

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**  
**ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

**Katedra genetiky a speciální produkce rostlinné**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Využití biologických prostředků na ochranu brambor vůči mandelince bramborové

Autor práce: Jakub Kuráž

Vedoucí práce: Mgr. Tomáš Tonka, Ph.D.

Konzultantka práce: Ing. Oxana Skoková Habuštová, Ph.D.

České Budějovice

2021

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Využití biologických prostředků na ochranu brambor vůči mandelince bramborové“ vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedené v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponenta práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne.....

.....

Jakub Kuráž

## Poděkování

Touto cestou bych rád poděkoval vedoucímu bakalářské práce Mgr. Tomášovi Tonkovi, Ph.D. za vedení a odbornou pomoc při zpracování této práce, dále bych rád poděkoval konzultantce z BC AVČR ENTÚ Ing. Oxaně Skokové Habuštové, Ph.D. za odbornou pomoc, poskytnuté informace a literaturu k problematice mandelinky bramborové a zázemí pro laboratorní pokusy. Děkuji též Mgr. Vladimíru Půžovi, Ph.D. za poskytnuté informace a literaturu k problematice a využití entomopatogenních hlístic. Děkuji Mgr. Daniele Hlávkové za trpělivost a poskytnuté informace ohledně laboratorních stanovení metabolických komponent, Ing. Janě Konopické za poskytnuté informace ohledně entomopatogenních hub a Ing. Radce Tanzer Fabiánové za pomoc při stylistice textu a vytvoření přátelského prostředí v laboratoři. V neposlední řadě bych rád poděkoval své rodině a přítelkyni za pomoc, trpělivost a podporu při studiu a psaní mé bakalářské práce.

## Abstrakt

Cílem práce bylo ověření možností biologické regulace mandelinky bramborové s využitím izolovaných autochtonních kmenů entomopatogenních hub (EPF) a entomopatogenních hlístic (EPN) z neošetřených porostů (nebo před chemickým ošetřením) brambor, z ekologického zemědělství, z lokalit České republiky a otestování jejich účinnosti proti mandelince. Výsledky pokusů jsou zahrnuty v jednotlivých grafech a přiložených tabulkách.

## Klíčová slova:

Mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata*), brambor hlíznatý (*Solanum tuberosum*), entomopatogenní houba, entomopatogenní hlístice, *Steinernema* spp., *Heterorhabditis* spp., *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, biologická ochrana, biokontrola

## Abstract

The aim of the work was to verify possibilities of biological control against Colorado potato beetle by using cultivated indigenous entomopathogenic fungi and entomopathogenic nematodes from potato fields in Czech Republic before chemical treatment or ecological agriculture and verify their efficacy against Colorado potato beetle. All results are included in attached charts or tables.

## Key words:

Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*), potato plant (*Solanum tuberosum*), entomopathogenic fungi, entomopathogenic nematodes, *Steinernema* spp. *Heterorhabditis* spp., *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, biological protection, biocontrol

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literární část</b> .....	<b>2</b>
2.1	Mandelinka bramborová .....	2
2.1.1	Historie a rozšíření mandelinky bramborové .....	2
2.1.2	Životní cyklus .....	3
2.1.3	Rezistence .....	4
2.1.3.1	Chemické insekticidy a rezistence .....	4
2.1.3.2	Integrovaná ochrana .....	6
2.1.3.3	Biologické insekticidy a prostředky .....	6
2.2	Entomopatogenní hlístice .....	8
2.2.1	Způsob života .....	9
2.2.2	<i>Steinernematidae</i> .....	10
2.2.3	<i>Heterorhabditidae</i> .....	12
2.2.4	<i>Rhabditidae</i> .....	12
2.2.5	<i>Mermithidae</i> .....	13
2.3	Entomopatogenní houby .....	14
2.3.1	Životní cyklus .....	14
2.3.2	Nejvýznamnější rody entomopatogenních hub .....	15
<b>3</b>	<b>Materiál a metody</b> .....	<b>19</b>
3.1	Kultivace entomopatogenních organismů .....	19
3.1.1	Kultivace entomopatogenních hlístic .....	19
3.1.2	Kultivace entomopatogenních hub .....	21
3.2	Sběr a chov mandelinky bramborové .....	23
3.2.1	Pěstování rostlin bramboru hlíznatého kultivaru Magda .....	23
3.3	Testování účinnosti suspenze izolovaných druhů entomopatogenních hlístic na mandelinku bramborovou .....	24
3.4	Testování účinnosti suspenze izolovaných druhů entomopatogenních hub na mandelinku bramborovou .....	24

<b>4</b>	<b>Výsledky</b> .....	<b>26</b>
4.1	Hodnocení výsledků vlivu suspenze izolovaných druhů entomopatogenních hlístic na mandelinku bramborovou .....	26
4.2	Hodnocení výsledků vlivu suspenze izolovaných druhů entomopatogenních hub na mandelinku bramborovou.....	28
<b>5</b>	<b>Diskuse</b> .....	<b>34</b>
<b>6</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>38</b>
<b>7</b>	<b>Seznam literárních a internetových zdrojů</b> .....	<b>40</b>
7.1	Literární zdroje.....	40
7.2	Internetové zdroje.....	50
<b>8</b>	<b>Přílohy</b> .....	<b>51</b>

# 1 Úvod

Pod pojem biologická ochrana rostlin je chápáno značné množství způsobů, které mají společný dopad – redukcí škodlivých činitelů pomocí jejich přirozených nepřátel (DeBach a Rosen, 1991). Van Driesche *et al.* (1996) uvádějí, že v biologické ochraně je předpokladem ochrany rostlin využití živých soustav a jejich populací, které mohou být cílovému organismu parazitem, predátorem, patogenem, antagonistou nebo konkurentem. Biologická ochrana využívá organismů, jako jsou bakterie, houby, hádátka, hmyz nebo roztoči pro kontrolu plevelů, škůdců a původců chorob pěstovaných rostlin. Chemické látky přírodního původu např. rostlinné výtažky a semi-chemikálie, jsou též řazeny do skupiny biologické ochrany (Ehlers, 2011).

Mezi biologické metody ochrany rostlin patří také jiné, dosud zřídka využívané nechemické prostředky boje proti škodlivým organismům, například vývoj rezistentnějších odrůd, sterilizace škůdců nebo využití lapačů.

Aplikovaná bioochrana může být rozdělena do tří kategorií:

- Klasická – kontrola různých druhů škůdců pomocí přirozených nepřátel
- Augmentativní – aplikace bioagens v masovém měřítku, vedoucí ke zvýšení početnosti populací, nebo aplikace prostředků ke zlepšení účinnosti přirozených nepřátel, včetně použití nepůvodních druhů bioagens s cílem řízené regulace škodlivých organismů
- Ochrana přirozených nepřátel – provedení promyšlených akcí, záměrně přijatých na ochranu a zachování zásob přirozených nepřátel škůdců (Johnson, 2000; Landa, 2002).

Tato práce se soustředí na augmentativní biologickou ochranu a regulaci výskytu mandelinky bramborové pomocí entomopatogenních hlístic a hub.

## 2 Literární část

### 2.1 Mandelinka bramborová

Mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata* Say) je živočich třídy hmyzu (*Insecta*), řádu brouci (*Carabidae*), patřící mezi hospodářsky nejvýznamnější hmyzí škůdce brambor (r. *Solanum*). Jedná se o 5 až 14 mm dlouhého brouka s podélnými černožlutými pásy na kulatých krovkách s černými skvrnami na hnědooranžovém hrudním štítku (pronotum). V České republice se běžně vyskytuje od poloviny května až do poloviny září, v závislosti na teplotních podmínkách. V průběhu roku je možné pozorovat dvě generace brouků, provázené různě velkými larválními stádii (I-IV. instar) včetně vajíček (Hausvater a Doležal, 2013;2014).

#### 2.1.1 Historie a rozšíření mandelinky bramborové

Mnoho autorů uvádí, že objevitelem mandelinky byl v 19.století Thomas Nuttal, avšak popsána byla až entomologickým nadšencem Thomasem Sayem v roce 1824 ze vzorků odebraných v oblasti Rocky Mountains v Coloradu. Rozšíření mandelinek je celosvětové s výjimkou oblastí s trvale zamrzlou půdou, polárních oblastí, Austrálie a Nového Zélandu. Výzkumný tým vedený Victorem M. Izzem (2018) studoval původ mandelinky za pomoci sekvenace haplotypu mtDNA a jaderných lokusů.

Výsledky ukázaly, že mandelinky se rozšířily z centrálních planin států Colorado, Nebraska, Kansas, Nové Mexiko a Texas do okolních oblastí, kde se následně přizpůsobily klimatickým a agrotechnickým podmínkám. Tato adaptace dovolila mandelinkám po celých Spojených státech vytvořit až tři generace potomstva ročně, což má až doposud katastrofický dopad na pěstování různých kultivarů brambor.

Do Evropy se mandelinka dostala pravděpodobně prostřednictvím obchodních lodí, které převážely mimo jiné i rostliny bramboru hlíznatého. První zmínky o výskytu tohoto škůdce pocházejí z roku 1876 z německých Brém.

V České republice se mandelinka bramborová stala silně vnímaným škůdcem teprve až v období na přelomu čtyřicátých a padesátých let dvacátého století v oblasti Chebska (Muška, 2008). Od této doby se stala i u nás nejvýznamnějším žravým škůdcem brambor.



### 2.1.2 Životní cyklus

Životaschopnost jedince závisí na dostatku a kvalitě potravních zdrojů v závěru vegetační sezóny, klimatických podmínkách předchozí sezóny, na přezimování v půdě a teplotních výkyvech v průběhu zimního období, agrotechnickém zpracování půdy a tlaku potravního řetězce až do samotného vylétnutí jedinců. Začátkem května vylétávají přezimující dospělci z půdy, vyhledávají rostliny brambor a počínají se žírem listů a okusem natě. K oplození samiček může dojít na podzim, nebo časně z jara. Do doby, než je samička schopna naklást vajíčka na spodní stranu listů, dokáže každé imago odlistit plochu až 10 cm<sup>2</sup> denně. Průměrně dosahují počty nakladených vajíček 500 ks na jednu samičku ve snůškách čítajících 30-35 vajíček (Vokál *et al.*, 2013). V závislosti na teplotních podmínkách se z vajíček líhnou po 4-10 dnech larvy I. instaru, které počínají žírem nejprve zbytku vaječných obalů a posléze se přesouvají na okraje listů, kde zahajují žír. Líhnutí larev je závislé na denních teplotách, povětrnostních podmínkách a relativní vlhkosti vzduchu. Za optimální teplotu je považována teplota 25 °C a relativní vlhkost vzduchu 90 %. Při teplotách nižších než 25 °C se doba líhnutí prodlužuje, naopak při vyšších teplotách než 30 °C může dojít až k vyschnutí vajíček. Dosáhnou-li larvy požadovaných energetických zásob, prodělávají svlékání kutikuly a přechod do dalšího larválního instaru. Takto jsou schopné projít II. a III. instarem až do IV. instaru (viz Obr. č. 1), kdy larva proniká do hloubky až 15 cm půdního profilu a kuklí se (viz Obr. č. 2). Při příznivých podmínkách přeměna z larvy na dospělce trvá 14 dní. Na konci sezony se mandelinka dostává do hloubky až 450 cm půdního profilu, kde je chráněna před teplotními výkyvy. Teplotní výkyvy přes dobu zimování jsou pro mandelinku rizikovější než stálé nízké teploty (Hausvater a Doležal, 2020).

V mírném pásu dokáže mandelinka vytvořit dvě (Evropa) až tři generace (Spojené státy) potomstva za sezónu (Bessin, 2003), přičemž délka jednoho cyklu může trvat podle vnějších podmínek 14-60 dnů (Hausvater a Doležal, 2013).



Obr. č. 1 – Larvální stádia mandelinky bramborové; **A** – I. instar, **B** – II. instar, **C** – III. instar, **D** – IV. instar (zvětšeno 7x).



Obr. č. 2 – Ventrální (**A**) a dorzální (**B**) pohled na kuklu mandelinky bramborové (zvětšeno 7x).

### 2.1.3 Rezistence

- Chemické insekticidy a rezistence

Od poloviny minulého století se stalo nejpodstatnější součástí ochrany plodin používání pesticidů. Výroba pesticidů měla za úkol ochránit a vylepšit kvalitu a kvantitu zemědělských produktů, avšak jejich nepromyšlené užívání mělo značný negativní vliv na uvedení škodlivých látek do koloběhu živin a zvýšení odolnosti rizikových škůdců. (Pavela, 2011). Mandelinka bramborová je známa též pro svou adaptaci a flexibilitu na různé typy chemických pesticidů. V současné době je známo 54 chemických látek, vůči kterým je mandelinka rezistentní (Huseth *et al.*, 2014).

U mandelinky není přesný mechanismus odolávání cizorodým látkám doposavad znám, nicméně se vědci snaží přijít na způsob, jak tuto přirozenou bariéru prolomit, či využít v obecný prospěch.

Favel *et al.* (2020) ve své publikaci uvádějí, že odolávání cizorodým látkám způsobují jimi vytipované geny pro kódování transmembránových transportérů v nervovém a trávicím systému a Malphigiho trubicích. Výsledky studie ukazují, že ačkoliv geny jsou prekurzory k daným transportérům, jejich omezená funkce za použití chemikálie ivermectinu nikterak neovlivňuje mandelinku v její širokospektrální rezistenci. Clements *et al.* (2016) navrhuje zablokování funkce glutathionové syntetázy, která se jeví jako účinná obrana proti imidaclopridu (účinná látka ze skupiny neonikotinoidů).

Doležal a Hausvater (2013) uvádějí, že mandelinka je schopna vytvoření i tzv. křížové rezistence, tj. vytvoření adaptace na látky, s nimiž nepřišla přímo do kontaktu,

prostřednictvím látek, s nimiž naopak do kontaktu přišla a mají podobný mechanismus účinku. Z tohoto důvodu doporučují upustit od používání chemických látek na bázi pyretroidů a organofosfátů, neboť mají podobný mechanismus účinku a mandelinka je schopna přežít a rozmnožovat se i při dlouhodobé expozici. Velmi slibně se v poslední době jevílo použití některých chemických přípravků na bázi neonikotinoidů (např. thimethoxamu a thiaclopridu), nicméně jejich účinnost se s množstvím lokálně rezistentních populací a násobkem aktivního používání rychle snižovala (Kocourek, Stará, 2014).

Z polních pokusů ve svém shrnutí Hausvater *et al.* (2018) uvádějí, že v České republice byly prozatím prokázány rezistentní populace mandelinky bramborové vůči DDT, pyretroidům a organofosfátům. V roce 2017 zajišťoval z neonikotinoidů dostatečnou ochranu brambor pouze thiamethoxam, avšak již s patrným trendem snižování účinnosti (Kocourek a Stará, 2018).

Vzhledem k rychlému nástupu potvrzené rezistence mandelinky k doposud používaným chemickým insekticidům a soustavně se měnícím požadavkům ze strany EU i rostlinolékařské péče, jsou všechny potřebné informace ohledně použití registrovaných přípravků vůči mandelince do porostu brambor dostupné on-line na stránce Ústředního a kontrolního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ).

Pro dodržení všech požadovaných opatření by ošetření porostu brambor mělo proběhnout v době největšího výskytu líhnutí larev, tj. od stádií vajíček až po II. larvální instar nebo při nálezu více než 14 ohnisek po 35 larvách na 1 ha – tedy 5000 larev na 1 ha (Muška, 2008). Diviš (2012) doporučuje ošetřit porost při nálezu 100 ks jarních dospělců.

Abychom se celkově vyhnuli vzniku rezistence, je důležité racionálně používat insekticidy v rámci integrované ochrany rostlin, tj. střídání účinných látek z různých skupin, resp. s odlišným mechanismem účinku, doplňovat ochranu brambor o účinné biologické preparáty nebo kombinovat všechny metody boje včetně mechanické likvidace škůdce, nejlépe dle systému integrované ochrany rostlin.

- Integrovaná ochrana

Integrovanou ochranou rozumíme soubor agrotechnických opatření, který využívá všechny dostupné prostředky ochrany, jež jsou ekonomicky, ekologicky a toxikologicky přijatelné k udržení škodlivých činitelů pod prahem ekonomické škodlivosti. Záměrně je zde upřednostňován způsob využití přirozených regulačních faktorů. Dochází k racionálnímu využití kombinace pěstitelských, biologických, biotechnologických a chemických opatření, při kterých je použití právě chemických přípravků omezeno na minimum. Cílem integrované ochrany je tedy integrace všech dostupných metod a postupů pěstování a ochrany kulturních plodin při zachování co nejvyšších výnosů a cenové úrovně potravin a krmiv. Nezavrhuje při ochraně rostlin syntetické pesticidy a umělá hnojiva, ale upřednostňuje šetrnější látky a postupy před agresivními (Kuthan a Trubská, 2017).

Tento způsob ochrany rostlin při dodržení všech navrhovaných opatření by měl udržet škodlivý organismus pod prahem jeho ekonomické škodlivosti nebo ztráty na úrodě. Pěstitelská opatření mají především podpořit přirozenou obranyschopnost rostlin vůči napadení škůdci a omezení vhodných podmínek pro šíření škodlivých organismů. Součástí integrované ochrany je také minimalizovat chemická ošetření, využívat odolné odrůdy a záměrně využívat přirozené nepřátele k redukci škůdců. Na tento systém ochrany úzce navazuje biologická ochrana rostlin.

- Biologické insekticidy a prostředky

V současné době stoupá obliba biologických insekticidů, neboť požadavky kladené na současné zemědělce se zvyšují s poptávkou zákazníků po nechemicky ošetřovaných plodinách a produktech. Všeobecně je chemizace odmítána především ze strachu konzumentů po negativních zkušenostech s používáním fosfátových hnojiv a přípravku DDT na likvidaci škůdců, ale i necílových organismů. Rozdíl proti chemickým pesticidům spočívá v časovém intervalu působení na cílový organismus a v přirozeném ovlivnění cyklu potravního řetězce nebo metabolické cesty hostitelského organismu.

V České republice jsou pro redukci mandelinky bramborové k dostání pouze dva bioinsekticidní přípravky. Nejpoužívanější je přípravek na bázi výtažku z rostliny *Azadirachta indica* (Neem Azal T/S) a s aktivní látkou spinosad (přírodní produkt) získaný z fermentačního procesu bakterie *Saccharopolyspora spinosa* (Spintor). Je možné též využít aplikaci entomopatogenních hlístic rodu *Steinernema* (Nemaplus)

nebo *Heterorhabditis* (Nematop) na larvy a kukly mandelinky (Hausvater a Doležal, 2013). Jiné přípravky jsou sice k dostání v zahraničí, ale tuzemská legislativa je dovoluje používat pouze s omezeními. Jedná se o využití entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*, nebo o využití bakterie *Bacillus thuringiensis*.

Jedinými přirozenými predátory mandelinky bramborové a jejích larválních instarů, kteří se vyskytují na brambořištích centrálních planin Spojených států, jsou dravé ploštice *Perillus bioculatus*, redukující všechna larvální stádia i vajíčka a sluněčka *Coccinella septempunctata*, živící se vajíčky. Problémem při využití dravé ploštice v tuzemsku je především doprava z USA a nutnost použití v ekologickém zemědělství, neboť vajíčka ploštic mohou být použitými chemickými přípravky poškozena, a nutnost zimování v kontrolovaných laboratorních podmínkách (Hausvater a Doležal, 2020). Další z ploštic, *Podisus maculiventris*, může být předpokládaným predátorem mandelinek a aktivním prostředkem pro ochranu více zemědělských plodin (Khelifi *et al.*, 2015). Slibným predátorem by v budoucí biologické ochraně mohl být i střevlíček *Pterostichus melanarius*, který v laboratorních pokusech vykazoval poměrně vysokou míru zaměření nejen proti nižším larválním instarům mandelinek, ale i proti mšicím (Alvares *et al.*, 2013). Mandelinky lze ovlivnit i kontaktním způsobem, například při využití extraktu z tuzemských odrůd chmele, které mají nezanedbatelný vliv na redukci larválních instarů. (Alkan *et al.*, 2017).

Za zvláštní způsob ochrany rostlin bramboru se mohou považovat šlechtitelské metody s cílem vyvinout co nejméně přitažlivé odrůdy. Někteří autoři radí využívat různé variety brambor, které by mohly kvůli rozdílným hladinám alkaloidu solaninu a chaconinu, působit jako důležitý selekční faktor mandelinek při kladení vajíček (Tai *et al.*, 2014). Další studie poukazují na faktor četnosti trichomů na povrchu listů jako na důležité selekční kritérium při výběru rostliny mandelinkou. Studie Zhang *et al.* (2015) a Ibragimov *et al.* (2014) se zaměřují na pozměnění přirozených funkcí rostlin, např. chloroplastů a vytvoření dvouvláknové RNA v nich, která by dokázala po průniku do buněk hmyzu zastavit nebo alespoň omezit proteosyntézu, anebo použití hydrolytických enzymových inhibitorů v listech rostlin pro omezení střevní funkce postembryonálních stádií škůdce. Výsledky se jeví velmi slibně, nicméně ekonomická stránka věci není zemědělcům příliš nakloněna. Velmi zajímavým nápadem vědců bylo přimět rostlinu bramboru rozeznat dvojité napadení listů a natě mandelinkou a bakteriemi, které se přirozeně vyskytují v jejích slinách. Rostlina reagovala pouze na

napadení bakterií, nikoliv však na napadení škůdcem. Cílem do dalších let bude přimět rostlinu rozpoznat vícenásobný útok ze strany organismů a produkovat mnohem dříve kyselinu jasmínovou, chemikálii známou pro insekticidní účinky (Chung *et al.*, 2013).

Účinné hubení mandelinek nezávisí pouze na využití přímých metod, lze se zaměřit i na metody nepřímé. Metodou nepřímou by mohlo být chápáno využití esenciálních rostlinných olejů, které mají repelentní nebo protipožerový účinek. Mezi nejúčinnější na larvy IV. instaru a dospělce patří dle studií druh *Satureja khuzistanica*, původem z Íránu (Saroukolai *et al.*, 2014). Prozatím je tato metoda pouze ve stádiu testování.

## 2.2 Entomopatogenní hlístice

Hlístice (Nematoda) jsou jedním z nejhojnějších organismů na Zemi. V souvislosti s tím mohou být nalezeny v široké škále vodních a terestrických ekosystémů, zahrnující oblasti od tropických po polární, nezávisle na nadmořské výšce (Stock, 2015).

Některé z nich můžeme označit jako tzv. entomopatogenní. Význam těchto hlístic spočívá ve značné redukci hmyzu včetně jeho larválních stádií. Obecně je používáno rozdělení do několika základních čeledí, přičemž nejvíce využívanými a známými jsou:

- *Steinernematidae*
- *Heterorhabditidae*
- *Rhabditidae*
- *Mermithidae*

První dvě zmíněné čeledě se od sebe liší morfologicky velmi málo, proto je vždy nezbytnou součástí morfologická identifikace (za pomoci odborníka), sekvenace genomu hlístice nebo izolace symbiotických bakterií a jejich identifikace. Vztah mezi oběma čeleděmi se dá na základě způsobu života (viz níže) identifikovat jako kompetitivní.

V poslední době se projevuje zájem i o čeledě, které byly dosud z hlediska ztížených podmínek kultivace odsouvány, či které nevykazují příliš velkou míru virulence. Morfologické rozdíly jsou patrné již při prvním vizuálním posouzení, dodatečné informace pak stanovují genetické metody.

### 2.2.1 Způsob života

Životní cyklus hlístic je závislý především na vnějších abiotických (průměrná teplota, relativní vlhkost, přístup UV záření) i vnějších biotických faktorech (plísně). Rizikovým faktorem je pro hlístice především relativní vlhkost půdy. Vysoká vlhkost umožňuje vytvoření provizorního pokryvu těla, který napomáhá při aktivním pohybu, naopak nízká způsobuje vysychání a úhyn hlístic (Koppenhöffer a Fuzy, 2007). Hlístice se proto přesouvají do hlubších částí půdního profilu, nebo do mrtvého těla hostitele a přečkávají nepříznivé podmínky (Půža a Mráček, 2007). Životní cyklus může dle vnějších podmínek trvat 8-21 dní (Stock, 2015).

Mutualistický vztah s hlísticemi tvoří gram-negativní bakterie rodu *Xenorhabdus*, která má nezastupitelnou úlohu v infekci a usmrcení hostitele. Na rozdíl od ostatních bakterií je bakterie uložena ve speciálním střevním váčku. Sekvence genomu prozrazuje široké zastoupení genových oblastí pro toxiny, hemolyziny, proteázy, lipázy a antibiotika syntetizující geny (Bode, 2009). Tyto proteiny jsou brány jako nástroj pro snadnou kolonizaci, invazi a biokonverzi hostitelského organismu.

Obecně jsou známy dvě strategie při napadání hmyzích hostitelů. První z nich se nazývá „crusider“ a zahrnuje aktivně se pohybující hlístice v půdním profilu a vyhledávající hostitele. Klíčové jsou pro ně smyslové orgány na hlavové části (amfidy a papily), díky nimž jsou hlístice schopny zachytit např. amoniak, trimethylamin nebo oxid uhličitý vylučovaný cílovým hostitelem (Hallem *et al.*, 2011). Druhou strategií je „ambusher“, kdy larva vyčkává na kolemjdoucího hostitele.

V půdním profilu lze nalézt hlístice pouze ve formě infekčních juvenilních stádií (IJs), které odpovídají III. instaru (Miles *et al.*, 2012). V době napadání hostitele se larvy hlístic nahromadí v oblasti ústního a řitního otvoru nebo spirakul a pronikají do tělní dutiny hostitele.

Po průniku IJs do hostitele je uvolněna značná část symbiotických bakterií ze střev hlístic, která slouží jako prostředek k zabití hostitele a jako potrava a přirozené prostředí pro vývoj potomstva hlístic. V těle hostitele prodělávají larvy vývoj přes IV. instar do stádia dospělců, kteří se zde nakonec i pomnoží a nakladou vajíčka. (Nermuť *et al.*, 2012). Důležité je zde zmínit, že ačkoliv životní strategie nejčastěji vyskytovaných čeledí hlístic u nás je podobná, první generace se liší. Rod *Steinernema* je v celém svém cyklu gonochoristický (až na druh *S. hermaphroditum*, který je hermafroditem v první generaci), u rodu *Heterorhabditis* je první generace dospělců hermafroditická a až ve druhé dochází ke změně na gonochorismus. (Poinar *et al.*,

1990). Nově vylíhnutí jedinci prodělávají změnu do III. instaru (IJs) a v případě, že hostitel neposkytuje dostatek živin pro celou kolonii, opouštějí tělo hostitele za účelem cílené infekce nového (Griffin *et al.*, 2005; Ciche *et al.*, 2008).

U suchozemských druhů čeledi *Mermithidae* není důkladně prostudován způsob života, ale doposud publikované práce uvádějí, že u nich dochází k modifikovanému způsobu života. Oplozená samice buď vylézá z půdy a klade vajíčka na nízkou vegetaci, kde jsou vajíčka vystavena hostitelům k požití, nebo je vyklade do půdy. Jakmile hostitel pozře vajíčka, v jeho těle dojde k líhnutí larev, které se začnou provrtávat střevní stěnou do hemocoelu. Larvy II. instaru představují plně infekční stádium (IJs), které je schopné infikovat hostitele. Přibližně za 4-10 týdnů se z larev vyvinou dospělci, kteří vylézají z hostitele a páří se, nebo zůstávají jako postparazitičtí jedinci, kteří zalézají do půdy přibližně 15–45 cm hluboko k přezimování. Časně na jaře prodělají poslední změnu vývoje v dospělé a páří se (Platzer *et al.*, 2005).

### 2.2.2 *Steinernematidae*

Na základě uznávaného taxonomického dělení rozlišujeme v čeledi dva rody:

- *Neosteinerema*
- *Steinernema*

Rod *Neosteinerema* obsahuje jediného zástupce *Neosteinerema longicurvicauda* (Nguyen a Smart, 1994).

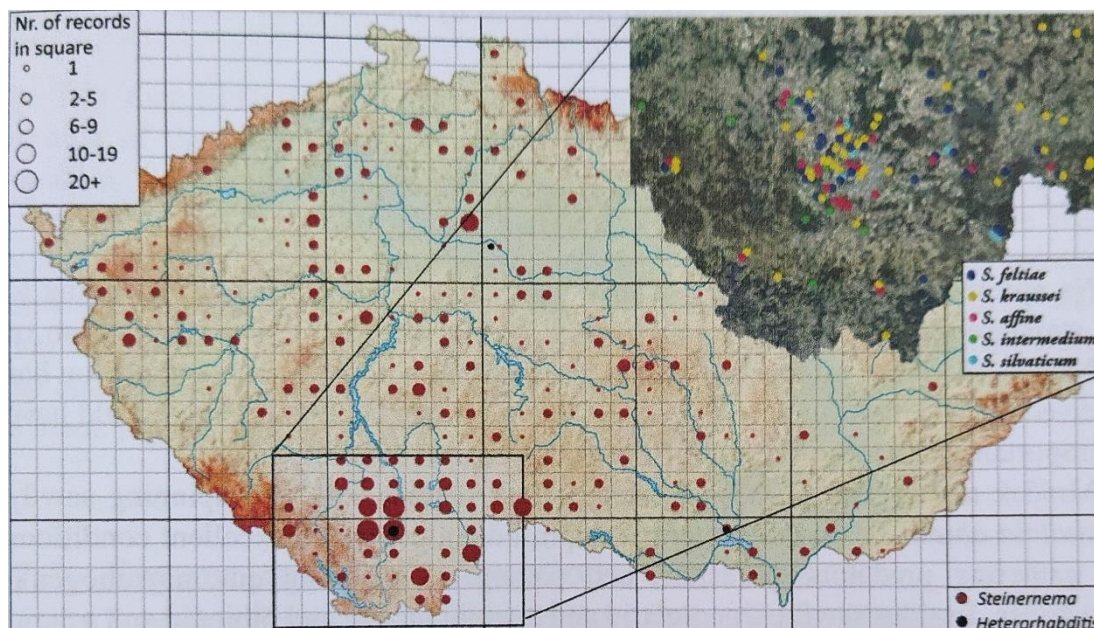
Rod *Steinernema* zahrnuje v současné době celkově více než 70 známých druhů (Stock a Hunt, 2005; Stock a Goodrich-Blair, 2012). Vysokou druhovou diverzitu vykazuje především v Asii, Severní Americe, a Evropě. V Africe zažívá r. *Steinernema* rozmach teprve až v posledním desetiletí a Austrálie má své tři stálé zástupce hlístic, jimiž jsou *S.bibionis*, *S.affinis*, *S.glaseri*, (Akhurst a Bedding, 1986). Jižní Amerika nebyla doposud plně prozkoumána, ale očekává se, že i zde budou nalezeni zástupci.





Obr. č. 3 – Detailní pohled na jedince druhu *Steinernema feltiae* ve světelném mikroskopu (zvětšeno 100x).

V České republice se nejčastěji vyskytuje 10 hlístic rodu *Steinernema*: *S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei*, *S. affine*, *S. intermedium*, *S. silvaticum*, *S. bicornutum*, *S. weiseri*, *S. poinari* a *S. arenarium*. Druh *S. feltiae* (viz Obr. č. 3), je zároveň jeden ze zástupců, nejvíce využívaných na výrobu biopreparátů (seznam dostupný na: <http://eagri.cz>), což poukazuje na jeho snadnou kultivovatelnost a rozsáhlou distribuci na území České republiky (Půža a Nermuť, 2015). Mráček *et al.*, (2005) ve své práci popisují výzkum celkového množství 1350 odebraných vzorků napříč Českou republikou, který dělá z České republiky jednu z nejvíce prozkoumaných oblastí Evropy (viz Obr. č. 4). Získaný materiál potvrzuje, že výskyt entomopatogenních hlístic je poměrně vázán na říční toky a nížiny, zatímco v horských oblastech se (až na výjimky) hlístice téměř nevyskytují.



Obr. č. 4 – Mapa rozšíření rodu *Steinernema* a *Heterorhabditis* v České republice a záznam pětice nejvýznamnějších druhů rodu *Steinernema* v oblasti jižních Čech (převzato z Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests, 2015, kap. 17, str.423).

### 2.2.3 *Heterorhabditidae*

Čeleď *Heterorhabditidae* je zastoupena jediným rodem *Heterorhabditis* s více než 20 celosvětově identifikovanými druhy (Stock a Goodrich-Blair, 2012). Rozložení četnosti hlístic tohoto rodu je podobné jako u rodu *Steinernema*. Nejvyšším zastoupením je známa severní Amerika (7 druhů), četnost v Evropě, Asii a Austrálii je stejná (3 druhy) (Stock, 2015). V České republice byly doposud nalezeny dva druhy: *H. bacteriophora* a *H. megidis*. (Mráček a Bečvář, 2000).

Seznam komerčních přípravků na bázi hlístic druhu *H. bacteriophora* je dostupný na <http://eagri.cz>.

### 2.2.4 *Rhabditidae*

Čeleď *Rhabditidae* je nejspíše jednou z nejdéle známých skupin hlístic. V povědomí veřejnosti přetrvává již od poloviny 19. století, kdy se zástupci rodu *Phasmarhabditis* projeví jako schopní antagonisté suchozemských i vodních plžů (Wilson a Greewal, 2005). Díky zájmu vědecké společnosti se do popředí dostal i druh *Caenorhabditis elegans*, který se o půl století později stal modelovým organismem všech helmintů podobným organismům. Celkově obsahuje tato čeleď přibližně 17 rodů a jedinci

nových rodů jsou stále nalézáni. Mezi poslední nalezené patří i rod *Oscheius*, konkrétně pak druh *Oscheius onirici*, nalezený v krasové jeskyni centrální části Itálie (Torrini *et al.*, 2015). Z ekologického pohledu se jedná spíše o fakultativní hlístici. Čeleď je rozšířena kosmopolitně a je evidováno mnoho záznamů o výskytu, v porovnání s ostatními čeleděmi zájem o tuto čeleď však zaostává.

Biologické preparáty (Nemaslug) na bázi rodu *Phasmarhabditis* byly k dostání v České republice jen krátce prostřednictvím internetových portálů a aktivního dovozu ze zahraničí, tuzemská legislativa v současné době neeviduje žádného držitele povolení pro prodej a distribuci přípravků s rodem *Phasmarhabditis*.

### 2.2.5 *Mermithidae*

Zvláštní skupinou terestrických entomopatogenních hlístic tvoří čeleď *Mermithidae*, rod *Mermis*. Tento rod se vyskytuje v Africe, Asii, Austrálii a na ostrovech Tichého oceánu. Nejznámějším druhem je *Mermis nigrescens*, parazitující na sarančatech. Mnohé studie poukazují na možnost využití v biokontrolě škůdců (sarančat) a člověku nepohodlných organismů (např. komárů), nicméně využití je zatím na počátku svého vývoje. (Baker a Capinera, 1997; Bland, 1976; Christie, 1937; Platzer, 1981, Poinar, 2001). Laboratorní zprávy naznačují, že je velice obtížné rod *Mermis* kultivovat, proto se i nadále musejí hledat vhodné laboratorní podmínky pro napodobení přirozeného vývoje těchto hlístic. Pro názornost Obr. č. 5 poukazuje na velikost studovaného patogenu v našem experimentu.



Obr. č. 5 – Detailní snímek postparazitických larev třetího larválního instaru rodu *Mermis* sp., pořízený pomocí binokulárního mikroskopu (zvětšeno 7x).

## 2.3 Entomopatogenní houby

Entomopatogenní houby jsou známé pro svoji efektivitu v boji proti hmyzím škůdcům. Vzhledem k tomu, že jsou poměrně hojně zastoupené v mírném pásu, dá se předpokládat, že jsou spolu s dalšími faktory významnou složkou regulace výskytu hmyzu (Butt a Goettel, 2000). Z hlediska praktické biologické ochrany má největší význam řád *Moniliales*, v rámci rodů pak *Metarhizium*, *Isaria*, *Beauveria* a *Lecanicillium* (Bohatá, 2005).

### 2.3.1 Životní cyklus

Životní cyklus entomopatogenních hub lze rozčlenit do dvou základních fází:

- Fáze parazitická
- Fáze saprofytická

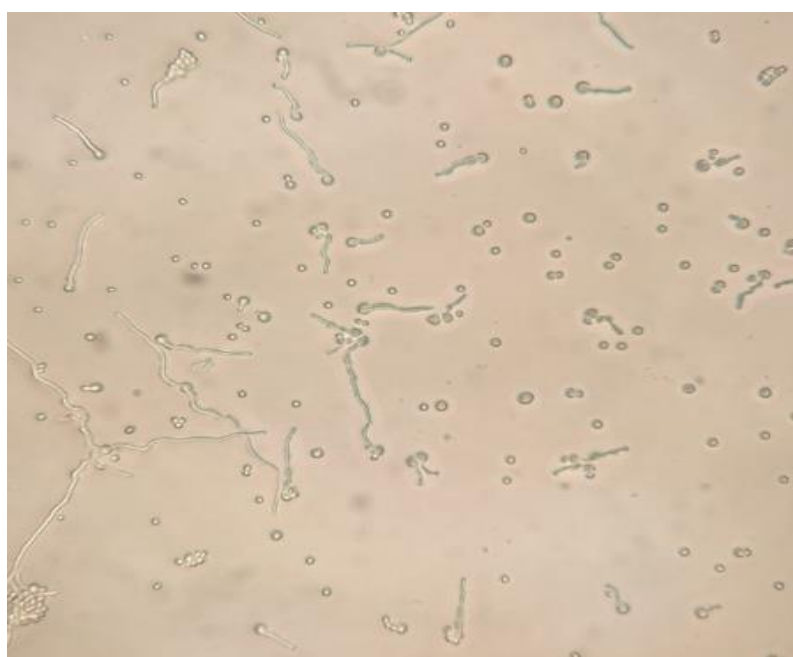
Parazitickou fází lze rozdělit do několika částí, které zahrnují působení houby od počátečního kontaktu až po ukončení vývojového cyklu. Primárním krokem je adheze, pomocí různých mechanismů (strukturované spory, mucilagenní povrch), nabobtnání a vyklíčení konidií na kutikule hostitele (Inglis *et al.*, 2001), dále pak průnik houby pomocí apresoria produkujícího lipázy, proteázy a chitinázy do tělní dutiny hostitele, a nakonec rozrůstání mycelia. Zpravidla nejčastějším místem penetrace hostitele bývají méně pevné tělní povrchy a místa poranění, či přirozené tělní otvory dýchací, pohlavní a trávicí (Weiser, 1966). Parazitická fáze je ukončena smrtí hostitele toxickými metabolity houbového patogenu.

Saprofytická část je charakteristická tvorbou hustého vláknitého povrchového mycelia a sporulací na mumifikovaném hostiteli. V poslední fázi, označované jako konidiogeneze, se na nosičích (konidioforech) začínají tvořit nové konidie. Tyto spory mohou být rozneseny abiotickou cestou (větrem, pohybem vody v půdě, vodními parami) nebo biotickou cestou (roztoči, hmyz, háďátka). Životnost spor závisí podobně jako životnost houby především na teplotě a relativní vlhkosti prostředí (Inglis *et al.*, 2001).

Velký vliv na rozvoj entomopatogenních hub mají biotické (fyziologické podmínky hostitele a patogena, hostitelská rostlina) a abiotické (relativní vlhkost prostředí, teplota, účinek slunečního záření, dešťové srážky a půda) podmínky prostředí (Landa, 2002). UV záření je méně škodlivé než záření infračervené nebo

viditelné světlo, nicméně vlnové délky 285–400 nm mohou způsobit nevratné poškození spor a vláknitých struktur. (Fargues *et al.*, 1997).

V rámci jednoho druhu entomopatogenní houby existuje široké spektrum kmenů, které vykazují různou toleranci k odlišným podmínkám prostředí, nebo se vyznačují různou rychlostí klíčení, vitalitou, patogenitou i schopností růstu a sporulace na povrchu mumifikovaného hostitele, nebo vykazují odlišnou virulenci vůči jednotlivým druhům hostitelů. Všechny tyto charakteristiky jsou porovnávány a následně jsou vybírány kmeny pro výrobu biopreparátů určených pro praktickou biologickou ochranu (Butt a Goettel, 2000).



Obr. č. 6 – Klíčící spory druhu *Beauveria bassiana*, zobrazeno pomocí světelného mikroskopu (zvětšeno 400x).

### 2.3.2 Nejvýznamnější rody entomopatogenních hub

- Rod *Beauveria*

Zástupci rodu *Beauveria* jsou potravně nevyhraněnými druhy, přirozeně se vyskytujícími v půdě, kde způsobují onemocnění obligátně žijících či fakultativně přezimujících stádií hmyzu. Nejvíce studovanými a též nejhojněji zastoupenými druhy jsou *Beauveria bassiana*, *B. tennella*, *B. amorfa*, *B. caledonica* a *B. brongniartii*.

Morfologicky se *Beauveria bassiana* vyznačuje bílými, nažloutlými nebo načervenalými koloniemi, nesoucími hroznovité konidiofory. Shluky konidioforů a

kulovitých až elipsoidních konidií vytvářejí na vysporulovaných kulturách útvary vypadající jako bavlněné míčky (Zimmermann, 2007).

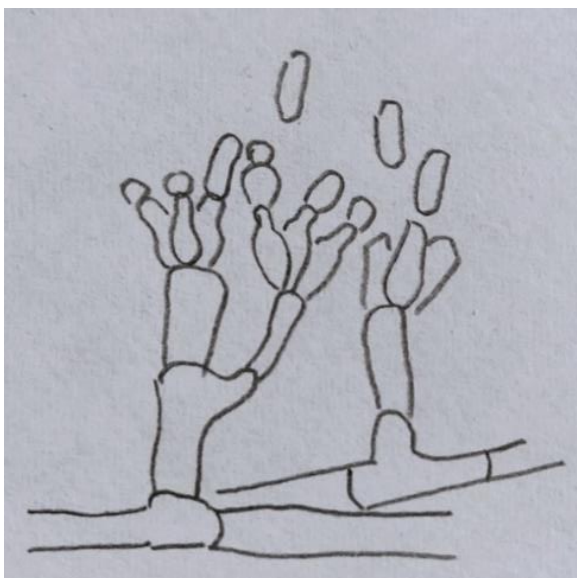
Český trh nabízí dva druhy zaregistrovaných biologických přípravků na bázi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*, resp. beauvericinu, kmene GHA, a to BotaniGard OD a BotaniGard WP a Naturalis (zdroj: <http://eagri.cz>).

- Rod *Metarhizium*

Rod *Metarhizium* zahrnuje mnoho studovaných druhů, především se jedná o druhy *Metarhizium anisopliae*, *M. album*, *M. brunneum*, *M. flavoviridae*, *M. taii* a *M. majus*. Významným znakem tohoto rodu je přítomnost pouze nepohlavního stádia (anamorfy). Výjimku tvoří *M. taii*, které má na rozdíl od ostatních druhů i pohlavní stádium (teleomorfu), (Driver *et al.*, 2000).

Nejvíce používaným a zkoumaným druhem je *M. anisopliae*, tvořící na hostiteli bílé, žluté nebo hnědé mycelium, které postupem času zelená. Kvůli zelené barvě se nálezům druhu *M. anisopliae* začalo přezdívat „zelené muskardiny“. Konidiofory nesou válcovité až hranolovité konidie o velikosti 5–11 x 2,5–5 μm (Obr. č. 7).

V současné době není na českém trhu registrovaný žádný přípravek, který by byl



Obr. č. 7 – Detail konidioforů s konidiemi u druhu *Metarhizium anisopliae*.

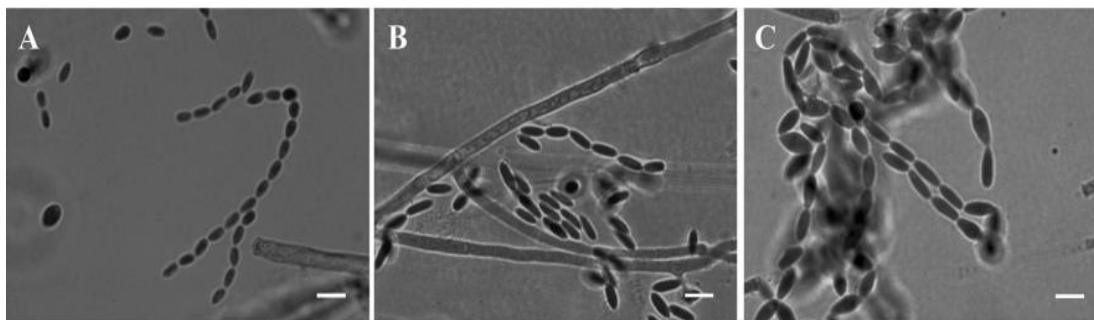
na bázi tohoto rodu, nicméně v minulosti se na evropském trhu objevily přípravky pod obchodními názvy: BioCane, Bio-Blast nebo např. Met52 EC.

- Rod *Isaria*

Entomopatogenní druhy *I. fumosorosea*, *I. farinosa*, *I. javanica*, *I. tenuipes* zastupují potravně nevyhraněné nematofágní, akarifágní a entomofágní druhy hub, které zahajují nákazy u četných řádů hmyzu. Izolována byla z více než 40 členovců, mezi které se řadí např. *Circulionoidea* nebo *Aphidoidea*.

Nejvýznamějším druhem je *Isaria fumosorosea*, která byla dříve známa pod jménem *Paecilomyces fumosoroseus*. Po třiceti letech známosti byla převedena do rodu *Isaria*. Podobně jako *Beauveria bassiana* vytváří beauvericin, účinnou paralytickou látku vůči hmyzím škůdcům (Hussein *et al.*, 2016). Ve vztahu k dalším druhům hub (*Uromyces dianthi*, *Sphaerotheca fuliginea*) se může projevit mykoparaziticky (Landa *et al.*, 2008).

Tento druh vytváří bílé mycelium, které postupem času nabývá růžových až šedofialových odstínů. Čím je barva odstínu intenzivnější a tmavší, tím je houba starší a mycelium prašnější. Konidiofory se formují přeslenitým způsobem a nesou na sobě oválné konidie.



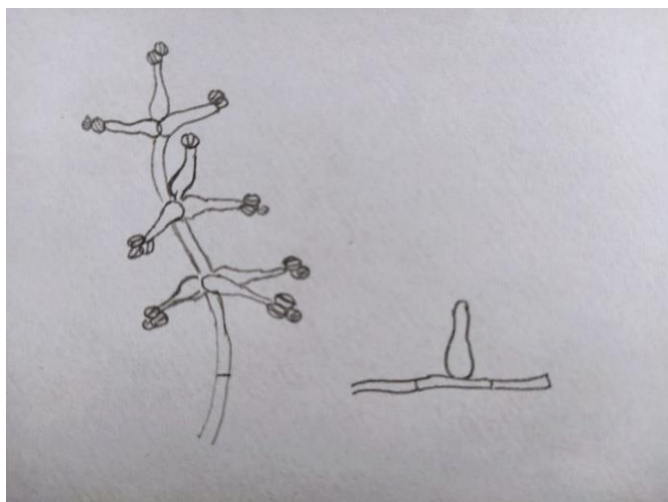
Obr. č. 8 – Detail konidií u druhů *I. fumosorosea* (A), a *I. javanica* (B; C). Bílá úsečka v pravém dolním rohu znázorňuje délku 5 $\mu$ m. (zdroj: Gallou *et al.*, 2015).

V současné době není na českém trhu registrovaný žádný přípravek, který by byl na bázi tohoto rodu, nicméně americká firma ThermoTrilogy Corporation vyrábí a distribuuje biopreparát PFR 97WDG – AOPKA, který je pod obchodním názvem PREFERAL distribuován také belgickou firmou Biobest v Evropě. Tento preparát je používán v ochraně rychlené zeleniny a okrasných květin proti širokému spektru škůdců (mšice, molice, červci, třásněnky a další). V ČR je pokusně používán v ochraně jehličnanů proti kůrovci z rodu *Ips* (např. *I. typographus*) a v ochraně brambor proti mandelince bramborové (Landa, 1994).

- Rod *Lecanicillium*

Rod *Lecanicillium* je poměrně novým rodem. Po studii těchto hub (Zare a Grams, 2001) bylo rozhodnuto, že se vyčlení ze stávajícího rodu *Verticillium* a zahrnou se do něj pouze druhy, které mají entomopatogenní charakter. Druhově je rod *Lecanicillium* velmi bohatý, v současné době čítá 28 druhů. (Nicoletti a Becchimanzi, 2020) Nejvýznamnější druhy jsou *Lecanicillium muscarium*, *L. longisporum* a *L. lecani*. Jedná se o široce polyfágní entomopatogenní druh využívaný především na savé škůdce zeleniny a okrasných rostlin, mezi které lze zařadit např. molice, třásněnky nebo mšice, fakultativně může postihovat i divoce žijící druhy motýlů (Lepidoptera), zemních brouků (Coleoptera) nebo dvoukřídlého hmyzu (Diptera) (Landa *et al.*, 2008).

Morfologicky je rod *Lecanicillium* charakteristický bílým až krémovým myceliem, které nese úzce protáhlý konidiofor. Na konci každého konidioforu se tvoří až čtyři konidie kulovitého tvaru, v závěrečné fázi sporulace se konidiospory pokrývají mucilagenní hmotou, která udržuje kompaktní tvar finálního útvaru (viz Obr. č. 9), (Hall, 1976).



Obr. č. 9 – Detail přeslenovitě uspořádaných konidioforů na myceliu druhu *Lecanicillium lecani*.

V sortimentu dostupných biopreparátů mají již tradiční místo biopreparáty firmy Koppert (Nizozemí), které jsou známy pod obchodními názvy MYCOTAL (určen k ochraně skleníkových plodin proti molici skleníkové a molici bavlníkové), VERTALEC (kmen vysoce virulentní pro různé druhy mšic) a TRIPTAL (kmen *L. lecanii* s vysokou účinností na *Thrips tabaci* a *Frankliniella occidentalis*), (Landa, 1994).



## 3 Materiál a metody

### 3.1 Kultivace entomopatogenních organismů

#### 3.1.1 Kultivace entomopatogenních hlístic

Entomopatogenní hlístice byly získány izolací z půdních vzorků, odebraných na jedenácti lokalitách České republiky. Na mapě (viz Obr. č. 10) jsou barevně vyznačena místa odběru půdy (podrobnější data – viz Tab. 2 v kapitole Přílohy). Každý vzorek byl odebrán ze svrchní vrstvy 30 cm půdního profilu a obsahoval 1-1,5 kg zeminy bez organických a anorganických zbytků.



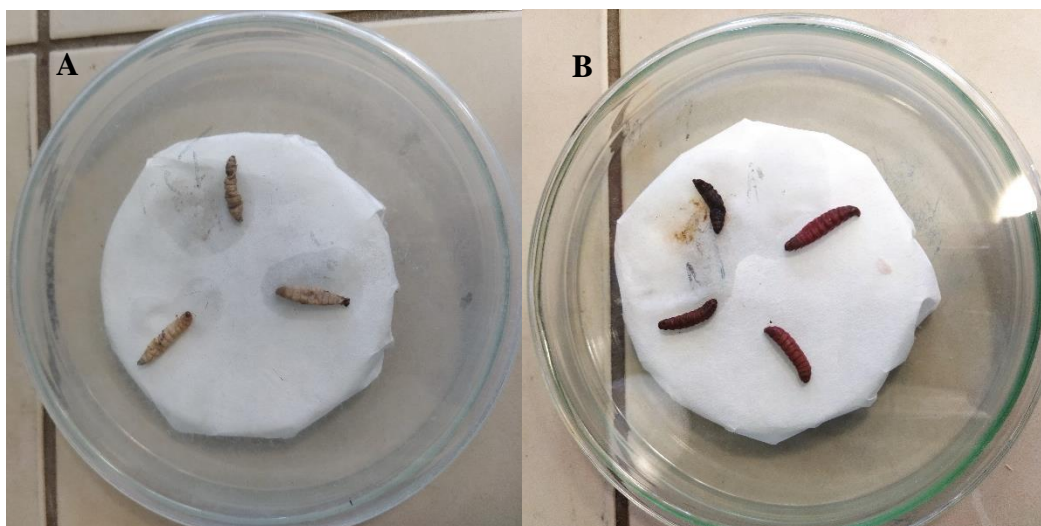
Obr.č.10 – Mapa odběrových lokalit půdních vzorků s entomopatogenních hlístic (mapy.cz).

Z příslušných půdních vzorků byly hlístice izolovány metodou živých galeriových pastí (*Galleria bait method*), (Zimmermann, 1986) spočívající ve využití larev zavíječe voskového (*Galleria mellonella*, L.) jako kořisti pro infekční stádia hlístic (IJs) a živného prostředí pro vývin nové generace.

Petriho misky, o průměru 9 cm, byly naplněny půdním vzorkem tak, aby zaujímal maximální objem misek a do vzorku byly nastraženy dvě larvy zavíječe voskového. Vzorek byl zvlhčen 1 ml vody, uzavřen a umístěn do místnosti bez přístupu světla. Dodatečně byly do každého zbylého množství vzorků z odběrových lokalit do plastických sáčků umístěny dvě pasti (charakteru klecí) s průzory o velikosti 0,5 mm a dvojicí nastražených larev. Klecové pasti byly zvoleny kvůli snadnějšímu přístupu hlístic, tekutin a plynů. Vzorky v sáčcích byly zavázány (zajištění optimálních

vlhkostních podmínek a zabránění vysychání substrátu) a uloženy ve tmě při teplotě 20 °C a ponechány k proběhnutí infekce. Po 5 dnech byla kontrolována životnost nastražených larev v pastech. Vyjmutí larev z Petriho misek nebo z klecových pastí mohlo být realizováno po viditelném úmrtí larev nebo změně barvy povrchu larev, indikující probíhající infekci. V opačném případě byly larvy ve vzorku ponechány ve stávajících podmínkách. Mrtvé infikované larvy byly přemístěny na vodou vlhčený filtrační papír do Petriho misky, k nim byly přidány živé larvy pro zrychlení množení hlístic.

V průběhu 14 dní byla denně kontrolována infekce u všech larev na Petriho miskách. Pro přímou extrakci hlístic z nastražených larev zavíječe byla použita metoda tzv. *vodní pasti*. Metoda vodní pasti (viz Obr. č. 11) využívá aktivního přesunu IJs do vlhčích částí substrátu. Larvy zavíječe byly s filtračním papírem přesunuty na víko Petriho misky o průměru 9 cm, papír byl navlhčen několika kapkami vody pro navození optimálního prostředí pro hlístice a celá aparatura byla vložena na dno Petriho misek s průměrem 15 cm. Okolo víka menší Petriho misky bylo pipetou nakapáno přibližně 20 ml vody tak, aby nesmáčela filtrační papír. Celá aparatura byla uzavřena do připravené klece, potažené jemnou síťovinou kvůli zabránění průniku nechtěných organismů do Petriho misek a ponechána v laboratorních podmínkách (20 °C, 101 kPa, 50 % rel. vlhkosti) na stinném místě po dobu 21 dní. Následně byla Petriho miska jednou za tři dny vyjmuta, proběhla kontrola množství přesunutých hlístic do vodních kapek a případně doplnění objemu vody.



Obr. č. 11 – Ilustrativní schéma vodní pasti s larvami *Galleria mellonella*, **A** = larvy zavíječe infikované hlísticemi rodu *Steinernema*, **B** = larvy zavíječe infikované hlísticemi rodu *Heterorhabditis*.

Při dostatečném množství hlístic ve vodních rezervoárech byla suspenze slita do 50 ml kónických zkumavek a ponechána sedimentaci. Přebytečná voda byla odpipetována a pelet hlístic byl přečištěn ve 40 ml vodovodní vody. Proces přečištění hlístic byl aplikován třikrát, při posledním byl objem 40ml suspenze ponechán, řádně označen a uložen do místnosti ( $20\pm 3$  °C) bez přístupu světla.

- Chov zavíječe voskového (*Galleria mellonella*)

Chov zavíječe voskového byl realizován v zavařovacích sklenicích „masovkách“. Sklenice, obsahující 10 a více jedinců, byly naplněny do třetiny objemu jemným pískem, dovnitř víka byl na kovovou mřížku umístěn papír pro kladení vajíček. Sklenice byly uzavřeny a vloženy do termostatu při teplotě 20 °C bez přístupu světla. Papír byl průběžně měněn (vzhledem k množství nakladených vajíček) a vkládán do Petriho misek, kde byl obsypán živnou půdou a společně s Petriho miskou vloženo do termostatu k chovaným dospělcům. Vylíhlé larvy byly odchovány na tzv. Haydakově živné půdě (příprava půdy v kap. Přílohy, viz Tab. 1). Larvy zavíječe byly pro účel živých pastí předpřipravovány metodou spaření, tj. vystavení tepelnému šoku při teplotě 58 °C na 8 s. Důvodem byla prevence proti nechtěnému kuklení larev. Takto upravené larvy byly umístěny do plastové krabičky plněné dřevěnými pilinami měkkého dřeva a bez přístupu potravy vloženy do termostatu při stejných podmínkách jako dospělí jedinci.

### 3.1.2 Kultivace entomopatogenních hub

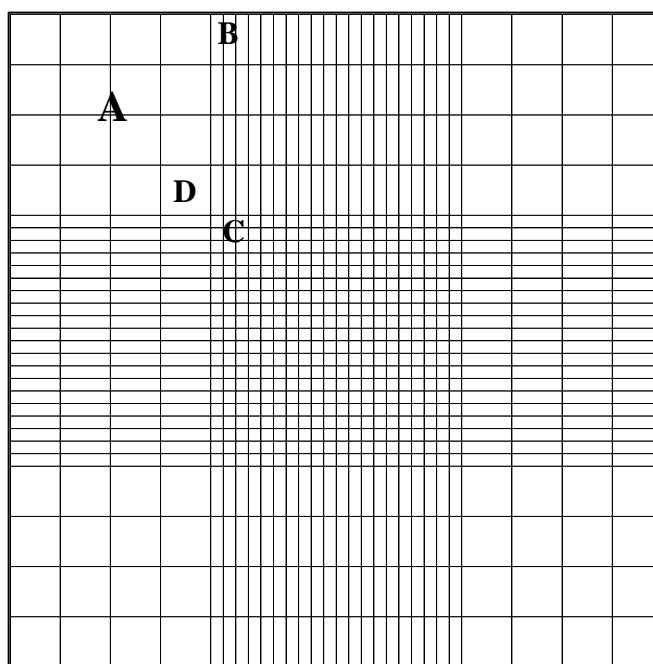
Spory a rezidua vláknitých entomopatogenních hub byly izolovány z půdních vzorků, odebraných na stejných lokalitách České republiky jako vzorky pro izolaci entomopatogenních hlístic.

Izolace entomopatogenních hub proběhla za pomoci upravené metody „Tenbrio bait method“, která využívá podobně jako „Galleria bait method“ (viz kap. 3.1.1) přímou infekci larev hmyzu prostřednictvím parazitických organismů. V této metodě bylo v Petriho miskách naváženo a důsledně promícháno 20 g každého půdního vzorku a dodatečně byl do každého vzorku přidán 1 ml destilované vody. Jako návnada byly použity živé larvy potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) v počtu 10 jedinců na jednu misku. Takto upravené misky se substrátem a larvami byly umístěny do termostatu a ponechány ve stálé teplotě 25 °C po dobu 14 dní. Následně byly z larev izolovány narostlé entomopatogenní houby. Izolace byla realizována na umělém živném médiu PDA (Potato dextrose agar) prostřednictvím metody separačních čar.

Po 7. dnech byla zrevidována přítomnost kontaminace a nečistot, případně byly kmeny entomopatogenních hub přečištěny přenesením na čerstvé PDA v Petriho miskách. Čisté kultury izolovaných kmenů byly klasifikovány do rodů na základě jejich mikroskopicko-morfologických znaků a uloženy do mrazících boxů při teplotě  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$  v podobě alginátových pelet.

- Standardní metoda přímého stanovení titru konidiové suspenze

Základ suspenze tvoří předpřipravené nakultivované houby, které byly v destilované vodě z Petriho misky setřeny sterilní kličkou. Rozrušená struktura hub byla přefiltrována přes sterilní gázu do Erlenmeyerových baněk, baňky byly uzavřeny sterilním alobalem, suspenze promíchány na třepací desce, roztok 10x rozředěn (1 ml suspenze + 9 ml destilované vody s Tween 20) a přelit do kónických zkumavek o objemu 50 ml.



Obr. č. 17: Detail počítací mřížky. Obrázek zachycuje rozměry mřížky: 4x4 (A), 1x4 (B), 4x4 (C), 1x1 (D).

Homogenizované roztoky byly napipetovány do hematocytometru (počítací komůrky), spory ponechány k jednominutové sedimentaci. Následně bylo vybráno nejvhodnější pole (s největším zastoupením spor) a sečten počet spor ve dvou předem určených blocích C (viz Obr. č. 12). Rozdíl počtu spor mezi bloky směl být maximálně 15 % nebo méně než 5 ks. Koncentrace spor (počet spor v 1 ml připravené suspenze) byla přepočtena podle vztahu:

$$\bar{x} \cdot 2,5 \cdot 10^5 \cdot \alpha$$

Kde  $\bar{x}$  je průměrný počet spor ze dvou počítaných bloků, násobený přepočítávacím faktorem pro oblast C na hematocytometru a  $\alpha$  je využití ředění (v našem postupu  $\alpha=10$ ). Koncentrace výsledného roztoku byla následně upravena na objem 20 ml.

### 3.2 Sběr a chov mandelinky bramborové

Dospělci a larvy III. instaru mandelinky bramborové byli ručně sesbírání na brambořišti podniku ekologického zemědělství u obce Malonty (48.7083920 N; 14.5778508 E) a na zahradě v obydlené části obce Zbudov (49.0920117 N; 14.3098958 E) v několika po sobě jdoucích sériích v období od 1. 7. do 31. 8. 2020. Každé vývojové stádium bylo sbíráno odděleně do plastového boxu s perforovaným víkem o rozměrech 34x22,5x15,7 cm.

Chovy mandelinky bramborové byly udržovány ve skleníkových prostorech ENTÚ BC AVČR v kontrolovaných podmínkách (25 °C, 75 % relativní vlhkosti a fotoperiodou dlouhého dne 16:8). Nasbírané mandelinky byly umístěny na listy bramboru kultivaru Magda pěstované v květináči o průměru 21 cm a objemu 4 l. Takto připravené květináče s mandelinkou byly umístěny pod izolátor, který se skládal z kovové konstrukce o velikosti 100x50x50 cm potažený jemnou síťovinou a ponechán v kontrolovaných podmínkách skleníku. Chovy byly denně kontrolovány a v případě zkonzumování vegetativních částí rostliny byli jedinci mandelínek přemístěni na novou rostlinu v květináči.

#### 3.2.1 Pěstování rostlin bramboru hlíznatého kultivaru Magda

Rostliny bramboru hlíznatého byly získány ve formě hlíz a tkáňových kultur (meristémů) z Výzkumného ústavu bramborářského s.r.o. v Havlíčkově Brodě. Odrůda patří mezi dynamicky rostoucí rostliny, a to nejen v rámci prýtu, ale též hlíz. Z hlediska vegetační doby patří do skupiny velmi raných odrůd se středně dlouhou dobou skladovatelnosti. Vyznačuje se středně velkými, krátce oválnými hlízami se středně hlubokými očky a žlutou barvou dužniny. Evidována je jako varný typ B. Každá rostlina byla prostřednictvím hlíz samostatně vysazena do květináče o objemu 4 l, zalévána denně a ponechána ve stejných podmínkách jako chov mandelínek, tj. při teplotě 25 °C, relativní vlhkosti 75 % a s fotoperiodou dlouhého dne 16:8.

### 3.3 Testování účinnosti suspenze izolovaných druhů entomopatogenních hlístic na mandelinku bramborovou

#### *Materiál a metoda:*

Na pokus byly použity Petriho misky o průměru 9 cm. Na dno každé Petriho misky byl umístěn filtrační papír, (Whatman; grade 114 od firmy P-Lab), list bramboru, jehož řapík byl zabalený v navlhčené buničité vatě a hliníkové fólii (udržení vláhý pro list), a dospělec mandelinky bramborové z lokality Malonty. Odpovídající koncentrace hlístic (250, 500 a 1000 IJs včetně kontroly) kmenů 1; 1b; 4; A2; A3; A7; A8; A14 a Jakub (podrobný popis použitých kmenů včetně lokalit izolace je v kapitole Příloha – viz Tab. 2) byla aplikována rozkapáním pomocí nastavitelných pipet (Eppendorf research plus) v malých dávkách po kružnici okolo mandelinky na dno misky a filtrační papír. Následně byly Petriho misky umístěny na ták do kontrolovaných podmínek termostatu (25 °C, 75% relativní vlhkost a fotoperioda dlouhého dne 16:8). Každá varianta koncentrace a kmenu hlístic zahrnovala celkem 10 jedinců v Petriho miskách, včetně kontrolní varianty, kde na dno misky byla aplikována voda v objemu odpovídajícímu koncentraci testovaných hlístic. Celkem bylo otestováno 320 jedinců mandelinky bramborové. Po dobu 7 dní byla sledována mortalita dospělců mandelinky a vyhodnocována individuálně vždy v dopoledních hodinách. Zaznamenán byl nejen úhyn, ale i malátné chování každého jedince mandelinky, výskyt hub introdukovaných dospělci mandelinek a výskyt hlístic parazitovaných v terénních podmínkách z čeledi *Mermithidae* (strunice). Mrtví, houbou nebo strunicemi napadení jedinci byli vyřazeni z pokusu a ponecháni pro další výzkum. V případě velkého znečištění listu nebo masivní defoliace listové plochy okusem, byl list vyměněn za čerstvý.

### 3.4 Testování účinnosti suspenze izolovaných druhů entomopatogenních hub na mandelinku bramborovou

#### *Materiál a metoda:*

Jedinci mandelinky bramborové dovezení z lokality Malonty byli ponořeni na 30 s do roztoku konidiových suspenzí v koncentraci  $1 \times 10^7$  spor v 20 ml, umístění na vlhčený filtrační papír (1 ml destilované vody) do Petriho misky o průměru 9 cm, uzavření po stejných kmenech do plastových zip sáčků (minimalizace kontaminace jinými sporama hub), vložení do kontrolovaných podmínek termostatu (25 °C, 75% relativní vlhkost, 24h bez přístupu světla) a monitorování individuálně bez přístupu k potravě

(minimalizace kontaminace) po dobu 28 dní. V průběhu monitoringu byly zaznamenány počátky tvorby mykóz a růst mycelia, výskyt strunic či úmrtí jedince. Filtrační papír byl podle potřeby vlhčen (pro vytvoření optimálních podmínek pro růst mycelia). Pokus byl realizován ve třech opakováních po 20 jedincích mandelinky každého izolovaného kmene entomopatogenních hub včetně kontrolních variant. Celkem bylo otestováno 10 kmenů hub, z nichž 5 kmenů bylo určeno jako druh *Metarhizium anisopliae*, 4 kmeny jako *Beauveria bassiana* a 1 kmen jako *Isaria fumosorosea* (podrobný popis použitých kmenů, včetně jejich lokalit izolace, je uveden v kapitole Přílohy, viz Tab. 13), na 660 jedincích mandelinek. Kontrolní varianta se od pokusné lišila v ponoření jedinců mandelinky bramborové pouze do roztoku destilované vody se smáčedlem Tween 20.

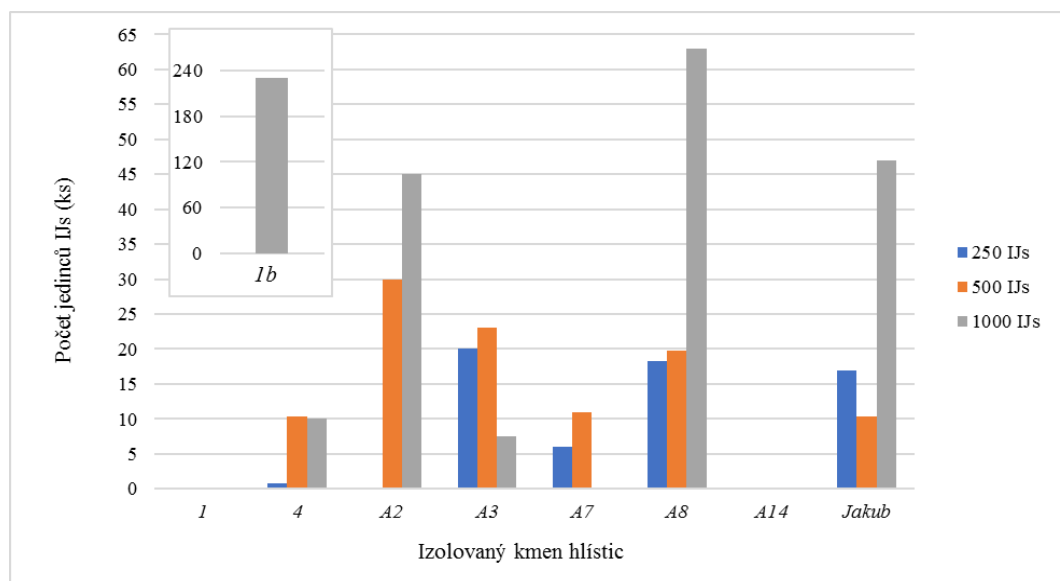
## 4 Výsledky

### 4.1 Hodnocení výsledků vlivu suspenze izolovaných druhů entomopatogenních hlístic na mandelinku bramborovou

Experimenty byly zaměřeny na sledování dvou významných faktorů ovlivňujících hodnocení vlivu nově izolovaných kmenů hlístic, a to míru invaze a patogenitu hlístic. Schopnost (a rychlost) testovaných kmenů hlístic napadnout hostitele byla vyjádřena mírou invaze a schopnost hlístic vyvolat smrt hostitele byla vyjádřena jako patogenita. Všechny hlístice byly aplikovány ve třech dávkách (250, 500 a 1000 IJs) s výjimkou hlístice *Oscheius onirici*, zde byla testována pouze dávka 1000 IJs. Hlístice rodu *Oscheius* patří mezi volně žijící hlístice, ale u některých druhů, včetně *O. onirici*, byla pozorována entomopatogenní aktivita. Nález *O. onirici* je prvním záznamem tohoto druhu v České republice. Vzhledem k délce pokusu bylo nutné vzít v potaz kromě vlivu testovaných hlístic i možnou přirozenou infikovanost entomopatogenními organismy z terénu. Tabulky 3-12 (viz kapitola Přílohy) shrnují sedmidenní pozorování jedinců mandelinky při expozici testovanými kmeny hlístic.

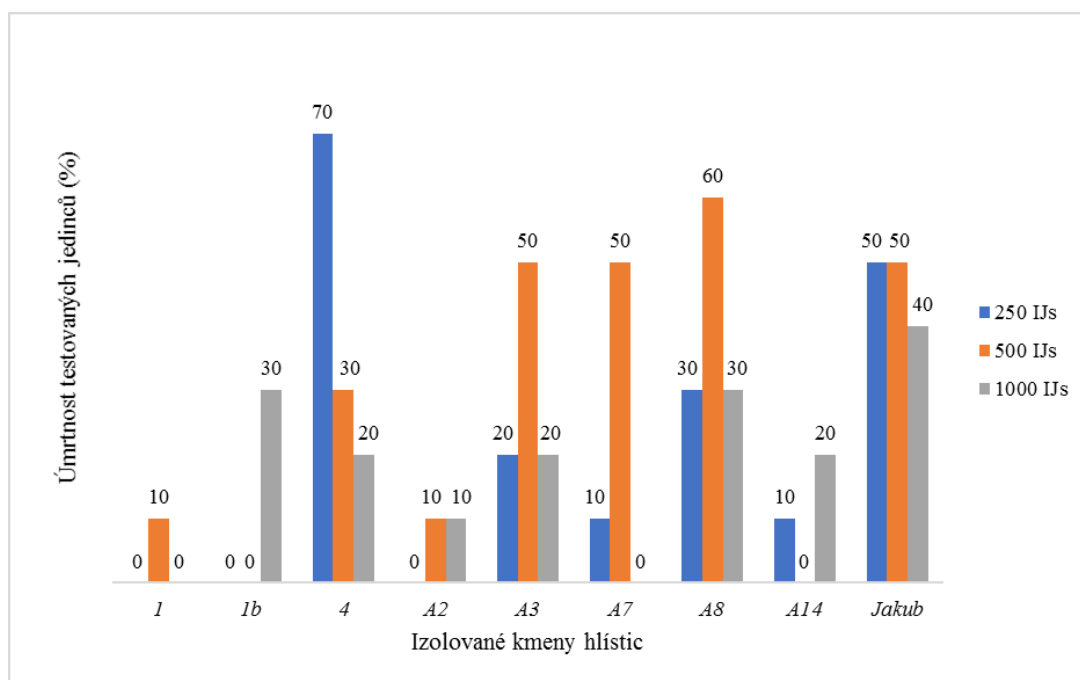
Otestováno bylo 9 kmenů entomopatogenních hlístic. Na základě získaných výsledků je patrné, že kmen *1b* druhu *Oscheius onirici* (Graf 1) se jevil jako nejvíce invazivní druh. Následující kmeny A8 druh *Steinernema kraussei*, kmeny A2 a *Jakub* druhu *Steinernema feltiae* se jevily stejně. Kmeny 4 a A3 měly nízkou míru invaze a u kmenů 1 a 14 nebyla zaznamenána žádná invaze hlístic.

Graf 1- Míra invaze izolovaných kmenů hlístic



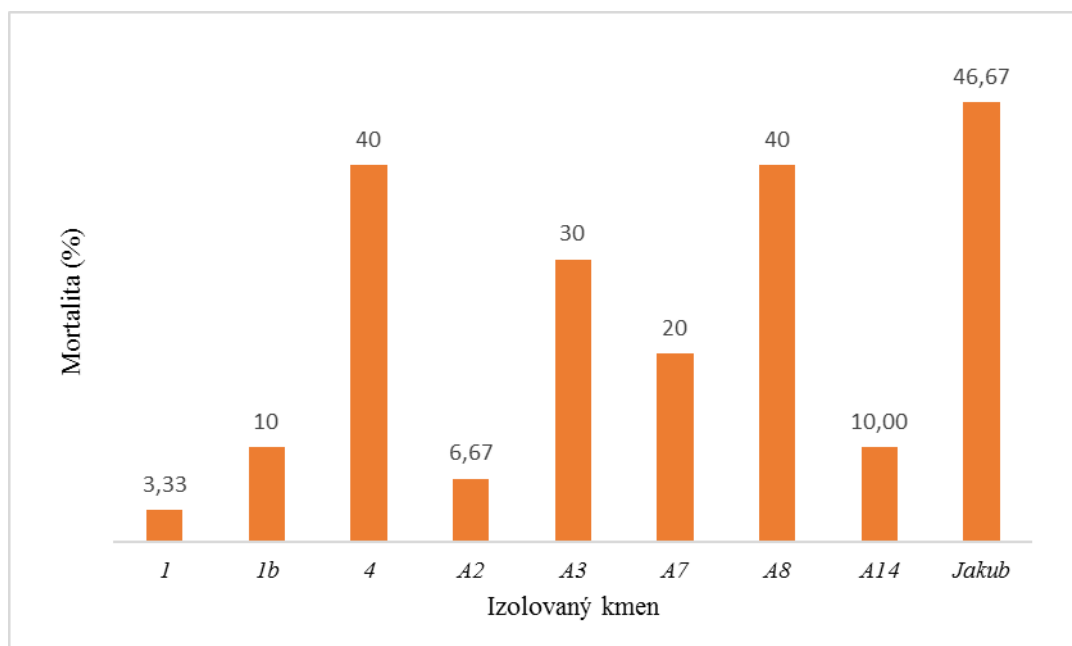


Graf 2 – Míra patogenity izolovaných kmenů hlístic.



Z grafu 2 je zřejmé, že absolutní patogenita kmene 4 při koncentraci 250 IJs byla nejvyšší (70 % úmrtnost mandelinky), avšak v porovnání s ostatními kmeny je kmen 4 třetím průměrně patogenním kmenem. Nejvíce patogenním kmenem byl pro mandelinky shledán kmen *Jakub* s nejvyšší mírou patogenity při použití koncentrace 250 IJs a 500 IJs (50% úmrtnost mandelinky při obou koncentracích). Nejmenší míra patogenity byla zaznamenána v případě izolovaného kmenu 1, kdy koncentrace 1000 IJs a 250 IJs se neprojevila jako účinná (0 % úmrtnost mandelinky) a pouze při koncentraci 500 IJs byla detekovatelná 10 % úmrtnost mandelinky.

Graf 3 – Celková mortalita mandelinky bramborové (%) po aplikaci (250, 500, 1000 IJs) izolovaných kmenů hlístic.



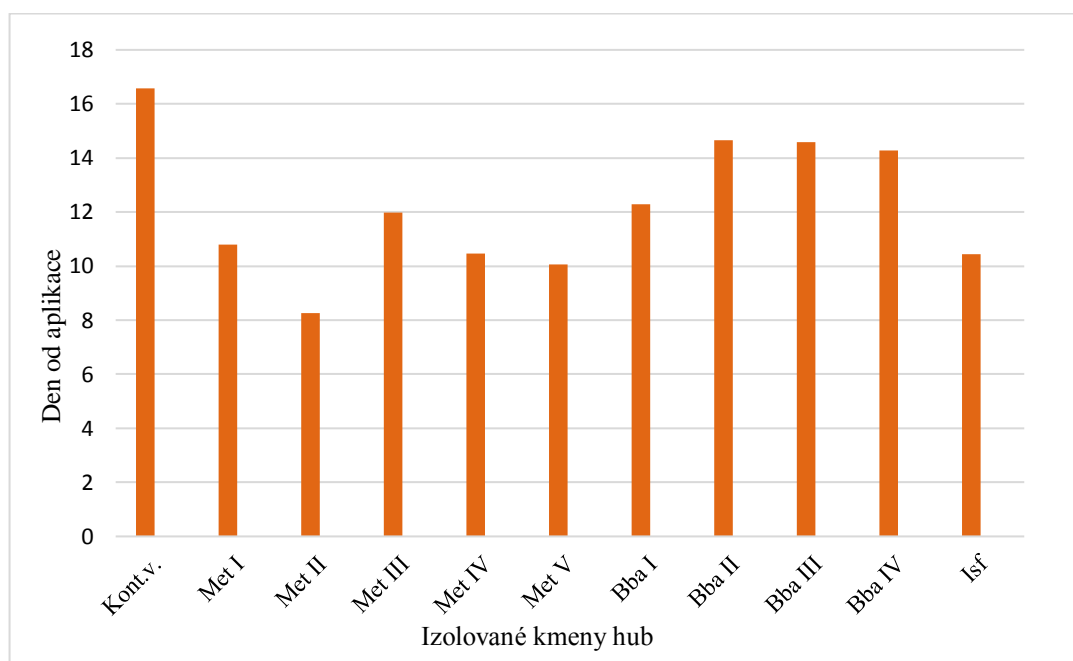
Graf 3 celkové mortality mandelinek prokazuje, že při využití kmene *Jakub* byla mortalita u testovaných jedinců nejvyšší a to celkem 46,67 %. V případě izolovaných kmenů A8 a 4 byla u testovaných jedinců stanovena jako druhá nejvyšší mortalita s hodnotou 40 %. Zbývající testované kmeny hlístic způsobily u sledovaných populací mortalitu v rozmezí 3,33-30 %. Jako nejméně účinný na testované jedince mandelinky bramborové se jevil izolovaný kmen *1*, vykazující jenom 3,33 % mortalitu.

#### 4.2 Hodnocení výsledků vlivu suspenze izolovaných druhů entomopatogenních hub na mandelinku bramborovou

Při hodnocení pokusu byla sledována účinnost nově izolovaných kmenů hub (výskyt mykóz) a mortalita mandelinky bramborové po dobu 28 dnů. V potaz byla uvážena možná introdukce nativních kmenů hub na povrchu či v prostoru zažívacího traktu a také promořenost populace strunicemi, nebo rezistence vůči aplikovaným kmenům hub. Tabulka 13 (viz kap. Přílohy) je legendou pro níže uvedené grafy, která z hlediska obsáhlosti a celkové přehlednosti grafu nemohla být zařazena ke každému grafu.

Získané výsledky potvrdily, že testovaná populace mandelinky bramborové z terénních podmínek částečně vykazovala promořenost houbou *B. bassiana* pocházející z vnějšího prostředí nebo také parazitickými hlísticemi čeledi *Mermithidae*. I přes tento jev byly použité kmeny hub oproti kontrole účinnější vůči dospělcům mandelinky bramborové. Do výsledků byli započtení i sledovaní jedinci, kteří byli v průběhu testování vyhodnoceni jako přirozeně infikovaní introdukovanými houbami či hlísticemi. Graf 4 znázorňuje přežívání mandelinky bramborové od aplikace suspenzí izolovaných hub na mandelinku bramborovou.

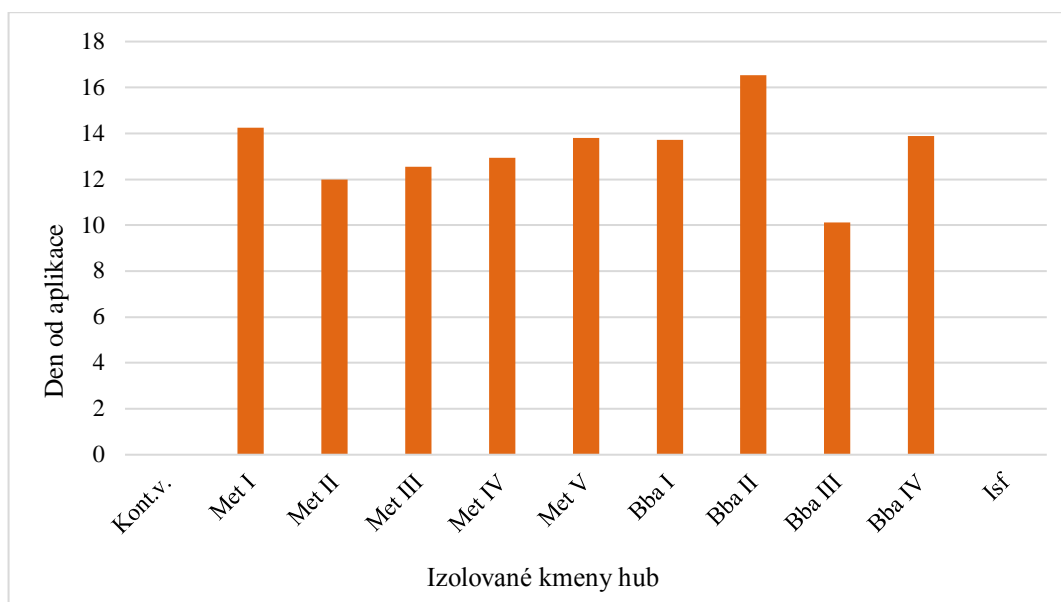
Graf 4 – Průměrná doba úmrtnosti testovaných jedinců (v dnech) v rámci kmene po aplikaci izolovaných suspenzí entomopatogenních hub.



Z grafu 4 je patrné, že v kontrolní variantě byla doba průměrné úmrtnosti sledovaných jedinců zaznamenána v průběhu šestnáctého dne od zahájení pozorování. Pro ostatní ošetřené varianty je patrné, že entomopatogenní houby měly negativní vliv na testované jedince, neboť se jejich průměrná doba úmrtnosti po expozici suspenzemi hub snížila. Nejúčinnějším kmenem na redukcii testovaných jedinců mandelinky bramborové se podle dat jevil kmen Met II, který testované jedince dokázal usmrtit v průběhu osmého dne od aplikace suspenze. Naopak jako nejdéle působící kmeny, s nejnižší účinností na testované jedince, byly stanoveny kmeny Bba II, Bba III a Bba IV, které dokázaly usmrtit testované jedince až v průběhu čtrnáctého dne. Kmeny Bba I, Met III, Met I, Met IV, Isf a Met V usmrtily testované jedince mezi desátým a dvanáctým dnem.

Dalším důležitým faktorem bylo sledování výskytu mykóz na testovaných jedincích.

Graf 5 – Porovnání časového úseku (v dnech) vnějšího projevu mykózy u mandelinky bramborové po aplikaci suspenzí entomopatogenních hub.



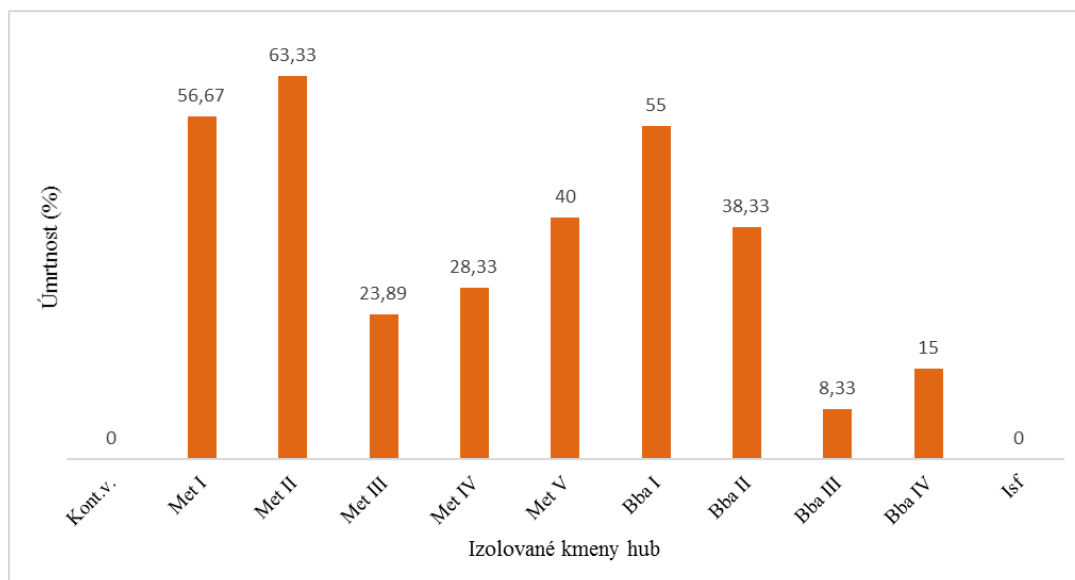
V grafu 5 je patrné, že kontrolní varianta nevykazovala projev cílené mykotické aktivity v podobě růstu mycelia, a tedy nebyla kontaminována. U všech ošetřených kmenů, kromě kmene Isf, se prokázal výskyt mykózy, a to celkem v rozpětí od desátého do šestnáctého dne. Nejrychlejší růst mycelia byl zaznamenán u kmene Bba III, a to desátý den od aplikace suspenze. U kmenů Met II, Met III, Met IV byl vnější projev mycelia pozorován v průběhu dvanáctého dne, u kmenů Bba I, Met V a Bba IV v průběhu třináctého dne. U kmene Met I byl pozorován růst vnějšího mycelia na počátku čtrnáctého dne. Nejpomalejší pozorovatelný růst mycelia byl zaznamenán u kmene Bba II, a to na šestnáctý den od aplikace suspenze. U kmene Isf nebyl zaznamenán žádný projev růstu mycelia.



Obr. č. 18: Mandelinka bramborová usmrčená houbou *Beauveria bassiana* (zvětšeno 15x).

Posledním důležitým faktorem sledování bylo srovnání účinností použitých izolovaných kmenů hub, který je znázorněn v grafu 6.

Graf 6 – Srovnání (procentuální) účinnosti izolovaných kmenů hub.

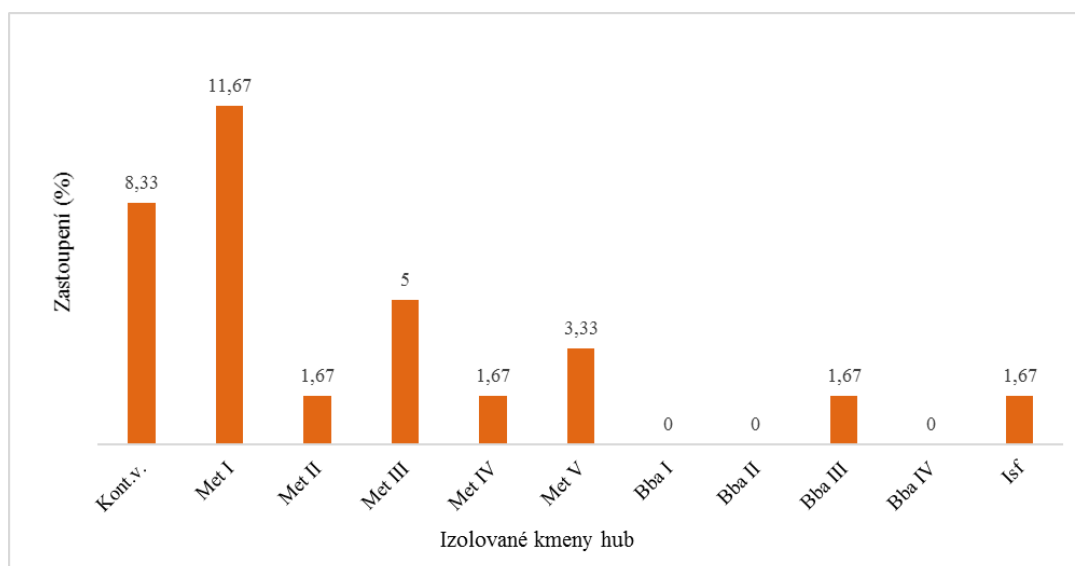


Z grafu je zřejmé, že pouze tři kmeny izolovaných hub vykazovaly účinnost vyšší než 50 %. Ostatní kmeny způsobovaly úmrtnost mandelinky bramborové nižší než 40 %. Nejvyšší mortalita mandelinky byla prokázána u kmenu Met II, s celkovou mortalitou 63,33 %. U kmene Met I byla zaznamenána 56,67% mortalita testovaných jedinců a u kmene Bba I 55% mortalita. Nejnižší mortalitu způsobovaly kmeny Bba IV, celkem

15 %, a Bba III, celkem 8,33 % úmrtnost testovaných jedinců. U kmene Isf nebyla prokázána spojitost mezi úmrtím testovaných jedinců a aplikovanou suspenzí.

Vzhledem ke skutečnosti, že u testovaných jedinců mandelinky bramborové došlo v průběhu pozorování k zaznamenání rozvoje přirozeně introdukovaných entomopatogenních kmenů hub druhu *B. bassiana*, byl tento projev vztažen ke každému testovanému kmenu. Graf 7 poukazuje na procentuální zastoupení přirozeně infikovaných jedinců mandelinky bramborové v pokusech. Tyto data nejsou součástí grafu procentuální úmrtnosti/účinnosti izolovaných kmenů (Graf 6).

Graf 7 – Zastoupení (procentuální) přirozeně vyskytujících se kmenů druhu *Beauveria bassiana* v testovaných jedincích.

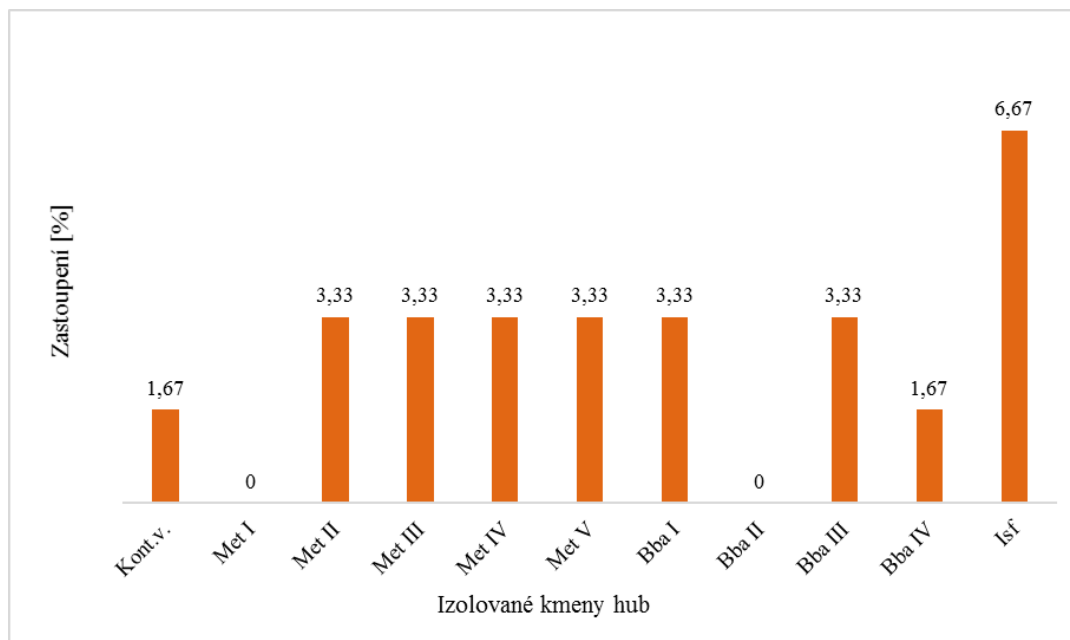


Z grafu 7 je patrné, že všichni jedinci jsou náchylní na projev přirozené infekce *B. bassiana* a kontrolní varianta může být též přirozeně infikována. V kontrolní variantě se přirozená introdukce *B. bassiana* projevila v 8,33 % případů testované populace. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána u druhu Met I, a to v 11,67 % sledovaných případů. U kmene Met III bylo stanoveno 5 % a u kmene Met V 3,33 % přirozeně introdukované *B. bassiana*. Kmeny – Bba III, Met IV, Isf, Met II vykazovaly stejné procentuální zastoupení introdukovaných hub, a to 1,67 % sledovaných populací. U kmenů Bba IV, Bba II a Bba I nebyla potvrzena přirozená infekce houbami druhu *B. bassiana*.

Přirozeně introdukované hlístice z čeledi *Mermithidae* byly podobně jako přirozeně introdukované houby vyhodnoceny pro každou variantu testovaných jedinců

mandelinky bramborové. Graf 8 vizualizuje jejich procentuální zastoupení v rámci testovaných jedinců.

Graf 8 – Zastoupení (procentuální) přirozeně vyskytujících se druhů čeledi *Mermithidae* v testovaných jedincích.



Náš experiment ukazuje na grafu 8, že přirozená infekce může být u všech sesbíraných jedinců stejně pravděpodobná. Celkový výskyt strunic se u sledovaných izolovaných kmenů pohyboval mezi 0-6,67 %. Z grafu je zřejmé, že jedinci zahrnutí do kontrolní varianty mohou být též přirozeně infikováni strunicemi, a to v našem případě představovalo 1,67 % sledovaných jedinců. Stejně hladiny výskytu strunic dosáhli i jedinci testovaného kmenu Bba IV. U kmenů Met I a Bba II nebyla zjištěna přirozená infekce strunicemi. Pět kmenů – Bba III, Met IV, Met III, Met II, Met V a Bba I vykazovalo promořenost 3,33 % v rámci své sledované populace. Nejvíce přirozeně introdukovaných strunic bylo stanoveno u kmene Isf a to v 6,67 % případů sledované populace. Při celkovém zhodnocení zkoumaných variant lze říct, že testovaní jedinci mandelinky byli v roce 2020 promořeni přibližně v 2,73 % případů.

## 5 Diskuse

V současné době je primárním cílem zemědělství snaha o využití takových metod, které by negativně neovlivňovaly zdraví lidí nebo chod ekosystémů. Dlouhodobě byly v oblibě chemické přípravky, jejichž rychlost účinku a snadná aplikace usnadnila produkci a zvýšila finanční a materiální zisk. Ačkoliv byl chemismus do zemědělství zaveden s poměrně otevřeným přístupem, problémy spojené s aplikací a využíváním, byly odsunuty do pozadí. Jejich kumulativní (a především negativní) dopad vedl k hledání alternativních způsobů ochrany rostlin (Charvát, 2013).

Jedním z možných způsobů ochrany je integrovaná ochrana rostlin, jejíž význam spočívá především ve využití série promyšlených biotechnologických opatření, které minimalizují negativní faktory spojené s prvovýrobou. Důraz je kladen na přírodní podmínky, vlastnosti pěstovaných odrůd, technologické postupy a informovanost prvovýrobců. Skutečnost, že již od 1. ledna 2014 je povinný systém integrované ochrany rostlin pro všechny, kteří chtějí využívat pesticidy jako ochranu pro pěstované plodiny, napomáhá snížit škodlivé dopady syntetických látek, a naopak začlenit přirozeně biologickou cestu do pěstování rostlin.

Biotechnologické metody, které se zaměřují na šetrnou redukci škůdců plodin, mají v současné době velmi významné postavení. Cíleně využitý potravní řetězec je poměrně šikovným nástrojem pro udržení živých organismů pod prahem jejich ekonomické škodlivosti nebo ztrátách na úrodě (Kuthan a Trubská, 2017). Je však nutné vzít v potaz, zda introdukované organismy (nebo jejich metabolity), nezpůsobí nepříznivý řetězový efekt, a to především u necílových organismů.

Celkově lze přistupovat k řešení biologické redukce škůdců hned několika způsoby. Nejlépe chápaným přístupem je klasická metoda, která využívá přirozených nepřátel škůdce bez ohledu na další vliv ke zkoumanému prostředí. Předpokladem je vyčerpání potravy pro využitý organismus na konkrétním místě a jeho samostatný přesun na lokalitu novou. Tento přístup je však nutno brát s rezervou, neboť je zde možnost změny cílové kořisti a nezáměrného vyhubení populace jiné. Proto je nutné využívat organismus jen do takové míry, aby se sám nestal škůdcem (Johnson, 2000). Komplexněji založeným přístupem je augmentativní metoda, která podporuje masovou aplikaci bioagens, vedoucí ke zvýšení početnosti využívaných populací. Součástí augmentativní metody je i podpora účinnosti přirozených nepřátel, včetně použití nepůvodních druhů, které by v kontrolovaných podmínkách regulovaly



škodlivé organismy. Právě kvůli kontrolovaným podmínkám by bylo možné využít tuto metodu například v chráněných oblastech (Landa, 2002).

Pro ověření, v jaké míře a s jakou účinností mohou být využitelné bioagens proti žravým škůdcům, byly izolovány a použity kmeny autochtonních entomopatogenních hlístic a hub. Jako vhodný hostitel byl zvolen jeden z nejvíce žravých škůdců brambor, mandelinka bramborová (*L. decemlineata*). Do experimentů byla začleněna imaga, z důvodu větší přizpůsobivosti vůči exponovaným látkám, snazší manipulaci v průběhu pokusů a lepšího rozeznání vnějšího projevu působení patogenních organismů. Dalším důležitým faktorem byl původ z oblasti ekologicky pěstovaných brambor, především kvůli biotopově přizpůsobenému mechanismu obranyschopnosti mandelinky.

Experimenty prokázaly, že míra invaze a patogenita hlístic jsou v úzké korelaci, nicméně tyto proměnné nejsou na sobě závislé. Nejvíce invazivním se projevil druh *O. onirici*. Lze předpokládat, že vzhledem k jedinečnému nálezu tohoto druhu v České republice, není u mandelinky vyvinutý mechanismus na aktivní vylučování těchto hlístic. Ve studiích je prozatím navrženo použití druhu *O. onirici* k hubení octomilky *Drosophila suzukii* (Foye a Steffan, 2020) nebo pro ochranu lesního ovoce před larvami druhu *Sparganothis sulfureana* (Foye a Steffan, 2017; 2019). Další experimenty s tímto druhem budou realizovány v klimatických podmínkách České republiky pro ověření možného přínosu pro ekosystém a případnou využitelnost jako bioagens. Dalšími, nejvíce invazivními, se v celkovém měřítku jeví postupně hlístice druhu *S. kraussei*, *S. feltiae*, a *S. affine*. v použité koncentraci 1000 IJs. Výsledky studie (Hussein *et al.*, 2018) uvádějí druh *S. feltiae* jako poměrně dobrý tuzemský druh pro případnou redukci životních stádií mandelinky, a to s kumulativní mortalitou 85,2 % sledované populace larev posledního instaru. Důvodem masivní invaze hlístic byla především druhová kompetice o potravní zdroj. S nižšími koncentracemi se imunitní odpověď mandelinky zřejmě dokázala vypořádat.

Jak již bylo řečeno, patogenita neodpovídala míře invaze. Při týdenním pozorování experimenty prokázaly, že patogenita bakterií v hlísticích nejvíce postihovala mandelinku v průběhu prvního až čtvrtého dne od aplikace suspenze. Mandelinka vykazovala vnější projev patogenity malátným chováním, častou defekací a sníženým žírem listů. Nejvíce patogenním se pro mandelinku stal paradoxně druh *S. affine* kmene 4 v koncentraci 250 IJs, přestože jeho míra invaze byla v přepočtu pouhých 0,8 hlístice na testovaného jedince. Data jasně prokázala, že na úmrtí

testovaných jedinců mandelinky bramborové se významně podílely nejen hlístice izolovaného kmene, ale též i nativně introdukované strunice z čeledi *Mermithidae*. Při srovnání celkové mortality testovaných jedinců dosáhl kmen 4 mortality u testovaných jedinců 40 %. Ve srovnání s kmenem hlístic A8, který dosáhl stejné celkové mortality, měl však o dva výskyty strunic méně. Tyto dva kmény byly jediné, u kterých byl výskyt strunic zaznamenán. Obecně se předpokládá, že vztah mezi hlísticemi a strunicemi je kompetitivní, proto je možné vyslovit hypotézu, že po aplikaci hlístic nebylo již možné pokrýt výživovou potřebu strunice, a ta opustila tělo před smrtí hostitele. Nejvíce patogenním kmenem se jevil kmen *Jakub*, který při všech aplikovaných koncentracích dosáhl průměrné mortality 46,67 %. Nejméně patogenním se jevily kmény A2 a I, které nepřekročily hranici mortality 10 %. V následující sezóně bude kultivace hlístic obnovena pro ověření výsledků.

Entomopatogenní houby mají obecně jinou životní strategii, princip pronikání do těla a využívání zásobních látek hostitele. Přirozeně druh *B. bassiana* osidluje zažívací trakt mandelinky bramborové. Obecně je vztah této nativně introdukované houby a mandelinky spíše ve prospěch hub, neboť k vnějšímu projevu a usmrcení hostitele stačí vhodná kombinace teploty a vlhkosti. Martin *et al.* (1999) se domnívají, že k úspěšnému vývoji houby by se měla teplota pohybovat do 37°C. Je zajímavé, že kmény hub stejného druhu potlačily, až na kmen Bba III, rozvoj této houby, zatímco u ostatních druhů se nativní *B. bassiana* projevila růstem povrchového mycelia. Průměrně se nativně introdukovaná *B. bassiana* projevila u 3,18 % testované populace mandelinky.

Námi experimentálně introdukované houby dokázaly usmrtit hostitele nejčastěji v rozmezí desátého až dvanáctého dne od data aplikace. Studie (Dubovskiy *et al.*, 2010) říká, že jimi izolovaný kmen *M. anisopliae* potřebuje ke kumulativnímu usmrcení 80 % sledované populace IV. larválního instaru minimálně 15 dní. Další studie (Kryukov *et al.*, 2017) říká, že druh *M. robertsii* je schopen kumulativní mortality 80 % dosáhnout na stejném instaru již jedenáctý den. Vnější projev mykózy se v naší studii pohyboval v rozpětí od desátého do průběhu šestnáctého dne, přičemž nejvíce patogenním se jevil kmen Met II, který s účinností 63,33 % dokázal usmrtit testované jedince již v průběhu osmého dne. Akbarian *et al.* (2012) tvrdí, že v laboratorních podmínkách v koncentraci  $1 \times 10^7$  konidií vykazují mortalitu do 5 % na druhý i čtvrtý larvální instar jimi izolované kmény rodu *Metarhizium*. V téže studii bylo zjištěno, že v porovnání účinku hub kmenů rodu *Beauveria* s kmeny rodu

*Metarhizium*, vykazují vyšší mortalitu sledované populace mandelínek právě kmeny rodu *Beauveria*, a to s 16-20 % mortalitou při stejné koncentraci. Pouze při využití vyšších koncentrací (v řádech  $10^8$ – $10^9$ ) bylo dosaženo mortality nad 40 %. Námi izolované dva kmeny hub Bba I a Met I se projevíly s účinností nad 50 % a to 55 % pro Bba I a 56,67 % pro Met I. Účinnost ostatních kmenů se pohybovala od 8,33 % do 40 %. Mnohé další studie (Kryukov *et al.*, 2009; Wran a Lockwood, 1991; Cantwell *et al.*, 1986) poukazují na využití druhu *B. bassiana* především na nejvíce odolná stádia larválních instarů, kukel anebo dospělců. Wraight a Ramos (2002, 2015) potvrzují, že použití druhu *B. bassiana* v polních podmínkách je též vhodné na redukci nižších larválních stádií i první generace dospělců, a to celkově s mortalitou 53-84 % sledovaných dospělců. Lze předpokládat, že rozdílné podmínky našeho experimentů vůči studiím autorů Wraight a Ramos (2002, 2015), mají nezanedbatelný vliv na rozvoj houbové infekce. Použití koncentrace  $1 \times 10^{10}$  v množství 75 g suspenze na  $1 \text{ m}^2$  blastospor anebo konidií druhu *B. bassiana* má za následek vylétnutí průměrně 35 % dospělců první generace (Cantwell *et al.*, 1986). Stejným tématem se zabývali i autoři Watt a LeBrun (1984), kteří zjistili, že při využití koncentrace  $2 \times 10^{10}$ - $3 \times 10^{10}$  konidií došlo k redukci 74 % kukel první generace a 77 % kukel druhé generace. Campbell *et al.* (1985) podotýkají, že v návaznosti na redukci počtu životních stádií mandelinky při využití *B. bassiana* je okus listové plochy nižší o více než 44 %. Klinger *et al.* (2006) ve svém experimentu naznačují, že vyšší larvální instary a dospělci jsou vůči napadeným nebo mrtvým jedincům nedbalí a aktivně se jim nevyhýbají. Tento aspekt by mohl být důvodem, proč se v polních podmínkách projevuje mortalita populace v mnohem vyšších číslech než v laboratorních experimentech na samostatných jedincích.

Zajímavá je taktéž práce týkající se druhu *I. fumorosa*, kde podle Hussein *et al.* (2018) mortalita posledního larválního stádia mandelinky dosahovala při použití koncentrace  $5 \times 10^7$  konidií 92,2 %. V našem experimentu se nepodařilo prokázat na dospělcích podobně vysokou mortalitu. Důvodem byla nižší použitá koncentrace konidií a vliv přirozeně vyskytujících se strunic, které vyčerpaly energetické zásoby pro výživu mycelia. Nejvyšší výskyt strunic byl zaznamenán u kmene Isf, kde jejich početnost dosahovala 6,67 % testované populace. U ostatních kmenů hub se pohyboval výskyt nativně introdukovaných strunic nejčastěji okolo 3 %. Pouze u kmene Met I a Bba II nebyly zaznamenány žádné výskyty těchto živočichů. Sledovaná

populace mandelínek v pokusech s entomopatogenními houbami čítala celkovou promořenost strunicemi 2,5 %.

## 6 Závěr

Z předložené bakalářské práce na téma „Využití biologických prostředků na ochranu brambor vůči mandelince bramborové“ vyplývají tyto závěry:

- Mandelinka bramborová je velmi přizpůsobivý živočich vůči všem typům xenobiotických látek a je schopna vytvářet rezistenci.
- Nejvíce vnímavá jsou ke xenobiotikům vajíčka a larvy I. a II. instaru.
- Integrovaná ochrana rostlin doporučuje střídání plodin, výsadbu odrůd brambor se zvýšeným obsahem solaninu, chaconinu a kyseliny jasmonové nebo odrůd s vyšší četností trichomů na listech k odpuzení mandelínek.
- Kromě chemických přípravků jsou k dostání na českém trhu i biologické přípravky s platnou legislativou.
- V současné době se biologická ochrana, využívající bioagens, opírá o využití entomopatogenních hlístic a hub vůči hmyzím škůdcům.
- Nejvíce invazivním kmenem hlístic byl testovaný kmen *Ib* (*O. onirici*), který při koncentraci 1000 IJs vykazoval průměrně 230 IJs, vztažených na jednoho testovaného jedince mandelinky bramborové. Naopak nejméně invazivními byly stanoveny kmene *I* (*S. kraussei*) a *A14* (*S. affine*) s nulovou invazí, a to při všech zkoumaných koncentracích.
- Nejvíce patogenním kmenem hlístic se jevil kmen *A14* (*S. affine*) při použité koncentraci 250 IJs, vyvolávající smrt u 70 % testovaných jedinců. V rámci celého kmene se jevil nejvíce patogenním kmen *Jakub*, který při koncentracích 1000 IJs, 500 IJs a 250 IJs vykazoval patogenitu 40 %, 50 % a 50 %. Naopak nejméně patogenním kmenem se jevil kmen *I* (*S. kraussei*) s celkovou patogenitou 10 % při koncentraci 500 IJs.
- Největší mortalita mandelinky bramborové, způsobená kmeny hlístic, byla zaznamenána u kmene *Jakub* (46,67 % testovaných jedinců). Nejnižší byla zaznamenána u kmene *I* (3,33 % testovaných jedinců).
- Výskyt přirozeně introdukovaných hlístic z čeledi *Mermithidae* se projevil při testování kmenů hlístic *A8* a *4* celkem u 30 % jedinců a při testování izolovaných kmenů hub u všech testovaných variant u 2,5 % testovaných jedinců, vyjma kmene *Met I* a *Bba II* s nulovým zastoupením těchto hlístic.

- Mandelinka bramborová vydrží bez potravy i více než 28 dní, průměrná mortalita bez přístupu k potravě nastává v průběhu šestnáctého dne. Entomopatogenní houby snižují dobu přežití bez potravy až na polovinu, tj. na osmý den od expozice.
- Nejúčinnějším testovaným kmenem hub byl kmen Met II, který usmrtil testované jedince již v průběhu osmého dne od aplikace suspenze. Mezi kmeny s nejnižší účinností patřily kmeny Bba II, Bba III a Bba IV, u kterých mortalita sledovaných jedinců mandelinky byla zaznamenána až v průběhu čtrnáctého dne od aplikace suspenze.
- Výskyt mykózy byl průměrně zaznamenán třináctý den od aplikace suspenze. Kmen Bba III byl vyhodnocen jako kmen s nejrychleji rostoucím myceliem, které bylo patrné již desátý den od aplikace suspenze. Kmen Bba II patřil mezi kmeny s nejpomaleji se rozvíjejícím myceliem, které bylo patrné až v průběhu šestnáctého dne. Kmen Isf nevytvořil žádné patrné mycelium.
- Průměrná účinnost všech izolovaných kmenů hub dosáhla hodnoty 30 %. Nejvyšší účinnost byla zaznamenána při aplikaci kmene Met II s celkovou mortalitou 63,33 % testovaných jedinců. Nejnižší účinnost byla zaznamenána u kmene Isf, s 0 % mortalitou testovaných jedinců.
- Průměrný výskyt přirozeně introdukovaných hub byl stanoven u 3,18 % testovaných jedinců s vnějším projevem v průběhu sedmého dne.

## 7 Seznam literárních a internetových zdrojů

### 7.1 Literární zdroje

Akbarian, J. *et al.* (2012). Pathogenicity of some isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin on 2nd and 4th larval instars, of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col.:Chrysomelidae), under laboratory conditions. *African Journal of Microbiology Research* 6(34), p. 6407-6413, doi: 10.5897/AJMR12.1112.

Akhurst, R.J. a Bedding, R.A. (1986). Natural occurrence of insect pathogenic nematodes (*Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) in soil in Australia. *Australian Journal of Entomology*, 25(3), p.241-244.

Alkan, M. *et al.* (2017). Contact toxicity of six plant extracts to different larval stages of Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* SAY (Col: Chrysomelidae)). *Journal of Agricultural Sciences*, 23(3), pp.309-316.

Alvarez, J.M. *et al.* (2013). Occurrence of the carabid beetle, *Pterostichus melanarius* (Illiger), in potato ecosystems of Idaho and its predatory potential on the Colorado potato beetle and aphids. *American journal of potato research*, 90(1), pp.83-92.

Baker, G.L. a Capinera, J.L. (1997). Nematodes and nematomorphs as control agents of grasshoppers and locusts. *The Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 129 (S171), p.157-211.

Bessin, R. (2003). Colorado potato beetle management, University of Kentucky Entomology, dostupné online [<https://entomology.ca.uky.edu/ef312>]

Bland, R.G. (1976). Effect of parasites and food plants on the stability of a population of *Melanoplus femurrubrum*. *Environmental Entomology* 5: p. 724–728.

Bode, H. B. (2009). Entomopathogenic bacteria as a source of secondary metabolites. *Current opinion in chemical biology*, 13(2), p.224-230.  
dostupné online [<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.037>]

Bohatá, A. (2005). *Využití entomopatogenních a mykoparazitických hub v ochraně sazenic rychlé zeleniny a okrasných květin*. Disertační práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta.

Butt, T.M. a Goettel, M.S. (2000). Bioassays of entomopathogenous fungi. In: Navon, A. a Ascher, K.R.S. (Eds), *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. CAB International, Wallingford, UK, p.95-140. ISBN 0-85199-422-9.

Campbell, R.K. *et al.* (1985). Management of the Colorado potato beetle using the entomogenous fungus *Beauveria bassiana*. *American Potato Journal* 62, p.29–37. dostupné online na: [<https://doi.org/10.1007/BF02871297>]

Cantwell, G.E. *et al.* (1986). Effect of *Beauveria bassiana* on underground stages of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *The Great Lakes Entomologist*, 19(2), p.6.

Ciche, T.A. *et al.* (2008). Cell invasion and matricide during *Photorhabdus luminescens* transmission by *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes. *Applied and environmental microbiology*, 74(8), p.2275-2287.

Clements, J. *et al.* (2019). Changes in emergence phenology, fatty acid composition, and xenobiotic-metabolizing enzyme expression is associated with increased insecticide resistance in the Colorado potato beetle. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 103(3). dostupné online: [<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/arch.21630>].

DeBach, P. a Rosen, D. (1991). *Biological control by natural enemies* 2nd ed., Cambridge: Cambridge University Press.

Diviš, J. *et al.* (2010). *Pěstování rostlin*, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, ISBN 978-80-7394-216-8

Doležal, P. a Hausvater, E. (2020). Ochrana brambor proti mandelince bramborové Vyd. 5., aktualiz., Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod.

Driver, F. *et al.* (2000). A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. *Mycological Research*, 104, p.134-150.

Dubovskiy, I. *et al.*, (2010). Activity of the detoxificative enzyme system and encapsulation rate in Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say) larvae under organophosphorus insecticide treatment nad entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) infection. *Euroasian Entomological Journal* 9 (4): p. 577-582.

Ehlers, R.U. (Ed.), (2011). Regulation of biological control agents, Dordrecht: Springer

Fargues, J. *et al.* (1997). Inactivation of conidia of *Paecilomyces fumosoroseus* by near-ultraviolet (UVB and UVA) and visible radiation. *Journal of Invertebrate Pathology*, 69: p. 70-78.

Favell, G. *et al.* (2020). The ABCB multidrug resistance proteins do not contribute to Ivermectin detoxification in the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Insects*, 11(2). dostupné online: [<https://www.mdpi.com/2075-4450/11/2/135>].

Foye, S. a Steffan, S. (2019). Two native Wisconsin nematodes represent virulent biocontrol agents in cranberries. *Biological Control*, 138, p.104042, dostupné online na: [<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104042>].

Foye, S. a Steffan, S. (2020). A rare, recently discovered nematode, *Oscheius onirici* (Rhabditida: Rhabditidae), kills *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) within fruit. *Journal of economic entomology*, 113(2), p.1047-1051, dostupné online na: [<https://doi.org/10.1093/jee/toz365>].



Griffin, C. *et al.* (2005). Biology and behaviour. In: Grewal, P.S., Ehlers, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds). *Nematodes as biocontrol agents*. CABI Publishing, US, p. 47 – 64.

Groden, E. a Lockwood, J.L. (1991). Effects of soil fungistasis on *Beauveria bassiana* and its relationship to disease incidence in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, in Michigan and Rhode Island soils. *Journal of Invertebrate Pathology*, 57(1), p.7-16.

Hall, R.A. (1976). A bioassay of the pathogenicity of *Verticillium lecanii* on the aphod, *Macrosiphoniella sanborni*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 27: p. 41-48.

Hallem, E.A. *et al.*, (2011). A sensory code for host seeking in parasitic nematodes. *Current Biology*, 21(5), p. 377-383.

Hausvater, E. a Doležal, P. (2013). Ochrana brambor proti mandelince bramborové Vyd. 5., aktualiz., Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský.

Hausvater, E. a Doležal, P. (2014). Metodika integrované ochrany brambor proti mandelince bramborové (*Leptinotarsa decemlineata*), Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský.

Huseth A. S. *et al.* (2014). Managing Colorado Potato Beetle insecticide resistance: New tools and strategies for the next decade of pest control in potato, *Journal of Integrated Pest Management*, 5(4), p. A1–A8, dostupné online: [https://doi.org/10.1603/IPM14009]

Hussein, H.M. *et al.* (2016). Laboratory evaluation of *Isaria fumosorosea* CCM 8367 and *Steinernema feltiae* Ustinov against immature stages of the Colorado Potato Beetle. *PLOS ONE*, 11(3) dostupné online: [https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0152399].

Christie, J.R. (1937). *Mermis subnigrescens*, a nematode parasite of grasshoppers. *Journal of Agricultural Research* 55: p. 353–364.

Chung, S.H. *et al.* (2013). Herbivore exploits orally secreted bacteria to suppress plant defenses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(39), p. 15728-15733.

Ibragimov, R.I. *et al.*, (2015). Inhibitors of proteinases and necrotic reactions in the potato leaves reduce the reproductive potential of the Colorado potato beetle. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6(6), p.703-708.

Inglis, G.D. *et al.* (2001). Use of hyphomycetes fungi for managing insect pests. In: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. (Eds.). *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*. CAB International. Wallingford, UK, p. 23-69.

Izzo, V.M. *et al.* (2018). Origin of pest lineages of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 111(2), p.868-878.  
dostupné online:

[<https://academic.oup.com/jee/article/111/2/868/4818462>]

Johnson M. W. (2000). Biological Control of Pests. – ENTO 675. University of Hawaii, Manoa, p. 1–5.

Khelifi, M. *et al.*, (2015). Field trials of a mechanical prototype designed to release insect predators to control the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Transactions of the ASABE*, 58(3), p.577-584.

Klinger, E. *et al.* (2006). *Beauveria bassiana* horizontal infection between cadavers and adults of the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), *Environmental Entomology* 35 (4), p. 992–1000, dostupné na: [<https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.4.992>]

Kocourek, F. a Stará, J. (2014). Antirezistentní strategie jako součást integrované ochrany rostlin proti škůdcům, *Agromanual* 4, p. 78-81

Kocourek, F. a Stará, J. (2018). Rostoucí rezistence mandelinky bramborové vůči insekticidům v ČR. *Agromanual*, 2018. dostupné online:

[<https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/rostouci-rezistence-mandelinky-bramborove-vuci-insekticidum-v-cr>]

Koppenhöfer, A.M. a Fuzy, E.M. (2007). Soil moisture effects on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *S. glaseri*, *Heterorhabditis zelandice*, and *H. bacteriophora*. *Applied Soil Ecology*, 35, p.128-139.

Kryukov, V. *et al.* (2009). Synergistic action of entomopathogenic hyphomycetes and the bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* in the infection of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Biochemistry and microbiology*, 45(5): p. 511-516.

Kryukov, V. *et al.*, (2017). Ecological preferences of *Metarhizium spp.* from Russia and neighboring territories and their activity against Colorado potato beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 149, p.1-7.

Kuthan, A. a Trubská, J. (2017). Biopesticidy u nás a ve světě. *Agromanual*. dostupný online:

[<https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/biopesticidy-u-nas-a-ve-svete>]

Landa, Z. (2002). Biologická ochrana zahradních rostlin proti chorobám a škůdcům v polních podmínkách, ve sklenících a fóliovnících. In: Demo, M., Hričovský, I. (Eds.) *Trvalo udržatelné technológie v záhradníctve*. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, p. 225-280.

Landa, Z. (1994). *Entomopatogenní houby v biologické ochraně rostlin*. Habilitační práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, p. 14-50.

Landa, Z. *et al.* (2008). Záměrné využívání autochtonních kmenů vybraných druhů entomopatogenních hub. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 47 p.

Martin, P. A. W., *et al.* (1999). Vliv vysokých teplot na citlivost mandelinky bramborové (Coleoptera: Chrysomelidae) k *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin v Polsku, České republice a v USA. Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 13, p. 69–77.

Miles, C. *et al.* (2012). Using entomopathogenic nematodes for crop insect pest control. *Pacific NorthWest Extension*, 544, p.1-9.

Mráček, Z. a Bečvář, S. (2000). Insect aggregations and entomopathogenic nematode occurrence. *Nematology*, 2, p.297-301.

Mráček, Z. *et al.* (2005). Habitat preference for entomopathogenic nematodes, their insect hosts and new faunistic records for the Czech Republic. *Biological Control*, 34(1), p.27-37.

Muška F. (2008). Mandelinka bramborová – stálá hrozba pro porosty brambor, *Úroda* č.5, s. 62–64, ISSN 0139-6013.

Nermuť, J. *et al.* (2012). Entomopatogenní a moluskoparazitické hlístice – neviditelní půdní zabijáci. *Živa I*, p. 10-13.

Nicoletti, R. a Becchimanzi, A. (2020). Endophytism of *Lecanicillium* and *Akanthomyces*. *Agriculture*, 10(6), p.205, dostupné online: [<https://doi.org/10.3390/agriculture10060205>].

Pavela, R. (2011). Botanické pesticidy, České Budějovice: Kurent. ISBN 978-80-8711-126-0.

Platzer, E.G. (1981). Biological control of mosquitoes with mermithids. *Journal of nematology*, 13(3), p.257.

Platzer, E.G. *et al.* (2005). Mermithid nematodes. In: Grewal, P.S., Ehlers, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.) *Nematodes as biocontrol agents*. CABI Publishing, US, p.411-418.

Poinar, G. O. (1990). Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler, R a Kaya, H.K. *Entomopathogenic nematodes in biological control*, CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 23-61.

Poinar, G. (2001). *Heydenius brownii* sp. n. (Nematoda: Mermithidae) parasitising a planthopper (Homoptera: Achilidae) in Baltic amber. *Nematology*, 3(8), p.753-757.

Půža, V. a Mráček, Z. (2007). Natural population dynamics of entomopathogenic nematode *Steinernema affine* (Steinernematidae) under dry conditions: Possible nematode perzistence within host cadavers?, *Journal of invertebrae Pathology* 96, p.89-92

Půža, V. and Nermuť, J. (2015). Entomopathogenic nematodes in the Czech Republic: diversity, occurrence and habitat preferences. In: Campos-Herrera, R. (Ed.) *Nematode pathogenesis of insects and other pests*. Springer, Cham. p. 421-429.

Saroukolai, A.T. *et al.* (2014). Antifeedant activity and toxicity of some plant essential oils to Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *Plant Protection Science*, 50(4), p.207-216.

Stock, S.P. a Hunt, D.J. (2005). Morphology and systematice of nematodes used in biocontrol. In: Grewal, P.S., Ehlers, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.) *Nematodes as biocontrol agents*. CABI Publishing, US, p. 3-43

Stock, S.P. a Goodrich-Blair, H. (2012). Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance. In: Lacey, L.A. (Ed.) *Manual of techniques in invertebrate pathology*, Academic Press, 2.

Stock, S.P. (2015). Diversity, biology and evolutionary relationships. In: Campos-Herrera, R., (Ed.) *Nematode pathogenesis of insects and other pests*, Springer, International Publishing, Switzerland, p.3-27.

Tai, H.H., *et al.* (2014). Comparative metabolite profiling of *Solanum tuberosum* against six wild *Solanum* species with Colorado potato beetle resistance. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(36), p.9043-9055.

Torrini, G. *et al.* (2015). *Oscheius onirici* sp. n. (Nematoda: Rhabditidae): a new entomopathogenic nematode from an Italian cave. *Zootaxa*, 3937(3), p.533-548, dostupné online: [10.11646/zootaxa.3937.3.6]

Van Driesche R.G. a Bellows T.S. (1996). Pest Origins, Pesticides, and the History of Biological Control. In: *Biological Control*. Springer, Boston, MA.

Vokál, B. *et al.* (2013). Brambory: šlechtění, pěstování, užití, ekonomika, Praha: Profi Press, ISBN 978-80-86726-54-0

Watt, B.A. a Lebrun, R.A. (1984). Soil effects of *Beauveria bassiana* on pupal populations of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental entomology*, 13(1), p.15-18.

Weiser, J. (1966). Houbová onemocnění hmyzu. In: Weiser, J. (Ed.) *Nemoci hmyzu*. Academia, Praha, p. 286-290.

Wilson, M.J. a Grewal, P.S. (2005). Biology, production and formulation of slug-parasitic nematodes. In: Grewal, P.S., Ehlers R.-U., Shapiro-Ilan, D.I., (Eds.). *Nematodes as biocontrol agents*, Wallingford, CAB International, p. 421-499.

Wraight S.P. a Ramos M.E. (2002). Application parameters affecting field efficacy of *Beauveria bassiana* foliar treatments against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Biological control*, 23(2), p.164-178.

Wraight S.P. a Ramos M.E. (2015). Delayed efficacy of *Beauveria bassiana* foliar spray applications against Colorado potato beetle: Impacts of number and timing of applications on larval and next-generation adult populations. *Biological control*, 83: p. 51-67.

Zare, R. a Gams, W. (2001). A revision of *Verticillium* section prostrata. *IV*. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* *gen. nov.* *Nova Hedwigia*, 73, p.1-50.

Zhang, J. *et al.* (2015). Full crop protection from an insect pest by expression of long double-stranded RNAs in plastids. *Science*, 347(6225), p.991-994.

Zimmermann, G. (1986). The 'Galleria bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal of applied Entomology*, 102(1-5), p.213-215.

Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, p.553-596.

## 7.2 Internetové zdroje

Foye, S. a Steffan, S. (2017). Native nematodes as new bio-insecticides for cranberries. *North American Cranberry Researcher and Extension Workers Conference*. 13. dostupné na: [<https://scholarworks.umass.edu/nacrew/2017/papers/13>] (citováno 27.3.2021)

Hausvater, E. *et al.* (2018). Účinnost insekticidů proti mandelince bramborové v polních pokusech v roce 2018, (citováno: 15.3.2021) dostupné na: [<https://www.vubhb.cz/cs/knihovna/informacni-letaky-a-panely/ucinnost-insekticidu-proti-mandelince-bramborove-v-polnich-pokusech-v-roce-2018>]

Charvát, J. (2013). Evropa chce mít potraviny bez pesticidů, (citováno: 28.3.2021) dostupné na: [[https://ceskapozice.lidovky.cz/tema/evropa-chce-mit-potraviny-bez-pesticidu.A130730\\_082038\\_pozice\\_134654](https://ceskapozice.lidovky.cz/tema/evropa-chce-mit-potraviny-bez-pesticidu.A130730_082038_pozice_134654)]



## 8 Přílohy

Tab.1 – Složení Haydakovy živné půdy pro larvy *Gallonella mellonela*.

Složky směsi	Množství (g)
Kukuřičný šrot	660
Pšeničná mouka	330
Pšeničný šrot	330
Sušené mléko	330
Sušené kvasnice	165
Včelí med	330
Glycerin	330
Včelí vosk	525

Poznámka: Na vodní lázni byly všechny složky (vyjma glycerinu) smíchány a prohněteny při teplotě 60°C. Na závěr byl přidán glycerin, směs slita do prázdné skleněné láhve a ponechána k vychladnutí.

Tab.2 – Odběrová data k entomopatogenním hlísticím.

Označení	Druh	Lokalita	Datum odběru	Biotop	GPS souřadnice
<i>1</i>	<i>Steinernema kraussei</i>	Dvorce, Lysá nad Labem	7.4.2020	Solitér	50.2022464N 14.8022975E
<i>1b</i>	<i>Oscheius onirici</i>	Dvorce, Lysá nad Labem	7.4.2020	Solitér	50.2022464N 14.8022975E
<i>4</i>	<i>Steinernema affine</i>	Nové Město na Moravě, Zubří	21.4.2020	Pole	49.5600256N 16.1175756E
<i>A2</i>	<i>Steinernema feltiae</i>	Malý Bor, Klatovy	23.4.2020	Pole	49.3243025N 13.6520806E
<i>A3</i>	<i>Steinernema affine</i>	Dřevíkov, Chrudim	4.5.2020	Solitér	49.7563928N 15.8171803E
<i>A7</i>	<i>Steinernema feltiae</i>	Supíkovice	6.5.2020	Solitér	50.2978444N 17.2665522E
<i>A8</i>	<i>Steinernema kraussei</i>	Dřevíkov, Chrudim	4.5.2020	Solitér	49.7563928N 15.8171803E
<i>A14</i>	<i>Steinernema affine</i>	Valečov	6.5.2020	Solitér	49.6434353N 15.4996403E
<i>Jakub</i>	<i>Steinernema feltiae</i>	Zbudov	10.7.2020	Zahrada	49.0920117N 14.3098958E

Tab. 3 – Kontrolní varianta pro sedmidenní pozorování vlivu izolované suspenze hlístic na mandelinku bramborovou (společně pro Tab.3-Tab. 12 : MERM = nález strunice, „?“ = malátné chování, OK = bez vnějšího projevu patogenity, KO = úmrtí, Houba = projev introdukovaných hub).

KON.V.	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Merm	Houba
K1	OK	OK	OK	MERM	x	x	x	x	ANO	x
K2	OK	OK	OK	?	OK	OK	OK	OK	x	x
K3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	x	x
K4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	x	x
K5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	x	x
K6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	x	x
K7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	x	x
K8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	x	x
K9	OK	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	x
K10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	x	x

Tab. 4 – Sedmidenní pozorování vlivu kmene 1 na testované jedince mandelinky bramborové.

1000IJs	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Invazivnost	Merm	Houba
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	5	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
500IJs											
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	x	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
250IJs											
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x

Tab. 5 – Sedmidenní pozorování vlivu kmene *1b* na testované jedince mandelinky bramborové.

1000IJs	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Invazivnost	Merm	Houba
1	OK	OK	OK	vyřazen	x	x	x	x	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	x	100	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	300	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	x	300	x	x
6	OK	KO (houba)	x	x	x	x	x	x	0	x	ANO
7	OK	KO (houba)	x	x	x	x	x	x	0	x	ANO
8	OK	OK	OK	OK	KO (houba)	x	x	x	0	x	ANO
9	OK	?	OK	KO (houba)	x	x	x	x	0	x	ANO
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x

Tab. 6 – Sedmidenní pozorování vlivu kmene *4* na testované jedince mandelinky bramborové.

1000IJs	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Invazivnost	Merm	Houba
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	30	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	30	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	70	x	x
4	OK	OK	?	?	OK	OK	OK	OK	30	x	x
5	OK	KO	x	x	x	x	x	x	11	ANO	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	40	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	60	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	35	x	x
9	OK	?	OK	?	KO (houba)	x	x	x	0	x	ANO
10	OK	KO	x	x	x	x	x	x	9	ANO	x
<b>500IJs</b>											
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	5	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	4	x	x
4	OK	?	OK	?	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	6	ANO	x
6	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	25	ANO	x
7	OK	KO	x	x	x	x	x	x	0	x	ANO
8	OK	OK	OK	?	?	OK	OK	?	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	?	10	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	35	x	x
<b>250IJs</b>											
1	OK	OK	OK	OK	OK	?	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	KO	x	x	0	ANO	x
3	OK	OK	?	KO	x	x	x	x	0	x	x
4	OK	KO	x	x	x	x	x	x	0	x	ANO
5	OK	OK	OK	OK	?	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	0	x	ANO
7	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	0	ANO	x
8	OK	?	OK	OK	?	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	3	ANO	x
10	OK	OK	?	KO	x	x	x	x	3	ANO	x

Tab. 7 – Sedmidenní pozorování vlivu kmene A2 na testované jedince mandelinky bramborové.

1000IJs	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Invazivnost	Merm	Houba
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	10	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	2	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	8	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	x	45	x	x
500IJs											
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	KO	x	x	x	30	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
250IJs											
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	4	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x

Tab. 8 – Sedmidenní pozorování vlivu kmene A3 na testované jedince mandelinky bramborové.

1000IJs	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Invazivnost	Merm	Houba
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	KO (houba)	x	x	15	x	ANO
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	KO (houba)	x	x	0	x	ANO
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	?	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
<b>500IJs</b>											
1	OK	OK	OK	OK	OK	?	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	KO (houba)	x	x	0	x	ANO
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	?	OK	KO	x	x	x	x	20	x	x
5	OK	?	KO	x	x	x	x	x	38	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	KO	x	x	x	x	43	x	x
9	OK	OK	KO (houba)	x	x	x	x	x	30	x	ANO
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	5	x	x
<b>250IJs</b>											
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	KO	x	x	x	x	15	x	x
5	OK	?	OK	OK	OK	?	?	?	0	x	x
6	OK	?	OK	KO	x	x	x	x	25	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	20	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x

Tab. 9 – Sedmidenní pozorování vlivu kmene A7 na testované jedince mandelinky bramborové.

1000IJs	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Invazivnost	Merm	Houba
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	KO	0	x	x
3	OK	KO (houba)	x	x	x	x	x	x	0	x	ANO
4	OK	?	OK	OK	OK	OK	OK	OK	30	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO (houba)	x	0	x	ANO
6	OK	KO (houba)	x	x	x	x	x	x	0	x	ANO
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	?	?	KO	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
500IJs											
1	OK	KO (houba)	x	x	x	x	x	x	0	x	ANO
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	30	x	x
3	OK	OK	OK	KO	x	x	x	x	0	x	ANO
4	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	0	x	ANO
5	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	34	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	X	15	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	10	x	x
8	OK	?	OK	OK	OK	?	KO	X	6	x	x
9	OK	OK	OK	OK	KO (houba)	X	X	X	20	x	ANO
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
250IJs											
1	OK	OK	OK	KO (houba)	x	x	x	x	0	x	ANO
2	OK	OK	KO (houba)	x	x	x	x	x	0	x	ANO
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	20	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	OK	5	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	OK	10	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	?	OK	OK	15	x	x
9	OK	OK	KO (houba)	x	x	x	x	x	0	x	ANO
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	x	6	x	x

Tab. 10 – Sedmidenní pozorování vlivu kmene A8 na testované jedince mandelinky bramborové.

1000IJs	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Invazivnost	Merm	Houba
1	OK	OK	OK	?	KO	x	x	x	95	ANO	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	KO	x	x	37	ANO	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	4	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	35	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	60	x	x
7	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	57	ANO	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	20	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	10	ANO	x
10	OK	OK	OK	OK	?	OK	OK	OK	20	x	x
<b>500IJs</b>											
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	5	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	5	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	?	KO	x	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	KO	x	x	x	30	ANO	x
7	OK	OK	OK	OK	KO	x	x	x	45	ANO	x
8	OK	OK	OK	OK	?	KO	x	x	13	ANO	x
9	OK	OK	KO	x	x	x	x	x	30	ANO	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
<b>250IJs</b>											
1	OK	OK	OK	KO MERM	x	x	x	x	35	ANO	x
2	OK	KO	x	x	x	x	x	x	20	ANO	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	KO MERM	x	x	x	x	x	0	ANO	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	10	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	?	OK	OK	?	OK	OK	OK	0	x	x



Tab. 11 – Sedmidenní pozorování vlivu kmene A14 na testované jedince mandelinky bramborové.

1000IJs	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Invazivnost	Merm	Houba
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	KO	x	x	x	x	x	x	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	KO	x	x	x	0	x	ANO
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
<b>500IJs</b>											
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
<b>250IJs</b>											
1	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	1	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	x	0	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x

Tab. 12 – Sedmidenní pozorování vlivu kmene *Jakub* na testované jedince mandelinky bramborové.

1000IJs	0.den	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	6.den	7.den	Invazivnost	Merm	Houba
1	OK	KO	x	x	x	x	x	x	100	x	x
2	OK	?	?	KO	x	x	x	x	33	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	?	OK	?	KO	x	x	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	0	x	x
7	OK	OK	OK	OK	?	?	OK	OK	0	x	x
8	OK	?	KO	x	x	x	x	x	0	x	x
9	OK	OK	OK	?	OK	OK	OK	OK	0	x	x
10	OK	?	?	?	KO	x	x	X	55	x	x
<b>500IJs</b>											
1	OK	?	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	?	?	?	?	KO	x	x	19	x	x
3	OK	OK	OK	OK	OK	?	OK	OK	0	x	x
4	OK	OK	OK	?	OK	OK	OK	OK	0	x	x
5	OK	OK	?	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	?	KO	x	x	x	x	13	x	x
7	OK	OK	OK	OK	OK	?	OK	OK	0	x	x
8	OK	OK	?	?	?	KO	x	x	0	x	x
9	OK	OK	?	OK	OK	?	KO	x	10	x	x
10	OK	OK	?	?	KO	x	x	X	10	x	x
<b>250IJs</b>											
1	OK	?	?	?	?	OK	OK	OK	0	x	x
2	OK	OK	OK	?	OK	OK	OK	OK	0	x	x
3	OK	?	?	OK	?	?	KO	x	0	x	x
4	OK	KO	x	x	x	x	x	x	13	x	x
5	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x
6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	?	0	x	x
7	OK	?	KO	x	x	x	x	x	57	x	x
8	OK	KO	x	x	x	x	x	x	13	x	x
9	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	KO	0	x	x
10	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	0	x	x

Tab. 13 – Legenda ke grafickému znázornění metody sledování suspenzí izolovaných kmenů entomopatogenních hub.

<b>Kmen</b>	<b>Druh</b>	<b>Lokalita</b>	<b>Poznámka</b>
Met I	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Supíkovice	Solitér
Met II	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Chlebovice	Solitér
Met III	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Valečov	Solitér
Met IV	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Hukovice	Pole
Met V	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Havlíčková Borová	Pole
Bba I	<i>Beauveria bassiana</i>	Havlíčková Borová	Solitér
Bba II	<i>Beauveria bassiana</i>	Žabčice	Solitér
Bba III	<i>Beauveria bassiana</i>	Supíkovice	Solitér
Bba IV	<i>Beauveria bassiana</i>	Havlíčková Borová	Solitér
Isf	<i>Isaria fumosorosea</i>	Albrechtice	Solitér

Tab. 14 – Záznam kontrolní varianty pro sledování vlivu suspenze hub na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	7.9.	18	x	x	
		2	6.9.	17	x	x	
		3	4.9.	15	x	x	
		4	30.8.	10	x	x	
		5	29.8.	9	x	x	Nativní Bba 29.8.
		6	25.8.	5	x	x	Nativní Bba 25.8.
		7	14.9.	25	x	x	
		8	14.9.	25	x	x	
		9	27.8.	7	x	x	
		10	2.9.	13	x	x	
		11	8.9.	19	x	x	
		12	8.9.	19	x	x	
		13	x	x	x	x	
		14	x	x	x	x	
		15	x	x	x	x	
		16	x	x	x	x	
		17	x	x	x	x	
		18	x	x	x	x	
		19	x	x	x	x	
		20	x	x	x	x	
II	20.8.2020	1	x	x	x	x	
		2	x	x	x	x	
		3	x	x	x	x	
		4	16.9.	27	x	x	
		5	10.9.	21	x	x	
		6	11.9.	22	x	x	
		7	14.9.	25	x	x	
		8	12.9.	23	x	x	
		9	11.9.	22	x	x	
		10	15.9.	26	x	x	
		11	1.9.	12	x	x	Nativní Bba 1.9.
		12	3.9.	14	x	x	
		13	27.8.	7	x	x	
		14	28.8.	8	x	x	
		15	7.9.	18	x	x	
		16	6.9.	17	x	x	
		17	6.9.	17	x	x	
		18	6.9.	17	x	x	
		19	27.8.	7	x	x	Nativní Bba 28.8.
		20	26.8.	6	x	x	
III	20.8.2020	1	16.9.	27	x	x	
		2	17.9.	28	x	x	
		3	x	x	x	x	
		4	x	x	x	x	
		5	x	x	x	x	
		6	11.9.	22	x	x	
		7	13.9.	24	x	x	
		8	10.9.	21	x	x	
		9	11.9.	22	x	x	
		10	4.9.	15	x	x	
		11	6.9.	17	x	x	
		12	6.9.	17	x	x	
		13	2.9.	13	x	x	
		14	28.8.	8	x	x	
		15	29.8.	9	x	x	
		16	8.9.	19	x	x	
		17	8.9.	19	x	x	
		18	4.9.	15	x	x	
		19	8.9.	19	x	x	Nativní Bba 28.8.
		20	24.8.	4	x	x	2x merm

Tab. 15 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Met I na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	30.8.	10	x	x	
		2	16.9.	27	x	x	
		3	31.8.	11	x	x	
		4	28.8.	8	x	x	
		5	30.8.	10	x	x	
		6	3.9.	14	8.9.	19	
		7	6.9.	17	8.9.	19	
		8	29.8.	9	30.8.	10	
		9	29.8.	9	29.8.	9	
		10	29.8.	9	31.8.	11	
		11	28.8.	8	30.8.	10	
		12	26.8.	6	28.8.	8	
		13	24.8.	4	x	x	Nativní Bba (24.8.)
		14	26.8.	6	x	x	Nativní Bba (27.8.)
		15	25.8.	5	28.8.	8	
		16	1.9.	12	3.9.	14	
		17	30.8.	10	31.8.	11	
		18	25.8.	5	x	x	Nativní Bba (28.8.)
		19	30.8.	10	1.9.	12	
		20	31.8.	11	4.9.	15	
II	20.8.2020	1	11.9.	22	x	x	
		2	5.9.	16	x	x	
		3	11.9.	22	x	x	
		4	26.8.	6	x	x	
		5	7.9.	18	x	x	
		6	10.9.	21	12.9.	23	
		7	7.9.	18	12.9.	23	
		8	7.9.	18	12.9.	23	
		9	27.8.	7	5.9.	16	
		10	7.9.	18	13.9.	24	
		11	31.8.	11	2.9.	13	
		12	2.9.	13	2.9.	13	
		13	2.9.	13	6.9.	17	
		14	28.8.	8	30.8.	30	
		15	23.8.	3	x	x	Nativní Bba (23.8.)
		16	3.9.	14	5.9.	16	
		17	27.8.	7	29.8.	9	
		18	1.9.	12	1.9.	12	
		19	24.8.	4	1.9.	12	
		20	30.8.	10	2.9.	13	
III	20.8.2020	1	27.8.	7	x	x	
		2	28.8.	8	x	x	
		3	30.8.	10	x	x	
		4	2.9.	13	x	x	
		5	1.9.	12	x	x	
		6	4.9.	15	x	x	
		7	29.8.	9	x	x	
		8	x	x	x	x	
		9	5.9.	16	x	x	
		10	30.8.	10	5.9.	16	
		11	25.8.	5	27.8.	7	
		12	28.8.	8	30.8.	10	
		13	29.8.	9	30.8.	10	
		14	29.8.	9	3.9.	14	
		15	29.8.	9	x	x	Nativní Bba (30.8.)
		16	29.8.	9	1.9.	12	
		17	22.8.	2	x	x	Nativní Bba (24.8.)
		18	25.8.	5	x	x	Nativní Bba (27.8.)
		19	31.8.	11	2.9.	13	
		20	28.8.	8	1.9.	12	

Tab. 16 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Met II na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	31.8.	11	x	x	
		2	29.8.	9	x	x	
		3	24.8.	4	x	x	
		4	25.8.	5	x	x	
		5	25.8.	5	x	x	1x merm
		6	27.8.	7	30.8.	10	
		7	29.8.	9	2.9.	13	
		8	27.8.	7	x	x	
		9	28.8.	8	5.9.	16	
		10	29.8.	9	30.8.	10	
		11	25.8.	5	29.8.	9	
		12	25.8.	5	28.8.	8	
		13	26.8.	6	31.8.	11	
		14	26.8.	6	28.8.	8	
		15	31.8.	11	1.9.	12	
		16	28.8.	8	1.9.	12	
		17	25.8.	5	29.8.	9	
		18	28.8.	8	29.8.	9	
		19	25.8.	5	28.8.	8	
		20	28.8.	8	31.8.	11	
II	20.8.2020	1	22.8.	2	x	x	
		2	1.9.	12	x	x	
		3	26.8.	6	x	x	
		4	26.8.	6	x	x	
		5	27.8.	7	x	x	
		6	25.8.	5	x	x	1x merm
		7	29.8.	9	5.9.	16	
		8	28.8.	8	5.9.	16	
		9	28.8.	8	2.9.	13	
		10	25.8.	5	29.8.	9	
		11	25.8.	5	28.8.	8	
		12	29.8.	9	30.8.	10	
		13	29.8.	9	1.9.	12	
		14	27.8.	7	30.8.	10	
		15	26.8.	6	1.9.	12	
		16	25.8.	5	29.8.	9	
		17	26.8.	6	28.8.	8	
		18	1.9.	12	4.9.	15	
		19	31.8.	11	6.9.	17	
		20	1.9.	12	3.9.	14	
III	20.8.2020	1	5.9.	16	x	x	
		2	31.8.	11	x	x	
		3	30.8.	10	x	x	
		4	24.8.	4	x	x	
		5	25.8.	5	x	x	
		6	26.8.	6	x	x	
		7	15.9.	26	x	x	
		8	26.8.	6	x	x	
		9	29.8.	9	x	x	
		10	5.9.	16	14.9.	25	
		11	1.9.	12	2.9.	13	
		12	31.8.	11	5.9.	16	
		13	29.8.	9	30.8.	10	
		14	26.8.	6	x	x	Nativní Bba (27.8.)
		15	1.9.	12	5.9.	16	
		16	29.8.	9	29.8.	9	
		17	29.8.	9	30.8.	10	
		18	28.8.	8	30.8.	10	
		19	29.8.	9	1.9.	12	
		20	31.8.	11	4.9.	15	

Tab. 17 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Met III na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	4.9.	15	x	x	
		2	15.9.	26	x	x	
		3	8.9.	19	x	x	
		4	10.9.	21	x	x	
		5	28.8.	8	x	x	
		6	22.8.	2	x	x	
		7	29.8.	9	x	x	
		8	29.8.	9	x	x	
		9	31.8.	11	x	x	
		10	30.8.	10	x	x	
		11	15.9.	26	x	x	
		12	4.9.	15	x	x	
		13	16.9.	27	x	x	
		14	15.9.	26	x	x	
		15	22.8.	2	28.8.	8	
		16	24.8.	4	28.8.	8	
		17	9.9.	20	14.9.	23	
		18	27.8.	7	1.9.	12	
		19	24.8.	4	27.8.	7	2x merm
		20	29.8.	9	1.9.	12	
II	20.8.2020	1	6.9.	17	x	x	
		2	28.8.	8	x	x	
		3	8.9.	19	x	x	
		4	1.9.	12	x	x	
		5	26.8.	6	x	x	
		6	5.9.	16	x	x	
		7	31.8.	11	x	x	
		8	1.9.	12	x	x	
		9	28.8.	8	x	x	
		10	28.8.	8	x	x	
		11	11.9.	22	x	x	
		12	23.8.	3	29.8.	9	1x merm
		13	30.8.	10	30.8.	10	
		14	3.9.	14	3.9.	14	
		15	1.9.	12	3.9.	14	
		16	22.8.	2	x	x	Nativní Bba 23.8.
		17	25.8.	5	x	x	Nativní Bba 26.8.
		18	25.8.	5	30.8.	10	
		19	30.8.	10	5.9.	16	
		20	27.8.	7	x	x	Nativní Bba 26.8.
III	20.8.2020	1	25.8.	5	x	x	
		2	1.9.	12	x	x	
		3	6.9.	17	x	x	
		4	25.8.	5	x	x	
		5	4.9.	15	x	x	
		6	25.8.	5	30.8.	10	
		7	23.8.	3	x	x	
		8	15.9.	26	x	x	
		9	27.8.	7	x	x	
		10	12.9.	23	x	x	
		11	6.9.	17	12.9.	23	
		12	8.9.	19	14.9.	25	
		13	1.9.	12	2.9.	13	
		14	3.9.	14	3.9.	14	
		15	1.9.	12	2.9.	13	
		16	1.9.	12	1.9.	12	
		17	26.8.	6	29.8.	9	
		18	27.8.	7	29.8.	9	
		19	4.9.	15	6.9.	17	
		20	30.8.	10	2.9.	13	

Tab. 18 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Met IV na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	31.8.	11	x	x	
		2	27.8.	7	x	x	
		3	26.8.	6	x	x	
		4	22.8.	2	x	x	
		5	25.8.	5	x	x	
		6	26.8.	6	x	x	
		7	29.8.	9	x	x	
		8	30.8.	10	x	x	
		9	24.8.	4	x	x	
		10	7.9.	18	x	x	
		11	29.8.	9	31.8.	11	
		12	31.8.	11	5.9.	16	
		13	27.8.	7	30.8.	10	
		14	26.8.	6	28.8.	8	1x merm
		15	28.8.	8	29.8.	9	
		16	30.8.	10	2.9.	13	
		17	30.8.	10	2.9.	13	
		18	1.9.	12	5.9.	16	
		19	30.8.	10	1.9.	12	
		20	29.8.	9	31.8.	11	
II	20.8.2020	1	2.9.	13	x	x	
		2	1.9.	12	x	x	
		3	5.9.	16	x	x	
		4	26.8.	6	x	x	
		5	7.9.	18	x	x	
		6	29.8.	9	x	x	
		7	23.8.	3	x	x	2x merm
		8	3.9.	14	x	x	
		9	27.8.	7	x	x	
		10	1.9.	12	x	x	
		11	27.8.	7	x	x	
		12	24.8.	4	x	x	
		13	11.9.	22	x	x	
		14	26.8.	6	x	x	
		15	x	x	x	x	
		16	29.8.	9	5.9.	16	
		17	29.8.	9	1.9.	12	
		18	1.9.	12	1.9.	12	
		19	29.8.	9	30.8.	10	
		20	29.8.	9	1.9.	12	
III	20.8.2020	1	25.8.	5	x	x	
		2	16.9.	27	x	x	
		3	7.9.	18	x	x	
		4	12.9.	23	x	x	
		5	30.8.	10	x	x	
		6	6.9.	17	x	x	
		7	1.9.	12	x	x	
		8	31.8.	11	x	x	
		9	29.8.	9	x	x	
		10	1.9.	12	x	x	
		11	3.9.	14	x	x	
		12	3.9.	14	x	x	
		13	28.8.	8	x	x	
		14	1.9.	12	x	x	
		15	28.8.	8	x	x	
		16	23.8.	3	x	x	
		17	11.9.	22	15.9.	26	
		18	25.8.	5	x	x	Nativní Bba 27.8.
		19	29.8.	9	2.9.	13	
		20	31.8.	11	2.9.	13	



Tab. 19 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Met V na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	29.8.	9	x	x	
		2	14.9.	25	x	x	
		3	23.8.	3	x	x	2x merm
		4	31.8.	11	x	x	
		5	4.9.	15	x	x	
		6	25.8.	5	x	x	
		7	25.8.	5	x	x	
		8	30.8.	10	x	x	
		9	15.9.	26	x	x	
		10	28.8.	8	x	x	
		11	29.8.	9	x	x	
		12	22.8.	2	x	x	
		13	28.8.	8	4.9.	15	
		14	4.9.	15	7.9.	18	
		15	28.8.	8	3.9.	14	
		16	25.8.	5	7.9.	18	
		17	3.9.	14	8.9.	19	
		18	4.9.	15	4.9.	15	
		19	23.8.	3	x	x	Nativní Bba 24.8.
		20	31.8.	11	2.9.	13	
II	20.8.2020	1	26.8.	6	x	x	
		2	30.8.	10	x	x	
		3	5.9.	16	x	x	
		4	11.9.	22	x	x	
		5	23.8.	3	x	x	
		6	29.8.	9	x	x	
		7	27.8.	7	x	x	
		8	x	x	x	x	
		9	x	x	x	x	
		10	x	x	x	x	
		11	31.8.	11	5.9.	16	
		12	30.8.	10	3.9.	14	
		13	26.8.	6	x	x	Nativní Bba 28.8.
		14	27.8.	7	28.8.	8	
		15	29.8.	9	30.8.	10	
		16	29.8.	9	3.9.	14	
		17	30.8.	10	2.9.	13	
		18	31.8.	11	5.9.	16	
		19	28.8.	8	1.9.	12	
		20	29.8.	9	1.9.	12	
III	20.8.2020	1	26.8.	6	x	x	
		2	4.9.	15	x	x	
		3	2.9.	13	x	x	
		4	30.8.	10	x	x	
		5	24.8.	4	x	x	
		6	22.8.	2	x	x	
		7	28.8.	8	x	x	
		8	15.9.	26	x	x	
		9	29.8.	9	x	x	
		10	30.8.	10	x	x	
		11	6.9.	17	x	x	
		12	1.9.	12	5.9.	16	
		13	29.8.	9	30.8.	10	
		14	3.9.	14	4.9.	15	
		15	31.8.	11	3.9.	14	
		16	25.8.	5	5.9.	16	
		17	25.8.	5	27.8.	7	1x merm
		18	31.8.	11	4.9.	15	
		19	29.8.	9	31.8.	11	
		20	28.8.	8	30.8.	10	

Tab. 20 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Bba I na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	29.8.	9	x	x	
		2	16.9.	27	x	x	
		3	15.9.	26	x	x	
		4	7.9.	18	x	x	
		5	24.8.	4	x	x	1x merm
		6	x	x	x	x	
		7	x	x	x	x	
		8	15.9.	26	x	x	
		9	3.9.	14	x	x	
		10	12.9.	23	x	x	
		11	7.9.	18	12.9.	23	
		12	6.9.	17	11.9.	22	
		13	1.9.	12	1.9.	12	
		14	2.9.	13	5.9.	16	
		15	1.9.	12	3.9.	14	
		16	28.8.	8	29.8.	9	
		17	25.8.	5	29.8.	9	
		18	27.8.	7	29.8.	9	
		19	29.8.	9	29.8.	9	
		20	30.8.	10	2.9.	13	
II	20.8.2020	1	7.9.	18	x	x	
		2	31.8.	11	x	x	
		3	16.9.	27	x	x	
		4	16.9.	27	x	x	
		5	22.8.	2	x	x	
		6	27.8.	7	x	x	
		7	3.9.	14	x	x	
		8	x	x	x	x	
		9	2.9.	13	3.9.	14	
		10	30.8.	10	8.9.	19	
		11	6.9.	17	6.9.	17	
		12	5.9.	16	10.9.	21	
		13	28.8.	8	29.8.	9	
		14	27.8.	7	27.8.	7	
		15	31.8.	11	4.9.	15	
		16	30.8.	10	1.9.	12	
		17	1.9.	12	2.9.	13	
		18	30.8.	10	2.9.	13	
		19	29.8.	9	1.9.	12	
		20	2.9.	13	5.9.	16	
III	20.8.2020	1	15.9.	26	x	x	
		2	2.9.	13	x	x	
		3	30.8.	10	x	x	
		4	31.8.	11	x	x	
		5	14.9.	25	x	x	
		6	29.8.	9	x	x	
		7	27.8.	7	x	x	
		8	30.8.	10	x	x	
		9	6.9.	17	9.9.	20	
		10	5.9.	16	7.9.	18	
		11	23.8.	3	27.8.	7	2x merm
		12	28.8.	8	1.9.	12	
		13	30.8.	10	6.9.	17	
		14	31.8.	11	3.9.	14	
		15	31.8.	11	2.9.	13	
		16	27.8.	7	29.8.	9	
		17	30.8.	10	31.8.	11	
		18	30.8.	10	1.9.	12	
		19	31.8.	11	2.9.	13	
		20	2.9.	13	6.9.	17	

Tab. 21 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Bba II na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	6.9.	17	x	x	
		2	26.8.	6	x	x	
		3	22.8.	2	x	x	
		4	8.9.	19	x	x	
		5	7.9.	18	x	x	
		6	7.9.	18	x	x	
		7	13.9.	24	x	x	
		8	6.9.	17	x	x	
		9	15.9.	26	x	x	
		10	29.8.	9	x	x	
		11	x	x	x	x	
		12	8.9.	19	x	x	
		13	10.9.	21	x	x	
		14	10.9.	21	x	x	
		15	4.9.	15	x	x	
		16	1.9.	12	6.9.	17	
		17	7.9.	18	16.9.	27	
		18	30.8.	10	1.9.	12	
		19	29.8.	9	30.8.	10	
		20	31.8.	11	2.9.	13	
II	20.8.2020	1	29.8.	9	x	x	
		2	1.9.	12	x	x	
		3	5.9.	16	x	x	
		4	27.8.	7	x	x	
		5	27.8.	7	x	x	
		6	15.9.	26	x	x	
		7	15.9.	26	x	x	
		8	x	x	x	x	
		9	x	x	x	x	
		10	4.9.	15	4.9.	15	
		11	1.9.	12	8.9.	19	
		12	31.8.	11	3.9.	14	
		13	30.8.	10	6.9.	17	
		14	30.8.	10	3.9.	14	
		15	1.9.	12	6.9.	17	
		16	28.8.	8	8.9.	19	
		17	1.9.	12	6.9.	17	
		18	5.9.	16	9.9.	20	
		19	30.8.	10	4.9.	15	
		20	1.9.	12	4.9.	15	
III	20.8.2020	1	8.9.	19	x	x	
		2	16.9.	27	x	x	
		3	22.8.	2	x	x	
		4	12.9.	23	x	x	
		5	27.8.	7	x	x	
		6	6.9.	17	x	x	
		7	6.9.	17	x	x	
		8	31.8.	11	x	x	
		9	8.9.	19	x	x	
		10	7.9.	18	x	x	
		11	31.8.	11	x	x	
		12	x	x	x	x	
		13	17.9.	28	x	x	
		14	6.9.	17	10.9.	21	
		15	6.9.	17	8.9.	19	
		16	3.9.	14	10.9.	21	
		17	5.9.	16	8.9.	19	
		18	31.8.	11	2.9.	13	
		19	31.8.	11	31.8.	11	
		20	2.9.	13	6.9.	17	

Tab. 22 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Bba III na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	4.9.	15	x	x	
		2	6.9.	17	x	x	
		3	14.9.	25	x	x	
		4	15.9.	26	x	x	
		5	1.9.	12	x	x	
		6	22.8.	2	x	x	
		7	12.9.	23	x	x	
		8	6.9.	17	x	x	
		9	8.9.	19	x	x	
		10	11.9.	22	x	x	
		11	11.9.	22	x	x	
		12	1.9.	12	x	x	
		13	22.8.	2	x	x	
		14	31.8.	11	x	x	
		15	8.9.	19	x	x	
		16	31.8.	11	x	x	
		17	x	x	x	x	
		18	x	x	x	x	
		19	x	x	x	x	
		20	27.8.	7	29.8.	9	
II	20.8.2020	1	11.9.	22	x	x	
		2	6.9.	17	x	x	
		3	27.8.	7	x	x	
		4	1.9.	12	x	x	
		5	15.9.	26	x	x	
		6	1.9.	12	x	x	
		7	12.9.	23	x	x	
		8	22.8.	2	x	x	
		9	15.9.	26	x	x	
		10	6.9.	17	x	x	
		11	7.9.	18	x	x	
		12	23.8.	3	x	x	1x merm
		13	7.9.	18	x	x	
		14	13.9.	24	x	x	
		15	16.9.	27	x	x	
		16	x	x	x	x	
		17	x	x	x	x	
		18	1.9.	12	x	x	
		19	30.8.	10	5.9.	16	
		20	25.8.	5	26.8.	6	
III	20.8.2020	1	13.9.	24	x	x	
		2	12.9.	23	x	x	
		3	31.8.	11	x	x	
		4	8.9.	19	x	x	
		5	31.8.	11	x	x	
		6	11.9.	22	x	x	
		7	5.9.	16	x	x	
		8	31.8.	11	x	x	
		9	29.8.	9	x	x	
		10	7.9.	18	x	x	
		11	31.8.	11	x	x	
		12	24.8.	4	x	x	
		13	8.9.	19	x	x	
		14	27.8.	7	x	x	
		15	7.9.	18	x	x	
		16	x	x	x	x	
		17	22.8.	2	2.9.	13	1x merm
		18	26.8.	6	28.8.	8	
		19	27.8.	7	30.8.	10	
		20	24.8.	4	x	x	Nativní Bba 24.8.

Tab. 23 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Bba IV na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	8.9.	19	x	x	
		2	15.9.	26	x	x	
		3	14.9.	25	x	x	
		4	23.8.	3	x	x	1x merm
		5	11.9.	22	x	x	
		6	7.9.	18	x	x	
		7	31.8.	11	x	x	
		8	16.9.	27	x	x	
		9	3.9.	14	x	x	
		10	12.9.	23	x	x	
		11	31.8.	11	x	x	
		12	31.8.	11	x	x	
		13	5.9.	16	x	x	
		14	5.9.	16	x	x	
		15	x	x	x	x	
		16	x	x	x	x	
		17	3.9.	14	x	x	
		18	27.8.	7	31.8.	11	
		19	30.8.	10	8.9.	19	
		20	27.8.	7	8.9.	19	
II	20.8.2020	1	6.9.	17	x	x	
		2	8.9.	19	x	x	
		3	1.9.	12	x	x	
		4	15.9.	26	x	x	
		5	8.9.	19	x	x	
		6	1.9.	12	x	x	
		7	4.9.	15	x	x	
		8	25.8.	5	x	x	
		9	13.9.	24	x	x	
		10	25.8.	5	x	x	
		11	30.8.	10	x	x	
		12	30.8.	10	x	x	
		13	1.9.	12	x	x	
		14	6.9.	17	x	x	
		15	x	x	x	x	
		16	x	x	x	x	
		17	31.8.	11	x	x	
		18	5.9.	16	8.9.	19	
		19	1.9.	12	7.9.	18	
		20	25.8.	5	27.8.	7	
III	20.8.2020	1	28.8.	8	x	x	
		2	16.9.	27	x	x	
		3	7.9.	18	x	x	
		4	24.8.	4	x	x	
		5	27.8.	7	x	x	
		6	13.9.	24	x	x	
		7	1.9.	12	x	x	
		8	15.9.	26	x	x	
		9	4.9.	15	x	x	
		10	11.9.	22	x	x	
		11	27.8.	7	x	x	
		12	26.8.	6	x	x	
		13	3.9.	14	x	x	
		14	x	x	x	x	
		15	x	x	x	x	
		16	x	x	x	x	
		17	6.9.	17	x	x	
		18	23.8.	3	27.8.	7	
		19	29.8.	9	30.8.	10	
		20	31.8.	11	4.9.	15	

Tab. 24 – Záznam ze sledování vlivu suspenze kmene Isf na mandelinku bramborovou.

Opakování	Datum aplikace	Číslo	Datum úmrtí	DEN	Datum mykózy	DEN	Poznámka
I	20.8.2020	1	26.8.	6	x	x	
		2	27.8.	7	x	x	
		3	15.9.	26	x	x	
		4	30.8.	10	x	x	
		5	24.8.	4	x	x	1x merm
		6	16.9.	27	x	x	
		7	1.9.	12	x	x	
		8	30.8.	10	x	x	
		9	10.9.	21	x	x	
		10	29.8.	9	x	x	
		11	1.9.	12	x	x	
		12	28.8.	8	x	x	
		13	24.8.	4	x	x	
		14	4.9.	15	x	x	
		15	28.8.	8	x	x	
		16	29.8.	9	x	x	
		17	15.9.	26	x	x	
		18	10.9.	21	x	x	
		19	x	x	x	x	
		20	x	x	x	x	
II	20.8.2020	1	15.9.	26	x	x	
		2	28.8.	8	x	x	
		3	30.8.	10	x	x	
		4	11.9.	22	x	x	
		5	25.8.	5	x	x	
		6	15.9.	26	x	x	
		7	6.9.	17	x	x	
		8	31.8.	11	x	x	
		9	x	x	x	x	
		10	x	x	x	x	
		11	x	x	x	x	
		12	x	x	x	x	
		13	23.8.	3	x	x	1x merm
		14	8.9.	19	x	x	
		15	1.9.	12	x	x	Native Bba (5.9.)
		16	30.8.	10	x	x	
		17	31.8.	11	x	x	
		18	22.8.	2	x	x	
		19	22.8.	2	x	x	1x merm
		20	23.8.	3	x	x	
III	20.8.2020	1	29.8.	9	x	x	
		2	29.8.	9	x	x	
		3	26.8.	6	x	x	
		4	30.8.	10	x	x	
		5	29.8.	9	x	x	
		6	28.8.	8	x	x	
		7	28.8.	8	x	x	
		8	25.8.	5	x	x	
		9	29.8.	9	x	x	
		10	24.8.	4	x	x	
		11	7.9.	18	x	x	
		12	27.8.	7	x	x	
		13	3.9.	14	x	x	
		14	6.9.	17	x	x	
		15	27.8.	7	x	x	
		16	1.9.	12	x	x	
		17	15.9.	26	x	x	
		18	x	x	x	x	
		19	24.8.	4	x	x	1x merm
		20	11.9.	22	x	x	