

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
katedra ochrany rostlin

Možnosti biologické ochrany ozimé řepky proti patogenu
Verticillium longisporum

.....
doktorská disertační práce

Autor: **Ing. Eva Zusková**

Školitel: **doc. Ing. Jan Kazda, CSc.**

Konzultant: **Mgr. Veronika Konradyová, Ph.D.**

Praha 2024

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou disertační práci "Možnosti biologické ochrany ozimé řepky proti patogenu *Verticillium longisporum*" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího disertační 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 disertační práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26.2.2024

Zusková Eva

Obsah

1	PŘEHLED O SOUČASNÉM STAVU PROBLEMATIKY	1
1.1	Řepka olejka (<i>Brassica napus</i> subsp. <i>napus</i> L.)	1
1.2	Choroby řepky ozimé	2
1.2.1	<i>Leptosphaeria maculans</i> Cesati & De Notaris	3
1.2.2	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> Lib.	6
1.2.3	<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	8
1.3	<i>Verticillium longisporum</i> (C. Stark) Karapapa et al.	9
1.3.1	Vývojový cyklus <i>V. longisporum</i>	11
1.3.2	Příznaky napadení patogenem <i>V. longisporum</i>	12
1.3.3	Ochrana proti <i>V. longisporum</i>	14
1.4	Fungicidní ochrana řepky ozimé	14
1.5	Biologická ochrana	15
1.5.1	Mechanismy biologické ochrany	16
1.5.2	Praktické použití MCBAs využitých v předložených pokusech	19
2	CÍLE A HYPOTÉZY	24
3	METODIKA	25
3.1	Produkty použité v testování	25
3.2	In vitro pokus	27
3.2.1	Biologický materiál	27
3.2.2	Založení pokusu	28
3.2.3	Hodnocení pokusu	28
3.3	Pilotní skleníkové pokusy 2018/19	28
3.3.1	Biologický materiál	28
3.3.2	Založení pokusu	29
3.3.3	Hodnocení pokusu	29
3.4	Skleníkové pokusy 2019/20	30
3.4.1	Biologický materiál	30
3.4.2	Založení pokusu	30
3.4.3	Hodnocení pokusu	31
3.5	Pilotní polní maloparcelkové pokusy 2018/19	32
3.5.1	Biologický materiál	32
3.5.1	Založení pokusu	32
3.5.1	Hodnocení pokusu	33

3.6	Polní maloparcelkové pokusy 2019/20	33
3.6.1	Biologický materiál	33
3.6.2	Založení pokusu	34
3.6.3	Hodnocení pokusu	35
4	VÝSLEDKY	38
4.1	In vitro pokus	38
4.2	Skleníkové pokusy 2018/19	38
4.3	Skleníkové pokusy 2019/20	40
4.4	Polní maloparcelkové pokusy 2018/19	42
4.5	Polní maloparcelkové pokusy 2019/20	44
5	DISKUZE	57
5.1	In vitro testování	57
5.2	Skleníkové pokusy	57
5.3	Polní maloparcelkové pokusy	59
6	ZÁVĚR	61
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	62
8	PŘÍLOHY	79
8.1	Metodika založení polního maloparcelkového pokusu 2019/20	79
8.2	Seznam obrázků	80
8.3	Seznam tabulek	81
8.4	Seznam zkratk	82
8.5	Seznam vydaných publikací	83

1 Přehled o současném stavu problematiky

1.1 Řepka olejka (*Brassica napus* subsp. *napus* L.)

Říše: Rostliny (Plantae)

Oddělení: Rostliny krytosemené (Magnoliophyta)

Třída: Vyšší dvouděložné rostliny (Angiospermae)

Řád: Brukvotvaré (Brassicales)

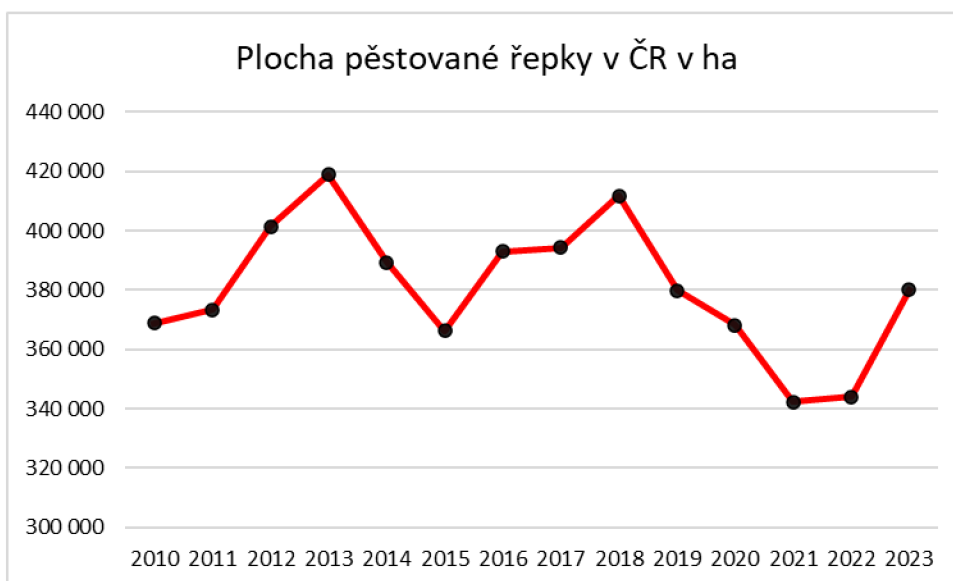
Čeleď: Brukvovité (Brassicaceae)

Rod: Brukev (*Brassica*)

Druh: Brukev řepka (*Brassica napus*)

(EPPO, 2024)

Čeleď Brassicaceae zahrnuje mnoho ekonomicky významných druhů široce používaných jako zdroje oleje a potravy a jako okrasné rostliny (Al-Shehbaz a kol., 2006; Meyer a Purugganan, 2013). Brukev řepka (*Brassica napus*) je jednoletá nebo dvouletá plodina z čeledi brukvovitých. Geneticky je brukev řepka amfidiploid (počet chromozomů $2n = 38$), polovina jejího genomu pochází z brukve zelné (*Brassica oleracea*, $2n = 18$), druhá polovina z brukve řepáku (*Brassica rapa*, $2n = 20$) (Chalhoub a kol., 2014). Pěstuje se ve dvou poddruzích: brukev řepka olejka, neboli řepka olejka (*Brassica napus* subsp. *napus*), pěstovaná pro olejnatá semena a brukev řepka tuřín (*Brassica napus* subsp. *napobrassica*) pěstovaná pro své bulvy (Kaplan a kol., 2019). Řepka olejka je široce pěstována na mnoha místech světa a je jednou z nejvíce pěstovaných olejnin ve světě. Po pšenici ozimé je druhou nejrozšířenější plodinou v České republice, i když její plocha se dle údajů českého statistického úřadu postupně spíše snižuje (Obrázek 1).



Obrázek 1: Plocha pěstované řepky v ČR v ha (Český statistický úřad, 2024).

Každá část řepky – květ, semena, listy, stonek a kořen - se používá v potravinářském průmyslu, ale také pro výrobu bionafty či různých biologicky degradovatelných maziv a hydraulických kapalin (Heale a Karapapa, 1999). Nejdůležitější součástí jsou semena, protože se používají jako zdroje oleje a bílkovin. Obsah řepkového oleje a bílkovin se v různých liniích kultivarů liší a v semenech se nacházejí také další složky, jako jsou glukosinoláty, fenoly, kyselina fytová, celulóza a cukry. Řepka, známá produkcí vysoce kvalitního rostlinného oleje, konkuruje ostatním plodinám (Raboanatahiry a kol., 2021).

Řepka je jako předplodina velmi cenná, bývá využívána jako jediný přerušovač obilných sledů. Pěstování řepky přináší mnoho pozitiv, mezi které patří obohacení půdy snadno rozložitelnou organickou hmotou, tvorba drobtovité půdní struktury, biologická meliorace tvořená mohutným kulovitým kořenem a vynášení živin k povrchu (Bečka a kol., 2007). Řepka je v České republice pěstována téměř výhradně v ozimé formě s vegetační dobou dlouhou 300 – 340 dní (Hůla a Procházková, 2008).

Ačkoliv je řepka v České republice velmi rozšířena, a to ve všech výrobních oblastech, lze charakterizovat, jaké podmínky řepce vyhovují nejlépe: nadmořská výška 400 – 600 m (ale roste v oblastech až do 700 m.n.m.); oblastí s průměrnými ročními teplotami 6,5 – 8,5 °C a s ročním úhrnem srážek 450 – 750 mm; půda lehká až střední, hlinitopísčité až hlinitá. Nejvhodnějšími výrobními oblastmi pro pěstování řepky jsou oblast bramborářská, kde má produkce nejvyšší kvalitu a výnosy, a oblast řepařská. Kukuřičná oblast není pro pěstování řepky vhodná, ale z důvodu rentability se zde i přesto řepka pěstuje (Baranyk a kol., 2010; Bečka a kol., 2007; Hůla a Procházková, 2008).

Celosvětově se produkce řepkového semene, stejně jako u jiných plodin, se často potýká s velkými obtížemi kvůli mnoha faktorům, jako je úbytek pracovních sil a zemědělců v důsledku zvyšujících se nákladů na pracovní sílu a zemědělských vstupů, což má za následek nižší výstupy, slabou zemědělskou mechanizaci a nestabilitu výnosů. Časté zastoupení řepky olejky v osevním postupu a nedostatečné zpracování posklizňových zbytků jen napomáhá rozvoji škodlivých činitelů a podporuje zastoupení houbových patogenů v půdním profilu (Granér a kol., 2003).

1.2 Choroby řepky ozimé

Nejvýznamnějšími původci houbových chorob v řepce olejce jsou *Sclerotinia sclerotiorum*, *Leptosphaeria maculans*, *Leptosphaeria biglobosa* a *Verticillium longisporum* (Zheng a kol., 2020). Dalšími původci chorob v řepce olejce jsou *Pyrenopeziza brassicae*, *Alternaria brassicae*, *Erysiphe cruciferarum*, *Plasmodiophora brassicae*, *Botrytis cinerea*, *Peronospora parasitica* (Odstrčilová

a Plachká, 2007). Dle portálu eagri (2024) jsou aktuálními chorobami v ČR v řepce olejce alternáriová skvrnitost brukvovitých (*Alternaria brassicae*, *A. tenuis*, *A. brassicicola*, *A. raphani*), bílá hniloba řepky (*Sclerotinia sclerotiorum*), fomové černání stonků řepky (*Leptosphaeria maculans*), listová skvrnitost řepky (*Pyrenopeziza brassicae*), nádorovitost kořenů brukvovitých (*Plasmodiophora brassicae*), padání klíčnicích rostlin brukvovitých (*Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria brassicae*, *Thanatephorus cucumeris*), padlí brukvovitých (*Erysiphe cruciferarum*), plíseň brukvovitých (*Hyaloperonospora parasitica*) a šedá plísnovitost brukvovitých (*Botryotinia fuckeliana*).

Diagnostika jednotlivých houbových chorob na ozimé řepce je poněkud obtížná, zvláště v počátcích napadení. Na řepce se také vyskytuje více druhů rodu *Verticillium* (hlavně *V. longisporum* a *V. dahliae*, *V. albo-atrum*), které je možno rozeznat až za pomoci využití laboratorních diagnostických metod (Knüfer, 2011). *Verticillium longisporum* se na ozimé řepce může zaměnit s patogenem *Leptosphaeria maculans*, které vykazují obdobné příznaky na stonku během vegetace (Kuusk a kol., 2002).

Společným symptomem pro velkou škálu chorob je nouzové dozrávání, jehož důsledkem je snížení hmotnosti tisíce semen, což vede ke snížení výnosu a obsahu oleje ve sklizni. Zaplísňená, drobná semena mohou být příčinou zhoršení osivových hodnot semenné sklizně a následně jejího neuznání jako osiva (Kocourek a kol., 2018).

1.2.1 *Leptosphaeria maculans* Cesati & De Notaris

Choroba: fomové černání stonků řepky

Další názvy: fomová hniloba, fomová hniloba brukvovitých, fomové černání krčku řepky olejné, suchá hniloba (eagri, 2024).

Říše: Fungi

Oddělení: Ascomycota

Třída: Dothideomycetes

Řád: Pleosporales

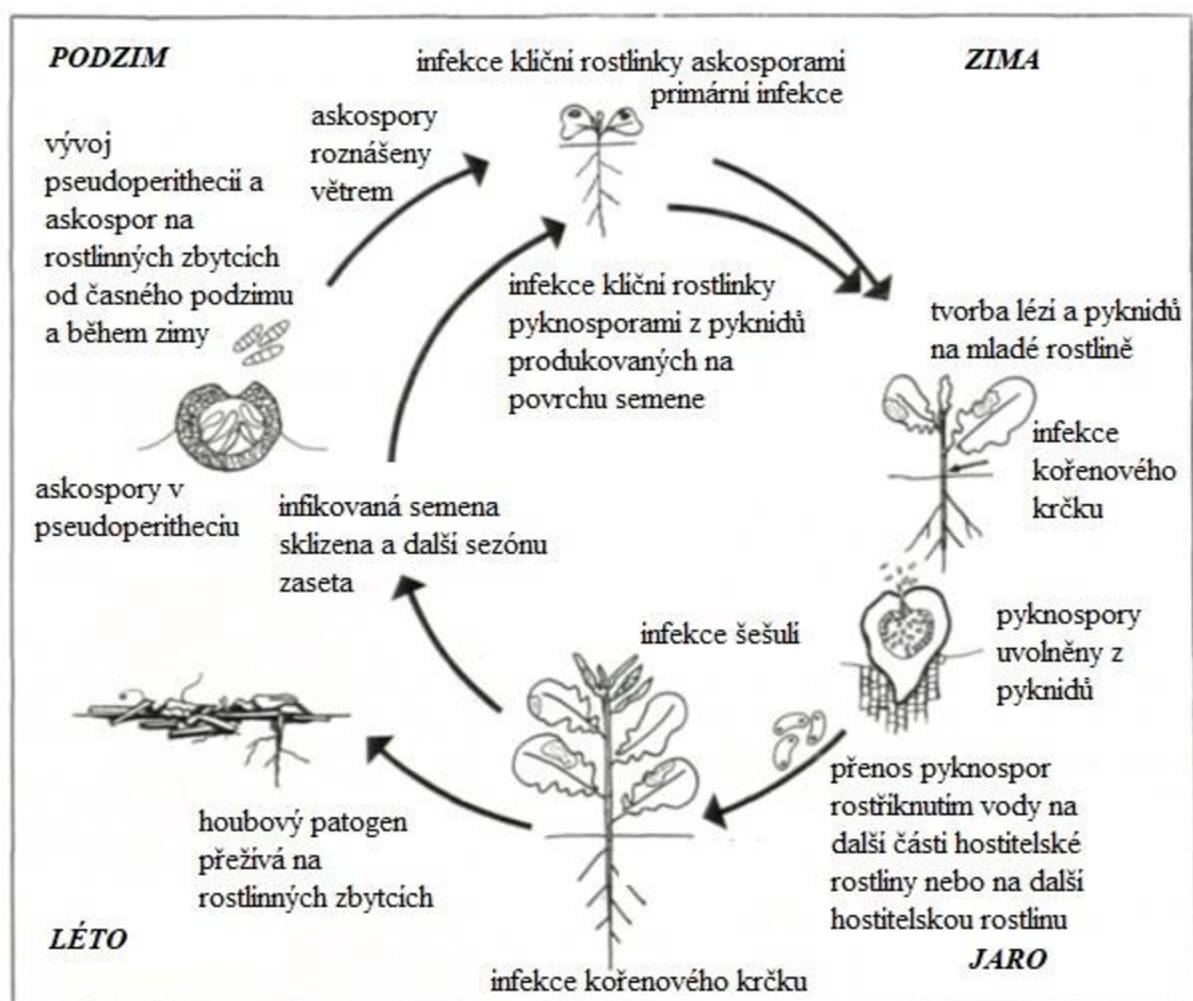
Čeleď: Leptosphaericeae

Rod: *Leptosphaeria*

Druh: *Plenodomus lingam* (Tode) Höhn., 1911; *Phoma lingam* (Tode) Desm., 1849 - *Leptosphaeria maculans* Cesati a De Notaris, 1863 (NCBI, 2020)

Patogen poprvé popsal Tode v roce 1791 na stoncích červeného zelí a pojmenoval ho *Sphaeria lingam*. V roce 1849 Desmazieres našel stejnou houbu na živých rostlinách a přenesl ji do rodu *Phoma* (*P. lingam*). V roce 1956 H. C. Smith poprvé objevil sexuální stadium *P. lingam* a pojmenoval ho *Leptosphaeria napi* (Dilantha a kol., 2007). V roce 1964 H. C. Smith a B. C. Sutton změnili název na *L. maculans*. Následně v roce 2001 byl název *L. biglobosa* přidělen pro slabě virulentní izoláty z *L. maculans* (Shoemaker a Brun, 2001).

Zvyšování výskytu *L. maculans* souvisí se zvětšováním výsevních ploch řepky. Do osmdesátých let minulého století to byl patogen téměř neznámý, v roce 1993 přišla první epidemie, při které bylo napadeno přibližně 15 % rostlin. V letech 1999 a 2002 přišly další dvě epidemie, kdy bylo napadeno okolo 40 % rostlin. Mezi faktory, které přispívají epidemickým výskytům, patří také vyšlechtění dvounulových odrůd řepky, které jsou patogenu méně odolné, ale také růst ploch s minimálním zpracováním půdy (Mazáková a kol., 2017).



Obrázek 2: Vývojový cyklus *L. maculans* (Bokor a kol., 1975).

Fomová hniloba je většinou monocyklická choroba, patogen se zpravidla šíří vzduchem askosporami, ale infekce se může přenášet i infikovanými semeny (Kaczmarek a Jedryczka, 2011), přímým kontaktem s napadeným strništěm či konidii rozstříknutými dešťovými kapkami (Rouxel a Balesdent, 2005). Po sklizni hostitelské rostliny patogen saprofytický přežívá na posklizňových zbytcích i několik let v podobě mycelia a pseudotecii (Ash, 2005; Rouxel a Balesdent, 2005). Toscano-Underwood a kol. (2003) uvádějí, že pseudotecia mohou přežít až 5 let.

Askospory, které jsou v pseudotecii produkovány ve velkém množství (označovány jako primární inokulum), jsou za vhodných podmínek větrem rozšiřovány až na kilometrové vzdálenosti (Rouxel a Balesdent, 2005). Askospory jsou klíčivé více jak 30 dnů a mohou se přemístit až 5 km, nicméně většina je dle pokusů zachycena v okruhu 50 m (Kaczmarek a Jedryczka, 2011). Spory klíčí a pronikají do rostliny dýchacími otvory či ránou. Patogen zabere mezibuněčné prostory mezi palisádovou vrstvou buněk a epidermální vrstvou buněk listu. Tato fáze je biotrofní a bez příznaků, ale po ní následuje fáze nekrotrofní, kdy se houba rozrůstá dále do mezofylu a začíná usmrcovat buňky hostitele (Ash, 2005).

K napadení listů v podmínkách ČR dochází od konce září do počátku listopadu, ale infekce není omezena pouze na tento termín (Mazáková a kol., 2017). Léze na listech se liší podle rezistence hostitelské rostliny vůči *L. maculans* a fáze vývoje skvrn (West a kol., 2001). Na skvrnách se vytvářejí pyknidy, ve kterých jsou postupně produkovány pyknospory, tedy spory vzniklé nepohlavním rozmnožováním (Mazáková a kol., 2017). Rozšiřují se pouze na krátké vzdálenosti pomocí dešťových kapek. Mají na svědomí sekundární infekci rostliny (Ash, 2005).

Příznaky napadení se na rostlině mohou objevovat v jakémkoli vývojovém stádiu (Prokinová, 2014). Patogen může napadnout kteroukoli část rostliny (Bokor a kol., 1975). Od podzimu do jara se na listech objevují béžové, šedozelené až popelové šedé skvrny, ve kterých se postupem času na okraji nebo roztroušené po celé ploše objevují tmavé tečky – pyknidy patogenu (Ash, 2005; Prokinová, 2014; Mazáková a kol., 2017). Léze se dále rozšiřují listovou žilnatinou k bázi čepele listu a při silných napadeních se mohou léze rozšířit až na stonek (Ash, 2005). Infekce se může dostat i do lusků, kde vede ke kontaminaci semen pyknidiosporami (Maňák, 2017).

Na jaře a před sklizní se příznaky napadení začínají objevovat na stonku, kde se vytvářejí šedobéžové nekrotické skvrny, na kterých se později také objevují pyknidy (Mazáková a kol., 2017). Napadení kořenového krčku se většinou také objevuje na jaře, ale není vyloučeno ani napadení během podzimu (Prokinová, 2014). Při napadení tímto patogenem dochází

k největšímu poškození pletiva uvnitř báze stonku a kořenového krčku, které trouchniví a rozpadá se (Mazáková a kol., 2017).

1.2.2 *Sclerotinia sclerotiorum* Lib.

Choroba: bílá hniloba řepky

Další názvy: hlízenka obecná, sklerotiniová hniloba, sklerotinia (eagri, 2024).

Říše: Fungi

Oddělení: Ascomycota

Třída: Leotiomycetes

Řád: Helotiales

Čeleď: Sclerotiniaceae

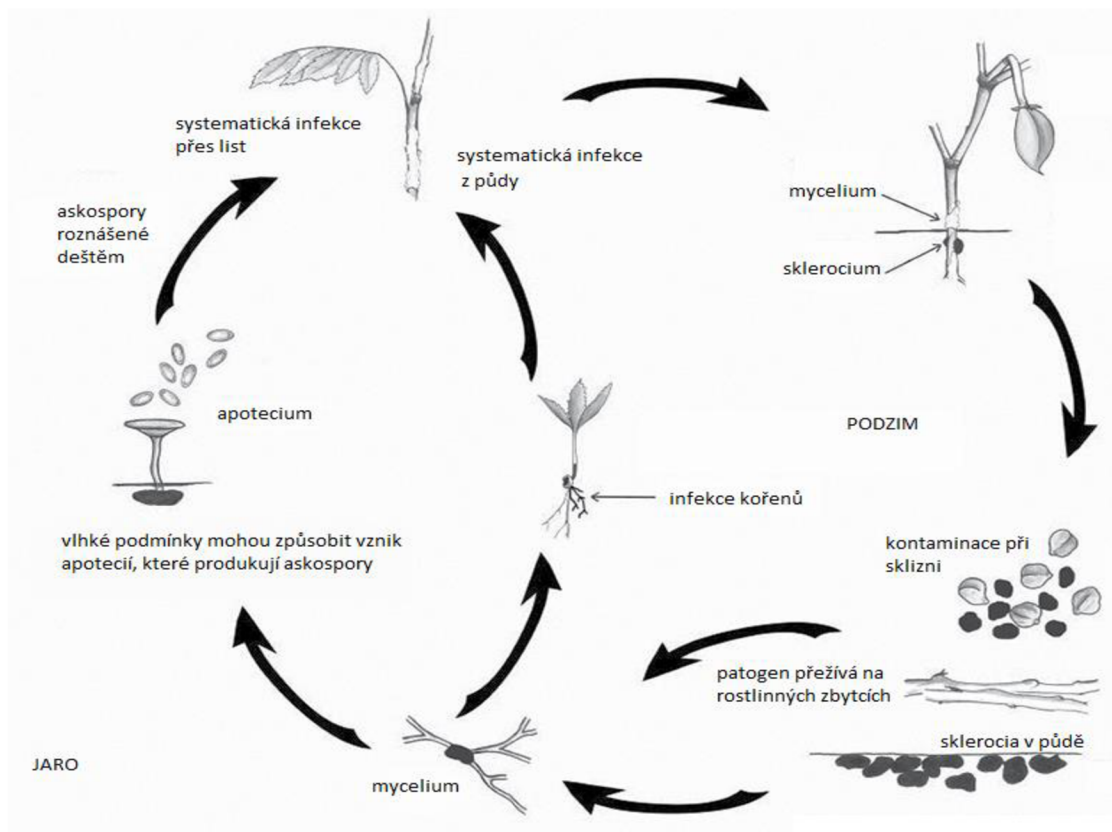
Rod: *Sclerotinia*

Druh: *Sclerotinia sclerotiorum* Lib., 1837

(NCBI, 2020)

Sclerotinia sclerotiorum patří mezi celosvětově nejvirulentnější a nejrozšířenější patogeny rostlin. Patogen je široce rozšířen v mírných, tropických i suchých oblastech (Lehner a kol., 2017). Jedna z prvních studií (Boland a Hall, 1994) identifikovala 408 rostlinných druhů v 75 rodinách, které jsou hostiteli *S. sclerotiorum*. Jako rostlinný patogen je *S. sclerotiorum* vysoce destruktivní a jeho infekce často vede k významnému poškození plodin a ztrátě výnosu. V příznivém prostředí ztráty na výnosu často dosahují Na skvrnách se vytvářejí pyknidy, ve kterých jsou postupně produkovány pyknospory, tedy spory vzniklé nepohlavním rozmnožováním 20–35 % a na různých místech, zejména v mírném podnebí, byly dokumentovány případy přesahující 50 % dosahující i 80–100 % (Alkooranee a kol., 2017).

Zdrojem nákazy jsou sklerocia ve vrchní vrstvě půdy, která se dostala do půdy při sklizni nebo z planých hostitelských rostlin či při setí jako příměs v osivu (eagri, 2024). Sklerocia jsou odolná vůči chemickým a fyzikálně nepříznivým podmínkám, stejně jako vůči biologické degradaci (Merriman 1976; Wu a kol. 2008). Cook a kol. (1975) prokázali, že 78 % sklerocií přežije alespoň tři roky, ale sklerocia mohou přežít až 4–5 let (Adams a Ayers, 1979) a mnoho studií ukazuje vliv hloubky v půdě, vlhkosti a teploty na přežití sklerocií *S. sclerotiorum* (Matheron a Porchas 2005; Wu a kol., 2008).



Obrázek 3: Vývojový cyklus *S. sclerotiorum* (Fowler, 2020).

Primárním zdrojem infekce u řepky jsou askospory produkované v jarních měsících plodnicemi houby vyrostlými ze sklerocií v zemi. Kromě tohoto způsobu šíření dochází v půdě za určitých podmínek šíření infekčních hyf půdou ke kořenům rostlin. Toto šíření je dlouho skryté a na rostlinách se projeví až později v období dozrávání (Cowan a kol., 2010). Na sklerociích se mohou tvořit také plodnice (apotecia) a v nich ve vřecích askospory, které způsobují sekundární infekci (Kohn, 1979). Askospory uvolněné z apotecií se mohou šířit vzdušnými proudy na vzdálenost několika kilometrů (Sedun a Brown, 1987). Infekce *S. sclerotiorum* a vývoj mycelia je maximalizován v přítomnosti volné vody na povrchu rostliny. Askospory mohou klíčit na povrchu zdravého pletiva, ale nemohou infikovat rostliny bez exogenního zdroje živin (Bolton a kol., 2006). Nejčastějším místem napadení je větvení stonku, kde zachycené květní plátky s kapkou vody vytváří ideální mikroklima pro růst patogenu (eagri, 2024).

Příznaky se začínají projevovat v období pozdního kvetení a odkvétání. Prvními příznaky jsou na stonku se objevující dlouhé a vodnaté léze, které rychle šednou, a pokožka rostliny se začíná loupát. Na místě napadení se ve stonku vytváří bílé vatovité mycelium, ve kterém se tvoří malá tvrdá tělíska zvaná sklerocia. Stonky se při silnějším napadení lámou. Šešule při napadení žloutnou a zasychají, uvnitř se také může tvořit mycelium a sklerocia (Kocourek a kol., 2018). Je vhodné

preventivní využití chemické ochrany během kvetení, přičemž je ošetření nejúčinnější, pokud je aplikace prováděna začátkem kvetení (Prokinová, 2014).

1.2.3 *Botrytis cinerea* Pers.

Choroba: šedá plísnovitost brukvovitých

Další názvy: plíseň šedá, botrytida (eagri, 2024).

Říše: Fungi

Oddělení: Ascomycota

Třída: Leotiomycetes

Řád: Helotiales

Čeleď: Sclerotiniaceae

Rod: *Botrytis*

Druh: *Botrytis cinerea* Pers., 1801; *Botryotinia fuckeliana*
(NCBI, 2020)

B. cinerea je asexuální forma (anamorfa) nekrotrofní houby, jejíž sexuální forma (teleomorfa) se jmenuje *Botryotinia fuckeliana* (González-Domínguez a kol., 2015). *Botrytis cinerea* má široké spektrum hostitelů, více než 1400 rostlinných druhů (Hua a kol, 2018) a postihuje širokou škálu orgánů, včetně květů, plodů, stonků a listů (Elad, 1996). Navíc bylo hlášeno, že infikuje plodiny pěstované na poli i ve skleníku před sklizní (Williamson a kol., 2007) a během skladování po sklizni (Wang a kol., 2018).

Cyklus onemocnění, počínaje konidiami, které se vytvořily během předchozí zimy, vzduchem se dostávají na povrch hostitele během jara (Shaw a kol, 2016; Elmer a Michailides, 2007) a přichycují se tam prostřednictvím fyzických povrchových interakcí (Van Kan, 2005). Klíčení konidií je závislé na několika faktorech, z nichž nejdůležitější je vysoká vlhkost (>93 %) (Williamson a kol., 1995) a dostupnost živin (Shaw a kol, 2016; Harper a kol., 1981). Po vyklíčení konidií může patogen využít předchozí rány a průduchy k penetraci nebo může přímo napadat zdravá pletiva (Van Kan, 2005). Na této úrovni invaze indukuje programovanou buněčnou smrt, typickou obrannou reakci proti patogenům (Wojtaszek, 1997). Infekce se pak šíří do okolních buněk degradací buněčné stěny s využitím živin, které jsou výsledkem tohoto procesu. Nakonec expanze pokračuje, dokud se obrana rostlin nezhroutí a patogen zažívá energický růst, oblast napadení se rozšiřuje (Chen a kol., 2018) a to vede k maceraci rostlin, následně sporulaci patogenu a produkci nových konidií (Van Kan, 2005).

Příznakem jsou šedé, přibližně okrouhlé skvrny, které se rychle zvětšují, zbarvují se pískově, dochází k odumírání listů. Na napadených stoncích se ve spodní části rostliny tvoří podlouhlé hnědavé, popř. šedohnědé skvrny. Šedohnědé skvrny se objevují i na šešulích. Následkem napadení jsou nedostatečně vyžralá semena. Při vyšší vlhkosti pokrývá napadené pletivo vzdušný sytý šedý povlak mycelia houby. Při extrémně silném napadení se mohou rostliny i lámat. Napadení květů se projevuje hnilobou (Kocourek a kol., 2018).

1.3 *Verticillium longisporum* (C. Stark) Karapapa et al.

Choroba: verticilliová pruhovitost, v ČR stále uváděno jako verticilliové vadnutí (eagri, 2024).

Říše: Fungi

Oddělení: Ascomycota

Třída: Sordariomycetes

Podtřída: Hypocreomycetidae

Řád: Glomerellales

Čeleď: Plectosphaerellaceae

Rod: *Verticillium*

Druh: *Verticillium longisporum* (C. Stark) Karappa a kol. 1997; *Verticillium dahliae* var. *longisporum* C. Stark 1961

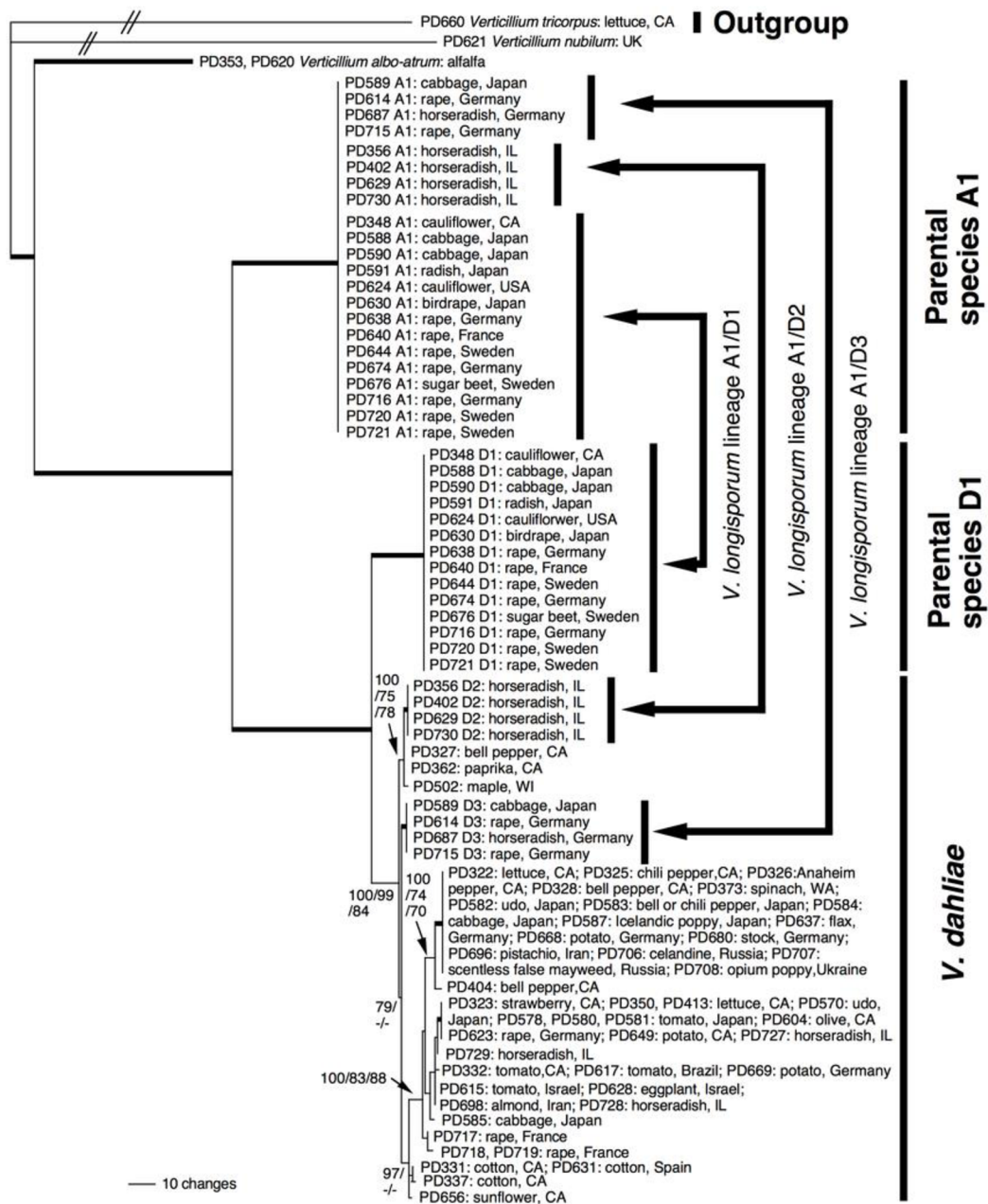
(NCBI, 2020)

Poslední roky se do podvědomí dostává patogen, jemuž dřív nebyl připisován velký význam, a to *Verticillium longisporum*, které je označován za jednoho z původců verticilliového vadnutí (eagri, 2024). Ačkoliv se v ČR stále nazývá verticilliové vadnutí, neprojevuje se vadnutím a usycháním jako u jiných vaskulárních patogenů (Gladders, 2009), ale spíše vyvolává předčasné dozrávání (Hornig, 1987; Knüfer, 2011), způsobuje tzv. pruhování stonku (Zheng, 2019), v nejnovějších publikacích už je používán název Verticilliový pruh (Wang a kol., 2023). Půdní patogen *V. longisporum* může způsobit masivní ztráty na výnosech řepky (Karapapa a kol. 1997). Ztráty na výnosu spojené s *V. longisporum* byly mezi 10 až 50 % u řepky olejky ve Švédsku (Rimmer a kol., 2007). Dunker a kol. (2008) uvádí, že patogen může v porostech řepky způsobovat ztráty až do 50 %. Zheng a kol. (2020) zkoumali choroby a škůdce řepky olejky a *V. longisporum* bylo vyhodnoceno jako jeden z 16 nejzávažnějších patogenů řepky olejky na celém světě.

Zástupci hub rodu *Verticillium* mají široký hostitelský okruh (slunečnice, brambory, bavlník, olivovník, rajče, salát, vodní meloun). *Verticillium longisporum* (ex. *Verticillium dahliae* var. *longisporum* Stark) bylo poprvé identifikováno z křenu (Stark, 1961). *V. longisporum* představuje

odlišný druh ve srovnání s *V. dahliae* (Stark, 1961; Karapapa a kol., 1997) a rozlišení taxonomické skupiny bylo potvrzeno molekulární analýzou (Steventon a kol., 2002). Diagnostika jednotlivých druhů je poměrně složitá, některé linie *V. longisporum* se mohou morfologicky lišit a podobat se *V. dahliae* (Depotter a kol. 2016). Proto je vhodné mikroskopickou diagnostiku při identifikaci patogenu doplnit ještě některou molekulárně-biologickou metodou (Mazáková a kol., 2017).

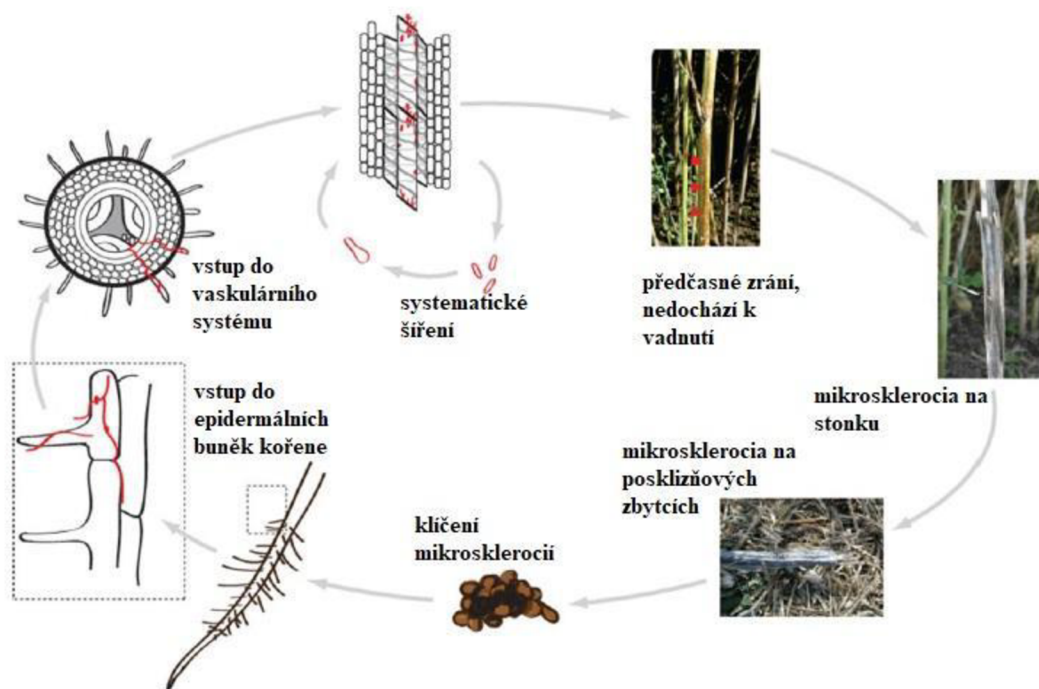
Bylo potvrzeno, že patogen *V. longisporum* je amfidiploidní hybridní houba tvořící tři různé linie (Obrázek 4) – A1/D1, A1/D2, A1/D3, mezi nimi je A1/D1 nejvirulentnější linií na řepce olejce (Depotter a kol., 2016). Všechny hybridy mají společný rodičovský druh A1 – druhý rodičovský druh je u každé linie rozdílný. U linií D2 a D3 jsou druhým rodičovským druhem jednotlivé linie *V. dahliae*, zatímco A1 a D1 jsou linie zatím nepopsaných druhů rodu *Verticillium*. Je velmi pravděpodobné, že *V. longisporum* vzniklo teprve nedávno (Inderbitzin a kol., 2011).



Obrázek 4: Evoluční původ *V. longisporum* (Inderbitzin a kol., 2011).

1.3.1 Vývojový cyklus *V. longisporum*

Pro *Verticillium longisporum* a další druhy rodu *Verticillium* je charakteristická změna životní strategie během jejich životního cyklu (Obrázek 5). V závislosti na podmínkách prostředí se *V. longisporum* může vyskytovat ve fázi dormantní, parazitické nebo saprofytické (Eynck, 2008). V dormantní fázi produkuje houba klidové struktury, mikrosklerotia, což jsou melanizované shluky zvětšených hyf. Mikrosklerotia mohou v půdě přežít déle než deset let a mohou způsobit její dlouhotrvající kontaminaci (Heale a Karapapa, 1999).



Obrázek 5: Životní cyklus *V. longisporum* (Knüfer, 2011).

Mikrosklerocia začínají klíčit v reakci na exsudáty rostliny (Schnathorst, 1981), mohou být stimulovány nejen hostitelskými, ale také nehostitelskými kořenovými exsudáty (Schnathorst, 1981; Mol a Riessen, 1995). Exsudáty uvolněné kořenovými buňkami difundují do rhizosféry, což má za následek gradient exsudátu (Olsson a Nordbring-Hertz, 1985). Tento gradient indukuje pohyb hyf směrem ke kořeni a parazitická fáze houby je inicializována přímou penetrací kořenových buněk (Zhou a kol., 2006; Eynck a kol., 2007). Ve vaskulárním systému probíhá systematický růst v rámci centrálního válce a v cévních svazcích stonku, kde rostliny ochuzuje o asimiláty, aminokyseliny a minerály (Floerl a kol., 2008). Během této fáze je vytvořena nová generace konidií. V okamžiku, kdy v cévních svazcích již není dostatek živin, tak je opouští a vstupuje do parenchymatických buněk. Tato migrace započiná saprofytickou fází životního cyklu houby a vede k tvorbě mikrosklerocií v primární kůře pod epidermis (Knüfer, 2011).

1.3.2 Příznaky napadení patogenem *V. longisporum*

Mezi brzké symptomy, které jsou jasně pozorovatelné ve skleníku na inokulovaných rostlinách patří částečné žloutnutí (Obrázek 6) a následná nekrotizace listů (Knüfer, 2011).



Obrázek 6: Žloutnutí listů řepky olejky po inokulaci *V. longisporum* (Zusková, nepublikováno).

Na poli se nejvýznamnější příznaky objevují až v pozdní fázi vývoje hostitele, což komplikuje diagnostiku choroby v polních podmínkách (Dunker a kol., 2008). V důsledku napadení xylému hostitele patogenem lze na infikované rostlině pozorovat zprvu žlutý a později tmavnoucí podélný pruh pletiva táhnoucí se v různé šířce po jedné straně stonku od jeho báze až případně do jeho postranních větví. Podélná léze je postupem času výraznější díky šíření patogenu z xylému do primární kůry, v té se dále tvoří mikrosklerocia (Obrázek 7). Následně pokožka praská (Obrázek 8) a jde ji ze stonku lehce oškrábat, čímž se mikrosklerocia odhalují (Johansson, 2006; Depotter a kol., 2016). Mikrosklerocia se formují také na kořenech, kde se napadené pletivo zbarvuje do šeda (Gladders, 2009).



Obrázek 7: Mikrosklerocia *V. longisporum* na stonku řepky olejky (Zusková, nepublikováno).



Obrázek 8: Mikrosklerocia *V. longisporum* na stonku řepky olejky (Zusková, nepublikováno).

1.3.3 Ochrana proti *V. longisporum*

Ochrana je poměrně obtížná, vzhledem k dlouhé perzistenci patogenu v půdě a také širokému spektru hostitelů, převážně rostlin z čeledi *Brassicaceae* (Depotter a kol., 2016). Jakmile se patogen rozšíří v cévních svazcích rostliny, jakákoliv ochrana je neúčinná, proto je cílem co nejvíce snížit obsah primárního inokula v půdě. Protože patogen kolonizuje xylém napadené rostliny, chemické fungicidy při ochraně proti rodu *Verticillium* selhávají (Eynck a kol., 2007; Zhou a kol., 2006). Pro dosažení adekvátní ochrany by bylo možné použít kombinaci více způsobů ochranných zásahů (Depotter a kol., 2016).

V roce 2019 byly dle eagri.cz v ČR dostupné dva přípravky na ochranu rostlin registrované proti *V. longisporum*: Vitavax (mořidlo) a Symetra (postřik do květu). Dnes (únor 2024) dle webu eagri.cz je *V. longisporum* součástí skupiny patogenů, které způsobují verticilliové vadnutí a registrace proti samotnému *V. longisporum* není v současné chvíli v databázi evidována. Proti verticilliovému vadnutí jsou nyní registrovány přípravky Lalstop Contans WG (*Coniothyrium minitans* kmen CON/M/91-08 (DSM 9660)), Ocet a Polyversum (*Pythium oligandrum* M1). Přípravky Contans a Polyversum byly registrovány přímo proti patogenu *V. longisporum* a jsou součástí předložených pokusů, kdy dané pokusy sloužily i jako podklady pro registraci přípravku Contans.

U několika druhů bakterií (např. *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp.) a hub (např. *Pythium oligandrum*, *Clonostachys* spp., *Trichoderma* spp.) je pozorován antagonistický efekt vůči *V. longisporum*, který má za následek výraznou redukci patogenu v půdě (Li a kol., 2007; Mercado – Blanco a kol., 2004; Hanson, 2000). Další možnost ochrany proti *Verticillium longisporum* v řepce je kromě mikroorganismů využití nepatogenní linie A1/D2 *V. longisporum*, která vykazuje schopnost potlačit patogenní linii A1/D1 (Vega-Marin a Tiedemann 2022).

1.4 Fungicidní ochrana řepky ozimé

Choroby významně ovlivňují kvalitativní i kvantitativní parametry řepky. Regulaci chorob lze provádět nepřímými zásahy a přímými zásahy, které jsou nedílnou součástí zásad integrované ochrany rostlin (Kocourek a kol., 2018). Integrovaná ochrana je definována v legislativě vyhláškou č. 205/2012 Sb o obecných zásadách integrované ochrany rostlin podle § 88 odst. 1 písm. e) zákona č. 326/2004 Sb. o rostlinolékařské péči.

Nepřímé metody mají spíše preventivní charakter a jejich cílem je zamezit škodlivému výskytu vytvářením nepříznivých životních podmínek pro původce chorob a škůdce. Mezi metody nepřímé patří metody agrotechnické a šlechtitelské (Kazda a Škeřík., 2008): odstup v osevním sledu (3 a více let dle patogenu), odolnost odrůdy, zdravotní stav osiva (certifikace), termín setí (rostliny z časnějších termínů setí jsou vystaveny možné infekci delší dobu v podmínkách příznivějších pro vývoj patogenu), výživa, hustota porostu, odstraňování posklizňových zbytků (Kocourek a kol., 2018). Dlouhodobě může mít vliv na zdravotní stav porostů i šlechtění (Horáček a kol., 2017).

K přímým zásahům patří cílené fungicidní ošetření. K dispozici jsou přípravky na bázi jak chemických látek, tak na bázi mikroorganismů. Termín ošetření je dán vývojovým cyklem patogenu a dobou infekce na rostlinách. Fungicidní zásah je zpravidla směřován do 4 termínů vývoje řepky: ošetření osiva, ve vývojové fázi 3 až 8 listů, od počátku prodlužovacího růstu do butonizace a v květu řepky. Tyto přímé zásahy se provádějí na základě signalizace ošetření, která vychází ze zaznamenání optimálních podmínek pro vývoj patogenu a infekci plodiny, stanovení přítomnosti spor patogenu v ovzduší/na rostlině v kritické vývojové fázi řepky (Kocourek a kol., 2018). Monitoring a signalizaci některých chorob realizuje Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský a publikuje výsledky na stránkách eagri.cz (únor, 2024).

1.5 Biologická ochrana

V České republice, stejně jako ve všech zemích Evropské unie, existují strategie Farm to Fork a Biodiversity, které zavazují EU dosáhnout 25% podílu ekologického zemědělství do roku 2030. Podle Market and MarketsTM (platforma pro výzkum trhu, publikováno 2022) se očekává, že trh s biopesticidy vzroste do roku 2028 na 13,9 miliardy USD.

Použití přípravků obsahujících mikroorganismy spadá pod evropskou legislativu nařízení (ES) č. 546/2011 část II., kde je definováno, co všechno je považováno za mikrobiální přípravek na ochranu rostlin: „může obsahovat životaschopné a života neschopné mikroorganismy (včetně virů) a formulační přísady. Může obsahovat rovněž relevantní metabolity/toxiny produkované během růstu, rezidua ze živného media a mikrobiální kontaminující látky.“ Dále je popsáno, co všechno musí být prozkoumáno a popsáno pro povolení biologického přípravku: „vliv možný metabolitů/toxinů na způsob účinku, možná antibiόza, indukce rezistence rostlin, interference s virulencí patogenního cílového organismu, endofytický růst, kolonizace kořenů, konkurence ekologické niky (například živiny, přirozené prostředí), parazitismus, patogenita bezobratlých.“

Biologická ochrana je charakterizována aplikací a podporou organismů, které jsou antagonistické škodlivým organismům (Heimpel a Mills, 2017). Cílem biologické ochrany je

potlačení růstu, infekce či rozmnožování jednoho organismu organismem jiným (Heydari a Pessarakli, 2010). Biologické produkty (či přípravky) obsahují organismy, které se běžně vyskytují v půdě. Půdní organismy nejsou prospěšné jen tím, že snižují množství škodlivých činitelů, ale také zvyšují půdní aktivitu a množství živin využitelných pro rostliny (Granér a kol., 2003). Na podpoře přirozené biodiverzity v půdě a antagonistických vztazích jednotlivých organismů jsou založeny nové metody ochrany rostlin.

Biologická ochrana je tedy výsledkem spousty typů interakcí mezi mikroorganismy, ve všech případech jsou patogeny antagonizovány přítomností a aktivitou jiných mikroorganismů (Audenaert a kol. 2002; Meziane a kol., 2005). Prostředky biologické kontroly (Microbial biological control agents – MBCAs) chrání plodiny před poškozením způsobeným chorobami prostřednictvím různých způsobů působení (Mode of Action). Mohou vyvolat rezistenci nebo aktivovat zvýšenou odolnost proti infekcím způsobeným patogenem v rostlinných pletivech bez přímé antagonistické interakce s patogenem (Pieterse a kol., 2014; Conrath a kol., 2015). Další nepřímou interakcí s patogeny je konkurence o živiny a prostor (Spadaro a Droby, 2016). MBCAs mohou také interagovat přímo s patogenem hyperparazitismem nebo antibiózou. Hyperparaziti napadají a zabíjejí mycelium a spory houbových patogenů a buňky bakteriálních patogenů (Ghorbanpour a kol., 2018). Produkce antimikrobiálních sekundárních metabolitů s inhibičními účinky proti patogenům je dalším přímým mechanismem účinku (Raaijmakers a Mazzola, 2012).

1.5.1 Mechanismy biologické ochrany

Interakce prostřednictvím rostlinného metabolismu: ISR a SAR

Rostliny se proti patogenům brání širokou škálou fyzikálních a chemických mechanismů. Konstitutivní mechanismy, jako jsou kutikuly, jsou doplněny mechanismy indukované rezistence. Indukované obranné mechanismy rostlin jsou spouštěny stimuly rozpoznávanými specifickými rozpoznávacími receptory. Rezistence může být vyvolána lokálně v napadeném pletivu nebo se šířit prostřednictvím signalizace přes rostlinu nebo dokonce do sousedních rostlin, což vede k systémové získané rezistenci (SAR - systemic acquired resistance). Tento typ indukované rezistence je přímou reakcí na podnět nekrotizujících patogenů. Dalším typem je indukovaná rezistence (ISR - induced systemic resistance), kde je zvýšená obranná kapacita celé rostliny vůči více patogenům je indukována prospěšnými mikroby (Conrath a kol., 2015). Oba typy rezistence se v nepřítomnosti stimulu opět snižují. Obranné mechanismy založené na změně rostlinného metabolismu zahrnují produkci reaktivních forem kyslíku, fytoalexinů, fenolických sloučenin nebo proteinů souvisejících s patogenezi nebo tvorbu fyzických bariér, jako jsou modifikace buněčných stěn a kutikuly (Wiesel a kol., 2014).

Účinek bioagens závisí jak na aktivní kolonizaci povrchu rostlin danými MBCAs, tak na fyziologii rostliny, která potřebuje potenciál vyvinout dostatečně vysokou úroveň rezistence. MBCA vyvolává obranné reakce rostliny prostřednictvím široké škály signálních sloučenin, které jsou nízkomolekulárními sloučeninami, v některých případech produkty rozkladu buněčných stěn. Běžně je produkovány mikroorganismy ve velmi nízkých milimolárních až subnanomolárních koncentracích pro chemickou komunikaci mezi mikroorganismy a rostlinami. Tyto procesy jsou všudypřítomné v životním prostředí a běžné všude tam, kde různé mikroorganismy koexistují s rostlinami (Köhl a kol., 2019). Bakterie rodu *Bacillus* mohou v rostlinách spustit indukovanou rezistenci, která může rostlinám pomoci vůči stresovým faktorům (Arguelles – Arias a kol., 2009).

Konkurence

Klíčení a růst rostlinných patogenů závisí na příjmu živin. Obligátní biotrofní patogeny využívají výhradně živiny z infikovaných živých hostitelských buněk a nejsou závislé na žádných exogenních zdrojích živin v prostředí mimo hostitelskou rostlinu (Agrios, 2005). Většina rostlinných patogenů využívá zdroje živin mnohem méně specifickým způsobem, a to degradací odumřelé organické rostlinné hmoty. Jakmile je patogenem vyvolána nekróza, nepatogenní mikroorganismy se saprofytickým životním stylem mohou potenciálně také kolonizovat nekrotická pletiva, což vede ke konkurenci o živiny a prostor. Principiální konkurenční výhodou nekrotrofních patogenů je to, že jsou prvními kolonizátory bezprostředně poté, co podnítily buněčnou smrt. Potenciální konkurenční MBCAs musí být schopny obsadit takové niky, přežít a rychle spotřebovat zdroje živin nezbytné pro infekci patogeny, jako jsou cukry, pyl a rostlinné exsudáty na površích rostlin a v rostlinných zbytcích, aby patogeny nebyly schopny infikovat hostitele (Köhl a kol., 2019).

Mnoho mikroorganismů může produkovat různé nízkomolekulární siderofory (látky vážící a přenášející železo) s vysokou afinitou k trojmocnému železu (van Loon, 2000). Mikrobiální kmeny mohou být vybrány pro biologickou kontrolu prostřednictvím konkurence železa s patogeny, které produkují menší množství sideroforů s nižší afinitou k železu (van Loon, 2000; Lugtenberg a Kamilová, 2009). Tento mechanismus byl zkoumán zejména u izolátů *Pseudomonas* spp. a bylo prokázáno, že konkurence železa zprostředkovaná sideroforem vede ke snížení populace patogenů v rhizosféře (Raaijmakers a kol., 1995). Konkurence železa je také mechanismem účinku několika antagonistů hub, např. *Trichoderma asperellum* produkuje siderofory vážající železo, a tak omezuje fusariové vadnutí (Segarra a kol., 2010), *T. harzianum* je nutričním konkurentem v půdě (Harman, 2000). Hyfy půdních hub rodu *Clonostachys* konkurují patogenům omezením životního prostoru a snížením dostupného množství živin (Rodríguez a kol., 2011). Bakterie rodu *Pseudomonas*

produkují velké množství látek, jež podporují růst rostlin, jsou velmi kompetitivní vůči jiným organismům a na bakterie se velmi dobře přizpůsobují podmínkám prostředí (Weller, 2007).

Antagonisté produkují enzymy pro degradaci komplexní organické hmoty, jednoduchých sacharidů nebo aminokyselin nebo produkují siderofory v případě konkurence o železo. Tyto principiální procesy jsou základem pro všudypřítomné saprofytické aktivity mikroorganismů při využití a rozkladu organické hmoty rostlin nebo mikroorganismů, což jsou základní procesy pro udržení koloběhu živin a růstu rostlin v ekosystémech. Na rozdíl od rostlinných patogenů nemohou saprofytické houby hojně kolonizovat celé rostliny nebo plody ani způsobit kažení (Köhl a kol., 2019).

Hyperparazitismus

Parazitismus je přímá konkurenční interakce mezi dvěma organismy, ve které jeden organismus získává živiny od druhého. Pokud je hostitelem také parazit, např. rostlinný patogen, je interakce definována jako hyperparazitismus. Tento druh interakce je často pozorován mezi houbami. U bakterií byl hyperparazitismus hlášen jen zřídka (Köhl a kol., 2019).

Nejvíce studovanými mykoparazity jsou rody *Trichoderma* a *Clonostachys*, které zabíjejí své hostitele pomocí produktů degradované buněčné stěny, často v kombinaci s antimikrobiálními sekundárními metabolity (Harman a kol., 2004; Harman, 2006; Mukherjee a kol., 2012; Karlsson a kol., 2017; Nygren a kol., 2018).

Patogeny mohou vyvinout klidové struktury, jako jsou endospory, chlamydospory a sklerocia s vysokou odolností proti hyperparazitismu přirozeně se vyskytujícími antagonistickými mikroorganismy (Bardin a kol., 2015). Patogeny mohou také potlačit syntézu enzymů potřebných antagonistou pro hyperparazitické interakce. Antagonisté s hyperparazitismem mají úzký rozsah hostitelů a jejich aktivita závisí na podmínkách prostředí, protože jejich antagonistická aktivita závisí na aktivním růstu (Köhl a kol., 2019).

Hyfy *Pythium oligandrum* pronikají aktivně do buněk patogenních hub a čerpají z nich živiny (Brožová, 2002). Systém interakce patogenní houby a *P. oligandrum* není založen na jednom určitém procesu. Z výzkumů vyplývá, že dochází k různým reakcím mezi *P. oligandrum* a jednotlivými patogenními druhy (Benhamou a kol., 1999), také se reakce mohou lišit v závislosti na podmínkách prostředí (Bradshaw-Smith a kol., 1991).

Antibióza prostřednictvím antimikrobiálních metabolitů

Antimikrobiální metabolity jsou sekundární metabolity patřící do heterogenních skupin organických sloučenin s nízkou molekulovou hmotností produkovaných mikroorganismy, které

jsou škodlivé pro růst nebo metabolické aktivity jiných mikroorganismů (Thomashow a kol., 1997). Jsou produkovány a uvolňovány do životního prostředí v malých množstvích mnoha mikroorganismy. Většina antibiotik produkovaných in situ v prostředí je stále neznámá (Köhl a kol., 2019).

Antimikrobiální metabolity jsou často považovány za nejúčinnější způsob působení mikroorganismů proti konkurentům, což umožňuje mikroorganismům produkujícím antibiotika konkurenční výhody v prostředí s omezenými zdroji (Raaijmakers a Mazzola, 2012). Produkce antimikrobiálních metabolitů, většinou se širokospektrální aktivitou, byla hlášena u biokontrolních bakterií patřících k rodům *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* a mnoha dalším. U rodu *Bacillus* byly zkoumány zejména lipopeptidy jako iturin, surfactin a fengycin (Ongena a Jacques, 2008), u rodu *Pseudomonas* bylo studováno mnoho metabolitů antibiotik - pyrrolnitrin a fenazin (Raaijmakers a Mazzola, 2012). Rod *Bacillus* vykazuje silnou antibiotickou aktivitu proti patogenům (*Botrytis cinerea*, *Alternaria brassicicola* atd.), která je však velmi závislá na vnějších podmínkách, např. pH (Pal Bais a kol., 2004). Také houboví antagonisté mohou produkovat antimikrobiální sloučeniny. U rodu *Trichoderma* a blízkého příbuzného rodu *Clonostachys* byly zkoumány 6-PAP, gliovirin, gliotoxin, viridin a mnoho dalších sloučenin s antimikrobiální aktivitou (Ghorbanpour a kol., 2018; Innocenti a kol., 2003).

1.5.2 Praktické použití MCBAů využitých v předložených pokusech

Trichoderma spp.

V roce 2018 Ghazanfar a kol. sestavili přehled, kde prezentovali dosavadní studie s použitím rodu *Trichoderma* i se zaznamenanou účinností proti jednotlivým patogenům. Mezi nejčastější organismy, proti kterým druhy rodu *Trichoderma* jsou testovány a vykazují účinnost patří: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp.*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*.

Ve skleníkových podmínkách bylo dosaženo jistého stupně účinnosti v potlačení patogenů pomocí rodu *Trichoderma* například: u rajčat a fazolí proti *R. solani* (Montealegre a kol., 2010; Júnior a kol., 2007), u okurek proti *F. oxysporum*, *B. cinerea*, *Pseuoperonospora cubensis*, *S. sclerotiorum* (Alizadeh a kol., 2013), u rajčat a čočky proti *F. oxysporum* (Alwathnani a Perveen, 2012; El-Hassan a kol., 2013), v cibuli proti *Alternaria porri* (Abo-Elyousr a kol., 2014).

V polních podmínkách bylo dosaženo jisté účinnosti při použití druhů rodu *Trichoderma* proti: *F. solani*, *Aspergillus flavus*, *S. minor* a *Thecaphora frezzi* u podzemnice olejné (Rojo a kol., 2007; Illa a kol., 2020) *Plasmopara viticola* v révě (Banani a kol., 2013), *P. halstedii* ve slunečnici (Özer a kol., 2023), *S. cepivorum* v cibuli (Rivera-Méndez a kol., 2020).

V České republice je či bylo dle serveru eagri (2024) 8 registrací přípravků s druhem rodu *Trichoderma*. Dosud platné registrace jsou: *Trichoderma harzianum* kmen T-22 (Trianium -P) v zelenině a ovoci proti *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Pythium spp.*; *Trichoderma atroviride* kmen SC1 (Vintec) v révě proti *Phaeomoniella chlamydospora*; *Trichoderma asperellum* kmen T34 (Xilon) v slunečnici, sóje, kukuřici a řepce proti *S. sclerotiorum*, *Fusarium spp.*.

Pythium spp.

Z rodu *Pythium* je nejčastěji používaným druhem pro biologickou ochranu *Pythium oligandrum*, kmen M1 je jediným prozatím povoleným druhem v biologické ochraně v Evropě (EK, 2024). *P. oligandrum* má antagonistický účinek proti patogenům, jako jsou *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Pythium ultimum* a *Fusarium culmorum*. Tento MCBA byl poprvé registrován v České republice v roce 1994 pod názvem 'Polverysum' (Tepedelen Ağaner a Karaca, 2017). V ČR je v současné chvíli 29 registrací (Polyversum, Polygandron, Green Doctor, Polydresser) do téměř všech pěstovaných plodin a proti mnoha různým patogenům (eagri, 2024).

Ve skleníkových podmínkách bylo dosaženo jistého stupně účinnosti v potlačení patogenů pomocí *P. oligandrum* proti: *F. oxysporum*, *Phytophthora parasitica*, *R. solani*, *S. sclerotiorum* a *Ralstonia solanacearum* na rajčeti (Haghi a kol., 2022; Ouhaibi Ben Abdeljalil a kol., 2021; Ouhaibi Ben Abdeljalil a kol., 2023; Takenata, 2015), *Phaeomoniella chlamydospora* v révě (Yacoub a kol., 2016), *Verticillium dahliae* v paprikách (Al-Rawahi a Hancock, 2007).

V polních pokusech byla prokázána účinnost *P. oligandrum* proti: *R. solani* na bramborách (Takenata, 2015), *Pythium aphanidermatum* a *P. myriotylum* v sóje (You a kol., 2019), *Fusarium spp.* v hrachu (Klimek-Kopyra a kol., 2023), *Phytophthora spp.* v paprice (Jie a Ling, 2017), *P. ultimum* v bavlně, cukrové řepě (Martin a Hancock, 1987), v půdě redukuje výskyt *S. sclerotiorum* (Madsen a Neergaard, 1999) a *Botrytis cinerea* (Rey a kol., 2005).

Clonostachys spp.

V ČR pouze 2 registrace obě s *Clonostachys rosea* kmen J1446 (Lalstop G46 WG), do zelenin, ovoce a bylin proti *B. cinerea*, *Pythium spp.*, *Alternaria spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Fusarium spp.* a *Phytophthora spp.* (eagri, 2024), který je jako jediný druh (a kmen) povolený v EU pro ochranu rostlin (EK, 2024).

S druhy rodu *Clonostachys* ve skleníkových podmínkách bylo dosaženo jistého stupně účinnosti v potlačení patogenů: *F. oxysporum* v okurkách (Chatterton a kol., 2008), *Hemileia vastatrix* na kávovníku (Kapeua-Ndacnou a kol., 2023), *B. cinerea* na rajčatech, jahodách a růžích (Sutton a kol., 2002; Cota a kol., 2009; Morandi a kol., 2006).

V polních podmínkách druhy rodu *Clonostachys* vykazaly účinnost proti *Helminthosporium solani* v bramborách (Lysøe a kol., 2017), *Botrytis cinerea* na rajčatech a jahodách (Gong a kol., 2017; Cota a kol., 2008), *Alternaria solani* and *A. grandis* na bramborách (da Silva a kol., 2021), *Phytophthora palmivora* v kakaovníku (Krauss a kol., 2013), *Alternaria* spp. na růžích (Morandi a kol., 2000), *Zymoseptoria tritici* v pšenici (Jensen a kol., 2019), *S. sclerotiorum* v sóje (Sun a kol., 2017), *Bipolaris solani* na ječmeni (Jensen a kol., 2016).

C. rosea vykazuje virulenci i proti některým hřadatkům (Zou a kol., 2010; Iqbal a kol., 2018).

Coniothyrium spp.

V České Republice je aktuálně 5 povolení s druhem *Coniothyrium minitans* kmen CON/M/91-08 (DSM 9660) v přípravcích Contans WG, Lalstop Contans WG, Euro-Chem Thyriumtans. Registrace jsou do olejnin, zeleniny, jetelovin, tabáku, bylinek, máku a kmínu proti patogenům rodu *Sclerotinia* (eagri, 2024). Zároveň *C. minitans* kmen CON/M/91-08 (DSM 9660) představuje jediný povolený druh z rodu *Coniothyrium* v EU na ochranu rostlin (EK, 2024).

Využití *Coniothyrium minitans* je hlavně pro kontrolu onemocnění způsobených patogeny tvořícími sklerotia, zejména *Sclerotinia sclerotiorum* (Whipps a kol., 2008). Nejlepších výsledků *C. minitans* dosahuje, když je aplikováno do půdy ať už ve skleníku nebo na poli pro kontrolu patogenu *S. sclerotiorum* v mnoha plodinách včetně hlávkového salátu, celeru, slunečnice, fazolí a řepky olejky (Budge a Whipps, 1991; Huang a Hoes, 1980; Gerlagh a kol., 1999; Luth, 2001), *S. minor* na salátu (Rabeendran a kol. 2006) a *S. cepivorum* na cibuli (Ahmed a Tribe, 1977; McLean a Stewart, 2000). *C. minitans* dobře přežívá v půdě několik let a může být v některých oblastech zodpovědný za potlačení onemocnění sklerotinie (Huang a Kozub, 1991; Jones a Whipps, 2002).

Jistá účinnost *C. minitans* je i v případě, že ochrana je provedena postřikem na listy, aby se zabránilo infekci askosporami a rozvoji onemocnění u vojtěšky, fazolí a řepky olejky (Huang a kol., 2000; Gerlagh a kol., 2004).

Bacillus spp.

Rod *Bacillus* vykazuje silnou antibiotickou aktivitu proti patogenům různým patogenům, která je však velmi závislá na vnějších podmínkách, např. pH (Pal Bais a kol., 2004). V České Republice je v současnosti 24 registrací založených na druzích rodu *Bacillus*: *Bacillus thuringiensis* ssp. aizawai kmen GC-91 (Agree 50 WG), *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. plantarum strain D747 (Amylo-X WG), *Bacillus thuringiensis* ssp. Kurstaki kmen SA-11 (Delfin WG), *Bacillus*

amyloliquefaciens kmen MBI 600 (Integral Pro, Přírodní přípravek na plíseň šedou, Serifel), *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* kmen EG 2348 (Lepinox Plus, Zdraví zahrada – Přípravek proti housenkám), *Bacillus subtilis* kmen QST 713 (Serenade ASO), *Bacillus pumilus* QST 2808 (Sonata), *Bacillus amyloliquefaciens* kmen FZB24 (Taegro), *Bacillus firmus* kmen I-1582 (VOTiVO). Registrace jsou platné pro velké množství různých plodin a patogenů, ale i škůdců (eagri, 2024).

Zároveň je k dispozici i několik bioproduktů, které obsahují druhy z rodu *Bacillus*, ale jsou vedeny jako přípravky pro podporu růstu (např. v testování využité Hirundo).

V celé EU je aktuálně registrováno a povoleno 6 kmenů *B. amyloliquefaciens*, 9 kmenů *B. thuringiensis*, a po 1 kmeni *B. subtilis* a *B. pumilus* (EK, 2024).

Druhy rodu *Bacillus* vykazují účinnost proti: *Fusarium* spp. v hrachu (Klimek-Kopyra a kol., 2023), *Colletotrichum acutatum* v jahodách (Es-Soufi a kol., 2020), *Pseudomonas syringae* v cukrové řepě (Nikolić a kol., 2019), *Gaeumannomyces graminis* v obilí (Yang a kol., 2018), *Magnaporthe grisea* v rýži (Tendulkar a kol., 2007), *B. cinerea* v paprice (Jiang a kol., 2018), *Plasmopara halstedii* v slunečnici (Nandeeshkumar a kol., 2008).

Rod *Bacillus* vykazuje antifungální aktivitu i vůči posklizňovým chorobám: *Penicillium digitatum* a *P. italicum* na citrusech (Chen a kol., 2018), *Alternaria alternata* v melounu (Wang a kol., 2010), *B. cinerea* na hruškách a rajčatech (Mari a kol., 1996), *B. mali* na jablkách (Jamalizadeh, 2010), *Rhizopus stolonifer*, *B. cinerea* a *Colletotrichum* spp. v jahodách (Fan a kol., 2017).

Pseudomonas spp.

V EU jsou pro použití v ochraně rostlin povoleny 2 druhy rodu *Pseudomonas*: *Pseudomonas* sp. kmen DSZM 13134 a *Pseudomonas chlororaphis* med MA342 (EK, 2024). V ČR je platná jedna registrace a to pro *Pseudomonas* sp. kmen DSZM 13134 (Proradix) do brambor proti *R. solani* (eagri, 2024). Zároveň je k dispozici i několik bioproduktů, které obsahují druhy z rodu *Pseudomonas*, ale jsou vedeny jako přípravky pro podporu růstu (např. v testování využité Prometheus). *Pseudomonas* spp. mohou fungovat nekonzistentně z jednoho pole do druhé nebo z jednoho roku na druhý v důsledku variability v kolonizaci kořenů (Weller, 2007).

Druhy rodu *Pseudomonas* vykazují účinnost proti: *Thielaviopsis basicola* v tabáku (Keel a kol., 1989), *Geotrichum candidum* a *Erwinia stewartii* v citrusech (Gardner a kol., 1984), *Penicillium* spp. a *Fusarium* spp. u okrasných rostlin (Yuen, 1986), *Pythium myriotylum* a *Phytophthora capsici* v pepři (Kumar a kol., 2013), *Sclerotium rolfsii* v okurce (Pandey a kol., 2012), *Colletotrichum gloeosporioides* v chilli (Allu a kol., 2014), *Ralstonia solanacearum* v rajčeti

(Maji a Chakrabartty, 2014), *Fusarium oxysporum* v bavlně a pšenici (Yasmin a kol., 2014; Gupta a kol., 2015).

Pseudomonas spp. mohou dokonce zabránit růstu patogenu *Escherichia coli* O157:H7 v potravinách (McKellar, 2007).

2 Cíle a hypotézy

Hypotézy:

- 1) Existují mikroorganismy, které mají inhibiční účinky na růst patogenu *V. longisporum* a mohly by posloužit jako možný způsob ochrany proti tomuto patogenu v praxi.
- 2) Patogen *V. longisporum* napadá kořenový systém řepky ozimé již v podzimním období.

Cíle:

- 1) Otestovat možné metody biologické ochrany řepky ozimé proti patogenu *V. longisporum*.
- 2) Otestovat diagnostické metody *V. longisporum* v podmínkách ČR.

3 Metodika

3.1 Produkty použité v testování

V rámci všech prezentovaných pokusů bylo použito 20 produktů na biologické bázi, ať už registrované přípravky na ochranu rostlin nebo přípravky pro podporu růstu rostlin (Tabulka 1).

bioprodukt	účinná látka/bioagens	výrobce deklarovaná účinnost
Hirundo	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FV08-10	Produkcí fytoalexinů chrání kořeny před houbovými chorobami, likviduje houbové patogeny, napomáhá k uvolnění živin z půdy.
Prometheus	<i>Pseudomonas veronii</i> CCM 9674	Aktivně chrání kořeny před houbovými chorobami, je schopná inhibovat životnost sklerocií, upravuje pH půdy, rostlině umožněn příjem jinak nedostupných živin.
Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i> M1	Za pomoci hydrolytických enzymů rozkládá stélky fytopatogenů a takto získané živiny využívá pro vlastní výživu, indukuje rezistenci vůči patogenům nadzemních částí v ošetřené rostlině a stimuluje růst.
Xilon	<i>Trichoderma asperellum</i> T34	Lepší příjem vody a živin, vyšší fotosyntetická aktivita, mobilizace fosforu a železa; Chrání před primární infekcí kořenů hlízenkou a dalšími patogeny přenášenými půdou. Zlepšuje rozklad organické hmoty, což vede k lepší dostupnosti mikroživin. Pomáhá obnovit správnou půdní faunu.
Clonoplus	<i>Clonostachys</i> sp.	Přes zimní období rozložit sklerocia, mikrosklerocia. Podporuje tvorbu bakteriálních hlízek.
Gliorex	<i>Clonostachys</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp.	Spory hub obsažené v přípravku vyklíčí a jejich mycelium se rozvine v kořenovém systému rostliny a brání nástupu patogenních hub. Rozkládá organické zbytky a zpřístupňuje je pro příjem rostlinou.
Integral Pro	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MBI 600	Biologické fungicidní mořidlo s fungicidním a fungistatickým účinkem, jehož účinný organismus po kontaktu s patogenem narušuje vlákna hub.
Contans WG	<i>Coniothyrium minitans</i> NOC/M/91-08	Je jediný působ regulace hlízenky, který odstraňuje příčinu a nikoli až důsledek infekce. Umožňuje tak ozdravení půdy od sklerocia v půdě a přerušuje tak vývojový cyklus choroby.

		Jako jediný zajišťuje řešení infekce přes kořeny. Nově registrováno i proti <i>V. longisporum</i> .
Serenade Aso	<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	Fyzicky narušují buněčnou membránu houbových patogenů a způsobí tak jejich destrukci. Vykazuje antibakteriální efekty proti bakteriálním patogenům. Zvyšuje přirozenou obranyschopnost rostlin. Stimulace biochemických obranných mechanismů přispívá jak ke zvýšení přirozené odolnosti rostlin.
Polymix	<i>Botryotrichum</i> spp., <i>Isaria</i> spp., <i>Clonostachys</i> spp.	Spóry vyklíčí a jejich mycelium se rozvine v kořenovém systému. Rozkládá obtížně rozložitelné organické zbytky a uvolňuje živiny. Podporuje kolonizaci kořenového systému, dobře roste i při nízkých teplotách (nad 2 °C).
AGRA	měď	Měď inhibuje vývoj a růst patogenů způsobených houbovými a bakteriálními patogeny fungicidním a bakteriostatickým účinkem.
TS Silos	různé látky	Pozitivně ovlivňuje růst rostlin, jejich vývoj, množství úrody a její kvality (solí huminových látek, směs aminokyselin, výtažek z mořských řas, molybden a bor, kompletní škálu mikro a makroprvků, kombinace syntetických auxinů, stříbro v chelátových vazbách)
Tonivit	filtrát z mořských řas <i>Ascophyllum nodosum</i>	Aktivuje růst a vývoj kořenového systému, příjem živin z půdy a následné zvýšení výnosu. Obohacený o P a K, živiny důležité pro rozvoj kořenové soustavy a přezimování. Produkt je velmi bohatý na biologicky aktivní látky, jako jsou oligosacharidy, aminokyseliny, vitamíny a rostlinné hormony a prokazatelně aktivují klíčové fyziologické procesy v rostlině.
Albit	Kyselina poly-beta-hydroxymáselná	Pomáhá rychleji překonat stres z chemických stresorů a zlepšit odolnost, vyvolává šíření přirozeného signálního metabolitu – kyseliny salicylové, tím se imunizují i ty orgány rostliny, které nebyly ošetřeny.
Albit MAX		
Fumag 6NK-SB	B, K, N, Mg, S; pH 9,5-12,5	Listové suspenzní hnojivo s kurativním účinkem, s možností odstranění latentního i zjevného nedostatku bóru a zmírnění deficitu síry, se současným dodáním hořčíku, dusíku a draslíku.

Carbon Si	K, Si, C; pH 10,5-12,5	Listové hnojivo s kurantním účinkem s možností odstranění latentního i zjevného deficitu křemíku a se současným dodáním draslíku a uhlíku - zvýšení odolnosti proti poléhání (zpevnění buněčných stěn), pozitivní vliv na dynamiku fotosyntézy.
LAIVEN® FLORA	Směs probiotických mikroorganismů	Přispívá k lepšímu stavu půdy a vyšší úrodě. Podporuje růst, plodnost i vitalitu rostlin a zkvalitňuje jejich výživu, stimuluje vývoj kořenů. Zvyšuje odolnost rostlin proti suchu, mrazu a patogenům.

Tabulka 1: Bioprodukty a jejich účinné látky použité pro předložená testování.

V rámci pokusů byly také využity konvenční přípravky na ochranu rostlin pro porovnání účinnosti (Tabulka 2).

přípravek	účinná látka	výrobce deklarovaná účinnost
Propulse	fluopyram, prothiokonazol	systémový fungicid postřik v době květu
BAS 750, BAS 762	nebylo specifikováno	-
Topsin M 500 SC	thiofanát-methyl	Postřikový fungicidní přípravek určený k ochraně řepky olejky proti černi, fomové hnilobě, plísni šedé. Měl při prvních pokusech i registraci proti <i>V. longisporum</i> .

Tabulka 2: Konvenční přípravky a jejich účinné látky použité pro předložená testování.

3.2 In vitro pokus

3.2.1 Biologický materiál

V pokusech in vitro byl použit izolát *Verticillium longisporum* VL43 ze severního Německa (ze sbírky Georg-August-Universität Göttingen), izolovaný z *B. napus* a vybraný na základě pilotního testování, ve kterém vykazoval nejvyšší virulenci (další testovací izoláty byly z CBS Filamentous Fungi Collection databáze čísla 110222, 110232, 110277, 124.64, 128316, 128317, které pocházely z Německa, Švédska a USA, všechny izolované z *B. napus*).

Růst patogenu byl otestován na 4 typech kultivačních médií (PDA, PDA s přidavkem glukózy, Czapek dox a tekuté médium Potato dextrose broth), která by mohla být vhodná pro růst patogenu dle dostupné literatury. PDA bylo vyhodnoceno jako nejvhodnější kultivační médium pro růst patogenu *V. longisporum*, což se shoduje s poznatky popsány Knüfer (2011).

V pokusech bylo využito 8 bioproduktů (Tabulka 1), které jsou dostupné buďto jako přípravky na ochranu rostlin nebo rostlinné stimulanty: Gliorex (4g/10 m² + 10 L), Clonoplus (4 g/

10m² + 10L), Contans (2 kg/ha + 500 L), Xilon (10 kg/ha + 500 L), Polyversum (0,1 kg/ha + 400 L), Hirundo (1 L/ha + 600L), Prometheus (1 L/ha + 600 L), Integral Pro (12,8 L/ha + 256 L). Přípravky byly do pokusu zařazeny na základě možné účinnosti proti patogenu *V. longisporum* dle dostupné literatury či na žádost výrobce.

3.2.2 Založení pokusu

In vitro pokusy byly založeny v 10 opakováních pro každý bioprodukt a kontrolu. *Verticillium longisporum* bylo inokulováno na pravou stranu misky a necháno růst po dobu jednoho týdne před přidáním bioproduktu (nutnost odstupe jednoho týdne byla vypořazována na základě předběžných testů). Množství bioproduktu použitého pro testování bylo vypořazováno na základě doporučeného dávkování výrobce, přepočítáno na obsah Petriho misky (v případě rozpětí množství přípravku či objemu vody u doporučeného dávkování byla vždy použita nejvyšší doporučená hranice). Petriho misky byly uloženy při 21 °C v tmavém prostředí po celou dobu experimentu. Pokus byl realizován v laboratořích KOR v listopadu a prosinci roku 2019.

3.2.3 Hodnocení pokusu

Růst mycelia byl měřen podobu 45 dnů od aplikace bioproduktu (každých 15 dnů) a byla spořazována inhibice růstu patogenu (%).

$$x = \frac{(C - T) \cdot 100}{C}$$

Kde C = průměr kolonie (mm) kontroly, T = průměr kolonie (mm) patogenu (Bekker a kol., 2006).

Výsledky následně byly vizuálně zpracovány v softwaru STATISTICA 14 pomocí 2D grafu (line plots variables).

3.3 Pilotní skleníkové pokusy 2018/19

3.3.1 Biologický materiál

Pro skleníkové pokusy byl použit izolát VL43.

Skleníkové pokusy byly realizovány odrůdě řepky olejky Inspiration. Odrůda Inspiration je středně odolná až odolná proti napadení plísní šedou, středně odolná proti napadení fomovým černáním stonku, méně odolná proti napadení sklerotiniovou hnilobou a středně odolná proti napadení černěmi řepky. Odrůda byla vybrána pro použití ve skleníkových pokusech na základě konzultace s odborníky ze Svazu pěstitelů a zpracovatelů olejin (dlouhodobá pozorování), byla

vyhodnocena jako potencionálně náchylná proti patogenu *V. longisporum* a také byla v dané sezóně jednou z nejpěstovanějších odrůd v zemědělské praxi.

V pokusech bylo využito 6 bioproduktů – Hirundo (1 L/ha + 600 L), Prometheus (1 L/ha + 600 L), Polyversum (0,1 kg/ha + 400 L), Clonoplus (4 g/10 m² + 10 L), Gliorex (4 g/10 m² + 10 L) a Serenade (2 L/ha + 400 L), které jsou dostupné buďto jako přípravky na ochranu rostlin nebo rostlinné stimulanty (Tabulka 1).

3.3.2 Založení pokusu

Pokusy byly založeny v dubnu 2018 v prostorech pokusných a demonstračních skleníků ČZU.

Experiment byl veden v květináčích 4x4 cm. Bylo založeno variant 14, kde byly rostliny inokulované patogenem *V. longisporum* a ošetřeny bioprodukty, dále varianty, které byly jen ošetřeny bioprodukty, včetně kontroly a inokulovaných rostlin bez ošetření. Každá varianta pokusu měla 3 opakování po 16 rostlinách, včetně kontroly. Pro založení pokusu byl použit profi substrát Gramoflor, bylo sterilizováno osivo řepky olejky (2 min v 70% ethanol). Byla připravena suspenze spor 8×10^7 spor v 1 mL. Pro přípravu suspenze byl použit PDA broth (tekuté živné médium), po dobu jednoho týdne bylo médium (s výřezy patogenu z Petriho misek) ponecháno při 23 °C za neustálého míchání. Po sedmidenní inkubaci bylo mycelium odfiltrováno přes síto, a tak byla získána suspenze spor (Eynck, 2008).

V pokusu byl sledován během 4 týdnů zdravotní stav rostlin. Rostliny byly uměle inokulované spory *V. longisporum* namáčením kořínků 1 týden starých rostlin v suspenzi spor (8×10^7 spor v 1 mL). Ošetření přípravky bylo provedeno postřikem (ihned po inokulaci), a to dle doporučeného dávkování výrobce v dvojnásobné koncentraci (v případě rozpětí množství přípravku či objemu vody u doporučeného dávkování byla vždy použita nejvyšší doporučená hranice). Byly ošetřeny rostliny inokulované *Verticillium longisporum* a bioproduktem byly ošetřeny i rostliny, které nebyly inokulovány patogenem.

3.3.3 Hodnocení pokusu

Po 4 týdnech byl vyhodnocen zdravotní stav rostlin a byla změřena jejich délka a tloušťka kořenového krčku.

Stupnice pro stanovení zdravotního stavu rostlin (Eynck, 2008):

1 Bez symptomů

2 Žloutnutí nejstarších listů

- 3 Slabé symptomy na mladých listech
- 4 Méně jak 50 % listů má symptomy
- 5 Více jak 50 % listů má symptomy
- 6 Méně jak 50 % listů je mrtvých
- 7 Více jak 50 % listů je mrtvých
- 8 Pouze vzrostný vrchol je živý
- 9 Mrtvá rostlina

Výsledky byly zpracovány a vizualizovány jako průměry za variantu pomocí MS Excel.

3.4 Skleníkové pokusy 2019/20

3.4.1 Biologický materiál

Pro skleníkové pokusy byl použit izolát VL43.

Skleníkové pokusy byly realizovány na dvou odrůdách řepky olejky – Inspiration a Croquette. Inspiration viz. kapitola 3.2.1. Croquette byla vybrána kvůli své potenciální odolnosti proti chorobám na základě konzultace s odborníky ze Svazu pěstitelů a zpracovatelů olejin (dlouhodobá pozorování). Odrůda disponuje rasově specifickou rezistencí vůči nádorovitosti kořenů brukvovitých rostlin a rezistencí vůči fomě typu APR 37.

V pokusech bylo využito 8 bioproduktů (Tabulka 1), které jsou dostupné buďto jako přípravky na ochranu rostlin nebo rostlinné stimulanty: Gliorex, Clonoplus, Contans, Xilon, Polyversum, Hirundo, Prometheus, Integral Pro (dávkování viz. kapitola 3.2.1).

3.4.2 Založení pokusu

Zeise a Seidel již v roce 1990 vyzorovali, že infekce v polních podmínkách začíná už v podzimním období, bylo tedy pro účely experimentu nutné simulovat co nejvíce podmínky, které jsou v pozdně letním/podzimním období na poli. Pokus probíhal ve sklenících ČZU v květnu – červnu 2020. Metodika pokusu byla optimalizována pomocí pilotních testů.

Experiment byl veden pod stabilní teplotou 21 °C, v květináčích 9x9 cm. Každý bioprodukt v pokusu měl tři opakování po 10 rostlinách, včetně kontroly. Pro založení pokusu byl použit profí substrát Gramoflor, který byl vysterilizovaný v autoklávu, bylo sterilizováno i osivo řepky olejky (2 min v 70% ethanolu). Byla připravena suspenze spor 8×10^3 v 1 mL.

Pět dnů před aplikaci bioproduktu bylo vysazeno 1 cm hluboko osivo řepky ozimé. Byl aplikován 1 mL suspenze spor doprostřed květináče (1 cm hluboko – k semeni). Následný den suspenze bioproduktu byla pipetována do středu květináče (1 cm hluboko), množství použitého

bioproduktu bylo přepočítáno na základě doporučení výrobce na květináč 9x9 cm (v případě rozpětí množství přípravku či objemu vody u doporučeného dávkování byla vždy použita nejvyšší doporučená hranice).

3.4.3 Hodnocení pokusu

Z každé variant bylo sklizeno 10 vzorků (celá rostlina v BBCH 14 – 16) pro diagnostické hodnocení obsahu patogenu. Rostliny byly očištěny od nečistot a ponořeny do 70% ethanolu po 2 minuty, následně byly ponořeny do 30% roztoku Sava (1.5% NaOCl, chlornan sodný 4,7 g / 100 g = 100 %) po dobu 10 minut, poté dvakrát omyty destilovanou vodou. Spodní část rostliny (až po rostlinný krček) byla lyofilizována a uložena pro diagnostické hodnocení obsahu patogenu pomocí metody real-time PCR.

Diagnostické hodnocení real-time PCR

Ze skleníkového experimentu byl analyzován každý vzorek.

Rostliny byly zmrazeny na -80 °C a lyofilizovány. Rostlinný materiál byl rozdrcen v drticím mlýnu (Retsch®, MM400, 50 ml ocelové mlecí nádoby, 1 x 25 mm ocelová kulička, 2 minuty při 30 Hz). Z rozdrceného rostlinného materiálu byl navážen vzorek 0,1 g, ze kterého byla izolována celková DNA metodou fenol-chloroformové izolace (Barker a kol., 1998). Byla měřena koncentrace DNA ve vzorku (ThermoScientific, NanoDrop 2000) a vzorky byly použity k analýze množství DNA patogenu *Verticillium longisporum* pomocí real-time PCR. Byly použity oligonukleotidové primery OLG70/OLG71 (Sigma - Aldrich Company Limited), zacílené na oblast mezerníkové ribozomální DNA (internal transcribed spacer -ITS) (Eynck a kol., 2007).

OLG 70	Forward	CAGCGAAACGCGATATGTAG
OLG 71	Reverse	GGCTTGTA GGGGTTTAGA

Předpokládaná délka PCR produktů 261 bp.

Pro hodnocení DNA bylo použito detekčního systému Bio-Rad (Bio-Rad, CFX Connect Real-Time System). 10 µl reakční směsi sestávalo z 1 µl celkové DNA a 0,2 µl směsi primerů (koncentrace primerů byla 1:1:2 – R:F:dd voda), Master mix 5 µl (Applied Biosystems, Syber Select Master Mix). Každý vzorek DNA byl kvantifikován ve třech (standard) nebo dvou (DNA patogenu) technických replikátech. Program PCR sestával z 3minutového aktivačního kroku při 95 °C, následovaných 40 cykly s 30 s při 95 °C, 30 s při 58 °C a 30 s při 72 °C a finálním elongačním

krokem 2 min při 72 °C. Množství fungální DNA v rostlinné tkáni bylo stanoveno na základě standardní křivky vyvinuté z 10násobné řady ředění (1000 pg až 0,0001 pg) purifikované DNA VL43 izolátu *V. longisporum* (Eynck a kol., 2007 upraveno). Modifikace v programu PCR byly založeny na před testech různých teplotních gradientů a pro diagnostiku byla vybrána nejlepší varianta.

Výsledky z diagnostického hodnocení byly zpracovány v softwaru STATISTICA 14 pomocí Kruskal-Wallice ANOVA.

3.5 Pilotní polní maloparcelkové pokusy 2018/19

3.5.1 Biologický materiál

Pro polní pokusy byla použita odrůda řepky Inspiration.

V pokusech byly použity produkty (9), které jsou dostupné buďto jako přípravky na ochranu rostlin nebo rostlinné stimulanty či chemické přípravky na ochranu rostlin (Tabulka 1 a 2): Hirundo (1L/ha+600L), Prometheus (1 L/ha + 600 L), Polyversum (0,1 kg/ha + 400 L), Clonoplus (4 g/10 m² + 10 L), Gliorex (4 g/10 m² + 10L), Serenade (2 L/ha + 400 L), Polymix (4 g/10 m² + 10 L), Topsin M (1,2 L/ha + 400 L) a měďnatý přípravek ve zkoušení pod kódovým názvem AGRA (5,3 L/ha + 1000 L).

3.5.1 Založení pokusu

Pokus byl založen v srpnu 2018 na dvou lokalitách: Výzkumná stanice ČZU Červený Újezd (30.8.2018), Demonstrační a experimentální pracoviště ČZU – pozemek (28.8.2018).

Přípravky byly aplikovány dle doporučení výrobce (v případě rozpětí množství přípravku či objemu vody u doporučeného dávkování byla vždy použita nejvyšší doporučená hranice) aplikací do půdy při výsevu.

Na obou lokalitách bylo využito 8 biopreparátů a 1 konvenční přípravek na ochranu rostlin. Na lokalitě Červený Újezd možná přítomnost přirozené infekce patogenem *V. longisporum* byla diskutována s provozovatelem, přítomnost patogenu nebyla na lokalitě potvrzena. Pokus byl založen tak, že na půlce parcely byla půda inokulována suspenzí spor (1L na 100 m²) den po výsevu, načež den po výsevu byly aplikovány produkty rovnoměrně na řádky a zapravené do vrchního profilu půdy. Byla použita suspence spor 8×10^7 spor v 1mL – PDA broth. Druhá půlka pokusu byla ošetřena pouze produkty bez inokulace patogenu. Každá z variant byla na dané lokalitě jedenkrát.

Na lokalitě ČZU dle provozovatele demonstračních pozemků patogen *V. longisporum* byl přítomen. Každá z variant byla ve 4 opakováních a pokus byl pravidelně zavlažován.

3.5.1 Hodnocení pokusu

Na obou lokalitách bylo před sklizní (Červený Újezd - 15.7.2019, ČZU - 25.6.2019) provedeno hodnocení zdravotního stavu porostů (všechny rostliny na parcele) dle stupnice, hodnoceno pro veškeré příznaky napadením patogeny:

A1 příznaky do 25% povrchu stonku

A2 příznaky do 50% povrchu stonku

A3 příznaky do 75% povrchu stonku

A4 příznaky nad 75% povrchu stonku

vyjádřeno indexem zdravotního stavu podle vzorce:

$$DS = \frac{A1 \cdot 1 + A2 \cdot 2 + A3 \cdot 3 + A4 \cdot 4}{\sum A}$$

Závažnost onemocnění (disease severity) DS, kde A je počet rostlin v dané kategorii. Vzorec pro výpočet dle Chiang a kol. (2017), upraveno.

Výsledky hodnocení byly zpracovány v softwaru STATISTICA 14 pomocí One way ANOVA (normální rozdělení dat ověřeno) v 95% intervalu spolehlivosti. Pro post-hoc analýzu byl použit Fisherův LSD test.

3.6 Polní maloparcelkové pokusy 2019/20

3.6.1 Biologický materiál

Pro polní pokusy byla použita odrůda řepky Alicante (středně vysoká rostlina s nadstandardním kořenovým systémem, kvantitativní i kvalitativní odolnost proti fomovému černání stonku (Rlm7)). Tato odrůda byla vybrána, jelikož odrůda Inspiration, která byla použita pro předešlá testování i skleníkové pokusy, nebyla v této sezóně k dispozici. Odrůda Alicante byla v dané sezóně velmi rozšířena a taktéž byla vyhodnocena dlouhodobém pozorování jako potenciálně náchylná (založeno na pozorování SPZO).

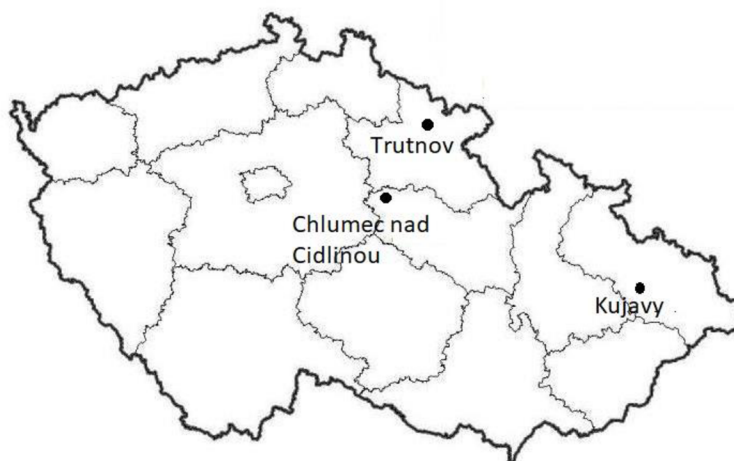
V pokusech byly použity produkty, které jsou dostupné buďto jako přípravky na ochranu rostlin nebo rostlinné stimulanty, také kombinace chemického přípravku na ochranu rostlin a bioproduktu či chemické přípravky samotné (Tabulky 1, 2 a 3). Produkty Hirundo a Prometheus byly použity s ohledem na specifické podmínky, které jsou nutné pro účinnost (pH a množství Ca v půdě).

varianta	produkty ve variantě
1	Contans
2	Contans + Serenade + Propulse
3-6	Polyversum
7	Integral Pro + BAS
8-9	Topsin M
10	TS Silos
11	Xilon
12	Polyversum + Tonivit
13	Hirundo (Chlumeč, Kujavy); Prometheus (Trutnov)
14	ALBIT + ALBIT Max + FUMAG 6NK SB
15	ALBIT + ALBIT Max + CARBON Si
16	Flora
17	Alicante kontrola

Tabulka 3: Varianty ošetření maloparcelkového polního pokusu 2019/20

3.6.2 Založení pokusu

Pokus byl založen v srpnu 2019 na třech pokusných stanicích (Obrázek 9): ŠS Chlumeč nad Cidlinou, Zemědělská Zkušební Stanice Kujavy, s.r.o., Zkušební Stanice Trutnov s.r.o.. Přípravky byly aplikovány dle zadavatele na základě předpokládané nejlepší účinnosti (Přílohy 8.1). Na každé lokalitě byla tři opakování ke každé variantě pokusu randomizovaně rozmístěna po pozemku. Na všech lokalitách byly varianty č. 1 a č. 2 založeny alespoň na 50 m² (s ohledem na velikost parcely), běžná velikost parcelky 12 – 15 m² dle lokality.



Obrázek 9: Lokality maloparcelkového pokusu 2019/20.

Trutnov (50°33'41.4"N 15°52'55.0"E)

Lokalita je 450 m nad mořem, písčito hlinitá půda, průměrná teplota 7,2 °C, roční úhrn srážek 708 mm. Předplodinami byly hrách na zelené hnojení (2019) a zimní pšenice (2018).

Hodnota pH na lokalitě je 5,9. Obsah živin v půdě: P 153 mg/kg, K 174 mg/kg, Mg 174 mg/kg, Ca 1353 mg/kg. Příprava půdy před setím (29.8.2019) byla orba a následná příprava kultivátorem.

Chlumeč nad Cidlinou (50°07'46.3"N 15°30'41.7"E)

Lokalita je 240 m nad mořem, jílovitá půda, průměrná teplota 8,7 °C, roční úhrn srážek 642 mm. Předplodinami byly zimní pšenice (2019) a hrách na zelené hnojení (2018). Hodnota pH na lokalitě je 6,8. Obsah živin v půdě: P 63 mg/kg, K 300 mg/kg, Mg 145 mg/kg, Ca 4413 mg/kg. Příprava půdy před setím (31.8.2019) bylo diskování strniště, hluboké podrývání Terraland, 2x příprava kompaktočatem Verso.

Kujavy (49°41'24.9"N 17°58'24.8"E)

Lokalita je 260 m nad mořem, hlinitá půda, průměrná teplota 8,25 °C, roční úhrn srážek 604 mm. Předplodinami byly jarní ječmen (2019) a řepa cukrová (2018). Hodnota pH na lokalitě je 6,5. Obsah živin v půdě: P 100 mg/kg, K 205 mg/kg, Mg 140 mg/kg, Ca 2095 mg/kg. Příprava půdy před setím (29.8.2019) byla podmítka, orba, kombinátor a rotační brány.

3.6.3 Hodnocení pokusu

V podzimním (listopad 2019) a jarním období (březen 2020) byl spočítán počet rostlin na 1 m². Měřená plocha byla vždy stejná, a to od levého zadního rohu 1mx1m do parcelky (pro všechna hodnocení pokusu). Na lokalitě Kujavy nebylo provedeno jarní hodnocení kvůli epidemii Covid 19.

V rámci hodnocení zdravotního stavu rostlin byla zjišťována přítomnost *Botrytis cinerea*, *Leptosphaeria maculans*, *Sclerotinia sclerotiorum* v průběhu sezóny, jsou uvedeny výsledky hodnocení na konci sezóny i množství nouzově dozrávajících rostlin ze 2 m² (+1 m² do porostu horizontálně). Na lokalitě Chlumeč nad Cidlinou je uvedeno hodnocení z 16. 6. 2020, jelikož porost před sklizní polehl a nebylo možné provést předsklizňové hodnocení. Předsklizňové hodnocení v Trutnově bylo provedeno 14.7.2020 a hodnocení v Kujavách bylo provedeno 30.6.2020.

V případě *B. cinerea* a *S. sclerotiorum* byla hodnocena jejich přítomnost na rostlinách bez sestavení škály napadení. Pro výskyt patogenu *L. maculans*, který byl v porostu velmi hojný, byla stanovena stupnice, ve které muselo být zohledněno i to, že ze začátku vegetace nebyly příznaky patogenu v porostu tak výrazné a musely být rozlišeny i rostliny, které neměly žádné napadení:

A0 zdravá rostlina bez příznaků

A1 příznaky do 25% povrchu stonku

A2 příznaky do 50% povrchu stonku

A3 příznaky do 75% povrchu stonku

A4 příznaky nad 75% povrchu stonku

Napadení bylo následně vyjádřeno indexem výskytu podle vzorce:

$$DS = \frac{A_0 \cdot 1 + A_1 \cdot 2 + A_2 \cdot 3 + A_3 \cdot 4 + A_4 \cdot 5}{\sum A}$$

Závažnost onemocnění (disease severity) DS, kde A. Vzorec pro výpočet dle Chiang a kol. (2017), upraveno.

Na strništi byl spočítán poměr zelených a suchých stonků z parcelky, který byl vyjádřen v % zelené stonky k suchým.

Náhodným odběrem bylo z každé parcelky sebráno 5 stonků (diagonálně v pravidelném rozestupu), které byly dále využity pro laboratorní diagnostiku *V. longisporum*. Z pokusných stanic byly dodány hodnoty výnosu, které byly přepočítány na výnos (t/ha) při 8% vlhkosti v porostu. Ze Zkušební Stanice Trutnov s.r.o. byly získány hodnoty HTS a olejnatosti, stanice ŠS Chlumeck nad Cidlinou hodnoty stanovila pouze pro jedno opakování, tudíž není dostatečné množství vzorků pro statistické zpracování. Vzorky ze Zemědělská Zkušební Stanice Kujavy, s.r.o. byly během přepravy znehodnoceny a nebylo možné je použít k hodnocení.

Diagnostické hodnocení real-time PCR

V polních pokusech byl sestaven směsný vzorek z pěti rostlin (jedna parcelka) a to z 10 – 20 cm od kořenového krčku (Obrázek 10).



Obrázek 10: Odběrové místo na rostlině pro analýzu real-time PCR (Knüfer, 2011).

Části rostlin byly zmrazeny na -80 °C a lyofilizovány. Real-time PCR viz kapitola 3.4.3.

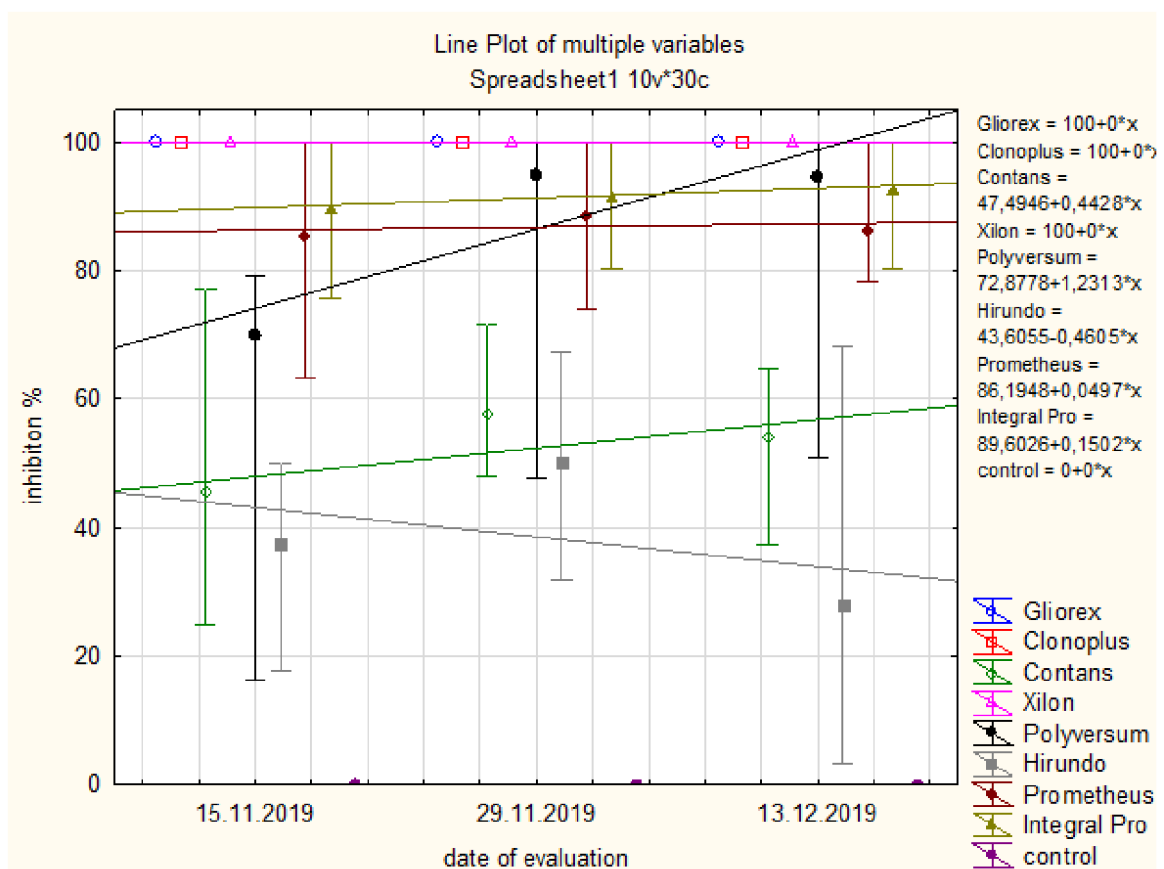
Výsledky hodnocení byly zpracovány v softwaru STATISTICA 14 pomocí One way ANOVA (normální rozdělení dat ověřeno) v 95% intervalu spolehlivosti. Pro post-hoc analýzu byl použit Fisherův LSD test.

Ve výsledcích nejsou prezentovány varianty, kde byly použity přípravky nekorrespondující se zadáním práce (např. varianty s insekticidním ošetřením). Byly vyřazeny z číslování a na Obrázcích 22, 23 a 24 je místo nich uvedeno x.

4 Výsledky

4.1 In vitro pokus

Byl změřen růst mycelia podle vzorce dle Bekker a kol. (2006) a výsledky byly vizualizovány pomocí 2D grafu (line plots variables) (Obrázek 11). Nejlepší výsledky v in vitro testu měly bioprodukty Gliorex, Contans a Xilon bez růstu mycelia, tedy se 100% inhibicí na růst patogenu *V. longisporum*. Velmi slibné výsledky vykazují také Integral Pro a Prometheus s inhibicí přes 80 %. U zkoušených bioproduktů se během testování zvyšovala nebo neměnila schopnost inhibice, kromě bioproduktu Hirundo, kde schopnost inhibice růstu patogenu po 30 dnech začala klesat.

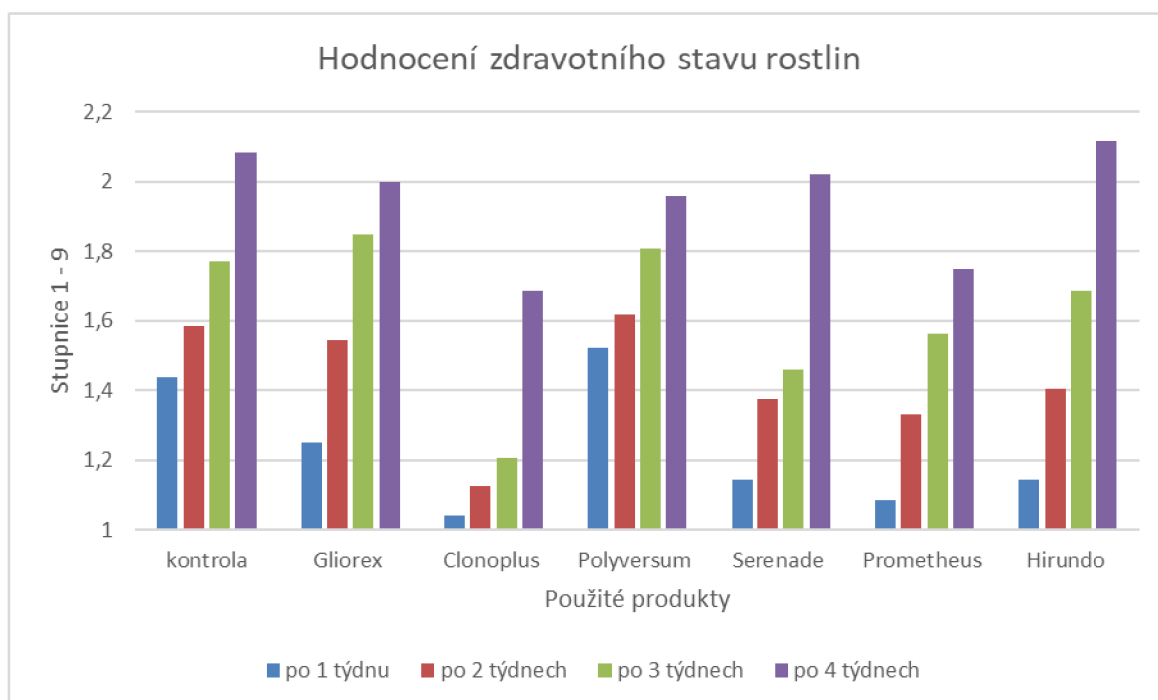


Obrázek 11: In vitro testování - inhibice růstu mycelia u 8 bioproduktů v období 45 dnů.

4.2 Skleníkové pokusy 2018/19

Byl zaznamenán zdravotní stav dle stupnice 1 (nejlepší) – 9 (nejhorší) podle Eynck (2008) a průměry ze tří opakování jednotlivých variant inokulovaných patogenem byly vizualizovány v MS Excel (Obrázek 12). V rámci zdravotního stavu nebyly zaznamenány žádné statisticky významné rozdíly. V hodnocení po 4 týdnech se zdravotní stav rostlin zhoršil, z toho byl učiněn závěr pro následnou sezónu skleníkových pokusů. Pro další sezónu byly lépe specifikovány podmínky osvětlení a vyrovnání teplot tak, aby odpovídaly období začátku růstu řepky ozimé. Byl

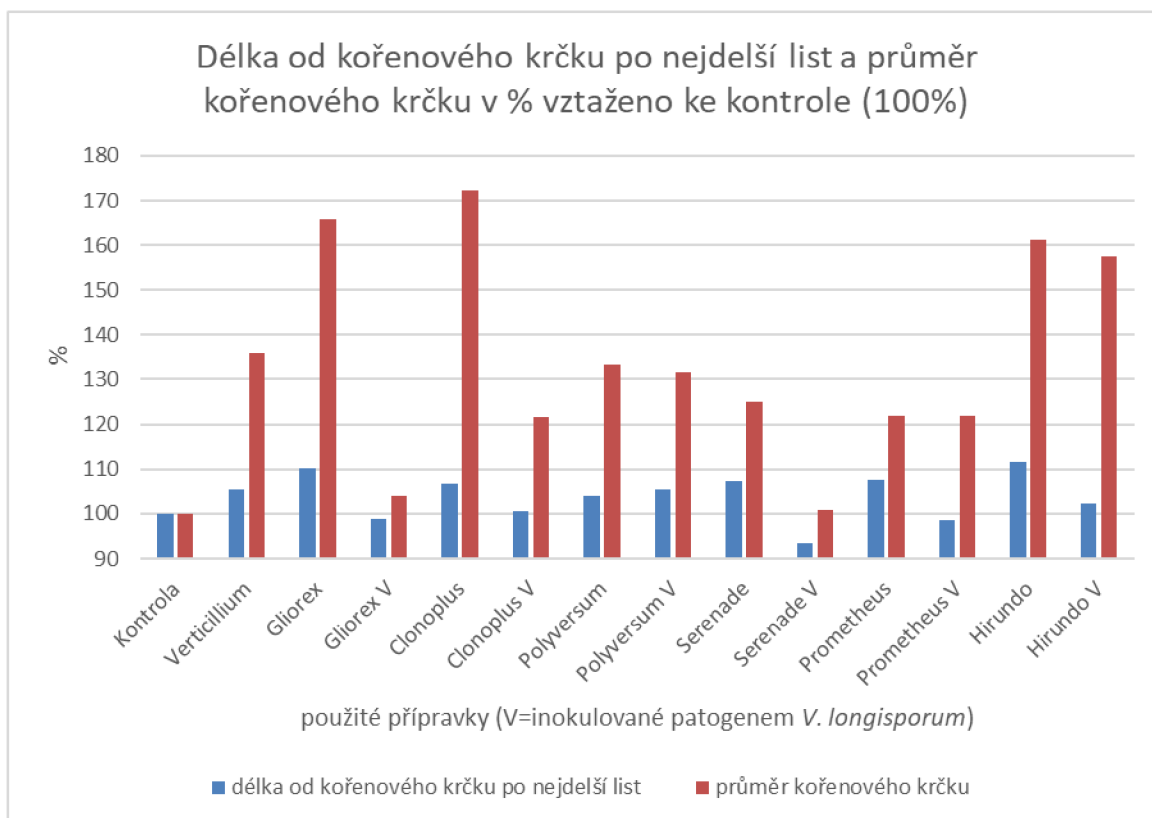
taktéž učiněn závěr, že substrát musí být sterilizován, jelikož nebyla vyloučena ani případná kontaminace patogeny ze substrátu.



Obrázek 12: Výsledky hodnocení zdravotního stavu u rostlin řepky olejky po inokulaci patogenem *V. longisporum*.

Z výsledků vyplývá, že nejlepších výsledků v omezení projevů patogenu dosáhl Clonoplus, následován bioprodukty Serenade a Prometheus. Ovšem všechny výsledky byly v intervalu od 1 do 2,1.

Dále byl hodnocen i průměr kořenového krčku a délka rostliny od kořenového krčku po nejdelší list při ukončení experimentu. Jednotlivé hodnoty byly přepočítány na %, vztažená ke kontrole (100 %), a vizualizovány pomocí MS Excel (Obrázek 13). Rozpětí hodnot průměru kořenového krčku v mm se pohybovala od 0,73 cm (patogenem inokulovaná varianta ošetřená Serenade) do 1,24 cm (varianta ošetřená Clonoplus), rozpětí hodnot délky rostlin od kořenového krčku po nejdelší list bylo od 25,38 cm (patogenem inokulovaná varianta ošetřená Serenade) do 30,3 cm (varianta ošetřená Hirundo).

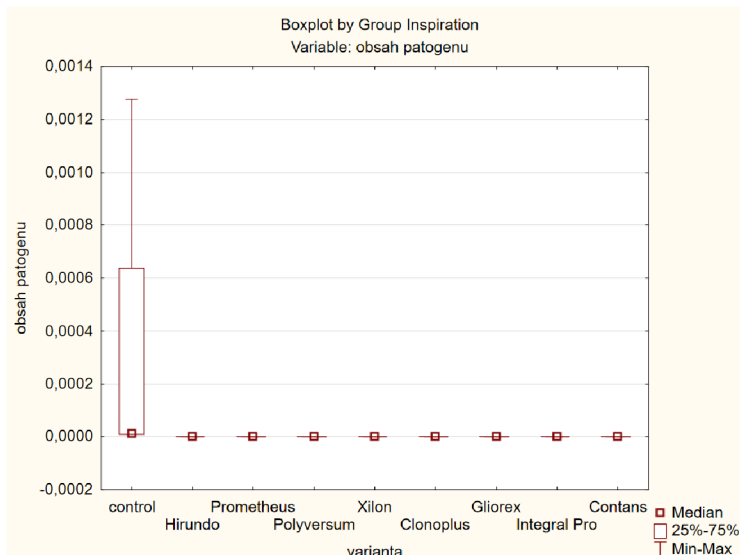
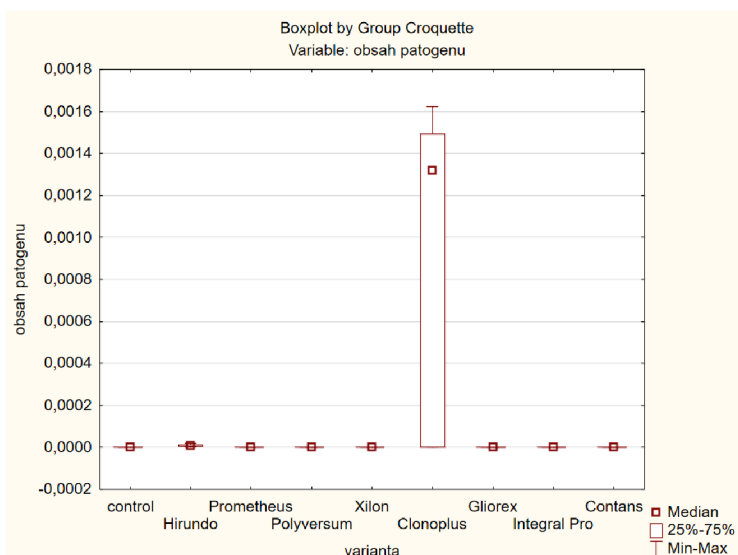


Obrázek 13: Výsledky hodnocení délky rostlin a průměru kořenového krčku inokulovaných a neinokulovaných rostlin patogenem *V. longisporum* ošetřených bioprodukty.

Ze získaných výsledků vyplývá, že některé produkty mají pozitivní vliv na růst rostliny (bez přítomnosti patogenu), jak je deklarováno výrobcem. Můžeme i usuzovat, že rostlina inokulovaná patogenem má tendenci posílit svůj kořenový krček, pokud není ošetřena žádným produktem. Další vyhodnocení výsledků by bylo pouze spekulací vzhledem k velkému množství interakcí, ke kterým v půdě ve vztahu produkt/patogen/rostlina dochází a reakce rostlin jsou různorodé.

4.3 Skleníkové pokusy 2019/20

Mezi odrůdami Croquette a Inspiration (soubor dat pro všechny vzorky za odrůdu) nebyly žádné významné rozdíly ($p=,1298$) v množství patogenu ve vzorcích, ale pro varianty v rámci jednotlivých odrůd, byly mezi bioprodukty statisticky významné rozdíly (Obrázek 14).



Obrázek 14: Statistické hodnocení obsahu patogenu *V. longisporum* v rostlinném materiálu dvou odrůd řepky ozimé.

V tabulce 4 s obsahem patogenu *V. longisporum* (g) v 0,1 g rostlinném materiálu je uváděn průměr za 10 rostlin se směrodatnou odchylkou (SD). U přípravků Xilon a Contans nebyla zaznamenána přítomnost patogenu v ani jedné z použitých odrůd.

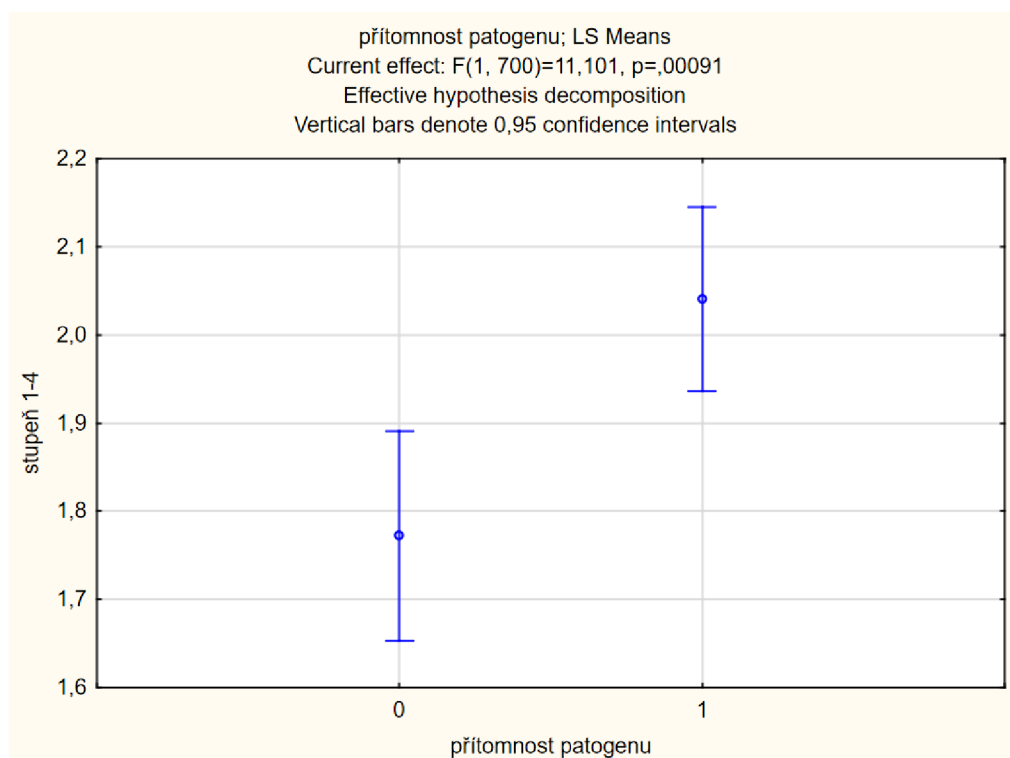
odrůda	Croquette		Inspiration	
bioprodukt	Obsah patogenu	SD	Obsah patogenu	SD
Hirundo	$8,7 \cdot 10^{-6}$	$\pm 5,75 \cdot 10^{-6}$	$9,687 \cdot 10^{-7}$	$\pm 6,746 \cdot 10^{-9}$
Prometheus	$4,422 \cdot 10^{-7}$	$\pm 5,065 \cdot 10^{-7}$	0	
Polyversum	0		$6,047 \cdot 10^{-7}$	$\pm 4,606 \cdot 10^{-7}$
Xilon	0		0	
Clonoplus	$8,884 \cdot 10^{-4}$	$\pm 0,00071$	0	
Gliorex	0		$1,004 \cdot 10^{-6}$	$\pm 7,257 \cdot 10^{-8}$
Integral Pro	$1,028 \cdot 10^{-6}$	$\pm 3,005 \cdot 10^{-8}$	$6,172 \cdot 10^{-7}$	$\pm 5,042 \cdot 10^{-7}$
Contans	0		0	
kontrola	0		$2,641 \cdot 10^{-4}$	$\pm 0,00041$

Tabulka 4: Obsah patogenu *V. longisporum* (g) v rostlinném materiálu (0,1 g) dvou odrůd řepky ozimé.

Odrůda má vliv na přítomnost patogenu *V. longisporum* v rostlině, tato skutečnost je uvedena v diskuzi.

4.4 Polní maloparcelkové pokusy 2018/19

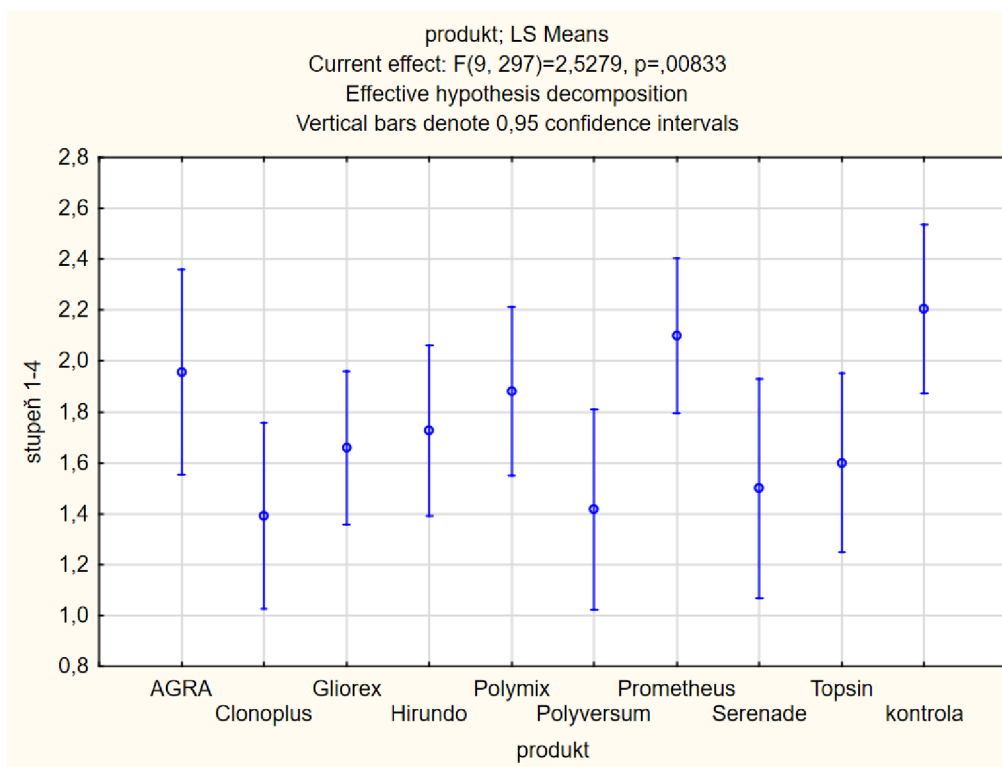
V polním maloparcelkovém pokusu na lokalitě Červený Újezd (Obrázek 15) byl statisticky významný rozdíl ($p=,00091$) ve zdravotním stavu porostu mezi parcelkami, kde byl inokulován patogen *V. longisporum* a následně ošetřen přípravky (1) a parcelkami pouze ošetřenými přípravky (0). Patogenem inokulované varianty mezi sebou neměly statisticky významné rozdíly ($p=,20303$). Zdravotní stav rostlin byl hodnocen na stupnici 1 (nejlepší) – 4 (nejhorší).



Obrázek 15: Rozdíl v hodnocení zdravotního stavu mezi variantou inokulovanou patogenem *V. longisporum* (1) a variantou bez inokulace (0) bez ohledu na variantu ošetření.

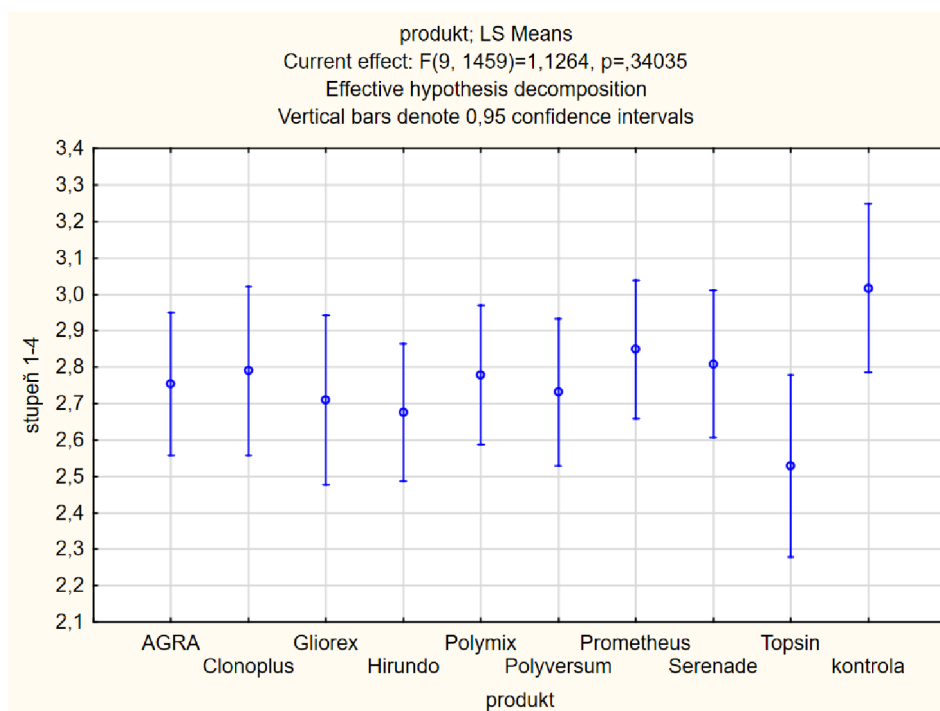
Varianty, které byly ošetřeny přípravky bez inokulace patogenu měly statisticky významné rozdíly ($p=,00833$) ve zdravotním stavu (Obrázek 16). Rozdíly byly zaznamenány mezi variantami: kontrola a Clonoplus, Gliorex, Hirundo, Polyversum, Serenade a Topsin; dále mezi Topsinem a Prometheus; dále mezi Serenade a Prometheus; dále mezi Prometheus a Clonoplus, Gliorex; a mezi AGRA a Clonoplus.

Produkty Clonoplus, Polyversum a Serenade dosáhly nejlepších výsledků, co se podpory zdravotního stavu týče.



Obrázek 16: Rozdíly v hodnocení zdravotního stavu mezi variantami bez inokulace patogenem z lokality Červený Újezd.

V polním maloparcelkovém pokusu na lokalitě ČZU (Obrázek 17) nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly ($p=,34035$) v hodnocení zdravotního stavu porostu mezi jednotlivými ošetřeními.



Obrázek 17: Rozdíly v hodnocení zdravotního stavu mezi variantami z lokality ČZU.

4.5 Polní maloparcelkové pokusy 2019/20

Hodnocení přezimování rostlin řepky ozimé

V rámci pokusu byla hodnocena i schopnost přezimování rostlin po aplikaci produktů. Byl spočítán počet rostlin na 1 m² v podzimním i jarním období a je uvedeno jako průměr za lokalitu (Tabulka 5). Jarní hodnocení na lokalitě Kujavy nebylo uskutečněno kvůli epidemii Covid – 19.

varianta	Podzim			Jaro			ø
	Trutnov	Kujavy	Chlumeč nad Cidlinou	Trutnov	Kujavy	Chlumeč nad Cidlinou	
1	41,6	53,3	28,4	33,7	x	25,7	36,54
2	41,2	49,3	30,8	36,3	x	23,7	36,26
3	40,4	50,3	27,2	31	x	21	33,98
4	47,2	49,7	25,2	34	x	24,8	36,18
5	38,4	53	30,8	32,7	x	26,7	36,32
6	40	52,7	25,2	32,3	x	21	34,24
7	43,2	51	25,2	32	x	24,7	35,22
8	45,2	49	23,6	39,3	x	23,7	36,16
9	47,2	54,3	26,8	34,7	x	23,3	37,26
10	44,8	52,3	28,4	33,7	x	24,7	36,78
11	50	45,3	33,2	33	x	24	37,1
12	50	49,7	27,6	30,3	x	24,3	36,38
13	47,2	53	25,2	34,3	x	23	36,54
14	52	41	23,2	32,7	x	22,3	34,24
15	40,4	53	30,8	28,3	x	27,3	35,96
16	49,2	43	29,2	39	x	25	37,08
17	42,8	49	28	31,3	x	23,7	34,96
ø	43,6	49	28	33,7	x	24,7	

Tabulka 5: Počet rostlin 1m² podzim/jaro (průměr ze 3 parcel) s využitím barevného škálování (nejtmavší=nejlepší).

Rozdíly mezi variantami bez ohledu na lokalitu nejsou nikterak významné, velké rozdíly byly v rámci jednotlivých lokalit a mezi lokalitami (hlavně v založení porostu), což se následně odrazilo i na celkovém zdravotním stavu porostu.

Hodnocení výskytu patogenů v porostech v jednotlivých variantách

Na jednotlivých lokalitách byla zjišťována přítomnost významných patogenů stonku řepky ozimé. Z lokality Chlumeč nad Cidlinou (Tabulka 6) je uvedeno dřívější hodnocení kvůli polehnutí porostu, kdy bylo ještě brzy pozorovat nouzové dozrávání (ND). Výskyt *L. maculans* byl hodnocen stupnicí 0 (nejlepší) – 4 (nejhorší).

Chlumeč nad Cidlinou				
varianta	<i>L. maculans</i> index výskytu	<i>B. cinerea</i> počet rostlin	<i>S. sclerotiorum</i> počet rostlin	ND
1	1,88	0	2	x
2	1,84	0	1	x
3	1,83	0	0	x
4	2,04	0	1	x
5	1,82	0	5	x
6	1,75	0	2	x
7	1,43	1	0	x
8	1,82	0	0	x
9	1,59	0	4	x
10	1,9	0	1	x
11	1,8	0	1	x
12	2,09	0	0	x
13	2	1	0	x
14	1,85	0	3	x
15	1,87	0	2	x
16	1,72	0	0	x
17	2,08	1	3	x

Tabulka 6: Závěrečné hodnocení chorob na stonku Chlumeč nad Cidlinou s využitím barevného škálování (nejtmavší=nejvíce napadené) z 2 m².

Napadení *L. maculans* na této lokalitě bylo výrazné. V hodnocení zdravotního stavu si velmi dobře vedla kombinace biologického a chemického přípravku - varianta č. 7 (Integral Pro + BAS 3x). Nejlepší zdravotní stav dosažený s pouze biologickým ošetřením byl dosažen variantou č. 16 (Flora 3x). Výskyt *S. sclerotiorum* a *B. cinerea* nebyl v tomto období zatím nijak výrazný.

Na lokalitě Trutnov (Tabulka 7) a Kujavy (Tabulka 8) došlo k hodnocení výskytu chorob v porostu těsně před sklizní.

varianta	Trutnov			
	<i>L. maculans</i> index výskytu	<i>B. cinerea</i> počet rostlin	<i>S. sclerotiorum</i> počet rostlin	ND
1	0,92	0	8	19
2	0,85	0	3	6
3	0,87	0	11	13
4	0,75	1	6	25
5	0,8	0	10	16
6	0,89	0	8	12
7	0,65	0	0	11
8	0,83	0	6	15
9	0,83	0	13	23
10	0,97	0	15	24
11	0,81	0	12	15
12	1,1	0	8	20
13	0,77	0	4	12
14	0,85	0	11	17
15	0,61	0	11	10
16	0,83	0	8	11
17	0,92	1	10	15

Tabulka 7 :Závěrečné hodnocení chorob na stonku Trutnov s využitím barevného škálování (nejtmavší=nejvíce napadené) z 2 m².

Výskyt patogenu *L. maculans* byl na lokalitě Trutnov nejnižší ze tří lokalit pokusu. Nejlepších výsledků v hodnocení zdravotního stavu dosáhla varianta č. 15 - bio stimulanty na podporu růstu (ALBIT + ALBIT Max 3x + CARBON Si 2x). Dobrého výsledku dosáhla i na této lokalitě varianta č. 7 (Integral Pro + BAS 3x).

Proti patogenu *S. sclerotiorum* se jako účinná ukázala opět varianta č. 7 (Integral Pro + BAS 3x). Dobrých výsledků dosáhly i varianty č. 2 - kombinace biologického a chemického přípravku (Contans + Serenade + Propulse) a č. 13 (v případě lokality Trutnov – Prometheus 3x).

Na problematiku nouzového dozrávání je neúčinnější varianta č. 2 (Contans + Serenade + Propulse). Nejmenšího výskytu patogenu po ošetření čistě biologickými produkty bylo dosaženo u varianty č. 15 (ALBIT + ALBIT Max 3x + CARBON Si 2x).

Výskyt patogenu *B. cinerea* v porostu byl zanedbatelný.

varianta	Kujavy			
	<i>L. maculans</i> index výskytu	<i>B. cinerea</i> počet rostlin	<i>S. sclerotiorum</i> počet rostlin	ND
1	1,49	1	12	10
2	0,99	0	6	4
3	1,33	2	6	9
4	1,46	0	5	6
5	2,15	0	3	19
6	1,48	1	3	6
7	0,97	0	0	2
8	1,7	0	2	14
9	1,65	0	5	10
10	1,65	0	7	22
11	1,43	0	6	10
12	1,74	0	7	5
13	1,14	0	10	6
14	1,53	0	5	8
15	1,57	0	3	11
16	1,9	0	5	10
17	1,85	0	4	12

Tabulka 8: Závěrečné hodnocení chorob na stonku Kujavy s využitím barevného škálování (nejtmavší=nejvíce napadené) z 2m².

Proti patogenu *L. maculans* nejlepších výsledků v hodnocení zdravotního stavu dosáhly varianty č. 2 (Contans + Serenade + Propulse) a č. 7 (Integral Pro + BAS 3x). Nejlepších výsledků po čistě biologickém ošetření dosáhla varianta č. 13 (v případě lokality Kujavy – Hirundo 3x).

Proti patogenu *S. sclerotiorum* se jako účinná ukázala opět varianta č. 7 (Integral Pro + BAS 3x), kdy opět nebyl žádný výskyt patogenu, stejně jako na lokalitě Trutnov. Nejnižšího výskytu patogenu po čistě biologickém ošetření bylo dosaženo ve variantách č. 5 (Polyversum na podzim), č. 6 (Polyversum při seti) a č. 15 (ALBIT + ALBIT Max 3x + CARBON Si 2x).

Na problematiku nouzového dozrávání je neúčinnější varianta č. 7 (Integral Pro + BAS 3x) a opět varianta č. 2 (Contans + Serenade + Propulse). Nejlepších výsledků při použití čistě biologické ochrany v případě nouzového dozrávání bylo dosaženo ve variantách č. 4 (Polyversum moření + na podzim), č.6 (Polyversum při seti) a č. 13 (Hirundo 3x).

Výskyt patogenu *B. cinerea* v porostu byl zanedbatelný.

Hodnocení výnosových prvků na jednotlivých variantách - Výnos

Jednotlivé stanice provedly hodnocení výnosu (Tabulka 9). Nejlepšího výnosu bylo dosaženo na lokalitě Chlumec nad Cidlinou, což bylo neočekávané vzhledem ke špatnému zdravotnímu stavu porostu a následnému polehnutí. Statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými variantami bez ohledu na lokalitu nebyly zjištěny ($p=,99848$) ovšem mezi lokalitami bez ohledu na variantu statisticky významné rozdíly existují ($p=,0000$).

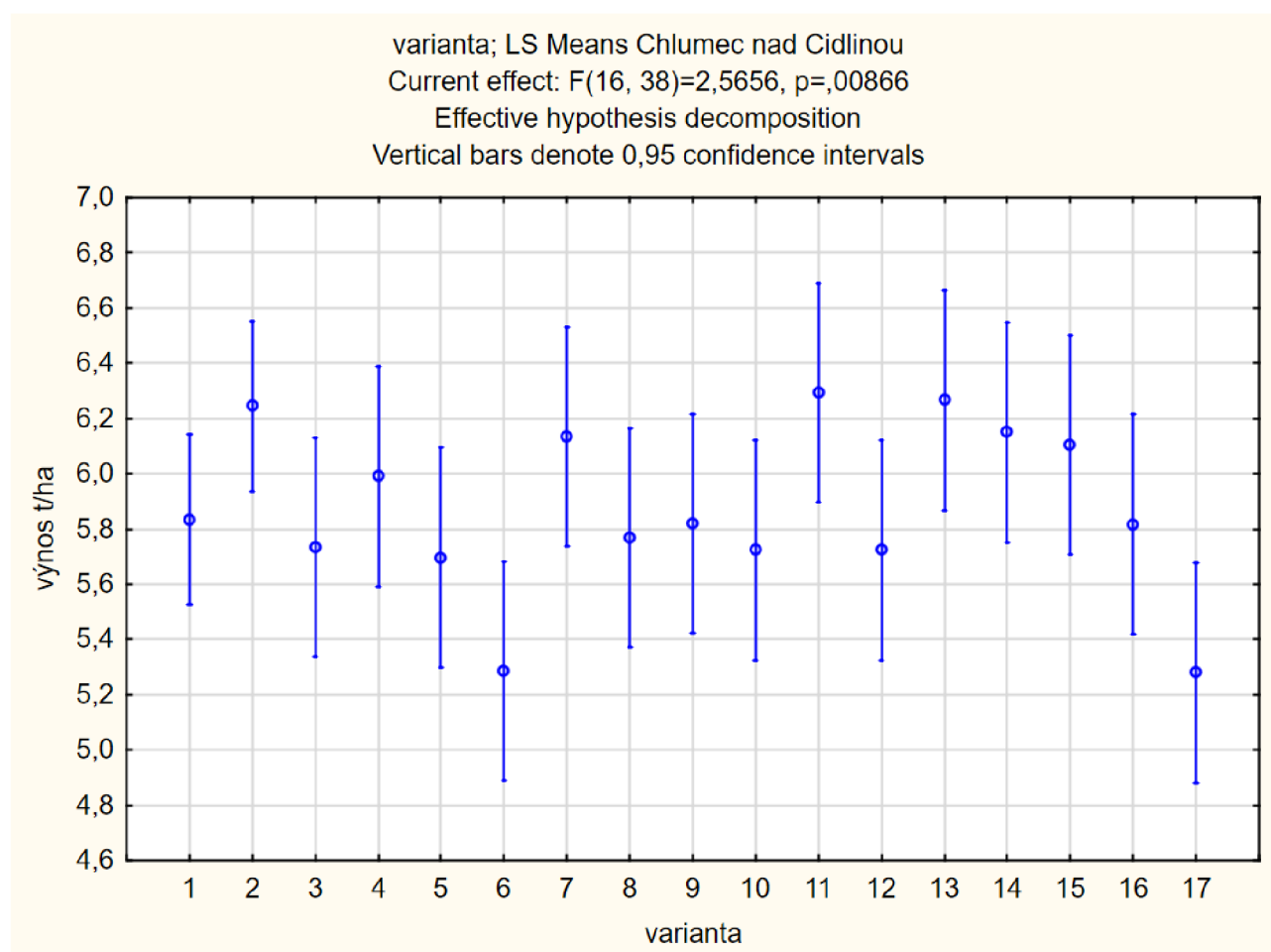
varianta	Trutnov	%	Chlumec nad Cidlinou	%	Kujavy	%
1	5,57	103,92	5,83	110,42	4,05	108,29
2	5,83	108,77	6,24	118,18	4,43	118,45
3	5,57	103,92	5,73	108,52	4,09	109,36
4	5,68	105,97	5,99	113,45	4,1	109,63
5	5,53	103,17	5,7	107,95	4,06	108,56
6	5,65	105,41	5,29	100,19	4,14	110,7
7	5,88	109,7	6,13	116,10	4,42	118,18
8	5,51	102,8	5,77	109,28	4,13	110,43
9	5,51	102,8	5,82	110,23	4,04	108,02
10	5,48	102,24	5,72	108,33	3,87	103,48
11	5,61	104,66	6,29	119,13	3,84	102,67
12	5,62	104,85	5,72	108,33	4,02	107,49
13	5,83	108,77	6,27	118,75	4	106,95
14	5,35	99,81	6,15	116,48	3,79	101,34
15	5,49	102,43	6,1	115,53	3,93	105,08
16	5,55	103,54	5,82	110,23	4,07	108,82
17	5,36		5,28		3,74	
ø	5,59		5,87		4,04	

Tabulka 9: Výnos na lokalitách při 8 % vlhkosti, vyjádřeno v % vůči kontrole (100 %) s využitím barevného škálování (nejtmavší=nejlepší).

Procentuální vyjádření bylo použito k sledování výnosově nejlepších variant celého pokusu bez ohledu na lokalitu ($p=,0000$). Nejlepšího výsledku dosáhla varianta č. 2 (115,87 %), č. 7 (115,55 %), č. 13 (110,27 %).

Na lokalitě Trutnově nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly mezi variantami ($p=,13245$). Ovšem rozdíl mezi výnosově nejvýkonnější variantou a nejméně výkonnou variantou je 9,89 %, což v zemědělské praxi představuje již významný, hlavně ekonomický, rozdíl. Nejlepších výnosových výsledků (o 9,7 % vyšší než kontrola) na lokalitě dosáhla varianta č. 7 (Integral Pro + BAS 3x), tedy kombinace biologické a chemické ochrany. Výnosově nejlepší čistě biologická varianta je č. 13 (Prometheus), která oproti kontrole měla výnos vyšší o 8,77 %.

Na lokalitě Chlumeck nad Cidlinou (Obrázek 18) jsou statisticky významné rozdíly ve výnosu ($p=,00866$) mezi variantami.

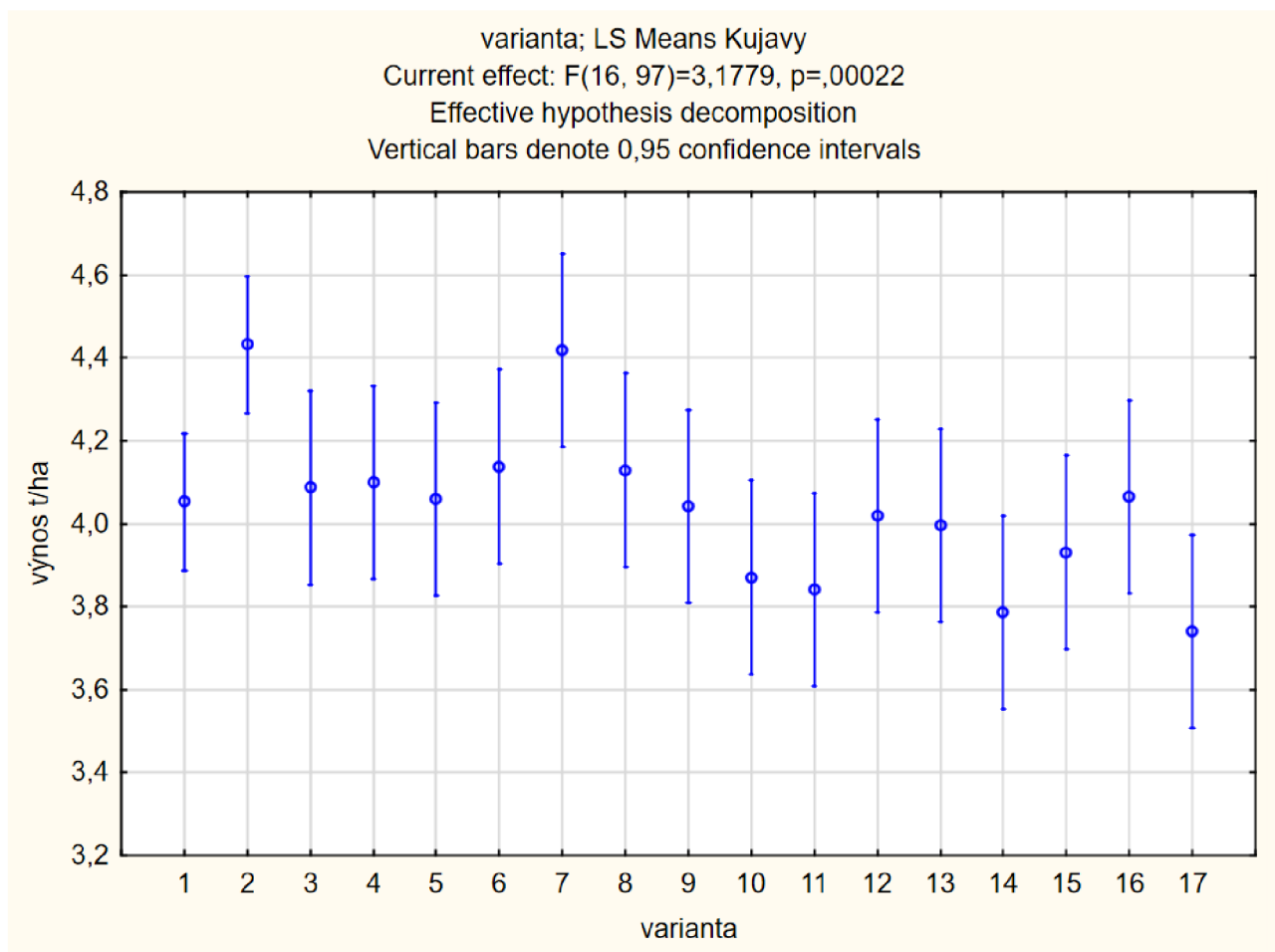


Obrázek 18: Rozdíly v hodnocení výnosu při 8% vlhkosti mezi variantami z lokality Chlumeck nad Cidlinou.

Statisticky významné rozdíly byly zaznamenány mezi variantami: č. 1 (Contans před setím) a č. 6 (Polyversum při setí), č. 17 (kontrola); dále mezi variantami č. 2 (Contans + Serenade + Propulse) a č. 3 (Polyversum moření), č. 5 (Polyversum na podzim), č. 6 (Polyversum při setí), č. 10 (TS Silos), č. 12 (Polyversum + Tonivit), č. 17; mezi variantami č. 4 (Polyversum moření + na podzim) a č. 6 (Polyversum při setí), č. 17; mezi variantami č. 5 (Polyversum na podzim) a č. 2, č. 11 (Xilon), č. 13 (Hirundo 3x); mezi variantami č. 6 (Polyversum při setí) a č. 1, č. 2, č. 4, č. 7 (Integral Pro + BAS 3x), č. 11 (Xilon), č. 13 (Hirundo 3x), č. 14 (ALBIT + ALBIT Max 3x + FUMAG 6NK-SB 2x), č. 15 (ALBIT + ALBIT Max 3x + CARBON Si 2x); mezi variantami č. 7 a č. 6, č. 17; mezi variantami č. 10 (TS Silos) a č. 2, č. 11 (Xilon); variantami č. 11 (Xilon) a č. 5, č. 6, č. 10, č. 12 (Polyversum + Tonivit), č. 17; a také mezi variantami č. 17 a č. 13, č. 14, č. 15.

Dle procentuálního vyjádření je rozdíl mezi výnosově nejlepší a nejhorší variantou 19,13 %. Nejlepšího výsledku v hodnocení výnosu dosáhla varianta č. 11, přípravek Xilon.

Na lokalitě Kujavy (Obrázek 19) jsou statisticky významné rozdíly ve výnosu ($p=,00022$) mezi variantami.



Obrázek 19: Rozdíly v hodnocení výnosu při 8% vlhkosti mezi variantami z lokality Kujavy.

Statisticky významné rozdíly byly zaznamenány mezi variantami: č. 2 (Contans + Serenade + Propulse) a všemi variantami pokusu kromě č. 7 (Integral Pro + BAS 3x); mezi variantami č. 7 (Integral Pro + BAS 3x) a všemi variantami kromě č. 2, č. 4 (Polyversum moření + na podzim), č. 6 (Polyversum při setí), č. 8 (Topsin na podzim); mezi variantami č. 1 (Contans před setím) a č. 2, č. 7, č. 17 (kontrola); mezi variantami č. 3 (Polyversum moření) a č. 2, č. 7, č. 17 (kontrola); mezi variantami č. 4 (Polyversum moření + na podzim) a č. 2, č. 17 (kontrola); mezi variantami č. 5 (Polyversum na podzim) a č. 2, č. 7; mezi variantami č. 6 a č. 2, č. 14 (ALBIT + ALBIT Max 3x + FUMAG 6NK-SB 2x), č. 17 (kontrola); a také mezi variantami č. 8 (Topsin na podzim) a č. 2, č. 14 (ALBIT + ALBIT Max 3x + FUMAG 6NK-SB 2x), č. 17 (kontrola).

Dle procentuálního vyjádření je rozdíl mezi výnosově nejlepší a nejhorší variantou 18,45 %. Nejlepšího výsledku v hodnocení výnosu dosáhla varianta č. 2, nejlépe výnosově hodnocená varianta s čistě biologickým ošetřením je varianta č. 6.

Olejnatost a HTS

Na lokalitě Trutnov byla hodnocena olejnatost a HTS (hmotnost tisíce semen) ve třech opakováních pokusu, na lokalitě Chlumeck nad Cidlinou byly získány hodnoty olejnatosti a HTS z jednoho opakování (Tabulka 10). Výsledky byly vyjádřeny v % vůči kontrole (100 %).

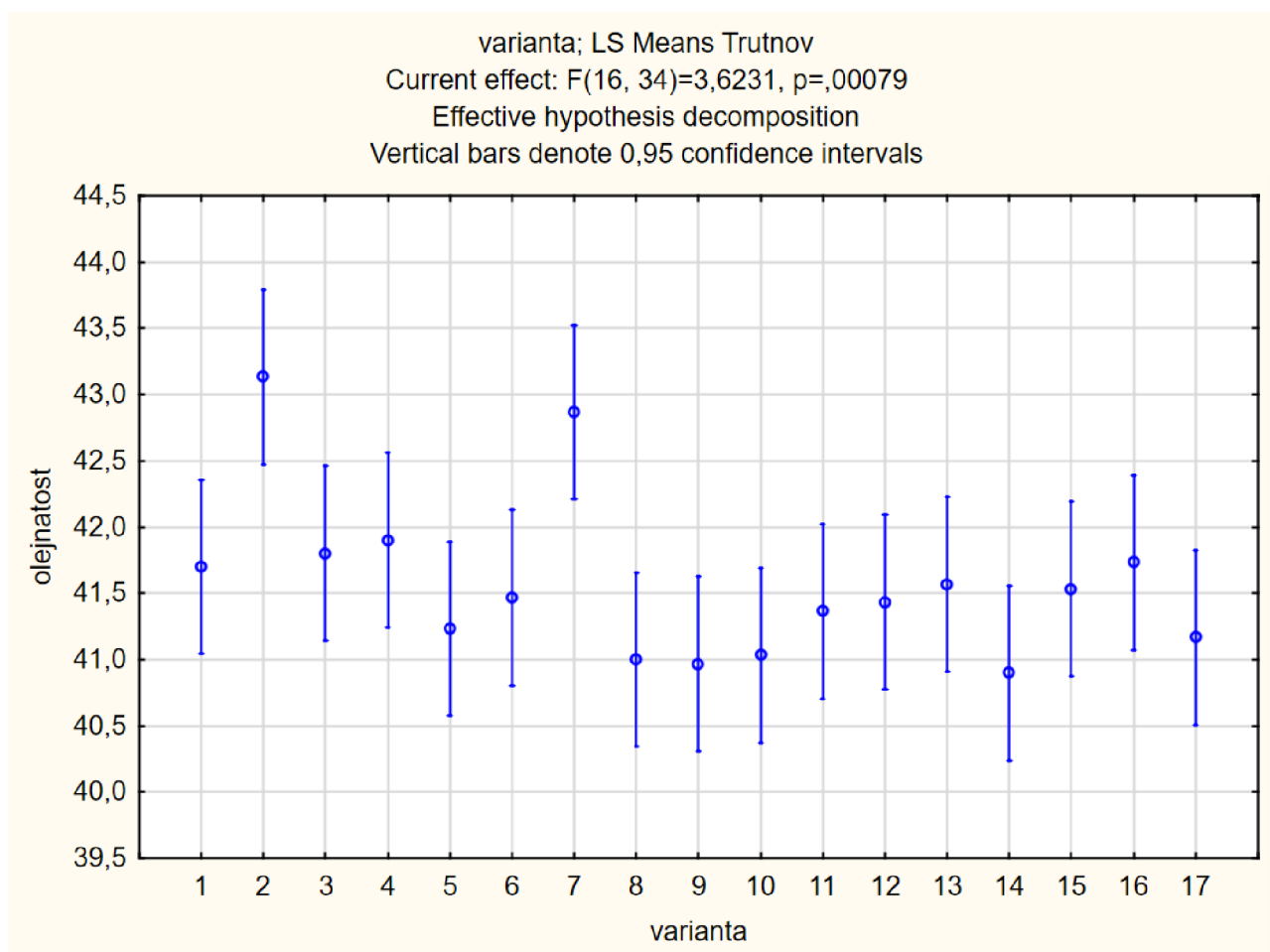
lokalita	Trutnov				Chlumeck nad Cidlinou			
	HTS		olejnatost		HTS		olejnatost	
		%		%		%		%
1	4,47	104,44	41,7	101,29	4,04	103,06	40,87	101,59
2	4,65	108,64	43,13	104,76	4,17	106,38	41,33	102,73
3	4,43	103,5	41,8	101,53	4,14	105,61	41,16	102,31
4	4,35	101,64	41,9	101,77	4	102,04	40,67	101,09
5	4,3	100,47	41,23	100,15	3,97	101,28	41,23	102,49
6	4,26	99,53	41,47	100,73	4,08	104,08	41,6	103,41
7	4,51	105,37	42,87	104,13	4,02	102,55	40,95	101,79
8	4,31	100,7	41	99,59	3,9	99,49	40,23	100
9	4,4	102,8	40,97	99,51	4,08	104,08	40,68	101,12
10	4,28	100	41,03	99,66	4,09	104,34	40,63	100,99
11	4,47	104,44	41,37	100,49	3,96	101,02	39,93	99,25
12	4,35	101,64	41,43	100,63	3,91	99,74	40,66	101,07
13	4,35	101,64	41,57	100,97	4,01	102,3	40,7	101,17
14	4,39	102,57	40,9	99,34	3,85	98,21	40,38	100,37
15	4,21	98,36	41,53	100,87	3,91	99,74	40,96	101,81
16	4,38	102,34	41,73	101,36	3,88	98,98	40,56	100,82

17	4,28	41,17	3,92	40,23
----	------	-------	------	-------

Tabulka 10: Olejnatost a HTS na lokalitě Trutnov a Chlumeck nad Cidlinou, vyjádřeno v % vůči kontrole (100 %) s využitím barevného škálování (nejtmavší=nejlepší).

V Chlumci nad Cidlinou nelze provést statistická hodnocení, ale je možné uvést varianty, které byly v prvním opakování nadprůměrné, co se olejnatosti a HTS týče. Nejvyšší olejnatost byla dosažena na variantě č. 6 (Polyversum při seti) s rozdílem proti nejhorší variantě 4,16 %. Nejvyššího HTS bylo dosaženo na variantě č. 2 (Contans + Serenade + Propulse) s rozdílem oproti nejhorší variantě 8,17 %.

Na lokalitě Trutnov (Obrázek 20) jsou statisticky významné rozdíly v olejnatosti ($p=,00079$) mezi variantami.



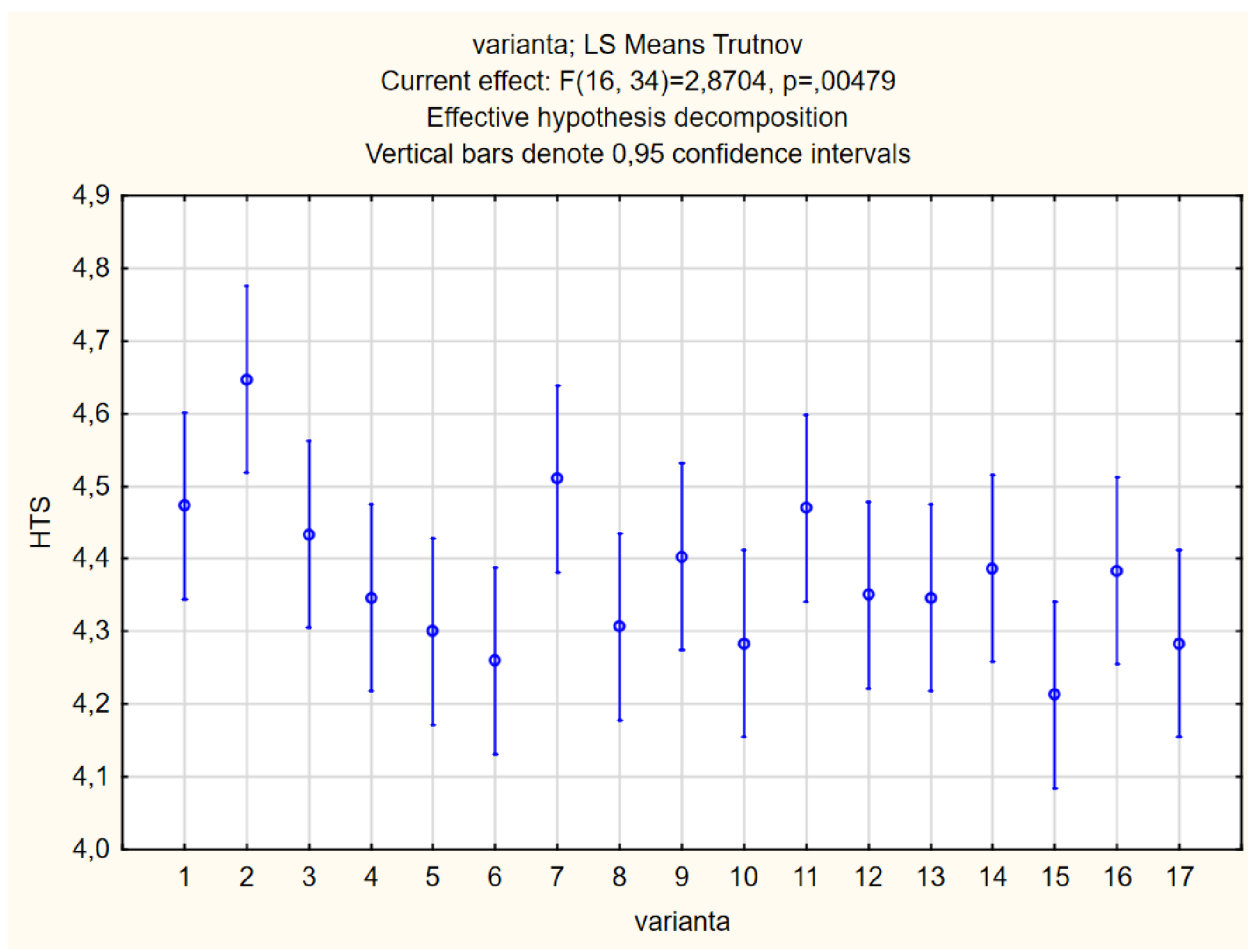
Obrázek 20: Rozdíly v hodnocení olejnatosti mezi variantami z lokality Trutnov.

Statisticky významné rozdíly byly zaznamenány mezi variantami: č. 2 (Contans + Serenade + Propulse) a všemi variantami pokusu kromě č. 7 (Integral Pro + BAS 3x); mezi variantami č. 7 (Integral Pro + BAS 3x) a všemi variantami kromě č. 2; a také mezi variantami č. 4 (Polyversum

moření + na podzim) a č. 2, č. 7, č. 9 (Topsin na jaře), č. 14 (ALBIT + ALBIT Max 3x + FUMAG 6NK-SB 2x).

Dle procentuálního vyjádření je rozdíl mezi výnosově nejlepší a nejhorší variantou 5,42 %. Nejlepšího výsledku dosáhly varianty č. 2 a č. 7, nejlépe výnosově hodnocená varianta s čistě biologickým ošetřením je varianta č. 4 (Polyversum moření + na podzim).

Na lokalitě Trutnov (Obrázek 21) jsou statisticky významné rozdíly v HTS ($p=,00479$) mezi variantami.



Obrázek 21: Rozdíly v hodnocení HTS mezi variantami z lokality Trutnov.

Statisticky významné rozdíly byly zaznamenány mezi variantami: č. 1 (Contans před setím) a č. 6 (Polyversum při setí), č. 10 (TS Silos), č. 15 (ALBIT + ALBIT Max 3x + CARBON Si 2x), č. 17 (kontrola); mezi variantami č. 2 (Contans + Serenade + Propulse) a všemi variantami kromě č. 1, č. 7 (Integral Pro + BAS 3x), č. 11 (Xilon); mezi variantami č. 3 (Polyversum moření) a č. 2, č. 15, mezi variantami č. 4 a č. 2; mezi variantami č. 5 (Polyversum na podzim) a č. 2, č. 7 (Integral Pro + BAS 3x); mezi variantami č. 6 (Polyversum při setí) a č. 1, č. 2, č. 7 (Integral Pro + BAS 3x), č. 11 (Xilon); mezi variantami č. 7 a č. 5, č. 6, č. 8 (Topsin na podzim), č. 10 (TS Silos), č. 15, č. 17

(kontrola); mezi variantami č. 8 a č. 2, č. 7; mezi variantami č. 9 (Topsin na jaře) a č. 2, č. 15; mezi variantami č. 10 (TS Silos) a č. 1, č. 2, č. 7, č. 11 (Xilon); a také mezi variantami č. 11 a č. 6, č. 10, č. 15 (ALBIT + ALBIT Max 3x + CARBON Si 2x), č. 17 (kontrola).

Dle procentuálního vyjádření je rozdíl mezi výnosově nejlepší a nejhorší variantou 10,28 %.

Nejlepšího výsledku dosáhla varianta č. 2, nejlépe výnosově hodnocená varianta s čistě biologickým ošetřením jsou varianty č. 1 (Contans před setím) a č. 11 (Xilon).

Poměr zelených a suchých stonků na strništi

Na variantách č. 2 (Contans + Serenade + Propulse) a č. 7 (Integral Pro + BAS 3x) byl zaznamenán nejlepší procentuální poměr zelených stonků vůči suchým na parcelce na všech lokalitách (Tabulka 11). U obou variant byla zaznamenána přítomnost patogenu v porostech. Zároveň lokalita Kujavy, měla jeden pozitivní nález patogenu *V. longisporum* (Obrázek 25) a poměry zelených stonků vůči suchým jsou velmi nízké ve srovnání s lokalitou Trutnov (Obrázek 24), kde byly nálezy patogenu na pozemku v rozmezí 0 až 10^{-4} .

	Trutnov (%)	Chlumec n. C. (%)	Kujavy (%)
1	39,37	13,46	14,08
2	69,43	21,26	34,52
3	33,80	12,98	16,87
4	37,18	16,82	12,50
5	40,00	10,57	23,29
6	33,08	8,77	16,67
7	67,94	21,10	29,79
8	49,66	9,01	12,66
9	48,92	12,98	16,67
10	36,59	14,29	12,68
11	37,68	8,49	6,76
12	36,80	10,71	22,06
13	50,00	14,95	16,36
14	44,53	10,47	20,24
15	46,11	11,63	28,05
16	38,73	7,88	14,52
17	39,24	6,86	20,00
Ø	44,06	12,48	18,69

Tabulka 11: Poměr zelených vůči suchým stonkům na strništi. Uvedeno v % zastoupení zelených stonků (nejtmavší=nejlepší).

Diagnostické hodnocení přítomnosti patogenu *V. longisporum*

Obsah patogenu *V. longisporum* nevykázal statisticky významné rozdíly mezi variantami bez ohledu na lokalitu ($p=,65851$). Ani rozdíly v obsahu patogenu mezi jednotlivými lokalitami bez ohledu na variantu nebyly statisticky významné ($p=,11721$). Na lokalitě Chlumec nad Cidlinou ($p=,43665$) a Trutnov ($p=,60611$) nebyly statisticky významné rozdíly mezi variantami. Na lokalitě Kujavy byl pouze jeden nález patogenu *V. longisporum*.

I když nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly, rozmezí výskytu patogenu se pohybovalo od 0 do 10^{-4} a nálezy byly různě rozmístěny po pokusném pozemku (Obrázky 23, 24 a 25).

4	11	6	17	13	10	x	2	x	3	9	x	14	x	x	16	15	5	1	x	x	x	8	12	7
0	0	0	0	0	9,84E-05	x	0	x	8,67E-04	0	x	9,39E-07	x	x	0	0	0	0	x	x	x	0	9,91E-07	0
x	7	x	10	5	x	x	16	x	9	14	12	15	13	x	1	x	6	x	17	11	4	8	3	2
x	0	x	0	0	x	0	x	8,41E-07	0	0	0	0	x	9,43E-07	x	9,23E-05	x	0	0	9,04E-07	0	9,38E-05	9,13E-05	
1	2	3	4	5	6	7	x	8	9	10	11	x	12	x	13	14	15	x	x	x	x	16	x	17
9,08E-05	0	0	0	0	8,89E-07	9,50E-07	x	0	9,23E-07	8,50E-04	9,04E-06	x	0	x	9,29E-07	8,96E-07	9,47E-07	x	x	x	x	7,77E-04	x	8,92E-07

Obrázek 22: Rozložení patogenu *V. longisporum* (g) v rostlinném materiálu (0,1 g) na pokusném pozemku v Chlumci nad Cidlinou s využitím barevného škálování (nejtmavší=nejvíce napadené).

16	x	3	14	1	15	5	13	x	2	6	12	7	x	17	x	x	x	4	8	11	x	10	9
0	x	0	0	0	0	0	0	x	0	9,80E-07	0	0	x	0	x	x	x	9,37E-07	0	0	x	9,48E-06	0
2	8	16	17	7	1	3	12	x	x	4	13	x	11	5	10	6	x	15	x	x	9	14	x
9,98E-07	0	0	0	0	7,56E-04	0	0	x	x	0	0	x	0	0	0	9,51E-06	x	0	x	x	0	0	x
1	2	3	4	5	6	7	x	8	9	10	11	x	12	13	14	15	x	x	x	x	16	x	17
9,87E-06	9,43E-06	0	9,41E-07	9,59E-07	0	0	x	0	9,19E-05	8,98E-05	9,59E-06	x	9,84E-06	8,40E-04	9,81E-05	9,12E-05	x	x	x	x	9,40E-07	x	8,7E-05

Obrázek 23: Rozložení patogenu *V. longisporum* (g) v rostlinném materiálu (0,1 g) na pokusném pozemku v Trutnově s využitím barevného škálování (nejtmavší=nejvíce napadené).

8	11	7	x	14	2	x	x		3	x	1		
0	0	0	x	0	0	x	x		0	x	0		
5	9	15	x	10	12	16	17	x	6	x	13	4	
0	0	0	x	0	0	0	0	x	0	x	0	0	
x	x	x	13	7	11	x	9	12	2		x	15	
x	x	x	0	0	0	x	0	0	0	0	x	0	
3	14	17	5	x	8	1	10		16	4	x	6	
0	0	0	0	x	0	0	0		0	0	x	0	
17	x	16	x	x	x	x	15	14		13	12	x	11
0	x	0	x	x	x	x	0	0	9,04E-07	0	x	0	
1	2	3	4	5	6	7	x			8	9	10	
0	0	0	0	0	0	0	x			0	0	0	

Obrázek 24: Rozložení patogenu *V. longisporum* (g) v rostlinném materiálu (0,1 g) na pokusném pozemku v Kujavách s využitím barevného škálování (nejtmavší=nejvíce napadené).

5 Diskuze

5.1 In vitro testování

Různé sloučeniny, enzymy a metabolity, jsou produkovány in situ v nízkých koncentracích, potenciál mikroorganismů produkovat takové sloučeniny in vitro nemusí nutně korelovat s jejich in situ antagonismem. Produkce sekundárních metabolitů závisí na koncentraci živin a složení zvoleného média (Köhl a kol., 2019). Běžná živná média jsou přibližně 100krát bohatší na živiny ve srovnání s rhizosférou a objemné půdy jsou ještě mnohem méně bohaté na živiny (Lugtenberg a kol., 2017). V důsledku toho jsou množství sekundárních metabolitů v systémech in vitro mnohem vyšší než na přirozených stanovištích. Kromě toho jsou agarová média nebo kapalná média ideální pro difúzi, což není případ biotopů, jako je půda nebo povrchy listů (Knudsen a kol., 1997).

Většina dosud testovaných MBCA vykazuje in vitro antagonismus proti *Verticillium* spp., ale možná antibiόza in situ nebyla prokázána. In vitro testování proti *Verticillium* spp. většinou nekoreluje s aktivitou biologické kontroly u rostlin in situ (Deketelaere a kol., 2017). Několik studií prokázalo, že antagonismus in vitro nepředpovídá antagonismus v polních situacích (Knudsen a kol., 1997). Toto tvrzení nelze vyvrátit i na základě výsledků dosažených v předložených testováních:

U bioproduktu Xilon (*Trichoderma asperellum* T34) bylo v in vitro podmínkách dosaženo 100% inhibice patogenu *V. longisporum*, ve skleníkových pokusech nebyla také zaznamenána žádná přítomnost patogenu, ale polních maloparcelkových pokusech byly nálezy patogenu na dvou lokalitách, ve 3 různých opakováních. U bioproduktu Contans (*Coniothyrium minitans* NOC/M/91-08) bylo taktéž dosaženo 100% inhibice v in vitro i skleníkových pokusech, následně v polních pokusech byla zaznamenána přítomnost patogenu na dvou lokalitách, ve 4 různých opakováních.

Mezi nejvíce prozkoumané potencionální MCBA, které vykazují schopnosti inhibice in vitro, patří organismy z rodů *Trihoderma* a *Clonostachys* (Köhl a kol., 2019), které byly též zařazeny do in vitro pokusů a dosahovaly v in vitro pokusech 100% inhibice patogenu.

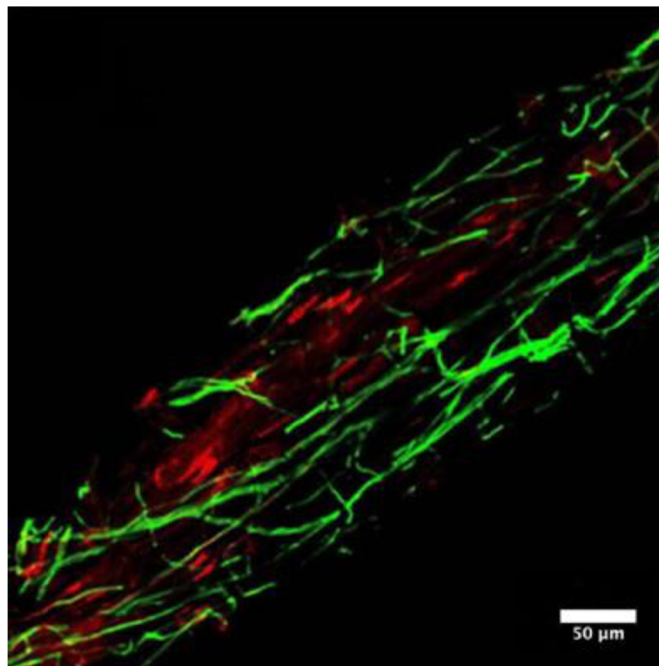
5.2 Skleníkové pokusy

Z výsledků skleníkového experimentu 2019/20 lze usuzovat, že odrůda má silný vliv na chování patogenu *V. longisporum*. Na odrůdě Inspiration byl zjištěn patogen ve vzorcích kontrolní varianty, ale nebyly pozitivní vzorky na variantách s bioprodukty Contans, Clonoplus, Xilon a Prometheus. U odrůdy Croquette nebyl v kontrole zjištěna přítomnost patogenu, stejně tak

u variant s bioprodukty Contans, Gliorex, Xilon a Polyversum. V několika pokusech bylo ověřeno, že u kultivarů *B. napus* existují různé stupně rezistence vůči *V. longisporum* (Lopisso a kol., 2017; Depotter a kol., 2017).

V polních podmínkách se infekce objevuje již na podzim (Zeise a Seidel, 1990), iniciovaná kořenovými exsudáty z hostitelských rostlin, mikrosklerocia klíčí, tvoří hyfy, které se přichytí na povrch kořene a infikují rostlinu (Mol, 1995).

V kontrolovaných podmínkách je možné vidět po 21 dnech od inokulace typické příznaky jako je zpomalení růstu a částečné žloutnutí (až bělení) listů (Obrázek 6). Průnik houby do kořene rostliny je možné detekovat 60 hodin po inokulaci (Zheng a kol., 2019). Během stáže na Georg-August-Universität Göttingen byly pořízeny snímky z konfokálního mikroskopu (Obrázek 26), které byly později vydány (Vega-Marin a Tiedemann, 2023), kde je jasně viditelné prorůstání mycelia patogenu mladou rostlinou 3 dny po inokulaci patogenem. Na základě tohoto zjištění lze předpokládat, že hlavní ochrana proti *V. longisporum* musí být provedena nejlépe před založením porostu (popř. při založení porostu), aby se omezil výskyt patogenu, jelikož vstup patogenu do rostlin je velmi rychlý a pozdější zásahy nezabrání patogenu v infikaci rostlin.



Obrázek 25: Růst hyf VL43 v prodlužovací zóně kořene 3 dny po inokulaci. Hyfy (zelené) byly obarveny Alexa Fluor a kořeny (červeně) propidium jodidem (Vega-Marin a Tiedemann, 2023).

Stanovení hub z rodu *Verticillium* během vegetace je v polních podmínkách bez použití molekulárních metod (real-time PCR) velmi obtížné (*Verticillium* spp. lze stanovit kvantifikací množství mikrosklerocií přítomných v subepidermální tkáni stonku, ale tuto metodu lze použít

pouze v saprofytickém životním stádiu patogenu) (Zeise, 1992). Metodu real-time PCR lze použít k detekci houby v rostlině již v rané fázi a během její biotrofní životní fáze (Knüfer, 2011). Tato skutečnost byla potvrzena na rostlinách ve vývojové fázi BBCH 14-16.

5.3 Polní maloparcelkové pokusy

V polních maloparcelkových pokusech byla otestována celá řada přípravků na ochranu rostlin a bioproduktů, které měly buďto eliminovat/omezit výskyt patogenu *V. longisporum* nebo posílit rostlinu tak, aby byla i po napadení patogenem výnosu schopná, jelikož účinek MBCAs podporující růst rostlin může působit proti nepříznivému účinku patogenních druhů *Verticillium* na výnos plodin (Deketelaere a kol., 2017).

Dunker a kol. (2008) předpokládají, že teploty půdy a vzduchu mohou být důležitými proměnnými určujícími kolonizaci řepky ozimé patogenem na poli. Byl prokázán významný nárůst kolonizace řepky ozimé patogenem *V. longisporum*, když byly teploty půdy zvýšeny o 1,6 resp. 3,2°C vzhledem k okolní teplotě, což ukazuje na vyšší zranitelnost na jaře zasetých plodin rostoucích do teplejšího období (Siebold a Tiedemann, 2013). V předložených 2019/20 pokusech obsah patogenu na jednotlivých variantách nedosahoval statisticky významných rozdílů a z Obrázků 23, 24 a 25 je patrné nerovnoměrné rozložení patogenu na pozemku.

Výnosy na jednotlivých lokalitách v pokusech 2019/20 vykazují statisticky významné rozdíly. Depotter a kol. (2019) uvádějí, že *V. longisporum* pravděpodobně trvale neovlivňuje výnos řepky olejky, a to i přes výskyt hojných příznaků onemocnění. Pravděpodobnost infekce záleží na množství inokula v půdě a počasí v sezóně. Statistické rozdíly ve výnosu lze přisoudit aplikacím jednotlivých produktů, které měly většinou pozitivní vliv na výnosové parametry (oproti kontrole).

Z obou ročníků polních maloparcelkových pokusů lze usoudit, že jednotlivé aplikace mají převážně pozitivní efekt na zdravotní stav rostlin a výskyt patogenů na řepce ozimé. Nejlepších výsledků je dosaženo při kombinaci chemické a biologické ochrany a to tak, že biologická ochrana je aplikována před či při seti, aby bylo zamezeno mikrosklerociím v napadení kořenového vlášení.

U několika druhů bakterií (např. *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp.) a hub (např. *Pythium oligandrum*, *Clonostachys* spp., *Trichoderma* spp.) je pozorován antagonistický efekt vůči *V. longisporum*, který má za následek výraznou redukci patogenu v půdě (Li a kol., 2007, Mercado – Blanco a kol., 2004, Hanson, 2000). Dosažené výsledky z předložených pokusů se shodují se závěry v literatuře, jelikož bioprodukty založené na těchto organismech dosáhly zlepšení zdravotního stavu rostlin (proti kontrole).

Pro vhodné použití biologické ochrany je nutné správné určení škůdců a znalost jejich bionomie (způsob života a soužití organismů), dále znalost bionomie užitečných organismů, působení biologických přípravků a jejich vztahu ke škodlivým organismům (Bagar, 2011). Jako je možné pozorovat na 4 variantách v polních maloparcelkových pokusech 2019/20, kde je použit přípravek Polyversum v různých termínech aplikace za dosažení jiných výnosových hodnot i rozdílných stupňů napadení patogeny.

Pochopení mechanismu účinku MBCA je zásadní pro dosažení optimální kontroly onemocnění. Je také důležité porozumět způsobu účinku, aby bylo možné charakterizovat možná rizika pro člověka nebo životní prostředí a rizika pro rozvoj rezistence vůči MBCA (Köhl a kol., 2019). Na základě těchto skutečností se vyvíjí i nové podmínky pro povolování MBCA, které vyjdou v platnost listopadu roku 2024, kde se v rámci registrace předpokládá dokazování např. právě toho, že není možný vznik rezistence či není ohrožena bezpečnost lidí.

6 Závěr

1) Byla potvrzena hypotéza, že existují mikroorganismy, které mají inhibiční účinky na růst/ patogenu *V. longisporum* a mohly by posloužit jako možný způsob ochrany proti tomuto patogenu v praxi. Daná hypotéza byla potvrzena výsledky pokusů.

Na základě polních pokusů 2019/20 byl přípravek Contans registrován pro použití v řepce olejce proti patogenu *V. longisporum*.

2) Byla potvrzena hypotéza, že patogen *V. longisporum* napadá kořenový systém řepky ozimé již v podzimním období, a že pomocí diagnostické metody Real-Time PCR lze určit přítomnost patogenu již u mladé rostliny v BBCH 14-16. Zároveň během studijního pobytu na Georg-August-Universität Göttingen byly získány snímky kořenů mladých rostlin (BBCH 12), které byly inokulovány patogenem *V. longisporum*. Po 3 dnech od inokulace byly průřezy kořínku nasnímány konfokálním mikroskopem, kde bylo viditelné prorůstání patogenu v pletivech (Obrázek 25).

Stanovené cíle byly splněny.

Shrnutí

Testování in vitro může odhalit predispozice jednotlivých organismů jako potenciálně možné účinné látky proti *V. longisporum*, ale ne vždy musí odpovídat účinnost in vitro účinnosti in situ. Skleníkové a polní pokusy lépe odhalí potenciální vliv jednotlivých organismů proti *V. longisporum*. Mikroorganismy i jiné biologické látky mají mnoho způsobů účinků, které mají vliv na výnosové parametry. Vzhledem k dalším restrikcím v oblasti konvenční fungicidní ochrany je stále potřeba testovat další možné potenciální mikroorganismy, které jsou účinné proti patogenům, nejen proti rodu *Verticillium*.

V předložených polních pokusech 2019/20 je demonstrováno, že spojení chemické a biologické ochrany může vést nejenom ke zlepšení zdravotního stavu porostu, ale také zvýšení výnosových prvků.

7 Seznam použité literatury

- Abo-Elyousr, K.A.M., Abdel-Hafez, S.I.I., Abdel-Rahim, I.R. (2014). Isolation of *Trichoderma* and evaluation of their antagonistic potential against *Alternaria porri*. *Journal of Phytopathology* 162, 567-574.
- Adams, P. B., Ayers, W. A. (1979). Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 69:896–899
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*, 5th Edn. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Ahmed, A. H. M., Tribe, H. T. (1977). Biological control of white rot of onion (*Sclerotium cepivorum*) by *Coniothyrium minitans*. *Plant Pathology*, 26, 75–78.
- Alizadeh, H., Behboudi, K., Ahmadzadeh, M., Javan- Nikkhah, M., Zamioudis, C., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M. (2013). Induced systemic resistance in cucumber and *Arabidopsis thaliana* by the combination of *Trichoderma harzianum* Tr6 and *Pseudomonas* sp. Ps14. *Biological Control* 65, 14-23.
- Alkooranee, J.T., Aledan, T.R., Ali, A.K., Lu, G., Zhang, X., Wu, J., Fu, C., Li, M. (2017). Detecting the hormonal pathways in oilseed rape behind induced systemic resistance by *Trichoderma harzianum* TH12 to *Sclerotinia sclerotiorum*. *PLoS ONE*, 12
- Allu, S., Kumar, N. P., Audipudi, A. V. (2014). Isolation, biochemical and PGP characterization of endophytic *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chilli red fruit antagonistic against chilli anthracnose disease. *Int. J. Microb. Appl. Sci.*, 3, 318–329
- Al-Rawahi, A. K., Hancock, J. G. (2007). Parasitism and biological control of *Verticillium dahliae* by *Pythium oligandrum*. *Plant disease*. Vol. 82, No. 10.
- Al-Shehbaz, I. A., Beilstein, M. A., Kellogg, E. A. (2006). Systematics and phylogeny of the *Brassicaceae* (*Cruciferae*): an overview. *Plant Syst. Evol.*, 259, 89–120.
- Alwathnani, H.A., Perveen, K. (2012). Biological control of fusarium wilt of tomato by antagonist fungi and cyanobacteria. *African Journal of Biotechnology* 11, 1100-1105.
- Arguelles – Arias, A., Ongena, M., Halimi, B., Lara, Y., Brans, A., Joris, B., Fickers, P. (2009). *Bacillus amyloliquefaciens* GA1 as a source of potent antibiotics and other secondary metabolites for biocontrol of plant pathogens. *Microbial Cell Factories*. 8: 63.
- Ash, G. (2005). Blackleg of oilseed rape. advancing the science of plant pathology. [online]. Dostupné z: <<https://www.apsnet.org/Pages/default.aspx>>
- Audenaert K, Pattery T, Cornelis P, Höfte M. (2002). Introduction of systematic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas Aeruginosa* 7NSK2: role of salicylic acid, pyochelin and pyocyanin. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 15: 1147-1156

Bagar, M. (2011). Biologická ochrana rostlin: Metodické listy č. 12. Spolek poradců v ekologickém zemědělství v ČR (EPOS)

Banani, H., Roatti, B., Ezzahi, B., Giovannini, O., Gessler, G., Pertot, I., Perazzolli, M., (2013). Characterization of resistance mechanisms activated by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadiazole to downy mildew in different grapevine cultivars. *Plant Pathology* 63, 334-343

Baranyk, P., Balík, J., Hájková, M., Havel, J., Kazda, J., Lošák, T., Málek, B., Markytán, P., Plachká, E., Richter, R., Soukup, J., Stražil, Z., Šaroun, J., Škeřík, J., Šmirous, P., Štranc, P., 29 Volf, M., Vrbovský, V., Zehnálek, P., Zelený, V. (2010). Olejniny. Profi Press. Praha.

Bardin, M., Ajouz, S., Comby, M., Lopez-Ferber, M., Graillot, B., Siegwart, M. (2015). Is the efficacy of biological control against plant diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? *Front. Plant Sci.* 6:566.

Barker., K. (1998). Phenol-chloroform isoamyl alcohol (PCI) DNA Extraction

Bečka, D., Vašák, J., Zukalová, H., Mikšík, V. (2007). Řepka ozimá: pěstitelský rádce. Pro katedru Rostlinné výroby, FAPPZ, ČZU v Praze vydalo vydavatelství Kurent. Praha.

Bekker, T. F., Kaiser, C., v.d. Merwe, R., Labuschagne, N. (2006). In-vitro inhibition of mycelial growth of several phytopathogenic fungi by soluble potassium silicate. *South African Journal of Plant and Soil*, 23:3, 169-172

Benhamou, N., Rey, P., Picard, K., Tirilly, Y. (1999). Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and soilborne plant pathogens. *Phytopathology*, 89: 506–517.

Bokor, A., Barbetti, M. J., Brown, A. G. P., Mac Nish, G. C., Wood, P. M. R. (1975). Blackleg of rapeseed. *journal of the Department of Agriculture, Western Australia*. 16 (1). 7 - 10.

Boland, G.J., Hall, R. (1994). Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16, 93–108.

Bolton, M. D., Thomma, B. P. H. J., Nelson, B. D. (2006). *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Mol Plant Pathol* 7:1–16

Bradshaw – Smith, R. P., Whalley, W. M., Craig, G. D. (1991). Interactions between *Pythium oligandrum* and the fungal footrot pathogens of peas. *Mycol. Res.*, 95: 861-865.

Brožová, J. (2002). Exploitation of the mycoparasitic fungus *Pythium oligandrum* in plant protection. *Plant Protect. Sci.*, 38: 29–35.

Budge, S. P., Whipps, J. M. (1991). Glasshouse trials of *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma* species for the biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in celery and lettuce. *Plant Pathology*, 40, 59–66.

Conrath, U., Beckers, G. J. M., Langenbach, C. J. G., and Jaskiewicz, M. R. (2015). Priming for enhanced defense. *Annu. Rev. Phytopathol.* 53, 97–119.

Cook, G. E., Steadman, J. R., Boosalis, M. G. (1975). Survival of *Whetzelinia sclerotiorum* and initial infection of dry edible beans. *Phytopathology* 65:250–255

Cota, L. V., Maffia, L. A., Mizubuti, E. S. G., Macedo, P. E. F., Antunes, R. F. (2008). Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. *Biological Control*, Volume 46, Issue 3, Pages 515-522,

Cota, L. V., Maffia, L. A., Mizubuti, E. S. G., Macedo, P. E. F. (2009). Biological control by *Clonostachys rosea* as a key component in the integrated management of strawberry gray mold. *Biological Control*, Volume 50, Issue 3, Pages 222-230.

Cowan, J. E., Boland, G. J. (2010). Production and carpogenic germination of secondary sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* following freezing treatments on primary sclerotia. *Canadian Journal of Plant Pathology*, Volume: 32, Issue: 3, Pages: 425– 425

Český statistický úřad. (2024). [online]. [cit. 10. 02. 2024]. Dostupné z <<https://www.czso.cz/>>

da Silva, H. A. O., Teixeira, W. D., Borges, Á. V., Silva, A. L., Alves, K. S., Rodrigues, O. M., de Abreu, L. M. (2021). Biocontrol of potato early blight and suppression of *Alternaria grandis* sporulation by *Clonostachys* spp. *Plant Pathology*. Volume70, Issue7. Pages 1677-1685

Deketelaere, S., Tyvaert, L., França, S. C., Höfte, M. (2017). Desirable traits of a good biocontrol agent against *Verticillium* Wilt. *Front. Microbiol.* 8:1186.

Depotter, J. R. L., Thomma, B. P. H. J., Wood, T. A. (2019). Measuring the impact of *Verticillium longisporum* on oilseed rape (*Brassica napus*) yield in field trials in the United Kingdom. *Eur J Plant Pathol* 153, 321–326

Depotter, J. R. L., Deketelaere, S., Inderbitzin, P., Von Tiedemann, A., Höfte, M., Subbarao, K. V., Wood, T. A., Thomma, B. P. H. J. (2016). *Verticillium longisporum*, the invisible threat to oilseed rape and other brassicaceous plant hosts. *Molecular Plant Pathology*. Volume17, Issue7, 1004-1016

Depotter, J. R. L., Rodriguez-Moreno, L., Thomma, B. P. H. J., Wood, T. A. (2017). The emerging British *Verticillium longisporum* population consists of aggressive *Brassica* pathogens. *Phytopathology*, 107, 1399–1405.

Dilantha F. W. G., Chen, Y., Ghanbarnia, K. (2007). Breeding for blackleg resistance: the biology and epidemiology, advances in botanical research. Academic Press, Volume 45, Pages 271-311.

Dunker, S., Keunecke, H., Steinbach, P., von Tiedemann, A. (2008). Impact of *Verticillium longisporum* on yield and morphology of winter oilseed rape (*Brassica napus*) in relation to systematic spread in the plant. *J. Phytopathol.* 156: 698-707.

Eagri. (2024). Registr přípravků na ochranu rostlin. [online]. [cit. 10. 02. 2024]. Dostupné z <<https://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?type=0&vyhledat=A&stamp=1708197129588>>

Evropská Komise. (2024). EU Pesticides Database. [online]. [cit. 10. 02. 2024]. Dostupné z <<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>>

Elad, Y. (1996). Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. *Eur. J. Plant Pathol.* 102, 719–732.

El-Hassan, S.A., Gowen, S.R., Pembroke, B. (2013). Use of *Trichoderma hamatum* for biocontrol of lentil vascular wilt disease: efficacy, mechanisms of interaction and future prospects. *Journal of Plant Protection Research* 53, 12-26.

Elmer, A. G., Michailides, T. J. (2007). Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops. In *Botrytis: Biology, Pathology And Control*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, pp. 243–272.

EPPO. (2024). *Brassica napus* (BRSNN). [online]. [cit. 10. 02. 2024]. Dostupné z <<https://gd.eppo.int/taxon/BRSNN> >

Es-Soufi, R., Tahiri, H., Azaroual, L., El Oualkadi, A., Martin, P., Badoc, A., Lamarti, A. (2020). Biocontrol potential of *Bacillus amyloliquefaciens* Bc2 and *Trichoderma harzianum* TR against strawberry anthracnose under laboratory and field conditions. *Agricultural Sciences*, 11, 260-277.

Eynck C., Koopmann B., Grunewaldt-Stöcker G., Karlovsky P., von Tiedemann, A. (2007). Differential interactions of *Verticillium longisporum* and *Verticillium dahliae* with *Brassica napus* detected with molecular and histological techniques. *European Journal of Plant Pathology* 118: 259-274.

Eynck, C. (2008). Identification of resistance sources and characterization of resistance factors in *Brassica* species to *Verticillium longisporum*. Dissertation, Universität Göttingen.

Fan, H., Ru, J., Zhang, Y., Wang, Q., Li, Y. (2017). Fengycin produced by *Bacillus subtilis* 9407 plays a major role in the biocontrol of apple ring rot disease. *Microbiol. Res.*, 199, 89–97.

Floerl, S., Druebert, Ch., Majcherczyk, A., Karlovsky, P., Kües, U., Polle, A. (2008). Defence reactions in the apoplastic proteome of oilseed rape (*Brassica napus* var. *napus*) attenuate *Verticillium longisporum* growth but not disease symptoms. *BMC Plant Biology*, 8: 129.

- Fowler, K. (2020). Illustration in sclerotinia rot of chickpea. [online]. [cit. 10. 02. 2024]. Dostupné z <<https://extensionaus.com.au/>>
- Gardner, J. M., Chandler, L., Feldman, A. W. (1984). Growth promotion and inhibition by antibiotics producing fluorescent pseudomonads on citrus root. *Plant Soil*. 77:103–13.
- Gerlagh, M., Goossen-van de Geijn, H. M., Fokkema, N. J., Vereijken, P. F. G. (1999). Long-term biosanitation by application of *Coniothyrium minitans* on *Sclerotinia sclerotiorum* infected crops. *Phytopathology*, 89, 141–147
- Gerlagh, M., Goossen-van de Geijn, H. M., Hoogland, A. E., Vereijken, P. F. G., Horsten, P. F. M., de Haas, B. H. (2004). Effect of volume and concentration of conidial suspensions of *Coniothyrium minitans* on infection of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. *Biocontrol Science and Technology*, 14, 675–690.
- Ghazanfar, U. M., Mubashar, R., Waqas, R., Misbah, Q. (2018). *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: a review. *Plant Protection*. 2. 109-135.
- Ghorbanpour, M., Omidvari, M., Abbaszadeh-Dahaji, P., Omidvar, R., Kariman, K. (2018). Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biol. Control* 117, 147–157.
- Gladders, P., Ginsburg, D., Smith, J. A. (2008). Sclerotinia on oilseed rape – a review of the 2007 epidemic in England. Project report No 433, ADAS Boxworth, 44 p.
- Gong, C., Liu, Y., Liu, S. Y., Cheng, M. Z., Zhang, Y., Wang, R. H., Chen, H. Y., Li, J. F. (2017). Analysis of *Clonostachys rosea* -induced resistance to grey mould disease and identification of the key proteins induced in tomato fruit. *Postharvest Biol Tec* 123, 83–93.
- González-Domínguez, E., Caffi, T., Ciliberti, N., Rossi, V. A. (2015). Mechanistic model of *Botrytis cinerea* on grapevines that includes weather, vine growth stage, and the main infection pathways. *PLoS ONE*, 10.
- Granér, G., Persson, P., Meijer, J., Alström, S. (2003). A study on microbial diversity in different cultivars of *Brassica napus* in relation to its wilt pathogen, *Verticillium longisporum*. *FEMS Microbiology Letters* 224: 269-276.
- Gupta, G., Das Gupta, A., Jha, P. N. (2015). Biocontrolling and colonization potential of *Pseudomonas aeruginosa* PM389 isolated from *Pennisetum glaucum* under field conditions. *Int. J. Res. Emerg. Sci. Technol.* 2, 104–116.
- Haghi, Z., Mostowfizadeh-Ghalefarsa, R., Steinberg, C. (2023). The efficacy of Iranian *Pythium oligandrum* isolates in biocontrol of soil-borne fungal pathogens of tomato. *J Plant Pathol* 105, 185–196

- Hanson, L. E. (2000). Reduction of *Verticillium* wilt symptoms in cotton following seed treatment with *Trichoderma virens*. Journal of cotton science. Vol 4. Issue 4. pp 224
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. (2004). *Trichoderma species* opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology. 2: 43-56
- Harman, G. E. (2000). myths and dogmas of biocontrol. Plant Dis. 84: 377-391.
- Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96, 190–194.
- Harper, A. M., Strange, R. N., Langcake, P. (1981). Characterization of the nutrients required by *Botrytis cinerea* to infect broad bean leaves. Physiol. Plant Pathol., 19, 153–167.
- Heale, J. B., Karapapa, K. V. (1999). The *Verticillium* threat to Canada's major oilseed crop: canola. Canadian Journal of Plant Pathology 21:1-7.
- Heimpel, G. E., Mills, N. (2017). Biological control - ecology and applications. Cambridge: Cambridge University Press.
- Heydari, A, Pessarakli, M. (2010). A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. Journal of Biological Sciences 10: 273-290
- Horáček, J., Poslušná, J., Plachká, E. (2017). Využití molekulárních metod v hodnocení zdravotního stavu šlechtitelských materiálů řepky ozimé. Úroda 12, roč. LXV, vědecká příloha, s. 299-302
- Hornig, H. (1987). Further investigations and findings on pathological maturation (Weitere untersuchungen und erkenntnisse zur krankhaften abreife). Raps 1: 27-30.
- Hua, L., Yong, C., Zhanquan, Z., Boqiang, L., Guozheng, Q., Shiping, T. (2018). Pathogenic mechanisms and control strategies of *Botrytis cinerea* causing post-harvest decay in fruits and vegetables. Food Qual. Saf., 2, 111–119.
- Huang, H. C., Hoes, J. A. (1980). Importance of plant spacing and sclerotial position to development of *Sclerotinia* wilt of sunflower. Plant Disease, 64, 81–84.
- Huang, H. C., Bremer, E., Hynes, R. K., Erickson, R. S. (2000). Foliar application of fungal biocontrol agents for the control of white mold of dry bean caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. Biological Control, 18, 270–276.
- Huang, H. C., Kozub, G. C. (1991). Monocropping to sunflower and decline of *Sclerotinia* wilt. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 32, 163–170.
- Hůla, J., Procházková, B. (2008). Minimalizace zpracování půdy. 1. vyd. Praha: Profi Press, 248 s.

Chalhoub, B., Denoeud, F., Liu, S., Parkin, I.A., Tang, H., Wang, X., Chiquet, J., Belcram, H., Tong, C., Samans, B. (2014). Early allopolyploid evolution in the post-neolithic *Brassica napus* oilseed genome. *Science*, 345, 950–953.

Chatterton, S., Jayaraman, J., Punja, Z. K. (2008). Colonization of cucumber plants by the biocontrol fungus *Clonostachys rosea* f. *catenulata*, *Biological Control*, Volume 46, Issue 2, Pages 267-278,

Chen, P. H., Chen, R. Y., Chou, J. Y. (2018). Screening and evaluation of yeast antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* on strawberry fruits. *Mycobiology*, 46, 33–46.

Chiang, K., Liu, H. I., Bock, C. (2017). A discussion on disease severity index values. Part I: Warning on inherent errors and suggestions to maximise accuracy: warning on disease severity index values. *Annals of Applied Biology*. 171.

Illa, C., Torassa, M., Pérez, M. A., Pérez, A. A. (2020). Effect of biocontrol and promotion of peanut growth by inoculating *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* under controlled conditions and field. *Revista mexicana de fitopatología*, 38(1), 119-131

Inderbitzin, P., Michael Davis, R., Bostock, R. M., Subbarao, V. K. (2011). The ascomycete *Verticillium longisporum* is a hybrid and a plant pathogen with an expanded host range. [online]. [cit. 2.11.2019]. Dostupné z <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0018260>>

Innocenti, G., Roberti, R., Montanari, M., Zakrisson, E. (2003). Efficacy of microorganisms antagonistic to *Rhizoctonia cerealis* and their cell wall degrading enzymatic activities. *Mycol Res*. 107: 421–427.

Iqbal, M., Dubey, M., McEwan, K., Menzel, U., Andersson Franko, M., Viketoft, M., Funck Jensen, D., Karlsson, M. (2018). Evaluation of *Clonostachys rosea* for control of plant-parasitic nematodes in soil and in roots of carrot and wheat. *Phytopathology*. Vol. 108, No. 1

Jamalizadeh, M., Etebarian, H. R., Aminian, H., Alizadeh, A. (2010). Biological control of *Botrytis mali* on apple fruit by use of *Bacillus* bacteria, isolated from the rhizosphere of wheat. *Arch. Phytopathol. Plant Protect*, 43, 1836–1845.

Jensen, B., Lübeck, P. S., Jorgensen, H. J. L. (2016). *Clonostachys rosea* reduces spot blotch in barley by inhibiting prepenetration growth and sporulation of *Bipolaris sorokiniana* without inducing resistance. *Pest Manag. Sci*. 72(12): 2231–2239.

Jensen, D. F., Mikkelsen, B., Karlsson, M., Hökeberg, M. (2019). BCA control of STB. Patent cooperation treaty, WO 2019/125294 A1. Stockholm: Swedish Intellectual Property Office.

Jiang, C.-H., Liao, M.-J., Wang, H.-K., Zheng, M.-Z., Xu, J.-J., Guo, J.-H. (2018). *Bacillus velezensis* a potential and efficient biocontrol agent in control of pepper gray mold caused by *Botrytis cinerea*. Biol. Control, 126, 147–157.

Yin, J., Ling, Y. 2017. *Phytophthora* disease control and growth promotion of pepper by *Pythium oligandrum*. Acta Horticulturae Sinica, Vol. 44, No. 12, 2327-2337

Johansson, A., Goud, J. K. C., Dixelius, C. (2006). Plant host range of *Verticillium longisporum* and microsclerotia density in Swedish soils. Eur J Plant Pathol 114, 139–149.

Jones, E. E., Whipps, J. M. (2002). Effect of inoculum rates and sources of *Coniothyrium minitans* on control of *Sclerotinia sclerotiorum* disease in glasshouse lettuce. European Journal of Plant Pathology, 108, 527–538.

Júnior, T. J. P., Rotter, C., Hau, B. (2007). Effects of soil moisture and sowing depth on the development of bean plants grown in sterile soil infested by *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma harzianum*. European Journal of Plant Pathology 119, 193-202.

Kaczmarek, J., Jędryczka, M. (2011). Characterization of two coexisting pathogen populations of *Leptosphaeria* spp., the casue of stem canker of brassicas. Acta Agrobotanica 64(2): 3-14.

Kapeua-Ndacnou, M., Magalhães de Abreu, L., Mesquita de Macedo, D., Ferreira da Nóbrega, T., Pereira, C. M., Evans, H. Ch., Weingart Barreto, R. (2023). Assessing the biocontrol potential of *Clonostachys* species isolated as endophytes from *Coffea* species and as mycoparasites of *Hemileia* rusts of coffee in Africa. Journal of Fungi 9, no. 2: 248.

Kaplan, Z., Danihelka, J., Chrtek, J., Kirschner, J., Kubát, K., Štech, M., Štěpánek, J. (2019). Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha.

Karapapa V. K., Bainbridge B. W., Heale J. B. (1997). Morphological and molecular characterization of *Verticillium longisporum* comb. nov., pathogenic to oilseed rape. Mycol. Res. 101:1281–1294.

Karlsson, M., Atanasova, L., Jensen, D. F., Zeilinger, S. (2017). Necrotrophic mycoparasites and their genomes. Microbiol. Spectrum 5:FUNK-0016-2016.

Kazda, J., Škeřík, J. (2008). Metodika integrované ochrany řepky. SPZO s.r.o.

Keel, C, Voisard, C., Berling, C. H., Kadr, G., Defago, G. (1989). Iron sufficiency, a prerequisite for the suppression of tobacco root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO under gnotobiotic conditions. Phytopathology. 79:584–9.

Klimek-Kopyra, A., Dłużniewska, J., Sikora, A. (2023). Influence of biofungicides containing microorganisms such as *Pythium oligandrum* and *Bacillus subtilis* on yield,

morphological parameters, and pathogen suppression in six winter pea cultivars. *Agriculture* 13, no. 6: 1170.

Knudsen, I. M. B., Hockenhull, J., Funck Jensen, D., Gerhardson, B., Hökeberg, M., Tahvonen, R. (1997). Selection of biological control agents for controlling soil and seed-borne diseases in the field. *Eur. J. Plant Pathol.* 103, 775–784.

Knüfer, J. (2011). Improvement of winter oilseed rape resistance to *Verticillium longisporum* – Assessment of field resistance and characterization of ultrastructural plant responses. Dissertation, Universität Göttingen.

Kocourek, F., Havel, J., Hovorka, T., Jursík, M., Kazda, J., Kolařík, P., Plachká, E., Skuhrovec, J., Seidenhlanz, M., Šafář, J. (2018). Metodika integrované ochrany řepky vůči škodlivým organismům vyjma podzimních škůdců. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,

Köhl, J., Kolnaar, R., Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science.* 10.

Kohn, L. M. (1979). A monographic revision of the genus *Sclerotinia*. *Mycotaxon* 9:365–444

Krauss, U., ten Hoopen, M., Rees, R., Stirrup, T., Argyle, T., George, A., Arroyo, C., Corrales, E., Casanoves, F. (2013). Mycoparasitism by *Clonostachys byssicola* and *Clonostachys rosea* on *Trichoderma* spp. from cocoa (*Theobroma cacao*) and implication for the design of mixed biocontrol agents, *Biological Control*, Volume 67, Issue 3, Pages 317-327.

Kumar, A., Munder, A., Aravind, R., Eapen, S. J., Tümmeler, B., Raaijmakers, J. M. (2013). Friend or foe: genetic and functional characterization of plant endophytic *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ. Microbiol.* 15, 764–779

Kuusk, A. K, Happstadius, I., Zhou, L., Steventon, L. A., Griese, H., Dixelius, C. (2002). Presence of *Leptosphaeria maculans* group a and Group B isolates in Sweden. *Journal of Phytopathology* 150, 349–56.

Lehner, M.S., De Paula Junior, T.J., Del Ponte, E.M., Mizubuti, E. S. G., Pethybridge, S. J. (2017). Independently founded populations of *Sclerotinia sclerotiorum* from a tropical and a temperate region have similar genetic structure. *PLoS ONE* , 12

Li, J. G., Jiang, Z. Q., Xu, L. P., Sun, F. F., Guo, J. H. (2007). Characterization of chitinase secreted by *Bacillus cereus* strain CH₂ and evaluation of its efficacy against *Verticillium* wilt of eggplant. *BioControl*. Volume 53. Issue 6. pp 931–944.

Lopisso D. T., Knüfer, J., Koopmann, B., von Tiedemann, A. (2017). Growth of *Verticillium longisporum* in xylem sap of *Brassica napus* is independent from cultivar resistance but promoted by plant aging. *Phytopathology*. Vol. 107, No. 9

Lugtenberg, B., Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63, 541–556.

Lugtenberg, B., Rozen, D. E., Kamilova, F. (2017). Wars between microbes on roots and fruits. *F1000Res.* 6:343.

Luth, P. (2001). The control of *Sclerotinia* sp. and *Sclerotium cepivorum* with the biological fungicide Contans® WG – experiences from field trials and commercial use. In C. S. Young, & K. J. D. Hughes (Eds.) *Proceedings of the XI International Sclerotinia workshop* (pp. 37–38). York: Central Science Laboratory.

Lysøe, E., Dees, M. W., Brurberg, M. B. (2017). A three-way transcriptomic interaction study of a biocontrol agent (*Clonostachys rosea*), a fungal pathogen (*Helminthosporium solani*), and a potato host (*Solanum tuberosum*). *Mol Plant Microbe In* 30, 645–655.

Maji, S., Chakrabarty, P.K. (2014). Biocontrol of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* by isolates of plant growth promoting rhizobacteria. *Aust. J. Crop Sci.*, 8, 208–214

Maňák R. (2017). [online]. [cit. 10. 02. 2024]. Dostupné z <https://www.mykologie.eu/druh.php?taxon=leptosphaeria_maculans>

Mari, M., Guizzardi, M., Pratella, G. C. (1996). Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. *Biol. Control*, 7, 30–37.

Markets and Markets TM, (2022). [online]. [cit. 10. 02. 2024]. Dostupné z <<https://www.marketsandmarkets.com/>>

Martin, F. N., Hancock, J. G. (1987). The use of *Pythium oligandrum* for biological control of pre-emergence damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathol* 77(7):1013–1020

Matheron, M. E, Porchas, M. (2005). Influence of soil temperature and moisture on eruptive germination and viability of sclerotia of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum*. *Plant Dis* 89:50–54

Mazáková, J., Urban, J., Zouhar, M., Ryšánek, P. (2017). Analysis of *Leptosphaeria* complex causing phoma leaf spot and stem canker of winter rape (*Brassica napus*) in the Czech Republic. *Crop & Pasture Science*, 68(3), 254–264.

McKellar, R. C. (2007). Role of nutrient limitation in the competition between *Pseudomonas fluorescens* and *Escherichia coli* O157:H7. *J Food Protect* 70, 1739–1743.

McLean, K. L., Stewart, A. (2000). Application strategies for control of onion white rot by fungal antagonists. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 28, 115–122.

Mercado – Blanco, J., Rodríguez – Jurado, D., Hervás, A., Jiménez – Díaz, R. M. (2004). Suppression of *Verticillium* wilt in olive planting stocks by root – associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biological control*. Volume 30. Issue 2. pp 474–286

- Merriman, P. R. (1976). Survival of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. *Soil Biol Biochem* 8:385–389
- Meyer, R. S., Purugganan, M. D. (2013). Evolution of crop species: domestication and diversification. *Nat. Rev. Genet.*, 14, 840–852.
- Mezian H, Van der Sluis I, van Loon LC, Höfte M, Bakker PAHM. (2005). Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. *Molecular Plant Pathology*. 6: 177-185
- Mol, L., Riessen, H. W. (1995). Effect of plant roots on the germination of microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *European Journal of Plant Pathology* 101: 673-678.
- Mol, L. (1995). Effect of plant roots on the germination of microsclerotia of *Verticillium dahliae*. II. quantitative analysis of the luring effect of crops. *Eur J Plant Pathol* 101:679–685
- Montealegre, J., Valderrama, L., Sánchez, S., Herrera, R., Besoain, X., Pérez, L. M. (2010). Biological control of *Rhizoctonia solani* in tomatoes with *Trichoderma harzianum* mutants. *Electronic Journal of Biotechnology* 13, 1-2.
- Morandi, M. A. B., Sutton, J. C., Maffia, L. A. (2000). Effects of host and microbial factors on development of *Clonostachys rosea* and control of *Botrytis cinerea* in rose. *Eur. J. Plant Pathol.* 106(5): 439–448
- Morandi, M. A. B., Maffia, L. A., Mizubuti, E. S. G., Alfenas, A. C., Barbosa, J. G., Cruz, C. D. (2006). Relationships of microclimatic variables to colonization of rose debris by *Botrytis cinerea* and the biocontrol agent *Clonostachys rosea*, *Biocontrol Science and Technology*, 16:6, 619-630.
- Mukherjee, M., Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Zachow, C., Berg, G., Zeilinger, S. (2012). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions: advances in genetics of biological control. *Indian J. Microbiol.* 52, 522–529.
- Nandeeshkumar, P., Ramachandrakini, K., Prakash, H. S., Niranjana, S. R., Shekar Shetty, H. (2008). Induction of resistance against downy mildew on sunflower by rhizobacteria. *J. Plant Interact*, 3, 255–262.
- NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). (2020). [online]. [cit. 10. 02. 2024]. Dostupné z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>
- Nikolić, I., Berić, T., Dimkić, I., Popović, T., Lozo, J., Fira, D., Stanković, S. (2019). Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* on sugar beet with *Bacillus pumilus* SS-10.7 and *Bacillus amyloliquefaciens* (SS-12.6 and SS-38.4) strains. *J. Appl. Microbiol.*, 126, 165–176.

Nygren, K., Dubey, M., Zapparata, A., Iqbal, M., Tzelepis, G. D., Durling, M. B. (2018). The mycoparasitic fungus *Clonostachys rosea* responds with both common and specific gene expression during interspecific interactions with fungal prey. *Evol Appl.* 11, 931–949.

Odstrčilová, L., Plachká, E. (2007). Choroby řepky na jaře. *Agromanuál: Profesionální ochrana rostlin.*

Olsson, S., Nordbring-Hertz, B. (1985). Microsclerotial germination of *Verticillium dahliae* as affected by rape rhizosphere. *FEMS Microbiology Letters* 31: 293-299.

Ongena, M., Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* 16, 115–125.

Ouhaibi Ben Abdeljalil, N., Vallance, J., Gerbore, J., Yacoub, A., Daami-Remadi, M., Rey, P. (2021). Combining potential oomycete and bacterial biocontrol agents as a tool to fight tomato *Rhizoctonia* root rot. *Biological Control*, Volume 155

Ouhaibi Ben Abdeljalil, N., Vallance, J., Gerbore, J. (2023). Single and combined effects of *Pythium oligandrum* Po37 and a consortium of three rhizobacterial strains on *Sclerotinia* stem rot severity and tomato growth promotion. *J Plant Pathol* 105, 157–171

Özer, N., Şabudak, T., Kılıç, T.H., Evcı, G., Yılmaz M. I. (2023). Evaluation of *Trichoderma harzianum* to control downy mildew disease in sunflower under field conditions based on changes in the metabolite profiles of roots. *BioControl* 68, 191–206.

Pal Bais, H., Fall, R., Vivanco, J. M. (2004). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of arabidopsis roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiology*, Vol. 134: 307–319.

Pandey, P. K., Yadav, S. K., Singh, A., Sarma, B. K., Mishra, A., Singh, H. B. (2012). Cross-species alleviation of biotic and abiotic stresses by the endophyte *Pseudomonas aeruginosa* PW09. *J. Phytopathol.* 160, 532–539.

Pieterse, C. M. J., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C. M., Bakker, P. A. H. M. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52, 347–375.

Prokinová, E. (2014). Choroby polních plodin. *Profi Press.* s. 90

Raaijmakers, J. M., van der Sluis, I., Koster, M., Bakker, P. A. H. M., Weisbeek, P. J., Schippers, B. (1995). Utilization of heterologous siderophores and rhizosphere competence of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Can. J. Microbiol.* 41, 126–135.

Raaijmakers, J. M., Mazzola, M. (2012). Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 50, 403–424.

- Rabeendran, N., Jones, E. E., Moot, D. J., Stewart, A. (2006). Biocontrol of *Sclerotinia* lettuce drop by *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma hamatum*. *Biological Control*, 39, 352–362.
- Raboanatahiry, N., Li, H., Yu, L., Li, M. (2021). Rapeseed (*Brassica napus*): processing, utilization, and genetic improvement. *Agronomy*. 11(9):1776.
- Rey, P., Le Floch, G., Benhamou, N., Salerno, M. I., Thuillier, E., Tirilly, Y. (2005). Interactions between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and two types of sclerotia of plant-pathogenic fungi. *Mycol Res* 109:779–788
- Rimmer, S. R., Shattuck, V., Buchwaldt, L. (2007). *Verticillium* wilt. in *Compendium of Brassica diseases*; American Phytopathological Society: St. Paul, MN, USA,
- Rivera-Méndez, W., Obregón, M., Morán- Diez, M. E., Hermosa, R., Monte, E. (2020). *Trichoderma asperellum* biocontrol activity and induction of systemic defenses against *Sclerotium cepivorum* in onion plants under tropical climate conditions. *Biological Control*. Volume 141, February 2020, 104145. ISSN 1049-9644
- Rodriguez, M. A., Carbera, G., Gozzo, F. C., Eberlin, M. N., Godeas, A. (2011). *Clonostachys rosea* BAFC3874 as a *Sclerotinia Sclerotiorum* antagonist: mechanisms involved and potential as a biocontrol agent. *Journal of Applied Microbiology*. 110: 1177–1186.
- Rojo, F. G., Reynoso, M. M., Ferez, M., Chulze, S. N., Torres, A. M. (2007). Biological control by *Trichoderma* species of *Fusarium solani* causing peanut brown root rot under field conditions. *Crop Protection* 26, 549-555.
- Rouxel, T., Balesdent, M. H. (2005). The stem canker (blackleg) fungus, *Leptosphaeria maculans*, enters the genomic era. *Molecular Plant Pathology*. Volume6, Issue3. Pages 225-241.
- Sedun, F. S., Brown, J. F. (1987). Infection of sunflower leaves by ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Ann Appl Biol* 110:275–284
- Segarra, G., Casanova, E., Avilés, M., and Trillas, I. (2010). *Trichoderma asperellum* strain t34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron. *Microb. Ecol.* 59, 141–149.
- Shaw, M. W., Emmanuel, C. J., Emilda, D., Terhem, R. B., Shafia, A., Tsamaidi, D., Emblow, M., van Kan, J. A. (2016). Analysis of cryptic, systemic *Botrytis* infections in symptomless hosts. *Front. Plant Sci*, 7, 625.
- Shoemaker, R. A., Brun, H. (2001). The teleomorph of the weakly aggressive segregate of *Leptosphaeria maculans*. *Canadian Journal of Botany*. 79(4): 412-419.
- Schnathorst, W. C. (1981). Life cycle and epidemiology of *Verticillium*. Academic Press, London. 81- 111

Siebold, M., Tiedemann, A.V. (2013). effects of experimental warming on fungal disease progress in oilseed rape. *Glob. Chang. Biol.* 19, 1736–1747.

Spadaro, D., Droby, S. (2016). Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends Food Sci. Technol.* 47, 39–49.

Stark C. (1961). The occurrence of *Verticillium* tracheomycoses in Hamburg horticultural crops (Das auftreten der *Verticillium*-tracheomykosen in hamburger gartenbaukulturen). *Gartenbauwissenschaft*, 1961; 26:493–528.

Steventon L., Fahleson J., Hu Q., Dixelius C. (2002). Identification of the causal agent of *Verticillium* wilt of winter oilseed rape in Sweden as *Verticillium longisporum*. *Mycol. Res.* 106:570–578.

Sun, Z. B., Sun, M. H., Zhou, M., Li, S. D. (2017). Transformation of the endochitinase gene *chi67-1* in *Clonostachys rosea* 67–1 increases its biocontrol activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. *AMB Express* 7(1): 1.

Sutton, J. C., Liu, W., Huang, R. and Owen-Going, N. (2002). Ability of *Clonostachys rosea* to establish and suppress sporulation potential of *Botrytis cinerea* in deleafed stems of hydroponic greenhouse tomatoes. *Sci. Technol.* 12(4): 413–425

Takenaka, S. (2015). Studies on biological control mechanisms of *Pythium oligandrum*. *J Gen Plant Pathol* 81, 466–469

Tendulkar, S. R., Saikumari, Y. K., Patel, V., Raghotama, S., Munshi, T. K., Balaram, P., Chattoo, B. B. (2007). Isolation, purification and characterization of an antifungal molecule produced by *Bacillus licheniformis* BC98, and its effect on phytopathogen *Magnaporthe grisea*. *J. Appl. Microbiol.*, 103, 2331–2339.

Tepedelen Ağaner, G., Karaca, G. (2017). Possibilities of using *Pythium oligandrum* against fungal plant pathogens in biological control. *Türk. Biyo. Mücadele Derg.* 2017, 8 (2): 185-198

Thomashow, L. S., Bonsall, R. E., and Weller, D. M. (1997). antibiotic production by soil and rhizosphere microbes in situ, in *Manual of Environmental Microbiology*, eds C. J. Hurst, G. R. Knudsen, M. J. McInerney, L. D. Stetzenbach, M. V. Walter (Washington, DC: ASM Press), 493–499.

Toscano-Underwood, C., Huang, C. Y. J., Fitt, B. D. L., Hall, A. M. (2003). Effects of temperature on maturation of pseudothecia of *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* on oilseed rape stem debris. *Plant Pathology* 52, 726-736.

Van Kan, J. A. (2005). Infection strategies of *Botrytis cinerea*. *Acta Hortic*, 669, 77–90.

van Loon, L. C. (2000). Helping plants to defend themselves: biocontrol by disease-suppressing rhizobacteria, in *Developments in Plant Genetics and Breeding*, eds G. E. de Vries and K. Metzloff (Amsterdam: Elsevier), 203–213.

Vega-Marin, M., von Tiedemann, A. (2022). Cross-protection of oilseed rape against *Verticillium longisporum* by the non-aggressive lineage A1/D2. *BioControl* 67, 419–431. <https://doi.org/10.1007/s10526-022-10147-5>

Vega-Marin, M., von Tiedemann, A. (2023). Contrasting interactions of the aggressive *Verticillium longisporum* Lineage A1/D1 and the non-aggressive A1/D2 lineage with roots of oilseed rape. *Plant Pathology*. Volume 72, Issue 9. Pages 1662-1672

Wang, Y., Xu, Z., Zhu, P., Liu, P., Zhang, Z., Mastuda, Y., Toyoda, H., Xu, L. (2010). Postharvest biological control of melon pathogens using *Bacillus subtilis* EXWB1. *J. Plant Pathol*, 92, 645–652.

Wang, X., Glawe, D. A., Kramer, E., Weller, D., Okubara, A. (2018). Biological control of *Botrytis cinerea*: interactions with native vineyard yeasts from Washington state. *Phytopathology*, 108, 691–701.

Wang, Y., Strelkov, S. E., Hwang, S.-F. (2023). Blackleg yield losses and interactions with *Verticillium* stripe in canola (*Brassica napus*) in Canada. *Plants*, 12, 434.

Weller, D. M. (2007). *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: looking back over 30 years. *Phytopathology* 97: 250-256.

West, J. S., Kharbanda, P. D., Barbetti, M. J., & Fitt, B. D. L. (2001). Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (*Phoma* stem canker) on oilseed rape in Australia, Canada And Europe. *Plant Pathology*, 50(1), 10-27

Whipps, J. M., Sreenivasaprasad, S., Muthumeenakshi, S. (2008). Use of *Coniothyrium minitans* as a biocontrol agent and some molecular aspects of sclerotial mycoparasitism. *Eur J Plant Pathol* 121, 323–330.

Wiesel, L., Newton, A. C., Elliott, I., Booty, D., Gilroy, E. M., Birch, P. R. J. (2014). Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection. *Front. Plant Sci.* 5:655.

Williamson, B., Duncan, G. H., Harrison, J. G., Harding, L. A., Elad, Y., Zimand, G. (1995). Effect of humidity on infection of rose petals by dry-inoculated conidia of *Botrytis cinerea*. *Mycol. Res*, 99, 1303–1310.

Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., Van Kan, J.A. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Mol. Plant Pathol*, 8, 561–580.

Wojtaszek, P. (1997). Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. *Biochem. J.*, 322, 681–692.

Wu, B. M., Subbarao, K. V., Liu, Y.-B. (2008). Comparative survival of sclerotia of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum*. *Phytopathology* 98:659–665

Yacoub, A., Gerbore, J., Magnin, N., Chambon, P., Dufour, M.-C., Corio-Costet, M.-F., Guyoneaud, R., Rey, P. (2016). Ability of *Pythium oligandrum* strains to protect *Vitis vinifera* L., by inducing plant resistance against *Phaeoemoniella chlamydospora*, A Pathogen Involved In Esca, A Grapevine Trunk Disease. *Biological Control*, Volume 92, Pages 7-16

Yang, L., Han, X., Zhang, F., Goodwin, P. H., Yang, Y., Li, J., Xia, M., Sun, R., Jia, B., Zhang, J., (2018). Screening *Bacillus* species as biological control agents of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* on wheat. *Biol. Control*, 118, 1–9.

Yasmin, S., Hafeez, F.Y., Rasul, G. (2014). Evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* Z5 for biocontrol of cotton seedling disease caused by *Fusarium oxysporum*. *Biocontrol Sci. Technol*, 24, 1227–1242

You, X., Barraud, J., Tojo, M. (2019). Suppressive effects of *Pythium oligandrum* on soybean damping off caused by *P. aphanidermatum* and *P. myriotylum*, *J-Stage*, 61, p. 9-13

Yuen, G. Y, Schroth M. N. (1986). Interaction Of *Pseudomonads fluorescens* strains E6 With Ornamental Plants And Its Effect On The Composition Of Root Colonization Microflora. *Phytopathology*. 76:176–9.

Zeise, K., Seidel, D. (1990). Development and harmful effects of *Verticillium* wilt disease on winter rapeseed (Zur entwicklung und schadwirkung der *Verticillium* welkekrankheit am winterraps). *Raps* 8: 20-22.

Zeise, K. (1992). Greenhouse experiment to test the resistance of winter rapeseed (*Brassica napus* L. var. *oleifera* Metzger) against the rapeseed wilt pathogen *Verticillium dahliae* Kleb. (Gewächshaustest zur resistenzprüfung von winterraps (*Brassica napus* L. var. *oleifera* Metzger) gegen den erreger der rapswelke *Verticillium dahliae* Kleb.) *Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst* 44: 125-128.

Zheng, X., Pfordt, A., Khatri, L., Bisola Eseola, A., Wilch, A., Koopmann, B., von Tiedemann, A. (2019). Contrasting patterns of colonization with *Verticillium longisporum* in winter- and spring-type oilseed rape (*Brassica napus*) in the field and greenhouse and the role of soil temperature. *Plant Disease* Vol. 103, No. 8.

Zheng, X., Lopisso, D.T., Eseola, A.B., Koopmann, B., Von Tiedemann, A. (2019). Potential for seed transmission of *Verticillium longisporum* in oilseed rape (*Brassica napus*). *Plant Disease*. Volume 103, Number 8

Zheng, X., Koopmann, B., Ulber, B., Von Tiedemann, A. (2020). A global survey on diseases and pests in oilseed rape—current challenges and innovative strategies of control. *Front. Agron. Sec. Disease Management*. Volume 2

Zhou, L., Hu, Q., Johansson, A., Dixelius, C. (2006). *Verticillium longisporum* and *V. dahliae*: infection and disease in *Brassica napus*. *Plant Pathology* 55: 137-144.

Zou, C. G., Tao, N., Liu, W. J., Yang, J. K., Huang, X. W., Liu, X. Y., Tu, H. H., Gan, Z. W. (2010). Regulation of subtilisin-like protease *prc* expression by nematode cuticle in the nematophagous fungus *Clonostachys rosea*. *Environ Microbiol*, 12, 3243–3252.

8 Přílohy

8.1 Metodika založení polního maloparcelkového pokusu 2019/20

zadavatel	Agroprotec + Bayer		Polyversum				BASF	Sumi agro Czech		Trisol farm	Kwizda	Arysta	Monas	Albit + Klořáč		Manetech	kontrola Alicante
varianta / termny aplikace	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13 (Trutnov - Prometheus; Chlumec, Kujavy - Hirundo)	14	15	16	17
Chlumec	30.08.2019																
Trutnov	29.08.2019																
Kujavy	28.08.2019																
před setím	Contans 2 kg/ha ve 300 l H ₂ O (50m ²)	Contans 2 kg/ha ve 300 l H ₂ O (50m ²)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Flora 3 l/ha, ředění s vodou v poměru 1:100 postříkem na půdu	x
Chlumec	31.08.2019																
Trutnov	29.08.2019																
Kujavy	28.08.2019																
moření	x	x	Polyversum 5 g/kg	Polyversum 5 g/kg	x	x	Integral Pro 1,6 l/t	x	x	TS Silos 23 5l/t	x	x	x	ALBIT - 100 ml/t	ALBIT - 100 ml/t	x	x
při seti	x	x	x	x	x	Polyversum 100g/ha	x	x	x	x	Xilon 10 kg/ha	x	x	x	x	x	x
Chlumec	11.10.2020																
Trutnov	07.10.2019																
Kujavy	02.10.2019																
BBCH 14 - 16	x	x	x	Polyversum 100 g/ha	Polyversum 100 g/ha	x	BAS 750 11F 1,0 l/ha	TOPSIN M 500 SC. 1,2 l/ha	x	x	x	Polyversum 0,1 kg/ha + Tonivit 1,0 l/ha v tank-mixu	Hirundo/ Prometheus 1 l/ha	ALBIT Max TM 120 ml/ha	ALBIT Max TM 120 ml/ha	Flora 3 l/ha, 1:100	x
Chlumec	12.03.2020																
Trutnov	18.03.2020																
Kujavy	19.03.2020																
BBCH 30	x	Serenade 4 l/ha	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ALBIT Max 120 ml/ha + listové hnojivo FUMAG 6NK - SB 4 kg/ha	ALBIT Max 120 ml/ha + listové hnojivo CARBON Si 0,5 - 1 l/ha	x	x
Chlumec	16.03.2020															07.04.2020	16.03.2020
Trutnov	11.04.2020																
Kujavy	19.03.2020																
BBCH 32							BAS 750 11F - 1,0 l/ha	x	TOPSIN M 500 SC. 1,4 l/ha	x	x	x	Hirundo/ Prometheus 1 l/ha	x	x	Flora 5 l/ha, 1:100*	x
Chlumec	24.04.2020																
Trutnov	23.04.2020																
Kujavy	24.04.2020																
BBCH 61 - 63	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ALBIT Max + listové hnojivo FUMAG 6NK - SB 4 kg/ha	ALBIT Max + listové hnojivo CARBON Si 0,5 - 1 l/ha	x	x
Chlumec	05.05.2020																
Trutnov	07.05.2020																
Kujavy	30.04.2020												04.05.2020		30.04.2020		
BBCH 65	x	Propulse 1 l/ha	x	x	x	x	BAS 762 02F - 1,0 l/ha	x	x	x	x	x	Hirundo/ Prometheus 1 l/ha	x	x	x	x

8.2 Seznam obrázků

OBRÁZEK 1: PLOCHA PĚSTOVANÉ ŘEPKY V ČR V HA (ČESKÝ STATISTICKÝ ÚŘAD, 2024).	1
OBRÁZEK 2: VÝVOJOVÝ CYKLUS <i>L. MACULANS</i> (BOKOR A KOL., 1975).....	4
OBRÁZEK 3: VÝVOJOVÝ CYKLUS <i>S. SCLEROTIORUM</i> (FOWLER, 2020).	7
OBRÁZEK 4: EVOLUČNÍ PŮVOD <i>V. LONGISPORUM</i> (INDERBITZIN A KOL., 2011).....	11
OBRÁZEK 5: ŽIVOTNÍ CYKLUS <i>V. LONGISPORUM</i> (KNÜFER, 2011).....	12
OBRÁZEK 6: ŽLOUTNUTÍ LISTŮ ŘEPKY OLEJKY PO INOKULACI <i>V. LONGISPORUM</i> (ZUSKOVÁ, NEPUBLIKOVÁNO).	13
OBRÁZEK 7: MIKROSKLEROCIA <i>V. LONGISPORUM</i> NA STONKU ŘEPKY OLEJKY (ZUSKOVÁ, NEPUBLIKOVÁNO).	13
OBRÁZEK 8: MIKROSKLEROCIA <i>V. LONGISPORUM</i> NA STONKU ŘEPKY OLEJKY (ZUSKOVÁ, NEPUBLIKOVÁNO).	13
OBRÁZEK 9: LOKALITY MALOPARCELKOVÉHO POKUSU 2019/20	34
OBRÁZEK 10: ODBĚROVÉ MÍSTO NA ROSTLINĚ PRO ANALÝZU REAL-TIME PCR (KNÜFER, 2011).	36
OBRÁZEK 11: IN VITRO TESTOVÁNÍ - INHIBICE RŮSTU MYCELIA U 8 BIOPRODUKTŮ V OBDOBÍ 45 DNŮ.	38
OBRÁZEK 12: VÝSLEDKY HODNOCENÍ ZDRAVOTNÍHO STAVU U ROSTLIN ŘEPKY OLEJKY PO INOKULACI PATOGENEM <i>V. LONGISPORUM</i>	39
OBRÁZEK 13: VÝSLEDKY HODNOCENÍ DÉLKY ROSTLIN A PRŮMĚRU KOŘENOVÉHO KRČKU INOKULOVANÝCH A NEINOKULOVANÝCH ROSTLIN PATOGENEM <i>V. LONGISPORUM</i> OŠETŘENÝCH BIOPRODUKTY.....	40
OBRÁZEK 14: STATISTICKÉ HODNOCENÍ OBSAHU PATOGENU <i>V. LONGISPORUM</i> V ROSTLINNÉM MATERIÁLU DVOU ODRŮD ŘEPKY OZIMÉ.	41
OBRÁZEK 15: ROZDÍL V HODNOCENÍ ZDRAVOTNÍHO STAVU MEZI VARIANTOU INOKULOVANOU PATOGENEM <i>V. LONGISPORUM</i> (1) A VARIANTOU BEZ INOKULACE (0) BEZ OHLEDU NA VARIANTU OŠETŘENÍ.....	42
OBRÁZEK 16: ROZDÍLY V HODNOCENÍ ZDRAVOTNÍHO STAVU MEZI VARIANTAMI BEZ INOKULACE PATOGENEM Z LOKALITY ČERVENÝ ÚJEZD.	43
OBRÁZEK 17: ROZDÍLY V HODNOCENÍ ZDRAVOTNÍHO STAVU MEZI VARIANTAMI Z LOKALITY ČZU...	43
OBRÁZEK 18: ROZDÍLY V HODNOCENÍ VÝNOSU PŘI 8% VLHKOSTI MEZI VARIANTAMI Z LOKALITY CHLUMEC NAD CIDLINOU.....	49
OBRÁZEK 19: ROZDÍLY V HODNOCENÍ VÝNOSU PŘI 8% VLHKOSTI MEZI VARIANTAMI Z LOKALITY KUJAVY.....	50
OBRÁZEK 20: ROZDÍLY V HODNOCENÍ OLEJNATOSTI MEZI VARIANTAMI Z LOKALITY TRUTNOV.....	52

OBRÁZEK 21: ROZDÍLY V HODNOCENÍ HTS MEZI VARIANTAMI Z LOKALITY TRUTNOV.....	53
OBRÁZEK 22: ROZLOŽENÍ PATOGENU V. LONGISPORUM (G) V ROSTLINNÉM MATERIÁLU (0,1 G) NA POKUSNÉM POZEMKU V CHLUMCI NAD CIDLINOU S VYUŽITÍM BAREVNÉHO ŠKÁLOVÁNÍ (NEJTMAVŠÍ=NEJVÍCE NAPADENÉ).	55
OBRÁZEK 23: ROZLOŽENÍ PATOGENU V. LONGISPORUM (G) V ROSTLINNÉM MATERIÁLU (0,1 G) NA POKUSNÉM POZEMKU V TRUTNOVĚ S VYUŽITÍM BAREVNÉHO ŠKÁLOVÁNÍ (NEJTMAVŠÍ=NEJVÍCE NAPADENÉ).	55
OBRÁZEK 24: ROZLOŽENÍ PATOGENU V. LONGISPORUM (G) V ROSTLINNÉM MATERIÁLU (0,1 G) NA POKUSNÉM POZEMKU V KUJAVÁCH S VYUŽITÍM BAREVNÉHO ŠKÁLOVÁNÍ (NEJTMAVŠÍ=NEJVÍCE NAPADENÉ).	56
OBRÁZEK 25: RŮST HYF VL43 V PRODLUŽOVACÍ ZÓNĚ KOŘENE 3 DNY PO INOKULACI. HYFY (ZELENÉ) BYLY OBARVENY ALEXA FLUOR A KOŘENY (ČERVENĚ) PROPIDIUM JODIDEM (VEGA-MARIN A TIEDEMANN, 2023).	58

8.3 Seznam tabulek

TABULKA 1: BIOPRODUKTY A JEJICH ÚČINNÉ LÁTKY POUŽITÉ PRO PŘEDLOŽENÁ TESTOVÁNÍ.....	27
TABULKA 2: KONVENČNÍ PŘÍPRAVKY A JEJICH ÚČINNÉ LÁTKY POUŽITÉ PRO PŘEDLOŽENÁ TESTOVÁNÍ.	27
TABULKA 3: VARIANTY OŠETŘENÍ MALOPARCELKOVÉHO POLNÍHO POKUSU 2019/20.....	34
TABULKA 4: OBSAH PATOGENU V. LONGISPORUM (G) V ROSTLINNÉM MATERIÁLU (0,1 G) DVOU ODRŮD ŘEPKY OZIMÉ.....	41
TABULKA 5: POČET ROSTLIN 1M ² PODZIM/JARO (PRŮMĚR ZE 3 PARCELEK) S VYUŽITÍM BAREVNÉHO ŠKÁLOVÁNÍ (NEJTMAVŠÍ=NEJLEPŠÍ).	44
TABULKA 6: ZÁVĚREČNÉ HODNOCENÍ CHOROB NA STONKU CHLUMEC NAD CIDLINOU S VYUŽITÍM BAREVNÉHO ŠKÁLOVÁNÍ (NEJTMAVŠÍ=NEJVÍCE NAPADENÉ) Z 2 M ²	45
TABULKA 7 :ZÁVĚREČNÉ HODNOCENÍ CHOROB NA STONKU TRUTNOV S VYUŽITÍM BAREVNÉHO ŠKÁLOVÁNÍ (NEJTMAVŠÍ=NEJVÍCE NAPADENÉ) Z 2 M ²	46
TABULKA 8: ZÁVĚREČNÉ HODNOCENÍ CHOROB NA STONKU KUJAVY S VYUŽITÍM BAREVNÉHO ŠKÁLOVÁNÍ (NEJTMAVŠÍ=NEJVÍCE NAPADENÉ) Z 2M ²	47
TABULKA 9: VÝNOS NA LOKALITÁCH PŘI 8 % VLHKOSTI, VYJÁDŘENO V % VŮČI KONTROLE (100 %) S VYUŽITÍM BAREVNÉHO ŠKÁLOVÁNÍ (NEJTMAVŠÍ=NEJLEPŠÍ).	48
TABULKA 10: OLEJNATOST A HTS NA LOKALITĚ TRUTNOV A CHLUMEC NAD CIDLINOU, VYJÁDŘENO V % VŮČI KONTROLE (100 %) S VYUŽITÍM BAREVNÉHO ŠKÁLOVÁNÍ (NEJTMAVŠÍ=NEJLEPŠÍ).....	52
TABULKA 11: POMĚR ZELENÝCH VŮČI SUCHÝM STONKŮM NA STRNIŠTI. UVEDENO V % ZASTOUPENÍ ZELENÝCH STONKŮ (NEJTMAVŠÍ=NEJLEPŠÍ).....	54

8.4 Seznam zkratk

EPPO	Evropská a Středomořská organizace na ochranu rostlin
NCBI	Národní centrum pro biotechnologické informace
MBCA	Microbial biological control agents
ISR	indukovaná rezistence
SAR	získaná rezistence
EK	Evropská Komise
EU	Evropská Unie
ČR	Česká Republika
PDA	bramborovo-dextrózový agar
PCR	polymerázová řetězová reakce
bp	párů bází
SPZO	Svaz Pěstitelů a Zpracovatelů Olejnin
ČZU	Česká zemědělská univerzita
HTS	Hmotnost tisíce semen

8.5 Seznam vydaných publikací

Konradyová, V., Kazda, J., Grimová, L., Zusková, E. (2017). Viry řepky jako jeden z fenoménů letošní sezóny. *Farmář* 9/2017. s. 28-31.

Konradyová, V., Kazda, J., Zusková, E. (2017). Výskyt virových onemocnění řepky v sezóně 2016/2017 - testování řepky na výskyt viru žloutenky vodnice (TuYV). Sborník konference s mezinárodní účastí „Prosperující olejniný“, Praha, s. 92-95.

Konradyová, V. – Kazda, J. – Zusková, E. (2017). Testování řepky na výskyt viru žloutenky vodnice (TuYV). Výsledky pokusů SPZO, 34. vyhodnocovací seminář " Systém výroby řepky, Systém výroby slunečnice. ", Hluk, s. 118-121.

Konradyová, V., Kazda, J., Zusková, E. (2017). Kalamitní výskyt virových chorob v řepce v sezóně 2016/17. *Agromanuál* 2017/11–12, s. 24-26. I

Mazáková, J., Zouhar, M., Sedlák, P., Zusková, E., Ryšánek, P., Hausvater, E. (2018). Sensitivity to Fungicides and Essential Oils in Czech Isolates of *Phytophthora infestans*. *Scientia Agriculturae Bohemica*, roč. 49, č. 2, s. 69-77.

Zusková, E., Konradyová, V., Matyska, M., Grimová, L., Kazda, J. (2018). Virus žloutenky vodnice na řepce olejce v ČR v letech 2016-2017. *Úroda* 2018/6, s. 84-90.

Šuk, J., Šuk, J., Zusková, E. (2018). Vliv stimulátorů fyziologických procesů na fytotoxické působení herbicidů. *Agromanuál* 2018/9–10, s. 56-57.

Konradyová, V., Zusková, E., Kazda, J. (2018). Problematika viróz řepky v ročníku 2017/18. *Agromanuál* 2018/11–12, s. 20-21.

Zusková, E., Konradyová, V., Kazda, J. (2018). Biologická ochrana proti *Verticillium longisporum* na řepce ozimé. Výsledky pokusů SPZO, 35. vyhodnocovací seminář "Systém výroby řepky, systém výroby slunečnice." Hluk, s. 124-128.

Kazda, J., Konradyová, V., Stejskalová, M., Zusková, E. (2019). Insekticidní ochrana ozimé řepky v podzimním a časně jarním období. *Úroda* 2/2019, s. 26–30.

Zusková, E., Konradyová, V., Kazda, J. (2019). Houba *Verticillium longisporum* na řepce ozimé. Agromanuál 2019/4, s. 46-48.

Zusková, E., Kazda, J., Konradyová, V., Grimová, L., Linhartová, Š., Ševčíková, V., Spáčil, D. (2019). Zkušenosti s odrůdami řepky rezistentními proti viru TuYV Úroda, 2019/7, s. 14-21.

Zusková, E., Konradyová, V., Vospělová, J., Kazda, J. (2019). Ochrana ozimé řepky proti patogenům rozšiřujícím se z půdy. Úroda 9/2019, s. 56-58.

Kazda, J., Zusková, E., Konradyová, V., Vospělová, J. (2019). Význam a ochrana proti virovým chorobám ozimé řepky. Agromanuál 2019/9–10, s. 48-50.

Zusková, E., Kazda, J., Šuk, J. (2020). Biologická ochrana proti houbovým chorobám kukuřice a slunečnice. Úroda 4/2020, s. 20-21.

Zusková, E., Kazda, J., Konradyová, V., Linhartová, Š., Ševčíková, V., Spáčil, D., Zehnálek, P., Barynk, P. (2021). Odrůdy řepky s genem rezistence R54 proti viru žloutenky vodnice. Úroda, 2021/5, s. 40-45.

Zusková, E., Rásochová, A., Konradyová, V., Maňasová, M., Kazda, J. (2021). *Verticillium longisporum* na řepce ozimé - Účinnost biologických preparátů v řízených podmínkách. Agromanuál 2021/9–10, s. 34-35.

Zusková, E., Kazda, J., Konradyová, V., Maňasová, M., Baranyk, P. (2022). Řepka olejka – možnosti biologické ochrany. Úroda 4/2022, s. 56-58.

Stará, J., Hovorka, T., Horská, T., Zusková, E., Kocourek, F. (2023). Pyrethroid and carbamate resistance in Czech populations of *Myzus persicae* (SulPest Managementzer) from oilseed rape. Pest Management Science, 2023 Jul 4.

Zusková E., Konradyová V., Ryšánek P., Kazda J. (2024). Bioproducts and their potential in protection of *Brassica napus* L. against *Verticillium longisporum*. Plant, Soil and Environment.