porostu, které způsobuje poškození rostlinných krčků, což je důležitý faktor napadení rostlin.

3.2.4.1 Verticiliové vadnutí vojtěšky

Tato široce rozšířená choroba napadá kromě vojtěšky i řadu jiných druhů rostlin. Především se vyskytuje v chladnějších a vlhčích oblastech. První symptomy napadení se objevují v průběhu horkých, letních dní. Zpočátku vadnou horní listy, později usychají a žloutnou spodní listy a stonky. Z kořenového krčku rostou nové větve, které rovněž ihned usychají a odumírají. Po úplné defoliaci zůstávají stonky ještě nějakou dobu zelené, poté zčernají. Při vlhkém počasí vyrůstá na kořenovém krčku šedý povlak konidioforů. Kořeny nevykazují žádné vnější příznaky, ale cévní svazky jsou na řezu světle až tmavě hnědé. Houba napadá celou rostlinu, tudíž hnědé cévní svazky můžeme pozorovat v jakékoli části stonku (ÚKZÚZ 2019).

3.2.4.2 Fusariové vadnutí vojtěšky

Výskyt této choroby je především v teplejších oblastech. Fusariové vadnutí se vyskytuje pouze při vyšších teplotách. Optimální teplota pro *Verticillium albo-atrum* je 20 až 25 °C. Prvním příznakem napadení je vadnutí vrcholu stonku. Během dne dochází k vadnutí listů, zatímco v noci se vrací turgor. Na listech se časem objevuje načervenalé zbarvení. Zprvu je napadena jen část rostliny, zbytek může být infikován až o několik měsíců později. Příznaky

na řezu kořene, kořenového krčku a stonku jsou výrazné. V místech cévních svazků se objevují tmavé prstence (ÚKZÚZ 2019).

3.2.5 Obecná skvrnitost vojtěšky

Jedná se o významnou chorobu nadzemních částí vojtěšky. Tato choroba je velmi rozšířená a u vojtěšky je považována za nejnebezpečnější listovou chorobu na světě. Ačkoli přímo nezpůsobuje úhyn rostlin, mnohdy zapříčiňuje defoliaci a snížení vzrůstu, vitality, kvality a výnosu (ÚKZÚZ 2019).

V České republice se vyskytuje každoročně. Patogen vytváří na listech malé, kulaté, černohnědé skvrny, které jsou ohraničeny zubatým okrajem (ÚKZÚZ 2023). Velikost těchto skvrn se pohybuje v rozmezí 1-3 mm. V druhé polovině vegetace lze pozorovat uvnitř skvrn světle hnědá apothecia o průměru až 1 mm. Skvrny se většinou tvoří na horní straně listů (ÚKZÚZ 2019). Listy, které jsou napadeny, tak žloutnou a opadávají. Pozitivní pro rozvoj této choroby je především vysoká vlhkost vzduchu, naopak suché a horké léto obvykle zpomaluje či zastavuje infekci. Důležitým faktorem je dodržování zásad v agrotechnice, zejména při úklidu posklizňových zbytků, na nichž patogen přežívá do dalšího roku. V případě silného napadení se provádí fyto-sanitární seč, při které dochází k odstranění zdrojů infekce (ÚKZÚZ 2023).

3.2.6 Virus mozaiky vojtěšky

Virus mozaiky vojtěšky napadá až 600 druhů plodin a plevelů (např. vojtěšku, jetel, hrách, papriku). Na jaře se tato choroba projevuje světle žlutou mozaikou na mladých listech. V letních měsících se na listech objevují výrazné skvrnistosti nebo typicky dobře ohraničené žlutozelené až bílé prstence. Prstence se často objevují na okraji listových čepelí. Příznaky mohou být maskovány vyššími letními teplotami. Tento virus je přenášen mšicemi a semeny. Přenos není trvalý. Nepříznivě působí na výnos a deformuje plody. Napadení se zvyšuje se stárnutím porostu a jsou vyšší ztráty při sklizni (ÚKZÚZ 2023).

3.3 Biologická ochrana

Ochrana rostlin před chorobami je ekonomicky důležitým problémem v zemědělství. Ztráty v rostlinné výrobě způsobené chorobami tvoří až 20 %. Hlavní metodou ochrany rostlin je využívání chemických pesticidů, ale chemické přípravky mají mnoho nevýhod. I proto se v poslední době biologická ochrana intenzivněji vyvíjí (Azizbekyan 2019).

Tento způsob ochrany rostlin se zaměřuje na růst a vývoj rostlin s minimálním narušením zemědělských ekosystémů a na podporu obranných mechanismů proti škodlivým organismům. Biologickou ochranou myslíme přípravky na ochranu rostlin, které zahrnují makroorganismy, mikroorganismy, regulátory růstu rostlin a hmyzu a různé rostlinné extrakty. Jedná se tedy o metody ochrany proti škodlivým organismům, které nepoužívají průmyslově vyráběné syntetické pesticidy (ÚKZÚZ 2023). Tato ochrana zahrnuje cílené

použití zavedených nebo přítomných žijících organismů proti jednomu nebo více patogenům rostlin. Použití jednoho organismu ovlivní aktivitu a činnost rostlinného patogenu (Pal & Gardener 2006).

3.3.1 Biologická ochrana ve světě

Ve vyspělých zemích se biologické přípravky proti chorobám a škůdcům stávají velice důležitým doplňkem v ochraně rostlin. Největší využití má biologická ochrana v Evropě, Severní a Latinské Americe. Hlavními limitujícími faktory na trhu s biopesticidy je způsob použití a zvláštní požadavky na podmínky skladování. Nejperspektivnější jsou v dnešní době biofungicidy (Thakore 2006).

V Evropě se v posledních desetiletích výrazně zvýšil zájem o biologickou ochranu. Souvisí to i s faktem, že výrazně roste zájem o ekologické zemědělství (v Evropě přibližně 6,5 milionů ha). V Evropě je pro účely biologické ochrany zemědělských plodin registrovaných 14 rodů bakterií a hub (Gerbore et al. 2014). Mnoho rodů hub má mechanismy, díky nimž mohou účinně léčit nebo se bránit chorobám listů a kořenů způsobenými patogenními houbami.

V současné době je ochrana rostlin proti bakteriím, fytopatogenním houbám, hmyzu a virům, nejdůležitějším ekonomickým problémem kvůli ztrátám v rostlinné produkci. V některých zemích tyto ztráty dosahují 20 % při sklizni. Vlády několika zemí proto zavádějí programy na snížení používání chemických pesticidů, což vyžaduje zpřísnování kontrol zemědělských produktů na trhu. Například Švýcarsko má vypracovaný desetiletý plán na dvojnásobné snížení rizik spojených s používáním chemikálií v zemědělství. I ve Španělsku byl vypracován program na snížení používání pesticidů na ploše 20 000 ha. Jedními z největších výrobců a zároveň spotřebitelů biologických přípravků na ochranu rostlin jsou Spojené státy americké a Kanada (Azizbekyan 2019).

3.3.2 Vznik a historie

První pokusy biologické ochrany rostlin probíhaly již v 19. století. Tato alternativa chemické ochrany se však rozšířila až koncem 20. století a to zejména v rámci různých systémů, například v ekologickém zemědělství (Kazda et al. 2010). Ekologické zemědělství je forma hospodaření, která spojuje nové poznatky s letitými zkušenostmi našich předků. Nepoužívají se umělá hnojiva, postřiky, chemikálie, hormony a umělé látky, jenž zatěžují životní prostředí a kontaminují potravinové řetězce. Tento způsob hospodaření je zdrojem kvalitních potravin a udržuje kvalitu životního prostředí. Naproti tomu konvenční zemědělství je intenzivní zemědělství využívající umělá hnojiva a chemické přípravky na ochranu rostlin. Velkou výhodou je ohromné zvýšení výnosů plodin, naopak nevýhodou je znečištění životního prostředí, ohrožení půd erozí a vyčerpání půdy, devastace krajiny a nekvalitní potraviny (Věchet 2013). V 50. letech 20. století byl vývoj biologické ochrany mírně potlačen, kvůli velké produkci a využití chemické ochrany.

Biologická ochrana rostlin vůči houbovým patogenům je zkoumána již více než 80 let, ovšem teprve v průběhu posledních let se některým společnostem podařilo vyvinout

mikroorganismy na ochranu rostlin pro komerční účely (Suprapta 2012). V letech 1920 až 1930 se projevil větší zájem o použití biologické ochrany, kdy se přišlo na to, že určité patogeny rostlin jsou potlačeny použitím některých antibiotik tvořených mikroby do přirozeného prostředí. Mezi první úspěchy biologické regulace je uváděna introdukce sluněčka (*Rodolia cardinalis*) z Austrálie do kalifornských citrusových sadů proti červci (*Icerya purchasi*) z roku 1888. Při použití biologických prostředků je účinnost pomalejší než při využití chemických prostředků. Účinnost biologické ochrany také závisí na abiotických a biotických podmínkách prostředí. Tato ochrana činí aktivní a cílenou ochranu rostlin bez narušení ekosystému. Biologické látky nejsou toxické pro živočichy a účinek těchto látek by mohl být dlouhodobý (Věchet 2013).

3.3.3 Využití biologické ochrany

Biologická ochrana využívá živé a hygienicky bezpečné antagonisty škodlivých organismů a metody, které nepoškozují stabilitu ekosystému. Tato ochrana zahrnuje způsob použití organismů ke snížení populací určitých plevelů, patogenů nebo škůdců. Způsob biologické ochrany je založen na přirozeném antagonismu organismů. V této ochraně lze uplatnit mnohé druhy organismů a to od virů až po obratlovce (Kazda et al. 2010). Důležité však je hledání aktivních antagonistů fytopatogenních mikroorganismů a na jejich základě vyvíjet nové přípravky na ochranu rostlin. Je potřeba zmínit, že ve srovnání s dalšími výrobci biologicky aktivních sloučenin jsou sporotvorné bakterie pro průmyslové využití levné a poměrně snadno získatelné (Azizbekyan 2019).

Věchet (2013) uvádí, že organické metody spočívají v pěstování rostlin bez použití hormonů a dalších látek vyrobených člověkem. V biologické ochraně proti chorobám mohou být využity přírodní materiály, objevené v přírodě. Jedná se o způsob potlačení aktivity škodlivých organismů na rostlině, pomocí různých živých organismů přítomných nebo přidaných do prostředí. Vztahy mezi rostlinami a patogeny se v jejich přirozeném prostředí mohou po zásahu člověka použitím bioagens změnit.

Hýsek et al. (2008) uvádějí, že při pokusu se *Fusarium oxysporum* při použití bioagens snižuje, ale ne v tak velkém rozsahu jako jiné patogenní druhy rodu *Fusarium* (např. *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*). Výskyt se snižuje přibližně o polovinu. Pokusy ukázaly, že antagonistické mikroorganismy (*Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*) neinhibují růst houby ve stejné míře jako růst patogenních druhů rodu *Fusarium*. Málo patogenní a nepatogenní kmeny fytopatogenních hub mají nižší schopnost způsobit nemoc rostlin i za podmínek, které jsou pro patogena ideální. Použití těchto kmenů může zajistit, že populace patogenních kmenů bude potlačena a stane se v daném prostředí dominantní (*Fusarium oxysporum*). Z toho vyplývá, že *F. oxysporum* je jediným druhem rodu *Fusarium*, jenž není vážně ovlivněn bioagens.

Biologická ochrana zahrnuje avirulentní případně hypovirulentní jedince nebo populace v rámci patogenních druhů, antagonistické mikroorganismy a ošetření hostitelské rostliny za účelem zvýšení odolnosti vůči patogenu. Používají se různé přístupy, které zahrnují mnoho zavedených antagonistů, šlechtění rostlin a použití specifických postupů ke změně mikrobiální rovnováhy (Alabouvette et al. 2006). Začínají se také využívat sloučeniny, které

poškozuji virulenci patogenů nebo produkty, jež zvyšují obranu schopnost rostlin. Regulace chorob je důležitá pro zachování kvality potravin a krmiv produkovaných po celém světě (Pal & Gardener 2006). Při použití biologické ochrany rostlin bereme v úvahu různé typy interakcí mezi hostitelskou rostlinou a škodlivým organismem. Ve většině případech je patogen ovlivňován přítomností dalších organismů a jejich činností (Věchet 2013). Pal & Gardener (2006) uvádějí různé mechanismy mezidruhového kontaktu a specifické interakce (viz Tabulka 2.).

Tabulka 2. Typy mezidruhových antagonismů vedoucích k biologické kontrole rostlinných patogenů (Pal & Gardener 2006)

Typ	Mechanismus	Příklady
Přímý antagonismus	Hyperparazitismus/predace	Lytické nebo některé nelytické mykoviry: <i>Ampelomyces quisqualis</i> , <i>Lysobacter enzymogenes</i> , <i>Pasteuria penetrans</i> , <i>Trichoderma virens</i>
Smíšený antagonismus	Antibiotika	2,4-diacetylchloroglucinol, Fenaziny, Cyklické lipopeptydy
	Lytické enzymy	Chitinázy, Glukanázy, Proteázy
	Neregulované nevyužité produkty	Amoniak, oxid uhličitý, Kyanovodík
	Fyzikální nebo chemické zásahy	Zacpání půdních pórů, Klíčení signální spotřeby
Nepřímý antagonismus	Soupeření	Spotřeba exudátů, Čištění siderofory, Okupace specializovaných oblastí
	Indukce rezistence hostitele	Kontakt s buněčnými stěnami hub, Detekce patogenů, Zprostředkovaná indukce fytohormonem

Indukovaná rezistence je rovněž jednou z forem biologické regulace (Věchet 2013). Využívání užitečných mikroorganismů se soustředí na specializované houby, kvasinky a bakterie, jež zapříčiňují napadení a mohou být také použity k regulaci rostlinných patogenů a jimi způsobených chorob (Cook & Baker 1983).

Rostliny a živočichové sdílejí speciální induktivní mechanismy ochrany proti infekcím patogenů. Van Loon et al. (1998) uvádí, že indukovaná rezistence je fyziologický stav

vyvolaný specifickými vnějšími podněty, které znamenají zvýšení obranyschopnosti rostlin. Biotické změny posilují vrozené ochranné mechanismy rostliny. Takovýto stav zvýšené odolnosti je účinný vůči celé škále patogenů, včetně hub, virů, bakterií a parazitických rostlin (Kessler & Baldwin 2002).

Rostliny vnímají a přizpůsobují se i vnějším podnětům, včetně světla, teploty, gravitace, fyzikálních stresů a dostupnosti vody a živin. Reagují taktéž na řadu chemických podnětů vznikajících při kontaktu s půdou a s ní spojenými mikroby. Tyto podněty mohou vyvolat nebo podmínit obranyschopnost hostitelské rostliny prostřednictvím biochemických změn, které zvyšují odolnost vůči další infekci způsobené různými druhy patogenů (Věchet 2013).

U rostlin rozlišujeme rezistenci v závislosti na vyvolaných podnětech, na lokální (místní) a systémovou. Projevem lokální rezistence jsou strukturální změny, jako je tvorba papilů, tylosů a abscesních zón. Nekrotické změny začínají uvolňováním protonů a draselných iontů z buňky a vrcholí oxidační destrukcí buněčného obsahu lipidovými hydroperoxidázami a reaktivními formami kyslíku. Do této formy rezistence zahrnujeme také toxické změny, mezi které patří akumulace fytoalexinů, syntéza fenolických sloučenin a jejich následná oxidace na chinonové sloučeniny polyfenoloxidázami a peroxidázami. Při kontaktu rostliny s patogenním organismem dochází v rostlinném organismu ke sledu událostí. Vzájemná interakce mezi rostlinou a příslušným patogenem může probíhat dvěma způsoby (Bülow et al 2004).

U obou způsobů dochází při zahájení transkripce genu k zesílení buněčných stěn. V místě průniku patogenu pak vznikají aktivní formy kyslíku, které způsobují smrt infikovaných buněk. Obrannou reakcí většinou spouštějí látky zvané elicitory. Jsou to signální molekuly aktivující celý obranný mechanismus rostliny. Tyto látky jsou monomerní, oligomerní a polymerní. Elicitory se poutají na specifické receptory, které se zpravidla nacházejí na povrchu buněčných membrán. Specifické elicitory řadíme do exogenních elicitorů vylučovaných patogenem. Narušením buněčné stěny se uvolňují endogenní elicitory. Jedná se o nespecifické elicitory mezi něž patří fragmenty buněčných stěn bakterií a hub, glykoproteiny, hydrolytické enzymy, mastné kyseliny a další. Malé molekuly bílkovin, nazývané elicitiny, jsou vylučované houbami *Phytophthora* a *Pythium* a také je řadíme mezi elicitory (Věchet 2013).

Určité mikrobiální organismy jsou možné využít k biologické ochraně. Mikroby, které s největší pravděpodobností pomáhají k ovlivnění choroby, jsou ty, které řadíme mezi konkurenční saprofyty, fakultativní hyperparazity a fakultativní rostlinné symbionty. Mohou přežívat na odumřelém rostlinném materiálu, avšak jsou schopné kolonizovat a posílit bioregulační aktivitu, ačkoli rostou na rostlinných pletivech. Vzhledem k tomu, že je lze snadno kultivovat, se většina výzkumu v oblasti bioregulace zaměřuje pouze na omezený počet bakterií rodů *Pseudomonas*, *Lysobacter*, *Bacillus*, *Pantoea*, *Streptomyces* a *Burkholderia* a hub *Coniothyrium*, *Gliocladium*, *Trichoderma*, *Ampelomyces*, *Dactyloctenium* a *Paecilomyces*. Rozsáhlé kvantum mikroorganismů přesto nelze kultivovat, např. biotrofní fytopatogeny, protože ty se množí jen v živé rostlině. Dále i mnoho anaerobních mikroorganismů má značné speciální nároky na své prostředí ve svém vývoji růstu (Hýsek et al. 2008). Byly studovány i další mikroorganismy, které jsou pro kultivaci *in vitro* více či méně nevhodné. Patří mezi ně mykorhizní houby, jakou jsou *Pisolithus* a *Glomus spp.*, jež mohou snižovat výskyt infekce a některé hyperparazitické patogeny rostlin.

V biologické ochraně bylo za posledních třicet let vyzkoušeno mnoho praktik. Gerbore et al. (2014) tvrdí, že nejvíce je studován v poslední dekádě vliv *Pythium oligetrum* z třídy Oomycota. Burges (1998) uvádí, že mikrobiální regulace je před začátkem vývoje postavena na znalosti antagonistických mikroorganismů, která je nepostradatelná pro pochopení jejich působení. Antagonistické účinky utlumující vývoj choroby mají podobu přímých mikrobiálních interakcí proti patogenu, zejména v průběhu jeho saprofytické fáze nebo přímého působení pomocí vyvolané rezistence hostitelské rostliny. Mikrobiální antagonismus představuje přímou interakci dvou mikroorganismů vyskytujících se na jednom stanovišti. Lze rozlišit tři druhy interakcí, do nichž řadíme antibiózu, parazitismus a konkurenci o živiny. Hlavním nedostatkem mikrobiální regulace je její nízká udržitelnost (Brodeur 2012). Bioagens využívají mykoparazitismus jako jednu ze svých strategií (Brimmer & Boland 2003).

Mnohé studie naznačují, že prospěšné mikroorganismy rostlina zpočátku vnímá jako škodlivé organismy a spouští obranné reakce. Mikroorganismy se však vyrovnávají s imunitní reakcí hostitele, což jim umožňuje zůstat naživu v rostlinných pletivech. Posílení růstu prospěšnými mikroorganismy je jev, který je často spojován se syntézou mikrobiálních fytohormonů a sekundárních metabolitů. V posledních letech se ukázalo, že společné očkování prospěšnými mikroorganismy by mohlo stimulovat růst rostlin a zvýšit odolnost vůči chorobám ve srovnání s očkovaním jedním mikroorganismem (Benhamou et al. 2012). Ačkoli takové kombinace mohou zvýšit úroveň ochrany rostlin proti napadení patogeny, je třeba brát v úvahu možnou konkurenceschopnost mezi těmito mikroorganismy (Alabouvette et al. 2006).

I přes významné pokroky v ochraně plodin (tj. střídání plodin, používání chemických pesticidů a šlechtění odolných odrůd plodin) půdní patogeny rostlin stále významně snižují výnos a kvalitu hospodářsky významných plodin. Tyto patogeny jsou obzvláště náročné, jelikož mnohdy přežívají v půdě prostřednictvím odolných struktur (Benhamou et al. 2012).

3.3.3.1 *Pythium oligandrum*

Benhamou et al. (2012) uvádí, že v současné době je *Pythium oligandrum* z třídy Oomycetes pravděpodobně nejideálnější biologickou ochranou v zemědělství. Oomycety jsou brány jako agresivní rostlinné patogeny, které dokáží způsobit velké ztráty na výnosech plodin, ale *P. oligandrum* napadá patogeny svého druhu (Brožová 2002).

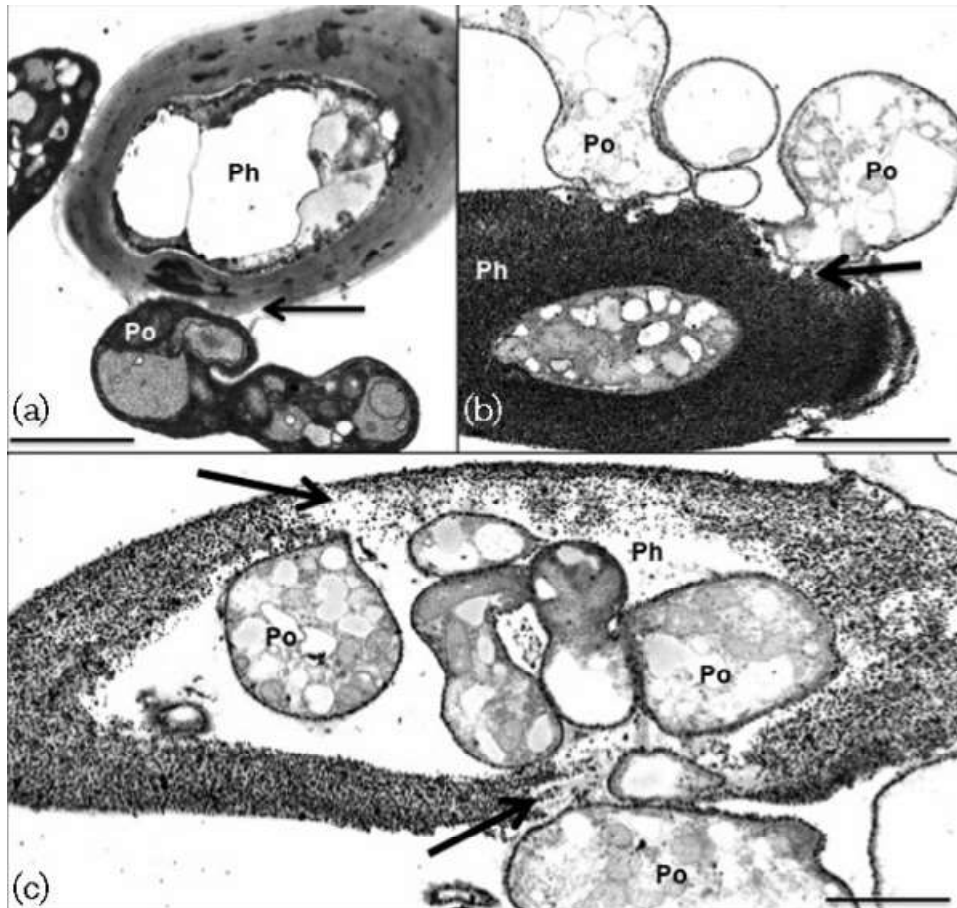
Pythium oligandrum chrání rostliny před následnou infekcí patogenem, stejně jako ostatní činitelé biologické kontroly (Veloso & Diaz 2012). Snižuje patogenitu u mnoho chorob v rozpětí 15-100 %. Na ochranu rostlin může účinkovat přímo i nepřímo. Výhodou *P. oligandrum* je, že působí na většinu houbových patogenů a proto ho lze využít na velké množství plodin (Gerbore et al. 2014). Má blahodárné účinky na rostliny a to díky synergickému působení několika mechanismů, včetně antagonismu proti řadě půdních patogenů. Mikrobiální diverzita v rhizosféře je spojena s rostlinnými druhy především proto, že interakce mezi kořenovými exsudáty a půdními mikroorganismy jsou v přírodě vysoce dynamické a založené na koevolučních tlacích (Benhamou et al. 2012).

P. oligandrum produkuje látky, které podporují imunitní systém a růst rostliny. Kolonizují rhizosféru a bojují o prostor a živiny. Přímou napadají řadu půdních houbových patogenů a podporují růst rostlin prostřednictvím produkce tryptaminu (Benhamou et al. 2012). Bylo zjištěno, že velké množství tryptaminu bylo vyrobeno, když *P. oligandrum* bylo pěstováno v kultivačním médiu doplněné prekurzory auxinu, tryptofanu a indol-3-acetaldehydu. Tento způsob funguje u řady nepatogenních hub (Frankenberger & Arshad 1995). Zajímavostí je, že v rostlinách rajčat existuje tryptaminová dráha, která se podobá té, která se vyskytuje u některých hub (Cooney & Nonhebel 1991).

Pythium oligandrum poskytuje zvýšenou ochranu plodin proti houbovým a bakteriálním chorobám díky aktivaci imunitního systému rostlin. Je také schopný zabránit růstu patogenních hub. Do rostliny nevniká prostřednictvím listu, ale parazituje na povrchu rostliny pomocí fytopatogenů anebo kolonizuje kořenový systém, kde podporuje výměnu látek s rostlinou (Benhamou et al. 2012).

Mykoparazitismus je pravděpodobně hlavní interakcí, kdy je patogen zničen. Produkce antimikrobiálních sloučenin může být v některých interakcích jediným mechanismem odpovědným za smrt patogenu. Dalším zajímavým znakem interakce je vybudování strukturních obranných reakcí patogenními hyfami před kontaktem s antagonistou (Benhamou et al. 1999).

Ve většině případů je *P. oligandrum* tak agresivní, že se patogen nestihne ubránit před útokem. V jiných případech patogen reaguje produkcí abnormálních stěnových apozic stanovených jako pokus o zastavení vstupu antagonisty (viz Obrázek 1.). Tyto obranné reakce jsou zahájeny před kontaktem mezi oběma protagonisty a dále se rozvíjejí po připojení antagonisty a je pravděpodobné, že stresové signály jsou patogeny vnímány a spouštějí kaskádu událostí podobných těm, jenž se vyskytují v obranné strategii rostlin (Benhamou 2009). Posílení stěny hostitelské buňky *P. oligandrum* neodradí, naopak úspěšně proniká do reagujících hostitelských buněk a napadá je, čímž potvrzuje svou mimořádnou schopnost masivně produkovat enzymy degradující buněčnou stěnu (viz Obrázek 1.) (Benhamou et al. 1999).



Obrázek 1. Vlastnosti obranných reakcí vyvolaných *Ph. parasitica* (Ph) v reakci na útok *P. oligandrum* (Po). A) Buněčná stěna *Ph. parasitica* je výrazně ztloustlá v době, kdy dojde ke kontaktu s antagonistou. Při adhezii *P. oligandrum*, jsou produkovány celulótytické enzymy a dochází k porušení buněčné stěny vnějších vrstev (šipka). B) Hyfy *P. oligandrum* začínají prorůstat a rozkládat vysoce ztloustlou buněčnou stěnu hostitele produkcí celulólytických enzymů (šipka). C) V pozdější fázi, *P. oligandrum* úspěšně proniká do ztloustlé buněčné stěny (šipka) a rychle se šíří do buněk *Ph. parasitica* (Benhamou 2009).

Pythium oligandrum vykazuje schopnost šířit se do kořene bez vyvolání symptomů (Le Floch et al. 2005). Snadno proniká do epidermis a do 48 hodin se rozšíří do všech kořenových tkání, včetně vaskulární stély. Jeden z nejzajímavějších a nejneobvyklejších rysů této interakce se týká náhlé degradace napadajících hyf oomycet během jejich pronikání do kořenových tkání. K tomuto chování dochází brzy po penetraci kořenové tkáně, jak ukazují změny ve strukturální integritě hyf, které byly zahájeny již 14 hodin po inokulaci. V následujících hodinách se buňky oomycet postupně degenerují a vznikají typické oogonie. Toto těsné spojení je pro rostlinu vysoce prospěšné, protože poskytuje zvýšenou ochranu různým biotickým stresům pomocí indukované lokální a systémové rezistence (Benhamou et al. 2012).

Do jisté míry se působení *P. oligandrum* podobá *Trichoderma spp.*, které byly popsány jako oportunistické symbiotické houby, schopné nejen kolonizovat nejbližší kořenové tkáně, aniž by způsobily rozsáhlé poškození, ale také stimulovat růst rostlin a spouštět obranné reakce rostlin (Trillas & Segarra 2009). Ačkoli *P. oligandrum* je vysoce účinný při

navození lokální a systémové rezistence rostlin vůči chorobám, otázkou je, do jaké míry může jeho zavedení do půdy ovlivnit růst necílových druhů, včetně saprofytických hub a rhizobakterií. Tato otázka má prvořadý význam před potenciální komercializací. Ze zemědělsky pěstovaných plodin se nejčastěji *P. oligandrum* používá na obilniny, olejninu i vinnou révu (Benhamou et al. 2012).

3.3.3.2 *Coniothyrium minitans*

Coniothyrium minitans je přirozeně se vyskytující mykoparazitický organismus objevující se po celém světě. *C. minitans* byl poprvé popsán Campbellem (1947) na patogenu *Sclerotinia sclerotiorum* ve Spojených státech amerických a od té doby se prokázalo, že se vyskytuje celosvětově (Vrije et al. 2001). Vývoj produktu založeného na tomto houbovém organismu přicházel pomalu (Whipps & Gerlagh 1992).

C. minitans zůstává životaschopný i v dezintegrováných sklerociích, ale může být vytlačen ze sklerocií sekundárními kolonizátory (Tribe 1957). Není však známo, zda přežívá volně v půdě nebo jestli je chráněn v pyknidiích, což jsou struktury obklopující konidiofory anebo v organickém materiálu. Bylo zjištěno, že *C. minitans* parazituje jak mycelium, tak sklerocia, utvořená uvnitř i na povrchu stonku po infekci listů askosporami *S. sclerotiorum*. Po aplikaci *C. minitans* bylo znatelné snížení počtu sklerocií vytvořených na nemocném salátu. Mnohé studie tvrdí, že *C. minitans* buď parazituje *S. sclerotiorum* přímo nebo využívá živiny uvolněné z rostliny po infekci tohoto patogenu (Vrije et al. 2001).

Současný výzkum se zaměřuje na celkovou produkci spor hub. V poslední době *C. minitans* docela mizerně sporuluje v kapalných médiích (McQuilken et al. 1997), ale naopak dobře sporuluje na pevných substrátech (McQuilken & Whipps 1995).

Uvádí se dva způsoby, jak lze *C. minitans* aplikovat. Prvním způsobem je aplikace přímo do půdy se záměrem snížit potenciál sklerotiálního inokula. Druhým způsobem je postřik na napadené rostliny patogenem nebo na zbytky plodin s cílem dezinfikovat plodiny. Tento způsob provádíme před zaoráním rostlin do půdy. Po sklizni se většina sklerocií nachází na povrchu půdy a jsou tedy snáze likvidovány. V provedených pokusech bylo opakovaně pozorováno, že účinnost *C. minitans* proti patogenu neklesla pod 90 % (Vrije et al. 2001).

Preventivní metoda ochrany rostlin spočívá v aplikaci *C. minitans* ještě před setím plodin. Aplikace do půdy by měla být vykonána zhruba 8 týdnů před setím nebo zásením dané plodiny. Doba aplikace je ovlivněna klimatickými podmínkami. Mezi příznivé podmínky pro růst *C. minitans* patří mírně teplé a vlhké půdy. Z toho vyplývá, že v oblastech s horkým, suchým létem a mírnou zimou (např. Itálie, Španělsko, Brazílie) by měla být aplikace provedena na podzim. Whipps & Gerlagh (1992) uvádí, že pro rozvoj *C. minitans* jsou ideální provzdušněné půdy a teploty nad 1 °C. Relativní vlhkost vzduchu nad 95 % podporuje klíčení spor a růst. Při mrazech *C. minitans* sice pozastavuje svůj růst, ale v půdě přežívá. V půdě dokáže přežít minimálně dva roky.

Mezi nejnáchylnější rostliny napadené patogenem *S. sclerotiorum* patří řepka olejka a hlávkový salát. Polní pokusy provedené ve Skandivánii ukazují, že *C. minitans* lze použít i k ochraně jetele lučního. Aplikací přípravku při předseťové přípravě, došlo ke zvýšení výnosu

o 21 – 32 % u jetele lučního. *C. minitans* působí proti patogenu na lehkých, ale i na těžkých půdách (Öhberg & Bang 2010).

3.3.4 Faktory ovlivňující biologickou ochranu

Účinnost biologické ochrany je omezena několika faktory. Brožová (2002) poukazuje na to, že působení biologických produktů je výrazně ovlivněno přírodním prostředím (např. vlhkostí vzduchu, pH půdy a teplotou). Podle Elnaghy et al. (2010) dochází ke klíčení oospor *Pythium oligandrum* v rozpětí teplot 10 až 30 °C a optimální hodnota pH půdy je 6,5 – 8.

3.4 Způsoby regulace škodlivých organismů v porostech jetelovin

3.4.1 Osevní postup

Většinu chorob rostlin způsobenou patogeny, které se přenáší půdou lze kontrolovat důsledným střídáním plodin (Věchet 2013). Osevní postup je jedním z nejučinnějších agrotechnických opatření. Střídání plodin je důležité pro udržení a zvýšení půdní úrodnosti (Křen et al. 2015). Nejvyšších výnosů jeteloviny dosahují po okopaninách, které jsou hnojeny chlěvským hnojem, jelikož jeteloviny jsou pěstovány na pozemku 2-3 roky i déle a dokaží postupně využívat uvolňované živiny. Nejčastěji se jeteloviny vysévají s krycí plodinou, nejčastěji s jarními obilninami nebo luskoobilnými směskami (Šantrůček et al. 2001).

Pěstování jednotlivých jetelovin po sobě je nežádoucí. U jetele a vojtěšky se doporučuje dodržovat rozestup mezi pěstováním po sobě 5-6 let. Jeteloviny jsou výbornými předplodinami. Posklizňové zbytky jsou vysoce kvalitní a pozitivně ovlivňují výnos následných plodin. V osevním postupu jsou nejčastěji zařazované mezi dvě obilniny (Křen et al. 2015).

3.4.2 Agrotechnika

Při správném použití agrotechniky je možné vojtěšku pěstovat tři užitkové roky a může poskytovat vysoké výnosy i další roky. Jako rozhodující faktor se ukazuje počet a doba sečí. Svobodová & Šantrůček (1992) ze svého výzkumu uvádějí, že utužování půdy má značný vliv na vývoj chorob kořenů a kořenových krčků u vojtěšky a významně působí na výnos a vytrvalost porostů. Šantrůček (1989) tvrdí, že zhutnění půdy v důsledku přejezdů strojů se podílí na snížení píce ve 3. roce vegetace v rozmezí 15-30 %, kdežto poškození zemědělskou technikou je 70-85 %. Časté přejezdy zemědělskou technikou způsobují rozdrcení a zlomení stonků, poškození kořenového krčku a horní části kořenového systému.

Při každé seči je riziko rozšíření původce kořenových chorob z napadené rostliny na zdravou. Při sklizni je třeba brát v úvahu riziko šíření patogenů. Je třeba zamezit přesunu sklizňových strojů z infikovaného porostu do nenapadeného porostu. Nejprve provést seč u zdravých porostů a nakonec nechat napadený porost. Při průjezdu silně zamořeným pozemkem je doporučeno žací mechanismu dezinfikovat např. formalínem (Svobodová et al. 2003). Z výše uvedených důvodů jsou nepřímá ochranná opatření velmi důležitá v porostech

jetelovin. Jedná se především o vhodnou agrotechniku, maximální omezení v počtu vjezdů do porostu, která vedou k narušení kořenového systému (Kazda et al. 2010).

3.4.3 Volba odrůdy

Po objevení efektu kolchicinu v roce 1937 se začali šlechtit tetraploidní odrůdy jetele (Taylor & Quesenberry 1996). Již v roce 1939 byla vyšlechtěna první tetraploidní odrůda jetele lučního. Öhberg & Bang (2010) uvádí, že tetraploidní odrůdy mají větší odolnost pouze v určitých podmínkách. Kromě toho mají menší mortalitu v důsledku útoku patogenů v pozdních kvetoucích odrůdách.

Šlechtění odrůd u vojtěšky proti cévnímu vadnutí je důležitým prvkem šlechtitelské práce. Tato choroba komplikuje či znemožňuje využití ve šlechtění. Jsou rozdíly mezi odrůdami vojtěšky v odolnosti, ale žádná odrůda v České republice není zcela odolná. Nejvhodnější odrůdou proti cévnímu vadnutí vojtěšky je Zuzana a Morava (Nedělník & Pokorný 2005). Ve srovnání s vojtěškou je jetel luční více prošlechtěnější. Zvýšená imunita současných odrůd není jen proti virům, ale i proti spále jetele, krčkovým a kořenovým hnilobám (Šantrůček et al. 2008).

4 Závěr

Pěstování jetelovin má v zemědělství velký význam. Hlavním důvodem pěstování je produkce krmiv pro hospodářská zvířata. Výhodou kromě výroby krmiva je také symbióza s hlízkovými bakteriemi, které obohacují půdu o dusík ve formě přijatelné pro další plodiny.

Bylo zjištěno, že vojtěška setá je vytrvalejší než jetel luční. Podmínky pro pěstování těchto jetelovin jsou do značné míry stejné.

Aplikace biologických přípravků má pozitivní účinek na větvení kořenů jetele a vojtěšky. Nejlepší prevencí je kvalitní výživa porostu, správná agrotechnika a dodržování osevního postupu. Při špatné agrotechnice může dojít k poškození kořenového krčku a v tuto dobu je rostlina nejvíce náchylná k napadení patogenem.

Bylo zjištěno, že choroby kořenů mohou snižovat výnos až o 50 %. Většina chorob jetelovin se šíří pomocí posklizňových zbytků a díky tomu přežívá do dalšího roku. Starší porosty jetelovin jsou náchylnější k onemocnění. Chemická ochrana nemá významný účinek.

Veškerá data, studie a termíny byla dohledána z vědeckých článků, odborné literatury a webových stránek.

5 Literatura

- Alabouvette C, Olivain Ch, Steinberg Ch. 2006. Biological control of plant diseases: the European situation. *European Journal of Plant Pathology* **114**:329-341.
- Azizbekyan RR. 2019. Biological preparations for the protection of agricultural plants. *Applied Biochemistry and Microbiology* **55**:816-823.
- Benhamou N. 2009. La résistance chez les plantes: principes de la stratégie défensive et applications agronomiques. Tec & Doc-Edition Lavoisier, Paris.
- Benhamou N, Le Floch G, Vallance J, Gerbore J, Grizard D, Rey P. 2012. *Pythium oligandrum*: an example of opportunistic success. *Microbiology* **158**(11):2679-2694.
- Benhamou N, Rey P, Picard K, Tirilly Y. 1999. Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite, *Pythium oligandrum* and soilborne pathogens. *Phytopathology* **89**:506-517.
- Bocsa I, Pummer L, Horompoli T. 1994. Importance of main Alfalfa Diseases in Eastern Europe as Determined by the use of specifically resistant varieties. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* **29**(2):39-48.
- Brimmer TA, Boland GJ. 2003. A review of the non-target effects of fungi used to biologically control plant diseases. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **100**(1):3-16.
- Brodeur J. 2012. Host specificity in biological control: insights from opportunistic pathogens. *Evolutionary Applications* **5**:470-480.
- Brožová J. 2002. Exploitation of the mycoparasitic fungus *Pythium oligandrum* in plant protection. *Plant Protection Science* **38**:29-35.
- Burges HD. 1998. Formulation of microbial biopesticides: beneficial mikroorganisms, nematodes and seed treatments. Springer Science & Business Media, Netherlands.
- Bülow L, Schindler M, Choi C, Hehl R. 2004. PathoPlant: A Database on Plant-Pathogen. In *Silico Biology* **4**:529-536.
- Campbell WA. 1947. A new species of *Coniothyrium* parasitic on sclerotia. *Mycologia* **39**:190-195.
- Cook R, Baker KF. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Cooney TP, Nonhebel HM. 1991. Biosynthesis of indole-3-acetic acid in tomato shoots: Measurement, mass-spectral identification and incorporation of ^2H from $^2\text{H}_2\text{O}$ into indole-3-acetic acid, D- and L-tryptophan, indole-3-pyruvate and tryptamine. *Planta* **184**:368-376.
- Český statistický úřad. 2023. Vývoj osevních ploch zemědělských plodin. Český statistický úřad. Available from <https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystup-objekt&pvo=ZEM02C&z=T&f=TABULKA&skupId=346&katalog=30840&pvo=ZEM02C> (accessed April 2023).

- Deyl M, Skočdoplová-Deylová B. 2001. Naše květiny. Academia, Praha.
- Elnaghy MA, Fadl-Allah EM, Abdelzaher HMA, Moharam SA. 2010. Some chemical and physical factors affecting oospores production and germination of wild species of *Pythium irregulare*, *Pythium longisporangium* and *Pythium oligandrum*. Bulletin of the Faculty of Science. Assiut University **39**:1-11.
- Frankenberger WT, Arshad M. 1995. Phytohormones in Soil Microbial Production and Function. Taylor and Francis, New York.
- Gerbore J, Benhamou N, Vallance J, Le Floch G, Grizard D, Regnault-Roger C, Rey P. 2014. Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of *Pythium oligandrum*. Environmental Science and Pollution Research **21**:4847-4860.
- Hanson EW, Kreitlow KW. 1953. The many ailments of clover. Pages 217-228 in US. Dept. of Agriculture, Yearbook, editors. Plant Diseases. United States Government Printing, Washington DC.
- Hejduk S, Knot P. 2010. Effect of prohnance and ploidity of red clover varietis on produktivity, persistence and growth pattern in mixture with grasses. Plant, Soil and Environment **56**(3):111-119.
- Hejduk S. 2015. Effect of cutting frequency of four red clover cultivars on forage yield and persistence. Grassland Science in Europe **20**:230-232.
- Hejný S. 2003. Květena České republiky. Academia, Praha.
- Hrabě F. 2004. Trávy a jetelovino trávy v zemědělské praxi. Petr Baštan, Olomouc.
- Hýsek J, Vach M, Javůrek M. 2008. Biologická ochrana obilnin proti houbovým fytopatogenům. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. 24 p.
- Kazda J, Mikulka J, Prokinová E. 2010. Encyklopedie ochrany rostlin: polní plodiny. Profi Press, Praha.
- Kessler A, Baldwin IT. 2002. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. Annual review of plant biology **53**(1):299-328.
- Klesnil A, Benda J, Halva E, Petřík M, Štráfelda J, Turek F, Velebil M, Velich J. 1978. Intenzivní výroba píce. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Klimenko I, Razgulayeva N, Gau M, Okumura K, Nakaya A, Tabata S, Kozlov NN, Isobe S. 2010. Mapping candidate QTLs related to plant persistency in red clover. Theoretical and applied genetics **120**(6):1253-1263.
- Křen J, Neudert L, Procházková B, Smutný V. 2015. Obecná produkce rostlinná-1.část. Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Brno.
- Kůdela V. 1978. Soustava ochranných opatření proti cévnímu vadnutí vojtěšky. Metodiky pro zavádění výsledků výzkumu do praxe, ÚZTIZ **2**:27.
- Lawes JB, Gilbert JH. 1880. Agricultural, botanical and chemical results of experiments on the mixed herbage of permanent meadow, conducted for more than twenty years in

- succession on the same land. Philosophical Transactions of the Royal Society of London **171**:289-416.
- Le Floch G, Benhamou N, Mamaca E, Salerno MI, Tirilly Y, Rey P. 2005. Characterisation of the early events in atypical tomato root colonisation by a biocontrol agent, *Pythium oligandrum*. Plant Physiology and Biochemistry **43**(1):1-11.
- Leath KT, Kendall WA. 1978. Fusarium root rot of forage species: pathogenicity and host range. Phytopathology **68**:826-831.
- Lewis JA. 1973. Effect of mineral salts on *Aphanomyces euteiches* and Aphanomyces root rot in peas. Phytopathology **63**:989-993.
- Loučka R, Pozdíšek J. 1998. Zajištění vysoké kvality krmiv z víceletých píceň. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha.
- McQuilken MP, Budge SP, Whipps JM. 1997. Production, survival and evaluation of liquid culture-produced inocula of *Coniothyrium minitans* against *Sclerotinia sclerotiorum*. Biocontrol Science and Technology **7**:23-36.
- McQuilken MP, Whipps JM. 1995. Production, survival and evaluation of solid-substrate inocula of *Coniothyrium minitans* against *Sclerotinia sclerotiorum*. Eur J Plant Pathol **101**:101-110.
- Nedělník J, Pokorný R. 2005. Choroby jetele a vojtěšky. Farmář **11**(10):24-27.
- Novosiolova A. 2002. Increasing of red clover resistance to disease and pests. Clover in Russia, Voronej.
- Öhberg H, Bang U. 2010. Biological control of clover rot on red clover by *Coniothyrium minitans* under natural and controlled climatic conditions. Biocontrol Science and Technology **20**(1):25-36.
- Pal KK, Gardener BMcS. 2006. Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor **10**:1117-1102.
- Petrík M. 1987. Intenzivní pícninářství: celostátní vysokoškolská příručka pro vysoké školy zemědělské. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Pisarčík M, Hakl J, Menšík L, Szabó O. 2019. Využití přípravku Polyversum pro zvýšení vytrvalosti a výnosů porostů jetelovin. Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Praha.
- Riday H. 2010. Progress made in improving red clover (*Trifolium pratense* L.) through breeding. International Journal of Plant Breeding **4**(1):22-29.
- Skládanka J. 2005. Multimediální učební texty pícninářství. Ústav výživy zvířat a pícninářství MZLU, Brno. Available from https://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=hlavni_jet.html (accessed January 2006).
- Stoltz E, Wallenhammar AC. 2012. Micronutrients reduce root rot in red clover (*Trifolium pratense*). Journal of Plant Diseases and Protection **119**:92-99.

- Summers C, Putnam D. 2008. Irrigated Alfalfa Management for Mediterranean and Desert Zones. University of California, Agriculture and Natural Resources, Oakland.
- Suprapta DN. 2012. Potential of microbial antagonists as biocontrol agents against plant fungal pathogens. *International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences* **18**(2):1-8.
- Svobodová M, Šantrůček J. 1992. Vliv poškození rostlin a zhutnění půdy při přejezdech sklizňové mechanizace na kořenový systém vojtěšky ve 3. Roce vegetace. Sborník VŠZ, Praha.
- Svobodová M, Šantrůček J, Hlavičková D. 2003. The influence of harrowing on the yield of alfalfa (*Medicago sativa* L.), In 11th International Scientific Symposium of forage conservation. Research Institute of Animal Production, Nitra.
- Šantrůček J. 1989. Kultivace porostů vojtěšek a cévní vadnutí. Sborník VŠZ, Praha.
- Šantrůček J, Fuksa P, Hakl J, Kocourková D, Mrkvička J, Svobodová M, Veselá M. 2008. Encyklopedie pícninářství. Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Praha.
- Šantrůček J, Mrkvička J, Svobodová M, Veselá M, Vrzal J. 2001. Základy pícninářství. Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Praha.
- Šantrůček J, Svobodová M, Štráfelda J, Veselá M. 1995. Základy pěstování víceletých pícnin na orné půdě. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, Praha.
- Taylor NL, Quesenberry KH. 1996. Red clover science. Kluwer academic publishers, Dordrecht.
- Thakore Y. 2006. The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology* **2**(3):194-208.
- Tribe HT. 1957. On the parasitism of *Sclerotinia trifoliorum* by *Coniothyrium minitans*. *Transactions of the British mycological society* **40**(4):489-499.
- Trillas MI, Segarra G. 2009. Interactions between nonpathogenic fungi and plants. *Advances in botanical research* **51**:321-359.
- ÚKZÚZ. 2019. Metodika zkoušek užitné hodnoty. Jeteloviny. Národní odrůdový úřad, Brno.
- ÚKZÚZ. 2023. Škodlivé organismy. ÚKZÚZ. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#rlp|so|choroby (accessed April 2023).
- Vaněk V, Balík J, Pavlík M, Pavlíková D, Tlustoš P. 2016. Výživa a hnojení polních plodin. Profi Press, Praha.
- Van Loon LC, Bakker PAM, Pieterse CMI. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology* **36**(1):453-483.

- Veloso J, Diaz J. 2012. *Fusarium oxysporum* Fo47 confers protection to pepper plants against *Verticillium dahliae* and *Phytophthora capsici* and induces the expression of defence genes. *Plant Pathology* **61**(2):281-288.
- Velich J. 1994. *Pícninářství*. Vysoká škola zemědělská, Praha.
- Věchet L. 2013. *Biologická regulace chorob rostlin*. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Vleugels T, Baert J, Van Bockstaele E. 2013. Evaluation of a diverse red clover collection for clover rot resistance (*Sclerotinia trifoliorum*). *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* **78**(3):519-522.
- Vrije Td, et al. 2001. The fungal biocontrol agent *Coniothyrium minitans*: production by solid-state fermentation, application and marketing. *Appl Microbiol Biotechnol* **56**:58-68.
- Wallenhammar AC, Adolfsson E, Engström M, Henriksson M, Lundmark S, Roempke G, Stahl P. 2006. Field surveys of *Fusarium* root rot in organic red clover leys. *Grassland Science in Europe* **11**:369-371.
- Whipps JM, Gerlagh M. 1992. Biology of *Coniothyrium minitans* and its potential for use in disease biocontrol. *Mycological Research* **96**(11):897-907.
- Yli-Mattila T, Kalko G, Hannukkala A, Paavanen-Huhtala S, Hakala K. 2010. Prevalence, species composition, genetic variation and pathogenicity of clover rot (*Sclerotinia trifoliorum*) and *Fusarium* spp. in red clover in Finland. *European journal of plant pathology* **126**(1):13.

