

Postupy pro ochranu brambor před onemocněním obecnou strupovitostí pomocí přídavek mikroelementů a podpůrných mikroorganismů.

Certifikovaná metodika

2022

M. Marečková^{1,2}, V. Kopačka³, V. Krejča⁴, V. Klička³, T. Patrmanová¹,
D. Rapoport¹, J. Kopecký¹



¹ Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., tým epidemiologie a ekologie mikroorganismů, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně

² Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Kamýcká 129, 165 00, Praha 6 – Suchbát

³ Vesa Velhartice, a.s., Velhartice, 341 42 Kolinec

⁴ Selekt Pacov, a.s., Starodvorská 352, 395 01 Pacov

Dedikace

Metodika vznikla s podporou Ministerstva zemědělství České republiky v rámci projektů QK1810370 (program KUS) a RO 0418 (institucionální projekt Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i.)

Oponenti

Ing. Jan Žižka, Ministerstvo zemědělství ČR

Doc. RNDr. Petr Baldrian, PhD., Mikrobiologický ústav AVČR, v.v.i.

Metodika byla schválena MZe ČR, Odborem rostlinných komodit pod č.j. MZE - 10634/2023 - 13121

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2023

ISBN 978-80-7427-407-7

OBSAH

Abstrakt	2
Cíl metodiky	3
Úvod do problematiky	3
Tradiční postupy ochrany před AOSB: výběr místa, odrůdy a redukce inokula přenášeného sadbou	7
Nové možnosti ochrany před AOSB: supresivní půdy a manipulace půdního mikrobiomu.	10
Uplatněné metodické postupy ochrany před AOSB	19
Železo, vliv dostupnosti na plodinová onemocnění a využitelnost pro potlačení AOSB.	19
Sekvenční analýza dostupnosti železa a dalších mikroprvků.	21
Bakteriální kmeny pro biologickou ochranu rostlin	22
Selekce kmenů pro produkci látek potlačujících onemocnění	23
Selekce kmenů pro produkci sideroforů	24
Selekce kmenů solubilizujících fosfáty a produkujících růstový hormon kyselinu indolactovou	26
Nádobové pokusy	27
Testování aplikace dostupného chelatovaného železa v nádobových experimentech	27
Testování inokulace bakteriálních kmenů v nádobových experimentech ...	31
Testování aplikace dostupného chelatovaného železa a inokulace bakteriálních kmenů v polních podmínkách	32
Aplikace železa	32
Aplikace bakteriálních kmenů	35
Výsledky experimentů a postup jejich další aplikace do praxe.	30
Ekonomické aspekty	31
Uživatelé a uplatnění	33
Novost postupů	33
Závěry pro praxi	35
Publikace, které předcházely metodice	38
Aplikované výsledky, které předcházely metodice	39
Reference	40
Seznam použitých zkratk a pojmů	46

Abstrakt

Certifikovaná metodika je zaměřena na nové postupy, které snižují výskyt a závažnost aktinobakteriální obecné strupovitosti brambor. V teoretické rovině vychází ze znalostí výživy rostlin, která je často v našich půdních podmínkách omezena dostupností železa. Dále vychází ze znalosti půdního mikrobiomu a jeho interakcí s patogeny, které v půdě přežívají. Pomocí aplikace dostupného železa a podpůrných bakteriálních kmenů bylo dosaženo významného snížení závažnosti onemocnění. V experimentálních podmínkách ošetření dosahovalo až 40 % snížení závažnosti onemocnění, v polních podmínkách byla efektivita proměnlivější a dosahovala 12 – 32 % snížení. Celkově bylo ošetření železem účinnější a stabilnější než ošetření bakteriálními kmeny. Metodika přináší i nové postupy monitoringu výskytu patogenních streptomycet pro předcházení šíření a doporučení nových postupů hodnocení závažnosti AOSB.

Klíčová slova

Aktinobakteriální obecná strupovitost brambor, *Streptomyces*, ostrov patogenity, dostupnost železa, půdní mikrobiální společenstva

Abstract

The certified methodology is focused on new procedures, which regulate the occurrence and severity of actinobacterial common scab of potatoes. On a theoretical level, it is based on knowledge of plant nutrition, which is often limited by the availability of iron in Czech soil conditions. It is also based on knowledge on soil microbiome and its interactions with soil-born pathogens. A significant reduction in disease severity was achieved using available iron supplements and plant growth promoting bacterial strains. In experimental conditions new treatments reached up to 40% reduction of disease severity, in field conditions the efficiency was more variable and reached 12-32% reduction. Overall, the iron treatment was more effective and stable than the bacterial strain treatment. The methodology also brings new procedures for monitoring the occurrence of pathogenic streptomycetes to prevent the spreading of the disease and recommends new procedures for assessing the AOSB severity.

Key words

Actinobacterial common scab of potatoes, *Streptomyces*, pathogenicity island, iron availability, soil microbial communities

Cíl metodiky

Cílem metodiky je 1) poskytnout pěstitelům a organizacím státní správy nově vyvinuté postupy pro ochranu brambor před aktinobakteriální obecnou strupovitostí, které byly testovány v experimentálních i polních podmínkách a 2) vysvětlit teoretickou podstatu nově vyvinutých postupů, a na jejich základě také doporučit nové postupy hodnocení výskytu patogenních streptomycet a stanovení závažnosti onemocnění.

Úvod do problematiky

Aktinobakteriální obecná strupovitost je celosvětovým problémem pěstování brambor

Aktinobakteriální obecná strupovitost brambor (AOSB) je onemocnění způsobené patogenními druhy rodu *Streptomyces*, které jsou rozšířeny po celém světě. V genomu těchto aktinobakterií je velký ostrov patogenity (325–660 kb), jehož nejdůležitější determinantou jsou geny kódující syntézu fytotoxinu thaxtominu A, z nichž především geny *txtA* a *txtB* se používají pro stanovení a kvantifikaci patogenů odpovědných za onemocnění (Box 1).

Nejlépe charakterizovanými patogeny způsobujícími AOSB jsou druhy *S. scabiei*, *S. turgidiscabies*, *S. acidiscabies* a *S. ipomoeae* (Loria et al., 2008). Kromě těchto čtyř hlavních patogenních bakterií existují další hlášené patogeny, které způsobují AOSB, a to *S. europaescabiei*, *S. stelliscabiei*, *S. luridiscabiei*, *S. puniscabiei*, *S. niveiscabiei*, *S. reticuliscabiei*, *S. caviscabiei*, a *S. bottropensis* (Liang et al., 2019). Navíc je pravděpodobné, že existuje mnoho dalších lokálních druhů a kmenů, které si předávají ostrov patogenity horizontálním přenosem, a proto jsou přizpůsobeny podmínkám prostředí, které se mohou velmi odlišovat (Box 2, Obr. 1).

Rozšíření, závažnost a výskyt AOSB byly na celém světě studovány ve vztahu k fyzikálně-chemickým a mikrobiálním vlastnostem půdy, ale onemocnění je stále velmi rozšířené a žádné postupy potlačující onemocnění nejsou dostatečně účinné. Tradiční strategie zahrnovaly změnu zavlažování a změnu pH půdy. Snížení pH půdy pod 5,2 nebo zvýšení nad 8,5 snižovalo intenzitu onemocnění AOSB, ačkoli patogen *Streptomyces scabiei* byl pouze potlačen, nikoli zahuben, podobně zvýšení i snížení závlahy dokázalo snižovat závažnost onemocnění (Waterer, 2002).

Box 1. Primery pro polymerázovou řetězovou reakci (PCR a qPCR).

Zavedení molekulárního stanovení a kvantifikace patogenních streptomycet působících AOSB. Metoda PCR, kvalitativní a kvantitativní, umožní včasnou detekci přítomnosti patogenních bakterií i bez viditelných příznaků na odolných odrůdách a také přímo v polní půdě před výsadbou brambor. Oba tyto postupy jsou důležité jako opatření proti přenosu patogenů se sadbou a jako dlouhodobá prevence onemocnění.

- primery pro **detekci patogena** (prostřednictvím genů *txtA* a *txtB*):

Stx1a GTGGACCGTGGAGCATCT

Stx1b CAGTTCGGCGTAACTCAGC (Flores-González et al., 2008)

Protokol pro PCR test: denaturace – 94°C, 2 min, 35 × (nasednutí primerů - 60°C, 50 s; elongace - 72°C, 30 s, denaturace - 94°C, 1 min), nasednutí primerů - 60°C, 50 s, závěrečná elongace - 72°C, 7 min

- pro **analýzu příbuznosti** patogenních kmenů (amplifikací a sekvenováním oblasti mezi geny *txtB* a *txtC*):

txtBC1_F CCTTCACACCCTGRACAT

txtBC1_R AGTTCGGTGAAGTTGGGY (Kopecký et al., unpublished)

Protokol pro přípravu amplikonu: denaturace – 94°C, 2 min, 35 × (nasednutí primerů - 56°C, 50 s; elongace - 72°C, 90 s, denaturace - 94°C, 1 min), nasednutí primerů - 56°C, 50 s, závěrečná elongace - 72°C, 7 min

- pro **kvantifikaci** patogenních kmenů (amplifikací krátkého úseku genu *txtB*):

StrepF GCAGGACGCTCACCAGGTAGT

StrepR ACTTCGACACCGTTGTCCTCAA (Qu et al., 2008)

Protokol pro kvantitativní PCR test: denaturace – 95 °C, 10 min, 45 × (denaturace – 95 °C, 15 s, nasednutí primerů – 60 °C, 30 s, elongace – 72 °C, 30 s).

I v současnosti se ovšem výskyt onemocnění i jeho potlačení velmi obtížně předvídá, protože i se známým patogenním druhem *Streptomyces*, ve známé koncentraci a v kontrolovaných podmínkách prostředí (skleník nebo růstové komory) se rozsah symptomů liší od téměř žádných až po závažné na hlízách z jedné rostliny v jedné nádobě. Nové nástroje molekulární genetiky umožnily lepší pochopení genetiky rezistence vůči AOSB a regulaci produkce thaxtominu a přispívajících faktorů patogenity pro vhodnější postupy kontroly onemocnění. Patogenní streptomycety se významně liší v agresivitě a existují specifické souhry rostlinného genotypu a patogenu, ale mechanismus patogenity založený na produkci thaxtominu je pravděpodobně zachován u všech patogenních druhů.

AOSB je onemocnění potenciálně ovlivněné minerálními živinami, protože jejich nedostatek oslabuje rostliny, a tím zvýhodňuje patogenní streptomyce. Předchozí studie spojovaly se závažností AOSB obsahy dusíku, fosforu, draslíku, vápníku, hořčíku, železa, zinku, manganu, mědi a hliníku a to jak v půdě, tak rostlinné tkáni. Účinnost přídavků živin pro ochranu před AOSB byla poměrně extenzivně zkoumána, ale účinky se lišily podle lokality, kultivaru a roku (Kopecky et al., 2021; Křišťůfek et al., 2015). Druhý mechanismus ochrany před tímto onemocněním spočívá ve využití interakcí mezi rostlinami, mikroorganismy a půdou, a to především (1) produkce antibiotických látek některými bakteriemi a houbami, (2) konkurence o zdroje organického uhlíku mezi nepatogenními a patogenními streptomycetami, (3) indukce systémové rezistence aplikací kmenů příbuzných patogenům, a (4) zlepšení růstu rostlin podpůrnými bakteriálními kmeny.

Box 2. Determinace druhů patogenních streptomycet

Detekce genů ostrova patogenity druh pomocí PCR s primery Stx1a/Stx1b (viz. Box 1).

Určení fylogenetického původu (taxonomické zařazení kmene amplifikací a sekvenováním genu pro 16S rRNA) pomocí primerů:

16Seu27f AGAGTTTGATCMTGGCKCAG (Čermák et al., 2008)

pH AAGGAGGTGATCCAGCCGCA (Bruce et al., 1992)

Protokol pro přípravu amplikonu: denaturace – 94°C, 2 min, 35 × (nasednutí primerů - 57°C, 50 s; elongace - 72°C, 90 s, denaturace - 94°C, 1 min), nasednutí primerů - 57°C, 50 s, závěrečná elongace - 72°C, 7 min

Určení patogenního druhu je užitečné kvůli související adaptaci jednotlivých druhů na podmínky prostředí, které jim vyhovují a mohou být využity pro jeho potlačení. Na většině míst se budou patrně kromě známých patogenních druhů vyskytovat i místní „nové“ druhy, které si předávají ostrov patogenity horizontálním přenosem, a proto tyto druhy budou přizpůsobeny místním podmínkám prostředí, a v této adaptaci se mohou velmi odlišovat od určeného patogenního kmene. Potlačení těchto lokálních patogenních druhů může být proto obtížněji dosažitelné úpravou půdních fyzikálně-chemických podmínek, a je proto potřeba jejich přítomnost zohlednit a nepřístupovat k omezení AOSB na všech lokalitách stejně.

Moderní výzkum se dlouhodobě zaměřuje na použití bakterií podporujících růst rostlin buď formou manipulace se složením mikrobiálních společenstev tak, aby potlačovaly fytopatogeny, nebo přídavky speciálních bakteriálních kmenů, které mají nejen potenciál snížit vstup nemocí, protože produkují bioaktivní látky včetně antibiotik, insekticidů a pesticidů, ale také podporují růst rostlin produkcí fytohormonů, jako jsou auxiny, nebo sideroforů, které dodávají železo, a dalších kmenů, které aktivují obranné dráhy rostlin (Sarwar et al., 2018). V zámoří (USA, Japonsko) ale i okolních zemích (Rakousko, Německo) se v posledním desetiletí objevují nové společnosti, které se zaměřují na výběr a aplikaci mikrobiálních kmenů do půdy a na rostliny pro stimulaci růstu, kvetení a ochranu proti onemocnění pod názvy „Biostimulants“ a „Effective Microorganisms“. Rakouské společnosti jsou navíc úzce propojené s výzkumem, takže nabízejí komplexně otestované mikroorganismy, což je zásadní pro dlouhodobou udržitelnost těchto postupů.

Vhodným nástrojem omezení AOSB je také selekce odolných odrůd brambor, ale v současné době není dostupná žádná zcela odolná komerční odrůda. Ani aplikace pesticidů do půdy a na sadbu se neosvědčila. Požadovaných výsledků se částečně dosahovalo zavedením ekologického hospodaření a recyklací rostlinných zbytků, ale i tyto přístupy vyžadují další vývoj. Střídání plodin s různými rostlinami, jako je jetel červený, hořčice, řepka, slunečnice a žito následované bramborem mohou snížit choroby přenášené půdou, včetně změn v půdních mikrobiálních společenstvech. Přesto mají různé typy střídání plodin velmi odlišné účinky a komplexní výsledky testování nejsou známy (Larkin et al., 2017; Wetherington, 2015). V poslední době byly ukázány účinky úprav mikroživin, ale pouze v relativně malých případových studiích (Klikocka, 2009; Křišťůfek et al., 2015; Sarikhani et al., 2017).

Všechny zmíněné postupy, tj. selekce rezistentních odrůd, redukce inokula neseného sadbou, úprava pH půdy, střídání plodin, změna teploty a doby sklizně, přidání chemických látek a biologické manipulace však přinesly výsledky s vysokou variabilitou mezi roky a místy (Dees et al., 2013). V důsledku toho je AOSB stále nevyřešeným problémem a k nalezení vhodného řešení budou zapotřebí rozsáhlejší a komplexnější studie.

V této metodice bylo využito: 1) *přímé aplikace dostupného organicky vázaného železa do půdy s cílem doplnění limitujícího prvku, a dále 2) přídavků pečlivě vybraných bakteriálních kmenů, které solubilizují železo*

vázané v půdních minerálech, a také produkují rostlinné hormony a látky potlačující patogenní streptomycey. Přestože i tyto postupy vykazovaly místní a časovou variabilitu a bude třeba je dále zkoumat, přídatky železa byly účinné na všech lokalitách v několika letech, v nádobových i polních pokusech.

Tradiční postupy ochrany před AOSB: výběr místa, odrůdy a redukce inokula přenášeného sadbou

Patogenní streptomycey žijí v půdě nebo na povrchu hlíz; jsou saprofyty živící se organickými látkami, a proto mohou přezimovat a sloužit jako zdroj inokula v příštím roce. Jakmile jsou v půdě, mohou přežívat neomezeně dlouho, protože streptomycey produkují odolné spory, a ty se také šíří vodou a větrem na velké vzdálenosti (Driscoll et al., 2009). Základní zásadou je použití certifikované sadby, abychom úrodě brambor poskytli co největší příležitost k plnému růstu bez chorob. Šarže sadby jsou obvykle certifikovány vizuálním subjektivním hodnocením onemocnění, ale v poslední době se zavádějí postupy pomocí polymerázové řetězové reakce, jak kvalitativní, tak kvantitativní (Box 1). Mezi populačními hustotami patogenních streptomycet zjištěnými molekulárními metodami a výskytem onemocnění dceřiných hlíz byla pozorována signifikantní korelace, což dokazuje, že hodnocení populací v terénu může sloužit jako vynikající prediktor onemocnění strupovitostí (Sarikhani et al., 2017; Wang & Lazarovits, 2005). Při srovnání obou metod i vizuální hodnocení poskytovalo poměrně přesné měřítko kvality hlíz, ale PCR měla schopnost identifikovat i rozsah napadení na hlízách bez příznaků, což má velký význam u resistantnějších odrůd, které mohou sloužit jako přenašeče (Tegg & Wilson, 2010). Další významnou aplikací metody PCR je zjišťování výskytu patogenních streptomycet přímo v polní půdě a tím i nastavení efektivní prevence.

Ošetření půdy infikovaných polí není jednoduché, protože se účinnost metod liší podle typu půdy (textura a struktura) a pH. Patogenní streptomycey jsou adaptované na specifický rozsah půdního pH, typicky je *S. scabiei* adaptovaný na alkalické půdy a *S. acidiscabies* na kyselé, ostatní patogenní streptomycey ale také vykazují citlivost k pH. Pokud tedy víme, která patogenní streptomycey pole infikuje, můžeme se pokusit ji regulovat přidáním elementární síry nebo síranu amonného, které pH sníží, anebo aplikací vápna ke zvýšení pH. Tyto postupy ovšem naruší celé mikrobiální společenstvo, takže mohou způsobit i zhoršení. Naopak námi navrhovaná aplikace železa může kromě potlačení patogenů zvýšit výnos a podíl velkých hlíz (Sarikhani et al., 2017)).

Vývoj odrůd brambor s vysokou úrovní odolnosti vůči AOSB byl cílem velkého počtu programů šlechtění brambor, protože dosud představuje nejlepší metodu ochrany (Haynes et al., 2009). Nová šlechtitelská strategie založená na křížení klonů s pěstovanými odrůdami umožňuje introgresi genů rezistence do pokročilého šlechtění a umožňuje šlechtitelům začlenit do odrůd i recesivní znaky. Uvádí se, že rezistence k AOSB se nachází na dvou nezávislých lokusech, jednom dominantním a jednom recesivním. Murphy a kol. (1995) byli úspěšní při přenosu rezistence ke strupovitosti z diploidního rodiče na tetraploidní potomstvo pomocí 4x-2x křížení. Haynes a kol. (2009) však ukázali, že rezistence vůči AOSB není jednoduše děděnou vlastností a že úroveň rezistence nelze zlepšit šlechtěním v diploidní populaci. Většina nových odrůd je díky tomuto postupu stejně odolná jako středně odolný standard 'Russet Burbank'. V České republice byla provedena nedávná studie na 44 odrůdách brambor a ukázala, že mezi rezistentnější odrůdy patří Mozart, Samantana, Satina, Laura, Ornella, Flavia, Velox, Adéla, Belana, Vineta, Granola a Asterix (Sedláková et al., 2013). V pokusech se dále jako rezistentní ukázaly odrůdy Adéla a Kariera.

Je ovšem možné, že se situace s výsledky šlechtění do budoucnalepší, protože v USA byla nedávno testována odrůda 'Mountain Gem Russet' v několika regionech na různých typech půdy a ukázala úplnou rezistenci vůči patogenu AOSB (Stark et al., 2016). Dále se také v USA rozvinul výzkum botanických druhů brambor, které vykazují rezistenci vůči AOSB, mezi něž patří *Solanum chacoense*, *S. commersonii* a *S. yungasense*, *S. bukasovii*, *S. canasense* a *S. multidissectum*, a také skupina diploidních odrůd jako je Phureja. Tyto brambory proto patří mezi významné genetické zdroje. V poslední době se podařilo vyšlechtit

tři zcela nové a navíc i tetraploidní klony brambor s vysokou odolností. Ty byly získány s pomocí silného zdroje rezistence zjištěného u diploidního divokého příbuzného brambor *Solanum chacoense*. Tento divoký druh byl šlechtěn s tetraploidními kultivovanými odrůdami prostřednictvím jednostranné sexuální polyploidizace (Jansky et al., 2019, 2018a). Nové klony byly vytvořeny křížením diploidního klonu (50% *S. tuberosum*, 50 % *S. chacoense*) s tetraploidním kultivarem, vyprodukované hybridy jsou s obsahem 75 % kultivované a 25 % divoké zárodečné plazmy. Klony jsou samčí a samičí a jsou přizpůsobeny produkčnímu prostředí mírného pásma.

Posledním tradičním způsobem ochrany před AOSB je šlechtění na zvýšený obsah suberinu, což je komplexní polyesterový biopolymer, který je podobný vosku, je lipofilní a skládá se z mastných kyselin s dlouhým řetězcem. Jeho využití vychází z dříve používaného postupu, kdy byly bramborové klony odolné vůči chorobám získávány buněčnými selekcemi proti toxinu patogenu, tj. thaxtominu. Tyto klony měly širokospektrální odolnost i vůči dalším patogenům napadajícím hlízy a reagovaly jak na patogena, tak na toxin, vytvořením více korkových vrstev v peridermu hlízy a tvorbou suberinových polyfenolů v těchto tkáních. Fenotyp rezistence je způsoben infuzí zesílených vrstev peridermálních buněk a suberizací (tvorba suberinu) peridermu hlízy, což omezuje infekci. Tyto klony nabízejí cenný zdroj pro budoucí zkoumání suberizačních reakcí a jejich genetické kontroly (Tanios et al., 2020).

Nové možnosti ochrany před AOSB: supresivní půdy a manipulace půdního mikrobiomu.

Supresivní půdy jsou v současnosti patrně nejvýznamnější možností ochrany plodin před onemocněními, nejen před AOSB. V současné době se dostávají do popředí zájmu výzkumu i praxe jako ojedinělé modely pro správné fungování agroekosystémů. Obecně se vyznačují velmi nízkým rozsahem a závažností plodinových onemocnění, i když je v místě přítomen příslušný virulentní patogen a náchylný hostitel.

Supresivní půdy se rozlišují na „přirozené“ a „indukované“.

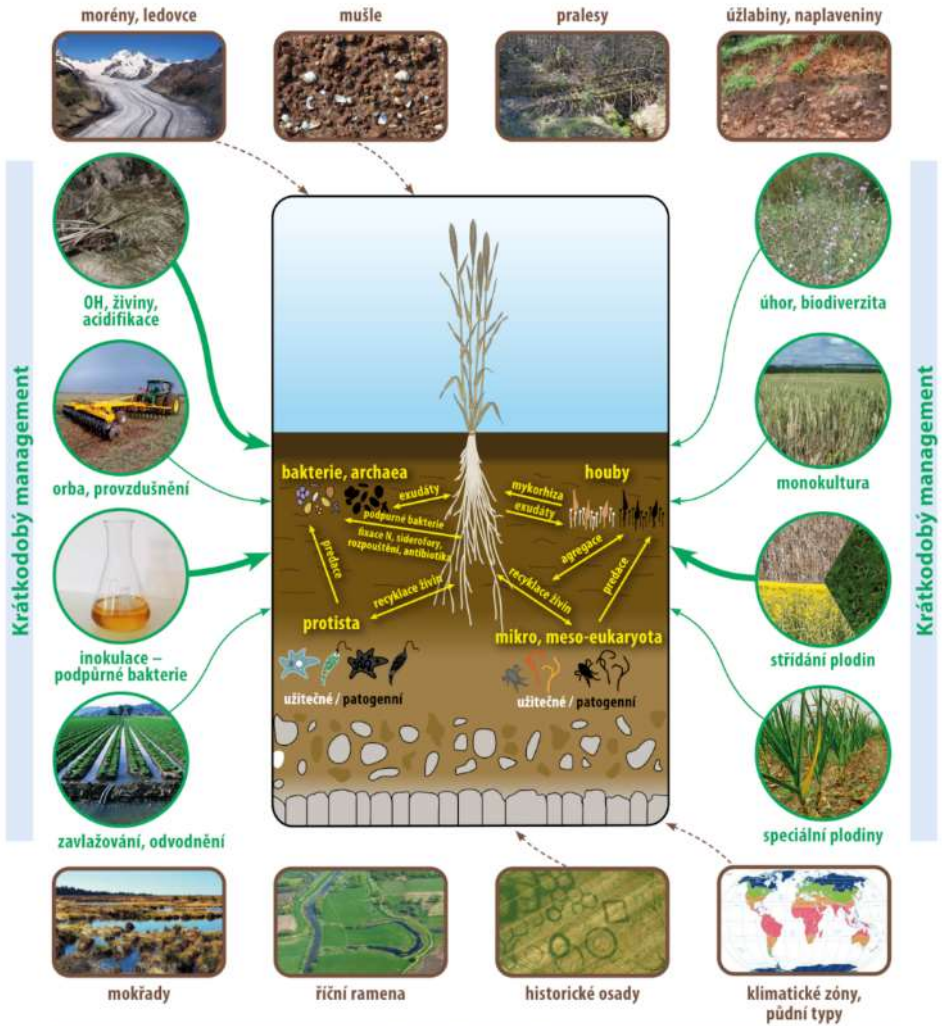
Přirozené supresivní půdy potlačují onemocnění i v nepřítomnosti určité plodiny. Jejich vznik patrně souvisí s dlouhodobým vývojem půd v dané lokalitě (Obr. 2). Indukovaná suprese je iniciována a udržována určitým typem managementu, ale obecné principy také nejsou známy.

Nejspolehlivějším ustanovením indukované supresivní půdy je dlouhodobá monokultura nebo inokulace cílového patogenu jako stimulace obranyschopnosti lokálního mikrobiomu. Další možnosti zahrnují inokulaci supresivních bakteriálních kmenů, zavedení plodin se specifickými vlastnostmi, jako je například česnek, nebo naopak střídání plodin, zavlažování apod. (Obr. 2). Supresivita je velmi pravděpodobně spojena se strukturou celého mikrobiálního společenstva založenou na antagonistických funkcích (Garbeva et al., 2004). Organismy, které působí při potlačování patogenů, tak činí prostřednictvím různých mechanismů, které zahrnují kompetice o živiny, antibiózu a indukci rezistence hostitele. Některé odrůdy, které stimulují potlačení onemocnění, mohou ve své rhizosféře zvýšit populace specifických bakterií s antagonistickou aktivitou vůči jejich patogenům (Kopecky et al., 2019; Mazzola, 2002).

Na některých lokalitách i v ČR se onemocnění AOSB téměř nevyskytuje a přitom je zde přítomna patogenní streptomyceta (Obr. 3). Tyto půdy intenzivně studujeme, protože se zdají být i celosvětově jedinečné. Právě výsledky jejich zkoumání ukázaly na potenciál využití dostupného železa. Zároveň se nám podařilo pomocí rašeliny dosáhnout manipulace společenstva tak, aby se mikrobiální společenstvo v půdě s ošetřením přiblížilo půdě supresivní a potlačovalo AOSB. Tento výzkum ale ještě vyžaduje použití jiného organického substrátu, aby bylo možné převést ho do praxe, protože rašelina se nedá plošně aplikovat.

Dlouhodobě se hledají možnosti jak supresivní půdy správně identifikovat. Některé z nich byly identifikovány na základě zvýšené dostupnosti železa, nebo podle speciálního složení jílu (Almario et al., 2013; Sarikhani et al., 2017). Byly rovněž hledány bioindikátory, a určeny skupiny bakterií, archaeí a protist, které patrně se supresivitou souvisejí (Obr. 4). Byly rovněž vyhledávány bakteriální kmeny, které jsou společné pro všechny světové supresivní půdy a tento soubor by bylo vhodné dále testovat v českých podmínkách na jedné straně pro ověření jeho platnosti, na straně druhé pro zjištění výskytu supresivních půd na našem území. Tato problematika ovšem potřebuje ještě další výzkum, který by vyhledávání zjednodušil a umožnil pěstitelům, ale i pracovníkům, kteří vyvíjejí nové způsoby ochrany rostlin, získávat podrobné poznatky právě ze supresivních půd. Kromě jejich významu pro ochranu plodin, jsou totiž supresivní půdy zásadně důležité pro definování pojmu zdravé půdy.

Dlouhodobý vývoj



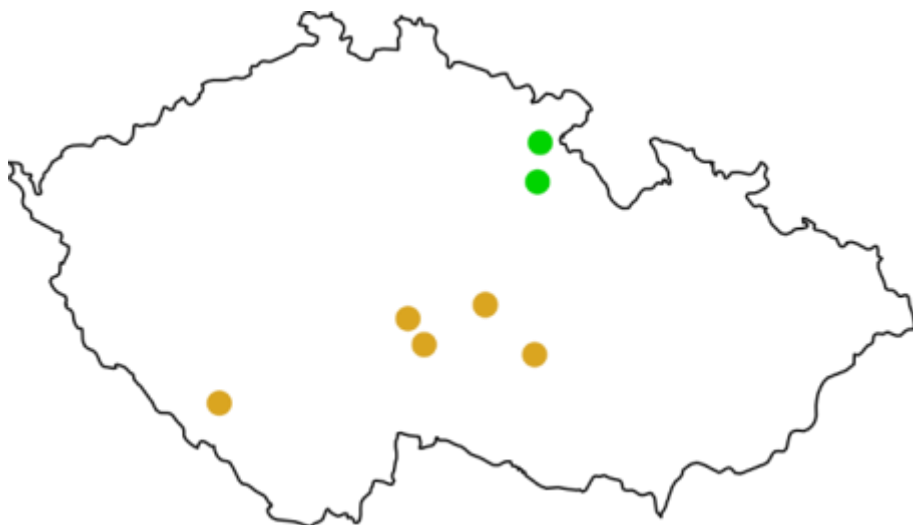
Dlouhodobý vývoj

Obr. 2. Supresivní půdy vznikají dlouhodobým vývojem, jehož podstata je většinou neznámá, nebo cíleným managementem, který je ale také zatím spíše náhodný. Oba procesy ovlivňují potravní řetězce v půdě a také poměry užitečných a patogenních mikroorganismů, tyto manipulace se také nazývají *in situ* modifikace půdního mikrobiomu. Půdy supresivní vůči chorobám plodin se vyskytují na různých místech po celém světě. Specifická supresivita je do značné míry určena krátkodobou reakcí na tlak příslušného patogena. Je ale pravděpodobné, že přirozeně supresivní půdy jsou výsledkem dlouhodobých vlivů většinou neznámé povahy. Možná vysvětlení zahrnují geologický původ, hromadění erodovaných materiálů nebo pozůstatků organismů, minulé zaplavení, historické osídlení, jakož i klimatické, půdní a vegetační zóny (přerušované šipky). K vytvoření půd potlačujících choroby byly použity různé krátkodobé manipulace, z nichž většina spočívala v přidavcích organické hmoty (OM), inokulaci rhizobakterií podporujících růst rostlin (PGPR) nebo střídání plodin (tlusté šipky); méně využívané přístupy zahrnovaly zaplavování a zavlažování, orbu a provzdušňování, acidifikaci, nebo zvyšování rozmanitosti rostlin, tedy postupy běžně používané v zemědělství za jiným účelem. Z mnoha interakcí odpovědných za potlačení onemocnění bylo intenzivně studováno pouze několik. Mezi ty chybějící patří predace včetně identifikace klíčových predátorů, dešifrování potravní sítě nebo mutualistické vztahy mezi organismy osidlujícími rhizosféru rostlin.

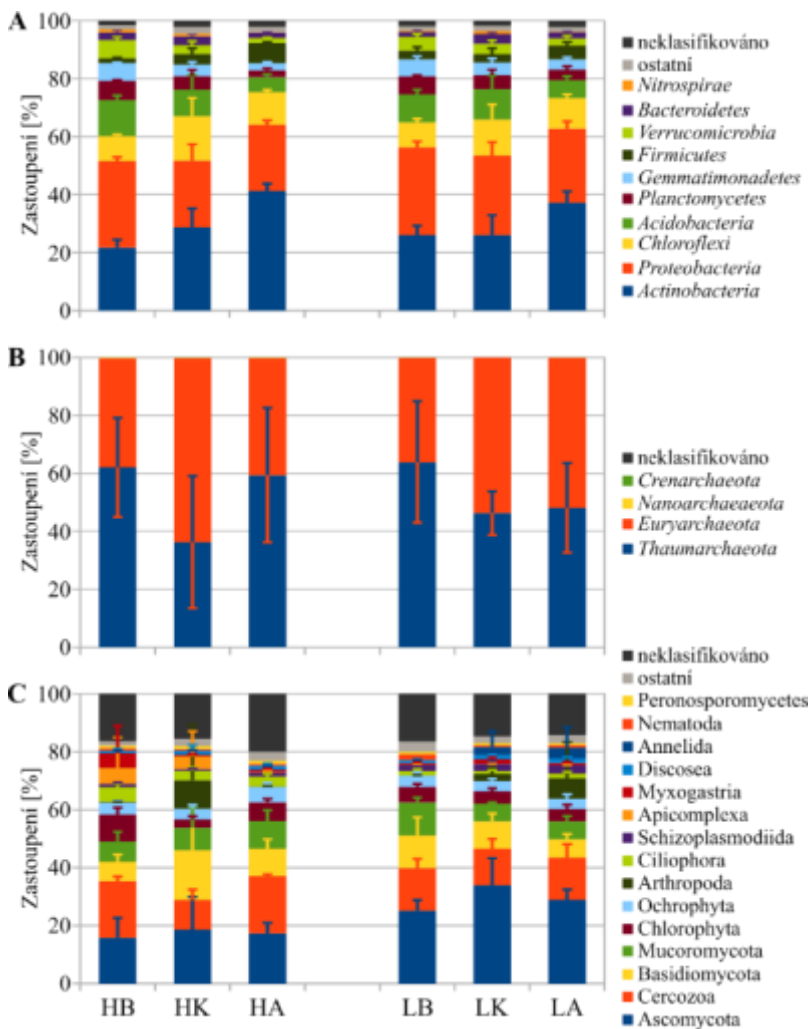
Zdraví půdy bylo definováno ze zemědělského hlediska jako schopnost půdy podporovat růst plodin, aniž by se degradovala, tj. ztrácela svou strukturu, organickou hmotu a biologickou rozmanitost (Bünemann et al., 2018; Creamer et al., 2022). Přesto je zdraví půdy ohroženo nadměrným využíváním, změnou klimatu, zasolováním, erozí, zhutňováním, vyčerpáním živin, kontaminací toxickými těžkými kovy nebo pesticidy, nadměrným spásáním a migrací půdou přenášených škůdců za pomoci člověka (Fierer et al., 2021).

Přestože bylo postupně zaváděno hospodaření s půdou, jehož cílem je zachování neprodukčních funkcí půdy, mnoho zemědělských postupů, které jsou označovány jako „udržitelné“, představuje relativně malá zlepšení a pouze zpomaluje rychlost degradace, což znamená, že půda zůstává ohrožena. Je tedy třeba řešit nejen zlepšení kvality půdy a úrodnosti, ale také obnovu potravní sítě v půdě, zadržování uhlíku v organické hmotě půdy, zlepšení schopnosti zadržovat vodu a snížení výskytu půdních škůdců a patogenů (Rhodes, 2017).

Pojem zdraví půdy zahrnuje biotické a abiotické faktory, jakož i jejich vzájemné působení. Půdní mikrobiom, rostlinné endofyty a mikrobiom rhizosféry si získaly zvláštní pozornost, protože mohou mít silný dopad na růst a zdraví rostlin. V rhizosféře hrají kritickou roli také kořenové exudáty, kterými rostliny interagují s mikroorganismy a tak podporují trofické a konkurenční interakce, které jsou pro rostlinu prospěšné (Zhang et al., 2022). A supresivní půdy představují vlastně ideální situaci půdního zdraví, ve které jsou všechny složky agroekosystému ve funkční rovnováze.



Obr. 3. Lokality v ČR se známým výskytem půd supresivních vůči obecné strupovitosti brambor (hnědé body) a nádorovitosti kořenů brukvovitých (zelené body).



Obr. 4. Poměrné zastoupení mikrobiálních kmenů (průměr \pm standardní odchylka, $n = 4$) v konduktivní (H) a supresivní (L) půdě. Společenstva bakterií (A), archaeí (B) a eukaryot (C) v tuberosféře náchylného kultivaru *Agria* (A) a rezistentního kultivaru *Kariera* (K) a ve volné půdě (B). Illumina MiSeq sekvenování ampliconů připravených z doménově specifických primerů. (Taxony organismů obecně větších než velikost vzorku (Arthropoda, Annelida) byla zahrnuta, aby bylo zobrazeno celé společenství, i když v tomto případě pouze na základě částí těl, např. odpadlých buněk epitelu.)

Mikrobiom a jeho manipulace. Metody, které transformují rezidentní mikrobiální společenstva způsobem, který ovlivňuje přirozenou supresivitu půdy, mají potenciál stát se součástí environmentálně udržitelných systémů pro management půdních patogenů (Mazzola, 2002). Z výsledků pokusů vyplývá, že některé rezistentní odrůdy brambor (Kariera), stimulují nejen inhibici onemocnění, ale mohou zvýšit populace specifických bakterií s antagonistickou aktivitou v rhizosféře. Ukázalo se, že populační hustoty aktinobakterií na povrchu hlíz odrážejí rozdíly mezi náchylnými a rezistentními odrůdami brambor (Kopecky et al., 2019; Rosenzweig et al., 2012). Větší množství aktinobakterií bylo izolováno z peridermu odrůd citlivých na strupovitost než ze středně odolných odrůd (byly to jiné aktinobakterie než patogenní streptomycety). Ve skleníkové studii mělo ošetření s nejnižším výskytem AOSB také nejnižší hustotu aktinobakterií na hlízách. Celková četnost aktinobakterií může být příkladem příznivého prostředí pro rozvoj patogenních aktinobakterií, a proto by pozitivní korelace onemocnění s půdními populacemi na začátku vegetačního období mohla být užitečná v prediktivním modelu výskytu nebo závažnosti onemocnění (Keinath & Loria, 1989).

Součástí půdního mikrobiomu, který potlačuje onemocnění, jsou bakteriální kmeny s antagonistickými vlastnostmi, které se tohoto procesu účastní produkcí enzymů, antibiotik, sideroforů, a také indukci rostlinných růstových hormonů. V minulosti byly proti AOSB použity druhy z rodů *Bacillus* a *Pseudomonas*. Vývoj mikrobiálních společenstev, která tvořila sekundární metabolity s antibiotickou aktivitou proti *S. scabiei*, byl také stimulován okyselením půdy ošetřením sírany. Ve studii Sessitsch a kol. (2004) téměř všechny izolované γ -proteobakterie a také rod *Xanthomonas* vykazovaly biologické kontrolní aktivity proti *Streptomyces scabiei*. *S. diastatochromogenes* PonSSII (nepatogenní) nebo *S. scabiei* PonR (slabý patogen). *S. albogriseolus* také patří mezi kmeny, které mohou snížit intenzitu strupovitosti (Rosenzweig et al., 2012), i když i nepatogenní kmeny patogenního druhu *S. turgidiscabies* naznačují antagonismus proti *S. scabiei* (Hiltunen et al., 2009). *Pseudomonas* sp. LBUM223 je schopna produkovat fenazin-1-karboxylovou kyselinu ovlivňující růst *S. scabiei*, expresi genů biosyntézy thaxtominu a biologický kontrolní potenciál proti AOSB (Arseneault et al., 2016). *Bacillus amyloliquefaciens* BAC03, *Bacillus subtilis* GB03 a hypovirulentní *Rhizoctonia solani* Rhs1A1 mohou být vhodným prostředkem biologické ochrany brambor před AOSB (Larkin &

Tavantzis, 2013; Meng & Hao, 2017). Biokontrolní kmeny *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *Bacillus* sp. Sunhua zvyšují uvolňování živin z hnojiv, napomáhají zakořenění a chrání rostlinu proti infekci. Kořeny rostlin jsou kolonizovány živými bakteriemi přidanými do hnojiva díky stimulaci kořenovými exudáty bohatými na uhlík. Naproti tomu mikroby zvyšují příjem živin, čímž zvyšují účinnost hnojiv a produkují metabolity, které stimulují zdravý růst a potlačují onemocnění AOSB. Příkladem manipulace dostupného železa může být využití feritinu, univerzálního intracelulárního proteinu, který uchovává železo a uvolňuje ho kontrolovaným způsobem, může být ochrannou molekulou pro rostlinné buňky, může omezit tvorbu reaktivních forem kyslíku vychytáváním intracelulárního železa. Zvýšení exprese feritinu (genu *StFI*) bylo u brambor popsáno během infekce *P. infestans*, feritin tedy může být součástí obranných reakcí hostitele spouštěných během infekce (Expert et al., 2012).

Doporučení pro praxi

Dovést nové rezistentní odrůdy. Americká rezistentní odrůda 'Mountain Gem Russet' a tetraploidní kříženci s divokou rostlinou *Solanum chacoense* také vyšlechtění v USA by měly být certifikovány i u nás aspoň pro použití v dalších šlechtitelských programech (Jansky et al., 2018b; Stark et al., 2016).

Predikovat závažnost onemocnění pomocí modelu, nebo kvantitativního PCR. Predikční model byl sestaven z 28 různých fyzikálních, chemických, biologických a zemědělských ukazatelů a výsledný výpočet je založen na dvou podle modelu roku 2010, nebo 8 ukazatelů podle modelu roku 2014 z těchto ukazatelů. Dále lze využít pozitivní korelace celkových aktinobakterií s patogenními, která byla prokázána na mnoha lokalitách. Stanovení celkového počtu nebo i relativního počtu aktinobakterií je jednodušší než kvantifikace genu pro *txtA* jako markeru patogenních streptomycet, který je ovšem také využitelný.

Predikční model vytvořený pro zajišťování prevence AOSB je sestaven z 302 měření každého vstupního parametru, tj. celkem vychází z 10872 hodnot. Povinnými vstupy do modelu jsou pouze základní půdní parametry, které si každý pěstitel může nechat snadno stanovit v zemědělské laboratoři. Tento model je zatím nejpřesnější predikce obecné strupovitosti, které bylo dosaženo u nás nebo v zahraničí. Je

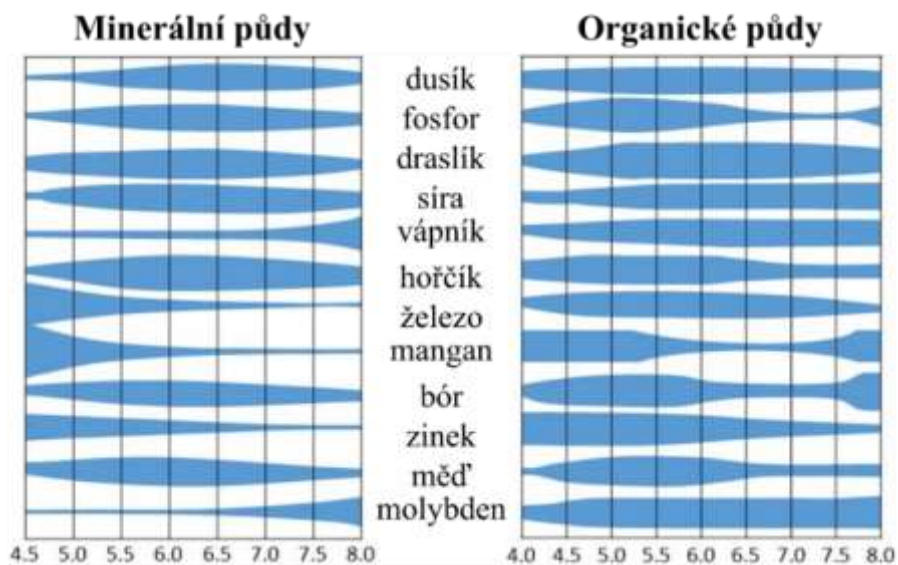
možné dosáhnout ještě vyšší přesnosti, ale pouze s využitím biologických dat týkajících se mikrobiálních společenstev, která je obtížné naměřit v běžné zemědělské praxi. Predikce onemocnění pomocí tohoto modelu je dostupná na webových stránkách: www.solanum.cz.

Uplatněné metodické postupy ochrany před AOSB

Dostatečné množství a vyváženost výživy spolu s podpůrnými bakteriálními společenstvy mohou pomoci rostlině omezit účinnost patogenů.

Železo, vliv dostupnosti na plodinová onemocnění a využitelnost pro potlačení AOSB.

Přestože je železo čtvrtým nejrozšířenějším prvkem na Zemi, nelze jej snadno asimilovat rostlinami ani mikroorganismy v aerobních půdách, protože jeho oxidovaná forma Fe^{3+} je málo rozpustná. Dostupnost Fe je také výrazně snížena v alkalických půdách ($pH > 7$) a v případě, že jsou půdy minerální s menším obsahem organického uhlíku ($< 10\%$), pak je rozpustnost železa dále snížena (Obr. 5). Podle těchto kritérií jsou všechny zemědělské půdy v ČR limitované dostupností železa (Tabulka 1; Sánka & Materna, 2004). To je v kontrastu s vysokými požadavky rostlin i mikroorganismů na využitelné železo. Rostliny potřebují železo pro syntézu DNA, dýchání, fotosyntézu; v protetických skupinách mnoha enzymů (cytochromy), k syntéze chlorofylu a je také nezbytné pro údržbu struktury a funkce chloroplastů. Bylo prokázáno, že obranyschopnost rostlin související s produkcí reaktivních kyslíkových radikálů je omezena při nedostatku železa a rostliny jsou proto náchylnější k patogenní infekci. Zvláště problematické je to v rhizosféře, kde o něj rostliny, bakterie a houby soutěží. Rostliny obecně okyselují rhizosféru, čímž lokálně zvyšují dostupnost železa a dalších živin, a exkretují organické kyseliny a fenolické sloučeniny schopné železo vázat. Železo je kořenovými buňkami přijímáno pomocí transportérů buď jako Fe^{2+} po redukcí membránovou reductázou, nebo jako Fe^{3+} v komplexech s fyto siderofory, vysokoafinitními přenašeči, jejichž produkce je známa u jednoděložných rostlin z čeledi lipnicovitých.



Obr. 5. Vliv pH půdy na dostupnost prvků v minerálních a organických půdách. Upraveno podle Kumaragamage et al. (2021).

Tabulka 1. Popisná statistika pro základní agrochemické vlastnosti orné půdy v ČR (Sáňka & Materna, 2004).

parametr	horizont	popisná statistika (mg.kg ⁻¹)					
		průměr	medián	minimum	maximum	dolní kvartil	horní kvartil
aktivní půdní reakce	ornice	7,0	7,0	5,3	8,1	6,7	7,4
pH/H ₂ O	podorničí	7,0	7,0	4,9	8,2	6,6	7,4
výměnná půdní reakce	ornice	6,4	6,5	4,7	7,7	5,9	7,0
pH/KCl	podorničí	6,2	6,2	4,0	7,7	5,6	6,9
fosfor	ornice	101	88	14	401	62	124
Mehlich 3	podorničí	42	31	2	263	18	52
draslík	ornice	224	200	70	834	156	265
Mehlich 3	podorničí	159	151	48	608	117	187
hořčík	ornice	182	156	34	1160	109	217
Mehlich 3	podorničí	224	188	23	1050	119	293
vápník	ornice	3168	2403	887	13050	1870	3677
Mehlich 3	podorničí	3282	2367	555	19500	1705	3526

Bakterie vyvinuly podobné strategie výroby organických kyselin a syntézy nízkomolekulárních sideroforů (~400–1500 Da), molekuly s vysokou afinitou k Fe^{3+} a také membránové receptory schopné vázat komplexy Fe-siderofor. Mnoho rostlinných patogenů, včetně původců AOSB používá chelatační sloučeniny během příjmu železa a ty mohou působit jako základní determinanty virulence omezením přístupu rostliny k železu. Hlavní zástupce patogenů *S. scabiei* produkuje tři typy sideroforů: desferrioxamin, scabichelin a pyochelin.

Sekvenční analýza dostupnosti železa a dalších mikroprvků.

Běžné stanovení obsahu železa v půdě extrakcí lučavkou královskou nebo metodami podle Mehlicha neposkytuje dostatečně přesné informace o dostupnosti Fe pro rostliny a mikroorganismy. K tomu je možné použít tzv. sekvenční extrakční analýzu (SEA), ve které se porovnává rozpustnost železa v různých extraktech. Tento postup byl poprvé popsán autory Tessier et al. (1979), a od té doby se používá v různých modifikacích.

Principem je postupné použití extrakčních činidel se vzrůstajícím účinkem. Činidla se přidávají k půdě následně po sobě po odstranění předchozího. Sekvenční extrakce jsou specificky vyvinuty/upraveny pro různě se chovající prvky v půdě např. P se chová v půdě jako aniont a Fe jako kationt. SEA podle Tessier et al. (1979) rozlišovala 5 fází dostupnosti určitého prvku podle míry biologické dostupnosti.

Frakce 1. Výměnná. Tato složka zahrnuje sorpčně-desorpční procesy na povrchu jílu, oxidů železa a manganu, a v humínových kyselinách.

Frakce 2. Vázaná na uhličitany. Ukazuje především vazby kovů s uhličitany a je citlivá na změny pH.

Frakce 3. Vázaná na oxidy železa a manganu. Oxohydroxidy železa a manganu mohou fungovat jako spojovací prvky nebo být na povrchích půdních složek (např. půdní agregáty). Tyto složky jsou ovlivněné přítomností kyslíku a jsou nestabilní/rozpouští se v anoxických podmínkách za nízkého redox potenciálu.

Frakce 4. Vázaná na organickou hmotu. Kovy mohou být vázány na různé formy organické hmoty: živé organismy, detritus, povlaky na minerálních částicích atd. Souvisí to s bioakumulací v určitých podmínkách.

Residuální frakce 5. Zbytek. Zbylá pevná frakce by měla obsahovat hlavně primární a sekundární minerály - silikáty, které mohou obsahovat

stopy kovů v jejich krystalové struktuře. Tyto kovy se nebudou uvolňovat v roztoku v přiměřeném časovém rozpětí podmínek, které se běžně vyskytují v přírodě.

Modifikovaná metoda zahrnuje variantu tohoto postupu, která umožní zachytit dostupnost železa pro bakterie a rostliny, a odlišit ji od biologicky nedostupné složky. Osvědčil postup se sekvencí výluhů octanem amonným, EDTA a lučavkou královskou. Tímto postupem se podařilo nejen objasnit roli železa v ochraně před AOSB a částečně i před jinými patogeny, ale z výsledků vyplývá, že je pomocí dostupnosti železa možné identifikovat některé supresivní půdy (příklad v Tabulce 2)

Bakteriální kmeny pro biologickou ochranu rostlin

Dosavadní komerčně dodávané mikrobiální kmeny (bakterie a houby) nevysvětlují princip fungování ochrany, takže na dané lokalitě může být zcela nevyhovující. Z výsledků experimentů navíc vyplynulo, že aplikace bakteriálních kmenů, které pocházejí ze vzdálených lokalit, narušuje stávající bakteriální společenstvo a nemusí mít požadovaný výsledek. Z toho důvodu byly využity lokální kmeny s přesně známými aktivitami, stanovenými nejen pomocí testování, ale i sekvenováním celých genomů aplikovaných kmenů, aby bylo možné vyloučit, že budou do půdy vnášeny další potenciálně nebezpečné organismy. Byl použit antagonistický kmen *Streptomyces* sp. 09ZI22 (funkční vzorek 2016), který vykazoval nejvyšší aktivity proti dvěma patogenům *Streptomyces scabiei*, adaptovaný na vyšší půdní pH a *S. acidiscabies*, adaptovaný na nižší půdní pH. V jeho genomu bylo identifikováno 49 biosyntetických shluků pro sekundární metabolity, a u 9 z nich lze předpokládat produkci látky s antibiotickým účinkem. Predikované produkty těchto drah byly podobné známým polyketidům syntetizovaným polyketidsyntázou I a III typu např. merochlorinům, erquinolinům, tetronasinu, megalomicinu, monensinu nebo strambomycinu. Dále byly přítomny biosyntetické shluky pro phenaziny a endophenaziny, a také naphthyridinomycin syntetizovaný neribosomální peptidovou syntetázou (NRPS). A dále byl použit kmen *Streptomyces* sp. 10ZC09, který byl izolován z lokality s dolomitickým podložím a jako jediný vykazoval růst na všech testovaných médiích, takže má patrně velkou schopnost adaptace. Dále také prokázal schopnost solubilizace fosfátu, produkci růstového hormonu auxinu (kyselina indolctová) a vytváření sideroforů pro solubilizaci železa.

Hodnocení strupovitosti

V inokulačním nádobovém pokusu byla úroveň strupovitosti hodnocena pomocí devítistupňové stupnice podle Wenzla a Demela, 1967: 1, bez strupu; 2, 0,1 %–0,8 %; 3, 0,9 %–2,8 %; 4, 2,9 %–7,9 %; 5, 8,0 %–18,0 %; 6, 18,1 %–34,0 %; 7, 34,1 % – 55,0 %; 8, 55,1 %–77,0 %; 9, 77,1 % až 100 %. V polních pokusech byla úroveň strupovitosti hodnocena novým postupem podle Andrade et al. (2019), který obsahuje šestistupňovou stupnici: 1 (0–3%), 2 (3.1–6%), 3 (6.1–12%), 4 (12.1–25%), 5 (25.1–50%) a 6 (> 50.1%).

V současné době byl tento starší systém modifikován na šestistupňový, který využívá Standardní plošné diagramy (SAD) (Andrade et al., 2019). Přesnost měření v novém postupu dosahuje 99% při opakování nezávislými pozorovateli.

Doporučení pro praxi:

Pro hodnocení úrovně strupovitosti při hodnocení a prevenci AOSB doporučujeme do budoucna šestistupňový postup podle Andrade et al. (2019), protože je přehlednější než původní devítistupňový a vyhovuje současným doporučením pro počty kategorií, které mají být menší než sedm, aby se nezvyšovala chybovost odhadu. Standardní plošné diagramy (SAD) také napomáhají přesnosti odhadu.

Inokulovaný kmen nebo směs kmenů signifikantně mění stávající mikrobiální společenstvo, a proto se nedají inokulace plošně aplikovat na jakékoli lokalitě, ale je potřebné odborné posouzení.

Selekce kmenů pro produkci látek potlačujících onemocnění

Z půdy na 10 lokalitách lišících se fyzikálně-chemickými podmínkami, a také výskytem obecné strupovitosti bylo izolováno 350 zástupců kmene *Actinobacteriota* a byla vyhodnocena jejich antibiotická aktivita proti testovacím kmenům *Escherichia coli*, *Kocuria rhizophila* a *Saccharomyces cerevisie*. 56 kmenů bylo dále testováno na aktivitu proti *Streptomyces scabiei* DSM 41658 and *Streptomyces acidiscabies* DSM 41668, které reprezentují typické původce onemocnění v alkalických a kyselých půdách. Antagonistické vlastnosti kmeney proti patogenům byly hodnoceny pomocí čtyřstupňové stupnice na základě velikosti zóny inhibice (0–3, 0 = žádná inhibice, 3 = silná inhibice patogenu; Obr. 6). Čtrnáct kmenů se silnou inhibiční aktivitou proti jednomu nebo oběma patogenním streptomycetám (osm kmenů silně inhibujících růst obou patogenů, čtyři kmene silně inhibující růst *S. scabiei*, a

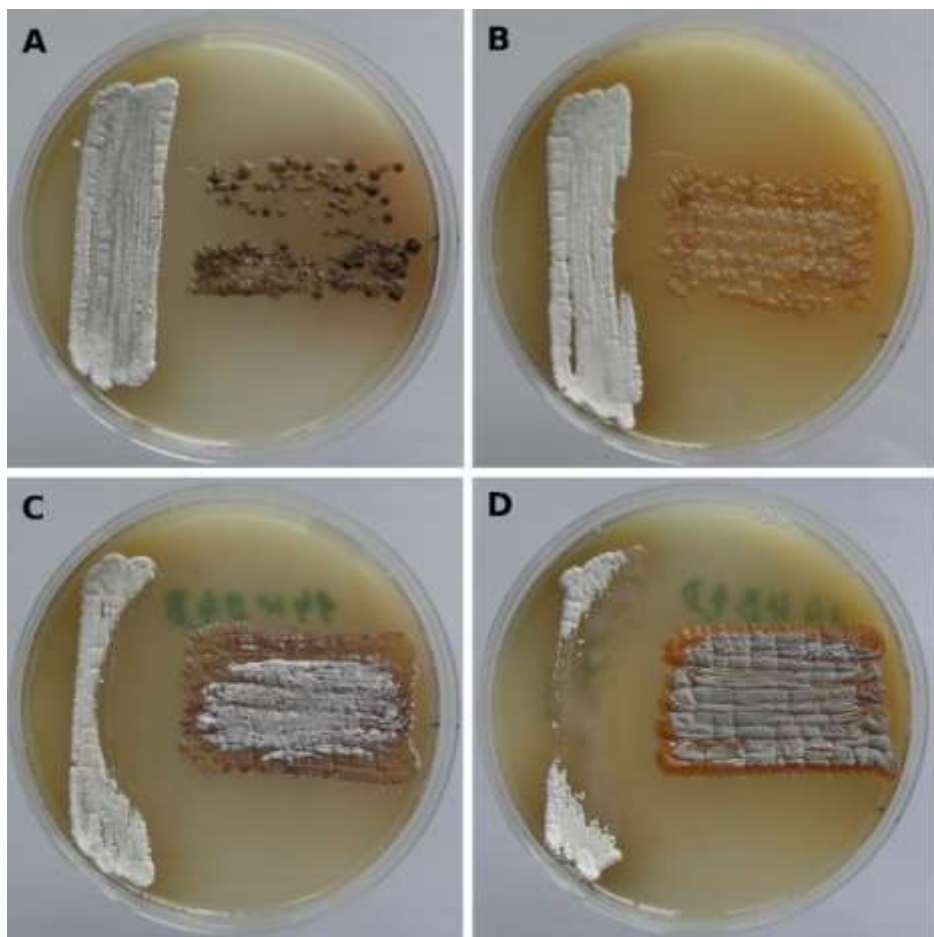
dva kmeny silně inhibující růst *S. acidiscabies*) byly testovány pro rychlost růstu ve vermikulitovém médiu. Nejvyššího počtu kolonií bylo dosaženo u kmene 09ZI22 za 70 h ($1,5 \times 10^9$ CFU/g vermikulitu) s růstovým zrychlením 150x (70 kolonií za h/ na 21 h), zatímco nejnižší ve stejném období bylo dosaženo kmenem 14HB9D ($1,0 \times 10^5$ CFU/g vermikulitu).

Doporučení pro praxi:

U antagonistických kmenů je potřeba znát nejen úroveň produkce antibiotických látek, ale i rychlost růstu, která tuto vlastnost amplifikuje.

Selekce kmenů pro produkci sideroforů

Na šesti lokalitách, které zahrnovaly supresivní a konduktivní pole k obecné strupovitosti a přírodní lokality lišící se fyzikálně- chemickými podmínkami půdy jako jsou pH, obsah organické hmoty, hornina podloží, typ vegetace, bylo izolováno přibližně 1000 zástupců kmene *Actinobacteriota*. Principem detekce produkce sideroforů pomocí indikátoru Chrom azurolu S (CAS) je změna barvy media z modré na žlutou. Když jsou siderofory přítomny v modrém testovacím CAS médiu, vytvoří se komplex Fe-siderofor. Vznik tohoto komplexu vede k uvolnění CAS a dojde ke změně barvy z modré na oranžovou (Obr. 7A; Schwyn & Neilands, 1987). K identifikaci sideroforů se použila kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS). Kmeny byly kultivovány na třech pevných médiích (R2A, GYM a GAUZE-Fe).



Obr. 6. Testování inhibice růstu patogena *S. scabiei* (nanesen vertikálně) kmeny aktinobakterií izolovanými z tuberosféry a peridermu brambor (naneseny horizontálně). (A) žádná inhibice, stupeň 0, (B) slabá inhibice, stupeň 1, (C) středně účinná inhibice, stupeň 2, (D) silná inhibice patogenu, stupeň 3.

V konečném testu bylo zahrnuto 188 kmenů kultivovaných na mediu R2A, z nich 155 (82 % z celkového počtu) kmenů produkovalo siderofory a ostatních 33 nikoliv. Kmenů kultivovaných na mediu GYM bylo testováno celkem 93, z toho 86 (92 % z celkového počtu) kmenů siderofory produkovalo a 7 kmenů nikoliv. U kmenů, které byly kultivovány na mediu GAUZE bez Fe byla zjištěna produkce sideroforů ve všech případech (41). Vliv lokality na zastoupení producentů sideroforů byl vyhodnocen pomocí Pearsonova chí-kvadrátu rozdělení. Bylo zjištěno, že procentuální zastoupení producentů sideroforů na různých lokalitách není významně odlišná. Vliv lokality původu kmenů byl testován i pro velikost zón (intenzitu produkce) pomocí Kruskal–Wallis ANOVA. Velikost vytvořených zón byla hodnocena u 149 kmenů kultivovaných na mediu R2A a ukázalo se, že velikost zón se na jednotlivých lokalitách významně neliší. Velikost vytvořených zón byla hodnocena u 74 kmenů kultivovaných na mediu GYM. Bylo zjištěno, že na 5% hladině významnosti nelze zamítnout hypotézu ($p = 0,1464$), tzn. velikosti zón se v jednotlivých lokalitách významně neliší, ale při kultivaci na mediu GAUZE-Fe byl zaznamenán statisticky významný rozdíl ve velikosti zón kmenů pocházejících ze dvou lokalit. Celkově byla také zaznamenána největší variabilita velikosti i intenzity produkce sideroforů u kmenů kultivovaných na pevném mediu R2A a nejmenší u kmenů kultivovaných na pevném mediu GAUZE bez Fe.

Doporučení pro praxi:

- Nezáleží na lokalitě pro výběr kmenů s vysokou a stabilní produkcí sideroforů
- Záleží na kultivačním mediu, což znamená, že kmeny nebudou stejně produktivní v lokalitách, kde budou jiné půdní podmínky, než na které jsou kmeny adaptované.

Selekce kmenů solubilizujících fosfáty a produkujících růstový hormon kyseliny indolactovou.

Kvantitativní odhad *solubilizace fosfátu* byl proveden na agarovém mediu Pikovskaya s fosforečnanem vápenatým. Projasněné zóny kolem kmenů, ukazují na produkci organických kyselin, které dokázaly fosfáty rozpouštět. Byly vybrány nejefektivnější kmeny (Obr. 7B). 33 kmenů aktinobakterií z 97 testovaných (34%) bylo schopných solubilizace fosfátu.

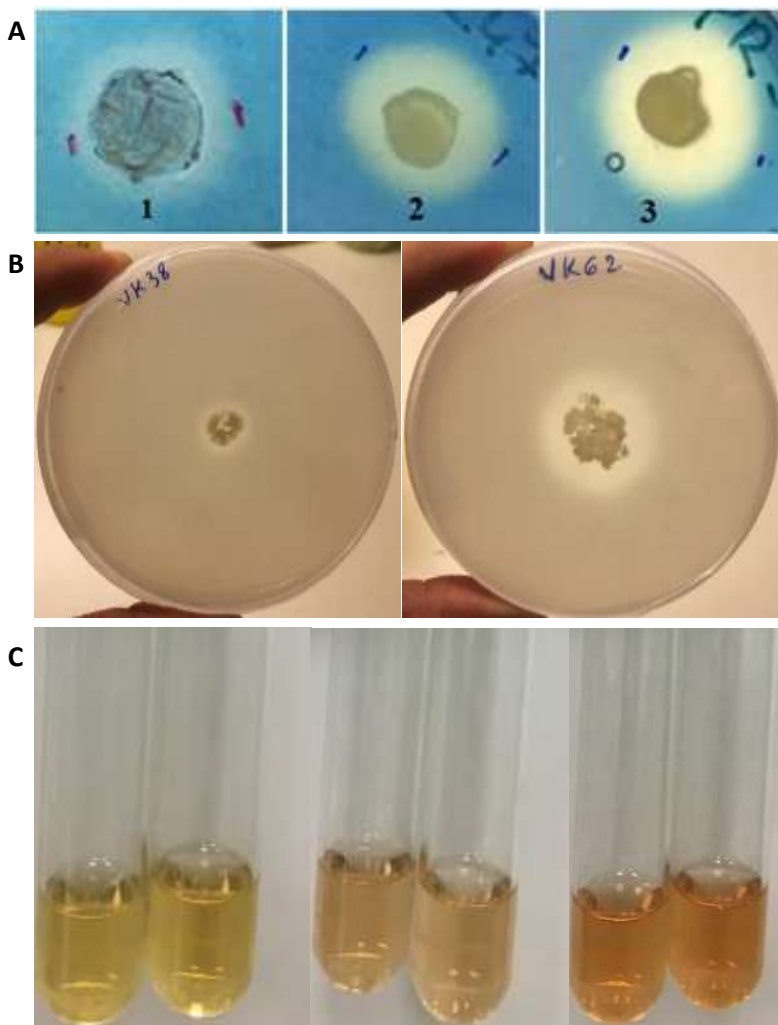
Produkce kyseliny indolactové (IAA), která funguje jako růstový hormon rostlin, byla detekována podle Sauvêtre & Schröder (2015). Izoláty byly

naočkovány do média R2A doplněného 500 ug/ml tryptofanu a inkubovány při 28 °C po dobu 48 hodin. Kultury byly centrifugovány při 10 000 otáčkách za minutu po dobu 15 minut a 2 ml supernatantu byly přeneseny do čerstvé zkumavky, do které bylo přidáno 100 ul 10 mM kyseliny ortofosforečné a 4 ml Salkowského činidla (1 ml 0,5 M chloridu železnatého v 50 ml 35% kyselina chloristá). Směs byla inkubována při teplotě místnosti po dobu 25 minut a absorbance vyvinuté růžové barvy byla odečtena při 535 nm. Všechny 33 testovaných kmenů produkovalo kyselinu indolactovou, ale významně se lišilo množství (Obr. 7C).

Nádobové pokusy

Testování aplikace dostupného chelatovaného železa v nádobových experimentech

Supresivní půda na lokalitě u Vyklantic měla třikrát vyšší obsah dostupného železa stanovený v extraktu octanem amonným než konduktivní půda, zatímco obsah železa v extraktu EDTA a celkový obsah železa byly v obou půdách podobné (příklad v Tabulce 2). První nádobový experiment pro testování vlivu dostupného železa na AOSB byl proveden s náchylnou odrůdou Agria, který byla vysazena do 12 l nádob s konduktivní půdou a také se supresivní půdou pro kontrolu účinku aplikace železa. Dále se testoval i vliv přísadků rašeliny na snížení pH půdy, které také vede ke zvýšené dostupnosti železa. Do nádob se přidalo buď 815 mg DTPA-chelatovaného železa/10 l nebo 2,5 l rašeliny/10 l, nebo půdy a kombinace obou. Ošetření byla provedena v pěti opakováních a brambory byly ošetřovány pesticidy obvyklým postupem během vegetačního období. Výsledky tohoto experimentu prokázaly snížení závažnosti AOSB po přidání samotného železa o 25%, po přidání rašeliny o 32% a po kombinovaném ošetření o 34%. Supresivní půda ale vykazovala závažnost dokonce o 41% nižší než konduktivní testovaná půda. Zároveň se v tomto experimentu ukázalo, že složení bakteriálního společenstva v půdě se po ošetření kombinací železa a rašeliny přiblížilo ke složení společenstva v supresivní půdě, takže nejen k zvýšení dostupnosti železa, ale také k podpoření podpůrných bakterií. Přitom bylo zřejmé, že i samotný přírůstek železa a rašeliny ovlivnil složení společenstva, ale hlavní změna byla u kombinace obou, což odpovídá i výsledkům snížení strupovitosti (Obr. 8; Sarikhani et al., 2017).



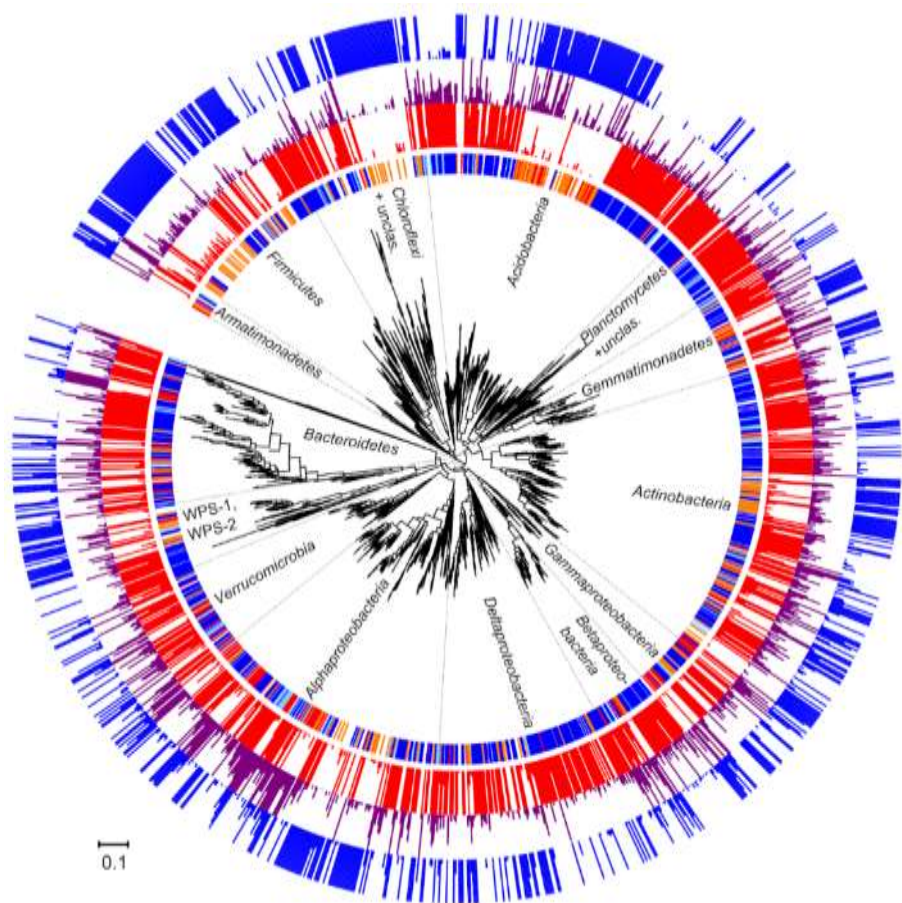
Obr. 7. (A) Produkce sideroforů. Velikost žluté zóny ukazuje na intenzitu afinity sideroforů k vázanému železu v médiu.

(B) Solubilizace fosforečnanu železitého. Velikost světlé zóny je úměrná produkci organických kyselin, které rozpouštějí fosforečnan vápenatý v médiu.

(C) Produkce kyseliny indolactové (růstový hormon rostlin). Intenzita oranžové barvy ukazuje míru produkce při srovnání různých kmenů aktinobakterií.

Tabulka 2. Srovnání obsahu dostupných a celkových živin v půdě supresivní (VK) a konduktivní (VU) vůči obecné strupovitosti brambor z lokality Vyklantice. Prvková analýza metodou ICP.

Ukazatel	Jedn.	Výluh 1M oc-tanem amonným (100 ml roztoku : 20 g vzorku)		Výluh 50 mM EDTA (100 ml roztoku : 20 g vzorku)		Rozklad lučavkou královskou za varu (ČSN EN 13346 a EN 13657)	
		VU	VK	VU	VK	VU	VK
Fosfor	mg/kg	21.2	<15,0	44.3	31.4	981	783
Hliník	mg/kg	21.3	47.9	141	196	31000	30150
Hořčík	mg/kg	41.3	46.7	71.6	80.1	10600	11950
Mangan	mg/kg	30.6	18.3	89.3	41.6	1210	937
Měď	mg/kg	0.64	0.63	2.25	1.23	31.3	36.3
Vápník	mg/kg	1260	576	1700	889	2970	1850
Zinek	mg/kg	1.58	1.36	1.18	0.76	122	114
Železo	mg/kg	8.7	24.5	118	126	44400	41900



Obr. 8. Fylogram operačních taxonomických jednotek (OTU, reprezentují bakteriální druhy na úrovni markerového genu 16S rRNA), jejichž zastoupení se významně liší mezi konduktivní a supresivní půdou. Tři vnější mezikruží ukazují zastoupení jednotlivých OTU v konduktivní (červená) a supresivní půdě (modrá), a po ošetření chelatovaným železem a rašelinou (fialová). Vnitřní mezikruží ukazuje jak se ošetřením chelatovaným železem a rašelinou změnilo zastoupení jednotlivých OTU oproti konduktivní půdě: tmavě modrá – silný pokles, světle modrá – slabý pokles, tmavě červená – silný nárůst, světle červená – slabý pokles, bílá – žádná změna.

V druhém nádobovém experimentu byly přídatky železa zopakovány s několika odrůdami a k tomu byly zavedeny také přídatky fosforu, protože fosfor se opakovaně u nás (Křišťůfek et al., 2015), ale i v zahraničí (Davis et al., 1976) projevil jako významný v souvislosti se snížením strupovitosti. Navíc i v obsahu fosforu se lišily použité supresivní a konduktivní půdy. V nádobovém experimentu se pracovalo se dvěma náchylnými odrůdami Agria a David, a jednou relativně resistantní odrůdou Adéla. Do každé nádoby o objemu 12 l byla přidána konduktivní půda a příslušné ošetření jednou živinou, kontrolní sada nádob obsahovala supresivní půdu, která sloužila pro porovnání výsledků všech živinových ošetření se vlivem přirozeného podpůrného bakteriálního společenstva. Od každého ošetření bylo 5 nádob. Ošetření byla opět i s rašelinou, i když její uplatnění v praxi není přímo použitelné, a dále železem v chelátované formě (Fe-DTPA, stejná koncentrace jako v první experimentu) a fosforem (KH₂PO₄, 30,76 g/nádoba). Poslední nádoba obsahovala neošetřenou konduktivní půdu. Paralelně se hodnotil vliv na složení bakteriálních společenstev. Výsledky ukázaly, že aplikace železa opět stabilně potlačovala onemocnění pro všechny odrůdy, pro odrůdu Agria to bylo snížení po aplikaci železa o 38%, fosforu o 24%, u odrůdy David po aplikaci železa o 43%, fosforu o 14%, zatímco u resistantnější odrůdy Adéla to bylo po aplikaci železa jen o 27% a fosforu o 33%. Supresivní půda měla ale závažnost strupovitosti dokonce o 72% nižší než testovaná konduktivní půda, takže se opět prokázal významný vliv podpůrných půdních mikroorganismů. V tomto experimentu se ukázalo, že každá odrůda si udržuje specifické složení bakteriálního společenstva, které se mění po ošetření, ale je také odlišné v supresivní půdě. Podle očekávání se po ošetření bakteriální společenstvo změnilo nejvíce u nejnáchylnější odrůdy Agria a nejméně u relativně resistantní odrůdy Adéla.

Testování inokulace bakteriálních kmenů v nádobových experimentech

Pokus s inokulací půdy bakteriálními kmeny byl založen na okraji bramborového pole u Pacova v nádobách o objemu 12 l s půdou z pole s vysokým výskytem AOSB, kde počet patogenních streptomycet dosahuje 3×10^5 (Sagova-Mareckova et al., 2015). Inokulované bakteriální kmeny byly vybrány na základě výsledků *in vitro* testů, všechny inhibovaly růst jednoho nebo obou patogenů a vykazovaly vysoké rychlosti růstu v tekutém médiu. Inokulace půdy byla provedena kulturami ve vermikulitu, kde cílová antagonistická bakterie dosahoval počtu 10^8 buněk/l půdy.

Tři bakteriální kmeny (14HB3D, 14HB8C a 09ZI22) byly do půdy přidány jednotlivě, ale také ve směsi spolu s kmeny 09ZI42, 14SL3 a 09ZI13. Pět

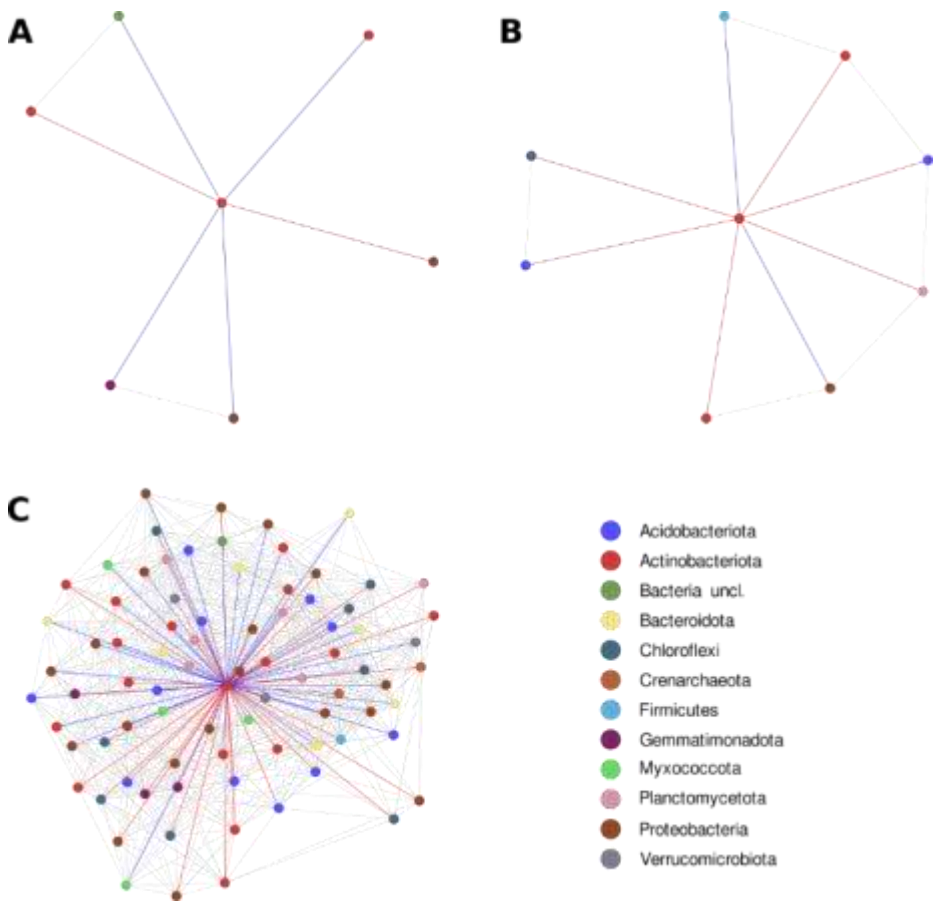
nádob od každého ošetření bylo zakopáno do hloubky asi 30 cm a osázeno náchylnou odrůdou Agria. Brambory byly sklizeny 110 dní po výsadbě. Čtvrté listy z vrcholu každého výhonku rostliny bramboru byly využity pro stanovení změn v příjmu živin rostlinou. Vzorky půdy byly odebrány z tenké vrstvy (3 mm) zeminy obklopující hlízy brambor pomocí sterilní lžice, a přeneseny do laboratoře při teplotě 18 °C a před analýzou skladovány při teplotě -80 °C. Studie identifikovala vlastnosti bakterií, které by mohly pomoci předpovídat antagonistické aktivity proti AOSB *in vivo*. Výsledky ukázaly, že kmen 09ZI22 byl neúčinnějším prostředkem biologické kontroly a snížil závažnost onemocnění o 30%, zatímco zbývající dva kmeny pouze o 12% a 13%. Kmen 09ZI22 a jeho genom je publikován jako funkční vzorek. Novým přínosem této studie bylo také zjištění změn v bakteriálním společenstvu půdy po inokulaci bioaktivními kmeny. Kmen 09ZI22 ovlivnil společenstvo největší měrou, ale podpořil především další bakterie se schopností potlačovat onemocnění (Obr. 9).

Testování aplikace dostupného chelatovaného železa a inokulace bakteriálních kmenů v polních podmínkách

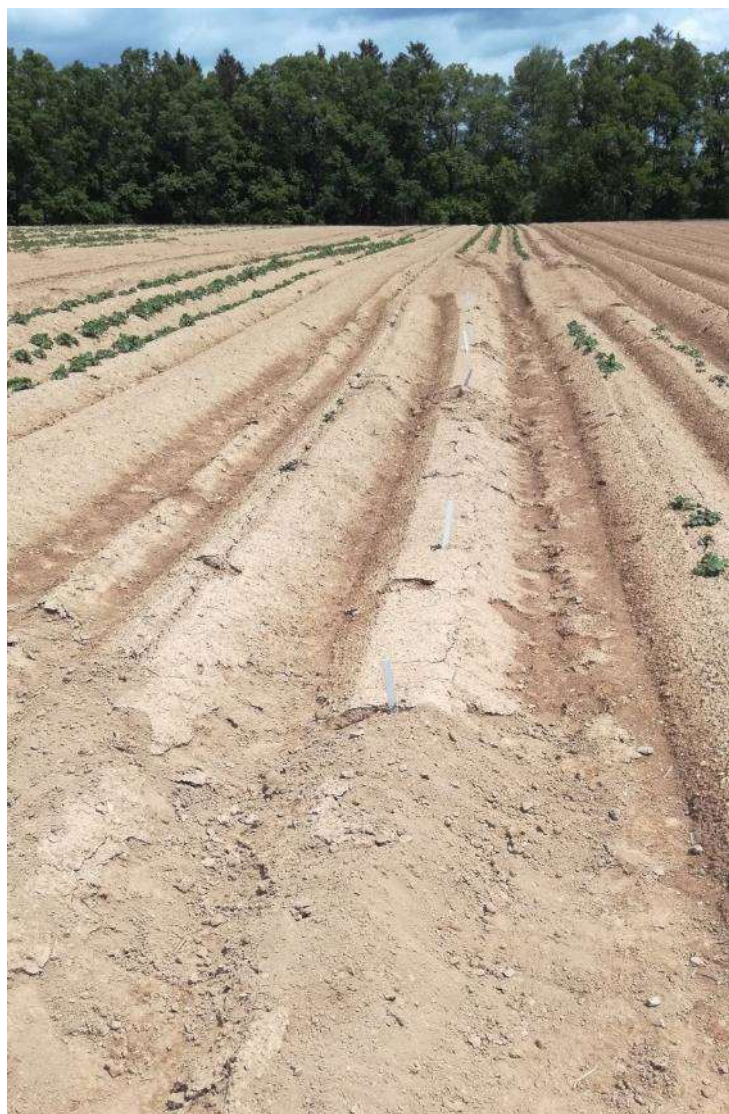
Po úspěšných nádobových experimentech bylo provedeno testování obou postupů ochrany před AOSB na polích (Obr. 10). Byly vybrány tři lokality v blízkosti Pacova na Vysočině, a dvě lokality u Velhartic v Pošumaví. Pokusy byly provedeny v letech 2021 a 2022. Brambory v pokusech byly standardně ošetřovány (Tabulka 3).

Aplikace železa.

V prvním roce byly testovány přídatky železa v různých fázích pěstování brambor, které zahrnovaly: aplikaci na půdu před výsadbou, aplikaci na list v době vytváření stolonů nebo malých hlíz a kombinaci obou postupů. Dávky a data aplikace jsou uvedeny v Tabulce 3. K ošetření se použil přípravek LISTER® Fe Plus 80 SL, obsahující železo vázané komplexně v chelátu s kyselinou dietylentriaminpentaocetovou (DTPA) o koncentraci 6 %, tj. 77 g Fe/l. Oproti aplikaci v nádobách byla dávka Fe snížena, aby se zároveň zjistilo, kde je limitní hranice a zda je možné očekávat, že bude možné používat dávky uplatnitelné v zemědělské praxi. Stále ovšem byly použité dávky asi dvakrát vyšší než běžně používané, protože optimalizace dávkování by vyžadovala další výzkum. Ve druhém roce už bylo využito jen aplikace do půdy před výsadbou, která byla v prvním roce jako jediná spolehlivě účinná na všech lokalitách.



Obr. 9. Síť ukazující korelace mezi výskytem bakteriálních ZOTU ("zero-radius OTU", reprezentují bakteriální druhy na úrovni markerového genu 16S rRNA) v závislosti na inokulovaném kmene. Inokulovaný kmen je vždy bod uprostřed sítě, korelované ZOTU (bakteriální druhy) jsou reprezentovány body s barvou odpovídající taxonomickému zařazení do kmene (legenda vpravo). Inokulované kmeny jsou všechny rodu *Streptomyces* sp. (A) 14HB3D, (B) 14HB8C a (C) 09ZI22. Pozitivní korelace s výskytem inokulovaného kmene jsou zvýrazněny červeně, negativní modře.



Obr. 10. Založení pokusu s přidavky chelatovaného železa a inokulací, Pacov, 2022

Aplikace bakteriálních kmenů.

Pro přípravu inokula byly kmeny nejprve kultivovány v 50 ml média YME (4 g kvasnicového extraktu, 10 g sladového extraktu a 4 g glukózy v 1 l destilované vody, pH 7,2) v 250 ml baňkách za třepání po dobu 2 dnů při teplotě 28 °C a 180 ot./min, poté byly centrifugovány v 50 ml sterilních zkumavkách při 2 000 × g, 4 °C po dobu 15 min. Supernatant byl odstraněn a kultura byla suspendována v 10 ml sterilní destilované vody. Vermikulit byl připraven v 250 ml baňkách, kde bylo 50 ml vermikulitu s 8 ml vody sterilizováno po dobu 90 minut a následně ponecháno 1 den při pokojové teplotě. Sterilizační proces byl opakován dvakrát. Zaočkování sterilního vermikulitu bylo provedeno 1 ml resuspendované pelety s přidáním 8 ml média Ac (20 g škrobu, 8 g kvasnicového extraktu a 4 g peptonu v 1 l destilované vody, pH 6,5). Baňky byly inkubovány 10 dnů při 28 °C s ručním promícháváním jednou denně. Vermikulit s narostlou kulturou byl použit pro inokulaci v polním pokusu v množství odpovídajícím 5×10^9 CFU na 1 rostlinu.

Tabulka 3. Ošetření použita v polních pokusech

Lokalita	rok	odrůda	ListerFe [l / ha]	Založeno	Fe do půdy	bakteriální kmeny	Fe na list	Odběry	Ošetření ^a
Selekta,a.s.									
Skalky	2021	Ornella	6	7.5.	7.5.	-	12.7.	17.8.	1)
Špýchar	2021	Ornella	6	7.5.	7.5.	-	12.7.	17.8.	2)
Bodlák	2022	Agria	10	28.4.	28.4.	27.5.	16.5.		3)
Vesa, a.s.									
Plasy	2021	David	10	28.5.	28.5.	-	20.7.	6.9.	4)
Za Kutilem	2022	David	10	30.4.	30.4.	25.5.	Ne	5.9.	5)

^a Ošetření:

- 1) plošné hnojení 100 kg/ha: NP 12-52, plošné hnojení 525 kg/ha: směsné hnojivo – síran amoný (24 % S + 21 % N) - 406 kg, amofos - 50 kg, kamex - 75 kg, 2,0 kg/ha Plateen + 2,0 l/ha Bandur, Mospilan 60 g/ha, Ridomil Gold 2,5 kg/ha + 0,15 l/ha Spintor, 2,0 l/ha Proxanil, Revus Top 0,6 l/ha + Benevia 0,125 l/ha
- 2) plošné hnojení 100 kg/ha: NP 12-52, plošné hnojení 525 kg/ha: směsné hnojivo – síran amoný (24 % S + 21 % N) - 406 kg, amofos - 50 kg, kamex - 75 kg, 2,0 kg/ha Plateen + 2,0 l/ha Bandur, Mospilan 60 g/ha, Ridomil Gold 2,5 kg/ha + 0,15 l/ha Spintor, 2,0 l/ha Proxanil, Revus Top 0,6 l/ha + Benevia 0,125 l/ha
- 3) Amofos (NP 12-52) 100 kg/ha, močovina 150 kg/ha, 2,0 kg/ha Plateen + 2,0 l/ha Bandur, 0,6 kg/ha Carial Flex + 0,15 l/ha Spintor, 0,6 l/ha Revus Top + 0,6 l/ha Fix-it + 0,6 l/ha Markate, 0,15 l/ha Spintor, 0,6 l/ha Revus Top + 0,6 l/ha Fix-it + 0,08 l/ha Karis Max
- 4) Hnůj skotu 50 t/ha, NPK 15-15-15 300 kg/ha, Emesto Silver 0,5 l/ha, Ridomil Gold 2,5 l/ha, Samiron 2,5 l/ha, Revus Top 0,6 l/ha
- 5) Hnůj skotu 50 t /ha, DASA 200 kg/ha, Arcade 4 l/ha, Carial Flex 0,6 kg/ha, Samiron 2,5 l/ha, Infinito 1,6 l/ha

Výsledky experimentů a postup jejich další aplikace do praxe.

Rok 2021: Výsledky polních pokusů prokázaly účinnost aplikace železa ve všech testovaných situacích, ale lišila se účinnost podle lokality a typu aplikace. Na lokalitě Velhartice se projevil pouze menší účinek kombinované aplikace na půdu a na list. Na lokalitě Pacov Skalky bylo snížení strupovitosti po aplikaci na list o 10%, v kombinaci na list a na půdu 11% a po aplikaci pouze na půdu 37% (příklad na Obr. 11). Na lokalitě Pacov Špýchar byla účinnost na list pouze minimální, na půdu 12% a při kombinaci na půdu a list 13%. Důvody menší účinnosti aplikace železa ve Velharticích v roce 2021 přesně neznáme, důvodem by mohl být způsob odběru rostlin, protože z jednotlivých ošetření byly odebrány brambory jen z dobře vzrostlých rostlin, s kvalitním olistěním. Pokus byl proveden na rozsáhlé ploše asi 2 ha, takže nebylo zřejmé, jakou strategii odběru zvolit. Protože i limitující prvky včetně železa mají koncentraci v půdě nerovnoměrně rozloženou, takže na některých místech může být železo dostupnější než na jiných v důsledku variability půdní chemie, výběr dobře vypadajících namísto náhodných rostlin mohl překrýt vliv ošetření. Na lokalitách v Pacově byly naopak odebrány plošně všechny rostliny z dané pokusné plochy, a tím se patrně aplikace projevila jako účinnější.

Rok 2022: Výsledky polních pokusů prokázaly účinnost aplikace železa na obou testovaných lokalitách a také prokázaly účinnost aplikovaného kmene rodu *Streptomyces* 10ZC09, který měl mnoho podpůrných vlastností zahrnujících solubilizaci železa, fosforu a produkci auxinu. Druhý aplikovaný kmen rodu *Streptomyces* 09ZI22, který produkoval látky potlačující růst patogenních streptomycet byl účinný pouze na jedné lokalitě. Ve Velharticích byla aplikace železa v tomto roce úspěšná, dosáhlo se snížení o 22% a bylo to patrně výsledkem úpravy odběru rostlin, který byl proveden také plošně (a nikoli výběrem rostlin) jako v ostatních pokusech. Účinnost aplikace kmene *Streptomyces* 09ZI22 byla minimální, ale aplikace kmene *Streptomyces* 10ZC09 snížila AOSB o 4%. Na lokalitě Bodlák v Pacově byla účinnost aplikace železa podobná jako ve Velharticích a dosáhla snížení o 18%, zatímco aplikace kmene *Streptomyces* 10ZC09 byla úspěšnější, protože dosáhla snížení o 14%, a u kmene *Streptomyces* 09ZI22 o 12%. Důvody rozdílů úspěšnosti aplikace bakteriálních kmenů zatím neznáme, ale dá se předpokládat, že růst vnesených kmenů je odlišně ovlivněn místními podmínkami, ale především

konkurencí místního mikrobiálního společenstva. Pro přesnější predikce účinnosti by bylo třeba provést další testování za více podmínek, než umožňoval rozsah tohoto projektu. Příznivé pro další uplatnění je i to, že hmotnost brambor, která byla kromě úrovně strupovitosti stanovena ve všech pokusech, aby se ověřilo, že ošetření železem nebo bakteriálními kmeny nemají negativní dopady na výnosy, se s ošetřením neměnila. Výnosy se tedy oproti kontrolám nezměnily.

Ekonomické aspekty

Plocha, na níž jsou v ČR pěstovány brambory, se v minulých pěti letech (2016-2020, konečná data za rok 2021 nejsou zatím k dispozici) pohybovala kolem 29,3 tis. ha (ČSÚ, 2021). Průměrná produkce dosahovala 790 200 t při průměrném výnosu 26,92 t/ha. Průměrná CZV (cena zemědělských výrobců) meziročně kolísá, v roce 2020 činila 5,90 Kč/kg. Pokud navrhovaná ošetření v průměru přinesou v důsledku vyšší kvality hlíz a jejich lepší uplatnitelnosti na trhu zvýšení realizované ceny o 5%, bude přínos pro pěstitele kolem 8 tis. Kč/ha. Je ovšem třeba brát v úvahu, že pěstitelské oblasti a i jednotlivá pole se tlakem onemocnění výrazně liší a v oblastech s vysokým výskytem onemocnění by přínos mohl být výrazně vyšší. V závislosti na sezónních rozdílech srážek a jejich distribuce by v klimaticky kritických letech mohlo ošetření dokonce zásadně ovlivnit trvanlivost hlíz i samu jejich uplatnitelnost na trhu.

Specifickou částí produkce brambor jsou brambory sadbové, které jsou v ČR pěstovány na rozloze kolem 2 800 ha (průměr let 2016-2020), a jejichž produkce dosahuje 64 000 t při průměrném výnosu 21,5 t/ha. Sadbové brambory mají striktně stanoveno maximální přípustné napadení obecnou strupovitostí, ošetření snižující toto napadení pod povolenou mez by tedy mohla být přínosná i pro producenty sadby.

Náklady na ošetření přípravkem LISTER FE PLUS 80 SL činí 2200 Kč/ha (při průměrné ceně 365 Kč/l podle ceníků platných v roce 2022). Vzhledem k tomu, že se přípravek aplikuje přímo na hlízy během výsadby, jsou další náklady na manipulaci minimální, a tuto cenu lze pokládat za konečnou.

A



B



Obr. 11. (A) Napadení obecnou strupovitostí na kontrolní ploše (B) po ošetření
přídavkem chelatovaného železa, Pacov, odrůda Agria.

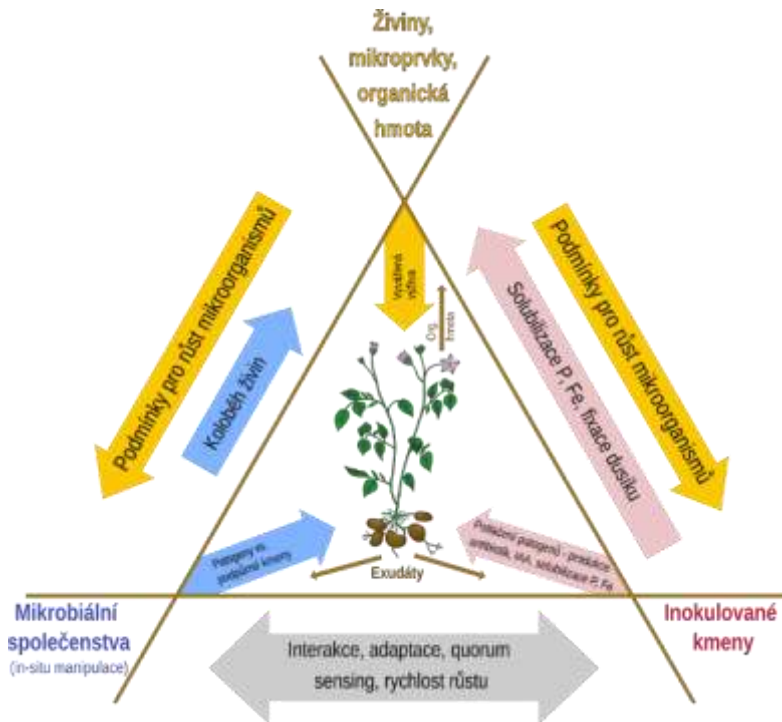
V případě inokulace vybranými kmeny bakterií platí totéž o aplikaci přípravku, která se rovněž provádí na hlízy během výsadby. Provedení ale může vyžadovat optimalizaci dávkování, protože materiál je sypký, drobné hrudky nosiče do velikosti přibližně 4 mm, na nichž je narostlý použitý kmen. Náklady na přípravu inokula jsou ale v prozatím používaném experimentálním uspořádání vyšší vzhledem k použití vermikulitu (1900 Kč/ha) a zejména kultivačních medií (6400 Kč/ha). Pro přípravu inokulí v průmyslovém měřítku by byly ceny jednotlivých složek nepochybně nižší, některé z nich bude možné nahradit levnějšími, výsledná cena bude ale záviset na technologickém řešení (použití kultivačních tanků, kapacity pro statickou kultivaci na vermikulitu, případně jiném jílovém nosiči), cenu tedy není zatím možné odpovědně odhadnout.

Uživatelé a uplatnění

Metodika je určena pro využití pěstiteli, zemědělskými podniky, státní správou a odbornou veřejností. Metodika může být využita akreditovanými poradci v oblasti zemědělské výroby a ekonomiky, pracovníky Státního zemědělského intervenčního fondu, profesními organizacemi (Agrární komora ČR, Zemědělský svaz ČR aj.). Je uplatněna vydáním v tištěné i elektronické formě. Tištěná forma bude distribuována zájmovým skupinám, elektronická forma bude umístěna na webových stránkách VÚRV, v.v.i. a www.solanum.cz.

Novost postupů

Postupy uvedené v metodice byly vyvinuty v rámci projektu, vyhodnocení limitujícího prvku a aplikace organicky vázaného železa nebyla použita nikde jinde ani v zahraničí. Aplikace podpůrných kmenů s antagonistickými vlastnostmi byla použita také v USA a Japonsku, ale kmeny použité v pokusech uvedených v této metodice vykazovaly další podpůrné vlastnosti, např. produkci auxinu a schopnost solubilizovat fosfáty, které zahraniční kmeny neměly.



Obr. 12. Propojení půdních vlastností, mikrobiálního společenstva a ochranných postupů při postižení brambor aktinobakteriální obecnou strupovitostí. Graf znázorňuje všechny procesy a interakce, ke kterým dochází při jakékoli *in situ* manipulaci mikrobiálním společenstvem (seznam manipulací uveden v Obr. 1)

Závěry pro praxi

Ochrana brambor před onemocněním aktinobakteriální obecnou strupovitostí je náročná, protože výskyt i závažnost onemocnění jsou ovlivňovány mnoha faktory. Přítomnost patogenní streptomycety je sice základní podmínkou vzniku onemocnění, ale už i na úrovni druhu patogena je důležité rozlišení jeho specifické virulence a adaptace na místní podmínky. Je zřejmé, že počet patotenních druhů není konečný, protože na každé lokalitě dochází k horizontálnímu přenosu patogenního ostrova a nedá se odhadnout, jak dále funguje po přenosu do nového druhu rodu *Streptomyces*. Přenos do jiných druhů aktinobakterií se zatím neprokázal. Dále potom vznik a vývoj onemocnění ovlivňují podmínky prostředí, a proto je jejich změna prvním doporučením v ochraně proti AOSB.

Vyvážená výživa dodávající i mikroprvky, zvláště železo. Minerální živiny v půdě jsou často v nevyváženém stavu v důsledku hnojení pouze makroživinami. To negativně ovlivňuje růst rostlin, produktivitu a zdraví, jakož i kvalitu půdy, biologickou rozmanitost a funkce podpůrných mikroorganismů. V ochraně před AOSB se nejvíce projevuje obsah dostupného železa, ale důležitý je i vyvážený příjem fosforu, síry a vápníku, což jsou také prvky, jejichž dostupnost odděluje supresivní a konduktivní půdy.

Navýšení obsahu vhodné organické hmoty v půdě. Organická hmota s vysokým poměrem C:N a obsahem komplexních organických látek zadržuje vodu, jejíž rovnoměrný přísun působí proti stresu rostliny, která má tak lepší obranyschopnost. Tento typ organické hmoty je také vhodný jako potrava pro stabilizující půdní mikroorganismy, které udržují dlouhodobé půdní procesy a tím zvyšují diverzitu a snižují možnost uchycení a rozvoje patogenních streptomycet. Ideální jsou fermentované zdroje organické hmoty, které navíc půdu i okyselují.

Vyvážené přísuny dusíku. Přidávky organické hmoty nebo hnojiv obsahujících vysoká množství dusíku by měly být pečlivě hodnoceny, protože recyklace dusíku ovlivňuje závažnost AOSB v obou směrech. Nevhodné je tedy hnojení čerstvým hnojem.

Výběr kultivarů brambor by se měl řídit nejen resistencí, která zatím není zcela postačující, navíc resistantní kultivar nemusí být vhodný pro lokální podmínky nebo výnosy, ale měl by také uvážit nároky kultivarů na živiny a jejich reakce s půdními mikrobiálními společenstvy, protože i v těchto vlastnostech se kultivary velmi odlišují a ovlivňují tím náchylnost k onemocnění nejen AOSB. Nároky jednotlivých kultivarů na živiny by bylo vhodné dále testovat. Z výzkumů vyplývá, že náchylné odrůdy jsou náročnější na dostupnost železa.

Šlechtění. V zahraničí, především v USA, byly vyšlechtěny kompletně resistantní odrůdy, které samy o sobě nemusejí odpovídat požadavkům na pěstování ve střední Evropě, ale bylo by vhodné umožnit jejich import za účelem dalšího místního šlechtění.

Aplikace biokontrolních kmenů je vhodným postupem především s lokálním použitím. Nedoporučujeme používat importovaná bakteriální inokula s neznámým složením a původem mikroorganismů, protože by mohla narušit nejen i tak křehkou rovnováhu autochtonních mikrobiálních společenstev, ale také chemismus půdy.

Vyhledání a výzkum supresivních půd nejen k AOSB, ale i dalším plodinovým onemocněním je posledním, ale velmi důležitým doporučením. Zatím je nejméně používaným postupem ochrany brambor před AOSB, i když se na některých lokalitách ukázalo, že soukromí malopěstitelé využívají znalosti o kontinuální monokultuře k potlačení onemocnění. V ČR je podle dosavadního průzkumu supresivních půd velký počet a vyskytují se na různých klimaticko-pedologických lokalitách. Jejich působení je komplexní a řeší zároveň všechny výše uvedené možnosti ochrany. Jejich další výzkum by přinesl nejen objasnění interakcí rostliny s mikrobiomem a půdním prostředím, ale také pochopení konceptu půdního zdraví. Téma kvality půdy a půdního zdraví ve spojení s biodiverzitou včetně funkcí mikroorganismů je součástí významných aktivit například iniciativy One health spadající pod World Health Organization (WHO) a iniciativy Global Soil Partnership spadající pod Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).



Obr. 13. Výstava odrůd vyšlechtěných společností Vesa Velhartice, a.s. Barevné odrůdy jsou bohaté na antokyany a další antioxidanty, takže se dají považovat za superpotravinu. Národní zemědělské muzeum, Praha.

Publikace, které předcházely metodice

- Sagova-Mareckova, M., Daniel, O., Omelka, M., Kristufek, V., Divis, J., Kopecky, J., 2015. Determination of factors associated with natural soil suppressivity to potato common scab. *PLoS One* 10, 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116291>
- Sarikhani, E., Sagova-Mareckova, M., Omelka, M., Kopecky, J., 2017. The effect of peat and iron supplements on the severity of potato common scab and bacterial community in tuberosphere soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 93, fiw206. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw206>
- Kopecky, J., Samkova, Z., Sarikhani, E., Kyselková, M., Omelka, M., Kristufek, V., Divis, J., Grundmann, G.G., Yvan Moëgne-Loccoz, Y., Sagova-Mareckova, M., 2019. Bacterial, archaeal and microeukaryotic communities characterize a disease-suppressive or conducive soil and a cultivar resistant or susceptible to common scab. *Scientific Reports* 9:14883. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51570-6>
- Kopecky, J., Rapoport, D., Sarikhani, E., Stovicek, A., Patrmanova, T., Sagova-Mareckova, M., 2021. Micronutrients and soil microorganisms in the suppression of potato common scab. *Agronomy* 11, 383. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020383>
- Sagova-Mareckova M., Sarikhani E., Daniel O., Omelka M., Kristufek V., Divis J., Kopecky J., 2021. Tuberosphere and bulk soil microbial communities in fields differing in common scab severity are distinguished by soil chemistry and interactions with pathogens. *Plant Soil* 468:259–275. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05128-z>
- Patrmanova, T., Krizkova, I., Rapoport, D., Kopecky, J., Hrychova, S., Sagova-Mareckova, M., 2022. Inoculations of soil by antagonistic strains modify tuberosphere bacterial communities and suppress common scab of potatoes. *Appl. Soil Ecol.* 176, 104491. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104491>

Aplikované výsledky, které předcházely metodice

- Marečková, M., Kopecký, J., Křížková I., Mádrová P., Diviš J., Křišťůfek V., Komžák O.: Antagonistický kmen *Streptomyces* sp. 09Zd22. Funkční vzorek, VÚRV, v.v.i., 2016.
- Marečková, M., Kopecký, J., Rapoport, D.: Vysokoprodukční kmen pro vychytávání železa z půdních komplexů *Streptomyces* sp. 10ZC9. Funkční vzorek, VÚRV, v.v.i., 2018.
- Patrmanová, T., Kopecký, J., Marečková, M.: Sada primerů pro detekci sideroforů desferrioxaminu B a E u bakterií rodu *Streptomyces*. Užitiný vzor, VÚRV, v.v.i., 2019.
- Kopecký, J., Chandrasekhar, P., Máslová, A., Mercl, F., Patrmanová, T., Marečková, M.: Kmen rodu *Streptomyces* 05ME854 s vysokou solubilizační aktivitou. Funkční vzorek, VÚRV, v.v.i., 2019.
- Kopecký, J., Rapoport, D., Hrychová, Š., Marečková, M.: Antagonistický kmen *Streptomyces* sp. 09VK39 potlačující původce obecné strupovitosti brambor *S. scabiei* a *S. acidiscabies*. Funkční vzorek, VÚRV, v.v.i., 2021.
- Máslová, A., Kopecký, J., Marečková, M.: Kmen rodu *Streptomyces* 10ZL18 produkující siderofory. Funkční vzorek, VÚRV, v.v.i., 2022.

Reference

- Almario, J., Kyselková, M., Kopecký, J., Ságová-Marečková, M., Muller, D., Grundmann, G.L., Moëgne-Loccoz, Y., 2013. Assessment of the relationship between geologic origin of soil, rhizobacterial community composition and soil receptivity to tobacco black root rot in Savoie region (France). *Plant Soil* 371, 397–408.
<https://doi.org/10.1007/s11104-013-1677-1>
- Andrade, M.H.M.L., Niederheitmann, M., de Paula Ribeiro, S.R.R., Oliveira, L.C., Pozza, E.A., Pinto, C.A.B.P., 2019. Development and validation of a standard area diagram to assess common scab in potato tubers. *Eur. J. Plant Pathol.* 154, 739–750.
<https://doi.org/10.1007/s10658-019-01697-z>
- Arseneault, T., Goyer, C., Filion, M., 2016. Biocontrol of potato common scab is associated with high *Pseudomonas fluorescens* LBUM223 populations and phenazine-1-carboxylic acid biosynthetic transcript accumulation in the potato geocaulosphere. *Phytopathology* 106, 963–970. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-16-0019-R>
- Bruce, K.D., Hiorns, W.D., Hobman, J.L., Osborn, A.M., Strike, P., Ritchie, D.A., 1992. Amplification of DNA from native populations of soil bacteria by using the polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3413–6.
- Bünemann, E.K., Bongiorno, G., Bai, Z., Creamer, R.E., De Deyn, G., de Goede, R., Flesskens, L., Geissen, V., Kuyper, T.W., Mäder, P., Pulleman, M., Sukkel, W., van Groenigen, J.W., Brussaard, L., 2018. Soil quality – A critical review. *Soil Biol. Biochem.* 120, 105–125.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>
- Čermák, L., Kopecký, J., Novotná, J., Omelka, M., Parkhomenko, N., Plháčková, K., Ságová-Marečková, M., 2008. Bacterial communities of two contrasting soils reacted differently to lincomycin treatment. *Appl. Soil Ecol.* 40, 348–358.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.06.001>
- Creamer, R.E., Barel, J.M., Bongiorno, G., Zwetsloot, M.J., 2022. The life of soils: Integrating the who and how of multifunctionality. *Soil Biol. Biochem.* 166, 108561. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108561>
- Davis, J.R., McDole, R.E., Callihan, R.H., 1976. Fertilizer effects on common scab of potato and the relation of calcium and phosphate-

- phosphorus. *Phytopathology* 66, 1236–1241.
- Dees, M.W., Sletten, A., Hermansen, A., 2013. Isolation and characterization of *Streptomyces* species from potato common scab lesions in Norway. *Plant Pathol.* 62, 217–225. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02619.x>
- Driscoll, J., Coombs, J., Hammerschmidt, R., Kirk, W., Wanner, L., Douches, D., 2009. Greenhouse and field nursery evaluation for potato common scab tolerance in a tetraploid population. *Am. J. Potato Res.* 86, 96–101. <https://doi.org/10.1007/s12230-008-9065-8>
- Expert, D., Franza, T., Dellagi, A., 2012. Molecular Aspects of Iron Metabolism in Pathogenic and Symbiotic Plant-Microbe Associations. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-5267-2>
- Fierer, N., Wood, S.A., Bueno de Mesquita, C.P., 2021. How microbes can, and cannot, be used to assess soil health. *Soil Biol. Biochem.* 153, 108111. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.108111>
- Flores-González, R., Velasco, I., Montes, F., 2008. Detection and characterization of *Streptomyces* causing potato common scab in Western Europe. *Plant Pathol.* 57, 162–169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01734.x>
- Garbeva, P., van Veen, J.A., van Elsas, J.D., 2004. MICROBIAL DIVERSITY IN SOIL: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 243–270. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.012604.135455>
- Haynes, K.G., Christ, B.J., Burkhart, C.R., Vinyard, B.T., 2009. Heritability of resistance to common scab in diploid potatoes. *Am. J. Potato Res.* 86, 165–170. <https://doi.org/10.1007/s12230-009-9068-0>
- Hiltunen, L.H., Ojanperä, T., Kortemaa, H., Richter, E., Lehtonen, M.J., Valkonen, J.P.T.T., 2009. Interactions and biocontrol of pathogenic *Streptomyces* strains co-occurring in potato scab lesions. *J. Appl. Microbiol.* 106, 199–212. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03992.x>
- Jansky, S., Douches, D., Haynes, K., 2018a. Transmission of scab resistance to tetraploid potato via unilateral sexual polyploidization. *Am. J. Potato Res.* 95, 272–277. <https://doi.org/10.1007/s12230-017-9628-7>

- Jansky, S., Douches, D., Haynes, K., 2018b. Germplasm release: three tetraploid potato clones with resistance to common scab. *Am. J. Potato Res.* 95, 178–182. <https://doi.org/10.1007/s12230-017-9624-y>
- Jansky, S., Haynes, K., Douches, D., 2019. Comparison of Two Strategies to Introgress Genes for Resistance to Common Scab from Diploid *Solanum chacoense* into Tetraploid Cultivated Potato. *Am. J. Potato Res.* 96, 255–261. <https://doi.org/10.1007/s12230-018-09711-6>
- Keinath, A.P., Loria, R., 1989. Population dynamics of *Streptomyces scabies* and other actinomycetes as related to common scab of potato. *Phytopathology* 79, 681–687.
- Klikocka, H., 2009. Influence of NPK fertilization enriched with S, Mg, and micronutrients contained in liquid fertilizer Insol 7 on potato tubers yield (*Solanum tuberosum* L.) and infestation of tubers with *Streptomyces scabies* and *Rhizoctonia solani*. *J. Elem.* 14, 271–288.
- Kopecky, J., Rapoport, D., Sarikhani, E., Stovicek, A., Patrmánová, T., Sagova-Mareckova, M., 2021. Micronutrients and soil microorganisms in the suppression of potato common scab. *Agronomy* 11, 383. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020383>
- Kopecky, J., Samkova, Z., Sarikhani, E., Kyselková, M., Omelka, M., Kristufek, V., Divis, J., Grundmann, G.G., Moënné-Loccoz, Y., Sagova-Mareckova, M., 2019. Bacterial, archaeal and micro-eukaryotic communities characterize a disease-suppressive or conducive soil and a cultivar resistant or susceptible to common scab. *Sci. Rep.* 9, 14883. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51570-6>
- Křišťufek, V., Diviš, J., Omelka, M., Kopecký, J., Sagová-Marečková, M., 2015. Site, year and cultivar effects on relationships between periderm nutrient contents and common scab severity. *Am. J. Potato Res.* 92, 473–482. <https://doi.org/10.1007/s12230-015-9456-6>
- Kumaragamage, D., Warren, J., Spiers, G., 2021. Soil Chemistry, in: Krzic, M., Walley, F.L., Diochon, A., Paré, M.C., Farrell, R.E. (Eds.), *Digging into Canadian Soils. An Introduction to Soil Science.* Canadian Society of Soil Science, Pinawa, MB, pp. 150–193.
- Larkin, R.P., Honeycutt, C.W., Griffin, T.S., Olanya, O.M., He, Z., Halloran, J.M., 2017. Cumulative and residual effects of different potato cropping system management strategies on soilborne diseases and soil microbial communities over time. *Plant Pathol.* 66, 437–449. <https://doi.org/10.1111/ppa.12584>

- Larkin, R.P., Tavantzis, S., 2013. Use of biocontrol organisms and compost amendments for improved control of soilborne diseases and increased potato production. *Am. J. Potato Res.* 90, 261–270. <https://doi.org/10.1007/s12230-013-9301-8>
- Liang, F., Lin, R., Yao, Y., Xiao, Y., Zhang, M., Shi, C., He, X., Zhou, B., Wang, B., 2019. Systematic identification of pathogenic *Streptomyces* sp. AMCC400023 that causes common scab and genomic analysis of its pathogenicity island. *Phytopathology* 109, 1115–1128. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0266-R>
- Loria, R., Bignell, D.R.D., Moll, S., Huguet-Tapia, J.C., Joshi, M. V., Johnson, E.G., Seipke, R.F., Gibson, D.M., 2008. Thaxtomin biosynthesis: The path to plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Antonie van Leeuwenhoek, Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* 94, 3–10. <https://doi.org/10.1007/s10482-008-9240-4>
- Mazzola, M., 2002. Mechanisms of natural soil suppressiveness to soilborne diseases. *Antonie van Leeuwenhoek, Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* 81, 557–564. <https://doi.org/10.1023/A:1020557523557>
- Meng, Q., Hao, J.J., 2017. Optimizing the application of *Bacillus velezensis* BAC03 in controlling the disease caused by *Streptomyces scabies*. *BioControl* 62, 535–544. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9799-7>
- Murphy, A.M., De Jong, H., Tai, G.C.C., 1995. Transmission of resistance to common scab from the diploid to the tetraploid level via 4x-2x crosses in potatoes. *Euphytica* 82, 227–233. <https://doi.org/10.1007/BF00029565>
- Qu, X., Wanner, L.A., Christ, B.J., 2008. Using the *txtAB* operon to quantify pathogenic *Streptomyces* in potato tubers and soil. *Phytopathology* 98, 405–12. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-4-0405>
- Rhodes, C.J., 2017. The imperative for regenerative agriculture. *Sci. Prog.* 100, 80–129. <https://doi.org/10.3184/003685017X14876775256165>
- Rosenzweig, N., Tiedje, J.M., Quensen, J.F., Meng, Q., Hao, J.J., 2012. Microbial communities associated with potato common scab-suppressive soil determined by pyrosequencing analyses. *Plant Dis.* 96, 718–725. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-11-0571>
- Sagova-Mareckova, M., Daniel, O., Omelka, M., Kristufek, V., Divis, J., Kopecky, J., 2015. Determination of factors associated with natural

- soil suppressivity to potato common scab. *PLoS One* 10, 1–13.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116291>
- Sáňka, M., Materna, J., 2004. Indicators of Agriculture and Forest Soils Quality in Czech Republic. [in Czech]. Ministry of the Environment of the Czech Republic, Prague.
- Sarikhani, E., Sagova-Mareckova, M., Omelka, M., Kopecky, J., 2017. The effect of peat and iron supplements on the severity of potato common scab and bacterial community in tuberosphere soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 93, fiw206. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw206>
- Sarwar, A., Latif, Z., Zhang, S., Zhu, J., Zechel, D.L., Bechthold, A., 2018. Biological control of potato common scab with rare isatropolone C compound produced by plant growth promoting *Streptomyces* AIRT. *Front. Microbiol.* 9, 1126. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01126>
- Sauvêtre, A., Schröder, P., 2015. Uptake of carbamazepine by rhizomes and endophytic bacteria of *Phragmites australis*. *Front. Plant Sci.* 6, 83. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00083/BIBTEX>
- Schwyn, B., Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* 160, 47–56. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9)
- Sedláková, V., Dejmálová, J., Doležal, P., Hausvater, E., Sedlák, P., Baštová, P., 2013. Characterization of forty-four potato varieties for resistance to common scab, black scurf and silver scurf. *Crop Prot.* 48, 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.02.014>
- Sessitsch, A., Reiter, B., Berg, G., 2004. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities. *Can. J. Microbiol.* 50, 239–249.
<https://doi.org/10.1139/w03-118>
- Stark, J.C., Novy, R.G., Whitworth, J.L., Knowles, N.R., Pavek, M.J., Thornton, M., Spear, R., Brown, C.R., Charlton, B.A., Sathuvalli, V., Yilma, S., Olsen, N., Brandt, T.L., 2016. Mountain gem russet: A potato variety with high early and full season yield potential and excellent fresh market and early processing characteristics. *Am. J. Potato Res.* 93, 158–171. <https://doi.org/10.1007/s12230-015-9493-1>
- Tanios, S., Thangavel, T., Eyles, A., Tegg, R.S., Nichols, D.S., Corkrey, R., Wilson, C.R., 2020. Suberin deposition in potato periderm: a novel resistance mechanism against tuber greening. *New Phytol.* 225, 1273–1284. <https://doi.org/10.1111/nph.16334>

- Tegg, R.S., Wilson, C.R., 2010. Relationship of resistance to common scab disease and tolerance to thaxtomin A toxicity within potato cultivars. *Eur. J. Plant Pathol.* 128, 143–148. <https://doi.org/10.1007/s10658-010-9648-3>
- Tessier, A., Campbell, P.G.C., Bisson, M., 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.* 51, 844–851. <https://doi.org/10.1021/ac50043a017>
- Wang, A., Lazarovits, G., 2005. Role of seed tubers in the spread of plant pathogenic *Streptomyces* and initiating potato common scab disease. *Am. J. Potato Res.* 82, 221–230. <https://doi.org/10.1007/BF02853588>
- Waterer, D., 2002. Impact of high soil pH on potato yields and grade losses to common scab. *Can. J. Plant Sci.* 82, 583–586. <https://doi.org/10.4141/P01-046>
- Wetherington, D. (Ed.), 2015. Commodity-specific food safety guidelines for the production, harvest, storage, and packing of potatoes. National Potato Council, Washington, DC.
- Zhang, Z., Zhang, Q., Cui, H., Li, Y., Xu, N., Lu, T., Chen, J., Penuelas, J., Hu, B., Qian, H., 2022. Composition identification and functional verification of bacterial community in disease-suppressive soils by machine learning. *Environ. Microbiol.* 24, 3405–3419. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15902>

Seznam použitých zkratk a pojmů

AOSB	Aktinobakteriální obecná strupovitost brambor
CAS	Chrom azurol S, indikátor používaný pro detekci produkce sideroforů
CFU	Počet mikroorganismů tvořících kolonie, tedy životaschopných buněk nebo jejich agregátů ve vzorku (z anglického „ <i>Colony Forming Units</i> “)
Da	Dalton, jednotka molekulové hmotnosti
DNA	Kyselina deoxyribonukleová
DTPA	Kyselina diethylenetriaminopentaoctová (pentetová), komplexotvorné (chelatační) činidlo
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová, komplexotvorné (chelatační) činidlo
LC-MS	Kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí
OM	Organická hmota
OTU	Operační taxonomická jednotka, skupina sekvencí o definované minimální podobnosti (nejčastěji 97%). Používá se při analýze společenstev sekvenováním markerového genu.
PCR	Polymerázová řetězová reakce
SAD	Standardní plošný diagram
SEA	Sekvenční extrakční analýza

chelatační sloučenina Látka schopná tvořit cheláty, cyklické sloučeniny pevně (dvěma a více vazbami) vázající dvojmocné kationty a ionty přechodných kovů

primer Krátký jednořetězový oligonukleotid, který specificky nasedá na cílovou sekvenci DNA. Jeho prodlužováním vzniká komplementární řetězec při polymerázové řetězové reakci.

siderofor Nízkomolekulární sloučenina produkovaná organismy za účelem získávání železa z prostředí

