

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Biologická ochrana produkce zeleniny proti háďátku
Ditylenchus dipsaci pomocí éterických olejů**

Diplomová práce

**Adéla Hartová
Rostlinolékařství**

Ing. Marie Maňasová, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Biologická ochrana produkce zeleniny proti hádátku *Ditylenchus dipsaci* pomocí éterických olejů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16. dubna 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Marii Maňasové, Ph.D., za pomoc, čas, ochotu a odborné vedení při zpracovávání diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala rodině a blízkým za podporu a trpělivost po celou dobu studia.

Biologická ochrana produkce zeleniny proti háďátku *Ditylenchus dipsaci* pomocí éterických olejů

Souhrn

Háďátko *Ditylenchus dipsaci* lze zařadit mezi jednoho z nejvýznamnějších škůdců zeleniny i dalších plodin. Je rozšířen téměř po celém světě, kde způsobuje významné ekonomické škody na produkci.

V literární rešerši se práce zabývá pěstováním zeleniny v České republice, háďátky škodící na zelenině, zejména pak *Ditylenchus dipsaci* a ochranou rostlin chemickou, nechemickou i biologickou cestou proti háďátkům, konkrétně pak esenciálními oleji.

V praktické části byl zkoumán vliv 29 esenciálních olejů v in vitro testech na mortalitu háďátek *D. dipsaci*. Bylo založeno 31 variant, od každého esenciálního oleje a dvou kontrol, jedna obsahující vodu a druhá obsahují dimethyl sulfoxid po 6 opakování. Mortalita háďátek byla kontrolována po 24, 48 a 72 hodinách od založení pokusu pod mikroskopem. Z těchto olejů bylo vybráno 12 účinných variant, se kterými byl založen skleníkový pokus. Vybrané esenciální oleje byly konkrétně z následujících rostlin *Cinnamomum camphora*, *Coriandrum sativum*, *Origanum majorana*, *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus*, *Artemisia dracuncululus*, *Lavandula hybrida*, *Laurus nobilis*, *Carum carvi*, *Origanum vulgare*, směs *Thymus vulgaris* a *T. zygis* a kombinace *Syzygium aromaticum* s *Cinnamomum cassia*. Ve skleníkovém pokusu bylo vytvořeno 26 variant, 13 variant obsahovalo *Ditylenchus dipsaci*, 13 háďátka neobsahovalo, aby byl zjištěn, nebo vyloučen možný toxický efekt. Z toho bylo 12 variant s jednotlivými esenciálními oleji a jedna kontrola. Každá varianta měla celkem 8 opakování.

Z výsledků vyplývá, že většina esenciálních olejů má alespoň částečně vliv na mortalitu háďátek *D. dipsaci*. Nejlepších výsledků dosahovaly esenciální oleje z *Lavandula hybrida*, *Cymbopogon citratus*, směsi *Syzygium aromaticum* a *Cinnamomum cassia*. V pokusu byly však další oleje, které by mohly být vhodné k ochraně rostlin před *D. dipsaci*.

Klíčová slova: Zelenina, háďátka, *Ditylenchus dipsaci*, éterické oleje, biologická ochrana

Biological protection of vegetable production against nematode *Ditylenchus dipsaci* using essential oils

Summary

The nematode *Ditylenchus dipsaci* can be classified as one of the most important pests of vegetables and other crops. It is widespread almost all over the world, where it causes significant economic damage to production.

In the literature review, the work deals with the cultivation of vegetables in the Czech Republic, nematodes harmful to vegetables, especially *Ditylenchus dipsaci*, and plant protection by chemical, non-chemical and biological means against nematodes, specifically essential oils.

In the practical part, the effect of 29 essential oils on the mortality of *D. dipsaci* nematodes was investigated in vitro tests. 31 variants of each essential oil and two controls, one containing water and the other containing dimethyl sulfoxide after 6 replicates, were established. The mortality of the nematodes was checked after 24, 48 and 72 hours from the establishment of the experiment under a microscope. From these oils, 12 effective variants were selected with which the greenhouse experiment was established. The selected essential oils were specifically from the following plants: *Cinnamomum camphora*, *Coriandrum sativum*, *Origanum majorana*, *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus*, *Artemisia dracunculus*, *Lavandula hybrida*, *Laurus nobilis*, *Carum carvi*, *Origanum vulgare*, a mixture of *Thymus vulgaris* and *T. zygis*, and a combination of *Syzygium aromaticum* with *Cinnamomum cassia*. In the greenhouse experiment, 26 variants were created, 13 variants contained *Ditylenchus dipsaci*, and 13 did not contain the nematode, to detect or exclude a possible phytotoxic effect. Of these, there were 12 variants with individual essential oils and one control. Each variation had a total of 8 repetitions.

The results show that most essential oils have at least a partial effect on the mortality of *D. dipsaci* nematodes. The best results were achieved by essential oils from *Lavandula hybrida*, *Cymbopogon citratus*, a mixture of *Syzygium aromaticum* and *Cinnamomum cassia*. However, there were other oils in the trial that could be suitable for protecting plants against *D. Dipsaci*.

Keywords: Vegetables, nematodes, *Ditylenchus dipsaci*, essential oils, biological protection

Obsah

1	Úvod	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Pěstování zeleniny v České republice	10
3.2	Háďátka (<i>Nematoda</i>)	11
3.2.1	Rozdělení háďátek	11
3.2.2	Zástupci škodící na zelenině	12
3.2.2.1	<i>Ditylenchus</i> spp.	12
3.2.2.2	Hálkotvorná a cystotvorná háďátka	16
3.2.2.3	Kořenová háďátka <i>Pratylenchus</i> spp.	17
3.2.3	Háďátka zařazená mezi karanténní škodlivé organismy či RNŠO	18
3.3	Chemická ochrana	18
3.4	Nechemická ochrana	19
3.4.1	Střídání plodin	19
3.4.2	Rezistence rostlin	19
3.4.3	Voda	20
3.4.4	Termická ochrana	20
3.4.4.1	Pára	20
3.4.4.2	Solarizace	20
3.4.4.3	Teplá voda	20
3.5	Biologická ochrana	20
3.5.1	Nematofágní bakterie	21
3.5.2	Nematofágní houbové organismy	22
3.5.3	Éterické oleje využití v ochraně rostlin	23
3.5.3.1	Použití esenciálních olejů proti háďátkům	24
3.5.3.2	Použití esenciálních olejů proti jiným škůdcům	25
3.5.3.3	Esenciální oleje využití v ochraně proti <i>Ditylenchus dipsaci</i>	26
3.5.4	Řasy	27
4	Metodika	28
4.1	In vitro pokusy	28
4.1.1	Extrakce háďátek <i>Ditylenchus dipsaci</i> z rostlinných pletiv česneku	28
4.1.2	Příprava esencí	28
4.1.3	Založení testu	29
4.1.4	Vyhodnocení testu	29

4.1.5	Statistické šetření.....	29
4.2	Skleníkový pokus.....	29
4.2.1	Příprava esencí.....	29
4.2.1.1	Příprava biopolymeru.....	29
4.2.1.2	Enkapsulace.....	30
4.2.2	Založení pokusu	30
4.2.3	Vyhodnocení pokusu	30
4.2.4	Statistické šetření.....	31
5	Výsledky	32
5.1	In vitro testy.....	32
5.1.1	Vyhodnocení po 24 hodinách	32
5.1.2	Vyhodnocení po 48 hodinách	33
5.1.3	Vyhodnocení po 72 hodinách	33
5.2	Skleníkové pokusy	34
6	Diskuze	37
7	Závěr	42
8	Literatura.....	43
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	55
10	Seznam grafů a tabulek	I
11	Samostatné přílohy	II
12	Seznam příloh	VIII

1 Úvod

Háďátka parazitující na rostlinách způsobují závažnou ekonomickou zátěž a ztráty na úrodě rostlin (Li et al. 2015). *Ditylenchus dipsaci* má celosvětově velký hospodářský význam jako parazit zemědělských a okrasných rostlin (Subbotin et al. 2005). Konkrétně napadá například žito, kukuřici, různé druhy zeleniny včetně česneku a cibule, kde mohou způsobit i 100% ztráty, a bobovité rostliny jako je čočka (CABI 2021B), což jsou důležité suroviny pro lidskou obživu.

Světová populace neustále narůstá, do roku 2050 se predikuje vzrůst světové populace až k 9,8 miliardám (United Nations 2017), což povede k vysoké potřebě potravin. Zároveň se stále rozšiřují nový i původní škůdci, se kterými se musí bojovat pomocí pesticidů syntetických či biologických, tak aby byla zachována dostatečná produkce potravin. Bez ochrany rostlin by byla produkce rostlinných potravin nedostatečná.

Negativní dopad pesticidů na životní prostředí a vznik rezistencí po dlouhodobém používání vedl k úplnému zákazu nebo omezení používání většiny nematocidů, které se používají k ochraně rostlin před háďátkem (El-Eslamboly et al. 2019). Státy Evropské unie se zavázaly ke snížení spotřeby pesticidů a umělých hnojiv do konce roku 2030 o 50 % (Jursík 2024). Srpnem 2027 končí povolení pro používání poslední účinné látky povolené pro ochranu *Ditylenchus dipsaci* a je tedy potřeba nalézt alternativní biologickou ochranu rostlin proti těmto háďátkům. Proto je naléhavá potřeba zjistit a zajistit bezpečné a účinné alternativy v ochraně rostlin proti háďátkům, a tak zabezpečit bezpečnou produkci potravin pro lidskou potřebu i okrasných rostlin, bez použití syntetických pesticidů.

Biologická ochrana se ukazuje jako slibný ekonomický a ekologický přístup ke snížení škod způsobených škůdci na rostlinách (Li et al. 2015). Esenciální oleje představují alternativní ochranu rostlin.

Esenciální oleje jsou sekundární metabolity rostlin, které je využívají pro svou ochranu (Teoh 2016). Některé esenciální oleje jsou již dlouho považovány za odpuzovače hmyzu, některé mají insekticidní či fungicidní účinky (Isman 2000), často mají i nematocidní účinky. Je tedy vhodné je používat k ochraně rostlin proti háďátkům i konkrétně proti háďátku zhoubnému. Zatím však nejsou dostatečné studie k jejich vlivu na mortalitu háďátek a je tedy potřeba je nadále zkoumat. Prvně v in vitro testech, následně ve skleníkových pokusech s řízenými podmínkami a následně v polních podmínkách. Až poté co bude vliv esenciálních olejů prostudován, a na základě výsledků by mohly být esenciální oleje registrovány jako přípravky na ochranu rostlin a následně se mohou začít běžně poskytovat zemědělcům, aby je používali v ochraně rostlin v produkčním systému. Již jsou některé esenciální oleje povoleny jako přípravky k ochraně rostlin, ale jejich počet registrovaných a prakticky používaných olejů jako nematocidů je omezený. Toto omezení je způsobeno drahými a náročnými registračními procesy v Evropské unii (Evropská komise 2019).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cíl práce: Otestovat vliv vybraných éterických olejů na hádčátko *Ditylenchus dipsaci* v in vitro a in vivo podmínkách.

Hypotéza práce: Existuje statisticky významný rozdíl v napadení hádčátkem *Ditylenchus dipsaci* při použití éterických olejů.

3 Literární rešerše

V posledních desetiletí bylo nutné výrazně zvýšit výnosy potravinářských plodin, aby se nasytila rostoucí světová populace, na úkor životního prostředí a udržitelnosti zemědělství (Oerke 2006). Do roku 2030 Evropská unie plánuje snížení používání chemických pesticidů na polovinu. V posledních dekádách hledají vědci udržitelnější alternativy na ochranu rostlin se stejnou účinností jako syntetické pesticidy, které nebudou mít dopad na životní prostředí (Catani et al. 2023). Udržitelnou alternativou k chemické ochraně je biologická ochrana (Ahmad et al. 2021).

Zemědělství poskytuje potravu miliardám lidí, jedná se o klíčové odvětví pro globální řetězec a hospodářský rozvoj. Vzhledem k rychlému populačnímu růstu vyžaduje zemědělství strategie, které usnadní zvýšení produktivity, dostupnosti a bezpečnosti potravin (Bélangier & Pilling 2019).

3.1 Pěstování zeleniny v České republice

Za zeleninu se považují listnaté a dužnaté části některých rostlin, jako jsou kořeny, hlízy, bulvy, cibule, listy, květenství, plody, semena či řapíky, používané k lidské obživě ve stavu syrovém nebo zpracovaném. Na světě je přibližně 1 200 rostlinných druhů z 80 čeledí, obvykle jednoletých nebo dvouletých rostlin. Největší zastoupení je z čeledí miříkovitých, bobovitých, brukvovitých, merlíkovitých, hvězdnicovitých a tykvovitých. V Evropě se pěstuje 150 druhů, v České republice kolem 50, jako tržní zelenina se pěstuje jen 30 druhů (ZUCM 2024).

Zelenina má zdravotní a environmentální vliv na lidskou populaci, a tak její pěstování nabývá stále většího významu (Poláková 2021). Vyvážený lidský jídelníček by měl obsahovat kolem půl kilogramu zeleniny a ovoce denně (Nebeská 2023). V letech 2010 až 2020 činila průměrný podíl České republiky na zelinářské ploše Evropské unie 0,7 % a na produkci 0,4 %. Pozitivní jev na trhu se zeleninou z dlouhodobého hlediska je zvyšování spotřeby zeleniny. V roce 2022 a 2023 však klesla, pravděpodobně v důsledku vysokých cen (Poláková 2021).

V České republice jsme v zelenině soběstační z jedné třetiny. V roce 2023 byla dle ČSÚ zelenina vyseta a vysázena celkem na 11 366 ha, v porovnání s rokem 2022 klesla plocha o 2,4 %, bez dopočtu domácností, kde je výměra pěstování přibližně 4 000 ha (Urešová 2024). Českým zelinářům se často pěstování zeleniny nevyplatí a pravděpodobně se produkce bude nadále snižovat (Nebeská 2023).

Díky rostoucí oblíbenosti prodeje ze dvora a samosběrům, jednotliví pěstitelé často rozšiřují spektrum pěstovaných druhů, aby pokryli poptávku (Urešová 2024).

V České republice se pěstuje celer, cibule, červená řepa, česnek, hrách, kapusta, kedlubny, květák, brokolice, mrkev, okurky, papriky, petržel kořenová, pór, rajčata, ředkvičky, saláty, tykve a zelí hlávkové (Němcová & Buchtová 2021). Největší podíl zeleniny u nás na celkové výměře zahrnuje cibule, hrášek, zelí, mrkev, cukrová kukuřice a tykve (Urešová 2024).

Cibule je v Česku tradičně pěstovaná plodina, jde o nejčastěji konzumovanou zeleninu u nás a dle oficiálních statistik se její spotřeba pohybuje kolem 12,3 kg na osobu za rok. I přes to, že se v Česku hojně pěstuje, jsme soběstační pouze ze 45 % (Nebeská 2023).

Výrobní ceny zeleniny jsou vysoké, aby se zvýšila soběstačnost České republiky, snížily se vstupy do pěstování a zároveň i cena pro konečného spotřebitele, je zapotřebí zeleninu ochránit před škůdci a patogeny levně, efektivně a bez zatížení životního prostředí (Poláková 2021).

3.2 Hádátka (*Nematoda*)

Fytoparazitická hádátka patří mezi mikroskopické škůdce (Douda 2018). Identifikace konkrétního druhu hlístice je obtížná a obvykle požaduje taxonomickou analýzu, aby nedošlo k záměně parazitických hádátek s neškodnými (Moens et al. 2009).

Je popsáno velké množství hádátek parazitujících na rostlinách, většina z nich nedělá velké ekonomické škody, ale některá hádátka parazitující na rostlinách jsou významnými celosvětovými škůdci většiny kulturních plodin. Mohou způsobit ztráty od 5 do 15 %, někdy ale mohou být hlavním omezujícím faktorem produkce rostliny (Stirling 2014).

V průběhu tisíců let se hádátka přizpůsobila širokému spektru plodin, interakcí mezi hostitelem a patogenem představují ekonomická omezení v produkci (Bernard et al. 2023). Hádátka mají problematickou přímou ochranu, k likvidaci je potřeba velké dávky nematocidů s účinnými látkami, které jsou často nedostupné, zakázané, či jsou ekonomicky náročné (Douda 2018).

Hádátka mohou napadnout rostlinu v jakékoliv fázi vývoje, ale v raných stádiích vývoje jsou dopady závažnější (Pinzón 2011). Parazitické hlístice mohou způsobit škody jednotlivě, ale i tvořit komplexy chorob s jinými mikroorganismy, čímž zvyšují ztráty na úrodě (Chitambar et al. 2018). Aby se těmto škodám zamezilo, existují různé možnosti ochrany, včetně střídání plodin, použití nematocidů, karantény, rezistentních kultivarů a biologické ochrany (Timper 2014). Fytoparazitická hádátka mají stylet, dutou vysouvací jehlu spojenou s jícnem a tři jednobuněčné žlázy. Tuto strukturu používají k propíchnutí a proniknutí do rostlinných buněčných stěn, k uvolnění jícnového sekretu do hostitelské tkáně a k příjmu živin z buněk (Abbasi et al. 2014).

3.2.1 Rozdělení hádátek

Obvykle se hádátka dělí dle potravního typu podle hlavních zdrojů výživy (Dong & Zhang 2006). Hádátka v půdě jsou saprofitická, dravá a fytofágní. Fytofágní hádátka parazitují na rostlinách několika způsoby, buď poškozují kořeny či nadzemní části. Hádátka poškozující kořeny, se dělí dle způsobu života na sedentérní či volně žijící. Sedentérní neboli přisedlá se dále dělí na cystotvorná a hálkotvorná. Volně žijící na ektoparazitická a endoparazitická. Hádátka poškozující nadzemní části, se dělí na osní, listová a květní (Lee 2002).

3.2.2 Zástupci škodící na zelenině

Mezi háďátka škodící na zelenině patří rody *Ditylenchus* spp., *Meloidogyne* spp., *Globodera* spp., *Heterodera* spp. a *Pratylenchus* spp.

3.2.2.1 *Ditylenchus* spp.

Rod *Ditylenchus* *Fillipjev* (1936) zahrnuje více jak 80 druhů hlístic, převážně mykofágních a rostlinných parazitů. Nejzávažnějšími druhy jsou *Ditylenchus dipsaci* a *D. destructor* (Jeszke et al. 2014).

3.2.2.1.1 *Ditylenchus dipsaci* (Kühn 1857)

Ditylenchus dipsaci má celosvětově velký hospodářský význam jako parazit zemědělských a okrasných rostlin. Je zařazen mezi karanténní organismy v mnoha zemích světa (Subbotin et al. 2005). V Evropské unii je od roku 2019 řazen mezi regulované nekaranténní škodlivé organismy (Evropská komise 2019).

3.2.2.1.1.1 Výskyt

Háďátko zhoubné je pravděpodobně původem z Evropy (Qiao et al. 2013), vyskytuje se zejména v mírných oblastech světa, ale i ve vysokých nadmořských výškách v tropických oblastech s mírným podnebím (Stavropoulou et al. 2021). Vyskytuje se lokálně v Evropě, zejména ve Středomoří, Severní a Jižní Americe, severní a jižní Africe, Asii a Oceánii (CABI 2021B).

3.2.2.1.1.2 Biologie

Jedná se o agresivního obligátního (Bernard et al. 2023), stěhovavého endoparazita (Vovlas et al. 2011), který se živí parenchymem rostlin (Duncan & Moens 2006). Obvykle žije v nadzemních částech rostlin, jako jsou listy, stonky a květy, ale i v cibulích, hlízách a oddencích (Subbotin et al. 2005).

Je známo více jak 30 biologických ras *D. dipsaci*, které se odlišují infikujícími druhy z různých rostlinných čeledí (Vovlas et al. 2011). Tyto rasy vedly Subbotin et al. (2005) k považování, že druh *D. dipsaci* je druhový komplex. Tento komplex je rozdělen do dvou skupin. První obsahuje diploidní populace, které se vyznačují normální velikostí a jsou pojmenovány *D. dipsaci sensu stricto*. Tato skupina obsahuje většinu zaznamenaných populací. Druhá skupina je polyploidní, která se dále dělí na *Ditylenchus* spp. B (Jeszke et al. 2014), která je již považována za nový druh *D. gigas* (Vovlas et al. 2011). *Ditylenchus* spp. C, který je popisován jako *D. weischeri* (Chizhov et al. 2010) a *Ditylenchus* spp. D, E a F (Subbotin et al. 2005). Některé rasy se mohou mezi sebou křížit a dávají tak vznik novým rasám se svou hostitelskou specifitou (CABI 2021B).

Ekonomické prahy škodlivosti jsou obvykle velmi nízké, populační hustota 10 háďátek na 0,5 kg půdy může vést k významným ztrátám na výnosu (Subbotin et al. 2005).

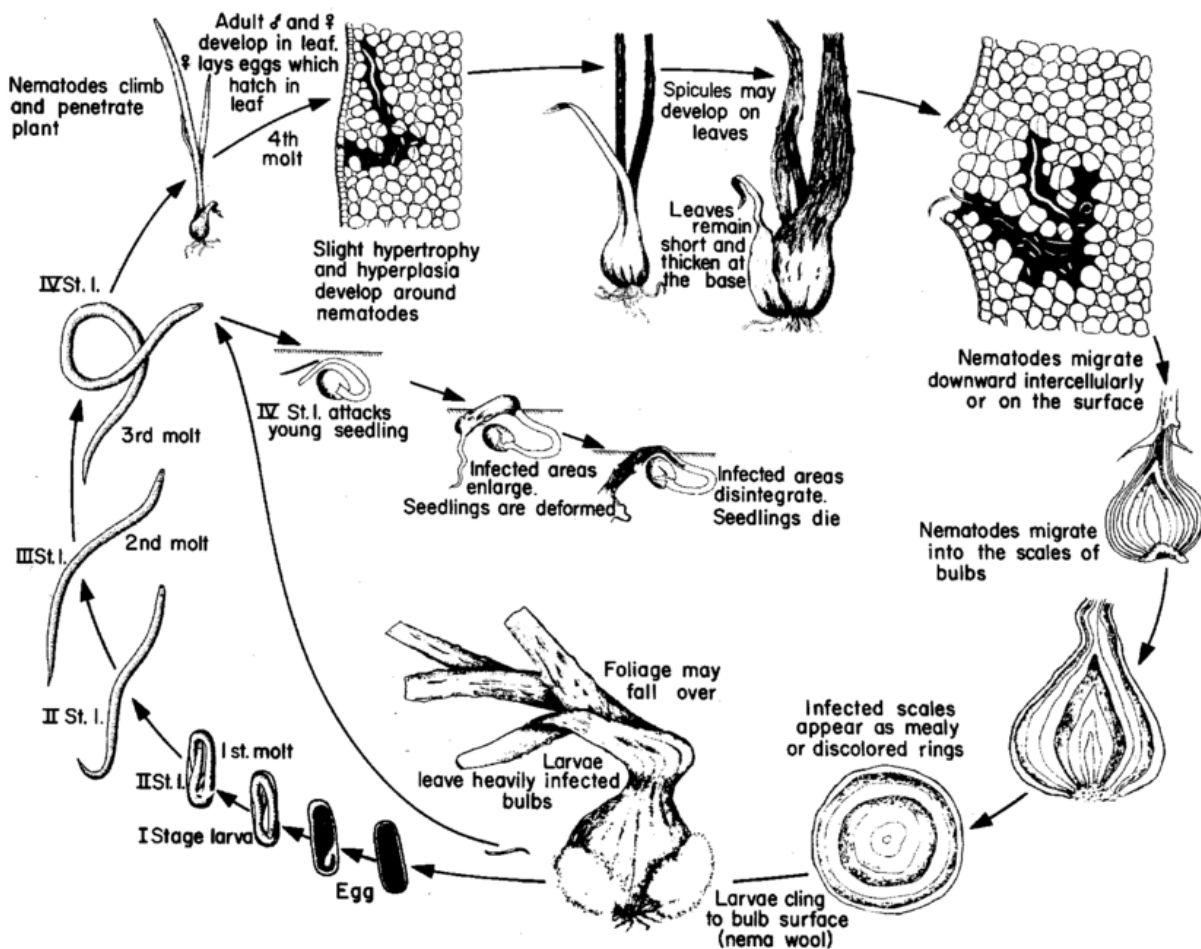
3.2.2.1.1.3 Morfologie

Háďátka zhoubné je vermiformní, středně veliké, dlouhé 1 – 1,3 mm (Hashemi & Karegar 2019), někteří jedinci mohou dosahovat velikosti až 1,5 mm a šířky přibližně 30 μm (Guskova 2009). Na kutikule jsou příčná mezikruží vzdálená od sebe asi 1 μm (CABI 2021B), se čtyřmi postranními rýhami. Stylet je menší velikosti s výraznými zaoblenými hrbolky (Hashemi & Karegar 2019). Tělo jícnu je válcovité, mírně zužující po přiblížení se ke střednímu bulbu (CABI 2021B). Středně vyvinutý střední bulbus s výraznou chlopní. Hltanový bulbus je proměnlivý, obvykle je dlouhý a válcovitý, někdy pyriformní a kratší. Bazální hltanová baňka s mírným střevním obsahem obvykle dosahuje 5 μm , může dosáhnout až do 29 μm (Hashemi & Karegar 2019). Ocas je koloidní, silný a špičatý (CABI 2021B). Vulva je zřetelná, přední vaječník roztažený s oocyty v jedné, vzácně ve dvojité řadě, někdy zasahující do jícnové oblasti. Je přítomen dlouhý postvulvální vak (Hashemi & Karegar 2019), zasahující do poloviny konečníku. Oocyty jsou oválné (Guskova 2009). Samci mají kopulační burzy, které začínají naproti přednímu konci spikuly a zasahují do tří čtvrtin konce ocasu (CABI 2021B). Spikuly samců jsou dlouhé 20 – 28 μm (Hashemi & Karegar 2019), ventrálně zakřivené, v předu rozšířené (CABI 2021B).

3.2.2.1.1.4 Životní cyklus

Háďátka se v agroekosystémech snadno množí (Stirling 2014). Životní cyklus háďátka probíhá při teplotách od 15 do 20 °C mezi 19 až 23 dny. Jedna samička je schopná vyprodukovat až 500 životaschopných vajíček (Chitambar et al. 2018). Za sezónu v ideálních podmínkách dokáží vytvořit až 6 generací. Samičky mohou přežít až 10 týdnů (Duncan & Moes 2006).

D. dipsaci je schopen infestace hostitele od druhého juvenilního stádia do dospělého, čtvrté juvenilní stádium je nejinfekčnější (Bridge & Starr 2007). Rychlý růst populace může mít za následek vážné škody na úrodě v kombinaci s dlouhou životaschopností se mohou stát nejzávažnějším škůdcem při pěstování zeleniny a dalších plodin (Jones et al. 2013). Po odumření rostliny zůstávají háďátka v půdě (Duncan & Moens 2006). Jedinci 4. vývojového stadia mají schopnost přejít do anabiotického stavu a přežívají tak v polních podmínkách minimálně pět let (Douda 2018). Přežít v anabiotickém stavu mohou až dvacet let (Subbotin et al. 2005). Na obrázku číslo 1 je uveden životní cyklus *D. dipsaci* napadajícího cibuli.



Obrázek 1: Životní cyklus *D. dipsaci*

(Agrios 2005)

3.2.2.1.1.5 Symptomy

Do hostitelské rostliny se dostávají pomocí vodního filmu průduchy na povrchu rostlinné tkáně (Subbotin et al. 2005). Nejvíce jsou napadány nadzemní části v blízkosti povrchu půdy. Pohyby v rostlině se mohou rozšířit i na semena, případně kořeny (Douda 2018).

První příznaky po napadení jsou zasychání vrcholků listů, které později žloutnou, deformují se, až úplně usychají (Riascos-Ortiz et al. 2023). Dále dochází k ztlustění stonků, zpomalení růstu rostliny, hnilobám cibule, při skladování česneku dochází k jeho intenzivnímu žloutnutí. Při hnilobách ve vlhku vydává nepříjemný zápach (Charchar et al. 2003). Dochází k trhlinám na bázích stonků, které způsobí rozpad membrán s následujícími ztrátami kořenového systému (Gómez et al. 1998). Napadení *D. dipsaci* může podpořit vstup houbových organismů a bakterií do rostliny, tyto napadené léze často tmavnou (Pinzón 2011).

Rostliny *Allium* spp. po napadení háďátky mají deformace listů, které jsou oteklé a na povrchu jsou puchýřky. Listy rostou neuspořádaně, často jsou svěšené dolů a chlorotické. Mladé rostliny mohou být po silném napadení usmrceny. Vnitřní vrstvy cibule jsou obvykle

více napadené. Postupně cibule měknou a při rozříznutí jsou na jednotlivých vrstvách cibule hnědé kruhové léze, které se postupem času zvětšují a spojují. Na česneku dochází také ke žloutnutí a odumírání listů (Natscher & Sikora 1990).

Na luštěninách způsobuje otoky a deformace tkáně stonku, nebo léze, které se zbarvují do červenohněda, postupně až do černa. Nově vytvořené lusky získávají tmavě hnědou barvu. Léze obklopující stonky se prodlužují. Léze na listech a řapících se vyskytují běžně, ale jsou lehce zaměnitelné s houbovými patogeny. Infikovaná semena jsou menší, tmavší, zdeformovaná a skvrnitá (CABI 2021B).

3.2.2.1.1.6 Hostitelské rostliny

Hostitelské rostliny háďátka zhoubného jsou z více jak 40 čeledí krytosemenných rostlin (Subbotin et al. 2005), přibližně se jedná o 450 druhů (Vovlas et al. 2011).

Mezi napadané rostliny patří obilniny, zejména oves, kukuřice a žito (Riascos-Ortiz et al. 2023), pšenice (Mokrini et al. 2009), cibulovou zeleninu, jako je cibule, cibule šalotka, česnek, pór. Mezi napadenou kořenovou zeleninu patří mrkev, celer, petržel, tuřín, ředkev ohnice a batáty. Mezi napadenou listovou zeleninu špenát, locika setá, mangold, čekanka salátová, chřest. Také napadá celou škálu rostlin z bobovitých, například fazole, vojtěšku, hrách, cizrnu, čočku, vičelec ligrus, jetel červený, jetel bílý, bob obecný a vikev (CABI 2021B). Mezi další zemědělské hostitelské plodiny patří cukrová řepa (Riascos-Ortiz et al. 2023), jahody, dýně, rebarbora (Vovlas et al. 2011), tabák, slunečnice, řepka olejka, hořčice, konopí seté, jílek vytrvalý, vinná réva. Napadá také velké množství okrasných rostlin jako tulipány, narcisy, hyacinty (Madani et al. 2015), astry čínské, artyčok, begonie, karafiáty, hortenzie, lilie, čekanky obecné. Mezi potenciální hostitelské plevele patří různé druhy ptačince, hluchavkovité, pryskyřníkovité, jitrocel kopinatý, mák vlčí, šťovíky, smetánka lékařská (CABI 2021B) a anýz (Riascos-Ortiz et al. 2023).

Některé rasy, které se množí na žitu, ovsu a cibuli se zdají být polyfágní a mohou napadnout i jiné hostitelské rostliny. Rasy, které napadají vojtěšku, jetel a jahody jsou prakticky specifické pro své jmenované hostitele. Rasa, která napadá tulipány se může běžně vyskytovat i v narcisech, ale rasa narcisová tulipány nenapadne (CABI 2021B).

3.2.2.1.1.7 Přenos

Přenos je možný nakaženými semeny, sadbou či zamořenou půdou a substráty, také lidskou činností (CABI 2021B).

3.2.2.1.1.8 Škodlivost

Ditylenchus dipsaci může způsobit u pěstování česneku až 100% ztráty na výnosu (Charchar et al. 2003). Šíření háďátka je často množitelským materiálem - semeny či sadbou (Mouttet et al. 2014). U cibulové zeleniny mohou napadnout semena (pažitka, pórek), stroužky česneku, cibule (Hanks & Linfield 1999).

3.2.2.1.2 *Ditylenchus destructor* Thorne

Ditylenchus destructor je polyfágní volně žijící háďátka (EFSA et al.2016), které napadá přes 100 druhů hostitelských rostlin. Je to závažný škůdce brambor (*Solanum tuberosum*) (Caubel & Pedron 1976), napadá také cukrovou řepu, jetele, česnek, mrkev, červenou řepu, okrasné cibuloviny, jako jsou tulipány, narcisy, gladioly, krokusy, některé druhy plevelů, jako jsou *Elymus repens*, *Artemisia vulgaris*, *Cirsium arvense*, *Potentilla anserina* a *Rumex acetosella* (EFSA et al.2016). Nachází se jak v hostitelských rostlinách, tak v okolní půdě při migraci (Wang et al. 2018).

V zimním období přežívá *D. destructor* ve všech stádiích života v infikovaných nesklizených hlízách, v kořenech zemědělských plodin nebo plevelů (Pridannikov 2021). Tyto háďátka bez hostitelských rostlin nepřežijí. Větší přežitelnost je při 40% a vyšší vlhkosti a to nejméně 6 týdnů (MacGuidwinen & Slackem 1991). Háďátka přezimují ve formě vajíčka (EFSA et al. 2016), také v odolném klidovém stádiu, či v jiném stádiu na alternativních plevelných hostitelích nebo na myceliu hub (De Waele & Wilken 1990). Z těchto důvodů je důležitá ochrana proti plevelům (EFSA et al. 2016).

Na bramborách v nadzemních částech se nevyskytují zjevné příznaky, jen silně napadené hlízy mají slabé rostlinky, které odumírají. V hlízách se objevují malé, bílé skvrnky pod slupkou, ty se postupně zvětšují, tmavnou, mají vlnitou texturu a uprostřed mohou být duté (Hooper 1973). U silně napadených hlíz jsou propadlé oblasti s popraskanou a vrásčitou slupkou. Dužina má suchý moučnatý vzhled, šedé až černé barvy, často zapříčiněné sekundárním napadením. Na listech se mohou objevit abnormální barvy a nekrotické léze (CABI 2021A).

3.2.2.2 Háľkotvorná a cystotvorná háďátka

Největší škody na zelenině lze připsat sedentárním endoparazitickým hlísticím nadčeledi *Tylenchoidea*, která zahrnuje kořenová háľkotvorná háďátka (*Meloidogyne* spp.) a cystotvorná háďátka (*Globodera* a *Heterodera* spp.) (Tamilarasan & Rajam 2013), protože poškozují kořeny zemědělských plodin a tím způsobí nízké výnosy a finanční ztráty (Lee & Kim 2016).

Je popsáno kolem 97 druhů *Meloidogyne*, z toho nejzávažnější jsou *M. hapla*, *M. inkognita*, *M. javanica* a *M. arenaria* (Karuri et al. 2017). Jsou obligátní rostlinní parazité, rozšíření po celém světě (Moens et al. 2009).

Háďátka rodu *Meloidogyne* spp. mají kolem 5500 různých druhů hostitelských rostlin (Adam et al. 2014), mezi které patří například rajčata, papriky, mrkve a červená řepa (Khan et al. 2023).

Háďátka napadnou pomocí styletu buňky kořenů, do kterých proniknou a dostávají se do rostlinných buněčných stěn. Po poškození kořenů od háďátek je snížen příjem vody a živin rostlinou (Escobar et al. 2015). Rostlina vytvoří hálký, ve kterých poté žijí háďátka přisedlým způsobem (Kenney & Eleftherianos 2016).

Cystotvorné hlístice jsou obligátní biotrofové. Mezi nejškodlivější druhy patří háďátka škodící na bramborách (*Globodera pallida* a *G. Rostochiensis*), háďátka škodící na obilí (*Heterodera avenae*, *H. filipjevi*) a na sóje (*Heterodera glycines*). Cystotvorné hlístice mohou v půdě přežít až 20 let (Grainger 1964), což způsobuje téměř nemožnou eradikaci (Jones et al. 2013).

Životní cyklus hálkotvorných a cystotvorných háďátek trvá 20 – 40 dní (Gocher et al. 2018). Když jedinci dosáhnou druhého juvenilního stádia, kterému říkáme invazivní larva, migrují z půdy do nových hostitelských kořenů. V případě migrace půdou používají lipidy uložené ve střevech k přežití a k usazení na novém hostiteli. Uvnitř háďátka migrují intracelulárně (cystotvorná háďátka) nebo mezibuněčně (hálkotvorná háďátka), usadí se a tvoří krmné buňky, které podporují vývoj háďátek (Caillaud et al. 2008). Háďátka se po vývoji do J4 stávají usedlými. Samička zůstává přisedlá. Samečci se svlékají a stávají se pohyblivými, již však nepřijímají potravu. Samičky po spáření s volně žijícím samcem tvoří cystu, ve které je chráněno 200 – 500 vajíček proti nepříznivým podmínkám až do vylíhnutí (Jasmer et al. 2003).

Samičky hálkotvorných háďátek částečně vypuzují vajíčka do ochranného želatinového vaječného vaku, který vychází ze zadečkové části. Některá vajíčka zůstávají i uvnitř samičky. Vaječný vak se nachází na povrchu kořenů nebo je uložen v hálkách, či rostlinných pletivech, například v hlízách brambor a může obsahovat až 1 000 vajíček (Curtis et al. 2009).

3.2.2.3 Kořenová háďátka *Pratylenchus* spp.

Na světě je více než 60 druhů háďátek *Pratylenchus* spp. (Castillo & Vovlas 2007). Nejvýznamnější jsou druhy *P. penetrans*, *P. thornei*, *P. neglectus*, *P. zaeae*, *P. vulnus* a *P. coffeae*.

Háďátka *Pratylenchus* spp. jsou polyfágní, stěhovaví, mezibuněční, kořenoví endoparazité (Jones et al. 2013).

Po napadení dochází ke snížení růstu kořenů, tvorbě lézí, nekrot, hnědnutí a buněčné smrti, často následovanou hnilobou kořenů způsobenou sekundárním napadením. Zpomaluje se růst rostlin, zvyšuje se náchylnost k vodnímu stresu, rostliny jsou zakrnělé a žlutnou. Kořeny jsou pahýlovité a mění přirozenou barvu (Vanstone et al. 2008).

Hostitelské rostliny jsou obiloviny, cukrová třtina, banány, kukuřice, luštěniny, brambory, mrkev a další zelenina (Castillo & Vovlas 2007).

Životní cyklus trvá 3 – 8 týdnů dle druhu a podmínek. Poté co se háďátka vyvine ve vajíčku na juvenilní stádium J1, poté na J2, které se z vajíčka vylíhne. Následující stádia mohou

infikovat kořeny hostitelských rostlin. Samice klade vajíčka do kořenu či přilehlé půdy. Samci se u některých druhů nevyskytují, rozmnožování často probíhá partenogenezí. V nepříznivých podmínkách bez hostitelských rostlin přežívají háďátka v půdě ve formě vajíček nebo v anhydrobióze déle než rok (Jones et al. 2013).

3.2.3 Háďátka zařazená mezi karanténní škodlivé organismy či RNŠO

Mezi karanténní organismy, které se na území Evropské unie již vyskytují řadí *Bursaphelenchus xylophilus*, *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, *Heterodera glycine*, *Meloidogyne chitwoodi*, *Meloidogyne enterolobii*, *Meloidogyne fallax*, *Meloidogyne graminicola*, *Meloidogyne luci*, *Meloidogyne mali*, *Radopholus similis* (neparazitující na citrusech), *Xiphinema rivesi* (EPPO 2023 A). V České republice se prozatím nevyskytuje *Bursaphelenchus xylophilus* (Evropská komise 2019). *Meloidogyne chitwoodi* a *M. fallax* v České republice nebyla zatím prokázána, v sousedním Německu ano, a je tedy možné brzké zavlečení (Kroutil & ÚKZUZ 2024).

Mezi regulované nekaranténní škodlivé organismy patří *Aphelenchoides besseyi*, *Ditylenchus dipsaci*, *Heterodera fici*, *Longidorus attenuatus*, *L. elongatus*, *L. macrosoma*, *Meloidogyne inkognita*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *Pratylenchus penetrans* a *P. vulvus* (Evropská komise 2019).

Nacobbus aberrans, *Meloidogyne ethiopica*, *Radopholus similis* napadající citrusy, *Xiphinema americanum sensu stricto*, *Xiphinema bricolense*, *Xiphinema californicum* se řadí mezi karanténní organismy a zatím se na území Evropské unie nevyskytují (EPPO 2023 B).

3.3 Chemická ochrana

Zelená revoluce zavedla používání chemických pesticidů pro hubení či omezení škůdců a patogenů. K jejich porážení musejí zemědělci používat často vysoké dávky chemických pesticidů, které mají okamžitý účinek, ale bývají drahé, mohou mít škodlivé účinky na rostliny, půdu a necílové organismy (Gupta et al. 2011). Státy Evropské unie se zavázaly ke snížení spotřeby pesticidů a umělých hnojiv do konce roku 2030 o 50 %. Tato dohoda je součástí zelené dohody (Jursík 2024).

V České republice jsme v používání pesticidů oproti jiným Evropským státům podprůměrní (Jursík 2024).

Dříve se k hubení háďátek používaly různé syntetické chemické nematocidy, jako jsou fumiganty, organofosfáty a karbamáty (Aktar et al. 2009), které jsou jednou z neúčinnějších metod ochrany rostlin proti háďátkům (El-Eslamboly et al. 2019).

Chemické nematocidy zvýšily zemědělský a hospodářský potenciál, zvýšily produkci potravin a zisk na úkor životního prostředí (Aktar et al. 2009).

Jejich negativní dopad na životní prostředí a vznik rezistencí po dlouhodobém používání vedl k úplnému zákazu nebo omezení používání většiny nematocidů a k naléhavé potřebě bezpečných a účinných alternativ (El-Eslamboly et al. 2019). Obvykle používané nematocidy jsou neselektivní, omezují nebo zabíjejí všechny hlístice obývající půdu a necílové organismy (Stavropoulou et al. 2021). A tak se po celém světě vyvíjí úsilí o nahrazení těchto chemických látek biologickými alternativami (Gupta et al. 2011).

V České republice je proti háďátku zhoubnému nyní povolen jen přípravek Basamid s účinnou látkou dazomet. Možnost použití tohoto jediného přípravku končí srpnem 2027 (ÚKZUZ 2024).

3.4 Nechemická ochrana

Nechemické a ekologické strategie jako jsou agrotechnické postupy, organizace pěstování rostlin, včetně výběrů odrůd a karantény jsou hlavními ekonomicky a ekologicky přijatelnými metodami ochrany rostlin (Collange et al. 2011).

Nejdůležitější ochranou proti háďátkům jsou preventivní opatření, používání kvalitní certifikované sadby, zamezení zavlečení háďátek na pozemek a jejich šíření na další plochy (Douda 2018), vhodné střídání plodin, kontrola plevelů v předplodinách, odstraňovat rostliny s příznaky napadení (ÚKZUZ 2024).

3.4.1 Střídání plodin

Střídání hostitelských plodin, s plodinou nehostitelskou je účinnou strategií managementu. V letech, kdy jsou vysazovány nehostitelské rostliny je snižována hustota populace háďátek (Timper 2011). Efektivita střídání plodin je v některých systémech pěstování plodin omezena z důvodu širokého spektra hostitelů nebo dlouhodobé životaschopnosti háďátek (Li et al. 2015).

3.4.2 Rezistence rostlin

Několik studií prokázalo, že rhizobakterie snižují závažnost háďátek, tím že vyvolají systémovou rezistenci rostlin (Pietrrese et al. 2002), při které vznikne mechanické a fyzikální zpevnění buněčných stěn (Ramamoorthy et al. 2001).

Correia et al. (2023) zkoušeli některé odrůdy česneku, zda jsou rezistentní vůči háďátkům *D. dipsaci*. Několik odrůd vykazovalo rezistenci ve skleníkových pokusech. V zamořených polních oblastech měla háďátka sníženou rozmnožovací schopnost a nižší míru poškození, je tedy vhodné tyto odrůdy dále používat ke šlechtění.

Jones et al. (2013) uvádějí, že jsou již komerčně dostupné odolné kultivary vojtěšky, jetelu, ovsu, česneku a jahod proti *D. dipsaci*.

3.4.3 Voda

Zaplavení oblastí s hádátky vytvoří anaerobní podmínky, které zapříčiní zahubení hádátek (Rhoades 1982), je zapotřebí minimálně 8 týdnů zaplavení půdy vodou při teplotách alespoň 20 °C. Také je vhodné střídat období záplav a sucha na životaschopnost hádátek (Noling & Backer 1994). I přes účinnost použití velkého množství vody na mortalitu hádátek, je účinek spíše nepraktický. Aplikace vody je obtížná z důvodu spotřeby vody, dlouhodobému trvání, degradaci struktury půdy a náročnosti na provedení (Duncan 1991).

3.4.4 Termická ochrana

Teplo účinně zabíjí hádátka. Existuje několik způsobů založených na tepelném působení (Collange et al. 2011).

3.4.4.1 Pára

Napařování půdy sterilizuje půdu (Katan 2000). Účinnost závisí na přípravě půdy a pórovitosti (Collange et al. 2011).

3.4.4.2 Solarizace

Je vhodné používat fólii na půdu, při teplotách nad 38 °C jsou hádátka usmrcena po 48 hodinách, při 42 °C již po 14 hodinách po vystavení těchto teplot (Wang & McSorley 2008), aby bylo dosaženo požadovaných kombinací teploty a doby trvání, měla by být solarizace prováděna po dobu několika týdnů v období maximálního slunečního záření (Scopa et al. 2008).

Solarizace půdy je nákladná a není 100 % účinná. Z důvodu migrace hádátek z hlubší vrstvy půdy, či vysoké odolnosti některých hádátek a jejich vajíček (Collange et al. 2011).

3.4.4.3 Teplá voda

Ošetření teplou vodou, přibližně 44 °C po dobu 60 minut je vhodné provádět u sadbového česneku (Douda 2018).

3.5 Biologická ochrana

Biologická ochrana se ukazuje jako slibný ekonomický a ekologický přístup ke snížení škod způsobených škůdci na rostlinách (Li et al. 2015). Lidská populace se stále zvyšuje a tím je potřeba i zvýšit produkci potravin z hlediska kvality i kvantity pomocí nekonvenčních metod v boji proti škůdcům a patogenům, tak abychom splnili nároky lidí na ekologii, šetření životního prostředí a minimální množství reziduí v potravinách a prostředí (Mohamed et al. 2018).

Současné přístupy k ochraně rostlin proti škůdcům a patogenům se snaží poskytnout integrovaný typ biologické ochrany, který nevyklučuje integraci bezpečných tradičních metod

kontroly a maximalizuje produkci s účinností netradičních metod biologické kontroly a k dosažení vysoké kvalitní produkce (Abd-Elgawad 2020).

Podstatou biologické ochrany je, že zahrnuje jakoukoli ekologicky založenou strategii, která vede ke snížení populace škůdců nebo k omezení poškození od škůdce (Stirling 2014). I přes obavy veřejnosti z účinků syntetických pesticidů na zdraví a životní prostředí, přírodní pesticidy mikrobiálního i rostlinného původu, nejsou na trhu časté (Isman 2000).

3.5.1 Nematofágní bakterie

Nematofágní bakterie jsou důležitou skupinou půdních mikroorganismů, které jsou schopné potlačit širokou škálu druhů hlístic. Podle způsobu účinku jsou tyto bakterie rozděleny do následujících skupin: obligátně parazitické, oportunně parazitické, rhizobakterie, parasporální bakterie tvořící cry proteiny, endofytické bakterie a symbiotické bakterie (Tian et al. 2007).

Významná alternativní strategie ochrany rostlin je používání biopesticidů, zejména přírodních biostimulantů, které jsou obvykle metabolity půdních bakterií (Yakhin et al. 2017). Nematofágní bakterie jsou dobrými činiteli biologické kontroly, které inhibují růst, reprodukci a zabíjejí široké spektrum druhů hlístic, které se skládají z volně žijících, dravých, živočišných a fytoparazitických hlístic (Ahmad et al. 2021).

Existuje mnoho druhů bakterií, které mohou být využívány pro biologickou ochranu rostlin proti hádátkům (Ahmad et al. 2021). Dominantní populace nematofágních bakterií v půdě jsou organismy patřící do rodů *Bacillus*, *Pseudomonas* a *Pasteuria* (Tian et al. 2007). Většina fytopatogenních hlístic je parazitována rodem *Pasteuria* (Bird et al. 2003), konkrétně je dokázáno že, *P. penetrans* parazituje hádátka ze skupiny *Meloidogyne* spp., *P. thornei* hádátka *Pratylenchus* spp. a *P. nishuza wae* infikuje rody cyklických hádátek, *Heterodera* a *Globodera* (Atibalentja et al. 2000).

Brevibacillus laterosporus zabíjí a redukuje populace některých druhů hlístic, jako jsou *Heterodera glycines*, *Trichostrongylus colubriformis* a *Bursaphelenchus xylophilus* (Huang et al. 2005).

Bacillus spp. je hojně vyskytovaná bakterie v rhizosféře. Je prokázán jejich antagonistický vliv na hádátka v půdě. Sekundární metabolity *Bacillus* Spp. totiž vykazují nematofágní účinky (Xiong et al. 2015). Mnoho bakteriálních proteáz od rodu *Bacillus* infikuje a zabíjí hádátka (Niu et al. 2005).

Zdrojem biopesticidů jsou také aktinobakterie, rodů *Sacharoolyspora* a *Streptomyces*. Například *Streptomyces avermitilis*, produkuje avermektiny s insetkticidními a nematocidními účinky (Blyuss et al. 2019). Tyto sloučeniny laktonu se zaměřují na receptory GABA v periferní

nervové soustavě hlístic a způsobují inhibici neurotransmise a paralýzu nervového systému (Cabrera et al. 2013).

Rhizobakterie fungují proti hádátkům dvěma způsoby. Jednak přímým antagonismem, produkcí enzymů, toxinů a dalších metabolických produktů, nebo nepřímým účinkem na chování hádátek, podporou růstu rostlin, soupeřením o základní živiny a vyvoláním systémové rezistence (El-Nagdi & Youssef 2004).

3.5.2 Nematofágní houbové organismy

Nematofágní houby mají schopnosti zachycovat, parazitovat nebo paralyzovat hlístice ve všech stádiích jejich životního cyklu (Dong & Zhang 2006). Některé nematopatogenní houby mohou být použity k ochraně životního prostředí před pesticidy. Jsou vhodným řešením pro ochranu plodin, aniž by bylo obtížnější je vyrábět, skladovat a používat (Ahmad et al. 2021).

Bylo objeveno více jak 700 druhů hub, patřících do skupin *Basidiomycota*, *Ascomycota*, *Chytridiomycota*, *Zygomycota* a *Oomycota*, které jsou dravé. Některé z nich se živí parazitickými hlísticemi (Li et al. 2015).

Tyto houby se dělí do několika skupin na houby, co predují dospělá hádátka, ovidní, oportunní, endoparazitická a produkující toxiny (Braga & Araújo 2014).

Některé odchyťávají hádátka pomocí síťových systémů, takto se živí například *Arthrobotrys oligospora* a *A. superb.* *A. anchonia*, *A. dactyloides* a *Dactylaria brochopaga* tvoří svíravé oka, do kterých chytají hádátka (Ahmad et al. 2021). Většina těchto hub je saprofágních, ale mohou zachytit i volně žijící hádátka, která například migrují, či larvální stádia prvního řádu (Huang et al. 2004).

Některé nematofágní houby tvoří adhezivní spory. Tyto spory produkují houby žijící na těle hádátek, snižují tak jejich životnost (Ahmad et al. 2021).

Predátorské houby produkují modifikované hyfy zvané pasti, kterými mechanickým nebo enzymatickým procesem vážou a tráví larvy hádátek. Některé mají ostré konce speciálních hyf, která způsobí mechanické poškození kutikuly hádátka. Nematofágní houby pronikají kutikulou hádátka, pomocí enzymatických reakcí je ovlivňují (Ahmad et al. 2021), což má za následek extravazaci vnitřního obsahu hádátka a umožňuje úplnou kolonizaci hádátka (de Freitas Soares et al. 2018), poté je zabíjejí a následně tráví (Ahmad et al. 2021).

Oportunistické nebo ovidní houbové mikroorganismy produkují modifikované hyfy a podobnými procesy vážou a tráví vajíčka, cysty a samice hádátek (de Freitas Soares et al. 2018). *Pochonia chlamydosoria* a *Paecilomyces lilacinus* jsou jedni z nejsilnějších vaječných parazitů hlístic. Parazitická houba infikuje a zničí vajíčka, nejčastěji kořenových hádátek na zelenině (Haseeb & Kumar 2006).

Některé houby produkují a vylučují toxiny, které znehybňují hlístice. Hyfy poté lépe pronikají kutikulou a úplně kolonizují háďátka (De Freitas Soares et al. 2018).

Hay & Bateson (1997) zkoumali vliv a potenciál nematofágních hub *Verticillium balanoides* pro regulaci *Ditylenchus dipsaci* u jetele lučního. Z výsledků vyplývá, že byla účinná ve snižování množství háďátek v listech.

3.5.3 Éterické oleje využité v ochraně rostlin

Éterické oleje, taktéž esenciální oleje či esence, jsou oleje rostlinného původu. Je známo více jak 3 000 esenciálních olejů (EO), z nich 300 je komerčně dostupných a významných pro farmaceutický, agrotechnický, potravinářský, kosmetický a parfémový průmysl (Bakkali et al. 2008). Rostliny ve skutečnosti vylučují sekundární metabolity jako defenzivní strategie, která je činí konkurenceschopnými v jejich vlastním prostředí (Teoh 2016). V přírodě hrají esenciální oleje důležitou roli při ochraně rostlin před mikroorganismy, škůdci a jinými rostlinami, také slouží jako atraktanty pro opylovače. Oleje vyextrahované z rostlin jsou kapalné, těkavé, čiré, zřídka zbarvené, rozpustné v tucích a organických rozpouštědlech s nižší hustotou jak voda. Jsou syntetizovány všemi rostlinnými orgány a jsou uloženy v sekrečních buňkách, dutinách, kanálcích, epidemických buňkách nebo žlázových trichomech (Bakkali et al. 2008).

Esenciální oleje představují alternativní ochranu rostlin. Některé esenciální oleje, využívané jako vůně a příchutě v potravinářském průmyslu, jsou již dlouho považovány za odpuzovače hmyzu, některé mají kontaktní a fumigantní insekticidní účinky i fungicidní účinky (Isman 2000).

Esenciální oleje jsou velmi složité přírodní směsi, které mohou obsahovat 20 – 60 složek ve zcela odlišných koncentracích (Pichersky et al. 2006). Biologické vlastnosti závisí na složení esenciálních olejů, které jsou charakterizovány dvěma či třemi hlavními složkami v poměrně vysokých koncentracích a několika dalšími složkami přítomných v malém nebo stopovém množství (Bakkali et al. 2008). Esenciální oleje jsou tvořeny těkavými sloučeninami, které jim dodávají specifické aroma, a chemickými složkami, jako jsou terpeny, ketony, kyseliny, estery, fenolické sloučeniny a seskviterpeny (Butnariu & Sarac 2018). Monoterpeny jsou ve více jak 90 % olejů extrahovaných z rostlin (Bakkali et al. 2008).

Esenciální oleje jsou produkty získané mechanickou extrakcí nebo hydrodestilací z aromatických rostlin (Teoh 2016). Extrakce probíhá několika způsoby. Používá se kapalný oxid uhličitý, mikrovlny, nízkotlaká a vysokotlaká destilace využívající vroucí vodu nebo horkou páru (Bakalli et al. 2008). Vyextrahovaný produkt se může lišit v kvalitě, množství i ve složení podle klimatu, složení a jakosti půdy, rostlinného orgánu, věku a fáze vegetativního cyklu při sklizni (Angioni et al. 2006).

3.5.3.1 Použití esenciálních olejů proti hádčátkům

Již proběhlo mnoho studií, kde byly zjištěny pozitivní účinky esenciálních olejů na mortalitu parazitických hádčátek, ale počet registrovaných a prakticky používaných nematocidů je omezený. Toto omezení je způsobeno drahými a náročnými registračními procesy v Evropské unii (Evropská komise 2019).

Účinnost esenciálních olejů při ochraně rostlin proti hádčátkům však nebyla uspokojivá kvůli nízké rozpustnosti ve vodě, špatné penetraci a rychlé degradaci za nepříznivých podmínek (Barradas & Silva 2020 A). Proto se již esenciální oleje zapouzdřují do lipidových nanoemulzí (Barradas & Silva 2020 B). Lipidové nanoemulze jsou levné, zvyšují vodní disperzi, zlepšují pronikání do kořenů a listů, snižují dávku esence a prodlužují dobu účinnosti (Nguyen et al. 2020).

Dle Andrése et al. (2012) mohou být esenciální oleje a jejich složky použity jako samotné nematocidy nebo mohou sloužit jako modelové sloučeniny pro vývoj derivátů se zvýšenou nematocidní aktivitou. Esenciální oleje mají také antimikrobiální, antifungicidní, antioxidační, insekticidní a nematocidní účinky (Stavropoulou et al. 2021).

Rostliny produkují soubor těkavých organických sloučenin jako obranný mechanismus proti škůdcům a patogenům. Esenciální oleje jsou přírodní těkavé látky přítomné v široké škále druhů rostlin patřících do různých botanických čeledí (Kabera et al. 2014).

Některé z hlavních sloučenin v rostlinách jako je trans-cinnamaldehyd obsahující skořicový olej, 1,8-cineol obsahující eukalyptový olej, isothiokyanát obsahující olej z hořčice, geraniol z jávské citronové trávy, azadirachtin, salannin a nimbin v nimbovém oleji, linalool obsahující levandulový olej, kapsaicinoidy obsahující chilli olej, diallyl trisulfid a diallyl trisulfid obsahující česnek mají nematocidní aktivitu (Barua et al. 2020).

Dle Stavropoulou et al. (2021) v in vitro testech při použití karvakrolu v koncentraci 2000 mikrolitrů na litr při expozici 24 hodin byla 100% paralýza hádčátek, při nižších koncentracích byla nižší úmrtnost (při 1500 $\mu\text{l/l}$ 70%). Při použití geraniolu byla při stejné koncentraci 2000 $\mu\text{l/l}$ po 24 hodinách paralýze jen u 30 % hlístic, po 6 hodinách 52 %. U eugenolu bylo po 24 hodinách paralyzováno přes 50 % hlístic při použití stejné koncentrace a po 96 hodinách až 71 %. Thymol paralyzoval při stejné koncentraci o 96 hodinách méně jak 50 % hlístic.

Dle Gubta et al. (2011) použití eukalyptového esenciálního oleje v koncentraci 1000 $\mu\text{l/l}$ byla 100% mortalita za 6 hodin, a za 30 hodin se 125 $\mu\text{l/l}$ oleje u hádčátek *Meloidogyne inkognita*.

Nguyen et al. (2022) uvádějí, že oleje ze skořice (*Cinnamomum cassia*), česneku (*Allium sativum*), citrónové trávy (*Cymbogon citratus*), hořčice (*Sinapis arvensis*), chilli (*Capsicum*

frutescens), eukalyptu (*Eucalyptus camaldulensis*), azadirachty indické (*Azadirachta indica*), levandule (*Lavandula angustifolia*), máty (*Mentha piperita*) a zázvoru (*Zingiber officinale*) nejsou fyto toxické, ale mají vysokou účinnost proti háďátkům. Srovnávali i použití klasického esenciálního oleje s použitím nenoemulzí. Ty vykazovaly 2 – 5 x vyšší účinek. Hořčičný, skořicový, česnekový olej a olej z citrónové trávy mají vysokou účinnost na mortalitu háďátek i při velmi nízké koncentraci. Esenciální oleje z hořčice, skořice a citrónové trávy jsou na víc cenově dostupné. Tyto oleje mají tedy potenciál být široce používány v udržitelném zahradnictví k ochraně rostlin před poškozením háďátky.

Echeverrigaray et al. (2010) zkoušeli jaké účinky má 22 monoterpenoidů na *M. inkognita*. Použili 250 mg/l a 500 mg/l látky. Všechny testované monoterpeny vykazovaly účinky proti líhnutí vajíček, většina z nich inhibovala mobilitu J2 stádií. Nejúčinnějšími sloučeninami byl geraniol, borneol, karveol, citral, citronellool, terpinen-4-ol a a-terpeneol. Při použití nižší koncentrace (250 mg/l) se u většiny nesnížila účinnost. Borneol, citral, geraniol a a-terpenoid byly účinné i při koncentraci 100 mg/l. Je tedy vhodné se nadále zabývat monoterpenoidy. Hammad & EL-Sagheer (2023) testovali účinnost *Mentha spicata* L. a *Ocimum basilicum* L. na *M. inkognita* parazitující na chilli papričkách, při 5 % koncentraci byla u obou variant 100% mortalita již po 24 hodinách, při 3 % pak po 24 hodinách 75%, po 72 hodinách u bazalky 97% a u máty 98% úmrtnost.

Dle Andrése et al. (2012) *Mentha arvensis*, *M. rotundifolia*, *M. spicata*, *Satureja montana*, *Thymus mastichina*, *T. vulgaris*, *T. zygis* měli na *Meloidogyne javanica* nematocidní účinky. Již po 24 hodinách kontaminace těmito EO v koncentraci 1 µg/µl byla 100% mortalita u J2 stádia. Dále testovali účinnost EO na líhnutí vajíček, *Mentha arvensis*, *M. spicata*, *S. montana*, *T. vulgaris* a *T. zygis* silně potlačují líhnutí vajec, a to mezi 86 – 99 %. Oka et al. (2007) testovali v in vitro podmínkách 27 druhů koření a aromatických rostlin na působení proti *M. javanica*. Při koncentraci 1000 µl/l vykazovalo 12 z nich inhibiční účinky larev i vajíček. EO z *Carum carvi*, *Foeniculum vulgare*, *Mentha rotundifolia* a *Mentha spicata* vykazovaly nejvyšší možnou nematocidní aktivitu. Nad 80 % byla mortalita u *Artemisia judaica*, *Coridothymus capitatus*, *Cymbopogon citratus*, *Micromeria fruticosa*, *Origanum vulgare* (C a T typ) a *O. syriacum* (C a CT typ).

Na háďátka borovicové (*Bursaphelenchus xylophilus*) působí *Trachyspermum ammi*, *Pimenta dioica* a *Litsea cubeba* (Park et al. 2007). Barbosa et al. (2012) vyzkoušeli 52 esenciálních olejů v koncentraci 2 mg/l, z toho 13 bylo vysoce účinných s více jak 90% úspěšností, včetně *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., *Thymus caespititius* Brot., *Mentha officinalis*, *M. cervina* a *Origanum vulgare* L., *Satureja montana* L., *Ruta graveolens* L. způsobila 100% mortalitu.

3.5.3.2 Použití esenciálních olejů proti jiným škůdcům

Mimo háďátka esenciální oleje působí i na další škůdce rostlin. Proti nosatci fazolovému (*Acanthoscelides obtectus*) jsou účinné oleje z *Thymus serpyllum* (bohaté na

fenoly thymol a karvakrol), *Origanum majorana* (terpinen-4-ol) (Regnault-Roger et al. 1993). Esenciální oleje z kmínu (*Cuminum cyminum*), anýzu (*Pimpinella anisum*), oregana (*Origanum syriacum* var. *bevanii*) a eukalyptu (*Eucalyptus camaldulensis*) byly účinné jako fumiganty proti mšici bavlníkové (*Aphis gossypii*) a svilušce karmínové (*Tetranychus cinnabarinus*) (Tunc & Şahinkaya 1998). Gupta et al. (2011) použili na termity 10 % esenciální olej z máty rolní, účinnost byla 100% již po 30 minutách, při použití 0,12 % koncentrace oleje byla 100 % mortalita po 10 hodinách, na termity byl dále účinný esenciální olej z citrónové trávy a kmínu.

Na fytopatogenní houbové organismy, působí esenciální oleje. Například hřebíčkový olej vykazuje fungicidní účinky proti *Fusarium oxysporum* (Gupta et al. 2011) a dalším druhům houbových patogenů (Chaieb et al. 2007).

3.5.3.3 Esenciální oleje využití v ochraně proti *Ditylenchus dipsaci*

Bylo provedeno již několik studií zabývajících se účinkem esenciálních olejů na *Ditylenchus dipsaci*.

Byly popsány nematocidní účinky u jitrocele většího (*Plantago major*), routy vonné (*Ruta vulgaris*) (Insunza & Valenzuela 1995), ditrichie lepkavé (*Dittrichia viscisa* (L.)), zederach indický (*Melia azadarecht* L.) (Hassan et al. 2015), klastnatky (*Elsholtzia Fruticosa*) (Liang et al. 2020). Dle Doudy et al. (2022) byla po aplikaci esenciálního oleje z *Cinnamomum cassia* 100% mortalita po 4 hodinách. 75% mortalita po 24 hodinách byla pozorována při použití kadidla a kopru vonného (*Anethum graveolens*). Statisticky významné také bylo použití esenciálních olejů z některých jehličnanů jako je jedle bělokorá (*Abies alba* Mill.) a borovice kleč (*Pinus mugo* Turra).

Zouhar et al. (2009) testovali in vitro 35 esenciálních olejů a zjišťovali jejich účinnost na mortalitu *D. dipsaci*. Každý olej byl použit v koncentracích 1 500, 3 000, 5 000 a 7 500 ppm. Mortalitu háďátek pozorovali po 3 a 6 hodinách. Výrazná mortalita *D. dipsaci* byla u esenciálních olejů z hřebíčku (*Syzygium aromaticum*), dobromyslu obecného compactum (*Origanum compactum*), dobromyslu obecného (*Origanum vulgare*), tymiánu obecného (*Thymus vulgaris*) a mateřídoušky (*Thymus mastichina*) při koncentraci 5 000 a 7 500 ppm. Mateřídouška vykazovala mortalitu i při koncentraci 3 000 ppm. Esenciální oleje z rostlin rodu aksamitníků (*Tagetes* spp.) nevykazovaly nematocidní účinky, i přes to, že se běžně používají k ochraně proti háďátkům. Extrakty z *Abies sibirica* Ledeb., *Acorus calamus* L., *Amyris balsamifera*, *Artemisia absinthium* L., *Citrus aurantifolia*, *Citrus limonum* Osbeck, *Juniperus communis* L., *Juniperus virginiana* L., *Lavandula angustifolia* P. Mill., *Lavandula latifolia* Medik., *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) Blake, *Melissa officinalis* L., *Mentha* spp., *Nepeta cataria* L., *Ocimum basilicum* L., *Origanum majorana* L., *Pelargonium graveolens* L'Heritier, *Pelargonium roseum* Willd., *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth, *Pongamia* sp., *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia officinalis* L., *Salvia sclarea* L., *Thuja occidentalis* L., *Tsuga canadensis* (L.) Carrière, *Zingiber officinale* Rosc. nevykazovaly statisticky významnou mortalitu.

3.5.4 Řasy

Spirulina je druh modrozelené řasy, která je bohatá na bílkoviny, vitamíny, minerály, karotenoidy a antioxidanty, které mohou rostlinám pomoci produkovat dobrý výnos a odolávat hádátkům (Shawky et al. 2009).

Řasy *Anabena oryzae*, *Nostoc calcicola* a *Spirulina* sp. snižují počet hálek u rostlin napadených *Meloidogyne inkognita* a zlepšují životnost hrachoru (Youssed & Ali 1998). Na *M. inkognita* také působí řasa *Microcoleus vaginatus*, která inhibuje líhnutí vajíček a zabíjí 2. juvenilní stadia (Khan et al. 1997). Použitím *Spirulina platensis* u okurek zamořených *M. inkognita* se snížilo množství hálek, celkového počtu hádátek a vajíček, zároveň se zlepšil růst rostliny a výnos (Shawky et al. 2009). Ke stejným výsledkům dospěla i novější studie El-Eslamboly et al. (2019), kdy byly rostliny zalévány extraktem z řas (2 g/l) spirullinou nebo amforou. Obě varianty měly větší výnosy, kvalitnější plody a rostliny byly celkově zdravější. Pushparaj et al. (2000) uvádějí že stejné účinky měla hnědá mořská řasa *Ascophyllum nodosum* u rajčete.

4 Metodika

V diplomové práci byly dva pokusy. První probíhal v in vitro podmínkách, kde se zjišťovala účinnost 29 esenciálních olejů na mortalitu háďátek *Ditylenchus dipsaci* po 24, 48 a 72 hodinách. Druhý pokus probíhal ve skleníku, a zjišťovala se účinnost vybraných esenciálních olejů na mortalitu *D. dipsaci* na čekance a vliv esencí na růst rostlin.

4.1 In vitro pokusy

Bylo vybráno 29 esenciálních olejů, u kterých se prokazoval vliv na mortalitu *D. dipsaci*. Byly použity esence z *Ocimum basilicum* (OB), *Cymbopogon winterianus* (OW), *Eukalyptus citriodora* (EC), *Pelargonium graveolens* (PG), *Origanum majorana* (OM), *Rosmarinus officinalis* (RO), *Thymus serpyllum* (TS), *Lavandula angustifolia* (LA), *Mentha spicata* (MS), *Thymus vulgaris* (TV), směs *Thymus vulgaris* a *T. zygis* (TW), *Satureja montana* (SM), *Salvia officinalis* (SO), *Pimpinella anisum* (PA), *Foeniculum vulgare* (FN), *Cinnamomum cassia* (SK), *Cinnamomum camphora* (KAF), *Artemisia dracunculus* (TaO), *Cymbopogon citratus* (CC), *Origanum vulgare* (OV), *Anethum graveolens* (AG), *Daucus carota* (DC), *Carum carvi* (CK), *Zingiber officinale* (OZ), *Piper nigrum* (PV), *Coriandrum sativum* (CS), *Laurus nobilis* (LV), *Lavandula hybrida* (LH) a *Syzygium aromaticum* (HŘ) od firmy Sigma-Adrich či Saloos naturcosmetic.

4.1.1 Extrakce háďátek *Ditylenchus dipsaci* z rostlinných pletiv česneku

Populace háďátek, použitých v in vitro pokusu, byla extrahována z rostlin česneku napadených *Ditylenchus dipsaci* pomocí Baermannovy nálevky. Prvně byly v laboratoři pokrájeny napadené česneky, které se umístili do jednovrstvého papírového ubrousku. Následně byly umístěny do nálevky s vodou. Nálevka měla na konci umístěnou hadičku se svorkou, která udržovala vodu v nálevce. Po vložení pokrájeného česneku v kapesníčku byla doplněna voda, tak aby byl celý ponořen. Takto se nechala naplněná nálevka po dobu 24 hodin, kdy docházelo k postupnému uvolňování a sedimentaci háďátek ke dnu gumové hadičky. Po 24 hodinách byla pomocí svorky upuštěná spodní část se sedimentovanými háďátky do kádinky.

Používané pomůcky: Baermannova nálevka, svorka, česnek, nůž, papírové ubrousky, voda.

4.1.2 Příprava esencí

Emulze esenciálních olejů v 1% koncentraci byla připravena smísením 35 μ l esenciálního oleje a Dimetylsulfoxidu (DMSO) v množství 3,465 ml v kádinkách. Emulze byla míchána na magnetické míchačce po dobu 10 minut, o 1000 otáčkách za minutu, aby došlo k úplnému promíchání každého oleje v pokusu zvlášť.

Použité pomůcky: DMSO, esenciální oleje, destilovaná voda, kádinka, pipeta, magnetická míchačka, magnet.

4.1.3 Založení testu

Připravené emulze esenciálních olejů byly postupně napipetovány do kultivační destičky s 24 jamkami, v množství 1 ml. K esenci bylo pomocí jehly přidáno 20 kusů vyplavených háďátek. Každá esence měla vždy 6 opakování, 6 opakování měla kontrola s vodou a také kontrola s DMSO. Následně byly jamky řádně promíchány. Destičky byly uzavřeny víčkem.

Používané pomůcky: kultivační destička, emulze, destilovaná voda, vyextrahovaná háďátka, pipeta, jehla.

4.1.4 Vyhodnocení testu

Po 24 hodinách byl do každé jamky napipetováno 50 μ l 1% peroxidu vodíku pro okysličení emulze, aby háďátka, která se jeví jako mrtvá oživila a nedošlo k záměně. Každá jamka byla po půl hodině prohlížena pod mikroskopem. Byla počítána mrtvá a živá háďátka, následné výsledky byly zaznamenány do tabulky. Tento postup byl opakován po 48 hodinách a 72 hodinách od založení pokusu.

Používané pomůcky: mikroskop, pipeta, peroxid vodíku

4.1.5 Statistické šetření

Prvně byla přepočítána mortalita háďátek pomocí vzorce $=\text{ARCSIN}(\text{ODMOCNINA}(\% \text{mortalita háďátek}/100))$. V programu Statistika (12.0) byla zjištěna normalita dat. Jelikož byl soubor statisticky normálně rozložen byly výsledky zpracovány pomocí jednofaktorové ANOVY, Tukeyův HSD testem.

4.2 Skleníkový pokus

Ve skleníkovém pokusu bylo vybráno 12 variant nejúčinnějších olejů z in vitro testů, a to *Cinnamomum camphora* (KAF), *Coriandrum sativum* (CS), *Origanum majorana* (OM), *Thymus vulgaris* (TV), *Cymbopogon citratus* (CC), *Artemisia dracunculoides* (TaO), *Lavandula hybrida* (LH), *Laurus nobilis* (LV), *Carum carvi* (CK), *Origanum vulgare* (OV), směs *Thymus vulgaris* a *T. zygis* (TW) a kombinace *Syzygium aromaticum* (HŘ) s *Cinnamomum cassia* (SK).

4.2.1 Příprava esencí

Esence byly připraveny, patentovanou metodou katedry ochrany rostlin (patent č. 308145), pomocí enkapsulace do biopolymeru.

4.2.1.1 Příprava biopolymeru

Za stálého míchání se v destilované vodě rozpustila při 45 °C želatina v množství 8g/200 ml. Chitosan v množství 2g/60 ml se za stálého míchání při 45 °C rozpustil v 0,15 mmol

kyselině octové. Za stálého míchání při 45 °C se smísila želatina a chitosan. Následně bylo připipetováno 0,15 ml/g glycerolu, a 0,15g/g sorbitolu. Vše bylo důkladně rozmícháno při udržované teplotě 45 °C.

4.2.1.2 Enkapsulace

Do 100 ml kádinky bylo odměřeno 15 ml 10% esenciálního oleje v řepkovém oleji, následně bylo připipetováno 300 µl TWEENU. Poté proběhla emulzifikace pomocí YELLOWLINE DI 25 basic (IKA), při 19500 rpm. Nadále bylo připipetováno 20 ml biopolymeru, a znovu proběhla 3 minuty emulzifikace při 19500 rpm. Do vysoké kádinky o objemu 250 ml bylo odměřeno 114,7 ml 0,5 % roztoku TPP o pH 5. Do této kádinky byl vlit obsah 100 ml kádinky. Při pomalém lití byl roztok emulzifikován při 19500 rpm a emulzifikace probíhala následně tři minuty po dolití. Výsledná koncentrace enkapsulované esence je 1 %.

Pomůcky:

Chemikálie: Želatina tested according to Ph. Eur. – Sigma – k.č. 48723, Chitosan low molecular weight – Sigma – k.č. 448869, Glycerol bezvodný, D-Sorbitol ≥98 % - Sigma k.č. S1876, TWEEN®80 viscous liquid – Sigma k.č. P1754, Sodium tripolyphosphate technical grade 85 % (TPP) – Sigma k.č.238503, Destilovaná voda

Biopolymer: Želatina, Chitosan

Takto připravená emulze esenciálního oleje v množství 4,05 ml byla důkladně promíchána s perlitem v množství 36,75 ml a 2 l substrátu. Směs byla řádně promíchána.

4.2.2 Založení pokusu

Ve školním skleníku v řízených podmínkách byly připraveny podkvětníky, na které byla položena textilie a následně 8 květináčů. Celkem bylo 12 variant esencí a jedna kontrola, obsahující jen perlit a substrát bez emulze. Esence byly vybrány dle účinnosti v in vitro testech, jedna varianta, byla kombinací hřebíčku a skořice, která byla doporučena. Každá varianta byla udělána duplicitně, jedna vždy s přítomností háďátek druhá bez. Celkem tedy 16 květináčů od každé varianty. Vždy do 8 květináčů byla umístěná sušená čekanka obsahující *Ditylenchus dipsaci* o minimálně 100 jedincích. Týden se nechal substrát odležet a následně se do každého květináče zaseto semínko čekanky salátové (*Cichorium intybus*).

Pomůcky: napadená čekanka, květináče, podkvětníky, textilie, substrát, perlit, emulze, kýbl, osivo čekanky

4.2.3 Vyhodnocení pokusu

Po 12 týdnech byly rostliny vyhodnoceny. Byly odřezány nadzemní části od každé rostliny zvlášť, které byly zváženy, aby byl zjištěn vliv háďátek a esencí na váhu. Každá rostlina z variant obsahující háďátka byla vyextrahována stejným způsobem jako háďátka z in vitro pokusu v první části. Po 24 hodinách byla pomocí svorky odpuštěna spodní část se sedimentovanými háďátky do kádinky. Následně byla kádinka přelita do speciální Petriho misky s mřížkou, a poté byla háďátka počítána pod binolupou.

Pomůcky: Baermannova nálevka, svorka, binolupa, jehla, Petriho miska s mřížkou.

4.2.4 Statistické šetření

Prvně byla zjištěna normalita dat. Váha jednotlivých čekanek byla normálního rozdělení, následně byla data zpracována v programu Statistika pomocí jednofaktorové ANOVY Tukeyovým HSD testem. Data počtu háďátek nebyla normálně rozdělena, proto byla zvolena neparametrická ANOVA. Byl použit Kruskalův-Wallisův test a krabicové grafy.

5 Výsledky

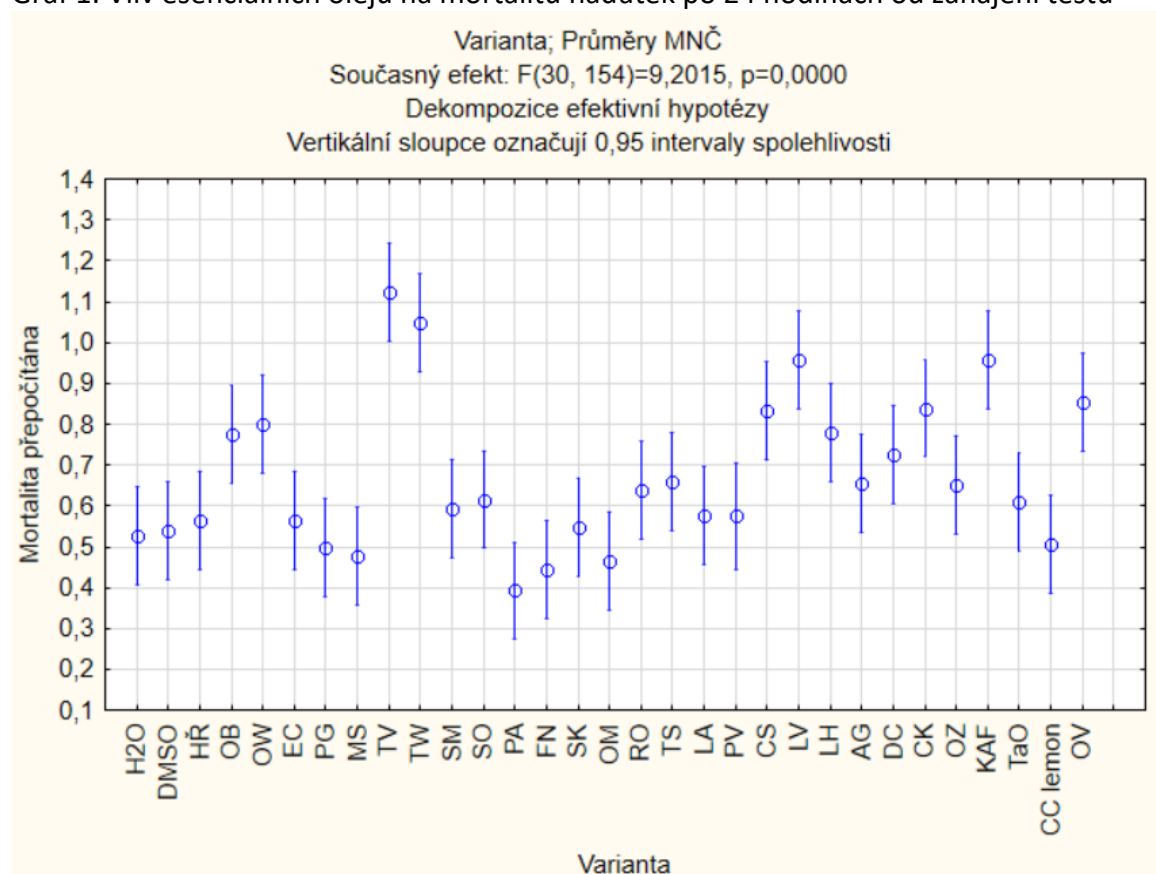
5.1 In vitro testy

In vitro pokus se vyhodnotil po 24, 48 a 72 hodinách.

5.1.1 Vyhodnocení po 24 hodinách

Graf 1 znázorňuje vliv esenciálních olejů na mortalitu hádátka po 24 hodinách. Nejnižší mortalita po 24 hodinách byla u PA, FN, OM, SK, CC lemon, MS, PG, HŘ vody a DMSO. Statisticky významný rozdíl u mortality hádátek byl u variant z TV, TW, LV, KAF oproti oběma kontrolám, OV měl statistický rozdíl jen s vodou. Esenciální oleje z OB, OW, SM, SO, RO, TS, LA, PV, CS, LH, AG, DC, CK, OZ a TaO vykazovaly působení na mortalitu hádátek. Výstupní data ze statistiky z Tukeyho testu jsou uvedena v příloze 1.

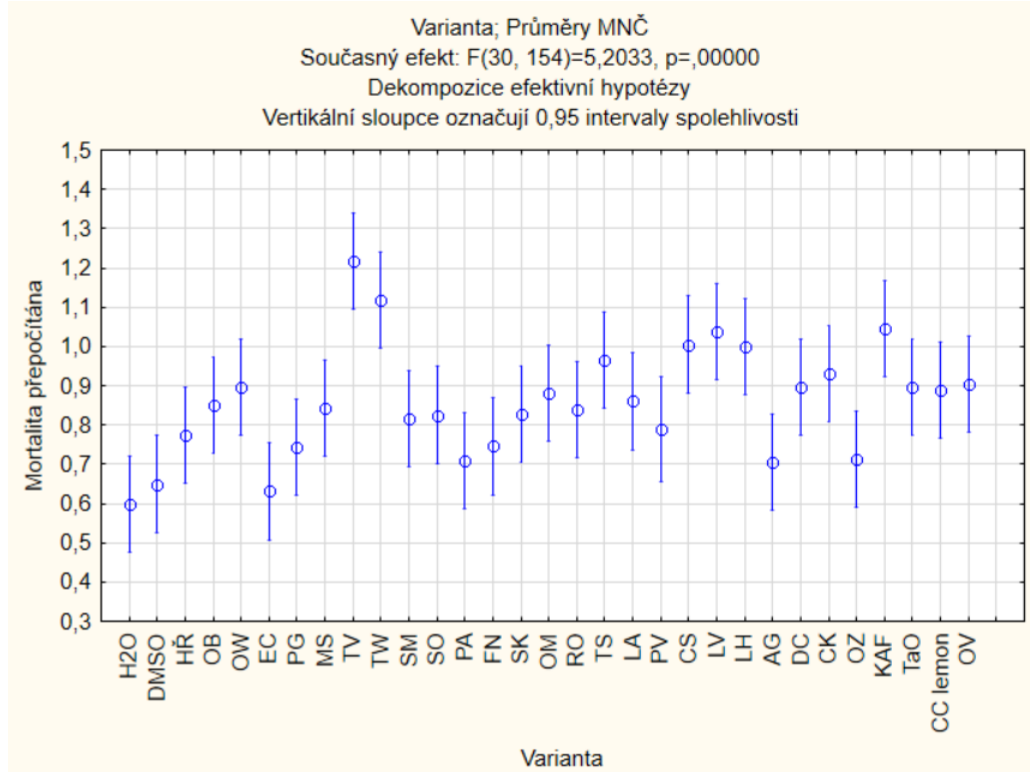
Graf 1: Vliv esenciálních olejů na mortalitu hádátek po 24 hodinách od zahájení testu



5.1.2 Vyhodnocení po 48 hodinách

Graf 2 znázorňuje vliv esenciálních olejů na mortalitu háďátka po 48 hodinách. Nejnižší mortalita po 48 hodinách byla zaznamenána u vody, DMSO a EC. Statisticky významný rozdíl u mortality háďátek byl u variant z TV, TW, LV, KAF oproti obou kontrolám, OV měl statistický rozdíl jen s vodou. Výstupní data ze statistiky z Tukeyho testu jsou uvedeny v příloze 2.

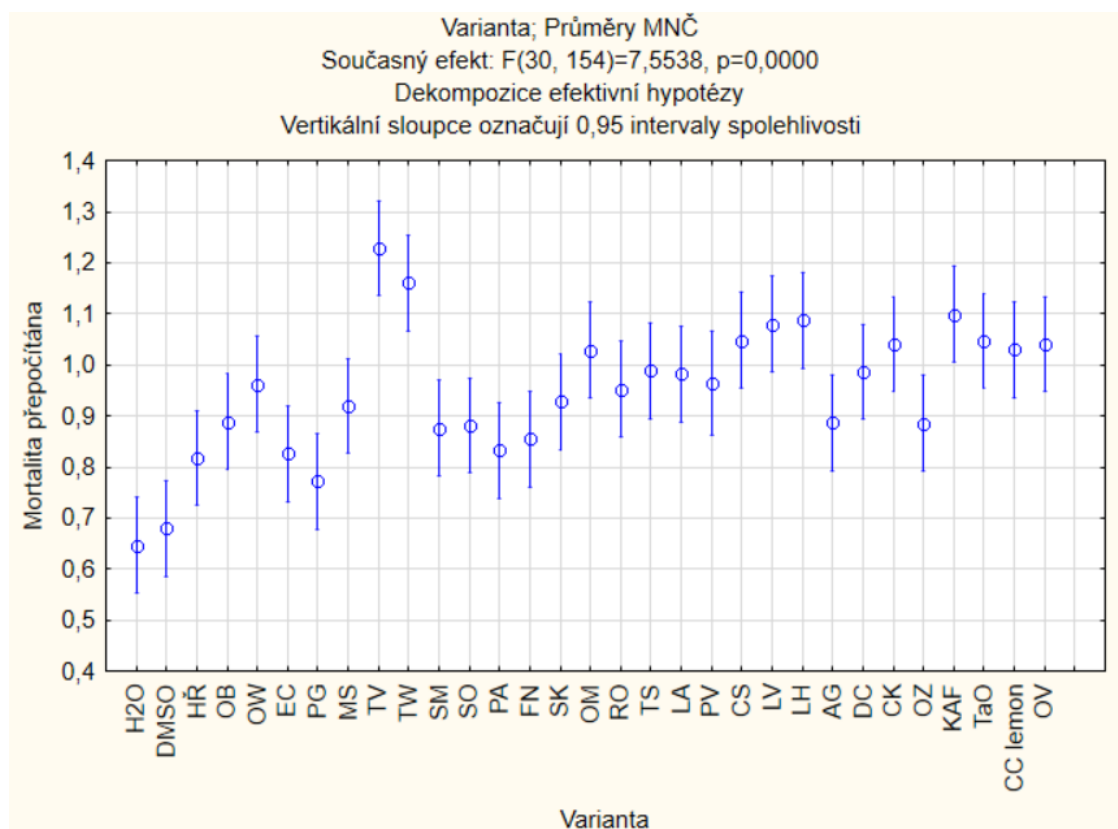
Graf 2: Vliv esenciálních olejů na mortalitu háďátek po 48 hodinách od zahájení testu



5.1.3 Vyhodnocení po 72 hodinách

Graf 3 znázorňuje vliv esenciálních olejů na mortalitu háďátka po 72 hodinách. Nejnižší mortalita byla zaznamenána u vody, následně u HMSO. Po 72 hodinách měly varianty s těmito esenciálními oleji statisticky významný rozdíl v mortalitě *D. dipsaci* oproti kontrolám s vodou i HMSO: OW, TV, TW, OM, RO, TS, LA, PV, CS, LV, LH, DC, CK, KAF, Tao, CC lemon a OV. MS a SK měly statistický rozdíl pouze s vodou. Nejvyšší mortalita byla zaznamenána u TV a TW. Výstupní data ze statistiky z Tukeyho testu jsou uvedena v příloze 3.

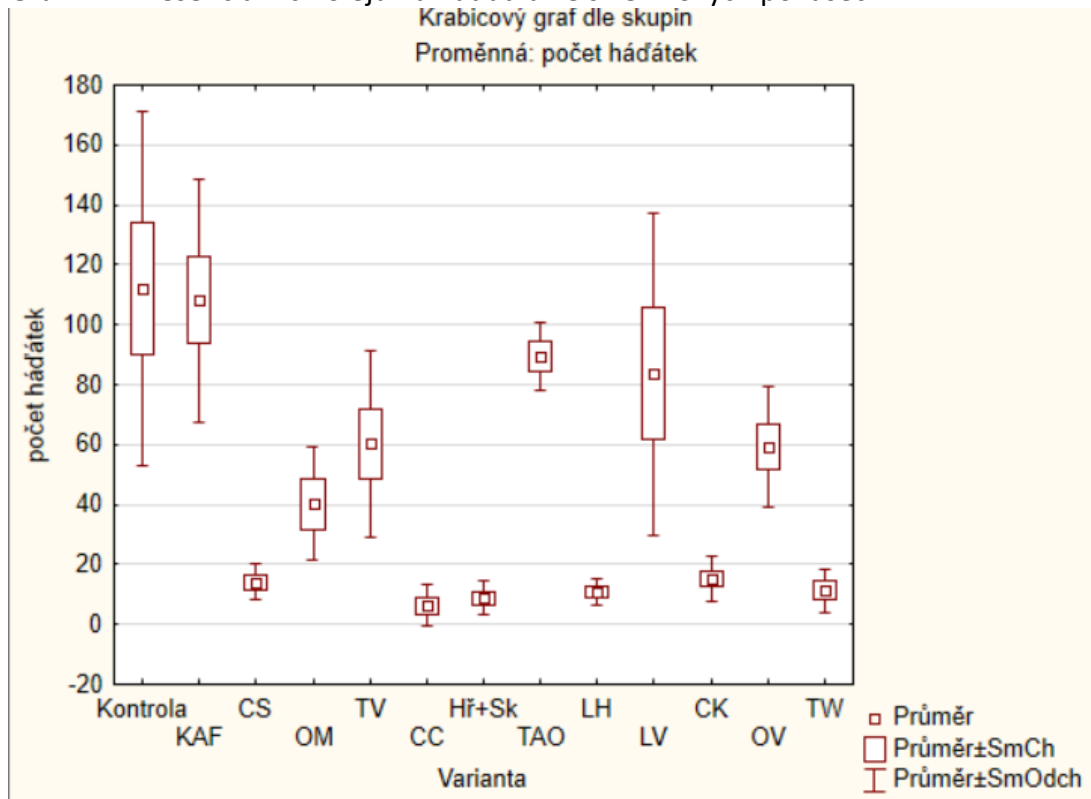
Graf 3: Vliv esenciálních olejů na mortalitu háďátek po 72 hodinách od zahájení testu



5.2 Skleníkové pokusy

Ve skleníkovém pokusu bylo vytvořeno celkem 26 variant, 13 variant obsahovalo *Ditylenchus dipsaci*, 13 háďátka neobsahovalo. Z toho bylo 12 variant s jednotlivými esenciálními oleji a jedna kontrola. Každá varianta měla celkem 8 opakování. V grafu 4 je znázorněn vliv na počet háďátek a tedy jejich mortalitu. Všechny esenciální oleje měly vliv na mortalitu *Ditylenchus dipsaci*. Statisticky významný rozdíl a tedy nejvyšší účinnost měly esenciální oleje z CC, LH a kombinace HŘ + SK. Oleje z CS, CK a TW vykazovaly také poměrně vysokou úroveň mortality. OM, TV, LV, OV, a TaO vykazovaly nižší mortalitu, ale stále částečně účinkovaly. KAF měl z olejů nejnižší účinnost na *Ditylenchus dipsaci*. Výstupní údaje ze statistiky jsou v tabulce 1.

Graf 4: Vliv esenciálních olejů na háďátka ve skleníkových pokusech

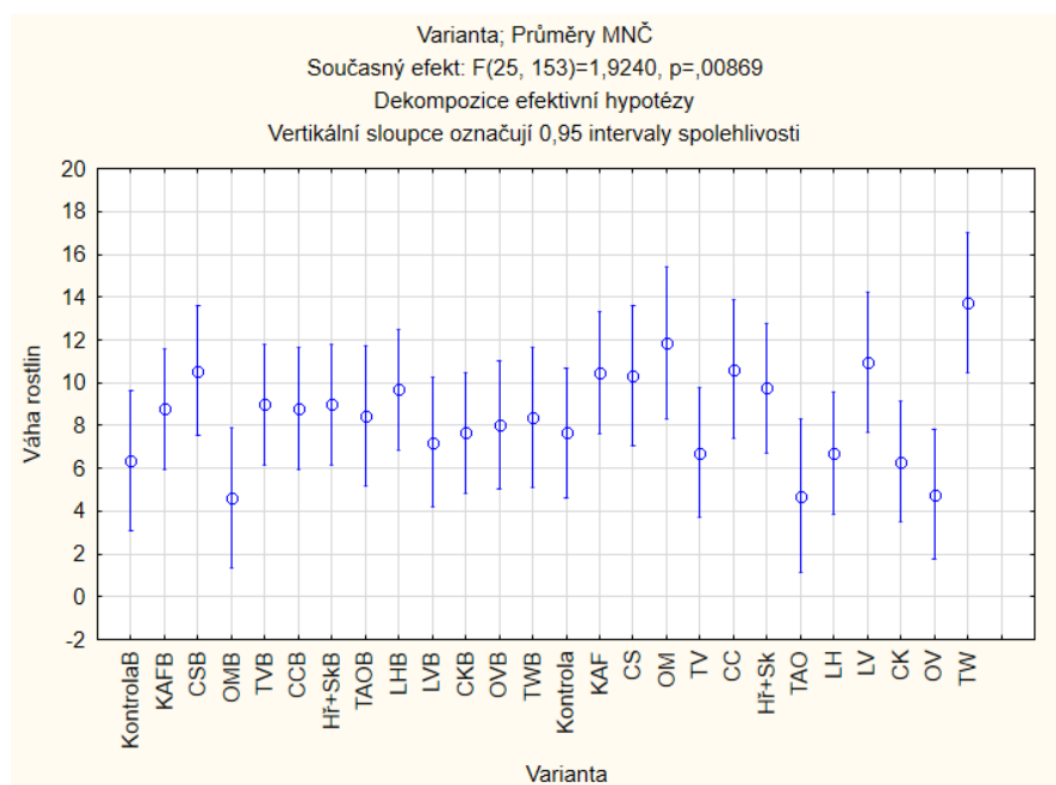


Tabulka 1: Statistické vyhodnocení vlivu esenciálních olejů na háďátka ve skleníkových pokusech

	Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); počet háďátek												
	Kontrola	KAF	CS	OM	TV	CC	Hř+Sk	TAO	LH	LV	CK	OV	TW
Kontrola		1,000000	0,395358	1,000000	1,000000	0,003951	0,008841	1,000000	0,025934	1,000000	0,208802	1,000000	0,066073
KAF	1,000000		0,223761	1,000000	1,000000	0,001599	0,003558	1,000000	0,010806	1,000000	0,103691	1,000000	0,032783
CS	0,395358	0,223761		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
OM	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
TV	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		0,356862	0,769549	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
CC	0,003951	0,001599	1,000000	1,000000	0,356862		1,000000	0,020956	1,000000	0,105251	1,000000	0,297266	1,000000
Hř+Sk	0,008841	0,003558	1,000000	1,000000	0,769549	1,000000		0,045956	1,000000	0,229212	1,000000	0,643417	1,000000
TAO	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,020956	0,045956		0,122212	1,000000	0,687828	1,000000	0,227538
LH	0,025934	0,010806	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,122212		0,592603	1,000000	1,000000	1,000000
LV	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,105251	0,229212	1,000000	0,592603		1,000000	1,000000	1,000000
CK	0,208802	0,103691	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,687828	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000
OV	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,297266	0,643417	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000
TW	0,066073	0,032783	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,227538	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Vliv esenciálních olejů na růst rostlin neměl významné statistické rozdíly. Takže všechny rostliny, ze všech variant rostly přibližně stejně. Nebyl ani statisticky významný rozdíl mezi variantami s háďátka a bez nich. Vliv esenciálních olejů na růst čekanky salátové je uveden v grafu 5.

Graf 5: Vliv esenciálních olejů na růst čekanky salátové



6 Diskuze

Na hádátka *Ditylenchus dipsaci* nebude v budoucnu povolena žádná syntetická účinná látka. V minulosti se hojně využívaly chemické pesticidy, které nebyly ekologicky vhodné. Z celé řady negativních dopadů na lidskou populaci a přírodu, jako jsou rezidua v potravinách i půdě, vznik rezistencí i vliv na necílové organismy, bylo nutné používání pesticidů omezit. Zakázáním spousty účinných látek na trhu s přípravky na ochranu rostlin vznikla mezera, kterou je potřeba zaplnit ekologicky vhodnými přípravky a esenciální oleje jsou jednou z možných a vhodných variant.

Cílem této diplomové práce bylo zjistit a zhodnotit účinnost několika esenciálních olejů na mortalitu hádátek *Ditylenchus dipsaci*.

Esenciální olej z *Ocimum basilicum* v pokusu neměl statisticky významný vliv na mortalitu hádátka zhoubného, ale dal se pozorovat trend zvýšené úmrtnosti. Stejných výsledků se dopracoval i Douda et al. (2022). Bazalka je tedy částečně vhodnou alternativou. Je zapotřebí udělat další výzkum na její působení na hádátka zhoubné. Také bylo by vhodné vyzkoušet její přímé pěstování v místech zasažených hádátka, zda bude mít vliv na omezení hádátka zhoubného v živé podobě alespoň v podobné míře jako v esenciálním oleji, kde účinnost nebyla velká.

Esenciální olej z *Cymbopogon winterianus* měl v in vitro pokusech na *Ditylenchus dipsaci* statisticky významný vliv po 72 hodinách. Z důvodu nedostatečných informací o působení tohoto esenciálního oleje a vlivu na mortalitu by bylo vhodné jej zahrnout v dalších studiích.

O esenciálním oleji z *Eukalyptus citriodora* lze říci že nebyl účinný. Po 24 hodinách měl velmi podobnou účinnost jako kontrola obsahující vodu. Ani v odborné literatuře nejsou dotčeně kvalitní informace v použití tohoto oleje proti hádátkům a tím spíše proti *D. dipsaci*. Bylo by vhodné zvážit další použití tohoto oleje ve studiích, zda se vyplatí s ním nadále zkoušet jeho účinnost.

Esence z *Pelargonium graveolens* měla i po 72 hodinách nejnižší účinnost po kontrolách. Zároveň Zouhar et al. (2009) uvádí velmi nízký vliv na mortalitu hádátek *D. dipsaci*. Douda et al. (2022) uvádí, že tato esence vykazovala trend se zvyšující se úmrtností, ale ne dostatečně vysokou. Již tedy proběhlo několik studií s velmi podobnými výsledky a pravděpodobně již nemá cenu se tímto olejem v dalším výzkumu vlivu esenciálních olejů na mortalitu hádátka zhoubného zabírat.

Esenciální olej z *Origanum majorana* byl v této diplomové práci zkoumán jak v in vitro testech, tak skleníkovém pokusu. I přes to, že po 24 hodinách v in vitro testu vykazovala hádátka vysokou přežitelnost, již po dalších 24 hodinách byla mortalita statisticky průkazná, ve skleníkových pokusech vykazovala potenciál pro ochranu proti hádátka zhoubnému. Dle Zouhara et al. (2009) i Doudy et al. (2022) tento esenciální olej nevykazoval statisticky

významný vliv na mortalitu, ale ukazoval se potenciál na mortalitu háďátek. Tyto rozdíly mohly být způsobeny jinými podmínkami, koncentrací i použitým esenciálním olejem. Je tedy potřeba tuto esenci nadále zkoumat a zjistit její účinnost.

Vliv *Rosmarinus officinalis* na mortalitu háďátka *D. dipsaci* sice nebyl statisticky průkazný, ale vykazoval rostoucí trend. Zouhar et al. (2009) však uvádí, že tato esence nemá nematocidní účinky. Je tedy potřeba další výzkum, a potvrdit či vyvrátit tyto výsledky.

Olej z *Thymus serpyllum* vykazoval zvyšující se trend na mortalitu háďátek. Po 72 hodinách již měl statisticky průkazný vliv na mortalitu. V literatuře se nenachází žádná zmínka o působení na *D. dipsaci*. Dle Regnault-Roger et al. (1993) působí proti nosatci fazolovému. Z výsledků vyplývá, že by mohl dostatečně působit na mortalitu háďátek a je vhodným kandidátem pro další výzkum.

Esenciální olej z *Lavandula angustifolia* vykazovala po 72 hodinách statisticky významnou mortalitu. Nguyen et al. (2022) uvádí, že tato esence má nematocidní účinky na háďátka, ale Zouhar et al. (2009) i Douda et al. (2022) nemá velký vliv na mortalitu *D. dipsaci*. Je tedy vhodné nadále zkoumat vliv *Lavandula angustifolia* na *D. dipsaci*. Rozdíly ve výsledku mohly vzniknout různými podmínkami pokusu, koncentrací i použitým esenciálním olejem.

Mentha spicata vykazovala po 48 hodinách statisticky významný rozdíl od působení kontrolní varianty s vodou. Nguyen et al. (2022) i Andrés et al. (2012) uvádí, že tato esence má nematocidní účinky. U *M. inkognita* MS způsobila velmi vysokou mortalitu (při 5 % koncentraci 100%). Dle Zouhara et al. (2009) však nebyl prokázán statistický význam na mortalitu háďátka zhoubného u všech testovaných koncentrací. Rozdílnost výsledků mohla vzniknout různými podmínkami, koncentrací a množstvím použité esence, i použitým esenciálním olejem v případě chybně udělané esence již od výrobce. Je tedy vhodné mátu zapojit do další studie vlivu esenciálních olejů na háďátka.

Esenciální olej z *Thymus vulgaris* vykazoval již po 24 hodinách v in vitro testech statisticky významný rozdíl. Ve skleníkových pokusech však nebyla účinnost statisticky potvrzena, i rostliny byly poměrně menší oproti ostatním variantám. Zouhar et al. (2009) uvádí, že při vysoké koncentraci měl vysokou účinnost na *D. dipsaci*, pravděpodobně proto v in vitro testech dobře fungoval, ale ve skleníkovém pokusu již ne. Z toho vyplývá, že při zjištění správné koncentrace bude možné ho i v praxi používat. Je však nutné vypočítat ekonomickou stránku, zda se více vyplatí používat vysoké koncentrace *T. vulgaris* či nalézt esenci vyžadující nižší koncentraci. Douda et al. (2022) uvádí, že esence z *Thymus vulgaris* nebyla účinná. Je také možný vliv složení esenciálního oleje.

Esenciální olej vytvořený výrobcem ze směsi *Thymus vulgaris* a *T. zygis* měl statisticky významný vliv na mortalitu již po 24 hodinách. Ve skleníkovém pokusu sice nebyla statisticky signifikantní průkaznost, ale jeho vliv na *D. dipsaci* byl vysoký. Také Andrés et al. (2012) zjistili, že má nematocidní účinky. Je tedy vhodné zapojit *T. zygis* a *T. vulgaris* do dalších studií.

Satureja montana nevykazovala ani po 72 hodinách významnou mortalitu na *Ditylenchus dipsaci*, ale částečně účinná byla. Barbosa et al. (2012) zkoušeli účinnost *Satureja montana* na hádátka *Bursaphelenchus xylophilus*, tato esence vykazovala u hádátek více jak 90 % mortalitu. Také Andrés et al. (2012) dokázali působení SM na mortalitu *Meloidogyne javanica*. Pravděpodobně esenciální olej ze *S. montana* nepůsobí na *D. dipsaci*, také se však mohla stát chyba v přípravě pokusu nebo výrobě oleje. Je tedy nutné ověřit dalšími studiemi působení *Satureja montana* na hádátka *Ditylenchus dipsaci*.

Esence ze *Salvia officinalis* v in vitro testu neměla statisticky významný vliv na mortalitu hádátka zhoubného. Dle Zouhara et al. (2009) nevykazovala nematocidní aktivitu u *D. dipsaci*. Douda et al. (2022) uvádí, že bylo možné pozorovat trend naznačující zvýšenou mortalitu *Ditylenchus dipsaci*. Je tedy možné, že *S. officinalis* bude v určitých koncentracích a způsobech podání fungovat. Je potřeba dalších výzkumů, zda je možné používat jej jako ochranou látku *D. dipsaci*.

Esence *Pimpinella anisum* vykazovala nejnižší vliv na mortalitu *D. dipsaci*. Literatura neuvádí žádný další příklad použití na účinnost *D. dipsaci*, je však zmíněn nematocidní vliv na jiné druhy hádátek. Je tedy potřeba v dalším výzkumu potvrdit či vyvrátit tvrzení neúčinnosti na *D. dipsaci*.

Esenciální olej z *Foeniculum vulgare* vykazoval trend ve vlivu na mortalitu *D. dipsaci*. K těmto výsledkům dospěl i Douda et al. (2022), je tedy vhodné nadále zkoumat vliv tohoto esenciálního oleje na *D. dipsaci*.

Cinnamomum cassia neměla statisticky významný vliv na mortalitu, kromě měření po 72 hodinách, kde byla statisticky významně zvýšená mortalita oproti kontrole s vodou. Dle Doudy et al. (2022) měla skořice však 100 % účinnost. Mohlo dojít k lidské chybě při přípravě pokusu k diplomové práci, jiným podmínkám, či při výrobě esenciálního oleje. Dle doporučení byla přidána ve skleníkových pokusech k hřebíčku.

Esenciální olej ze *Syzygium aromaticum* neměl statisticky významný vliv na mortalitu. Zouhar et al. (2009) uvádí významný vliv hřebíčku na mortalitu *D. dipsaci*. I zde mohlo dojít k pochybení lidského faktoru, jiným podmínkám pokusu či nekvalitnímu oleji. Dle doporučení byl smíchán se skořicí ve skleníkových pokusech.

Smícháním esenciálního oleje z hřebíčku a skořice o stejné koncentraci jako u ostatních olejů (tedy 0,5 : 0,5) došlo ve skleníkovém pokusu k významnému vlivu na hádátka *D. dipsaci*. Tato kombinace je tedy vhodná pro další pokusy ve skleníku či poli.

Esenciální olej z *Cinnamomum camphora* vykazoval již po 24 hodinách statisticky významný vliv na mortalitu hádátek *D. dipsaci*. Ve skleníkových pokusech byl však nejméně účinný hned po vodě. V tomto případě mohlo dojít k pochybení lidského faktoru, nebo je

esence účinná jen v podmínkách in vitro. Je tedy potřeba použít *Cinnamomum camphora* v dalších skleníkových studiích. V literatuře nebyl nalezen záznam o používání na *D. dipsaci*.

Esenciální olej z *Artemisia dracunculus* vykazoval zvýšenou mortalitu v in vitro pokusu. Po 72 hodinách vykazoval statisticky významnou mortalitu v porovnání s kontrolou s vodou. Ve skleníkovém pokusu nevykazoval vysokou účinnost na mortalitu, jen nižší. Vliv na mortalitu tohoto druhu pelyňku nebyl v literatuře popsán, byly však zkoumány jiný druh pelyňku, a to *Artemisia absinthium* (Douda et al. 2022 i Zouhar et al. 2009) a oba pokusy vykazovaly nízký vliv na mortalitu háďátek. Je tedy potřeba dále testovat tento olej.

Esenciální olej z *Cymbopogon citratus* měl zvyšující trend a po 72 hodinách měl statisticky významný vliv na mortalitu. Ve skleníkovém pokusu měl nejvyšší vliv na háďátka *D. dipsaci*. Dle Adrése et al. (2012) má olej velmi vysokou nematocidní účinnost, toto tvrzení potvrzují i Oka et al. (2007) a Barbosa et al. (2012). Je tedy pravděpodobné že tento esenciální olej má opravdu skvělé nematocidní účinky a je zapotřebí je potvrdit studiiemi v polních a dalších skleníkových pokusech pro zavedení na trh.

Esence z *Origanum vulgare* vykazovala statisticky významný rozdíl na mortalitu háďátek *D. dipsaci* s kontrolou s vodou již po 24 hodinách, po 72 hodinách byl výrazný rozdíl i oproti kontrole s DMSO. Ve skleníkových pokusech nebyl zjištěn statisticky významný vliv na působení oleje na *D. dipsaci*, ale částečně vliv měl. Zouhar et al. (2009) uvádí, že tento esenciální olej vykazoval statisticky významný vliv na mortalitu háďátek *D. dipsaci*. Esenciální olej z *Origanum vulgare* je tedy vhodný k dalším testům, hlavně skleníkovým a polním pokusům na zjištění, zda zde působí.

Esenciální olej z *Anethum graveolans* vykazoval nižší trend v působení na háďátka *Ditylenchus dipsaci*. Douda et al. (2022) zkoušeli působení esenciálního oleje z *Anethum graveolans* na *D. dipsaci*, kdy háďátka měla 75 % mortalitu po 24 hodinách. Jiné výsledky mohou být zapříčiněny rozdílnou koncentrací, množstvím a složením esence.

Esence z *Daucus carota* měla v in vitro testu po 72 hodinách statisticky významný vliv na mortalitu *D. dipsaci*. Což je velmi zajímavé, protože mrkev je jednou z hostitelských rostlin háďátka zhoubného. Ani v literatuře nejsou žádné zmínky o používání *Daucus carota* v ochraně rostlin proti háďátkům. Je tedy vhodné v příštích studiích začlenit mrkev obecnou a zjistit její vliv na mortalitu háďátek.

Esenciální olej z *Carum carvi* vykazoval po 72 hodinách statisticky významný vliv na mortalitu háďátka zhoubného. Ve skleníkových testech vykazoval vysokou úspěšnost v ochraně proti *D. dipsaci*. Oka et al. (2007) testovali esenciální olej z *Carum carvi* na háďátka *M. javanica* u kterých způsoboval 100% mortalitu. Je tedy vhodné jej použít při dalších studiích k ochraně rostlin proti háďátkům.

Esence ze *Zingiber officinale* nebyla v in vitro testech dostatečně účinná, částečně však ovlivňovala mortalitu *D. dipsaci*. Zouhar et al. (2009) také zkoušeli tento esenciální olej s velmi podobnými výsledky, ale Nguyen et al. (2022) uvádí, že má nematocidní účinky. Je tedy vhodné udělat další testy na *D. dipsaci*, je však možné, že je tento olej účinný jen na jiné druhy háďátek.

Esenciální olej z *Piper nigrum* měl v in vitro testu po 72 hodinách statisticky významný vliv na mortalitu *D. dipsaci*. Rajasekharan et al. (2020) úspěšně zkoušeli vliv *Piperum nigrum* na háďátka *Bursaphelenchus xylophilus*. V literatuře nebyla nalezena jiná studie ohledně působení EO z pepře černého na *D. dipsaci* a je tedy potřeba dalších studií.

Esenciální olej z *Coriandrum sativum* měl zvyšující se trend v jednotlivých dnech pokusu. Po 72 hodinách in vitro testu byl již statisticky významný rozdíl ve vlivu na mortalitu háďátek *D. dipsaci*. Ve skleníkových testech byl vliv na háďátka velmi slibný, ne však statisticky průkazný. Protože se v odborné literatuře nenachází dostatečné studie, je potřeba funkčnost esence na mortalitu *D. dipsaci* nadále zkoumat, protože výsledky z této diplomové práce jsou slibné v budoucí ochraně rostlin proti těmto háďátkům.

Esence z *Laurus nobilis* měla statisticky významný vliv na mortalitu háďátek *D. dipsaci* již po 24 hodinách od založení in vitro testu. Ve skleníkovém testu nebyla již statisticky účinná, ale stále měla negativní vliv na háďátka. Je to další potencionálně vhodný esenciální olej k ochraně rostlin proti háďátku *D. dipsaci* a je tedy potřeba udělat další studie jeho vlivu.

Esenciální olej z *Lavandula hybrida* měl po 72 hodinách statisticky významný rozdíl vlivu na mortalitu háďátek *D. dipsaci*. Ve skleníkovém pokusu byla Esence z *Lavandule hybrida* jednou z neúčinnějších. V literatuře se o nematocidním účinku hybridním kultivaru levandule nevyskytují žádné publikace. Dle výsledků diplomové práce je to vhodná esence pro ochranu rostlin před *D. dipsaci*, je vhodné udělat další studie, jak in vitro, tak skleníkové či polní.

Je vhodné nadále zkoumat použití jednotlivých esenciálních olejů na *Ditylenchus dipsaci*. Bylo by potřeba zjistit dostatečnou koncentraci oleje, aby nedocházelo k rezistencím a dostatečně působily, zároveň však tak, aby se zbytečně nepoužívalo vyšší množství, které by bylo finančně nákladnější a mohlo by docházet k fytotoxicitě. Dále je potřeba zaměřit výzkum na účinné esenciální oleje a jejich použití v polních podmínkách. Je vhodné také zkoumat esenciální oleje, které se zatím nestudovaly, pro rozšíření základny pro polní testy.

Další vhodnou alternativou je použít rostliny, ze kterých se vyrábí účinné esenciální oleje k přímému pěstování v háďátka zasažených oblastech.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo zjistit a otestovat vliv na mortalitu vybraných esenciálních olejů u háďátka *Ditylenchus dipsaci* v in vitro testech. Následně bylo vybráno 12 variant účinných olejů, které byly zkoušeny v řízených podmínkách ve skleníkovém pokusu, kdy se testoval vliv esenciálních olejů na čekanku listovou a zároveň na háďátka *D. dipsaci*. Cíl práce byl tedy splněn, a to jak v in vitro, tak i v in vivo podmínkách.

V práci existuje statisticky významný rozdíl v napadení háďátkem *Ditylenchus dipsaci* při použití éterických olejů jak v in vitro, tak i ve skleníkových testech, ale každý esenciální olej účinkuje jinak. Hypotéza, zda existuje statisticky významný rozdíl v napadení háďátkem *Ditylenchus dipsaci* při použití éterických olejů byla v práci potvrzena.

Na základě všech výsledků, lze říci, že esenciální oleje mají alespoň minimální vliv na mortalitu háďátka zhoubného. Nejúčinnější esenciální oleje byly z rostlin *Lavandula hybrida*, *Cymbopogon citratus*, směsi *Syzygium aromaticum* a *Cinnamomum cassia* ve skleníkovém pokusu.

Byl otestován vliv 29 esenciálních olejů na mortalitu háďátka zhoubného. Několik esencí nebylo zmíněno v nematocidních testech vůbec, a tak tato práce rozšiřuje možné rozšíření základny esenciálních olejů pro použití ve studiích vlivu na nematocidní aktivitu celkovou, tak i speciálně na *D. dipsaci*, proti kterému po květnu 2025 prozatím není povolena účinná látka.

Je tedy potřeba nadále testovat vliv nových esenciálních olejů na *D. dipsaci* jak v in vitro, tak in vivo testů. Také potvrdit funkčnost esenciálních olejů, které mají vysokou účinnost na mortalitu *D. dipsaci* v in vitro podmínkách ve skleníkových a polních pokusech.

8 Literatura

- Abbasi MW, Ahmed N, Zaki MJ, Shuakat SS, Khan D. 2014. Potential of *Bacillus* species against *Meloidogyne javanica* parasitizing eggplant (*Solanum melongena* L.) and induced biochemical changes. *Plant Soil* **375**:159–17.
- Abd-Elgawad MM. 2020. Plant-parasitic nematodes and their biocontrol agents: current status and future vistas. Pages 171-203 *Management of phytonematodes: recent advances and future challenges*.
- Adam M, Heuer H, Hallmann J. 2014. Bacterial antagonists of fungal pathogens also control root-knot nematodes by induced systemic resistance of tomato plants. *PLoS one* 9 (e90402) DOI:10.1371/journal.pone.0090402.
- Agrios GN. 2005. *Plant pathology*. Elsevier Academic press, Burlington USA.
- Ahmad G, Khan A, Khan AA, Ali A, Mohhamad HI. 2021. Biological control: a novel strategy for the control of the plant parasitic nematodes. *Antonie van Leeuwenhoek* **114**:885–912.
- Aktar MW, Sengupta D, Chowdhury A. 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary toxicology* **2**:1-12.
- Andrés MF, Gonzalez-Coloma A, Sanz J, Burillo J, Sainz P. 2012. Nematicidal activity of essential oils: A review. *Phytochemistry Reviews* **11**:371–390.
- Angioni A, Barra A, Coroneo V, Dessi B, Cabras P. 2006. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal Agriculture food chemistry* **54**: 4364-4370.
- Atibalentja N, Noel GR, Domier LL. 2000. Phylogenetic position of the North American isolate of *Pasteuria* that parasitizes the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, as inferred from 16S rDNA sequence analysis. *Int J Syst Evol Microbiol* **50**:605–613.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology* **46**:446-475.
- Barbosa P, Faria JM, Mendes MD, Dias LS, Tinoco MT, Barroso JG, Mota M. 2012. Bioassays against pinewood nematode: assessment of a suitable dilution agent and screening for bioactive essential oils. *Molecules* **17**:12312-12329.
- Barradas TN, Silva KGH. 2020. Nanoemulsions as optimized vehicles for essential oils. *Sustain Agric Rev* **44**:115–167. A

Barradas TN, Silva KGH. 2020. Nanoemulsions of essential oils to improve solubility, stability and permeability: a review. *Environ Chem Lett* **19**:1153–1171. B

Barua A, McDonald-Howard KL, Mc Donnell RJ, Rae R, Williams CD. 2020. Toxicity of essential oils to slug parasitic and entomopathogenic nematodes. *Journal of Pest Science* **93**:1411–1419.

Bélanger J, Pilling D. 2019. The state of the world's biodiversity for food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

Bernard RC, Egnin M, Mortley D, Bonis C. 2023. Chapter 13. Nematode problems in bulb crops and sustainable management. Pages 2797 – 309 in Khan MR, Quintanilla M, editors. *Nematode Diseases of Crops and their Sustainable Management*. Tuskegee University, Tuskegee USA.

Bird, DM, Opperman CH, Davies KG. 2003. Interactions between bacteria and plant-parasitic nematodes: now and then. *International journal for parasitology* **33**:1269-1276.

Blyuss KB, Fatehi F, Tsygankova VA, Biliavska, LO, Iutynska GO, Yemets AI, Blume YB. 2019. RNAi-based biocontrol of wheat nematodes using natural poly-component biostimulants. *Plant Science* 10 (e483) DOI: 10.3389/fpls.2019.00483.

Braga FR, Araújo JV. 2014. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Applied Microbiology and Biotechnology Microbiol. Biototechnol*, **98**:71-82.

Bridge J, Starr J. 2007. *Plant Nematodes of Agricultural Importance*. CRC Press, Boca Raton, USA.

Butnariu M, Sarac IJ. 2018. Essential oils from plants. *Journal Biotechnological and Biomedecinal Science* **1**:35-43.

CABI. 2021. *Ditylenchus destructor* (potato tuber nematode). CABI Compendium (E19286) DOI: 10.1079/cabicompendium.19286. A

CABI. 2021. *Ditylenchus dipsaci* (stem and bulb nematode). CABI compendium (E19287) DOI:10.1079/cabicompendium.19287. B

Cabrera, JA, Menjivar, RD, Dababat AEFA, Sikora RA. 2013. Properties and nematicide performance of avermectins. *Journal of Phytopathology* **161**:65-69.

Caillaud MC, Dubreuil, G, Quentin M, Perfus-Barbeoch L, Lecomte P, de Almeida Engler J, Favery B. 2008. Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of plant physiology* **165**:104-113.

Castillo P, Vovlas N. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management (Vol. 6). Brill, Leiden Boston.

Catani L, Manachini B, Grassi E, Guidi L, Semprucci F. 2023. Essential Oil as Nematicides in Plant Protection – A review. *Plants* (e1418) DOI: 10.3390/plants12061418.

Caubel G, Pedron D. 1976. Distribution géographique du nematode des tiges *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Fil., en culture de légumineuses fourragères. *Science Agronom Rennes* **8**:183–188.

Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar, T, Kahla-Nakbi AB, Rouabhia M, Mahdouani K, Bakhrouf A. 2007. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* **21**:501-506.

Charchar JM, Tenente RCV, Aragao FAS. 2003. Resistência de cultivares de alho a *Ditylenchus dipsaci*. *Nematol Bras* **27**:179-184.

Chitambar JJ, Westerdahl BB, Subbotin SA. 2018. Plant parasitic nematodes in California agriculture. *Plant Parasitic Nematodes in Sustainable Agriculture of North America* **1**:131-192.

Chizhov VN, Borisov BA, Subbotin SA. 2010. A new stem nematode, *Ditylenchus weischeri* sp. n. (Nematoda: Tylenchida), a parasite of *Cirsium arvense* (L.) Scop. in the Central Region of the Non-Chernozem Zone of Russia. *Russian Journal of Nematology* **18**: 95–102.

Collange B, Navarrete M, Peyre G, Mateille T, Tchamitchian M. 2011. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis. *Crop protection* **30**: 1251-1262.

Correia, Giliard S., et al. 2023. Reaction of garlic genotypes to *Ditylenchus dipsaci* and aspects related to productivity in a naturally infested area. *Horticultura Brasileira* **40**:451-456.

Curtis RH, Robinson AF, Perry RN. 2009. Hatch and host location. Pages 139-162 in Perry RN, Moens M, Starr JL, editors. *Root-knot nematodes*. CABI, Wallingford UK.

De Freitas Soares FE, Sufiate BL, de Queiroz JH. 2018. Nematophagous fungi: Far beyond the endoparasite, predator and ovicidal groups. *Agriculture and Natural Resources* **52**:1-8.

De Waele D, Wilken R. 1990. Effect of temperature on the in vitro reproduction of *Ditylenchus destructor* isolated from peanut. *Revue de Nématologie* **13**:171– 174.

Dong LQ, Zhang KQ. 2006. Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. *Plant and Soil* **288**:31-45.

Douda O. 2018. Hospodářsky významné druhy fytoparazitických háďátek na území ČR. *Agromanuál* **7**:59-61.

Douda O, Zouhar M, Maňasová M. 2022. Effect of plant essential oils on the mortality of *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) nematode under in vitro conditions. *Plant, Soil and Environment* **68**:410-414.

Duncan LW, Moens M. 2006. Migratory endoparasitic nematodes. Pages 123-152 in Perry RN, Moens M, editors. *Plant nematology*. CABI, Wallingford UK.

Duncan LW. 1991. Current options for nematode management. *Annual Review of Phytopathology* **29**: 469-490.

Echeverrigaray S, Zacaria J, Beltrão R. 2010. Nematicidal activity of monoterpenoids against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology* **100**:199-203.

EFSA Panel on Plant Health (PLH) et al. 2016. Risk to plant health of *Ditylenchus destructor* for the EU territory. *EFSA Journal* 14 (e04602) DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4602

El-Eslamboly AASA, Abd El-Wanis MM, Amin AW. 2019. Algal application as a biological control method of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on cucumber under protected culture conditions and its impact on yield and fruit quality. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **29**:1-9.

El-Nagdi WMA, Youssef MMA. 2004. Soaking faba bean seed in some bio-agents as prophylactic treatment for controlling *Meloidogyne incognita* root-knot nematode infection. *Journal of Pest Science* **77**:75-78.

Escobar C, Barcala M, Cabrera J, Fenoll C. 2015. Overview of root-knot nematodes and giant cells. *Advances in Botanical Research* **73**:1–32.

EPPO. 2023. EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests. EPPO. Available from www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A2_list#nematodes (Accessed September 2023) A.

EPPO. 2023. EPPO A1 List of pests recommended for regulation as quarantine pests. EPPO. Available from https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A1_list (Accessed September 2023) B.

European Commission. 2009. Regulation (EC) No. 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC.

Evropská komise. 2019. PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2019/2072 ze dne 28. listopadu 2019, kterým se stanoví jednotné podmínky pro provádění nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2016/2031, pokud jde o ochranná opatření proti škodlivým organismům rostlin, a kterým se zrušuje nařízení Komise (ES) č. 690/2008 a mění prováděcí nařízení Komise (EU) 2018/2019. Evropská Unie. 319/1.

Gocher D, Sharma MK, Gurjar HR. 2018. Management of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in poly house on cucumber (*Cucumis sativus* L.) as seed soaking treatment. *Indian Journal of Nematology* **48**:108-112.

Gómez J, Anaya S, Sierra E. 1998. Propagación de la cebolla de rama (*Allium fistulosum* L.) libre del nematodo *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev, a través del cultivo de meristemos. CORPOICA-PRONATTA, Boletín Técnico - Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Colombia.

Grainger J. 1964. Factors affecting the control of eelworm diseases. *Nematologica* **10**:5–20.

Gupta A, Sharma S, Naik SN. 2011. Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. *International biodeterioration & biodegradation* **65**:703-707.

Guskova LA. 2009. *Ditylenchus dipsaci* Kuhn - Stem and Bulb Nematode (onion and garlic race). *Interactive Agricultural Ecological Atlas of Russia and neighboring Countries, Russia*. Available from http://agroAtlas.ru/en/content/pests/Ditylenchus_dipsaci/ (Accessed 2009).

Hammad EA, El-Sagheer AM. 2023. Comparative efficacy of essential oil nanoemulsions and bioproducts as alternative strategies against root-knot nematode, and its impact on the growth and yield of *Capsicum annum* L. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* **22**:47-53.

Haseeb A, Kumar V. 2006. Management of *Meloidogyne incognita*-*Fusarium solani* disease complex in brinjal by bio-control agents and organic additives. *Annals of Plant Protection Sciences* **14**:519-521.

Hanks GR, Linfield CA. 1999. Evaluation of a peroxyacetic acid disinfectant in hot-water treatment for the control of basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *narcissi*) and stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) in narcissus. *Journal of Phytopathology* **147**: 271–279.

Hashemi K, Karegar A. 2019. Description of *Ditylenchus paraparvus* n. sp. from Iran with an updated list of *Ditylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Anguinidae). *Zootaxa* **4651**:85-113.

Hassan A, Al-Naser ZA, Al-asaas K. 2015: Effect of some plant extracts on larval mortality against the stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) and compared with synthetic pesticides. *International Journal of ChemTech Research* **7**:1943–1950.

Hay FS, Bateson L. 1997. Effect of the nematophagous fungi *Hirsutella rhossiliensis* and *Verticillium balanoides* on stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) in white clover. *Australasian Plant Pathology* **26**:142-147.

Hooper DJ. 1973. *Ditylenchus destructor*. *CIH Descriptions of plant-parasitic nematodes* **21**:3.

Huang XW, Niu QH, Zhou W, Zhang KQ. 2005. *Bacillus nematocida* sp. nov., a novel bacterial strain with nematotoxic activity isolated from soil in Yunnan, China. *Systematic and applied microbiology* **28**:323–327.

Huang X, Zhao N, Zhang K. 2004. Extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host. *Research in Microbiology* **155**:811-816.

Insunza VB, Valenzuela A. 1995. Control of *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) on garlic (*Allium sativum*) with extracts of medicinal plants from Chile. *Nematropica* **25**: 35–41.

Isman MB. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection* **19**:603-608.

Jasmer DP, Goverse A, Smant G. 2003. Parasitic nematode interactions with mammals and plants. *Annual review of phytopathology* **41**:245-270.

Jeszke A, Budziszewska M, Dobosz R, Stachowiak A, Protasewicz D, Wieczorek P, Obrępańska-Stęplowska A. 2014. A Comparative and Phylogenetic Study of the *Ditylenchus dipsaci*, *Ditylenchus destructor* and *Ditylenchus gigas* Populations Occurring in Poland. *Journal of Phytopathology* **162**:61-67.

Jones JT, Haegeman A, Danchin EGJ, Gaur HS, Helder J, Jones MGK, Kikuchi T, Manzanilla-López R, Plaomares-rius JE, Wesemael WML, Perry RN. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology* **14**:946-961.

Jursík M. 2024. Jak efektivně snížit spotřebu pestioidů. Agromanual, Praha. Available from <https://zucm.cz/unie/o-zelenine>. (Accessed leden 2024).

Kabera JN, Semana E, Mussa AR, He X. 2014. Plant secondary metabolites: Biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2**:377–392.

Karuri HW, Olago D, Neilson R, Mararo E, Villinger J. 2017. A survey of root knot nematodes and resistance to *Meloidogyne incognita* in sweet potato varieties from Kenyan fields. *Crop protection* **92**:114-121.

Katan, J. 2000. Physical and cultural methods for the management of soil-borne pathogens. *Crop Protection* **19**:725-731.

Kenney E, Eleftherianos I. 2016. Entomopathogenic and plant pathogenic nematodes as opposing forces in agriculture. *International journal for parasitology* **46**:13-19.

Khan Z, Jairajpuri MS, Khan MW. 1997. Effect of culture filtrate of a blue-green alga *Microcoleus vaginatus* on mortality and hatching of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *International Journal of Nematology* **7**:100–102.

Khan A, Khan AA, Ali A, Fatima S, Siddiqui MA. 2023. Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.): Biology, Plant-Nematode Interactions and Their Environmentally Benign Management Strategies. *Gesunde Pflanzen* **75**:2187-2205.

Kroutil P, ÚKZUZ. 2024. *Meloidogyne fallax*. Rostlinolékařský portál ÚKZUZ, Praha. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#rlp|so|skudci|detail:a8dabbf39dd53c7a162edda954f69ced (Accessed leden 2024).

Lee YS, Kim KY. 2016. Antagonistic potential of *Bacillus pumilus* L1 against root-Knot nematode, *Meloidogyne arenaria*. *Journal of Phytopathology* **164**:29–39

Lee DL. 2002. *The biology of Nematodes*. CRC Press, London.

Li J, Zou C, Xu J, Niu X, Yang J, Huang X, Zhang KQ. 2015. Molecular mechanisms of nematode-nematophagous microbe interactions, basis for biological control of plant-parasitic nematodes *Annu. Phytopathol* **53**:67-95.

Liang JY, Liu Y, Zhang XX, Zhang LJ, Chen Y, Li Y, Zhang H, Kong WB, Du SS. 2018. Antagonistic activity of essential oils and their main constituents extracted from *Ajania fruticulosa* and *A. potaninii* against *Ditylenchus destructor*. *Nematology* **20**: 911–916.

MacGuidwin AE, Slack SA. 1991. Suitability of Alfalfa, Corn, Oat, Red Clover, and Snapbean as Hosts for the Potato Rot nematode, *Ditylenchus destructor*. *Plant Disease* **75**:37–39.

Madani M, Tenuta M, Chizhov VN, Subbotin SA. 2015. Diagnostics of stem and bulb nematodes, *Ditylenchus weischeri* and *D. dipsaci* (Nematoda: Anguinidae), using PCR with species-specific primers. *Canadian Journal of Plant Pathology* **37**:212–220.

Moens M, Perry RN, Starr JL. 2009. Meloidogyne species-a diverse group of novel and important plant parasites. Pages 1-17 in Perry RN, Moens M, Starr JL, editors. Root-knot nematodes). CABI, Wallingford UK.

Mohamed HI, El-Beltagi HS, Aly AA, Latif HH. 2018. The role of systemic and non systemic fungicides on the physiological and biochemical parameters in *Gossypium hirsutum* plant, implications for defense responses. *Frese Environ Bull* **27**:8585–8593.

Mokrini F, Abbad Andaloussi F, Alaoui Y, Troccoli A. 2009. Importance and distribution of the main cereal nematodes in Morocco. Pages 45 - 50 in Riley IT, Nivol JM, Dababat AA, editors. CEREAL CYST NEMATODES. CIMMYT, Turkey.

Mouttet R, Escobar-Gutiérrez A, Esquibet M, Gentzbittel L, Mugniéry D, Reignault P, Sarniguet C, Castagnone-Sereno P. 2014. Banning of methyl bromide for seed treatment: could *Ditylenchus dipsaci* again become a major threat to alfalfa production in Europe? *Pest Management Science* **70**: 1017–1022.

Natscher C, Sikora RA. 1990. Nematode parasites of vegetables. Pages 237-283 in Luc M, Sikora RA, Bridge J, editors. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CABI, France.

Nebeská M. 2023. Tisková zpráva AKČR, ZUČM a OUČR ke stavu sektoru ovocnářství a zelinářství. Agrární komora ČR, zelinářská unie Čech a Moravy. Available from <https://zucm.cz/clanek/tiskova-zprava-akcr-zucm-a-oucr-ke-stavu-sektoru-ovocnarstvi-a-zelinarstvi-165> (Accessed březem 2023).

Nguyen MH, Vu NBD, Nguyen THN, Tran TM, Le HS, Tran TT, Le XC, Nguyen NTT, Trinh N. 2020. Effective biocontrol of nematodes using lipid nanoemulsions co-encapsulating chili oil, cinnamon oil and neem oil. *International Journal of Pest Management* **69**:130-139.

- Nguyen MH, Nguyen THN, Tran TNM, Vu NBD, Tran TT. 2022. Comparison of the nematode-controlling effectiveness of 10 different essential oil-encapsulated lipid nanoemulsions. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* **55**:420-432.
- Němcová V, Buchtová I. 2021. Situační a výhledová zpráva zelenina. Ministerstvo zemědělství, Praha.
- Niu QH, Huang XW, Tian BY, Yang JK, Liu J, Zhang L, ZKQ. 2005. *Bacillus* sp. B16 kills nematodes with a serine protease identified as a pathogenic factor. *Appl Microbiol Biotechnol* **69**:722–730.
- Noling, J, Becker J. 1994. The challenge of research and extension to define and implement alternatives to methyl bromide. *Journal of nematology* **26**:573-586.
- Oerke EC. 2006. Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science* **144**:31-43.
- Oka Y, Nacar S, Putievsky E, Ravid, U, Yaniv Z, Spiegel Y. 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology* **90**:710-715.
- Park IK, Kim J, Lee SG, Shin SC. 2007. Nematicidal activity of plant essential oils and components from ajowan (*Trachyspermum ammi*), allspice (*Pimenta dioica*) and litsea (*Litsea cubeba*) essential oils against pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Journal of nematology*, **39**:275-279.
- Pichersky E, Noel JP, Dudareva N. 2006. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science* **311**:808-811.
- Pieterse CMJ, Van Wees SCM, Ton J, Van Pelt JA, Van Loon LC. 2002. Signalling in rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant biology* **4**:535-544.
- Pinzón H. 2011. Los cultivos de cebolla y ajo en Colombia: estado del arte y perspectivas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* **3**:45-55.
- Poláková L. 2021. Vývoj na trhu se zeleninou v ČR a E v letech 2010- 2020. ProfirPres Praha. Available from <https://zahradaweb.cz/vyvoj-na-trhu-se-zeleninou-v-cr-a-eu-v-letech-2010-2020/> (accessed červen 2021).
- Pridannikov M. 2021. Economic importance of the potato tuber nematode *Ditylenchus destructor* in Russia. Pages 354-361 in Sikora RA, Desaegeer J, Molendijk L, editors. *Integrated Nematode Management: State-of-the-art and visions for the future*. CABI, Wallingford UK.

Pushparaj B, Pelosi E, Caroppo S. 2000. Effect of *Nodularia harveyana* biomass on the incidence of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato. *Journal of applied phycology* **12**:489-492.

Qiao Y, Zaidi M, Badiss A, Hughes B, Celetti MJ, & Yu, Q. 2013. Intra-racial genetic variation of *Ditylenchus dipsaci* isolated from garlic in Ontario as revealed by random amplified polymorphic DNA analysis. *Canadian Journal of Plant Pathology* **35**:346-353.

Rajasekharan SK, Raorane CJ, Lee J. 2020. Nematicidal effects of piperine on the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. *Journal of Asia-Pacific Entomology* **23**:863-868.

Ramamoorthy V, Viswanathan R, Raguchander T, Prakasam V, Samiyappan, R. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop protection* **20**:1-11.

Regnault-Roger C, Hamraoui A, Holeman M, Theron E, Pinel, R. 1993. Insecticidal effect of essential oils from mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of chemical Ecology* **19**:1233-1244.

Rhoades, HL. 1982. Effect of temperature on survival of *Meloidogyne incognita* in flooded and fallow muck soil. *Nematropica* **12**:33-37.

Riascos-Ortiz D, Caicedo-Castro J, Arboleda-Riascos C, Sánchez F, Mosquera-Espinosa AT, De Agudelo FV. 2023. Morpho-Molecular Characterization of *Ditylenchus dipsaci* and Alternatives for Its Management in Green Onion *Allium fistulosum* Crops from Colombia. *Agricultural Sciences* **14**:1516-1534.

Scopa A, Candido V, Dumontet S, Miccolis V. 2008. Greenhouse solarization: effects on soil microbiological parameters and agronomic aspects. *Scientia horticultrae* **116**:98-103.

Shawky SM, Mostafa SS, El-All A. 2009. Efficacy of some algalspecies, Azolla and Compost extract in controlling root knot Nematode and its reflection on Cucumber growth. *Egyptian Journal of Agricultural Sciences* **60**:443-459.

Stavropoulou E, Nasiou E, Skiada P, Giannakou IO. 2021. Effects of four terpenes on the mortality of *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. *European Journal of Plant Pathology* **160**:137-146.

Stirling GR. 2014. *Biological control of Plant-parasitic Nematodes* 2nd Edition. Biological Crop Protection Pty Ltd, Brisbane, Australia.

Subbotin SA, Madani M, Krall E, Sturhan D, Moens M. 2005. Molecular diagnostics, taxonomy, and phylogeny of the stem nematode *Ditylenchus dipsaci* species complex based on the sequences of the internal transcribed spacer-rDNA. *Phytopathology* **95**: 1308–1315.

Tamilarasan S, Rajam MV. 2013. Engineering crop plants for nematode resistance through host-derived RNA interference. *Cell Developmental Biology* (e1000114) DOI: 10.4172/2168-9296.1000114.

Tenente RCV, Vianello RP, Pinheiro FP. 2000. Reproducao de *Ditylenchus dipsaci* em diferentes plantas hospedeiras no Brasil. *Nematologia Brasileira* **24**:87-90.

Teoh ES. 2016. Secondary metabolites of plants. Pages 59-73 in Teoh ES, editor. *Medicinal orchids of Asia*. Springer, Singapur.

Tian B, Yang J, Zhang K-Q. 2007. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. *FEMS microbiology ecology* **61**:197–213.

Timper P. 2014. Conserving and enhancing biological control of nematodes. *Journal of Nematology* **46**:75-89.

Timper, P. 2011. Utilization of biological control for managing plant-parasitic nematodes. Pages 259-289 in Davies K, Spiegel Y, editors. *Biological control of plant-parasitic nematodes: building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms*. Springer. Netherlands.

Tunc I, Şahinkaya Ş. 1998. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. *Entomologia experimentalis et applicata* **86**:183-187.

United Nations. 2017. World population to hit 9.8 billion by 2050, despite nearly universal lower fertility rates – UN. Available from <https://news.un.org/en/story/2017/06/560022> (Accessed June 2017).

ÚKZUZ. 2024. Hádátka zhoubné. ÚKZUZ rostlinolékařský portál, Praha. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#rlp|so|skudci|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c72819c|popis (Accessed duben 2024).

Urešová D. Shrnutí roku 2023 z pohledu zelinářského sektoru. ProfiPress, Praha. Available from <https://zahradaweb.cz/shrnuti-roku-2023-z-pohledu-zelinarskeho-sektoru/> (Accessed leden 2024).

- Vanstone VA, Hollaway GJ, Stirling GR. 2008. Managing nematode pests in the southern and western regions of the Australian cereal industry: continuing progress in a challenging environment. *Australasian Plant Pathology* **37**:220–234.
- Vovlas N, Troccoli A, Palomares-Rius JE, De Luca F, Lie'banas G, Landa BB, Subbotin SA, Castillo P. 2011. *Ditylenchus gigas* n. sp. parasitizing broad bean: a new stem nematode singled out from the *Ditylenchus dipsaci* species complex using a polyphasic approach with molecular phylogeny. *Plant Pathology* **60**:762–775. A
- Wang KH, McSorley R. 2008. Exposure time to lethal temperatures for *Meloidogyne incognita* suppression and its implication for soil solarization. *Journal of nematology* **40**:7-12.
- Wang RY, Gao B, Ma J, Li XH, Chen SL. 2018. Efficacy of different nematodes for controlling *Ditylenchus destructor* in sweetpotato fields. *Journal Agric University* **38**:45-47.
- Xiong J, Zhou Q, Luo H, Xia L, Li L, Sun M, Yu Z. 2015. Systemic nematicidal activity and biocontrol efficacy of *Bacillus firmus* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *World J Microbiol Biotechnol* **31**:661–667.
- Yakhin OI, Lubyanov AA, Yakhin IA, Brown PH. 2017. Biostimulants in plant science: a global perspective. *Plant science* 8 (e2049) DOI: 10.3389/fpls.2016.02049.
- Youssef MMA, Ali MS. 1998. Management of *Meloidogyne incognita* infecting cowpea by using some native blue green algae. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz* **71**:15–16.
- Zhao H, Liang C, Zhang Y, Duan F, Song W, ŠťC, Huang W, Peng D. 2021. Research advances of biology in *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945. *Biotechnology Bulletin* **37**:45-55.
- Zouhar M, Douda O, Lhotský D, Pavela R. 2009. Effect of plant essential oils on mortality of the stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*). *Plant Protection Science* **45**:66–73.
- ZUCM. 2024. o zelenině. Zelinářská unie Čech a Moravy. Available from <https://zucm.cz/unie/o-zelenine> (Accessed leden 2024).

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

- AG - *Anethum graveolens*
- CC - *Cymbopogon citratus*
- CK - *Carum carvi*
- CS - *Coriandrum sativum*
- DC - *Daucus carota*
- DMSO - Dimetylsulfoxid
- EC - *Eukalyptus citriodora*
- FN - *Foeniculum vulgare*
- HŘ - *Syzygium aromaticum*
- KAF - *Cinnamomum camphora*
- LA - *Lavandula angustifolia*
- LH - *Lavandula hybrida*
- LV - *Laurus nobilis*
- MS - *Mentha spicata*
- OB - *Ocimum basilicum*
- OM - *Origanum majorana*
- OV - *Origanum vulgare*
- OW - *Cymbopogon winterianus*
- OZ - *Zingiber officinale*
- PA - *Pimpinella anisum*
- PG - *Pelargonium graveolens*
- PV - *Piper nigrum*
- RO - *Rosmarinus officinalis*
- Rpm - otáčky za minutu
- SK - *Cinnamomum cassia*
- SM - *Satureja montana*
- SO - *Salvia officinalis*
- TaO - *Artemisia dracunculus*
- TPP - Sodium tripolyphosphate technical
- TS - *Thymus serpyllum*
- TV - *Thymus vulgaris*
- TW - kombinace *Thymus vulgaris* a *T. zygis*

10 Seznam grafů a tabulek

Graf 1: Vliv esenciálních olejů na mortalitu háďátek po 24 hodinách od zahájení testu

Graf 2: Vliv esenciálních olejů na mortalitu háďátek po 48 hodinách od zahájení testu

Graf 3: Vliv esenciálních olejů na mortalitu háďátek po 72 hodinách od zahájení testu

Graf 4: Vliv esenciálních olejů na háďátka ve skleníkových pokusech

Graf 5: Vliv esenciálních olejů na růst čekanky salátové

Tabulka 1: Statistické vyhodnocení vlivu esenciálních olejů na háďátka ve skleníkových pokusech

Obrázek 1: Životní cyklus *D. dipsaci*

Příloha 3: Tukeyův HSD test - výstupní data ze statistiky k in vitro pokusu po 72 hodinách (P hodnota= 0,05)

H2O	DMSO	HR	OB	OW	EC	PG	MS	TV	TW	SM	SO	FA	FN	SK	OM	RO	TS	LA	PV	CS	LV	LH	AG	DC	CK	OZ	KAF	TaO	CC lemon	OV			
0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000		
0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	
0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	
0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000

Příloha 4: použité esenciální oleje



Příloha 5: založení in vitro pokusu



Příloha 6: enkapsulované esence



Příloha 7: založený skleníkový pokus



Příloha 8: rostoucí čekanka ve skleníkovém pokusu



Příloha 8: dorostlá čekanka



Příloha 9: sklizená čekanka



Příloha 10: vyplavování hádátek z čekanky ze skleníkového pokusu



Příloha 11: binolupa používaná k počítání hádátek



12 Seznam příloh

Příloha 1: Tukeyův HSD test- výstupní data ze statistiky k in vitro pokusu po 24 hodinách (P hodnota=0,05)

Příloha 2: Tukeyův HSD test- výstupní data ze statistiky k in vitro pokusu po 48 hodinách (P hodnota=0,05)

Příloha 3: Tukeyův HSD test- výstupní data ze statistiky k in vitro pokusu po 72 hodinách (P hodnota=0,05)

Příloha 4: použité esenciální oleje

Příloha 5: založení in vitro pokusu

Příloha 6: enkapsulované esence

Příloha 7: založený skleníkový pokus

Příloha 8: rostoucí čekanka ve skleníkovém pokusu

Příloha 9: dorostlá čekanka

Příloha číslo 10: sklizená čekanka

Příloha číslo 11: vyplavování hádátek z čekanky ze skleníkového pokusu

Příloha číslo 12: binolupa používaná k počítání hádátek