Využití přípravku Polyversum pro zvýšení vytrvalosti a výnosů porostů jetelovin

Martin Pisarčik, Josef Hakl, Ladislav Menšík, Ondřej Szabó

Certifikovaná metodika
Česká zemědělská univerzita v Praze
2019

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

Využití přípravku Polyversum pro zvýšení vytrvalosti a výnosů porostů jetelovin

Ing. Martin Pisarčik
Doc. Ing. Josef Hakl, Ph.D.
Ing. Ladislav Menšík, Ph.D.
Bc. Ondřej Szabó

Certifikovaná metodika pro praxi

2019

Využití přípravku Polyversum pro zvýšení vytrvalosti a výnosů porostů jetelovin

Hlavním cílem této certifikované metodiky bylo vyhodnotit efektivitu využití přípravku Polyversum při pěstování jetele lučního a vojtěšky seté ve vztahu k morfologii kořenového systému a jeho napadení chorobami, vytrvalosti a produktivitě porostů. V porostech jetele lučního opakované aplikace přípravku snižovaly stupeň napadení chorobami a stimulovaly větvení kořenů i výšku porostu před sklizní. Průkazné zvýšení výnosu o 18 % bylo zaznamenáno pouze při intenzivní aplikaci v posledním roce experimentu a bylo více spojeno se stimulací růstu rostlin než se sníženým stupněm napadení kořenů. Pravidelná intenzivní aplikace přípravku se však během tříletého trvání experimentu neukázala ekonomicky rentabilní a je ji třeba cílit až do druhého užitkového roku. V pokusech s vojtěškou setou měl přípravek nekonzistentní efekt. Aplikace průkazně neovlivnila výnos píce v žádném ze sledovaných let a na jednom ze dvou stanovišť ošetřované porosty dosahovaly i průkazně nižší výšky před sklizní v prvním i ve druhém užitkovém roce v porovnání s kontrolou. Variabilní efekt přípravku u vojtěšky pravděpodobně souvisí s nižším tlakem chorob kořenového systému ve srovnání s jetelem lučním, problematickým načasováním aplikace a také s kombinací častého sucha ve sledovaných letech. Tyto výsledky nesnižují potenciál využití biologických přípravků v porostech vojtěšky seté, ale ukazují, že použití těchto přípravků v polních podmínkách mohou komplikovat složité interakce mezi přípravkem, ošetřovanými rostlinami, prostředím a ostatními necílovými organismy.

Klíčová slova: *pícniny; Pythium oligandrum; biologická ochrana*

The utilization of Polyversum for increasing of yield and stand persistence of forage legume crops

The objective of the certified methodology was to determine the effectiveness of the use of Polyversum in the red clover and lucerne cultivation in terms of root morphology and root disease attack in association with productivity and persistence of the stands. In red clover stands, it has been clearly demonstrated that application of Polyversum reduces the plant root disease score and stimulates root branching and stand compressed height. An increase in yield of 18% was observed only with intensive application in the last year of the experiment and was likely associated with stimulation of plant growth rather than with protection against root diseases. In spite of yield effect in the last year, the intensive application did not show economic benefit across year therefore it can be recommended only in the second post-seeding year. In the experiments with lucerne, biological control had an inconsistent effect. Application of the biological control did not significantly affect the forage yield in any of the evaluated years, when application provided even the lower stand height compared to the control in one site of two in the first and second year. The variability of effects in lucerne stands is probably related to the lower pressure of root system diseases compared to red clover, inappropriate timing of the application in association with a drought. This study does not

diminish the potential importance of biological control methods for lucerne, but it does highlight that application under field conditions may not always give beneficial outcomes, because of complicated interactions between plant, organism/preparation, and environment.

Keywords: *forage crops; Pythium oligandrum; biological control*

Dedikace:
Certifikovaná metodika vznikla za podpory Technologické agentury České republiky a je výstupem řešení projektu „Využití přípravku Polyversum pro zvýšení vytrvalosti a výnosů porostů jetelovin“ č. projektu TJ01000150 (85 %). Realizace polních pokusů v Jevíčku byla také podpořena z projektu MZe RO0418 (15%).

Autorský kolektiv
Ing. Martin Pisarčik (50 %), doc. Ing. Josef Hakl, Ph.D. (30 %), Ing. Ladislav Menšík, Ph.D. (15 %), Bc. Ondřej Szabó (5 %)

Oponenti:
Doc. Ing. Stanislav Hejduk, Ph.D.
Ing. Jiří Záruba

Publikace neprošla jazykovou úpravou.

Metodika byla schválena orgánem státní správy (MZe) pod č.j. 65371/2019-MZE-18144
Mze doporučuje tuto metodiku pro využití v praxi.
Metodika bude v plném znění zveřejněna na těchto webových stánkách:
http://metodiky.agrobiologie.cz/

© Česká zemědělská univerzita v Praze, **2019**
ISBN 978-80-213-2987-4

Obsah

1. Úvod 6
2. Cíl metodiky 6
3. Současný stav řešené problematiky 7
3.1. Nejvýznamnější choroby jetelovin 7
3.2 Současné možnosti regulace nemocnosti porostů jetelovin 9
4. Experimentální část 14
4.1 Založení pokusu – jetel luční 14
4.2 Založení pokusu – vojtěška setá 15
4.3 Hodnocení nadzemní fytomasy 16
4.4 Hodnocení podzemní fytomasy 17
4.5 Laboratorní metody qPCR 19
4.7 Efekt přípravku Polyversum v porostech jetelovin 20
5. Závěr 30
6. Srovnání novosti metodických postupů a další přínosy 30
7. Ekonomický přínos 31
8. Popis uplatnění metodiky 32
9. Seznam publikací, které předcházely metodice 32
10. Literatura 33

1. Úvod

Víceleté pícniny představují významnou složku krmivové základny přežvýkavců. Jeteloviny svým vlivem hrají velmi pozitivní úlohu v celkové bilanci dusíku, neboť hektar vojtěšky seté nebo jetele lučního fixuje ročně až 300 kg dusíku za rok, což znamená úsporu až 1200 kg emisí CO_2. Jeteloviny působí dále jako přerušovače obilných sledů, zanechávají v půdě značné množství organické hmoty podílející se také na tvorbě trvalého humusu, podporují biologický život půdy, provzdušňují půdu, zlepšují využitelnost živin pro další plodiny, narušují utužené podorničí a rovněž velmi výrazně zvyšují výnosový potenciál následné plodiny bez jakéhokoli dalšího materiálního nebo energetického vstupu.

Vytrvalost víceletých pícnin a udržování vysokých výnosů v dlouhodobé časové řadě představuje velmi cenný benefit, který může významně snižovat náklady na vyráběná krmiva. Napadení kořenového systému jetelovin houbovými chorobami je v praxi, především u jetele lučního, významným faktorem snižování výnosů i vytrvalosti porostů. Ze současných poznatků vyplývá, že proti těmto chorobám jetelovin u nás zatím neexistuje žádná přímá ochrana. Snížit jejich negativní působení je možné pouze šlechtěním používaných odrůd na odolnost a pěstitelskou prevencí, jako je např. eliminace zhutnění půdy a poškození rostlin, vhodné pH a hnojení. Při hledání možností ochrany porostů je třeba zohlednit i celospolečenský trend na snižování využití chemických přípravků v zemědělství a zamezit jejich negativním dopadům na lidské zdraví a životní prostředí. Biologická ochrana rostlin je stále více sledována jako významná alternativa k syntetickým pesticidům, ale u jetelovin zatím nejsou dostupné výsledky pro její praktické užití.

2. Cíl metodiky

Cílem metodiky bylo posoudit efektivitu využití biologické ochrany na bázi přípravku Polyversum u porostů jetelovin, a to jak z pohledu napadení kořenového systému rostlin chorobami, tak i z hlediska rozvoje kořenového systému, produktivity a vytrvalosti porostů. Součástí této metodiky je i ekonomické vyhodnocení efektu těchto aplikací.

3. Současný stav řešené problematiky

3.1. Nejvýznamnější choroby jetelovin

Skutečnost, že jetel luční je náchylný ke kořenovým chorobám, je dlouhodobě známá (Mann, 1938; Skipp *et al*., 1986). První písemnou zmínku o chorobách jetele publikovali již Lawes *et al*. (1860), kde popisovali situaci z roku 1849 ve Velké Británii. Již tehdy farmáři znali situaci, že opakované pěstování jetele na stejném pozemku není možné právě kvůli chorobám a tyto choroby souhrnně nazývali jako „clover sickness", neboli choroby jetele (Young *et* Morton 1862; Lawes *et* Gilbert, 1880). V roce 1943 bylo známo až 139 původců chorob u jetele lučního (Chilton *et al*., 1943). Ve Velké Británii bylo vypozorováno, že napadení chorobami závisí na průběhu počasí během roku (Weston *et al.*, 1946), především na úhrnech srážek během prosince a ledna (Loveless, 1951).

Kořenové a krčkové hniloby vedou ke značné redukci výnosů u jetele lučního v rozmezí 30 až 80 % a jsou způsobovány jen několika půdními patogeny (Novosiolova, 2002). Yli-Mattila *et al.*, (2010) zjistili, že druhové složení patogenů, způsobujících krčkové a kořenové hniloby závisí mimo jiné na formě pěstování (ekologické vs. konvenční). *Fusarium avenaceum* bylo zjištěno jako nejčastěji se vyskytující, avšak na půdách v eko režimu se vyskytovalo méně. Naopak *Gliocladium* spp., *Trichoderma* spp. a *Rhizoctonia* spp. byly nalezeny častěji na půdách, které jsou v ekologickém režimu již více než 10 let.

Bílá hniloba jetele (patogen *Sclerotinia trifoliorum* Eriksson)

Tato choroba je celosvětově rozšířena v oblastech, kde jsou mírné zimy nebo zimy se sněhovou pokrývkou (bez holomrazů). V Severní Evropě, bývalém Sovětském svazu, Kanadě a v určitých oblastech USA tato choroba způsobuje nejhorší ekonomické ztráty. *S. trifoliorum* má široké spektrum hostitelů, zahrnujících druhy: tolice vojtěška (*Medicago sativa*), tolice dětelová (*Medicago lupulina*), štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*), vičenec ligrus (*Onobrychis viciifolia*), jetel inkarnát (*Trifolium incarnatum*), jetel luční (*Trifolium pratense*)a jetel zvrhlý (*Trifolium hyhridum*). Jetel plazivý je všeobecně považován za méně vhodného hostitele, ale není zcela rezistentní. Mnoho dalších druhů rodu *Sclerotinia* sp. může ojediněle napadat bobovité. Choroba je obecně chápána jako kořenová či krčková, avšak napadány mohou být všechny části rostlin. Ze symptomů této choroby se nejprve objevují malé hnědé skvrny na listech a řapících. Silněji napadené listy se stávají šedivě hnědými,

vadnou a později jsou potažené bílým myceliem, které se šíří ke krčku a ke kořenům (Hanson *et* Kreitlow, 1953). Symptomy této hniloby se rychle objevují, když se teploty zvyšují a sníh roztaje (Klimenko *et al.*, 2010). V pozdní zimě nebo časném jaru se choroba šíří dovnitř do kořenů. Některé části mycelia se poté mění na tvrdé útvary tzv. sklerocia, přičemž tyto útvary jsou klíčové pro přežití patogenu do dalších let. Velikost sklerocií se pohybuje rozměrově mezi jetelovým a hrachovým semenem. Až to podmínky dovolí, sklerocia začnou produkovat apothecia, která produkují miliony spor. Ty kolonizují nové rostliny a životní cyklus se tím uzavírá (Hanson *et* Kreitlow, 1953). Nízké sezónní teploty jsou prevencí rozvoje této choroby (Tribe, 1957). Vleugels *et al.* (2013) zmiňuje, že některé populace jetele lučního vykazují jistou míru odolnosti, avšak zároveň tvrdí, že úplné rezistence proti *S. trifoliorum* nebude zřejmě nikdy dosaženo.

Krčkové a kořenové hniloby jetele (patogen *Fusarium* sp.)

Další důležitou chorobou je fuzáriová hniloba, která je způsobována druhy *Fusarium oxysporum, F. solani* a *F. roseum* (Klimenko *et al.*, 2010). Někteří autoři označují tuto chorobu za nejčastější důvod řidnutí porostů (Hanson *et* Kreitlow, 1953; Riday, 2010). Naproti tomu Wallenhammar *et al.*, (2006) tvrdí, že až do počátku 70. let byla fusariová hniloba ve Švédsku prakticky neznámá. Většina druhů tohoto rodu jsou slabými patogeny, způsobující poškození až poté, co jsou rostliny oslabeny nebo zraněny. Většina z nich je ale také téměř všudypřítomná v půdě. Symptomy jsou buď lokální, anebo jsou zaznamenány jako obecná hniloba jakékoliv části kořenového systému. Mohou být napadány jak primární tak sekundární kořeny, tak i kořenový krček. Choroba může být lokalizována jak na povrchu, tak v příčném řezu kořene. Místa napadení mají barvu od tmavě hnědé po černou. Kořeny, které jsou zničené, se snaží rostliny nahrazovat novými sekundárními kořeny, avšak tento proces bývá pomalejší a tudíž rostliny do druhého roku hynou (Hanson *et* Kreitlow, 1953). Nejvíce náchylná k napadení fusariovými hnilobami bývá kořenová špička, respektive dolní dva centimetry kořene. Napadený kořen často ztrácí schopnost elongace ještě před penetrací mycelia. Uvádí se, že nejvíce náchylnými rostlinami z čeledi bobovitých jsou štírovník růžkatý a jetel plazivý, středně náchylnými jsou jetel luční a vojtěška setá. V experimentech bylo prokázáno, že *F. roseum, F. oxysporum, F. solani* a *F. moniliforme* obvykle způsobovaly vyšší frekvenci infekce, výskyt lézí a inhibici kořenového vzrůstu na rostlinách ze kterých se inokulum odebíralo, než na rostlinách kam bylo později přeneseno (Leath *et* Kendal, 1978). To vede k závěru, že přenos patogenu není vždy dokonalý a samotné rostliny mají různou odolnost.

Antraknóza jetele (*Coleotrichum trifolii*)

C. trifolii způsobuje antraknózu u jetele. Někteří autoři ji nazývají jako tzv. „jižní antraknózu“ (southern anthracnose) a uvádějí ji mezi 10 nejzávažnějších chorob světa obecně (Jacob *et al.,* 2015). Monteith (1928) tvrdí, že počátkem 20. století byly antraknózy nejdůležitější chorobou jetele v USA. Onemocnění se projevuje na všech zelených částech rostlin. Napadány jsou rostliny ve všech fázích vývoje od klíčení až po dospělost. Antraknóza se nejprve projevuje na horních listech jako povlak plísně, později jako nekrotické skvrny. Tyto skvrny se zvětšují a můžou vést až k ohýbání stonku. Po dozrání začne mycelium produkovat růžovou masu spor, která se dále šíří při vysoké vlhkosti rosou, deštěm, ale také hmyzem. Husté porosty tuto chorobu podporují. Na delší vzdálenosti se choroba šíří buďto osivem, anebo mechanizací (Jacob *et al.,* 2015).

Verticiliové a fusariové vadnutí vojtěšky

Je to komplexní onemocnění, vyvolávané patogeny *Fusarium oxysporum* a *Verticillium albo-atrum*. Podle Bocsa *et al.,* (1994) jsou tyto patogeny u vojtěšky nejčastější příčinou nízké vytrvalosti. Kazda *et al.,* (2010) uvádí, že *Verticillium albo-atrum* je mikroskopická vláknitá houba s přehrádkovaným myceliem, konidiofory mají typické přeslenité větvení. Konidie jsou jednobuněčné, elipsovité nebo nepravidelně cylindrické. *Verticillium albo-atrum* netvoří mikrosklerocia. Symptomatologickým projevem je zežloutnutí nebo zhnědnutí cév xylému (Kůdela, 1970). Choroba se projevuje předčasným řídnutím porostu, snížením výnosu píce i semene (Kůdela, 1978), nejčastěji však ve druhém a třetím vegetačním roce (Kazda *et al.,* 2010).

3.2 Současné možnosti regulace nemocnosti porostů jetelovin

Snížená vytrvalost výrazně omezuje efektivitu využívání víceletých pícnin, zejména pak jetele lučního. Příčiny snížené vytrvalosti, která se promítá do snížení počtu rostlin a následně i výnosů píce byly shrnuty a dobře zdokumentovány v řadě studií, kde bylo potvrzeno, že kořenové choroby jsou důležitým faktorem při vyčerpávání porostů (např. Marten, 1989; Riday, 2010). Také Vasiljevic *et al.,* (2005) uvádějí, že ve většině oblastí světa je problém s vytrvalostí jetele lučního, a že choroby kořenového systému jsou hlavním limitujícím faktorem.

Z těchto důvodů byly již na přelomu 50. a 60. letech ve Švédsku provedeny první výzkumy vlivu použití fungicidních přípravků proti chorobám kořenového systému jetele lučního (Öhberg, 2008). V polních pokusech Leatha *et al.,* (1973) fungicid Benomyl pozitivně ovlivnil výnos jetele lučního, ale pozdější studie uvádí negativní účinek přípravku na výnos ve druhém užitkovém roce porostu (Jenkyn, 1975). Nan *et al.,* (1991) ve své práci ověřovali účinnost sedmi fungicidních látek vůči patogenním houbám – původcům onemocnění kořenové soustavy jetele lučního. Látka prochloraz měla nejvyšší aktivitu proti izolovaným patogenům z kořenů jetele lučního. Ve skleníkových experimentech došlo po čtyřech týdnech od aplikace, vlivem této látky, k celkovému poklesu populace houbových organismů v půdě a ve vyšších koncentracích pak prochloraz tlumil růst jetele lučního. Larkin *et al.,* (1995) v nádobových experimentech prokázali, že fungicidní látka metalaxyl aplikovaná na půdu, snižuje vliv půdních patogenů na kořenový systém vojtěšky seté. Ošetřené rostliny měly vyšší počet laterálních kořenů, větší délku kořenového systému a obecně složitější vzory větvení než u neošetřených rostlin. V polních pokusech se však účinek metalaxylu nepotvrdil (Larkin *et al.*, 1996) a ani při ošetření osiva vojtěšky nebyl příliš účinný (Larkin *et al.,* 1995).

Podle Suprapta (2012) se zemědělci stále častěji spoléhají na použití syntetických fungicidů k potlačení houbových chorob rostlin. Nesprávné používání těchto chemikálií však může způsobit vážné poškození životního prostředí a další zdravotní rizika. Öhberg (2008) uvádí, že použití fungicidů musí být ekologicky i ekonomicky oprávněné. Chemická fungicidní ochrana se proti těmto chorobám v praxi téměř nepoužívá i proto, že choroby mají komplikovanou etiologii (Nedělník, 2008). V současné době není v České republice k dispozici žádný fungicidní přípravek určený pro ochranu kořenů jetelovin.

Biologická ochrana rostlin se jeví jako bezpečná alternativa, která je stále více studována, aby poskytla účinnou ochranu proti chorobám rostlin. Několik mikroorganismů bylo testováno a bylo prokázáno, že jsou antagoničtí vůči houbovým patogenům (Suprapta, 2012). Podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2009/128/ES, kterou se stanovuje rámec pro činnost Společenství za účelem dosažení udržitelného používání pesticidů, je třeba v zemědělství pečlivě zvažovat veškeré dostupné metody ochrany rostlin a následně integrovat vhodná opatření, která potlačují rozvoj populací škodlivých organismů a udržují používání přípravků na ochranu rostlin či jiných forem zásahu na úrovních, které lze z hospodářského a ekologického hlediska odůvodnit, a které snižují či minimalizují ohrožení lidského zdraví nebo životního prostředí. Tento systém ochrany rostlin klade důraz na růst rostlin, při co nejmenším narušení zemědělských ekosystémů a podporuje mechanismy přirozené ochrany proti škodlivým organismům.

Biologická ochrana rostlin proti houbovým patogenům je studována více jak 80 let, ale až v posledních letech se daří několika společnostem vyvíjet mikroorganismy pro ochranu rostlin jako komerční produkty (Suprapta, 2012). Hýsek *et al.,* (2008) vysvětluje, že rozvoj studia mikroorganismů přišel s vytvořením světelné mikroskopické techniky a zavedením kultivačních metodik mikroorganismů. Tyto zachycovací metody jsou dnes stále zdokonalovány. Velké množství mikroorganismů však není možné kultivovat, např. biotrofní fytopatogeny, které se pomnožují pouze v živé rostlině, stejně tak i mnohé anaerobní mikroorganismy, které mají velmi specifické požadavky na své životní prostředí v průběhu svého růstu.

Pro biologickou ochranu zemědělských plodin je v Evropě registrováno 14 rodů hub a bakterií (Gerbore *et al.*, 2014). Hledá se prostředek s vysokou bezpečností a s minimálním dopadem na životní prostředí. Mnohé rody hub mají mechanismy, které jim umožní efektivně léčit nebo předcházet vzniku listových a kořenových chorob, jejichž původcem jsou patogenní houby. Jednou ze strategií používaných biologickými agens je mykoparasitismus (Brimmer *et* Boland, 2003). Podle Gerbore *et al.,* (2014) se v posledním desetiletí nejvíce studuje vliv *Pythium oligandrum* ze třídy Oomycota.

Účinek a mechanismus působení *Pythium oligandrum*

Drechsler (1946) zjistil, že se jedná o půdní organismus, který dokáže fungovat v mykorizním stavu s rostlinami a zároveň parazitovat ostatní houby ze stejného i jiných rodů (BCA – biocontrol agent). Dnes je ve světě zkoumáno několik kmenů tohoto organismu (Vallance *et al.,* 2009). Brožová (2002) zastává názor, že využití tohoto organismu je založeno především v preventivním působení.

Mykoparazitismus je konkurenční až predační vztah dvou organismů, přičemž parazitovaný organismus pochází z říše hub. Je známá celá řada mykoparazitů, jako například *Trichoderma asperellum* nebo *Coniothyrium minitans* (Pertot *et al.,* 2015). Benhamou *et al.,* (1997) zjistili, že krátce po kontaktu *Pythium oligandrum* s myceliem parazitované houby dochází ke ztrátě a kolapsu turgoru. Snímky z elektronového mikroskopu naznačují, že dochází k totální dezintegraci buněčné cytoplasmy, ztrátě cytoplasmatické membrány a následně i protoplastu. Během této doby zůstává buněčná stěna z chitinu zcela zachovalá a hyfy pronikají do patogenního organismu. V této době už mycelium patogenu dále neroste, avšak bílé mycelium *Pythium oligandrum* ano (Brožová, 2002). Podle patogenů se rozlišují 3 typy reakcí na mykoparazitismus:

1. Rychlá lýza: je charakteristická tím, že hyfa patogena přestává ihned růst a *P. oligandrum* penetruje buněčnou stěnu. Nakonec dochází k lýze buňky patogena. Tento příklad se týká většiny druhů houbových patogenů až na *Pythium* sp. a *Rhizoctonia solani*.
2. Rychlá granulace: je typická dezintegrací a granulací obsahu buňky patogenu, výjimečně lýzou buňky. To následně vede k zastavení růstu a zprůhlednění hyf. Jediným dosud známým patogenem s touto interakcí je *R. solani*.
3. Pomalá granulace, bez lýzy: Tato interakce je typická pro všechny druhy *Pythium* sp. Je založena pouze na granulování a zesvětlení obsahu buněk patogena 1 – 8 minut po kontaktu s hyfou *P. oligandrum* (Lewis *et al.,* 1989).

Rovněž bylo zjištěno, že *Pythium oligandrum* pomáhá rostlině vytvořit indukovanou rezistenci proti patogenům (Benhamou *et al.*, 1997). Indukovaná rezistence spočívá ve vytváření určitých proteinů v membráně buněčných stěn (cell-wall protein-CWP) organismem *Pythium oligandrum* (tzv. elicitory), které nemají přímý fungicidní účinek proti patogenům, ale pomáhají rostlinám dále vyrábět různé látky, jako například fenolické sloučeniny, chitinázu (rozkládá buněčnou stěnu hub z chytinu), anebo fenylalanin amonium lyázu, které již přímý fungicidní účinek mají (Takenaka, 2003). Gerbore *et al.,* (2014) uvádějí, že *P. oligandrum* nedokáže po penetraci do kořenového pletiva v rostlině přežívat a jeho efekt je založen pouze na elicitorech. Nicméně Le Floch *et al.,* (2007) namítají, že pokud má být vliv P. oligandrum na rostlinu příznivý, musí v rostlinném pletivu přežívat. Gerbore *et al.,* (2014) také tvrdí, že oproti jiným BCA dokáže pronikat hlouběji do rostlinného pletiva, což by mohlo vést k vyšší účinnosti oproti např. *Trichoderma* sp. Dále se uvádí, že *P. oligandrum* nenarušuje kořenovou mikroflóru rostlin. Le Floch *et al.,* (2007) tvrdí, že samotný organismus *P. oligandrum* produkuje látky oligandrin (glykoproteinový elicitor) a tryptamin (látka ze skupiny auxinů), což jsou molekuly, zajišťující vyšší vzrůst rostlin. Zároveň se podařilo prokázat, že kolonizace kořenů (v tomto případě rajčat) organismem *Pythium oligandrum* probíhá bez zjevného porušení buněk. Hyfy *Pythium oligandrum* na svých koncích v rostlinném pletivu vytvářejí prázdné buňky (Lewis *et al.,* 1989). V těchto buňkách vznikají nové oospory, které pak v prostředí přetrvávají a při správných podmínkách opět klíčí a opět kolonizují stanoviště. Jednotlivé kmeny *P. oligandrum* mají různou schopnost vytvářet oospory. Bylo prokázáno, že kmen, který měl tvořit nejméně oospor, byl po skončení pěstební sezóny nejvíce početný (Vallance *et al.,* 2009).

Vztahy mezi napadením kořenového systému jetelovin, morfologií kořenů a produktivitou porostu

Některé studie na kořenovém systému jetelovin prokázaly určité souvislosti mezi utvářením kořenového systému a jeho napadením chorobami (Larkin *et al.*, 1995). Polní studie u vojtěšky prokázaly pozitivní korelace mezi průměrem hlavního kořene, jeho větvením i stupněm napadením chorobami. Větvení kořenů souviselo především se změnami hustoty porostu a mělo pozitivní vliv na výnosy píce (Hakl *et al.*, 2017). V případě vojtěškotravních směsí mělo snížení větvení kořenů vlivem přítomnosti travního komponentu za následek i nižší stupeň napadení kořenů (Hakl *et al.*, 2018). Tyto souvislosti ukazují, že při komplexním hodnocení dopadů testovaných opatření u jetelovin a hledání jejich příčin je třeba vzít v úvahu nejen samotný zdravotní stav kořenů a výnos píce, ale je třeba vzít v úvahu i vývoj morfologie kořenového systému jetelovin.

4. Experimentální část

4.1 Založení pokusů – jetel luční

Byly založeny dva maloparcelkové pokusy s jetelem lučním ve šlechtitelské stanici Větrov, patřící pod společnost Oseva UNI Choceň a. s. Nadmořská výška stanice je 620 m. n. m., průměrná roční teplota 6.9 ˚C, průměrné roční srážky činí 642 mm, půdní druh je hlinitopísčitý, půdní typ hnědozem, půdní reakce mírně kyselá.

Stanoviště Větrov 1

První sledovaný polní pokus byl založen v roce 2016. Na jaře bylo provedeno založení maloparcelkového pokusu s čistým výsevem odrůd Start a Callisto v designu znáhodněných bloků ve čtyřech opakováních, na okrajích byla použita odrůda Viola. Výsevek činil 7 milionů klíčivých semen (MKS).ha^{-1}. Z hlediska aplikace přípravků byly u každé odrůdy zařazeny následující varianty: neošetřená kontrola a 2 varianty ošetřené přípravkem Polyversum v podzimním termínu (PO1) nebo po každé seči (PO2). Doplňkově byla sledována i odrůda Viola ve dvou variantách, kontrolní a variantě intenzivně ošetřované přípravkem Polyversum (PO2). Dávkování přípravku a termíny aplikací u jednotlivých variant jsou uvedené v Tab. 1. Rozměry parcel byly 8 x 1,25 m se sklizňovou plochou 10 m^2. Po vzejití se stanovila hustota porostu. Porost byl využíván třísečně, s výjimkou roku založení, kde proběhla jen odplevelovací a podzimní seč. Pokusné parcely byly sklízeny sklizňovým strojem Haldrup, pracovní záběr 1,25 m (viz foto v příloze). Během seče sklizňový stroj zaznamenává výnos čerstvé hmoty z jednotlivých parcel. Termíny sečí v hodnocených letech jsou uvedeny v Tab.1. Další sledované parametry nadzemní hmoty i odebraných kořenů jsou uvedeny v kapitole 4.3 a 4.4 společně pro všechny hodnocené experimenty.

Stanoviště Větrov 2

Druhý pokus s jetelem lučním byl založen na jaře 2018 s čistým výsevem odrůdy Start. Výsevek činil 7 MKS.ha^{-1}. Z hlediska aplikace přípravků byly v designu náhodných bloků ve čtyřech opakováních zařazeny následující varianty: neošetřená kontrola, 3 varianty ošetřené přípravkem Polyversum, kde byla srovnávána jarní (PO1), podzimní (PO2) a intenzivní varianta aplikací přípravků po každé seči (PO3), přičemž dávkování a termíny jsou uvedeny v Tab. 1. Rozměry parcel byly 8 x 1,25 m se sklizňovou plochou 10 m^2. Porost byl využíván třísečně s výjimkou prvního roku, kdy byla provedena pouze odplevelovací seče.

Sklizně probíhaly stejnou technikou jako na pokuse Větrov 1, přičemž termíny sečí jsou uvedeny v Tab. 1. Další sledované parametry nadzemní hmoty i odebraných kořenů jsou uvedeny v kapitole 4.3 a 4.4 společně pro všechny hodnocené experimenty.

Obrázek 1 Sklizeň porostu jetele lučního sklízecím strojem Haldrup dne 6. 6. 2017.

4.2 Založení pokusů – vojtěška setá

Stanoviště Červený Újezd

Polní parcelový pokus byl založen v roce 2016 v Červeném Újezdě, na Výzkumné stanici Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, České zemědělské univerzity v Praze. Podle agrometeorologických charakteristik spadá stanoviště do mírně teplé oblasti a mírně suchého klimatického okrsku, převážně s mírnou zimou. Stanice leží v nadmořské výšce 405 m n. m, průměrná roční teplota vzduchu v 50-ti letém normálu představuje 7,7 °C, průměr za vegetační období je 13,8 °C. Průměrný roční úhrn srážek v 50-ti letém normálu činí 493 mm a průměr za vegetaci 333 mm. Půda na pozemku pokusu je středně těžká, hlinitá. Půdní typ je zde zastoupen hnědozemí se sprašovým podložím.

Na jaře byl proveden výsev odrůdy Oslava bez krycí plodiny s herbicidním ošetřením proti plevelům. Výsevek činil 7 MKS ha^{-1}. Tři varianty ošetření byly založeny v designu znáhodněných bloků ve čtyřech opakováních. Variantou byla neošetřená kontrola a 2 varianty ošetřené přípravkem Polyversum v podzimním termínu (PO1) nebo po každé seči (PO2). Dávkování a termíny aplikací u jednotlivých variant jsou uvedené v Tab 1. Po vzejití se stanovila hustota porostu. Pokusné parcely byly sklízeny žacím strojem MF-70 o pracovní šířce 1,4 m. Parcely byly o rozměrech 2,5 x 7,2 m se sklizňovou plochou 10 m^2. Porost byl využíván 4-sečně, s výjimkou roku založení, kde proběhla jen odplevelovací a podzimní seč. Výnos čerstvé hmoty při sklizni byl hodnocen na parcelách na digitální váze s přesností 0,05 kg. Další sledované parametry nadzemní hmoty i odebraných kořenů jsou uvedeny v kapitole 4.3 a 4.4 společně pro všechny hodnocené experimenty.

Stanoviště Jevíčko

V designu shodném s lokalitou v Červeném Újezdě byl v roce 2017 založen pokus na Výzkumné stanici VÚRV v Jevíčku. Průměrná roční teplota na stanovišti je 7,4 °C /vegetační období 13,4 °C/, průměrné srážky 545 mm /vegetační období 347 mm/ (klimatická stanice Jevíčko, ČHMÚ Ostrava-Poruba). Nadmořská výška lokality je 345-347 m, půdním typem je hnědozem modální. Rozměry parcel byly o rozměrech 8 x 1,25 m se sklizňovou plochou 10 m^2. Pokusné parcely byly sklízeny maloparcelovým sklízečem píce MPZ-115. V užitkových letech se stanovoval výnos píce ve 4 sečích ročně. Další sledované parametry odebraných kořenů jsou uvedeny v kapitole 4.4, společně pro všechny hodnocené experimenty.

4.3 Hodnocení nadzemní fytomasy

Před každou sečí byly ze všech parcel uvedených pokusů odebrány vzorky nadzemní hmoty z 0,5 m řádku. U odebraných vzorcích byly stanoveny následující parametry:

- počet lodyh na m^2 (stem density, **SD**)
- délka nejdelší lodyhy (maximal stem length, **MSL**)

U porostu byl dále stanoven:

- stlačená výška porostu pomocí talířového měřidla (compressed height, **CH**) v šesti měřeních na parcele

Obrázek 2 Měření výšky porostu pomocí talířového měřidla.

- výnos sušiny v $t.ha^{-1}$ (dry matter yield, **DMY**)

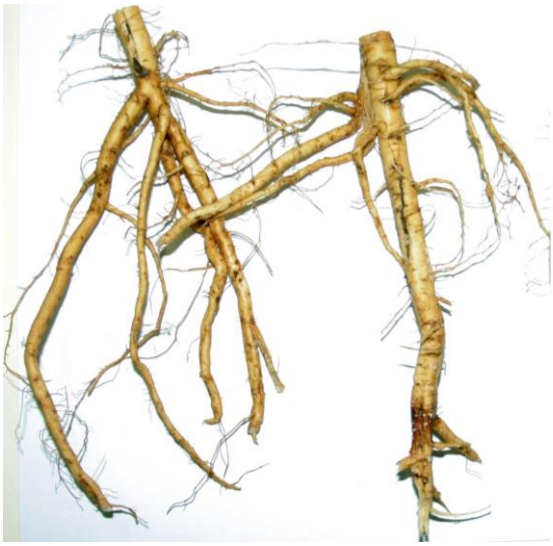
Pro výpočet výnosu sušiny z parcely byla použita hmotnost čerstvé píce z parcely a průměrná hodnota sušiny z varianty. Výnosy z jednotlivých sečí byly sečteny pro stanovení celkového ročního výnosu sušiny.

4.4 Hodnocení podzemní fytomasy

Na podzim každého roku byly odebrány vzorky kořenů z hloubky do 25 cm, vždy z 0,25 až 1,0 m délky v jednom řádku. Odběrová plocha v čase narůstala z důvodu přirozeného poklesu počtu rostlin na jednotku plochy (viz Tab.1). U odebraných vzorků byly následně sledovány dále uvedené parametry týkající se hustoty porostu, morfologie kořenů a jejich zdravotního stavu:

- hustota porostu (plant density, **PD**) – počet rostlin na m^2

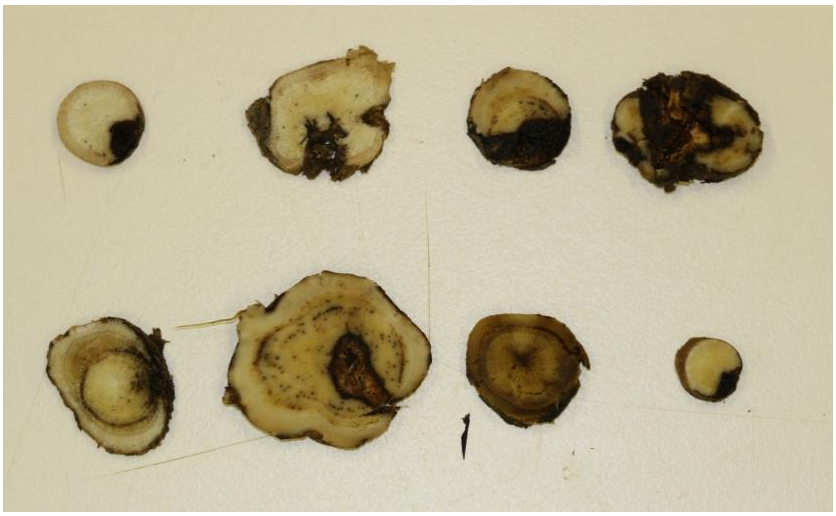
- průměr hlavního kořene (tap–root diameter, **TD**) - nůžkami byla odstřihnuta nadzemní část rostliny pod kořenovým krčkem a posuvným měřítkem změřen průměr hlavního kořene u každé rostliny (uváděno v mm)
- počet větví hlavního kořene (lateral root numer, **LRN**) – byl určen počet větví (o průměru 1 mm a více) na hlavním kořeni. Hodnota je uváděna v ks na hlavní kořen u rostlin s rozvětveným hlavním kořenem



Obrázek 3 Příklady intenzivního větvení kořenového systému vojtěšky seté.

- podíl rostlin s rozvětveným hlavním kořenem (ratio of branch-rooted, **RB**) - % větvících kořenů ve vzorku
- délka kořene – průměrná délka kořene ve vzorku (v cm), bylo použito jako pomocný parametr ve vztahu k hmotnosti kořenů na vzorek
- kořenové vlášení (fibrous root mass, **FRM**) – intenzita tvorby laterálních kořenů s průměrem pod 1 mm (odhadnuto subjektivně na stupnici 1 – 5, kde 1 je absence a 5 je silná tvorba FRM)
- hmotnost kořene (root dry matter, **RDM**) – vzorky kořenů byly vyprány, usušeny při teplotě 60 °C do konstantní hmotnosti a hmotnost byla přepočtena na plochu ($g.m^{-2}$)
- Index potenciálu kořenů (root potential index, **RPI**) – celková plocha řezu kořenového krčku na jednotku plochy ($cm^2.m^{-2}$).
    - Výpočet dle Hakla *et al.* (2017): RPI ($cm^2.m^{-2}$) = $[(TD/2)^2 \times \pi \times PD]/100$
- Index potenciálu kořenů korigovaný (root potential index corrected, **RPI cor**) – Index potenciálu kořenů korigovaný o oblasti napadení kořene podle průměrného stupně napadení kořene

- stupeň napadení chorobami kořene a kořenového krčku z příčného řezu kořene (plant root disease score, **PRDS**) hodnocené dle metodiky práce Hakla *et al.* (2017) u všech rostlin dle následující stupnice: 0 = zdravá, žádné změny zabarvení na řezu kořene, 1–6 = napadené rostliny s rostoucí úrovní poškození kořene, 7 = odumřelá rostlina
- podíl nemocných rostlin (infestation percentage **IP**) – procentuální vyjádření podílu nemocných rostlin.



Obrázek 4 Příčné řezy hlavním kořenem vojtěšky seté s různým stupněm napadení.

4.5 Laboratorní metody qPCR

Během vegetace byly odebírány vzorky fytomasy (listy a lodyhy) těsně před sečí a následně do deseti dní po aplikaci přípravku. Odběry probíhaly ze středu každé parcely. Kořeny se pro shodné analýzy byly odebírány na podzim, odděleně od vzorků na hodnocení morfologie a zdravotního stavu. Ošetřované varianty byly odebrány ve dvou opakováních, kontrola v jednom opakování byla odebrána do oddělené vzorkovnice a samostatnými nůžkami, tak aby nedocházelo k možné kontaminaci s ošetřovanými variantami. Kontrola byla odebírána pouze v roce 2018, pro upřesnění metodických postupů. Vzorky byly uloženy v čajových sáčcích a z pokusů byly přepravovány v lednici. Po příjezdu do laboratoře byly vzorky ihned zmraženy na -89 °C. Vzorky byly následně lyofilizovány při nízkém tlaku a teplotě v přístroji L4-55 a následně vloženy do vzorkovnic se silikagelem, aby nedocházelo ke zpětnému jímání vzdušné vlhkosti. Analýzy vzorků byly uskutečněny v laboratoři firmy Biopreparáty v Úhercích.

Metoda qPCR (real time polymerase chain reaction) je založena na podobném principu jako PCR (polymerase chain reaction) s tím rozdílem, že je využit speciální cycler, který kontinuálně zaznamenává množství určité DNA. Tato detekce je založena na fluorescenci substrátu až po navázání na DNA. Lze říci, že čím více vzorek emituje záření, tím více cílové DNA se v něm nachází. Nutno podotknout, že se zde musí počítat i s určitou efektivitou samotné PCR reakce, jelikož primery, které zajišťují rozmnožování konkrétního úseku DNA, nefungují vždy stoprocentně. Nakonec se výsledek odečte z kalibrační křivky. Jako substrát se nejčastěji používá CyberGreen, jelikož se váže nespecificky (Diguita *et al.*, 2010).

Vzorky byly analyzovány v triplikátu, veškeré vzorky, negativní i pozitivní kontroly a standardy se tedy analyzovaly ve třech nezávislých PCR reakcích. Standardy byly dodány tvůrcem původního kitu na detekci *Pythium oligandrum* firmou Generi Biotech Hradec Králové. Jako negativní kontrola byla použita voda z mixeru po zpracování všech vzorků. Jde o dva po sobě jdoucí výplachy standardním způsobem použitým během stanovení. Jako positivní kontrola byl použit Ecosin, který byl velmi zředěný rozmixovaný do litru vody a ještě stokrát ředěný, přesto poskytl bez problémů signál.

V laboratoři v Úhercích bylo kvantifikováno *Pythium oligandrum* a spektrum fytopatogenů (*Coletotrichum spp., Fusarium avenaceum, Fusarium culmorum, Fusarium solani, Fusarium oxysporum, Sclerotinium spp*.).

Detekce mikroorganismu *Pythium oligandrum* v nadzemních částech jetelovin vykázala nekonzistentní výsledky, a proto je zde dále neuvádíme. V podzemní biomase byl v roce 2018 u jetele lučního pozitivní záchyt těchto fytopatogenních hub: *F. avenaceum, F. oxysporum, F. culmorum* and *F. solani*. Zastoupení pozitivních záchytů patogenů bylo u neošetřené kontroly 75 %, u PO1 63% a u PO2 38%. Houby rodu *Sclerotinia* a *Colletotrichum* nebyly ve vzorcích detekovány. Výsledky analýz podzemní biomasy vojtěšky seté nebyly před vydáním této metodiky k dispozici.

4.7 Efekt přípravku Polyversum v porostech jetelovin

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny analýzou rozptylu a zpracovány do tabulek samostatně pro každé stanoviště. Varianty ošetření byly vždy porovnávány v každém roce samostatně, z důvodu velkých meziročních rozdílů u řady hodnocených parametrů. V tabulkách 2 až 5 jsou u podzemní fytomasy prezentovány vybrané parametry kořenové

morfologie a zdravotní stav kořenů, u nadzemní fytomasy je uváděna stlačená výška porostu a výnos sušiny.

U jetele lučního na stanovišti Větrov 1 (Tab. 2.) byl průkazný efekt přípravku Polyversum na výskyt kořenových onemocnění zaznamenán pouze v posledním roce experimentu, kdy byl zjištěn významně nižší stupeň napadení kořene u rostlin ošetřených přípravkem Polyversum (4,58) oproti neošetřené kontrole (4,94). V druhém užitkovém roce rostliny na variantě s intenzivním ošetřením přípravkem Polyversum vykazovaly větší průměr kořenového krčku (+ 4 %), rozvětvení kořene (+ 27 %), výšky porostu (+ 13 %) a výnos (+ 18 %) ve srovnání s kontrolou. Obě intenzity ošetření přípravkem Polyversum v roce 2018 významně snižovaly PRDS v průměru o 8 %, ale průkazně vyšší výnos poskytla pouze intenzivní varianta. Tyto výsledky dokládají, že pozitivní působení přípravku Polyversum u jetele bylo více závislé na stimulačních efektech na podzemní (průměr hlavního kořene, větvení kořenů) i nadzemní části rostlin (výška porostu, výnos), než na snížení stupně napadení kořenů. Nebyl zaznamenán žádný vliv přípravků na maximální délku lodyh a hustotu lodyh na m^2. V letech 2017 a 2018 došlo v porostu jetele lučního ke stagnaci růstu TD (8,9 mm vs. 9,1 mm) při vysokém poklesu PD (377 vs. 203 rostlin), což je výrazný rozdíl oproti publikovanému kontinuálnímu nárůstu TD u vojtěšky v průměru o 3 mm ročně (Hakl *et al.*, 2017; Hakl *et al.*, 2018). Zdá se, že jetel luční oproti vojtěšce nemohl kompenzovat pokles PD v průběhu času zvýšením TD a větvením kořene.

Obrázek 5 Porovnání intenzivně ošetřované varianty aplikace přípravku (uprostřed, 3 aplikace ročně) v porovnání s neošetřenou kontrolou vpravo (Větrov, 11. dubna 2018).

V pokusu s jetelem lučním „Větrov 2“ (Tab.3) došlo v roce založení experimentu ke statisticky významnému rozdílu mezi podíly napadených rostlin i průměrného stupně napadení. Nejnižší podíl nemocných rostlin a PRDS byl zaznamenán u varianty PO2 (15,5 % resp. 0,70), zatímco nejvyšší hodnoty vykázala kontrola (41,2 % nemocných rostlin a 2,00 PRDS). U varianty PO3 byl 2,5násobně vyšší podíl napadených rostlin oproti variantě PO2. Podobně jako v předchozím experimentu byl také pozitivní trend ošetření přípravkem v parametru větvení kořenů. V roce 2019 nebyl zjištěn statisticky průkazný vyšší výnos u variant ošetřených přípravkem Polyversum. I přes neprůkazný výnosový rozdíl byla zaznamenána průkazně vyšší průměrná výška porostu před sklizní u varianty PO3 (31 cm) oproti neošetřené kontrole a PO1 (28 cm), což koresponduje s (neprůkazným) navýšením výnosu na PO3 o 19% oproti kontrole. To je v souladu s výsledky o pozitivní korelaci mezi stlačenou výškou porostu a výnosy u vojtěšky (Hakl *et al*., 2012). Vyšší variabilita dat mezi 4 opakováními u výnosů sice neposkytla průkazné výnosové rozdíly mezi variantami, ale průkazné hodnoty výšky porostu spolu s vyššími průměry výnosů na PO2 a PO3 ukazují na potenciál zvýšení výnosů u těchto ošetření. Z Tab. 3 lze dále zjistit, že došlo k pozitivnímu působení ošetření PO2 na PRDS v porovnání s ostatními variantami.
Průměr hlavního kořene byl u varianty PO3 byl statisticky nejnižší, což může souviset s nejvyšší zaznamenanou hustotou porostu. Průkazný vliv přípravku na LRN a PD nebyl zaznamenán, nicméně určitý pozitivní trend je zde vidět.

V experimentu s vojtěškou setou na stanici v Červeném Újezdě (Tab. 4) nebyl zjištěn průkazný rozdíl ve výnosech mezi variantami v žádném roce. Výnosový trend byl dokonce negativní, což by bylo možno srovnat s výsledky Bočka *et al.*, (2013), který popisuje podobný negativní trend u jahodníku. V parametru průměru hlavního kořene byl v roce 2016 zaznamenán pozitivní trend u varianty PO1. V roce 2017 byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v průměrné výšce porostu, kde obě varianty ostřené přípravkem dosahovaly nižších hodnot v porovnání s neošetřenou kontrolou. V roce 2018 byla významně nižší výška jen u varianty se základním ošetřením (PO1). U všech ostatních parametrů nebyl mezi variantami nalezen významný rozdíl.

Na stanovišti s porostem vojtěšky seté v Jevíčku byl v roce založení průkazný rozdíl v PRDS mezi variantou PO1 (1.53) a PO2 (1.08). V roce 2018 se základní ošetření přípravkem Polyversum významně pozitivně projevila na průměru hlavního kořene v porovnání s PO2, což ale víceméně koresponduje s nejnižší hustotou porostu u PO1 (i přes použitou kovariátu hustoty). Rozdíly ve výnosu suché hmoty nebyly mezi variantami průkazné v žádném

z hodnocených ročníků, nicméně lze ale sledovat konzistentní trend k vyšším výnosům o cca 5 – 6% u ošetřovaných variant. Vyšší intenzita ošetřování neposkytovala pravidelně vyšší výnosy oproti základnímu ošetření. V tomto experimentu nebyly pravidelně hodnoceny výšky porostu před sklizní, tak nelze tento trend podpořit rozdíly v tomto parametru.

I v souvislosti s využíváním biologické ochrany rostlin také existují určitá rizika, která nejsou ještě zcela probádána, a je třeba na ně upozornit. Brimmer *et* Boland (2003) poukazují na to, že organismus, který se zdá být schopen ovládat chorobu rostliny bez poškození hostitelské rostliny, může představovat riziko pro jiné organismy ve stejném cílovém prostředí. Interakce mezi mykoparazitickými houbami a ostatními organismy v prostředí se velmi obtížně testuje. Stále jsou neznámé patogenní vztahy s necílovými houbami, bakteriemi, rostlinami nebo živočichy. Biologická ochrana je uváděna jako "přírodní" a "s nízkým rizikem", bývá často osvobozena od důkladného testování požadované pro chemické přípravky na ochranu rostlin. To vyplývá i ze studie Gerbore *et al.* (2014), kde se upozorňuje na to, že velkou neznámou je dopad dlouhodobé biologické ochrany na životní prostředí.

Tab. 1 Termíny aplikací přípravku, provedených sečí a odběrů kořenů dle jednotlivých lokalit a experimentů.

		Větrov 1	**Větrov 2**	**Červený Újezd**	**Jevíčko**
	Plodina	Jetel luční	Jetel luční	Vojtěška setá	Vojtěška setá
	Založení pokusu:	4/2016	4/2018	4/2016	4/2017
2016	Polyversum 1 (PO1)	25.10.	-	28.10.	-
	Polyversum 2 (PO2)	10.6., 16.8., 25.10	-	3.6., 27.9., 28.10	-
	Odběr kořenů	8.11.; 25 x 12,5 cm	-	2.11.; 25 x 12,5 cm	-
	Termíny sečí	11.8.,18.10.	-	20.10.	-
2017	Polyversum 1 (PO1)	12.9.	-	26.10.	3.11.
	Polyversum 2 (PO2)	16.6., 28.7., 12.9.	-	29.5., 7.7., 28.8., 26.10.	3.11.
	Odběr kořenů	2.11.; 50 x 12,5 cm	-	14.11.; 50 x 12,5 cm	10.11.; 25 x 12,5 cm
	Termíny sečí	6.6., 18.7., 6.9.	-	18.5., 28.6., 17.8., 19.10.	20.6., 31.7., 19.9.
2018	Polyversum 1 (PO1)	19.9.	3.6.	9.10.	25.5.
	Polyversum 2 (PO2)	3.6., 16.7., 19.9.	19.9.	13.4*., 17.5., 21.6., 14.8., 9.10.	25.5., 15.10.
	Polyversum 3 (PO3)	-	3.6. a 19.9.	-	-
	Odběr kořenů	2.10.; 100 x 12,5 cm	12.10.; 33 x 12,5 cm	16.10.; 50 x 12,5 cm	1.11.; 50 x 12,5 cm
	Termíny sečí	29.5., 16.7., 19.9.	10.6. a 28.8.	10.5., 14.6., 31.7., 9.10.	4.5., 11.6., 19.7., 20.9.
2019	Polyversum 1 (PO1)		6.4.	-	11.6.
	Polyversum 2 (PO2)	6.4., 28.6., 30.7.	13.9.	12.4*., 24.5., 9.7., 27.8.	11.6., 15.10.
	Polyversum 3 (PO3)	-	6.4., 28.6., 30.7., 13.9.	-	-
	Odběr kořenů	-	8.10.; 50 x 12,5 cm	29.10.; 50 x 12,5 cm	1.11.; 50 x 12,5 cm
	Termíny sečí	19.6., 30.7.	19.6., 30.7., 19.9.	16.5., 27.6., 12.8., 3.10.	17.5., 24.6., 9.8., 24.9.

*= do intenzivního ošetřování byla zařazena i jarní aplikace

Tab. 2 Efekt aplikace přípravku Polyversum na stanovišti Větrov 1 v porostu jetele lučního na hustotu porostu (PD), průměr hlavního kořene (TD), podíl větvících kořenů (RB), počet větví kořene (LRN), podíl nemocných kořenů (IP), stupeň napadení kořene (PRDS), výnos sušiny (DMY), stlačená výška porostu (CH), procentické porovnání výnosů oproti kontrole (%DMY).

Rok	Ošetření	PD	TD	RB	LRN	IP	PRDS	CH	DMY	%DMY
2016	Neošetřená kontrola	536	5,93	31,1^{a}	2,35	30,9	1,75	-	6,88	100
	Polyversum 1	532	5,75	44,9^{b}	3,04	23,6	1,88	-	7,21	105
	Polyversum 2	599	5,68	51,6^{b}	2,70	24,5	1,59	-	6,76	98
	P	0,672	0,069	**0,021**	0,272	0,371	0,733	-	0,058	-
2017	Neošetřená kontrola	350	8,67	56,4	2,44	79,0	3,07	46,3	17,45	100
	Polyversum 1	382	8,77	59,0	2,26	76,6	3,01	46,6	16,64	95
	Polyversum 2	397	8,77	53,4	2,24	74,9	2,98	46,7	17,77	102
	P	0,722	0,891	0,622	0,486	0,161	0,935	0,133	0,344	-
2018	Neošetřená kontrola	198	8,57^{b}	48,0^{a}	2,01	93,7	4,94^{b}	33,7^{a}	11,17^{a}	100
	Polyversum 1	202	9,44^{a}	55,0^{ab}	2,19	95,6	4,53^{a}	36,1^{ab}	11,77^{ab}	105
	Polyversum 2	222	8,93^{a}	61,0^{b}	2,34	94,9	4,63^{a}	38,1^{b}	13,15^{b}	118
	P	0,711	**0,012**	**0,041**	0,096	0,712	**0,011**	**<0,001**	**0,029**	-

P: pravděpodobnost F-testu, třífaktorová ANOVA (varianta, odrůda, blok) s interakcí odrůda × varianta. Písmenné indexy vyjadřují rozdíly Tukey testu na hladině $\alpha = 0,05$.

Tab. 3 Efekt aplikace přípravku Polyversum na stanovišti Větrov 2 v porostu jetele lučního na hustotu porostu (PD), průměr hlavního kořene (), podíl větvících kořenů (RB), počet větví kořene (LRN), podíl nemocných kořenů (IP), stupeň napadení kořene (PRDS), výnos sušiny (DMY), stlačená výška porostu (CH), procentické porovnání výnosů oproti kontrole (%DMY).

Rok	Ošetření	PD	TD	RB	LRN	IP	PRDS	CH	DMY	%DMY
2018	Kontrola	268	3,34	7,16^{a}	0,80	41,7^{b}	2,00^{b}	-	-	
	Polyversum 1	404	3,75	20,17^{a}	1,54	26,8^{ab}	1,59^{ab}	-	-	
	Polyversum 2	509	3,95	20,08^{a}	1,53	15,5^{a}	0,70^{a}	-	-	
	Polyversum 3	299	3,94	16,74^{a}	1,45	38,6^{b}	1,74^{ab}	-	-	
	P	0,322	0,064	**0,026**	0,211	**<0,001**	**<0,001**	-	-	
2019	Kontrola	179	7,33^{a}	54,28	2,93	92,1^{a}	4,63^{a}	28,3^{a}	7,38	100
	Polyversum 1	287	7,71^{a}	49,08	2,26	98,2^{a}	4,66^{a}	28,3^{a}	7,61	103
	Polyversum 2	269	7,10^{a}	38,18	1,85	91,5^{a}	3,21^{b}	29,6^{ab}	8,28	112
	Polyversum 3	406	6,69^{b}	38,33	1,95	86,1^{a}	4,03^{a}	31,0^{b}	8,79	119
	P	0,106	**0,029**	0,202	0,161	**0,030**	**<0,001**	**0,036**	0,323	

P: pravděpodobnost F-testu, dvoufaktorová ANOVA (varianta, blok). Písmenné indexy vyjadřují rozdíly Tukey testu na hladině $\alpha = 0,05$.

Tab. 4 Efekt aplikace přípravku Polyversum na stanovišti v Červeném Újezdě v porostu vojtěšky seté na hustotu porostu (PD), průměr hlavního kořene (TD), podíl větvících kořenů (RB), počet větví kořene (LRN), podíl nemocných kořenů (IP), stupeň napadení kořene (- PRDS), výnos sušiny (DMY), stlačená výška porostu (CH), procentické porovnání výnosů oproti kontrole (%DMY).

Rok	Ošetření	PD	TD	RB	LRN	IP	PRDS	CH	DMY	%DMY
	Kontrola	280	3,74	49,80	2,06	15,00	1,50	-	1,14	100
2016	Polyversum 1	511	4,63	65,56	2,24	5,48	1,25	-	1,11	97
	Polyversum 2	252	3,72	58,72	1,59	11,11	2,25	-	1,05	92
	P	0,058	0,080	0,302	0,327	0,236	0,267	-	0,857	-
	Kontrola	297	6,31	65,43	2,60	41,18	2,14	39,6[a]	13,98	100
2017	Polyversum 1	269	6,73	72,48	2,37	40,26	1,74	38,0[b]	12,84	92
	Polyversum 2	346	6,53	74,87	2,62	34,34	1,41	37,9[b]	13,38	96
	P	0,668	0,345	0,290	0,523	0,586	0,094	**0,032**	0,199	-
	Kontrola	308	6,05	49,22	2,26	30,68	2,04	30,5[b]	9,77	100
2018	Polyversum 1	276	6,15	37,84	1,81	35,44	2,82	28,7[a]	9,42	96
	Polyversum 2	304	5,89	42,95	2,12	25,29	3,14	29,5[ab]	9,46	97
	P	0,722	0,915	0,422	0,312	0,365	0,337	**0,018**	0,588	-
	Kontrola	280	7,23	63,76	2,02	40,00	2,63	34,6	13,97	100
2019	Polyversum 1	280	7,27	73,08	2,34	48,75	2,08	33,7	13,11	94
	Polyversum 2	298	7,35	66,50	2,07	40,00	2,15	32,7	12,71	91
	P	0,893	0,957	0,422	0,469	0,434	0,332	0,086	0,364	

P: pravděpodobnost F-testu, dvoufaktorová ANOVA (varianta, blok). Písmenné indexy vyjadřují rozdíly Tukey testu na hladině $\alpha = 0,05$.

Tab. 5 Efekt aplikace přípravku Polyversum na stanovišti v Jevíčku v porostu vojtěšky seté na hustotu porostu (PD), průměr hlavního kořene (TD), podíl větvících kořenů (RB), počet větví kořene (LRN), podíl nemocných kořenů (IP), stupeň napadení kořene (PRDS), výnos sušiny (DMY), procentické porovnání výnosů oproti kontrole (%DMY).

Rok	Ošetření	PD	TD	RB	LRN	IP	PRDS	DMY	%DMY
2017	Kontrola	357	5,43	71,54	2,97	13,73	1,57^{ab}	5,84	100
	Polyversum 1	385	5,41	69,25	2,92	27,27	1,53^{a}	6,83	117
	Polyversum 2	581	5,37	54,91	2,48	14,46	1,08^{b}	6,55	112
	P	0,322	0,613	0,258	0,340	0,104	**0,027**	0,304	-
2018	Kontrola	273	6,31^{a}	58,85	2,79	75,47	1,98	10,98	100
	Polyversum 1	210	7,58^{b}	71,14	3,50	80,95	1,82	11,73	107
	Polyversum 2	283	5,98^{a}	61,15	2,86	60,50	1,86	11,54	105
	P	0,461	**0,012**	0,099	0,582	0,054	0,182	0,413	-
2019	Kontrola	154	7,97	73,54	3,02	83,33	2,64	9,71	100
	Polyversum 1	179	7,18	60,53	2,38	64,71	2,33	10,14	104
	Polyversum 2	179	8,04	66,80	3,11	76,47	2,44	10,49	108
	P	0,848	0,233	0,527	0,449	0,156	0,711	0,617	

P: pravděpodobnost F-testu, dvoufaktorová ANOVA (varianta, blok). Písmenné indexy vyjadřují rozdíly Tukey testu na hladině $\alpha = 0,05$.

Tab. 6 Ekonomické zhodnocení využívání přípravku Polyversum v polních pokusech s jetelem lučním a vojtěškou setou.

		Rok založení			1. užitkový rok			2. užitkový rok		
		Výnosový rozdíl (t/ha)	**Náklady**[1] (Kč/ha)	**Přínos aplikace**[2] (Kč/ha)	**Výnosový rozdíl** (t/ha)	**Náklady**[1] (Kč/ha)	**Přínos aplikace**[2] (Kč/ha)	**Výnosový rozdíl** (t/ha)	**Náklady**[1] (Kč/ha)	**Přínos aplikace**[2] (Kč/ha)
Jetel luční	Kontrola	6,88			17,45			11,17	-	-
Větrov 1	Polyversum 1	+0,33	1019	-266	-0,81	1019	-3449	+0,60	1019	781
	Polyversum 2	-0,12	3058	-3418	+0,32	3058	-2098	+1,98	3058	2882
Jetel luční	Kontrola	-		-	7,38			-	-	-
Větrov 2	Polyversum 1	-	1019	-	+0,23	1019	-329	-	-	-
	Polyversum 2	-	1019	-	+0,90	1019	1681	-	-	-
	Polyversum 3	-	2039	-	+1,41	4078	152	-	-	-
Vojtěška setá	Kontrola	1,14			13,98			9,77		
Červený Újezd	Polyversum 1	-0,03	1019	-1109	-1,14	1019	-4439	-0,35	1019	-2070
	Polyversum 2	-0,09	3058	-3328	-0,60	4078	-5878	-0,31	5087	-6017
Vojtěška setá	Kontrola	5,84			10,98			9,71		
Jevíčko	Polyversum 1	+0,99	1019	1951	+0,75	1019	1231	+0,43	1019	271
	Polyversum 2	+0,71	2039	91	+0,56	2039	-359	+0,78	2039	962

[1]Velkoobchodní cena přípravku Polyversum v roce 2018 byla 720,00 Kč/ha, průměrná cena služeb (postřikování) 299,40 Kč/ha,
[2]cena 1 t DMY 3000 Kč.

5. Závěr

Jetel luční a vojtěška setá tvoří většinový podíl víceletých pícnin pěstovaných na orné půdě, ale jejich kořenový systém je významně napadán houbovými chorobami, přičemž v zemědělské praxi stále neexistuje žádný doporučovaný způsob přímé ochrany.

Výsledky prezentované v této studii jasně ukázaly, že využití přípravku Polyversum významně snižovalo stupeň napadení kořene a současně stimulovalo větvení kořene jetele lučního a zvýšení výšky porostu před sklizní, což se příznivě odrazilo na výnosech. Průkazné výšení výnosu píce však bylo zaznamenáno pouze při intenzivní aplikaci přípravku ve třetím užitkovém roce a bylo více spojeno se stimulací růstu rostlin než ochranou před houbovými chorobami. Tyto výsledky jasně demonstrují potenciál tohoto způsobu biologické ochrany u jetele lučního, ale variabilní výsledky v jednotlivých letech a experimentech ukazují, že účinnost biologické ochrany kolísá v závislosti na ročníku a termínu aplikace. U vojtěšky seté se použití přípravku projevilo dokonce neprůkazně negativními, ale také pozitivními výnosovými výsledky v závislosti na stanovišti. Tyto výsledky mohou souviset s obecně nižším tlakem chorob, nevhodným načasováním aplikace a také s kombinací sucha v letech 2017-2018. Tyto výsledky nesnižují potenciál využití biologických přípravků v porostech vojtěšky seté, ale ukazují, že použití biologických přípravků v polních podmínkách můžou komplikovat složité interakce s ostatními necílovými organismy, rostlinami a prostředím. Pro pochopení všech těchto vztahů je třeba dalších výzkumů v této oblasti. Podrobnější praktická doporučení a vyšší ekonomická efektivita využití biologických přípravků v porostech jetelovin budou nyní záviset na optimalizaci načasování aplikací, což zůstává výzvou pro další výzkum.

6. Srovnání novosti metodických postupů a další přínosy

Metodika poskytuje originální výsledky o možnostech použití biologické ochrany na bázi mikroorganismu *Pythium oligandrum* v porostech jetelovin a shrnuje i současné poznatky ze světové literatury k danému tématu. Tato mykoparazitická houba je sice zkoumána již desítky let, ale studie se zaměřují především na laboratorní a skleníkové pokusy, mnohem méně pak na polní experimenty v praktických podmínkách. Sledování polních plodin se pak soustředí především na jednoleté tržní plodiny a o víceletých pícninách doposud tyto výsledky zcela chyběly. Metodika prokázala pozitivní výnosové efekty aplikace přípravku Polyversum u jetele lučního, u vojtěšky využití přípravku konzistentně pozitivních výsledků nedosáhlo. Dalším přínosem bylo komplexní sledování kořenového systému

v návaznosti na výnos i další výnosotvorné prvky, což umožnilo i lépe vysvětlit mechanismus působení přípravku na jetel luční. Aplikace ukazují značný potenciál využití přípravku u jetele, ale nezodpovězenou otázkou zatím zůstává celkové načasování následných aplikací u víceletých plodin, kde je nutné udržet efekt přípravku po výrazně delší dobu než u jednoletých plodin.

7. Ekonomický přínos

V ekonomice pěstování víceletých pícnin na orné půdě je rozhodující cena vypěstované píce a náklady na její produkci. V Tab. 6 je uvedeno porovnání rentability ošetření podle jednotlivých stanovišť. Při zhodnocení ekonomické návratnosti jetele lučního vychází nejrentabilněji ve 2. užitkovém roce na stanovišti Větrov 1 intenzivně ošetřovaná varianta přípravkem (PO2) s ekonomickým přínosem 2882 Kč na ha, základní podzimní aplikace měla přínos 781 Kč na ha. V prvních dvou letech experimentu nedošlo k významným rozdílům ve výnosech, takže ekonomický přínos zde nebyl zaznamenán. Na stanovišti Větrov 2 se ekonomicky pozitivně projevila podzimní aplikace přípravku již v prvním užitkovém roce s přínosem 1681 Kč na ha. Na lokalitě v Červeném Újezdě byl u vojtěšky seté pozorován negativní vztah ošetření k výnosu ve všech letech sledování, proto zde lze hovořit spíše o ekonomických ztrátách. Na stanovišti v Jevíčku se v průběhu tří let jako ekonomicky nejvýhodnější ukázala základní podzimní aplikace přípravku (PO1) s přínosem v průměru 1100 Kč na ha ročně, u intenzivní aplikace (PO2) nebyl významný stálý ekonomický přínos pozorován. Pro 100 % návratnost vkladů při jedné aplikaci přípravku musí dojít ke zvýšení výnosu o 340 kg DMY.ha^{-1} ročně. Při vyšším výnosu lze hovořit o rentabilním využití přípravku.

Na základě současných výsledků lze shrnout, že ošetřování přípravkem Polyversum v roce založení nepřináší pozitivní ekonomický benefit ani u jetele lučního, ani u vojtěšky seté. První ošetření u jetele lze doporučit na podzim v prvním užitkovém roce a následně opakovat aplikaci vždy minimálně na podzim po poslední seči, jako tzv. základní ošetření. V druhém užitkovém roce lze zvážit i variantu intenzivního ošetření přípravkem po sečích, která může přinést výrazný ekonomický efekt. Přípravek by se měl aplikovat na vlhkou půdu při teplotách nad 10 °C. U vojtěšky se v dlouhodobějším pohledu jako ekonomicky efektivní projevila pouze základní podzimní aplikace. Zůstává rovněž otázkou, zda se bude opakovat situace jako v roce 2018, kdy se objemná krmiva stala velmi nedostatkovou komoditou a tržní cena sena a senáže vzrostla až na trojnásobek, což by výrazně ovlivnilo výsledný ekonomický

efekt aplikací. Dlouhodobé predikce klimatických změn to spíše potvrzují. Za těchto podmínek by pak volba aplikace podobných přípravků mohla být do budoucna tou „trvale udržitelnou cestou“, jak dosáhnout kvalitních výnosů píce a také ekonomické rentability při pěstování víceletých pícnin.

8. Popis uplatnění metodiky

Předložená metodika představuje nové možnosti využití přípravku Polyversum v porostech víceletých pícnin za účelem zvýšení výnosnosti, vytrvalosti a zdravotního stavu porostů v zemědělském provozu, v odrůdovém zkušebnictví, a také v zemědělském výzkumu (včetně vysokých škol). Přípravek Polyversum prokázal pozitivní dopad při ošetřování především v porostech jetele lučního, kde vhodná aplikace přinášela výrazný pozitivní ekonomický efekt.

9. Seznam publikací, které předcházely metodice

Hakl, J., Krajíc, L., Šantrůček, J., Hrubá, M. 2009. Vliv odolnosti k napadení chorobami kořenového systému na výnos vojtěšky seté v poloprovozních podmínkách. In. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2009. Sborník příspěvků z vědecké konference. VÚRV a ČZU, Praha, p. 191-194.

Hakl, J., Hrevušová, Z., Hejcman, M., Fuksa, P. 2012. The use of a rising plate meter to evaluate lucerne (*Medicago sativa* L.) height as an important agronomic trait enabling yield estimation. Grass and Forage Science, 67, 589-596.

Hakl, J., Pisarčik, M., Hrevušová, Z., Šantrůček, J. 2017. In-field lucerne root morphology traits over time in relation to forage yield, plant density, and root disease under two cutting managements. Field Crops Research, 213. 109-117.

Hakl, J., Pisarčik, M., Fuksa, P., Šantrůček, J. 2018. Development of lucerne root morphology traits in lucerne-grass mixture in relation to forage yield and root disease score. Field Crops Research, 226, 66-73.

Pisarčik, M., Hakl, J., Hrevušová, Z. 2020. Effect of *Pythium oligandrum* and poly-beta-hydroxy butyric acid application on root growth, forage yield and root diseases of red clover under field conditions. Crop protection. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104968. (In press)

10. Literatura

Benhamou, N., Rey, P., Chérif, M., Hockenhull. J., Tirilly, Y. 1997. Treatment with the mycoparasite Pythium oligandrum triggers induction of defense-related reactions in tomato roots when challenged with Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici. Phytopathology 87(1). 108-122.

Bocsa, I., Pummer, L., Horompoli, T. 1994. Importance of main Alfalfa Diseases in Eastern Europe as Determined by the use of specifically Resistant Varieties. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica. 29 (1-2). 39-48.

Boček, S., Salaš, P., Sasková, H., Mokričková, J. 2013. Effect of Alginure® (seaweed extract), Myco-Sin® VIN (sulfuric clay) and Polyversum® (Pythium oligandrum Drechs.) on yield and disease control in organic strawberries. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. 60. 19-28.

Brimmer, T. A., Boland, G. J. 2003. A review of the non-target effects of fungi used to biologically control plant diseases. Agriculture, Ecosystems and Environment. 3-16.

Brožová, J. 2002. Exploitation of the mycoparasitic fungus Pythium oligandrum in plant protection. Plant Protection Science 38(1). 29-35.

Diguita, C. F., Rousseaux, S. Weidmann, S., Bretin, N., Vincent, B., Guilloux-Banatier M., Alexandre, H. 2010. Development of a qPCR assay for specific quantification of Botrytis cinerea on grapes. FEMS microbiology letters 313(1). 81-87.

Drechsler, C. 1946. Several species of Pythium peculiar in their sexual development. Phytopathology 36. 781-864.

Gerbore, J., Benhamou, N., Vallance, J., Le Floch, G., Grizard, D., Regnault-Roger, C., Rey, P. 2014. Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of Pythium oligandrum. Environmental Science and Pollution Research 21(7). 4847-4860.

Hakl, J., Hrevušová, Z., Hejcman, M., Fuksa, P. 2012. The use of a rising plate meter to evaluate lucerne (*Medicago sativa* L.) height as an important agronomic trait enabling yield estimation. Grass and Forage Science, 67. 589-596.

Hakl, J., Pisarčik, M., Hrevušová, Z., Šantrůček, J. 2017. In-field lucerne root morphology traits over time in relation to forage yield, plant density, and root disease under two cutting managements. Field Crops Research. 213. 109-117.

Hakl, J., Pisarčik, M., Fuksa, P., Šantrůček, J. 2018. Development of lucerne root morphology traits in lucerne-grass mixture in relation to forage yield and root disease score. Field Crops Research. 226. 66-73.

Hanson, E. W., Kreitlow, K. W. 1953. The many ailments of clover. Pages 217-228 in US. Dept. of Agric. Yearbook. Office editors. Plant Diseases, United States Government Printing. Washington D. C.

Hýsek, J., Vach, M., Javůrek, M. 2008. Biologická ochrana obilnin proti houbovým fytopatogenům. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby,v.v.i. 24 p. ISBN 978-80-87011-56-0.

Chilton, S. J. P., Henson, L., Johnson, H. W. 1943. Fungi reported on species of Medicago, Melilotus, and Trifolium. United States Department of Agriculture, Washington D.C.

Jacob, I., Hartmann, S., Schubiger, F. X., Struck, C. 2015. Resistance screening of red clover cultivars to Colletotrichum trifolii and improving the resistance level through recurrent selection. Euphytica. 204. 303-310.

Jenkyn, J. F. 1975. The effect of benomyl sprays on Sclerotinia trifoliorum and yield of red clover. Annals of Applied Biology. 81(3). 419-423.

Kazda, J., Mikulka, J., Prokinová, E. 2010. Encyklopedie ochrany rostlin: polní plodiny. Vyd. 1.Praha:ProfiPress. 399 p. ISBN 978-80-86726-34-2.

Klimenko, I., Razgulayeva, N., Gau, M., Okumura, K., Nakaya, A., Tabata, S., Kozlov, N. N., Isobe, S. 2010. Mapping candidate QTLs related to plant persistency in red clover. Theoretical and applied genetics 120(6). 1253-1263.

Kůdela, V. 1970. Způsob hodnocení odolnosti odrůd vojtěšky vůči cévnímu vadnutí. Rostlinná výroba. 16 (9). 1041-1050.

Kůdela, V. 1978. Soustava ochranných opatření proti cévnímu vadnutí vojtěšky. Metodiky pro zavádění výsledků výzkumu do praxe. ÚZTIZ. 2. 27 p.

Larkin, R. P., English, J. T., Mihail, J. D. 1995. Effects of infection by Pythium spp. on root system morphology of alfalfa seedlings. Phytopathology,85(4). 430-435.

Larkin, R. R, English, J. T., Mihail, J. D. 1996. The relationship of infection by Pythium spp. to root system morphology of alfalfa seedlings in the field. Plant Dis. 80. 281-285.

Lawes, J. B., Gilbert, J. H. 1880. Agricultural, botanical, and chemical results of experiments on the mixed herbage of permanent meadow, conducted for more than twenty years in succession on the same land. Part I. Philosophical Transactions of the Royal Society of London 171. 289-416.

Lawes, J. B., Gilbert, J. H., Evan, P. 1860. On the source of the nitrogen; with special reference to the question whether plants assimilate free or uncombined nitrogen. Proc. R. Soc. Lond. 10. 544-557.

Le Floch, G., Tambong, J., Vallance, J., Tirilly, Y., Lévesque, A., Rey, P. 2007. Rhizosphere persistence of three Pythium oligandrum strains in tomato soilless culture assessed by DNA macroarray and real-time PCR. FEMS microbiology ecology 61(2). 317-326.

Leath, K. T., Kendall, W. A. 1978. Fusarium root rot of forage species: pathogenicity and host range. Phytopathology 68. 826-831.

Leath, K. T., Zeiders, K. E., Byers, R. A. 1973. Increased Yield and Persistence of Red Clover after a Soil Drench Application of Benomyl. Agron. J. 65. 1008-1010.

Lewis, K., Whipps, J. M., Cooke, R. C. 1989. Mechanisms of biological disease control with special reference to the case study of Pythium oligandrum as an antagonist. Biotechnology of fungi for improving plant growth 16. 191.

Loveless, A. R. 1951. Observations on the biology of clover rot. Annals of applied biology 38(3). 642-663.

Mann, H. H. 1938. Investigations on clover sickness. The Journal of Agricultural Science 28(3). 437-455.

Marten, G. C. 1989. Summary of the trilateral workshop on persistence of forage legumes. Persistence of forage legumes, (persistenceoffo). 569-572.

Monteith, J. 1928. Clover anthracnose caused by Colletotrichum trifolii. United States department of Agriculture, Washington, D.C.

Nan, Z. B., Skipp, R. A., Long, P. G. 1991. Use of fungicides to assess the effects of root disease: effects of prochloraz on red clover and microbial populations in soil and roots. Soil biology and biochemistry 23(8). 743-750.

Nedělník, J. 2008. Choroby pícnin. In: Metodická příručka ochrany rostlin proti chorobám, škůdcům a plevelům, I. Polní plodiny, ČSR Praha, 382-383

Novosiolova, A. 2002. Increasing of red clover resistence to disease and pests. Clover in Russia. 126.

Öhberg, H., Ruth, P., Bång, U. 2008. Differential responses of red clover cultivars to Sclerotinia trifoliorum under diverse natural climatic conditions. Plant pathology 57(3). 459-466.

Pertot, I., Alabouvette, C., Hinarejos, E., Franca, S. 2015. Mini paper the use of microbial biocontrol agents against soil-borne diseases. EIP-AGRI Focus Group Soil-borne diseas.

Riday, H. 2010. Progress made in improving red clover (Trifolium pratense L.) through breeding. International Journal of Plant Breeding 4(1). 22-29.

Skipp, R. A., Christensen, M. J., Biao, N. Z. 1986. Invasion of red clover (Trifolium pratense) roots by soilborne fungi. New Zealand journal of agricultural research, 29(2). 305-313.

Směrnice Evropského parlamentu a rady 2009/128/ES ze dne 21. října 2009, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství za účelem dosažení udržitelného používání pesticidů. Úřední věstník Evropské unie. L 309. 71-86.

Suprapta, D. N. 2012. Potential of microbial antagonists as biocontrol agentsagainst plant fungal pathogens. International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences. 18(2). 1-8.

Takenaka, S., Nishio, Z., Nakamura, Y. 2003. Induction of defense reactions in sugar beet and wheat by treatment with cell wall protein fractions from the mycoparasite Pythium oligandrum. Phytopathology 93(10). 1228-1232.

Tribe, H. T. 1957. On the parasitism of Sclerotinia trifoliorum by Coniothyrium minitans. Transactions of the British mycological society 40(4). 489-499.

Vallance, J., Le Floch, G., Déniel, F., Barbier, G., Lévesque, C. A., Rey, P. 2009. Influence of Pythium oligandrum biocontrol on fungal and oomycete population dynamics in the rhizosphere. Appl. Environ. Microbiol. 75(14). 4790-4800.

Vasiljevic, S., Pataki, I., Surlan-Momirovic, G., Zivanovic, T. 2005. Production potential and persistence of red clover varieties. Integrating Efficient Grassland Farming and Biodiversity. 20. 577-580.

Vleugels, T., Baert, J., Van Bockstaele, E. 2013. Evaluation of a diverse red clover collection for clover rot resistance (*Sclerotinia trifoliorum*). Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences. 78(3). 519-522.

Wallenhammar A. C., Adolfsson, E., Engström, M., Henriksson, M., Lundmark, S., Roempke, G., Ståhl, P. 2006. Field surveys of Fusarium root rot in organic red clover leys. Grassland Science in Europe 11. 369-371.

Weston, W. D., Loveless, A. R., Taylor, R. E. 1946. Clover rot. The Journal of Agricultural Science 36(1). 18-28.

Yli-Mattila. T., Kalko, G., Hannukkala, A., Paavanen-Huhtala, S., Hakala, K. 2010. Prevalence, species composition, genetic variation and pathogenicity of clover rot (Sclerotinia trifoliorum) and Fusarium spp. in red clover in Finland. European journal of plant pathology 126(1). 13.

Young, A., Morton, J. C., 1862. Arthur Young's Farmer's Calendar: Describing the business necessary to be performed on various kinds of farms during every month in the year. Routledge, Warne, and Routledge. London. 624 p.

Seznam tabulek:

Tab. 1 Termíny aplikací přípravku, provedených sečí a odběrů kořenů dle jednotlivých lokalit a experimentů

Tab. 2 Efekt aplikace přípravku Polyversum na stanovišti Větrov 1 v porostu jetele lučního

Tab. 3 Efekt aplikace přípravku Polyversum na stanovišti Větrov 2 v porostu jetele lučního

Tab. 4 Efekt aplikace přípravku Polyversum na stanovišti v Červeném Újezdě v porostu vojtěšky seté

Tab. 5 Efekt aplikace přípravku Polyversum na stanovišti v Jevíčku v porostu vojtěšky seté

Tab. 6 Ekonomické zhodnocení využívání přípravku Polyversum v polních pokusech s jetelem lučním a vojtěškou setou

Seznam obrázků:

Obrázek 1 Sklizeň porostu jetele lučního sklízecím strojem Haldrup dne 6. 6. 2017.

Obrázek 2 Měření výšky porostu pomocí talířového měřidla.

Obrázek 3 Příklady intenzivního větvení vojtěšky seté.

Obrázek 4 Příčné řezy hlavním kořenem vojtěšky seté s různým stupněm napadení.

Obrázek 5 Porovnání intenzivně ošetřované varianty aplikace přípravku (uprostřed) v porovnání s neošetřenou kontrolou po stranách dne 11.4. 2018.

Název: Využití přípravku Polyversum pro zvýšení vytrvalosti a výnosů porostů jetelovin

Autoři: Martin Pisarčik, Josef Hakl, Ladislav Menšík, Ondřej Szabó

Vydala: Česká zemědělská univerzita v Praze
Vydání: rok 2019
Počet stran: 38

ISBN 978-80-213-2987-4.