

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra ochrany rostlin



Vliv Reynoutria spp. na mortalitu Meloidogyne hapla

Bakalářská práce

Autor práce: Tereza Hucková

Vedoucí práce: Ing. Miloslav Zouhar, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv *Reynoutria* spp. na mortalitu *Meloidogyne hapla*" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 11. 4. 2013

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala všem, kteří mi poskytli potřebné informace k dané problematice, zvláště pak děkuji svému vedoucímu bakalářské práce Ing. Miloslavu Zouharovi, Ph.D. za cenné rady, připomínky a náměty, kterými mi velmi pomohl ve zpracování zadaného tématu.

Vliv *Reynoutria* spp. na mortalitu *Meloidogyne hapla*

Influence *Reynoutria* spp. on mortality of *Meloidogyne hapla*

Souhrn

Hád'átka rodu *Meloidogyne* jsou řazena mezi významné vnitrobuněčné parazity rostlin. Celosvětově způsobují vysoké hospodářské škody, vyčíslené na hodnotu přibližně 100 miliard USD ročně. Většina druhů patřících do tohoto rodu škodí převážně v tropických a subtropických oblastech. Hád'átka *Meloidogyne hapla*, o kterém pojednává předkládaná bakalářská práce, prokázalo schopnost aklimatizovat se i v mírném pásmu.

Málo efektivní chemická ochrana rostlin proti hád'átkům vedla mnoho výzkumníků k vývoji alternativních prostředků účinných k eliminaci tohoto škůdce. Tato bakalářská práce se zabývá využitím křídlatky jako vhodného prostředku k eliminaci hád'átka *Meloidogyne hapla*. Pro experimenty byly vybrány všechny tři druhy křídlatek vyskytující se v České republice: křídlatka japonská, křídlatka sachalinská a křídlatka česká. Experimentálně byl stanoven vliv zelené hmoty a kořenových difuzátů na mortalitu hád'átka *Meloidogyne hapla*. Jako modelová hostitelská rostlina bylo použito rajče jedlé *Solanum lycopersicum*.

Klíčová slova: *Meloidogyne hapla*, fytoparazitická hád'átka, hlísti, křídlatka, *Reynoutria*, ochrana rostlin

Summary

Nematodes of the genus *Meloidogyne* belongs to important intracellular parasites of plants. Worldwide they causes high economic losses, approximately - 100 bilion USD per year. Most of the species, with belongs to this genus, are located mainly in tropical and subtropical regions. Nematode *Meloidogyne hapla* is able to overwinter in the temperate climate.

Just few effective chemical compounds for protection of plants against nematodes has led many researchers to develop alternative means effective to eliminate this pest. This thesis deals with the use of *Reynoutria* as a proper means for eliminating nematodes *Meloidogyne hapla*. For the experiments all three *Reynoutria* occurring in the Czech Republic were selected: *Reynoutria japonica*, *Reynoutria sachalinensis* and the *Reynoutria x bohémica*. Experimentally was determined the influence of green mass and root difusate on mortality of nematode *Meloidogyne hapla*. As a host plant was used edible tomato *Solanum lycopersicum*.

Keywords: *Meloidogyne hapla*, root-knot nematode, nematode, knotweed, *Reynoutria*, plant protection

Obsah

1. Úvod	8
2. Cíl práce	9
3. <i>Meloidogyne</i> spp.....	10
3.1 Taxonomické zařazení	10
3.2 Charakteristika	10
3.3 Morfologie	11
3.4 Životní cyklus	12
3.5 Ochranné prostředky	12
3.6 <i>Meloidogyne hapla</i>	14
3.6.1 Charakteristika	14
3.6.2 Výskyt v ČR.....	15
4. Křídlatky (<i>Reynoutria</i> spp.)	16
4.1 Taxonomické zařazení	16
4.2 Charakteristika	16
4.3 Rozmnožování	16
4.4 Nároky na stanoviště	17
4.5 Introdukce do Evropy.....	17
4.6 Rozšíření v ČR.....	18
4.7 Využití	18
4.8 Křídlatka japonská (<i>Reynoutria japonica</i>)	19
4.8.1 Areál rozšíření	19
4.8.2 Charakteristika	19
4.8.3 Význam křídlatky japonské	20
4.9 Křídlatka sachalinská (<i>Reynoutria sachalinensis</i>)	20
4.9.1 Areál rozšíření	20
4.9.2 Charakteristika	20
4.10 Křídlatka česká (<i>Reynoutria x bohémica</i>)	21
4.10.1 Areál rozšíření	21
4.10.2 Charakteristika	21
5. Rajče jedlé (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	22

5.1 Původ.....	22
5.2 Charakteristika.....	22
6. Materiál a metody.....	23
6.1 Pokus č. 1	23
6. 1. 1 Příprava.....	23
6. 1. 2 Postup pokusu	24
6.2 Pokus č. 2	26
6. 2. 1 Postup pokusu s difuzáty	26
6. 2. 2 Postup pokusu s methanolovým extraktem.....	27
7. Výsledky	28
7.1 Výsledky pokusu č. 1	28
7. 1. 1 Statistické zhodnocení počtu nalezených hád'átek.....	34
7. 1. 2 Statistické zhodnocení hmotnosti nadzemní části rostliny rajčete.....	35
7. 1. 3 Statistické zhodnocení hmotnosti kořenové části rostliny rajčete.....	36
7. 2 Výsledky pokusu č. 2.....	37
7. 2. 1 Pokus s difuzáty.....	37
7. 2. 2 Pokus s methanolovým extraktem.....	38
8. Diskuze	41
9. Závěr.....	44
10. Zdroje.....	45
11. Seznam tabulek	48
12. Seznam obrázků	49
13. Seznam grafů.....	49
14. Přílohy.....	50

1. Úvod

Kořenová háďátka patří mezi celosvětově hospodářsky významné vnitrobuněčné parazity rostliny. Škody jimi způsobené jsou odhadovány na hodnotu 100 miliard USD ročně. Hostitelské spektrum háďátek rodu *Meloidogyne* je velmi široké, parazitují jak na jednoděložných, tak i na dvouděložných rostlinách. Významné jsou především ztráty na výnosech hospodářsky využitelných plodin.

Háďátka *Meloidogyne hapla*, vyskytující se na všech kontinentech světa, je rozšířené i na území České republiky. Na přelomu tisíciletí byl prokázán výrazný výskyt tohoto škůdce na kořenové zelenině v polabské oblasti.

Problémy s ochranou rostlin proti háďátkům vedly mnoho výzkumníků k vývoji alternativních prostředků účinných k eliminaci tohoto škůdce. K hubení háďátka bylo vyzkoušeno již několik extraktů a rostlinných částí rozmanitých rostlin, z nichž některé vykazovaly pozitivní účinky (Douda a Zouhar, 2008).

Předkládaná bakalářská práce se zabývá využitím křídlatky jako vhodného prostředku pro eliminaci háďátka *Meloidogyne hapla*. Pro experimenty byly vybrány všechny tři druhy křídlatek vyskytující se v České republice: křídlatka japonská, křídlatka sachalinská a křídlatka česká. Všechny zmíněné druhy patří na území ČR mezi nejvýznamnější invazivní rostliny. Křídlatky patří z hlediska produkce fytohmoty mezi jedny z nejvýkonnějších rostlin, mají i pozitivní potenciál jako energetické plodiny. Dále byly prokázány jejich významné fungicidní účinky (Drobník, 2012).

2. Cíl práce

Hlavním cílem předkládané bakalářské práce bylo otestování vlivu různých částí rostlin křídlatky na mortalitu fytoparazitického hád'átka *Meloidogyne hapla*. Cíl práce byl zvolen na základě hypotézy existence funkčního mechanismu redukce vzniku kompatibilního vztahu mezi *Meloidogyne hapla* a hostitelskou rostlinou v systému s přítomností *Reynoutria* spp. Dílčí cíle předkládané práce lze formulovat následovně: rešeršní analýza hád'átka *Meloidogyne hapla*; rešeršní analýza rostlin *Reynoutria* spp.; rešeršní analýza Rajčete jedlého *Solanum lycopersicum*; syntéza ve formě experimentu s rozdrcenými listy *Reynoutria* spp.; syntéza ve formě experimentu s kořenovými difuzáty a methanolovým extraktem z *Reynoutria* spp.; vyhodnocení zjištěných výsledků výše zmíněných pokusů.

3. *Meloidogyne* spp.

3.1 Taxonomické zařazení

Říše *Animalia* - živočichové

Kmen *Nematoda* - hlístice

Třída *Secernentea*

Řád *Tylenchida* - háďátka

Čeleď *Meloidogynidae*

Rod *Meloidogyne*

(Čermák a Gaar, 2010)

3.2 Charakteristika

Kořenová háďátka rodu *Meloidogyne* patří mezi obligátní vnitrobuněčné parazity rostlin. Hostitelské spektrum těchto háďátek je velmi široké. Způsobují škody jak na jednoděložných, tak i na dvouděložných bylinách a dřevinách. V zemědělství jsou považovány za jedny z nejvíce nebezpečných hlístů (Janssen, 1997). Hospodářské škody způsobené háďátkou jsou celosvětově odhadovány na 13 % (Hallmann, 1994). Což obnáší přibližnou hodnotu 100 miliard USD ročně (Douda a Zouhar, 2008). V tropických a subtropických oblastech však mohou ztráty na výnosech dosahovat i přes 50 % a v extrémních případech i zcela zlikvidovat některé kultury (Hallmann, 1994). Hlavní příčinou tak velkých ztrát je rychlá reprodukce, protože jedna samička je schopna během jednoho vegetačního období naklást kolem 1.000 vajíček. Kromě této schopnosti je problémem i obtížná likvidace. I když většina druhů škodí převážně v tropických a subtropických oblastech, mají některé druhy i schopnost aklimatizovat se do mírného pásma. Na přelomu tisíciletí se tak *Meloidogyne hapla* prokázalo jako významný škůdce v porostech kořenové zeleniny v polabské oblasti (Douda a Zouhar, 2008).

Z celkového počtu sedmdesáti aktuálně popsanych druhů, patřících do tohoto rodu, jsou pouze čtyři celosvětově ekonomicky významní (Hallmann, 1994). A to konkrétně: *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne arenaria* a *Meloidogyne javanica*. Existují další zástupci (například háďátka *Meloidogyne chitwoodi* patřící mezi karanténní organismy), kteří jsou též ekonomicky významní, ale jejich areál rozšíření není zdaleka tak velký (Janssen, 1997). Z celkové populace háďátek v 75 zemích světa bylo zjištěno

následující složení: 53 % *M. Incognita*, 30 % *M. javanica*, 8 % *M. arenaria*, 8 % *M. hapla*. Zbylé jedno procento je zastoupeno méně významnými druhy. První dva druhy, *M. incognita* a *M. javanica* se vyskytují převážně v tropech. *M. arenaria* v subtropické oblasti a *Meloidogyne hapla* v mírném pásmu. Uvedené čtyři druhy postihují více než dva tisíce kulturních rostlin (Hallmann, 1994).

Hálkotvorná háďátka mají vyšší infekčnost a jsou odolnější v půdách písčitých až písčitohlinitých. Což je dáno snížením pohyblivosti v půdách s vysokým obsahem jílu (Janssen, 1997). Jejich diagnostika je poměrně obtížná, vzhledem ke krátké době výskytu teprve probíhá řada experimentů zaměřených na potvrzení výskytu a v návaznosti na ni se pak vyvíjejí metody ochrany postižených rostlin. Omezujícím faktorem těchto pokusů je dostupnost biologického materiálu. Je skoro nemožné najít plochu s rovnoměrným napadením, plochy s ohniskovým výskytem není možné použít. V rozporu jsou také zájmy výzkumníků a majitelů pozemků (Zouhar a Douđa, 2007).

3.3 Morfologie

Tělo háďátek je nečlánkované a celé kryté dvou až tří vrstvenou kutikulou, která jej chrání proti nepříznivým vlivům. Při vývoji dochází ke svlékání, při kterém se stará kutikula nahrazuje novou.

Trávicí soustava je tvořena ústní dutinou, jícnem, středním střevem a konečníkem. Ústní dutina je u fytofágních háďátek tvořena bodcem neboli styletem. Což je dutý jehlovitý orgán, který lze v případě potřeby vysunout (Vlk, 1985). U samců je stylet dlouhý přibližně 10 - 24 μm , ústní bodec samic je kratší, nejčastěji v rozmezí 9 - 18 μm . Báze styletu je zaoblená do tvaru tzv. knoflíku. Stylet je vytvořen už i u druhého juvenilního stádia, je ale slabý a dlouhý jen 10 - 15 μm (Shurtleff and Averre, 2000). Na ústní dutinu navazuje jícen ve tvaru duté trubice skládající se ze tří částí: corpus, isthmus a terminální bulbus. Přední část jícnu (corpus) je rozdělena do dvou částí, první část je válcovitá, druhá se rozšiřuje. Tento typ jícnu se nazývá rhabditoidní. Trávicí soustava dále přechází ve střední střevo a zadní střevo, ukončené konečníkem. Samcům konečník vyústuje společně s chámovodem do kloaky.

Nervová soustava je u háďátek slabě vyvinuta. Je tvořena nervovým prstencem, nervovými provazci a uzlinami. Nervový prstenec obepíná jícen. Nervové provazce vybíhají z nervového prstence do přední i zadní části těla, jsou navzájem spojené příčnými spojkami - tzv. komisurami.

Cévní a dýchací soustava není vytvořena (Vlk, 1985).

3.4 Životní cyklus

Životní cyklus kořenových háďátek rodu *Meloidogyne* probíhá převážně na kořenech rostlin, částečně mimo ně v půdě. Vajíčka jsou uložena ve vaječném vaku samice. První a druhý stupeň juvenilního stádia se rozvíjí stále ještě ve vaječném vaku. Jedinci druhého juvenilního stádia se jako vylíhnuté larvy pohybují v půdě a hledají si hostitelské rostliny, běžně jsou označováni zkratkou J2 (Beek, 1997). Vylíhlí J2 mají štíhlé tělo s délkou od 350 µm do 450 µm (Vlk, 1985). V této fázi se již jedná o infekční jedince. Napadení rostlin započne proniknutím do kořene těsně za kořenovou špičkou. Háďátka se poté přesunují do meristematických buněk v kořenové špičce a to téměř bez poškození rostlinných buněk. Ve fázi pohybu nepřijímají žádnou potravu (Beek, 1997). Po usednutí vytváří působením enzymatických sekretů několik obřích buněk, které háďátkům slouží k výživě a získávání energie pro další vývoj. Dále dochází ke svlékání a přeměně v juvenilní stádium J3 a o něco později v J4 (Siddiqi, 2000). Pohlaví se diferencuje, samičky nabobtnají a jejich ocasní část vyhrézne ven z napadeného kořene. Tak dochází ke vzniku kořenové háčky, v jejímž nitru se nachází jedna či více samiček (Douda a Zouhar, 2008). Tvar jejich těla je hruškovitý, dlouhý 0,5 až 1,0 mm a široký přibližně 0,3 - 0,6 mm. Samečci protáhlého hadovitého tvaru s délkou 0,5 až 2,0 mm opouštějí kořen a pohybují se volně v půdě (Vlk, 1985). Dojde-li ke spáření, samička klade vajíčka do rosolovitého vaječného vaku. Vaječné vaky samic vyčnívají ven z kořene, avšak mohou též zůstat uvnitř pokožky kořene (Beek, 1997). Vyprodukovaná vajíčka jsou v různých vývojových stádiích, a proto se do půdy uvolňují postupně (Douda a Zouhar, 2008).

3.5 Ochranné prostředky

Při boji s fytoparazitickými háďátky došlo v posledních padesáti letech k základnímu zvratu. Mezi roky 1960 - 1980 se téměř všechny problémy řešily používáním půdních prostředků ve formě plynu, například ve sklenících používaným Allylalkoholem¹. Možné bylo

¹ Allylalkohol - jedovatá, bezbarvá kapalina štiplavého zápachu; sumární vzorec: C₃H₆O, systematický název: 2-Propen-1-ol.

i využití nematocidních přípravků, které rostliny nehubily (Müller und Rumpenhost, 2000). V minulosti se na likvidaci hád'átka také používal Methylbromid², jeho používání již je ale striktně zakázáno³ (Douda a Zouhar, 2008).

Obtíže při boji s hád'átkem jsou způsobovány širokým hospodářským spektrem, vysokou populační dynamikou a endoparazitickým způsobem života hlístic. Zároveň také široké hospodářské spektrum výrazně zhoršuje možnosti boje se škůdcem (Hallmann, 1994). Za takové situace vznikl tlak na výzkum nových alternativ, v popředí se pochopitelně objevuje snaha získat rezistentní odrůdy. Vyvinuta byla celá řada odrůd. Pozornost byla upřena zejména na rostliny důležité pro výživu, jako jsou brambory, cukrovka a obilí (Müller und Rumpenhost, 2000). Vysazení rezistentních druhů je u některých kultur možné, dlouhodobě ale není výhodné jejich využití. Hád'átka je totiž schopné tuto rezistenci v krátké době překonat (Hallmann, 1994). Problémem je navíc i nedostatek a mnohdy nedostupnost rezistentních odrůd, což vede k absenci praktických prostředků pro ochranu před hád'átkem. Tato skutečnost se netýká pouze hád'átka druhu *Meloidogyne hapla*, nýbrž i karanténního fytoparazitického hád'átka zhoubného *Ditylenchus dipsaci*, který poškozují cibuloviny a víceleté pícniny (Douda a Zouhar, 2008).

Chemická likvidace je taktéž krátkodobý ochranný prostředek, navíc má téměř nulový efekt na populaci hád'átek. Kromě toho zatěžuje ovzduší, vodu a půdu často velmi toxickými nematocidy. Tyto syntetické nematocidy navíc nejsou použitelné v ekologickém zemědělství (Hallmann, 1994).

Z uvedených důvodů má proto velký význam likvidace pomocí biologických prostředků. Biologické přípravky jsou specificky zaměřené na cílové rostliny a pravidelně působí dlouhodobě. Při využití antagonistů je možno očekávat velmi dobré výsledky. Jako příklad je možno uvést nasazení endofytických hub. (Hallmann, 1994). Vlastnosti těchto hub byly využity společností Prophyta, která v roce 2005 uvedla na americký trh přípravek BioAct WG. Účinnou složkou tohoto preparátu jsou konidie houby *Paecilomyces lilacinus*. Nevýhodou se jeví nárok houby na vyšší půdní teplotu. V chladnějších oblastech je tak využití prostředku prozatím ve fázi pokusů (Koubová, 2007).

Celosvětově se výzkumníci snaží o vývoj alternativních prostředků, které by byly účinné v boji s hád'átkem. Kromě navrhovaných postupů, jako je solarizace půdy buď

² Methylbromid - bezbarvý nehořlavý prudec jedovatý plyn; sumární vzorec: CH₃Br, systematický název: Brommethan.

³ Česká republika a další státy EU přestali Methylbromid používat k 1. lednu 2005, celosvětový zákaz je plánován na rok 2015.

samostatná nebo v kombinaci s biologickou ochranou či biofumigace, byly vyzkoušeny i některé rostlinné části či extrakty. Například přidavek rozdrcených řepkových listů měl při pokusech ve skleníku pozitivní účinek. Na kořenovém systému testovaných různých druhů kulturních plodin byl prokázán nižší počet hálek. Pozitivní efekt byl dán zřejmě přítomností glukosinolátů. Nižší počet háďátek byl zjištěn i u dalšího pokusu, při kterém se půda smíchala s posklizňovými zbytky řepky, ředkvičky, kukuřice a bobu. Obdobně pozitivní efekt se projevil při použití ricinu⁴.

U dalších vyšších rostlin bylo při chemických rozborech prokázáno, že obsahují široké spektrum aktivních složek, které mohou být aktivně využity k ochraně rostlin. Ochrana byla pokusy prokázána, přesný mechanismus účinku zatím ne. Konkrétně na háďátka *Meloidogyne hapla* působil pozitivně etanolvý extrakt z pelyňku černobýlu (*Artemisia vulgaris*). Ovlivnil líhnutí a mortalitu háďátek, tvorbu hálek a napadání hostitelských rostlin. Životaschopnost larev háďátek snižoval extrakt z rostliny *Eugenia winzerlingii* a počet samic a vaječných vaků na kořenech rajčat omezoval hrubý vodný extrakt z *Azadirachty indica*. Z rostlin u nás běžně pěstovaných byly testovány extrakty z aksamitníků (*Tagetes* spp.).

Kromě přidávání různých rostlinných příměsí byla sledována i teplota a její vliv na výskyt háďátek. Nejvyšší účinnost byla prokázána při 30 stupních Celsia, nejnižší při dvaceti stupních. Přidání slepičího trusu účinnost dále zvyšovalo. Naopak nižší efekt byl pozorován po přidavku rozdrcené pšenice.

Jako nejdůležitější prvek ochrany rostlin proti háďátka se jednoznačně jeví prevence, což znamená omezení šíření háďátek z napadené oblasti dále do blízkého či vzdálenějšího okolí. Předpokladem prevence je kvalitní a přesný monitoring, používání certifikovaných osiv a důkladná očista všech používaných mechanických pomůcek (Douda a Zouhar, 2008).

3.6 *Meloidogyne hapla*

3.6.1 Charakteristika

Vyskytuje se na všech kontinentech, převážně v chladnějších oblastech světa a ve vyšších nadmořských výškách tropických a subtropických oblastí. Vajíčka a jedinci juvenilních stádií *M. hapla* mohou v půdě přežít nízké teploty až do -15°C po dlouhou dobu, na rozdíl od jiných tropických a subtropických druhů rodu *Meloidogyne*. Minimální teplota

⁴ Ricin - olej připravovaný z plodů jednoleté byliny skočce obecného.

pro líhnutí a vývoj tohoto háďátka se odhaduje na 9°C, optimální teplota pro reprodukci je 25°C.

Seznam hostitelských rostlin je značně rozsáhlý. Zahrnuje většinu dvouděložných rostlin významných pro potravinářské účely a několik krytosemenných okrasných a ovocných dřevin (Janssen, 1997).

3.6.2 Výskyt v ČR

V České republice bylo mapování výskytu *Meloidogyne hapla* zahájeno kolem roku 2000. Ohnisková ložiska byla zjištěna ve Středočeském kraji. Pokud byl výskyt prokázán, byl vždy na tuto skutečnost upozorněn pěstitel, ten však ne vždy pochopil závažnost situace. Proto se v období do roku 2008 rozšířilo na podstatně větší rozlohu. Příčinou bylo používání mechanizace na zasažených i nenapadených pozemcích. Výskyt *Meloidogyne hapla* se tak v půdě výrazně zvýšil. Aktuálně existují v České republice lokality, ve kterých se příznaky napadení objevují i na méně běžných rostlinných druzích. To je poměrně závažný problém s ohledem na již zmíněnou absenci účinných nematocidů (Douda a Zouhar, 2008).

4. Křídlatky (*Reynoutria* spp.)

4.1 Taxonomické zařazení

Říše *Plantae* - rostliny

Oddělení *Magnoliophyta* - rostliny krytosemenné

Třída *Rosopsida* - vyšší dvouděložné rostliny

Řád *Caryophyllales* - hvozdíkotvaré

Čeleď *Polygonaceae* - rdesnovité

(Kroutil, 2011)

4.2 Charakteristika

Křídlatky jsou dvoudomé a vytrvalé rostliny. V České republice se řadí mezi nejvýznamnější invazivní druhy křídlatka japonská (*Reynoutria japonica* Houtt., syn. *Fallopia japonica* [Houtt.] Ronse Decr.) vyskytující se v Evropě ve dvou varietách, křídlatka japonská pravá (*Reynoutria japonica* var. *japonica* Houtt.) a křídlatka japonská tuhá (*Reynoutria japonica* var. *compacta* [Hook. f.] Moldenke). Dále pak křídlatka sachalinská (*Reynoutria sachalinensis* [F. Schmidt] Nakai, syn. *Fallopia sachalinensis* [F. Schmidt] Ronse Decr.) a křídlatka česká (*Reynoutria* × *bohemica* Chrtek et Chrtková, syn. *Fallopia* × *bohemica* [Chrtek et Chrtková] J. P. Bailey), která vznikla zkřížením předchozích druhů (Kroutil, 2011).

4.3 Rozmnožování

Křídlatka se rozmnožuje především vegetativně pomocí oddenků a úlomků stonků. Avšak je možné i generativní rozmnožování pomocí semen (Drobník, 2012). V našich podmínkách jen málo kdy docházelo k plnému dozrání semen. V posledních letech se situace postupně mění vlivem změny klimatických podmínek (Kroutil, 2011).

Pupeny na oddencích zimu přežívají pod povrchem půdy. Z odlomených oddenků se nové rostliny začnou vyvíjet na novém stanovišti již během několika dnů (Černý a kol., 1998). Rostlina má velkou rozmnožovací schopnost, u křídlatky české je popsána

až stoprocentní regenerace. Křídlatka sachalinská má tuto vlastnost z našich křídlatek nejnižší (Kroutil, 2011).

4.4 Nároky na stanoviště

Křídlatka nemá žádné specifické nároky na půdně-klimatické podmínky. V České republice byl potvrzen výskyt v nadmořské výšce od 125 až do 1000 m. n. m., křídlatky tedy rostou od nížin až po horské oblasti (Hrušková, 2001). Ideální jsou půdy nevápnité a kamenité, bohaté na vodu a živiny (Hutla, 2004). Nutně však ani nevyžaduje vlhčí oblasti, jak se mnozí mylně domnívají (Hrušková, 2001). Převážně se ale i přesto vyskytuje v okolí vod, zejména z důvodu rozmnožování pomocí oddenků odplavených vodou. Dále roste na rumišťích, kde se může uplatnit vlastnost křídlatek akumulovat v sobě těžké kovy, především kadmium a olovo (Hutla, 2004).

4.5 Introdukce do Evropy

Křídlatka japonská byla do Evropy dovezena v první polovině 19. století z dálného východu jako první z druhů daného rodu. Jednalo se pouze o samičí rostlinu. O dovoz se zasloužil Philipp Franz von Siebold⁵, německý lékař a cestovatel (Hošek, 2008). Byl prvním Evropanem, který v Japonsku vyučoval západní medicínu. Během pobytu se zde naučil mnohé o japonské vegetaci. Získané poznatky měl v úmyslu šířit ve své domovině. Velké množství rostlinného i živočišného materiálu proto dovezl do Evropy (Wikipedia, 2013). Křídlatka byla původně považována za okrasnou rostlinu, avšak velmi rychle se rozšířila a začala vytlačovat původní druhy. Na Evropském kontinentu se nevyskytují její přirození nepřátelé, především herbivoři⁶ s preferencí na rostliny tohoto druhu. Nyní se tedy řadí mezi invazivní rostliny (Drobník, 2012).

O patnáct let později v roce 1855 byly doktorem H. Weyrichem do Petrohradu importovány rostliny křídlatky sachalinské. Tentokrát se už jednalo o samčí i samičí exempláře (Hošek, 2008). Později byly sbírky botanické zahrady v Petrohradě doplňovány

⁵ Narodil 17. února 1796 ve Würzburgu, zemřel ve věku 70 let 18. října 1866 v Mnichově.

⁶ Herbivor - býložravec.

o další jedince. V roce 1861 dodal rostliny F. Schmidt a v roce 1864 C. J. Maximovicz. Odtud se křídlatka sachalinská rozšířila do evropských botanických zahrad (Mandák a kol., 2004).

4.6 Rozšíření v ČR

V roce 1883 je křídlatka japonská poprvé prokazatelně objevena v ČR, a to konkrétně v Netolickém parku (Hošek 2008). První zmínky o křídlatce sachalinské v České republice pocházejí z roku 1921, kdy byla prokázána přítomnost na území středních Čech (Kroutil, 2011). Na území České republiky i celé Evropy došlo na několika místech k prolnutí areálu s výskytem samičích rostlin křídlatky japonské a lokalit se samčími rostlinami křídlatky sachalinské. Spojením těchto dvou druhů vzniká kříženec křídlatka česká, která byla poprvé popsána na území České republiky (Hošek, 2008).

Významně se křídlatky začaly šířit především až po povodních v roce 1997. Části rostlin v okolí vodních toků byly splaveny z pozemků a vodou byly přeneseny do jiných lokalit, kde se již jako nežádoucí rostliny nekontrolovatelně rozrůstaly (Kratochvíl, 2008).

Původní území výskytu se rozprostíralo především na březích, ale díky možnému generativnímu rozmnožování *Reynoutria sachalinensis* a křížence *Reynoutria x bohemica* se rozšiřují i dále od vodních ploch (Hošek, 2008).

Mezi lety 1997 až 2000 se areál rozšíření v České republice zvětšil o 38 nových míst. Z tohoto počtu se jednalo 27x o lokality s výskytem křídlatky japonské, 11 míst obsadila křídlatka sachalinská a zbývajících pět křídlatka česká (Hrušková, 2001).

4.7 Využití

O křídlatce se uvažuje jako o energetické plodině. Obzvláště kvůli své nenáročnosti na pěstování a vysoký podíl nadzemní biomasy. Z hlediska produkce fytohmoty patří mezi jedny z nejvýkonnějších rostlin (Drobník, 2012).

Prvním rokem se křídlatka nesklízí, druhý rok produkuje do 10 t.ha⁻¹ sušiny, třetí rok po výsadbě již produkuje stabilní výnosy, přibližně 21,4 t.ha⁻¹ sušiny. V původním areálu jsou zaznamenány výnosy 12 - 27 t.ha⁻¹ sušiny, což jsou hodnoty, kterých lze dosáhnout i v České republice. V intenzivním způsobu hospodaření je možné vyprodukovat až 30t.ha⁻¹ sušiny. Vzhledem k tomu, že se považuje výnos sušiny nad 12 t.ha⁻¹ za rentabilní (tedy možný i bez

dotací) jeví se křídlatka jako velmi vhodná rostlina pro pěstování na energetické účely (Hutla, 2004). Výhodná je v tento moment i absence přirozených škůdců a chorob (Drobník, 2012).

Jako palivo je možné křídlatku vzhledem ke svým mechanickým a topenářským vlastnostem přirovnat k suché dřevní štěpce. Po úpravách k dřevním briketám nebo peletám (Hutla, 2004).

Za zmínku dále stojí její prokázané fungicidní účinky. Ty byly využity americkou společností Marone Bio Innovations, která produkuje biofungicid s extrakty z rostlin křídlatky pod názvem Regalia. (Drobník, 2012)

4.8 Křídlatka japonská (*Reynoutria japonica*)

4.8.1 Areál rozšíření

Křídlatka japonská má původ na území Japonska, Tchaj-wanu, severní Číny a Koreje. Nyní je rozšířena do většiny evropských zemí, do severní Ameriky a dokonce i na Nový Zéland (Černý a kol., 1998).

4.8.2 Charakteristika

Rostlina má duté a dlouhé lodyhy, dosahující přibližně jednoho až dvou metrů. Jsou červeně skvrnitě zbarvené, v horní části se větví. Světle zelené listy jsou široce vejčité, střídavé. Čepel listu je na vrcholu zúžená do špičky a při bázi utatá. Kořeny jsou silné stejně jako podzemní stonky⁷, které se shlukují. Oddenky mají sklon k dřevnatění a rozrůstají se do okruhu 15 - 20 metrů od mateřské rostliny. Květenstvím je lata tvořená malými bílými květy. Plodem je černohnědá až černá trojhranná nažka.

Tvorba nových výhonů probíhá během jara. Maximální délky za klimatických podmínek České republiky dosahují výhony nejčastěji na přelomu dubna a května. Květy nasazují od poloviny srpna do konce září. V případech, kdy vyšší teploty vydrží déle do podzimu, vykvétá i v průběhu října. S nástupem chladného období listy a většina výhonů pomalu odumírají. Zbývající podzemní stonky zůstávají vzpřímené, aby vytvořily rostlině ochranu do příští sezóny (Černý a kol., 1998).

⁷ Podzemní stonek - oddenek.

4.8.3 Význam křídlatky japonské

Vyjma již zmíněného využití křídlatek na produkci biomasy a použití jejich fungicidních účinků na ochranu rostlin před houbovými chorobami je možné křídlatku japonskou pěstovat na zpevnění písku. V oblasti medicíny mohou být užitečné oddenky rostliny pro jejich léčebné účinky. Toho se využívá především v oblastech její původní domoviny.

Negativní účinky křídlatky japonské na životní prostředí však převyšují její pozitiva. Původní vegetace je vzhledem k jejím vysokým konkurenčním schopnostem bez milosti vytlačována. Její husté porosty na březích zvyšují riziko povodní a v blízkosti silnic a železničních tratí zhoršuje viditelnost v okolí zorného pole. Navíc její likvidace je značně obtížná a náročná (Černý a kol., 1998).

4.9 Křídlatka sachalinská (*Reynoutria sachalinensis*)

4.9.1 Areál rozšíření

Domovinou křídlatky sachalinské je ostrov Sachalin, především pak jeho jižní část a severní Japonsko. V České republice se na většině míst vyskytuje spíše křídlatka japonská, což je dáno pozdějším počátkem invaze křídlatky sachalinské (Černý a kol., 1998).

4.9.2 Charakteristika

Převážná část charakteristických znaků je obdobná s předchozím druhem - křídlatkou japonskou. Lodyha křídlatky sachalinské však dosahuje vyšších rozměrů (až 4 metrů). Listy jsou tvarované do podlouhlého vejčitého tvaru, čepel je na vrcholu též zašpičatělá, avšak při bázi je srdčitá. Malé květy laty jsou zelenobílé. Nažka je světlejší, leskle tmavohnědě zbarvená (Černý a kol., 1998).

4.10 Křídlatka česká (*Reynoutria x bohemica*)

4.10.1 Areál rozšíření

Jak již bylo výše zmíněno v kapitole 4.6 Rozšíření v ČR, křídlatka česká byla poprvé popsána na území České republiky, a to v roce 1983. Tedy přesně sto let po prvním prokazatelném nálezů křídlatky japonské v Netolickém parku (Hošek, 2008). Byla nalezena v lokalitách okolo lázní Běloves u Náchoda v Královéhradeckém kraji (Hutla, 2004).

Areál jejího výskytu však není omezen pouze na naše území. Křídlatku českou je možné objevit po celé Evropě, v severní Americe i Asii. Převážně pak v místech, kde se vyskytují oba zmínění rodiče křídlatky japonská a křídlatka sachalinská. Jsou však již známé případy, kdy byla křídlatka česká dovezena do jiných lokalit jako okrasná rostlina, čímž se areál rozšíření opět lidským zaviněním zvětšuje (Kocián, 2007).

4.10.2 Charakteristika

Vzhled tohoto křížence křídlatky sachalinské a křídlatky japonské je dán kombinací obou druhů. Oddenky jsou vysoké dva až tři metry, zbarvením červeně skvrnitě. Čepel listů stejně jako u předchozích druhů vybílá do špičky, na bázi je list mělce srdčitý. Květy jsou též drobné bíle zbarvené (Kroutil, 2011).

5. Rajče jedlé (*Solanum lycopersicum* L.)

5.1 Původ

Rajče jedlé bylo známo původním obyvatelům amerického kontinentu již v předkolumbovské době, tedy před rokem 1492. Jeho původní domovina je oblast západní části jižní Ameriky. Konkrétně oblasti od jižní Kolumbie k severu Chile, od břehů Tichého oceánu po východní svahy And. Výskyt byl potvrzen i v nadmořských výškách kolem 3 400 metrů. Španělští dobyvatelé se s rostlinami seznámili v Mexiku koncem 15. století. Po jejím zkulturnění se stalo hlavní obživou indiánů. Do Evropy se dostalo společně s bramborami až v 16. století. Rostliny a semena dovezli cestovatelé nejprve do Itálie a Portugalska. Rostliny jsou mírně jedovaté a mají schopnost odpuzovat svým pachem komáry a mravence. Z tohoto důvodu byly v počátcích pěstovány jako okrasné keřičky a teprve následně se začaly využívat ke konzumu (Skorňakov a kol., 1988).

5.2 Charakteristika

Jedná se o oblíbené jednoleté nenáročnou rostlinu s velice chutnými plody. Pro člověka jsou plody zdrojem vitamínu C, E, A, velkého množství vlákniny, minerálů, draslíku, železa a karotenu. Rajčata podporují krevotvorbu, prospívají vlasům, nehtům a kůži, chrání srdce, mají antibakteriální účinky a posilují imunitu. Prokázáno bylo i velké množství antioxidantů, které organismus chrání před působením volných radikálů. Z uvedených důvodů se pěstování rajčat rozšířilo po celém světě. Kromě konzumace čerstvých plodů se úroda ze značné části zpracovává konzervací a na kečupy (Pötschke, 2008).

Bohužel jsou ale rostliny napadány chorobami a škůdci, kteří mohou výnosy buď výrazně omezit, nebo dokonce zcela zničit. Nejčastěji jsou napadány padlím, bronzovitostí, plísněmi či černí. Nadzemní část rostliny postihuje i bakteriální vadnutí či hnědá skvrnitost. Kořeny jsou poškozovány larvami drátovce (*Elatridae*) nebo háďátkem kořenovým (*Meloidogyne*). Právě o tomto škůdci pojednává následující práce, jejímž cílem bylo prokázat působení křídlatky na mortalitu háďátka (Bartoš a kol., 1968).

6. Materiál a metody

6.1 Pokus č. 1

Jako hostitelskou rostlinu pro háďátka *Meloidogyne hapla* vědci doporučují použití kořenové kultury rajčete (*Solanum lycopersicum*), cibule (*Allium cepa*) nebo pampelišky (*Taraxacum officinale*) (Zouhar a Douda, 2007). Pro první část pokusu vlivu *Reynoutria* spp. na mortalitu *Meloidogyne hapla* byla zvolena odrůda keříčkového rajčete typu Orbit. Jedná se o odrůdu středně pozdního typu s pevnými, oválnými plody a polovzpřímeným keřem. Vyznačuje se stálými, vysokými výnosy a to i v méně příznivých pěstebních podmínkách. Odrůda Orbit je poměrně odolná proti listovým chorobám. Ze zpracovatelského hlediska je vhodná pro konzervářské účely (Semo, 2007).

6. 1. 1 Příprava

Vaječné vaky *Meloidogyne hapla*, potřebné pro oba pokusy, byly získány z rostlin rajčat pěstovaných v samostatném skleníku katedry ochrany rostlin v areálu ČZU odděleně od ostatních pokusných exemplářů.

Pro menší potřebu biologického materiálu je preferován odběr vaječných vaků manuálně pod mikroskopem. Metoda manuálního odběru byla použita při realizaci pokusu předkládané práce (Zouhar a Douda, 2007).

Rostliny rajčete byly vyjmuty z kontejnerů s celým kořenovým systémem a opatrně omyty vlažnou vodou. Kořeny extrahovaných rostlin byly následně ponořeny po dobu jedné hodiny do roztoku Eosinu⁸ v poměru 1:20. Po uplynutí nezbytné doby byly pod binokulárním mikroskopem preparačními jehlami získány vaječné vaky háďátek z obarvených kořenů. Získané vaky byly přemístěny do fyziologického roztoku⁹ a tak byly připraveny pro další fázi pokusu. Do jedné mikroskopavky typu eppendorf bylo vloženo vždy 50 vaků.

K pokusu byly používány sušené listy křídlatky japonské, sachalinské i české v poměru 1:1:1. Sušení proběhlo za podmínek, které znemožnily kontaminaci s jakoukoliv

⁸ Eosin - fluorescentní červené barvivo.

⁹ Fyziologický roztok - 0,9% vodný roztok chloridu sodného.

chorobou či škůdcem. Suché listy byly rozdrceny na jemný prach a připraveny k dalšímu použití.

Další podmínkou pro vytvoření první části pokusu bylo vypěstování potřebných alespoň 147 životaschopných rostlin rajčete.

6. 1. 2 Postup pokusu

Výsev

Kontejner pro výsev rostlin rajčete jedlého byl desinfikován. Vlastní výsev následně proběhl zcela standardním způsobem. Osetá plocha byla umístěna na parapety do vytápěného skleníku. Pokus probíhal ve druhé polovině prosince roku 2011. Pro zlepšení růstových podmínek byly klíčící rostlinky přisvětlovány zářivkou s UVB zářením po dobu čtrnácti hodin denně. Zálivka byla prováděna vlažnou vodou, bez přídavku jakýchkoliv příměsí či hnojiva.

Zdravé rostliny získané z výsevu byly ve stádiu minimálně 2 pravých lístků opatrně extrahovány ze země. Poté byly přesazeny do předem pečlivě vydesinfikovaných květináčů o obsahu 300 ml. Desinfekce probíhala v roztoku desinfekčního prostředku Savo a vody, v poměru jeden díl Sava na devět dílů vody. Květináče byly poté pečlivě opláchnuty a osušeny. Každá sada pokusu obsahovala 21 osázených květináčů.

Založení pokusu

Do první sady květináčů se zeminou byly pomocí pipety přidány 3 - 4 vaječné vaky háďátka připraveného ve fyziologickém roztoku. Účelem tohoto testu bylo zjištění aktivity (vitality) inokulovaných háďat, proto bylo nutno striktně dodržet množství vložených jedinců, aby nedocházelo k nepřesnostem při závěrečném vyhodnocování.

Druhá série květináčů měla za úkol zhodnotit fytotoxicitu křídlatky. V tomto případě byla do 21 květináčů k substrátu přidána usušená a na jemný prášek rozemletá křídlatka v množství 1 gramu, další sada byla obohacena o 2,5 gramu a poslední pak obsahovala příměs 5 gramů sušené rostliny.

Poslední skupina měla prokázat vliv křídlatky na vývojovou schopnost háďátka a následný dopad na postiženou rostlinu. Ve všech květináčích byly shodně umístěny 3 - 4 vaječné vaky, odlišná byla gramáž přidávané křídlatky. Jednalo se jako v předchozí části pokusu o množství 1, 2,5 a 5 gramů. Počet osázených nádob byl opět standardní – 21 kusů.

Rostliny byly kultivovány po dobu dvou měsíců ve stále stejném skleníku, ve kterém byla dodržována konstantní teplota a vlhkost vzduchu. K závlaze byla používána voda¹⁰ z městského vodovodního řadu bez jakéhokoliv přídatku živin, což mělo zaručit neměnné a obvyklé podmínky a tím nezkrácený vývoj rostlin.

Vyhodnocení pokusu

Po uplynutí dvou měsíců od inokulace výzkum pokračoval. Všechny rostliny byly opatrně vyjmuty z květináčů, vlažnou vodou byl vymyt substrát z kořenového balu, nadzemní část rostliny byla ve výši 4 cm nad zemí odštížena a následně byly zváženy obě oddělené části.

Kořenový bal byl vložen do nálevu, který byl připraven z desinfekčního přípravku Savo a destilované vody v poměru 1:9. V tomto roztoku se louhoval po dobu 12 minut. Pokud by měly být pozorovány mladší rostliny, stačilo by louhování pětiminutové. Po extrakci bylo nutné preparát důkladně omýt tekoucí vodou, aby byla zajištěna dokonalá očista od desinfekčního roztoku. Kořeny byly proplachovány po vložení do cedníku, aby nedošlo k odtržení a následnému odplavení jakékoliv části kořenového systému. Nekvalitně provedená očista by byla příčinou nedokonalého následného obarvení vaječných vaků. Pro barvení byl používán Fuchsin¹¹ v koncentraci 20 kapek na 100 ml vody. Ten byl v baňce s kořeny o obsahu 250 ml na plotýnce obyčejného dvouplotýnkového vaříče uveden do varu a po 5 minutách odstaven.

Kořeny s roztokem se nechaly vychladnout, pak bylo možno s nimi dále pracovat. Pro další práci byla použita středně velká skleněná Petriho miska. Rozprostřené kořeny byly navlhčeny slabou vrstvou glycerolu¹² a poté bylo možno pomocí jemných preparačních jehel pod mikroskopem s binokulární lupou hledat zbarvená hádátka. Kořenové baly, které nebylo možno ihned zpracovat, byly dočasně přechovávány v připraveném nálevu se složením 10 ml Glycerolu a pět kapek kyseliny chlorovodíkové.

¹⁰ Přírodní chemické složení vody je vedle plynů a stopových prvků definováno především obsahem hlavních minerálních látek, mezi které patří zejména vápník, hořčík, sodík, draslík, chloridy, sírany a hydrogenuhličitany.

¹¹ Fuchsin - organické barvivo, v pevné podobě se jedná o krystaly zelené barvy, vodné roztoky jsou purpurově červené; sumární vzorec: $C_{20}H_{19}N_3 \cdot HCl$, systematický název: 4-[(4-Aminophenyl)-(4-imino-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)methyl]aniline hydrochloride.

¹² Glycerol - organická sloučenina, bezbarvá viskózní kapalina bez zápachu; sumární vzorec: $C_3H_8O_3$, systematický název: propan-1,2,3-triol.

6.2 Pokus č. 2

Pro vyhodnocení pokusu, který sledoval vliv difuzátu a methanolového extraktu na mortalitu háďátek, bylo nutno získat životaschopné larvy háďátek *Meloidogyne hapla*. Pro vylíhnutí byla potřeba Petriho miska naplněná vodou, ta přesahovala do poloviny velmi jemného sítko, uchyceného nad dnem misky pomocí plastových stojánek v takové výši, aby nedocházelo ke kontaktu. Do takto připraveného prostředí bylo umístěno 50 vaječných vaků. Petriho miska s připraveným sítkem byla ponechána v místnosti s běžnou pokojovou teplotou po dobu 24 hodin. Vylíhnuté larvy se bez problému přemístily na dno misky, vaječné vaky zůstaly jako odpad v sítku.

V další fázi byla použita odstředivka (centrifuga), s jejíž pomocí došlo k oddělení přebytečné tekutiny a usazení larev na dně zkumavky. Takto získané larvy se staly materiálem pro další části experimentu.

6. 2. 1 Postup pokusu s difuzáty

Difuzát byl již připraven v mražené podobě a byl opět získán z rostlin křídlatek, tentokrát se jednalo vždy o jednodruhový roztok získaný z odběru 7. května 2012. Celkem byly použity tři zkumavky označené jako O a tři označené jako L. Rozmrznutí proběhlo při běžné pokojové teplotě.

Pokus byl založen do speciálních krabiček s mělkými jamkami, v každé jamce bylo 500 mikrolitrů jednodruhového difuzátu, (*Reynoutria japonica* O, *Reynoutria Japonica* L, *Reynoutria sachalinensis* O, *Reynoutria sachalinensis* L, *Reynoutria x bohemica* O, *Reynoutria x bohemica* L). Celkem se jednalo vždy o tři opakování a jednu kontrolu, kdy byla použita pouze čistá vodovodní voda. Do roztoků bylo s použitím binokulární lupy napipetováno skleněnou špičkou¹³ přibližně 20 larev háďátka *Meloidogyne hapla*. Při pokojové teplotě byla nádobka ponechána bez další manipulace po dobu 24 hodin. Po této době byly spočítány nehybné larvy. Proces bylo opět nutno provádět při zvětšení binokulární lupou, další početní kontrola proběhla znovu za 24 hodin. Nepohyblivé larvy se přepipetovaly skleněnou špičkou do vlažné vody a po šedesáti minutách proběhla kontrola hybnosti. Imobilizované larvy se po hodině začaly pohybovat, nepohyblivé byly mrtvé.

¹³ Použití jiného materiálu (plastových špiček) není vhodné z důvodu zvýšené přilnavosti larev na tuto látku.

6. 2. 2 Postup pokusu s methanolvým extraktem

Methanolvý extrakt vznikl ze směsi 3,5 g rozemletých listů křídlatky japonské, sachalinské a české v poměru 1:1:1 a 30 ml methanolu¹⁴. Po opatrném promíchání byla uzavřená zkumavka umístěna do třepačky a tam ponechána přibližně 24 hodin. Následně byla směs vložena do centrifugy a odstředěna při přetížení 2700 g po dobu deseti minut, odstředěné rostlinné drtě se usadily na dně nádoby, roztok byl přelit do nové uzavíratelné baňky a proces se opakoval při přetížení 10 000 g tentokrát pouze 5 minut. Výsledkem byl získ tmavozeleného roztoku zbaveného všech nečistot a nežádoucích příměsí.

Pokus za použití methanolového extraktu křídlatky naředěného vodou probíhal obdobným způsobem jako předchozí pokus s difuzáty. Vzorků bylo v tomto případě šestnáct, čtyři různé koncentrace o třech opakováních a jedné kontrole. První skupina byla v koncentraci 500 ppm, druhá 2000 ppm, třetí 4000 ppm a čtvrtá 7000 ppm. Kontrolní vzorek vznikl spojením vody a methanolu v příslušných koncentracích. Množství hád'átek bylo totožné s počtem použitým v pokusech s difuzáty, tedy přibližně dvacet jedinců. Následné početní kontroly byly zcela totožné s předchozím pokusem nejen z hlediska časového, nýbrž i postupového.

¹⁴ Methanol - bezbarvá, alkoholicky páchnoucí kapalina, neomezeně mísitelná s vodou. Je těkavá, hořlavá a silně jedovatá, sumární vzorec: CH₃OH.

7. Výsledky

Získané výsledky provedených experimentů byly uloženy do softwaru Microsoft Office Excel 2007¹⁵. V MS Excel byly hodnoty rozděleny do tabulek dle příslušných částí experimentů.

7.1 Výsledky pokusu č. 1

V první sérii pokusu bylo použito celkem 21 vzorků - vždy se jednalo o 1 rostlinu v květináčku s příměsí 1 gramu rozemleté křídlatky a 3 - 4 napipetovaných vaječných vaků háďátek. Z tabulky je evidentní, že počet nalezených jedinců nemá souvislost s hmotností nadzemní části a kořenů. Celkově je zřejmé, že u 14,29 % byl počet škůdců mírně zvýšený a u 23,81 % bylo množství háďátek výrazně vyšší.

ČÍSLO	VÁHA NADZEMNÍ ČÁSTI (g)	VÁHA KOŘENŮ (g)	POČET (ks)
1 g 1	19,030	7,995	2
1 g 2	17,965	9,165	0
1 g 3	22,780	11,390	44
1 g 4	23,440	9,440	3
1 g 5	25,410	9,280	0
1 g 6	18,350	9,440	2
1 g 7	23,305	8,760	2
1 g 8	21,320	5,285	0
1 g 9	14,260	5,630	16
1 g 10	22,230	6,150	0
1 g 11	19,320	8,850	0
1 g 12	19,950	11,315	16
1 g 13	25,230	5,890	6
1 g 14	22,475	7,850	3
1 g 15	21,505	8,375	2
1 g 16	22,730	12,185	3
1 g 17	13,245	18,300	58
1 g 18	29,800	13,290	13
1 g 19	18,445	13,540	65

¹⁵ Tabulkový procesor MS Excel 2007 je součástí kancelářského balíku od firmy Microsoft.

1 g 20	14,220	9,710	47
1 g 21	17,265	13,415	38

Tab. č. 1 - Počet háďátek u rostlin s přidavkem 1 g rozemletých křídlatek (autor)

Výchozí počet testovaných rostlin u druhé série je stejný jako u předchozího pokusu, stejně tak množství vaječných vaků. Navýšení množství přidané sušené křídlatky nesnížilo výskyt škůdce, naopak proti předchozímu pokusu se jejich počet výrazně zvýšil. Pouze u tří rostlin (4,76 %) bylo nalezeno jediné háďátko, nulový výsledek tentokrát nebyl ani v jednom případě.

ČÍSLO	VÁHA NADZEMNÍ ČÁSTI (g)	VÁHA KOŘENŮ (g)	POČET (ks)
2,5 g 1	16,395	9,840	18
2,5 g 2	15,045	11,555	14
2,5 g 3	23,685	20,005	36
2,5 g 4	14,080	5,475	43
2,5 g 5	20,820	5,850	170
2,5 g 6	14,905	3,560	1
2,5 g 7	19,430	9,925	86
2,5 g 8	21,795	7,990	59
2,5 g 9	13,400	5,265	25
2,5 g 10	20,630	15,565	28
2,5 g 11	7,220	1,580	19
2,5 g 12	15,090	4,800	1
2,5 g 13	16,150	8,180	54
2,5 g 14	13,020	6,180	51
2,5 g 15	26,215	7,220	1
2,5 g 16	23,765	13,990	112
2,5 g 17	22,540	13,890	63
2,5 g 18	8,200	3,980	22
2,5 g 19	7,975	2,650	31
2,5 g 20	19,500	9,135	83
2,5 g 21	16,925	6,410	121

Tab. č. 2 - Počet háďátek u rostlin s přidavkem 2,5 g rozemletých křídlatek (autor)

Další váhové navýšení křídlatky na 5 gramů (třetí série pokusu) vedlo k lepším růstovým podmínkám testovaných rajčat. Hmotnost kořenového systému i nadzemní části rostlin se navýšila, avšak opět výrazně stoupl počet nalezených háďátek. Jejich celkový počet dosáhl 1.581 jedinců, což je o 543 více než při použití polovičního množství křídlatky.

ČÍSLO	VÁHA NADZEMNÍ ČÁSTI (g)	VÁHA KOŘENŮ (g)	POČET (ks)
5 g 1	23,980	13,400	45
5 g 2	29,780	13,170	98
5 g 3	25,600	5,615	52
5 g 4	24,810	11,590	31
5 g 5	38,040	20,285	42
5 g 6	31,465	15,165	96
5 g 7	33,855	10,440	96
5 g 8	31,645	19,135	60
5 g 9	25,850	13,020	114
5 g 10	31,450	13,050	91
5 g 11	19,245	7,700	43
5 g 12	14,850	2,600	75
5 g 13	22,475	10,545	80
5 g 14	22,990	10,660	228
5 g 15	28,570	17,170	52
5 g 16	36,000	12,760	24
5 g 17	20,160	10,680	66
5 g 18	22,225	10,070	55
5 g 19	20,865	10,705	131
5 g 20	18,695	5,640	75
5 g 21	29,380	17,505	27

Tab. č. 3 - Počet háďátek u rostlin s přídatkem 5 g rozemletých křídlatek (autor)

Výsledky pokusu pro zjištění fytoxicity křídlatky

Z hodnot uvedených v tabulce je patrné, že přídatkem křídlatky do substrátu nemá negativní vliv na růst rostliny.

ČÍSLO	VÁHA NADZEMNÍ ČÁSTI (g)	VÁHA KOŘENŮ (g)
1 g K-1	16,655	7,570
1 g K-2	23,800	7,025
1 g K-3	20,550	7,525
1 g K-4	16,460	6,235
1 g K-5	20,105	8,350
1 g K-6	19,855	4,840
1 g K-7	18,660	7,770
1 g K-8	21,775	7,950
1 g K-9	16,300	5,150

1 g K-10	23,460	8,505
1 g K-11	18,450	8,110
1 g K-12	17,275	7,715
1 g K-13	20,945	6,030
1 g K-14	18,845	2,865
1 g K-15	19,200	5,500
1 g K-16	20,660	9,150
1 g K-17	19,565	2,920
1 g K-18	18,760	7,800
1 g K-19	21,400	9,500
1 g K-20	20,440	11,580
1 g K-21	13,760	3,405

Tab. č. 4 - Váha rostlin s přidavkem 1 g rozemletých křídlatek (autor)

Další navýšení hmotnosti přidávané křídlatky zlepšilo kvalitu substrátu, což vedlo k lepším růstovým schopnostem podzemní i nadzemní části testovaných rajčat.

ČÍSLO	VÁHA NADZEMNÍ ČÁSTI (g)	VÁHA KOŘENŮ (g)
2,5 g K-1	22,080	9,000
2,5 g K-2	23,785	10,440
2,5 g K-3	24,435	9,360
2,5 g K-4	21,410	9,640
2,5 g K-5	15,560	5,660
2,5 g K-6	23,335	8,920
2,5 g K-7	18,715	5,280
2,5 g K-8	20,010	5,540
2,5 g K-9	22,365	9,435
2,5 g K-10	26,575	8,020
2,5 g K-11	24,510	5,295
2,5 g K-12	14,510	5,960
2,5 g K-13	32,530	12,330
2,5 g K-14	18,570	5,730
2,5 g K-15	19,760	7,700
2,5 g K-16	15,170	5,405
2,5 g K-17	27,415	8,790
2,5 g K-18	14,835	3,655
2,5 g K-19	24,045	10,335
2,5 g K-20	27,270	8,235
2,5 g K-21	27,870	11,290

Tab. č. 5 - Váha rostlin s přidavkem 2,5 g rozemletých křídlatek (autor)

Přídavek pěti gramů sušené křídlatky viditelně zlepšil celkový zdravotní stav rostlin. Vzorek č. 3 nebylo možno vyhodnotit, protože během pokusu došlo k odcizení rostliny.

ČÍSLO	VÁHA NADZEMNÍ ČÁSTI (g)	VÁHA KOŘENŮ (g)
5 g K-1	33,780	9,150
5 g K-2	25,060	8,475
5 g K-3	-	-
5 g K-4	29,085	9,040
5 g K-5	27,450	9,910
5 g K-6	37,400	14,540
5 g K-7	18,135	7,065
5 g K-8	27,330	11,635
5 g K-9	22,610	9,620
5 g K-10	22,690	9,445
5 g K-11	30,685	11,420
5 g K-12	34,340	9,710
5 g K-13	18,350	6,780
5 g K-14	24,170	8,115
5 g K-15	29,765	11,995
5 g K-16	26,245	6,895
5 g K-17	21,460	7,375
5 g K-18	39,225	9,655
5 g K-19	17,400	7,060
5 g K-20	31,945	10,710
5 g K-21	19,465	7,915

Tab. č. 6 - Váha rostlin s přídavkem 5 g rozemletých křídlatek (autor)

Výsledky pokusu pro zjištění životaschopnosti háďátek

Do substrátu k rostlině byly opět přidány vaječné vaky v množství 3 - 4 kusy. Žádná další substance nebyla přidávána, účelem bylo zjištění vitality háďátek. Výsledek zcela zřetelně potvrdil jejich aktivitu, nalezené množství bylo podobné jako hodnoty v tabulce č. 3. U vzorku číslo 13 byla provedena kontrola tvorby hálek v kořenové části rostliny, která proběhla před ukončením pokusu, z tohoto důvodu nebyl vzorek vyhodnocen.

ČÍSLO	VÁHA NADZEMNÍ ČÁSTI (g)	VÁHA KOŘENŮ (g)	POČET (ks)
K+1	28,830	6,600	17
K+2	19,680	10,510	57
K+3	19,520	8,085	51

K+4	17,295	9,760	86
K+5	32,940	7,800	28
K+6	26,960	12,325	70
K+7	17,400	5,410	55
K+8	14,980	0,000	46
K+9	19,400	8,615	32
K+10	17,390	4,340	68
K+11	16,410	5,585	76
K+12	23,710	8,305	116
K+13	-	-	-
K+14	28,460	11,790	145
K+15	16,650	6,745	63
K+16	20,810	4,385	103
K+17	23,430	7,845	172
K+18	19,065	8,510	51
K+19	18,020	8,000	92
K+20	19,900	8,795	147
K+21	12,625	5,055	111

Tab. č. 7 - Kontrola životaschopnosti inokulovaných háďátek (autor)

Tabulka průměrných hodnot prokazuje, že nejlepších výsledků bylo dosaženo po přidání 1 gramu mleté křídlatky. Množství 2,5 gramu na rostlinu navýšilo počet háďátek na více než trojnásobek a 5 gramů dokonce na pětinasobek.

	VÁHA NADZEMNÍ ČÁSTI (g)	VÁHA KOŘENŮ (g)	POČET HÁĐÁTEK (ks)
1 g křídlatky + háďátka	20,585	9,774	15,238
2,5 g křídlatky + háďátka	16,990	8,240	49,429
5 g křídlatky + háďátka	26,282	11,948	75,286
1 g křídlatky	19,377	6,928	-
2,5 g křídlatky	22,131	7,906	-
5 g křídlatky	26,8295	9,3255	-
Háďátka	20,67375	7,423	79,3

Tab. č. 8 - Průměrné hodnoty výsledků pokusu č. 1 (autor)

7. 1. 1 Statistické zhodnocení počtu nalezených háďátek

Hodnoty všech provedených experimentů byly dále zpracovány softwarem STATISTICA Cz 10 od firmy StatSoft, Inc. Hodnoty pro účely analýzy rozptylu byly rozděleny dle příslušných částí pokusů.

Test homoskedasticity (homogenitu rozptylů):

Proměnná	Leveneův test homogenity rozptylů (hodnoty) Označ. efekty jsou význ. na hlad. $p < ,05000$							
	SČ efekt	SV efekt	PČ efekt	SČ chyba	SV chyba	PČ chyba	F	p
Prom6	4143,539	3	1381,180	49368,85	79	624,9221	2,210163	0,093415

Tab. č. 9 - Leveneův test homogenity rozptylů u počtu háďátek (autor)

V tabulce s výsledky Leveneova testu byla porovnána výsledná p-hodnota s p-hodnotou na hladině signifikance 5%. Nulová hypotéza (H_0) byla stanovena: heteroskedasticita rozptylů není průkazná, tj. výběry jsou nezávislé a pocházejí z normálních rozdělení, která vykazují homoskedasticitu (Statistica, n. d.).

Výsledná p-hodnota Leveneova testu = 0,93415 > 0,05, H_0 nezamítáme.

Analýza rozptylu:

Proměnná	Analýza rozptylu (hodnoty) Označ. efekty jsou význ. na hlad. $p < ,05000$							
	SČ efekt	SV efekt	PČ efekt	SČ chyba	SV chyba	PČ chyba	F	p
Prom6	54285,28	3	18095,09	123001,4	79	1556,980	11,62192	0,000002

Tab. č. 10 - Analýza rozptylu u počtu háďátek (autor)

H_0 : shoda středních hodnot (Statistica, n. d.)

Výsledná p-hodnota analýzy rozptylu je nižší než p-hodnota na hladině signifikance 5%, H_0 zamítáme. Střední hodnoty jsou statisticky rozdílné.

Testy mnohonásobného porovnání:

Pro testování mnohonásobného porovnání byl použit Tukeyův HSD test a LSD test. Vzhledem k liberálnějšímu přístupu LSD testu k zamítnutí nulové hypotézy, byl pro interpretaci všech dalších výsledků i tohoto výsledku zvolen přísnější Tukeyův HSD test.

Prom5	LSD test; proměnná: Prom6 (hodnoty) Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	1	2	3	4
	M=15,238	M=49,429	M=75,286	M=79,300
1g_pocet 1		0,006283	0,000004	0,000002
2,5g_pocet 2	0,006283		0,036849	0,017682
5g_pocet 3	0,000004	0,036849		0,745579
0g_pocet 4	0,000002	0,017682	0,745579	

Tab. č. 11 - LSD test u počtu háďátek (autor)

Prom5	Tukeyův HSD test; proměn.:Prom6 (hodnoty) Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	1	2	3	4
	M=15,238	M=49,429	M=75,286	M=79,300
1g_pocet 1		0,031385	0,000168	0,000154
2,5g_pocet 2	0,031385		0,154731	0,081077
5g_pocet 3	0,000168	0,154731		0,988057
0g_pocet 4	0,000154	0,081077	0,988057	

Tab. č. 12 - Tukeyův HSD test u počtu háďátek (autor)

Průměrný počet nalezených háďátek v neošetřených rostlinách je statisticky shodný s průměrným počtem nalezených háďátek v rostlinách ošetřených 5 gramy křídlatky z 98,81 % a z 8,11 % s průměrným počtem nalezených háďátek v rostlinách ošetřených 2,5 gramy křídlatky.

Statisticky významný rozdíl vykazuje porovnání průměrného počtu háďátek na kořenech rostlin rajčete, ke kterému byl přidán 1 gram sušené křídlatky. Zde je shoda pouze z 0,02%. Z výsledků jasně vyplývá, že největší efekt na mortalitu háďátka *Meloidogyne hapla* vykazuje přídavek 1 g křídlatky. Naopak na 5 gramovém přídavku nebyla pozorována téměř žádná změna.

7. 1. 2 Statistické zhodnocení hmotnosti nadzemní části rostliny rajčete

Test homoskedasticity a analýzy rozptylu, které předcházejí testu mnohonásobného porovnání, jsou k dispozici v samostatných přílohách na konci předkládané bakalářské práce.

Výsledná p-hodnota Leveneova testu = 0,226210 > 0,05, H_0 nezamítáme, výsledná p-hodnota analýzy rozptylu = 0,000003 < 0,05, H_0 zamítáme. Střední hodnoty jsou statisticky rozdílné.

Prom1	Tukeyův HSD test; proměn.:Prom2 (hodnoty) Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	1 M=20,585	2 M=16,990	3 M=26,282	4 M=20,674
1g_nadzemni 1		0,126001	0,003992	0,999949
2,5g_nadzemni 2	0,126001		0,000148	0,118929
5g_nadzemni 3	0,003992	0,000148		0,005379
0g_nadzemni 4	0,999949	0,118929	0,005379	

Tab. č. 13 - Tukeyův HSD test u hmotnosti nadzemní části (autor)

Průměrná hmotnost nadzemní části kontrolních rostlin je statisticky shodná s průměrnou hmotností rostlin ošetřených 1 gramem křídlatky (z 99,99 %) a s přidavkem 2,5 gramů křídlatky (z 11,89 %). Největší gramáže dosahuje nadzemní biomasa rostliny rajčete s 5 gramy rozemleté směsi sušených křídlatek, která vykazuje statisticky významný rozdíl v porovnání s kontrolními rostlinami, shoda je zde pouze z 0,54 %.

7. 1. 3 Statistické zhodnocení hmotnosti kořenové části rostliny rajčete

Výsledná p-hodnota Leveneova testu = 0,141548 > 0,05, H_0 nezamítáme, Výsledná p-hodnota analýzy rozptylu = 0,001789 < 0,05, H_0 zamítáme. Střední hodnoty jsou statisticky rozdílné.

Prom3	Tukeyův HSD test; proměn.:Prom4 (hodnoty) Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	1 M=9,7740	2 M=8,2402	3 M=11,948	4 M=7,4230
1g_koren 1		0,574516	0,270529	0,217131
2,5g_koren 2	0,574516		0,013731	0,905652
5g_koren 3	0,270529	0,013731		0,001985
0g_koren 4	0,217131	0,905652	0,001985	

Tab. č. 14 - Tukeyův HSD test u hmotnosti kořenové části (autor)

Průměrná hmotnost kořenové části kontrolních rostlin je statisticky shodná s průměrnou hmotností kořenů rostlin s přidavkem 1 gramu křídlatky z 21,71 % a s kořeny rostlin obohacených o 2,5 gramů směsi sušených křídlatek z 90,56 %.

Hmotnost kořenového systému rostlin rajčete ošetřených 5 gramy opět vykazovala nejvyšších hodnot. V porovnání s kontrolními rostlinami je statisticky významný rozdíl, shoda je zde pouze z 0,20 %.

7. 2 Výsledky pokusu č. 2

7. 2. 1 Pokus s difuzáty

Pro založení pokusu bylo nutno znát přesné počty háďátek umístěných do jednotlivých jamek. Použit byl difuzát s příměsí vždy jednoho druhu křídlatky, kontrolní řada byla pouze s vodou.

	RJ_L	RS_L	RB_L	RJ_O	RS_O	RB_O
	Počet napipetovaných larev háďátek (ks)					
1.	17	20	19	24	25	19
2.	17	26	21	22	25	20
3.	22	25	17	19	22	20
K	22	22	22	22	19	23

Tab. č. 15 - Difuzáty - počet napipetovaných larev háďátek (autor)

Vývoj pokusu po 24 hodinách. Je sledován počet nehybných jedinců v jednotlivých jamkách.

	RJ_L	RS_L	RB_L	RJ_O	RS_O	RB_O
	Počet nehybných larev háďátek (ks)					
1.	10	16	16	14	15	13
2.	10	23	10	13	19	12
3.	14	13	12	11	20	14
K	8	11	10	12	5	9

Tab. č. 16 - Difuzáty - početní kontrola po 24 hodinách (autor)

Přehled po dalších 24 hodinách, expozice probíhá při normální pokojové teplotě. Pouze ve třech případech zůstal počet stejný, u všech ostatních pozorování se počet nehybných jedinců zvýšil.

	RJ_L	RS_L	RB_L	RJ_O	RS_O	RB_O
	Počet nehybných larev háďátek (ks)					
1.	11	17	18	18	19	15
2.	10	24	13	15	23	16
3.	17	17	15	14	20	18
K	9	13	10	14	7	10

Tab. č. 17 - Difuzáty - početní kontrola po 48 hodinách (autor)

Vyčíslení závěrečné fáze pokusu. Procentuelní počet mrtvých larev háďátek po hodinové expozici v čisté vodě byly nejnižší u kontrolních testů (průměrně 48,46 %). Nejlepších výsledků dosáhly difuzáty křídlatky sachalinské a to v obou verzích. Na úmrtnost larev háďátek *Meloidogyne hapla* nejméně zafungovaly difuzáty křídlatky japonské, ve variantě L byla průměrná mortalita pouze 55,36 %.

	RJ_L	RS_L	RB_L	RJ_O	RS_O	RB_O
	Počet mrtvých larev háďátek (ks)					
1.	8	16	15	16	18	13
2.	9	22	11	15	20	12
3.	14	15	12	12	17	14
K	9	13	10	14	7	10

Tab. č. 18 - Difuzáty - kontrola hybnosti po 1 hodině ve vodě (autor)

7. 2. 2 Pokus s methanolvým extraktem

Do methanolového extraktu naředěného vodou o různé koncentraci byly umístěny uvedené počty háďátek. Pro kontrolní test byl použit vodný roztok s příměsí methanolu opět v příslušné koncentraci.

	500ppm	2000ppm	4000ppm	7000ppm
	Počet napipetovaných larev háďátek (ks)			
1.	25	21	24	22
2.	24	25	21	22
3.	25	19	23	26
K	24	20	19	20

Tab. č. 19 - Methanolvý extrakt - počet napipetovaných larev háďátek (autor)

Kontrolní odečet nehybných háďátek po 24 hodinách, pokus umístěn v místnosti s běžnou pokojovou teplotou.

	500ppm	2000ppm	4000ppm	7000ppm
	Počet nehybných larev háďátek (ks)			
1.	9	16	17	12
2.	10	11	14	16
3.	13	15	13	16
K	8	7	7	9

Tab. č. 20 - Methanolvý extrakt - početní kontrola po 24 hodinách (autor)

Další odečet po 48 hodinách od založení pokusu. Pouze jediný vzorek zaznamenal konstantní počet nehybných háďátek. U všech ostatních došlo ke zvýšení počtu.

	500ppm	2000ppm	4000ppm	7000ppm
	Počet nehybných larev háďátek (ks)			
1.	16	19	17	17
2.	18	17	19	17
3.	20	17	19	20
K	12	8	10	10

Tab. č. 21 - Methanolový extrakt - početní kontrola po 48 hodinách (autor)

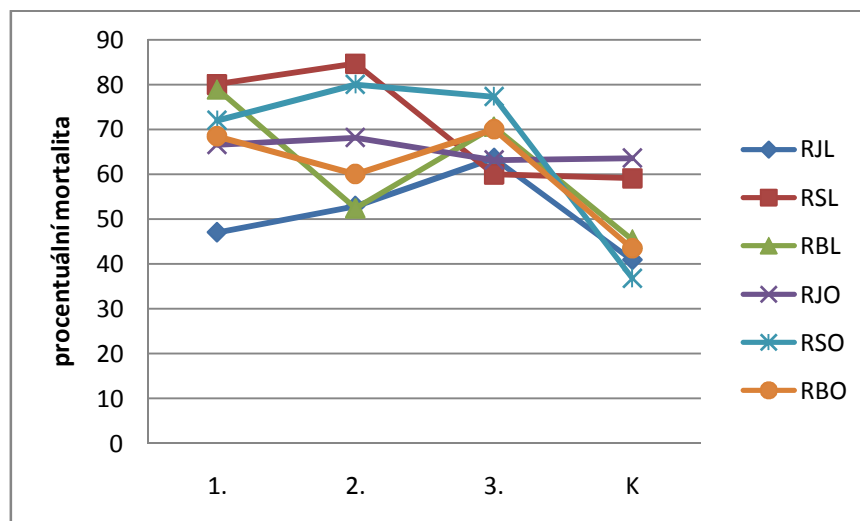
Z metanolového koncentrátu byla nehybná háďátka přepipetována do čisté vody a tam ponechána po dobu 1 hodiny. Po tomto čase byl vyčíslen počet mrtvých jedinců. V kontrolním vzorku zůstal nejvyšší počet životaschopných háďátek, v roztoku s koncentrací 500ppm byla mortalita nejnižší, v průměru pouze 59,46 %. Koncentrace 2000ppm vykazovala vliv na úmrtnost larev háďátek nejvyšší, průměrně 75,38 %.

	500ppm	2000ppm	4000ppm	7000ppm
	Počet mrtvých larev háďátek (ks)			
1.	14	16	17	15
2.	15	16	16	17
3.	15	17	18	18
K	12	8	10	10

Tab. č. 22 - Methanolový extrakt - kontrola hybnosti po 1 hodině ve vodě (autor)

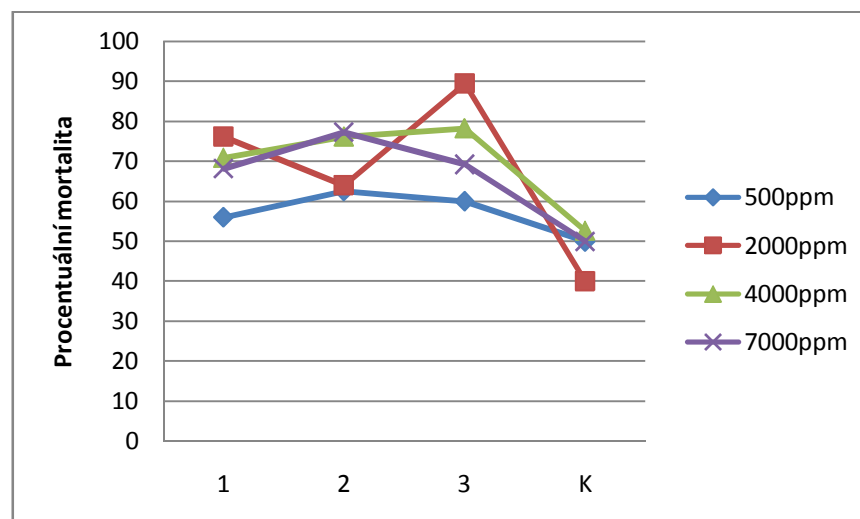
Vzhledem k nízkému počtu opakování není možné u obou částí 2. pokusu provést statistické vyhodnocení dat pomocí analýzy rozptylu.

Na grafech je však zřetelný pokles u kontrolních vzorků, kde byla mortalita nejnižší. Z porovnání výsledných údajů vyplývá, že průměrná mortalita byla nejvyšší u difuzátů křídlatky sachalinské, ve variantě s označením O byla vyšší oproti kontrolním vzorkům o 27,93 % a ve variantě L o 26,19 %. Nejnižší mortalitu vykazuje difuzát křídlatky japonské s označením L, efekt na populaci háďátek byl proti kontrole vyšší pouze o 6,9 %.



Graf č. 1 - Pokus s difuzáty: úmrtnost larev háďátek (autor)

Na grafu pokusu s methanolovým extraktem je stejně jako u předchozího grafu znatelný pokles u procentuální úmrtnosti larev háďátek v kontrolních vzorcích. Nejhorších výsledků dosahovala koncentrace 500 ppm, mortalita larev háďátka *M. hapla* byla průměrně pouze o 11,27% vyšší oproti kontrolním vzorkům. Což je však stále lepší požadovaný efekt než u difuzátu křídlatky japonské s označením L z předchozího pokusu. Nejlepší vliv na mortalitu háďátek měl methanolový extrakt o koncentraci 2000 ppm (o 27,19 % vyšší úmrtnost oproti kontrole).



Graf č. 2 - Pokus s methanolovým extraktem: úmrtnost larev háďátek (autor)

8. Diskuze

Záměrem předkládané bakalářské práce bylo testování, zda by křídlatka japonská, sachalinská a česká byly využitelné v ochraně rostlin proti výskytu háďátka na kulturních plodinách. Zkoumaná metoda by našla uplatnění zejména v ekologickém způsobu hospodaření. Výskyt křídlatek v České republice je poměrně hojný, řadí se mezi rostliny invazivní. Jejich pozitivní vlastnosti dosud nejsou téměř nikde uváděny.

Významný je fakt, že dosud neexistuje žádná vědecká studie, která by se ochranou rostlin proti háďátku *Meloidogyne hapla* s využitím extraktů a částí sušených rostlin křídlatek zabývala. Existuje však předpoklad, že by se díky zjištěným výsledkům postupy v ochraně rostlin a využití křídlatek mohly v budoucnu výrazně změnit. Vzhledem k absenci vědecké práce, která by toto konkrétní téma již řešila, není možné srovnání výsledků předkládané bakalářské práce s jakoukoliv dříve publikovanou prací.

Proběhla však řada studií, které zkoumaly vliv jiných antagonistů háďátek. Například nematofágních hub, vyznačujících se výskytem v půdách bohatých na humus. V roce 1969 proběhlo několik pokusů, které se zabývaly využitím nematofágních hub v kombinaci s různými druhy hnojení (chlévkou mrvou, zeleným hnojením a kompostem). Hnojením se v půdě dané nematofágní houby zaktivovaly. Při hnojení kompostem poklesla populace háďátek *Pratylenchus penetrans* o 20,1 %, při využití chlévské mrvy o 59,3 % a po pohnojení zeleným hnojením dokonce o 78,2 %.

Další experimenty se soustředily na nematocidní účinky rostlin rodu aksamitník. Záměrem bylo otestovat, zda rostliny redukují nebo alespoň zpomalují vývoj kořenových háďátek. Nejvýznamnější jsou druhy *Tagetes erecta*, *Tagetes patula* a *Tagetes minutus*. Na háďátka rodu *Meloidogyne* má největší vliv aksamitník rozkladitý, který dle studie z roku 1977 zredukoval počet háďátek *Meloidogyne incognita* o 97 %. Odborníci doporučují zařazení aksamitníku přímo do osevního postupu. Někteří autoři se však domnívají, že rostlina aksamitník je spíše lapací plodinou než že by přímo produkovala nematocidní látky (Vlk, 1985).

Řešení této problematiky je důležité nejen z důvodů dopadů na životní prostředí a ozdravení napadených porostů, ale také z ekonomického hlediska. Vychází-li se ze skutečnosti, že zdravé rostliny mají průměrný výnos 2 až 5 kg plodů z m² a celosvětově jsou hospodářské škody způsobené kořenovými háďátky odhadovány na 13 % (v extrémních případech dokonce mohou zcela zlikvidovat některé kultury), je zřejmé, že dojde k jeho

menšímu či většímu poklesu podle intenzity napadení a tudíž vzniku významných ekonomických ztrát.

V zájmu dosažení co nejpřesnějších výsledků v jednotlivých provedených experimentech předkládané bakalářské práce byly používány jednak sušené listy, dále pak i difuzáty a methanolový extrakt. Založeno bylo vždy dostatečně velké množství opakování pro lepší možnost srovnání.

V případě obohacení substrátu sušenou a umletou křídlatkou byla prokázána účinnost u nejnižší koncentrace, jednoho gramu. Statistické zhodnocení prokázalo statisticky významný rozdíl ve srovnání počtu háďátek na kořenech kontrolních rostlin a ošetřených 1 gramem směsi sušených křídlatek, statisticky shodné jsou pouze z 0,02 %. Statisticky shodný je průměrný počet nalezených háďátek v neošetřených rostlinách s průměrným počtem nalezených háďátek v rostlinách ošetřených 5 gramy křídlatky (z 98,81 %) a s průměrným počtem nalezených háďátek v rostlinách ošetřených 2,5 gramy křídlatky (z 8,11 %).

Populace háďátek poklesla při 1 gramovém přídávku o 80,78 % a při 2,5 gramovém přídávku o 37,67 %. Naopak na 5 gramovém přídávku nebyla pozorována téměř žádná změna. Populace poklesla pouze o 5,06 %. V porovnání s kontrolními rostlinami přídavek 5 gramů, ale výrazně vylepšil růstové podmínky rostliny rajčete jedlého. Z výsledků tedy jasně vyplývá, že největší efekt na mortalitu háďátka *Meloidogyne hapla* vykazuje přídavek 1 g křídlatky.

Další experimenty sledovaly vliv difuzátů, a methanolového extraktu na mortalitu háďátka *Meloidogyne hapla*. Pokus s difuzáty zjišťoval vliv konkrétních druhů křídlatek na úmrtnost larev. Z tohoto hlediska nejlépe účinkoval difuzát křídlatky sachalinské. Populace larev háďátka *M. hapla* poklesla oproti kontrolnímu vzorku o 27,93 % a v druhé variantě o 26,19 %. Nejhubře obstál difuzát křídlatky japonské, oproti kontrole vykazoval pouze o 6,9 % vyšší úmrtnost. Při použití methanolového extraktu o koncentraci 500 ppm poklesla populace háďátek nejméně (pouze o 11,27%). Nejlepších výsledků dosáhla koncentrace 2000 ppm, u které poklesla populace *M. hapla* oproti kontrolnímu vzorku o 27,19 %.

Z porovnání pokusů v této práci a experimentů jiných autorů výše zmíněných nelze jednoznačně říci, která metoda je nejučinnější. Využívání aksamitníků vykazuje vysoký vliv na mortalitu, avšak doporučení zařazení aksamitníku přímo do osevního postupu může mnohým zemědělcům způsobit ekonomické ztráty. Přípravek z rostlin křídlatek by bylo možné na pozemek poměrně nenáročně aplikovat přímo k rostlinám zařazeným v osevním postupu. Sled plodin by se tím tedy nijak nenarušil. Experimenty z roku 1969 prokázaly

vysokou účinnost nematofágních hub, zejména při zaorávce zeleného hnojení. Avšak k aktivaci nematofágních hub je potřeba hnojení statkovými hnojivy či alespoň zeleným hnojením. Tato metoda by z tohoto důvodu byla efektivnější na pozemcích, kde se hospodaří ekologicky či se organickým hnojením průběžně hnojí. Většina konvenčních zemědělců již organické hnojení nevyužívá v takové míře a spíše k hnojení používají průmyslová hnojiva.

Před využitím v praxi by však bylo nutné pokusy zopakovat na vzorovém pozemku, vzhledem k tomu, že testy prováděné v laboratorních podmínkách by mohly být bez dalšího bádání zavádějící.

9. Závěr

Práce se zabývala ekologickými možnostmi boje proti poškozování porostů hospodářsky významných plodin hád'átkem *Meloidogyne hapla*. Hlavním cílem předkládané bakalářské práce bylo otestování vlivu různých částí rostlin křídlatky na mortalitu fytoparazitického hád'átka *Meloidogyne hapla*. Cíl práce byl zvolen na základě předpokladu, že existuje funkční mechanismus omezující vznik kompatibilního vztahu mezi *Meloidogyne hapla* a hostitelskou rostlinou v přítomnosti *Reynoutria* spp. Jako modelová hostitelská rostlina bylo použito rajče jedlé *Solanum lycopersicum*.

Cílem studie bylo získat preparát na bázi přírodních látek. Možnosti, které nabízejí chemické přípravky, nejsou akceptovatelné z hlediska dopadů na životní prostředí či v oblasti ekologického hospodaření. Potvrzení úspěšnosti v případě využití rostlinných částí křídlatky je obzvlášť výhodné, protože by po použití mohlo dojít k ozdravení napadených porostů. Navíc by se mohla využít pozitivní nematocidní schopnost rostlin křídlatek, které jsou momentálně hodnoceny díky své vysoké rozmnožovací schopnosti spíše jako nežádoucí.

Testy prokázaly, že jen některé koncentrace použitých substancí jsou pro použití v praxi výhodné. Při použití sušených a následně rozemletých listů bylo evidentní, že nejmenší gramáž (1 gram k rostlině) je účinnější než použití 2,5 nebo 5 gramů. V případě přídavku jednoho gramu bylo na rostlině nalezeno průměrně 15,238 hád'átek, což značí 80,78% úmrtnost. Experiment s difuzáty všech tří křídlatek (křídlatky japonské, křídlatky sachalinské a křídlatky české) prokázal nejlepší účinnost křídlatky sachalinské na mortalitu larev hád'átek *Meloidogyne hapla*, průměrná úmrtnost byla 75,52 % (mortalita o 27,06 % vyšší než u kontroly). U methanového extraktu byla prokázána nejlepší účinnost u koncentrace 2000 ppm, průměrná mortalita nabyla hodnoty 76,55 %, což bylo o 27,19 % vyšší úmrtnost než u kontrolního vzorku.

Studie si zaslouží další výzkumnou činnost, tentokrát v podmínkách odpovídajících standardním podmínkám zemědělství, zpočátku nejlépe ve sklenících.

Vytyčený cíl a všechny dílčí cíle předkládané bakalářské práce byly shledány za splněné.

10. Zdroje

Knižní zdroje:

Bartoš, J., Brückner, F., Čača, Z., Danko, J., Dias, R., Dušek, J., Foltýn, J., Janýška, A., Kráľovič, J., Kříž, J., Miller, F., Novák, J., Nováková-Pfeiferová, J., Petrlík, Z., Rataj, K., Řezáč, M., Svítal, J., Štaif, J., Weiser, J., Zacha, V., Zemánek, J., Zvára, J. 1968. Ochrana rostlin. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 599 s. ISBN: 07-063-68.

Beek, J. G. 1997. Interaction between root-knot nematodes and *Solanum* spp. Variation in pathogenicity, cytology, proteins and DNA. Wageningen Agricultural University. Wageningen. 219 p. ISBN: 90-5485-728-5.

Černý, Z., Neruda, J., Václavík, F. 1998. Invazní rostliny a základní způsoby jejich likvidace. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství České republiky. Praha. 43 s. ISBN: 80-7105-164-0.

Douda, O., Zouhar, M. 2008. Alternativní ochrana zeleniny vůči fytoparazitickým háďátkům rodu *Ditylenchus* a *Meloidogyne*. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 25 s. ISBN: 978-80-7427-004-8.

Hallmann, J. 1994. Einfluß und Bedeutung endophytischer Pilze für die biologische Bekämpfung des Wurzelgellennematoden *Meloidogyne incognita* an Tomate. Inaugural-Dissertation. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität. Bonn. 119 s.

Hrušková, H. 2001. Studium biologie, rozšíření a ekologie křídlatky sp. [*Reynoutria* sp.] v České republice. Výzkumný ústav pícninářský. Troubsko. 30 s.

Hutla, P. 2004. Systémové využití energetické biomasy v podmínkách ČR. Výzkumný ústav zemědělské techniky. Praha. 74 s.

Janssen, G. J. W. 1997. Resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in potato. Wageningen Agricultural University. Haag. 111 p. ISBN: 90-5485-676-9.

Müller, J., Rumpfenhost, H. J. 2000. Die Prüfung von Pflanzen auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Schadorganismen in der biologischen Bundesanstalt. Parey. Berlin. 38 s. ISBN: 3-8263-3350-0.

Perry, N. R., Moens, M., Starr, L. J. 2010. Root-knot nematodes. CABI Publishing. Wallingford. 488 p. ISBN: 978-1-84593-492-7.

Pötschke, H. 2008. Gärtner Pötschkes Grosses Garten-buch. Pötschke Verlag GmbH&Co. Kaarst. 304 s. ISBN: 3-920-362-01-2.

Shurtleff, M. C., Averre Ch. W. 2000. Diagnosing plant diseases caused by nematodes. APS PRESS. Saint Paul. 187 p. ISBN: 0-89054-254-6.

Siddiqi, M. R. 2000. *Tylenchida*: Parasites of Plants and Insects. CABI Publishing. Wallingford. 833 p. ISBN: 0-85199-202-1.

Skorňakov, S. M., Jeník, J., Větvička, V. 1988. Zelená kuchyně. Lidové nakladatelství. Praha. 400 s. ISBN: 26-058-88.

Vlk, F. 1985. Ochrana rostlin: Nematologie obecná a speciální. Vysoká škola zemědělská. Praha. 157 s.

Zouhar, M., Douda, O. 2007. Axenizace fytoparazitických háďátek rodu *Ditylenchus* a *Meloidogyne* a jejich chov v in vitro podmínkách: (metodika pro praxi). Česká zemědělská univerzita. Praha. 31 s. ISBN: 978-80-213-1767-3.

Internetové zdroje:

Čermák, V., Gaar, V. Hálkotvorná háďátka [online]. Eagri. 2010 [cit. 2012-1-25]. Dostupné z <http://eagri.cz/public/web/file/94852/halkotvorna_hadatka.pdf>.

Drobník, J. Křídlatka – užitečná či zlá? [online]. gate2biotech. 31. května 2012 [cit. 2012-12-26]. Dostupné z <<http://www.gate2biotech.cz/kridlatka-uzitecna-ci-zla/>>.

Hošek, J. Udusí nás křídlatka? [online]. Česká televize. 9. ledna 2008 [cit. 2012-12-26]. Dostupné z <<http://www.ceskatelevize.cz/porady/10121359557-port/244-udusi-nas-kridlatka/video/>>.

Kocián, P. Křídlatka česká [online]. Květena ČR. 2007 [cit. 2012-1-2]. Dostupné z <<http://www.kvetenacr.cz/detail.asp?IDdetail=617>>.

Koubová, D. Biologický nematocid BioAct WG [online]. Agronavigator. 8. listopadu 2007 [cit. 2013-2-10]. Dostupné z <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=103&ch=1&typ=1&val=65328>>.

Kratochvíl, B. Křídlatka zarůstá celé Česko [online]. Lidovky. 22. července 2008 [cit. 2012-12-26]. Dostupné z <http://www.lidovky.cz/kridlatka-zarusta-cele-cesko-dii-/zpravy-domov.aspx?c=A080722_212135_ln_domov_svo>.

Kroutil, P. Křídlatky [online]. Eagri. 2011 [cit. 2012-12-30]. Dostupné z <http://eagri.cz/public/web/file/125248/Z111316_MZE_listovka_kridlatky_1AK.pdf>.

Mandák, B., Pyšek, P., Bímová, K. History of the invasion and distribution of *Reynoutria* taxa in the Czech Republic: a hybrid spreading faster than its parents [online]. Preslia. 2004 [cit. 2012-12-28]. Dostupné z <<http://www.preslia.cz/P041CMan.pdf>>.

Philipp Franz von Siebold [online]. Wikipedia. 11. ledna 2013 [cit. 2013-2-10]. Dostupné z <http://de.wikipedia.org/wiki/Philipp_Franz_von_Siebold>.

Rajče keříčkové [online]. Semo. 2007 [cit. 2013-3-20]. Dostupné z <<http://www.semo.cz/homegardencz/index.php?s=&druhoid=36&odrudaid=3142>>.

Statistica [online]. [cit. 2013-4-8]. Dostupné z <<http://kmi.ef.jcu.cz/vyuka/statistika/grant/7testvice2/statistica7.pdf>>.

11. Seznam tabulek

Tab. č. 1 - Počet háďátek u rostlin s přidavkem 1 g rozemletých křídlatek (autor).....	29
Tab. č. 2 - Počet háďátek u rostlin s přidavkem 2,5 g rozemletých křídlatek (autor).....	29
Tab. č. 3 - Počet háďátek u rostlin s přidavkem 5 g rozemletých křídlatek (autor).....	30
Tab. č. 4 - Váha rostlin s přidavkem 1 g rozemletých křídlatek (autor)	31
Tab. č. 5 - Váha rostlin s přidavkem 2,5 g rozemletých křídlatek (autor).....	31
Tab. č. 6 - Váha rostlin s přidavkem 5 g rozemletých křídlatek (autor)	32
Tab. č. 7 - Kontrola životaschopnosti inokulovaných háďátek (autor).....	33
Tab. č. 8 - Průměrné hodnoty výsledků pokusu č. 1 (autor).....	33
Tab. č. 9 - Leveneův test homogenity rozptylů u počtu háďátek (autor)	34
Tab. č. 10 - Analýza rozptylu u počtu háďátek (autor)	34
Tab. č. 11 - LSD test u počtu háďátek (autor)	35
Tab. č. 12 - Tukeyův HSD test u počtu háďátek (autor)	35
Tab. č. 13 - Tukeyův HSD test u hmotnosti nadzemní části (autor).....	36
Tab. č. 14 - Tukeyův HSD test u hmotnosti kořenové části (autor).....	36
Tab. č. 15 - Difuzáty - počet napipetovaných larev háďátek (autor)	37
Tab. č. 16 - Difuzáty - početní kontrola po 24 hodinách (autor)	37
Tab. č. 17 - Difuzáty - početní kontrola po 48 hodinách (autor)	37
Tab. č. 18 - Difuzáty - kontrola hybnosti po 1 hodině ve vodě (autor).....	38
Tab. č. 19 - Methanolový extrakt - počet napipetovaných larev háďátek (autor).....	38
Tab. č. 20 - Methanolový extrakt - početní kontrola po 24 hodinách (autor).....	38
Tab. č. 21 - Methanolový extrakt - početní kontrola po 48 hodinách (autor).....	39
Tab. č. 22 - Methanolový extrakt - kontrola hybnosti po 1 hodině ve vodě (autor)	39
Tab. č. 23 - Leveneův test homogenity rozptylů hmotnosti u nadzemní části (autor).....	53
Tab. č. 24 - Analýza rozptylu u hmotnosti nadzemní části (autor).....	53
Tab. č. 25 - LSD test u hmotnosti nadzemní části (autor).....	53
Tab. č. 26 - Leveneův test homogenity rozptylů u hmotnosti kořenové části (autor).....	54
Tab. č. 27 - Analýza rozptylu u hmotnosti kořenové části (autor).....	54
Tab. č. 28 - LSD test u hmotnosti kořenové části (autor).....	54

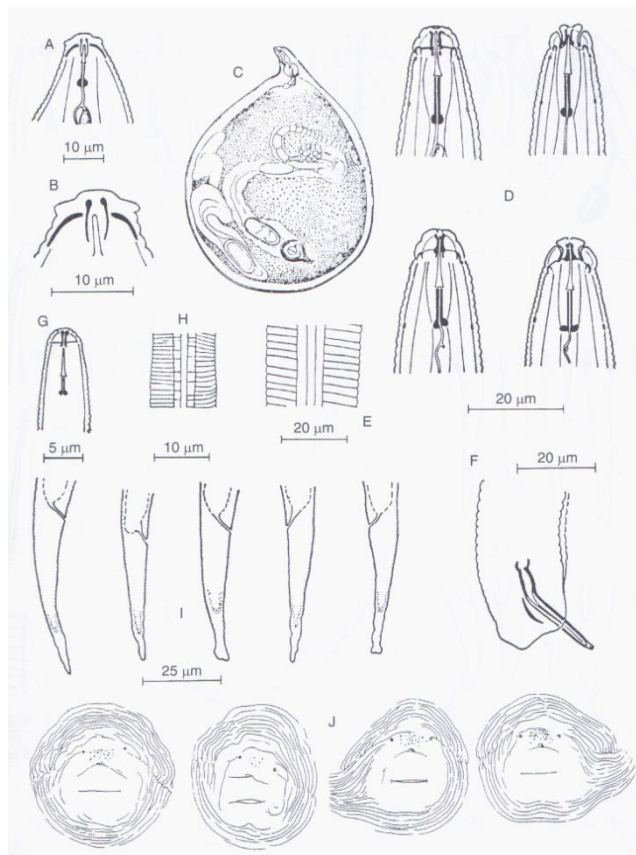
12. Seznam obrázků

Obr. č. 1 - Kresba háďátka <i>Meloidogyne hapla</i> (Perry et al., 2010).....	50
Obr. č. 2 - Vývojový cyklus háďátek rodu <i>Meloidogyne</i> (Perry et al., 2010).....	50
Obr. č. 3 - Založený pokus č. 1 ve skleníku (autor).....	51
Obr. č. 4 - Očista kořenu od desinfekčního přípravku (autor).....	51
Obr. č. 5 - Kořen naložený ve vodném roztoku Fuchsinu (autor).....	52
Obr. č. 6 - Kořen ve vodném roztoku Fuchsinu po převaření (autor).....	52
Obr. č. 7 - Kořen připravený k vyhodnocení (autor).....	53

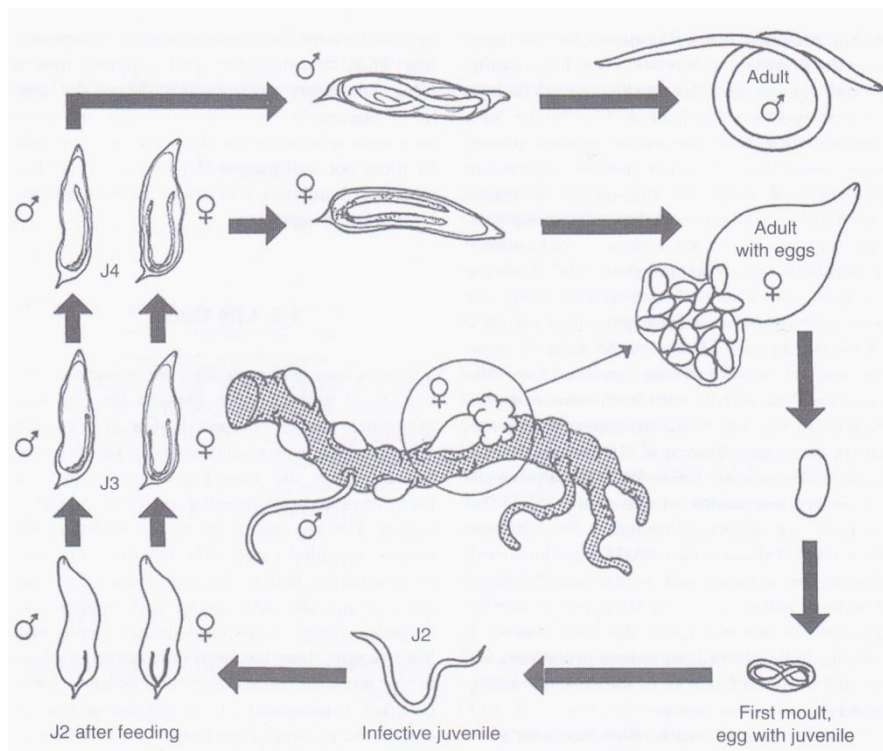
13. Seznam grafů

Graf č. 1 - Pokus s difuzáty: úmrtnost larev háďátek (autor).....	40
Graf č. 2 - Pokus s methanolvým extraktem: úmrtnost larev háďátek (autor).....	40

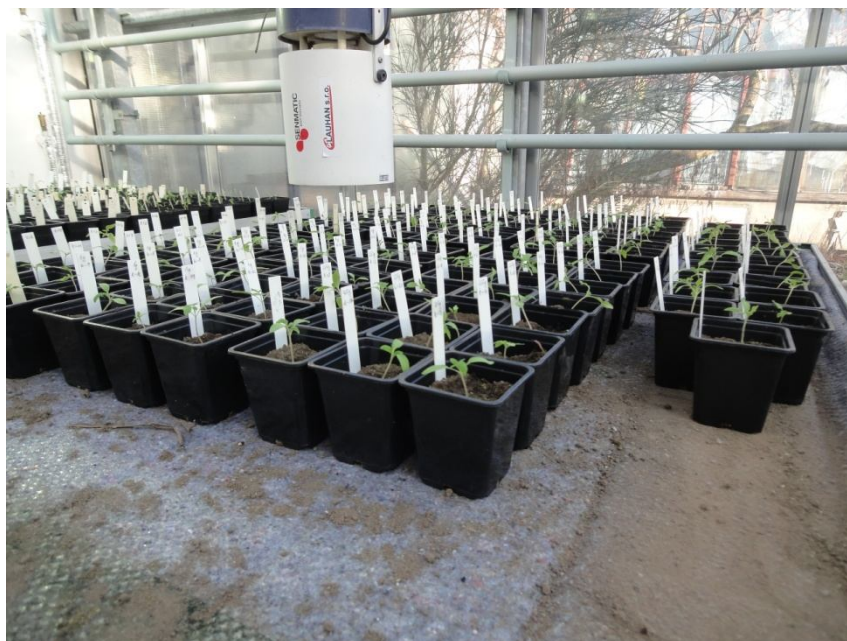
14. Přílohy



Obr. č. 1 - Kresba háďátka *Meloidogyne hapla* (Perry et al., 2010)



Obr. č. 2 - Vývojový cyklus háďátek rodu *Meloidogyne* (Perry et al., 2010)



Obr. č. 3 - Založený pokus č. 1 ve skleníku (autor)



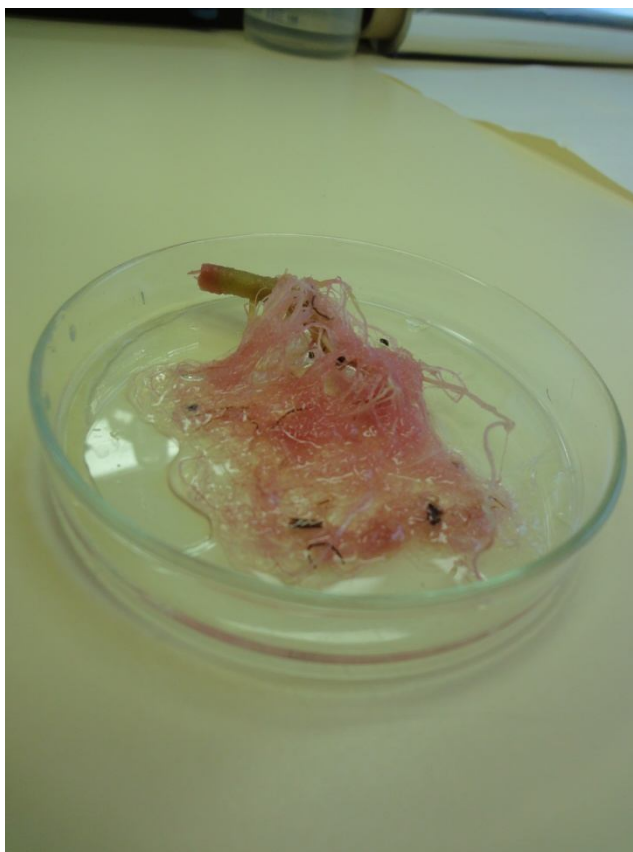
Obr. č. 4 - Očista kořenu od desinfekčního přípravku (autor)



Obr. č. 5 - Kořen naložený ve vodném roztoku Fuchsinu (autor)



Obr. č. 6 - Kořen ve vodném roztoku Fuchsinu po převaření (autor)



Obr. č. 7 - Kořen připravený k vyhodnocení (autor)

Proměnná	Leveneův test homogenity rozptylů (hodnoty) Označ. efekty jsou význ. na hlad. $p < ,05000$							
	SČ efekt	SV efekt	PČ efekt	SČ chyba	SV chyba	PČ chyba	F	p
Prom2	38,38546	3	12,79515	682,7112	79	8,641914	1,480593	0,226210

Tab. č. 23 - Leveneův test homogenity rozptylů hmotnosti u nadzemní části (autor)

Proměnná	Analýza rozptylu (hodnoty) Označ. efekty jsou význ. na hlad. $p < ,05000$							
	SČ efekt	SV efekt	PČ efekt	SČ chyba	SV chyba	PČ chyba	F	p
Prom2	927,8668	3	309,2889	2169,045	79	27,45626	11,26479	0,000003

Tab. č. 24 - Analýza rozptylu u hmotnosti nadzemní části (autor)

Prom1	LSD test; proměnná: Prom2 (hodnoty) Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	1 M=20,585	2 M=16,990	3 M=26,282	4 M=20,674
1g_nadzemni 1		0,029072	0,000711	0,956674
2,5g_nadzemni 2	0,029072		0,000000	0,027215
5g_nadzemni 3	0,000711	0,000000		0,000975
0g_nadzemni 4	0,956674	0,027215	0,000975	

Tab. č. 25 - LSD test u hmotnosti nadzemní části (autor)

Proměnná	Leveneův test homogenity rozptylů (hodnoty) Označ. efekty jsou význ. na hlad. $p < ,05000$							
	SČ efekt	SV efekt	PČ efekt	SČ chyba	SV chyba	PČ chyba	F	p
Prom4	32,62588	3	10,87529	459,5993	79	5,817713	1,869342	0,141548

Tab. č. 26 - Leveneův test homogenity rozptylů u hmotnosti kořenové části (autor)

Proměnná	Analýza rozptylu (hodnoty) Označ. efekty jsou význ. na hlad. $p < ,05000$							
	SČ efekt	SV efekt	PČ efekt	SČ chyba	SV chyba	PČ chyba	F	p
Prom4	245,6004	3	81,86680	1179,799	79	14,93416	5,481847	0,001789

Tab. č. 27 - Analýza rozptylu u hmotnosti kořenové části (autor)

Prom3	LSD test; proměnná: Prom4 (hodnoty) Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	1	2	3	4
	M=9,7740	M=8,2402	M=11,948	M=7,4230
1g_koren 1		0,202164	0,072126	0,055068
2,5g_koren 2	0,202164		0,002611	0,500480
5g_koren 3	0,072126	0,002611		0,000338
0g_koren 4	0,055068	0,500480	0,000338	

Tab. č. 28 - LSD test u hmotnosti kořenové části (autor)