

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2017

Bc. LENKA CHALUPOVÁ

Mendelova univerzita v Brně
Agonomická fakulta
Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství



**Agonomická
fakulta**

**Mendelova
univerzita
v Brně**



**Stanovení mikroflóry osiva vybraných druhů zeleniny
a možnosti ochrany**

Diplomová práce

Vedoucí práce:

doc. Ing. Ivana Šafránková, Ph.D.

Vypracovala:

Bc. Lenka Chalupová

Brno 2017



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Autorka práce: Bc. Lenka Chalupová
Studijní program: Rostlinolékařství
Obor: Rostlinolékařství
Vedoucí práce: doc. Ing. Ivana Šafránková, Ph.D.
Název práce: **Stanovení mikroflóry osiva vybraných druhů zeleniny a možnosti ochrany**
Jazyková varianta: Čeština

Zásady pro vypracování:

1. Na základě vědecké a odborné literatury vypracujete literární rešerši zaměřenou na patogeny vybraných druhů osiva zeleniny
2. V laboratorních podmínkách stanovíte mikroflóru osiva vybraných druhů zeleniny
3. Jednotlivé patogeny vyzolujete a připravíte čisté kultury z monosporických izolátů
4. Na základě morfologické charakteristiky kultury a rozmnožovacích orgánů identifikujete jednotlivé druhy patogenů
5. Vyhodnotíte celkový zdravotní stav osiva a v případě potřeby navrhnete příslušná ochranná opatření

Rozsah práce: 50–60 stran + přílohy

Literatura:

1. WATANABE, T. *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. 3. vyd. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 404 s. ISBN 978-1-4398-0419-3.
2. EHRENBERGEROVÁ, J. *Odrůdy, osivo a sadba*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014. 105 s. ISBN 978-80-7509-003-4.
3. Agrios, G. N. (1997): *Plant Pathology*. Academic Press, new York: 803.
4. Baudyš, E., Benada, J. (1965): *Zemědělská fytopatologie*. III. díl - choroby zelenin. SZN Praha:714.
5. *Časopisy: Plant Protection Science, Phytopathology, Zaščita Rastěnj, Journal of Phytopathology aj.*
6. Kolektiv (1962): *Atlas chorob a škůdců zelenin*. SZN Praha: 182.
7. Kůdela, V. (1989): *Obecná fytopatologie*. Academia Praha: 387.
8. Schwarz A. et al. (1996): *Obrazový atlas chorob a škůdců zeleniny*. Biocont Laboratory, Brno: 320.

Datum zadání: říjen 2015

Datum odevzdání: duben 2017

Bc. Lenka Chalupová
Autorka práce

prof. Ing. Radovan Pokorný, Ph.D.
Vedoucí ústavu

doc. Ing. Ivana Šafránková, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.
Děkan AF MENDELU

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem práci: *Stanovení mikroflóry osiva vybraných druhů zeleniny a možnosti ochrany* vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji své vedoucí diplomové práce doc. Ing. Ivaně Šafránkové, PhD, za čas věnovaný konzultacím, za cenné rady a připomínky. Dále děkuji vedení firmy SEMO Smržice a. s. za poskytnutí osiva. V neposlední řadě děkuji rodině a nejbližším přátelům za trpělivost a podporu při studiu.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá stanovením a vyhodnocením druhového spektra patogenů na semenech mrkve obecné (*Daucus carota*), petržele kořenové (*Petroselinum crispum*) a papriky roční (*Capsicum annum*). Stanovení mikroflóry bylo provedeno v laboratorních podmínkách. Povrchově dezinfikovaná nebo nedezinfikovaná semena byla kultivována na živné půdě PDA a filtračním papíře. Kontaminace semen bakteriemi a kvasinkami byla nízká. Většinu patogenů tvořili zástupci říše Fungi. Nejčastěji byly identifikovány druhy z rodů *Alternaria* a *Cladosporium*. Druhové spektrum patogenů se mezi odrůdami jednotlivé zeleniny nelišilo. Ve většině případů byl u semen z nedezinfikované varianty zjištěn statisticky významně ($p \leq 0,05$) vyšší počet patogenů než u dezinfikované varianty.

Klíčová slova: semeno, patogeny semen, houbové patogeny

ABSTRACT

The aim of this diploma thesis is assessing the determination and evaluation of pathogens species spectrum in carrot (*Daucus carota*), parsley (*Petroselinum crispum*) and pepper (*Capsicum annum*) seeds. The microflora was determined in laboratory conditions. The surface disinfected seeds and non-disinfected seeds were cultivated on culture medium PDA and filter paper. The level of bacterial and yeast contamination was low. The major part of pathogens were fungi pathogens. The most often found pathogens were species from *Alternaria* and *Cladosporium* genus. The species spectrum was not different between individual varieties of carrot, parsley and pepper. In most cases, non-disinfected seeds had significantly higher ($p \leq 0.05$) amount of pathogens than the disinfected seeds.

Key words: seed, seed pathogens, fungi pathogens

OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	CÍL PRÁCE.....	8
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
3.1	Patogeny přenosné semenem a jejich škodlivost	9
3.1.1	Virové patogeny semen	10
3.1.2	Bakteriální patogeny semen.....	11
3.1.3	Houbové patogeny semen.....	12
3.2	Mykotoxiny	13
3.3	Významné houbové patogeny zeleniny přenosné osivem	15
3.3.1	Rod <i>Alternaria</i> Ness, 1816	15
3.3.2	Rod <i>Aspergillus</i> P. Micheli ex Haller, 1768	17
3.3.3	Rod <i>Cladosporium</i> Link, 1816	18
3.3.4	Rod <i>Fusarium</i> Link, 1809.....	19
3.3.5	Rod <i>Penicillium</i> Link, 1809.....	21
3.3.6	Méně časté patogeny semen	23
3.1	Metody ochrany semen	23
3.2	Charakteristika vybraných druhů zeleniny.....	25
4	MATERIÁL A METODIKA	27
5	Výsledky a diskuze.....	29
5.1	Vyhodnocení mikroflóry semen mrkve obecné	36
5.2	Vyhodnocení mikroflóry semen petržele kořenové	39
5.3	Vyhodnocení mikroflóry semen papriky roční	42
5.4	Souhrn vyhodnocení mikroflóry	44
6	ZÁVĚR.....	46
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	47
8	SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ	55
9	SEZNAM PŘÍLOH	56
10	PŘÍLOHY	56

1 ÚVOD

V České republice patří kořenová zelenina mezi nejrozšířenější a nejdéle pěstované druhy zeleniny. Pěstuje se kvůli kořenům, u některých druhů se využívá i nať. Pro lidský organismus má kořenová zelenina vysokou dietetickou hodnotu. Je zdrojem vitamínů, minerálních látek, vlákniny, antioxidantů aj. Mezi důvody oblíbenosti patří především její dlouhá doba skladovatelnosti a chuťová specifická. Nejčastěji se v České republice pěstuje mrkev a petržel. V roce 2016 zaujímala plocha 1170 ha u mrkve a 551 ha u petržele. Spotřeba kořenové zeleniny u nás neroste, ani se nemění její druhová skladba na trhu. Cílem šlechtitelů je u kořenové zeleniny především rozšiřování sortimentu.

Spotřeba plodové zeleniny v ČR ovšem v posledních letech stoupla. Důvodem je obliba druhů zeleniny, které se nemusí dlouho kuchyňsky připravovat, případně se můžou ihned konzumovat. Pěstební plocha papriky u nás v roce 2016 byla 322 ha. Paprika se využívá jako zelenina nebo jako koření. Obsahuje látku kapsaicin, který způsobuje pálivou chuť, stimuluje krevní oběh a zvyšuje rychlost metabolismu.

Osivo je považováno za významný prvek při pěstování plodin. Značný počet chorob kořenové a plodové zeleniny má původce, kteří jsou přenosné semenem. Napadení semen patogeny snižuje vlastní vitalitu osiva a následně způsobuje poškození porostu vlivem rozvoje původců chorob. Infekce virovými, bakteriálními i houbovými patogeny reguluje vitalitu semen degradací enzymů, produkcí toxinů a regulací růstu. Znakem kvalitního osiva je dobrá klíčivost, geneticko-biologické charakteristiky a zdravotní stav. Zdravotní stav zahrnuje vše, co souvisí s výskytem škodlivých organismů u osiva, případně sadby.

Infekce osiva umožňuje patogenům přežívání z jednoho vegetačního období do druhého. Z důvodu obchodování s osivy může být kontaminované osivo příčinou přenosu původců chorob na velké vzdálenosti a do nových oblastí. Ztráty způsobené poškozením rostlin v důsledku napadení patogeny přenosnými osivem se mohou projevit pouze zanedbatelně nebo mohou dosahovat až po stoprocentní úroveň.

2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo:

- stanovení a vyhodnocení druhového spektra patogenů na osivu vybraných druhů zeleniny: mrkve obecné (*Daucus carota*), petržele kořenové (*Petroselinum crispum*) a papriky roční (*Capsicum annum*)
- determinace a identifikace houbových patogenů vyskytujících se na osivu
- vyhodnocení vlivu média a způsobu ošetření osiva na výskyt patogenů

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Patogeny přenosné semenem a jejich škodlivost

Stejně jako ostatní organismy, tak i rostliny jsou náchylné vůči patogenům v prvních fázích růstu. Mohou být napadány patogeny pocházejícími z jejich okolí, zejména z půdy a z rostlinných zbytků, nebo patogeny, které jsou přenášeny rozmnožovacím materiálem, tj. semeny, případně sadbou (Rod, 2008). Infekční cyklus fytopatogenních organismů přenosných osivem probíhá ve čtyřech fázích, tj. přežívání, šíření, infekce a rozvoj onemocnění (Houba, Hosnedl, 2002).

Patogeny mohou být přenášeny přímo na nebo v semeni, případně osivem, na úlomcích rostlin, zbytcích zeminy, na semenech plevelných rostlin nebo na příměsích špatně vyčištěného osiva (Rod, 1995). Mikroorganismy se přenášejí osivem buď na jeho povrchu nebo uvnitř semen. U vnitřní infekce může být napadeno embryo i jiná pletiva semene (Maude, 1996). K patogenům, kteří aktivně infikují osivo proniknutím přes stěnu vaječnicku patří např. *Cladosporium variabile* na špenátu, *Botrytis aclada* a *B. allii* na cibuli, přes vaskulární systém např. *Pea seed-borne mosaic virus* na hrachu nebo *Lettuce mosaic virus* na salátu, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Verticillium dahliae* na špenátu (Jacobsen, 2014).

Míra škodlivosti těchto patogenů závisí na intenzitě napadení a četnosti napadení osiva. Pro vznik infekce a rozvoj onemocnění semen je nutná interakce náchylného hostitele a patogenu a zároveň odpovídající podmínky prostředí (Agarwal, Sinclair, 1997). Z biotických faktorů mají vliv na primární poškození semen i živočišní škůdci. Z faktorů abiotických má největší vliv teplota a vlhkost. Některé patogeny se vyskytují jenom v určitých letech, v závislosti na počasí. Např. houba *Septoria lycopersici*, původce listové skvrnitosti rajčat, byla přítomna v humidních oblastech, v oblastech aridních zjištěna nebyla. Podmínkami prostředí může být patogen ovlivněn ve všech fázích infekčního cyklu (Houba, Hosnedl, 2002). Pro vznik infekce musí patogen mít schopnost napadnout semeno a schopnost napadnout vzcházející rostliny. K přežití musí překonat procesy jako je sklizeň, čištění, ošetření a uskladnění osiva (Jacobsen, 2014). Vliv na míru škodlivosti, nejen u patogenů přenosných osivem, má rovněž výživa rostlin. Rostliny, které jsou přehnojené dusíkem, jsou náchylnější k napadení patogeny a škůdci. Také u rostlin pěstovaných na pozemcích s nedostatkem přístupného vápníku, draslíku a fosforu, které mohou trpět snížením pevnosti pletiv, dochází mnohdy k intenzivnějším

projevům choroby. Patogenní organismy, které jsou přenášeny osivem, způsobují přímé poškození semen a později onemocnění rostlin. Mohou způsobit snížení klíčivosti, kdy semena buď vůbec nevyklíčí nebo jsou klíčky natolik oslabené nebo deformované, že odumírají. Větší podíl napadených semen v osivu se projevuje mezerovitým vzcházením (Prokinová, 1997, Houba, Hosnedl, 2002). Osivem jsou přenášeny patogeny virového, bakteriálního i houbového původu, nejpočetnější skupinou jsou zástupci z říše hub (Neergaard, 1979).

3.1.1 Virové patogeny semen

Některé druhy virů patogenních pro rostliny mohou být přenosné semenem. Mohou být vázány na embryo, endosperm i testu. Rostliny, které vyrostou z napadených semen, jsou primárním zdrojem inokula. Procento přenosu semeny je ovšem poměrně nízké, kolem 0,1 % a závisí na kmenu viru, genotypu hostitele, vnějších podmínkách a době infekce. Mezi viry přenosné semenem patří virus obecné mozaiky fazolu (*Bean common mosaic virus*), vyskytující se ve všech oblastech, kde se pěstuje fazol. Následkem napadení je zmenšení semen a lusku (Biddle, Cattlin, 2007). K virům přenosným semenem patří také virus mozaiky salátu (*Lettuce mosaic virus*) a virus mozaiky rajčete (*Tomato mosaic virus*). U semen napadených virovými patogeny jsou pozorovány nápadné změny zbarvení, deformace, zdrsnění osemení nebo celkově snížená velikost (např. semena cibule po napadení virem proužkovitosti cibule – *Onion yellow dwarf virus*). Viry často způsobují také sterilitu rostlin, kdy se semena nevytváří vůbec nebo jsou deformovaná a nevyzrálá (Prokinová, 1997, Navrátil, 2011).

Virové patogeny na sledovaných druzích zeleniny

Virovým patogenem přenosným semenem papriky je *Pepper mild mottle virus* (PMMV), který způsobuje mírnou strakatost papriky. V České republice byl poprvé tento vir izolován v roce 2002 na paprice pěstované ve skleníku (Svoboda *et al.*, 2006). Napadení se projevuje na listech žlutozelenou mozaikou, plody mohou být malé, deformované, s propadlými nekrotickými skvrnami. Virus je rovněž přenosný mechanicky. U semen podezřelých na infekci PMMV lze snížit úroveň napadení namočením semen do 10% roztoku fosforečnanu sodného. Po zjištění napadení v porostu je vhodné odstranit infikované rostliny a z důvodu zabránění šíření infekce i rostliny sousedící (Cerkauskas, 2004). Úzce příbuzné *Tomato mosaic virus* a *Tobacco mosaic virus*, způsobující virové

mozaiky, napadají kromě papriky i rajčata. Jsou přenášeny na povrchu semen nebo mechanicky. Nejčastějšími symptomy jsou chlorotické mozaiky na listech, deformace listů a stonků a hnědnutí dužniny plodů. Většina nových odrůd je vůči těmto virům geneticky odolná (Pohronezny, 2003). Semenem přenosný *Carrot red leaf virus* způsobuje virovou červenolistost mrkve. V prvním roce vegetace mrkve způsobuje barvené diskolorace na listech nebo drobné deformace. Ve druhém roce vegetace, tj. v semenných porostech, redukuje tvorbu semen, která mohou mít nízkou biologickou hodnotu (Rod *et al.*, 2005).

3.1.2 Bakteriální patogeny semen

Fytopatogenní bakterie mohou určitou dobu přežít na povrchu nebo uvnitř semen, případně hlíz, oddenků aj. Semena mohou být infikována několika způsoby. Bakterie mohou proniknout do semen po infekci květu (př. semena sóje infikovaná *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*), dále mohou pronikat do semen přes léze, které se objevují na chlopních lusků u fazolu (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*). Rovněž mohou bakterie proniknout přes vaskulární systém (semena rajčete po infekci *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, semena zelí – *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*). K proniknutí může také dojít přes průduchy v osemení nebo zachycením bakterií na semenech při sklizni. Nejčastějším symptomem na semenech po napadení fytopatogenními bakteriemi jsou barevné změny. Bakterie *Pseudomonas phaseolicola* nebo *Xanthomonas phaseoli* způsobují na semenech fazolu žlutavé, tmavé skvrny (Koike, *et al.*, 2007). Docházet může i ke změnám velikosti semen nebo k jejich deformacím. Vně se ovšem příznaky nemusí projevit. Bakterie, které se vyskytují na povrchu semen, obvykle ztrácejí životaschopnost ještě dříve, než dojde k vysetí. Druhy bakterií, které se vyskytují uvnitř semen, si životaschopnost udržují po dobu životaschopnosti semene (Kúdela *et al.*, 2002, Prokinová, 1997).

Bakteriální patogeny na sledovaných druzích zeleniny

Bakteriálním patogenem přenosným semenem u mrkve je například *Xanthomonas campestris* pv. *carotae*, způsobující bakteriální skvrnitost mrkve. Na špičkách listů se tvoří nepravidelné žluté skvrny, které později tmavnou. Skvrny na řapících a lodyhách jsou protáhlé (Gugino *et al.*, 2004). Symptomy na listech jsou zaměnitelné se symptomy

vyvolané houbou *A. dauci* (Koubová, 2005). Patogen *Pseudomonas syringae* pv. *apii* přenosný semenem, způsobuje bakteriální spálu celeru, kmínu nebo petržele. Z počátku se vytvářejí vodnaté léze na listech, vzrostné vrcholy a květenství černají a odumírají. Minchinton *et al.*, (2006) uvádějí jako účinné opatření k likvidaci bakterií v napadených semenech jejich ponoření do horké vody (50 °C) po dobu 25 minut. Bakteriální skvrnitost rajčete a papriky způsobuje *Xantomonas hortorum* pv. *vesicatoria*. Na listech infikovaných rostlin se tvoří nepravidelné vodnaté, cca 3 mm velké skvrny, které později šednou a mají černý střed. Na plodech jsou skvrny nejprve rovněž vodnaté, později zhnědnou a lehce se propadnou. Těmito skvrnami mohou do plodů pronikat i původci měkké hniloby (např. *Pectobacterium carotovorum*). Silnější výskyt napadení bývá zaznamenán na zavlažovaných pozemcích (Ritchie, 2000). Na ochranu rostlin proti bakteriálním patogenům během vegetace se aplikují měďnaté přípravky. Základem ochrany je zdravé semeno ze zdravých porostů (Kůdela *et al.*, 2002).

3.1.3 Houbové patogeny semen

Nejvíce fytopatogenních druhů přenosných osivem jsou houby, ovšem na kolonizaci živých rostlin se podílí méně než 10 % známých druhů z říše Fungi (Carris *et al.*, 2012). Houba a Hosnedl (2002) uvádějí, že menší semena téže odrůdy jsou více napadána houbovými patogeny než semena větší. Na semenech se mykózy mohou projevit různými symptomy, např. hnilobou (*Botrytis cinerea*) nebo srašněním a zmenšením velikosti (brukvovité po napadení *Alternaria brassicicola*), tmavé nekrotické skvrny (u hrachu po napadení *Ascochyta pisi*). Houbové patogeny mohou zapříčinit nedozrávání semen nebo se semena vůbec nevytvoří, např. po napadení patogeny rodu *Fusarium* (Prokinová, 1979). Velmi často dochází ke společnému působení více patogenů, jeden příznak může být vyvolán různými původci. Přítomnost patogenu v semeni nebo na semeni často nevyvolá žádný viditelný příznak (Walcot, 2003), a i přesto dochází např. ke snížení klíčivosti. Neklíčivost semen může být způsobena i patogeny z rodu *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* nebo *Fusarium*, z nichž některé druhy produkují mykotoxiny, které inhibují klíčení semen (Houba, Hosnedl, 2002). Existují i patogeny, které jsou s osivem přenášeny jako příměs, např. sklerocia hlízenky obecné (*Sclerotinia sclerotiorum*) nebo *Botrytis cinerea* mohou být přimíchána k semenům brukvovitých (Prokinová, 1979).

Houbové patogeny na sledovaných druzích zeleniny

Mezi významné houbové patogeny mrkve, které jsou přenosné semeny, patří *Alternaria dauci*, *A. alternata* a *Cercospora carotae*, které způsobují listové skvrnitosti. Na listech se projevují zpočátku malými nekrotickými skvrnami, později se slévají a může dojít k odumření celých listů. Symptomy *C. carotae* se objevují především na mladých listech, *A. dauci* a *A. alternata* především na starších listech. (Koubová, 2005, Gugino *et al.*, 2004). Na semenech přežívá i *Alternaria radicina*, způsobující černou hnilobu mrkve i petržele a dalších druhů z čeledi miříkovité. Na listech vytváří nekrotické skvrny, na vyvinutých kořenech tvoří propadlé skvrny, které vypadají jako zuhelnatělé (Rod *et al.*, 2005). U semenných porostů patogen způsobuje snížení výnosu i kvality semen (Ekman, Tesoriero, 2015). Patogeny rodu *Alternaria* způsobující choroby listů a kořenů mrkve jsou rozšířeny ve všech oblastech, kde se mrkev pěstuje (Davis, Raid, 2002). Na petrželi jsou semenem přenosné patogeny *Alternaria petroselini*, způsobující alternáriovou skvrnitost petržele a *Septoria petroselini*, způsobující septoriovou skvrnitost listů petržele. *S. petroselini* na listech vytváří šedavé, tmavě ohraničené skvrny, na kterých jsou patrné pyknidy, které se vyskytují i na infikovaných semenech. Snížením asimilační plochy dochází k redukci kořenů. Padlí miříkovitých, *Erysiphe heraclei*, je přenosné semeny, a napadá mrkev, petržel, pastinák aj. Na všech nadzemních částech, především na lici listů, tvoří bílé moučnaté povlaky, a později se objevují kleistothecia. Semenem papriky je přenosný patogen *Colletotrichum capsici*, způsobující antraknózu. Na zralých i nezralých plodech se po infekci tvoří kruhové až oválné léze s černými okraji, na listech a stoncích nepravidelné hnědé léze. Černé zbarvení způsobují mikrosklerocia a acervuli (Koike *et al.*, 2007).

3.2 Mykotoxiny

Název mykotoxin pochází z řeckého „mycos“ znamenající houba a latinského „toxicum“ znamenající jed nebo jedovatý (Nedělník, 2003). Mykotoxiny jsou sekundární metabolity, které produkují mikroskopické vláknité houby (Nayyar *et al.*, 2014). Jejich producenty jsou některé druhy mikroskopických hub, především rodu *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus* a *Penicillium*. Rod *Fusarium* je producent trichothečenů, fumonisinů a zeralenonu. Rod *Aspergillus* produkuje především aflatoxiny. *Aspergillus* spp. společně s *Penicillium* spp. jsou producenty ochratoxinu A.

Několik druhů toxinogenních hub může produkovat stejný mykotoxin, jeden druh může naopak produkovat více odlišných mykotoxinů (Klaban, 2011). Baliukoniene *et al.* (2003) uvádějí, že mykotoxiny produkuje asi 30–40 % známých mikromycet. Bylo popsáno více než 300 mykotoxinů (Štolc, 2009).

Tvorba mykotoxinů závisí na biologických, fyzikálních a fyzikálně chemických faktorech. Potencionálně toxinogenní houby vytvářejí mykotoxiny za příznivých podmínek, především teploty a vlhkosti, za nevhodných podmínek je vytvářet nemusí. Optimální teplota pro syntézu mykotoxinů je ve většině případů shodná s optimální teplotou růstu mikromycet mykotoxin produkujících (Klaban, 2011).

Mykotoxiny patří k významným faktorům, které negativně ovlivňují zdraví člověka a hospodářských zvířat (Ostrý, 1998). Tyto toxické substance narušují funkci imunitního systému a mohou vyvolávat patologické změny v orgánech např. játrech a ledvinách. Nejzávažnějším problémem je přenos mykotoxinů do potravin, případně do krmiv (Štolc, 2009). Nedělník (2003) uvádí, že největším nebezpečím je pozvolná a dlouhodobá akumulace mykotoxinů v buňkách nebo tkáních konzumentů. Mykotoxiny jsou termostabilní látky a ani tepelná sterilizace jejich účinnost neinhibuje (Nayyar *et al.*, 2014). Riziko akutního toxického účinku mykotoxinů je u nás považováno za minimální. Za významné jsou považovány imunosupresivní účinky. Ty způsobují snížení obranyschopnosti organismů, a naopak zvyšují náchylnost k některým nemocem. Dále se věnuje pozornost karcinogennímu riziku a vývojové toxicitě (Ostrý, 1998).

S mykotoxiny se setkáváme u zemědělských komodit obilnin, luskovin, olejnin a zeleniny a ovoce. Jejich přítomnost v plodinách závisí na mnoha faktorech, např. klimatických podmínkách, citlivosti plodin, poškození plodin, manipulaci a uskladnění. Obvykle se v zemědělských produktech vyskytují ve stopových množstvích, v nanogramech až mikrogramech na gram produktu (Štolc, 2009).

3.3 Významné houbové patogeny zeleniny přenosné osivem

Názvy mikroskopických hub jsou uváděny podle <http://www.indexfungorum.org>.

3.3.1 Rod *Alternaria* Ness, 1816

Těmito mikroskopickými vláknitými houbami se poprvé zabýval německý botanik C. D. G. Ness a popsal je v roce 1816. Název *Alternaria* je odvozen z latinského *alternate* = střídat (Klaban, 2011). Rod *Alternaria* zahrnuje saprofytické i parazitické druhy (Kidd *et al.*, 2016). Taxonomie rodu *Alternaria* je komplikována variabilitou morfologických znaků, které jsou ovlivněny podmínkami vnějšího prostředí a vnitřními faktory (Rotem, 1994).

Taxonomické zařazení dle Agrios (2005)

Říše: Fungi

Oddělení: Ascomycota

Řád: *Pleosporales*

Čeleď: *Pleosporaceae*

Rod: *Alternaria* – anamorfa

Morfologická charakteristika rodu *Alternaria*

Druhy r. *Alternaria* vytvářejí charakteristické okrově, žlutě, světle nebo tmavě hnědě zbarvené vícebuněčné konidie, s podélnými a příčnými přepážkami. Na konidioforech tvoří řetízky. Bazální část konidie je širší, apikální část užší a je zakončena nepatrným až dlouhým výběžkem (Kidd *et al.*, 2016). Morfologické znaky, kterými jsou velikost a tvar konidií, velikost přehrádek, tvorba řetízků a další jsou hlavním rozlišovacím kritériem při determinaci jednotlivých druhů (Klaban, 2011, Prokinová, 2004a). Vegetativní mycelium je u rodu *Alternaria* vzdušné i substrátové. Na hustě článkovaných a málo větvených konidioforech jsou po bocích a na konci vytvářeny makrokonidie. Povrch konidií bývá hladký, drsný až ostnitý. Na apikální části konidie poslední buňka pučí v novou dceřinou konidii. Pučení probíhá opakovaně, proto vznikají řetězce po sobě následujících konidií, případně se větví konidiofory. U některých druhů se mohou konidie vytvářet jednotlivě. Na živných půdách, vhodný je bramborovo-dextrózový agar, kolonie rodu *Alternaria* rostou rychle, mají semišový vzhled a olivově černé zbarvení (Kidd *et al.*, 2016). Nově izolované kmeny mají porost nižší a tmavší. U kmenů, které se kultivují déle, je porost světle šedý, a jeho vzhled vatovitý. Ze spodní strany se porosty

na agarových půdách jeví vždy hnědočerně až černě (Fassatiová, 1979, Šilhánková, 2002). Druhy r. *Alternaria* v kulturách brzy ztrácejí schopnost sporulace, a proto se doporučuje je udržovat pod UV světlem (Kidd *et al.*, 2016).

Symptomy napadení *Alternaria* spp. a jeho hostitelé

Na rostlinách existují druhy parazitující, druhy parazitující příležitostně nebo druhy, které žijí epifyticky pouze na povrchu rostlinných orgánů (Klaban, 2001). Velmi častým symptomem napadení hostitelů patogenními druhy jsou chlorotické nebo hnědé, postupně nekrotizující skvrny na nadzemních částech rostlin. Při silné infekci mohou nekrotické skvrny splývat a dochází tak k výraznému omezení asimilační plochy. V krajním případě k její likvidaci a tím ke ztrátě schopnosti produkce u napadených rostlin. Infikovány jsou zpravidla nejstarší listy a následně jsou napadeny i listy mladší. Pronikání patogenu pokožkou je buď mechanické, enzymatické nebo působením fyto toxinů (Fassatiová, 1979, Prokinová, 2004a). Fytopatogenní druhy rodu *Alternaria*, jsou primárně patogeny osiva. Ve všech případech je infekce semen hlavní příčinou přenosu tohoto patogenu. Infikovaná semena se podílejí na padání klíčících rostlin, projevujícím se černými nekrotickými skvrnami již na děložních lístcích. Dlouhodobé ovlhčení rostlin při deštivém počasí může být příčinou větších ztrát. Pokud dojde k napadení generativních orgánů, dochází k předčasnému zasychání semen (Rotem, 1979, Kazda *et al.*, 2010). Z druhů rodu *Alternaria* jsou hospodářsky významné například *Alternaria brassicae*, *A. brassicola* na košťálové zelenině, *Alternaria porii*, *A. solani* na cibulové zelenině, či *A. dauci* a *A. radicina* na kořenové zelenině (Hýsek, 2009, Rod *et al.*, 2005).

Mykotoxigenní druhy r. *Alternaria*

Některé druhy tohoto rodu, např. *Alternaria alternata*, *A. cucumerina*, *A. dauci*, *A. solani* nebo *A. tenuissima* jsou producenty mykotoxinů, které mohou negativně ovlivnit rostliny stejně jako živočichy a člověka. Mezi nejčastější patří alternariol, alternariol methyl ether a altertoxin I, které mají cytotoxické účinky na bakterie a savce (Nayyar *et al.*, 2014), případně kyselina tenuazonionová. Množství alternariových toxinů ve zpracovaných produktech nedosahuje významné hladiny a v ovoci a zelenině jsou přítomny pouze ve viditelně poškozených produktech, např. zahnívajících. Nízké dávky mykotoxinů

ovšem mohou při dlouhodobém působení mít negativní vliv na zdraví konzumentů (Prokinová, 2004a, Ostrý *et al.*, 2008).

3.3.2 Rod *Aspergillus P. Micheli ex Haller, 1768*

Název pochází z latinského *aspergo* = kropím (Ainsworth, 2009) a někdy je pro jeho označení používán český výraz kropidlák (Stehlík *et al.*, 1968). Jedná se o velmi rozsáhlý rod (zahrnuje asi 250 druhů) rozdělený na několik podrodů a sekcí (Raper, Fennell, 2009).

Taxonomické zařazení dle Agrios (2005)

Říše: Fungi

Oddělení: Ascomycota

Řád: *Eurotiales*

Čeleď: *Trichocomaceae*

Rod: *Aspergillus* – anamorfa

Zástupci rodu *Aspergillus* se vyskytují kosmopolitně, avšak hojněji jsou zastoupeny v teplejších oblastech. Vyskytují se v půdě, na zbytcích rostlinného i živočišného materiálu (Raper, Fennell, 1965). Tento rod vláknitých mikromycet nebývá považován za hlavní příčinu chorob u rostlin, ale významně se podílí na kontaminaci rostlinných produktů (Perrone, 2007). Zvláštní pozornost se věnuje druhům, které produkují silné toxiny, vykazující patogenitu pro zvířata i člověka (Fassatiová, 1979).

Morfologická charakteristika rodu *Aspergillus*

Pro rod *Aspergillus* je charakteristické hlavicovité zakončení konidioforu. Jeho zbarvení je žluté až hnědé. Konidiofor se na konci rozšiřuje v kulovitý nebo elipsoidní měchýřek (Raper, Fennell, 2009), po jehož části, nebo celém obvodu, vyrůstají lahvicovité fialidy. Ty jsou uspořádány v jedné nebo dvou řadách nad sebou. Rozdělují se na fialidy primární a sekundární, obvykle kratší a tenčí (Kidd *et al.*, 2016). Konidie jsou jednobuněčné, kulovité až hruškovité, na povrchu hladké nebo zdrsnělé až ostnitě. Měchýřek s fialidami a řetězci konidií vytvářejí tzv. konidiální hlavici, která je makroskopicky patrná. Nepříznivé podmínky přetrvávají druhy tohoto rodu v podobě tzv. hülle cells, také zvaných jako Eidamovy buňky (Fassatiová, 1979). Identifikace druhu kromě

morfologických znaků závisí na vzhledu kolonií čistých kultur pěstovaných na Czapek-Doxově agaru, který obsahuje sacharózu jako zdroj uhlíku a dusičnan jako zdroj dusíku (Raper, Fennell, 1965).

Mykotoxigenní druhy r. *Aspergillus*

Druhy rodu *Aspergillus*, např. *A. flavus*, *A. niger*, *A. alliaceus* produkují látky, které se označují jako aflatoxiny. Název je vytvořen ze slov „*Aspergillus flavus toxin*“ (Klaban, 2011). Producenti aflatoxinů ke svému životu potřebují vyšší teploty, optimum pro růst je kolem 28 °C, s vysokou relativní vlhkostí substrátu. Pokud vlhkost substrátu klesá pod 12 %, zastavuje se životní cyklus patogenu. Aflatoxiny byly izolovány z různých komodit, např. obilovin, slunečnicových semen nebo papriky (Weidenborner, 2001). Některé druhy r. *Aspergillus* a r. *Penicillium* produkují mykotoxiny – ochratoxin A, B a C. V našich podmínkách se ochratoxiny vyskytují poměrně často. Nejtoxičtější ochratoxin A má imunotoxické, karcinogenní a teratogenní účinky (Nedělník, 2005).

3.3.3 Rod *Cladosporium* Link, 1816

Druhy tohoto rodu jsou kosmopolitně rozšířeny, běžně jsou izolovány z půdy a organického materiálu (Kidd *et al.*, 2016). Název je vytvořen z řeckého klados = větev a sporos = semeno (Klaban, 2011). Vyskytují se např. na povrchu odumírajících rostlinných pletiv (Fassatiová, 1979).

Taxonomické zařazení dle Agrios (2005)

Říše: Fungi

Oddělení: Ascomycota

Řád: *Dothideales*

Čeleď: *Mycosphaerellaceae*

Rod: *Cladosporium* – anamorfa

Morfologická charakteristika rodu *Cladosporium*

Tento rod má bohatě vyvinuté mycelium. Kolonie jsou pomalu rostoucí, zbarvení je většinou olivově hnědé, černo-hnědé, někdy šedé. Povrch je na pohled semišový, později je práškový. Rub kolonií je olivově černý (Kidd *et al.*, 2016). Mladé hyfy jsou

tenkostěnné, s delšími buněčnými úseky. Starší hyfy jsou tmavší, tlustostěnné s kratšími buněčnými úseky. Ze stromatu konidiofory vyrůstají ve svazcích, nebo jsou rozptýlené a vytváří se na konci i po stranách hyalinních hyf. Konidiofory jsou zpravidla nevětvené, olivové až hnědé. Zelenohnědé nebo šedohnědé konidie vznikají pučením blastospor na konci konidioforu a vytvářejí jedno až tříbuněčné větvičky se řetízky (Fassatiová, 1979). Tvarově jsou konidie velice variabilní – oválné, kulovité, válcovité, větvenovité případně citronovité s hladkým nebo jemně bradavičnatým povrchem (Bensch *et al.*, 2012).

3.3.4 Rod *Fusarium* Link, 1809

Druhy r. *Fusarium* jsou rozšířeny celosvětově, byly zaznamenány v arktických i pouštních oblastech. *Fusarium* spp. patří mezi významné patogeny rostlin, způsobující zakrnění, žloutnutí, vadnutí, hniloby aj. Vyskytují se na podzemních i nadzemních částech, semenech a rostlinných zbytcích (Booth, 1971). Nejčastější důvod studia těchto hub souvisí s jejich schopností způsobovat choroby u ekonomicky významných plodin např. obilnin, bramboru, zeleniny nebo okrasných rostlin. Některé druhy produkují mykotoxiny nebo metabolity škodlivé pro hospodářská zvířata i člověka (Zemánková, Lebeda, 2001).

Taxonomické zařazení dle Agrios (2005)

Říše: Fungi

Oddělení: Ascomycota

Řád: *Hypocreales*

Čeleď: *Hypocreaceae*

Rod: *Fusarium* – anamorfa

Morfologická charakteristika rodu *Fusarium*

Fuzaria vytvářejí plstnaté, vatovité kolonie. Jejich barva může být bílá, krémová, lososová, skořicová, žlutá, červená, fialová nebo růžová. Spodní strana kolonií je bezbarvá nebo načervenalá až hnědá (Refai *et al.*, 2015). V konidiálním stadiu se vytvářejí jednotlivé volné konidiofory, které se mohou shlukovat a vytvářet makroskopicky viditelná sporodochia. K vytváření sporodochií dochází spíše na přirozených substrátech. Při kultivaci se v kulturách tvoří konidiofory, které jsou

umístěny volně na myceliu. Konidiofory mohou být méně i více rozvětvené, tvoří se na nich fialidy, které plodí konidie (Fassatiova, 1979).

Kidd *et al.*, (2016) uvádějí, že u druhů rodu *Fusarium* se rozlišují jednobuněčné oválné nebo elipsoidní mikrokonidie (z řeckého mikros = malý) a vícebuněčné rohlíčkovité nebo srpovité makrokonidie (z řeckého makros = velký). U některých druhů se vyskytují i mezokonidie, které jsou menší než makrokonidie ale větší, než mikrokonidie (Refai *et al.*, 2015). Jejich název navrhl I. G. Pascoe v roce 1990. U většiny druhů se vyskytují mikro i makrokonidie (Klaban, 2001). Pro některé druhy je charakteristická tvorba chlamydospor. Mají různý tvar i velikost a různý počet buněk, které často mají zbarvenou stěnu, můžou mít i bradavičnatou strukturu. Determinačními znaky pro určení druhu fuzarií je především morfologie makrokonidií, tj. počet buněk a jejich velikost, tvar zahnutí (eliptický, parabolický nebo hyperbolický), a tvar apikální a bazální buňky, zda je vytvořena tzv. nožka. U jednoho druhu může počet i velikost buněk makrokonidií značně kolísat (Kidd *et al.*, 2016, Fassatiová, 1979, Klaban, 2001).

Symptomy napadení fuzarií a jejich hostitelé

Jedná se o jeden z velmi rozšířených a bohatých rodů. Druhy, které sem patří, žijí saprofytický v půdě nebo na částech rostlin. Rovněž bývají typickými příležitostnými (fakultativními) patogeny, přednostně napadající rostliny oslabené například škůdci nebo nevhodnými vláhovými podmínkami (Fassatiová, 1979, Prokinová, 2004b). Rod *Fusarium* zpravidla přežívá na rostlinných zbytcích a semenech a tím vytváří potenciaální hrozbu pro další infekci, šířící se ze semen nebo z půdy. V půdě fuzaria žijí v rhizosféře, tj. v nejbližším prostoru kořenového vlášení. Faktory, které napadení ovlivňují jsou vzdušná vlhkost a teplota. Větší pravděpodobnost napadení je při vyšší vlhkosti, ale i při období s déle trvajícím přísuškem nebo při prudkých výkyvech teplot (Fassatiová, 1979, Prokinová, 2004b, Kazda *et al.*, 2010). Choroby, které jsou vyvolány druhy r. *Fusarium*, jsou označovány jako fuzariózy. Rostliny mohou být poškozeny již během vzcházení infekcí z napadených semen. V našich podmínkách jsou houby rodu *Fusarium* nejčastějšími původci právě oslabení a deformací u mladých rostlin. Dále způsobují vadnutí rostlin, jejich žloutnutí a svinování listů, které by mělo zamezit výparu vody při neprůchodnosti cévních svazků. Dalším příznakem mohou být nekrózy a odumírání kořenů. V polních podmínkách je obvyklé, že tyto symptomy způsobuje komplex více patogenů (Kazda *et al.*, 2010, Klaban, 2011). Zástupci rodu *Fusarium* se

vyskytují zejména u obilnin, například *Fusarium avenaceum* nebo *F. culmorum* a *F. poae*. Z druhů, které jsou patogeny zeleniny, například *F. oxysporum*, *F. semitectum* nebo *F. solani*. Hostitelskými druhy těchto patogenů jsou například květák a jiná brukvovitá zelenina, rajče, paprika nebo česnek.

Mykotoxinogenní druhy r. *Fusarium*

Houby rodu *Fusarium*, např. *F. gramineum*, *F. semitectum*, *F. culmorum*, *F. solani* nebo *F. oxysporum* vytvářejí různé mykotoxiny. Nejpočetnější skupinou jsou trichotheceny, se 140 popsány druhy (Nedělník, 2005). Nebezpečné jsou zvláště nivalenon – NIV, deoxynivalenon – DON, diacetoxiscirpenol – DAS, T-2 toxin nebo HT-2 toxin. Nejnižší akutní toxicitu vykazuje DON, naopak největší T-2 toxin (Klaban, 2011). Dalším metabolitem mnoha druhů rodu *Fusarium* je zearaleon, který blokuje funkci hormonů. V našich podmínkách je často obsažen v různých zemědělských produktech. V rámci jednotlivých druhů je tvorba toxinů víceméně specifická, avšak existují i izoláty atoxigenní, které toxiny nevytvářejí (Hýsek 2008). Dalšími mykotoxiny, které produkují druhy z rodu *Fusarium* jsou tzv. fumonisimy. Považují se za možné karcinogeny pro člověka, charakterizované jako promotory karcinogenních procesů (Klaban, 2011, Hajšlová *et al.*, 2009).

3.3.5 Rod *Penicillium* Link, 1809

Název je odvozen z latinského *penicillus* = štětec. V češtině je někdy používán název štětičkovec. Označení *Penicillium* poprvé použil pro konidiální stadium německý mykolog H. F. Link v roce 1809.

Taxonomické zařazení dle Agrios (2005)

Říše: Fungi

Oddělení: Ascomycota

Řád: *Eurotiales*

Čeleď: *Trichocomaceae*

Rod: *Penicillium* – anamorfa

Rod *Penicillium* je velice bohatý, obsahuje 354 popsáných druhů a vyskytuje se celosvětově. *Penicilia* se vyskytují v půdě, ve vodě, na povrchu jak živých, tak odumřelých organismů (Visagie *et al.*, 2014). Jejich spory jsou rozšířeny i ve vzduchu.

Dovedou klíčit při minimálních živných požadavcích. (Fassatiová, 1979). Tento rod s mnoha konidiálními druhy, v roce 1949 rozdělili K. P. Rapper a C. Thom na čtyři skupiny podle mikromorfologie a makroskopického vzhledu kolonií. V mnoha určovacích klíčích je toto rozdělení uváděno dodnes. V současné době je ovšem akceptováno rozdělení dle australského vědce J. I. Pitta z roku 1979, který podle typu větvení konidioforů rozdělil rod na čtyři sekce: Monoverticillata, Biverticillata symetrica, Biverticillata asymerica a Polyverticillata (Klaban, 2011).

Morfologická charakteristika rodu *Penicillium*

Pro rozdělení jednotlivých druhů do sekcí je stěžejní stavba konidioforů a jeho článků – větví, metul a fialid, které vytvářejí tzv. štětičku (Stehlík *et al.*, 1968). Sekce Monoverticillata má konidiofor ukončený jedním přeslenem fialid. Sekce Biverticillata Symetrica má konidiofor ukončený štětičkou vytvořenou jedním přeslenem metul uspořádaných souměrně s podélnou osou konidioforu. Každá z nich nese jeden přeslen fialid. Sekci Biverticillata Asymerica charakterizují konidiofory, které jsou ukončené větvemi nesouměrnými s podélnou osou, případně i s metulami. Do této sekce se řadí nejvíce druhů. Poslední sekce Polyverticillata má konidiofor zakončený štětičkou, která je složená z více než tří pater přeslenovitě poskládaných článků (Visagie *et al.*, 2014). Při taxonomickém určování je z hlediska mikroskopických znaků důležité uspořádání štětičky, postavení jednotlivých článků štětičky, tvar, velikost a počet fialid, tvar, velikost a povrch konidií. Kolonie jsou rychle rostoucí, velmi husté, většinou jsou zbarveny modrozeleně, někdy bíle. Vhodným médiem ke kultivaci je Czapek-Doxův agar (Kidd *et al.*, 2016).

Mykotoxiny

U druhů r. *Penicillium* byl objeven v průběhu výzkumu nových antibiotik mykotoxin claviformin. Izoloval ho biochemik E.R. Chain v roce 1942. později byl přejmenována na patulin, což je jeho definitivní název, je produkován druhem *P. granatum*. Karcinogenita nebyla prokázána, vykazuje ovšem imunopresivní účinky (Klaban, 2011).

3.3.6 Méně časté patogeny semen

Mezi méně často se vyskytující houbové patogeny na semenech patří druhy rodu *Botrytis* P. Micheli ex Pers. 1749, (Moniliales, Moniliaceae). Název je odvozený z řeckého botrys = hrozen. Vytváří porosty zejména světlých barev, jsou nízké, vločkovité až chmýřité. Na substrátu se často vytvářejí tmavá sklerocia. Konidiofory se obvykle stromkovitě větví a jsou poměrně vysoké. Na koncích se hroznovitě tvoří kulovité až protáhlé jednobuněčné konidie. Celosvětově rozšířený polyfágní patogen *Botrytis cinerea* vyvolává hniloby semen ovoce, zeleniny nebo okrasných druhů. Je všeobecně známý jako plíseň šedá. Název rodu *Epicoccum* Link 1816 je vytvořen z řeckého epi = na něčem a kokkos = kulička. Tento rod na přirozených substrátech vytváří stroma, která mají polokulovitý až kulovitý tvar, z nich vyrůstají vzdušné konidiofory ve sporodochiích. Na každém konidioforu se tvoří pouze jedna kulovitá vícebuněčná konidie tmavé barvy. *Epicoccum nigrum* je saprofytický druh, který slabě parazituje, zejména na poškozených, oslabených rostlinných pletivech. Rod *Rhizopus* Ehrenb. 1821, jehož český název zní kropidlovec, je velice rozšířený. Rychle roste na různých kultivačních půdách. Některé druhy jsou fytopatogenní. Sporangiofory nebývají větvené, tvoří se obvykle ve svazku po dvou až třech. Vyrůstají ze stolonů. Sporangiofory mají tmavě šedou až hnědou barvu, nesou kulovitá sporangia, která jsou v mládí světle zbarvená a po dozrání zčernají (Fassatiová, 1979, Klaban, 2011, Prokinová, 2010).

3.1 Metody ochrany semen

Zvýšení produkce a prodeje osiva zvýšilo nároky na kontrolu kvality a zdravotního stavu osiva. Ošetření semen lze provádět biologickými, fyzikálními a chemickými technikami, které poskytují ochranu a podporují růst zdravých plodin. Účelem zkoušení zdravotního stavu osiva je stanovení výskytu patogenů přenosných osivem, sloužící jako podklad pro volbu účinného opatření na potlačení případně zničení škodlivých organismů. U certifikovaných osiv je kvalita včetně zdravotního stavu zajišťována kontrolou v rámci uznávacího řízení – Vyhláška č. 129/2012 Sb., o podrobnostech uvádění osiva a sadby pěstovaných rostlin do oběhu (Prokinová, Korábek, 2017). Ochrana osiva je považována za nejúčinnější a nejekologičtější metodu v ochraně před škodlivými organismy, protože se používá malé množství účinné látky (Chloupek, 2008).

Chemické metody

Mezi chemické metody se řadí suché moření, mokré moření, kombinované moření, slurry moření a inkrustace. V ochraně semen u zeleniny se využívá zejména metoda inkrustace (Chloupek, 2008), tj. aplikace inkrustačního přípravku pro jeho lepší ulpění na povrchu semen. Materiálem pro inkrustaci je směs polymeru, barviva a aditiva, kterým může být např. fungicid, insekticid aj. Tento proces může být opakován s různými aditivami (Houba, Hosnedl, 2002). Inkrustace se provádí ponořením semen nebo nástřikem na jejich povrch. Po aplikaci tenké vrstvy jsou semena ihned vysušena (Chaubey *et al.*, 2014).

Podceňování významu moření napomáhá rozšiřování chorob (Hosnedl, 2002). Mořit se nesmí příliš dlouho před setím, protože může dojít ke ztrátě klíčivosti. Mořené osivo musí být dostatečně označené, aby nebylo použito pro potravinářské nebo krmné účely. (Chloupek, 2008). Moření osiva nechrání semena proti patogenům po celou vegetační dobu. V závislosti na použitém fungicidu trvá 10–40 dnů po výsevu (Ondřej 1995). Chemická látka ideální k moření by měla být účinná proti patogenním organismům a zároveň netoxická pro rostliny (Houba, Hosnedl, 2002). Kontaktní fungicidy jsou účinné proti patogenům na povrchu osiva, nemají vliv na vnitřní infekci. Systémové přípravky jsou účinné i proti patogenům uvnitř semen a zároveň dokáží poskytovat ochranu proti časně infekci pocházející z půdy (Mancini, Romanazzi, 2014).

Certifikované osivo se mořit nemusí, pokud v něm výskyt škodlivých činitelů nepřesahuje stanovené meze. V ekologickém zemědělství se mořit nesmí, používat se může nemořené osivo z partií, které prošlo polními i laboratorními hodnoceními vzorků osiva a které bylo pěstováno v ekologických podmínkách alespoň po dobu jedné generace (Chloupek, 2008).

Fyzikální metody

Mezi metody fyzikální patří ošetření horkou vodou (HWT – hot water treatment). Tento způsob hubení patogenů je efektivní a ekologický. Semena se namáčejí v sáčcích ze síťoviny, aby nebyla poškozena. Takto upravená semena nejsou vhodná ke skladování a znovu nemohou být podrobena tomuto ošetření. Rod (2008) podotýká, že rozmezí mezi teplotou potřebnou a škodlivou může být ve zlomku stupně. Vysoká teplota a delší expozice semen může mít za následek snížení klíčivosti osiva (Farrar, 2004). Nezáleží jen na výši teploty, ale i délce expozice. Na vyšší použité teploty mohou reagovat různě

jednotlivé botanické druhy, ale i jednotlivé odrůdy, dokonce i jednotlivé partie osiva. Je proto doporučeno nejprve horkou vodou ošetřit malý vzorek osiva a po testu klíčivosti ho aplikovat na osivo zbylé. Například u mrkve a zelí se proti patogenu *Alternaria dauci* a *A. brassicola* osvědčilo ponoření semen na 20 minut do vody horké 50 °C (Ivey, 2013). Nega *et al.* (2003) uvádějí, že teplota 50 °C snižuje množství patogenů na semenech zeleniny až o 90 %. Další fyzikální metodou ochrany semen je použití horké páry. Například u semen cibule, která byla ošetřena horkou párou (50–52 °C) po dobu 30 minut se projevila redukce houbových patogenů rodu *Fusarium*, *Botrytis* a *Penicillium*. Klíčivost při této metodě nebyla ovlivněna (Mabalds *et al.*, 1997). Z fyzikálních metod je dále možné ošetření elektrony. Elektrony pronikají rovnoměrně do vnější slupky semen. Jejich intenzita musí být optimalizována pro jednotlivé druhy (Michal, 2007).

Biologické metody

Mezi metody biologické patří využití mikroorganismů. Ty mohou zabezpečit ochranu proti chorobám napadajícím klíčící semena. Těmito organismy jsou např. *Pythium oligandrum* nebo *Trichoderma harzianum*. Na rostlinách se udržují po celou dobu růstu. Rostliny jsou méně napadány patogeny a rychleji rostou (Houba, Hosnedl, 2002). Další z biologických metod je použití prostředků na bázi přírodních látek. Silice rostlin, které produkují například tymián, koriandr nebo pepř vykazovaly fungitoxické vlastnosti. Nicméně studie zaměřené na použití přírodních produktů při ošetření semen jsou stále na počátku (Lima *et al.*, 2016). Lepšího účinku se může dosáhnout při použití fyzikálních metod nižší intenzity v kombinaci s biologickými prostředky (Michal, 2007).

3.2 Charakteristika vybraných druhů zeleniny

Mrkev obecná (*Daucus carota*)

U nás je mrkev nejčastěji pěstovaná kořenová zelenina (Rod *et al.*, 2005) z čeledi miříkovitých (*Apiaceae*). Dvouletá rostlina tvoří v prvním roce zpeřené listy a dužnatý kořen, v druhém roce vyrůstá rýhovaný, rozvětvený 1–1,5 m vysoký stonek (Pekárková, 2014). Květenství jsou složené okolíky, plodem je dvounažka. Asi 2 mm velká semena mají tmavohnědou barvu, jsou zploštělá a rýhovaná (Uher *et al.*, 2009). Hmotnost tisíce semen je 0,7–1,4 g. Semena si udržují klíčivost 3–4 roky a před výsevem musí být skarifikována (Petříková *et al.*, 2012).

Petržel kořenová (*Petroselinum crispum*)

Petržel se pěstuje pro kořen i pro nať (Rod *et al.*, 2005). Stejně jako mrkev patří do čeledi miříkovitých (*Apiaceae*) a také je řazena mezi kořenovou zeleninu. Dvouletá rostlina v prvním roce tvoří růžici listů a křivý 0,1–0,3 m dlouhý žlutavě bílý až okrově žlutý kořen s bílou dužninou. Listy jsou řapíkaté 2–3× zpeřené, tmavě zelené, lesklé. V druhém roce tvoří 0,8–1,2 m vysokou lodyhu (Pekárková, 2014). Květenství jsou složené okolíky se žlutými oboupohlavními květy. Plodem je zelenohnědá žebernatá vejčitá dvounažka. Hmotnost tisíce semen je 1,3–1,5 g (Petříková *et al.*, 2012).

Paprika roční (*Capsicum annum*)

Paprika je teplomilná plodina, v našich podmínkách jednoletá (Pekárková, 2014). Patří do čeledi lilkovitých (*Solanaceae*). Koření mělce a má krátký křivý kořen. Listy jsou vejčité a celokrajné, jejich množství závisí na množství světla a na teplotě. Bílé květy jsou oboupohlavné (Uher *et al.*, 2009), plod je vysychavá bobule. Nažloutlá ledvinkovitá semena jsou na povrchu drsná. Tmavě zbarvená semena jsou neklíčivá. HTS je 6,5–8 g. Semena si udržují klíčivost 2–3 roky (Petříková *et al.*, 2012).

4 MATERIÁL A METODIKA

V roce 2016 byla hodnocena mikroflóra osiva vybraných druhů zeleniny. Příprava vzorků a identifikace patogenů byla provedena ve fytopatologické laboratoři Ústavu pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství na Mendelově univerzitě v Brně. Do pokusu byly vybrány tři odrůdy mrkve (Calibra, Kardila a Nantes 5), tři odrůdy kořenové petržele (Atika, Efez a Olomoucká dlouhá) a jedna odrůda papriky (Rubinova).

Osivo mrkve a petržele nebylo producentem ošetřeno, osivo papriky bylo ošetřeno HWT (ošetření horkou vodou) a neošetřeno.

Charakteristika vybraných odrůd

Mrkev obecná

Calibra F1 je velmi raná hybridní odrůda. Vegetační doba se pohybuje kolem 90 dní od výsevu. Je velmi odolná k praskání a vyniká dobrou chutí. Délka kónického kořene je 18–23 cm, při dlouhodobějším pěstování se kořen stává válcovitý, s tupým zakončením, tzv. nanteský typ (SEMO Smržice, 2017).

Kardila je pozdní, velmi výnosná odrůda vhodná k zimnímu uskladnění. Oranžovočervený, válcovitý, postupně se zužující kořen, odpovídající typu flakee. Je vhodná k sušení a zmrazování (SEMO Smržice, 2017).

Nantes 5 je raná odrůda s delším, hladkým, téměř válcovitým, tupě ukončeným červenooranžovým kořenem. Dužnina je jemná a má výbornou chuť. Ze 100 m² je možné při vhodném pěstování sklídit 290–310 kg kořenů. Vegetační doba je 115–125 dní. U pěstitelů je tato odrůda velmi oblíbená (SEMO Smržice, 2017).

Petržel kořenová

Atika je raná odrůda kořenové petržele se středně vysokou, tmavě zelenou natí. Oproti jiným odrůdám je odolnější proti padlí. Robustní, dlouhý kořen má tvar trojúhelníku. Pro svou ranost je vhodné tuto odrůdu sklízet pro přímý konzum, i na svazkování (SEMO Smržice, 2017).

Efez je výnosná polopozdní odrůda se stejnoměrně slabě rýhovanými bílými kořeny. Odrůda má výborný zdravotní stav, vyniká dobrým skladováním. Je ideální pro celoroční svazkování (SEMO Smržice, 2017).

Olomoucká dlouhá je pozdní šedobílá až šedá odrůda s dlouhým, příčně rýhovaným, větvenovitě kuželovitým a ostře zakončeným kořenem. Dužnina je kompaktní bílá a aromatická. Odrůda je dlouhodobě skladovatelná. Spolehlivé výnosy dává spíše na lehčích sušších půdách, je odolnější k suchu. Vegetační doba trvá 190–210 dní (SEMO Smržice, 2017).

Paprika roční

Rubinova je polní raná, velmi výnosná odrůda. V botanické zralosti je široce kuželovitý, silnostěnný plod intenzivně červený. Odrůda je vhodná pro přímý konzum i ke konzervářenskému zpracování. Do botanické zralosti je vegetační doba 178 dnů. Ze 100 m² je možno sklídit 140–160 kg červených paprik (SEMO Smržice, 2017).

Izolace mikroflóry osiva vybraných druhů zeleniny

Při izolaci mikroflóry semen mrkve a petržele byly vytvořeny dvě varianty – semena povrchově dezinfikovaná chlornanem sodným (Savo) a semena nedezinfikovaná. Dezinfikovaná semena byla ponořena na 60 sekund do 5% roztoku Savo, následně třikrát propláchnuta destilovanou vodou a osušena sterilním filtračním papírem. Povrchově osušená semena byla vyskládána po 10 kusech do Petriho misky (průměr 90 mm) s navlhčeným filtračním papírem nebo živnou půdou PDA (bramboro-dextrózový agar), vždy ve třech opakováních. Kultivace probíhala v laboratorních podmínkách při teplotě 20–23 °C po dobu 7 dnů při střídání světla a tmy (12/12 hod.) Stejným způsobem byla kultivována semena bez povrchové dezinfekce.

Při izolaci mikroflóry semen papriky byla použita semena povrchově dezinfikovaná (Savo), semena bez povrchové dezinfekce a semena ošetřená HWT. U první a druhé metody proběhla izolace shodným způsobem jako u semen mrkve a petržele s rozdílem ponoření do dezinfekčního roztoku na 120 sekund. Metoda ošetření HWT byla provedena firmou SEMO a.s. Dále byla semena kultivována stejným způsobem jako semena mrkve a petržele.

Semena na Petriho miskách byla kontrolována pod stereomikroskopickou lupou Olympus SZX12. Identifikace patogenů byla prováděna mikroskopicky (Olympus BX41) po sedmi dnech kultivace, izoláty byly zařazeny do druhu, případně rodu dle identifikačních klíčů, druhy rodu *Alternaria* dle Simmons (2007) a Rotem (1994), druhy rodu *Fusarium* dle Leslie a Summerell (2006), ostatní druhy dle Watanabe (2001) a Ellis *et al.* (2007). Pokud nedošlo k vytvoření fruktifikačních orgánů bylo sterilní mycelium přeočkováno znovu na živnou půdu (PDA nebo Czapek-Doxův agar) a kultivováno.

Počty izolovaných identifikovaných patogenů byly zaznamenány v procentech (četnost výskytu). Pro statistické hodnocení výskytu patogenů na jednotlivých kultivačních médiích byl použit program Statistica 12 CZ. Byly hodnoceny vícefaktorovou analýzou variance (ANOVA), rozdíly mezi jednotlivými variantami byly hodnoceny LSD testem dle Fishera (hladina významnosti $p \leq 0,05$).

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

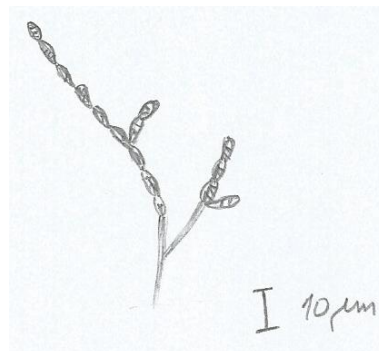
Popis izolovaných a identifikovaných houbových mikroorganismů ze semen mrkve obecné, petržele kořenové a papriky roční.

Alternaria alternata (Fr.) Keissl., 1912

Kolonie na PDA byly tmavě olivové až černé. Konidie se tvořily v řetězcích s 5 až 16, většinou 9 konidii. Obvykle nebyly větvené. Konidie měly tmavě hnědou barvu, konidiofory byly světle hnědé. Velikost konidií byla $8-11 \times 18-32 \mu\text{m}$ s 3-5 příčnými přepážkami. Vrcholová konidie v řetězku byla kulovitá, bez nožky. Naměřené hodnoty se shodují s údaji uváděnými Simmons (2007) a Rotem (1994).



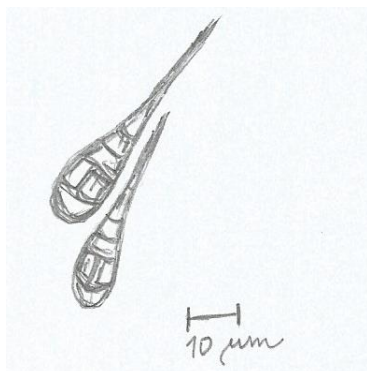
Obr. 1: Konidie *Alternaria alternata*



Obr. 2: Řetězec konidií *Alternaria alternata* (Chalupová, 2017)

***Alternaria dauci* (J.G. Kühn) J.W. Groves & Skolko, 1944**

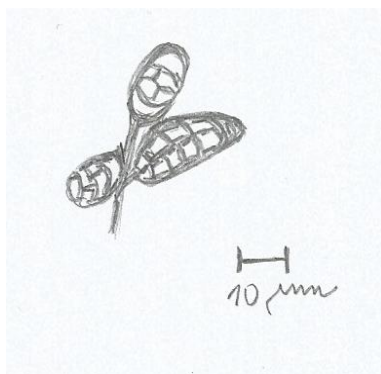
Barva kolonií na PDA byla tmavá, zelenočerná. Konidiofory byly světleji zelenočerné s jednotlivými konidii olivově hnědé barvy. Velikost konidií byla 10,5–21,5×40–63,5 μm . Konidie měly 1–2 podélné a 3–5 příčných přehrádek a nápadný vláknitý výběžek (35,5–80 μm). Tyto hodnoty se shodují s údaji, které uvádějí Rotem (1994) a Simmons (2007).



Obr. 3: Konidie *Alternaria dauci* (Chalupová, 2017)

***Alternaria petroselini* (Neerg.) E. G. Simmons, 1976**

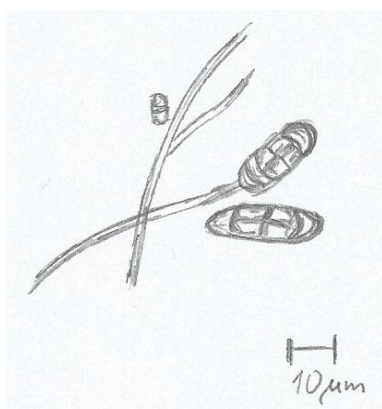
Tento druh měl světle žluté až žlutohnědé, na povrchu hladké konidie, které dosahovaly velikosti 25–45,5×17–32 μm s 3–4 příčnými a 2–4 podélnými přepážkami. Vyskytovaly se jednotlivě nebo ve shlucích po dvou až třech. Popis se shoduje s údaji Simmons (2007).



Obr. 4: Konidie *Alternaria petroselini* (Chalupová, 2017)

***Alternaria radicina* Meier, Drechsler & E.D. Eddy, 1922**

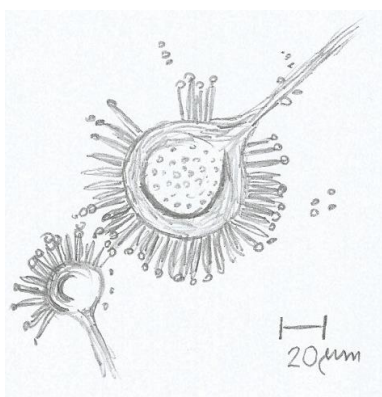
Kolonie byly tmavě zelenočerné. Převážně jednotlivé zelenočerné konidie, netvořily řetězce. Barva konidioforů byla olivově hnědá. Velikost konidií byla 15–17×20–35,5 μm s 1–2 podélnými a 1–3 příčnými přepážkami. Hodnoty se shodují s údaji Simmons (2007) a Rotem (1994).



Obr. 5: Konidie *Alternaria radicina* (Chalupová, 2017)

***Aspergillus flavus* Link, 1809**

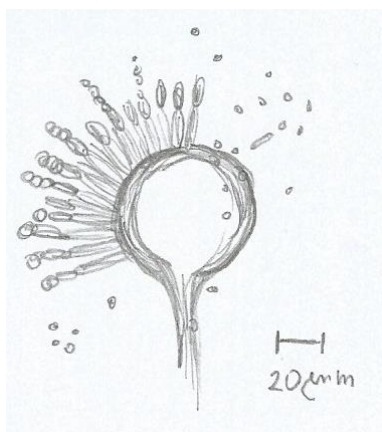
Kolonie na PDA byly vlnaté, světle žluté barvy. Starší kolonie byly hnědožluté. Vezikulum bylo kulovité, v průměru mělo 26 μm. rovněž kulovité konidie měly průměr 3,5 μm. Kolonie na Czapek-Doxově agaru byly zrnité, žluté barvy, později tmavší, žlutozelené. Hodnoty se shodují s údaji Fassatiová (1969) a Ellis *et al.* (2007).



Obr. 6: Konidiální hlavice *Aspergillus flavus* s konidiiemi (Chalupová, 2017)

***Aspergillus niger* Tiegh., 1867**

Kolonie na PDA byly bílé. Konidiofory byly světle hnědé, dlouhé 200–350 μm s hnědými až černými hlavicemi. Kulovité vezikulum mělo v průměru 40 μm , po celém obvodu byly primární a sekundární fialidy. Konidie byly kulovité velké 4–5 μm , hnědé barvy. Na Czapek-Doxově agaru byly kolonie bílé, nažloutlé, konidiofory byly tmavší barvy. Naměřené hodnoty se shodují s údaji uváděnými Ellis *et al.* (2007) a Watanabe (2010)

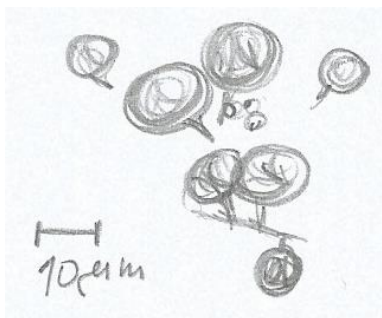


Obr. 7: Konidiální hlavice *Aspergillus niger* s konidii (Chalupová, 2017)

***Epicoccum nigrum* Link, 1815**

Syn. *Epicoccum purpurascens* Ehrenb., 1818

Shluky konidií vytvářely tmavě hnědá, široká sporodochia. Krátké konidiofory nesly vždy jednu žlutohnědou, kulovitou nebo hruškovitou konidii o velikosti 15–18 μm . Délka konidioforů byla 16–20 μm . Údaje se shodují s údaji Watanabe (2010)

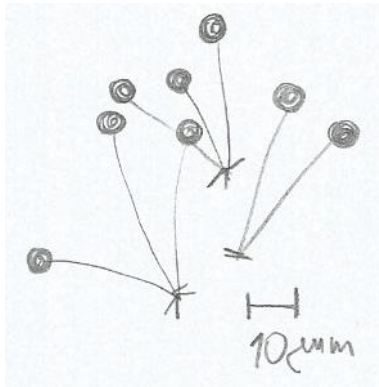


Obr. 8: Konidie *Epicoccum nigrum* (Chalupová, 2017)

***Rhizopus stolonifer* Ehrenb. Vuill., 1902**

Syn. *Rhizopus nigricans* Ehrenb., 1821

Sporangiofory se tvořily ve svazcích po 2 až 5, zpočátku světle, později tmavě hnědé. Mladá sporangia byla bílá, velká 175–250 μm . Spory měly 10 \times 15 μm , byly nepravidelné, na povrchu rýhované. Šíře kolumely byla 75–220 μm . Údaje se shodují s údaji uvedenými Fassatiová (1969) a Watanabe (2010).

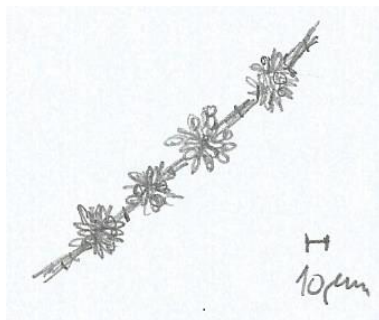


Obr. 9: Svazky sporangioforů se sporangiiemi (Chalupová, 2017)

***Melanospora simplex* (Corda) D. Hawksw., 2016**

Syn. *Gonatobotrys simplex* Corda, 1839

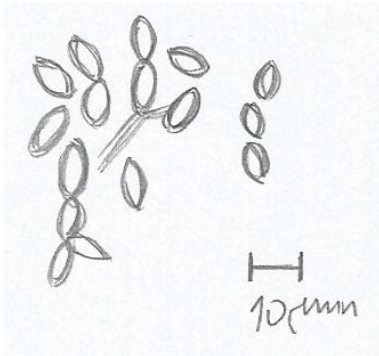
Konidiofory byly krátké tmavě hnědé s dentikulátními terminálními nebo interkalárními buňkami velikosti 110–200 μm . Hyalinní jednobuněčné ovoidní konidie se odškrcovaly jednotlivě. Velikost konidií byla 7–11 \times 6–8,5 μm . Údaje se shodují s literaturou Watanabe (2010).



Obr. 10: Shluky spor na konidioforech *Melanospora simplex* (Chalupová, 2017)

***Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G. A. de Vries, 1952**

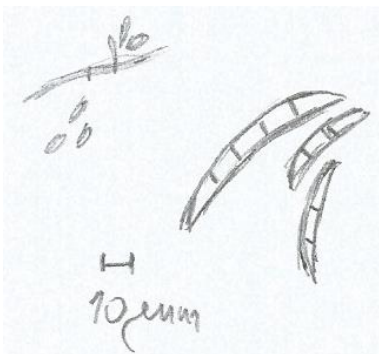
Kolonie na PDA měly výraznou šedou barvu, byly vlnaté. Konidiofory byly světle hnědé, byly na vrcholu rozvětvené, dlouhé 95–204 μm . Konidie byly vejčité, elipsoidní, světle hnědé, měřily 2–5 \times 1–3 μm . Údaje se shodují s Watanabe (2010).



Obr. 11: Konidie *Cladosporium cladosporioides* (Chalupová, 2017)

***Fusarium oxysporum* Schldt., 1824**

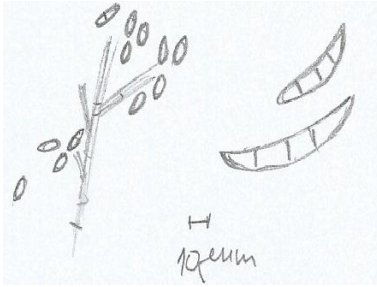
Kolonie na PDA byly narůžovělé. Makrokonidie byly vícebuněčné (3–5 přepážek) s rozměry 25–44 \times 3,5–4 μm . Byly typicky srpkovité, na apikální části se lehce zužovaly. Mikrokonidie byly menší, většinou jednobuněčné, měly elipsoidní tvar a rozměry 5–9,5 \times 2–3,2 μm . Hodnoty se shodují s údaji Leslie a Summerell (2006).



Obr. 12: Mikrokonidie (vlevo) a makrokonidie *Fusarium oxysporum* (Chalupová, 2017)

***Fusarium solani* (Mart.) Sacc., 1881**

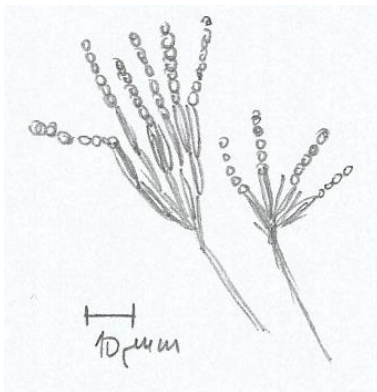
Kolonie na PDA byly šedobílé, ze spodní strany namodralé. Konidiofory byly rozvětvené. Velikost makrokonidií byla 30,5–54,9×5–5,9 μm, byly mírně zakřivené, 3–5 buněčné. Mikrokonidie měly válcovitý tvar s rozměry 8,3–15,3×2–4,1 μm, 1–2 buněčné. Hodnoty se shodují s údaji Leslie a Summerell (2006).



Obr. 13: Mikrokonidie (vlevo) a makrokonidie *Fusarium solani* (Chalupová, 2017)

***Penicillium* spp. Link, 1809**

Kolonie na Czapek-Doxově agaru byly vždy v odstínech zelené barvy, se sametovým vzhledem. Konidiofory nesly svazky metul a fialid v jednom přeslenu. a patří do sekce Monoverticillata. Konidie měly kulovitý tvar.



Obr. 14: Konidiofory s konidii *Penicillium* spp. (Chalupová, 2017)

5.1 Vyhodnocení mikroflóry semen mrkve obecné

Ze semene mrkve tří odrůd bylo celkem získáno 389 izolátů jednotlivých patogenů (tab. 1). Při srovnání počtu patogenů v rámci jednotlivých odrůd mrkve (Calibra, Kardila a Nantes 5) se druhové spektrum patogenů nelišilo.

Tab. 1: Patogeny izolované ze semen mrkve obecné

Mrkev obecná (<i>Daucus carota</i>)										
medium	agar				filtrační papír					
dezinfekce	dez		nedez		dez		nedez			
	počet izolátů	%	počet izolátů	%	počet izolátů	%	počet izolátů	%	celkem	%
<i>Alternaria alternata</i>	31	8,0	60	15,4	44	11,3	51	13,1	186	47,8
<i>Alternaria radicina</i>	3	0,8	1	0,3	0	0,0	0	0,0	4	1,0
<i>Alternaria dauci</i>	1	0,3	2	0,5	0	0,0	1	0,3	4	1,0
<i>Cladosporium cladosporoides</i>	25	6,4	40	10,3	23	5,9	29	7,5	117	30,1
<i>Fusarium solani</i>	4	1,0	22	5,7	0	0,0	0	0,0	26	6,7
<i>Melanospora simplex</i>	0	0,0	6	1,5	0	0,0	0	0,0	6	1,5
<i>Penicillium spp.</i>	2	0,5	11	2,8	0	0,0	0	0,0	13	3,3
<i>Epicoccum nigrum</i>	0	0,0	4	1,0	0	0,0	1	0,3	5	1,3
<i>Rhizopus stolonifer</i>	4	1,0	2	0,5	6	1,5	7	1,8	19	4,9
bakterie	0	0,0	2	0,5	0	0,0	1	0,3	3	0,8
kvasinky	2	0,5	4	1,0	0	0,0	0	0,0	6	1,5
celkem	72	18,5	154	39,6	73	18,8	90	23,1	389	100

Legenda: dez – semena povrchově dezinfikována, nedez – semena bez povrchové dezinfekce

Z celkového počtu izolátů (389) pouze 2,3 % tvořily kvasinky a bakterie. Nejvíce patogenů, tj. celkem 380 (97,7%) bylo z říše Fungi. Túlek a Dolar (2015) uvádějí, že houby jsou nejčastější patogeny u *D. carota*. Izoláty byly zařazeny do 7 rodů hub a následně u rodu *Alternaria*, *Cladosporium*, *Melanospora*, *Epicoccum*, *Rhizopus* a *Fusarium* byly určeny druhy. Patogeny stejných rodů identifikoval na semenech mrkve obecné i Bralewski *et al.*, (2004).

Z tab. 1 vyplývá, že nejčastěji se vyskytujícím patogenem byla *Alternaria alternata*. Z celkového počtu izolátů ze semene mrkve tvoří izoláty *A. alternata* téměř 50 % (186×, tj. 47,8 %), z toho na agaru byla izolovaná 91× (24 %), na filtračním papíře 95× (25 %). Vyšší zastoupení alternarií na semeni mrkve bylo zaznamenáno na semenech bez povrchové dezinfekce u obou variant (na agaru, na filtračním papíře). Tato houba se

vyskytuje na řadě hostitelských druhů. Jedná se o nejběžnější saprofytický nebo fakultativně parazitický druh na různých částech rostlin. Kim a Mathur (2006) uvádějí, že virulence houby na semenech mrkve nebyla prokázána. Bulajíc *et al.* (2009) považují *A. alternata* za fytopatogenní druh, nicméně ve srovnání s patogeny *A. dauci* nebo *A. radicina* ho neshledávají příliš agresivním. Nowicki (1995) rovněž uvádí *A. alternata* jako nejrozšířenější druh na semenech mrkve, ale jen na nepatrné části semen byla prokázána jeho slabá patogenita.

Ze semene mrkve bylo získáno 19 izolátů *Rhizopus stolonifer* tj. 4,9 %. *R. stolonifer* je původce skládkových hnilob na kořenech mrkve (Rod, 2011). Pouze u semen mrkve kultivovaných na PDA byl izolován patogen *Fusarium solani* (6,7 %). Tento polyfágní patogen společně s *F. culmorum* nebo *F. equiseti* ze semen mrkve izoloval i Nowicki (1995).

Významné patogeny *Alternaria dauci* a *A. radicina* byly na semenech mrkve izolovány a identifikovány pouze na povrchově nedezinfikovaných semenech, a to jen 4 izoláty, tj. 1,1 % z celkového počtu izolátů. *A. radicina* se vyskytuje kosmopolitně, ve všech oblastech pěstování mrkve, infekce semen negativně ovlivňuje jejich klíčivost. Během vegetace způsobuje listovou skvrnitost a černou hnilobu kořenů, projevující se suchými černými nekrotickými lézemi na kořenech (Pryor, Gilbertson, 2001) *A. dauci* je původce listové skvrnitosti. Pokud dojde k infekci mrkve těmito patogeny, může být při silném napadení až 70 % produkce neprodejná (Solfrizzo *et al.*, 2005).

Na semenech byly identifikovány saprofytické mikroskopické houby, které nemusejí být pro rostliny patogenní, např. *Penicillium* spp., *Cladosporium cladosporioides* a *Epicoccum* spp. Spory těchto hub se pohybují běžně v ovzduší i v půdě. Drsnější povrch semen mrkve usnadňuje zachycení konidií, které se na semena mohou ze vzduchu dostat při technologických procesech (Szopińska *et al.*, 2008) a proto je vhodné povrch semene odrhnout na drhlíku. Na hladký povrch rovněž lépe ulpívají mořidla. Szopińska *et al.*, (2008) uvádějí, že v ovzduší technologických prostor semenářských společností jsou celkově dominantní spory druhů rodu *Cladosporium* a *Penicillium*, dále *Alternaria*., *Rhizopus* a *Aspergillus*. Ze semen mrkve bylo získáno 117 izolátů *C. cladosporioides*, tj. 30,1 % ze všech zjištěných patogenů. Nejčastěji bylo izolováno ze semen, která byla kultivována na agaru a nebyla povrchově dezinfikována, bylo to 40× (10,3 %). U ostatních variant se počet izolátů *C. cladosporioides* pohyboval kolem 6–7 %. *Penicillium* spp. bylo izolováno 13× (3,3 %) a *Epicoccum nigrum* 5× (1,3 %).

Ze semen mrkve byla dále izolována houba *Melanospora simplex* (1,5 %). Whaley a Barnet (1963) uvádějí, že se jedná o mykoparazitický druh. Její přítomnost na semenech mrkve pravděpodobně souvisí s patogeny rodu *Alternaria* a *Cladosporium*, které jsou jejími hostiteli.

Tab. 2: Statistické vyhodnocení četnosti výskytu patogenů na semenech mrkve obecné v závislosti na způsobu dezinfekce semen a použitého media

Mrkev obecná (<i>Daucus carota</i>)			
odrůda	medium	dezinfekce	počet izolátů
Calibra	agar	dez	7,33 ^a ± 0,66
Calibra	agar	nedez	17,33 ^c ± 1,20
Calibra	filtrační papír	dez	9,00 ^{ab} ± 0,42
Calibra	filtrační papír	nedez	9,66 ^b ± 0,20
Kardila	agar	dez	8,00 ^{ab} ± 0,58
Kardila	agar	nedez	16,67 ^c ± 1,33
Kardila	filtrační papír	dez	7,33 ^a ± 0,33
Kardila	filtrační papír	nedez	10,00 ^b ± 1,53
Nantes 5	agar	dez	8,00 ^{ab} ± 0,58
Nantes 5	agar	nedez	15,33 ^c ± 0,33
Nantes 5	filtrační papír	dez	8,00 ^{ab} ± 0,58
Nantes 5	filtrační papír	nedez	10,00 ^b ± 0,57

Legenda: dez – semena povrchově dezinfikována, nedez – semena bez povrchové dezinfekce.

Následné testování (Fisherův LSD test) – a, b, c – počtu izolátů – mezi variantami není statisticky průkazný rozdíl ($p \leq 0,05$) v případě, jsou-li písmena stejná.

U odrůdy Calibra byl zjištěn statisticky významný ($p \leq 0,05$) rozdíl v počtu patogenů mezi dezinfikovanou a nedezinfikovanou variantou u semen vyložených na agaru. Vyšší výskyt patogenů byl na nedezinfikovaných semenech.

U odrůdy Kardila byl zjištěn statisticky významně ($p \leq 0,05$) vyšší počet patogenů na variantě nedezinfikovaných semen oproti variantě dezinfikovaných semen vyložených na filtračním papíře. U semen této odrůdy vyložených na agaru byl rovněž zjištěn statisticky významně ($p \leq 0,05$) vyšší počet patogenů na semenech nedezinfikovaných než na semenech dezinfikovaných.

U odrůdy Nantes 5 byl zjištěn statisticky významně ($p \leq 0,05$) vyšší počet patogenů na nedezinfikovaných semenech než na semenech dezinfikovaných pouze u těch, která byla vyložena na agaru.

U rámci jednotlivých odrůd (Calibra, Kardila a Nantes 5) byl zjištěn statisticky významně ($p \leq 0,05$) vyšší počet patogenů na semenech nedezinfikovaných vyložených na agaru než na semenech nedezinfikovaných vyložených na filtračním papíře.

5.2 Vyhodnocení mikroflóry semen petržele kořenové

Druhové spektrum patogenů u odrůd petržele kořenové Atika, Efez, a Olomoucká dlouhá se nelišilo (tab. 3). Počet izolátů zařazených do jednotlivých rodů, případně druhů, je vyjádřen v procentech z celkového počtu patogenů (100 %) na všech odrůdách. V tab. 3 jsou uvedeny počty izolátů jednotlivých patogenů na semenech petržele kořenové.

Tab. 3: Patogeny izolované ze semen petržele kořenové

Petržel kořenová (<i>Petroselinum crispum</i>)										
medium	agar				filtrační papír					
dezinfekce	dez		nedez		dez		nedez			
	počet izolátů	%	počet izolátů	%	počet izolátů	%	počet izolátů	%	celkem	%
<i>Alternaria alternata</i>	24	7,9	42	13,8	16	5,3	33	10,9	115	37,8
<i>Alternaria petroselini</i>	0	0,0	4	1,3	0	0,0	0	0,0	4	1,3
<i>Aspergillus flavus</i>	4	1,3	9	3,0	0	0,0	0	0,0	13	4,3
<i>Aspergillus niger</i>	5	1,6	12	3,9	0	0,0	0	0,0	17	5,6
<i>Cladosporium cladosporoides</i>	22	7,2	43	14,1	23	7,6	32	10,5	120	39,5
<i>Fusarium oxysporum</i>	1	0,3	7	2,3	0	0,0	0	0,0	8	2,6
<i>Penicillium</i> spp.	0	0,0	6	2,0	0	0,0	0	0,0	6	2,0
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0	0,0	3	1,0	0	0,0	11	3,6	14	4,6
bakterie	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	0,3	2	0,7
kvasinky	2	0,7	3	1,0	0	0,0	0	0,0	5	1,6
celkem	59	19,4	126	42,4	39	12,8	77	25,3	304	100,0

Legenda: dez – semena povrchově dezinfikována, nedez – semena bez povrchové dezinfekce

Ze semene petržele bylo získáno celkem 304 izolátů, z toho stejně jako u mrkve, bakterie a kvasinky byly zastoupeny 2,3 %. Houbových patogenů bylo izolováno 97,7 %, tj. 304. Identifikováni byli zástupci z 6 rodů hub, z toho *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Cladosporium* a *Fusarium* byly zařazeny do druhu. Stejně druhy izolované ze semen petržele uvádějí i Abdelwehab *et al.*, (2014).

Nejčastěji izolovaným druhem (120×) bylo *Cladosporium cladosporoides*, tj. 39,5 %. Více izolátů bylo zaznamenáno na semenech, která nebyla povrchově dezinfikována. *C. cladosporoides* není patogenní druh, spory se na semena mohou dostat z ovzduší.

Na semenech petržele byly dále identifikovány *Aspergillus niger* v počtu 17 izolátů (5,6 %) a *Aspergillus flavus* – 13 izolátů (4,3 %). Společně s *Penicillium* spp., izolovaným 6× (2 %) jsou tyto druhy původci tzv. skládkových chorob. Zpravidla nejsou původci onemocnění rostlin, ale mohou být příčinou zhoršené klíčivosti nebo její ztráty (Prokinová, 2001).

Rhizopus stolonifer byl izolovaný 14× (4,6 % ze všech patogenů na semenech petržele). Stejně jako u mrkve tento polyfágní druh může způsobovat skládkové hniloby na kořenech. U druhu *Fusarium oxysporum* bylo zaznamenáno 6 izolátů tj. 2,6 %. tento patogenní druh ve své práci uvádí i Nowicki (1997), dalšími druhy, které izoloval ze semen petržele byly *F. oxysporum* nebo *F. culmorum*. Celkem z rodu *Fusarium* izoloval 3,9 % patogenů.

Houba *Alternaria alternata* byla izolována celkem 115× (37,8 %). Abdelwehab *et al.*, (2014) uvádějí výskyt *A. alternata* na semenech petržele jako převládající druh, stejně jako Nowicki (1997).

Izoláty *Alternaria petroselini* byly získány pouze 4×, tzn. 1,3 % z celkového počtu patogenů petržele. Jedná se o patogenní druh, způsobující skvrnitosti listů. Zejména u odrůd pěstovaných pro nať může způsobit značné ztráty. Bulajic *et al.*, (2017) uvádějí, že je slabě patogenní i pro mrkev. Nowicki (1997) uvádí na semenech petržele i ojedinělý výskyt *A. dauci*.

Tab. 4: Statistické vyhodnocení četnosti výskytu patogenů na semenech petržele kořenové v závislosti na způsobu dezinfekce semen a použitého media

Petržel kořenová (<i>Petroselinum crispum</i>)			
odrůda	médium	dezinfekce	počet izolátů
Atika	agar	dez	7,00 ^{cd} ± 0,58
Atika	agar	nedez	15,00 ^e ± 1,15
Atika	filtrační papír	dez	4,33 ^a ± 0,67
Atika	filtrační papír	nedez	8,33 ^{cd} ± 0,33
Efez	agar	dez	6,00 ^{bc} ± 0,58
Efez	agar	nedez	13,33 ^e ± 0,67
Efez	filtrační papír	dez	4,67 ^a ± 0,33
Efez	filtrační papír	nedez	8,67 ^d ± 0,33
Olomoucká dlouhá	agar	dez	6,67 ^c ± 0,33
Olomoucká dlouhá	agar	nedez	13,66 ^e ± 0,89
Olomoucká dlouhá	filtrační papír	dez	4,00 ^a ± 0,58
Olomoucká dlouhá	filtrační papír	nedez	8,33 ^{cd} ± 0,88

Legenda: dez – semena povrchově dezinfikována, nedez – semena bez povrchové dezinfekce.

Následné testování (Fisherův LSD test) – a, b, c, d, e – počtu izolátů – mezi variantami není statisticky průkazný rozdíl ($p \leq 0,05$) v případě, jsou-li písmena stejná.

Při statistickém testování byl u každé z odrůd (Atika, Efez a Olomoucká dlouhá) zjištěn statisticky významně ($p \leq 0,05$) vyšší počet patogenů na nedezinfikovaných semenech než dezinfikovaných semenech petržele vyložený na filtračním papíře. U semen vyložených na agaru byl rovněž statisticky významně ($p \leq 0,05$) vyšší počet patogenů u semen nedezinfikovaných než dezinfikovaných.

U každé odrůdy byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p \leq 0,05$) v počtu patogenů na dezinfikovaných semenech mezi agarem a filtračním papírem. Na agaru byl počet izolátů patogenů vyšší. Statisticky významný rozdíl ($p \leq 0,05$) v počtu patogenů byl zjištěn i u nedezinfikovaných semen vyložených na agaru a semen vyložených na filtračním papíře. Rovněž byl zaznamenán vyšší počet patogenů na semenech na agaru.

5.3 Vyhodnocení mikroflóry semen papriky roční

V tab. 5 jsou uvedeny počty izolátů jednotlivých patogenů na semenech papriky roční. Počet izolátů jednotlivých rodů, případně druhů patogenů, je vyjádřen procenticky k celkovému počtu patogenů (100 %) na všech odrůdách.

Na semenech papriky bylo celkem zjištěno 94 izolátů. Bakterií a kvasinek bylo 3,2 %. Patogenů z říše Fungi bylo izolováno celkem 91 (96,8 %). Celkem bylo identifikováno 6 rodů hub – *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Cladosporium* a *Penicillium*. Tyto rody uvádí na semenech papriky i Sharfun-Nahar *et al.*, (2004).

Nejčastěji izolovaným druhem ze semen papriky byl *Aspergillus flavus*. Byl izolován celkem 29× tj. 30,9 %. U houby *Aspergillus niger* bylo zjištěno 19 izolátů (20,2 %). Nejméně izolátů *Aspergillus* spp. bylo zjištěno na semenech, která byla ošetřena HWT, a to na agaru i filtračním papíře. Saprofitický druh *Alternaria alternata* byl izolován 14× (14,9 %). Ve své práci Kalyani *et al.*, (2012) uvádějí *A. flavus*, *A. niger* a *Alternaria alternata* rovněž jako nejčastější druhy izolované ze semen papriky. Houbový parazit, u kterého bylo zaznamenáno nejméně izolátů tj. 2 (2,2 %), bylo *Penicillium* spp.

Z uvedených druhů houbových mikroorganismů je patogenní pouze *Fusarium solani*, bylo izolováno celkem 15× tj. 16 %. Chigoziri a Ekefan (2013) uvádějí, že u semen papriky napadených *Fusarium* spp. dochází ke snížení klíčivosti.

Tab. 5: Patogeny izolované ze semen papriky roční

Paprika roční (<i>Capsicum annuum</i>)														
medium	agar						filtrační papír							
dezinfekce	dez	%	nedez	%	HWT	%	dez	%	nedez	%	HWT	%	celkem	%
<i>Alternaria alternata</i>	2	2,1	4	4,3	2	2,1	2	2,1	4	4,3	0	0,0	14	14,9
<i>Aspergillus flavus</i>	4	4,3	9	9,6	2	2,1	5	5,3	6	6,4	3	3,2	29	30,9
<i>Aspergillus niger</i>	4	4,3	5	5,3	0	0,0	5	5,3	4	4,3	1	1,1	19	20,2
<i>Fusarium solani</i>	2	2,1	4	4,3	0	0,0	4	4,3	4	4,3	1	1,1	15	16,0
<i>Cladosporium cladosporoides</i>	2	2,1	5	5,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	7	7,4
<i>Penicillium spp.</i>	0	0,0	2	2,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	2,1
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,1	4	4,3	0	0,0	5	5,3
bakterie	0	0,0	1	1,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,1
kvasinky	1	1,1	1	1,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	2,1
celkem	15	16,0	31	33,0	4	4,3	17	18,1	22	23,4	5	5,3	94	100,0

Legenda: dez – semena povrchově dezinfikována, nedez – semena bez povrchové dezinfekce, HWT – semena ošetřena horkou vodou

Tab. 6: Statistické vyhodnocení četnosti výskytu patogenů na semenech papriky roční v závislosti na způsobu dezinfekce semen a použitého media

Paprika roční (<i>Capsicum annum</i>)			
odrůda	medium	ošetření	počet izolátů
Rubínova	agar	dez	4,67 ^b ±0,67
Rubínova	agar	nedez	9,67 ^d ±0,87
Rubínova	agar	HWT	1,33 ^a ±0,33
Rubínova	filtrační papír	dez	5,67 ^{bc} ±0,33
Rubínova	filtrační papír	nedez	7,33 ^c ±0,89
Rubínova	filtrační papír	HWT	1,66 ^a ±0,67

Legenda: dez – semena povrchově dezinfikována, nedez – semena bez povrchové dezinfekce, HWT – semena ošetřena horkou vodou

Následné testování (Fisherův LSD test) – a, b, c – počtu izolátů – mezi variantami není statisticky průkazný rozdíl ($p \leq 0,05$) v případě, jsou-li písmena stejná.

Při statistickém hodnocení počtu patogenů na semenech papriky byl u semen vyložených na agaru zjištěn statisticky významně ($p \leq 0,05$) vyšší počet patogenů na semenech dezinfikovaných a nedezinfikovaných než na semenech ošetřených HWT.

U semen vyložených na filtračním papíře byl stanoven statisticky významně ($p \leq 0,05$) nižší počet patogenů na semenech ošetřenými HWT od počtu patogenů na semenech dezinfikovaných. Zároveň byl u semen vyložených na filtračním papíře zjištěn statisticky významně ($p \leq 0,05$) nižší počet patogenů na semenech ošetřených HWT od počtu patogenů na nedezinfikovaných semenech.

Statisticky významně ($p \leq 0,05$) vyšší počet patogenů byl zjištěn na nedezinfikovaných semenech papriky vyloženými na agaru než na nedezinfikovaných semenech vyloženými na filtračním papíře.

5.4 Souhrn vyhodnocení mikroflóry

Celkem bylo na semenech všech druhů zeleniny izolováno 787 patogenů. Na semenech všech odrůd mrkve, petržele i papriky se nejčastěji vyskytovaly saprofytické druhy *A. alternata* (315×) a *C. cladosporoides* (244×). Protože tyto saprofytické druhy ulpívají na povrchu semen, je pravděpodobné, že byl jejich výskyt z části potlačen dezinfekcí chlornanem sodným. Ve většině případů byl zjištěn statisticky významně nižší ($p \leq 0,05$) počet patogenů na dezinfikovaných semenech v porovnání se semeny nedezinfikovanými. Nejvíce izolátů bylo zaznamenáno na semenech nedezinfikovaných, kultivovaných na PDA. Vyšší zastoupení patogenů na osivu mrkve,

petržele a papriky na živné půdě PDA je způsobeno pravděpodobně vhodnějšími podmínkami a obsahem živin. Z povrchově dezinfikovaných zrn bylo izolováno méně patogenů, důvodem je pravděpodobně eliminace saprofytických druhů.

Na základě identifikovaného druhového spektra patogenů osivo mrkve, petržele a papriky lze ošetřit pomocí chemického moření (například fungicidy s účinnou látkou thiram).

Většina zjištěných patogenů se vyskytuje na povrchu semene nebo v jejich obalových vrstvách, proto je vhodnější využít některé ze šetrnějších fyzikálních metod, například ošetření horkou vodou nebo horkou párou.

Další alternativní metodou ochrany osiva proti houbovým patogenům může být ošetření semen nízkoteplotním plazmatem. Na základě projektu TA02010412 (Zlepšení klíčivosti semen účinkem nízkoteplotního plazmatu) bylo zjištěno, že došlo k eliminaci např. *A. dauci* a *A. radicina* na semenech mrkve nebo *Septoria petroselini* na semenech petržele (ústní sdělení Prášil, 2017).

Výsledky této diplomové práce lze považovat pouze za orientační vzhledem k výsledkům získaným z jednoho roku.

6 ZÁVĚR

Nedílnou součástí semen mrkve obecné (*Daucus carota*), petržele kořenové (*Petroselinum crispum*) a papriky roční (*Capsicum annum*) je mikroskopická mykoflóra. Zastoupení jednotlivých druhů hub ovlivňuje nejen druh semene, ale i způsob izolace mikroflóry (z dezinfikovaných, nedezinfikovaných semen a semen ošetřených HWT).

Na základě mikroskopické analýzy bylo z 8 vzorků (900 semen) identifikováno celkem 13 druhů houbových patogenů z 8 rodů. *Alternaria alternata*, *Alternaria dauci*, *Alternaria petroselini*, *Alternaria radicina*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Epicoccum nigrum*, *Rhizopus stolonifer*, *Melanospora simplex*, *Cladosporium cladosporoides*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* a *Penicillium* spp.

Na semenech mrkve i petržele byly nejčastěji izolovány saprofytické druhy *Alternaria alternata* a *Cladosporium cladosporoides*. U každé odrůdy byl prokázán statisticky významně vyšší počet izolovaných patogenů na nedezinfikovaných semenech než na semenech dezinfikovaných. Vyšší počet izolátů byl zaznamenán na semenech kultivovaných na agaru.

Na semenech papriky byly nejčastěji izolovanými druhy *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* a patogenní *Fusarium solani*. Při kultivaci na agaru i na filtračním papíře se mezi sebou v počtu patogenů statisticky významně lišily semena dezinfikovaná a nedezinfikovaná od semen ošetřených HWT. Na semenech ošetřených HWT bylo na agaru i filtračním papíře zjištěno nejméně patogenů.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ABDELWEHAB S. A., EL-NAGERABI S. A. F., ELSHAFIE A. E., 2014: *Mycobiota Associated with Imported Seeds of Vegetable Crops in Sudan*. The open mycology journal 8: 156–173.
- AGARWAL V. K., SINCLAIR J. B., 1997: *Principles of seed Pathology*. Boca Raton: Lewis Publishers, 560 s.
- AGRIOS G., N., 2005: *Plant pathology*. Burlington: Elsevier Academic Press. 922 s.
- AINSWORTH G. C., 2009: *Introduction to the History of Mycology*. Cambridge: Cambridge University Press. 376 s.
- B.K. GUGINO B. K., CARROLL J., CHEN J., LUDWIG J., ABAWI G., 2004: *Carrot Leaf Blight Diseases and their Management in New York*. [online]. New York: Department of Plant Pathology, Cornell University [vid. 4. 4. 2017]. Dostupné z: http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/factsheets/Carrot_Leaf_Blight.pdf
- BALIUKONIENE V., BAKUTIS B., STANKEVICIUS H., 2003: *Mycological and mycotoxicological evaluation of grain*. Ann Agric Environ Med., 10 223–227.
- BIDDLE A., CATTLIN N. D., 2007: *Pests, diseases, and disorders of peas and beans: A colour handbook*. London: Manson Publishing Ltd, 128 s.
- BOOTH C., 1971: *The Genus Fusarium*. England: Commonwealth Mycology Institute. 237 s.
- BRALEWSKI T. W., HOLUBOWITZ R., SZOPIŃSKA D., 2004: *Effect of chemical scarification on germination and state of health of carrot (Daucus carota L.) seeds*. Horticulture 16(1): 39–45.
- BULAJIĆ A., DJEKIĆ I., LAKIĆ N., KRSTIĆ B., 2009: *The presence of Alternaria spp. on the seed of Apiaceae plants and their influence on seed emergence*. Biological Sciences 61(4): 871–881.
- BULAJIĆ A., STANKOVIĆ I., MILOJEVIĆ K., KRSTIĆ B., 2017: *Alternaria petroselini pathogen of parsley in Serbia*. Acta. Hort. 1153: 237–244
- CARRIS L. M., LITTLE C. R., STILES C. M., 2012: *Introduction to Fungi. The Plant Health Instructor*. [online]. Washington State University, Kansas State University, and

- Georgia Military College [vid. 19. 3. 2017]. Dostupné z:
<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/pathogengroups/pages/introfungi.aspx>
- CERKAUSKAS R., 2004: *Pepper mild mottle virus*. [online] Canada: The World Vegetable Center [vid. 4. 4. 2017]. Dostupné z:
http://203.64.245.61/web_crops/pepper/PMMV.pdf
- DAVIS R. M., RAID R. N., 2002: *Compendium of umbelliferous crop diseases*. St. Paul, Minn: American Phytopathological Society. 110 s.
- EKMAN J., TESORIERO L., 2015: *Pests, diseases and disorders of carrots, celery and parsley: a field identification guide*. Horticulture Innovation Australia Ltd. 64 s.
- ELLIS D., DAVIS S., ALEXIOU H., HANDKE R., BARTELY R., 2007. Descriptions of medical fungi. Copyright, Adelaide. 204 s.
- FARRAR J. J., BARRY M. P., DAVIS R. M. (2004): *Alternaria Diseases of Carrot*. Plant Diseases, 88(8): 776–784.
- FASSATIOVÁ O., 1979: *Plísňe a vláknité houby v technické mikrobiologii*. Praha: nakladatelství technické literatury, 211 s.
- HAJŠLOVÁ J., ZACHARIÁŠOVÁ M., MALACHOVÁ A., KOSTELANSKÁ M., KOCOUREK V., 2009: *Mykotoxiny*. [online]. Ruzyně. Výzkumný ústav rostlinné výroby. [vid. 1. 4. 2017]. Dostupné z:
<http://www.phytosanitary.org/projekty/2009/Projekt1.pdf>
- handbook*. Academic Press, Manson Publishing, Boston London, 448 s.
- HOSNEDL V., 2002: *Kvalitní, zdravé a vitální osivo*. Úroda., 50(1) 15–17.
- HOUBA M., 2007: *Semenářská kontrola*. České Budějovice: Kurent, 63 s.
- HOUBA M., HOSNEDL V., 2007: *Osivo a sadba: praktické semenářství*. Praha: Martin Sedláček, 186 s.
- HÝSEK J., 2008: *Studium škodlivých hub rodu Fusarium na obilninách*. Úroda., 56(11) 20–22.
- CHAUBEY T., UPADHYAY D.K., SINGH B., 2014: *Polymer coating of vegetable seeds*. Adv. Res. J. Crop Improv., 5(2): 204-207.

- Chigoziri E., Ekefan E. J., 2013: *Seed borne fungi of Chilli Pepper (Capsicum frutescens) from pepper producing areas of Benue State, Nigeria*. Agric. Biol. J. N. Am., 4(4): 370–374.
- CHLOUPEK O., 2008: *Genetická diverzita, šlechtění a semenářství*. Praha: Academia, 307 s.
- IVEY M. L. L., 2013: Seed treatments. Vegetables. [online]. Louisiana State University, Agricultural Plant Science. [vid. 1. 4. 2017]. Dostupné z: <http://www.lsuagcenter.com/NR/rdonlyres/26772246-4C4A-4028-992D-95BF6DD51C6D/96988/43SeedTreatmentsVegetables2014FINAL.pdf>
- JACOBSEN B. J., 2014: *Seed-borne fungal pathogens of vegetable crops*. [online]. India. International Workshop on Seedborne Diseases of Vegetable Crops [vid. 10. 4. 2017] Dostupné z: <http://www.oired.vt.edu/ipmil/wp-content/uploads/2014/06/Seed-borne-fungal-pathogens-of-vegetable-crops.pdf>
- KALYANI K., JADEJA G. C., PATEL S. T., 2012: *Seedborne mycoflora of chilli (Capsicum annum L.) cultivars collected from different locations of Gujarat*. Journal of plant disease science. 7(1): 55–59.
- KAZDA J., MIKULKA J., PROKINOVÁ R., 2010: *Encyklopedie ochrany rostlin – polní plodiny*. Praha: Profi Press, 400 s.
- KIDD S., HALLIDAY C., ALEXIOU H., ELLIS D., 2016: *Descriptions of medical fungi*. Australia: published by the authors. 278 s.
- KIM W.G., MATHUR S. B., 2006: *Detection of Alternaria spp. in Carrot Seeds and Effect of the Fungi on Seed Germination and Seedling Growth of Carrot*. Plant Pathology 22(1): 11–15.
- KLABAN J., 2001: *Svět mikrobů: ilustrovaný lexikon mikrobiologie životního prostředí*. Hradec Králové: Gaudeamus, 416 s.
- KLABAN J., 2011: *Ekologie mikroorganismů: ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganismů*. Praha: Galén, 549 s.
- KOIKE S., PAULUS T. A. O., GLADDERS P., 2007: *Vegetable diseases: a colour handbook*. London: Manson Publishing, 448 s.
- KOIKE, S.T., GLADDERS, P., PAULUS, A.O., 2007: *Vegetable diseases: a colour*

- KOUBOVÁ D., 2005: *Ochrana proti skvrnitosti listů mrkve*. [online] ÚZEI, Agronavigator.cz [vid. 4. 4. 2017]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=103&ch=1&typ=1&val=32297>
- KŮDELA V., NOVACKY A., FUCIKOVSKY L., 2002: *Rostlinolékařská bakteriologie*. Praha: Academia, 347 s.
- LESLIE J. F., SUMMERELL B. A., 2006: *The fusarium laboratory manual*. Ames, Iowa: Blackwell Pub. 388 s.
- LIMA C. B., RENTSCHLER L. L. A., BUENO J. T., BOAVENTURA A.C. (2016): *Plant extracts and essential oils on the control of Alternaria alternata, Alternaria dauci and on the germination and emergence of carrot seeds (Daucus carota L.)*. *Ciência Rural*, 46(5): 764–770.
- MANCINI V., ROMANAZZI G., 2014: *Seed treatments to control seedborne fungal*
- MAUDE R. B., 1996: *Seedborne diseases and their control: principles and practice*. CAB International, Wallingford, 280 s.
- MEBALDS M., HANDERSON B. HEPWORTH G., 1997: *Development of steam-air treatments to control seed-borne diseases of vegetables and flowers*. Gordon: Horticulture research and development corporation. 12 s.
- MCHAL P., 2007: *Ošetřování osiva v ekologickém pěstování zeleniny*. [online]. Ústav pro biologickou ochranu rostlin Spolkového biologického ústavu pro zemědělství a lesnictví, Darmstadt. [vid. 1. 4. 2017]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/service.asp?act=email&val=55888>
- MINCHINTON E., AUER D., MARTIN H., TESORIERO L., 2006: *Guide to Common Diseases and Disorders of Parsley*. National Library of Australia. 46 s.
- NAVRÁTIL M., 2011: *Základy virologie: obecná virologie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 100 s.
- NAYYAR B. G., AKHUND S., AKRAM A., 2014: *A review: management of Alternaria and its mycotoxins in crops*. *Scholarly Journal of Agricultural Science* 4(7): 432–437

- NEDĚLNÍK J., 2003: Mykotoxiny, jejich výskyt v surovinách, produktech a krmivech rostlinného původu [online]. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby. [vid. 12. 3. 2017]. Dostupné z: <http://www.phytosanitary.org/projekty/2002/vvf-05-02.pdf>
- NEDĚLNÍK J., MORAVCOVÁ H., 2005: *Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech pro dojnice*. Veterinářství, 55(4): 214–219.
- NEERGAARD P., 1979: *Seed Pathology*. New York: MacMillan Press, 1191 s.
- NEGA E., ULRICH R., WERNER S., JAHN M. (2003): *Hot water treatment of vegetable seed – an alternative seed treatment method to control seed borne pathogens in organic farming*. Journal of Plant Diseases and Protection 110(3): 220–234.
- NOWICKI B., 1995: *The fungi causing dumping-off of carrot seed*. Acta Agrobotanica., 48(2): 43–48.
- NOWICKI B., 1997: *Occurrence of root parsley pathogens inhibiting seed*. Acta Agrobotanica 50(1–2): 27–34.
- ONDŘEJ M., 1995: *Význam moření osiv*. Praha Výzkumný ústav rostlinné výroby: Soubor referátů přednesených na semináři: Choroby mladých rostlin přenášené osivem, prevence a ochrana. 4–6.
- OSTRÝ V., 1998: *Vláknité mikroskopické houby /plísňě/, mykotoxiny a zdraví člověka*. Praha: Státní zdravotní ústav, 20 s.
- OSTRÝ V., RUPRICH J., MALÍŘ F., 2008: *Alternariové mykotoxiny: toxikologické informace a výskyt v potravinách*. Brno: Státní zdravotní ústav. 24 s.
- pathogens of vegetable crops*. Pest Manag. Sci. 70: 860–868
- PEKÁRKOVÁ E., 2014: *Zelenina*. Praha: Aventinum, 255 s.
- PERRONE G., SUSCA A., COZZI G., *et al.*, 2007: *Biodiversity of Aspergillus species in some important agricultural products*. Studies in Mycology (59): 53–66.
- PETŘÍKOVÁ K., HLUŠEK J., 2012: *Zelenina*. Praha: Profi Press, 191 s.
- POHRONEZNY K. ed., 2003: *Compendium of pepper diseases*. St. Paul: American Phytopathological Society. 63 s.
- PROKINOVÁ E., 1997: *Škodlivost patogenů přenosných osivem*. Osivo a sadba: Sborník referátů Praha: Česká zemědělská univerzita. 63–69.

- PROKINOVÁ E., 2001: *Zdravotní stav osiva jako dominantní znak semenářské kvality*. Osivo a sadba. 5. odborný a vědecký seminář: Sborník referátů. 37–42
- PROKINOVÁ E., 2003: *Houbové choroby přenosné osivem*. Úroda., 51(3): 8–9.
- PROKINOVÁ E., 2004a: *Druhy rodu Alternaria – původci chorob rostlin, producenti toxinu a alergenů: přehled dosavadních poznatků* [online]. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby. [vid. 10. 3. 2017]. Dostupné z:
<http://www.phytosanitary.org/projekty/2004/vvf-04-04.pdf>
- PROKINOVÁ E., 2004b: *Houby rodu Fusarium jako původci chorob*. Rostlinolékař., 15(4): 16–18.
- PROKINOVÁ E., 2013: *Poznámky ke zdravotnímu stavu osiv*. Rostlinolékař., 24(6): 34–37.
- PROKINOVÁ E., KORÁBEK V., 2017: *Význam ošetření osiva obilnin*. Sborník referátů: Osivo a sadba. Praha: Česká zemědělská univerzita. 19–24.
- PRYOR B. M., GILBERTSON R. L., 2001. *A PCR-based assay for detection of Alternaria radicina on carrot seed*. Plant Disease 85: 18–23.
- RAPER K. B., FENNEL D., I., 1965: *The Genus Aspergillus*. Williams and Wilkins Publisher. 686 s.
- REFAI M., HASSAN A., HAMED M., 2015: *Monograph On The Genus Fusarium*. Egypt: Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, 275 s.
- RITCHIE D.F., 2000: *Bacterial spot of pepper and tomato*. [online]. The Plant Health Instructor. [vid. 4. 4. 2017]. Dostupné z:
<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/prokaryotes/Pages/Bacterialsport.aspx>
- ROD J., 1995: *Choroby zeleniny přenosné osivem*. Praha Výzkumný ústav rostlinné výroby: Soubor referátů přednesených na semináři: Choroby mladých rostlin přenášené osivem, prevence a ochrana. 1–3.
- ROD J., 2008: *Ochrana zeleniny v prvních fázích růstu*. Zahradnictví 1: 69–70
- ROD J., 2011: *Skládkové hniloby kořenové zeleniny*. Zahradnictví 9(2): 26–27.
- ROD J., HLUCHÝ M., PRÁŠIL J., ZAVADIL K., SOMSSICH I., ZACHARDA M., 2005: *Obrázkový atlas chorob a škůdců zeleniny střední Evropy: Ochrana zeleniny v*

- integrované produkci včetně prostředků biologické ochrany rostlin*. Brno: Biocont Laboratory, 392 s.
- ROTEM J., 1994: *The genus Alternaria*. St. Paul, Minnesota: APS Press, 327 s.
- SEMO.CZ., 2017: *Mrkev obecná Calibra F1*. [online]. [vid. 2. 3. 2017] Dostupné z: <https://www.semo.cz/eshop/mrkev-obecna-calibra-f1-2260/>
- SEMO.CZ., 2017: *Mrkev obecná Kardila*. [online]. [vid. 2. 3. 2017]. Dostupné z: <https://www.semo.cz/eshop/mrkev-obecna-kardila-2243/>
- SEMO.CZ., 2017: *Mrkev obecná Nantes 5*. [online]. [vid. 2. 3. 2017]. Dostupné z: <https://www.semo.cz/eshop/mrkev-obecna-nantes-5-2202/>
- SEMO.CZ., 2017: *Paprika roční Rubinova*. [online]. [vid. 2. 3. 2017]. Dostupné z: <https://www.semo.cz/eshop/paprika-rocni-rubinova-2503/>
- SEMO.CZ., 2017: *Petržel zahradní kořenová Atika*. [online]. [vid. 2. 3. 2017]. Dostupné z: <https://www.semo.cz/eshop/petrzel-zahradni-korenova-atika-p3004/>
- SEMO.CZ., 2017: *Petržel zahradní kořenová Efez*. [online]. [vid. 2. 3. 2017]. Dostupné z: <https://www.semo.cz/aktuality/profi-novinky-sortimentu-osivo-semena-zeleniny-semo/>
- SEMO.CZ., 2017: *Petržel zahradní kořenová Olomoucká dlouhá*. [online]. [vid. 2. 3. 2017]. Dostupné z: <https://www.semo.cz/eshop/petrzel-zahradni-korenova-olomoucka-dlouha-p3002/>
- SHARFUN-NAHAR, MUSHTAQ M., PATHAN I. H., 2004: *Seed-borne mycoflora of capsicum annuum imported from india*. Pak. J. Bot., 36(1): 191–197.
- SIMMONS E. G., 2007: *Alternaria: an Identification Manual*. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures. 775 s.
- SOLFRIZZO M., GIROLAMO A. D., VITTI C., TYLKOWSKA K., GRABARKIEWICZ-SZCZESNA J., SZOPIŃSKA D., DORNA H., 2005: *Toxigenic profile of Alternaria alternata and Alternaria radicina occurring on umbelliferous plants*. Food Additives and Contaminants., 22(4): 302–308.
- STEHLÍK V., TRANTÍREK J., POŠÍK M., KUDRNA K., a kolektiv autorů, 1968: *Naučný slovník zemědělský, 2*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1218 s.

- SVOBODA J., ČERVENÁ G., RODOVÁ J., JOKEŠ M. (2006): *First report of Pepper mild mottle virus in pepper seeds produced in the Czech Republic*. Plant Protection Science., 42: 34–37.
- SZOPÍŇSKA D., TYLKOWSKA K., STACH A., KAPALSKA K., NOWAK M., DORNA H., 2008: *Mycological air contamination in a seed company processing room as a result of seed processing*. Phytopathology. Poland. 47: 31–41.
- ŠILHÁNKOVÁ L., 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. Praha: Academia, 363 s.
- ŠTOLC R., 2009: *Mykotoxiny: stále podceňované téma*. Zemědělec., 17(48) s. 12.
- TÜLEK S., DOLAR F. S., 2015: *Detection and identification of alternaria species causing diseases of carrot in ankara province, turkey*. Horticulture 59: 263–268.
- UHER A., KÓŇA J., VALŠÍKOVÁ M., ANDREJIOVÁ A., 2009: *Zelinárstvo (pol'né pestovanie)*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 212 s.
- University. 276 s.
- VISIAGE C. M., HOUBRAKEN J., FRISVALD J. C., *et al.*, 2014: *Identification and nomenclature of the genus Penicillium*. Studies in mycology 78: 343–371.
- WALCOT R., 2003: *Detection of seedborne pathogens*. HortTechnology. 13(1): 40–47
- WATANABE T., (2010): *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. 3. vyd. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 404 s.
- WEIDENBORNER M., 2001: *Encyclopedia of Food Mycotoxins*. Berlin: Springer-Verlag. 294 s.
- WHALEY J. W., BARNETT H. L., 1963: *Parasitism and nutrition of Gonatobotrys simplex*. Mycologia 55(2): 199–210.
- ZEMÁNKOVÁ M., LEBEDA A., 2001: *Fusarium species, their taxonomy, variability and significance in plant pathology*. Plant protection science., 37(1): 25–42.

8 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

8.1 Seznam tabulek

Tab. 1: Patogeny izolované ze semen mrkve obecné

Tab. 2: Statistické vyhodnocení četnosti výskytu patogenů na semenech mrkve obecné v závislosti na způsobu dezinfekce semen a použitého media

Tab. 3: Patogeny izolované ze semen petržele kořenové

Tab. 4: Statistické vyhodnocení četnosti výskytu patogenů na semenech petržele kořenové v závislosti na způsobu dezinfekce semen a použitého media

Tab. 5: Patogeny izolované ze semen papriky roční

Tab. 6: Statistické vyhodnocení četnosti výskytu patogenů na semenech papriky roční v závislosti na způsobu dezinfekce semen a použitého media

8.2 Seznam obrázků

Obr. 1: Konidie *Alternaria alternata*

Obr. 2: Řetězec konidií *Alternaria alternata*

Obr. 3: Konidie *Alternaria dauci*

Obr. 4: Konidie *Alternaria petroselini*

Obr. 5: Konidie *Alternaria radicina*

Obr. 6: Konidiální hlavice *Aspergillus flavus* s konidiemi

Obr. 7: Konidiální hlavice *Aspergillus niger* s konidiemi

Obr. 8: Konidie *Epicoccum nigrum*

Obr. 9: Svazky sporangioforů se sporangiemi

Obr. 10: Shluky spor na konidioforech *Melanospora simplex*

Obr. 11: Konidie *Cladosporium cladosporioides*

Obr. 12: Mikrokonidie a makrokonidie *Fusarium oxysporum*

Obr. 13: Mikrokonidie a makrokonidie *Fusarium solani*

Obr. 14: Konidiofory s konidiemi *Penicillium* spp.

9 SEZNAM PŘÍLOH

Tab. 1: ANOVA (mrkev obecná)

Tab. 2: Fisherův LSD test (mrkev obecná)

Tab. 3: ANOVA (petržel kořenová)

Tab. 4: Fisherův LSD test (petržel kořenová)

Tab. 5: ANOVA (paprika roční)

Tab. 6: Fisherův LSD test (paprika roční)

Obr. 1: Semena kultivována na filtračním papíře

Obr. 2: Mycelium *Rhizopus stolonifer*

Obr. 3 a 4: kolonie patogenů na semenech kultivovaných na PDA

Obr. 5: Nejčastěji izolované patogeny *A. alternata* a *C. cladosporioides* na semeni mrkve

Obr. 6: Patogen *Melanospora simplex* na semeni mrkve

10 PŘÍLOHY

Tab. 1: ANOVA (mrkev obecná)

odrůda*medium*ošetření; Vážené průměry (tabulky_ke_stat v PS1) Současný efekt: F(2, 24)=1,8788, p=,17456							
	odrůda	medium	ošetření	počet izolátů patogenů (Průměr)	počet izolátů patogenů (Sm.Ch.)	počet izolátů patogenů (-95,00%)	počet izolátů patogenů (+95,00%)
1	Calibra	agar	dez	7,33333	0,666667	4,46490	10,20177
2	Calibra	agar	nedez	17,33333	1,201850	12,16219	22,50448
3	Calibra	filtrační papír	dez	9,00000	0,420000	7,56575	10,51001
4	Calibra	filtrační papír	nedez	9,66667	0,333333	8,23245	11,10088
5	Kardila	agar	dez	8,00000	0,577350	5,51586	10,48414
6	Kardila	agar	nedez	16,66667	1,333333	10,92980	22,40354
7	Kardila	filtrační papír	dez	7,33333	0,333333	5,89912	8,76755
8	Kardila	filtrační papír	nedez	10,00000	1,527525	3,42759	16,57241
9	Nantes	agar	dez	8,00000	0,577350	7,51586	12,48414
10	Nantes	agar	nedez	15,33333	0,333333	13,89912	16,76755
11	Nantes	filtrační papír	dez	8,00000	0,577350	5,51586	10,48414
12	Nantes	filtrační papír	nedez	10,00000	0,577350	7,51586	12,48414

Tab. 2: Fisherův LSD test (mrkev obecná)

LSD test; proměnná počet izolátů patogenů (tabulky_ke_stat v PS1) Homogenní skupiny, alfa = ,05000							
	odrůda	Medium	ošetření	počet izolátů patogenů (Průměr)	1	2	3
1	Calibra	agar	dez	7,33333		*	
7	Kardila	filtrační papír	dez	7,33333		*	
9	Nantes	agar	dez	8,00000	*	*	
5	Kardila	agar	dez	8,00000	*	*	
11	Nantes	filtrační papír	dez	8,00000	*	*	
3	Calibra	filtrační papír	dez	9,00000	*	*	
4	Calibra	filtrační papír	nedez	9,66667	*		
8	Kardila	filtrační papír	nedez	10,00000	*		
12	Nantes	filtrační papír	nedez	10,00000	*		
10	Nantes	agar	nedez	15,33333			*
6	Kardila	agar	nedez	16,66667			*
2	Calibra	agar	nedez	17,33333			*

Tab. 3: ANOVA (petržel kořenová)

odrůda*médium*ošetření; Vážené průměry (tabulky_ke_stat v PS3) Současný efekt: F(2, 24)=,44681, p=,64488							
	odrůda	médium	ošetření	počet izolátů patogenů (Průměr)	počet izolátů patogenů (Sm.Ch.)	počet izolátů patogenů (-95,00%)	počet izolátů patogenů (+95,00%)
1	Atika	agar	dez	7,00000	0,577350	4,51586	9,48414
2	Atika	agar	nedez	15,00000	1,154701	10,03172	19,96828
3	Atika	filtrační papír	dez	4,33333	0,666667	1,46490	7,20177
4	Atika	filtrační papír	nedez	8,33333	0,333333	6,89912	9,76755
5	Efez	agar	dez	6,00000	0,577350	2,51586	7,48414
6	Efez	agar	nedez	13,33333	0,666667	10,46490	16,20177
7	Efez	filtrační papír	dez	4,66667	0,333333	3,23245	6,10088
8	Efez	filtrační papír	nedez	8,66667	0,333333	7,23245	10,10088
9	Olomoucka	agar	dez	6,66667	0,333333	5,23245	8,10088
10	Olomoucka	agar	nedez	13,66667	0,881917	9,87208	17,46125
11	Olomoucka	filtrační papír	dez	4,00000	0,577350	1,51586	6,48414
12	Olomoucka	filtrační papír	nedez	8,33333	0,881917	4,53875	12,12792

Tab. 4: Fisherův LSD test (petržel kořenová)

LSD test; proměnná počet izolátů patogenů (tabulky_ke_stat v PS3) Homogenní skupiny, alfa = ,05000								
	odrůda	médium	ošetření	počet izolátů patogenů (Průměr)	1	2	3	5
11	Olomoucka	filtrační papír	dez	4,00000	*			
3	Atika	filtrační papír	dez	4,33333	*			
7	Efez	filtrační papír	dez	4,66667	*			
5	Efez	agar	dez	5,00000		*		*
9	Olomoucka	agar	dez	6,66667		*		*
1	Atika	agar	dez	7,00000		*	*	
4	Atika	filtrační papír	nedez	8,33333		*	*	
12	Olomoucka	filtrační papír	nedez	8,33333		*	*	
8	Efez	filtrační papír	nedez	8,66667			*	
6	Efez	agar	nedez	13,33333				
10	Olomoucka	agar	nedez	13,66667				
2	Atika	agar	nedez	15,00000				

Tab. 5: ANOVA (paprika roční)

MEDIUM*OŠETŘENÍ; Vážené průměry (tabulky_ke_stat v PS4) Současný efekt: F(2, 12)=3,9565, p=,04789						
	MEDIUM	OŠETŘENÍ	počet izolátů patogenů (Průměr)	počet izolátů patogenů (Sm.Ch.)	počet izolátů patogenů (-95,00%)	počet izolátů patogenů (+95,00%)
1	agar	dez a	4,666667	0,666667	1,79823	7,53510
2	agar	nedez a	9,666667	0,881917	5,87208	13,46125
3	agar	po HWT	1,333333	0,333333	-0,10088	2,76755
4	filtrační papír	dez a	5,666667	0,333333	4,23245	7,10088
5	filtrační papír	nedez a	7,333333	0,881917	3,53875	11,12792
6	filtrační papír	po HWT	1,666667	0,666667	-1,20177	4,53510

Tab. 6: Fisherův LSD test (paprika roční)

LSD test; proměnná počet izolátů patogenů (tabulky_ke_stat v PS4) Homogenní skupiny, alfa = ,05000						
	MEDIUM	OŠETŘENÍ	počet izolátů patogenů (Průměr)	1	2	3
3	agar	po HWT	1,333333	*		
6	filtrační papír	po HWT	1,666667	*		
1	agar	dez a	4,666667		*	
4	filtrační papír	dez a	5,666667		*	*
5	filtrační papír	nedez a	7,333333			*
2	agar	nedez a	9,666667			



Obr. 1: Semena kultivována na filtračním papíře



Obr. 2: Mycelium *Rhizopus stolonifer*



Obr. 3 a 4: kolonie patogenů na semenech kultivovaných na PDA



Obr. 5: Nejčastěji izolované patogeny *A. alternata* a *C. cladosporioides* na semeni mrkve



Obr. 6: Patogen *Melanospora simplex* na semeni mrkve