

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Biologická ochrana ovocných plodin proti
fytoparazitickým hád'átkům pomocí metabolitů rostlin
Diplomová práce**

Bc. Žofie Zemanová

**Zemědělství a rozvoj venkova
Rozvoj venkovského prostoru**

Ing. Marie Maňasová Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Biologická ochrana ovocných plodin proti fytoparazitickým hád'átkům pomocí metabolitů rostlin" 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 21. dubna 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní Ing. Marii Maňasové, Ph.D. za nekončící podporu a trpělivost při zpracování této práce. Mé rodině děkuji za povzbuzení a synovi Matyášovi za to, že mi byl neustálou motivací a oporou během celého studia.

Biologická ochrana ovocných plodin proti fytoparazitickým háďátkům pomocí metabolitů rostlin

Souhrn

Fytoparazitická háďátka jsou často opomíjena, ačkoliv mají značný vliv na stav rostlin. Jsou odolná vůči nepříznivým podmínkám a snadno se přizpůsobují novým prostředím. Jejich malé rozměry a biologická variabilita představují výzvu v boji proti nim, protože mohou poškozovat různé části rostlin. Háďátko *Ditylenchus dipsaci*, známé jako háďátko zhoubné, způsobuje značné škody na různých plodinách, např. jahodníku, čekance, česneku, cibuli, mrkvi, bobu, vojtěšce, ovsu a okrasných rostlinách a má významný ekonomický dopad. S legislativním omezením dostupných chemických přípravků se hledají alternativní způsoby ochrany rostlin, jako jsou rostlinné metabolity, například esenciální oleje, které mohou bojovat proti různým škůdcům a patogenům. Jejich použití však může mít negativní vliv na rostliny, což vyžaduje optimalizaci jejich aplikace.

Praktická část této práce je strukturována do tří hlavních částí: pilotní test, in vitro test vybraných esenciálních olejů a květináčový test. V pilotním testu byl zkoumán účinek v podmínkách in vitro 15 často používaných esenciálních olejů. Na základě těchto výsledků bylo vybráno šest nejúčinnějších esenciálních olejů, mezi kterými figurovaly: *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Pimpinella anisum* a *Eugenia caryophyllus*. Tyto látky pak podstoupily in vitro test, kde byl každý esenciální olej zkoumán ve čtyřech různých koncentracích s šesti opakováními. Z tohoto testu vynikl esenciální olej *Cinnamomum cassia* jako nejúčinnější, a to ve všech zkoumaných koncentracích. *Thymus vulgaris* se prokázal jako účinná látka při vyšších koncentracích. Nakonec bylo šest nejúčinnějších látek z pilotního testu použito v květináčovém testu na čekance. Výsledky ukázaly, že použití esenciálních olejů *Cinnamomum cassia*, *Foeniculum vulgare* a *Eugenia caryophyllus* má nejlepší efekt na ochranu rostlin při aplikaci již během setí.

Klíčová slova: Háďátka, *Ditylenchus dipsaci*, nematofágní houby, ovocné plodiny

Biological control of fruit crops against to phytoparasitic nematodes by plant metabolites

Summary

Phytoparasitic nematodes are often neglected, although they have a significant effect on plant health. They are resistant to adverse conditions and easily adapt to new environments. Their small size and biological variability present a challenge in combating them, as they can damage different parts of the plants. The nematode *Ditylenchus dipsaci*, known as the bulb eelworm, causes significant damage to various crops such as strawberry, chicory, garlic, onion, carrot, broad bean, alfalfa, oats and ornamentals and has a significant economic impact. With the legislative limitation of available chemical products, alternative methods of plant protection are being sought, such as plant metabolites, for example essential oils, which can fight against various pests and pathogens. However, their use can have a negative effect on plants, which requires optimization of their application.

The practical part of this work is structured into three main parts: pilot test, in vitro test of selected essential oils and flower pot test. In a pilot test, the effects of 15 frequently used essential oils were investigated. Based on these results, the six most effective essential oils were selected, among which were: *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Pimpinella anisum* and *Eugenia caryophyllus*. These substances were then subjected to an in vitro test where each essential oil was tested at four different concentrations with six replicates. From pilot test, the essential oil of *Cinnamomum cassia* stood out as the most effective, in all concentrations examined. *Thymus vulgaris* has been shown to be effective at higher concentrations. Finally, the six most effective substances from the pilot test were used in a pot test on chicory. The results showed that the use of *Cinnamomum cassia*, *Foeniculum vulgare* and *Eugenia caryophyllus* essential oils from the seed stage has the best effect in plant protection.

Keywords: Nematodes, *Ditylenchus dipsaci*, nematophagous fungi, fruit crops

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Pěstování ovocných plodin	10
3.1.1 Situace v České republice	10
3.1.2 Situace v Evropě	10
3.1.3 Situace ve světě	11
3.2 Pěstování révy vinné	12
3.2.1 Situace v České republice	12
3.2.2 Situace v Evropě a ve světě	13
3.3 Hádátka (Nematoda)	13
3.3.1 Fylogenetické zařazení	13
3.3.2 Stavba těla	14
3.3.3 Způsob života	15
3.3.4 Vybrané druhy háďátek škodících na ovocných plodinách	16
3.3.4.1 <i>Ditylenchus dipsaci</i>	16
3.3.4.2 Rod <i>Meloidogyne</i>	19
3.3.4.3 Rod <i>Aplhelechoides</i>	20
3.3.4.4 Rod <i>Xiphinema</i>	21
3.3.4.5 Rod <i>Radopholus</i>	23
3.4 Ochrana rostlin	25
3.4.1 Obecně	25
3.4.2 Integrovaná ochrana rostlin proti háďátkům	26
3.4.3 Legislativa	26
3.4.4 Přípravky na ochranu rostlin	27
3.4.5 Chemická ochrana rostlin	27
3.4.5.1 Chemické pesticidy a nematocidy	27
3.4.5.2 Historie chemických nematocidů	29
3.4.5.3 Problematika chemických nematocidů	30
3.4.6 Biologická ochrana rostlin	30
3.4.6.1 Metody biologické ochrany	31
3.4.6.2 Významné organismy	32
3.4.6.3 Genetická modifikace plodin	32
3.4.6.4 Biologicky aktivní látky	33

3.4.6.5	Biologické pesticidy	33
3.4.7	Využití esenciálních olejů v ochraně rostlin.....	34
3.4.7.1	Esenciální oleje z levandule (<i>Lavandula</i> sp.)	35
3.4.7.2	Esenciální oleje z tymiánu (<i>Thymus vulgaris</i>).....	35
3.4.7.3	Esenciální oleje skořice (<i>Cinnamomum cassia</i>).....	36
3.4.7.4	Esenciální oleje anýzu, fenyklu, eukalyptu.....	36
3.4.7.5	Esenciální oleje hřebíčku (<i>Eugenia caryophyllus</i>)	36
3.4.7.6	Esenciální oleje oregana (<i>Origanum majorana</i>).....	37
3.4.7.7	Esenciální oleje rozmarýnu (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	37
4	Metodika	38
4.1	Pilotní test.....	38
4.2	In vitro – konkrétní esenciální oleje	39
4.3	Květináčové testy	40
5	Výsledky	43
5.1	Pilotní test.....	43
5.2	In vitro	45
5.3	Květináčové testy	47
5.3.1	Váha listů	47
5.3.2	Počet háďátek v listech.....	49
5.3.3	Stupeň zkadeření listů.....	51
5.3.4	Stupeň zčervenání žilek listů.....	53
6	Diskuze	55
6.1	Účinnost metabolitů rostlin	55
6.2	Symptomy <i>Ditylenchus dipsaci</i>.....	56
7	Závěr	57
8	Literatura.....	59
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	66
10	Samostatné přílohy	I
	Listy z neúčinnější varianty: <i>Cinnamomum cassia</i> (skořice) z osiva	IV

1 Úvod

Tato práce se zabývá zkoumáním možností ochrany ovocných plodin proti fytoparazitickým háďátkům s využitím rostlinných metabolitů. Háďátka (Nematoda) jsou častým škůdcem zemědělských i ovocných plodin, což je způsobeno zejména tím, že jde o velmi rozšířenou a druhově bohatou skupinu. Bahadur (2021) uvádí, že jde o nejrozšířenější skupinu živočichů na Zemi. Vyskytují se v půdě, ve vodě i uvnitř jiných organismů. Ne všechny druhy této široké skupiny jsou škůdci, některé však vyvinuly pozoruhodné adaptace pro tento způsob života.

Teprve v druhé polovině 19. století bylo zjištěno, že špatný stav řepy není vždy způsoben "půdní únavou", ale skrytým půdním škůdcem, háďátkem řepným. Tento půdní škůdce začal být problematikou s pěstováním cukrové řepy na stejném poli po několik let v řadě. Dodnes je přítomnost či absence tohoto škůdce na poli důležitou informací pro pěstitele při plánování budoucích aktivit. Pro získání úplného obrazu situace je nezbytné provést několik klíčových kroků: provést reprezentativní vzorkování půdy, extrahovat odebrané vzorky a provést kvalifikovanou diagnostiku případných cyst háďátek (Gaar 2013).

Fytoparazitická háďátka představují významnou hrozbu pro pěstování polních plodin, s odhadovaným podílem 12 % na celosvětových ztrátách způsobených škůdci v rostlinné produkci, což představuje finanční ztráty okolo 157 miliard USD (Abad et al. 2008). Jejich škodlivost spočívá zejména v komplikovanosti přímé ochrany rostlin před těmito půdními organismy.

Pro jejich likvidaci je často nezbytné použít vysoké dávky nematocidů, avšak efektivita a ekonomická efektivnost takových zásahů jsou často předmětem debaty. Kromě toho existuje pouze omezené množství účinných látek, které lze použít pro chemickou ochranu proti těmto škůdcům (McCarter 2008).

Neschopnost adekvátně reagovat na nárůst populace háďátek představuje významný problém. Je zčásti obtížné pochopit, že fytonematologie, věda vytvořená koncem 19. století, s cílem minimalizovat ztráty způsobené hlísticemi na potravinářských plodinách skrze výzkum a kontrolu, stále nedosáhla tohoto cíle v mnoha interakcích mezi plodinami a hlísticemi ani po letech intenzivního výzkumu. Sice byly dosaženy značné pokroky v redukci výnosových ztrát způsobených různými hlísticemi, avšak stále existuje potřeba pokračovat v úsilí, aby se u mnoha plodin přešlo od režimu přímé kontroly k integrované ochraně rostlin proti háďátkům (INM) (Sikora et al. 2021). Integrovaná ochrana rostlin proti háďátkům (INM), popsána Birdem (1981), spočívá v kombinaci výzkumu, technologického vývoje a implementace různých metod kontroly nematod, aby bylo dosaženo optimálních výsledků v různých pěstitelských systémech. Tento koncept se neustále vyvíjí v reakci na vnější vlivy, jako jsou změny v rostlinné produkci, nové technologie a potřeby pěstitelů (Sikora et al. 2021).

V koevoluci s parazity vyvíjejí některé rostliny účinné obranné strategie, včetně produkce specifických metabolitů. Existují rostlinné metabolity, které mají efektivní nematocidní vlastnosti a zároveň nízkou toxicitu pro člověka a ekosystém. Tyto metabolity je možné využít k šetrné ochraně plodin před znehodnocením parazitickými háďátky.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza: Existují metabolity rostlin, které při aplikaci mají přímý dopad na vývoj háďátek poškozujících ovocné plodiny.

Cíl práce: Cílem práce je otestovat vliv vybraných metabolitů rostlin na vývoj háďátek *Ditylenchus dipsaci*.

3 Literární rešerše

Sikora (2021) uvádí, že svět musí každoročně zvýšit produkci potravin minimálně o 2 % všech plodin, aby bylo zajištěno adekvátní dodávání potravin pro rostoucí světovou populaci. S biotickými a abiotickými faktory, které ovlivňují produkci potravin nyní i v budoucnosti, budou všechny formy zlepšení produkce plodin relevantní pro potravinovou bezpečnost pro nadcházející generace. Proto má nematologie důležitou roli v zajištění adekvátní dodávky potravin pro svět.

3.1 Pěstování ovocných plodin

3.1.1 Situace v České republice

V České republice má pěstování ovocných stromů bohatou historii. Původně se ovocné dřeviny nacházely v zahradách a podél silnic ve stromořadích. Od 80. let 20. století se ale počet podél silnic snižuje kvůli bezpečnosti silničního provozu. V současnosti tyto stromy stárnou a nové nejsou vysazovány, protože správa silnic nevykonává náležitou péči a jejich zdravotní stav se zhoršuje vlivem posypové soli v zimě. Stromy také sloužily jako ochrana při vodních tocích. Ovocné aleje přinášejí krajinným oblastem mnoho přínosů, jako jsou ochrana před větrem, zadržování vody a stabilizace okrajů a mezí. Pěstování ovocných stromů v zahradách má v České republice vysokou popularitu. Na začátku nového tisíciletí zajišťovalo asi polovinu spotřeby ovoce v domácnostech. Nicméně, ovocné stromy v zahradách obvykle produkují menší výnosy a plody nižší kvality, což je dělá náchylnějšími k neschopnosti konkurovat tržnímu ovoci (Myslivcová 2022).

Blažek (2001) zmiňuje pravděpodobnost, že pěstování ovoce v zahradách postupně klesne a bude nahrazeno pěstováním okrasných rostlin.

V roce 2022 dosáhla celková produkce ovoce v ČR 343,3 tisíc tun, což představuje nárůst o 7,5 %. Produkce jablek činila 223,5 tisíc tun, což je nárůst o 23,3 %. V roce 2023 se však projeví negativní vlivy dlouhého chladného jara a sucha. Mrazové epizody způsobily škody na ovocných plodech, a celková produkce ovoce v ČR klesne o 25 % na 123,8 tisíc tun (Němcová & Buchtová 2023).

3.1.2 Situace v Evropě

Text Trh s ovocem zažil v roce 2022 výrazné změny v důsledku extrémního počasí, které se výrazně lišilo od předchozích let. V Evropě se projeví dlouhé vlny veder a sucha, což vedlo k poklesu produkce ovoce v hlavních zemích produkujících tuto komoditu. Současně trh, jak v zahraničí, tak v České republice, stále zůstával ovlivněný následky pandemie COVID-19 a také ruskou agresí na Ukrajině. Tato situace podpořila růst cen energií, hnojiv, komodit a nákladů na dopravu, což začalo již v předchozím roce vést k inflaci (Němcová & Buchtová 2023).

V roce 2023 se zemědělci v mnoha částech Evropy, zejména na jihu a severu, potýkali s extrémními klimatickými podmínkami, což mělo vážné důsledky pro sklizeň zemědělských plodin. Zatímco vstupní náklady zůstávaly vysoké a ceny hnojiv opět stouply, některé vyšší spotřebitelské ceny částečně vyvážily tento trend. Očekává se, že rostoucí náklady

na chladírenské skladování odradí producenty od skladování pro export, což povede k většímu zpracování jablek. Evropská unie jako reakci na ruskou agresi na Ukrajině rozhodla o pozastavení dovozních celních kvót pro zemědělské a zpracované zemědělské produkty dovážené z Ukrajiny do EU na jeden rok. Dále zrušila systém vstupních cen a dovozních cel pro dovoz ovoce a zeleniny. Byly také zavedeny tzv. solidární trasy, které měly usnadnit vzájemný obchod a vývoz zemědělských surovin a produktů z Ukrajiny. Na trhu EU převládala nadměrná nabídka jablek, což vedlo k nízkým cenám. Sezóna 2022/23 byla pro producenty jablek v EU velmi obtížná kvůli aktuálnímu vývoji na evropském i světovém trhu. Celková úroda jablek v roce 2023 klesla na 11,4 milionů tun, což je meziroční pokles o 3,3 %. Výrazně se zvýšila produkce odrůd Golden Delicious (+11,7 % na celkových 2,2 milionů tun) a Gala (+4,8 % na 1,5 milionů tun), zatímco u odrůd Red Delicious a Idared se očekává výrazný pokles o 10,0 % resp. o 6,1 %. Produkce broskví a nektarinek se pro rok 2023 odhaduje na 3,6 milionů tun, což odpovídá pětiletému průměru. Spotřeba čerstvého peckového ovoce v EU byla pod tlakem kvůli vysoké míře inflace, která byla důsledkem konfliktu na Ukrajině (Němcová & Buchtová 2023).

3.1.3 Situace ve světě

Zimní období 2021/2022 ve světě lze hodnotit jako období s převážně normálními teplotami a nečekaně nadprůměrnými srážkami. Duben v roce 2022 byl charakterizován jako velmi chladný, větrný a suchý, s výskytem mrazivého počasí. Mrazivé vlny v tomto měsíci způsobily poškození květních orgánů a plodů u některých ovocných plodin. Tato situace se projevila nejen v několika zemích světa. Následně v letních měsících došlo k výraznému zlepšení vývoje vegetace díky vydatným dešťovým srážkám a nárůstu teplot. Od druhé poloviny června až do konce srpna 2022 sužovala celou Evropu rekordní vedra, s teplotami přesahujícími 40 °C. Na produkci ovoce se pozitivně projeví až významné srážky z druhé poloviny srpna a září. Náhlé změny počasí měly vliv na opakované množení některých patogenů, což vedlo k poškození plodů. V roce 2022 dosáhla celková produkce ovoce světové objemu 343,3 milionů tun, což představovalo nárůst o 7,5 % oproti předchozímu roku. Na rozdíl od roku 2022 byla produkce ovoce ve světě v roce 2023 negativně ovlivněna dlouhým a velmi chladným jarem s mnoha mrazovými epizodami a dlouhodobým suchem. Velký výskyt mrazových vln se projevil zejména od konce března do května 2023, což vedlo k významnému snížení úrody u některých ovocných plodin. Celková produkce ovoce ve světě v roce 2023 byla odhadována na 123,8 milionů tun, což představovalo pokles o 25 % oproti předchozímu roku (SZIF 2024).

Hád'átka významné u pěstování nejen ovocných plodin je *Ditylenchus dipsaci*, umístěný na páté příčce mezi deseti nejinvazivnějšími PPN (Plant parasitic nematodes), se vyznačuje svou vysokou agresivitou. Tato agresivita je způsobena širokým rozsahem hostitelských rostlin, který zahrnuje více než 500 různých druhů, jako jsou oves, hrách, česnek, brambory, jahody, tabák a různé druhy plevelů, například rozrazil rolní a další. Dalším faktorem zvyšujícím agresivitu je odolnost tohoto parazita vůči nepříznivým klimatickým podmínkám, včetně teplot pod nulou, teplot okolo 50 °C a extrémního sucha. *D. dipsaci*, který je obligátním

endoparazitem, napadá parenchymatické tkáně stonků a cibulí a je rozšířen v oblastech mírného podnebí (Hendrychová 2023).

3.2 Pěstování révy vinné

Réva vinná, latinským názvem *Vitis vinifera*, je vyšší dvouděložná rostlina, zařazená do řádu rostlin řešetlákotvarých a čeledi révovitých. Obecně je známá také pod označením réva evropská nebo ušlechtilá. Během dlouhého vývoje prošla morfologickými změnami a dnes je popínavou dřevnatou liánou, která se opírá o opory pomocí úponků. Réva vinná se skládá z podzemní části a nadzemní části. Podzemní část tvoří kořenový systém, který zajišťuje fixaci rostliny v půdě, ukládání živin a vody a tvorbu rostlinných hormonů. Nadzemní část zahrnuje dřevnatou část, jako je kmen, dvouleté a jednoleté dřevo, a zelené části, jako jsou listy, květy a úponky. Listy jsou klíčovými orgány, protože prostřednictvím fotosyntézy získává rostlina látky nezbytné pro svůj růst a vývoj. Jsou dlouze řapíkaté, zubaté, s třemi až pěti laloky, lesklé na lici a pýřité na rubu. Úponky jsou dlouhé a větvené, vyrůstají naproti listům na stonku. Květenstvím révy vinné jsou laty žlutozelené barvy. Bobule, nazývané hrozny, jsou plodem révy vinné. Mohou mít různé tvary a barvy, jako jsou zelená, žlutá, růžová, červená nebo modrá, v závislosti na odrůdě. Většina pěstovaných odrůd má oboupohlavní a samosprašné květy (Pavloušek 2011).

Vinná réva není příliš náročná na druh půdy a obvykle roste dobře na různých typech půd. Přesto je důležité zohlednit obsah živin a vlastnosti půdy při výběru místa pro její pěstování. Réva nejlépe prosperuje na půdách, které nejsou příliš zamokřené, studené nebo příliš hutné, což může vést k jejímu utlumení a snížení výnosů (Kraus 2012).

3.2.1 Situace v České republice

V České republice má vinohradnictví hluboké kořeny, které sahají až do 8. století. První doložené zmínky o pěstování révy vinné pocházejí ze zatopené obce Mušlov pod Pálavou. Během středověku hrály kláštery klíčovou roli ve vinohradnictví, přičemž obchod s vínem byl významným zdrojem příjmů. V období vlády Karla IV. získávalo vinohradnictví stále větší význam, a to i díky dovozu odrůd révy vinné z různých částí Evropy. Později, ve 14. až 16. století, zažilo vinohradnictví na Znojemsku zlatý věk, kdy vinice expandovaly a sklepy se rozšířily. Nicméně, ekonomické turbulence a válečné konflikty vedly ke ztrátě vinic, zejména během třicetileté války (Čurdová 2018).

Od 18. století do 19. století docházelo k rozkvětu vinohradnictví, přičemž větší podíl na něm měly selské vrstvy a chudší obyvatelstvo. V období následujícím po zrušení nevolnictví a rozvoji pivovarnictví a lihovarnictví však vinohradnictví čelilo konkurenci. Navíc zavedení chorob způsobilo další útlum vinic. Ve 20. století vinohradnictví prošlo dalšími významnými změnami, jako byla kolektivizace, využívání nových technologií a chemických přípravků, ale také bojem s mrazem a komplikacemi spojenými s navrácením půdy vlastníkům po roce 1993 (Čurdová 2018).

Po roce 1995 se v České republice vinohradnictví začalo opětovně rozvíjet díky podpoře ze strany státu, včetně dotací na výsadbu nových vinic a obnovu existujících vinic z Vinařského

fondu. Tento trend vedl k postupnému růstu vinic a obnovení tradice pěstování révy vinné v zemi (Kraus 2012).

3.2.2 Situace v Evropě a ve světě

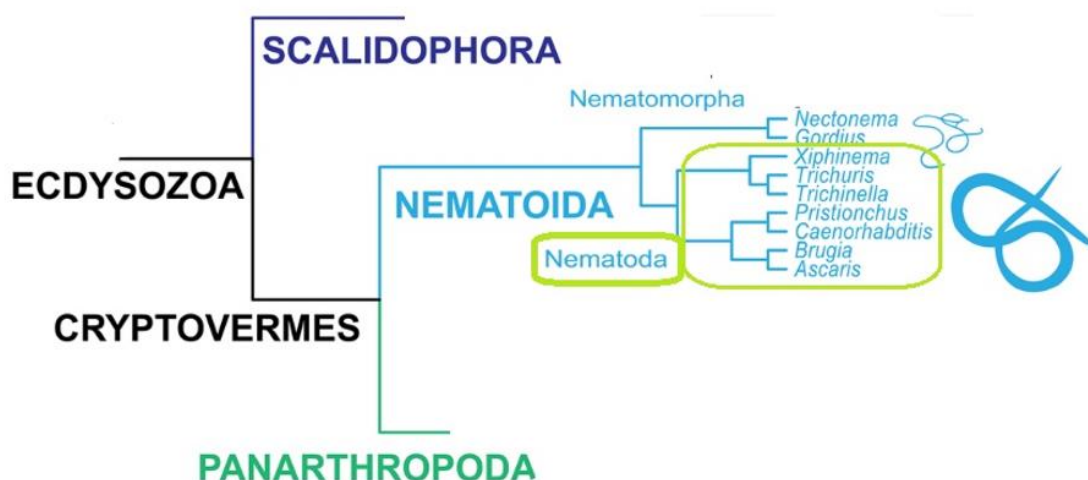
V globálním kontextu došlo v roce 2022 k nepatrnému poklesu světové plochy určené pro pěstování révy vinné o pouhých 0,4 % ve srovnání s předchozím rokem. Celková rozloha zůstala po zaokrouhlení na hodnotě 7,3 milionu hektarů. Tato plocha zahrnuje oblasti vyhrazené pro pěstování révy určené jak pro výrobu vína, tak i pro produkci stolních hroznů a rozinek, včetně mladých vinic, které ještě neprodukují hrozny. Trend této plochy je stabilizovaný od roku 2017, avšak v jednotlivých vinařských regionech může docházet k odlišnému vývoji. Z celkové plochy připadá na země Evropské unie dlouhodobě 3,3 milionu hektarů. Pouze šest zemí, ze 93 celkového počtu zemí pěstujících révu, tvoří 56 % světové plochy, přičemž tři z těchto zemí jsou členy Evropské unie. Podíl největších šesti států na této ploše se oproti roku 2021 nezměnil. Španělsko drží absolutně nejvyšší rozlohu vinic, která činí 955 tisíc hektarů. (Bublíková 2022).

Značné potíže na plantážích révy vinné v Chile činí ektoparazitické hád'átko *Xiphinema index*, jehož zastoupení v místních půdách činí až 48 % (Hendrychová 2023).

3.3 Hád'átka (Nematoda)

3.3.1 Fylogenetické zařazení

Hád'átka (Nematoda) patří mezi prvoústé živočichy skupiny Ecdysozoa. Nematoda jsou početně i druhově jedním z nejbohatších kmenů na Zemi, čítajících kolem 30 tisíc druhů. Většina z nich dosud nebyla popsána (Volf & Horák, 2007). Předpokládá se, že první zástupci kmene Nematoda se vyvinuli v mořských biotopech během kambrijského období (600–550 milionů let př. n. l.) (Holterman et al. 2017). Fosilní záznamy o nematodách jsou však extrémně vzácné. Fosilie nematody *Palaeonema phyticum* byla nalezena ve spojení s rostlinou *Aglaophyton major* v období raného devonu (přibližně 416–396 milionů let př. n. l.). Byly objeveny starší a početnější fosilie tardigrad, živočichů úzce příbuzných s nematodami, jejichž členové se objevili v polovině kambria. Toto poskytuje nepřímý důkaz o mořském původu kmene Nematoda během kambrijského období (Khan 2015).



Obrázek 1: Obrázek 1 Výřez fylogenetického stromu, zařazení kmene Nematoda (Hlístice) vyznačeno zeleným rámečkem. Zjednodušeno dle Howard et al. (2022).

Sesterskou skupinou nematod jsou Nematomorpha (strunovci), menší kmen o zhruba 350 druzích, kam patří rody *Nectonema* a *Gordius*. Kmen Nematomorpha je zajímavý tím, že i přes jistou morfologickou podobnost s nematodami (hlísticemi) se od nich liší svým vývojovým cyklem, ekologií a dalšími biologickými charakteristikami. Mají vývoj nepřímý, kdy larvy jsou parazitické a dospělci volně žijící ve vodě (Volf & Horák 2007).

Hád'átka lze prvně rozdělit na ektoparazitická a endoparazitická.

- **Ektoparazitická:** Tato skupina hád'átek zůstává v půdě a nepenetruje do rostlinných tkání. Mnohé z nich se živí povrchovými buňkami rostlin nebo obsahem buněk, do kterých proniknou svým ústním bodcem. Většina ektoparazitických druhů je pohyblivá, ale některé se přichytí ke kořenům trvale a živí se zde (Rich et al. 2007).

- **Endoparazitická:** Tato hád'átka pronikají do kořenův rostlin. Perry & Moens (2006) rozdělují endoparazitická hád'átka na **migrující**, kteří si udržují svou pohyblivost a nemají pevné místo krmení v rostlinné tkáni. Naopak **sedentérní** endoparazitické mají pevné místo krmení.

Dále je možné hád'átka dělit dle místa napadení na rostlině na **kořenová, stonková a listová**. Projevy těchto druhů hád'átek jsou popsány u jednotlivých rodů (Perry & Moens 2006).

3.3.2 Stavba těla

Nematoda, jsou protáhlí živočichové s červovitou, nečláňkovanou oboustranně symetrickou stavbou těla, jejichž délka se může pohybovat v rozmezí od několika mikrometrů až po několik metrů. Nejčastěji měří kolem 1 mm na délku (Jones et al. 2013). Vnitřní struktura obsahuje trávicí trakt, který začíná ústy na předním konci, pokračuje hltanem, střevem a končí análním otvorem na zadním konci. Hltan slouží jako pumpa pro sání potravy do trávicího systému. Hlístice mají také vylučovací a reprodukční systémy (Smrž 2015).

Mají jednoduchou tělesnou stavbu s vnějším a vnitřním trubicovitým systémem, mezi kterými se nachází tělní dutina – pseudocoel. Dutina není vystlána kompletní mezodermální vrstvou (Khan 2015). Hlístice nemají specializované dýchací ani oběhové systémy, tyto funkce jsou zajišťovány difúzí přes kutikulu a tělní povrch. Pohybová aktivita hlístic je umožněna díky existenci jediné vrstvy podélných svalů, která je rozčleněna do čtyř sekcí pomocí epidermálních lišt, omezující jejich pohyb na typické škrubavé a vlnivé pohyby bez schopnosti měnit průměr svého těla. Ochrannou funkci plní u hlístic vícevrstevná kutikula, pokrývající jejich tělo (Jones et al. 2013).

3.3.3 Způsob života

Nematoda žijí v suchozemských i vodních ekosystémech, včetně extrémních podmínek. Ke svému životu obvykle potřebují vlhkost. Někteří parazitičtí zástupci skupiny si vyvinuly komplikované životní cykly a strategie, včetně střídání mezihostitelů, migrace v rámci těla hostitele, a dokonce manipulace chování živočichů. Patří také mezi nejběžnější lidské parazity – např. roup dětský (*Enterobius vermicularis*), který se často vyskytuje u dětí (Khan 2015). Tento malý bílý červ způsobuje nepříjemné svědění v anální oblasti, které vede k šíření infekce přes kontaminované ruce nebo povrchy. Další rozšířený parazit, škrkavka dětská (*Ascaris lumbricoides*), infikuje střevní trakt a může způsobovat vážné zdravotní komplikace, včetně obstrukce střev a podvýživy, zejména u neléčených infekcí dětí. Tenkohlavec lidský (*Ancylostoma duodenale*) a jiné druhy se přichycují na stěnu střeva, kde se živí krví hostitele. Způsobuje onemocnění zvané ankylostomóza, které se vyskytuje zejména ve vlhkých oblastech s nižšími hygienickými standardy (Volf & Horák 2007).

Hlístice nabývají obrovské důležitosti i ve vědeckém výzkumu, zejména hád'átko obecné (*Caenorhabditis elegans*), které se stalo jedním z nejvýznamnějších modelových organismů v moderní biologii. *C. elegans* je malý průsvitný červ, jehož jednoduchost a jasně definovaný počet buněk umožňují detailní studium buněčných a molekulárních procesů. Jeho biologický výzkum přinesl průlomové poznatky v oblastech, jako je programovaná buněčná smrt, funkce RNA interference a genetické regulace vývoje. Díky tomu, že se *C. elegans* snadno chová a má krátký životní cyklus, se stal nepostradatelným nástrojem pro genetické a biomedicínské studie, včetně výzkumu stárnutí či neurobiologie (Kurz & Ewbank 2003).

Zhruba 4 100 druhů kmene Nematoda, tedy cca 15 %, je rostlinnými parazity (Holterman et al. 2017). Hlístice parazitující na rostlinách jsou rozděleny na ektoparazity, semiendoparazity a endoparazity na základě jejich způsobu života a vztahu k hostitelské rostlině (Volf & Horák 2007). Nejčastěji se tyto parazity vyskytují na podzemních částech rostlin (kořeny, cibule, hlízy...) nebo v nich, kde se živí pletivou rostlin. Napadení rostliny pak může připomínat projevy abiotického stresu – žloutnutí a odpadávání listů, neprospívání apod. a může být těžké infekci rozeznat, i vzhledem k malým rozměrům a nenápadnosti parazita. Některé druhy parazitují i v dalších rostlinných orgánech jako jsou listy, plody nebo semena, čímž také znehodnocují zemědělské plodiny (Khan 2015; Lopes-Caitar et al. 2019).

3.3.4 Vybrané druhy háďátek škodících na ovocných plodinách

3.3.4.1 *Ditylenchus dipsaci*

Stavba těla

Háďátko zhoubné je schopné napadat širokou škálu rostlin a existuje více ras, které jsou vázány na určitý druh hostitelské rostliny. Tyto varianty nelze odlišit morfologicky, ale jsou spojeny s konkrétním typem hostitelského rostlinstva (Douda 2023). Hlístice *Ditylenchus dipsaci* jsou malé, obvykle měří asi 1 mm, což je typické pro většinu druhů fytoparazitických hlístic. Tělo je válcovité, oboustranně symetrické, skládá se z vnější ochranné vrstvy zvané kutikula, pod kterou je epidermis a svalová vrstva. Svaly jsou uspořádány podélně, což umožňuje vlnovitý pohyb. Vnitřní struktura obsahuje trávicí trakt, který začíná ústí na předním konci, pokračuje hltanem, střevem a končí análním otvorem na zadním konci. Mají také vylučovací a reprodukční systémy, jsou gonochoristé (dvě pohlaví) (Jones et al. 2013). Tělo je nitkovité, bílé barvy. Samice je větší než samec, přičemž mají tato háďátka i velmi krátký a málo vyvinutý stylet, samičky opět delší. Tělo je sakončeno výrazně špičatým ocasem (Horváthová 2018).

Životní cyklus

Vývoj larv prvního stupně trvá přibližně 5 až 5,5 dne, po této době larvy získávají schopnost pohybu, zároveň se vzrostlé larvy prvního stupně svlékají ve vajíčku. Jakmile larvy dosáhnou druhého stupně, je možné pozorovat přítomnost styletu a pohyby larv druhého stupně jsou již zřetelné. Minimální doba inkubace při teplotě 15 °C je 7 dní. Poté se larvy druhého stupně vylíhnou a během 2 až 2,5 dne následuje druhé svlékání. Larvy třetího stádia se svlékají potřetí po 3–3,5 dnech. Larvy čtvrtého stupně se svlékají počtvrté v dalších 4–5 dnech. Dospělci se objevují mezi 9. a 11. dnem od vylíhnutí. Při teplotě 15 °C trvá celý životní cyklus 19–23 dní. Partenogeneze není pozorována a larvy samic čtvrtého stupně se nepáří. V rostlinách se může vyvinout několik generací háďátek za sebou, přičemž starší larvy často opouštějí rostliny a hledají si nové hostitele (eAGRI 2024).

Jedná se o migratorní, volně žijící endoparazitické háďátko, což znamená, že se aktivně pohybuje prostředím a hostitelským organismem a vniká do hostitelské rostliny. Pohybuje se ve vodním filmu na povrchu rostlinného pletiva a do rostliny proniká přes průduchy. Po proniknutí do rostliny zde může žít po několik generací a dokáže přežít i v usychajícím rostlinném materiálu po smrti hostitelské rostliny. Migrace hlístice vede k poškození rostlinných tkání a často k otevření cesty pro sekundární infekce houbovými nebo bakteriálními patogeny (Jones et al. 2013). V anabiotickém stádiu, což je stav metabolické nečinnosti, může *D. dipsaci* přežít až dvacet let, což mu umožňuje čekat na příznivé podmínky pro reaktivaci a znesnadňuje jeho eliminaci (Douda et al. 2022). Samička klade vajíčka, z nichž se po určité době líhnou nová juvenilní stadia. Tento cyklus umožňuje rychlou reprodukci a šíření infekce (Jones et al. 2013).

Životní cyklus *Ditylenchus dipsaci* může proběhnout kompletně na jedné hostitelské rostlině. Larvy háďátka se vyvíjí a množí v rámci hostitelské rostliny, kde nakonec samička

klade až 500 vajíček. Starších larvy mají schopnost přežívat v anabiotickém stavu v půdě. Anabiotický stav představuje stav metabolické nečinnosti, který umožňuje larvám přežívat po dobu až 20 let v suchém rostlinném materiálu a 2-3 roky v polních podmínkách bez hostitelské rostliny (Douda 2023).

Wallace (1962) ve svém výzkumu popsal, že vertikální rozložení *Ditylenchus dipsaci* v půdě na poli s ovsem, které je napadené, připomínalo distribuci jiných rodů háďátek s výjimkou toho, že po dešti došlo k výraznému nárůstu počtu *D. dipsaci* na povrchu půdy. Háďátka *D. dipsaci* migrovali na povrch půdy a byli schopni přežít vyschnutí při 50% relativní vlhkosti vzduchu po dobu 34 dnů. Když byly napadené rostliny zavlaženy, pozorovalo se výrazné zvýšení počtu *D. dipsaci*. Toto háďátko migrovalo více v písčité půdě než v jílovité, ale nebyl zaznamenán žádný rozdíl v rychlosti invaze u sazenic ovsa v obou typech půdy.

Hostitelé a způsob poškození

Háďátko zhoubné obvykle útočí na nadzemní části rostlin, konkrétně na stonky a listy. V dalších případech mohou být poškozeny i semena a kořeny, avšak k této formě napadení obvykle dochází až v pozdější fázi vývoje infekce. Mezi hlavní příznaky patří nejasné deformace rostlin, ztlustění stonků a tmavé skvrny na řezu cibulovitých částí rostlin. Při intenzivním napadení může dojít k sekundárnímu hnití a poškození pletiva houbami a bakteriemi. Nicméně i při výrazném infekčním tlaku mohou příznaky na rostlině chybět. (Douda 2023). Wallace (1962) zmiňuje rozdíl *Ditylenchus dipsaci* od většiny ostatních rostlinných parazitických háďátek ve způsobu napadání hostitelské rostliny, které probíhá na nebo nad povrchem půdy, kde jsou největší změny půdních podmínek.

Ditylenchus dipsaci napadá širokou škálu hostitelských rostlin, včetně cibule, česneku a jetele (Khan 2015). Například tolíce vojtěška, známá pod latinským názvem *Medicago sativa*, je víceletá rostlina patřící do čeledi bobovitých (*Fabaceae*). Je to jedna z nejvýznamnějších píceň, což jsou rostliny pěstované pro krmění hospodářských zvířat, zejména proto, že je bohatá na bílkoviny, vitamíny a minerální látky. Má schopnost přirozeně obohacovat půdu o dusík díky symbióze s bakteriemi fixujícími dusík, které žijí ve výrůstcích na jejích kořenech. Původem je z jihozápadní Asie, ale dnes se pěstuje po celém světě. Rozšiřování areálu této plodiny však doprovází také šíření parazitického háďátka *Ditylenchus dipsaci*, které přežívá v semenech (Moultet et al. 2014). Z ovocných plodin je hostitelskými plodinami *Fragaria vesca* či *Fragaria x ananassa* (EPPO 2002). Právě jahodníku velkoplodého se týkal výzkum Parka et al. (2005), který hodnotil vliv fytopatogenních háďátek na tuto rostlinu. Ve velké míře byl na porostech nalezen právě *Ditylenchus dipsaci* a u rostlin byl pozorován zakrnělý růst, listy byly chlorotické, listy vykazovaly typický symptom zkadeření. Poupata byla deformována a rostliny také méně plodily.

Obecně je však možné pozorovat zduření infikovaných částí rostlin, které je způsobeno rozpuštěním středních lamel buněčných stěn a zvýšeným buněčným dělením. Na listech se zduření obvykle ohraničuje žilkami, což vede k jemnější struktuře na mladých listech. Dalšími příznaky jsou potlačení růstu a deformace hlavních částí rostlin, včetně zvlnění, zkadeření, zkroucení a zakřivení listů, lodyh a stonků. Některé hostitelské rostliny mohou

reagovat na napadení rašením vedlejších pupenů nebo nadměrným odnožováním. U jahodníku se projevuje infekce abnormalitami v barvě, tvaru a kresbě listů, což může vést k zakrnutí rostlin. U rybízu se příznaky napadení projevují zduřením infikovaných částí rostlin, které je důsledkem rozpuštění středních lamel buněčných stěn a zvýšeného buněčného dělení. Na listech se toto zduření obvykle ohraničuje žilkami, což vede k jemnější struktuře na mladých listech. Dále dochází k potlačení růstu a deformacím hlavních částí rostlin, včetně zvlnění, zkadeření, zkroucení a zakřivení listů, lodyh a stonků (eAGRI 2024).

Rozšíření a způsob ochrany

Ditylenchus dipsaci je v mnoha zemích uveden jako regulovaný škodlivý druh (kategorie A2 podle Evropské a středomořské organizace pro ochranu rostlin). Šíření tohoto škůdce do dosud nezasažených oblastí probíhá nejčastěji prostřednictvím infikovaných semen. Semena zeleniny (např. pažitka, pórek), stejně jako sadbové stroužky (česnek) nebo cibule mohou být infikovány (Moultet et al. 2014). Douđa (2023) ve své práci věnované *Ditylenchus dipsaci* uvádí, že se v současné době neexistuje žádná dostupná odrůda zemědělských plodin, která by byla tolerantní nebo rezistentní vůči háďátku *Ditylenchus dipsaci*. Šlechtění plodin s cílem získat odolnost vůči tomuto druhu se aktuálně vyvíjí, zejména u cukrové řepy, kde byly zaznamenány významné škody v Belgii, Německu a Švýcarsku. Nicméně, komerčně dostupné odrůdy této plodiny s odolností vůči *D. dipsaci* dosud nejsou k dispozici. Nepřímé metody ochrany zahrnují dodržování dostatečného prostorového odstupu mezi pěstovanými plodinami hostitelskými pro háďátka. V případě zeleniny se doporučuje používání kvalitních sadbových materiálů a osiva. Na menších plochách je možné snížit počet háďátek na pozemku odstraňováním napadených rostlin. U česneku lze provést ochranu ponořením sadby do teplé vody o teplotě 44 °C po dobu jedné hodiny (Douđa 2023).

eAGRI na rostlinolékařském portálu (2024) popisuje provádění ochranných opatření proti *Ditylenchus dipsaci* následovně:

Alternativní metody ochrany rostlin před škodlivými organismy představují prostředky regulace bez použití průmyslově vyráběných syntetických pesticidů. Do této kategorie patří fyzikální a mechanické techniky, které často souvisí s preventivními opatřeními diskutovanými dříve. Většina těchto metod je kompatibilní se systémy ekologického zemědělství nebo integrované produkce, s výjimkou geneticky modifikovaných organismů.

Mechanická a fyzikální ochrana zahrnuje opatření jako je ponoření sazenic do teplé vody. Délka a teplota této úpravy jsou klíčové: 30 až 45 minut při 38 °C, 20 minut při 49 °C a následně 10 až 20 minut při 18 až 22 °C. Správné dodržení teploty a délky expozice je nezbytné pro zabránění poškození sazenic.

Biologická a biotechnická ochrana obecně zahrnuje prostředky, které využívají mikroorganismy, makroorganismy, hmyzí a rostlinné růstové regulátory, rostlinné extrakty a podobně k ochraně rostlin. Tyto metody regulace škodlivých organismů nepoužívají průmyslově vyráběné syntetické pesticidy a jsou kompatibilní s ekologickým zemědělstvím.

Přímá chemická ochrana je problematická. V současnosti je jediným povoleným prostředkem ochrany rostlin vůči tomuto háďátku přípravek VOTiVO, který se používá k moření osiva.

3.3.4.2 Rod *Meloidogyne*

Tato skupina zahrnuje několik druhů, jako je *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* a *M. hapla*, které jsou rozšířené po celém světě a napadají téměř všechny druhy plodin. Napadení rostlin může vést k výraznému snížení úrody a kvality plodů (Jones et al. 2013).

Stavba těla

Samice hálkotvorných háďátek mohou dorůst velikosti až 1 mm a jsou zpočátku červovitého tvaru, ale po vniknutí do rostliny a usazení se stávají sedentárními a nabobtnají do hruškovitého nebo kulovitého tvaru. Samci jsou menší, štíhlejší a zůstávají mobilní. Obě pohlaví mají stylet, kterým pronikají do rostlinných buněk.

Životní cyklus

Životní cyklus rodu *Meloidogyne* se vyznačuje absencí cysty, typické pro rod *Heterodera*, a místo toho hostitelské rostliny reagují na přítomnost těchto háďátek tvorbou kořenových hálek. Tím se odlišují od jiných háďátek. Příznaky napadení zahrnují právě tvorbu kořenových hálek, nadměrnou produkci kořenů a zakrslost rostlin v celkovém porostu (Douda 2023).

Hostitelé a způsob poškození

Vyvolávají charakteristické háčky na kořenech, které jsou způsobeny změnami v tkáních rostlin. To vede k poruchám vstřebávání živin a vody. Infikované rostliny často vykazují zpomalený růst, žloutnutí listů a deformace kořenů. Hálkotvorná háďátka mohou napadat široké spektrum hostitelů, včetně zeleniny, okrasných rostlin a polních plodin (Jones et al. 2013). Příkladem je *M. vitis*, jehož hostitelskou rostlinou je *Vitis vinifera* (EPPO 2004). Či *M. fallax* parazitující na *Fragaria x ananassa* (EPPO 2002).

Rozšíření a způsoby ochrany

Hálkotvorná háďátka (rod *Meloidogyne*), což jsou obligátní (výhradní) parazité napadající téměř všechny druhy cévnatých rostlin. Patří mezi nejvýznamnější skupinu rostlinných parazitických hlístic. Jsou rozšířené v teplých a mírných klimatických pásmech po celém světě. Jsou dobře přizpůsobené parazitismu na různých hostitelích a v různých podmínkách a představují jednu z nejvýznamnějších skupin škůdců v globálním zemědělství.

Kontrola zahrnuje použití rezistentních odrůd, biologickou kontrolu, plodinovou rotaci a v některých případech chemické ošetření (Jones et al. 2013). Douda (2023) uvádí, že je složitá ochrana rostlin metodou střídání plodin, a to z důvodu širokého spektra hostitelských rostlin.

3.3.4.3 Rod *Aphelenchoides*

Listové háďátko (*Aphelenchoides ritzemabosi*), je častým parazitem rostlin, který napadá více než 200 různých druhů rostlin (Chalańska et al. 2017). Háďátko jahodníkové (*Aphelenchoides fragariae*) je členem skupiny volně žijících listových háďátek. Tento druh je polyfágní, což znamená, že má široké spektrum hostitelských rostlin, včetně jahodníků, jetelu plazivého a mnoha druhů okrasných rostlin, jako jsou astry, begonie, chryzantémy, jiriny, narcisy, lilie, pelargónie, kosatce a mnoho dalších, včetně některých plevelů jako je žabinec obecný. Tento škůdce je rozšířen po celém světě (Kloutvorová 2018).

Stavba těla

Tělo hlístic rodu *Aphelenchoides* je štíhlé, s viditelnými příčnými pruhy na kutikule. Hlava je jasně vyčleněná od těla. Mají vyvinutý stylet, což je ústní bodec, používaný k pronikání do rostlinných tkání. Délka samiček se pohybuje mezi 0,45 a 0,8 mm, samci jsou obvykle menší. Reprodukční systém: Samice mají jednu vaječnickovou trubici směřující dopředu a dobře vyvinutý post-vulvární uterinní vak. Samci mají dobře vyvinuté spikuly (kopulační struktury) (Handoo et al. 2020). Dospělci *A. fragariae* jsou popisováni jako 0,5 až 1 mm dlouzí a štíhlí jedinci. V přední části těla mají obě pohlaví zřetelný stylet. Zbarvení je průsvitně bílé (Kloutvorová 2018).

Životní cyklus

Nematody rodu *Aphelenchoides* (např. *A. fragariae*) vstupují do rostlin skrze průduchy na listech nebo drobná poranění. Živí se buňkami mezofylu, což způsobuje charakteristické léze omezené na žilnatiny listů. Přežívají zimu v neaktivním stavu na opadaných listech nebo ve spících pupenech, ale nikoli v kořenech rostlin (Handoo et al. 2020). Kloutvorová (2018) popisuje přezimování oplozených samiček v listech srdéčkového tvaru jahodníků. Hlavním způsobem, jak se dostávají do rostlin, je z půdy, přičemž se šíří zejména pomocí sadby. Ve vnitřních prostorách listů se pohybují mezi buňkami listové tkáně, vstupují skrze průduchy a tam napadají jednotlivé buňky. Zde se také množí. Část populace může žít i na povrchu listů mezi jemnými trichomy. Během jednoho roku může mít více generací, což závisí na počasí. Vývoj jedné generace trvá 2 až 5 týdnů. Šíří se prostřednictvím sadbového materiálu. Při dešti a závlize se šíří z napadených rostlin kapénkami vody a vodním filmem na povrchu listů. Na konci léta opouštějí háďátka staré rostliny a přesouvají se do odnoží, do půdy a do nových rostlin.

Hostitelé a způsob poškození

Rod *Aphelenchoides* infikuje širokou škálu hostitelských rostlin, která zahrnuje více než 600 druhů, včetně kapradin, trvalých i jednoletých rostlin, z ovocných plodin například *Fragaria x ananassa* (EPPO 2002). Poškozuje především nadzemní části rostlin, včetně listů, stonků a pupenů. Způsobené poškození narušuje vzhled okrasných rostlin, a snižuje výnosy potravinových plodin. Přirozená kontrola tohoto parazita zahrnuje odstraňování a likvidaci

infikovaných rostlinných zbytků a použití rezistentních odrůd, pokud jsou k dispozici. Vzhledem k jeho schopnosti přežívat na rostlinných zbytcích, je pro prevenci šíření důležité udržovat čistotu v oblastech pěstování a skladování. Například u *A. ritzemabosi* spočívají typické projevy infekce v tvorbě lézí, které jsou ohraničeny hlavními žilkami na listech. Listy napadené těmito hád'átky postupně ztrácejí svou původní barvu, hnědnou a nakonec opadávají (Christie 1942).

Rozšíření a způsob ochrany

Zouhar et al. (2008) uvádějí, že je rod rozšířen celosvětově a jednotlivé druhy můžeme nalézt i v extrémních klimatických podmínkách. V literatuře často popisované *A. Bessei* je v současné době silně rozšířeno na území Indie, ovšem Evropu v současnosti v několika státech významněji sužuje *A. fragariae* (EPPO 2024). Čalaňská et al. (2017) ve svém výzkumu prokázali, že kombinace abamektinu a vodného extraktu ze *Allium sativum* může být účinnou metodou kontroly populace *A. ritzemabosi*.

3.3.4.4 Rod *Xiphinema*

Xiphinema diversicaudatum je druh hlístice patřící do rodiny *Longidoridae*. Živí se na špičkách a po stranách kořenů plodin pěstovaných v jílovitých půdách. Často indukující komplexní vícejaderné struktury (syncytia) v kořenech hostitele, které používají pro svou výživu (Evans 2007). Tento parazit poškozují rostliny mechanicky i biologicky. Mechanické poškození spočívá v průniku do kořenových buněk a narušování jejich struktury, což rostlinám ztěžuje absorpci živin a vody. Biologické poškození je způsobeno přenosem virových onemocnění, jako je například virové onemocnění révy vinné způsobené grapevine fanleaf virus (GFLV), které významně snižuje kvalitu a množství úrody vinné révy (Andret-Link et al. 2004).

Stavba těla

Xiphinema dosahuje v dospělosti délky 3 až 5 mm, což je výrazně větší než mnoho jiných druhů hlístic. Má dlouhé, štíhlé a rovné tělo s výrazně odlišenou břišní a hřbetní stranou. Ústní aparát je vybaven velkým stylusem, který umožňuje pronikání do rostlinných buněk (Andret-Link et al. 2004).

Životní cyklus

Reprodukce probíhá pohlavně, a samice klade vejce do půdy, kde se vyvíjí nové larvy. Larvy a dospělci se mohou žít na povrchu kořenů (Andret-Link et al. 2004). *Xiphinema* mohou přežít až 5 let, což kompenzuje jejich nízkou míru množení (Evans 2007).

Hostitelé a způsob poškození

Xiphinema má široký rozsah hostitelů a může infikovat mnoho druhů rostlin, včetně révy vinné a jiných hospodářsky významných plodin. Mezi napadené plodiny patří maliny, jahody, růže, celer a trávy (Evans 2007).

Hlístice často slouží jako vektor virů, např. Arabis mosaic virus (ArMV), Bromegrass mosaic virus (BMV) a další. To je hlavním problémem spíše než přímé škody, které mohou způsobit. Hlístice *Xiphinema index* je významným parazitem vinné révy a šíří grapevine fanleaf virus (Evans 2007).

Ochrana proti tomuto parazitovi je komplikovaná kvůli jeho schopnosti přežít v různých podmínkách a širokému hostitelskému spektru. Obvykle se používají nematicidy a pěstování odolných odrůd, ale efektivita těchto metod může být limitovaná (Andret-Link et al. 2004).

Rozšíření a způsob ochrany

Běliková et al. (2015) se svém pozorování ochrany rostlin v ovocných školkách potvrdili, že efektivní ochrana proti chorobám přenášeným půdou, tedy i škůdcům je vhodný výběr předplodiny, přičemž háďátka rodu *Xiphinema* byla součástí výzkumu.

Ponechání pozemku neobdělaného po dobu delší, než dva roky může eliminovat výskyt. Tento rod je rozšířen celosvětově, a to včetně České republiky (Gaar 2024).

3.3.4.5 Rod *Pratylenchus*

Hlístice kořenových lézí (rod *Pratylenchus*) jsou migratorními endoparazity. Pronikají dovnitř kořenů a migrují mezi buňkami, způsobují fyzické poškození a často otevírají cestu sekundárním patogenům a hnilobě. Patří mezi hlavní škůdce v zemědělství a mají významný dopad na výnosy mnoha druhů plodin po celém světě (Chowdhury et al. 2022).

Stavba těla

Háďátka z rodu *Pratylenchus* jsou červovitého tvaru. Jejich tělo je vybaveno styletem, který slouží k pronikání do kořenové tkáně hostitelských rostlin (Chowdhury et al. 2022). Háďátka rodu *Pratylenchus* jsou malá, obvykle měří pouze 0,4 až 0,7 mm na délku. Mají hladké, válcovité tělo zakončené zaoblenou hlavou a styletem. Tělo je kryto odolnou kutikulou. V přední části těla se nachází stylet, což je vystřelovací orgán používaný k pronikání rostlinných buněk. Stylet je napojen na hltan, který funguje jako pumpa pro nasávání potravy (Jones et al. 2013).

Životní cyklus

Životní cyklus *Pratylenchus* začíná, když se z vajíčka vylíhne juvenilní jedinec, který projde několika vývojovými stádii, než dosáhne dospělosti. Všechna stadia jsou schopná infikovat rostliny. Háďátka kořenového lézu se živí a množí uvnitř kořenů většiny rostlin, čímž

způsobují dutiny a kanálky v kořenovém systému, které umožňují bakteriální a houbové infekci zhoršit škody způsobené samotnými hlísticemi. Hád'átka mohou nejprve napadat vnější povrch kořenů a kořenové vlásky, než proniknou do samotného kořene (Evans 2007). *Pratylenchus* sp. mohou se rozmnožovat jak sexuálně, tak nepohlavně, v závislosti na druhu, podmínkách prostředí a dostupnosti živin. Jejich životní cyklus probíhá v kořenové tkáni hostitelských rostlin, kde se vyvíjejí a rozmnožují. Mohou migrovat mezi buňkami a vyživovat se buněčnou cytoplazmou, což vede k nekróze kořenů a tvorbě lézí (Chowdhury et al. 2022).

Hostitelé a poškození

Pratylenchus jsou polyfágní, což znamená, že mohou napadat široké spektrum hostitelských rostlin, včetně obilovin, okopanin, zeleniny a ovocných stromů. Napadá cibule, okrasné rostliny, růže, ovocné stromy, maliny, jahody, brambory, rajčata, mrkve a salát. Malinové a jahodové porosty jsou zvláště náchylné k *P. penetrans* a souvisejícímu houbovému napadení kořenů. Už 50 hlístic na litr půdy může způsobit závažné škody na jahodách. Dalším zástupcem je *P. vulnus*, které napadá dřevnaté rostliny a *P. fallax*, které je spojeno s poškozením obilovin a cukrové řepy na písčitéch půdách (Evans 2007).

Hád'átka z rodu *Pratylenchus* mají široký rozsah hostitelů, který zahrnuje více než 400 druhů rostlin, včetně sóji, kukuřice, brambor, rýže, pšenice, zeleniny a ovoce. Poškozují kořeny hostitelských rostlin pronikáním do kořenové tkáně, což vede k nekróze, tvorbě lézí a snížení funkčnosti kořenů. To má za následek symptomy nedostatku živin a vlhkosti u citlivých hostitelů (Chowdhury et al. 2022).

Tato hád'átka pronikají do kořenů rostlin a migrují mezi buňkami, kde se živí buňkami hostitele. Poškození kořenů způsobuje nekrózy a může vést k sekundárním infekcím jinými patogeny. Typické symptomy napadení zahrnují zpomalený růst, žloutnutí listů a sníženou úrodu, což je důsledek narušení schopnosti kořenů absorbovat vodu a živiny (Jones et al. 2013).

Rozšíření a způsob ochrany

Hád'átka *Pratylenchus* jsou rozšířena po celém světě a mohou přežít v různých klimatických podmínkách. Pro ochranu proti nim se používají různé strategie, včetně střídání plodin a selekce rezistentních kultivarů hostitelských rostlin. Chemické nematocidy byly historicky používány, ale jejich použití je omezeno kvůli negativním dopadům na životní prostředí a lidské zdraví. Rezistence hostitele je také slibnou možností pro kontrolu populací těchto hád'átek, ale účinnost rezistentních kultivarů se může lišit v závislosti na konkrétním druhu hád'átek a hostitelské rostlině (Chowdhury et al. 2022).

3.3.4.5 Rod *Radopholus*

R. similis způsobuje závažné škody na banánových a citrusových plantážích tím, že narušuje kořenové systémy a vede k jejich odumření. *R. citrophilus* je významným škůdcem právě na citrusech (EPPO 2002).

Poškození kořenů způsobuje snížený příjem vody a živin rostlinou, což se negativně (až o 41 %) odrazí na zemědělských výnosech napadené populace. Rozsáhlé poškození kořenového systému může vést až k odumření rostliny (Mwaka et al. 2023).

Stavba těla

Radopholus similis má typický válcovitý tvar těla, který je štíhlý a protáhlý. Jako ostatní nematody, mají vyvinutý trávicí systém s ústy, střevem a anusem. Mají také jednoduchý nervový systém a vylučovací systém. Dospělí jedinci jsou malí, měří přibližně 0,3 až 0,7 mm na délku. Samci jsou obvykle menší než samice a mají zakřivený zadní konec, zatímco samice jsou větší a mají rovný zadní konec (pohlavní dimorfismus) (Saravanan et al. 2022). Samice má rovné až mírně klenuté tělo s vyvinutým styletem. Samec má degenerovaný stylet (CABI 2022).

Životní cyklus

Radopholus similis je migratorní endoparazit, který aktivně proniká do kořenových pletiv rostlin, kde se živí buněčnou šťávou. Samice klade vajíčka do půdy nebo přímo do rostlinných tkání. Z vajíček se líhnou juvenilní nematody, které procházejí několika vývojovými stadii, než dosáhnou dospělosti. Rozlišujeme čtyři juvenilní stádia (J1, J2, J3, J4). Po posledním juvenilním stadiu se nematody stávají dospělými a začínají reprodukční proces. *Radopholus similis* dokončí celý svůj životní cyklus během několika týdnů a je schopen rychlé reprodukce za příznivých podmínek (Saravanan et al. 2022).

Hostitelé a způsob poškození

R. similis z ovocných druhů parazituje například na ananasovníku *Ananas comosus* či banánovníku *Musa x paradisiaca*, na kterém činí významné škody na kořenových systémech. *R. citrophilus* má dle EPPO (2002) mezi hostitelskými rostlinami uvedeno např. *Citrus x aurantium* či *Persea americana* (známý jako hruškovec přeladný či avokádo).

Rozšíření a způsob ochrany

Jedinou aktuálně dostupnou strategií pro omezení nebo snížení škod způsobených háďátkou je pravidelná aplikace nefumigantních nematocidů, které jsou ekonomicky proveditelné a známé pěstitelům. Avšak tato aplikace se obvykle provádí pouze na zemědělských farmách s vysokými výnosy a intenzivně. Naopak, mnoho farem s nízkými výnosy trpí vážným poškozením kořenů háďátkou, protože nevyužívají žádná kontrolní opatření proti nim. Ekonomické a environmentální omezení určují rozumné používání nefumigantních nematocidů v doporučených dávkách. K dosažení tohoto cíle je nezbytný další výzkum, který by hodnotil biologické metody kontroly, vhodné zemědělské postupy, rotaci používaných nematocidů, frekvenci aplikace a způsoby aplikace, aby se zabránilo nadměrnému rozmnožování populací háďátek a poškození kořenů (Aguirre 2016).

R. similis napadají kořeny banánovníků po celém světě, jsou často přítomny v banánových produkčních oblastech v Ekvádoru. Tyto škůdci často dosahují vysoké hustoty populace, které přesahují ekonomický limit v jakémkoli měsíci v roce. To má za následek poškození kořenového systému banánovníků, což omezuje jejich schopnost přijímat vodu a živiny. Důsledkem je zpomalení růstu rostlin, snížení výnosu plodů a prodloužení doby cyklu růstu banánovníků (Aguirre 2016).

3.3.4.7 Další významné druhy

Mezi 10 nejvýznamnějších škůdců z řad hlístic patří také cystotvorná háďátka (rody *Heterodera* a *Globodera*), které mají schopnost přežít v půdě ve formě cyst mnoho let. Háľkotvorná háďátka mění tkáň rostlin na struktury, které jim poskytují potravu, známé jako syncytia. Háďátka způsobující vadnutí borovic, *Bursaphelenchus xylophilus*, pochází původně ze Severní Ameriky, ale způsobuje rozsáhlé škody na borovicích také v Asii. Je to migratorní endoparazit, který se živí jak rostlinnou tkání, tak houbami v mrtvém dřevu. Háďátka *Rotylenchulus reniformis* se stávají sedentárními ve svém vývojovém cyklu a vyvolávají tvorbu syncytií v kořenech hostitelských rostlin. Jsou škůdci mnoha důležitých plodin, včetně bavlny a ananasu. *Nacobbus aberrans* jsou známé jako falešná háľkotvorná háďátka a mají komplexní parazitický cyklus, kdy se v mladém věku pohybují jako migratorní endoparaziti a později se stávají sedentárními, vyvolávají syncytia ve svých hostitelských rostlinách. (Jones et al. 2013).

3.4 Ochrana rostlin

3.4.1 Obecně

Ochrana rostlin před škůdci může probíhat formou bariérových opatření (omezení zavádění nových plodin, kontrola osiva...), kam patří také střídání plodin na polích za účelem snížení parazitární zátěže dané plodiny v půdě. Dále je možné využívat fyzikální metody, např. sterilizaci semen horkou vodou, biologické metody (zejména bakterie nebo aplikaci rostlinných produktů s nematocidním efektem) či metody chemické (eAGRI 2024).

Hrudová (2015) popisuje, že prevence škůdců a chorob v ekologickém zemědělství spočívá v několika základních strategiích:

- Dodržování správných agrotechnických postupů pro pěstování rostlin.
- Používání odrůd rostlin, které jsou odolné nebo tolerantní vůči škůdcům a chorobám.
- Praktikování fyto-sanitárních opatření k udržení zdraví rostlin.
- Podpora biodiverzity, včetně podpory přirozených nepřátel škůdců a chorob.

Nepřímá metoda: Nepřímá ochrana rostlin v ekologickém zemědělství spočívá v prevenci výskytu patogenů a škůdců prostřednictvím podpory přirozených nepřátel škodlivých organismů. To zahrnuje odstranění příčin škodlivého výskytu, vytváření vhodných podmínek pro přirozené nepřátele a udržování vyváženého poměru a disperze mezi škodlivými organismy a jejich nepřáteli. Mezi nepřímé metody patří vnitřní i vnější karanténní opatření, agrotechnické zásahy – skladování, sklizeň, posklizňové opatření, způsob obdělávání půdy, hnojení, výživu rostlin, volbu stanoviště, osevní postup (Hrudová 2015).

Přímá metoda: V ekologickém zemědělství se přímá ochrana rostlin zaměřuje na přímé eliminování patogenů a škůdců prostřednictvím různých metod, jako jsou fyzikální, biologické a chemické prostředky ochrany (Hrudová 2015).

3.4.2 Integrovaná ochrana rostlin proti hád'átkům

INM (integrovaná ochrana rostlin proti hád'átkům) představuje komplexní přístup ke kontrole nematod, který kombinuje různé opatření a nástroje. Tento systém se opírá o pět hlavních pilířů: střídání plodin, výběr vhodných odrůd, péči o půdu, cílenou kontrolu a monitorování a hodnocení. Každý z těchto pilířů obsahuje širokou škálu nástrojů, které pomáhají zabránit škodám způsobeným hád'átkem, snižují jejich populace nebo zvyšují odolnost rostlin vůči nim. Využívání konkrétních nástrojů může být ovlivněno faktory jako je typ plodiny, regionální podmínky a finanční možnosti farmářů (Sikora et al. 2021).

3.4.3 Legislativa

Legislativní rámec EU týkající se chemické ochrany plodin před škůdci se opírá o několik klíčových nástrojů a regulací. Mezi ně patří Nařízení (ES) č. 1107/2009 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh a Nařízení (ES) č. 396/2005 o maximálních reziduálních hladinách pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu. Tyto právní předpisy podléhají revizím na základě doporučení odborných studií (Riemens 2021).

Legislativa EU upravuje používání pesticidů a jiných chemických látek dvojstupňovým procesem schválení. Účinné látky nejdříve posoudí a schválí Evropská komise. Následně mají jednotlivé státy pravomoc rozhodnout o povolení komerční verze daného produktu (EU 2020).

Hodnotící kritéria pro bezpečnost látek a jejich dopad na životní prostředí prošla reformou v roce 2011. Tato změna vedla ke snížení počtu schválených chemických produktů na trhu (Riemens 2021).

V roce 2000 evidovala EU více než 900 účinných látek, ale do roku 2008 se tento počet snížil na 425 a v roce 2018 dále klesal k počtu 352 účinných látek včetně, z toho 75 jich bylo určených pro biologickou ochranu plodin. Po zavedení nové regulace v roce 2019 bylo na trhu schváleno 487 účinných látek (EU 2020). Jen naprosté minimum z těchto schválených látek bylo následně staženo z trhu kvůli neočekávaným rizikům. Například v kategorii nefumigantních nematocidních chemikálií došlo k zpřísnění a zákazu některých látek. Produkty

obsahující aldicarb nesmí být od prosince 2007 používány. Produkty obsahující karbosulfan byly schváleny pouze pro použití do prosince 2008 (Evans 2007).

Odborníci se domnívají, že oblast biologické kontroly škůdců, zejména bakteriální přípravky, není dostatečně regulována současnými směrnici. Nařízení EU 1107/2009, které bylo vytvořeno pro syntetické aktivní látky a produkty, není vhodné pro schválení a autorizaci biologických produktů na ochranu rostlin. Sektor biokontroly vyžaduje samostatný proces schválení specifický pro biologické aktivní látky a přípravky na ochranu rostlin a jejich rizika (Riemens 2021).

3.4.4 Přípravky na ochranu rostlin

Přípravky na ochranu rostlin (POR) jsou látky, které slouží k ochraně rostlin nebo rostlinných produktů před škodlivými organismy během jejich výroby a skladování. Tyto produkty jsou běžně využívány v zemědělství, zahradnictví, lesnictví, domácích zahradách a rekreačních oblastech. Mezi POR patří syntetické přípravky i biopesticidy, které mohou být chemicky vytvořené nebo biologického původu, jako jsou rostlinné extrakty, feromony nebo mikroorganismy. Legislativa Evropské unie upravující POR je velmi přísná, a to s cílem zajistit ochranu lidského zdraví a životního prostředí. Před uvedením na trh musí být vědecky prokázáno, že tyto přípravky nezpůsobují škody lidem, zemědělcům, místním obyvatelům ani životnímu prostředí a že jsou účinné proti chorobám, škůdcům a plevelům (Keulemans et al. 2019).

3.4.5 Chemická ochrana rostlin

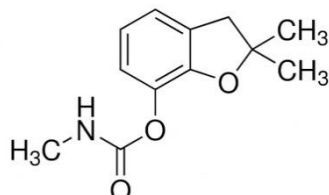
3.4.5.1 Chemické pesticidy a nematocidy

Nematocidní chemikálie mohou být rozděleny na fumiganty a nefumiganty. Fumiganty jsou pesticidy, které se používají ve formě plynu nebo se ve formě plynu šíří po aplikaci. Jsou navrženy tak, aby pronikly hluboko do půdy, materiálů nebo produktů a hubily škůdce, jako jsou hlístice, hmyz nebo plísně. Fumigace je proces, při kterém se fumigant aplikuje do určitého prostředí k odstranění nebo kontrole škůdců. Fumiganty mají tendenci být fytotoxické, takže aplikace musí být provedena několik týdnů nebo dokonce měsíců před výsadbou plodin. Metam-sodná sůl, chloropikrin, dazomet a 1,3-dichlorpropan jsou příklady fumigantních nematocidů. Nefumigantní nematocidy nemají fytotoxické účinky a obvykle se aplikují přímo do půdy, nebo těsně před výsadbou plodiny (Evans 2007).

Semena rostliny tolíce vojtěška (*Medicago sativa*) byla dříve ošetřována chemickými přípravky jako je methylbromid (Moutett et al. 2014), karbofuran, fenamifos a oxamyl (Gray & Soh, 1989). Ačkoli tyto látky efektivně potlačovaly šíření parazita a nesnižovaly výrazně klíčivost semen, měly závažné vedlejší dopady na zdraví lidí a ekosystémů. Proto jsou v současnosti legislativou zakázána a semena se běžně ošetřují pouze pomocí horké vody. Účinnost takového opatření je však sporná a háďátka se proto opět více šíří (Moutett et al. 2014).

Karbofuran neboli N-methylkarbamát byl dlouhá léta používán jako insekticid a nematocid v zemědělské praxi po celém světě. Jedná se však o toxickou a teratogenní látku. V důsledku jeho rozšířeného používání v zemědělství se stalo nevyhnutelným znečištění

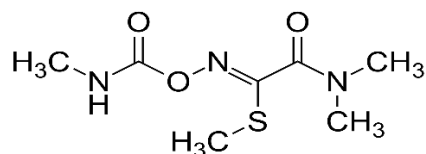
potravin, vody a vzduchu, a také nepříznivé zdravotní účinky u lidí, zvířat, divoké zvěře a ryb (Gray & Soh, 1989). Látka ovlivňuje autonomní nervový systém, má negativní hematologické a imunologické účinky. Karbofuran a jeho hlavní metabolity (3-hydroxykarbofuran a 3-ketokarbofuran) mohou překročit placentární bariéru a způsobit vážné poškození plodu (Gupta 1994). Způsobuje poškození rohovky, spojivky, čočky, sítnice a zrakového nervu, což může vést k slepotě. Ve vyšších dávkách může být otrava lidí nebo zvířat smrtelná (Kempuraj et al. 2023).



Obrázek 2: Karbofuran – chemická struktura (Kempuraj et al. 2023).

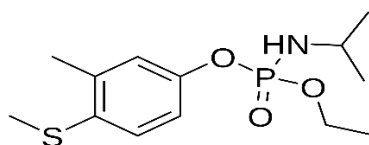
Oxamyl, další karbamátový pesticid, se používá k regulaci nematod v zemědělském prostředí. Dvouletý experiment na vinici s bezsemennými vinnými révami v severním Egyptě hodnotil účinnost čtyř alternativních ošetření: *Bacillus megaterium* (biologická ochrana), kyseliny borité, dusičnanu vápenatého a chitosanu (chemická ochrana), proti kořenovému háďátku *Meloidogyne incognita*, ve srovnání s nematicidem oxamylem. Byl posuzován vliv těchto ošetření na nutriční stav rostlin a na výnos a kvalitu plodů. Všechna ošetření významně inhibovala rozmnožování háďátek, snižovala počty nematodních gal a vajíček na kořenech i výskyt juvenilních jedinců v půdě. Aplikace oxamylu vedla k nejvyššímu snížení parametrů reprodukce, následovaná kyselinou boritou. V první sezóně byl nejvyšší výnos plodů zaznamenán u rostlin ošetřených kyselinou boritou, následovaných rostlinami ošetřenými oxamylem. V následující sezóně vedlo použití oxamylu k nejvyššímu výnosu, následované použitím kyseliny borité a chitosanu. V obou sezónách aplikace samotné kyseliny borité a kombinované s chitosanem zlepšila kvalitu šťávy. Všechna ošetření vedla k vyššímu obsahu živin (Abdel-Sattar et al. 2020).

Přestože je široce používaným insekticidem, je Oxamyl spojen s ekologickými riziky. Současná studie (An et al. 2023) prováděná na sladkovodních rybkách *Danio rerio* prokázala mechanismy reprodukční toxicity. Analýza změn hladin mRNA genů spojených s vývojem jednotlivých orgánů odhalila, že oxamyl má toxické účinky na vývoj neuronů, notochordu a cévního systému. Dále byl zjištěn nepříznivý účinek oxamylu na mitochondriální elektronový transportní řetězec. Nízké (subletální) dávky oxamylu negativně ovlivnily signalizační dráhy PI3K/Akt a p38 Mapk.



Obrázek 3: Struktura Oxamylu. Zdroj: National Center for Biotechnology Information (2024).

Závěry EFSA (2023) z posouzení rizik pesticidní účinné látky oxamyl, které byly provedeny příslušnými orgány Itálie a Francie hodnotí použití oxamylu jako nematocidu na bramborách a tabáku (pole), na rajčatech (trvalý skleník), na tykvovitých plodech (jedlé i nejedlé slupce), paprikách, baklažánech a semenech výše uvedených plodin a při přípravě půdního substrátu (trvalý skleník). Uvádějí jak efektivitu, tak i rizika a toxicitu zjištěnou z review mnoha dostupných studií. Organofosfátový pesticid Fenamifos je podobně jako oxamyl inhibítorem životně důležitého enzymu acetylcholinesterázy. To naznačuje jeho potenciál v ochraně rostlin, ale také možnou toxicitu.



Obrázek 4: Obrázek 4 Fenamifos, chemická struktura. Zdroj: National Center for Biotechnology Information (2024 b).

Široké používání organofosfátových pesticidů představuje významný problém pro veřejné zdraví. Trvalé, zejména neurodegenerativní, účinky expozice jsou stále aktuálním problémem. Lewis et al. (2009) studovali změny v genové a proteinové expresi u *Caenorhabditis elegans* (háďátka obecné, zástupce nematod používaný jako modelový organismus) vystavených organofosfátům. Testovali dvě strukturálně odlišné látky (dichlorvos a fenamifos). Po 8 hodinách expozice došlo ke změnám exprese 87 genů. Změnilo se také zastoupení 34 proteinů, využívaných v nervové a svalové tkáni či zapojených do procesů metabolismu lipidů, buněčné adheze, buněčné smrti nebo detoxikace. Oba pesticidy vyvolávaly zásadní biochemické změny v organismu. Expozice organofosfátům vede k poškození svalů kvůli trvalé hyperkontrakci, dále k narušení regulace genové exprese a buněčné smrti neuronů.

Výše popsané příklady ilustrují problematiku toxicity chemických pesticidů a motivaci k jejich legislativnímu omezení. Některé pesticidy mohou přetrvávat v prostředí či v ošetřených potravinách a negativně ovlivňovat i jiné než cílové druhy živočichů – včetně člověka. Popsaná neurotoxicita, reprodukční toxicita, poškození buněčného metabolismu či například zdokumentovaná poškození zraku u lidí vystavených vyšším dávkám pesticidů vedly k zpřísnění legislativy v mnoha zemích a zároveň k hledání alternativních způsobů ochrany plodin – fyzikálních, biologických, či využívajících chemické látky přírodního původu s nižší toxicitou.

3.4.5.2 Historie chemických nematocidů

Historii chemických nematocidů uvádí Taylor (2003). Začátky éry chemických nematocidů lze spojit s koncem první světové války. Během války byly vyvinuty a používány jedovaté plyny jako zbraně, které měly vyřadit nepřátelské vojáky z boje, aniž by je nutně

zabily. Mezi tyto plyny patřil i chloropikrin, kterého byl po skončení války přebytek. V roce 1920 byl chloropikrin testován v Anglii jako možnost kontroly plísní, háďátek a dalších škůdců. Ukázalo se, že má pozitivní účinky na půdní bakterie a zvýšení výnosu rajčat v květináčích. Tato studie označila chloropikrin jako jednu z neúčinnějších látek pro kontrolu škůdců a plísní a jako prospěšnou pro bakteriální aktivitu v půdě. Později v letech 1927 a 1928 byly provedeny terénní práce s chloropikrinem na ananasových polích na Havaji. Výzkum ukázal, že pozemky ošetřené chloropikrinem měly vyšší podíl rostlin bez háďátek kořenových, což naznačuje účinnost látky. Bylo zjištěno, že existuje negativní korelace mezi infekcí způsobenou háďátkou a množstvím aplikovaného chloropikrinu. Produkce ananasů na ošetřených pozemcích byla výrazně vyšší než na nezpracovaných plochách, což ukázalo, že náklady na aplikaci chloropikrinu byly opodstatněné vzhledem k získaným výnosům. Tyto výsledky přispěly k dalšímu využívání chemických nematocidů v ochraně rostlin a zemědělství.

3.4.5.3 *Problematika chemických nematocidů*

Dalšími otázkami souvisejícími s používáním chemických nematocidů jsou bezpečnost potravin, narušení ekosystémů a ztráta přirozených nepřátel škůdců, opylovačů a dalších organismů, které nejsou cílovými. Dopady a potenciální rizika přípravků na ochranu rostlin na suchozemské a vodní organismy jsou již dobře zdokumentovány, přičemž zvláštní pozornost je věnována ptákům a hmyzu, zejména opylovačům. V reakci na tyto poznatky byla zavedena regulace používání přípravků na ochranu rostlin na národní i evropské úrovni. Regulace v EU je založena na analýze rizik a kritériích hodnocení, což vedlo k odstranění některých přípravků a účinných látek z trhu EU. Inovace v oblasti pracovních mechanismů představují jedno z opatření k prevenci vzniku rezistence u cílových organismů, avšak v současné době je objevování nových účinných látek poměrně omezené (Reinders et al. 2021).

3.4.6 **Biologická ochrana rostlin**

Biologická ochrana rostlin se stala předmětem zkoumání a vývoje od poloviny 20. století. Tento přístup ochrany rostlin je omezen znalostmi životních cyklů organismů zapojených do procesu, jejich vzájemnými interakcemi a adaptací na místní podmínky prostředí. Vzhledem k omezené účinnosti chemických pesticidů a jejich negativním dopadům na životní prostředí a zdraví lidí se roste poptávka po alternativních metodách ochrany rostlin.

Biologická ochrana rostlin se zaměřuje na využití přirozených nepřátel škůdců a patogenů k jejich kontrole nebo eradikaci. Tento přístup může zahrnovat podporu přirozeného výskytu prospěšných organismů v prostředí, introdukci nepůvodních druhů či využití nepatogenních mikroorganismů. Cílem je omezení populace škůdců a patogenů a snížení poškození rostlin.

Biologická ochrana rostlin využívá široké spektrum vědních oborů, jako jsou entomologie, fytopatologie, ekologie či rostlinná fyziologie. Je založena na principu selektivního zásahu do přirozených procesů v prostředí a využívá různé strategie, jako jsou mikrobiální antagonisti nebo druhově specifické patogeny. Tento přístup k ochraně rostlin

představuje důležitou alternativu k použití chemických pesticidů a má potenciál přispět k udržitelnějšímu zemědělství a ochraně životního prostředí. Zůstává však mnoho nezodpovězených otázek, jako je distribuce patogenu a jeho antagonistů, vhodné podmínky pro účinnost bioagens, odezva benefičních organismů na agrotechnické postupy a způsoby aplikace na stanoviště. Přestože se biologická ochrana stává stále důležitější, náklady jsou často vyšší než u konvenčních metod. Otázky ohledně půdy, klimatických podmínek a veřejného zdraví hrají roli v budoucím vývoji, stejně jako specifické aplikace na komodity a další výzkum biotechnologií (Bleša 2019).

Bleša (2019) také definuje důležité pojmy a vysvětluje rozdíl mezi bioagens a biopesticidy. Bioagens je organismus nebo jeho produkt, který potlačuje škůdce nebo patogeny při biologické ochraně rostlin. Biopesticid je pesticidní přípravek založený na přírodních látkách. Bioagens se zaměřuje na živé organismy, zatímco biopesticidy mohou být živé organismy nebo látky z přírodních zdrojů s pesticidními účinky.

3.4.6.1 *Metody biologické ochrany*

Organismy, které způsobují škody na plodinách, mají přirozené nepřátele. Tyto nepřátelské druhy se mohou vyskytovat přirozeně v jakémkoliv zemědělském systému, ale jejich počty nebo efektivita jsou často příliš nízké. Lze rozlišit různé typy přirozených nepřátel: mikroorganismy, (bakterie, viry, houby) a makroorganismy (hmyz...). Biologická ochrana zahrnuje různé metody a opatření, které spoléhají na využití nepřátelských organismů, nebo modifikují jejich přirozené mechanismy a interakce (Riemens 2021).

V posledním desetiletí byla celosvětová míra uvedení nových biologických pesticidů na trh vyšší než u tradičních ochranných prostředků. Přestože trh s biopesticidy v poslední době rychle roste, méně než 5 % světového objemu prodeje produktů pesticidů jsou biologické povahy (Buckwell 2019). V systémech pěstování polních plodin je počet možností biologické ochrany proti hlavním škůdcům stále omezený. Větší počet možností je k dispozici pro pěstování ve sklenících (zelenina, ovoce, okrasné rostliny...) (Lamichhane et al. 2017).

Metody biologické kontroly by měly být méně rizikové pro lidské zdraví i pro životní prostředí. Obecně méně přetrvávají a hromadí se v systému, obvykle se rychle rozkládají a manipulace s nimi je pro zaměstnance bezpečnější než u některých chemikálií (Buckwell 2019). Pro farmáře je důležitá zejména efektivita ochrany. Biopesticidy jsou dnes často vnímány jako méně efektivní a spolehlivé než syntetické produkty, chybí zkušenosti a informace o nich. Další bariérou může být užší spektrum aplikací kombinace plodina/škůdce a potřeba několika produktů na jednu plodinu, což může zvyšovat náklady (Riemens 2021).

I přes dosažený pokrok ve znalostech o fungování biologické ochrany selhává v praxi jejich aplikace při boji s nemocemi rostlin na polích. Jedním z důvodů tohoto selhání je, že biologické látky jsou často používány stejným způsobem jako chemické přípravky. Avšak vzhledem k tomu, že se jedná o biologické produkty, je třeba je aplikovat s ohledem na jejich ekologické nároky (Alabouvette 2006).

3.4.6.2 Významné organismy

Mezi významné organismy v biologické ochraně rostlin řadíme: parazity, parazitoidy, predátory a patogeny.

Paraziti jsou organismy, které získávají výhody na úkor jiného organismu, nazývaného hostitel. Obvykle menší parazit využívá hostitele k zajištění svého života nebo vývoje a způsobuje určité poškození hostitele. Existují různé formy parazitických vztahů, přičemž některé parazity jsou závislé na svém hostiteli a nemohou přežít bez něj, zatímco jiné mohou přežít i mimo hostitele. Parazit může, ale nemusí být přímo zodpovědný za smrt svého hostitele (Helyes et al. 2014).

Parazitoidi jsou organismy, které mají volně žijící dospělé a larvální stádium, které se vyvíjí uvnitř nebo vně jediného hostitelského organismu. Na rozdíl od parazitů, parazitoidi nakonec svého hostitele zabijí, což může být výhodné z hlediska biologické ochrany. Parazitoidi hrají významnou roli v programech biologické ochrany, přičemž existují dva hlavní typy: ektoparazitoidi, kteří se usazují na nebo vedle hostitele, a endoparazitoidi, kteří se vyvíjejí uvnitř těla hostitele a vystupují, aby se zakuklili a vyvinuli se do dospělého stavu (Helyer et al. 2014).

Predátoři jsou organismy, které loví a konzumují svou kořist, ale neusadí se uvnitř hostitele. Typicky pronikají do hostitelského organismu propíchnutím jeho kutikuly a následně poškozují jeho vnitřní orgány. (Helyer et al. 2014).

Patogeny jsou organismy způsobující nemoci, které buď přímo způsobují smrt hostitele parazitismem nebo prostřednictvím toxinů, kterými poškozují vnitřní orgány hostitele a umožňují množeni patogenu. Téměř vždy je hostitelský organismus zabit, a poté jsou produkovány další patogeny (Helyer 2014).

3.4.6.3 Genetická modifikace plodin

Jedním ze způsobů, jak se vyhnout zdravotní a ekologické zátěži spojené s aplikací velkého množství chemických pesticidů na plodiny je úprava genetických vlastností samotných plodin tak, aby se mohly samy lépe bránit a měly lepší odolnost vůči škůdcům. Nejstarší, avšak málo efektivní a zdlouhavou metodou je šlechtění – výběr a rozmnožování odolných rostlin bez dalších zásahů do genomu. Moderní metody laboratorní genetické modifikace narážejí na legislativní omezení, nejistotu ohledně všech důsledků a bezpečnosti a také na problémy s efektivitou, probíhají však výzkumy i v oblasti ochrany před nematody (Mwaka et al. 2023).

Kultivar východoafrického vysokohorského banánovníku Nakitembe byl geneticky transformován konstrukty pro expresi dvojvláknové RNA interferující s hlísticovým genem Rps13. Čtyři měsíce po přenosu z in vitro kultury do skleníku byly modifikované rostliny inokulovány 2000 nematodami na rostlinu, a třináct týdnů poté byly analyzovány parametry jako růst rostlin, nekróza kořenů a velikost populace parazita. Rostliny s konstrukty dsRNA proti genům nematoda průměrně ukázaly nižší množeni nematodů a menší poškození kořenů než kontrolní rostliny. RNA interference se zdá být účinnou ochranou banánovníků před poškozením způsobeným *R. similis* (Mwaka et al. 2023).

3.4.6.4 *Biologicky aktivní látky*

Jde o látky vytvořené živými organismy, jako jsou rostliny nebo mikroorganismy, což zahrnuje sekundární metabolity a produkty fermentace. Tyto látky jsou také známé jako bioagenti nebo přirození nepřátelé. Bioagenti se vyskytují přirozeně, obvykle na místech, kde se vyskytují škůdci, a jsou pro pěstitele přínosem při kontrole těchto škůdců. Použitím bioagentů se dosahuje rovnováhy mezi populacemi škůdců a jejich přirozených nepřátel, což vede k omezení epidemií a významných ztrát způsobených jejich přemnožením (Bleša 2019).

3.4.6.5 *Biologické pesticidy*

Manda et al. (2020) popisují biopesticidy jako prostředky biologicky odbouratelné a šetrné k životnímu prostředí. Jsou účinným nástrojem k omezování používání syntetických insekticidů proti škůdcům. Tyto látky jsou odvozeny z různých zdrojů, jako jsou houby, bakterie, řasy, viry, červi a prvoci, nebo přímo z produktů živých organismů, jako jsou mikrobiální látky a fytochemikálie. Biopesticidy mohou regulovat škůdce prostřednictvím netoxických mechanismů.

Biopesticidy se dělí do tří hlavních tříd dle definice EPA:

- A. Přirozené biochemické látky s netoxickými mechanismy účinku
- B. Mikrobiální entomopatogeny
- C. Ochranné látky integrované do geneticky modifikovaných rostlin

V posledních desetiletích byly objeveny, vyvinuty a uvedeny na trh různé mikrobiální biopesticidy. Tyto biopesticidy zahrnují mikroorganismy, jako jsou bakterie, houby, viry a prvoci, které slouží jako aktivní složka pro biologickou kontrolu škůdců (Manda et al. 2020).

Botanické pesticidy

Botanické pesticidy jsou látky přírodního původu, které se používají k regulaci škůdců pomocí netoxických mechanismů. Rostliny produkující sekundární metabolity jsou také považovány za biopesticidy. Existuje více než 6000 druhů rostlin s insekticidními vlastnostmi, které se používají jako bezpečnější alternativa k syntetickým insekticidům. Mezi tyto rostliny patří neem, pudinkové jablko, tabák a pyrethrum. Botanické pesticidy jsou šetrné k životnímu prostředí, mají těžký charakter a nízké riziko pro životní prostředí ve srovnání se syntetickými pesticidy. Jejich minimální zbytková aktivita má menší vliv na predaci, parazitismus a opylovací hmyz, což je v souladu s programy integrované ochrany rostlin. Eukalyptový olej

je jedním z příkladů přírodních pesticidů používaných v zemědělství a zahradnictví (Manda et al. 2020).

3.4.7 Využití esenciálních olejů v ochraně rostlin

Výzkum nematocidních vlastností esenciálních olejů (EO) narůstá v posledních desetiletích na popularitě. Účinnost velkého počtu EO proti fytoparazitickým hlísticím byla rozsáhle zdokumentována in vitro, například rody *Cinnamomum*, *Eucalyptus* a *Monarda* efektivně ničily infekční juvenilní stádia (J2) a vajíčka hlístice *Meloidogyne incognita* i dalších fytoparazitických druhů, jako jsou *Pratylenchus vulnus* nebo *Xiphinema index* (D'Addabbo et al. 2020; Laquale et al. 2018).

Významným argumentem pro zaměření výrobu nových nematocidů na bázi esenciálního oleje může být dostupnost technologií pro kontrolované uvolňování a zpomalení degradace aktivních složek esenciálních olejů v půdě, čímž se prodlužuje a zvyšuje účinek ošetření (D'Addabbo et al. 2021). Praktické ošetření půdy esenciálními oleji, aplikované buď fumigací nebo zavlažováním, bylo velmi účinné při potlačování infestace *Meloidogyne incognita* na rajčatech (Laquale et al. 2015).

Nematocidální aktivita esenciálních olejů z 27 různých koření a aromatických rostlin byla testována jak v laboratorních podmínkách, tak v pokusných nádobách proti kořenovému háďátku *Meloidogyne javanica*. Dvanáct z těchto olejů významně paralyzovalo více než 80 % juvenilních stádií tohoto nematoda při koncentraci 1 000 $\mu\text{L/l}$. Ukázalo se také, že efektivně inhibují líhnutí nematod. Výrazně nejvyšší nematocidální aktivitu in vitro prokázaly oleje z kmínu setého (*Carum carvi*), fenyklu obecného (*Foeniculum vulgare*), máty kadeřavé a peprné (*Mentha rotundifolia* a *Mentha spicata*). Izolované hlavní složky těchto olejů - karvakrol, t-anetol, tymol a (+)-karvon, paralyzovaly juvenilní stádia a inhibovaly líhnutí při koncentracích vyšších než 125 $\mu\text{L/l}$ in vitro. Esenciální oleje a jejich směsi také snížily tvorbu kořenových nádorů na okurkových sazenicích, jak lze vidět na obrázku níže (Oka et al. 2000). Je však potřeba provést hodnocení bezpečnosti těchto olejů pro lidské zdraví, neboť ačkoliv se předpokládá, že mají méně vedlejších účinků než syntetické pesticidy, stále je potřeba tuto bezpečnost ověřit prostřednictvím vědeckých studií. Také by měl být proveden výzkum vlivu produktů z esenciálních olejů na ekosystém, protože mnohé z nich mají nejen nematocidní, ale i insekticidní, baktericidní a další účinky. Efekt produktů z esenciálních olejů by měl být například testován na širokém spektru hmyzích druhů, aby se určily potenciální škodlivé účinky na prospěšný hmyz jako jsou včely nebo motýli, kteří hrají klíčovou roli v opylování (Kakouri et al. 2022).

Zoubi et al. (2023) zkoumali využití esenciálních olejů z aromatických a léčivých rostlin k ochraně citrusů před háďátky *Tylenchus semipenetrans*, které je známé jako citrusové háďátko. Výsledky ukázaly vysokou toxicitu esenciálních olejů vůči těmto nematodám. *R. officinalis* a *T. vulgaris* prokázaly nejvyšší účinnost, vyvolaly 100% mortalitu nematod a úplnou inhibici líhnutí vajíček. Tyto výsledky naznačují, že esenciální oleje, zejména z *R. officinalis* a *T. vulgaris*, mohou být účinnými a ekologickými alternativami k chemickým nematocidům pro ochranu citrusů před *T. semipenetrans*.

Jako vhodné při ochraně jahodníku a broskvoní proti nemocem uvádí Fontana et al. (2021) esenciální oleje z rostlin *Aloysia citriodora*, *Cymbopogon winterianus*, *Lippia alba* a *Ocimum americanum*.

Z výše uvedených výzkumů plyne, že esenciální oleje jsou potenciálně velmi účinnými přírodními látkami pro kontrolu nematod na zemědělských plodinách. Níže jsou uvedené výzkumy některých esenciálních olejů, které budou použity v praktické části práce.

3.4.7.1 Esenciální oleje z levandule (*Lavandula sp.*)

EO získané ze sušených květových vrcholů rostliny lavandinu (hybrid levandule pravé a levandule širokolisté *Lavandula angustifolia* x *L. latifolia*) se vyznačují přítomností terpenoidů, jako je linalool a linalyl acetát, které jsou primárně zodpovědné za jejich vůni a mnohé biologické aktivity, včetně antioxidačních vlastností a antimikrobiálních účinků. EO z lavandinu může být slibnou surovinou pro výrobu pesticidů pro rostliny, výsledky různých studií se však v hodnocení efektivity liší (Pavela & Benelli 2016). Obsah, složení i biologické aktivity EO závisí na kultivaru rostliny a jsou také výrazně ovlivněny faktory jako je doba sklizně, teplota sušení a doba destilace (Détár et al. 2020).

Esenciální oleje z lavandinu mohou vykazovat silnou toxicitu vůči fytoparazitickým hlísticím i při velmi nízkých koncentracích. Významným argumentem pro výběr tohoto druhu je jeho snadná adaptabilita na různé pedoklimatické podmínky, velká produkce esenciálního oleje, a možnost využití i vedlejší produkty z extrakce esenciálního oleje, jako jsou hydroláty. Vliv virových onemocnění na sekundární metabolismus je však považován za bariéru pro standardizaci produkce esenciálního oleje, neboť může ovlivnit jeho farmakologické nebo funkční vlastnosti (Pavela & Benelli 2016). Nejběžnější virové onemocnění postihující rod *Lavandula* v Evropě je způsobeno virem mozaiky jetelové, který způsobuje pokles výnosů až o 41 %. Nematocidní aktivita esenciálních olejů z rostlin infikovaných virem může být oslabena i snížením obsahu kyslíkatých terpenů jako je linalool. Toto omezení lze obejít využitím EO z lavandinu jako modelu pro nové nematocidní směsi syntetických derivátů jejich terpenových složek (D'Addabbo et al. 2021).

3.4.7.2 Esenciální oleje z tymiánu (*Thymus vulgaris*)

Bursaphelenchus xylophilus je původce choroby žloutnutí borovic a šíří se pomocí brouka rodu *Monochamus* a v Jižní Koreji způsobuje významné škody na borovicích. Byly izolovány nematocidní složky z červeného a bílého oleje tymiánu (*Thymus vulgaris*) známé svou aktivitou proti dospělým jedincům *B. xylophilus*. Tyto oleje obsahují desítky látek s potenciální biologickou aktivitou. Zároveň byly porovnány účinky těchto sloučenin s běžně používanými chemickými nematocidy injikovanými do kmenů stromů (emmamektin benzoát, levamisol hydrochlorid a morantel tartrát). Geraniol byl identifikován jako nejefektivnější složka oleje, následovaný tymolem a karvakrolem. Při aplikaci formou bavlněných kuliček (viz graf) významně inhiboval propagaci nematod p-cymen. Jiné sloučeniny z tymiánu však naopak rozmnožování parazita stimulovaly – po jejich aplikaci došlo k většímu rozmnožování parazita než bez ošetření (Kong et al. 2007).

3.4.7.3 Esenciální oleje skořice (*Cinnamomum cassia*)

Kong et al. (2007) zkoumali nematocidní aktivitu olejů z dvou odrůd kassie (*Cinnamomum cassia*) a čtyř olejů ze skořice (*Cinnamomum zeylanicum*), společně s jejich složkami (například trans-cinnamaldehyd a trans-kyselina cinnamová) na dospělé jedince parazita *Bursaphelenchus xylophilus*. Účinnost byla porovnáвана s 34 chemicky příbuznými sloučeninami. Letální dávka (LD50) pro dospělé nematody při aplikaci po dobu 24 hodin byla u olejů z kassie 0,084–0,085 mg/ml a u skořice 0,064–0,113 mg/ml. Z 45 testovaných sloučenin byl nejefektivnější trans-cinnamaldehyd (LD50 = 0,061 mg/ml), následovaný ethyl cinnamátem, α -methyl-trans-cinnamaldehydem, methyl cinnamátem a allyl cinnamátem (0,114–0,195 mg/ml). Silná nematocidní aktivita byla pozorována také u 4-methoxycinnamonitrilu, trans-4-methoxycinnamaldehydu, trans-2-methoxycinnamaldehydu, ethyl α -cyanocinnamátu, cinnamonitrilu a cinnamyl bromidu (0,224–0,502 mg/ml). Charakteristiky chemické struktury, jako jsou typy funkčních skupin, nasycenost vazeb a uhlíková kostra, se zdají hrát roli při určování antiparazitární aktivity (Kong et al. 2007). Fontana et al. (2021) uvádí účinnost EO ze skořice při kontrole *Monilinia fruticosa* na jahodách.

3.4.7.4 Esenciální oleje anýzu, fenyklu, eukalyptu

Byla zkoumána účinnost esenciálních olejů ze sedmi rostlin pěstovaných v Řecku a deseti vybraných sloučenin z nich proti juvenilním stádiím druhého stupně (J2) *Meloidogyne inkognita*. Po 96 hodinách byla LD (50) pro *Foeniculum vulgare* 231 μ g/ml, *Pimpinella anisum* 269 μ g/ml, *Eucalyptus meliodora* 807 μ g/ml, Benzaldehyd (9 μ g/ml) byl nejtoxičtější sloučeninou, následovaný γ -eudesmolem (50 μ g/ml) a estragolem (180 μ g/ml). Kromě toho byly studovány synergistické a antagonistické interakce mezi nematocidními terpeny s použitím modelu adice účinků, přičemž srovnání bylo provedeno na jedné koncentrační úrovni. Nejsilnější terpenní páry, mezi kterými byly nalezeny synergistické účinky byly trans-anethol/geraniol, trans-anethol/eugenol, karvakrol/eugenol a geraniol/karvakrol (Ntalli et al. 2011).

Trans-anethol, jedna z účinných látek EO z fenyklu, prokázal nematocidní aktivitu in vitro po 24 a 48 hodinách (letální dávky LD50 byly 310 a 249 μ g/ml). Estragol v koncentraci 1 000 μ g/ml prokázal schopnost omezit líhnutí a vývoj juvenilních stádií *Meloidogyne javanica* (měřeno po 15 dnech od aplikace). Obsah trans-anethonu v EO extrahovaném z celých rostlin, plodenství a stonků s listy *Foeniculum vulgare* se pohyboval mezi 1–4 %. Estragol byl nejzastoupenější účinnou látkou v oleji, jejíž podíl byl mezi 28–65 % (Sousa et al. 2015). Potvrzena byla účinnost EO z eukalyptu při kontrole *Monilinia fruticosa* na jahodách (Fontana 2021).

3.4.7.5 Esenciální oleje hřebíčku (*Eugenia caryophyllus*)

Hřebíček je bohatý na fytochemikálie, jako jsou seskviterpeny, monoterpeny, hydrokarbony a fenolické sloučeniny. Carvacrol, eugenol, tymol a kumarin jsou hlavními účinnými látkami. Variabilita obsahu a složení esenciálního oleje závisí na způsobu zpracování,

odrůdě a agroekologických podmínkách. Hřebíček má poměrně nízkou toxicitu pro člověka, využívá se i orální podání pro medicínské účely. Prokázány jsou například hepatoprotektivní účinky při poškození jater po otravě paracetamolem. Světová zdravotnická organizace (WHO) určila bezpečnou denní dávku hřebíčku pro člověka na 2,5 mg/kg tělesné hmotnosti. Ačkoli jde o látku poměrně bezpečnou, je potřeba brát v potaz individuální rozdíly, jako jsou alergie (Batiha et al. 2020).

Da Costa et al. (2020) uvádějí, že rody *Eugenia* a *Syzygium* mají ekonomický a léčivý význam a farmakologické vlastnosti. Oleje vykazují mnoho biologických aktivit, zejména antimikrobiální, anticholinesterázové (pozn. stejný mechanismus účinku jako syntetické nematocidy), antiprotozoální či akaricidní účinek. Autoři se zaměřují zejména na použití v humánní medicíně, avšak účinnost proti jmenovaným organismům může mít využití i v zemědělství.

EO z hřebíčku může inhibovat nebo zpomalit růst *Botrytis cinerea* (Fontana et al. 2021). Amiri et al. (2008) uvádí účinnost esenciálního oleje z hřebíčku v boji proti patogenům způsobujícím poškození plodů po sklizni (*B. cinerea*, *M. fructigena*, *P. expansum* a *P. vagabunda*), což naznačuje jeho potenciál v boji proti hnilobě plodů jablek.

3.4.7.6 Esenciální oleje oregana (*Origanum majorana*)

Origanum majorana je léčivá a aromatická rostlina z čeledi *Lamiaceae*. Pěstuje se v různých částech světa, zejména pro využití v kulinářství a parfumerii. Esenciální olej této rostliny obsahuje mnoho sekundárních metabolitů s biologickou aktivitou, např. monoterpeny a seskviterpeny, jejichž složení se mění v závislosti na environmentálních faktorech a podmínkách rostliny. Terpinen-4-ol, karvakrol a thymol jsou často zmiňovány jako významné složky. Esenciální olej *Origanum majorana* může být alternativním prostředkem pro kontrolu škůdců (Kakouri 2022)

3.4.7.7 Esenciální oleje rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*)

Rozmarýn lékařský (*Rosmarinus officinalis*) je aromatická a léčivá rostlina patřící do čeledi *Lamiaceae*, známá pro své výrazné využití v kulinářství, medicíně a jako dekorativní rostlina. Je to stálezelený keř, který je původní ve Středomoří a oblíbený pro svou odolnost vůči suchu, což ho činí ideálním pro teplé a slunné klima. Olej získaný z této rostliny obsahuje složky jako jsou kamfen, cineol, verbenon, borneol a α -pinen. Rozmarýnový olej byl zkoumán také pro svou možnost působit jako nematocid. Studie ukázaly, že má určité omezující efekty na nematody, výsledky však nejsou jednoznačné a naznačují, že další výzkum je nutný k potvrzení jeho efektivity a bezpečnosti při použití v zemědělství. Jeden z prokázaných mechanismů účinku je ovlivnění růstu růstových parametrů rostlin, čímž se snížil počet míst vhodných pro pronikání parazitů. Indukoval tak zvýšenou rezistenci rostlin, v daném výzkumu konkrétně sóji (Mattei et al. 2013).

4 Metodika

Jako modelové háďátko pro pokusy s esenciálními oleji bylo zvoleno háďátko *Ditylenchus dipsaci*, které má široký hostitelský okruh a z ovocných plodin škodí například na jahodníku. Životní cyklus na jahodníku je dlouhodobější a také pěstování jahodníku náročnější, proto byla jako modelová rostlina zvolena čekanka. Háďátka, která napadla rostliny česneku, byla oddělena z těchto rostlin pomocí Baermannovy nálevky. Pro tuto extrakci byly části česneku, které byly napadeny háďátkem, nakrájeny na menší kousky a zabaleny do papírového ubrousku. Tyto balíčky byly umístěny do nálevky, která byla vybavena gumovou hadičkou, uzavřenou na konci tlačkou. Nálevka byla poté naplněna vodou a přenechána k máčení po dobu 24 hodin. Během tohoto procesu se háďátka postupně uvolňovala z pletiv česneku a usazovala se na dně uzavřené gumové hadičky. Následující den byla část vody s usazenými háďátkem vypuštěna do kádinky, díky čemuž bylo možné háďátka později analyzovat v pilotním a in vitro testu.

4.1 Pilotní test

Cílem pilotního testu bylo otestování 15 EO a jejich účinek na háďátka *Ditylenchus dipsaci*, a to každá varianta esenciálního oleje po 6 opakováních. Součástí byla kontrola, ve které abstentovala přítomnost esenciálního oleje.

Postup:

Proces vyplavení háďátek z rostlinného materiálu zahrnoval rozkrojení materiálu, umístění na jednovrstevný papírový kapesníček a následné vložení do Baermannovy nálevky. Po 24 hodinách byla suspenze háďátek, která se sedimentovala dole, odpuškována a množství háďátek bylo postupně spočítáno v 10 μ . Cílem bylo pro analýzu získat přibližně 10 háďátek, což vyšlo na 30 μ suspenze.

Pro přípravu emulze esenciálního oleje bylo EO smícháno s dimethylsulfoxidem v poměru 1:1 a následně promícháno s destilovanou vodou tak, aby výsledná koncentrace dosáhla 1 %. Tato emulze byla dále smíchána na třepačce a aplikována do jedné z jamek kultivační destičky Orange Scientific Tissue Culture or Plates v množství 1 ml, obsahující 970 μ (950 μ destilované vody + 20 μ EO s dimethyl sulfoxide - DMSO) a 30 μ suspenze háďátek. Kultivační destičky byly poté zalepeny páskou. Kultivační destičky byly umístěny na třepačku s rychlostí otáčení 250 rpm.

Vyhodnocení emulze bylo provedeno po 24 a 48 hodinách, při kterém byla opatrně odlepena páska a obsah byl prohlížen pod stereomikroskopem (Olympus SZ7) a byl spočítán celkový počet háďátek, mrtvých a živých kusů. Všechna data byla zaznamenána do tabulky pro budoucí statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí softwaru Statistica 14.0 od společnosti StatSoft

Použité EO a využití zkratky

- *Litsea cubeba* **LC**
- *Thymus vulgaris* **TV**
- *Mentha spicata* **MS**

- *Cymbopogon winterianus* **CW**
- *Pimpinella anisum* **PA**
- *Foeniculum vulgare* **FV**
- *Pelargonium graveolens* **PG**
- *Eugenia caryophyllus* **HŘ**
- *Eucalyptus citriodora* **EC**
- *Lavandula angustifolia* **LA**
- *Origanum majorana* **OM**
- *Salvia officinalis* **SO**
- *Rosmarinus officinalis* **RO**
- *Ocimum basilicum* **OB**
- *Cinnamomum cassia* **SK**

4.2 In vitro – konkrétní esenciální oleje

Na základě vyhodnocení pilotního testu bylo vybráno 6 nejúčinnějších EO, které byly analyzovány ve čtyřech možných koncentracích, a to po šesti opakováních. Opět proběhla kontrola ke každé koncentraci, která neobsahovala žádnou účinnou látku (jen DMSO).

Postup:

Postup in vitro testu odpovídal postupu v testu pilotním. Rozdílem bylo namíchání jednotlivých koncentrací, aby se ověřila účinnost EO i při nižších koncentracích.

Koncentrace:

0,75 % → 12,5 μ DMS se suspenzí hád'átek + 7,5 μ EO

0,05 % → 15 μ DMS se suspenzí hád'átek + 5 μ EO

0,025 % → 17,5 μ DMS se suspenzí hád'átek + 2,5 μ EO

0,01 % → 19 μ DMS se suspenzí hád'átek + 1 μ EO

Použité EO a využití zkratky:

- *Cinnamomum cassia* **SK**
- *Ocimum basilicum* **OB**
- *Foeniculum vulgare* **FV**
- *Thymus vulgaris* **TV**
- *Pimpinella anisum* **PA**
- *Eugenia caryophyllus* **HŘ**

Vyhodnocení:

Vyhodnocení emulze bylo stejně jako v pilotním testu provedeno po 24 a 48 hodinách, při kterém byly vzorky prohlíženy pod binokulárním mikroskopem a byl spočítán celkový počet háďátek, mrtvých a živých kusů. Všechna data byla zaznamenána do tabulky pro budoucí statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí softwaru Statistica 14.0 od společnosti StatSoft.

4.3 Květináčové testy

Příprava:

Esenciální oleje byly připraveny metodou enkapsulace do biopolymeru dle patentovaného postupu na katedře ochrany rostlin (patent č. 308 145).

Použité chemikálie:

- Želatina tested according to Ph. Eur. (Sigma)
- Chitosan low molecular weight (Sigma)
- Glycerol bezvodný
- D-Sorbitol ≥ 98 % (Sigma)
- TWEEN®80 viscous liquid (Sigma)
- Sodium tripolyphosphate technical grade 85 % (zkr. TPP) (Sigma)
- *Cinnamomum cassia* – Skořice, původ: Čína; Salus, Míča a Harašta s.r.o.
- *Ocimum basilicum* – Bazalka, původ: Komorské ostrovy; Salus, Míča a Harašta s.r.o.
- *Foeniculum vulgare* – Fenykl, původ: Maďarsko; Salus, Míča a Harašta s.r.o.
- *Thymus vulgaris* – Tymián červený, původ: Španělsko; Salus, Míča a Harašta s.r.o.
- *Pimpinella anisum* – Anýz, původ: Čína; Salus, Míča a Harašta s.r.o.
- *Eugenia caryophyllus* – Hřebíček, původ: Indonésie; Salus, Míča a Harašta s.r.o.
- Destilovaná voda

Biopolymer:

- Rozpustit 8 g želatiny ve 200 ml destilované vody za stálého míchání při teplotě 45 °C.
- Rozpustit 2 g chitosanu ve 60 ml 0,15 M kyselině octové za stálého míchání při teplotě 45 °C.
- Smíchat rozpuštěnou želatinu a chitosan za stálého míchání při teplotě 45 °C.
- Přidat 0,15 ml glycerolu na 1 g želatiny.
- Vmíchat 0,15 g sorbitolu na 1 g želatiny.
- Důkladně promíchat vše při teplotě 45 °C.

Postup formulace:

- Do 100 ml kádinky nalít 15 ml 10% esenciálního oleje v řepkovém oleji.
- TWEEN přepipetovat ve množství 300 µl.
- Emulzi vytvořit pomocí YELLOW^{LINE} DI 25 basic (IKA) při 19500 rpm.
- Biopolymer připipetovat ve množství 20 ml.
- Emulze emulzifikovat při 19500 rpm po dobu 3 minut.
- Do 250 ml kádinky připravit 114,7 ml 0,5% roztoku TPP pH5.
- Obsah 100 ml kádinky pomalu vlévat do TPP.
- Během lití emulzi emulzifikovat při 19500 rpm a následně ještě 3 minuty.
- Výsledná koncentrace esenciálního oleje činí 1 %.

Postup:

Emulze esenciálního oleje byla smíchána s perlitem jakožto sorbentem a následně se sterilním substrátem. Sterilizace substrátu byla provedena pomocí autoklávu po dobu 20 minut při teplotě 120 °C v autoklávu Sanyo MLS 3780. Poměr esence k perlitu byl 8,6 ml na 60 ml a k substrátu 3,5 litru. Zasazeno bylo 6 rostlin ze sadby a 6 rostlin z osiva, a to v 6 variantách s nejefektivnějšími EO z pilotního a in vitro pokusu, přičemž dalších 12 rostlin (6 sadba, 6 osivo) bylo bez přidaného EO, a to jako kontrola.

Experiment začal 18. ledna 2022 a trval čtyři týdny, během nichž byly rostliny zakryty folií a okolí udržováno vlhké pomocí zvlhčovače vzduchu. Dne 14. února 2022 byla folie odstraněna spolu se zvlhčovačem. Vyhodnocení pokusu proběhlo dne 14. března 2022 po uplynutí osmi týdnů od zahájení experimentu.

Vyhodnocení:

Analýza tohoto experimentu začala osm týdnů po zahájení, konkrétně ve dnech 14.-19.3.2022. Rostliny byly nejprve rozloženy na jednotlivé listy, které byly dále uspořádány od nejstaršího po nejmladší. Každý list byl pak označen číslem a podrobně podrobnému popisu, který zahrnoval míru zčervenání žilek a zkadeření viz Obrázky č. 5 a 6 - stupnice zčervenání a zkadeření. Následně byl každý list vyfotografován společně s měřítkem, květinou a konkrétní variantou esence. Dalším krokem bylo zvážení každého listu a jeho následné rozkrojení na úzké proužky. Tyto proužky byly poté umístěny na čtvercovou filtrační látku a vloženy do falkonky, která byla naplněna vodou. Každá falkonka byla označena číslem odpovídajícím rostlině, listu a variantě. Hád'átka byla ponechána vyplavat ze vzorků po dobu 24 hodin a následně byly vzorky vyjmuty. Vodný roztok s hád'átky byl podroben pozorování pod stereomikroskopem a počet hád'átek na jednom listu byl spočítán pomocí dělené Petriho misky. Všechna data byla zaznamenána do tabulky. Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí softwaru Statistica 14.0 od společnosti StatSoft.

Stupnice zčervenání žilek



- Stupeň 1: List bez známek zčervenání
- Stupeň 2: Drobné začervenání na bázi listu
- Stupeň 3: Zčervenání hlavní žilky listu
- Stupeň 4: Zčervenání postoupilo do vedlejších žilek listu
- Stupeň 5: Zčervenání všech žilek na listu

Obrázek 5: Stupnice zčervenání použítá při hodnocení vzorků (Maňasová, unpublished, 2022).

Stupnice kadeření listů

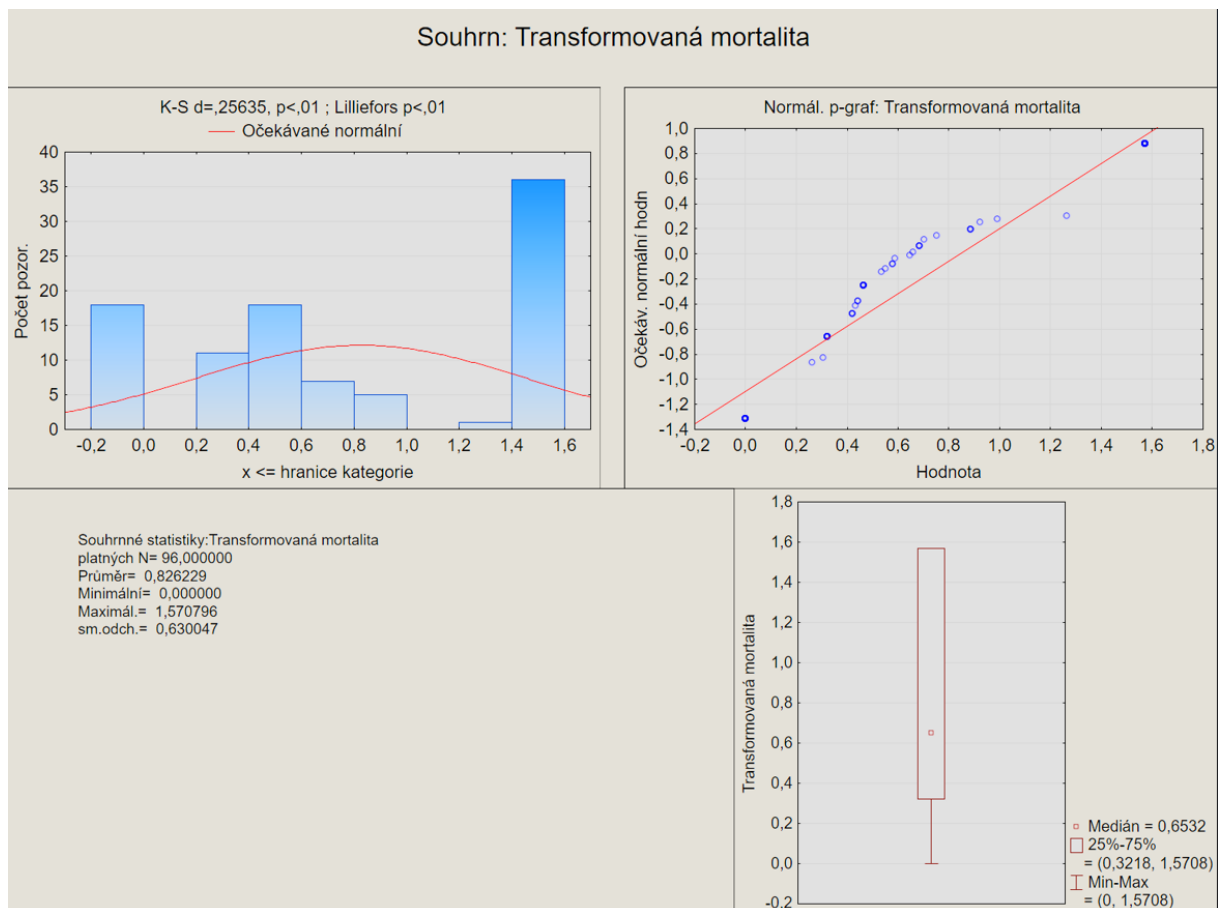


- Stupeň 1: Bez známek zkadeření
- Stupeň 2: Drobné zkadeření
- Stupeň 3: Zkadeření na polovině a více listu
- Stupeň 4: Zkadeření na celém listu

Obrázek 6: Stupnice zkadeření použítá při hodnocení vzorků (Maňasová, unpublished, 2022).

5 Výsledky

5.1 Pilotní test



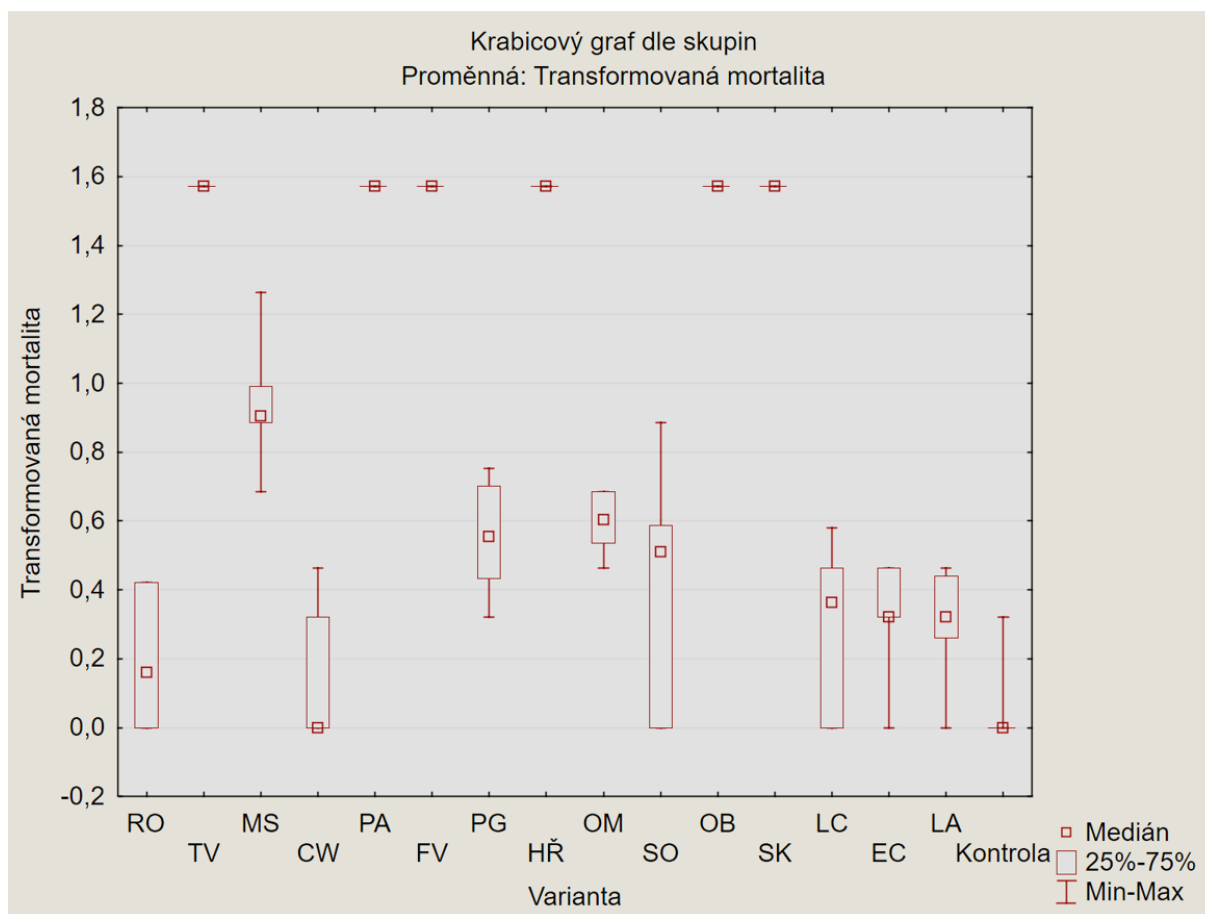
Obrázek 7: Normalita rozložení: Transformovaná mortalita háďátek po 24 hodinách.

Na obrázku č. 7 lze sledovat, že data nejsou normálně rozložena dle Gaussovy křivky. Proto bylo nutné použít neparametrické testy, konkrétně Kruskal-Wallisův test, viz obrázek č. 8.

Vicenasobné porovnání p hodnot (oboustr.): Transformovaná mortalita (Pilotní pokus v Podklady_tabulky_hadatka_16_4_ke_statistice)
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta
Kruskal-Wallisův test: H (15, N= 96) =85,77167 p =,0000

Závislá: Transformovaná mortalita	RO	TV	MS	CW	PA	FV	PG	HŘ	OM	SO	OB	SK	LC	EC	LA	Kontrola
	R:19,250	R:78,500	R:56,667	R:17,000	R:78,500	R:78,500	R:42,000	R:78,500	R:46,167	R:33,667	R:78,500	R:78,500	R:25,750	R:27,083	R:25,333	R:12,083
RO		0,027554	1,000000	1,000000	0,027554	0,027554	1,000000	0,027554	1,000000	1,000000	0,027554	0,027554	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
TV	0,027554		1,000000	1,000000	0,015764	1,000000	1,000000	1,000000	0,637196	1,000000	1,000000	0,124641	0,166676	0,113670	0,004361	0,668437
MS	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
CW	1,000000	0,015764	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,015764	0,015764	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
PA	0,027554	1,000000	1,000000	0,015764		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,637196	1,000000	1,000000	0,124641	0,166676	0,113670	0,004361
FV	0,027554	1,000000	1,000000	0,015764	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,637196	1,000000	1,000000	0,124641	0,166676	0,113670	0,004361
PG	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
HŘ	0,027554	1,000000	1,000000	0,015764	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,124641	0,166676	0,113670	0,004361
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	1,000000	1,000000	1,000000
SO	1,000000	0,637196	1,000000	1,000000	0,637196	0,637196	1,000000	0,637196	1,000000		1,000000	0,637196	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
OB	0,027554	1,000000	1,000000	0,015764	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,637196	1,000000		1,000000	0,124641	0,166676	0,113670	0,004361
SK	0,027554	1,000000	1,000000	0,015764	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,637196	1,000000	1,000000		0,124641	0,166676	0,113670	0,004361
LC	1,000000	0,124641	1,000000	1,000000	0,124641	0,124641	1,000000	1,000000	0,637196	1,000000	1,000000	0,124641		1,000000	1,000000	1,000000
EC	1,000000	0,166676	1,000000	1,000000	0,166676	0,166676	1,000000	1,000000	0,637196	1,000000	1,000000	0,166676	1,000000		1,000000	1,000000
LA	1,000000	0,113670	1,000000	1,000000	0,113670	0,113670	1,000000	0,113670	1,000000	1,000000	1,000000	0,113670	0,113670	1,000000		1,000000

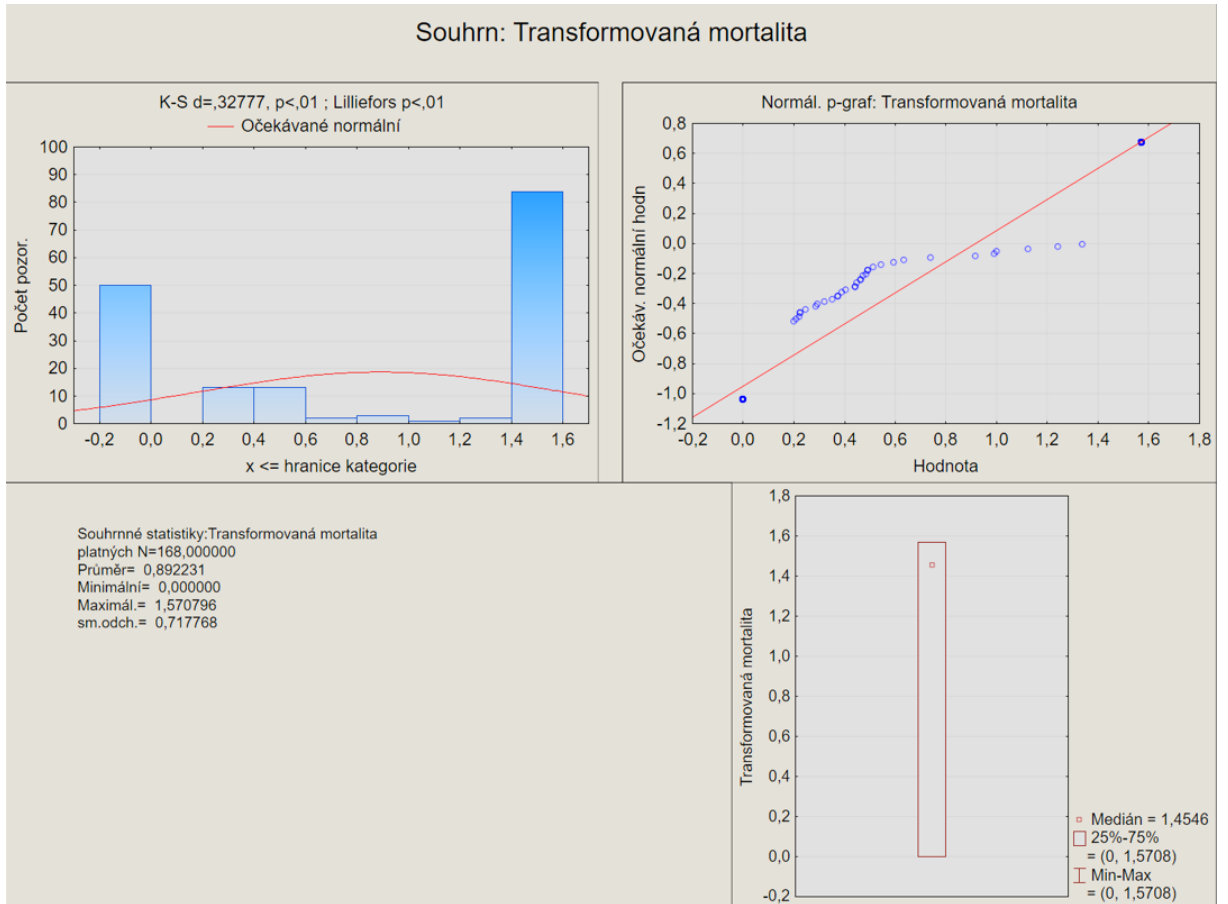
Obrázek 8: Kruskal-Wallisův test: Transformovaná mortalita háďátek po 24 hodinách.



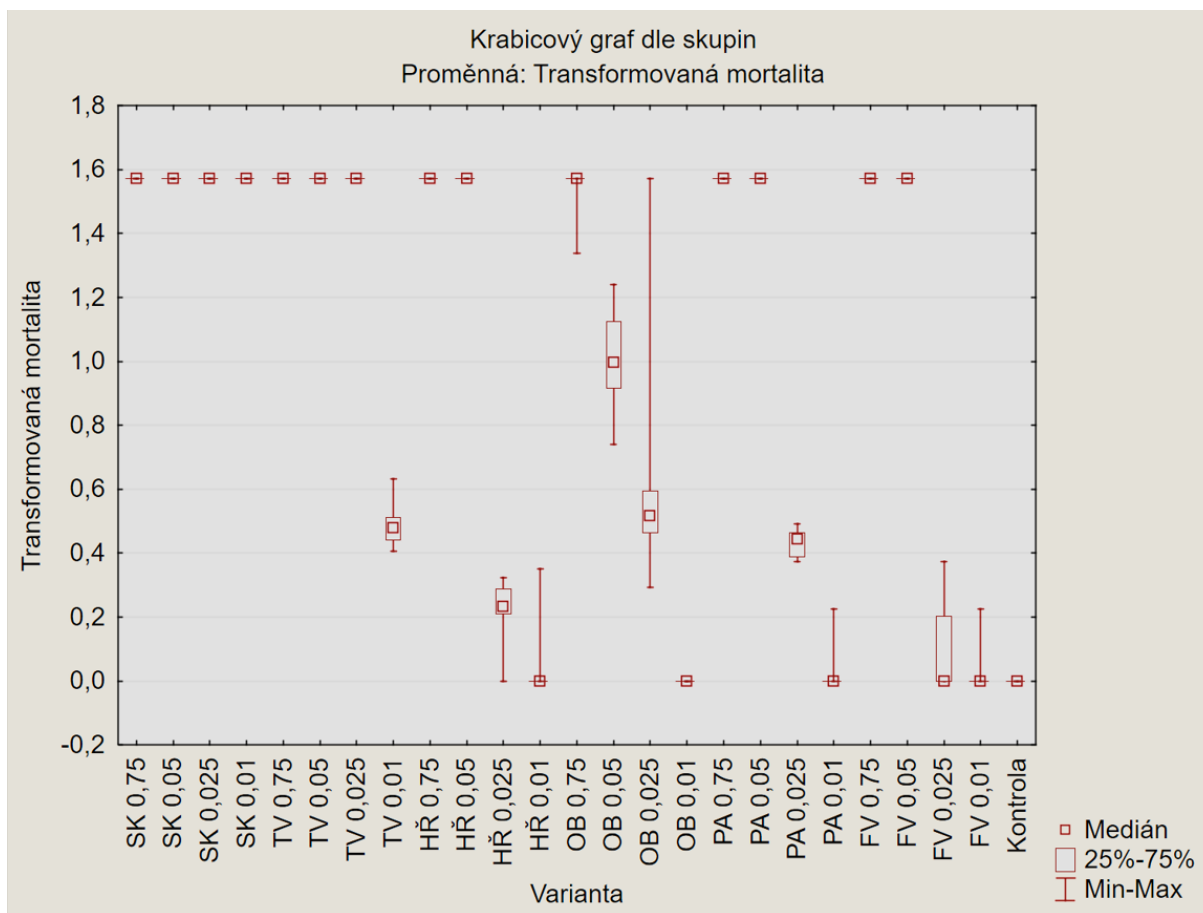
Obrázek 9: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Transformovaná mortalita hádčátek po 24 hodinách.

Z obrázků č. 8 lze sledovat statisticky významné odchylky od kontrolního vzorku, a to konkrétně u esenciálních olejů - *Cinnamomum cassia* (**SK**), *Ocimum basilicum* (**OB**), *Foeniculum vulgare* (**FV**), *Thymus vulgaris* (**TV**), *Pimpinella anisum* (**PA**), *Eugenia caryophyllus* (**HŘ**), u kterých je i z obrázku č. 9 zřejmé, že dosáhly nejlepších výsledků. Z obrázku č. 3 je patrné, že trend účinku se vyskytuje u *Mentha spicata* (**MS**). Pozorování proběhlo i po 48 hodinách a nedošlo ke změně, proto již data nebyla dále hodnocena.

5.2 In vitro



Obrázek 10: Normalita rozložení: Transformovaná mortalita háďátek po 24 hodinách.

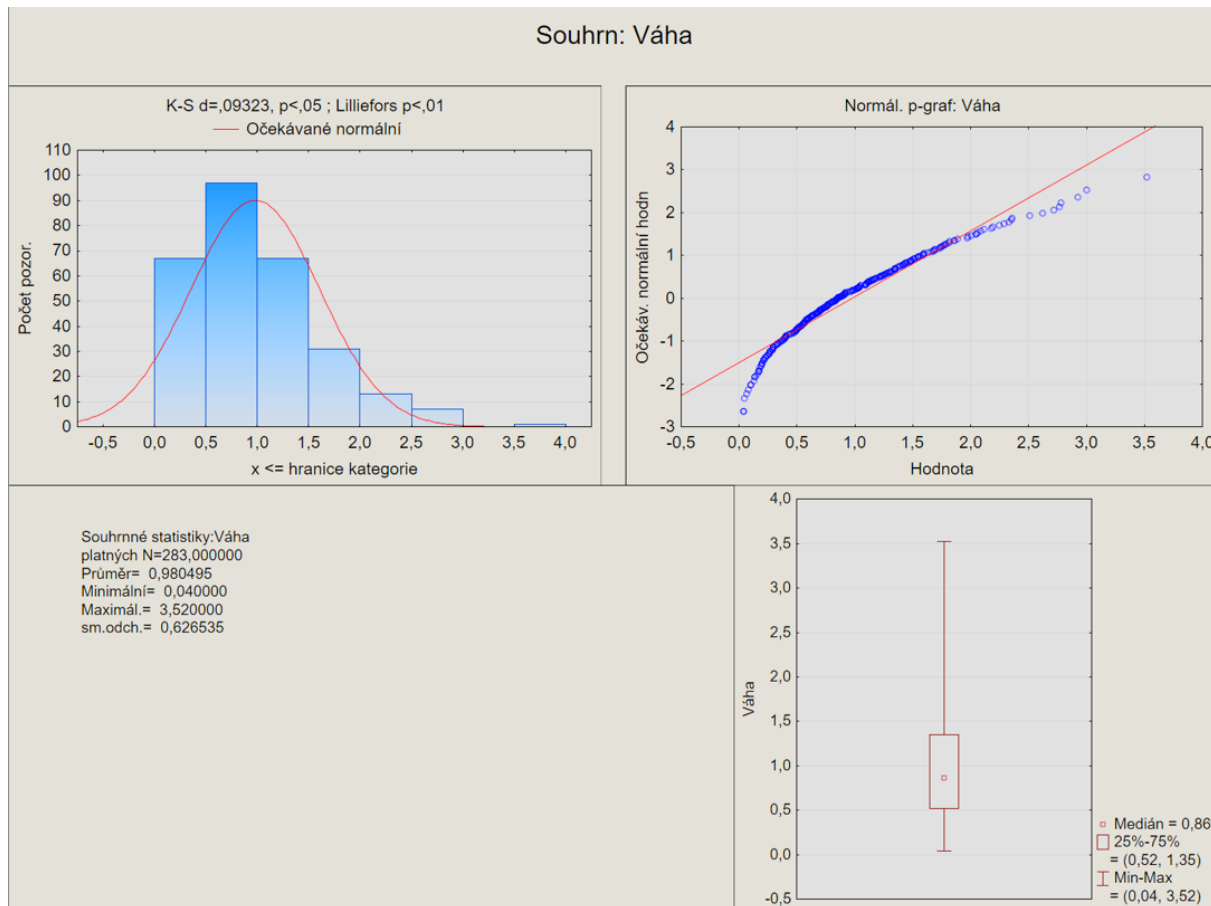


Obrázek 11: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Transformovaná mortalita hád'átek po 24 hodinách.

Transformovaná mortalita in vitro testu byla nejprve statisticky testována na normalitu rozložení, přičemž data normálnímu rozložení dle Gaussovy křivky neodpovídala, viz obrázek č. 10, proto bylo zvoleno neparametrické testování, konkrétně Kruskal-Wallisův test. Bylo zjištěno, že jedinou látkou, která byla v tomto testu 100% účinná ve všech koncentracích je *Cinnamomum cassia* (**SK**). Druhou nejúčinnější látkou se ukázalo *Thymus vulgaris* (**TV**), které bylo zcela účinné v koncentracích 0,75 %; 0,05 %; 0,025 %, ovšem v koncentraci 0,01 % nečiní statisticky významný rozdíl vůči kontrole. Statisticky výrazné rozdíly lze sledovat u *Eugenia caryophyllus* (**HR**), *Pimpinella anisum* (**PA**), *Foeniculum vulgare* (**FV**) v koncentracích 0,75 % a 0,05 %. *Ocimum basilicum* (**OB**) se statisticky liší pouze v koncentraci 0,75 % a z obrázku č.8 lze sledovat trend klesající účinnosti této látky. Pozorování proběhlo i po 48 hodinách a nedošlo ke změně, proto již data nebyla dále hodnocena.

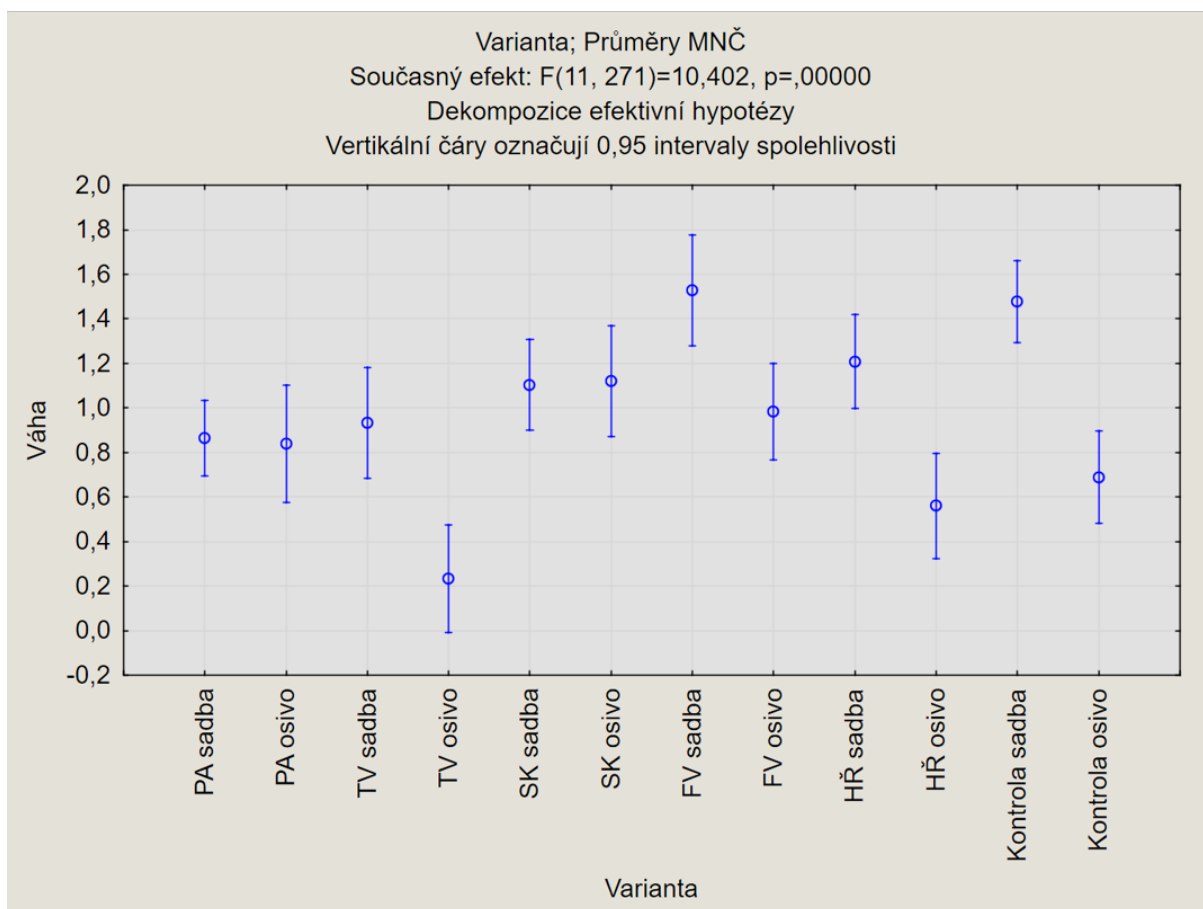
5.3 Květináčové testy

5.3.1 Váha listů



Obrázek 12: Normalita rozložení dat: Váha listů.

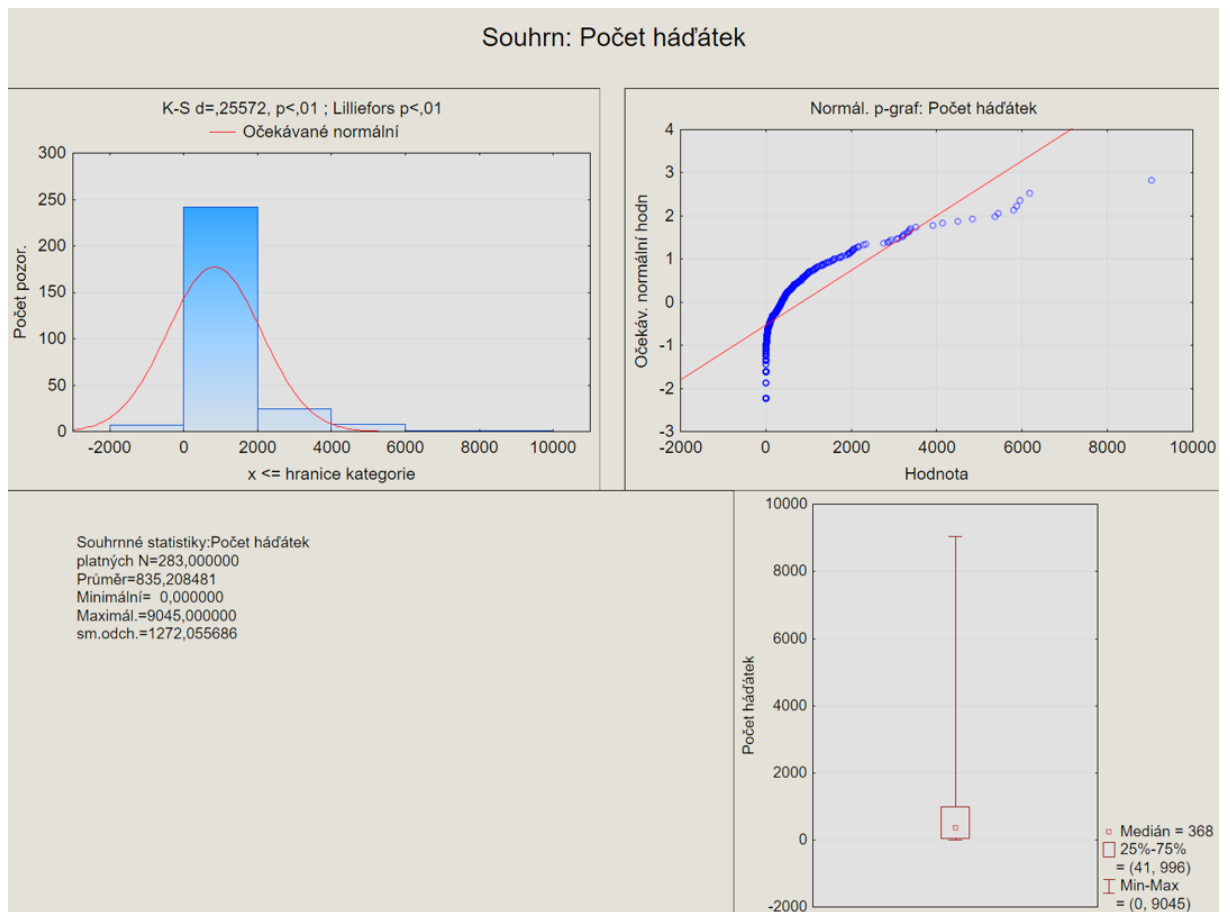
Na obrázku č. 12 je znázorněno testování normality rozložení dat, které odpovídá normálnímu rozložení dle Gaussovy křivky. Poté bylo možné zvolit jednofaktorový ANOVA test pro zjištění statisticky významných odchylek.



Obrázek 13: Grafické znázornění jednofaktorový ANOVA test: Váha listů.

Z obrázku č. 13 je patrné, že se lišila váha rostlin ze sadby a z osiva, což potvrzuje kontrolní vzorek, až na vzorky *Cinnamomum cassia* (SK) platí, že mají listy ze sadby vyšší váhu. Oproti kontrolnímu vzorku lze pozorovat výraznou odchylku u váhy listů vzorku *Thymus vulgaris* (TV) z osiva, kde byla váha výrazně nižší. Naopak vzorek *Foeniculum vulgare* (FV) ze sadby má vyšší průměr váhy rostlin než kontrolní vzorek. Ze sadbových vzorků lze sledovat optické odchylky u vzorků *Pimpinella anisum* (PA) a *Thymus vulgaris* (TV), které jsou svými průměry nižší než kontrolní vzorek.

5.3.2 Počet háďátek v listech

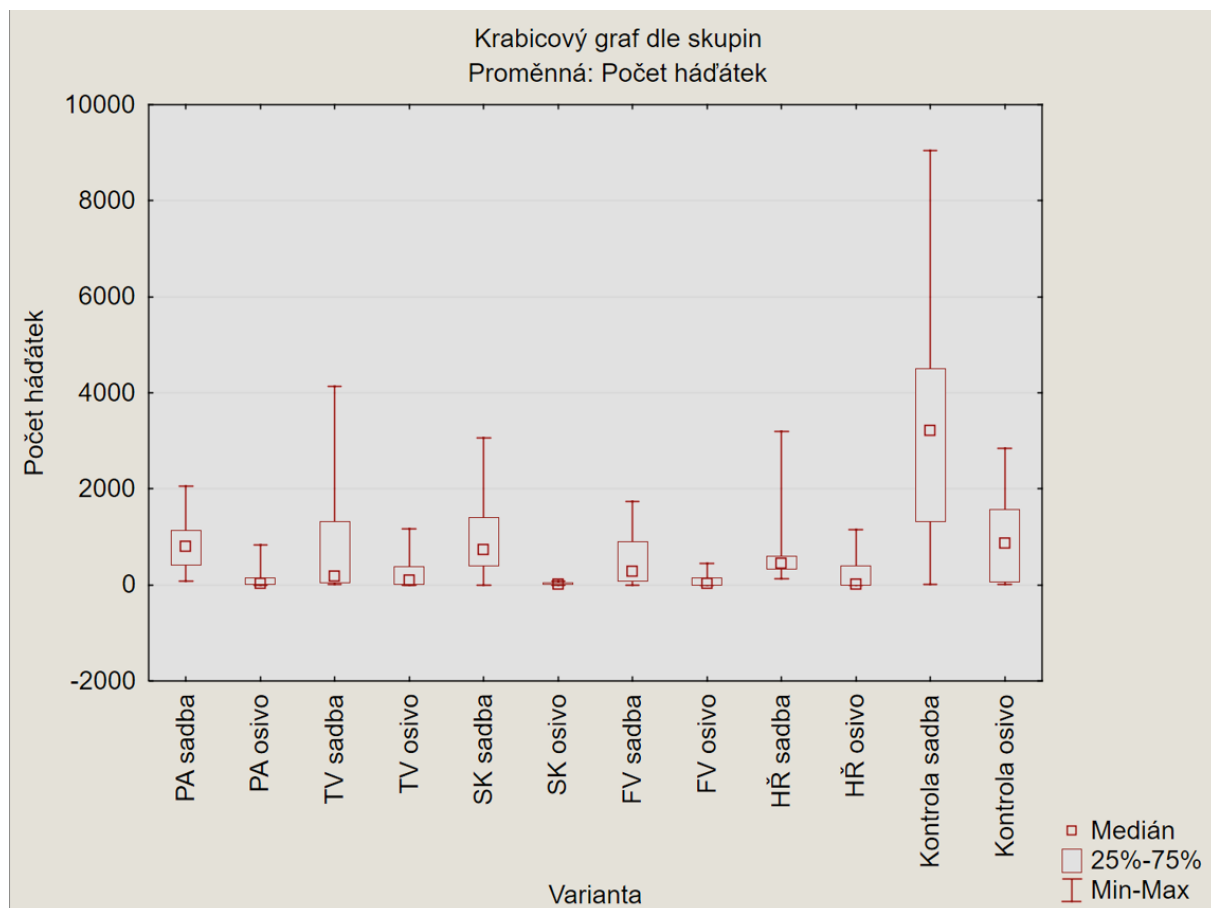


Obrázek 14: Normalita rozložení dat: Počet háďátek v listech.

Vicenasobné porovnání p hodnot (oboustr.): Počet háďátek (In vivo květináčově v Podklady_tabulky_hadatka_16_4_ke statistice)
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta
Kruskal-Wallisův test: H (11, N= 283) =131,9254 p =0,000

Závislá: Počet háďátek	PA sadba R:184,85	PA osivo R:77,563	TV sadba R:148,94	TV osivo R:99,368	SK sadba R:184,87	SK osivo R:49,722	FV sadba R:129,33	FV osivo R:71,896	HŘ sadba R:158,52	HŘ osivo R:69,325	Kontrola sadba R:231,08	Kontrola osivo R:163,54
PA sadba		0,000665	1,000000	0,012476	1,000000	0,000000	1,000000	0,000007	1,000000	0,000019	1,000000	1,000000
PA osivo	0,000665		0,734694	1,000000	0,002137	1,000000	1,000000	1,000000	0,132183	1,000000	0,000000	0,062403
TV sadba	1,000000	0,734694		1,000000	1,000000	0,018190	1,000000	0,167164	1,000000	0,181461	0,040583	1,000000
TV osivo	0,012476	1,000000	1,000000		0,032006	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000002	0,618995
SK sadba	1,000000	0,002137	1,000000	0,032006		0,000004	1,000000	0,000057	1,000000	0,000113	1,000000	1,000000
SK osivo	0,000000	1,000000	0,018190	1,000000	0,000004		0,232268	1,000000	0,001124	1,000000	0,000000	0,000379
FV sadba	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,232268		1,000000	1,000000	1,000000	0,001457	1,000000
FV osivo	0,000007	1,000000	0,167164	1,000000	0,000057	1,000000	1,000000		0,014015	1,000000	0,000000	0,005033
HŘ sadba	1,000000	0,132183	1,000000	1,000000	1,000000	0,001124	1,000000	0,014015		0,018494	0,054568	1,000000
HŘ osivo	0,000019	1,000000	0,181461	1,000000	0,000113	1,000000	1,000000	1,000000	0,018494		0,000000	0,007167
Kontrola sadba	1,000000	0,000000	0,040583	0,000002	1,000000	0,000000	0,001457	0,000000	0,054568	0,000000		0,108863
Kontrola osivo	1,000000	0,062403	1,000000	0,618995	1,000000	0,000379	1,000000	0,005033	1,000000	0,007167	0,108863	

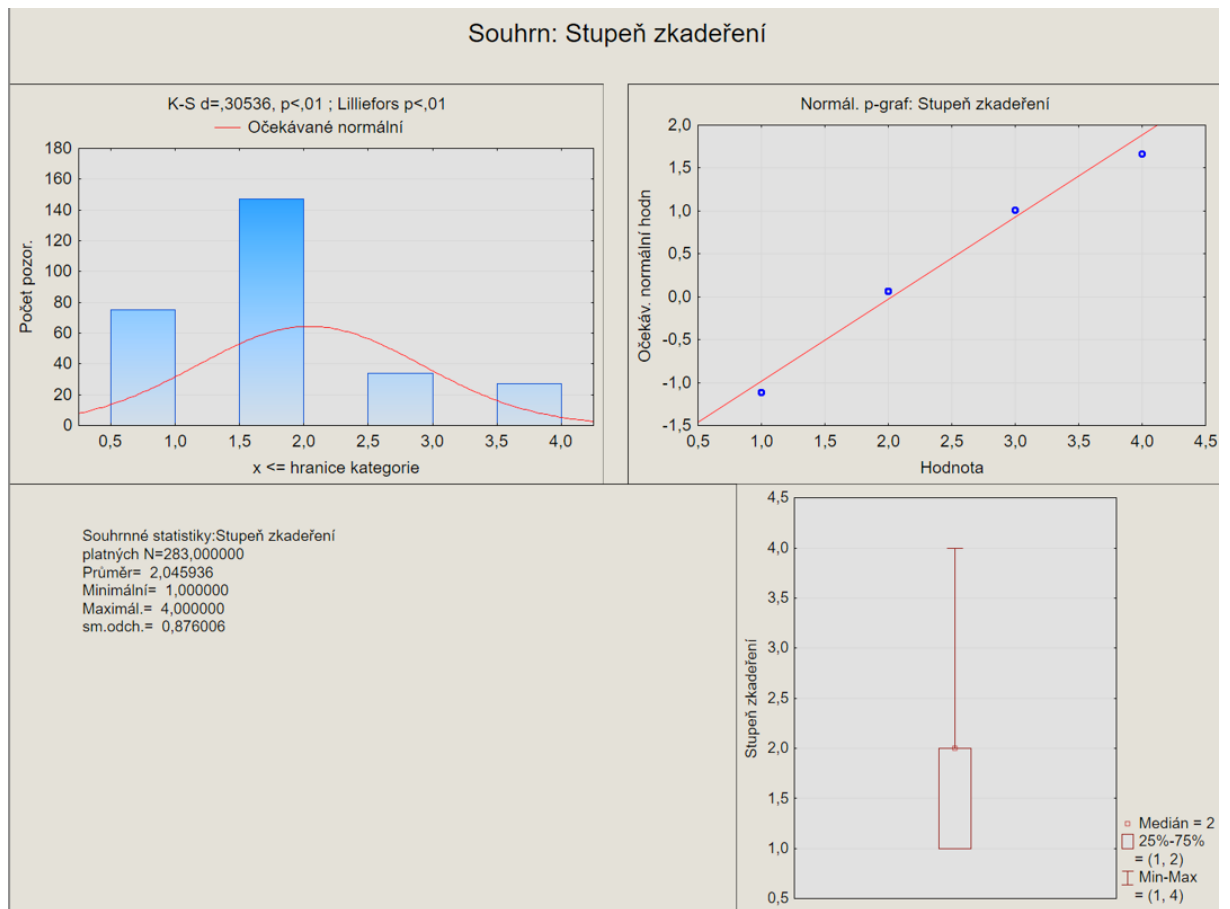
Obrázek 15: Kruskal-Wallisův test: Počet háďátek v listech.



Obrázek 16: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Počet háďátek.

Na obrázku č. 15 lze sledovat statisticky významné odchylky od kontroly. Ve všech případech sledovaných vzorků je zřejmý rozdíl v počtu háďátek na listech mezi listy rostlin ze sadby a z osiva, přičemž rostliny ze sadby čítaly vyšší počty háďátek. Statisticky významný rozdíl je dle obrázku č. 16 zřejmý u vzorků osiva *Eugenia caryophyllus* (**HŘ**), *Foeniculum vulgare* (**FV**) a *Cinnamomum cassia* (**SK**), kde byly počty háďátek nižší oproti kontrolnímu vzorku. Statisticky významné odchylky jsou také u vzorků sadby *Thymus vulgaris* (**TV**) a *Foeniculum vulgare* (**FV**), které čítají také nižší počty háďátek vůči kontrole.

5.3.3 Stupeň zkadeření listů

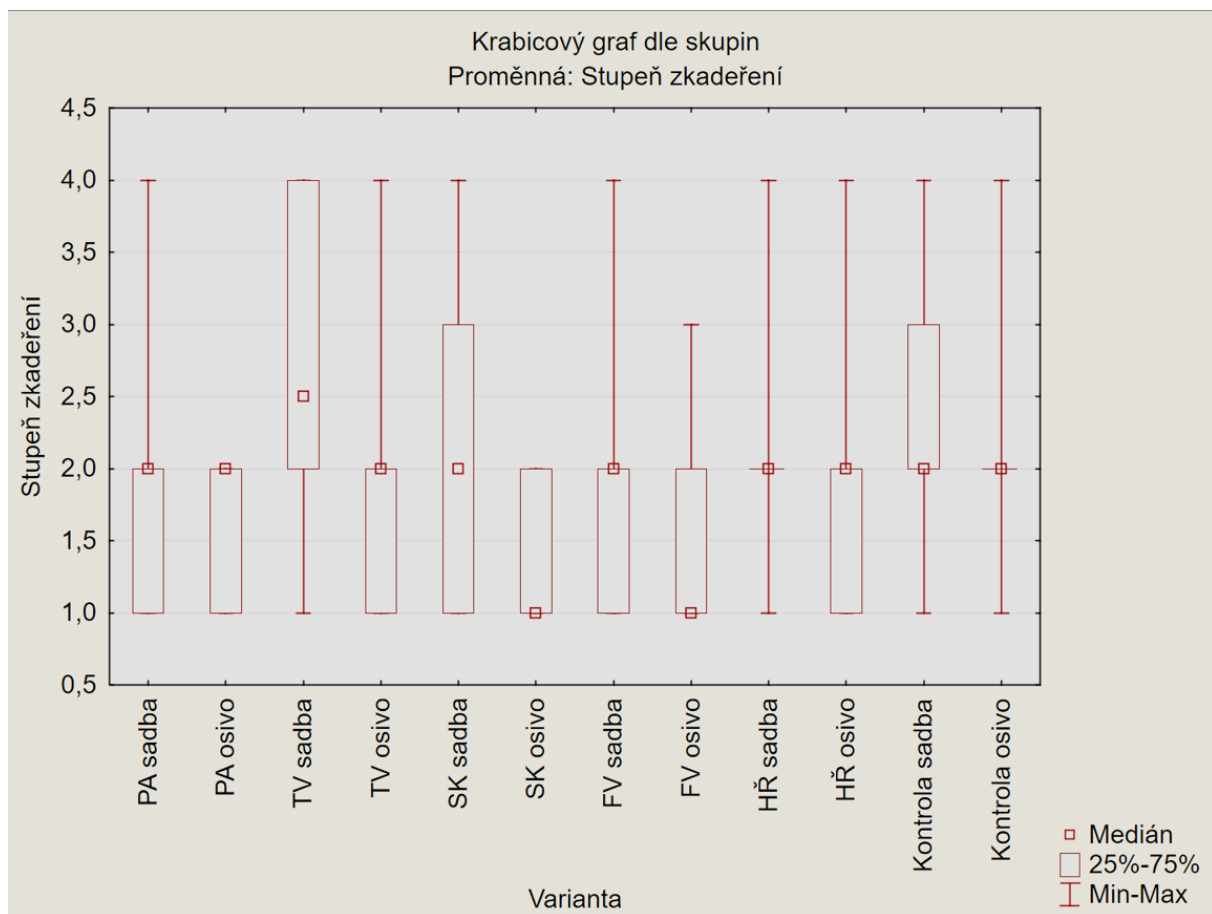


Obrázek 17: Normalita rozložení dat: Stupeň zkadeření.

Vicenásobné porovnání p hodnot (oboustr.): Stupeň zkadeření (In vivo květináčové v Podklady_tabulky_hadatka_16_4_ke statistice)
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta
Kruskal-Wallisův test: H (11, N= 283) =59,59925 p = 0,000

Závislá: Stupeň zkadeření	PA sadba R:131,64	PA osivo R:114,31	TV sadba R:196,56	TV osivo R:115,00	SK sadba R:159,39	SK osivo R:75,000	FV sadba R:143,36	FV osivo R:95,563	HR sadba R:156,62	HR osivo R:121,75	Kontrola sadba R:192,29	Kontrola osivo R:164,48
PA sadba	1,000000	0,354780	1,000000	1,000000	0,999692	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,114174	1,000000
PA osivo	1,000000	1,000000	0,227497	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,116308	1,000000
TV sadba	0,354780	0,227497	1,000000	0,161550	1,000000	0,000551	1,000000	0,004994	1,000000	0,323536	1,000000	1,000000
TV osivo	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,068682	1,000000
SK sadba	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,046345	1,000000	0,358796	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
SK osivo	0,999692	1,000000	0,000551	1,000000	0,046345	0,806061	1,000000	0,082761	1,000000	0,000066	0,023936	1,000000
FV sadba	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,806061	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
FV osivo	1,000000	1,000000	0,004994	1,000000	0,358796	1,000000	1,000000	1,000000	0,596379	1,000000	0,000696	0,193403
HR sadba	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,082761	1,000000	0,596379	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
HR osivo	1,000000	1,000000	0,323536	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,155341	1,000000
Kontrola sadba	0,114174	0,116308	1,000000	0,068682	1,000000	0,000066	1,000000	0,000696	1,000000	0,155341	1,000000	1,000000
Kontrola osivo	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,023936	1,000000	0,193403	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000

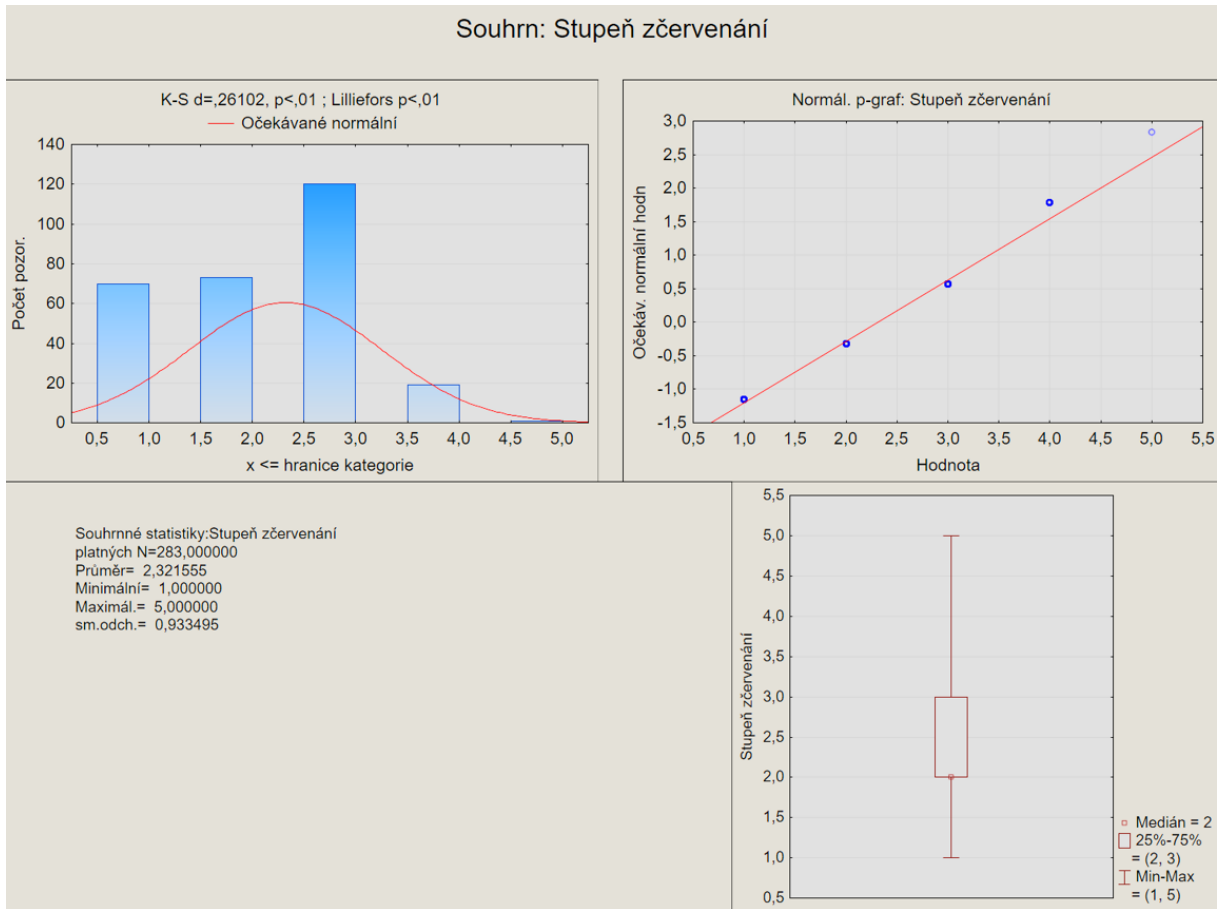
Obrázek 18: Kruskal-Wallisův test: Stupeň zkadeření listů.



Obrázek 19: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Stupeň zkadeření listů.

Z obrázků č. 18 a 19 je zřejmé, že nejvýraznější odchylkou od kontrolního vzorku je vzorek *Cinnamomum cassia* (**SK**) z osiva, který měl výrazně nejnižší hodnotu zkadeření.

5.3.4 Stupeň zčervenání žilek listů

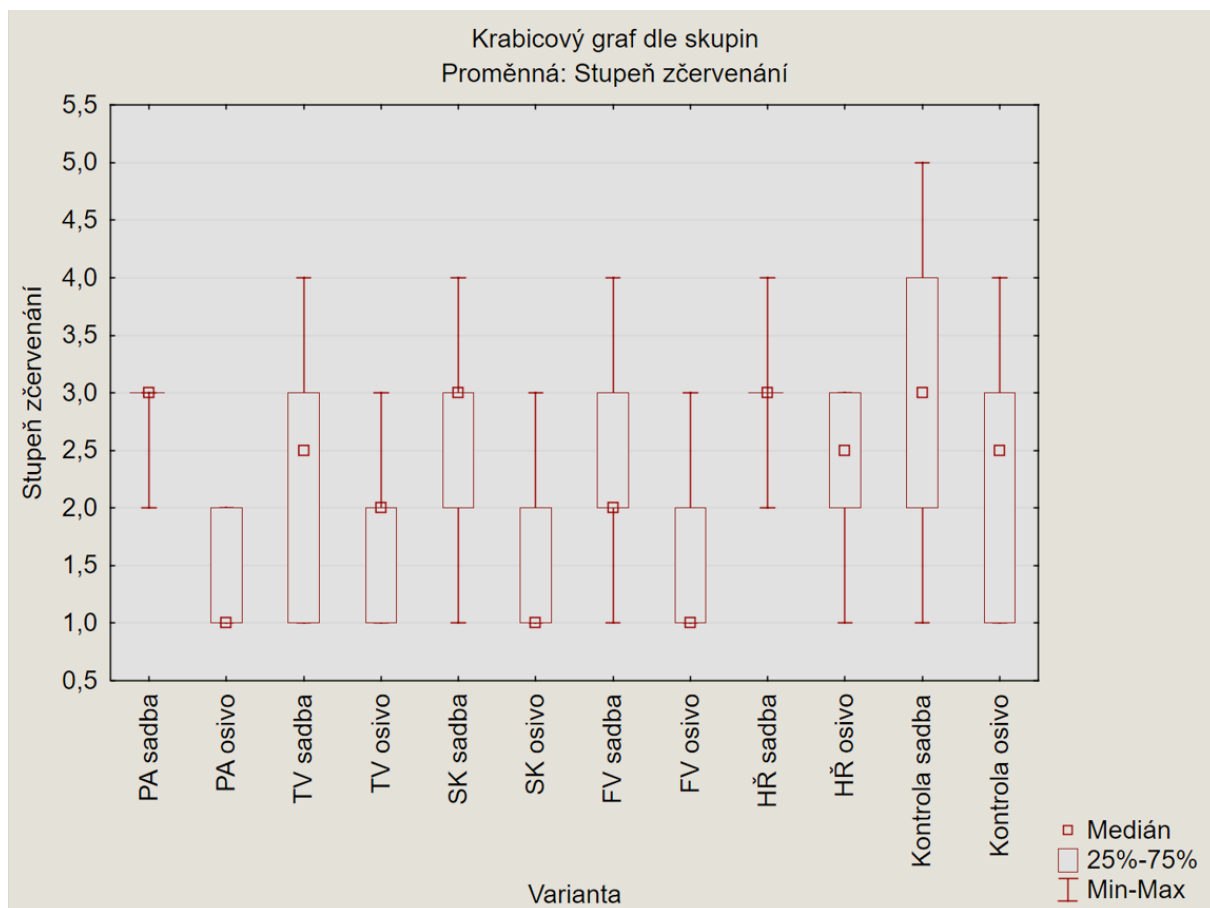


Obrázek 20: Normalita rozložení dat: Stupeň zčervenání žilek listů.

Vicenásobné porovnání p hodnot (oboustr.): Stupeň zčervenání (In vivo květináčové v Podklady_tabulky_hadatka_16_4_ke statistice)
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta
Kruskal-Wallisův test: H (11, N= 283) =95,68075 p =,0000

Závislá: Stupeň zčervenání	PA sadba R:186,18	PA osivo R:66,781	TV sadba R:135,28	TV osivo R:88,368	SK sadba R:175,76	SK osivo R:60,722	FV sadba R:141,72	FV osivo R:88,375	HŘ sadba R:195,32	HŘ osivo R:151,68	Kontrola sadba R:181,70	Kontrola osivo R:127,67
PA sadba		0,000059	1,000000	0,001279	1,000000	0,000005	1,000000	0,000270	1,000000	1,000000	1,000000	0,313413
PA osivo	0,000059		0,980354	1,000000	0,001607	1,000000	0,507964	1,000000	0,000061	0,130908	0,000267	1,000000
TV sadba	1,000000	0,980354		1,000000	1,000000	0,414219	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
TV osivo	0,001279	1,000000	1,000000		0,023921	1,000000	1,000000	1,000000	0,001159	1,000000	0,004949	1,000000
SK sadba	1,000000	0,001607	1,000000	0,023921		0,000254	1,000000	0,009320	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
SK osivo	0,000005	1,000000	0,414219	1,000000	0,000254		0,197038	1,000000	0,000007	0,041225	0,000030	0,503561
FV sadba	1,000000	0,507964	1,000000	1,000000	1,000000	0,197038		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
FV osivo	0,000270	1,000000	1,000000	1,000000	0,009320	1,000000	1,000000		0,000318	0,701487	0,001407	1,000000
HŘ sadba	1,000000	0,000061	1,000000	0,001159	1,000000	0,000007	1,000000	0,000318		1,000000	1,000000	0,209105
HŘ osivo	1,000000	0,130908	1,000000	1,000000	1,000000	0,041225	1,000000	0,701487	1,000000		1,000000	1,000000
Kontrola sadba	1,000000	0,000267	1,000000	0,004949	1,000000	0,000030	1,000000	0,001407	1,000000	1,000000		0,780416
Kontrola osivo	0,313413	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,503561	1,000000	1,000000	0,209105	1,000000	0,780416	

Obrázek 21: Kruskal-Wallisův test: Stupeň zčervenání listů.



Obrázek 22: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Zčervenání listů.

Z obrázků č. 21 a 22 je zřejmé, že ve všech případech platí statistický rozdíl mezi zčervenáním listů rostlin ze sadby a z osiva, u rostlin ze sadby je ve všech vzorcích symptom zčervenání častější. Zajímavá je odchylka mezi vzorky z osiva *Eugenia caryophyllus* (HŘ) a *Cinnamomum cassia* (SK), kdy je *Cinnamomum cassia* (SK) statisticky výrazně méně postižené zčervenáním.

6 Diskuze

6.1 Účinnost metabolitů rostlin

Práce je zaměřena na zkoumání účinnosti metabolitů rostlin, konkrétně esenciálních olejů proti hádčákům. Výsledky studie ukázaly, že jednou z neúčinnějších látek je *Cinnamomum cassia*, která vykazuje schopnost usmrtit významný počet hádčátek. Tato zjištění jsou v souladu s nedávnou studií provedenou Doudou et al. (2022), kteří také zjistili podobné výsledky. Výsledky práce ukazují, že esence skořice vykazuje vysokou účinnost a způsobuje rychlou mortalitu hádčátek. Tyto zjištění jsou v souladu s dřívější studií provedenou Kongem et al. (2007), kteří také testovali účinnost esencí skořice na hádčáko *Bursaphelenchus xylophilus* a dosáhli velmi příznivých výsledků.

Studie Konga et al. (2007) rovněž upozorňuje na problém nedostatku výzkumů, které by se zaměřovaly na celkový vliv esencí skořice nejen na škůdce, ale i na rostliny a další organismy v ekosystému. Tento nedostatek poukazuje na nutnost dalších výzkumů, které budou zahrnovat komplexní hodnocení účinků esencí skořice s ohledem na různé faktory prostředí. Takové studie by měly poskytnout hlubší porozumění účinnosti esencí skořice v boji proti škůdcům a mohly by být základem pro vývoj efektivnějších strategií ochrany rostlin.

Fontana et al. (2021) uvedli účinnost EO *C. winterianus* proti nemocem broskvoní a jahodníku. Z mé práce se ovšem prokázalo, že vůči nematodám není *C. winterianus* účinný.

Za přínos mé práce mohu označit statisticky podložené tvrzení, že esence *Cinnamomum cassia* nemá vliv na váhu listu, která byla v případě osiva i sadby velice podobná a nelišila se výrazně od kontrolního vzorku.

Další účinnou látkou, která se ukázala jako účinná jak v této práci, tak v práci Doudy et al. (2022), je esenciální olej z *Thymus vulgaris*. Tento konsensus výsledků napovídá, že skořice a tymián mají potenciál být využity jako účinné prostředky při boji proti hádčákům v zemědělské praxi. Toto potvrzuje i výzkum Zoubi et al. (2023), ve kterém uvedli vysokou účinnost *R. officinalis* a *T. vulgaris* vůči *Tylenchus semipenetrans*, dle jeho testů způsobily tyto oleje 100% mortalitu hádčátek. In vitro pilotní test zkoumající tyto esenciální oleje shledal účinným vůči *D. dipsaci* pouze *T. vulgaris*. *R. officinalis* neměl přesvědčivé výsledky. Bylo by proto vhodné pokračovat v testování vlivu jednotlivých esenciálních olejů na různé rody hádčátek.

U esencí *Thymus vulgaris* by dle mé práce mohl být problémem vliv účinné látky na růst a kvalitu rostliny ze semene, která se dle statistické analýzy výrazně vychylovala. McDonald (2024) však při polním zkoumání vlivu tymiánové esence na ochranu česneku proti *Ditylenchu dipsaci* neuvádí vliv esence na růst plodiny. Zároveň uvádí účinnější způsoby ochrany.

Zajímavých výsledků dosáhl i esenciální olej z hřebíčku (*Eugenia caryophyllus*). V in vitro i in vivo testech potvrdil svou účinnost vůči *D. dipsaci*. Amiri et al. (2008) uvedli tento

EO jako vysoce účinný v boji proti patogenům způsobujícím poškození plodů po sklizni jablek. Konzervační schopnosti EO jsou v současné době studovány a komplexní účinky EO otevírají nové cesty v biologické ochraně rostlin.

Sousa et al. (2015) zaměřili svůj výzkum na účinek *Foeniculum vulgare* a jeho EO na hád'átka *M. javanica* a další organismy. Byla prokázána vysoká toxicita vůči sladkovodním plžům, larvám komárů i zmiňovanému hád'átku. Při podrobnějším testování vykazoval vysoký nematocidní účinek trans-anethol a estragol prokázal účinnost proti líhnutí. Výsledky mých testů v této práci potvrdily vysokou účinnost *F. vulgare* proti *D. dipsaci*. Faktem je, že stejně jako v případě dalších EO byla účinnější verze s aplikací EO již během setí. Zároveň se u této verze prokázala funkčnost stupnice hodnocení kadeřavosti i zčervenání dle Maňasové (2022). Nízký počet hád'átek odpovídal statisticky prokázanému nízkému stupni zkadeření i zčervenání. Zároveň u této varianty nebyly pozorovány žádné inhibiční účinky.

Sosa et al. (2020) popisují nematocidní účinky EO z *Pimpinella anisum* (anýz) proti druhému juvenilnímu stádiu hád'átka *Nacobbus aberrans* v in vitro podmínkách. Testy prokázaly silné účinky tohoto oleje. Další testy s nematofágními houbami prokázaly účinnost obou mechanismů i v proměnlivých podmínkách prostředí. V mé práci byly nematocidní účinky tohoto oleje potvrzeny, a to v in vitro i in vivo podmínkách. V in vivo testu nebyly pozorovány ani růstové změny rostliny. Zajímavým výstupem je korelace mezi počtem hád'átek a stupněm zčervenání, kde nízký stupeň zčervenání odpovídá nízkému počtu hád'átek ve variantě rostliny z osiva.

6.2 Symptomy *Ditylenchus dipsaci*

Krusberg (1961) popisuje projevy symptomů *Ditylenchus dipsaci* na různých plodinách, přičemž jako nejčastější symptom uvádí kadeřavost a deformaci listů. Má práce potvrzuje, že je kadeřavost významným symptomem, avšak symptom zčervenání je v této práci prokazatelnější. Zmíněno to bylo například i u *Pimpinella anisum*, stejný jev lze pozorovat i u variant EO z *T. vulgaris*, *C. cassia*, *F. vulgare* či *E. caryophyllus*. Kadeřavost se přitom silně projevila jen u dvou nejúčinnějších variant, tedy *C. cassia* a *T. vulgaris* při aplikaci EO již při setí. Dijkstra (1957) popisuje jako jeden ze symptomů napadení jetele lučního (*Trifolium pratense*) *Ditylenchem dipsaci* hnědé skvrny.

7 Závěr

- Diplomová práce se zaměřila na vliv rostlinných metabolitů, přesněji esenciálních olejů, na ochranu rostlin proti fytopatogenním hád'átkům, konkrétně *Ditylenchus dipsaci*. Cílem bylo zhodnotit účinnost vybraných esenciálních olejů na mortalitu těchto hád'átek. V rámci pilotního experimentu, prováděného v in vitro podmínkách, bylo identifikováno šest nejúčinnějších esenciálních olejů. Tyto látky byly následně podrobeny dalšímu in vitro testu, kde byly testovány v čtyřech různých koncentracích, a to za účelem stanovení jejich účinnosti. Dále byly tyto vybrané oleje zkoumány v květináčovém testu na rostlinách čekanky v prostředí skleníku.
- Výsledky **pilotního testu** naznačily významnou účinnost esenciálních olejů *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Pimpinella anisum* a *Eugenia caryophyllus*. Tyto oleje způsobily 100% mortalitu hád'átek ve všech provedených opakováních.
- V průběhu **in vitro testování nejúčinnějších látek** identifikovaných v pilotním testu byly jednotlivé esenciální oleje zkoumány ve čtyřech různých koncentracích. Výsledky naznačily, že jediným olejem, který prokázal absolutní účinnost ve všech testovaných koncentracích, byl *Cinnamomum cassia* a v této fázi byl považován za neúčinnější zvolenou látku. Druhým nejefektivnějším olejem se ukázal *Thymus vulgaris*, který vykazoval účinnost ve třech nejvyšších koncentracích. Zásadní byla změna u oleje *Ocimum basilicum*, který dosáhl dobrých výsledků pouze při nejvyšší koncentraci.
- **Květináčové testy** odhalily několik faktů:
 - Očekávaným výsledkem bylo vyšší napadení rostlin ze sadby než z osiva. Také vyšší váha listů rostlin ze sadby než z osiva, ovšem *Thymus vulgaris* byl váhově výrazně nižší než kontrolní vzorek a může to naznačovat jisté inhibiční účinky na růst čekanky. Autorka by doporučila další sledování vedlejších vlivů esenciálního oleje *Thymus vulgaris* na růst rostlin.
 - Zajímavým poznatkem bylo zjištění, že symptom zčervenání rostlin koreloval s počtem přítomných hád'átek – čím intenzivnější zčervenání, tím větší počet hád'átek byl nalezen. Tento jev by mohl být použit k vizuálnímu odhadu napadení rostlin. Je zajímavé, že symptom zkadeření je častěji zmiňován v odborné literatuře, i když zčervenání se dle výsledků jeví jako spolehlivější indikátor přítomnosti hád'átek.

- Testy prokázaly, že nejvíce účinným a efektivním esenciálním olejem pro ochranu rostlin je *Cinnamomum cassia*, zejména při aplikaci na osivo. Zjištění neprokázala inhibiční účinky na růst rostlin, ale prokázala účinnost v eliminaci háďátek.
- Cíl práce byl naplněn a došlo k otestování vlivu metabolitů rostlin na vývoj háďátek *Ditylenchus dipsaci*. Hypotéza této diplomové práce byla potvrzena, neboť všechny testy prokazují existenci metabolitů rostlin, konkrétně esenciálních olejů, které mají při aplikaci přímý dopad na vývoj háďátek poškozujících ovocné plodiny.

8 Literatura

- Abad, P. et al. (2008). Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nature biotechnology*, 26(8), 909-915.
- Abdel-Sattar, Mahmoud; Haikal, Amr M.; Hammad, Sandy E. *Meloidogyne incognita* population control and nutritional status and productivity of Thompson seedless grapevines managed with different treatments. *PLoS One*, 2020, 15(10): e0239993.
- Aguirre, O., et al. (2016). Frequencies and population densities of plant-parasitic nematodes on banana (*Musa AAA*) plantations in Ecuador from 2008 to 2014. *Agronomía colombiana*, 34(1), 61-73.
- Alabouvette, C., Olivain, C., Steinberg, C. 2006. Biological control of plant diseases: the European situation. *European Journal of Plant Pathology*, 114, 329-341.
- Amiri, A., Dugas, R., Pichot, A. L., Bompeix, G. 2008. In vitro and in vivo activity of eugenol oil (*Eugenia caryophyllata*) against four important postharvest apple pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 126(1-2), 13-19.
- An, G., Hong, T., Park, H., Lim, W., Song, G. (2023). Oxamyl exerts developmental toxic effects in zebrafish by disrupting the mitochondrial electron transport chain and modulating PI3K/Akt and p38 Mapk signaling. *Science of The Total Environment*, 859, str. 160458.
- Andret-Link, P., Schmitt-Keichinger, C., Demangeat, G., Komar, V., & Fuchs, M. (2004). The specific transmission of Grapevine fanleaf virus by its nematode vector *Xiphinema index* is solely determined by the viral coat protein. *Virology*, 320(1), 12-22.
- Bahadur, A. (2021). Nematodes diseases of fruits and vegetables crops in India. In *Nematodes-Recent Advances, Management and New Perspectives* (pp. 1-18).
- Batiha, G. E. S., Beshbishy, A. M., El-Mleeh, A., Abdel-Daim, M. M., Devkota, H. P. (2020). Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae). *Biomolecules*, 10(3).
- Bělíková, H., Laňar, L., Mészáros, M. (2015). Measures to alleviate the influence of soil borne disease to growth of St. Julien A in fruit nursery.
- Bird, G. W. (1981). Integrated nematode management for plant protection. In: *Plant parasitic nematodes*, 3, 355-375. Blažek, J. (2001). *Ovocnictví*. 2. nezm. vyd. Praha: Květ. ISBN 80-85362-43-0.
- Bleša, D. (2019). Úvod do problematiky biologické ochrany rostlin. *Obilnárské listy*, 27, 10-13.
- Bublíková, L. (2023). Situační a výhledová zpráva: Réva vinná a víno. Ministerstvo zemědělství České republiky, Praha. Available from

<https://eagri.cz/public/portal/mze/publikace/situacni-vyhledove-zpravy/roslinne-komodity/reva-vinna-a-vino/reva-vinna-a-vino-2022>

- Buckwell, A. (2019). Integrating biodiversity and ecosystem services into European agricultural policy: a challenge for the Common Agricultural Policy. In: *Agricultural Resilience: Perspectives from Ecology and Economics*, 315-339.
- CABI Compendium. (2022). *Radopholus similis* (burrowing nematode). doi:10.1079/cabicompendium.46685
- ČURDOVÁ, Jiřina. (2018). Zhodnocení vývoje PIWI a tradičních odrůd révy vinné [*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa* (DC.) Hegi]: v systému integrované produkce. Diplomová práce. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta.
- D'Addabbo, T., Argentieri, M. P., Laquale, S., Candido, V., Avato, P. (2020). Relationship between chemical composition and nematicidal activity of different essential oils. *Plants*, 9(11), 1546.
- D'Addabbo, T., Laquale, S., Argentieri, M. P., Bellardi, M. G., Avato, P. (2021). Nematicidal activity of essential oil from lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.) as related to chemical profile. *Molecules*, 26(21), 6448.
- da Costa, J. S., da Cruz, E. D. N. S., Setzer, W. N., da Silva, J. K. D. R., Maia, J. G. S., & Figueiredo, P. L. B. (2020). Essentials oils from Brazilian *Eugenia* and *Syzygium* species and their biological activities. *Biomolecules*, 10(8), 1155.
- Détár, E., Németh, É. Z., Gosztola, B., Demján, I., & Pluhár, Z. (2020). Effects of variety and growth year on the essential oil properties of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) and lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.). *Biochemical Systematics and Ecology*, 90, 104020.
- Dijkstra, J. (1957). Symptoms of susceptibility and resistance in seedlings of red clover attacked by the stem eelworm *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. *Nematologica*, 2(3), 228-236.
- Douda, O. (2023). Cukrová řepa z pohledu rostlinolékařské nematologie. *Listy Cukrovarnicke a Reparske*, 139(4).
- Douda, O. (2023). Hád'átko zkoubné (*Ditylenchus dipsaci*). Dostupné z: https://www.vurv.cz/wp-content/uploads/2023/05/2023_Hadatko_cibule.pdf
- 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.
- eAGRI. 2024. [online]. Dostupné z: https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c72819c%22#rlp|so|skudci|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c72819c|popis (zprístupněno 17.4.2024).
- European Food Safety Authority (EFSA), Alvarez, et al. (2023). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance S-metolachlor excluding the assessment of the endocrine disrupting properties. *EFSA Journal*, 21(2), e07852.

- EPPO Global Database (2002). *Aphelenchoides besseyi*. [online]. Dostupné z: <https://gd.eppo.int/taxon/APLOBE>
- EPPO Global Database (2024). *Aphelenchoides fragariae*. Distribution. [online]. Dostupné z: <https://gd.eppo.int/taxon/APLOFR/distribution>
- EPPO Global Database (2004). *Vitis vinifera*. [online]. Dostupné z: <https://gd.eppo.int/taxon/VITVI>
- EPPO Global Database (2002) *Ditylenchus dipsaci*. [online]. Dostupné z: <https://gd.eppo.int/taxon/DITYDI>
- EPPO Global Database (2002) *Radopholus similis*. [online]. Dostupné z: <https://gd.eppo.int/taxon/RADOSI>
- Evans, A. (2007). Soil dwelling free-living nematodes as pests of crops.
- Fontana, D. C., et al. 2021. Using essential oils to control diseases in strawberries and peaches. *International Journal of Food Microbiology*, 338, 108980.
- Gaar, V. (2013). Hád'átko řepné (*Heterodera schachtii*) - odběr vzorků, detekce a identifikace. *Listy Cukrovarnické a Reparské*, 129(9-10), 275.
- Gaar, V. 2024. *Xiphinema americanum sensu lato* [online]. Dostupné z: https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22402c9fd17727653e079fcb8bbd503c01%22#r|p|so|skudci|detail:402c9fd17727653e079fcb8bbd503c01|popis (přístupováno měsíc a rok).
- Gupta, Ramesh C. (1994). Carbofuran toxicity. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 43(4), 383-418.
- Gray, F. A., Soh, D. H. (1989). A nematicide seed treatment to control *Ditylenchus dipsaci* on seedling alfalfa. *Journal of Nematology*, 21(2), 184.
- Handoo, Zafar, Kantor, Mihail, & Carta, Lynn. (2020). Taxonomy and identification of principal foliar nematode species (*Aphelenchoides* and *Litylenchus*). *Plants*, 9(11), 1490.
- Helyer, N., Cattlin, N. D., & Brown, K. C. 2014. *Biological control in plant protection: a colour handbook*. CRC Press.
- Hendrychová, Romana. (2023). *Biologická aktivita látek fenylpropanoidního typu v hlísticích*. Olomouc: UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI, Přírodovědecká fakulta, diplomová práce
- Holterman, M. et al. (2017). Disparate gain and loss of parasitic abilities among nematode lineages. *PloS one*, 12(9), e0185445.
- Horváthová, I. 2018. *Ditylenchus dipsaci*. ÚKSÚP – OOR 25.10.
- Howard, R. J. et al. (2022). The Ediacaran origin of Ecdysozoa: integrating fossil and phylogenomic data. *Journal of the Geological Society*, 179(4), jgs2021-107.
- Hrudová, Eva (2015). *Ochrana rostlin v ekologickém zemědělství*. Mendelova univerzita v Brně.

- Chalańska, A., Bogumił, A., & Łabanowski, G. (2017). Management of foliar nematode *Aphelenchoides ritzemabosi* on *Anemone hupehensis* using plant extracts and pesticides. *Journal of Plant Disease and Protection*, 124, 437–443.
- Chowdhury, I. A., Yan, G., Kandel, H., Plaisance, A. (2022). Population development of the root-lesion nematode *Pratylenchus dakotaensis* on soybean cultivars. *Plant disease*, 106(8), 2117-2126.
- Christie, J. R. (1942). A description of *Aphelenchoides besseyi* n. sp., the summer-dwarf nematode of strawberries, with comments on the identity of *Aphelenchoides subtenuis* (Cobb, 1926) and *Aphelenchoides hodsoni* Goodey, 1935.
- Jones, J. T., et al. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 14(9), 946-961.
- Kakouri, E., et al. (2022). Cytotoxic effect of *Rosmarinus officinalis* extract on glioblastoma and rhabdomyosarcoma cell lines. *Molecules*, 27(19), 6348.
- Kakouri, E., et al. (2022). *Origanum majorana* essential oil—A Review of its chemical profile and pesticide activity. *Life*, 12(12), 1982.
- Kempuraj, D., Zhang, E., Gupta, S., Gupta, R. C., Sinha, N. R., Mohan, R. R. (2023). Carbofuran pesticide toxicity to the eye. *Experimental Eye Research*, 227, 109355.
- Keulemans, W., Bylemans, D., De Coninck, B. (2019). Farming without plant protection products: Can we grow without using herbicides, fungicides and insecticides? European Parliament.
- Khan, M. R. (2015). Nematode diseases of crops in India. In *Recent Advances in the Diagnosis and Management of Plant Diseases* (pp. 183-224).
- Kong, J. O., Park, I. K., Choi, K. S., Shin, S. C., & Ahn, Y. J. (2007). Nematicidal and propagation activities of thyme red and white oil compounds toward *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). *Journal of Nematology*, 39(3), 237.
- Kraus, V. (2012). *Pěstujeme révu vinnou*. (2nd ed.). Praha: Grada.
- Krusberg, L. R. (1961). Studies on the culturing and parasitism of plant-parasitic nematodes, in particular *Ditylenchus dipsaci* and *Aphelenchoides ritzeiwabosi* on alfalfa tissues. *Nematologica*, 6(3), 181-200.
- Kurz, C. L., & Ewbank, J. J. (2003). *Caenorhabditis elegans*: an emerging genetic model for the study of innate immunity. *Nature Reviews Genetics*, 4(5), 380-390.
- Lamichhane, J. R., et al. (2017). Identifying obstacles and ranking common biological control research priorities for Europe to manage most economically important pests in arable, vegetable and perennial crops. *Pest Management Science*, 73(1), 14-21.
- Laquale, S., Avato, P., Argentieri, M. P., Bellardi, M. G., & D'addabbo, T. (2018). Nematotoxic activity of essential oils from *Monarda* species. *Journal of Pest Science*, 91, 1115-1125.

- Laquale, S., Candido, V., Avato, P., Argentieri, M. P., d'Addabbo, T. (2015). Essential oils as soil biofumigants for the control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. *Annals of Applied Biology*, 167(2), 217-224.
- Lewis, J. A., Szilagy, M., Gehman, E., Dennis, W. E., Jackson, D. A. (2009). Distinct patterns of gene and protein expression elicited by organophosphorus pesticides in *Caenorhabditis elegans*. *BMC Genomics*, 10, 1-21.
- Lopes-Caitar, V. S., Pinheiro, J. B., Marcelino-Guimarães, F. C. (2019). Nematodes in horticulture: an overview.
- Manda, R. R., Addanki, V. A., & Srivastava, S. 2020. Microbial bio-pesticides and botanicals as an alternative to synthetic pesticides in the sustainable agricultural production. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 21, 31-48.
- Mattei, D., Dias-Arieira, C. R., Puerari, H. H., Dadazio, T. S., Roldi, M., & Silva, T. R. B. (2013). Evaluation of *Rosmarinus officinalis* essential oil in inducing resistance to *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus brachyurus* in soybean. *Food, Agriculture & Environment*, 1171-1175.
- McCarter, J. P. (2008). Nematology: terra incognita no more. *Nature Biotechnology*, 26(8), 882-884.
- McDonald, M. R., Ives, L., Blauel, T., Adusei-Fosu, K., Jordan, K. (2024). Efficacy of Fluopyram, Abamectin and Thyme Oil for the Management of Stem and Bulb Nematode, *Ditylenchus Dipsaci*, in Garlic. *Journal/Source Title*.
- Moultet, R., et al. (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(7), 1017-1022.
- Mwaka, H. S., et al. (2023). Transgenic East African highland banana plants are protected against *Radopholus similis* through host-delivered RNAi. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(15), 12126.
- Myslivcová, L. (2022). Proměny, vývoj a současné problémy ovocnářských podniků ve východních Čechách [Online]. Bakalářská práce. Hradec Králové: Univerzita Hradec Králové, Přírodovědecká fakulta.
- National Center for Biotechnology Information. (2024). PubChem Compound Summary for CID 31657, Oxamyl. Retrieved April 14, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oxamyl>.
- National Center for Biotechnology Information. (2024). PubChem Compound Summary for CID 31070, Fenamiphos. Retrieved April 14, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fenamiphos>.
- Němcová, Veronika; Buchtová, Irena. Situační a výhledová zpráva ovoce: 2023 [online]. Ministerstvo zemědělství, 2023, s. 102 [cit. 2024-04-20]. ISBN 978-80-7434-744-3. ISSN 1211-7692. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/portal/-a33832---AmGrXCU/situacni-a-vyhledova-zprava-ovoce-2023>

- Ntalli, N. G., Ferrari, F., Giannakou, I., Menkissoglu-Spiroudi, U. (2011). Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematicidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece. *Pest Management Science*, 67(3), 341-351.
- 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(7), 710-715.
- Park, S. D., Khan, Z., Yeon, I. K., Kim, Y. H. 2005. A survey for plant-parasitic nematodes associated with strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) crop in Korea. *The Plant Pathology Journal*, 21(4), 387-390.
- Pavela, R., Benelli, G. (2016). Ethnobotanical knowledge on botanical repellents employed in the African region against mosquito vectors—a review. *Experimental Parasitology*, 167, 103-108.
- Perry, R., Moens, M. (2006). *Plant Nematology: Advances in Impact Assessment*. CABI.
- Reinders, M. J., Riemens, M. M., Bremmer, J. (2021). The future of crop protection in Europe.
- Riemens, M. (2021). The future of crop protection in Europe.
- Rich, J. R., Dunn, R. A., Andersen, P. C. (2007). Nematodes of Backyard Deciduous Fruit Trees in Florida: ENY-055/NG044. EDIS, 2007(6).
- Saravanan, R., Saranya, N., Ragapriya, V., Rajaswaminathan, V., Kavino, M., Krishnamoorthy, A. S., Nakkeeran, S. (2022). Nematicidal property of clindamycin and 5-hydroxy-2-methyl furfural (HMF) from the banana endophyte *Bacillus velezensis* (YEBBR6) against banana burrowing nematode *Radopholus similis*. *Indian Journal of Microbiology*, 62(3), 364-373.
- Sikora, R. A., Molendijk, L. P., Desaegeer, J. (2021). Integrated nematode management and crop health: future challenges and opportunities. *Integrated Nematode Management: State-of-the-art and visions for the future*, 3-10.
- Smrž, J. (2015). *Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů*. Charles University in Prague, Karolinum Press.
- Sosa, A.L., Girardi, N.S., Rosso, L.C. (2020). In vitro compatibility of *Pimpinella anisum* and *Origanum vulgare* essential oils with nematophagous fungi and their effects against *Nacobbus aberrans*.
- Sousa, R. M. O., Rosa, J. S., Silva, C. A., Almeida, M. T. M., Novo, M. T., Cunha, A. C., & Fernandes-Ferreira, M. (2015). Larvicidal, molluscicidal and nematicidal activities of essential oils and compounds from *Foeniculum vulgare*. *Journal of pest science*, 88, 413-426.
- SZIF (2024) Zprávy o trhu: 06. [online]. Dostupné z: https://www.szif.cz/cs/CmDocument?rid=%2Fapa_anon%2Fcs%2Fzpravy%2Ftis%2Fzpravy_o_trhu%2F06%2F1704460140734.pdf (zprístupováno duben 2024).

- Taylor, A. L. (2003). Nematocides and nematocides-a history. *Nematropica*, 225-232.
- Volf, P., Horák, P. (2007). *Paraziti a jejich biologie*. Triton.
- Wallace, H. R. 1962. Observations on the behaviour of *Ditylenchus dipsaci* in soil. *Nematologica*, 7(1), 91-101.
- Zoubi, B., et al. 2023. Eco-friendly management of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* using some aromatic and medicinal plants. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 56(1), 66-86.
- Zouhar, M., Mazáková J, Gaar V. (2008) Diagnostické metody významných háďátek rodu *Aphelenchoides* v podmínkách ČR.: (metodika pro praxi). Česká zemědělská univerzita v Praze, s. 44.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

PPN – plant parasitic nematode

EU – Evropská unie

RNA – ribonukleová kyselina

mRNA – messenger RNA

dsRNA – dvouvláknová RNA

EO – esenciální olej

LD – letální dávka

J2 – juvenilní stádium 2. stupně

GFLV – Grapevine fanleaf virus

ArMV – Arabis mosaic virus

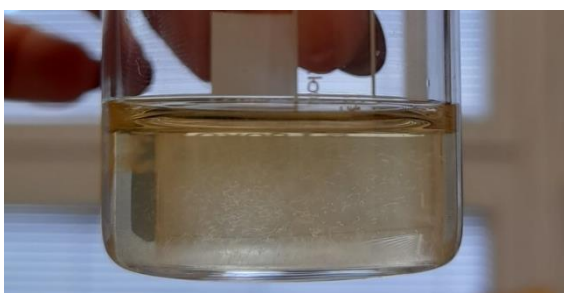
BMV – Bromegrass mosaic virus

10 Samostatné příloh

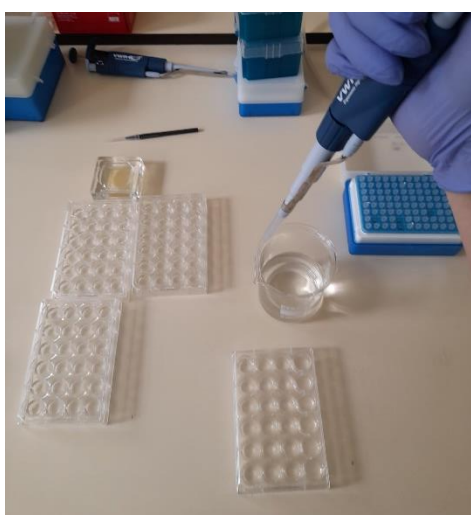
Obrázek 1: Výřez fylogenetického stromu, zařazení kmene Nematoda (Hlístice).....	14
Obrázek 2: Karbofuran – chemická struktura (Kempuraj et al. 2023).	28
Obrázek 3: Struktura Oxamylu. Zdroj: National Center for Biotechnology Information (2024).	28
Obrázek 4: Fenamifos, chemická struktura. Zdroj: National Center for Biotechnology Information (2024 b).....	29
Obrázek 5: Stupnice zčervenání použita při hodnocení vzorků (Maňasová, unpublished, 2022).	42
Obrázek 6: Stupnice zkadeření použita při hodnocení vzorků (Maňasová, unpublished, 2022).	42
Obrázek 7: Normalita rozložení: Transformovaná mortalita háďátek po 24 hodinách.	43
Obrázek 8: Kruskal-Wallisův test: Transformovaná mortalita háďátek po 24 hodinách.	43
Obrázek 9: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Transformovaná mortalita háďátek po 24 hodinách.....	44
Obrázek 10: Normalita rozložení: Transformovaná mortalita háďátek po 24 hodinách.	45
Obrázek 11: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Transformovaná mortalita háďátek po 24 hodinách.	46
Obrázek 12: Normalita rozložení dat: Váha listů.	47
Obrázek 13: Grafické znázornění jednofaktorový ANOVA test: Váha listů.	48
Obrázek 14: Normalita rozložení dat: Počet háďátek v listech.	49
Obrázek 15: Kruskal-Wallisův test: Počet háďátek v listech.	49
Obrázek 16: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Počet háďátek.	50
Obrázek 17: Normalita rozložení dat: Stupeň zkadeření.	51
Obrázek 18: Kruskal-Wallisův test: Stupeň zkadeření listů.	51
Obrázek 19: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Stupeň zkadeření listů.....	52
Obrázek 20: Normalita rozložení dat: Stupeň zčervenání žilek listů.....	53
Obrázek 21: Kruskal-Wallisův test: Stupeň zčervenání listů.	53
Obrázek 22: Grafické znázornění Kruskal-Wallisův test: Zčervenání listů.	54
Obrázek 23: Sedimentace háďátek.	II
Obrázek 24: Sedimentovaná háďátka.	II
Obrázek 25: Příprava vzorků EO.	II
Obrázek 26: Vyhodnocení in vitro testů	III
Obrázek 27: Založení květináčového testu.	III
Obrázek 28: Stav rostlin květináčového testu při vyhodnocení.	III
Obrázek 29: Vyplavení háďátek z jednotlivých listů.	IV
Obrázek 30: Háďátka pod mikroskopem.	IV
Obrázek 31: Sedmá rostlina, třetí list - varianta SK na osivu.	V
Obrázek 32: Sedmá rostlina, čtvrtý list – varianta SK na osivu.	V



Obrázek 23: Sedimentace hád'átek.



Obrázek 24: Sedimentovaná hád'átka.



Obrázek 25: Příprava vzorků EO.



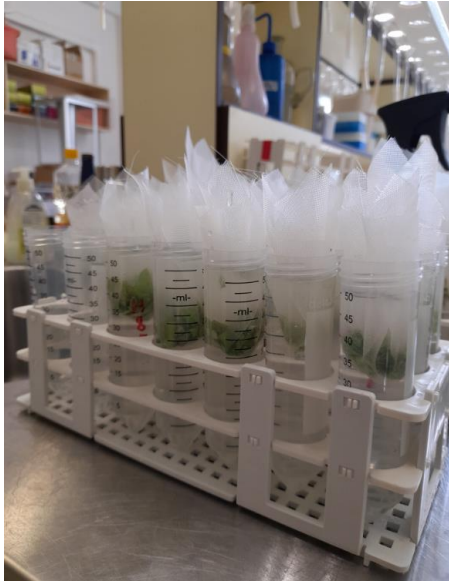
Obrázek 26: Vyhodnocení in vitro testů



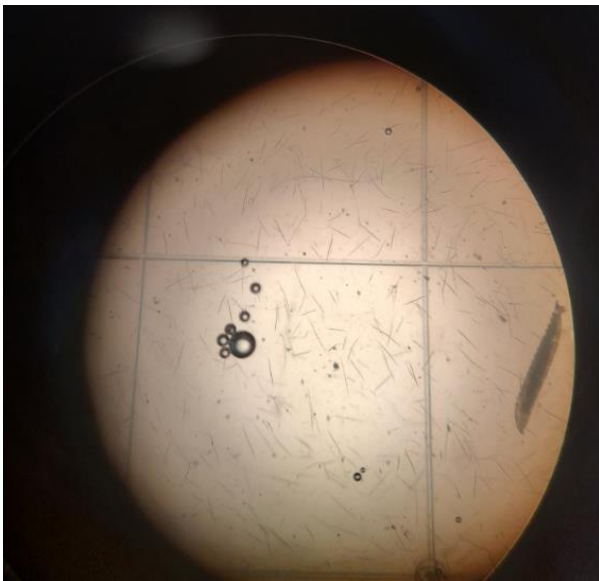
Obrázek 27: Založení květináčového testu.



Obrázek 28: Stav rostlin květináčového testu při vyhodnocení.

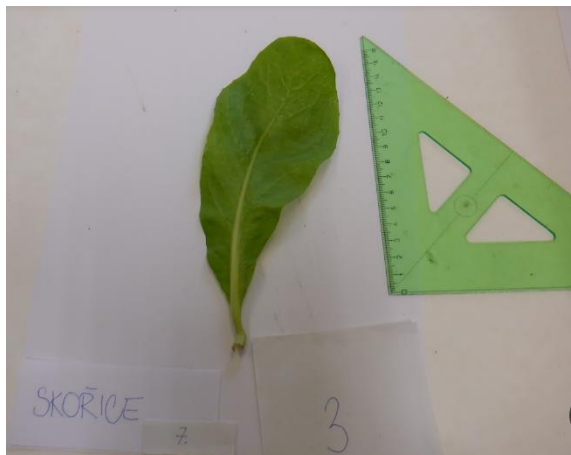


Obrázek 29: Vyplavení hárđátek z jednotlivých listů.



Obrázek 30: Hárđátka pod mikroskopem.

Listy z neúčinnější varianty: *Cinnamomum cassia* (skořice) z osiva



Obrázek 31: Sedmá rostlina, třetí list – varianta SK na osivu.



Obrázek 32: Sedmá rostlina, čtvrtý list – varianta SK na osivu.