

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra ochrany rostlin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Biologická ochrana révy vinné a ovocných stromů proti  
fytoparazitickým hádčátkům pomocí bakterií**

**Diplomová práce**

**Bc. Tereza Vachková**

**Zemědělství a rozvoj venkova, Ekologické zemědělství**

**Ing. Marie Maňasová, Ph.D.**

**© 2022 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Biologická ochrana révy vinné a ovocných stromů proti fytoparazitickým hádčátkům pomocí bakterií" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí 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 neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4.2022

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí této diplomové práce paní Ing. Marii Maňasové, Ph.D. za její vstřícnost, konzultační činnost, odborné vedení a cenné rady, bez nichž by tato práce nemohla vzniknout. V neposlední řadě patří poděkování i mé rodině za podporu, kterou mi poskytla během celého studia.

# Biologická ochrana révy vinné a ovocných stromů proti fytoparazitickým háďátkům pomocí bakterií

## Souhrn

Fytoparazitická háďátka patří mezi významné, přesto v praxi často opomíjené škůdce plodin. Jsou považována za jedny z nejničivějších rostlinných škůdců. Odhaduje se, že jeden akr orné půdy může obsahovat až 3 mld. háďátek. Celosvětově byly hlášeny roční ekonomické ztráty způsobené háďátkami ve výši 157 miliard USD. Chemická ochrana nyní patří mezi celosvětově nejvyužívanější typ ochrany rostlin. Avšak neustálé používání a zvyšování množství chemikálií v zemědělství vyvolává všeobecné obavy z možných rizik souvisejících s množstvím aplikovaných chemikálií. Vznikají diskuse o vedlejších negativních účincích chemických pesticidů na životní prostředí, zároveň se hovoří o možném vyvolání rezistence při opakovaném použití stejné účinné látky. V posledních letech proto započala snaha o rozvoj biologické ochrany. Jednu z alternativních variant v biologické ochraně proti fytoparazitickým háďátkům představuje použití bakterií.

V této práci bylo testováno 6 druhů bakteriálních přípravků (Hirundo: *Bacillus amyloliquefaciens*, Prometheus: *Pseudomonas veronii*, Sirius: *Bacillus licheniformis*, Integral Pro: *Bacillus amyloliquefaciens* kmen MBI 600, Dual: *Azotobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus licheniformis* a Multi: *Azotobacter* spp., *Azospirillum* spp., dále *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*).

V in vitro podmínkách všechny přípravky projevily nematocidní účinek proti testovanému háďátku *Ditylenchus dipsaci*, pouze u varianty s přípravkem Multi došlo k mortalitě háďátek až po 72 hodinách. V květináčových testech se jako neúčinnější projevilo přípravek Sirius, neboť u všech zkoumaných hodnot se prokázal statisticky významný rozdíl oproti kontrolní variantě. Bakterie *Bacillus licheniformis* obsažená i v druhém nejlépe hodnoceném přípravku Dual se proto zdá být účinná vůči fytoparazitickému háďátku *Ditylenchus dipsaci*. Avšak tyto výsledky byly platné pouze pro předpěstované sazeničky u semínkových variant pak již ne. U těchto variant naopak nejlepší účinky představoval přípravek Hirundo, který u sazenicových variant vyšel nejhůře.

**Klíčová slova:** fytoparazitická háďátka, biologická ochrana, bakterie, ovocné plodiny, *Ditylenchus dipsaci*

# Biological control of vines and fruit trees against phytoparasitic nematodes by bacteria

## Summary

Phytoparasitic nematodes represent significant but often neglected crop pests. They are considered to be one of the most destructive plant pests and pose serious threat to the crop. It is estimated that one acre of arable land can contain up to 3 billion nematodes. Worldwide reports reveal that annual economic losses caused by nematodes can reach up to USD 157 billion. Nowadays, chemical protection is one of the most widely used type of plant protection across the world. However, extensive use and continued increase of chemicals used in agricultural application raises general concerns about potential risks associated with the amount of chemicals. Negative side effects of chemical pesticides on the environment have been argued, while the possible induction of resistance when the same active substance is used repeatedly is already the subject of regular discussions. During the past years, development of biological protection has received particular attention. Bacteria can be used as one of the alternative variants of biological protection against phytoparasitic nematodes.

In this work, 6 types of bacterial preparations were tested (Hirundo: *Bacillus amyloliquefaciens*, Prometheus: *Pseudomonas veronii*, Sirius: *Bacillus licheniformis*, Integral Pro: *Bacillus amyloliquefaciens* strain MBI 600, Dual: *Azotobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus licheniformis* and Multi: *Azotobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*).

In vitro, all preparations showed a nematocidal effect against the tested nematode *Ditylenchus dipsaci*, only when the variant containing the Multi preparation was used, mortality of the nematodes occurred after 72 hours. Sirius proved to be the most effective bacterial preparation during the pot tests as all the examined samples have showed a statistically significant difference compared to the control variant. *Bacillus licheniformis* also contained the second best-rated preparation Dual, therefore appears to be most effective against the phytoparasitic nematode *Ditylenchus dipsaci*. However, these results were only valid for pre-grown seedlings, in case of seed variants different results of the measurements were recorded. During the seed variants testing the best effects were reported when Hirundo was used, even though this bacterial preparation had showed the worst results for the seedling variants.

**Keywords:** phytoparasitic nematodes, biological control, bacteria, fruit crops, *Ditylenchus dipsaci*

# Obsah

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ REŠERŠE</b> .....	<b>4</b>
<b>3.1</b>	<b>PĚSTOVÁNÍ OVOCE A RÉVY VINNÉ</b> .....	<b>4</b>
3.1.1	<i>Svět</i> .....	5
3.1.2	<i>Evropa</i> .....	5
3.1.3	<i>Česká republika</i> .....	6
<b>3.2</b>	<b>OCHRANA ROSTLIN</b> .....	<b>6</b>
3.2.1.1	<i>Přípravky na ochranu rostlin (POR)</i> .....	7
3.2.2	<i>Chemická ochrana rostlin</i> .....	7
3.2.2.1	<i>Chemické nematocidy</i> .....	9
3.2.2.2	<i>Regulace používání chemických látek</i> .....	10
3.2.3	<i>Biologická ochrana rostlin</i> .....	12
3.2.3.2	<i>Používání biologických přípravků</i> .....	14
3.2.3.3	<i>Biologicky účinné látky</i> .....	15
3.2.3.4	<i>Postoj Evropské unie k biopesticidům</i> .....	18
<b>3.3</b>	<b>POUŽITÍ BIOLOGICKÝCH PŘÍPRAVKŮ U NÁS A V CIZINĚ</b> .....	<b>19</b>
3.3.1	<i>Registr biologických přípravků v České republice i ve světě</i> .....	21
3.3.1.1	<i>Biologické nematocidy</i> .....	22
3.3.2	<i>Legislativa v České republice</i> .....	25
3.3.3	<i>Dotace v České republice</i> .....	25
<b>3.4</b>	<b>HÁDÁTKA ŠKODÍCÍ NA OVOCNÝCH PLODINÁCH</b> .....	<b>26</b>
3.4.1	<i>Listová hádátka (Aphelenchoides spp.) škodící na jahodníku</i> .....	28
3.4.1.1	<i>Aphelenchoides fragariae (hádátka jahodníkové)</i> .....	28
3.4.1.2	<i>Aphelenchoides ritzemabosi (hádátka kopretinové)</i> .....	30
3.4.1.3	<i>Aphelenchoides blastophthorus</i> .....	32
3.4.1.4	<i>Aphelenchoides besseyi</i> .....	33
3.4.2	<i>Stonková hádátka (Ditylenchus spp.) škodící na jahodníku</i> .....	35
3.4.2.1	<i>Ditylenchus dipsaci (hádátka zhoubné)</i> .....	35
3.4.3	<i>Kořenová hádátka (Meloidogyne spp.) škodící na révě vinné a ovocných stromech</i> .....	37
3.4.3.1	<i>Meloidogyne arenaria</i> .....	38
3.4.3.2	<i>Meloidogyne incognita</i> .....	40
3.4.3.3	<i>Meloidogyne javanica</i> .....	42
3.4.3.4	<i>Meloidogyne hapla</i> .....	44
3.4.4	<i>Kořenová hádátka (Longidorus spp.) škodící na révě vinné a ovocných stromech</i> .....	46
3.4.5	<i>Kořenová hádátka (Xiphinema spp.) škodící na révě vinné a ovocných stromech</i> .....	49
3.4.6	<i>Kořenová hádátka (Pratylenchus spp.) škodící na révě vinné a ovocných stromech</i> .....	53
<b>4</b>	<b>METODIKA</b> .....	<b>57</b>
<b>4.1</b>	<b>EXTRAKCE HÁDÁTEK Z ROSTLINNÝCH PLETIV ČESNEKU A ČEKANKY</b> .....	<b>57</b>
<b>4.2</b>	<b>PŘÍPRAVA BAKTERÍ</b> .....	<b>57</b>
4.2.1	<i>In vitro sklíčková kultura</i> .....	58
4.2.2	<i>Květináčové testy</i> .....	59
<b>4.3</b>	<b>VYHODNOCENÍ ÚČINNOSTI JEDNOTLIVÝCH BAKTERÍ NA ROSTLINÁCH</b> .....	<b>59</b>
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY</b> .....	<b>61</b>
<b>5.1</b>	<b>PŘÍMÉ PŮSOBNÍ BAKTERÍ NA <i>DITYLENCHUS DIPSACI</i> IN VITRO</b> .....	<b>61</b>
5.1.1	<i>Mortalita 24 hodin</i> .....	61
5.1.2	<i>Mortalita 48 hodin</i> .....	62
5.1.3	<i>Mortalita 72 hodin</i> .....	63
<b>5.2</b>	<b>KVĚTINÁČOVÉ TESTY</b> .....	<b>63</b>

5.2.1	<i>Květináčové testy varianta z předpěstovaných sazenic</i>	63
5.2.2	<i>Květináčové testy varianta semínka</i>	68
<b>6</b>	<b>DISKUSE</b>	<b>72</b>
<b>6.1</b>	<b>IN VITRO</b>	<b>72</b>
<b>6.2</b>	<b>KVĚTINÁČOVÉ TESTY</b>	<b>74</b>
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR</b>	<b>77</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURA</b>	<b>78</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ</b>	<b>91</b>
<b>10</b>	<b>SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY</b>	<b>I</b>
<b>10.1</b>	<b>TABULKY</b>	<b>I</b>
<b>10.2</b>	<b>OBRAZKY</b>	<b>I</b>

# 1 Úvod

I přesto že se dnes pěstuje pouze velmi málo druhů plodin, existuje u nich velké množství hrozeb. Zemědělské plodině může konkurovat až 30 000 různých plevelů, 10 000 druhů hmyzu, až 3 000 druhů hádátek a 50 000 nemocí způsobených bakteriemi, houbami a viry. Zemědělci celosvětově přicházejí o 30 % až 40 % úrody kvůli škůdcům a chorobám. Chemické nástroje na ochranu plodin však nemusí být jediným řešením, nicméně v dnešní době představují klíčovou součást téměř každého úspěšného integrovaného programu ochrany používaného po celém světě (Bayer 2016).

Hádátka parazitující na rostlinách jsou jedni z nejničivějších rostlinných škůdců. Celosvětově byly hlášeny roční ekonomické ztráty způsobené hádátky až ve výši 157 miliard USD. Podíl rozvojových zemí evidujících finanční ztrátu převyšuje podíl vyspělých zemí (Liu et al. 2020). Rostlinná parazitická hádátka jsou navzdory své mikroskopické povaze považována za jednoho z velmi významných škůdců zemědělských plodin (Prakash et al. 2014). Jejich celosvětový význam a destruktivní účinky na plodiny mají značné ekonomické a sociální dopady. Kontrola těchto rostlinných škůdců je proto zcela nezbytná. Vzhledem k aktuálnímu zpřísnování pravidel pro používání nematocidů či jejich úplnému zákazu existuje tlak na zavádění alternativních strategií ochrany (Perry & Moens 2006).

Dnes je již známo, že moderní zemědělství a s tím spojené používání přípravků na ochranu rostlin (POR) čelí velkému zájmu široké veřejnosti. Většina lidí žijících v Evropě se ztotožňuje s názory, které poukazují na zvyšující se zdravotní rizika v průběhu času. A to zejména na zdravotní rizika týkající se životního prostředí způsobená chemickými látkami a znečišťujícími látkami. Nejvíce patrná je tato domněnka právě u rizik spojených s výrobou potravin a výživou. Strach z rizik u potravin je na prvním místě seznamu obav sdílených evropskou veřejností. Dokonce více než 70 % Evropanů je přesvědčeno, že nebezpečí spojená s potravinami se v budoucnu budou ještě více zvyšovat (Keulemans et al. 2019). Ovocné plody a zelenina bývají nejvíce zmiňované v problému s rizikem zdraví a bezpečnosti. Vzhledem ke skutečnosti, že většina ovoce a zeleniny se konzumuje bez řádného zpracování, spotřebitelé požadují bezpečné pěstování plodin bez rizikových látek, nebo alespoň s částečným omezením nežádoucích prvků. Rezidua pesticidů u těchto plodin představují z pohledu spotřebitelů obecně větší problém, než je tomu u ostatních polních plodin, které se konzumují ve zpracované formě. Tato praxe vede k vysokému nárůstu tlaku na majitele potravinářských podniků a na obchodníky, aby nabízeli ovoce a zeleninu bez pesticidů. Existuje předpoklad, že trh s těmito plodinami bude v budoucnu nejvíce rostoucí, a to převážně kvůli vysoké poptávce po ovoci a zelenině a též z důvodu rostoucí populace po celém světě (GOPA 2019).

Používání chemikálií v zemědělství je již v současné době omezeno přísnější legislativní regulací implementovanou na unijní i národní úrovni. To zvyšuje hledání alternativních, k životnímu prostředí šetrných, strategií ochrany proti fytoparazitickým hádátkům, které by mohly být užitečné v udržitelném a ekologickém zemědělství. Mezi těmito alternativami



je použití biopesticidů, včetně mikroorganismů a jejich metabolitů, důležitým nástrojem integrované ochrany před škůdci v podobě fytoparazitických hádátek (Migunova & Sasanelli 2021).

Produkty používané k biologické ochraně rostlin představovaly během prvních několika let 21. století jen malý zlomek celkového trhu s pesticidy. Celkové tržby u těchto produktů se pohybovaly v rozmezí 10 až 20 milionů USD ročně. V příštích 10 letech se však očekává významná expanze, a to především z důvodu progresivních cen ropy, rostoucí poptávce po biopotravinách a zvýšené poptávce po „bezpečnějších“ pesticidech v zemědělství, lesnictví a městské krajině (Pal & McSpadden Gardener 2006).

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Vědecká hypotéza: Existují bakterie, jejichž aplikace má vliv na mortalitu fytoparazitických háďátek a mohou být tak využity v rámci biologické ochrany.

Cíl práce: Cílem práce je otestovat vliv vybraných bakterií na mortalitu fytoparazitických háďátek druhu *Ditylenchus dipsaci* neboli háďátka zhoubné.

### 3 Literární rešerše

Podle Světové zdravotnické organizace by měla být konzumace v minimálním množství 400 g denně nebo pět porcí ovoce a zeleniny zdraví prospěšná pro lidskou populaci. Příjem ovoce a zeleniny je doporučován již od raného věku, konkrétně od 6 měsíců. Dále se jeví vhodné ovoce a zeleninu udržovat jako pravidelnou součást zdravého jídelníčku po celý život jedince (FAO 2021). Pokud se podíváme na průměrnou spotřebu ovoce a zeleniny v zemích Evropské unie v roce 2014, narazíme na fakt, že se denní spotřeba mezi jednotlivými členskými státy značně liší (Eurostat 2018).

Například více než jedna čtvrtina populace v Nizozemsku a Dánsku konzumovala alespoň pět porcí ovoce a zeleniny denně, kdežto v Řecku a Slovinsku toto množství ovoce a zeleniny v takovém rozsahu konzumovalo méně než 8 % obyvatel. Naproti tomu více než polovina populace v Bulharsku a Rumunsku uvedla, že ovoce a zelenina nejsou součástí jejich každodenní stravy. Pokud se zaměříme pouze na konzumaci ovoce, bylo zjištěno, že podíl populace ve věku 15 let a více, která konzumuje ovoce příležitostně nebo nikdy, se ve všech unijních státech pohybuje pod úrovní 14 % (Eurostat 2018). Celkově se udává, že v roce 2019 byl denní příjem ovoce a zeleniny vyšší u žen než u mužů. V průměru 58 % žen uvedlo, že jedí jednu až čtyři porce, zatímco tento údaj uvedlo pouze 51 % mužů (Eurostat 2022).

Pokud se zaměříme výhradně na spotřebu ovoce v České republice, zjistíme, že v roce 2021 připadalo na jednoho obyvatele 87,8 kg čerstvého ovoce. Celkový objem konzumovaného ovoce byl od roku 2020 vyšší. Spotřeba ovoce mírného pásma (49,3 kg) byla vyšší oproti tropickému ovoci, kterého se spotřebovalo pouze 38,5 kg na osobu ročně. Co se týče skladby ovoce mírného pásma, pouze jablka představovala až polovinu z celkového objemu konzumovaného ovoce, druhým nejčastěji spotřebovávaným ovocem byly švestky s podílem 12,2 %. Z tropického ovoce byly konzumovány nejčastěji banány (34 %), pomeranče a mandarinky (33,5 %) a citrony s grapefruity (13 %) (Cieslar 2021).

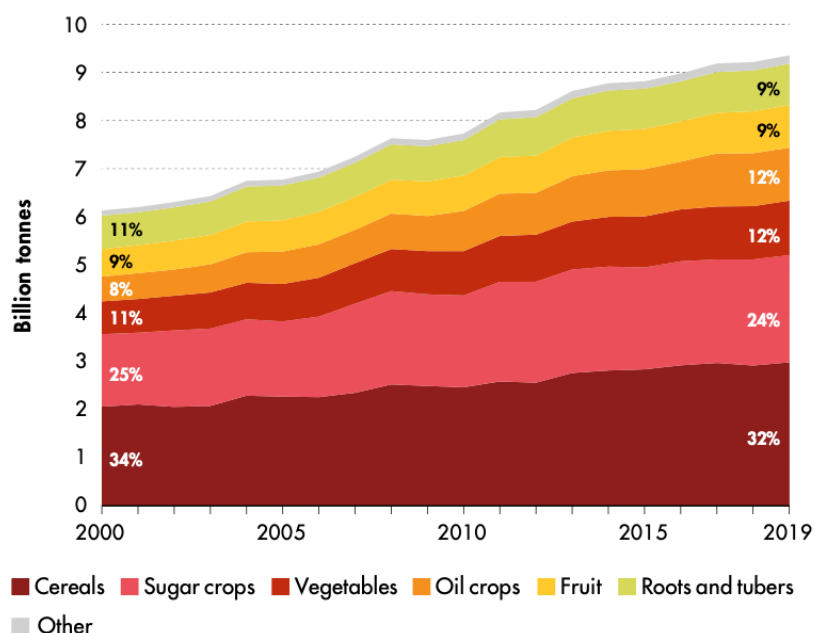
#### 3.1 Pěstování ovoce a révy vinné

Ovoce díky svému obsahu mikroživin, a mnoha dalších bioaktivních sloučenin patří v lidské stravě k předním výživovým potravinám. Především díky své důležité roli v prevenci onemocnění a zlepšení tělesného zdraví. Taktéž obsahuje značné množství vitamínu C, provitaminu A a v menším množství i vitaminy skupiny B. Dnes je již prokázán jejich vliv na snižování hladiny celkového a LDL cholesterolu v krvi, což přispívá k prevenci u srdečních a některých rakovinových onemocněních (Buchtová & Němcová 2021).

### 3.1.1 Svět

Celková produkce primárních plodin na celém světě byla v roce 2019 rekordních 9,4 miliardy tun. Celosvětová sklizená plocha primárních plodin představovala 1,4 miliardy ha. Z toho ovoce tvořilo 5 %, tedy 70 milionů ha (FAO 2021). Réva vinná byla v roce 2019 pěstována na ploše 7,4 mil. ha (Bublíková 2020).

Jak lze vidět na obrázku č. 1, ovoce představovalo 9 % z celkové produkce. Světová produkce ovoce vzrostla mezi lety 2000 a 2019 o 54 % na 883 milionů tun, což ukazuje nárůst o 311 milionů tun. V roce 2000 pouze pět druhů ovoce tvořilo 63 % z celkové produkce. Nyní stále ještě představují větší část z produkce, ale pouze již 57 %. Nejvíce pěstovaným ovocem jsou banány a zeleninové banány (18 %), vodní melouny (11 %), jablka (10 %), pomeranče a hroznové víno (po 9 %) (FAO 2021).



Obrázek 1 Světová produkce plodin 2000-2019 (FAO 2021)

### 3.1.2 Evropa

Země Evropské unie produkují širokou škálu ovoce, bobulovin a také ořechů. Odhaduje se, že v roce 2020 bylo sklizeno celkem 36,8 milionu tun, z čehož 14,3 milionu tun představovalo jádrové ovoce (jablka a hrušky), 11,4 milionu tun citrusů (pomeranče, citrony a mandarinky), 6,5 milionu tun peckovin (broskve, nektarinky, meruňky, třešně a švestky), 2,7 milionu tun subtropické a tropické ovoce (fíky, kiwi, avokáda a banány), 1,3 milionu tun ořechů a 0,7 milionu tun jahod. V tomto stejném roce byly hlavními producenty ovoce, jahod a ořechů Španělsko (30,4 %) a Itálie (23,2 %) (EU 2021).

Taktéž jsou evropské země jedny z hlavních zemích na trhu s vínem. Celková produkce sklizených hroznů byla v roce 2019 okolo 22,3 milionu tun a produkční plocha představuje dlouhodobě 3,2 milionu ha (Bublíková 2020). I přes to, že tato produkce byla nižší o 3,3 milionů tun než v předchozím roce, evropské země zajišťují 65 % celosvětové produkce a představují 45 % vinařských oblastí na světě (EU 2021).

### **3.1.3 Česká republika**

V České republice byla celková produkce ovoce za rok 2020 o objemu 321,0 tis. tun, což znázorňuje nárůst o 6,2 % při porovnání s minulým rokem. Z toho se z produkčních sadů, které jsou rozhodující pro pěstování konzumního ovoce, sklídilo 141,4 tis. tun ovoce. Nejvíce pěstovaným ovocem jsou v České republice jablka. V roce 2020 byla jejich celková úroda 209,9 tis. tun. Snížení produkce oproti předchozímu roku nastalo u meruněk, třešní a broskví. Předpokládá se že pro rok 2021 celková produkce ovoce v produkčních sadech dosáhne 136,8 tis., a dojde tedy taktéž ke snížení produkce. Spotřeba ovoce v České republice byla v roce 2019 vyšší než minulé roky a to 86,5 kg/obyv./rok. K zvýšení spotřeby však došlo díky spotřebě citronů a grapefruitů, pomerančů a mandarinek, jelikož spotřeba ovoce mírného pásu se snížila (Buchtová & Němcová 2021).

V roce 2021 představovala výměra ovocných sadů 15 999 ha, z toho 12 231 ha představují produkční plodné sady. Největší plochy sadů se nacházejí v kraji Středočeském (3 103 ha), Jihomoravském (2 520 ha), dále v Královéhradeckém (1 841 ha) a Ústeckém kraji (1 505 ha). U celkové výměry sadů však dochází k postupnému snižování (Buchtová & Němcová 2021).

V roce 2019 byla v České republice evidována plocha vinic o rozloze přibližně 18,2 tis. ha. Bylo celkem sklizeno 68 tis. tun hroznů révy vinné. Výnos se pohyboval okolo 4,23 t/ha. Celková sklizeň však nedosahovala hodnot jako v předchozím roce, nýbrž byla o 35 % nižší. K 31. 12. 2019 bylo zaregistrováno 17,8 tis. pěstitelů (Bublíková 2020).

## **3.2 Ochrana rostlin**

Ochrana rostlin byla vyvinuta pro prevenci a kontrolu ztrát plodin způsobených chorobami, plevele a hlavně škůdci, a to na poli (předsklizňové ztráty) a během skladování (posklizňové ztráty) (Popp et al. 2013). Ochranu rostlin lze praktikovat dvěma způsoby, a to v závislosti na způsobu daného hospodaření. Hlavním rozdělením ochrany rostlin je na přímé a nepřímé metody (Hrudová 2015).

**Nepřímé metody:** Mezi nepřímé metody patří karanténní opatření (vnější a vnitřní) a agrotechnické zásahy (sklizeň, posklizňové opatření, skladování, obdělávání půdy, hnojení, výživa, volba odrůdy, respektování stanoviště a osevní postup) (Hrudová 2015).

**Přímé metody:** Tyto metody rozlišujeme na fyzikální, biotechnické, biologické, genetické a chemické (Hrudová 2015).

### **3.2.1.1 Přípravky na ochranu rostlin (POR)**

Jedná se o přípravky, které chrání rostliny či rostlinné produkty před škodlivými organismy během výroby a skladování. Tyto produkty se používají především v zemědělství a zahradnictví. Využívají se ale také v lesnictví, domácích zahradách a rekreačních oblastech. Termín „pesticid“ se často používá zaměnitelně s POR, avšak pesticid je širší termín, který zahrnuje také biocidy, neboli produkty, které regulují organismy škodlivé pro zdraví lidí nebo zvířat (Keulemans et al. 2019).

Mezi POR jsou řazeny syntetické přípravky a biopesticidy, produkty pocházející z procesu chemické syntézy nebo produkty biologického původu (zvířata, rostliny, bakterie, minerály...). POR obsahují alespoň jednu účinnou látku či složku. Účinnou látkou jako takovou může být jakákoli chemikálie, rostlinný extrakt, feromon nebo mikroorganismus, který chrání rostliny nebo rostlinné produkty před chorobami, škůdci a plevely (Keulemans et al. 2019).

Právní předpisy EU týkající se POR jsou velmi přísné. Jsou navrženy tak, aby zajistily vysokou úroveň ochrany lidského zdraví a životního prostředí, díky čemuž patří přípravky na ochranu rostlin mezi nejlépe prozkoumané kategorie produktů. V EU nelze používat žádné přípravky na ochranu rostlin, pokud nebylo nejprve vědecky prokázáno, že

1. nemají škodlivé účinky na spotřebitele, zemědělce, místní obyvatele a kolemjdoucí
2. nemají nepříjemné účinky na životní prostředí
3. jsou dostatečně účinné proti chorobám, škůdcům a plevelům (Keulemans et al. 2019).

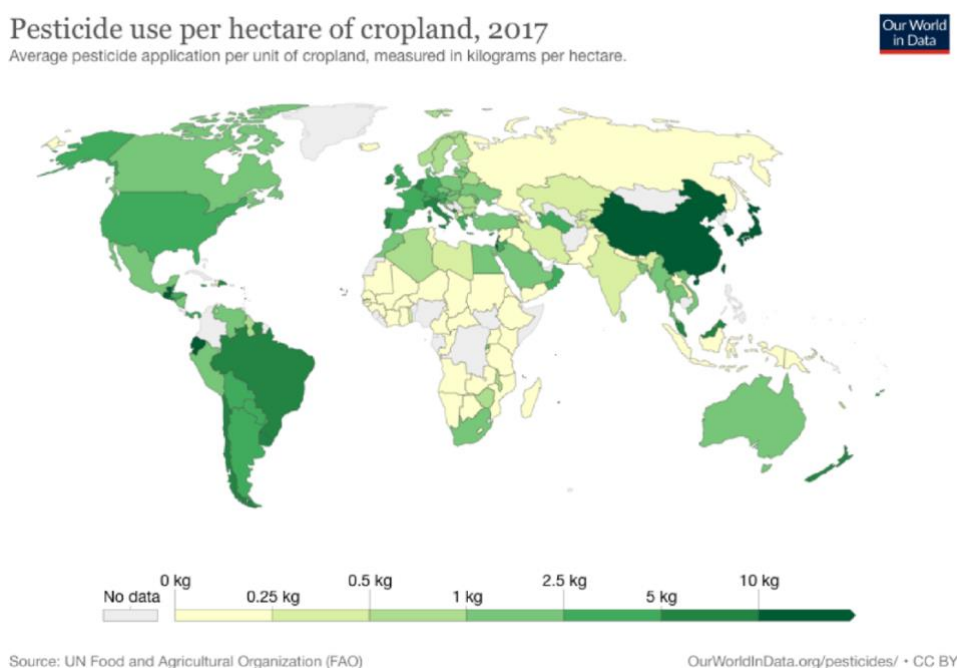
### **3.2.2 Chemická ochrana rostlin**

Pesticidy jsou chemikálie (přírodní nebo syntetické) používané v různých zemědělských postupech pro kontrolu škůdců, plevelů a chorob rostlin (Sharma et al. 2019). Mezi pesticidy patří herbicidy (chrání rostliny před plevely), fungicidy/baktericidy (chrání rostliny před houbami a bakteriemi způsobující choroby rostlin) a zoocidy, zde řadíme insekticidy, akaricidy, nematocidy, rodenticidy, moluskocidy a další (chrání rostliny před škůdci) (Komives 2016).

Pesticidy jsou široce používány v moderním zemědělství a jsou účinným a ekonomickým způsobem, jak zvýšit kvalitu a kvantitu výnosů, a zajistit tak potravinovou bezpečnost pro stále rostoucí populaci na celém světě (Sharma et al. 2019).

Po objevu a obrovském komerčním a populárním úspěchu insekticidu DDT v roce 1938 řada chemických společností začala vyvíjet nové aktivní složky pesticidů (FAO 2021). Poptávka po takových chemikáliích byla vysoká. Byly to levné a vysoce účinné náhrady dřívějších pracovně náročných postupů ochrany plodin. V důsledku toho se počet nově vyvinutých pesticidů neustále zvyšoval a jejich použití se rozšířilo téměř do všech oblastí lidské činnosti od domácí rostlinné výroby až po domácnosti, lesnictví, skladování potravin atd. (Komives 2016). Ve 40. letech 20. století inovace ve vývoji pesticidů došla až do té míry, že se toto desetiletí označuje jako „éra pesticidů“ a během jednoho století se spotřeba těchto látek stala velmi významnou (Vacante & Kreiter 2017). Od konce druhé světové války byla léčba chorob rostlin většinou založena na chemických pesticidech (Compant & Mathieu 2016).

Globální používání pesticidů vzrostlo v období od roku 2000 do roku 2019 o 36 % na 4,2 milionu tun (FAO 2021). Z toho 47,5 % tvořili herbicidy, 29,5 % insekticidy, 17,5 % fungicidy a 5,5 % ostatní pesticidy (Sharma et al. 2019). Například celosvětově se ve vinařství použije okolo 35 % všech pesticidů (Compant & Mathieu 2016). Mezi deset zemí s nejvyšší spotřebou pesticidů na světě patří Čína, USA, Argentina, Thajsko, Brazílie, Itálie, Francie, Kanada, Japonsko a Indie (Sharma et al. 2019). Asijskému kontinentu připadá podíl 52–53 %, Americe 33 % a Evropě 11 % z celosvětové spotřeby pesticidů. Čína se stala v roce 2019 největším uživatelem pesticidů s 1,8 miliony tun neboli 42 % z celkového počtu na světě a byla tak daleko před Spojenými státy americkými a Brazílií (0,4 milionu tun každý). Globální spotřeba pesticidů na plochu orné půdy vzrostla v roce 2000 o 28 %, a to z použití 2,1 kg/ha na 2,6 kg/ha, po roce 2010 se však ale opět snížila. Na obrázku č. 2 lze vidět spotřebu pesticidů na plochu orné půdy. Je zde patrné, že nejvyšší průměrná spotřeba pesticidů na plochu orné půdy je v Číně (FAO 2021).



Obrázek 2 Použití pesticidů na hektar orné půdy v roce 2017 (Roser 2019)

Neustálé používání těchto chemikálií však vyvolalo všeobecné obavy z jejich možných rizik. Začaly se objevovat diskuse o vedlejších negativních účincích chemických pesticidů na životní prostředí, které se staly předmětem nedávné legislativy Evropské unie (EU) (směrnice 2009/128/ES, nařízení (ES) č. 1107/2009). Pozornost se také zaměřila na možné vyvolání rezistence vůči působení chemických pesticidů u patogenů prostřednictvím opakovaného použití stejné účinné látky (Compant & Mathieu 2016). Na základě chemických látek lze pesticidy rozdělit do tří skupin: anorganické pesticidy, organické pesticidy a biologické pesticidy (Joshi 2006).

### 3.2.2.1 Chemické nematocidy

Nematocidy lze rozdělit do dvou skupin, a to na kontaktní fumiganty, které hubí hádátka přímo, a na nematostatika, která hádátka po určitou dobu pouze znehybní. Z hlediska aplikace můžeme nematocidy rozdělit na fumiganty a nefumiganty (Perry & Moens 2006). V minulosti bylo účinné hubení hádátek dosahováno pomocí methylbromidu. Používání tohoto produktu bylo však ve vyspělých zemích zakázáno od roku 2005. Zakázán byl z důvodu poškozování ozónové vrstvy ve stratosféře (Sasanelli et al. 2021).

Fumiganty jsou neselektivní pesticidy v plynném stavu (Eisenberg et al. 2007). Jako ochrana proti hádátkům se například používá Metam-Sodný ( $C_2H_4NNaS_2$ –CAS No. 137-32-8–Metam-Na). Jedná se o syntetický chemický produkt, který se aplikuje na půdu postřikem či kapénkovou závlahou, další možností je také přímá injekce přes vstřikovací tyč. Fumiganty jsou pak vneseny do půdy v určité hloubce, kde se poté v plynné formě aktivně pohybují nahoru a dolů (Perry & Moens 2006). Tato poslední varianta je podle mnoha studií nejvíce účinná proti hádátkům, jeho použití je však povoleno pouze v Itálii a Řecku (Sasanelli et al. 2021).

Dalšími možnými pesticidy jsou nefumigantní nematocidy, tyto přípravky jsou již netěkavé. Na trhu jsou dostupné v kapalné či granulové formě. Do této skupiny patří například Fosthiazate (Chitwood 2013) ten je účinný na hádátka rodu *Meloidogyne* spp., *Globodera* spp., *Heterodera* spp. a *Pratylenchus* spp.. Použití tohoto přípravku je povoleno ve všech zemích jižní EU s výjimkou Malty a Portugalska a ve Francii na chráněné plodiny. Ve všech zemích EU kromě Francie na chráněné plodiny může být použit také Oxamyl. Další účinnou látkou je Fluopyram, ten působí svými inhibičními účinky na larvy líhnoucí se z vajíček *Meloidogyne* spp. a cysty *Globodera* spp. a *Heterodera* spp.. Přípravek je účinný i proti hádátku *Ditylenchus dipsaci* na cukrové řepě. Jak je již zřejmé velké množství chemických nematocidů je v některých zemích úplně zakázané, nebo se k zákazu směřuje, jako například u Fluopyram, kde je jeho použití možné pouze do roku 2024 (Sasanelli et al. 2021).



Historicky použití chemických pesticidů vedlo k regulaci škůdců a umožnilo zvýšit výnosy plodin. Taktéž však použití chemických pesticidů může mít nežádoucí účinky na lidské zdraví a životní prostředí. S tím souvisí i intenzifikace výroby potravin, která má vliv především na pokles biologické rozmanitosti, kvality půdy a vody, ale také obavy lidí na jejich zdraví. Může docházet k celé řadě problémům, například k zdravotním rizikům u farmářů (Kvakkestad et al. 2020). Do lidského těla se při přímém vystavení mohou POR dostat čtyřmi způsoby: dermální expozicí, orálně, okem či dýchacími cestami. Jsou zaznamenané nemoci jako rakovina, endokrinní poruchy, respirační stavy, reprodukční problémy a neurologické a kognitivní účinky. Kauzální vztahy mezi účinnými látkami a konkrétním zdravotním rizikem však stále nejsou prokázány (Bremmer et al. 2021).

Dalšími otázkami jsou bezpečnost potravin, zničení a ztráta přirozených nepřátel škůdců, opylovačů a dalších necílových organismů či vznik rezistence vůči škůdcům (Kvakkestad et al. 2020). Převážně dopady a potenciální rizika POR na suchozemské a vodní organismy jsou již poměrně dobře zdokumentovány. Do nejvíce studované skupiny patří ptáci a hmyz. Přičemž z hmyzí říše se dává nejvyšší důraz na opylovači. V důsledku toho došlo k regulaci používání POR na národní úrovni i na úrovni EU. Regulace EU je založena na použití rizikových kritérií a hodnocení rizik. Tato regulace vedla k odstranění řady POR, a to jak přípravků, tak účinných látek z trhu EU. Zavedení nových pracovních mechanismů do produktů je jedním z prostředků, jak zabránit rozvoji rezistence u cílových organismů. Většina dnešních nových produktů je však přeformulováno za použití stávajících účinných látek, jelikož objevování nových účinných látek je v současnosti na poměrně nízké úrovni (Bremmer et al. 2021).

### **3.2.2.2 Regulace používání chemických látek**

Používání chemických látek je upraveno souborem legislativních i nelegislativních norem na úrovni národní, unijní i mezinárodní. K prvním pokusům o sjednocení znění národních zákonů o pesticidech došlo v Evropské unii v 70. letech 20. století. Směrnice Rady 91/414/EHS ze dne 15. července 1991 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh byla vypracována za účelem harmonizace registrace přípravků na ochranu rostlin. Tato směrnice poskytla smíšené řešení stanovením jedinečného seznamu schválených účinných látek ve všech členských státech a zavedla společný registrační postup pro povolování přípravků na ochranu rostlin obsahujících tyto účinné látky. Obsahem směrnice byla též výzva členských států, aby stanovily, že přípravky na ochranu rostlin jsou účinné a nemají žádné škodlivé účinky (Villaverde et al. 2014).

Dalším nařízením pro všechny POR, která jsou uváděná na trh v EU bylo nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1107/2009 ze dne 11. října 2009, které nahradilo směrnici 91/414/EHS a vyřešilo několik nedostatků staré legislativní úpravy (Villaverde et al. 2014). Nové nařízení implementovalo hraniční kritérium pro nežádoucí POR. Tato hraniční

kritéria platí mimo jiné i pro látky karcinogenní, mutagenní, toxické pro reprodukci, endokrinně disruptivní a perzistentní látky, což vedlo ke stažení mnoha chemických pesticidů z trhu (Kvakkestad et al. 2020). Nový právní akt reguluje povolování POR, jejich uvádění na trh, používání a kontrolu v rámci všech členů Evropské unie. Stanovuje také pravidla pro schvalování účinných látek, safenerů a synergentů, která jsou součástí přípravků anebo z nich jsou přípravky složeny. Taktéž se zabývá pravidly adjuvantů a formulačních přísad. Hlavním cílem nařízení je zajištění vysoké úrovně ochrany zdraví lidí a zvířat a životního prostředí a zároveň zlepšení zemědělské výroby a trhu prostřednictvím odstranění překážek při obchodování s přípravky na ochranu rostlin (Trávníčková 2009).

Velkým politickým tématem se stala otázka týkající se zajištění vysoké zemědělské produkce, dosažení požadované kvality potravin a vzhledu potravinářských výrobků společně s tím, jak při takto vysokých nárocích předcházet negativním dopadům na lidské zdraví a životní prostředí (Ministerstvo zemědělství 2018). Mezi politická opatření, která mají potenciál pozitivně ovlivnit dosažení kýžené produkce, kvality a bezpečnosti, patří zvyšování povědomí o nepříznivých účincích pesticidů a seznamování zemědělců s nechemickými metodami ochrany rostlin (Kvakkestad et al. 2020). Zájem na zajištění bezpečné zemědělské produkce má i Evropská unie, která s tímto záměrem přijala směrnici o udržitelném používání chemických pesticidů (2009/128/ES), jejímž cílem je podpořit používání nechemických alternativ k pesticidům, například mikrobiální přípravky na ochranu rostlin, a zlepšit používání integrované ochrany před škůdci (Ministerstvo zemědělství 2018). Kromě toho mohou být důležitými opatřeními nástroje hospodářské politiky, jako je daň z pesticidů. Legislativní regulace pesticidů má velký vliv na nejenom na jejich používání v zemědělské praxi, ale také na vývoj a dostupnost chemických pesticidů a jejich alternativ (Kvakkestad et al. 2020).

V souladu s platnými normami musí u všech POR dojít ke dvoufázovému schvalovacímu procesu. Prvním krokem je schválení účinných látek Evropskou komisí, poté mohou členské státy povolit komerční podobu přípravku, který obsahuje schválené účinné látky (EU 2020). V Evropské unii byla v roce 2011 změněna kritéria pro hodnocení bezpečnosti a vlivu na životní prostředí. Předěšlá kritéria založená na rizicích byla předělána na kritéria, která jsou založená na nebezpečí, což vedlo k poklesu počtu registrovaných chemických produktů (Bremmer et al. 2021).

V roce 2000 bylo v EU registrováno přes 900 účinných látek. Do roku 2008 toto číslo kleslo na 425. Za dalších 10 let v roce 2018 počet účinných látek činil 352, a to včetně 75 látek pro biologickou ochranu. Z toho ale pouze 5–8 % těchto přípravků bylo odstraněno z bezpečnostních důvodů, zatímco velká většina byla dobrovolně stažena žadateli o registraci, kteří si je nechtěli nebo nemohli dovolit z ekonomických důvodů ponechat (EU 2018). Od implementace nové regulace do roku 2019 bylo schváleno celkem 487 účinných látek pro použití v POR (EU 2020).

Od roku 2011 byly podány žádosti o schválení 22 nových účinných látek, z toho 12 bylo schválených, 2 neschválené a 8 z nich ještě v roce 2018 stále čekalo na rozhodnutí o schválení. Během posledních 25 let došlo k dramatickému snížení počtu výzkumných a vývojových společností pracujících na chemikáliích pro využití jako pesticidů. V roce 1991 existovalo více než 20 společností zabývajících se výzkumem a vývojem pesticidů. Prostřednictvím fúzí a ukončením činnosti nyní existuje méně než 10 velkých nadnárodních společností. Negativní vývoj počtu společností, které se zabývají výzkumem a vývojem, je zcela v rozporu s cílem výše zmíněné směrnice 2009/128ES ze dne 21 října 2009, která si v článku 4 klade za cíl podpořit vývoj integrované ochrany rostlin. Výzkum a vývoj pesticidů vyžaduje alokaci značného množství finančních zdrojů. Největší náklady na vývoj jsou způsobeny regulačními překážkami před schválením aktivních látek. Náklady na registraci se za posledních 20 let zdvojnásobily. Doba od objevení účinné látky až po první prodej přípravku může trvat 8–10 let a investice se může vyšplhat až na 250 milionů EUR na sloučeninu. Na trh se dostane nejčastěji pouze jedna z více než 160 000 testovaných sloučenin. Přestože nařízení č. 1107/2009 ze dne 11. října 2009 mělo odstranit překážky na trhu POR, zatím přispívá jen k dalšímu zvyšování nákladů (EU 2018).

V České republice například došlo ke snížení spotřeby POR a pomocných prostředků na ochranu rostlin z 12 809 824 (kg, l) v roce 2016 na 11 046 598 (kg, l) v roce 2020. Za pokles používání POR však nestojí pouze některé zákazy účinných látek, ale také průběh počasí v těchto letech a s tím spojené strategie aplikací POR. Mezi lety 2019 a 2020 došlo k poklesu o 4,34 % (EAGRI 2020).

### **3.2.3 Biologická ochrana rostlin**

Terminologie biologické ochrany se stále vyvíjí, produkty se často nazývají biopesticidy, prostředky biologické ochrany či bioprotektory nebo běžně používané biologické přípravky (Buckwell et al. 2020). Biologická ochrana zahrnuje všechny metody, nástroje, opatření a prostředky ochrany rostlin, které spoléhají na použití prospěšných organismů, jakož i na jejich přirozené mechanismy a interakce, které řídí vztah mezi biologickými druhy v přirozeném prostředí (Bremmer et al. 2021). Bioochrana či biologická ochrana se týká tedy kontroly škůdců, chorob a plevelů na základě přirozeně se vyskytujících sloučenin nebo organismů (Buckwell et al. 2020). Hlavní funkce spočívá v inhibici růstu, snižování množství infekčních částic, omezení rozmnožování a šíření jednoho organismu (patogenu) druhým (bioagens). Pro biologickou ochranu je také důležitá produkce metabolitů, indukce rezistence hostitele, či zařazení avirulentních, inkompatibilních nebo nepatogenních mikroorganismů. K účelnému používání živých organismů se využívají bakterie, houby, viry, hlístice, roztoči a další (Bleša 2019). Organismus, který potlačuje škůdce nebo patogeny je označován jako biologický kontrolní prostředek či bioagens“ (Pal & McSpadden Gardener 2006).

- Někdy bývají činitelé biologické ochrany rozděleni do následujících čtyř kategorií
- 1) Přirození nepřátelé, nazývaní také jako činitelé biologické ochrany či činitelé biologické ochrany bezobratlých nebo také v některých případech makrobiální organismy
  - 2) Mikrobiální činitelé, které jsou založeny na mikroorganismech, jako jsou bakterie, houby, viry, prvoci
  - 3) Semiochemické látky, jako jsou feromony
  - 4) Přírodní látky jako rostlinné výtažky, řasy, zvířata, minerály (Buckwell et al. 2020).

Tito činitelé slouží k potlačení škodlivých organismů (škůdců, původců chorob, plevelných rostlin), omezují jejich vývoj a šíření. Udržují tak jejich škodlivé množství v porostech rostlin pod ekonomickým prahem škodlivosti (Pal & McSpadden Gardener 2006). Na rozdíl od pesticidů biologická ochrana jen zřídka zabije všechny cílové druhy, ale snaží se je zvládnout na úroveň, která je, pod již zmíněným ekonomickým prahem škodlivosti (Helyer et al. 2014). Nejobecněji je biologická ochrana charakterizována jako potlačení škodlivých aktivit jednoho organismu jedním nebo více organismy, často označovanými jako přirození nepřátelé. Pokud jde o choroby rostlin, potlačení lze dosáhnout mnoha způsoby (Pal & McSpadden Gardener 2006). Do této definice mohou být také zahrnuty i veškeré agrotechnické postupy jako jsou rotace plodin, setí a výsadba odolných kultivarů, včetně omezení posklizňových zbytků (Bleša 2019), součástí je také vysazování kultivarů odolných vůči chorobám (ať už přirozeně vybraných nebo geneticky upravených) (Pal & McSpadden Gardener 2006). Taktéž jelikož rostlinný hostitel reaguje na četné biologické faktory, patogenní i nepatogenní, lze indukovanou hostitelskou rezistenci považovat za formu biologické ochrany (Pal & McSpadden Gardener 2006). Biologická ochrana je také součástí celkové integrované ochrany rostlin (Bleša 2019).

### **3.2.3.1 Historie**

Biologická ochrana rostlin představuje multidisciplinární vědní obor, který se vytvářel během 70. let 20. století (Pal & McSpadden Gardener 2006). Představuje soubor technologií, postupů a principů, které se zaměřují na využití přirozených nebo přírodních mechanismů v rámci ochrany kulturních plodin (Bleša 2019). Součástí tohoto oboru nejsou důležité pouze legislativní záležitosti, ale také znalosti interakcí organismů, rostlinolékařství, fytofarmacie, životní cykly chorob a využívaných organismů, etologii, ekologii a jiné (Pal & McSpadden Gardener 2006).

Nejstarší známé zaznamenané použití biologické ochrany bylo využito v jižní Číně již mezi lety 304 a 877 našeho letopočtu. Docházelo k odebírání hnízd mravenců *Oecophylla smaragdina* (mravenec krejčík) z přirozeného prostředí. Hnízda byla poté prodávána pěstitelům citrusových plodů. Ti je umísťovali na jejich ovocné stromy, aby je zbavili škůdců (Mason 2021). *Oecophylla* jsou schopni kontrolovat více než 50 druhů škůdců ve více než 12 různých tropických plodinách (Offenberg et al. 2013). Od té doby hraje biologická ochrana důležitou roli v udržitelném řízení škůdců a ukázala se jako mimořádně úspěšná

v různých situacích a prostředích (Mason 2021). Globálně již biologická ochrana uspěla v mírném i tropickém podnebí, na kontinentech i ostrovech a vyřešila problémy v přírodních ekosystémech, jako jsou lesy, chráněná území a agroekosystémy (Mason 2021).

### 3.2.3.2 Používání biologických přípravků

Přitažlivost biologické ochrany spočívá především v jejím přístupu, který je založen na souladu s přírodou. Je zde snaha pracovat s ekologií rostlin, škůdců, patogenů, přirozených nepřátel a antagonistů. Existuje předpoklad, že metody biologické ochrany budou ze své podstaty méně rizikové, jak pro lidské zdraví, tak pro životní prostředí, a to právě proto, že tyto produkty vznikly a vyvíjely se v přírodě (Buckwell et al. 2020). Používání chemických přípravků na ochranu rostlin je předmětem společenských obav, a to převážně kvůli jejich možným dopadům na lidské zdraví. Tyto obavy pocházejí jak od spotřebitelů, tak od producentů. Také se bere na zřetel působení na životní prostředí, kde se hledí na ztráty biologické rozmanitosti a odolnosti vůči pesticidům (Bremmer et al. 2021). U biologických produktů by mělo být méně starostí o perzistenci, bioakumulaci a rezidua, jelikož se obecně velmi rychle rozkládají a recyklují. Tyto vlastnosti však neplatí automaticky, takže taková tvrzení musí podléhat stejné kontrole jako syntetické produkty. Důležitými otázkami jsou jejich relativní náklady a efektivita, jak je vidí zemědělci, a rozsah, v jakém mohou nahradit syntetické POR nebo v některých případech spolupracovat s konvenčními ochranami plodin (Buckwell et al. 2020).

Biologické přípravky se nejčastěji využívají na hubení hmyzu a eradikaci houbových patogenů. Většina z nich se využívá v zahradnictví, a to zejména pro plodiny pěstované ve sklenících či fóliovnících. Avšak v dnešní době se již některé přípravky používají i pro venkovní plodiny. U biologické ochrany plevelu je však výzkum od 80. let 20. století na ústupu. Většina přípravků na biologickou ochranu plevelu je na trhu v zemích mimo Evropskou unii. Databáze pesticidů EU však obsahuje malý počet biologických přípravků pro kontrolu plevelu na bázi kyselin (kyselina octová, kyselina laurová, kyselina olejová) (Buckwell et al. 2020).

Předpokládá se že do roku 2031 celkový trh se zemědělskými biologickými přípravky dosáhne 19,5 miliardy USD, přičemž trh s biostimulanty bude mít hodnotu 7,5 miliardy USD a trh s biopesticidy dosáhne 12 miliard USD (Dent 2020). Průzkum mezinárodního sdružení výrobců a distributorů biologických přípravků zveřejnil, že v období 2013-2015 makrobiální sektor představoval 40 % z evropského trhu biologické ochrany. Za ním následoval sektor mikrobiální s 24 % na trhu. Přírodní a biochemické produkty 20 % a semiochemický sektor 16 % z evropského trhu (Buckwell et al. 2020).

### 3.2.3.3 Biologicky účinné látky

Jedná se o látky vzniklé působením živých organismů, rostlin nebo mikroorganismů, tedy o sekundární metabolity či produkty fermentace. Bioagens jsou taktéž známé jako přirození nepřátelé nebo užitečné organismy. To znamená, že se vyskytují přirozeně, často v místě výskytu škůdce a jsou přínosem pro pěstitele z hlediska kontroly škůdců (Helyer et al. 2014). Existuje mnoho definic toho, co je škůdce. Nejčastěji je uváděn jako organismus, většinou početný, který je nežádoucí a má negativní vliv na růst rostlin. Škůdcem rostlin tedy může být hmyz, roztoč, hlístice, měkkýš, hlodavec nebo jakýkoli jiný z nespočtených organismů, které se živí nebo poškozují rostliny. Kromě škůdců existuje mnoho patogenů včetně plísňových, bakteriálních, fytoplazmatických a virových organismů (Helyer et al. 2014). Aplikací bioagens tak dochází k nastolení rovnováhy mezi populacemi patogenů (škůdců) a jejich predátorů, což má za následek omezení epidemií a výrazných ztrát po přemnožení (Bleša 2019).

Existují čtyři hlavní kategorie biologických kontrolních organismů pro škůdce: paraziti a parazitoidi, predátoři a patogeny (Pal & McSpadden Gardener 2006).

#### Paraziti

Parazit těží na úkor druhého organismu. Organismus, obvykle fyzicky menší ze dvou (nazývaný parazit), prospívá a druhý (nazývaný hostitel) je do určité měřitelné míry poškozen (Pal & McSpadden Gardener 2006). Parazit je většinu, či část svého vývoje nebo celého života závislý na svém hostiteli. Existují různé typy parazitických vztahů. Obligátní parazité nemohou přežít nezávisle na svém hostiteli, zatímco fakultativní parazité ano. Paraziti mohou, ale nemusí zabít svého hostitele (např. jmelí je parazitická rostlina, která ke svému přežití vyžaduje živou hostitelskou rostlinu) (Helyer et al. 2014).

#### Parazitoidi

Mají obvykle volně žijícího dospělce a larvální stádium, které se vyvíjí uvnitř nebo vně jediného hostitelského organismu (Mason 2021). Nakonec hostitele zabíjí, což je velkým přínosem z hlediska biologické ochrany (Helyer et al. 2014). V programech biologické ochrany představují parazitoidi významnou roli. Do roku 2010 bylo provedeno třikrát více introdukcí parazitoidů (2 588) při kontrole škůdců dřevin než ve srovnání s predátory (838). Parazitoidy lze dále klasifikovat jako ektoparazitoidy, ti se usazují na hostiteli nebo vedle něj a larvy se živí jedním nebo více hostitelskými jedinci, dokud se nezakuklí a endoparazitoidy, kteří dokončují svůj vaječně-larvální vývoj uvnitř těla hostitele a vystupují, aby se zakuklili a morfovali do dospělosti (Mason 2021).

#### Predátoři

Napadají a živí se výhradně zvenčí hostitele. Nejčastěji dochází k propíchnutím kutikuly hostitelského organismu a poškozením jeho vnitřních orgánů. U mnoha dravých druhů hmyzu

se larvální stádium aktivně živí kořistí (Helyer et al. 2014). Jejich hodnota pro programy biologické ochrany je primárně v uzavřených prostorech, kde mohou být různé druhy škůdců spotřebovány jediným druhem predátora (Mason 2021).

## **Patogeny**

Jedná se o choroboplodné organismy, které zabíjejí parazitismem buď přímo, nebo v důsledku toxinů, které ničí vnitřní orgány hostitelů a umožňují množení patogenu. Téměř ve všech případech je hostitelský organismus zabit a jsou nadále produkovány další prospěšné látky (Helyer et al. 2014). Jedná se o houby, viry a bakterie. Jejich akce jsou namířeny buď do samotné rostliny, nebo do půdy. Jejich úlohou je chránit a předcházet infekci rostliny patogenem. Kromě toho vybrané látky biologické ochrany (také nazývané biofungicidy) jsou považovány za vysoce specifické pro patogenní kmen a nevyvolávají žádné nepříznivé účinky na necílové druhy (Mason 2021).

K interakci musí mít organismy nějakou formu přímého nebo nepřímého kontaktu. Typy interakcí jsou označovány jako mutualismus, komenzalismus, neutralismus a konkurence (Pal & McSpadden Gardener 2006).

## **Mutualismus**

Spojení mezi dvěma nebo více druhy, kde oba druhy mají prospěch. Může se jednat o obligátní celoživotní interakci zahrnující blízký fyzikální a biochemický kontakt, jako jsou interakce mezi rostlinami a mykorrhizními houbami. Známé jsou však i obecně fakultativní a oportunistické. Například bakterie rodu *Rhizobium* se mohou množit jak v půdě, tak v mnohem větší míře prostřednictvím vzájemného spojení s rostlinami luskovin. Tyto typy vzájemnosti mohou přispívat k biologické ochraně tím, že rostlinu obohacují vylepšenou výživou a/nebo stimulují obranyschopnost hostitele (Pal & McSpadden Gardener 2006).

## **Komenzalismus**

Symbiotická interakce mezi dvěma živými organismy, kde jeden organismus má prospěch a druhý není ani poškozován, ale ani neprospívá (Pal & McSpadden Gardener 2006).

## **Neutralismus**

Popisuje biologické interakce, kdy hustota populace jednoho druhu nemá absolutně žádný vliv na druhý druh. Antagonismus mezi organismy vede naopak k negativnímu výsledku pro jeden nebo oba (Pal & McSpadden Gardener 2006).

## **Konkurence**

V rámci druhů a mezi nimi vede konkurence ke snížení růstu, aktivity nebo plodnosti interagujících organismů (Pal & McSpadden Gardener 2006).

### 3.2.3.3.1 Biostimulanty

Jedná se o biologicky odvozené látky, které mohou být aplikovány na rostliny nebo do půdy pro zlepšení příjmu živin a toleranci stresu, dochází tedy k pozitivnímu účinku na celou rostlinu. Jedná se například o ošetření semen geneticky modifikovanými bakteriemi vázající dusík, čímž zvyšují příjem živin kořeny u dané rostliny a vytváří s ní tak symbiotický vztah. Biostimulanty mohou zlepšovat odolnost plodin, snížit potřebu chemických hnojiv, zvýšit výnosy a zlepšit udržitelnost (Dent 2020). Jedná se o materiály jiné než hnojiva, které podporují růst rostlin, jsou-li aplikovány v malých množstvích. Biostimulanty jsou dostupné v několika formulacích a s různými přísadami, ale obecně jsou klasifikovány do tří hlavních skupin na základě jejich zdroje a obsahu. Tyto skupiny zahrnují huminové látky, produkty obsahující hormony a produkty obsahující aminokyseliny. Jako produkty obsahující hormony jsou využívány extrakty z mořských řas, obsahující identifikovatelná množství aktivních látek pro růst rostlin, jako jsou auxiny, cytokininy nebo jejich deriváty (Jardin 2015).

### 3.2.3.3.2 Biopesticidy

Terminologie biologické ochrany se stále vyvíjí, produkty nabízející takovou kontrolu se často nazývají biopesticidy či prostředky biologické ochrany, bioprotektory nebo běžně používané biologické přípravky (Buckwell et al. 2020). Vždy se však jedná o přípravky, které jsou odvozené z živých organismů, živočichů, hmyzu, hádčátek, rostlin, bakterií a virů, které regulují škodlivé organismy (GOPA 2019). Biopesticidy nebo přírodní POR jsou odvozeny z rostlinného (např. *Pyrethrum*), mikrobiálního (např. *Bacillus thuringiensis*) nebo minerálního původu (např. síra) či zahrnují živé mikroorganismy (organismy biologické ochrany: kvasinky, bakterie, houby...). Ty působí prostřednictvím soutěže o prostor nebo živiny, prostřednictvím produkce antibiotik, prostřednictvím parazitismu nebo prostřednictvím indukce obrany rostlin (Keulemans et al. 2019).

Termín biopesticid lze z legislativního hlediska používat pouze v případě, že je pro daný účel registrován. Stejná pravidla platí jak pro účinný agent, tak pro konečný přípravek. Nelze tedy za biopesticid považovat přípravek, u kterého nebyl ověřený jeho účinek na škodlivý organismus. Toto platí především u přírodních látek se stimulačním a regulačním účinkem, taktéž u produktů, které ovlivňují přirozenou odolnost rostlin či biologickou rovnováhu v půdě a prostředí (Kuthan & Trubská 2017).

Na celém světě zemědělci aplikují ročně pesticidy v hodnotě přibližně 40 miliard USD (Popp et al. 2013). Míra růstu biopesticidů v posledních desetiletích stoupá. Zemědělské biologické přípravky za posledních několik let dosáhly ročního obratu kolem 2,3 miliardy USD. Z toho přibližně dvě třetiny z 2,3 miliard USD připadají na samotné mikrobiální přípravky (GOPA 2019). V roce 2016 představovaly biopesticidy 5,6 % z celkového prodeje ochrany rostlin ve srovnání s 0,4 % v roce 1993 (Keulemans et al. 2019). Předpokládá se, že celosvětový trh s bioagents do roku 2024 dosáhne 4 miliard USD z 2 miliard USD v roce 2016. Stejný



rostoucí trend se předpokládá i u globální investice do biopesticidů. V současnosti se celosvětově prodává kolem 1 400 biopesticidů (GOPA 2019). Přibližně se jedná však pouze o 1 000 účinných látek. V současné době je v EU registrováno a komerčně využíváno 68 biopesticidních účinných látek. Ve Spojeném království je v dnešní době na trhu dostupných pouze 5 mikrobiálních produktů, zatímco v Německu je k dispozici přibližně 10 a ve Francii a Nizozemsku 15 (Balog et al. 2017). Na USA připadá 40 % celosvětového používání biopesticidů, následuje Evropa (20 %) a Oceánie (20 %) (GOPA 2019). V USA portfolio biopesticidů zahrnuje 400 registrovaných biopesticidně aktivních složek. Celkový počet biopesticidů dosáhl v Indii přibližně 1 000. Odvětví biopesticidů v Brazílii se za posledních pět let zvýšilo a je registrováno přibližně 100 aktivních látek (Balog et al. 2017). Ze všech dnes používaných biopesticidů tvoří mikrobiální biopesticidy největší skupinu širokospektrálních biopesticidů, které jsou specifické pro škůdce. Více než 200 mikrobiálních biopesticidů je dostupných ve 30 zemích přidružených k Organizaci pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (Shukla et al. 2019).

Biopesticidy lze používat v ekologickém i konvenčním zemědělství, avšak stále více se používají právě v ekologickém zemědělství. V roce 2016 tvořily 5,6 % z celkového prodeje POR (Keulemans et al. 2019). Biopesticidy mají oproti syntetickým chemickým pesticidům několik výhod. Obvykle jsou ze své podstaty méně toxické než konvenční pesticidy a obecně ovlivňují pouze cílového škůdce a blízce příbuzné organismy, na rozdíl od širokého spektra konvenčních pesticidů. Ty mohou ovlivnit organismy odlišné od cílových organismů, jako jsou ptáci, hmyz či savci (Dent 2020). Obecně se tedy uznává, že biopesticidy mají méně toxické účinky na necílové organismy než syntetické POR používané v konvenčním zemědělství, a zdá se logické, že mají menší dopad na biologickou rozmanitost a znečištění vod (Keulemans et al. 2019). Biopesticidy jsou také často účinné ve velmi malých množstvích, rychle se rozkládají, což vede k nižší expozici a předchází některým problémům se znečištěním způsobeným konvenčními pesticidy. Zároveň pokud jsou biopesticidy použity jako součást strategií integrované ochrany rostlin (IOR), mohou výrazně snížit používání konvenčních pesticidů, aniž by negativně ovlivnily výnosy plodin (Dent 2020). I přes to, že jsou tyto přípravky často identifikovány jako udržitelnější alternativy k chemickým aktivním látkám, je potřeba prokázat jejich bezpečnost pomocí vhodného posouzení rizik, které se opírá o vhodný soubor údajů. Současné požadavky na údaje a zásady hodnocení jsou však nyní často kritizovány jako příliš nákladné a nevhodné pro vývojáře inovativních mikroorganismů nebo látek biologického původu, které často nacházejí pouze mezery na trhu (GOPA 2019).

#### **3.2.3.4 Postoj Evropské unie k biopesticidům**

Dle výkladu Evropské unie jsou biopesticidy definovány jako forma pesticidu založených na mikroorganismech nebo přírodních produktech. Pocházejí z přírody, neškodí člověku a mají minimální dopad na životní prostředí, i přes to jsou klasifikovány jako účinné látky podle předpisů EU. Schválení a použití biologických přípravků na ochranu rostlin tedy

podléhá kritériím pro schválení účinné látky stanoveným v nařízení (EC/1107/2009) (Villaverde et al. 2014). Vzhledem k této neuspokojivé situaci odvětví biologické ochrany důrazně tvrdí, že nařízení EC/1107/2009, které bylo navrženo pro syntetické účinné látky a přípravky, není vhodné pro schvalování a povolování biologických přípravků na ochranu rostlin. Zemědělský a potravinářský průmysl požaduje samostatný proces schvalování biologicky aktivních látek a přípravků na ochranu rostlin. Tvrdí, že kritéria pro biologické látky jsou pro produkty přírodního původu často příliš přísná. V současné době musí biopesticidy překonávat překážky v podobě vyžadovaného zdokonalování formulací, pomalejší kontroly škůdců a vyšších výrobních nákladů ve srovnání s konvenčními agrochemikáliemi. Stejně tak čelí biopesticidy problémům souvisejícím s registrací pro jejich komercializaci (Bremmer et al. 2021).

Povolovací řízení pro všechny pesticidy, a to i včetně biopesticidů, představuje časově, administrativně i finančně náročný proces. Zároveň je výroba biopesticidů oproti chemickým látkám mnohem složitější. Ceny za registraci biopesticidu se obvykle vyšplhají na úroveň 100 000 až 200 000 EUR. Investice takového rozsahu si v mnohých případech nemohou společnosti dovolit. Proto je mnoho produktů v dnešní době uváděno na trh pouze jako pomocné látky. U takovýchto látek ale nelze uvádět ani deklarovat jakýkoliv účinek na škodlivý organismus (Kuthan & Trubská 2017). Vývoj a registrace biopesticidu trvá v průměru 3 až 6 let a je potřebná investice ve výši 15–20 milionů USD ve srovnání s 10 lety a 200 miliony USD u syntetických pesticidů. Tyto faktory mohou společně představovat překážku, která odradí výrobce biopesticidů od zacílení na trh EU. Pokud se i přesto výrobci rozhodnou vstoupit na evropský trh, musí ve svém podnikatelském plánu počítat s dlouhým schvalovacím procesem (Popp et al. 2013).

Některé biopesticidy však disponují důležitými přednostmi, díky kterým moderní legislativa zvýhodňuje jejich používání. Jednou z předností se jeví způsob využití biopesticidů jako nástrojů pro kontrolu vývoje rezistence rostlin vůči konvenčním pesticidům, které jsou v současnosti dostupné. Při použití biopesticidů je též omezen dopad na necílové organismy. Je třeba poznamenat, že některé biopesticidy mají poměrně široké spektrum účinnosti např. *Bacillus thuringiensis* a další účinné látky z přírodních produktů. To podporuje jejich široké použití a dobré pronikání na trh (Villaverde et al. 2014). Přísnější předpisy aplikovatelné na chemické pesticidy v kombinaci s rostoucí poptávkou po zemědělských produktech s pozitivním environmentálním a bezpečnostním profilem tedy zvyšuje zájem o biopesticidy (Popp et al. 2013).

### **3.3 Použití biologických přípravků u nás a v cizině**

V dnešním světě ve většině vyspělých zemích převažuje snaha o co největší snížení cizorodých látek, které zatěžují životní prostředí. Hlavní důraz na obsah látek se projevuje při výrobě potravin, kde jsou kladeny nároky na nulový obsah reziduí. Nejvíce využívané jsou

biopesticidy, a to převážně v ekologickém zemědělství. Zde se nejvíce využívají při pěstování zeleniny, v integrované produkci ovoce a révy, a taktéž v okrasném zahradnictví, či při údržbě veřejné zeleně. Biopesticidy představují z celkového obratu pesticidů (1,2 bilionu EUR, 2017) 3,4 % až 4 % (Kuthan & Trubská 2017). Trh s biokontrolními činidly tvoří 3,6 miliardy EUR celosvětově a v Evropě se jedná o částku 900 milionů EUR (Vekemans & Marchand 2020). Tato čísla se však postupně zvyšují, jelikož v některých evropských zemích je prodej biologických přípravků významný pro jejich stále se zvyšující ekoprodukci a tak je toto odvětví čelí nadměrnému rozvoji. Například ve Francii se 8 % trhu ochrany rostlin zabývá biologickými přípravky. To představuje téměř 170 milionů EUR. V Belgii například biopesticidy tvoří až 10 % obratu ze všech POR s každoročním nárůstem o 60 %. Taktéž Japonsko, Indie a některé další asijské státy jsou země, které mají již velmi dlouhou tradici v používání biopesticidů. V roce 2016 bylo v USA registrováno 299 biopesticidních přípravků, pro porovnání bylo v tomto roce celkem registrováno 1 401 přípravků (Kuthan & Trubská 2017).

Udává se, že do roku 2010 se na celém světě provedlo více než 6 000 introdukcí parazitoidů a predátorů. Tyto organismy byly použity proti 588 hmyzích škůdců a přispěly k regulaci 172 škůdců. V roce 2017 se celosvětový trh s makroorganismy odhadoval na 481,4 mil. USD, na rok 2022 se odhaduje že globální trh s makroorganismy dosáhne až 788,0 mil. USD (Navrátilová 2019). S 20% ročním růstem a se současným stálým nárůstem tržní poptávky po produktech biologické ochrany jsou tyto produkty nyní velmi atraktivním a rostoucím obchodním sektorem. V Evropské unii jsou biokontrolní činidla uvedena ve čtyřech pilířích, a to jako makroorganismy, mikroorganismy, semiochemické látky a látky přírodního původu včetně rostlinných. Všechny účinné látky jsou stanovené podle nařízení (ES) č. 1107/2009 s výjimkou makroorganismů, které nejsou regulovány na evropské úrovni (Vekemans & Marchand 2020).

Evropa má zatím stále omezený počet biopesticidů. Například na seznamu účinných látek Annex I podle směrnice EU 91/414/CEE bylo v roce 2016 v Evropské unii zařazeno pouze 6 účinných látek a to konkrétně *Paecilomyces fumosoroseus*, Apopka kmen: 97 jako insekticid, *Coniothyrium minitans*, kmen: CON/M/91-08 a *Ampelomyces quisqualis*, kmen: AQ 10 jako fungicidy, Laminarin jako elicitor, *Pseudomonas chlororaphis*, kmen: MA 342 jako fungicidní mořidlo a *Gliocladium catenulatum*, kmen: J1446 taktéž jako fungicid účinný proti *Botrytis cinerea* (Kuthan & Trubská 2017). Ve stejném roce bylo povoleno v České republice 11 biologických přípravků na bázi 4 mikroorganismů (Navrátilová 2019). Z toho se v České republice používaly pouze tři biopesticidy. Nejvíce používaný byl biopesticid na bázi *Coniothyrium minitans* kmene CON/M/91-08 (DSM 9660), dále tři druhy vosiček rodu *Trichogramma*. Také *Pythium oligandrum* v přípravku Polyversum a účinná látka spinosad (Kuthan 2020).

V roce 2019 bylo již v Evropské unii povoleno 49 mikroorganismů, pro využití jako účinné látky do biologických přípravků, z toho v České republice bylo povoleno pouze 8 mikroorganismů a na jejich bázi 20 přípravků na ochranu rostlin (Navrátilová 2019).

Evropskou unií v roce 2021 již bylo povoleno 75 mikroorganismů jako účinné látky biologických přípravků. V České republice je zatím povoleno z těchto 75 pouze 8 mikroorganismů a na jejich bázi se vyrábí 20 biologických přípravků. Pokud bychom se ale podívali, jaké látky jsou u nás nejvíce používané zjistíme, že se v praxi používá pouze velmi malá část z nich. Největší část na trhu zaujímá podle statistiky ÚKZÚZ *Coniothyrium minitans*, ten se využívá na ochranu v olejninách a zelenině. Za ním následuje *Pythium oligandrum M1*, ten se využívá taktéž v obilninách a v olejninách. Dále *Bacillus thuringiensis* používaný v zelenině, ovoci a révě. Ve statistikách ÚKZÚZ nejsou zahrnuty živé organismy, tedy bioagents. V České republice se nejvíce uplatňuje vosička *Trichogramma* používaná na ochranu kukuřice a také roztoč *Phytoseilus persimilis* na ochranu chmele (Kuthan 2021).

Podle statistik je zřejmé, že podíl biopesticidů na našem trhu je pod 1 %, což je oproti udávaným 3 % na celosvětovém trhu velmi málo. Například podíl biopesticidů ve Francii představuje až 9,5 % trhu (Kuthan 2021).

### 3.3.1 Registr biologických přípravků v České republice i ve světě

V Evropské unii je registrováno méně biopesticidně účinných látek než ve Spojených státech, Indii, Brazílii nebo Číně, a to z důvodu dlouhých a složitých registračních procesů v EU, které se řídí vzorem pro registraci konvenčních pesticidů (Damalas & Koutroubas 2018). I v České republice je značným problémem dostupnost biologických preparátů. Větší část přípravků kvůli náročnosti na registraci pro povolení přípravků nespadá do kategorie biologických přípravků na ochranu rostlin. Tyto preparáty se prodávají nejčastěji jako hnojiva pro podporu zdravotního stavu. Jedná se například o Gliorex s mikroorganismy rodu *Clonostachys* a *Trichoderma*, Hirundo (*Bacillus amyloliquefaciens*), Prometheus CZ (*Pseudomonas veronii*), Clonoplus (konidie kmenů hub rodu *Clonostachys*). Tyto přípravky fungují na principu vytváření podmínek vhodných pro oba organismy, kdy dochází ke kolonizaci kořenů rostlin prospěšnými mikroorganismy. Kulturní plodina pro sebe získá minerální látky a její kořeny jsou chráněny proti stresovým faktorům. Mikroorganismy mohou být schopné rozkládat organické látky v půdě a tím zlepšovat příjem živin (Kuthan & Trubská 2017).

Výrobky, které jsou na bázi povolených biopesticidů Evropskou unií je pak možné registrovat v jednotlivých členských státech. Francie, Belgie, Dánsko a Skandinávské státy mají širokou sestavu registrovaných biopesticidů. Je to ale především dáno různými celostátními projekty, jako je například ve Francii ÉCOPHYTO. Tento projekt slouží k značnému snížení

spotřeby pesticidů v zemi. Taktéž jsou v některých zemích, například v Dánsku biopesticidy zatíženy nižší daňovou sazbou (Kuthan & Trubská 2017).

Do roku 2020 se do českého registru povolených biopesticidů dostalo dalších několik biologických prostředků. Tyto pesticidy byly však na úrovni Evropské Unie registrovány již dříve. Konkrétně jsou to tyto prostředky (Kuthan 2020).

#### **Biopreparáty proti chorobám:**

Jednalo se o *Coniothyrium minitans*, kmen CON/M/91-08 (DSM 9660) (přípravek Euro-Chem Thyriumtans, Contans WG), dále *Bacillus amyloliquefaciens*, kmen MBI 600 (přípravek Integral Pro), také *Bacillus firmus*, kmen I-1582 (přípravek VOTIVO) (Kuthan 2020), Virus mozaiky pepino, kmen CH2 isolate izolát 1906 (přípravek PMV-01), *Pythium oligandrum* M1 (přípravek Green Doctor, a další) (Navrátilová 2019), *Pseudomonas* sp. kmen DSZM 13134 (přípravek Proradix), *Bacillus amyloliquefaciens* (dříve *Bacillus subtilis*), kmen QST 713 (přípravek Serenade ASO) (Kuthan 2020).

#### **Produkty proti škůdcům:**

Insekticidní biopreparáty: *Cydia pomonella* Granulovirus (CpGV) (přípravek Carpovirusine), dále *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, kmen SA-11 (přípravek Delfin WG) a také *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*, kmen EG 2348 (přípravek Lepinox Plus) (Navrátilová 2019).

Bioagens: *Heterorhabditis bacteriophora* (přípravek Dianem) a *Trichoderma asperellum*, kmen T 34 (přípravek Xilon GR) (Kuthan 2020).

Některé přípravky jsou zatím stále v probíhajícím schvalovacím procesu povolení jedná se například o *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB24, *Bacillus pumilus* QST 2808, *Trichoderma atroviride* strain SC1 a *Trichoderma harzianum* strains T-22 a ITEM 908 (Navrátilová 2019).

#### **3.3.1.1 Biologické nematocidy**

Během posledních dvou desetiletí bylo dosaženo rychlého pokroku v různých aspektech produkce a použití bionematocidů (Abd-Elgawad & Askary 2018). V dnešní době je již dobře zdokumentována účinnost nematofágních bakterií a hub využívaných na kontrolu cystotvorných a kořenových háďátek (Phani et al. 2021).

Bakterie představují početně nejhojnější organismy v půdě a některé z nich, například zástupci rodů *Pasteuria*, *Pseudomonas* a *Bacillus*, prokázaly značný potenciál pro biologickou ochranu háďátek (Tian et al. 2007). Nejvíce prozkoumané jsou parazitické bakterie *Pasteuria* spp., a to převážně díky jejich kontrolnímu potenciálu u fytoparazitických háďátek, snadné laboratorní výrobě a adaptační schopnosti v různých zemědělských systémech (Abd-

Elgawad & Askary 2018). Bakterie ovlivňují hádátka různými způsoby, například parazitováním, produkcí toxinů, antibiotik nebo enzymů, soutěží o živiny, navození systémové rezistence rostlin a podpory zdraví rostlin. Tvoří síť s komplexními interakcemi mezi bakteriemi, hádátky, rostlinami a prostředím pro kontrolu populací rostlinných parazitických hádátek v přírodních podmínkách (Tian et al. 2007). Při ošetření rostlin bakteriemi podporující růst rostlin je možné pozorovat nárůst biomasy, zvýšení obsahu dusíku, fosforu a železa, zvýšení délky kořenů a výhonků, zlepšení klíčení semen, větší odolnost vůči chorobám a různým environmentálním stresům, zvýšenou produkci užitečných sekundárních metabolitů a zlepšení výživy rostlin. Vliv bakterií na populační hustotu fytoparazitických hádátek je zvláště zajímavý v případech rodů *Bacillus*, *Pseudomonas* a *Serratia*, které prokázaly nejvyšší účinnost jako bakterie podporující růst rostlin v biologické ochraně za poslední dvě desetiletí (Migunova & Sasanelli 2021).

Většina bakteriálních nematocidů je registrována v USA a Brazílii. Na trhu produktů používaných k podpoře růstu rostlin a biologické ochraně převládají bakterie *Bacillus subtilis* a *B. amyloliquefaciens*. V Evropě jsou *B. amyloliquefaciens* FZB42 a *Bacillus firmus* I-1582 dva mikrobiální biologické nematocidy schválené pro použití proti parazitickým hádátkům v zeleninových plodinách (Migunova & Sasanelli 2021).

Na základě mechanismů působení mohou být nematofágní bakterie rozlišeny na parazitické bakterie a neparazitické rhizobakterie. V současnosti, na základě jejich způsobu působení, nematofágní bakterie zahrnují obligátní parazitické bakterie, oportunní parazitické bakterie, rhizobakterie, bakterie vytvářející spory s Cry proteiny, endofytické bakterie a symbiotické bakterie (Tian et al. 2007).

### **3.3.1.2 Obligátní parazitické bakterie**

Do této skupiny jsou řazeni druhy rodu *Pasteuria*. Řada bakteriálních druhů tohoto rodu prokázala velký potenciál jako biologické prostředky proti hádátkům parazitujícím na rostlinách. Vyskytují se po celém světě a byly hlášeny z nejméně 51 zemí. Jedinci tohoto rodu infikují 323 druhů hádátek patřících do 116 rodů, včetně hádátek parazitujících na rostlinách i volně žijících hádátek. Bylo pozorováno, že většina ekonomicky významných rostlinných parazitických hádátek je parazitována těmito bakteriemi. Druhy bakterií infikující hádátka jsou *P. penetrans*, která primárně parazituje na kořenových hádátcích, jako je *Meloidogyne* spp.. Dále *P. thornei*, která taktéž parazituje na kořenových hádátcích tentokrát ale *Pratylenchus* spp.. Další bakterií je *P. nishizawae*, která se vyskytuje na cystotvorných hádátcích rodů *Heterodera* a *Globodera* (Tian et al. 2007).

### 3.3.1.3 *Oportunní parazitické bakterie*

Tyto bakterie jsou zastupovány *Brevibacillus laterosporus* kmen G4 a *Bacillus* sp. B16. Bylo hlášeno, že různé izoláty *B. laterosporus* jsou schopné usmrtit fytoparazitická hádátka *Heterodera glycines*, *Trichostrongylus colubriformis* a *Bursaphelenchus xylophilus* (Tian et al. 2007).

### 3.3.1.4 *Rhizobakterie*

Aerobní sporotvorné bakterie převážně *Bacillus* spp. a *Pseudomonas* spp. patří mezi dominantní populace v rhizosféře, které jsou schopny regulovat hádátka. Četné kmeny *Bacillus* mohou potlačovat škůdce a patogeny rostlin či podporovat růst rostlin (Tian et al. 2007). Nejdůkladněji je nejspíše prostudován *B. subtilis*. Kromě toho řada studií uvádí přímý antagonismus jiných *Bacillus* spp. vůči fytoparazitickým druhům hádátek patřících do rodů *Meloidogyne*, *Heterodera* a *Rotylenchulus*. Mezi další rhizobakterie, u kterých se uvádí, že vykazují antagonistické účinky proti hádátkům, jsou členové těchto rodů *Actinomyces*, *Alcaligenes*, *Aureobacterium*, *Beijerinckia*, *Clavibacter*, *Comamonas*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Gluconobacter*, *Hydrogenophaga*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Phyllobacterium*, *Rhizobium*, *Stenotrophomonas*, *Variovorax* (Tian et al. 2007), dále také *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Serratia*, *Burkholderia* sp, *Bacillus*, *Chromobacterium* a *Corynebacterium* (Migunova & Sasanelli 2021).

Rhizobakterie redukuje populace hádátek především regulací jejich chování. Například narušováním rozpoznávání rostlin a hádátek, soutěží o základní živiny, podporou růstu rostlin, navozením systémové rezistenci. Také působí přímo antagonisticky prostřednictvím produkce toxinů, enzymů a dalších metabolických produktů. Účinky těchto toxinů zahrnují potlačení reprodukce hádátek, líhnutí vajíček a přežití larev, stejně jako přímé zabíjení hádátek (Tian et al. 2007).

### 3.3.1.5 *Bakterie vytvářející spory s Cry proteiny*

Do této skupiny řadíme *Bacillus thuringiensis*, který vytváří spóry obsahující proteinové částice, tvořící toxiny, o kterých je známo, že jsou toxické pro širokou škálu druhů. Dnes je známá existence šesti proteinů Cry (Cry5, Cry6, Cry12, Cry13, Cry14, Cry21), které jsou toxické pro larvy řady volně žijících nebo parazitických hádátek (Tian et al. 2007).

### 3.3.1.6 *Endofytické bakterie*

Tyto bakterie podporují růst rostlin a inhibují rozvoj chorob a škůdců hádátek. Několik bakteriálních druhů vykazuje aktivitu proti kořenovému hádátku *Pratylenchus penetrans* (Tian et al. 2007).

### 3.3.1.7 Symbiotické bakterie

*Xenorhabdus* spp. a *Photorhabdus* spp. jsou bakteriální symbionti háďátek druhů *Steinernema* spp. a *Heterorhabdus* spp.. Předpokládá se, že přispívají k symbiotické asociaci tím, že zabíjejí hmyz a poskytují tak vhodné živné prostředí pro reprodukci háďátek. V posledních letech byl však popsán potenciálně antagonistický účinek na fytoparazitická háďátka. Podle dalších výzkumů se předpokládá, že symbiotické bakterie jsou zodpovědné za potlačení háďátek, a to prostřednictvím produkce obranných sloučenin. Zatím byly identifikovány tři typy sekundárních metabolitů a to amoniak, indol a derivát stilbenu. Tyto metabolity jsou toxické pro larvy *Meloidogyne incognita* a pro larvy i dospělé *Bursaphelenchus xylophilus*. K inhibici líhnutí vajíček může docházet také u *M. incognita* (Tian et al. 2007).

### 3.3.2 Legislativa v České republice

V poslední novele zákona č. 299/2017 Sb., kterým se mění zákon č. 326 /2004 Sb. o rostlinolékařské péči, bylo umožněno povolování biologických přípravků na bázi mikroorganismů a bioagens bez úhrady nákladů vzniklých při provádění příslušných odborných úkonů poplatků na hodnocení. Taktéž ministerstvo zemědělství, a především ÚKZÚZ má snahu realizovat metodické zázemí, podávat informace o racionální, efektivní a šetrné ochraně rostlin. Jedním z těchto nástrojů je Rostlinolékařský portál, který slouží jak pro poradenská centra, tak pro odborné poradce, ale i pro jednotlivé zemědělce (Navrátilová 2019).

### 3.3.3 Dotace v České republice

V České republice existuje dotační podpora na biologickou imunitu. Jedná se o dotační program 3. a. (Biologická ochrana jako náhrada chemické ochrany rostlin). Předmětem dotace je zvýšení kvality rostlinné produkce za použítá biologické ochrany náhradou za chemické ošetření, prevence proti šíření závažných virových a bakteriálních chorob a chorob přenosných osivem a sadbou z hospodářského hlediska. Jsou hrazeny náklady na pořízení biologické ochrany rostlin (Navrátilová 2019). Počty žadatelů o tento program se každoročně zvyšují, což lze pozorovat na zvyšujících se hodnotách vyplácených dotací. Za rok 2020 bylo vyplaceno 16,6 milionů korun a bylo vyplaceno celkem 149 subjektů (EAGRI 2020). Přesto je ale zatím tato dotace pro mnoho zájemců o biopesticidy málo atraktivní (Kuthan 2021).

Pro rok 2022 bude výše dotace poskytována u zeleninových druhů pěstovaných ve skleníku do výše 80 %, avšak maximálně do výše u okurek 227 200 Kč/ha, u rajčat 181 906 Kč/ha a u paprik 74 560 Kč/ha. U polní plodiny slunečnice do výše 50 %, maximálně však do výše 290 Kč/ha. U polních plodin či u skupiny polních plodin, do výše 25 %, i zde však maximálně do výše 384 Kč/ha u řepky olejky, u kukuřice 450 Kč/ha, u obilovin 518 Kč/ha, a u luskovin 366 Kč/ha. U okrasných rostlin je dotace do výše 40 % (Státní zemědělský intervenční fond 2021).



### 3.4 Hádátka škodící na ovocných plodinách

Fytoparazitická hádátka (zástupci kmene Nematoda – hlístice) patří mezi významné, přesto v praxi často opomíjené škůdce polních plodin. Hlístice jsou nejpočetnější živočichové na Zemi, běžně se vyskytující v půdě či ve vodě, včetně oceánů (Bahadur 2021). Vyskytují se volně žijící nebo jako parazité rostlin i zvířat. Přestože se nacházejí téměř na každém stanovišti, jedná se v podstatě o vodní živočichy. Pohyb a aktivní život hlístic závisí na vlhkosti, a proto půdní vlhkost, relativní vlhkost a další faktory prostředí přímo ovlivňují jejich přežití (Perry & Moens 2006). Tělo hlístic je dlouhé, úzké a vláknité ("nema" řecky nit), ale není segmentované jako například tělo žížal (Kiontke & Fitch 2013).

Téměř 99 % všech známých hádátek má dlouhý, tenký válcovitý tvar těla, který je kulatý v průřezu a zužuje se k oběma koncům, i když obvykle více k zadnímu nebo ocasnímu konci. Volně žijící hádátka a hádátka parazitující na rostlinách jsou většinou menší než 1 mm na délku, i když některé druhy mohou tuto délku výrazně překročit. Většina druhů rostlinných parazitických hádátek žije na kořenech rostlin nebo kolem nich (Perry & Moens 2006). Živí se proto převážně podzemními rostlinnými pletivy, jako jsou kořeny, oddenky, hlízy, cibule a podzemními plody. Jsou proto považována za „neviditelné nepřátele“, jelikož symptomy na rostlinách se naopak vyskytují na nadzemních částech a jsou často zaměňovány s příznaky abiotického stresu, jako je nedostatek dusíku nebo nedostatek vody. Některé druhy hádátek se však mohou živit orgány, jako jsou stonky, listy, květy, plody a semena (Lopes-Caitar et al. 2019).

V současné době je popsáno pouze okolo 4 100 druhů fytoparazitických hádátek, což představuje 15 % z celkového počtu známých druhů hádátek. Odhaduje se, že jeden akr (0,4 ha) orné půdy může obsahovat až 3 mld. hádátek (Perry & Moens 2006). Společně fytoparazitická hádátka představují důležitou překážku v poskytování globální potravinové bezpečnosti. Pouze malé procento z těchto 4 100 známých druhů je však rozšířeno a způsobuje značné ztráty rostlinné produkce (Singh et al. 2013). V současné době se jedná celkem o 25 rodů fytoparazitických hádátek, které jsou ekonomickými škůdci plodin, z toho deset nejdůležitějších rodů hádátek má význam na globální úrovni (Bahadur 2021). Odhady ztráty výnosu jsou však dostupné hlavně pro ty druhy, jejichž patogenita nebo schopnosti způsobovat onemocnění jsou již dobře známy. Údaje o ekonomických dopadech většiny parazitických hádátek však zůstávají neznámé (Singh et al. 2013).

Roční ztráty na úrodě způsobené hádátky parazitujícími na rostlinách se celosvětově odhadují na 8,8–14,6 % z celkové produkce plodin (Singh et al. 2013). To představuje odhadovanou ztrátu 173 miliard USD ročně (Phani et al. 2021). Taktéž způsobují u všech tropických a subtropických plodin ztráty odhadované na 14,6 % celkové produkce. Roční ztráta výnosu hlavních světových zahradnických plodin v důsledku infekce hádátky se odhaduje na 12 % u ovoce a ořechů, 11 % u zeleniny a 10 % u okrasných plodin. Tyto ztráty mají za

následek více než 30 miliard USD (Lopes-Caitar et al. 2019). Podíl rozvojových zemí evidujících finanční ztrátu převyšuje podíl vyspělých zemí (Chitwood 2013). Pravděpodobně se však jedná o značné podhodnocení skutečných čísel, protože mnoho pěstitelů, zejména v rozvojových zemích, si není vědomo fytoparazitických háďátek (Jones et al. 2013). Díky své mikroskopické velikosti a velmi mírným příznakům poškození rostlin, jsou zemědělci nedostatečně vnímány (Phani et al. 2021). Příznaky a dopady poškození u rostlin nejsou vždy zjevně spojeny s parazitickými háďátkami, často jsou chybně identifikovány jako důsledek sucha, nedostatku živin nebo jiných příčin (Singh et al. 2013). Často je zkoumáno a hlášeno pouze nejnápadnější lokalizované poškození, zatímco méně zřejmé, ale rozsáhlejší poškození je přehlíženo. Nezachází se s nimi proto jako s potenciálními škůdci a jsou částečně ignorovány z hlediska ochrany rostlin, to však vede ke snížení výnosů plodin. Parazitická háďátka mohou způsobovat sekundární mikrobiální (houbovou a bakteriální) infekci u rostlinných kořenů a taktéž mohou působit jako vektory pro určité rostlinné viry (Phani et al. 2021).

Různé druhy háďátek lze rozdělit do skupin podle toho, jak a kde se živí na rostlinách:

**Ektoparazitický druh:** Háďátka zůstávají v půdě a nepronikají do rostlinných pletiv. Živí se povrchovými buňkami nebo těmi, na které dosáhnou zvenčí svým ústním bodcem (stiletum) (Crow & Rich 2020). Rostlinné buňky napichují a vysávají jejich obsah. Většina ektoparazitických druhů zůstává pohyblivá, některé se však natrvalo připojí ke kořeni pomocí hluboce zapuštěného bodce (Perry & Moens 2006). Některé druhy háďátek mohou přenášet do tkání kterými se živí rostlinné viry (Crow & Rich 2020).

**Endoparazitický druh:** V tomto případě proniká háďátka do kořenové tkáně. Rozlišujeme **migrující endoparazity**, kteří zachovávají svou pohyblivost a nemají žádné pevné místo krmení v rostlinné tkáni (Perry & Moens 2006). Živí se a zabíjejí relativně křehké buňky tím, jak postupují ve tkáni. Oslabují kořeny fyzickým poškozením citlivých tkání a mohou dramaticky snížit odolnost kořenů vůči invazi hub a bakterií (Crow & Rich 2020). Oproti nim pokročilejší **sedentérní endoparazité** mají místo krmení fixní (Perry & Moens 2006). Pronikají do mladých kořenů v růstové špičce nebo v její blízkosti a vytvářejí zde trvalá krmná místa. Poté se již nepotřebují hýbat, při dospívání pouze bobtnají. Obírají rostlinu o živiny, narušují transport vody a minerálů a také poskytují vynikající vstupní místa pro další patogeny a škůdce. Postižené kořeny mohou mít háčky nebo se mohou jednoduše jevit jako poškozené (Crow & Rich 2020).

Dále je možné jednotlivé druhy háďátek rozdělit do čtyř typů podle rostlinných částí, které napadají.

1. Druhy, které tvoří háčky v květenstvích a jiných nadzemních částech rostlin, například *Anguina tritici* v pšenici
2. Listová háďátka napadající poupata listů a způsobující malformace a nekrózu listů mnoha okrasných rostlin a jahod, například *Aphelenchoides* spp.

3. Stonková háďátka *Ditylenchus* ssp. způsobující malformace, otoky, omezení růstu a suchou hnilobu v nadzemních a podzemních částech stonků rostlin, jako je cibule, žito, pšenice, řepa, brambory
4. Kořenová háďátka způsobující omezení růstu celých rostlin a malformace v podzemních částech rostlin (*Meloidogyne* spp., *Rotylenchus uniformis*), nekrózu kořenů a omezení růstu (*Pratylenchus penetrans*, *Tylenchulus semipenetrans*) nebo omezení růstu bez jakýchkoli příznaků (*Globodera rostochiensis*, *G pallida* a *Tylenchorhynchus dubius*) (Perry & Moens 2006)

Níže jsou uvedeny informace o důležitých háďátcích vyskytujících se v České republice na ovocných stromech a révě vinné. Jsou zde také uvedena háďátka parazitující na jahodníku, jelikož se jedná o velmi oblíbené a tím i pěstované ovoce.

### 3.4.1 Listová háďátka (*Aphelenchoides* spp.) škodící na jahodníku

K dnešnímu dni bylo již popsáno více než 180 druhů (OEPP/EPPO 2017). Ale zatím pouze několik druhů *Aphelenchoides* spp. představuje rostlinné parazity hospodářského významu. Celosvětově významným parazitem je *A. besseyi*, jehož primárním hostitelem je rýže, ale také jahodník. Dalšími parazitickými háďátky jsou *Aphelenchoides fragariae* a *A. ritzemabosi*, které žijí v pupenech a listech vyšších rostlin (Phani et al. 2021). Tyto dva druhy s podobnými životními cykly napadají stovky druhů bylin a dřevin. Tím, že se živí mezofylem listů, způsobují typické skvrnitosti listů a při krmení pupeny mohou porušit růstový bod a zabránit kvetení (Perry & Moens 2006). Listová háďátka patřící do rodu *Aphelenchoides* jsou háďátka přenášená semeny, která primárně infikují nadzemní části rostlin a způsobují závažnou chlorózu a nekrózu. Kromě toho, že listová háďátka představují největší hrozbu pro rýži, jsou také alarmující hrozbou pro několik dalších okrasných, ovocných a květinových plodin (Phani et al. 2021).

#### 3.4.1.1 *Aphelenchoides fragariae* (háďátko jahodníkové)

*Aphelenchoides fragariae* je listové háďátko, které má rozsáhlý hostitelský areál a je celosvětově významným škůdcem jahodníků. V současnosti je cílem regulačních programů po celém světě (CABI 2021).

#### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Aphelenchoididae

Rod: *Aphelenchoides*

Druh: *Aphelenchoides fragariae* (EPPO 2000)

### **Morfologie**

*A. fragariae* je štíhlé háďátko dlouhé až 0,8 mm s rychlým bičovitým pohybem (Cobon & O'Neill 2011). Stilet je štíhlý asi 8–14  $\mu\text{m}$ , často dlouhý 10–11  $\mu\text{m}$  (IPPC 2016). Jak samci, tak samice mají ve své přední části těla zřetelný bodec (Kloutvorová 2018). Ocas obou pohlaví je protáhlý, koloidní a zakončený jednoduchým tupým hrotem (Cobon & O'Neill 2011). Boční pole se dvěma bočními liniemi, které vypadají jako prostý úzký pruh (CABI 2021).

### **Výskyt**

Je široce rozšířeno v tropických a mírných pásmech po celém světě (Cobon & O'Neill 2011). Je považováno za kosmopolitního škůdce (Kloutvorová 2018). Výskyt je potvrzen v celé Severní Americe, v Asii, Austrálii, a v některých státech Evropy, jako je například Slovensko, Německo, Polsko a mnoho dalších (Cobon & O'Neill 2011).

### **Hostitelský organismus**

*A. fragariae* může napadnout více než 250 druhů rostlin ze 47 čeledí. Je hlavním patogenem jahodníku a většiny ostatních hostitelů patřících do čeledí *Liliaceae*, *Primulaceae* a *Ranunculaceae*. Ty zahrnují mnoho kvetoucích okrasných rostlin včetně begónií, lilií, fialek, primulí a azalek. Běžně také postihuje širokou škálu druhů kapradin či fíky (Cobon & O'Neill 2011). Napadat může také plevele například žabinec obecný (Kloutvorová 2018).

### **Symptomy**

Na jahodnicích je prvním příznakem abnormální růst rostlin se zakrněním a deformací poupat, listů a květů doprovázených skvrnitostí nebo plísní na listech ohraničenou žilnatinou (Anindita et al. 2021). Malformace zahrnují kroucení a svrštění listů, malé listy s vrásčitými okraji, zarudlé a zakrnělé řapíky (Cobon & O'Neill 2011). Taktéž se těmito příznaky nazývá kadeřavost jahodníku (Mazáková & Gaar 2008). Příznaky jsou často zaměňovány s příznaky způsobené padlím. Symptomy se typicky projevují jako ohraničené léze nebo skvrny, které začínají jako lehce chlorotické a poté se změny na hnědé až černé nebo nekrotické a suché. Dalšími typickými příznaky jsou nekróza, deformace a zakrnění cibulek a defoliace (IPPC 2016). Příznaky skvrnitosti listů na kvetoucích rostlinách se projevují jako skvrny nasáklé vodou, které později zhnědnou (Cobon & O'Neill 2011).

### **Ekonomický význam**

*A. fragariae* může vážně ovlivnit výnos této vysoce hodnotné plodiny, protože silně infikované rostliny neprodukují plody. Taktéž se může stát vážným patogenem v rostlinách pěstovaných ve školkách, kde podmínky prostředí, jako jsou vysoké teploty a vysoká vlhkost, podporují rychlý nárůst populace (Cobon & O'Neill 2011).

## Životní cyklus

*A. fragariae* je parazitem nadzemních částí rostlin (Cobon & O'Neill 2011). Na jahodách je háďátko ektoparaziticky žijící v mezibuněčných prostorách pletiv listů, část populace však také může žít i na povrchu srdéčkových listů mezi jejich trichomy (Kloutvorová 2018). *A. fragariae* je schopné dokončit životní cyklus za 10-11 dní při 18 °C (Cobon & O'Neill 2011). Již čtvrtý den se líhnou z vajíčka a larvy dospívají za 6-7 dní. Samice je schopná nakláds okolo 32 vajec (Anindita et al. 2021). Háďátko nemůže přežít v půdě déle než 3 měsíce, ale může přežívat, a dokonce se množit v rostlinné tkáni při -2 °C (Cobon & O'Neill 2011). Pro přežití a pohyb je však nutná vysoká vlhkost, vyšší počet živých *A. fragariae* byl nalezen na listech a řapících při 100 % než 90 % relativní vlhkosti (Anindita et al. 2021). Z již napadených rostlin se pak háďátko šíří za deště a pomocí zálivky přes kapky vody a pomocí vodního filmu na listech. Na přelomu léta a podzimu se přesouvají z napadených rostlin do odnoží, půdy a také do mladých rostlin (Kloutvorová 2018). Do listů kapradin a okrasných rostlin vnikají průduchy, když je povrch pokryt tenkou vrstvou vody (Cobon & O'Neill 2011).

### 3.4.1.2 *Aphelenchoides ritzemabosi* (háďátko kopretinové)

#### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Aphelenchoididae

Rod: *Aphelenchoides*

Druh: *Aphelenchoides ritzemabosi* (EPPO 2002)

#### Morfologie

Tělo háďátek je štíhlé a dlouhé 0,77–1,20 mm. Stilet je dlouhý okolo 12 μm, s výrazným bazálním knoflíkovitým zakončením a ostře špičatým předním dílem (IPPC 2016). *A. ritzemabosi* má boční pole se čtyřmi liniemi (Kohl 2011). Protáhlý koloidní ocas, který má dva až čtyři výběžky směřující dozadu, což mu dává vzhled podobný štětci (IPPC 2016).

#### Výskyt

I pro toto háďátko je typický výskyt v tropických i mírných lokalitách (Kohl 2011). Nyní je rozšířen ve Evropě, Asii, Severní Americe, Jižní Africe, na Novém Zélandu a v Austrálii (CDFA 2020).

## Hostitelský organismus

Toto háďátko má za hostitelský organismus přibližně 200 druhů rostlin, včetně okrasných rostlin, zeleniny, drobných ovocných rostlin a dalších planě rostoucích rostlin (Wang et al. 2019). *A. ritzemabosi* se vyskytuje na jahodníku, chryzantémách, begóniích a kapradinách (CDFA 2020).

## Symptomy

U *Fragaria* spp. je poškození nejvíce patrné na nově vytvořených listech, které se zvrásňují a deformují a mohou vykazovat drsné, našedlé oblasti (IPPC 2016). Další charakteristické příznaky infekce se týkají lézí ohraničených žilkami v listech. Dále také listy parazitované těmito háďátky ztrácejí barvu, hnědnou a opadávají (Chałańska et al. 2017).

## Ekonomický význam

U jahodníků se odhadují ztráty na 65 % výnosů, jelikož dochází k poškození hostitelské rostliny. To může snížit celkovou ekonomickou hodnotu, a dokonce i způsobit ztrátu celé plodiny (Wang et al. 2019). Při nízkém počtu jsou háďátka asymptomatická a mohou se nepozorovaně šířit vegetativním množením, pomocí řízků z infikovaných matečných rostlin. Toto háďátko přímo ovlivňuje výnosy skleníkových, polních i sadových plodin a v mnoha zemích je na seznamu škodlivých organismů (CDFA 2020).

## Životní cyklus

Životní cyklus je velmi podobný jako u *A. fragariae*, také se živí ektoparaziticky na stoncích, poupatech a květech (Kohl 2011). Háďátko může žít celý svůj život uvnitř listů nebo na povrchu rostlinných hostitelů. Samička klade vajíčka do mezibuněčných prostor listů. Samci jsou potřební pro reprodukci a po oplození jsou samice schopny klást vajíčka i po několika měsících po vegetačním klidu v anabiotickém stavu. Samice jsou schopné nakláds při teplotě 18 °C v průměru 25 až 35 vajíček. Svůj životní cyklus můžou dokončit již za 14 dní, přičemž vývoj embrya trvá pět dní a po dalších pěti dnech dojde k dozrávání. Pohyb a šíření *A. ritzemabosi* závisí na vodě. Na krátké vzdálenosti se pohybují plaváním, v momentu, kdy jsou listy vlhké. A to díky dešti či zavlažování nebo závlivce. Rozšiřováním těchto háďátek na delší vzdálenost zajisté napomáhá závlaha či také déšť (CDFA 2020). Dospělí jedinci a larvy ve čtvrtém stádiu jsou schopni přezimovat v anabiotickém stavu ve vysušené rostlinné tkáni a mohou takto přežít několik měsíců až tři roky (Kohl 2011).

### 3.4.1.3 *Aphelenchoides blastophthorus*

#### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Aphelenchoididae

Rod: *Aphelenchoides*

Druh: *Aphelenchoides blastophthorus* (EPPO 2000)

#### Morfologie

Háďátka mají podlouhlé tělo o délce přibližně 710  $\mu\text{m}$ . Samci mají tělo často o něco kratší, přibližně 660  $\mu\text{m}$ . Stilet se svými zřetelnými bazálními knoflíky je dlouhý  $12,9 \pm 0,5 \mu\text{m}$ . U obou pohlaví se kuželovitý ocas postupně zužuje a je zakončený jednoduchým mukrem (Consoli et al. 2019). Charakteristický je boční pohled na hlavu, který jasně ukazuje zadní okraje rtů, které jsou tupě špičaté (Franklin 1952).

#### Výskyt

Výskyt byl hlášen z jižní i severní Evropy, např. ve Španělsku, Německu a Norsku (Consoli et al. 2019).

#### Hostitelský organismus

Hostitelskými rostlinami jsou jahodník a další rostliny čeledí, jako jsou *Begoniaceae*, *Ranunculaceae*, *Asparagaceae*, *Rosaceae*, *Violaceae* a *Caprifoliaceae* (Consoli et al. 2019).

#### Symptomy

K poškození dochází u listových pupenů a na poupatech květů, a to i uvnitř nich. Viditelná je deformace listů, květenství či ke sterilizace pupat. Dochází tedy k nevyvinutí všech květenství (Franklin 1952). Dále se také snižuje vitalita a může dojít k zakrnění zemědělských a okrasných rostlin (Consoli et al. 2019). Při velkém napadení háďátky může rostlina přijít o všechny své plody. A však dochází i k případům, kdy se neprojeví žádné viditelné symptomy (Franklin 1952).

#### Ekonomický význam

Ačkoliv se jedná o fytoparazitické háďátko je zatím známo (nebo hlášeno) jen málo informací o jeho vlivu na globální zemědělství. Již se ale ví, že má negativní vliv na výnos jahod a produkci výhonků, a může tedy přispět ke snížení výnosu i u jiných plodin (Consoli et al. 2019).

## **Životní cyklus**

Životní cyklus háďátek je velmi podobný jako u předchozích druhů. Háďátka se vyskytují v listech a kořenech jahodníku. V rostlině zůstávají po dobu jejího vegetačního období (Consoli et al. 2019).

### **3.4.1.4 *Aphelenchoides besseyi***

Háďátko *A. besseyi* zatím nemá svůj vlastní český název. Především je to nejspíše díky tomu, že doposud nebylo na našem území zachyceno. Je zde však zmíněno z toho důvodu, že patří mezi potenciálně nebezpečné organismy a ve státech Evropské unie je považováno za karanténní druh. Zároveň se jeho výskyt v České republice nedá zcela vyloučit, a to jak na jahodníku, tak na jiných hostitelských plodinách (Gaar 2015).

## **Taxonomie**

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Aphelenchoididae

Rod: *Aphelenchoides*

Druh: *Aphelenchoides besseyi* (EPPO 2022)

## **Morfologie**

*A. besseyi* má typicky červovitý tvar, štíhlé tělo dlouhé 0,44-0,84 mm a široké 14-22  $\mu\text{m}$  (EPPO 2022). Ústní bodec (stilet) je dlouhý často 10-11  $\mu\text{m}$ . Tvar ocasu má oproti ostatním příbuzným druhům konického tvaru, a to u obou pohlaví. Ocas je také na konci zúžený a opatřený čtyřmi hvězdovitými hroty. Boční pole má čtyři linie (Gaar 2015). *A. besseyi* má post – vulvální vak, který je vždy menší než jedna třetina vzdálenosti od vulvy k řitnímu otvoru (IPPC 2016). Toto háďátko má vysoké nároky na teplé počasí, a proto v podmínkách mírného pásu napadá rostliny až v letním období (EPPO 2022).

## **Výskyt**

*A. besseyi* má široké geografické rozšíření, většinou v tropických a subtropických zemích (EPPO 2022). Onemocnění háďátky tohoto druhu bylo nejprve zaznamenaného v USA, Austrálii a později v Evropě (OEPP & EPPO 2004). Na jahodníku je výskyt háďátka rozšířen v teplých oblastech a v některých oblastech mírného pásma. V evropských státech je jeho výskyt potvrzen v Bulharsku, Itálii, Maďarsku, Nizozemí, Rusku a na Ukrajině (Gaar 2015).



## Hostitelský organismus

*A. besseyi* nejspíše parazituje na více než 200 rostlinných druzích, avšak rýže s jahodníkem a okrasnými rostlinami jsou nejčastějšími hostiteli (Buonicontro et al. 2018). Další možné hostitelské plodiny, jak z řad kulturních plodin jako je například *Zea mays*, *Panicum miliaceum*, *Setaria italica*, *Allium cepa*, *Boehmeria nivea*, *Capsicum annuum*, *Colocasia esculenta*, *Dioscorea cayenensis* také může parazitovat i na okrasných plodinách *Asplenium nidus*, *Chrysanthemum indicum*, *Ficus elastica*, ale i na travách jako například *Sporobolus junceus* a celé řadě planě rostoucích rostlin jako *Agave amica* (EPPO 2022).

## Symptomy

Symptomy zahrnují silné zvrásnění a deformaci listů a zakrnutí rostliny s přidruženým omezením kvetení (EPPO 2022). Mladé listy mají také častěji tmavší zbarvení (Gaar 2015). U jahodníku způsobuje tzv. letní zakrslost (OEPP/EPPO 2017).

## Ekonomický význam

Na jahodnicích byl *A. besseyi* zaznamenán již před více než 60 lety v USA. Tento typ háďátka způsobuje u jahodníku tzv. letní zakrslost, což výrazně snižuje výnosy. Nedávné polní zamoření v USA bylo významné, ale často je však pouze dočasné, jakmile jsou zavedena kontrolní opatření. Je tedy zatím obtížné předvídat finanční dopad. Avšak na plodinách rýže přispívá k odhadovaným škodám ve výši 16 miliard USD. Ekonomický dopad tohoto háďátka se však mezi regiony, zeměmi a lokalitami liší (EPPO 2022). Velké ekonomické škody způsobuje toto háďátka především v Asii. Například v Tchaj-wanu, bylo prokázáno u 62,2 - 76,6 % sazenic jahodníku. Příznaky se však objevovali pouze u 26,6–40,3 % rostlin, jelikož vždy záleží na odolnosti odrůdy. Celkové ztráty se proto odhadují pouze u velmi náchylných odrůd a to na 11,5 % (Gaar 2015).

## Životní cyklus

U rýže jsou primárním zdrojem inokula háďátek napadených semen. Když je plodina zaseta, háďátka se aktivují a přesouvají se do míst růstu listů a stonků a živí se ektoparaziticky kolem apikálního meristému. Hlavní stonek je často více infikován než následující odnože. K rychlému nárůstu počtu háďátek dochází při pozdějším odnožování a je spojeno s reprodukční fází růstu rostlin (CABI 2021). *A. besseyi* je nejaktivnější a živí se při relativní vlhkosti vyšší než 70 %. V tuto dobu je tedy pravděpodobnější výskyt příznaků. Při 30 °C je životní cyklus asi 10 dní a výrazně se prodlužuje při teplotách pod 20 °C. Při teplotě pod 13 °C již nedochází k žádnému vývoji. Optimální teplota pro vývoj je tedy 21-25 °C, životní cyklus trvá 10 dní při 21 °C a 8 dní při 23 °C a v sezóně je několik generací. Dospělé samice se shromažďují pod pluchou, kde reagují na konec vegetačního období tím, že zůstávají ve stádiu anabiózy, dokud nebudou podmínky příznivé pro opětovné zahájení životního cyklu (EPPO 2022). V anabiotickém stavu je schopné přežít dobu od osmi měsíců až po několik let po sklizni (Gaar 2015). Dobré podmínky skladování semen pravděpodobně prodlužují přežití háďátek (CABI 2021). Samci bývají obvykle stejně početní jako samice, ale tento druh se může

množit i partenogeneticky (Gaar 2015). Na jahodách je háďátka také ektoparazitické, žije se mladou tkání (EPPO 2022). I zde mají rychlé životní cykly (2-3 týdny) a daří se jim ve vlhkých podmínkách, které jim umožňují pohybovat se po povrchu rostlin ve vodních filmech (CABI 2021).

### 3.4.2 Stonková háďátka (*Ditylenchus* spp.) škodící na jahodníku

Háďátka stonková a také cibulovitá (*Ditylenchus* spp.) jsou migrující endoparazitická háďátka, která infikují stonky a listy rostlin. Ve stoncích a cibulích se žijí parenchymatózní tkání (Bahadur 2021). Jsou to devastující fytoparazitická háďátka, která lze nalézt po celém světě, zejména v mírných oblastech (Lopes-Caitar et al. 2019). Mezi více než 80 druhů, které jsou v současnosti rozpoznávány v rodu *Ditylenchus*, je pouze několik parazitů vyšších rostlin (EPPO/OEPP 2017). Mimo vajíčka jsou všechna životní stádia stonkových a cibulových háďátek infekční (Lopes-Caitar et al. 2019). Jejich rychlé nahromadění populace může způsobit vážnou ztrátu výnosu i při nízké počáteční úrovni hustoty populace (Phani et al. 2021). Ze všech těchto druhů pouze *D. dipsaci* a jeho morfologicky větší varianta *D. gigas* jsou škůdci rostlin hospodářského významu (EPPO/OEPP 2017).

#### 3.4.2.1 *Ditylenchus dipsaci* (háďátka zhoubné)

Vyskytuje jako endoparazit v nadzemních částech rostlin (stonky, listy, květy), ale může napadat i cibule, hlízy a oddenky. Patří mezi rostlinná parazitická háďátka s největším ekonomickým dopadem na celém světě (EPPO/OEPP 2017).

#### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Anguinidae

Rod: *Ditylenchus*

Druh: *Ditylenchus dipsaci* (EPPO 2002)

#### Morfologie

Délka těla samic je obvykle dlouhá okolo 1,1 mm, hlava navazuje na přilehlé tělo. Tato háďátka mají poměrně dlouhý stilet, a to u samic 10–13  $\mu\text{m}$  a u samců má délku 10–12  $\mu\text{m}$ . Boční pole má 4 linie. Vzdálenost vulva–řitní otvor je dlouhá 1  $\frac{3}{4}$ –2  $\frac{1}{4}$  délky ocasu. Ocas obou pohlaví jsou kónické se špičatou špičkou (EPPO/OEPP 2017).

## Výskyt

Toto stonkové háďátko, je rozšířeno po celém světě, zejména v oblastech mírného pásma. Nachází se na seznamu karanténních organismů v mnoha zemích (Jones et al. 2013). V Evropě napadá několik plodin v oblasti Středozemního moře a způsobuje velké ztráty na cibuli, česneku, bobu obecném a jahodníku (Lamberti 1997).

## Hostitelský organismus

Je známo téměř 1 200 divokých a kulturních rostlinných druhů, které mohou být přírodní hostitelé *D. dipsaci* (EPPO/OEPP 2017). Hostitelskými plodinami jsou například fazole, cibule, česnek, kukuřice, oves, hrách, brambory, žito, jahodník, cukrová řepa, tabák, vojtěška, jetel (Bahadur 2021), slunečnice, řepka a mnoho dalších. *D. dipsaci* je jediný druh *Ditylenchus* považovaný za patogena jahodníku. Háďátka mohou také přežívat i na řadě plevelů a trav (OEPP/EPPO 2017). Ty pak mohou hrát důležitou roli v jeho přežití v nepřítomnosti pěstovaných rostlin (EPPO/OEPP 2017).

## Symptomy

Běžnými příznaky napadení jsou otoky, deformace, změna barvy a zakrnění nadzemních částí rostlin a nekróza nebo hniloba základů stonků, oddenků (OEPP/EPPO 2017), cibulí a hlíz. Dalšími příznaky napadení *D. dipsaci* jsou zakrslé, chlorotické rostliny, ztlustělé, zakrnělé, zdeformované stonky, řapíky, květy, a nekrotické léze. *D. dipsaci* může také napadat semena, například *Phaseolus vulgaris*, *V. faba*, *Allium* spp. a *M. sativa*. Malá semena obecně nevykazují žádné viditelné příznaky napadení, ale větší semena mohou mít na slupce jinak zbarvené skvrny, než je obvyklé. Poškození na jahodníku se projevuje malými, zdeformovanými listy a krátkými, silnými a zkroucenými řapíky (EPPO/OEPP 2017).

## Ekonomický význam

*D. dipsaci* má hlavní ekonomický význam v mírném pásmu (Bahadur 2021). Rychlý růst populace může mít za následek vážné poškození plodin, i když je počáteční hustota populace nízká. Jak se populace háďátek zvyšuje, symptomy se stávají viditelnými a mohou přes ně vstoupit sekundární patogeny, jako jsou bakterie a houby. Infikované plodiny jsou poté neprodejné a nevyužitelné, a tak dochází ke snižování zisků a zdrojů potravin (Jones et al. 2013).

## Životní cyklus

Reprodukce a růst populace může být velmi rychlý, samice *D. dipsaci* naklade během sezóny přibližně 250 vajíček a za optimálních podmínek při teplotě v rozmezí 15–20 °C se může vyvinout šest generací. K líhnutí dochází během 2 dnů, poté se během 4–5 dnů vyvíjejí samice, které žijí déle než 10 týdnů (Jones et al. 2013). Háďátka dokončují svůj životní cyklus po 20 dnech v teplotách při 15 °C (Bahadur 2021). Jsou klasickými příklady háďátek, která jsou schopná překonávat nepříznivé podmínky v klidovém stádiu. Jednotlivá háďátka se shlukují do skupin, nejčastěji do šupin cibulí nebo do fazolových lusků. Je také možné je najít

v zaschlých rostlinných zbytcích na poli, kde mohou takto přezimovat. V tomto klidovém stádiu mohou přežívat více než 20 let a dokážou odolat i dalším nepříznivým podmínkám, jako jsou extrémní teploty, a dokonce i nematocidy (Jones et al. 2013).

Chladné a vlhké podmínky podporují invazi mladých rostlinných tkání tímto háďátkem. Na poli však může háďátka přežít roky i bez hostitelské rostliny (OEPP/EPPO 2017). Vysoká schopnost přežití a odolnost vůči nepříznivým podmínkám usnadňuje šíření v semenech, cibulích a rostlinných zbytcích (Jones et al. 2013). Je také důležitá pro pasivní šíření háďátka na dlouhé vzdálenosti. Hlístice ve svém klidovém stavu na nebo v infikovaném semeni mohou přežít průchod prasaty i skotem (EPPO/OEPP 2017). Závlahová voda a kultivace pomocí kontaminovaných zemědělských nástrojů a strojů jsou dalšími zdroji šíření inokula (OEPP/EPPO 2017).

K důležitému přesunu háďátek dochází také pomocí odtékající vody z pole na okolní přilehlá pole (Bahadur 2021). K přenosu dochází také pomocí větru (Jones et al. 2013). Pokud zasažené části rostliny odumírají v důsledku poranění škůdcem, háďátka opouští hostitele dříve, než dojde k úplnému úhynu. Při nedostatku hostitelských rostlin mohou háďátka vstoupit do nehostitelských rostlin a po určitou dobu se zde žít, i když nejsou schopni se v nehostitelských rostlinách množit (EPPO/OEPP 2017).

### **3.4.3 Kořenová háďátka (*Meloidogyne* spp.) škodící na révě vinné a ovocných stromech**

Kořenová háďátka jsou přisedlí endoparazité, jenž mají veliký ekonomicky celosvětový význam (Bahadur 2021). Parazitují totiž na více než 3 000 hostitelských rostlinách po celém světě (Phani et al. 2021). Narušují normální tvorbu a funkci kořenů a umožňují snadnější vstup do kořenů mnoha houbám a bakteriím, které mohou způsobit onemocnění nebo rozpad kořenů. Při napadání rostliny háďátka dochází ke stimulaci růstu hálek na kořenech rostlin (Crow & Rich 2020). U houbových onemocnění dochází často k synergismu například s houbami *Fusarium*, *Verticillium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* a *Thielaviopsis*. To vede k vážným ztrátám výnosů mnoha plodin (Phani et al. 2021).

Rod *Meloidogyne* je zastoupen téměř 100 uznávanými platnými druhy, z nichž nejvýznamnější jsou *M. incognita*, *M. javanica*, *M. Arenaria* a *M. hapla* (Lopes-Caitar et al. 2019). Dalšími významnými druhy jsou *M. ethiopica*, *M. luci* a *M. enterolobii* (Phani et al. 2021). Je známo, že háďátka (*Meloidogyne* spp.) parazitují na ovocných plodinách již více než jedno století (Lopes-Caitar et al. 2019) a jsou závažnými škůdci mnoha ovocných a ořechových plodin (Crow & Rich 2020). Z ovocných stromů jsou významnými hostiteli banán (*Musa spp.*), réva vinná (*Vitis vinifera*) a papája (*Carica papaya*). U melounu (*Cucumis melo*) a vodního melounu mohou být ztráty až do 33 % a 50 % (Lopes-Caitar et al. 2019).

### 3.4.3.1 *Meloidogyne arenaria*

#### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabdita

Čeleď: Meloidogynidae

Rod: *Meloidogyne*

Druh: *Meloidogyne arenaria* (EPPO 2002)

#### Morfologie

Tělo samic je perleťově bílé, hruškovitého tvaru. Jeho délka je 500-1 000  $\mu\text{m}$  a široké je 400-600  $\mu\text{m}$ . Stilet u samic je robustní, 13-17  $\mu\text{m}$  dlouhý a charakteristicky tvarovaný s velkými, dozadu skloněnými knoflíky ve tvaru slzy. Samci *M. arenaria* jsou dlouzí 0,9-2,3 mm a širocí 27-48  $\mu\text{m}$ . Přestože je tvar hlavy užitečným morfologickým znakem, je podobný několika dalším méně běžným druhům. Stilet je také robustní s délkou 20-28  $\mu\text{m}$  s tupě špičatým hrotem. Celková morfologie obou pohlaví je podobná jedincům jiných druhů v rámci rodu (CABI 2021).

#### Výskyt

Tyto háďátka jsou široce distribuovány v zavlažovaných zemědělských oblastech v mnoha zemích světa. Vyskytují se především v tropech, subtropích a teplejších oblastech (Yigezu Wendimu & Shrestha 2021), ale i v mírném podnebí, kde průměrná teplota v nejteplejším měsíci je 36 °C nebo nižší a průměrná teplota v nejchladnějším měsíci je nejméně 3 °C. Hlavním limitujícím faktorem rozšíření *M. arenaria* se zdá být tedy průměrná teplota v nejchladnějším měsíci 3 °C. Zdá se, že tento druh je vzácný nebo chybí v oblastech s průměrnou roční teplotou nižší než 15 °C a nejběžnější je v podnebí s průměrnými ročními teplotami 18-27 °C. Toto háďátko se také vyskytuje nejčastěji tam, kde roční srážky dosahují v průměru 1 000-2 000 mm (CABI 2021).

#### Hostitelský organismus

Rozsah hostitelů *M. arenaria* je značně veliký, zahrnuje členy z mnoha rostlinných čeledí včetně jednoděložných, dvouděložných, bylin a dřevin. Tento druh parazituje na většině hlavních užitkových plodin, zelenině, ovocných stromech, révě vinné, dále na okrasných rostlinách pěstovaných v tropickém, subtropickém a mírném podnebí (CABI 2021).

## Symptomy

Podzemní příznaky jsou primárně hálky na kořenech, hlízách či abnormální tvorba a funkce kořenového systému. Nespecifické nadzemní příznaky zahrnují nepravidelný, zakrnělý růst, změnu barvy a chlorózu listů, nadměrné vadnutí během sucha a horka, zakrnění celých rostlin, snížení výnosu a kvality a někdy také předčasné stárnutí nebo úhyn rostlin (CABI 2021). Na první pohled se pak může zdát, že rostlina trpí nedostatkem minerálů nebo stresem a nedojte tedy k správnému ošetření. Příznaky mohou být rozptýlené, což znamená, že některá oblast může být postižena a v jiných oblastech se nemusí projevit žádné příznaky (Subedi et al. 2020).

Parazitismus háďátek na kořenech révy vinné zhoršuje příjem vody a živin, stejně jako růst kořenů a výhonků, což má za následek sníženou vitalitu révy a ztráty na výnosu. Může také docházet k zvýšení citlivosti révy na jiné patogeny. *M. arenaria* může interagovat s houbami nebo bakteriemi a způsobit závažnější příznaky, a umožnit slabě parazitickým a nepatogenním organismům způsobit onemocnění, a to i včetně virových (Abdel-Sattar et al. 2020).

## Ekonomický význam

Celosvětově se roční ztráta výnosu plodin způsobená druhem *Meloidogyne* odhaduje na 157 miliard USD. Háďátka mohou způsobit 14 % až 100 % poškození užitkových plodin a citrusových plodů, což lze finančně odhadnout na 100 miliard USD ročně (Yigezu Wendimu & Shrestha 2021). U révy vinné mohou způsobit až 60 % ztrátu výnosu (German et al. 2019).

## Životní cyklus

Délka jedné generace *M. arenaria* je značně ovlivněna teplotou. Při velmi vysokých teplotách (>29 °C) trvá životní cyklus přibližně 3 týdny, ale při velmi nízkých teplotách se může prodloužit na 2-3 měsíce (CABI 2021). Jelikož se populace *M. arenaria* rozmnožují mitotickou partenogenezí, samci neplní žádnou reprodukční funkci. Jakmile samice dospějí, začnou samy produkovat vajíčka (Garcia & Sanchez-Puerta 2012). Z vajíčka se poté vylíhne mládě, které se nejprve volně pohybuje v půdě a poté proniká do kořene. Zde migruje v mezibuněčných prostorách kořene, dokud se neusadí na jednom krmném místě, kde poté dokončuje svůj cyklus (CABI 2021). Kořenová háďátka mají větší vliv na zdraví rostlin v písčitéch půdách a za nepříznivých podmínek prostředí, jako je sucho a vysoké teploty (Garcia & Sanchez-Puerta 2012).

### 3.4.3.2 *Meloidogyne incognita*

#### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Meloidogynidae

Rod: *Meloidogyne*

Druh: *Meloidogyne incognita* (EPPO 2002)

#### Morfologie

Samice *M. incognita* se pozná podle bílého hruškovitého těla a knoflíku na stiletu, který je zaoblený až příčně protáhlý a v přední poloze vroubkovaný nebo dělený, má také charakteristické kruhové značení. Samec *M. incognita* má dlouhé hubené válcovité tělo bez odsazené hlavy. Má delší kuželový stilet s vyčnívajícími knoflíky, obvykle větší šířky než délky. Jednotlivé části na hlavě převážně samců (např. velikost a tvar stiletu) jsou užitečné části pro identifikaci jednotlivých druhů *Meloidogyne*. Ocas má tupě zaoblený, konec nepříčně pruhovaný (Yigezu Wendimu & Shrestha 2021).

#### Výskyt

*M. incognita* je ekonomicky nejvýznamnější fytoparazitický druh háďátka v tropických, subtropických a teplejších oblastech všech kontinentů světa, kde je také široce rozšířen. Například v mnoha zemích Asie, Afriky, Evropy, Oceánie a Ameriky (Yigezu Wendimu & Shrestha 2021).

#### Hostitelský organismus

Jedná se o ekonomicky nejškodlivější háďátka parazitující na zahradnických a polních plodinách. Je to obligátní parazit na kořenech tisíců rostlinných druhů, včetně jednoděložných a dvouděložných, bylin a dřevin. Může napadnout jednoleté, dvouleté a víceleté rostliny. Z trvalých plodiny poškozuje vinnou révu, kávovník, banánovník. Dále vážně poškozuje sladké brambory, brambory, rajčata, mrkev, papriku, cibuli, kukuřici, fazole, hrách a mnoho další plodin. Hostitelskými organismy mohou být i okrasné rostliny a trávy, jako například ostřice a dále také širokolisté plevelné rostliny (Yigezu Wendimu & Shrestha 2021).

#### Symptomy

Rostliny napadené *M. incognita* vykazují zakrnělý růst, žloutnutí okrajů a zasychání špiček listů, dochází ke snižování odnožování a hnilobě kořenů (Nair 2013). Poškození háďátka má také za následek špatný růst, snížení kvality a výnosu a také snížení odolnosti plodiny proti

suchu a chorobám. Jelikož kořeny poškozené hádátky nemohou efektivně využívat vodu a živiny. U dospělých rostlin způsobuje infekce pokles výnosu. Pokud jsou však infikované mladé rostliny, může u některých jedinců dojít až k jejich úhynu. Při vysokému poškození může nastat až úplné selhání úrody (Subedi et al. 2020).

Jelikož je *M. incognita* primární patogen, podporuje vznik sekundárních patogenů, jako jsou bakterie, houby a viry. A to především na důležitých částech rostlin, které jinak tyto patogeny za normálních podmínek infikovat nemohou. Dochází ke ztráty kvality i kvantity u napadených plodin, které jsou způsobené houbami, bakterie, viry a hmyzími škůdci (Yigezu Wendimu & Shrestha 2021).

### **Ekonomický význam**

Kořenová hádátka jsou považována za jedny z ekonomicky významných škůdců, kteří poškozují růst rostlin a snižují výnos (Subedi et al. 2020). Hádátka *M. incognita* je ekonomicky důležitý fytoparazit se širokým spektrem hostitelů (Calderón-Urrea et al. 2016), který celosvětově způsobuje významné škody na kulturních plodinách (Suzuki et al. 2021). Za vhodných podmínek se mohou velmi rychle vyvinout hojné polní populace (Calderón-Urrea et al. 2016). Odhaduje, že každoročně *M. incognita* celosvětově způsobí ztráty o hodnotě 100 miliard USD (Subedi et al. 2020).

Tyto hádátka jsou hlavní produkční a ekonomickou překážkou pro vinnou révu (Chormule et al. 2017). Vinice na celém světě jsou totiž tímto hádátkem běžně zamořené (Abd El-Nabi et al. 2013). Může tedy výrazně snížit výnosy hroznů a způsobit značné ekonomické ztráty a má proto celosvětový význam. (Chormule et al. 2017). K omezení škod způsobených tímto hádátkem se používají odolné podnože vinné révy (Abd El-Nabi et al. 2013). Uvádí se, že *M. incognita* může snížit výnosy u rezistentních odrůd révy vinné přibližně o 40 %, zatímco u náchylných odrůd se jedná přibližně o 80 % (Yang et al. 2021).

### **Životní cyklus**

Optimální teplota pro vývoj je 28 °C a odpovídá geografickému rozšíření tohoto hádátka v subtropických oblastech. Při této teplotě trvá dokončení jednoho životního cyklu přibližně 3 týdny. Vyšší teploty (nad 30 °C) mají ničivý vliv na míru přežití a nižší teploty mají za následek prodloužení životního cyklu (Calderón-Urrea et al. 2016). K vylíhnutí vajíček dochází tedy i pod 10 °C (Yigezu Wendimu & Shrestha 2021). Přesný počet vyprodukovaných vajec se liší v závislosti na podmínkách prostředí. Za příznivých podmínek může jedna samice vyprodukovat 500–2 000 vajíček. Ačkoli existují samci, rozmnožování probíhá výhradně mitotickou partenogenezí (Calderón-Urrea et al. 2016). Z ekologického hlediska je vlhká písčité půda a její teploty důležitými faktory, které ovlivňují přežití a míru patogenity *M. incognita*. Toto hádátka upřednostňuje a způsobuje největší škody v půdách s nízkým obsahem jílu. V lehké písčité půdě se snadno pohybuje a tím způsobuje větší poškození hostitelských rostlin. Na krátké vzdálenosti se hádátka šíří vodou nebo větrem.



Nejpravděpodobnějším způsobem zavlečení *M. incognita* do nové geografické oblasti je však přesun infikovaného nebo kontaminovaného sadebního materiálu. V rané fázi vývoje má háďátko omezený potenciál pro přirozený pohyb v půdě maximálně, pouze několik desítek centimetrů (Yigezu Wendimu & Shrestha 2021).

### 3.4.3.3 *Meloidogyne javanica*

#### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Meloidogynidae

Rod: *Meloidogyne*

Druh: *Meloidogyne javanica* (EPPO 2002)

#### Morfologie

Tělo samic je téměř kulovité, dlouhé 541-804  $\mu\text{m}$  a široké 311-581  $\mu\text{m}$ . Stilet má délku 14-18  $\mu\text{m}$ , je štíhlý, dorzálně zakřivený, knoflíky jsou zaoblené. Boční pole mohou být viditelná do určité vzdálenosti od ocasu, ale nezasahují do oblasti krku. Tělo samců je dlouhé 757–1 297  $\mu\text{m}$ , hlava není odsazená a při dorzálním nebo ventrálním pohledu je obrys hlavy zaoblený. Stilet je dlouhý 20.0-23.0  $\mu\text{m}$  a knoflíky stiletu nejsou výrazné a mají zaoblený tvar. Tvar ocasu je poněkud variabilní, bývá tupě zaoblený na ventrální straně (CABI 2021).

#### Výskyt

Toto háďátko je široce rozšířené v teplém a tropickém podnebí. Geografický rozsah zahrnuje Afriku, Austrálii, Jižní Ameriku, Asii, USA a Evropu. *M. javanica* je považované za zvláště běžné ve střední Africe a savanových oblastech západní Afriky a předpokládá se, že převládá v sušších oblastech (méně než 500 mm srážek za rok). V mírném pásmu jsou některá háďátka schopna přezimovat díky mírným zimám a může tak dojít k rozšíření geografického areálu i do chladnějších oblastí (CABI 2021). *M. javanica* způsobuje značné ekonomické ztráty ve vinné révě pěstované na písčité půdě za mírných teplotních podmínek, které převládají ve většině oblastí Kalifornie, Středomoří a Jižní Afriky (Gutiérrez-Gutiérrez et al. 2011).

#### Hostitelský organismus

*M. javanica* napadá celou řadu hospodářsky významných rostlin (Gharabadiyan et al. 2013). Jedná se například o již zmíněnou vinnou révu, sóju, kukuřici, cukrovou třtinu, rajčata,

fazole, a také byla tato háďátka nalezena i ve chmelu (Nascimento et al. 2020). Jsou také považována za hlavního škůdce ananasů v mnoha částech světa (CABI 2021).

### **Symptomy**

Háďátka vstříkují jícnové sekrety do rostlinných tkání, což způsobuje hypertrofii a hyperplazii kortikálních buněk kořene hostitele. Tento proces vede k tvorbě kořenových hálek, které mění tvar kořene, ovlivňují transport vody a živin, toto následně omezuje vegetativní růst (Débia et al. 2020). Infikované rostliny také vykazují chlorotické skvrny na listech a nekrózu mezi listovými žilkami (Castanheira et al. 2021). Rostliny také zaostávají v růstu, a vykazují příznaky vážného nedostatku některých nutričních prvků. Dochází tedy k podstatnému snížení množstvím a kvality výnosu (Karajeh & Mohawesh 2016).

Růst vinné révy na zamořených vinicích je nerovnoměrný, réva vykazuje zakrslost, kratší internodia a rané stárnutí. Podél kořenů lze pozorovat háčky typické pro infekci kořenovými háďátky. V kořenech obsahují malé tmavé háčky, lze mikroskopicky pozorovat dospělé samice háďátek a jejich přidružené hmoty vajíček (Vanstone & Lantzke 2006). Bylo také prokázáno, že *M. javanica* interaguje s jinými patogeny, což způsobuje komplex onemocnění, kde jsou symptomy horší než ty, které vyvolává kterýkoli patogen samostatně (CABI 2021).

### **Ekonomický význam**

Kořenová háďátka způsobují ekonomické ztráty plodů a snižují životnost révy. Se zvyšující se hustotou populace háďátek, všeobecně dochází ke snižování výnosu (Persley et al. 2010). Například v Austrálii *M. javanica* snížila výnosy o 15-20 % u odrůdy Semillon, a další odrůdy Chardonnay došlo ke snížení výnosu o 7-13 % (Rahman et al. 2012). Háďátka jsou dále rozšiřována pomocí zamořené půdy, vody a vybavení, stejně jako infikovanými školkařskými rostlinami (Persley et al. 2010).

### **Životní cyklus**

Životní cyklus *M. javanica* je velmi podobný životnímu cyklu jiných druhů *Meloidogyne*. Zralé samice v kořenech produkují vajíčka do vaječného vaku, který může nebo nemusí vyčnívat z kořene a který zcela obaluje vajíčka a působí jako bariéra proti ztrátě vody. Reprodukce je pravděpodobně vždy partenogenetická. Po vylíhnutí se infekční háďátka pohybují směrem ke kořenům a hromadí se na špičkách kořenů, drobných poraněních nebo oblastech předchozího průniku. Během jednoho dne po penetraci hostitele dochází k rychlé ztrátě mobility a infekčnosti (Phani et al. 2021). Larvy *Meloidogyne* napadají kořeny a živí se cévním systémem plodiny, což způsobuje tvorbu obřích buněk. V těžkých případech jsou kořeny napadených rostlin zcela pokryty otoky způsobenými hypertrofií buněk (Muimba-Kankolongo 2018). Růst larev *M. javanica* za optimálních podmínek trvá přibližně 19 dní (CABI 2021).

### 3.4.3.4 *Meloidogyne hapla*

#### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Meloidogynidae

Rod: *Meloidogyne*

Druh: *Meloidogyne hapla* (EPPO 2002)

#### Morfologie

Jedná se o nesegmentované hlístice s délkou samičího těla  $371,3 \pm 4,52 \mu\text{m}$  (Özarslandan et al. 2021). Jejich ústní části zahrnují jehlovitý či dutý stilet (Desaeye 2018). Ten mají samice dlouhý  $11,1 \pm 0,3 \mu\text{m}$  (Özarslandan et al. 2021). Kutikula se u těchto háďátek zesiluje v zadní polovině těla. Boční pole mohou být neoznačená, či mohou být označena pouze nepatrnými nepravidelnými liniemi (CABI 2021). Ocas je dlouhý  $49,2 \pm 1 \mu\text{m}$  (Özarslandan et al. 2021). Samci se mohou u některých populací vyskytovat čteně, zatímco u jiných úplně chybí. Stilet je u samců štíhlý. Jejich boční pole má čtyři linie. Konec ocasu je tupě zaoblený. Můžeme u něj nalézt jedno nebo dvě varlata (CABI 2021).

#### Výskyt

Háďátko *M. hapla* je velmi široce rozšířeno, zejména v mírných a chladnějších oblastech a vyšších nadmořských výškách v tropech. Například ve východní Africe (Keňa, Tanzanie a Uganda) se mu daří pouze ve vysokých nadmořských výškách nad 2 000 m, a to i navzdory množství hostitelských rostlin v nižších nadmořských výškách (CABI 2021). Udává se tedy že je jedním z nejběžnějších kořenových háďátek v mírném podnebí (Desaeye 2018), jelikož pravděpodobně snáší mnohem lépe nižší teploty (Peng et al. 2017).

#### Hostitelský organismus

Jako většina kořenových háďátek má širokou škálu hostitelů, ovlivňuje nejvíce ovocné stromy a také většinu drobného ovoce (DuPont et al. 2017). Dále se množí také na zelenině např. rajče, brambory, mrkev, cibule, nebo na píceřinách či luštěninách a mnoha dalších rostlinách (Peng et al. 2017).

#### Symptomy

Stejně jako ostatní kořenová háďátka tohoto druhu způsobuje hálky v kořenovém systému (DuPont et al. 2017). Na rozdíl od teplotnějiších druhů jako jsou *M. arenaria*, *M. incognita* a *M. javanica*, které často způsobují velké, srostlé hálky, které mohou pokrýt celý

kořenový systém, hálky tvořené *M. hapla* jsou obvykle menší a méně rozšířené (Desaeye 2018). Rostliny také mohou vykazovat známky vodního stresu nebo nedostatku živin v důsledku narušeného kořenového systému rostlin (DuPont et al. 2017). Nadzemní příznaky zahrnují také zakrnělé rostliny, vybledlé, načervenalé nebo nažloutlé listy a celkově snížený výnos. Obecně platí, že silné napadení *M. hapla* povede k vážnému poškození kořenové funkce a s tím již výše zmíněné nadzemní příznaky. Symptomatické rostliny se typicky vyskytují v rozptýlených shlucích kvůli nerovnoměrnému rozložení háďátek (Desaeye 2018).

### **Ekonomický význam**

Nadzemní příznaky poškození jsou často zaměňovány s poškozením způsobeným bakteriemi, houbami, viry či nedostatkem živin, chemickými poraněními nebo jinými problémy. Háďátka jsou však vcelku běžná a schopná způsobit značné ztráty na úrodě. Háďátka by proto měla být vždy považována za potenciální škodlivý faktor, pokud nelze s konečnou platností diagnostikovat příčinu problému s rostlinou nebo případ špatného růstu plodin. Infekce kořenovými háďátky lze snadno diagnostikovat přítomností hálek v kořenech parazitovaných háďátka. Velikost a závažnost hálek se může značně lišit v závislosti na rostlinném hostiteli (Desaeye 2018). Například dojde-li k porušení kořenů během stádia sazenic mrkve, kořeny mrkve mohou silně zakrnět a rozvětvit se, a jsou poté neprodejně. Ve skleníkových testech byly nepříznivé účinky *M. hapla* na růstové parametry mrkve zjištěné již čtyři dny po vysetí a vedly k tomu, že pouze 58 % kořenů bylo považováno za prodejné (Gugino et al. 2006). Pro jahodník byl odhadnut limit tolerance 0,2 *M. hapla* na g půdy, zatím se u aktuálně pěstovaných kultivarů jahodníku nevykazuje rezistenci k *M. hapla*. A proto může docházet k vysokým ekonomickým škodám (Talavera et al. 2019). Hlístice také mohou být spojeny s jinými patogeny, včetně bakterií (jako je *Pseudomonas caryophylli*) a hub (jako je *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* a *Verticillium dahliae*) (CABI 2021).

### **Životní cyklus**

Háďátka kořenová je sedavý endoparazit. Larvy žijí v půdě mimo kořeny, dospělé samice žijí a živí se uvnitř kořenů hostitele. Ve druhém stádiu vývoje již dochází k napadení kořenů a vytváří se místo krmení (DuPont et al. 2017). Na rozdíl od většiny ostatních druhů kořenových háďátek mohou vajíčka a larvy *M. hapla* přežít teploty půdy pod 0°C. Optimální teplota pro invazi a vývoj *M. hapla* je v rozmezí 20–25°C. Průměrná teplota 27 °C může zabránit jejímu rozvoji, i když některé populace tohoto háďátka se mohou vyvíjet a rozmnožovat i při 30 °C za kontrolovaných podmínek prostředí. Avšak na Floridě bylo zjištěno, že na jahodníkovém poli přetrvávalo poškození a přítomnost toho háďátka i dva po sobě jdoucí roky, kdy teplota půdy překročila 30 °C. Aby se však přesvědčivě prokázalo, že háďátka může přežít v takovýchto podmínkách, je třeba provést ještě další výzkum (Desaeye 2018). Dospělá háďátka s kořenovým uzlem se obecně koncentrují v zavlažované kořenové zóně ve vinicích a sadech (DuPont et al. 2017).

### 3.4.4 Kořenová háďátka (*Longidorus* spp.) škodící na révě vinné a ovocných stromech

Rod *Longidorus* představuje okolo 150 druhů kořenových ektoparazitů rostlin, kteří žijí v půdě. Některé z těchto druhů mají ekonomický význam jako škůdci zemědělských rostlin. Jejich důležitost je převážně posílena skutečností, že u několika druhů je známo, že jsou virovými vektory (Susulovska et al. 2016). Háďátka rodu *Longidorus* jsou celosvětově považována za jednu z deseti ekonomicky nejvýznamnějších skupin háďátek (Kling et al. 2004).

#### 3.4.4.1 *Longidorus macrosoma*

##### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Enoplea

Řád: Dorylaimida

Čeleď: Longidoridae

Rod: *Longidorus*

Druh: *Longidorus macrosoma* (EPPO 2002)

##### Morfologie

Jedná se o velmi velká a dlouhá háďátka, s typickým protáhlým tvarem těla. Jejich délka je od 6,8-12,0 mm (Ferris 2019).

##### Výskyt

Háďátka rodu *Longidorus* se nacházejí v mírných oblastech typických pro pěstování révy vinné (Kling et al. 2004). Jedná se například o státy Velká Británie, Evropa, Kanada, Nový Zéland a USA. *L. macrosoma* se vyskytuje převážně na těžších půdách (Dale & Neilson 2006).

##### Hostitelský organismus

Toto háďátko se převážně vyskytuje na révě vinné. Vysoké populační hustoty byly však zjištěny také u třešně (Ferris 2019), maliníku, jahodníku, rybízu černého i červeného (Evans 2007). Nízké hustoty háďátek byly zjištěny u trav a obilovin (Ferris 2019).

##### Symptomy

Tak jako u všech ostatních kořenových háďátek dochází k poškození kořenového systému, a to především kořenových špiček. Významné jsou tato háďátka však především tím, že u nich bylo prokázán přenos několika nepovirů jako například virus latentní kroužkovitost maliníku (Kling et al. 2004).

### **Ekonomický význam**

Tato háďátka jsou ekonomicky významnými škůdci pro vinařský průmysl díky své schopnosti přenášet dva nepoviry na révu vinnou, již zmíněný virus latentní kroužkovitost maliníku a virus kroužkovitosti rajčete (Kling et al. 2004). Přestože jsou již známe výskyty háďátek na obhospodařovaných plochách, neexistují prozatím žádné údaje o postižených hektarech či o ztrátách na úrodě nebo nákladech pro pěstitele. Je však doporučováno, aby pěstitelé malin a jahod prováděli rutinní kontroly a hodnocení možného napadení tohoto háďátka (Evans 2007).

### **Životní cyklus**

Háďátko v přirozeném prostředí na poli dokončuje svůj životní cyklus po dvou letech (Ferris 2019). Srovnání vývoje populace na poli uvnitř a mezi řadami maliníku a na poli ladem ukázalo, že množení a vývoj háďátka souvisí s dostupností rostoucích kořenů hostitele. Při pokusu ve skleníku trvalo háďátku dokončení životního cyklu pouze 1 rok. Pokud však bylo na půdě bez plodiny nebylo schopné takto rychle svůj vývoj dokončit. Ve spojení s maliníkem bylo háďátko distribuováno do hloubky až do 60 cm (Cotton 1976).

#### **3.4.4.2 *Longidorus attenuatus***

### **Taxonomie**

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Enoplea

Řád: Dorylaimida

Čeleď: Longidoridae

Rod: *Longidorus*

Druh: *Longidorus attenuatus* (EPPO 2002)

### **Morfologie**

Samice mají středně dlouhé tělo kolem 6 257-7 341  $\mu\text{m}$ , a jeho šířka činní 13-14  $\mu\text{m}$ . Robustní stilet je dlouhý 80 až 85  $\mu\text{m}$ . Jejich ocas je 48-64  $\mu\text{m}$  (Kornobis et al. 2016).

### **Výskyt**

Vyskytuje se endemicky v několika evropských zemích například ve Velké Británii, Bulharsku, Francii, Itálii, Německu, Polsku či Španělsku. Jejich výskyt byl potvrzen také v Nigérii (Brown et al. 1989).

## Hostitelský organismus

Poprvé bylo háďátko zaznamenáno z akátu, který já známý jako hostitel viru černé kroužkovitosti rajčat (TBRV) (Kornobis 2021). Dnes je již háďátko spojováno s mnoha dalšími plodinami jako jsou celer, hlávkový salát, brambory, maliny, jahody, cukrová řepa, rajče (Evans 2007). Z ovocných stromů to dále může být švestka, broskev, hrušeň či jabloň (Kornobis 2021).

## Symptomy

Na napadených rostlinách mohou být viditelné chlorické skvrny, rostliny jsou zakrslejší s menšími listy. U listů také dochází k jejich redukci. Nejpatrnějším a nejčastějším symptomem je poranění kořenového systému, vyskytují se na něm nekrotické léze. Ty se nacházejí nejčastěji v blízkosti či na růstové špičce. Také dochází k její deformaci či k otokům kořenů (Roca et al. 1975). Největším problémem je však to, že *L.attenuatus* je vektorem TBRV (Kornobis et al. 2016).

## Ekonomický význam

Toto háďátko je poměrně široce rozšířeno, jak je známo z několika evropských zemí. Tento druh je velmi důležitý pro vinařský průmysl, právě z důvodu přenášení TBRV (Susulovska et al. 2016). Infikovaná réva nepovíry vykazuje progresivní degeneraci nebo pokles, což vede ke zkrácení produktivní životnosti postižených vinic snížením výnosu až o 80 % a také jejich kvality. Ovocné hrozny jsou často menší a je jich také menší počet. Vykazují nepravidelné zrání a špatné nasazení bobulí. Infikovaná réva může také vykazovat sníženou odolnost vůči nepříznivým klimatickým faktorům, jako je sucho nebo mrazy. Infikované rozmnožovací materiály mohou vykazovat sníženou schopnost zakořenění nebo špatný příjem roubu (Oliver & Fuchs 2019).

## Životní cyklus

Toto háďátko má ektoparazitické návyky, žije se na kořenových špičkách, kde se díky jeho působení vytváří malé apikální háčky (Kornobis et al. 2016). K dokončení svého životního cyklu vyžaduje jeden rok nebo i více let. Samci jsou u tohoto druhu háďátek vzácní. Háďátka jsou rozšiřována pomocí zamořené půdy, rostlin nebo kontaminovanými nástroji (Brown et al. 1989).

### 3.4.5 Kořenová háďátka (*Xiphinema* spp.) škodící na révě vinné a ovocných stromech

Na celém světě bylo identifikováno více než 170 druhů *Xiphinema* na široké škále hostitelů (OEPP/EPPO 2002). *Xiphinema* jsou migrující ektoparazitická háďátka, která se živí širokou škálou hostitelů a mohou být přenašeči nepovirů.

#### 3.4.5.1 *Xiphinema diversicaudatum*

##### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Enoplea

Řád: Dorylaimida

Čeleď: Longidoridae

Rod: *Xiphinema*

Druh: *Xiphinema diversicaudatum* (EPPO 2000)

##### Morfologie

Obě pohlaví mají typické válcovité tělo s hladkou kutikulou (CABI 2021). Délka samičího těla je 4,1 mm a šířka 60,4  $\mu\text{m}$  (Mokrini et al. 2014). Délka stiletu, jehož tvar je protáhlý, jehličkovitý a je také silně sklerotizovaný je u těchto háďátek 133,5  $\mu\text{m}$  (CABI 2021). Tělo má háďátka zakončené kuželovitým až polokulovitým ocasem o délce 45  $\mu\text{m}$ . Samčí délka těla bývá kolem 4,3 mm se šířkou 51  $\mu\text{m}$ . Stilet mají obě pohlaví podobné délky 139  $\mu\text{m}$ . To samé platí i o délce ocasu s 45  $\mu\text{m}$  (Mokrini et al. 2014).

##### Výskyt

*X. diversicaudatum* je hojně rozšířený v západní a východní Evropě (CABI 2021), například v zemích jako je Česko, Dánsko, Francie, Německo, Rakousko, Belgie, Bulharsko a západním Rusku. Mimo Evropu byl potvrzen výskyt tohoto druhu pouze na Novém Zélandu, v Jižní Africe, Kanadě, Mexiku a v Kalifornii v USA (Scheck 2020).

##### Hostitelský organismus

Toto háďátka má širokou škálu hostitelů. Nejčastěji je spojováno s rostlinnými druhy rostoucími v mírném pásmu na orných půdách, pastvinách a v listnatých lesích. Mnohem méně často se vyskytuje na lesních půdách s jehličnatými, křovinatými a slatinnými rostlinami (OEPP/EPPO 2017). Na ovocných plodinách se vyskytuje na malinících, jahodnicích, černém rybízu. Dále také na jabloních, švestkách, broskvích, hrušních, révě vinné (Scheck 2020), třešních (Evans 2007) a ořeších (Šubíková et al. 2002).



## Symptomy

Hádátka *X. diversicaudatum* způsobuje charakteristické napadení kořenů, které může mít za následek zakrnění celé rostliny. Toto snížení růstu může snížit výnos rostlinné plodiny (CABI 2021). Parazitování na kořenech má za následek mechanické a fyziologické poškození, které se projeví jako koncové otoky nebo poškození kořenových špiček s nekrózou, zastavení prodlužování kořenů a rozsáhlou nekrózou hlavních kořenů. Nadzemní příznaky způsobené samotným hádátkem jsou obecnými příznaky narušeného kořenového systému, nejsou diagnostické a nemusí být přítomny. Silné napadení hádátky může snížit vitalitu malých rostlin, avšak rostliny s větším kořenovým systémem nemusí nad zemí vykazovat žádné zjevné příznaky (Scheck 2020). U stromů se může vyskytovat žloutnutí listů, snížená vitalita a otoky na špičkách kořenů (Mokrini et al. 2014). Nepřímé poškození může být důsledkem schopnosti hádátek přenášet nepoviry (CABI 2021). *X. diversicaudatum* je osvědčený vektor nepovirů Arabis mosaic virus (ArMV) neboli mozaika huseníku na révě a viru latentní kroužkovitosti jahodníku (SLRS). ArMV má velký ekonomický význam ve vinařství, jelikož je spojován s degenerativním onemocněním révy vinné (Evans 2007). Infikované rostliny růže a malinovníku ArMV, měly oproti zdravím jedincům jasné známky zakrnění (Taylor & Thomas 1968).

## Ekonomický význam

ArMV má velký ekonomický význam ve vinařství, jelikož je spojován s degenerativním onemocněním révy vinné. *X. diversicaudatum* bylo také již nalezeno v citrusovém sadu, ale zatím není potvrzeno, že způsobuje také poškození citrusů. Jeho přítomnost však naznačuje, že tento druh hádátka může přežít i v tomto prostředí, odkud by se případně mohl rozšířit na jiné, náchylnější plodiny (Mokrini et al. 2014). Jak již bylo zmíněno ekonomický dopad hádátka však vyplývá převážně z toho, že je přirozeným přenašečem řady nepovirů, které způsobují onemocnění širokého spektra plodin. Tyto viry postihují širokou škálu ovocných a zeleninových plodin (CABI 2021). Jsou schopny učinit některé infikované rostliny neschopné růstu. Tím dochází ke snížení produkce tržní plodiny. V některých případech může dojít až k úhynu infikované rostliny, a to buď přímo nebo prostřednictvím následné infekce sekundárními patogeny (Scheck 2020).

## Životní cyklus

Životní cyklus zahrnuje vývoj od vajíčka přes čtyři červivá, pohyblivá, juvenilní stádia až po dospělce (Scheck 2020). Hádátka začínají svůj cyklus v období roku s vyššími teplotami. Ve Skotsku byly samice s vejci poprvé zaznamenány v polovině dubna a rozmnožování pokračovalo až do začátku července, s vrcholem kolem konce května. Poté následoval rychlý nárůst celkového počtu hádátek, nejvyšších počtů bylo dosaženo v listopadu, během zimy však populace rychle klesaly. Nízké zimní teploty pravděpodobně zpomalily životní procesy hádátka a také zabily velkou část populace. Snášení vajec je tedy nejspíše omezeno na určitou dobu, nejspíše proto, že dozrávání reprodukčního systému závisí na stimulaci fyziologickým stavem hostitelské rostliny nebo zvýšením v teplotě (Taylor & Thomas 1968). Toto hádátka je jediným

druhem z rodu *Xiphinema*, ve které se běžně vyskytují samci (Gutiérrez-Gutiérrez et al. 2013), rozmnožování může být tedy sexuální, ale je dochází i k partenogenezi (Scheck 2020). Nejprve se předpokládalo, že vývoj z vajíčka na dospělce trvá 2 roky a poté háďátko dokáže žít 3-6 let. V mírných podmínkách však tento druh pravděpodobně dokončí svůj životní cyklus během vegetačního období. Při 18 °C měla háďátka reprodukční rozpětí 54 týdnů a produkovala cca 180-200 potomků. Vývoj z vajíčka do dospělce trval přibližně 12 týdnů. Háďátko se může vyskytovat až do hloubky 60-100 cm, ale počet klesá pod hloubkou cca 20 cm (CABI 2021).

#### **3.4.5.2 *Xiphinema index***

*Xiphinema index* je významným parazitem révy vinné a má celosvětové rozšíření (Jones et al. 2013).

#### **Taxonomie**

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Enoplea

Řád: Dorylaimida

Čeleď: Longidoridae

Rod: *Xiphinema*

Druh: *Xiphinema index* (EPPO 2000)

#### **Morfologie**

Tato háďátka jsou výrazně větší než většina ostatních rostlinných parazitických háďátek (až 3 mm na délku) (Jones et al. 2013). *X. index* je snadno identifikovatelné na základě jeho protáhlého válcovitého těla a umístění vulvy na 40 % délky těla (Demangeat et al. 2005). Stilet je u těchto háďátek 126 µm dlouhý (Perry & Moens 2006). Dalším hlavním znakem je konvexní koloidní ocas s výrazným prstovitým výběžkem (Demangeat et al. 2005). Tvar ocasu se však může měnit od protáhlého nitkovitého po krátký, tupě zaoblený. Ocasu obou pohlaví mohou být podobné nebo vykazovat sexuální dimorfismus (Perry & Moens 2006).

#### **Výskyt**

Toto háďátko je přítomno ve všech hlavních oblastech pěstování révy ve středomořském prostředí a mírném podnebí, a to zejména v Evropě, Severní a Jižní Americe a na Středním východě, odkud pochází (Nguyen et al. 2020). Vyskytuje se také téměř ve všech vinařských oblastech v Africe a Austrálii. *X. index* se vyskytuje v široké škále půd včetně těžkých půd, ale preferuje lehké písčité až středně těžké hlinité půdy (Perry & Moens 2006).

## Hostitelský organismus

Toto háďátko má velmi omezený rozsah hostitelů, jeho hlavním hostitelem je domestikovaná réva vinná (Nguyen et al. 2019). Kromě révy napadá i různé dřeviny, a to rod slivoň a hrušeň, dále také citrusy, fíky, či moruše (Perry & Moens 2006). K parazitování na jiných hostitelích rostlinách dochází pouze v případě, že lokalita má předchozí historii pěstování révy vinné (Nguyen et al. 2019).

## Symptomy

Háďátko napadá hluboký vytrvalý systém kořenů. Zpomaluje prodlužování kořenů, způsobuje jejich bobtnání (Jones et al. 2013). Může také docházet ke kyjovitému růstu kořenových špiček (Crow & Rich 2020). Infekce způsobuje útlum růstu rostlin díky poškození kořenů. Nejvýznamnější vliv *X. index* je však výsledkem jeho aktivity jako přenašeče viru žluté mozaiky révy (GFLV), jednoho z nejvýznamnějších virů révy vinné (Jones et al. 2013). GFLV způsobuje tři různé syndromy infekční malformace, žlutou mozaiku a pruhování žilek. Choroba se postupně hromadí ve vinici vysazené na zamořené půdě, což má katastrofální důsledky pro výnos a kvalitu (OEPP/EPPO 2002).

## Ekonomický význam

Toto háďátko je považováno za hlavního škůdce v zemích pěstujících révu vinnou, jelikož je spojováno se specifickými nepoviry, které přenáší z rostliny na rostlinu (Nguyen et al. 2020). GFLV je zodpovědný za nejzávažnější virové onemocnění vinné révy na celém světě. Snižuje výnos plodiny až o 80 % a ovlivňuje kvalitu ovoce (Demangeat et al. 2005). Zároveň toto háďátko má schopnost přenášet také virus kroužkovitosti tabáku a virus kroužkovitosti rajčete, při tomto onemocnění dochází k poškození plodů jabloně. Také snižují vitalitu a způsobují drobné bobule v ostružině a borůvkách (Crow & Rich 2020). V dnešní době dochází ke šlechtění odrůd s přirozenou odolností vůči *X. index*. Tato možnost ochrany se jeví jako zvláště slibná (Nguyen et al. 2020).

## Životní cyklus

*X. index* se převážně reprodukuje partenogeneticky. Ve vzácných případech však bylo pozorováno i pohlavní rozmnožování, pokud byli přítomni samci (Jones et al. 2013). Samci jsou však extrémně vzácní, i jediné mládě tohoto háďátka je schopné založit populaci. Vajíčka snesená na jaře se líhnou o několik dní později a dozrávají v dospělé ve čtyřech juvenilních stádiích. Úplný životní cyklus probíhá za 2 až 14 měsíců v závislosti na biotických a abiotických faktorech. Čím více jsou teploty proměnlivější, tím déle vývoj trvá. Za nepříznivých podmínek, včetně nízké vlhkosti, nízké teploty a nepřítomnosti hostitelských rostlin, prochází *X. index* klidovou fází, během níž jsou omezeny fyziologické funkce a vývoj je přerušen (Demangeat et al. 2005). Životní cyklus *X. index* byl zaznamenán pouze 22–27 dní při 24 °C a až 7–9 měsíců při 20–23 °C (Perry & Moens 2006). Háďátko se může vyskytovat až v hloubce 4 m. Uvádí se může přežít až 4,5 roku na vinici, která je ladem (Demangeat et al. 2005). Virus může být přítomen

v háďátku až 4 roky, virulentní však nejsou nově vylíhnutá háďátka (Jones et al. 2013). Virulentními se však sestávají již po krátkém krmení kořeny (OEPP/EPPO 2002).

### 3.4.6 Kořenová háďátka (*Pratylenchus* spp.) škodící na révě vinné a ovocných stromech

Háďátka hálkotvorná rodu *Pratylenchus* jsou stěhovavá endoparazitická háďátka a třetí nejškodlivější druh háďátek na světě po háďáčích kořenových a cystotvorná. V současné době je celosvětově hlášeno 101 druhů háďátek s poškozením kořenů. Ekonomicky nejvýznamnějšími druhy jsou *P. penetrans*, *P. thornei*, *P. neglectus*, *P. zaeae*, *P. coffeae*, a *P. vulnus* (Karaca et al. 2020). Druhy háďátek rodu *Pratylenchus* mohou způsobit ztráty na výnosu až 85 % očekávané produkce, a ještě vyšší ztráty, když háďátka synergicky interagují s určitými půdními rostlinnými patogeny. Proto je rok *Pratylenchus* vysoce důležitý pro zemědělství (Bucki et al. 2020).

#### 3.4.6.1 *Pratylenchus vulnus*

##### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Pratylenchidae

Rod: *Pratylenchus*

Druh: *Pratylenchus vulnus* (EPPO 2002)

##### Morfologie

U obou pohlaví se vykytují stiletý se zaoblenými knoflíky. Boční pole obsahuje čtyři linie, přičemž dvě vnitřní linie jsou blíže k sobě než k vnějším (Lopez-Nicora et al. 2012). Mají také zužující se ocas s úzce zaoblenou hladkou špičkou (Bucki et al. 2020). Délka samičího těla bývá průměrně 583,0 µm a délka stiletu 16,8 µm. Ocas samic je dlouhý průměrně 29,2 µm. Délka těla samců se velmi neliší od délky těla samic, jelikož je 537,9 µm. To stejné platí i o délce stiletu, která je 16,2 µm a délce ocasu 25,5 µm (Lopez-Nicora et al. 2012).

##### Výskyt

Háďátka má široké geografické rozšíření napadá rostliny v teplém středomořském prostředí (Pinochet et al. 1996). Vykytuje se však také v oblastech s mírným klimatem, i v subtropích (Perry & Moens 2006). V Evropě je rozšířeno mimo jiné i ve Francii a Itálii, kde

je považováno za vážný patogen mnoha plodin (Pinochet et al. 1993). V Asii bylo hlášeno v Číně, Indii, Íránu, Japonsku, Koreji a dalších státech. V Americe zase v Kanadě, USA, Kubě, Argentíně, Brazílii atd.. Také je jeho výskyt hlášen v Austrálii a na Novém Zélandě (Karaca et al. 2020).

### **Hostitelský organismus**

Jeho hostitelská škála je velmi široká (Kim & Chun 2014). Napadá převážně dřeviny (Pinochet et al. 1996), hlavně plodiny peckovin a jádřovin např. třešně, hrušně, švestky, jabloně, olivovníky, meruňky, nektarinky, mangovníky, mandloně, citrusy, fíky, broskvoně a avokáda (Bucki et al. 2020). Výskyt tohoto háďátka byl také potvrzen u révy vinné a na malinovníku (Allen & Jensen 1951). Dále také poškozují obiloviny, píce a okrasné rostliny (Perry & Moens 2006).

### **Symptomy**

Toto stěhovavé endoparazitické háďátko způsobuje destrukci kořenového systému, což má za následek ztrátu vitality a výnosu u mladých a vzrostlých stromů (Pinochet et al. 1996). Napadá kůru kořenů, hlíz a dalších podzemních orgánů. Jeho potravní aktivity vedou k destrukci hostitelské buňky s tvorbou nekrotické léze (Kim & Chun 2014). Dochází k redukci kořenového systému, žloutnutí listů, zakrnění či úhynu celé rostliny (Karaca et al. 2020)

### **Ekonomický význam**

Díky poškození kořenů rostlin těmito háďátko dochází k ekonomickým ztrátám jako je snížení výnosů nebo snížení tržní hodnoty plodin (Kim & Chun 2014). Dnes je snaha o využívání odolných odrůd rostlin proti háďátkům, ale zatím se tento přístup v komerčním prostředí nevyužívá. Ačkoliv byla například rezistence zjištěna u několika planých švestek a meruněk (Pinochet et al. 1996). Zde je vidět jasný důkaz toho, že se jedná o velmi závažné háďátko, jelikož dokázalo napadnout 32 rostlinných druhů z 15 čeledí rostlin (Chikaoka 1970).

### **Životní cyklus**

Stejně jako ostatní druhy *Pratylenchus* má i *P. vulnus* šest životních stádií: vajíčko, čtyři juvenilní stadia a dospělce. Rozmnožování probíhá partenogenezí. Všechna juvenilní a dospělá stadia mají červovitý tvar. Všechna stadia po vylíhnutí jsou pohyblivá a mohou infikovat rostliny. Životní cyklus tohoto háďátka trvá přibližně 45-65 dní. *Pratylenchus* spp. přečkají zimu v infikovaných kořenech nebo půdě jako vajíčka, larvy nebo dospělci. Během jara, kdy je růst rostlin aktivní, se líhnou vajíčka, háďátka jsou přitahována ke kořenům rostlin a začínají se živit a pokračovat ve svém životním cyklu v kořenech nebo v rhizosféře půdy. Uvnitř kořene se hlístice živí tkání, což způsobuje nekrózu kortikálních buněk, rozpad buněk a tvorbu dutin. Některé háďátka mohou opustit kořen, vstoupit do půdy a znovu vstoupit do kořene na jiném místě a způsobit novou infekci (Scheck 2022).

### 3.4.6.2 *Pratylenchus penetrans*

#### Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda

Třída: Chromadorea

Řád: Rhabditida

Čeleď: Pratylenchidae

Rod: *Pratylenchus*

Druh: *Pratylenchus penetrans* (EPPO 2002)

#### Morfologie

Délka samičího těla je 609-647,5  $\mu\text{m}$  a stilet měří 16,8-17,5  $\mu\text{m}$ . Samice mají postvulvální děložní vak krátký a nediferencovaný. Ocas je u obou pohlaví zaoblený, 28-32,2  $\mu\text{m}$  dlouhý s hladkou špičkou. Samci mají kratší těla o celkové délce 448  $\mu\text{m}$ , průměrně je kratší i jejich stilet s 15,7  $\mu\text{m}$  (Kim & Chun 2014). Od blízce příbuzných druhů lze toto háďátko odlišit délkou těla a stiletu, počtem retních prstenců, labiální kostrou, polohou vulvy a tvarem spermatéky a konce ocasu (Bucki et al. 2020).

#### Výskyt

*P. penetrans* se vyskytuje celosvětově. Má velmi podobný geografický rozsah jako *P. vulnus*, ale oproti němu se nachází i v chladnějším klimatu (Perry & Moens 2006). Objevuje se většinou v mírných oblastech včetně Austrálie, Kanady, Evropy, Indie, Japonska, Nového Zélandu, Filipín, Ruska a USA (Collins & Wilkinson 2016). V Evropě je jeho výskyt potvrzen například v České republice, Finsku, Německu, Norsku, Polsku a dalších mnoho zemích (CABI 2021).

#### Hostitelský organismus

Jeho široký hostitelský sortiment zahrnuje mnoho zahradnických i hospodářských plodin, ovocných stromů a plevelů. Na hospodářských plodinách se vyskytuje velmi vzácně, ale již je známé vážné poškození u plodin pšenice, řepky, ovsu a hrachu (Collins & Wilkinson 2016). *P. penetrans* byl poprvé zaznamenán v půdě na banánové plantáži (Bucki et al. 2020). Dnes je hlavním patogenem jádruvin, peckovin a ořechů (Perry & Moens 2006). Hlášen je také výskyt u lilií, oliv, nektarinek, jabloní, jahodníků a broskvoní. Je ale také spojován s trávami, bramborami či pepřem (Bucki et al. 2020).

#### Symptomy

Se zvyšující se populací háďátek, dochází ke zvýšenému počtu hnědých/načervenalých lokálních lézí, které se rozšiřují po celém kořenovém systému. To způsobuje zakrnění rostliny a také výrazné snížení výnosu (Evans 2007). Napadené rostliny špatně rostou a růst plodin

může být nerovnoměrný (Collins & Wilkinson 2016). Hádátka se mohou zpočátku živit vnějším kořenovým povrchem a kořenovými vlásky, než proniknou do samotného kořene. Při nízkém napadení nemusí tedy rostlina prokazovat žádné příznaky. Poškození kořenů a následná bakteriální a plísňová infekce může později vést ke žloutnutí listů a zastavení růstu (Evans 2007).

### **Ekonomický význam**

Obzvláště náchylné k tomuto hádátku jsou rostliny jahodníku a maliníku. Převážně z důvodu, že společně s napadením háďátek dochází také k napadení kořenů houbami. Již hodnoty padesáti háďátek na jeden litr půdy mohou jahodníky poškodit. Kořenová háďátka se živí a množí v kořenech napadených rostlin, což způsobuje kanálky v kořenovém systému. To umožňuje bakteriální a houbové infekci zhoršit škody způsobené již samotnými háďátky. Často dochází k menším výnosům, a tedy k snižování ekonomické hodnoty plodin (Evans 2007).

### **Životní cyklus**

Tento druh háďátka se nejčastěji vyskytuje v písčitéch půdách. Živí se kořeny rostlin, do kterých také klade svá vajíčka. Toto háďátko je však schopné přežít určitou dobu pouze v půdě. Klade v průměru jedno až dvě vejce denně a vývoj z vajíčka do dospělce trvá 30–86 dní v závislosti na teplotě půdy a hostiteli. Vejce se mohou líhnout při teplotách až 2,7 °C. Všechny druhy kořenových háďátek mohou přežít během nepříznivého období v dehydratované formě v kořenech či v půdě. Pokud jsou klimatické podmínky ideální pro reprodukci po většinu roku, zejména při zavlažování a teplejším klimatu, populace se může rychle zvyšovat, a to především u náchylných plodin (Collins & Wilkinson 2016).

## 4 Metodika

### 4.1 Extrakce háďátek z rostlinných pletiv česneku a čekanky

Populace háďátek byla extrahována z rostlin česneku a čekanky napadené háďátkou *Ditylenchus dipsaci* (obrázek č.3.). K extrakci háďátek byla využita metoda za pomoci Baermannovy nálevky. V laboratoři byly vzorky odebraného česneku a čekanky nakrájeny a na menší kousky, ty se poté zabalily do papírového ubrousku a takto byly umístěny do nálevky. Nálevka byla opatřena gumovou hadičkou, ta byla na konci uzavřena tlačkou. Nálevka se poté doplnila vodou. Takto ponořené části česneku a čekanky se nechaly po dobu 24 hodin máčet. Během této doby došlo k postupnému vyplavování háďátek z pletiv česneku. Háďátka poté začala sedimentovat na dno uzavřené gumové hadičky. Druhý den byla část se sedimentovanými háďátkami ve vodní suspenzi vypuštěna do kádinky.

### 4.2 Příprava bakterií

Ve flow-boxu II. třídy typu A2 od firmy ESCO došlo k naočkování jednotlivých bakterií pomocí vysterilizovaných párátek, jež se pomocí pinzety ponořila do přípravku. Pinzeta byla před každým použitím ožehuta v plameni kahanu. Jednotlivá párátka byla poté ponořena do určených přípravků a poté vložena do 50 ml falkonek, ve které bylo tekuté kultivační médium. Jedna varianta představovala kontrolu, kdy bylo využito pouze čisté kultivační médium. Takto připravené zkumavky se nechaly poté 24 hodin třepat na třepačce. Po 24 hodinách byly jednotlivé zkumavky přefiltrovány pomocí sterilního filtračního papírku a sterilního skleněného trychtýře do sterilní kádinky (obrázek č. 4)

Využité přípravky a jejich bakterie:

1. Hirundo od značky Monas Technology: bakterie obsažená ve výrobku je *Bacillus amyloliquefaciens*
2. Prometheus od značky BASF: s bakterií *Pseudomonas veronii*
3. Sirius od značky NovaFerm: bakterie výrobku je *Bacillus licheniformis*
4. Integral Pro taktéž od značky BASF: s bakterií *Bacillus amyloliquefaciens* kmen MBI 600
5. Dual, taktéž od značky NovaFerm: s bakteriemi *Azotobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus licheniformis*
6. Multi, taktéž od značky NovaFerm – také obsahuje více rodů bakterií *Azotobacter* spp., *Azospirillum* spp., dále *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*



Použitý materiál a pomůcky:

- Flow-box II. třídy typu A2, ESCO
- Kahan
- Párátka
- Biologické přípravky
- Kultivační médium Luria-Bertani (LB)
- Falkonky 50ml
- Třepačka (IKA KS 130 basic)
- Filtrační papír
- Skleněný trychtýř
- Kádinka

#### 4.2.1 In vitro sklíčková kultura

K otestování účinku jednotlivých bakterií byla použita destička Orange Scientific Tissue Culture Or Plates s 24 jamkami. Do jednotlivých jamek byl daný substrát s bakteriemi napipetován v obsahu 1 ml. Poté bylo do každé jamky přidáno více než 10 háďátek. Zároveň byla také vytvořena kontrola, která obsahovala pouze čisté kultivační médium. Bylo tedy vytvořeno 6 variant po 6 pozorováních. Vrchní strana destičky byla přilepena pomocí lepícího filmu. Poté byly destičky přesunuty na třepačku, kde se při rychlosti 160 otáček za minuty třepaly po dobu 24, 48 a 72 hodin (obrázek č. 5).

První vyhodnocení nastalo po 24 hodinách, kdy muselo dojít kvůli lepší přehlednosti k odlepení lepícího filmu. Každá jamka byla jednotlivě prohlížena pod stereomikroskopem. Vyhodnocovali se počty mrtvých a živých háďátek, tyto hodnoty byly ihned zaznamenány do tabulky. Poté byla destička znovu přelepena a vrácena zpět na třepačku. Další vyhodnocení se stejným postupem následovala tedy po 48 a poté 72 hodinách. Data byla poté statisticky zpracována pomocí programu Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa). Při úpravě procent mortality háďátek byl použit vzorec  $=\text{ARCSIN}(\text{ODMOCNINA}(\text{mortalita háďátek}/100))$ .

Použitý materiál a pomůcky:

- Destička Orange Scientific Tissue Culture or Plates (24 jamek)
- Stereomikroskop Olympus (SZ 61)
- Digitální pipeta (VWR Collection)
- Suspenze s bakteriemi
- Třepačka (IKA KS 130 basic)
- Lepící film (firmy Simport)
- Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa)

#### 4.2.2 Květináčové testy

Tento pokus byl založen ve školním pokusném skleníku 18.1.2022. Pro pokus byla použita autoklávovaná půda, tou byly plněny květináče o objemu 500 ml. Opět bylo vytvořeno 6 variant, z toho jedna představovala kontrolu. Přičemž jedna varianta obsahovala 12 květináčů. Z toho v 6 květináčích byly využity předem předpěstované sazeničky čekanky. A ve zbylých 6 květináčích byly nově zaseté čekanky pomocí 3 semínek. Do každého z květináče byla nejprve udělána jamka v hloubce 2 cm. Do té byly nasypány rozdrčené listy usušené čekanky, která byla napadena hádátkem *Ditylenchus dipsaci*. Listy čekanky byly překryty vrstvou půdy cca 1 cm. Poté byly nepipetovány jednotlivé bakterie, u všech byla jednotná dávka 2 ml na květináč, dávkování přípravku bylo stanoveno dle výrobce. Do takto připraveného květináče byla poté zasazena sazenička čekanky, či zasetá semínka (obrázek č. 6).

Pokus byl poté zakryt folií a po dobu čtyř týdnů bylo okolí rostlin ovlhčováno pomocí zvlhčovače vzduchu. 14.2. 2022 byla odstraněna folie z pokusu a byl také odebrán i zvlhčovač.

Použitý materiál a pomůcky:

- Vysterilizovaná zemina
- Plastové květináče o objemu 500 ml
- Jednotlivé varianty bakterií
- Digitální pipeta (VWR Collection)
- Sazeničky a semínka čekany
- Napadené a usušené listy čekanky

### 4.3 Vyhodnocení účinnosti jednotlivých bakterií na rostlinách

Vyhodnocení tohoto pokusu začalo po 8 týdnech tedy 14.3.2022 (obrázek č. 7). Nejprve byly jednotlivé rostliny rozebrány na listy. Listy byly seřazeny od nejstaršího po nejmladší a poté očíslovány. U jednotlivých listů bylo také popsáno podle stupnice jejich zčervenání žilek (obrázek č. 8) a zkadeření listů (obrázek č. 9). Každý list byl poté jednotlivě vyfocen s měřítkem, příslušným číslem listu, květiny a variantou bakterie. Následujícím krokem bylo zvážení listu a jeho rozkrájení na proužky o šířce přibližně 0,5 cm. Rozkrájený list byl poté umístěn na filtrační látku tvaru čtverce o délce jedné strany cca 10 cm. Takto připravený vzorek byl vložen do 50 ml falkonky a celý zalit vodou (obrázek č. 10). Jednotlivé falkonky byly označeny číslem rostliny, listu a jednotlivé varianty. Hádátka se z jednotlivých listů se nechávala vyplavit 24 hodin, poté byly vzorky vyndány. Čistý roztok vody s hádátka byl poté zkoumán pod stereomikroskopem. Kde byl pomocí dělené Petriho misky na 16 plošek, spočítán počet hádátek na jeden list rostliny. Všechny údaje byly zaznamenány do společné tabulky. Počet

hádátek byl přepočítán na gram listu, byl stanoven Disease index, součtem indexu zčervenání a indexu zkadeření listů. Data byla statisticky zpracována pomocí programu Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa). Byla zkontrolována normalita dat pomocí chí kvadrát testu. Touto metodou bylo zjištěno, že data neodpovídají normálnímu rozložení, a proto k vyhodnocení výsledků musela být použita neparametrická statistika pro porovnání více nezávislých vzorků. U indexů zčervenání a zkadeření byla poté provedena úprava stupňů pomocí logaritmu, pomocí vzorce  $=\text{LOG}(\text{konkrétní stupeň zkadeření či zčervenání, disease index})$ .

Použitý materiál a pomůcky:

- Fotoaparát (FUJIFILM FinePix XP140)
- Pravítko
- Filtrační látka 10 x 10 cm (Uhelon 19M, velikost ok 366 mikrometrů, materiál Polyamid)
- Falkonky 50 ml
- Dělená Petriho miska
- Stereomikroskop Olympus (SZ 61)
- program Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa)

## 5 Výsledky

### 5.1 Přímé působení bakterií na *Ditylenchus dipsaci* in vitro

#### 5.1.1 Mortalita 24 hodin

Tabulka 1 Mortalita háďátek po 24 hodinách p hodnota

		Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Mortalita 24 hodin (Tabulka10) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 42) =27,63808 p =,0001					
Závislá: Mortalita 24 hodin	Hirundo R:30,583	Novaferm Sirius R:28,000	Integral pro R:28,417	Prometheus R:21,667	Novaferm Dual R:28,833	Novaferm Multi R:6,5000	Kontrola R:6,5000
Hirundo		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,014139	0,014139
Novaferm Sirius	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,050428	0,050428
Integral pro	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,041424	0,041424
Prometheus	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,677205	0,677205
Novaferm Dual	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		0,033918	0,033918
Novaferm Multi	0,014139	0,050428	0,041424	0,677205	0,033918		1,000000
Kontrola	0,014139	0,050428	0,041424	0,677205	0,033918	1,000000	

Tabulka 2 Mortalita háďátek po 24 hodinách z hodnota

		Vícenásobné porovnání z' hodnot; Mortalita 24 hodin (Tabulka10) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 42) =27,63808 p =,0001					
Závislá: Mortalita 24 hodin	Hirundo R:30,583	Novaferm Sirius R:28,000	Integral pro R:28,417	Prometheus R:21,667	Novaferm Dual R:28,833	Novaferm Multi R:6,5000	Kontrola R:6,5000
Hirundo		0,364731	0,305904	1,258911	0,247076	3,400235	3,400235
Novaferm Sirius	0,364731		0,058828	0,894180	0,117655	3,035504	3,035504
Integral pro	0,305904	0,058828		0,953007	0,058828	3,094332	3,094332
Prometheus	1,258911	0,894180	0,953007		1,011835	2,141325	2,141325
Novaferm Dual	0,247076	0,117655	0,058828	1,011835		3,153159	3,153159
Novaferm Multi	3,400235	3,035504	3,094332	2,141325	3,153159		0,000000
Kontrola	3,400235	3,035504	3,094332	2,141325	3,153159	0,000000	

Z tabulek č. 1 a z tabulek č.2 je lze vyvozovat, že nejnižší mortalitu měla kontrolní variant a varianta Novaferm Multi. Statisticky významný rozdíl poté vyšel mezi kontrolní variantou a variantami Hirundo, Integral Pro a Novaferm Dual. Statisticky významný rozdíl také vyšel mezi variantou Novaferm Multi a stejnými variantami jako u kontrolní, tedy Hirundo, Integral Pro a Novaferm Dual. Nejvyšší mortalitu ze všech měla varianta Hirundo.

## 5.1.2 Mortalita 48 hodin

Tabulka 3 Mortalita háďátek po 48 hodinách p hodnota

Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Mortalita 48 hodin (Tabulka10)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 42) =26,83055 p =,0002							
Závislá: Mortalita 48 hodin	Hirundo R:28,667	Novaferm Sirius R:29,083	Integral pro R:30,167	Prometheus R:25,167	Novaferm Dual R:24,417	Novaferm Multi R:6,5000	Kontrola R:6,5000
Hirundo		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,036756	0,036756
Novaferm Sirius	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,030037	0,030037
Integral pro	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,017504	0,017504
Prometheus	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,176440	0,176440
Novaferm Dual	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		0,239814	0,239814
Novaferm Multi	0,036756	0,030037	0,017504	0,176440	0,239814		1,000000
Kontrola	0,036756	0,030037	0,017504	0,176440	0,239814	1,000000	

Tabulka 4 Mortalita háďátek po 48 hodinách z hodnota

Vícenásobné porovnání z' hodnot; Mortalita 48 hodin (Tabulka10)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 42) =26,83055 p =,0002							
Závislá: Mortalita 48 hodin	Hirundo R:28,667	Novaferm Sirius R:29,083	Integral pro R:30,167	Prometheus R:25,167	Novaferm Dual R:24,417	Novaferm Multi R:6,5000	Kontrola R:6,5000
Hirundo		0,058828	0,211779	0,494152	0,600042	3,129628	3,129628
Novaferm Sirius	0,058828		0,152952	0,552979	0,658869	3,188456	3,188456
Integral pro	0,211779	0,152952		0,705931	0,811821	3,341408	3,341408
Prometheus	0,494152	0,552979	0,705931		0,105890	2,635477	2,635477
Novaferm Dual	0,600042	0,658869	0,811821	0,105890		2,529587	2,529587
Novaferm Multi	3,129628	3,188456	3,341408	2,635477	2,529587		0,000000
Kontrola	3,129628	3,188456	3,341408	2,635477	2,529587	0,000000	

Po přímém působení bakteriemi po 48 hodinách došlo opět k nejnižší mortalitě u kontrolní varianty a varianty Novaferm Multi. Z tabulek č. 3 a č.4 lze také vyčíst, že nejvyšší mortalitu po 48 hodinách měla varianta s přípravkem Integral Pro, zároveň také stoupla mortalita u varianty s přípravkem Novaferm Sirius. Statisticky významný rozdíl vyšel opět mezi kontrolní variantou a variantami Hirundo a Integral Pro, avšak tentokrát i s variantou Novaferm Sirius. Statisticky významný rozdíl také vyšel mezi variantou Novaferm Multi a stejnými variantami jako u kontrolní, tedy Hirundo, Integral Pro a Novaferm Sirius.

### 5.1.3 Mortalita 72 hodin

Tabulka 5 Mortalita háďátek po 72 hodinách p hodnota

Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Mortalita 72 hodin (Tabulka10)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 42) =18,09880 p = ,0060							
Závislá: Mortalita 72 hodin	Hirundo R:22,667	Novaferm Sirius R:26,000	Integral pro R:20,417	Prometheus R:23,917	Novaferm Dual R:22,583	Novaferm Multi R:31,417	Kontrola R:3,5000
Hirundo		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,142978
Novaferm Sirius	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,031283
Integral pro	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,355360
Prometheus	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,082838
Novaferm Dual	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,148125
Novaferm Multi	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		0,001701
Kontrola	0,142978	0,031283	0,355360	0,082838	0,148125	0,001701	

Tabulka 6 Mortalita háďátek po 72 hodinách z hodnota

Vícenásobné porovnání z' hodnot; Mortalita 72 hodin (Tabulka10)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 42) =18,09880 p = ,0060							
Závislá: Mortalita 72 hodin	Hirundo R:22,667	Novaferm Sirius R:26,000	Integral pro R:20,417	Prometheus R:23,917	Novaferm Dual R:22,583	Novaferm Multi R:31,417	Kontrola R:3,5000
Hirundo		0,470621	0,317669	0,176483	0,011766	1,235380	2,706070
Novaferm Sirius	0,470621		0,788290	0,294138	0,482386	0,764759	3,176690
Integral pro	0,317669	0,788290		0,494152	0,305904	1,553049	2,388401
Prometheus	0,176483	0,294138	0,494152		0,188248	1,058897	2,882552
Novaferm Dual	0,011766	0,482386	0,305904	0,188248		1,247145	2,694304
Novaferm Multi	1,235380	0,764759	1,553049	1,058897	1,247145		3,941449
Kontrola	2,706070	3,176690	2,388401	2,882552	2,694304	3,941449	

Po 72 hodinách přímého působení bakterií již nejnižší mortality dosahuje pouze kontrolní varianta. Naopak varianta s přípravkem Novaferm Multi představuje nejvyšší mortalitu ze všech variant. Z tabulek č. 5 a č. 6 je patrné, že statisticky významný rozdíl vyšel pouze mezi kontrolní variantou a variantami Novaferm Sirius a Novaferm Multi.

## 5.2 Květináčové testy

Při tomto pokusu došlo u každé varianty alespoň k jednomu uhynutí rostliny, nejvíce však došlo k úhynu 4 rostlin. Vždy se však jednalo o varianty rostlin, které vyrůstaly ze semínka. Výjimkou byla pouze jedna rostlina z varianty sazenice, která taktéž uhynula. Z rostlin byla využita pouze nadzemní část rostlin, která se dále zpracovávala postupem, jenž je popsán v kapitole metodika.

### 5.2.1 Květináčové testy varianta z předpěstovaných sazenic

U rostlin z předpěstovaných sazeniček, byl celkový počet listů všech rostlin 301 kusů. Z toho jednotlivé variant obsahovaly: Hirundo 46 listů na variantu, Novaferm Sirius taktéž 46 listů, Integral Pro 44 listů, Prometheus 43 listů, Novaferm Dual 50 listů, Novaferm Multi 39 listů a kontrolní varianta měla celkem 33 listů. U varianty se sazeničkami bylo počítáno s 40 kusy rostlin čekanky.

### 5.2.1.1 Počet háďátek na gram

Tabulka 7 Sazenice: Počet háďátek na gram p hodnota

Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Počet háďátek na gram (Tabulka6)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 301) =47,92398 p =,0000							
Závislá: Počet háďátek na gram	Hirundo R:162,26	Novaferm Sirius R:97,565	Integral Pro R:138,47	Prometheus R:149,00	Novaferm Dual R:137,33	Novaferm Multi R:169,36	Kontrola R:228,12
Hirundo		0,007645	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,019105
Novaferm Sirius	0,007645		0,542749	0,112067	0,531969	0,003169	0,000000
Integral Pro	1,000000	0,542749		1,000000	1,000000	1,000000	0,000162
Prometheus	1,000000	0,112067	1,000000		1,000000	1,000000	0,001798
Novaferm Dual	1,000000	0,531969	1,000000	1,000000		1,000000	0,000069
Novaferm Multi	1,000000	0,003169	1,000000	1,000000	1,000000		0,090529
Kontrola	0,019105	0,000000	0,000162	0,001798	0,000069	0,090529	

Tabulka 8 Sazenice: Počet háďátek na gram z hodnota

Vícenásobné porovnání z' hodnot; Počet háďátek na gram (Tabulka6)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 301) =47,92398 p =,0000							
Závislá: Počet háďátek na gram	Hirundo R:162,26	Novaferm Sirius R:97,565	Integral Pro R:138,47	Prometheus R:149,00	Novaferm Dual R:137,33	Novaferm Multi R:169,36	Kontrola R:228,12
Hirundo		3,564864	1,296501	0,718280	1,402070	0,374669	3,317036
Novaferm Sirius	3,564864		2,228530	2,785986	2,236304	3,789591	6,575413
Integral Pro	1,296501	2,228530		0,564419	0,063139	1,613929	4,473195
Prometheus	0,718280	2,785986	0,564419		0,644692	1,057839	3,928088
Novaferm Dual	1,402070	2,236304	0,063139	0,644692		1,722540	4,651046
Novaferm Multi	0,374669	3,789591	1,613929	1,057839	1,722540		2,854469
Kontrola	3,317036	6,575413	4,473195	3,928088	4,651046	2,854469	

Z tabulky č. 7 a z tabulky č. 8 vyplívá, že nejvyšší průměrný počet háďátek na gram listu byl napočítán v kontrolní variantě. Zároveň je u obou těchto tabulek velmi zřetelné, že přípravky Hirundo, Novaferm Sirius, Integral Pro, Prometheus a Novaferm Dual jsou statisticky významně lepší než kontrolní varianta. Taktéž je statistický rozdíl mezi variantami Novaferm Sirius a Hirundo a zároveň i mezi Novaferm Sirius a Novaferm Multi. Je zde také patrné, že Novaferm Sirius vyšel statisticky nejlépe oproti kontrolní variantě. Dalšími v pořadí vyšly přípravky Integral Pro, Novaferm Dual a Prometheus, jež mají velmi podobné hodnoty R, jejich statistický rozdíl oproti variantě není již tak vysoký. Neblíže ke kontrolním hodnotám měly poté varianty Hirundo a Novaferm Multi, vzhledem k těmto blízkým hodnotám jsou statisticky významné k variantě Novaferm Sirius, která měla hodnoty R nejnižší.

### 5.2.1.2 Index zčervenání

Tabulka 9 Sazenice: Index zčervenání p hodnota

Závislá: Index zčervenání	Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Index zčervenání (Tabulka6) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 301) =43,48223 p =,0000						
	Hirundo R:168,76	Novaferm Sirius R:84,022	Integral Pro R:175,47	Prometheus R:180,86	Novaferm Dual R:149,56	Novaferm Multi R:136,96	Kontrola R:166,85
Hirundo		0,000063	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
Novaferm Sirius	0,000063		0,000013	0,000003	0,004788	0,109193	0,000635
Integral Pro	1,000000	0,000013		1,000000	1,000000	0,929588	1,000000
Prometheus	1,000000	0,000003	1,000000		1,000000	0,473569	1,000000
Novaferm Dual	1,000000	0,004788	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000
Novaferm Multi	1,000000	0,109193	0,929588	0,473569	1,000000		1,000000
Kontrola	1,000000	0,000635	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Tabulka 10 Sazenice: Index zčervenání z hodnota

Závislá: Index zčervenání	Vícenásobné porovnání z' hodnot; Index zčervenání (Tabulka6) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 301) =43,48223 p =,0000						
	Hirundo R:168,76	Novaferm Sirius R:84,022	Integral Pro R:175,47	Prometheus R:180,86	Novaferm Dual R:149,56	Novaferm Multi R:136,96	Kontrola R:166,85
Hirundo		4,669301	0,365333	0,655380	1,079824	1,678509	0,096317
Novaferm Sirius	4,669301		4,982461	5,245309	3,685761	2,794396	4,171544
Integral Pro	0,365333	4,982461		0,289042	1,439959	2,011562	0,429951
Prometheus	0,655380	5,245309	0,289042		1,729149	2,280959	0,695645
Novaferm Dual	1,079824	3,685761	1,439959	1,729149		0,677554	0,885653
Novaferm Multi	1,678509	2,794396	2,011562	2,280959	0,677554		1,451806
Kontrola	0,096317	4,171544	0,429951	0,695645	0,885653	1,451806	

Z tabulek č. 9 a č. 10 jež porovnávají index zčervenání je také patrné, že varianta Novaferm Sirius měla nejnižší hodnocení pomocí tohoto indexu. Tento přípravek vyšel statisticky významně rozdílný oproti všem variantám, kromě varianty Novaferm Multi. Zároveň se jednalo o jediný přípravek, který byl statisticky významný oproti kontrolní variantě. Naopak varianty Hirundo, Integral Pro a Prometheus měly index zčervenání vyšší než kontrolní varianta, jelikož jejich hodnoty R jsou vyšší než u kontrolní varianty.



### 5.2.1.3 Index zkadeření

Tabulka 11 Sazenice: Index zkadeření p hodnota

Vícenásobné porovnání z' hodnot; Index zkadeření (Tabulka6)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 301) =26,68692 p = ,0002							
Závislá: Index zkadeření	Hirundo R:159,01	Novaferm Sirius R:108,35	Integral Pro R:157,17	Prometheus R:138,29	Novaferm Dual R:143,67	Novaferm Multi R:176,33	Kontrola R:188,79
Hirundo		2,791638	0,100278	1,122317	0,862744	0,914356	1,499710
Novaferm Sirius	2,791638		2,660168	1,621868	1,986459	3,588575	4,051339
Integral Pro	0,100278	2,660168		1,011582	0,750412	1,001116	1,577496
Prometheus	1,122317	1,621868	1,011582		0,297172	1,976670	2,507006
Novaferm Dual	0,862744	1,986459	0,750412	0,297172		1,756656	2,311296
Novaferm Multi	0,914356	3,588575	1,001116	1,976670	1,756656		0,604999
Kontrola	1,499710	4,051339	1,577496	2,507006	2,311296	0,604999	

Tabulka 12 Sazenice: Index zkadeření z hodnota

Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Index zkadeření (Tabulka6)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 301) =26,68692 p = ,0002							
Závislá: Index zkadeření	Hirundo R:159,01	Novaferm Sirius R:108,35	Integral Pro R:157,17	Prometheus R:138,29	Novaferm Dual R:143,67	Novaferm Multi R:176,33	Kontrola R:188,79
Hirundo		0,110128	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
Novaferm Sirius	0,110128		0,164014	1,000000	0,986630	0,006982	0,001069
Integral Pro	1,000000	0,164014		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
Prometheus	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,255693
Novaferm Dual	1,000000	0,986630	1,000000	1,000000		1,000000	0,437147
Novaferm Multi	1,000000	0,006982	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000
Kontrola	1,000000	0,001069	1,000000	0,255693	0,437147	1,000000	

U tohoto vyhodnocení z tabulek č. 11 a č. 12, který znázorňují index zkadeření je na první pohled patrné, že kontrolní varianta dosahovala nejvyšších hodnot tohoto indexu. I zde v tomto hodnocení nejlépe vyšla varianta Novaferm Sirius s nejnižším indexem zkadeření. Statisticky významný rozdíl vyšel mezi variantami Novaferm Sirius a Novaferm Multi, zároveň také i mezi Novaferm Sirius a kontrolní variantou.

### 5.2.1.4 Disease index

Tabulka 13 Sazenice: Disease index p hodnota

Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Disease index (Tabulka6)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 301) =52,77980 p =,0000							
Závislá: Disease index	Hirundo R:170,74	Novaferm Sirius R:73,750	Integral Pro R:171,07	Prometheus R:164,81	Novaferm Dual R:139,94	Novaferm Multi R:162,42	Kontrola R:189,67
Hirundo		0,000002	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
Novaferm Sirius	0,000002		0,000002	0,000017	0,004144	0,000060	0,000000
Integral Pro	1,000000	0,000002		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
Prometheus	1,000000	0,000017	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000
Novaferm Dual	1,000000	0,004144	1,000000	1,000000		1,000000	0,227915
Novaferm Multi	1,000000	0,000060	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000
Kontrola	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	0,227915	1,000000	

Tabulka 14 Sazenice: Disease index z hodnota

Vícenásobné porovnání z' hodnot; Disease index (Tabulka6)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 301) =52,77980 p =,0000							
Závislá: Disease index	Hirundo R:170,74	Novaferm Sirius R:73,750	Integral Pro R:171,07	Prometheus R:164,81	Novaferm Dual R:139,94	Novaferm Multi R:162,42	Kontrola R:189,67
Hirundo		5,344301	0,017929	0,320940	1,732091	0,438958	0,953280
Novaferm Sirius	5,344301		5,302515	4,932516	3,722413	4,680556	5,838108
Integral Pro	0,017929	5,302515		0,335103	1,730235	0,451641	0,927939
Prometheus	0,320940	4,932516	0,335103		1,374126	0,124228	1,233849
Novaferm Dual	1,732091	3,722413	1,730235	1,374126		1,209155	2,547394
Novaferm Multi	0,438958	4,680556	0,451641	0,124228	1,209155		1,323400
Kontrola	0,953280	5,838108	0,927939	1,233849	2,547394	1,323400	

Při vyhodnocení disease index je taktéž na první pohled z tabulek č. 13 a č. 14 patrné, že u přípravku Novaferm Sirius se projevilo nejméně příznaků, zatímco kontrolní varianta měla příznaků nejvíce. U přípravků Hirundo a Integral Pro byly příznaky hned po kontrolní variantě nejvyšší. Statisticky významný rozdíl byl tedy pozorován u varianty Novaferm Sirius oproti všem variantám včetně kontrolní.

## 5.2.2 Květináčové testy varianta semínka

Rostliny, které rostly přímo ze semínka, měly oproti sazenicovým variantám celkem vzrostlých 25 rostlin čekanky se 115 listy a jednotlivé varianty obsahovaly: Hirundo 19 listů na variantu, Novaferm Sirius 11 listů, Integral Pro 13 listů, Prometheus 15 listů, Novaferm Dual 18 listů, Novaferm Multi 13 listů a kontrolní varianta celkem 26 listů.

### 5.2.2.1 Počet háďátek na gram

Tabulka 15 Semínka: Počet háďátek na gram p hodnota

Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Počet háďátek na gram (Tabulka1)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 115) =32,23441 p = 0000							
Závislá: Počet háďátek na gram	Hirundo R:25,711	Novaferm Sirius R:79,818	Integral Pro R:42,269	Prometheus R:70,333	Novaferm Dual R:69,806	Novaferm Multi R:72,615	Kontrola R:57,635
Hirundo		0,000387	1,000000	0,002241	0,001218	0,001951	0,031748
Novaferm Sirius	0,000387		0,125537	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
Integral Pro	1,000000	0,125537		0,552980	0,488560	0,426642	1,000000
Prometheus	0,002241	1,000000	0,552980		1,000000	1,000000	1,000000
Novaferm Dual	0,001218	1,000000	0,488560	1,000000		1,000000	1,000000
Novaferm Multi	0,001951	1,000000	0,426642	1,000000	1,000000		1,000000
Kontrola	0,031748	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Tabulka 16 Semínka: Počet háďátek na gram z hodnota

Vícenásobné porovnání z' hodnot; Počet háďátek na gram (Tabulka1)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 115) =32,23441 p = 0000							
Závislá: Počet háďátek na gram	Hirundo R:25,711	Novaferm Sirius R:79,818	Integral Pro R:42,269	Prometheus R:70,333	Novaferm Dual R:69,806	Novaferm Multi R:72,615	Kontrola R:57,635
Hirundo		4,283354	1,379789	3,874829	4,020819	3,908445	3,172404
Novaferm Sirius	4,283354		2,748988	0,716636	0,784683	0,527322	1,849806
Integral Pro	1,379789	2,748988		2,221274	2,269059	2,320454	1,356695
Prometheus	3,874829	0,716636	2,221274		0,045278	0,180624	1,174662
Novaferm Dual	4,020819	0,784683	2,269059	0,045278		0,231537	1,190511
Novaferm Multi	3,908445	0,527322	2,320454	0,180624	0,231537		1,322735
Kontrola	3,172404	1,849806	1,356695	1,174662	1,190511	1,322735	

U variant rostlin, které nebyly předem předpěstovány, ale byla u nich bakterie aplikována již ve stádiu semínka, vychází naopak nejlépe varianta s přípravkem Hirundo. Jak lze pozorovat z tabulek č. 15 a č.16, tento přípravek je statisticky významně lepší než všechny varianty, včetně kontrolní. Výjimkou je pouze varianta Integral Pro, kde není statisticky významný rozdíl. Je zde také patrné, že k nejhorším výsledkům došlo naopak u varianty Novaferm Siruis, jejíž hodnoty jsou dokonce vyšší než u kontrolní varianty.

### 5.2.2.2 Index zčervenání

Tabulka 17 Semínka: Index zčervenání p hodnota

		Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Index zčervenání (Tabulka1) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 115) =14,67883 p =,0229					
Závislá: Index zčervenání	Hirundo R:45,263	Novaferm Sirius R:50,636	Integral Pro R:54,077	Prometheus R:68,467	Novaferm Dual R:74,111	Novaferm Multi R:42,115	Kontrola R:63,135
Hirundo		1,000000	1,000000	0,922260	0,179040	1,000000	1,000000
Novaferm Sirius	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
Integral Pro	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
Prometheus	0,922260	1,000000	1,000000		1,000000	0,777114	1,000000
Novaferm Dual	0,179040	1,000000	1,000000	1,000000		0,175896	1,000000
Novaferm Multi	1,000000	1,000000	1,000000	0,777114	0,175896		1,000000
Kontrola	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Tabulka 18 Semínka: Index zčervenání z hodnota

		Vícenásobné porovnání z' hodnot; Index zčervenání (Tabulka1) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 115) =14,67883 p =,0229					
Závislá: Index zčervenání	Hirundo R:45,263	Novaferm Sirius R:50,636	Integral Pro R:54,077	Prometheus R:68,467	Novaferm Dual R:74,111	Novaferm Multi R:42,115	Kontrola R:63,135
Hirundo		0,425362	0,734425	2,014881	2,630510	0,262295	1,775947
Novaferm Sirius	0,425362		0,251886	1,347183	1,839701	0,623828	1,042183
Integral Pro	0,734425	0,251886		1,138948	1,650865	0,914653	0,799754
Prometheus	2,014881	1,347183	1,138948		0,484238	2,085704	0,493228
Novaferm Dual	2,630510	1,839701	1,650865	0,484238		2,636524	1,073675
Novaferm Multi	0,262295	0,623828	0,914653	2,085704	2,636524		1,855904
Kontrola	1,775947	1,042183	0,799754	0,493228	1,073675	1,855904	

I u indexu zčervenání došlo u varianty rostlin ze semínek, taktéž k odlišným výsledkům, jak je lze patrné z tabulek č. 17 a č. 18. Index červenání byl nižší než u kontrolní varianty u variant Hirundo, Novaferm Sirius, Integral Pro a Novaferm Multi. Přičemž u posledně zmíněného index zkadeřen dosahoval nejnižších hodnot. Nejvyšší index zkadeření byl oproti tomu u variant Novaferm Dual a druhý nejvyšší u Prometheus. U žádné z variant nedošlo ke statisticky významným rozdílům oproti kontrolní variantě.

### 5.2.2.3 Index zkadeření

Tabulka 19 Semínka: Index zkadeření p hodnota

Závislá: Index zkadeření	Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); Index zkadeření (Tabulka1) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 115) =20,98066 p = ,0018						
	Hirundo R:44,526	Novaferm Sirius R:83,182	Integral Pro R:46,423	Prometheus R:72,167	Novaferm Dual R:63,222	Novaferm Multi R:41,962	Kontrola R:59,212
Hirundo		0,046464	1,000000	0,344151	1,000000	1,000000	1,000000
Novaferm Sirius	0,046464		0,149539	1,000000	1,000000	0,053475	0,958244
Integral Pro	1,000000	0,149539		0,873377	1,000000	1,000000	1,000000
Prometheus	0,344151	1,000000	0,873377		1,000000	0,353107	1,000000
Novaferm Dual	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000
Novaferm Multi	1,000000	0,053475	1,000000	0,353107	1,000000		1,000000
Kontrola	1,000000	0,958244	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Tabulka 20 Semínka: Index zkadeření z hodnota

Závislá: Index zkadeření	Vícenásobné porovnání z' hodnot; Index zkadeření (Tabulka1) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 115) =20,98066 p = ,0018						
	Hirundo R:44,526	Novaferm Sirius R:83,182	Integral Pro R:46,423	Prometheus R:72,167	Novaferm Dual R:63,222	Novaferm Multi R:41,962	Kontrola R:59,212
Hirundo		3,060107	0,158052	2,400155	1,704792	0,213715	1,459320
Novaferm Sirius	3,060107		2,691137	0,832259	1,564221	3,017769	1,998794
Integral Pro	0,158052	2,691137		2,037605	1,384290	0,341157	1,129164
Prometheus	2,400155	0,832259	2,037605		0,767346	2,390736	1,198381
Novaferm Dual	1,704792	1,564221	1,384290	0,767346		1,751931	0,392308
Novaferm Multi	0,213715	3,017769	0,341157	2,390736	1,751931		1,523098
Kontrola	1,459320	1,998794	1,129164	1,198381	0,392308	1,523098	

Jak lze vidět z tabulek č. 19 a č. 20 nižších hodnot indexu zkadeření oproti kontrolní variantě bylo dosaženo pouze u tří variant a to Hirundo, Integral Pro a Novaferm Multi. Naopak vyšší hodnot indexu dosahovaly taktéž tři varianty, a to konkrétně Novaferm Sirius, Prometheus a velmi podobných hodnot jako kontrolní varianta dosahoval poté přípravek Novaferm Dual. Nejvyššího možného indexu zkadeření dosahoval poté přípravek Novaferm Sirius, který je zároveň statisticky významně rozdílný oproti přípravku Hirundo.

### 5.2.2.4 Disease index

Tabulka 21 Semínka: Disease index p hodnota

Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.): Disease index (Tabulka1)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 115) =19,92444 p =,0029							
Závislá: Disease index	Hirundo R:42,079	Novaferm Sirius R:72,773	Integral Pro R:47,462	Prometheus R:72,800	Novaferm Dual R:70,444	Novaferm Multi R:36,654	Kontrola R:62,173
Hirundo		0,317225	1,000000	0,160397	0,203598	1,000000	0,962737
Novaferm Sirius	0,317225		1,000000	1,000000	1,000000	0,171910	1,000000
Integral Pro	1,000000	1,000000		0,943013	1,000000	1,000000	1,000000
Prometheus	0,160397	1,000000	0,943013		1,000000	0,088693	1,000000
Novaferm Dual	0,203598	1,000000	1,000000	1,000000		0,112607	1,000000
Novaferm Multi	1,000000	0,171910	1,000000	0,088693	0,112607		0,509132
Kontrola	0,962737	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,509132	

Tabulka 22 Semínka: Disease index z hodnota

Vícenásobné porovnání z' hodnot; Disease index (Tabulka1)							
Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta							
Kruskal-Wallisův test: H ( 6, N= 115) =19,92444 p =,0029							
Závislá: Disease index	Hirundo R:42,079	Novaferm Sirius R:72,773	Integral Pro R:47,462	Prometheus R:72,800	Novaferm Dual R:70,444	Novaferm Multi R:36,654	Kontrola R:62,173
Hirundo		2,429828	0,448516	2,667668	2,586517	0,452058	1,996821
Novaferm Sirius	2,429828		1,853052	0,002061	0,182466	2,644292	0,883866
Integral Pro	0,448516	1,853052		2,005540	1,893846	0,826423	1,298963
Prometheus	2,667668	0,002061	2,005540		0,202084	2,860969	0,983016
Novaferm Dual	2,586517	0,182466	1,893846	0,202084		2,784426	0,809071
Novaferm Multi	0,452058	2,644292	0,826423	2,860969	2,784426		2,253234
Kontrola	1,996821	0,883866	1,298963	0,983016	0,809071	2,253234	

Nejnižší projev příznaků měla varianta s přípravkem Novaferm Multi. Z tabulek č. 21 a č. 22 je také patrné, že naopak nejvyšších příznaků dosahovala varianta Novaferm Sirius spolu s přípravkem Prometheus. Zároveň tyto dvě varianty spolu s Novaferm Dual měly vyšší projev příznaků než kontrolní varianta. U žádné z variant nebyla potvrzen statisticky významný rozdíl.

## 6 Diskuse

V současné době jsou chemické nematocidy stále hlavní metodou ochrany proti fytoparazitickým hádčátkům. Avšak kvůli rostoucím obavám o bezpečnost lidí a životního prostředí je však použití některých chemických nematocidů omezeno, především kvůli jejich vysoké toxicitě (Liu et al. 2020). A proto v poslední době význam zdravých potravin a identifikace rizik pro životní prostředí přivedly výzkumné pole k alternativním strategiím ochrany rostlin se zaměřením na látky biologické (Baghaee Ravari & Mahdikhani Moghaddam 2016).

V posledních letech bylo zjištěno, že mikroorganismy jsou vysoce slibnými činidly biologické ochrany proti hádčátkům kvůli jejich příznivé nematocidní aktivitě a bezpečnosti pro životní prostředí. Zejména bakteriím byla věnována značná pozornost. V posledních desetiletích mnoho studií prokázalo účinnost několika bakterií při biologické ochraně hádčátek, mezi nimiž jsou například *Bacillus* spp. Tyto bakterie byly široce studovány a potvrzeny jako účinné biologické prostředky pro kontrolu hádčátek (Liu et al. 2020). Bakterie byly opakovaně in vitro a in vivo pokusech ukázány jako slibné antagonistické mikroorganismy pro použití v léčbě endoparazitických hádčátek (Mendoza et al. 2008). Nesporná výhoda biologických prostředků spočívá v jejich bezpečnosti vůči lidem, zvířatům a životnímu prostředí (Liu et al. 2020).

### 6.1 In vitro

Ve svém pokusu jsem zjišťovala, zda 6 bakteriálních přípravků a jejich bakterií bude mít vliv na mortalitu fytoparazitických hádčátek. U všech variant byla v in vitro testech prokázána vysoká účinnost proti těmto škůdcům. Jejich účinek byl patrný již po 24 hodinách, kromě varianty, kde byl použit přípravek Multi. Zde nastala změna až po 72 hodinách.

Přípravek Multi dosahoval v procentech mortality od 70-92 %. Podobné výsledky měla bakterie *Bacillus subtilis*, jenž je obsažena jako jedna z několika bakterií v tomto přípravku na fytoparazitická hádčátka *Aphelenchoides besseyi*, *Ditylenchus destructor*, *Bursaphelenchus xylophilus* s mortalitou 85 %, 79 % a 100 % (Migunova & Sasanelli 2021). Další bakterie, která je součástí tohoto přípravku je bakterie *Bacillus megaterium*, která v laboratorním experimentu na hádčátku *Tylenchulus semipenetrans* prokazovala vysokou nematocidní účinnost. Po 72 hodinách expozice poskytla více než 60% mortalitu (Elzawahry et al. 2015). V jiné studii na hádčátkách *X. index* a *M. ethiopica* dosáhla mortality 93,7 % a 83,3 %. A potvrdila spolu s *B. amyloliquefaciens* a také *B. megaterium*, že jsou tyto bakterie schopné usmrtit hádčátka (Liu et al. 2020). V mém in vitro pokusu dosahovaly tyto bakterie mortality přibližně od 70-92 %, tudíž i tyto hodnoty jsou velmi podobné provedeným studiím. Naopak u bakterie rodu *Azobacter* není v literatuře popsán nematocidní efekt, tyto bakterie jsou však schopné za in vitro podmínek fixovat okolo 10 mg vzdušného dusíku. Taktéž syntetizují

biologicky aktivní látky podporující růst rostlin, a proto mohou mít velmi příznivý vliv pro pěstované plodiny (Khan et al. 2017).

U přípravku Sirius, který na rozdíl od předchozího obsahuje pouze bakterii *B. licheniformis* se mortalita háďátek pohybovala taktéž v podobných hodnotách jako u jiných studií a to od 75 do 100 %. Například jsou tyto výsledky téměř shodné jako u studie kde bakterie *B. licheniformis* kmene MH48, vykazovala proti háďátku borovicovému (*Bursaphelenchus xylophilus*) 80% účinnost. A byla proto vyhodnocena, jako jeden z potenciálních kandidátů na biologickou ochranu proti háďátku borovicovému (Jeong 2015).

V přípravku Dual byla taktéž obsažena bakterie *Bacillus licheniformi*, v mém pokusu mortalita háďátek po 72 hodinách byla od 64-91 %. Přičemž tedy tyto hodnoty jsou poněkud nižší než u výše uvedené studie provedené na stejné bakterii.

Ve studii, kde byla použita bakterie *Bacillus amyloliquefaciens* B3, která je obsažena v přípravcích Hirundo a Integral Pro, prokázala svou nematocidní aktivitu proti háďátkům *Aphelenchoides besseyi*, *Ditylenchus destructor*, *Bursaphelenchus xylophilus*. Mortalita háďátek touto bakterií byla 85 %, 79 % a 100 % (Migunova & Sasanelli 2021). Jiné studie také ukázaly, že *B. amyloliquefaciens* je schopná usmrtit háďátka, mortalita druhů *X. index* a *M. ethiopica* dosahovala 93,7 % a 83,3 % (Liu et al. 2020). V mém pokusu měla tato bakterie však vliv na úmrtnost háďátek pouze od 67-90 %.

U bakterie *Pseudomonas veronii* bylo zatím dosaženo nejvyšší letality 73 % u háďátka *X. index*, avšak většinou mortalita nepřesahuje 53 % (Canchignia et al. 2017). Nižších výsledků dosahovala tato bakterie i v mém in vitro pokusu, ale i tak byla úspěšnost vyšší než v dané studii a to od 70-92 %. Tato bakterie je jedinou bakterií nacházející se v přípravku Prometheus.

V dnešní době probíhá výzkum aplikace bakterií, především s bakteriemi druhů *Bacillus* spp. a *Pseudomonas* spp.. Biologická, bakteriální ochrana se zaměřuje především na kořenová háďátka (Liu et al. 2020). Z řad rodu *Pseudomonas* je nejoblíbenější využívanou bakterií *Pseudomonas fluorescens*, další hojně používanou bakterií je *Pasteuria penetrans*. Použití *P. fluorescens* je doporučováno v zelenině a rýži, a to především proti, *M. incognita*, *M. javanica* a *M. graminicola* (Khan 2015).

Avšak při screeningu 662 bakteriálních kmenů na nematocidní aktivitu proti fytoparazitickému háďátku *M. incognita*, došlo k odhalení, že hlavní rod, který vykazoval vysokou nematocidní aktivitu ve srovnání s jinými rody, byl rod *Bacillus*. Celkově 34 % testovaných kmenů *Bacillus* způsobilo mortalitu *M. incognita*, která se vyrovnávala mortalitě chemického nematocidu (Migunova & Sasanelli 2021). Další biokontrolní látky, které mají podle výsledků studií velký potenciál pro ochranu háďátek jsou *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Serratia*, *Streptomyces* (Nyaku et al. 2017).



## 6.2 Květináčové testy

I v tomto pokusu bylo zjišťováno, zda 6 bakteriálních přípravků a jejich bakterií bude mít vliv na mortalitu fytoparazitických háďátek, zároveň byl také vyhodnocován disease index. Kdy bylo zkoumáno, zda stupeň zkadeření a zčervenání odpovídá napadení rostliny háďátkou. Vzhledem k použití dvou variant rostlin, konkrétně varianty sazenice a varianty semínka, došlo k odlišným výsledkům.

V květináčových testech u varianty sazenice vykazoval nejlepší účinek, přípravek Novaferm Sirius (obrázek č. 11 a č. 12). U této varianty se vyskytovalo nejméně háďátek na gram listu, měla nejnižší index zkadeření i zčervenání listů a tím pádem vycházel i nejlépe disease index. Tento přípravek obsahuje pouze mikrobiální kmen *Bacillus licheniformis* (min.  $1 \times 10^7$  CFU/ml), neboli  $1 \times 10^7$  Colony Forming Units, tedy jednotek tvořící kolonie na ml (Informační centrum bezpečnosti potravin 2014). Tato bakterie měla velmi dobré výsledky i v jiných studiích a byla proto jimi považována za potenciální biokontrolní činidlo. V květináčových testech byl v těchto studiích jasně prokázán toxický účinek *B. licheniformis* na *M. incognita*, jelikož došlo k zmírnění negativních účinků infekce *M. incognita* na růst rajčat, či k úplnému zabránění infekce. K významnému snížení infekce kořenů rajčat došlo především u druhého larválního stádia tohoto háďátka. Tato bakterie také významně zvýšila biomasu rajčat o 18,41 % ve srovnání s kontrolní variantou (Du et al. 2022).

Velmi dobré výsledky měl také přípravek Dual od firmy Novaferm, vykazoval druhý nejnižší výskyt háďátek na gram a disease index. Tento přípravek je tvořen mikrobiálními kmeny: *Azotobacter spp.*, *Azospirillum spp.*, *Bacillus licheniformis* (min.  $1 \times 10^7$  CFU/ml). Tyto kolonie bakterií mají schopnost fixovat dusík, který rostlina poté využívá pro svou výživu (etiketa přípravku). Tyto výsledky jsou v souladu i s jinými studiemi, kde bylo prokázáno, že ošetření pomocí *B. licheniformis* mělo potenciální aktivitu ke snížení infekčnosti a rozmnožování kořenových háďátek *M. javanica* ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Ošetření signifikantně potlačilo druhé larvální stádium háďátek, samice, háčky i jednotlivá vajíčka. Z dat poté vychází, že používané ošetření způsobilo redukci 48 % J2 na květináč, dále snížení 68 % háček a také 73 % vaječných obalů na kořenový systém. Také se u rostlin zvýšila délka rostlin v centimetrech o 12 %, došlo také ke zvýšení počtu listů a to o 56 %. A tím pádem také došlo k nárůstu hmotnosti čerstvé hmoty a to o 25 %. Vše ve srovnání s kontrolní neošetřenou variantou. Byla však také zjištěno, že kombinace s bakterií *P. aeruginosa* byla účinnější ve zlepšení růstu rostlin rajčat než použití bakterie jednotlivě. Podobná pozorování jsou uvedena i v dalších studiích kdy bakterie *B. licheniformis* a *P. aeruginosa* dokázaly usmrtit *M. incognita* J2 v biologickém testu a procentuální úmrtnost se pohybovala v rozmezí 94-96 % ve srovnání s kontrolou. Přežití háďátek ovlivňují u *B. licheniformis* proteáza a chitináza jež jsou produkovány touto bakterií (El-Nagdi et al. 2019).

Naopak u variant semínek v květináčových testech vycházela nejlépe varianta Hirundo, která u sazenic dosahovala nejhorších výsledků (obrázek č. 13 a č. 14), obsahující bakterii *Bacillus amyloliquefaciens* min.  $1 \times 10^{11}$  CFU/ml. Tato bakterie přispívá k mineralizaci organické hmoty, díky tomu dochází k lepší dostupnosti živin a dochází tak k stimulaci růstu rostliny (Monas Technology 2013). Ve skleníkových podmínkách tato bakterie potlačila reprodukci *M. incognita* snížením počtu J2 v půdě a na hálkách kořenech rajčat o 34 % ve srovnání s neošetřenými infikovanými rostlinami (Abdel-Salam et al. 2018). Bylo také zjištěno, že tato bakterie má pozitivní účinky v kombinaci s *B. subtilis*, kdy může docházet k snížení počet vzorků *M. incognita* v půdě (Du et al. 2022). Jiná studie potvrdila, že *B. amyloliquefaciens* a *B. megaterium*, mají potenciál v boji proti hádátka *M. incognita* napadající *Lagenaria siceraria* (lagenárie obecná). V polních podmínkách tyto bakterie významně vedly k snížení počtu hálek a larválních hádátek v půdě a kořenech. Tato studie tedy potvrdila, že testované bakteriální bioagens, konkrétně *B. amyloliquefaciens* a *B. megaterium*, prokázaly potenciál pro ochranu u hádátka *M. incognita* v polních podmínkách (Rani et al. 2022). To že u semínkových variant nejlépe působila tato bakterie, lze pozorovat i u varianty s přípravkem Integral Pro, který obsahuje stejnou bakterii pouze v nižší koncentraci. Jelikož tato varianta vyšla jako druhé nejlepší v počtu hádátek na gram u varianty semínek.

Velmi dobrých výsledků u semínkové varianty dosahoval také přípravek Multi obsahující mikrobiální kmeny spor: *Azotobacter spp.*, *Azospirillum spp.*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium* (min.  $1 \times 10^7$  CFU/ml). Tento přípravek má schopnost zvyšovat a také zpřístupňovat dusík, draslík a fosfor rostlinám, ty tyto prvky poté využívají pro svou výživu. Bakterie jsou schopné zpřístupnit dostatečné množství živin pro správné vzcházení rostlin, zároveň tyto bakterie produkují fytoaktivní látky a enzymy, které zlepšují zdraví a vitalitu rostlin (etiketa přípravku). Studie ukázaly, že bakterie *B. subtilis*, *B. megaterium* a další např. *B. coagulans*, *P.fluorescens*, mohou kontrolovat výskyt hádátka *M. incognita* (Du et al. 2022). I u jiné plodiny přesněji cukrové řepy došlo na kořenech k významnému snížení hálek a vaječných obalů *M. incognita* při použití bakterií *B. megaterium*, *B. subtilis*. Snížení představovalo u počtu hálek 69 % a 71 % a u vaječných obalů došlo ke snížení o 68 % a 65 % na kořenech této rostliny. Avšak koncentrace těchto bakterií byla  $3 \times 10^8$  CFU/ml, tedy nižší než v mém pokusu (Migunova & Sasanelli 2021). Naopak v jiném výzkumu bakterie *Azotobacter chroococcum* zaujímala střední pozici v poklesu počtu kořenových hálek hádátka *M. incognita* a neméně účinná se jevila bakterie *Azospirillum brasilense* (Soliman et al. 2011). Ve studii zabývající se vlivem rhizobakterií na kořenová hádátka došli k výsledku, že pokles tvorby hálek na kořenech rostlin byl největší u *B. indica* (34,90 %), dále u *B. subtilis* (33,7 %), *A. lipoferum* (28,9 %), *A. chroococcum* (25,3 %) ve srovnání s neléčenou kontrolní variantou. Nejvyšší pokles larev hádátek na kg půdy ve srovnání s kontrolou naopak nastal u *A. lipoferum* (83,6 %), následovaný *A. chroococcum* (55,5 %) (Khan et al. 2002). Nižšími účinky těchto bakterií by mohl být vysvětlen špatný výsledek tohoto přípravku u počtu hádátek na gram listu, kdy napadení hádátka bylo druhé

nejhorší. Avšak u ostatních výsledků vycházel tento přípravek nejlépe. Lepších výsledků dosahovala bakterie *B. subtilis*, která výrazně potlačila množení háďátek a významně podpořila růst rostlin a produkci sušiny. Došlo dokonce k lepším výsledkům než u nematocidu, který byl v této studii použit. Výskyt hálek celkově potlačen o 33–34 % a produkce sušiny byla zvýšena o 22–24 % (Khan et al. 2002). Studie na další bakterii *B. megaterium*, která je taktéž součástí tohoto přípravku, probíhala i na rostlinách pepře. Ve skleníkových testech, tato bakterie významně redukovala výskyt háďátek v půdě a kořenech rostlin. Došlo k inhibici až 81,86 %. Zároveň také vykazovala velmi dobrý účinek na podporu růstu rostlin, včetně zvýšení délky výhonků (22,64–29,81 cm), tvorby nových listů (3,79–4,19 listů) a zvýšení délky kořenů (6,65–8,98 cm) (Tran et al. 2019). Vzhledem k pomalejší mortalitě háďátek při in vitro testech mohl být tento přípravek vhodný právě při použití semínek. Jelikož i zde mohly bakterie začít působit mnohem později než bakterie u ostatních přípravků a díky tomu mohlo dojít k nižším příznakům napadení.

Nejčastěji vědecky zkoumané jsou rhizobakterie podporující růst rostlin, v současné době jsou vyvíjeny jako biokontrolní činidla proti rostlinným parazitickým háďátkům převážně kvůli jejich četným způsobům účinku. Vzhledem ke zvyšujícímu se počtu studií se biologické ochraně pomocí mikroorganismů dostává stále větší pozornosti jako slibné alternativě k ochraně chemické (El-Nagdi et al. 2019).

## 7 Závěr

Tato diplomová práce se zabývala biologickou ochranou proti fytoparazitickým háďátkům ovocných plodin. Cílem předkládané práce bylo otestování vlivu vybraných bakterií na mortalitu fytoparazitických háďátek druhu *Ditylenchus dipsaci* (háďátka zhoubné). Bylo pozorováno jejich přímé působení v in vitro podmínkách i ve skleníkových pokusech v květináčových testech.

Na základě výsledků došlo k zjištění, že působení bakterií bylo odlišné v závislosti na podmínkách, při kterých byly pokusy prováděny. Z výsledků in vitro pokusů všechny použité bakteriální přípravky vykazovaly velmi dobrou mortalitu proti *Ditylenchus dipsaci*. Jako nejméně účinný se jevil přípravek Novaferm Multi, u kterého došlo k mortalitě háďátek až po 72 hodinách. Avšak tyto výsledky mohly být ovlivněny aerobními bakteriemi, díky kterým docházelo k vyšší spotřebě kyslíku, a tudíž háďátka již po 72 hodinách neměla dostatek kyslíku a došlo tak k jejich úhynu. Oproti tomu výsledky z květináčových testů byly již rozdílné. Prokazatelné byly výsledky variant z předpěstovaných sazenic, kde nejlepších výsledků dosahoval přípravek Novaferm Sirius s bakterií *Bacillus licheniformis*. Tento trend byl patrný u všech vyhodnoceních. Naopak nejméně účinným byl přípravek Hirundo obsahující bakterii *Bacillus amyloliquefaciens*. U těchto nejlepších a nejhorších výsledných variant lze pozorovat shodu s disease indexem. V případě tohoto indexu nedochází k úplnému (100%) určení napadení, nicméně aplikací tohoto indexu můžeme získat potvrzení, že se jedná o nejvíce a nejméně napadené varianty. Přesto však posouzení napadení pomocí disease indexu je vhodnější u variant rostlin z předpěstovaných sazenic než u semínek, jelikož u semínek měl zajisté velký vliv na jejich růst přísušek či fytotoxicita bakterií.

Aplikace bakteriálních přípravků se podle výsledků a také dle habitatu rostlin zdá být vhodnější již pro vzrostlé rostliny s pravými listy, jelikož kontrolní varianta u rostlin ze semínek měla dvakrát více listů než ostatní varianty. Zdá se pravděpodobné, že bakteriální přípravky mohly mít na semínka rostlin fytotoxický účinek. Stanovená vědecká hypotéza byla tedy těmito výsledky potvrzena, a tudíž určité druhy bakterií lze potencionálně využít v biologické ochraně rostlin. Otestováním vlivu vybraných bakterií na mortalitu háďátka *Ditylenchus dipsaci* byly splněny i mé vytyčené cíle práce. Ze získaných výsledků lze tedy konstatovat, že použité bakteriální přípravky by mohly být považovány za alternativní možnosti ochrany rostlin. Aby však byla zajištěna jejich spolehlivá účinnost, doporučila by autorka i nadále pokračovat v jejich výzkumu. Na tomto místě se jeví vhodné otestovat účinnost bakterií i při použití odlišných koncentrací či jiného dávkování, než kterých bylo využito v této práci.

## 8 Literatura

- Abd El-Nabi H, Khalil A, Abd El-Baset S, Massoud S. 2013. Screening of vineyards rootstock and cultivars for resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Journal of Plant Protection and Pathology* **4**:23-34.
- Abd-Elgawad M, Askary T. 2018. Fungal and bacterial nematicides in integrated nematode management strategies. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **28**:1-24.
- Abdel-Salam M, Ameen H, Soliman G, Elkelany U, Asar A. 2018. Improving the nematicidal potential of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Lysinibacillus sphaericus* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* using protoplast fusion technique. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **28**:31.
- Abdel-Sattar M, Haikal A, Hammad S, Pardha-Saradhi P. 2020. *Meloidogyne incognita* population control and nutritional status and productivity of Thompson seedless grapevines managed with different treatments. *PLOS ONE* **15** (e0239993) DOI: 10.1371/journal.pone.0239993.
- Allen M, Jensen H. 1951. *Pratylenchus vulnus*, new species (Nematoda Pratylenchinae), a parasite of trees and vines in California. *Helminthological Society of Washington* **18**:47-50.
- Anindita D, Supramana M, Giyanto G. 2021. Detection and identification of *Aphelenchoides fragariae* nematodes on shallot bulbs in Bogor, West Java, Brebes Central Java, and Nganjuk, East Java. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* **807** (e022102) DOI: 10.1088/1755-1315/807/2/022102.
- Baghaee Ravari S, Mahdikhani Moghaddam E. 2016. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry14 Toxin against Root Knot Nematode, *Meloidogyne javanica*. *Plant Protection Science* **51**:46-51.
- Bahadur A. 2021. Nematodes Diseases of Fruits and Vegetables Crops in India. Pages 1-12 in *Nematodes: Recent Advances, Management and New Perspectives*. IntechOpen, London.
- Balog A, Hartel T, Loxdale H, Wilson K. 2017. Differences in the progress of the biopesticide revolution between the EU and other major crop-growing regions. *Pest Management Science* **73**:2203-2208.
- Bayer. 2016. An Overview: Chemical Crop Protection. Bayer AG. Available from [https://www.cropscience.bayer.com/sites/cropscience/files/inline-files/ChemicalCropProtection\\_Agvoicate\\_Factsheet.pdf](https://www.cropscience.bayer.com/sites/cropscience/files/inline-files/ChemicalCropProtection_Agvoicate_Factsheet.pdf) (accessed January 2022).
- Bleša D. 2019. Úvod do problematiky biologické ochrany rostlin. *Obilnářské listy* **27**:10-13.
- Bremmer J, Riemens M, Reinders M. 2021. The future of crop protection in Europe. European Union, Brussels. Available from [https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2021/656330/EPRS\\_STU\(2021\)656330\\_EN.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2021/656330/EPRS_STU(2021)656330_EN.pdf) (accessed February 2022).
- Brown D, Murant A, Trudgill D. 1989. Differences between isolates of the English serotype of tomato black ring virus in their transmissibility by an English population of *Longidorus attenuatus* (Nematoda : Dorylaimoidea). *Revue Nématol* **12**:51-56.

- Bublíková I. 2020. Situační a výhledová zpráva: Réva vinná a víno. Ministerstvo zemědělství České republiky, Praha. Available from [https://eagri.cz/public/web/file/672676/Vino\\_2020\\_Web.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/672676/Vino_2020_Web.pdf) (accessed January 2022).
- Bucki P, Qing X, Castillo P, Gamliel A, Dobrinin S, Alon T, Braun Miyara S. 2020. The Genus *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae) in Israel. *Plants* **9**:1475.
- Buckwell A, De Wachter E, Nadeu E, Williams A. 2020. Crop Protection & the EU Food System: Where are they going?. RISE Foundation, Brussels. Available from [https://croplifeeurope.eu/wp-content/uploads/2021/03/RISE\\_CP\\_EU\\_final.pdf](https://croplifeeurope.eu/wp-content/uploads/2021/03/RISE_CP_EU_final.pdf) (accessed February 2022).
- Buchtová B, Němcová I. 2021. Situační a výhledová zpráva: Ovoce. Ministerstvo zemědělství, Praha. Available from [https://eagri.cz/public/web/file/688961/Ovoce\\_2021\\_Web.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/688961/Ovoce_2021_Web.pdf) (accessed January 2022).
- Buonicontra D, Roberts D, Oliveira C, Blok V, Neilson R, Oliveira R. 2018. A Rapid Diagnostic for Detection of *Aphelenchoides besseyi* and *A. fujianensis* Based on Real-Time PCR. *Plant Disease* **102**:519-526.
- CABI. 2021. *Aphelenchoides fragariae* (strawberry crimp nematode). Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/6381#todistributionDatabaseTable> (accessed January 2022).
- CABI. 2021. *Aphelenchoides besseyi* (rice leaf nematode). Cabi. Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/6378#BD7A28DE-90ED-475A-B001-87AE7CCF1152> (accessed February 2022).
- CABI. 2021. *Meloidogyne arenaria*: (peanut root-knot nematode). Centre for Agriculture and Bioscience International. Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/33233> (accessed March 2022).
- CABI. 2021. *Meloidogyne javanica*: (sugarcane eelworm). Centre for Agriculture and Bioscience International. Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/33246#todescription> (accessed March 2022).
- CABI. 2021. *Meloidogyne hapla*: (root knot nematode). Centre for Agriculture and Bioscience International. Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/33244> (accessed March 2022).
- CABI. 2021. *Xiphinema diversicaudatum*: (dagger nematode). Centre for Agriculture and Bioscience International. Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/57028> (accessed March 2022).
- CABI. 2021. *Pratylenchus penetrans*: (nematode, northern root lesion). Centre for Agriculture and Bioscience International. Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/43900#REF-DDB-109782> (accessed March 2022).
- Calderón-Urrea A, Vanholme B, Vangestel S, Kane S, Bahaji A, Pha K, Garcia M, Snider A, Gheysen G. 2016. Early development of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *BMC Developmental Biology* **16**:1-14.
- Canchignia H, Altimira F, Montes C, Sánchez E, Tapia E, Miccono M, Espinoza D, Aguirre C, Seeger M, Prieto H. 2017. Candidate nematocidal proteins in a new *Pseudomonas veronii*

- isolate identified by its antagonistic properties against *Xiphinema index*. *The Journal of General and Applied Microbiology* **63**:11-21.
- Castanheira C, Dias-Arieira C, Ida E, Falcão H, Barros B. 2021. Influence of *Meloidogyne javanica* parasitism on soybean development and chemical composition. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* **8**:2-11.
- CDFA. 2020. California Pest Rating Proposal for *Aphelenchoides ritzemabosi* (Schwartz, 1911) Steiner & Buhner, 1932. California Department of Food and Agriculture, California. Available from [https://blogs.cdfa.ca.gov/Section3162/wp-content/uploads/2020/03/A.-ritzemabosi\\_PRP-ADA.pdf](https://blogs.cdfa.ca.gov/Section3162/wp-content/uploads/2020/03/A.-ritzemabosi_PRP-ADA.pdf) (accessed March 2022).
- Cieslar J. 2021. Celková spotřeba potravin loni vzrostla. Český statistický úřad. Available from <https://www.czso.cz/csu/czso/celkova-spotreba-potravin-loni-vzrostla> (accessed March 2022).
- Cobon J, O'Neill W. 2011. Pathogen of the month: *Aphelenchoides fragariae*. Australasian Plant Pathology Society. Available from <https://www.appsnet.org/Publications/potm/pdf/Aug11.pdf> (accessed February 2022).
- Collins S, Wilkinson C. 2016. *Pratylenchus penetrans*: a horticulturally significant root lesion nematode. Department of Primary Industries and Regional Development's Agriculture and Food division. Available from <https://www.agric.wa.gov.au/carrots/pratylenchus-penetrans-horticulturally-significant-root-lesion-nematode?page=0%2C0> (accessed March).
- Compant S, Mathieu F. 2016. *Biocontrol of Major Grapevine Diseases: Leading Research*. CAB International, France.
- Consoli E, Ruthes A, Reinhard E, Dahlin P. 2019. First Morphological and Molecular Report of *Aphelenchoides blastophthorus* on Strawberry Plants in Switzerland. *Plant Disease* **103**:2851-2856.
- Cotton J. 1976. Observations of life-cycle, population development and vertical distribution of *Longidorus macrosoma* on raspberry and other crops. *Annals of Applied Biology* **83**:407-412.
- Crow W, Rich J. 2020. *Nematodes of Backyard Deciduous Fruit and Nut Crops in Florida*. University of Florida, Florida. Available from <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/NG044> (accessed February).
- Dale F, Neilson R. 2006. *British Potato Council: Review on free-living nematodes & TRV spraing*. SCRI. Available from [https://projectblue.blob.core.windows.net/media/Default/Research%20Papers/Potatoes/R276\\_Review\\_2006.pdf](https://projectblue.blob.core.windows.net/media/Default/Research%20Papers/Potatoes/R276_Review_2006.pdf) (accessed March 2022).
- Damalas C, Koutroubas S. 2018. Current Status and Recent Developments in Biopesticide Use. *Agriculture* **8**:2-6.
- Débia P, Barros B, Puerari H, Dias-Arieira C. 2020. *Meloidogyne javanica* parasitism on the vegetative growth and nutritional quality of carrots. *Ciência Rural* **50** (e20190585) DOI: 10.1590/0103-8478cr20190585.

- Demangeat G, Voisin R, Minot J, Bosselut N, Fuchs M, Esmenjaud D. 2005. Survival of *Xiphinema index* in Vineyard Soil and Retention of Grapevine fanleaf virus Over Extended Time in the Absence of Host Plants. *Phytopathology*® **95**:1151-1156.
- Dent M. 2020. *Biostimulants and Biopesticides 2021-2031: Technologies, Markets and Forecasts : an Overview of Agricultural Biologicals, Including Natural Products, Semiochemicals and the Plant Microbiome*. IDTechEx Research.
- Desaeye J. 2018. *Meloidogyne hapla*, the Northern Root-Knot Nematode, in Florida Strawberries and Associated Double- Cropped Vegetables. UF/IFAS Extension Service University of Florida, Florida. Available from <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN122400.pdf> (accessed March 2022).
- Douda O. 2008. *Metody monitoringu, diagnostiky a hodnocení škodlivosti karanténních háďátek rodu Ditylenchus*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, [Praha].
- Du J, Gao Q, Ji C, Song X, Liu Y, Li H, Li C, Zhang P, Li J, Liu X. 2022. *Bacillus licheniformis* JF-22 to Control *Meloidogyne incognita* and Its Effect on Tomato Rhizosphere Microbial Community. *Frontiers in Microbiology* **13**:1-9.
- DuPont T, Mazzola M, Ferris H. 2017. *Plant-Parasitic Nematodes in Pome and Stone Fruit Orchards*. WSU Tree Fruit. Available from <http://treefruit.wsu.edu/crop-protection/nematodes-2/?print-view=true> (accessed February 2022).
- EAGRI. 2020. *Výroční zpráva o plnění Národního akčního plánu k bezpečnému používání pesticidů v ČR za rok 2020*. Available from [https://eagri.cz/public/web/file/681090/Vyrocní\\_zpráva\\_o\\_plnení\\_NAP\\_k\\_bezpecnemu\\_pouzivani\\_pesticidu\\_v\\_CR\\_za\\_rok\\_2020.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/681090/Vyrocní_zpráva_o_plnení_NAP_k_bezpecnemu_pouzivani_pesticidu_v_CR_za_rok_2020.pdf) (accessed February 2022).
- Eisenbergmd J, Greenbergmd M, Borron S. 2007. *Fumigants*. Pages1225-1229in Haddad and Winchester's *Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose*. 4. Saunders.
- El-Nagdi W, Abd-El-Khair H, Soliman G, Ameen H, El-Sayed G. 2019. Application of protoplast fusants of *Bacillus licheniformis* and *Pseudomonas aeruginosa* on *Meloidogyne incognita* in tomato and eggplant. *Middle East Journal of Applied Science* **9**:622-629.
- Elzawahry A, Khalil A, Allam A, Mostafa R. 2015. Effect of the Bio-agents (*Bacillus megaterium* and *Trichoderma album*) on Citrus Nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) Infecting Baladi orange and. *Journal of Phytopathology and Pest Management* **2**:1-8.
- EPPO. 2000. *Aphelenchoides fragariae*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/APLOFR> (accessed March 2022).
- EPPO. 2000. *Aphelenchoides blastophthorus*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/APLOBL> (accessed March 2022).
- EPPO. 2000. *Xiphinema diversicaudatum*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/XIPHDI> (accessed March 2022).
- EPPO. 2000. *Xiphinema index*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/XIPHIN> (accessed March 2022).
- EPPO. 2002. *Aphelenchoides ritzemabosi*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/APLORI> (accessed March 2022).



- EPPO. 2002. *Ditylenchus dipsaci*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/DITYDI> (accessed March 2022).
- EPPO. 2002. *Meloidogyne arenaria*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/MELGAR> (accessed March 2022).
- EPPO. 2002. *Meloidogyne incognita*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/MELGIN> (accessed March 2022).
- EPPO. 2002. *Meloidogyne javanica*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/MELGJA> (accessed March 2022).
- EPPO. 2002. *Meloidogyne hapla*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/MELGHA> (accessed March 2022).
- EPPO. 2002. *Longidorus macrosoma*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/LONGMA> (accessed March 2022).
- EPPO. 2002. *Pratylenchus vulnus*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/PRATVU> (accessed March 2022).
- EPPO. 2002. *Pratylenchus penetrans*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/PRATPE> (accessed March 2022).
- EPPO. 2002. *Longidorus attenuatus*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/LONGAT> (accessed March 2022).
- EPPO. 2022. *Aphelenchoides besseyi*. EPPO. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/APLOBE/datasheet> (accessed March 2022).
- EPPO/OEPP. 2017. PM 7/87 (2) *Ditylenchus destructor* and *Ditylenchus dipsaci*. EPPO Bulletin **47**:401-419.
- EU. 2018. The impact of Regulation (EC) No 1107/2009 on innovation and development of alternatives and new PPPs. European Union. Available from [https://www.politico.eu/wp-content/uploads/2018/09/IPOL\\_BRI2018626063\\_EN.pdf?utm\\_source=POLITICO.EU&utm\\_campaign=8d34a093d5-EMAIL\\_CAMPAIGN\\_2018\\_09\\_30\\_11\\_16&utm\\_medium=email&utm\\_term=0\\_10959edeb5-8d34a093d5-189988585](https://www.politico.eu/wp-content/uploads/2018/09/IPOL_BRI2018626063_EN.pdf?utm_source=POLITICO.EU&utm_campaign=8d34a093d5-EMAIL_CAMPAIGN_2018_09_30_11_16&utm_medium=email&utm_term=0_10959edeb5-8d34a093d5-189988585) (accessed February 2022).
- EU. 2020. Udržitelné využívání přípravků na ochranu rostlin: pokrok v měření a snižování rizik je omezený. Evropská unie. Available from [https://eagri.cz/public/web/file/670602/Udrzitelne\\_vyuzivani\\_POR.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/670602/Udrzitelne_vyuzivani_POR.pdf) (accessed February 2022).
- EU. 2021. Key figures on the European food chain. European Union, Belgium. Available from <https://ec.europa.eu/eurostat/documents/3217494/13957877/KS-FK-21-001-EN-N.pdf/dcf8d423-fa1c-5544-0813-b8e5cde92b59?t=1639565437333> (accessed January 2022).
- Eurostat. 2018. Fruit and vegetable consumption statistics. Eurostat Statistics Explained. Available from [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Fruit\\_and\\_vegetable\\_consumption\\_statistics](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Fruit_and_vegetable_consumption_statistics) (accessed March 2022).

- Eurostat. 2022. How much fruit and vegetables do you eat daily?. Eurostat. Available from <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/ddn-20220104-1> (accessed March 2022).
- Evans A. 2007. Soil dwelling free-living nematodes as pests of crops. The Scottish Agricultural College. Available from <https://www.sruc.ac.uk/media/2zdi2ydk/tn603-soil-nematodes.pdf> (accessed March 2022).
- FAO. 2021. World Food and Agriculture: Statistical Yearbook 2021. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Available from <https://www.fao.org/3/cb4477en/cb4477en.pdf> (accessed January 2022).
- FAO. 2021. the International Year of Fruits and Vegetables (IYFV). Food and Agriculture Organization. Available from <https://www.fao.org/fruits-vegetables-2021/en> (accessed March 2022).
- Ferris H. 2019. Longidorus macrosoma. California. Available from <http://nemaplex.ucdavis.edu/Taxadata/G068s4.aspx> (accessed March 2022).
- Franklin M. 1952. A disease of Scabiosa caucasica caused by the nematode Aphelenchoides blastophthorus n.sp. Annals of Applied Biology **39**:54-60.
- Gaar V. 2015. Hádátko Aphelenchoides besseyi. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Praha. Available from [https://eagri.cz/public/web/file/360133/HADATKO\\_2015.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/360133/HADATKO_2015.pdf) (accessed February 2022).
- Garcia L, Sanchez-Puerta M. 2012. Characterization of a Root-Knot Nematode Population of Meloidogyne arenaria from Tupungato. Journal of Nematology **44**:291–301.
- German E, Mauricio T, Eduardo S, Mario A. 2019. Chemical control of *Meloidogyne* spp. in grapevines (*Vitis vinifera*). Journal of Applied Biosciences **136**:13896-13908.
- Gharabadiyan F, Jamali S, Komeili R. 2013. Determining of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) damage function for tomato cultivars. Journal of Agricultural Sciences, Belgrade **58**:147-157.
- GOPA. 2019. Report for EUROSTAT European Commission: Methodological support in the context of the modernisation of agriculture and fisheries statistics. European Commission. Available from <https://ec.europa.eu/eurostat/documents/749240/0/Reporting+of+micro-organism+pesticides/989c48d2-32f7-6681-4c9d-4fac6ee7eefa> (accessed February 2022).
- Gugino B, Abawi G, Ludwig J. 2006. Damage and Management of Meloidogyne hapla Using Oxamyl on Carrot in New York. Journal of Nematology **38**:483–490.
- Gutiérrez-Gutiérrez C, Palomares-Rius J, Jiménez-Díaz R, Castillo P. 2011. Host suitability of Vitis rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and the dagger nematode Xiphinema index, and plant damage caused by infections. Plant Pathology **60**:575-585.
- Gutiérrez-Gutiérrez C, Cantalapiedra-Navarrete C, Remesal E, Palomares-Rius J, Navas-Cortés J, Castillo P. 2013. New insight into the identification and molecular phylogeny of dagger nematodes of the genus Xiphinema (Nematoda: Longidoridae) with description of two new species. Zoological Journal of the Linnean Society **169**:548-579.

- Helyer N, Cattlin N, Brown K. 2014. Biological Control in Plant Protection: A Color Handbook. 2. Taylor & Francis Group.
- Hrudová E. 2015. Ochrana rostlin v ekologickém zemědělství. Vydání první. Mendelova univerzita v Brně, Brno.
- Chafańska A, Bogumiń A, Łabanowski G. 2017. Management of foliar nematode *Aphelenchoides ritzemabosi* on *Anemone hupehensis* using plant extracts and pesticides. *Journal of Plant Diseases and Protection* **124**:437-443.
- Chikaoka I. 1970. Studies on the control of *Pratylenchus vulnus* infesting strawberry. *Bulletin of the Agricultural Research Institute of Kanagawa Prefecture* **109**:61-77.
- Chitwood D. 2013. Nematicides. Pages 1104-1114 in *Encyclopedia of Agrochemicals*. John Wiley & Sons.
- Chormule A, Mhase N, Kulkarni S, Guru P. 2017. Seasonal incidence of *Meloidogyne incognita* infesting Grape in field. *Annals of Plant Protection Sciences* **25**:198-201.
- Informační centrum bezpečnosti potravin. 2014. Bezpečnost potravin A-Z. Ministerstvo zemědělství. Available from <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92551.aspx> (accessed April 2022).
- IPPC. 2016. Diagnostic protocols for regulated pests: *Aphelenchoides besseyi*, *A. fragariae* and *A. ritzemabosi*. International Plant Protection Convention, Italy. Available from [https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2016/11/DP\\_17\\_2016\\_En\\_2016-11-01\\_iaK6Hls.pdf](https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2016/11/DP_17_2016_En_2016-11-01_iaK6Hls.pdf) (accessed February 2022).
- Jardin P. 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* **196**:3-14.
- Jeong M. 2015. Selection and Characterization of *Bacillus licheniformis* MH48 for the Biocontrol of Pine Wood Nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Journal of Korean Forest Society* **104**:512-518.
- Jones J et al. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* **14**:946-961.
- Joshi S. 2006. *Biopesticides: A Biotechnological Approach*. 1 edition. New Age International Ltd, New Delhi.
- Karaca M, Yavuzaslanoglu E, Imriz G, Sonmezoglu O. 2020. Molecular characterization of the *Pratylenchus vulnus* populations on cereals in Turkey. *Journal of Nematology* **52**:1-4.
- Karajeh M, Mohawesh O. 2016. Root-Knot Nematode (*Meloidogyne javanica*) – Deficit Irrigation Interactions on Eggplant Cropped under Open Field Conditions. *Journal of Horticultural Research* **24**:73-78.
- Keulemans W, Bylemans D, De Coninck B. 2019. Farming without plant protection products: Can we grow without using herbicides, fungicides and insecticides?. European Union, Brussels. Available from [https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/IDAN/2019/634416/EPRS\\_IDA\(2019\)634416\\_EN.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/IDAN/2019/634416/EPRS_IDA(2019)634416_EN.pdf) (accessed February 2022).

- Khan M, Kounsar K, Hamid A. 2002. Effect of certain rhizobacteria and antagonistic fungi on root-nodulation and root-knot nematode disease of green gram. *Nematologia Mediterranea* **30**:85-89.
- Khan M. 2015. Nematode Diseases of Crops in India. Pages183-224in *Recent Advances in the Diagnosis and Management of Plant Diseases*. Springer India, New Delhi.
- Khan M, Ahmad W, Paul S. 2017. Interaction of Mycorrhizal Fungi and Azotobacter with Root-Knot Nematodes and Root-Chewing Insects. Pages277-302in *Sustainable Agriculture Reviews*. 25 edition. Springer International Publishing, Cham.
- Kim D, Chun J. 2014. Identification of Root-lesion Nematode (Pratylenchidae: Pratylenchus ) Intercepted on Imported Plants. *Korean journal of applied entomology* **53**:51-57.
- Kiontke K, Fitch D. 2013. Nematodes. *Current Biology* **23**:862-864.
- Kling L, Ipach U, Zinkernagel V, Brown D, Neilson R, Hübschen J. 2004. Development and validation of species-specific primers that provide a molecular diagnostic for virus-vector longidorid nematodes and related species in German viticulture. *European Journal of Plant Pathology* **110**:883–891.
- Kloutvorová J. 2018. Integrovaná ochrana jahodníku. Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, Holovousy. Available from [https://www.cazv.cz/wp-content/uploads/2019/05/03\\_INTEGROVANA\\_OCHRANA\\_JAHODNIKU.pdf](https://www.cazv.cz/wp-content/uploads/2019/05/03_INTEGROVANA_OCHRANA_JAHODNIKU.pdf) (accessed March 2022).
- Kohl L. 2011. Foliar Nematodes: A Summary of Biology and Control with a Compilation of Host Range. *Plant Health Progress* **12**.
- Komives T. 2016. Chemical plant protection. Past. Present. Future?. *Ecocycles* **2**:1-2. Budapest..
- Kornobis F, Dobosz R, Bubniewicz P, Filipiak A. 2016. First Record of Nematode Longidorus attenuatus on Soybean in Poland. *Plant Disease* **100**: 228.
- Kornobis F. 2021. New data on three plant-parasitic nematode species of the genus Longidorus (Nematoda: Longidoridae) from Poland. *Journal of Plant Protection Research* **61**:273–27.
- Kuthan A. 2020. Co je nového v biologické ochraně polních plodin?. *Kurent*. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/co-je-noveho-v-biologicke-ochrane-polnich-plodin> (accessed February).
- Kuthan A. 2021. Použití biologických přípravků v naši pěstitelské praxi. *Kurent*. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/pouziti-biologicky-ch-pripravku-v-nasi-pestitelske-praxi> (accessed February 2022).
- Kuthan A, Trubská . 2017. Biopesticidy u nás a ve světě. *Kurent s.r.o*. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/biopesticidy-u-nas-a-ve-svete> (accessed February 2022).
- Kvakkestad V, Sundbye A, Gwynn R, Klingen I. 2020. Authorization of microbial plant protection products in the Scandinavian countries: A comparative analysis. *Environmental Science and Policy* **106**:115-124.

- Lamberti F. 1997. Plant nematology in developing countries: Problems and progress. Page in Plant Nematode Problems and their Control in the Near East Region. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Available from <https://www.fao.org/3/v9978e/v9978e05.htm#TopOfPage> (accessed March 2022).
- Liu G, Lin X, Xu S, Liu G, Liu F, Mu W. 2020. Screening, identification and application of soil bacteria with nematicidal activity against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on tomato. *Pest Management Science* **76**:2217-2224.
- Lopes-Caitar V, Pinheiro J, Marcelino-Guimarães F. 2019. Nematodes in Horticulture: An Overview: An Overview. *Journal of Horticultural Science and Crop Research* **1**:106.
- Lopez-Nicora H, Mekete T, Taylor N, Niblack T. 2012. First Report of Lesion Nematode (*Pratylenchus vulnus*) on Boxwood in Ohio. *Plant Disease* **96**:1385-1385.
- Mason P. 2021. *Biological Control: Global Impacts, Challenges and Future Directions of Pest Management*. CSIRO Publishing.
- Mazáková J, Gaar V. 2008. Diagnostické metody významných háďátek rodu *Aphelenchoides* v podmínkách ČR: (metodika pro praxi). Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Mendoza A, Kiewnick S, Sikora R. 2008. In vitro activity of *Bacillus firmus* against the burrowing nematode *Radopholus similis*, the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. *Biocontrol Science and Technology* **18**:377-389.
- Migunova V, Sasanelli N. 2021. Bacteria as Biocontrol Tool against Phytoparasitic Nematodes. *Plants* **10**:389.
- Ministerstvo zemědělství. 2018. Národní akční plán k bezpečnému používání pesticidů v ČR pro 2018 - 2022. Ministerstvo zemědělství. Available from [https://eagri.cz/public/web/file/670633/NAP\\_CZ\\_2018\\_2022.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/670633/NAP_CZ_2018_2022.pdf) (accessed February 2022).
- Mokrini F, Andaloussi F, Waeyenberge L, Viaene N, Moens M. 2014. First Report of the Dagger Nematode *Xiphinema diversicaudatum* in Citrus Orchards in Morocco. *Plant Disease* **98**:575-575.
- Monas Technology. 2013. HIRUNDO®. Monas Technology. Available from <http://www.monastechnology.cz/index.php/hirundo> (accessed April 2022).
- Muimba-Kankolongo A. 2018. Chapter 10 - Leguminous Crops. Pages 173-203 in *Food Crop Production by Smallholder Farmers in Southern Africa: Challenges and Opportunities for Improvement*. Elsevier Inc.
- Nair K. 2013. Diseases of Turmeric. *The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger*:139-157. Elsevier.
- Nascimento D, Gonsaga R, Souza Pollo A, Santos L, Ferreira R, Rodrigues M, Braz L, Soares P. 2020. First Report of Root-Knot Nematode, *Meloidogyne javanica*, Infecting *Humulus lupulus* in São Paulo, Brazil. *Plant Disease* **104**:2740-2740.
- Navrátilová M. 2019. Možnosti využití biopesticidů v zemědělské produkci ČR. *Kurent*. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/moznosti-vyuziti-biopesticidu-v-zemedelske-produkci-cr> (accessed February 2022).

- Navrátilová M. 2019. Komplexní celostní ochrana rostlin s využitím biologické ochrany. Kurent. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/komplexni-celostni-ochrana-rostlin-s-vyuzitim-biologicke-ochrany> (accessed February 2022).
- Nguyen V, Tandonnet J, Khallouk S, Van Ghelder C, Portier U, Lafargue M, Banora M, Ollat N, Esmenjaud D. 2020. Grapevine Resistance to the Nematode *Xiphinema index* Is Durable in Muscadine-Derived Plants Obtained from Hardwood Cuttings but Not from In Vitro. *Phytopathology*® **110**:1565-1571.
- Nguyen V, Villate L, Gutierrez-Gutierrez C, Castillo P, Van Ghelder C, Plantard O, Esmenjaud D. 2019. Phylogeography of the soil-borne vector nematode *Xiphinema index* highly suggests Eastern origin and dissemination with domesticated grapevine. *Scientific Reports* **9**:7313.
- Nyaku S, Affokpon A, Danquah A, Brentu F. 2017. Harnessing Useful Rhizosphere Microorganisms for Nematode Control. Pagein *Nematology - Concepts, Diagnosis and Control*. InTech.
- OEPP/EPPO. 2002. Normes OEPP EPPO Standards: Good plant protection practice. *Bulletin OEPP/EPPO* **32**:367–369. France.
- OEPP/EPPO. 2017. PM 7/39 (2) *Aphelenchoides besseyi*. *EPPO Bulletin* **47**:384-400.
- OEPP/EPPO. 2017. PM 3/83 (1) *Fragaria* plants for planting - inspection of places of production. *EPPO Bulletin* **47**:349-365.
- OEPP , EPPO . 2004. *Aphelenchoides besseyi*. *EPPO Bulletin* **34**:303-308.
- Offenberg J, Thi Thu Cuc N, Wiwatwitaya D. 2013. The effectiveness of weaver ant (*Oecophylla smaragdina*) biocontrol in Southeast Asian citrus and mango. *Asian myrmecology* **5**:139–149.
- Oliver J, Fuchs M. 2019. Fanleaf degeneration/decline disease of grapevines. New York State Integrated Pest Management Program.
- Özarslandan A, Dinçer D, Yavuz Ş, Aslan A. 2021. First report of northern root-knot nematode, *Meloidogyne hapla* (Chitwood, 1949) on strawberry in Turkey. *Journal of Nematology* **53**:1-4.
- Pal K, McSpadden Gardener B. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*:1-15.
- Peng H, Long H, Huang W, Liu J, Cui J, Kong L, Hu X, Gu J, Peng D. 2017. Rapid, simple and direct detection of *Meloidogyne hapla* from infected root galls using loop-mediated isothermal amplification combined with FTA technology. *Scientific Reports* **7**:44853.
- Perry R, Moens M. 2006. *Plant Nematology: Advances in Impact Assessment*. CABI.
- Persley D, House S, Cooke T. 2010. *Diseases of Fruit Crops in Australia*. CSIRO Publishing.
- Phani V, Khan M, Dutta T. 2021. Plant-parasitic nematodes as a potential threat to protected agriculture: Current status and management options. *Crop Protection* **144** (e105573) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105573>.
- Pinochet J, Fernández C, Alcaniz E. 1996. Damage by a Lesion Nematode, *Pratylenchus vulnus*, to *Prunus* Rootstocks. *Plant Disease* **80**:754-757.

- Pinochet J, Marull J, Rodriguez-Kabana R, Felipe A, Fernandez C. 1993. Pathogenicity of *Pratylenchus vulnus* on plum rootstocks. *Fundamental and Applied Nematology* **16**:375-380.
- Popp J, Pető K, Nagy J. 2013. Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **33**:243-255.
- Prakash A, Rao J, Berliner J, Pokhare S, Adak T, Saikia K. 2014. Botanical Pesticides for the Management of Plant Nematode and Mite Pests. Pages 89-118 in *Advances in Plant Biopesticides*. Springer India, New Delhi.
- Rahman L, Orchard B, Whitelaw-Weckert M, Hutton R. 2012. Susceptibility of *Vitis vinifera* 'Semillon' and 'Chardonnay' to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **51**:19–26. *Vitis*.
- Rani P, Singh M, Prashad H, Sharma M. 2022. Evaluation of bacterial formulations as potential biocontrol agents against the southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **32**:1-9.
- Roca F, Martelli G, Lamberti F, Rana G. 1975. Distribution of *Longidorus attenuatus* Hooper in Apulian artichoke fields and its relationship with artichoke Italian latent virus. *Istituto di Patologia Vegetale, Università degli Studi*:91-101. Italia.
- Roser M. 2019. Pesticides. Available from <https://ourworldindata.org/pesticides> (accessed January 2022).
- Sasanelli N, Konrat A, Migunova V, Toderas I, Iurcu-Straistaru E, Rusu S, Bivol A, Andoni C, Veronico P. 2021. Review on Control Methods against Plant Parasitic Nematodes Applied in Southern Member States (C Zone) of the European Union. *Agriculture* **11**:1-19.
- Sharma A et al. 2019. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences* **1**: 1446.
- Shukla N, Akansha Singh E, Kabadwa B, Sharma R, Kumar J. 2019. Present Status and Future Prospects of Bio-Agents in Agriculture. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **8**:2138-2153.
- Scheck H. 2020. California Pest Rating Proposal for *Xiphinema diversicaudatum*. California Department of Food and Agriculture. Available from [https://blogs.cdfa.ca.gov/Section3162/wp-content/uploads/2020/12/Xiphinema-diversicaudatum\\_-ADA\\_PRP-.pdf](https://blogs.cdfa.ca.gov/Section3162/wp-content/uploads/2020/12/Xiphinema-diversicaudatum_-ADA_PRP-.pdf) (accessed March 2022).
- Scheck H. 2022. *Pratylenchus vulnus*: Allen & Jensen, 1951 walnut root lesion nematode. California Department of Food and Agriculture, California. Available from <https://blogs.cdfa.ca.gov/Section3162/wp-content/uploads/2022/02/Pratylenchus-vulnus.pdf> (accessed March 2022).
- Singh S, Hodda M, Ash G. 2013. Plant-parasitic nematodes of potential phytosanitary importance, their main hosts and reported yield losses. *EPPO Bulletin* **43**:334-374.
- Soliman A, Shawky S, Omar M. 2011. Efficiency of Bioagents in Controlling Root-Knot Nematode on Acacia Plants in Egypt. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* **10**:223-229.

- Státní zemědělský intervenční fond. 2021. Podpora ozdravování polních a speciálních plodin (biologická kontrola). Státní zemědělský intervenční fond. Available from <https://www.szif.cz/cs/nd-dotacni-programy-3a?setCookie=true> (accessed February 2022).
- Subedi S, Thapa B, Shrestha J. 2020. Root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and its management: a review. *Journal of Agriculture and Natural Resources* **3**:21-31.
- Susulovska S, Susulovsky A, Kornobis F. 2016. Morphometrical and molecular data on plant parasitic nematodes *Longidorus attenuatus* Hooper, 1961 and *L. danuvii* Barsi et al., 2007 (Nematoda: Longidoridae) reported from Ukraine for the first time. *Helminthologia* **53**:396-400.
- Suzuki R, Ueda T, Wada T, Ito M, Ishida T, Sawa S. 2021. Identification of genes involved in *Meloidogyne incognita*-induced gall formation processes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology* **38**:1-8.
- Šubíková V, Kollerová E, Slovácová L. 2002. Occurrence of Nepoviruses in Small Fruits and Fruit Trees in Slovakia. *Plant Protection Science* **38**:367–369.
- Talavera M, Miranda L, Gómez-Mora J, Vela M, Verdejo-Lucas S. 2019. Nematode Management in the Strawberry Fields of Southern Spain. *Agronomy* **9**:1-13.
- Taylor C, Thomas P. 1968. The association of *Xiphinema diversicaudatum* (Micoletsky) with strawberry latent ringspot and arabis mosaic viruses in a raspberry plantation. *Annals of Applied Biology* **62**:147-157.
- Tian B, Yang J, Zhang K. 2007. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. *FEMS Microbiology Ecology* **61**:197-213.
- Tran T, Wang S, Nguyen V, Tran D, Nguyen D, Nguyen A. 2019. Study of Novel Endophytic Bacteria for Biocontrol of Black Pepper Root-knot Nematodes in the Central Highlands of Vietnam. *Agronomy* **9**:1-12.
- Trávníčková. 2009. Nařízení (ES) č. 1107/2009 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh. Státní zdravotní ústav. Available from <http://www.szu.cz/tema/pracovni-prostredi/narizeni-es-c-1107-2009-o-uvadeni-pripravku-na-ochranu> (accessed February 2022).
- Vacante V, Kreiter S. 2017. Handbook of Pest Management in Organic Farming. CAB International, United Kingdom.
- Vanstone V, Lantzke N. 2006. Nematodes in Western Australian vineyards. Department of Primary Industries and Regional Development, Perth. Available from <https://researchlibrary.agric.wa.gov.au/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://www.google.com/&httpsredir=1&article=1115&context=bulletins> (accessed March 2022).
- Vekemans M, Marchand P. 2020. The fate of biocontrol agents under the European phytopharmaceutical regulation: how this regulation hinders the approval of botanicals as new active substances. *Environmental Science and Pollution Research* **27**:39879-39887.



- Villaverde J, Sevilla-Morán B, Sandín-España P, López-Goti C, Alonso-Prados J. 2014. Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC) No. 1107/2009. *Pest Management Science* **70**:2-5.
- Wang D, Xu C, Bai Z, Li J, Han Y, Zhao L, Xie H. 2019. Development of a loop-mediated isothermal amplification for rapid diagnosis of *Aphelenchoides ritzemabosi*. *European Journal of Plant Pathology* **155**:173-179.
- Yang Y, Hu X, Liu P, Chen L, Peng H, Wang Q, Zhang Q, Shokoohi E. 2021. A new root-knot nematode, *Meloidogyne vitis* sp. nov. (Nematoda: Meloidogynidae), parasitizing grape in Yunnan. *PLoS One* 16 (e0245201) DOI: 10.1371/journal.pone.0245201.
- Yigezu Wendimu G, Shrestha J. 2021. Biology, Taxonomy, and Management of the Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) in Sweet Potato. *Advances in Agriculture* **2021**:1-13.

## **9 Seznam použitých zkratk a symbolů**

ArMV – Arabis mosaic virus neboli mozaika huseníku na révě

CFU – Colony Forming Units neboli jednotky tvořící kolonie na ml

EU – Evropská unie

J2 – juvenilní stádium druhého stupně

POR – přípravky na ochranu rostlin

SLRS – vir latentní kroužkovitosti jahodníku

TBRV – virus černé kroužkovitosti rajčat

USD – americký dolar

ÚKZÚZ – Ústavní kontrolní a zkušební ústav zemědělský

## 10 Samostatné přílohy

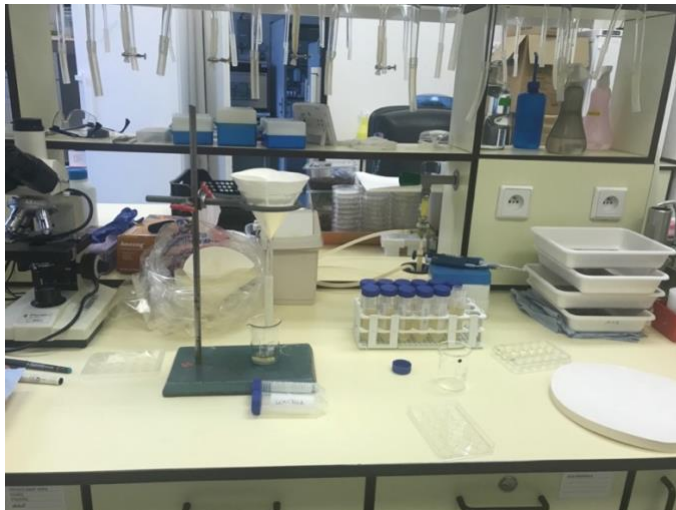
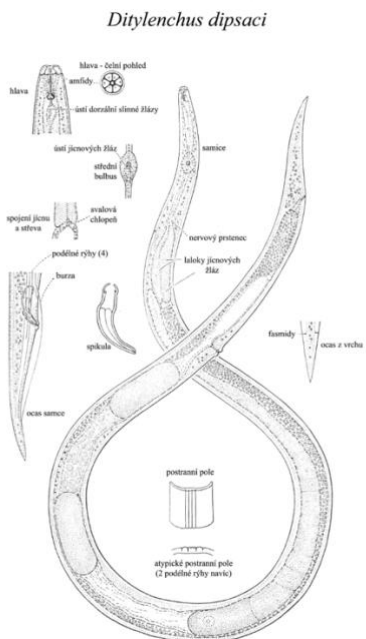
### 10.1 Tabulky

Tabulka 1 Mortalita háďátek po 24 hodinách p hodnota.....	61
Tabulka 2 Mortalita háďátek po 24 hodinách z hodnota .....	61
Tabulka 3 Mortalita háďátek po 48 hodinách p hodnota.....	62
Tabulka 4 Mortalita háďátek po 48 hodinách z hodnota .....	62
Tabulka 5 Mortalita háďátek po 72 hodinách p hodnota.....	63
Tabulka 6 Mortalita háďátek po 72 hodinách z hodnota .....	63
Tabulka 7 Sazenice: Počet háďátek na gram p hodnota.....	64
Tabulka 8 Sazenice: Počet háďátek na gram z hodnota .....	64
Tabulka 9 Sazenice: Index zčervenání p hodnota .....	65
Tabulka 10 Sazenice: Index zčervenání z hodnota .....	65
Tabulka 11 Sazenice: Index zkadeření p hodnota.....	66
Tabulka 12 Sazenice: Index zkadeření z hodnota .....	66
Tabulka 13 Sazenice: Disease index p hodnota .....	67
Tabulka 14 Sazenice: Disease index z hodnota.....	67
Tabulka 15 Semínka: Počet háďátek na gram p hodnota .....	68
Tabulka 16 Semínka: Počet háďátek na gram z hodnota .....	68
Tabulka 17 Semínka: Index zčervenání p hodnota .....	69
Tabulka 18 Semínka: Index zčervenání z hodnota.....	69
Tabulka 19 Semínka: Index zkadeření p hodnota .....	70
Tabulka 20 Semínka: Index zkadeření z hodnota .....	70
Tabulka 21 Semínka: Disease index p hodnota .....	71
Tabulka 22 Semínka: Disease index z hodnota.....	71

### 10.2 Obrázky

Obrázek 1. Světová produkce plodin 2000-2019 (FAO 2021) .....	5
Obrázek 2. Použití pesticidů na hektar orné půdy v roce 2017 (Roser 2019) .....	8
Obrázek 3 Morfologie háďátka <i>Ditylenchus dipsaci</i> (Douda 2008) .....	II
Obrázek 4 Filtrace suspenzí bakterií jednotlivých přípravků .....	II
Obrázek 5 In vitro sklíčková kultura připravená na třepačce (IKA KS 130 basic).....	II
Obrázek 6 Založený květináčový pokus: varianta Novaferm Sirius, sazeničky a semínka 18.1.2022 .....	III
Obrázek 7 Květináčová pokus před vyhodnocením, všechny varianty včetně kontroly, 14.3.2022 .....	III
Obrázek 8 Stupnice zčervenání listů používaná pro zhodnocení jednotlivých listů .....	IV
Obrázek 9 Stupnice zkadeření listů používaná pro zhodnocení jednotlivých listů .....	IV
Obrázek 10 Falkonky s nakrájenými listy ve filtrační látce zalité vodou pro vyplavení háďátek .....	V
Obrázek 11 Nejlépe hodnocený přípravek Novaferm Sirius, 4. rostlina, 1.-2. list.....	V
Obrázek 12 Nejlépe hodnocený přípravek Novaferm Sirius, 4. rostlina, 3.- 7. list.....	VI
Obrázek 13 Nejhůře hodnocený přípravek Hirundo, 2. rostlina, 1.- 6. list.....	VII
Obrázek 14 Nejhůře hodnocený přípravek Hirundo, 2. rostlina, 7. - 10. list.....	VIII

Obr. 2: morfologie háďátka *Ditylenchus dipsaci* (dle Thorna, 1945, upraveno)



Obrázek 4 Filtrace suspenzí bakterií jednotlivých přípravků

Obrázek 3 Morfologie háďátka *Ditylenchus dipsaci* (Douda 2008)



Obrázek 5 In vitro sklíčková kultura připravená na třepačce (IKA KS 130 basic)



Obrázek 6 Založený květináčový pokus: varianta Novaferm Sirius, sazeničky a semínka 18.1.2022



Obrázek 7 Květináčová pokus před vyhodnocením, všechny varianty včetně kontroly, 14.3.2022

## 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 postupilo do vedlejších žilek listu
- Stupeň 5: Zčervenání všech žilek na listu

Obrázek 8 Stupnice zčervenání listů používaná pro zhodnocení jednotlivých listů

## Stupnice zkadeření listů

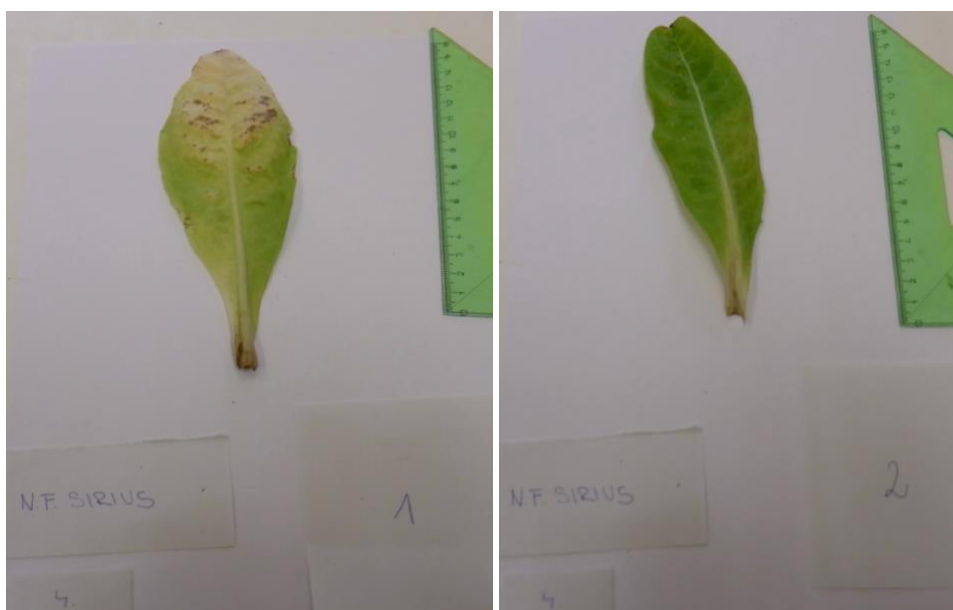


- Stupeň 1: Bez známek zkadeření
- Stupeň 2: Drobné zkadeření
- Stupeň 3: Zkadeření na polovině a více listu
- Stupeň 4: Zkadeření na celém listu

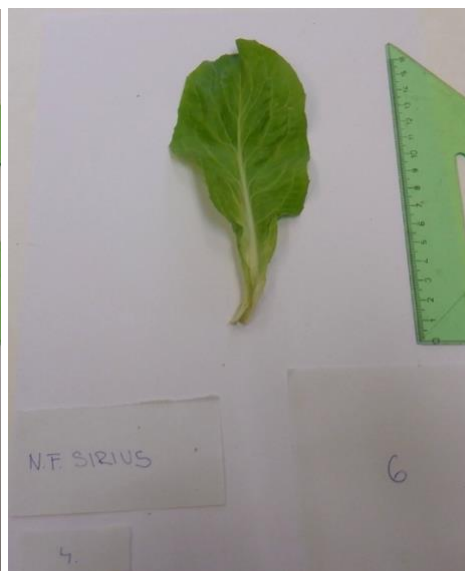
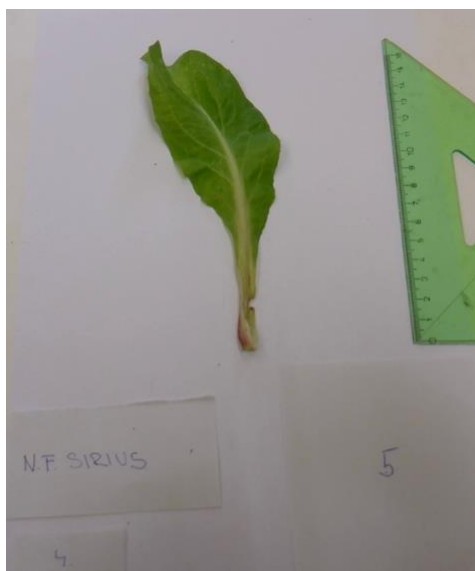
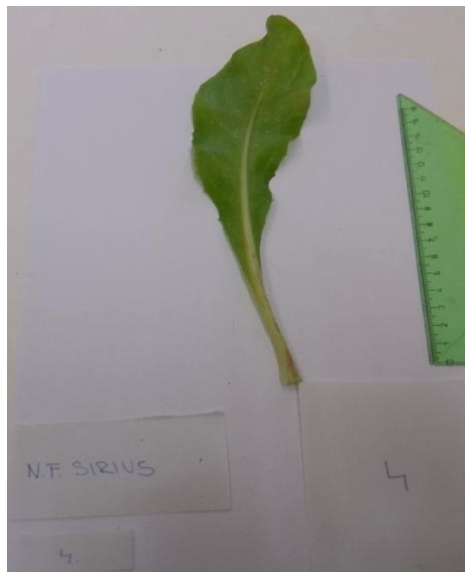
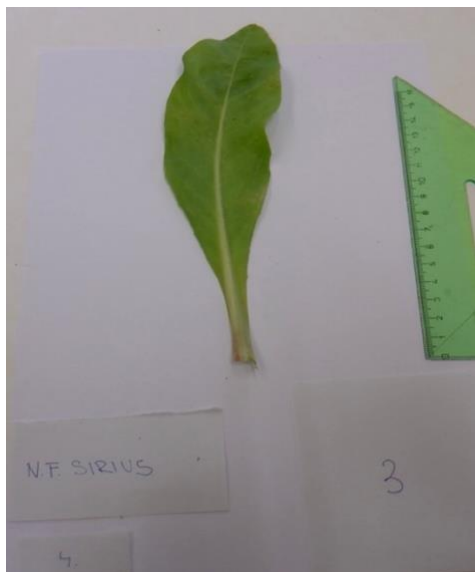
Obrázek 9 Stupnice zkadeření listů používaná pro zhodnocení jednotlivých listů



Obrázek 10 Falconky s nakrájenými listy ve filtrační látce zalité vodou pro vyplavení hárđátek

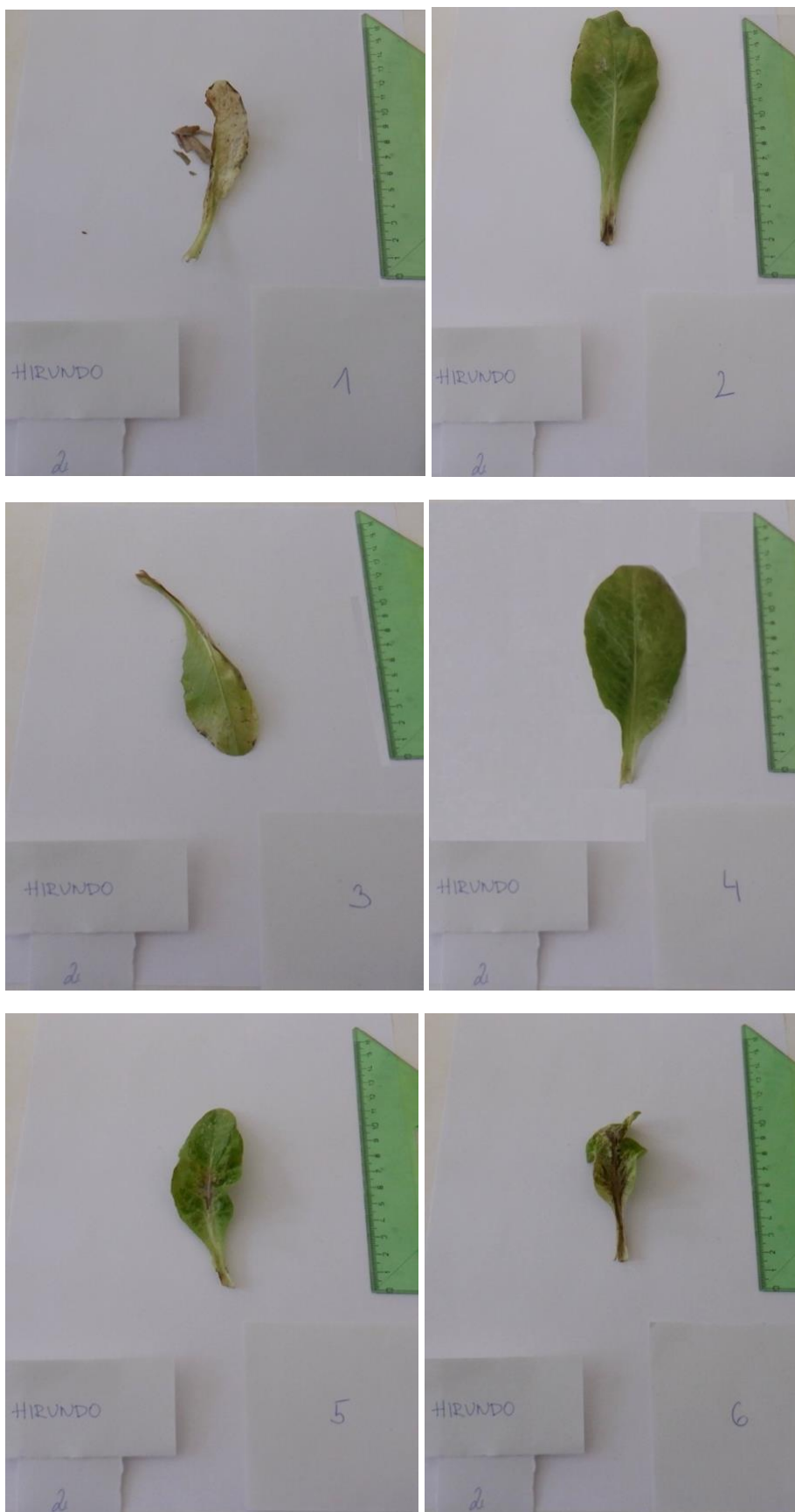


Obrázek 11 Nejlépe hodnocený přípravek Novaferm Sirius, 4. rostlina, 1.-2. list

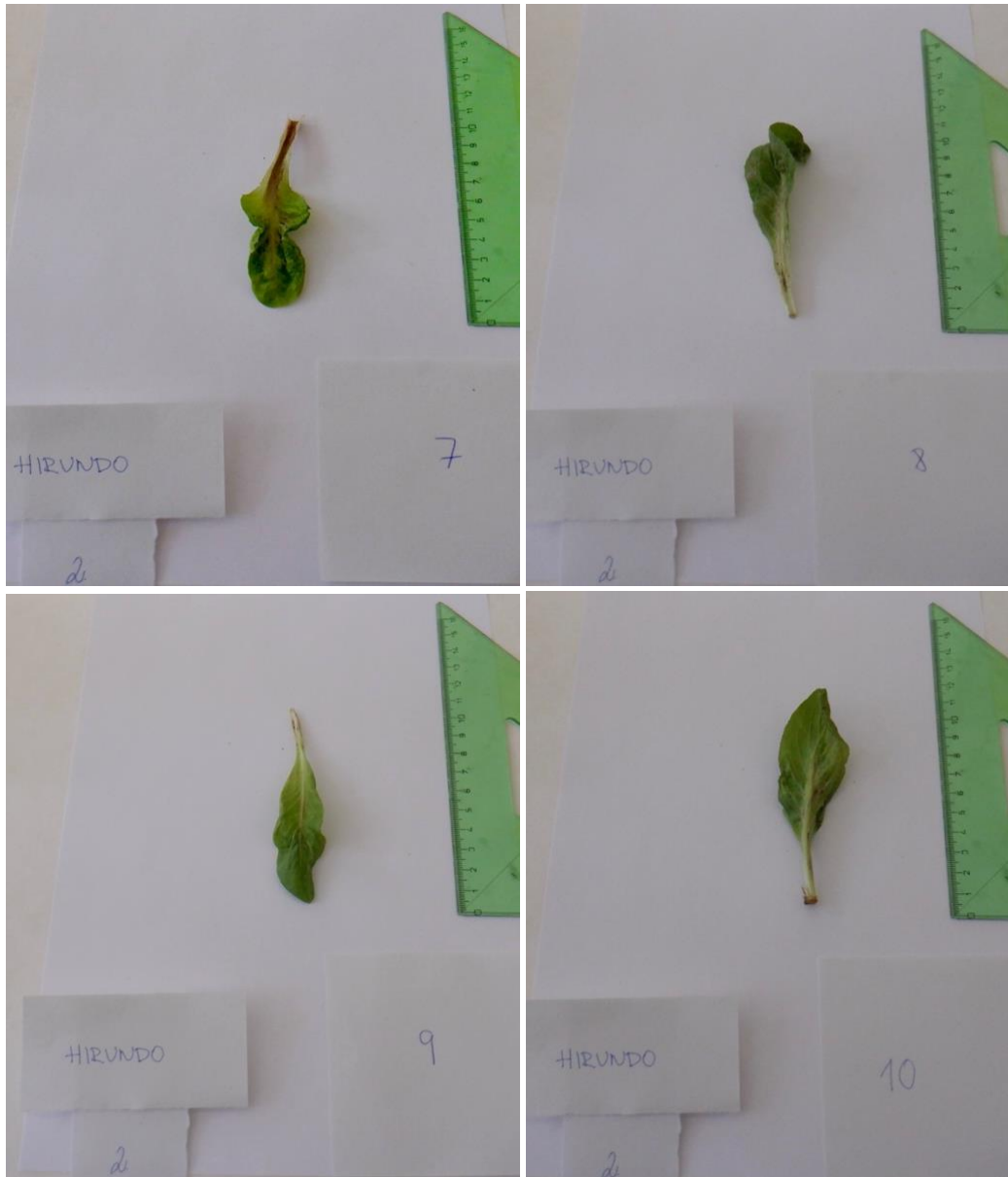


Obrázek 12 Nejlépe hodnocený přípravek Novaferm Sirius, 4. rostlina, 3.- 7. list





Obrázek 13 Největře hodnocený přípravek Hirundo, 2. rostlina, 1.- 6. list



Obrázek 14 Nejhůře hodnocený přípravek Hirundo, 2. rostlina, 7. - 10. list