

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



Nová metoda ochrany rostlin vůči *Meloidogyne hapla*

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Josef Štrojsa

Obor studia: Rozvoj venkovského prostoru

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

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Nová metoda ochrany rostlin vůči *Meloidogyne hapla*" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21. 4. 2023

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval panu Ing. Miloslavu Zouharovi, Ph.D., za vedení, pomoc a trpělivost při tvorbě práce. Rád bych také poděkoval své rodině a všem dalším, kteří mě podporovali při studiu. Bez Vás bych to nezvládl.

Děkuji.

Nová metoda ochrany rostlin vůči *Meloidogyne hapla*

Souhrn

Meloidogyne spp. je velkou hrozbou nejen pro tropické a subtropické zemědělství. V Evropě šířící se invazivní háďátko severní, *Meloidogyne hapla*, je hrozbou zejména pro zelinářské oblasti, jelikož největší škody činí hlavně na zelenině, které dosahují až 90 % ztrát z výnosu.

M. hapla způsobuje svým parazitováním na kořenech rostlin deficit živin. Vlivem napadení háďátky rostliny neprospívají. V porostu se vytvářejí ohniska malých nevyvinutých rostlin. Rostliny jsou v důsledku stresu způsobeném háďátkem náchylnější k rozvoji chorob a působení dalších škůdců.

M. hapla žije v hálkách, které háďátka tvoří na kořenech rostlin. Kontrola populace háďátka a její regulace je tak o něco obtížnější, protože je chráněno rostlinným pletivem. Prostředky k ochraně rostlin s účinnou látkou methylobromid jsou zakázány. Prozatím za tuto účinnou látku není dostupná adekvátní náhrada s podobnou účinností. Existuje jen pár prostředků, které se dají využít k rostlinolékařské praxi, ale jejich využití není efektivní.

Česká firma Lučební závody Draslovka Kolín a.s. vyvinula látku ethandinitril, která se dá potenciálně využít jako nematocid k hubení háďátka severního. Již se EDN využívá například jako fumigant s insekticidními účinky pro fumigaci pokácených kmenů v lesnictví.

Využití EDN jako fumigačního prostředku proti háďátce bylo zkoumáno na pokusném poli, které bylo přirozeně zamořené háďátkem *M. hapla*. Tato práce hodnotí účinnost fumigačního prostředku ethandinitrilu a jeho vliv na mortalitu *Meloidogyne hapla*.

Klíčová slova: Ethandinitril, *Meloidogyne hapla*, ochrana rostlin, fumigant.

New method of plant protection against to *Meloidogyne hapla*

Summary

Meloidogyne spp. is a significant threat not only to tropical and subtropical regions. In Europe, the invasive northern root-knot nematode, *Meloidogyne hapla*, poses a particular threat to vegetable production areas, as it causes the most significant damage to vegetables, with yield losses reaching up to 90 %.

Due to nematode infestation, plants do not thrive, leading to patches of small, underdeveloped plants. As a result of stress caused by the nematode, plants are more susceptible to the development of diseases and the impact of other pests.

M. hapla lives in galls formed on the roots of plants. Controlling the nematode population and its regulation is more challenging because it is protected by plant tissue. Plant protection products containing methyl bromide are banned, and so far, no adequate substitute with similar efficacy is available. There are only a few agents that can be used in plant protection practice, but their use is not efficient.

The Czech company Lučební závody Draslovka Kolín a.s. has developed a compound called ethanedinitrile, which can potentially be used as a nematocide against the northern root-knot nematode. EDN is already used, for example, as a fumigant with insecticidal effects for the fumigation of felled trunks in forestry.

Its use as a fumigant against root-knot nematodes was investigated in an experimental field naturally infested with *M. hapla*. This study evaluates the effectiveness of ethanedinitrile fumigation and its impact on the mortality of *Meloidogyne hapla*.

Keywords: Ethanedinitrile, fumigation, *Meloidogyne hapla*, plant protection.

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	11
3	Literární rešerše	12
3.1	Charakteristika a morfologie hlístic	12
3.1.1	Taxonomické zařazení <i>Meloidogyne hapla</i>	12
3.1.2	Popis kmene Nematoda (hlístice).....	13
3.1.2.1	Povrch těla:	14
3.1.2.2	Pseudocoel	16
3.1.2.3	Trávicí soustava	17
3.1.2.4	Vylučovací soustava	18
3.1.2.5	Nervová soustava a smyslové orgány	18
3.1.2.6	Rozmnožovací soustava.....	19
3.1.2.7	Vývojový cyklus Nematoda.....	21
3.1.3	Taxonomické třídy.....	23
3.2	Fytoparazitické hlístice.....	25
3.2.1	Parazitický způsob života	27
3.3	Rod: Meloidogyne.....	28
3.4	Diagnostika a identifikace háďátek.....	30
3.4.1	Metody založené na morfologii	30
3.4.1.1	Identifikace na základě perineálních znaků samiček	31
3.4.1.2	Morfologické znaky samců.....	32
3.4.2	Biochemické metody	32
3.4.3	Molekulární metody	33
3.5	Fytoparazitické háďátko – Meloidogyne hapla	34
3.5.1	<i>Meloidogyne hapla</i> – etymologie	35
3.5.2	Hostitelský okruh rostlin	35
3.5.3	Příznaky na hostitelských rostlinách	36
3.5.4	Život háďátka	37
3.5.5	Rozmnožování.....	38
3.6	Ochrana	39
3.6.1	Nepřímé metody ochrany	39
3.6.2	Přímé metody ochrany.....	40
3.6.2.1	Nechemická ochrana.....	40
3.6.2.2	Chemická ochrana.....	42
3.7	Od přirozené obrany rostlin k EDN.....	43
3.7.1	Přirozená obrana rostlin pomocí kyanogenních sloučenin.....	43

3.7.2	EDN (Ethandinitril).....	45
3.7.2.1	Mechanismus účinku EDN.....	46
3.7.2.2	Informace od výrobce.....	47
4	Metodika.....	50
4.1	Použitý materiál a technika:.....	50
4.2	Experiment.....	51
4.3	Stanovení hypotézy.....	53
5	Výsledky.....	54
5.1	První testování: jednofaktorová ANOVA analýza.....	55
5.1.1	Post hoc Tukeyův test.....	57
5.2	Druhé testování.....	59
5.2.1	Test normality dat.....	59
5.2.2	Kruskal - Wallisův test.....	59
5.2.3	Post – hoc Bonferroniův test.....	60
6	Diskuze.....	62
7	Závěr.....	65
8	Literatura.....	66
9	Samostatné přílohy.....	I
9.1	Fotodokumentace ze základání experimentu.....	II
9.2	Fotodokumentace z odběru vzorků:.....	VIII
9.3	Tabulky a grafy k výsledkům:.....	XI
9.3.1	Tukeyův test:.....	XI
9.3.2	Testy normality dat provedené v programu Statistica 12:.....	XII

1 Úvod

Fytoparazitická hád'átka jsou mikroskopičtí škůdci, kteří škodí svým parazitickým způsobem života na širokém okruhu hostitelských rostlin, z nichž některé druhy z rodu *Meloidogyne*, jako jsou například *M. chitwoodi*, *M. fallax*, nebo komplex hád'átek napadajících brambory (*Globodera rostochiensis*, *Globodera pallida* a *Globodera ellingtonae*) jsou v evropských zemích karantenní. (Douda 2018; Nováková a Zouhar 2009)

Hálkotvorné hád'átko severní není karanténním druhem a jeho přítomnost na pozemku tak může být opomíjena. *Meloidogyne hapla* je však významným škůdcem a v důsledku jeho přítomnosti dochází ke ztrátám dosahujících 50–90 % (Nováková & Zouhar, 2009). *M. hapla* patří mezi nejzávažnější endoparazitická hád'átka která se živí uvnitř kořene rostliny po většinu svého života (Renčo et al. 2012). Díky jeho způsobu života a životnímu cyklu je obtížné dostat tohoto škůdce pod kontrolu nematocidy, jelikož je ukrytý v rostlinných pletivech hostitelské rostliny. (Renčo et al. 2011; Stirling 2018)

Hád'átko kořenové napadá všechny ekonomicky důležité plodiny, ale největší škody páchá na zelenině. Zelenina nejvíce náchylně reaguje k jeho působení. (Hussain et al. 2016)

V České republice se *M. hapla* vyskytuje v zelinářských oblastech. Jedno z ohnisek výskytu se nachází v Polabí. Mezi plodiny, ve kterých se *M. hapla* vyskytuje a způsobuje na nich ztráty patří mrkev, cibule, květák, pórek, brambory, cukrovka (Nováková & Zouhar 2009; Prýmas 2014).

Příznakem napadení jsou různé morfologické změny na plodinách vyskytující se v porostu ohniskovitě. Těmito morfologickými změnami jsou různé deformace na kořenech, malý vzrůst, nevyvinutí konzumní části rostliny (bulva, kořen, hlíza). Největší ztráty způsobuje na produkci mrkve na písčítých půdách v Polabské nížině. (Douda et al. 2010)

M. hapla způsobuje škody, které jsou za ekonomickým práhem škodlivosti. V důsledku velkých ztrát je nutné v oblastech výskytu vyloučit z osevního postupu plodiny na nichž se *M. hapla* vyvíjí.

Nalezení efektivního způsobu ochrany rostlin před *M. hapla* a způsobu, jak dostat pod kontrolu jeho populace je proto důležitým cílem, neboť by se tak mohly opět využívat naplno půdy které jsou tímto hád'átkem zamořeny. Objektom zkoumání této práce je proto hodnocení účinnosti využití fumigantu EDN (ethandinitril) v porostu *Daucus carrota*.

EDN (ethandinitril) je fumigant s rychlým nástupem účinku. Plyn je hořlavý a jeho vdechnutí může ohrozit člověka na zdraví. Používá se pro dezinfekci půdy, ke kontrole patogenních organismů, plevelů a hmyzu v půdě na které jsou pěstovány plodiny. (Lučební závody Draslovka a.s.)

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce je otestovat účinnost prostředku ethandinitrulu, jako nového fumigantu v zemědělství proti hád'átku *Meloidogyne hapla* v polních podmínkách ČR.

Byla stanovena alternativní hypotéza: Alternativní fumigant ethandinitril má účinnost na mortalitu *Meloidogyne hapla* v polních podmínkách ČR.

3 Literární rešerše

V rámci literární rešerše jsem se věnoval vyhledávání a sepisování informací o škůdci, háďátku severnímu, *Meloidogyne hapla*. Velká část je věnována popisu háďátek, taxonomickému zařazení a popisu života háďátek. Dále zde uvádím možné metody ochrany rostlin proti škůdcům a uvádím a popisuji nový prostředek EDN k ochraně rostlin před škůdцем, háďátkem *M. hapla*.

3.1 Charakteristika a morfologie hlístic

3.1.1 Taxonomické zařazení *Meloidogyne hapla*

Biologové neustále objevují nové organismy a snaží se lépe porozumět charakteristickým znakům. Mezi odborníky neexistuje úplná shoda, jak přesně klasifikovat skupinu organismů, která je tak rozmanitá jako kmen Nematoda. Taxonomie hlístic, přestože se řídí mezinárodními pravidly zoologické nomenklatury, není statická. Díky novým technologiím, vyvýjením nových biochemických a molekulárních metod se neustále interpretace poznávacích znaků mění. (Ferris 2022; De Ley a Blaxter 2004)

Kmen hlístic se dříve dle Chitwooda dělil na 2 třídy (Aphasmda a Phasmida; syn. Adenophorea a Secernentea) podle přítomnosti fasmid. Ale na základě molekulárních analýz založených na studiu DNA a SSU rDNA, se systém hlístic změnil. (Christie 1959; Dragani Rachelle 2019)

Podle molekulárních analýz se zavedla novější systematika, která rozděluje kmen na 2 třídy: Enoplea a Chromadorea. (De Ley a Blaxter 2004; Ferris 2022; Dragani Rachelle 2019)

Tabulka 1: Taxonomické zařazení háďátka severního (*M. hapla*). Srovnání klasické a moderní taxonomie (De Ley a Blaxter 2004) se zvýrazněnými odlišnostmi; zdroj: tvorba autora

Moderní taxonomie	Klasická taxonomie dle Chitwooda
Říše: Animalia (živočichové)	Říše: Animalia (živočichové)
Kmen: Nematoda (hlístice)	Kmen: Nematoda (hlístice)
Třída: Chromadorea	Třída: Secernentea
Řád: Rhabditida	Řád: Tylenchida
Podřád: Tylenchina	Podřád: Tylenchina
	Nadčeleď: Tylenchoidea
Čeleď: Heteroderidae	Čeleď: Heteroderidae
Podčeleď: Meloidogyninae	Podčeleď: Meloidogyninae
Rod: <i>Meloidogyne</i>	Rod: <i>Meloidogyne</i>
Druh: <i>Meloidogyne hapla</i>	Druh: <i>Meloidogyne hapla</i>

Ještě dřívěji, před taxonomií dle Chitwooda (1958), byly hlístice řazeny pod kmen hlísti (Nemathelminthes, Aschelminthes). Toto systematické zařazení uvádělo hlístice společně s jinými zcela nepříbuznými skupinami. Podle tohoto staršího řazení byly společně pod kmenem hlísti zařazeny tyto kmeny: hlístice (Nematoda), strunovci (Nematomorpha), břichobrvky (Gastrotricha), vířníci (Rotatoria), korzetky (Loricifera), rypečky (Kinorhyncha), vrtejši (Acanthocephala), hlavatci (Priapulida), mechovnatci (Entoprocta), vířníkovci (Cycliophora), ploutvenky (Chaetognatha) a čelistovky (Gnathostomulida) (Rosypal 2003).

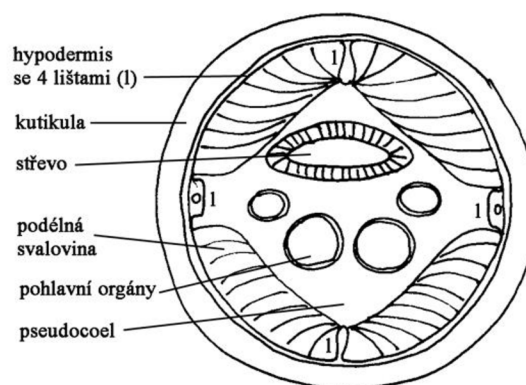
3.1.2 Popis kmene Nematoda (hlístice)

Hlístice jsou organismy malých rozměrů vyskytující se ve velké míře v půdě, ve velkém množství také v bentosu slaných a sladkých vod. V tomto kmenu je popsáno cca 40 000 druhů, ale vědci věří, že existuje více než milion druhů (Kiontke a Fitch 2013). Z živočišných druhů dosahují největší hustoty populace, která je v hodnotách až 20 milionů jedinců na m² půdy. V 1 hektaru půdy se jich nachází mnoho miliard. Hlístice mohou žít volně (např.: ve sladkovodních i mořských sedimentech, v půdě, v mechu), ale také se během evoluce vyvinula rozsáhlá řada hlístic žijící parazitickým způsobem života na úkor rostlin i živočichů. (Smrž 2015)

Hlístice jsou charakteristické tvarem těla, které je uzpůsobeno k parazitování. Jejich délka se pohybuje v rozmezí desetin milimetrů až desítek centimetrů, u některých dokonce v rozmezí metrů (*Placentonema gigantissima*, která parazituje v placentě vorvaně a dosahuje délky až 8 metrů a tloušťky až 2,5 cm) (Gubanov 1951), nejčastěji však v rozměrech 1–7 mm (Smrž 2015). Disponují kutikulárními zuby, díky kterým jsou schopné vnikat do tkání nebo pletiva napadeného hostitele. Tělo hlístic je nitkovité (řecky „nema“ = vlákno/nit; „iodes“ = podobný), válcovitého tvaru, k oběma koncům těla je ztenčené (Vlk 1985). Hádátka nemají dýchací ani cévní soustavu. Oběhový systém je nahrazen pseudocoelární mizou. Plynná výměna probíhá celým povrchem těla. Při přenosu kyslíku se u některých hlístic uplatňuje hemoglobin, který je rozpuštěn v tělní tekutině. Některé hlístice mají i částečně anaerobní metabolismus.

3.1.2.1 Povrch těla:

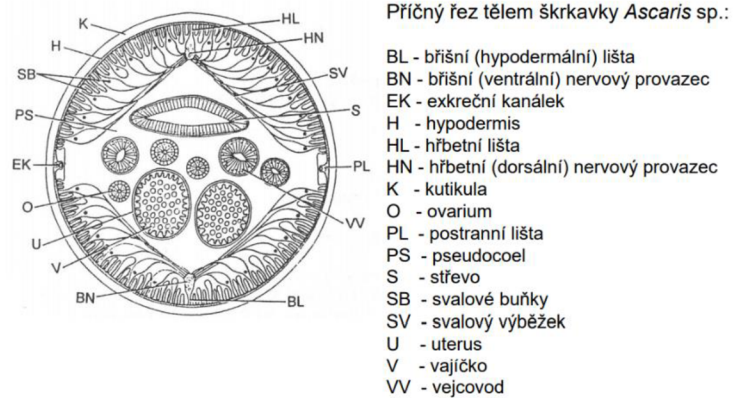
Na povrchu těla se nachází několikvrstevná **kutikula** (tvořená kolagenem), která je vylučována jednovrstevnou pokožkou, **epidermis**. Na povrchu je glykokalyx, pod kutikulou se nachází pokožka – **hypodermis**, jejíž buňky vytvářejí u dospělých parazitických hlístic syncytium a obvykle čtyři podélné **hypodermální lišty**. Mezi hypodermálními lištami jsou uloženy podélné hladké svaly. (Sedlák 2000)



Obrázek 1: Řez tělem hlístice (OS podle Sedláka, 2000).

3.1.2.1.1 Kutikula

Kutikula plní opornou a ochrannou funkci a tvoří takzvaný exoskelet – vnější kostru. Tato ochrana není tvořena buňkami, a tudíž s rostoucí hlísticí neroste při vývoji a během růstu ji jedinci několikrát svlékají. Kutikula je dynamickou a složitou strukturou, která umožňuje interakce s organismem hostitele, plní svou roli při ochraně a látkové výměně. Na kutikule se nacházejí pozorovatelné **struktury**, které **se využívají k determinaci hlístic**, jelikož jsou druhově specifické. (Sedlák 2000)



Obrázek 2 – příčný řez tělem hlístice

Zdroj: https://is.muni.cz/el/1431/jaro2015/Bi2000/um/5_EcdysozoaI_2015.pdf

Příklady kutikulárních struktur: papily, spikuly, trny, rýhy, žebra, hřebeny, "křídla", gubernakula, bursa copulatrix. (Zuckerman 2012)

Tělo hlístic není článkované, ačkoliv **radiální rýhy** mohou uvést pozorovatele v omyl.

Složení kutikuly

Kutikulární vrstvy mají rozličné složení v závislosti na tom, kde se vrstva nachází. Nejsvrchnější vrstva má lipoidní a karbohydrátový charakter, pod ní se nachází vrstva tvořená proteiny (kolagen). (Ferris 2022)

Pohyb hlístic

Okružní svalstvo u hlístic není. Hlístice se tedy nemohou plazit jako kroužkovci, ale mohou se pouze vlnit nebo mrskat. Stahy též nahrazují střevní peristaltiku. (Zuckerman 2012; Ferris 2022)

3.1.2.1.2 Epidermis

Epidermis je tvořen buňkami, nebo syncytiem (soubuní = několikajaderný buněčný útvar, který vzniká splynutím několika buněk; bývá polyploidní), které tvoří 4 podélné lišty. Hlístice disponují vrstvou podélných svalů, a proto nemohou měnit průměr svého těla. Pohybují se pouze pomocí mrskání, prohýbání svého těla, a proto potřebují ke svému pohybu tekutinu. Nejsou schopny pohybovat se v suchém prostředí. (Ferris 2022)

3.1.2.2 Pseudocoel

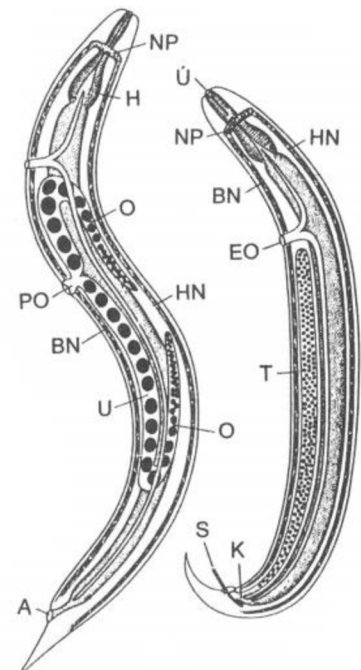
Hlístice mají mezi tělní stěnou a trávicím traktem nepravou tělní dutinu – pseudocoel. Pseudocoel se vyvinul z prvotní tělní dutiny (blastocoelu) přerůstáním (buněčná výstelka dutiny není přítomna, na rozdíl od coelomu). Dutina je vyplněná tekutinou, která nahrazuje oběhovou soustavu. Mízní tekutiny pseudocoelu vypínají svým tlakem pokožku a zpevňují tělo, tím plní také funkci hydrostatické opory pro svalovinu a tvoří tzv. hydroskelet (Vlk 1985). V pseudocoelu jsou volně uloženy orgány trávicí soustavy a pohlavní orgány. Ty jsou přirostlé pouze na svých vývodech. (Maggenti 2020)

3.1.2.3 Trávicí soustava

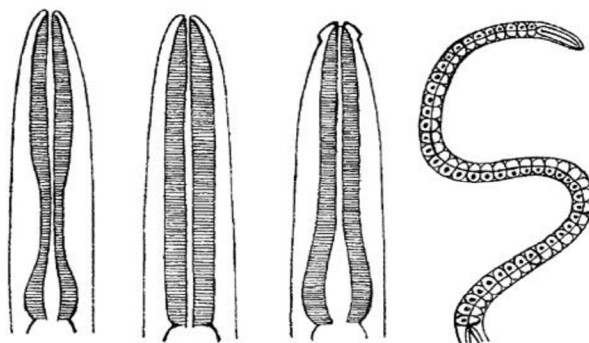
Trávicí soustava hlístic je úplná. Trávicí ústrojí je tvořeno **ústním otvorem, hltanem** (někdy označován jako jícen), **střevem, řitním otvorem/kloakou**. (Maggenti 2020)

Ústní otvor obklopují 3 kolagenní papily (ty fungují jako čelesti). Ústní ústrojí hlístic má 3 nebo 6 pysků (odborně labia a uvnitř se nacházejí kutikulární zoubky, lišty a bodce) a stylet, který slouží pro nasávání tělních tekutin hostitele. (Maggenti 2020)

Trávicí trubice prochází nepravou tělní dutinou – pseudocoelem. Trávicí trubice počíná diferencovaným **hltanem**, který je tvořený svalovinou (poznávací morfologický znak – dle potravní skupiny). Stavba hltanu je



Obrázek 3: Schema stavby těla samice (vlevo) a samce (vpravo) hlístice: A - anus; BN - břišní nervový provazec; EO - exkreceční otvor; H - hltan; HN - hřbetní nervový provazec; K - kloaka; NP - nervový prstenec; O - ovarium; PO - pohlavní otvor; S - spikuly; T - testes; U - uterus; Ů - ústa



rhabditoidní strongyloidní oxyuroidní trichuroidní

Obrázek 4 Typy hltanů hlístic (podle Juráška, Dubinského et al., 1993).

Někdy je hltan tvořen žláznatou svalnatou částí, která může být vzadu rozšířena v bulbus. Tvary hltanu lze rozdělit, jak je uvedeno na obrázku výše. (Maggenti 2020)

Název stavby hltanu koresponduje se systematickým zařazením skupiny hlístic, pro které je daný tvar hltanu charakteristický. Dále přechází hltan v část **střeva**, které je tvořeno tenkostěnnou trubicí složenou ze sekrečních a resorpčních buněk. Střevo může být opatřeno slepým výběžkem. Trávicí soustava končí u samic **řitním otvorem** a u samců **kloakou** (Vlk 1985).

Zdroj:
is.muni.cz/el/1431/jaro2015/Bi2000/um/5_EcdysozoaI_2015.pdf

specifická pro jednotlivé skupiny a je důležitá pro klasifikaci hlístic ale i pro odlišení larválních a

infekčních stádií hlístic (Jurášek a Dubinský 1993). Někdy je hltan tvořen žláznatou svalnatou částí, která může být vzadu rozšířena v bulbus. Tvary hltanu lze rozdělit, jak je uvedeno na obrázku výše. (Maggenti 2020)

3.1.2.4 Vylučovací soustava

Vylučování zajišťují protonefridiální exkreční kanálky, které jsou u třídy Phasmida (syn. Secernentea) uloženy v postranních hypodermálních lištách. U třídy Aphasmda (syn. Adenophorea) jsou renety spojené vývodem rovnou s exkrečním pórem. (Fagerholm 1996; Tilgner 2002; Paramonov 1964)

Metabolity jsou vylučovány dvěma renentami, jednobuněčnými vylučovacími trubicemi v postranních tělních dutinách. (Kiontke a Fitch 2013)

Exkreční póry jsou obvykle viditelné a jejich umístění lze využít k určování hlístic. (Ferris 2022)

3.1.2.5 Nervová soustava a smyslové orgány

Nervovou soustavu tvoří jícnový nervový prstenec složený z přilehlých gangliových buněk, z něhož vybíhají nervová vlákna. Tato podélně probíhající vlákna jsou navzájem propojena a umístěna v hypodermálních lištách. (Hirschmann 1960; Maggenti 1981)

Jako smyslové orgány fungují váčkovité receptory – amfidy (umístěné na ústních papilách), **fazmidy** (umístěné na zádi) a deiridy (umístěné po stranách hlavového konce). (Maggenti 1981)

Amfidy jsou chemoreceptory sloužící nematodě k vyhledávání hostitele.

Fazmidy jsou párové žlázové orgány, chemoreceptory, nacházející se u análního otvoru. Některé hlístice absentují fazmidy. Podle toho, zda jsou fazmidy přítomny, se hlístice dělí do dvou hlavních skupin, Aphasmda a Phasmida. (Maggenti 1981)

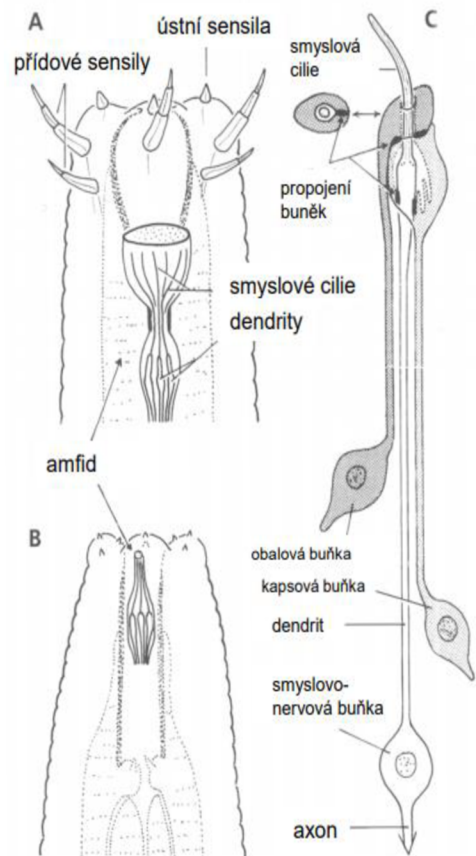
Deiridy jsou párový orgán, nazývaný také jako cervikální papily. Deiridy jsou taktilními (reagující na hmatové vjemy, na změny tlaku) receptory a jsou přítomny u některých taxonů třídy Secernentea (syn. Phasmida). (Hirschmann 1960; Maggenti 1981)

Smyslové orgány přídvy (hlavy):

A – „Adenophorea“;
 B - Secernentea;
 C - schema sensily obsahující pouze jeden neuron;

6 ústních sensil (smyslových papil),
 6 + 4 přídových (hlavových) sensil
 a 1 pár amfidů (chemoreceptory)
 patří k základnímu stavebnímu
 plánu hlístic!

Obrázek 5 -
 smyslové orgány hlístic
 zdroj:
https://is.muni.cz/el/1431/jaro2015/Bi2000/um/5_Ecdysozoal_2015.pdf



3.1.2.6 Rozmnožovací soustava

Hlístice jsou pohlavně dimorfní organismy. Samci bývají menších rozměrů než samice. Rozmnožují se většinou sexuálně. Produkuje velké množství vajíček, tak jako většina parazitů. Tato vajíčka jsou velice odolná, jelikož je obaluje kutikulární obal. (Maggenti 1981)

Pohlavní orgány jsou trubicovité. Většina parazitických hlístic je odděleného pohlaví (**gonochoristé**), ale u některých skupin se setkáváme i s partenogenetickými generacemi (řád háďátka) nebo hermafrodity. Např. *Caenorhabditis elegans* je hermafroditem. U některých hlístic, např. roupů, existuje **haplodiploidie**. Haploidní samci vznikají partenogenezí, kdežto diploidní samice pocházejí z oplozených vajíček (obdobně jako např. u včel).



Obrázek 6

Příkla pohlavního dimorfismu hlístic.

Na obrázku - roup dětský (*Enterobius vermicularis*) stejně jako u většiny hlístic, výrazný pohlavní dimorfismus. Samci jsou menší, s odlišně utvářenou koncovou částí.

Zdroj:

www.zoologie.frasma.cz

3.1.2.6.1 Samčí pohlavní soustava

Tvořena jedním nebo dvěma varlaty, chámovodem, semennými váčky a vývodným kanálkem ústícím do kloaky, která slouží jako vývod pohlavní i trávicí soustavy. Konec těla samce bývá stočen do spirály a někdy tvoří tzv. *bursa copulatrix* (kopulační burzu) – vějířovitou rozšířeninu, která bývá vyztužena žebry a papilami (ne vždy). **Počet žeber a jejich uspořádání jsou druhově specifické a dají se využít k identifikaci.** (Ferris 2022)

U samců jsou přítomny kopulační struktury – spikuly a gubernakulum – jsou to sklerotizované jehlice. Spikuly se při kopulaci zasouvají do pohlavního otvoru samice (bývají přítomny 1-2 kusy) a gubernakulum usměrňuje jejich pohyb. (Maggenti 1981)

Spermie hlístic se liší od všech ostatních živočichů. Namísto bičíku sloužícího spermii k pohybu, se spermie hlístic pohybují pomocí panožek a pohybují se amébovitě.

3.1.2.6.2 Samičí pohlavní soustava

Tvořena 1-2 kusy vaječníků, na něž navazují vejcovody a dělohy. V děloze se formují a zrají vajíčka. Vajíčka pak putují vaginou do volvy, která je umístěna zvlášť (není v kaudální části těla). Pohlavní soustava má samostatný vývod, což je rozdíl oproti samcům, kteří mají kloaku.

Samice mají spermatéku, ve které uchovávají sperma samce a ze které oplodňují vlastní vajíčka.

3.1.2.7 Vývojový cyklus Nematoda

Vývoj parazitických hlístic je velmi rozmanitý, od jednoduchých cyklů po různě složité vývoje. Řada skupin má vývoj bez účasti mezihostitele – monoxenní (geohelminți), u dalších je cyklus za spoluúčasti mezihostitele – heteroxenní (biohelminți). U geohelminťů se často uplatňuje paratenický (tj. příležitostný, transportní) hostitel, ve kterém se parazit kumuluje, ale dále nevyvíjí, a který má často funkci rezervoáru, jenž je později pozřen (např. žížala u srostlice trvalé, roupa kuřího; nezaměňovat s rezervoárovými druhy u nákaz s přírodní ohniskovostí). Infikování paratenickým hostitelem je mnohdy častější než přímé nakažení infekční larvou. Larvální stadia bývají čtyři (L1-L4) a jsou oddělena svlékáním (ekdyse). U některých skupin probíhá svlékání do infekčního stadia larvy ve vajíčku a pak dochází k infekci vajíčky, u jiných dojde k vylíhnutí larev a k infekci dochází již volnými larvami. Po posledním svleku vzniká juvenilní hlístice, která pohlavně dospívá. Mladí jedinci jsou podobni dospělčům a při jejich růstu se zvětšuje pouze velikost buněk. Počet buněk je od začátku stálý, determinovaný i pro jednotlivé orgány a již se nezvyšuje. Tento princip je označován eutelie a vzhledem k tomu, že prakticky znemožňuje regeneraci, bývá výzkumně využíván. U většiny geohelminťů se definitivní hostitel nakazí buď perorálně pozřením vajíčka nebo larev (např. potravou kontaminovanou trusem) nebo infekční larvy aktivně pronikají povrchem těla (perkutánně). Larvální vývoj biohelminťů probíhá v mezihostiteli a definitivní hostitel se většinou nakazí jeho pozřením. Mezihostitelem nejčastěji bývají bezobratlí (např. kroužkovci, korýši, měkkýši, hmyz), ale i obratlovci. (Ferris 2022)

Výše popsaný životní cyklus hlístic sedí spíše na zooparazitické hlístice. Proto zde uvádím ještě **životní cyklus fytoparazitických hlístic:**

Vývojový cyklus fytoparazitických hlístic může trvat několik týdnů až několik měsíců, v závislosti na druhu hlístice, teplotě a dostupnosti potravy. Různé druhy fytoparazitických hlístic mají různé životní strategie, které mohou zahrnovat migraci mezi rostlinami, vytváření rezervoárů v půdě a přežívání nepříznivých podmínek ve formě cyst dlouhou životností. (Decraemer a Hunt 2006)

Většina fytoparazitických hlístic se rozmnožuje pohlavně, což zahrnuje oplodnění vajíček spermii. Vajíčka obsahují jednobuněčné embryonální stádium a jsou obvykle položena do půdy nebo uvnitř rostlinných tkání. (Perry a Moens 2013)

Vajíčka se líhnou a vytvářejí larvy, které procházejí několika vývojovými stádii, než dosáhnou dospělosti. U fytoparazitických hlístic se běžně vyskytují čtyři larvální stádia (L1, L2, L3 a L4), mezi kterými probíhají svlékání. (Perry a Moens 2013)

Larvy jsou aktivní ve vyhledávání rostlinných kořenů nebo jiných tkání, které mohou napadnout. Když larva najde vhodného hostitele, pronikne do rostlinných tkání a začne se živit na buněčné míze. (Perry a Moens 2013)

Poté, co larvy projdou všemi larválními stádii, se vyvinou v dospělé hlístice. Dospělí samci se často pohybují v půdě a vyhledávají samice pro kopulaci. Dospělé samice pak kladou vajíčka do půdy nebo uvnitř rostlinných pletiv, čímž se cyklus opakuje. (Perry a Moens 2013)

3.1.3 Taxonomické třídy

Rozdíly mezi třídami dle taxonomie založené na morfologických znacích (Chitwood 1958) popsané Ferrisem (2022):

Třída Secernentea	Třída Adenophorea
<ol style="list-style-type: none"> 1. pórovité nebo šterbinovité otvory amfidy - labiální. 2. u některých přítomny deiridy, poblíž nervového kroužku. 3. přítomny fasmidy, obecně zadní. 4. vylučovací systém trubkovitý. 5. kutikula 2 až 4 vrstvy, pruhovaná; přítomno laterální pole. 6. jícen se liší, ale má 3 žlázy jícnu. 7. samec obvykle s 1 varletem. 8. kaudální límce běžné. 9. senzorické papilky pouze na hlavě, ačkoli u samců mohou být kaudální papilky. 10. téměř výhradně pozemní, zřídka sladkovodní nebo mořské. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. amfidy postlabiální, proměnlivého tvaru, pórovité až složité. 2. deiridy chybí. 3. fasmidy obvykle chybí. 4. jednoduchý žlázo- netrubkovitý vylučovací systém, pokud je přítomen. 5. samec obvykle se 2 varlaty. 6. kaudální límce vzácné. 7. senzorické papilky hlavové i tělové. 8. mořské, sladkovodní, pozemní.

Morfologické znaky tříd podle nové modernější taxonomie (De Ley a Blaxter 2004)

Třída Chromadorea	Třída Enoplea
<ol style="list-style-type: none"> 1. pórovité nebo šterbinovité otvory amfidy se liší od labiálních pórů nebo šterbin po postlabiální složité kroužky a spirály. 2. kutikula obvykle pruhovaná, někdy zdobená výstupky a štětinami. 3. fasmidy přítomné nebo nepřítomné, obecně zadní. 4. jícen obvykle rozdělen na baňky, se 3 až 5 žlázy jícnu. 5. vylučovací systém žlázo- nebo trubkovitý. 6. samice s jedním nebo dvěma vaječníky. 7. kaudální límce přítomné nebo nepřítomné. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. amphidy kapsičkovité, nikoli spirální, obvykle umístěné za ústím. 2. kutikula hladká nebo jemně proužkovaná. 3. phasmidy mohou být přítomny nebo chybět. 4. jícen válcovitý nebo lahvičkovitý, s 3 až 5 jícnovými žlázy, někdy s přítomností stichosomu nebo trofosomu. 5. exkrece prostá, nevětvená soustava, obvykle tvořená jedinou buňkou. 6. samice obvykle s dvěma vaječníky. 7. samec obvykle se dvěma varlaty. 8. ocasní křídla jsou vzácná.

Jak bylo již zmíněno v kapitole charakterizující kmen Nematoda, hlístice se dělí dle starší klasické systematiky, založené na morfologických znacích, na dvě třídy – Adenophorea (syn. Aphasmda) a Secernentea (syn. Phasmida). Tyto třídy jsou určeny na základě morfologických odlišností na zádi těla. (Adamson 1987)

Rozdíly mezi třídami:

Aphasmda (syn. Adenophorea), jak vyplývá již z názvu třídy nemá fasmidy a nemá ani exkreceční kanálky. Vylučovací soustava je tvořena pouze velkými párovými žlázovými buňkami. Většinou žije volně, ve vodě. Malý počet druhů žije paraziticky na živočiších. Polyfilitická taxon (nezahrnuje společného předka, sestává se z organismů z různých vývojových linií, často jde o konvergentní organismy, které se vyvíjeli pod podobnými evolučními tlaky). (Adamson 1987; Ferris 2022)

Phasmida má na konci těla, u análního otvoru, fasmidy. Zástupci této třídy jsou převážně terestrické hlístice, většina z nich žije paraziticky na živočiších a rostlinách (poměrně je ale většina zooparazitická), některé parazitují i na člověkově (Maggenti 1981).

Mezi hlístice ve třídě **Phasmida** patří následující řády:

- **hád'ata (Rhabditida)**
- **hád'átka (Tylenchida)**
- **měchovci (Strongylida)**
- **škrkavice (Ascaridida)**
- **spirury (Spirurida)**

3.2 Fytoparazitické hlístice

Studium fytoparazitických háďátek nabývá na významnosti, jelikož způsobují zemědělcům velké ekonomické ztráty. Celosvětově se odhadují ztráty v zemědělství způsobené háďátky na 358 miliard US\$ ročně. (Abd-Elgawad a Askary 2015)

Nejspíše se vyvinuly a začali parazitovat na rostlinách, když se začaly adaptovat na suchozemský život. Obecně se fytoparazitické hlístice nazývají háďátka. Pro některé druhy neexistují české názvy (Weiser a Mráček 1988).

Tak jako jiné hlístice, nemají háďátka cévní ani dýchací soustavu a jejich tělo pokrývá kutikula. Trávicí soustava začíná ústním otvorem a prostupuje jejím pseudoceloelem. Jsou pohlavně dimorfní. (Kiontke a Fitch 2013; Abrantes et al. 2023)

Část druhů háďátek jsou ektoparazity, žijí na povrchu kořenů a sají z nich rostlinné šťávy. Některá žijí sedentárním způsobem, jiná se po povrchu kořenů přesouvají. Další část háďátek se během evoluce vyvinula v endoparazity. Pronikají do rostlinných pletiv a přecházejí na sedentární endoparazitismus. Takto žijící háďátka dokážou přetvářet hostitelské buňky na specializované buňky potravní. (Volf a Horák 2007)

Mezi fytoparazitickými háďátky je přes 4 100 druhů hlístic (Decraemer a Hunt 2006). Kompletní přehled fytoparazitických hlístic podle je uveden v tabulce pod tímto odstavcem. Fytoparazitickými hlísticemi jsou zejména háďátka v podčeledi Tylonchoidea. Významnými řády hlístic z rostlinolékařského hlediska jsou Dorylaimida, Strongylida, Rhabditida a Tylenchida. (Volf a Horák 2007). Některá háďátka jsou považována za invazivní druhy. Mezi 10 nejvýznamnějších škůdců, které způsobují největší ztráty, jsou zařazeny háďátka rodu *Meloidogyne* spp., *Globodera* spp., *Pratylenchus* spp., dále druhy háďátek *Radopholus similis*, *Ditylenchus dipsaci*, *Rotylenchus reniformis* a *Nacobbus aberrans*. (Abrantes et al. 2023)

Tabulka 2: Přehled tříd, řádů a podřádů fytoparazitických hlístic podle modernějšího taxonomického uspořádání; zdroj: autorem upravená tabulka, původní (Ferris 2022), dostupné z: <http://nemaplex.ucdavis.edu/Plntpara/plntpara.htm>

TŘÍDA	Chromadorea		Enoplea	
ŘÁD	Rhabditida		Dorylaimida	Triplonchida
PODŘÁD	Tylenchina	Aphelenchoidea	Dorylaimina	Diphtherophorina
	Tylenchoidea	Aphelenchoididae	Dorylaimoidea	Diphtherophoroidea
	Anguinidae	Aphelenchidae	Longidoridae	Trichodoridae
	Dolichodoridae	Tylenchina		
	Heteroderidae	Criconematoidea		
	Hoplolaimidae	Criconematidae		
	Pratylenchidae	Tylenchulidae		
	Tylenchidae			

Z rodu *Heterodera* a *Globodera* jsou to háďátka nažloutlé (*G. pallida*), háďátko bramborové (*G. rostochiensis*), háďátko ovesné (*H. avenae*), háďátko řepné (*H. schachtii*) a *Heterodera glycines*. *Heterodera* spp. i *Globodera* spp. vytvářejí velká množství rezistentních vajíček. Navíc vytvářejí cysty, které jim umožní přežít dlouhodobě nepříznivé podmínky bez hostitele. *G. rostochiensis* způsobuje celosvětově 9 % ztrát na produkci brambor. (Jones et al. 2013)

Pratylenchus spp. způsobuje v Austrálii až 30% ztráty při pěstování pšenice. *Pratylenchus* spp přežívá nepříznivé podmínky také díky anhydrobióze, což je druh kryptobiózy, ametabolického stavu života (v tomto stavu dochází k zastavení všech metabolických pochodů), kdy dochází k vyschnutí organismu. (Jones et al. 2013; Jönsson et al. 2008; Glime 2017)

Některé fytoparazitické háďátka, stejně jako jiní parazité, ke svému přenosu využívají jiných organismů. Příkladem může být háďátko borové (*Bursaphelenchus xylophilus*), které využívá tesaříky k přenosu mezi stromy (Futai 2013). *B. xylophilus* napadá pryskyřičné kanálky borovic, způsobují devastační škody, napadené stromy odumírají. V Japonsku zničilo 28 % rozlohy borových lesů. Háďátko borové bylo zavlečeno i do Evropy. V Portugalsku usilují o zabránění dalšímu šíření a je zařazeno mezi karanténí škůdce. (Kapitola a Jurášková 2016; Futai 2013)

3.2.1 Parazitický způsob života

M. hapla žije na úkor rostliny endoparazitickým způsobem života. (Renčo et al. 2012)

Parazitismus je vztah dvou organismů, v němž jeden organismus profituje na úkor druhého. V tomto vztahu rozlišujeme roli parazita (cizopasníka) a hostitele. Parazit je členem vztahu, který má ze vztahu výhody. Těmito výhodami většinou bývá čerpání látek z hostitele, z nichž získává energii, látky potřebné k životu. (Hampl 2010; Šálek a Hrabíš F 2015)

Parazit bývá menší než hostitel, ale jeho populace bývá početnější. Na jednom hostiteli se tak může přizívat i více parazitických jedinců. Přítomnost parazitů ale nemá, až na výjimky, letální účinek na hostitele. Parazité se svého hostitele nesnaží zabít (na rozdíl od parazitoidů, kteří nakonec svého hostitele zabijí), jelikož by se tak připravili o zdroj své obživy. Obvykle má parazit buď pouze jednoho hostitele, nebo několik málo hostitelů, na kterém je během svého života živ. Mnozí parazité mají složité vývojové cykly a prodělávají svá vývojová stádia před pohlavní dospělostí v mezihostitelích. Část těchto parazitů je vektorem rozličných mikroorganismů, kteří způsobují různé infekční choroby (Šálek & Hrabíš 2015).

Někdy nebývá hranice mezi parazitismem a jiným vztahem mezi dvěma organismy zcela zřetelná. Příkladem takového parazita/poloparazita je komár, který paraziticky saje krev i z více hostitelů. Někdy je považována jeho aktivita za formu predace (Hampl 2010). Vztahy parazitů, jejich hostitelů a případně patogenů, které jsou parazity přenášeny, jsou obecně často velmi komplexní, byť se tak na první pohled jevit nemusí. Zprvu parazitický vztah může časem vyústit i v symbiózu.

U parazitů se rozlišuje, zda se jedná o obligátní (pravý) parazitismus, nebo fakultativní (příležitostný). Obligátním parazitem je takový parazit, jehož alespoň jedno vývojové stádium v jeho cyklu probíhá na úkor jiného organismu. Fakultativním parazitem je takový organismus, který nutně nepotřebuje pro svůj život hostitele, do těla hostitele většinou vnikne náhodně. (Volf a Horák 2007; Rosypal 2003)

Odborně se nazývá parazitování na rostlinách – fytoparazitismus a na živočiších - zooparazitismus. (Poulin a Morand 2000)

Parazité se dále rozdělují podle toho, zda parazitují uvnitř nebo vně těla hostitele, tedy na ektoparazity (z řeckého ektos = vnější) a endoparazity (z řeckého endon = uvnitř). (Volf a Horák 2007)

Podle odhadů představují parazité až 80 % všech druhů. Každý druh má obvykle minimálně jednoho parazita, který může být hostitelem pro další parazity. (ZIMMER 2005)

3.3 Rod: *Meloidogyne*

Háďátka severní (*Meloidogyne hapla*) patří do rodu *Meloidogyne*. Velká část rodu je fytoparazitická. Tento rod je celosvětově velmi významným fytoparazitickým rodem háďátek. Patří mezi kořenová háďátka, v anglicky psaných zdrojích často označovány jako „root-knot nematodes“. (Wesemael et al. 2011)

Rod zahrnuje více než 100 druhů háďátek, která parazitují na cca 3 000 rostlinných druzích (Hunt a Handoo 2009). Vyskytují se po celém světě. Největší druhovou rozmanitostí oplývají v tropických a subtropických oblastech (Jones et al. 2013). Zemědělcům po celé Zemi způsobují ekonomické škody a ztráty na úrodě (Lopes a Ferraz 2016). Tento rod je charakteristický svým stálým usedavým endoparazitickým způsobem života na jedné rostlině. Na kořenech rostlin tvoří útvary zvané háčky, v kterých se tyto parazité živí a prožívají téměř celý životní cyklus (Baldacci-Cresp et al. 2015). Rostlinám způsobují stres a poškození, které je zapříčiněno snížením přísunu vody a živin, jež jsou odkloněny do xylemu a floemu háček na kořenech rostlin. Na rostlinách se pak činnost parazita projevuje symptomy deficitu živin, různými růstovými deformacemi, častým větvením a podobně. (Moens et al. 2009)

Poprvé byla háďátka rodu *Meloidogyne* popsána v roce 1949 Chitwoodem, který je studoval v New Yorku v USA na hostitelské rostlině *Solanum tuberosum*. Ve svých pracích charakterizoval háďátka z rodu *Meloidogyne* a popsal jejich odlišnosti od rodu *Heterodera* dle anatomických odlišností. Chitwood zavedl využívání znaků v perineální oblasti jako pomůcku k diagnostice háďátek a také popsal háďátka severní (*Meloidogyne hapla*). Chitwood jasně popsal odlišnosti mezi háčkovitými kořenovými háďátky a cystotvornými háďátky. (Chitwood 1949)

Samičky rodu *Meloidogyne* nikdy nevytváří na povrchu těla hrubý povrch tak jako *Heterodera*. *Meloidogyne* netvoří cysty jako rod *Heterodera*. Vajíčka jsou uložena v bílkovinné vláknité hmotě a nejsou nikdy ponechána mimo tělo samičky.

Infekčním stádiem ve vývojovém cyklu háďátka jsou larvy L2 stádia. Háďátka tehdy pronikají do kořenové špičky rostlin, kde stimulují rostlinné buňky ke zvětšení a vytvoření

hálky. Na těchto obřích buňkách se pak háďátko živí. V hálce háďátko provede další tři svleky a vyvíjí se v dospělce. Pohlavní dimorfismus se projevuje u *Meloidogyne spp.* typickým hruškovitým tvarem samice a samec má podlouhlý červovitý tvar. Samice žije sedentárním životem, zatímco samci po dovršení stádia dospělce migrují. (Jones et al. 2013)

Háďátka z rodu *Meloidogyne* způsobují zemědělcům velké ztráty. V severní Evropě je velmi vážným škůdcem háďátka severní (*M. hapla*), který se vykytuje i u nás a je mu věnována tato práce. Způsobuje až 80% ztráty při pěstování zemědělských plodin jako mrkve, salátu, cibule a cukrové řepy (Wesemael et al. 2011). Dále jsou velmi významná **karantenní** háďátka, která se vyskytují v Německu a Nizozemí. Jsou jimi *Meloidogyne chitwoodi* a *Meloidogyne fallax* napadající především brambory.

Dalšími druhy háďátek jsou v našich podmínkách hlavně háďátka, která škodí ve sklenicích. Výjimkou je druh *Meloidogyne incognita*, který se již šíří v polních podmínkách na jižní Moravě. (Douda 2018)

3.4 Diagnostika a identifikace hád'átek

K diagnostice je potřeba kvalitní mikroskopická technika a jsou aplikovány molekulárně biologické metody.

Hád'átka lze identifikovat díky třem diagnostickým metodám (Seesao et al. 2017; da Cunha et al. 2018):

Metody:	Sledované charakteristiky:	
Metody založené na morfologii	Morfologické charakteristiky samců	Perineální znaky samic
Biochemické metody	Isozym fenotypy	Isozyme Esteráza
Molekulární metody		

3.4.1 Metody založené na morfologii

Fytoparazitická hád'átka jsou mikroskopičtí škůdci. Při diagnostice a jejich rozpoznávání jsou pozorovány jejich morfologické vlastnosti. Jak již bylo psáno v předchozí kapitole, hlístice jsou pohlavně dimorfní organismy. A znaky jak samičí, tak samčí mohou poskytovat informace, které nám mohou pomoci hád'átka identifikovat. (da Cunha et al. 2018; Seesao et al. 2017)

3.4.1.1 Identifikace na základě perineálních znaků samiček

Hlavní technikou pro identifikaci „root knot nematodes“ jako jsou *M. hapla*, *M. javanica*, *M. arenaria* a *M. inkognita* je identifikace na základě znaků samiček háďátek v perineální oblasti

(porovnat rozmanitost můžeme na obrázku v přílohách).

Morfologickými znaky využívanými

k identifikaci jsou tvar a celkově vizuální vzhled celé perineální oblasti,

dorsálního archu, dorsální striae,

laterálních linií a fasmidů

(da Cunha et al. 2018).

Tato technika identifikace je levnější

oproti dalším, jelikož k identifikaci je potřeba

pouze mikroskop a

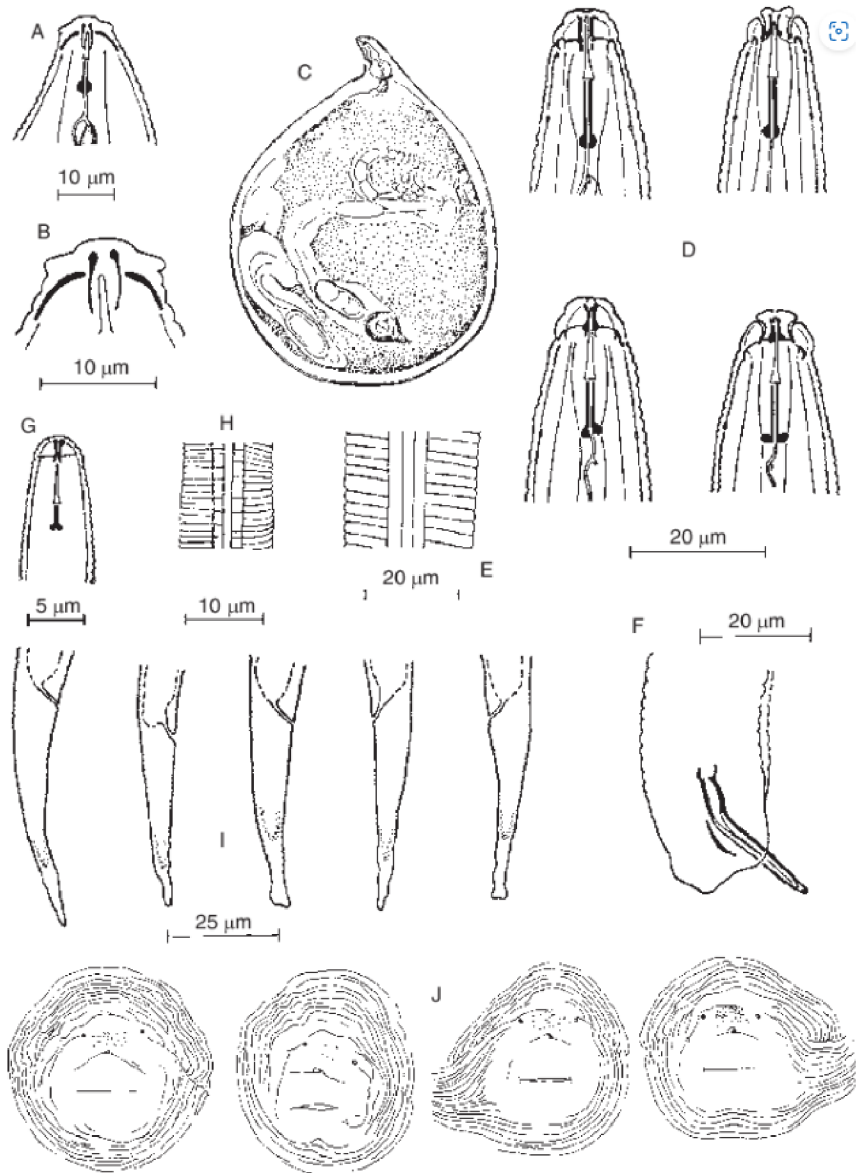
příslušenství k mikroskopii

(mikroskopické sklíčko, krycí sklíčko, kyselina mléčná a glycerin).

Avšak je potřeba umu a manuální zručnosti k přípravě preparátů.


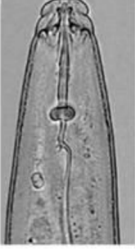
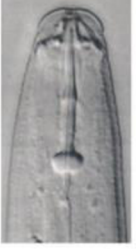

Na obrázku jsou morfologické charakteristiky, podle nichž se dá identifikovat *M. hapla*. (Seesao et al. 2017)

Je třeba však dodat, že s objevem nových druhů háďátek se ukázalo, že tato technika není dostatečně přesná pro rozlišení některých druhů. Příkladem této situace je mylná identifikace druhů *M. enterolobii* a *M. inornata*, neboť perineální vzory těchto druhů jsou podobné s *M. incognita* a dochází tak k záměnám. (da Cunha et al. 2018)



3.4.1.2 Morfologické znaky samců

Tvar hlavy a morfologie stylétu samečků jsou užitečnými charakteristikami při identifikaci některých druhů kořenových háďátek, jako jsou například *M. incognita*, *M. enterolobii*, *M. paranaensis* a *M. javanica*. Charakteristiky jsou vidět na obrázku pod tímto odstavcem. Například samečka *M. paranaensis* lze identifikovat na základě jeho charakteristického tvaru hlavy. Vzdálenost ústí dorzálního jícnu ke stylétu samečků může také být použita k rozlišení některých druhů, jako jsou *M. enterolobii* a *M. incognita* (Barreto et al. 2008). Velikost a tvar stylétu mají doplňkovou taxonomickou hodnotu pro identifikaci druhů kořenových háďátek. Některé druhy kořenových háďátek mají podobně velké styléty. (da Cunha et al. 2018)

Character	Species			
	<i>M. incognita</i>	<i>M. enterolobii</i>	<i>M. paranaensis</i>	<i>M. javanica</i>
Photograph of the anterior region of males				
Labial region	With transverse striation (annulation)	Smooth	Smooth, with incomplete annulation	Smooth
Head cap	High, wide and with concave labial disc	Labial disc and medial lips fuse, labial disc slightly elevated above medial lips	Labial disc oval and wider than the base of the labial region	High, wide and with round labial disc
Distance from the DGO* to the stylet base	Short (2.0 – 3.0 μm)	Long (4.1 – 4.7 μm)	Long (3.5 – 5.0 μm)	Short (2.0 – 3.0 μm)

Obrázek 7: Přední část samečků *Meloidogyne incognita*, *M. enterolobii*, *M. paranaensis* a *M. javanica*.
Zdroj: (da Cunha et al. 2018)

3.4.2 Biochemické metody

Pro určení druhu se také kromě mikroskopického pozorování morfologických znaků nyní využívá identifikace na základě fenotypů enzymů. V posledním desetiletí bylo vyvinuto několik rychlých molekulárních testů. (Seesao et al. 2017)

Fenotyp izoenzymu

Metoda založená na relativní mobilitě enzymů extrahovaných z dospělých samic na elektroforéze (Blok a Powers 2009). Celý proces trvá cca 4 hodiny. Protein získaný ze samiček háďátka se poté nanese na médium a je použit k porovnání fenotypu. (da Cunha et al. 2018)

Fenotyp estrázový

Obvykle je využíván k identifikaci druhů rodu *Meloidogyne*. Informace z analýz dalších enzymů mohou poskytnout kompletnější informace (Freitas et al. 2016). V některých případech jsou analýzy estrázového fenotypu podobné mezi dvěma druhy, jako např. *M. naasi* a *M. exigua*. V takové situaci lze použít další enzym (malate dehydrogenase) k odlišení druhů. (Carneiro et al. 2016)

Současná technologie pro estrázový test umožňuje automatizovanou elektroforézovou aparaturou vytvořit velmi tenkou polykrylamidovou vrstvu gelu, na které mohou být objeveny 2 nebo i více fenotypů enzymů pocházejících z proteinu extraktovaného z jediné samičky *Meloidogyne*. (Esbenshade a Triantaphyllou 1990)

3.4.3 Molekulární metody

Předpokládají výskyt polymorfismu v DNA sekvencích napříč skupinami Nematoda. Rozdíly jsou patrné obzvláště v ribosomální a mitochondriální DNA (rDNA a mtDNA). Výhodou těchto metod je, že se dají použít na všechna vývojová stádia háďátek. (da Cunha et al. 2018)

Hlavní molekulární metody pro diagnostiku druhů rodu *Meloidogyne* spočívají v polymerázové řetězové reakci (PCR), jako jsou druh-specifické PCR, multiplexní PCR, real-time PCR (qPCR) a RFLP. Dále je pro molekulární diagnostiku kořenových háďátek užitečná izotermická amplifikace LAMP, sekvenování a DNA mikročipy. (Oliveira et al. 2011)

Popis jednotlivých metod by byl složitější, proto uvádím jen ty nejpoužívanější a více je nerozepisují. O jednotlivých metodách se můžeme dočíst například v diagnostických metodách popsaných T. D. Cunha (2017).

3.5 Fytoparazitické háďátko – *Meloidogyne hapla*

Rod *Meloidogyne* je velmi polyfágní skupinou háďátek. Konkrétně *Meloidogyne hapla* má více než 550 potenciálních rostlinných hostitelů. (Goodey et al. 1965)

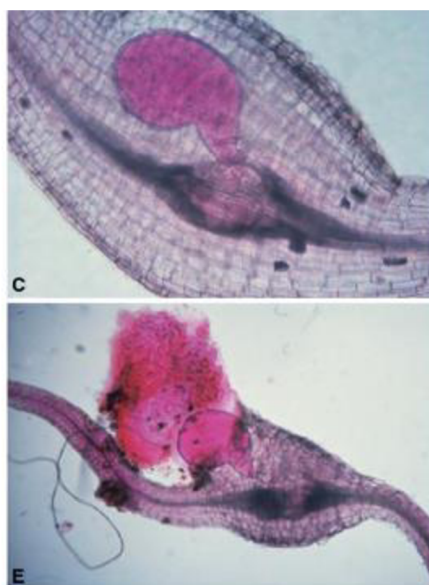
Rod háďátek *Meloidogyne* je škála škůdců, kteří škodí především v subtropických a tropických zemích anebo ve sklenících. U nás v ČR a v severních zemích je pouze několik druhů, které jsou schopné přezimovat v polních podmínkách - *M. hapla*, *M. fallax*, *M. chitwoodi*. (Decker 1981; Zouhar 2001)

M. hapla je jeden z druhů fytoparazitického háďátka, které způsobuje největší škody na rostlinách. Ztráty mohou dosahovat až na 90 % z celkové úrody. (Zouhar a Nováková 2009)

Další příklady zaznamenaných výnosových ztrát způsobených háďátkem *M. hapla* jsou 70 % na podzemnici olejné (jihovýchod USA), 50 % na mrkvi (severovýchod USA), 20 % na cukrové řepě (Polsko), 46 % na bramborech (Kanada), 64 % na cibuli (Kanada). (Ferris 2022)

Rozměry *M. hapla*:

Samičky jsou velké 419–846 μm a široké 311–561 μm . Samci jsou s délkou 791–1432 μm delší, protáhlejší a štíhlejší. Infektivní larvy jsou dlouhé průměrně 337 μm . Vajíčka neembriovaná mají 71–91 μm . Podrobnější informace o rozměrech se můžeme dočíst například v compendiu CABI (CABI Compendium 2022), nebo z práce A. G. Whiteheada. (Whitehead 1969)



Obrázek 8 : (E) – samička *Meloidogyne*, která vypouští vajíčka mimo kořen rostliny. (C) – Samička živící se na velkých buňkách v kořeni rostliny
Zdroj: (Agrios 2005)

3.5.1 *Meloidogyne hapla* – etymologie

Rodové jméno „*Meloidogyne*“ pochází z řeckého jazyka a označuje skupinu kořenových háďátek. „*Melos*“ znamená jablko a odkazuje na tvar háďátka. „*Gyne*“ znamená žena. Rodové jméno tedy popisuje kulatý tvar samičího jedince. A druhové jméno „*hapla*“ pochází z řečtiny, a odkazuje na jednoduchou stavbu těla háďátka. (Moens et al. 2009)

Český název pro *M. hapla* je háďátko severní. V české terminologii se můžeme setkat také s méně užívaným názvem háďátko písečné, což je chybné, jelikož by se dalo zaměnit s druhem *Meloidogyne arenaria*.

3.5.2 Hostitelský okruh rostlin

M. hapla je velmi polyfágním druhem, které škodí zejména na dvouděložných plodinách i plevelných rostlinách. Druh má přibližně 350 hostitelckých rostlin (Douda, 2018). Tato háďátka způsobují škody také na několika jednoděložných plodinách jako je například cibule. Dále se vyskytuje na některých okrasných a ovocných dřevinách. (Maggenti 2020; Goodey et al. 1965)

Hlavními plodinami, na kterých bylo zpozorováno, že háďátko způsobuje škody, jsou brambory, cukrová řepa, rajčata, celer, hrách, vojtěška, jahody a růže. V ČR největší škody způsobuje na kořenové zelenině, cukrové řepě a bramborách. (Douda 2018)

Je třeba poznamenat, že populace *M. hapla* nemusí vždy vést k výraznému poškození rostlin, protože existuje řada tolerantních rostlin k jeho přítomnosti a aktivitě na rostlině. Například lupině, jeteli plazivému (*Trifolium repens*), či svazence, viditelně nezpůsobuje výrazné škody i přesto, že jsou tyto rostliny ideálními hostitelskými rostlinami a umožňují tak háďátku vytvářet rozvinutější populace háďátka. (Hallmann, 2021)

Rozšíření v ČR

Na počátku současného milénia byl poprvé prokázán výskyt *M. hapla* na území ČR. V okolí zelinářské oblasti Semice byla v porostech mrkve pozorována ohniska zakrslých rostlin, které měly na kořenech háčky. Pomocí morfometrického pozorování a molekulární PCR metody bylo zjištěno, že se jedná právě o háďátka *M. hapla*. (Zouhar, 2001)

V roce 2003 bylo v ČR zaznamenáno *M. hapla* na několika místech ve Středočeském kraji. Nejvíce je rozšířeno na písčítých půdách v Polabí. Přítomnost byla zjištěna na pozemcích, kde se pěstoval pórek, cibule, květák, rané brambory a mrkev. (Zouhar et al. 2003)

3.5.3 Příznaky na hostitelských rostlinách

Příznakem jsou krnicí rostliny, ohniskový výskyt krnicích rostlin. Nejcharakterističtější příznaky se projevují na kořenech napadených rostlin. Jejich kořeny zůstávají krátké, na kořenovém systému se nachází typické **hálky** s houbovým pletivem. Hálky bývají malé, téměř kulovité. Velmi často na místě hálky je přítomno výrazné zproliferování malých kořenů (to je rozdílné oproti příznakům napadení ostatními druhy *Meloidogyne sp.*). S krněním rostlin souvisí i snížený výnos z hektaru. Druhotně tedy dochází k voutsatosti kořene. Rostlina tvoří ve zvýšeném množství postranní kořinky, z čehož tedy plyne, že největší škody způsobuje na kořenové zelenině. Může docházet ke chlorózám listů, žloutnutí. (Hallmann, 2021; Douda 2018)

Nejmladší napadené rostliny, pokud u nich došlo k rozsáhlému poškození hád'átkem, hynou dříve, než hád'átka stihnou vytvořit hálky.

Projevy napadení rostlin hád'átkem ovlivňuje více faktorů. Například na těžkých půdách nejsou schopny hád'átka snadno vytvořit hálky větších rozměrů a je tak obtížnější odhalit jejich přítomnost, protože i tak jsou schopny se v těchto půdách množit. Rostliny na lehčích půdách jsou tedy ovlivněné hád'átkem více a mají více symptomů. (Nováková & Zouhar, 2009)

Dalším faktorem ovlivňující příznaky na rostlinách je teplota. S rostoucí teplotou stoupá intenzita napadení a také projevy typických symptomů. (Charchar & Santo, 2009)

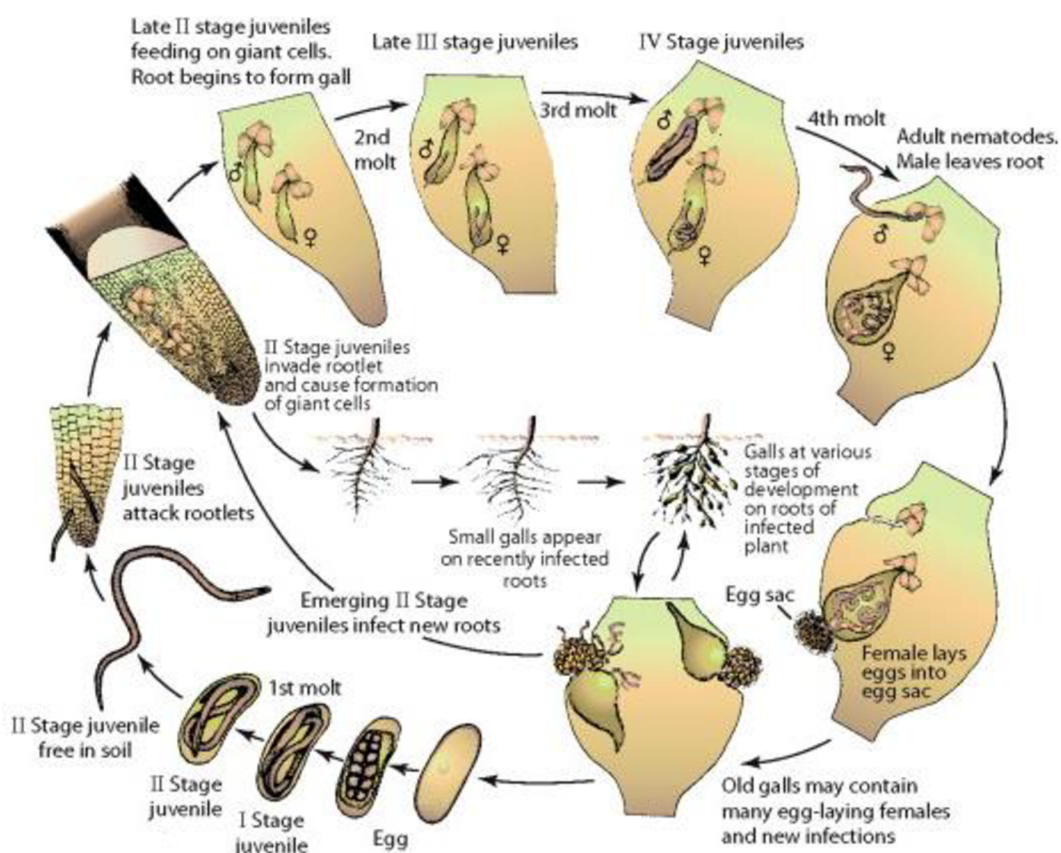
Díky oslabení rostliny hád'átkem se otevírají další možnosti škodlivým organismům, patogenům, kteří se pak snáze živí a množí na oslabených rostlinách. Poté lze na rostlině pozorovat takzvanou komplexní chorobu. Nejčastěji jsou rostliny druhotně napadány houbovými rody *Verticillium* a *Fusarium*. (Ferris 2022; Nováková a Zouhar 2009)

Významné škody způsobuje *M. hapla* na mrkvi, celeru, salátu, bramborách, černém kořenu, okurkách a rajčatech.

Přítomnost tohoto fytoparazitického háďátka je často odhalena, až když je jeho populace na pozemku příliš velká a velmi těžko se jeho populace dostává pod kontrolu. Při nízkém stupni napadení pozemku ho zemědělci velmi lehce přehlédnou. (Douda 2018)

3.5.4 Život háďátka

První a druhé stádium juvenilního háďátka *Meloidogyne* sp. probíhá ještě ve vajíčku před vylíhnutím. Z vajíček se vylíhne během 2. stádia larva a proniká do půdy. Druhé juvenilní stádium háďátka je jediné infekční stádium. Larva háďátka během druhého vývojového stádia vyhledává hostitelskou rostlinu. Pokud se samiči háďátka podaří nalézt hostitel, pronikne do kořene rostliny a přechází na sedentární způsob života, již nemigruje. Háďátko pomocí styletu narušuje pletivo a vypouští do rostlinného pletiva trávicí šťávy. Buňky rostlinného pletiva se v okolí styletu zvětšují. Háďátko produkuje metabolity, svými výměšky dráždí pletivo kořene, to zapříčiní přednostní vedení asimilátů do buněk podrážděného pletiva. Kořen tak reaguje tvorbou novotvarů (hálek). V tomto pletivu se pak larvy ještě dvakrát svlékají a dospívají. Popsaný vývoj můžeme vidět na obrázku níže. (Mugniéry a Phillips 2007; Douda 2018)



Obrázek 9: Životní cyklus háďátka.; zdroj: (Mugniéry a Phillips 2007)

Pohlavně dospělé samice v hálkách kladou vajíčka do želatinové hmoty, která tvoří vaječný vak. Z počtu okolo 500 vajíček se líhnou larvy, které mohou napadat další rostliny. Samice po naklazení vajíček hynou a vajíčka se uvolňují z vaječného vaku do půdy. Samci opouštějí hátku po posledním svleku a migrují půdou k jiné rostlině, na které parazitují samicemi háďátka, aby se s nimi spářili. K rozmnožování ale *M. hapla* nezbytně samce nepotřebuje, jelikož se dokáže rozmnožovat partenogeneticky. (Mugniéry a Phillips 2007; Decker 1981; Douda 2018)

Vajíčka jsou odolná, mohou přetrvávat delší dobu v půdě. Vajíčka i larvy jsou schopny přezimovat v půdě i pod bodem mrazu.

Háďátka začínají být aktivní při teplotách nad 10 °C. Optimální teplota půdy pro šíření háďátka je 25 – 30 °C, proto způsobují nejvýraznější škody v teplých letech

3.5.5 Rozmnožování

M. hapla se obvykle rozmnožuje partenogeneticky, je ale schopné rozmnožovat se i pohlavně. Podle starší taxonomie se jako jediné v řádu Tylenchida může vyskytovat také jako hermafrodit (Triantaphyllou 1993), ačkoliv v kmenu Nematoda jsou známy ještě dva další řády, ve kterých se také dá hermafroditismus pozorovat. Je to řád Rhabditida (tento poznatek koresponduje s modernějším taxonomickým uspořádáním) a Monochida. Bylo pozorováno, že hermafrodité *M. hapla* jsou morfologicky ženy, které tvoří vajíčka, ale pak změni pohlaví a tvoří samčí pohlavní buňky. Během doby, kdy je tvořeno sperma, jsou vajíčka chráněna zpevněnou schránkou tak, že jedinec nemůže oplodnit sám sebe. Ačkoliv hermafrodité *M. hapla* produkují pouze pár vajíček před změnou na produkci samčích pohlavních buněk, porozumění tomuto mechanismu může mít smysl při pokusu o narušení životního a rozmnožovacího cyklu a redukci populačního růstu. (Triantaphyllou 1993)

3.6 Ochrana

Tak jako při boji proti většině chorob a škůdců lze i proti *M. hapla* využít metody ochrany **nepřímé** (zařazování rostlin, které nejsou hostiteli; vyvláčení a likvidace napadených kořenů; intenzivní organické hnojení; udržování nižších teplot ve skleníku) a **přímé** (aplikace chemických nematocidů; biologická ochrana – houby; fyzikální metody – sterilace půdy vysokými teplotami). (Abrantes et al. 2023; Rostlinolékařský portál ÚKZÚZ 2023)

Monitoring

Provádí se odběrem vzorků půdy, ze kterých se extrakcí a zkoumáním suspenze zjišťuje přítomnost háďátka. Také se používají biologické testy, kdy se použije hostitelská rostlina (ideálně mrkev) a po dvou měsících se na rostlinách mrkve zjišťuje přítomnost a množství hálek. Při rozhodování o provedení zásahu je důležitý práh škodlivosti, jenž je dán 500 jedinci na 1 kg půdy. (Rostlinolékařský portál ÚKZÚZ 2023)

3.6.1 Nepřímé metody ochrany

Obecně mezi nepřímé metody regulace škůdců a chorob patří:

- Výživa
- Výběr vhodného stanoviště
- Výběr odrůd
- Pěstební metody
- Střídání plodin
- Doba setí, vegetace
- Ničení infikovaných rostlin
- Eliminace vektorů (přenašečů)
- Zajištění zdravého čistého osiva, eventuelně závlahové vody

Do osevního postupu je vhodné zařazovat nepřátelské rostliny, které stimulují háďátka k vylézání z cyst, ale vylíhlé larvy se v pletivu rostlin nemohou vyvíjet. K těmto rostlinám patří: čekanka, cibule, česnek, žito, kukuřice, vikev, hrách a koňský bob nebo ředkev setá. Jako meziplodiny se také doporučují rezistentní odrůdy řepky a jejich optimální management ochrany tak, aby se zlikvidoval co největší počet háďátek (Prýmas 2014).

Dále k preventivním opatření náleží omezení přejezdů mechanizace z pozemku. K prevenci patří také čištění nářadí a mechanizace horkou vodou o teplotě 45,5 °C (k účinnému zneškodnění háďátek je potřeba 60 minut, aby nedocházelo k šíření škůdce na jiné pozemky),

dodržování vhodného osevního postupu (dodržování časového odstupu pěstování hostitelských rostlin, který by měl činit na napadených pozemcích alespoň 5 let), výběr plodiny (nebo odrůdy odolné či tolerantní k *M. hapla*). (Moens et al. 2009; Nováková a Zouhar 2009; Ferris 2022)

3.6.2 Přímé metody ochrany

Obecně k ochraně rostlin lze využít tři přímých metod ochrany:

- Fyzikální
- Chemické
- Biologické

Pro účel této práce uvedu konkrétní způsoby, jakými se dá praktikovat ochrana proti háďátku.

3.6.2.1 Nechemická ochrana

Nechemickou ochranou je regulace škodlivých organismů, při níž se nevyžívají syntetické pesticidy, a je možné ji tak využívat i v ekologickém zemědělství. (Heimpel a Mills 2017) Využívají se fyzikální a biologické metody.

Mezi fyzikální metody patří mechanické, termické a biotechnické metody. Termické metody jsou založeny na toleranci organismu k teplotě. Biotechnické metody se často využívají k monitorování škůdců a sledování dynamiky rozvoje populace škůdce (různé optické a světelné lapače). (Táborský a Šedivý 1997)

K biologické ochraně je možné například využívat přirozených nepřátel, antagonistů škůdců, dále pak růstových regulátorů hmyzu a rostlin, přípravků na rostlinné bázi (různé extrakty, silice). (Heimpel a Mills 2017)

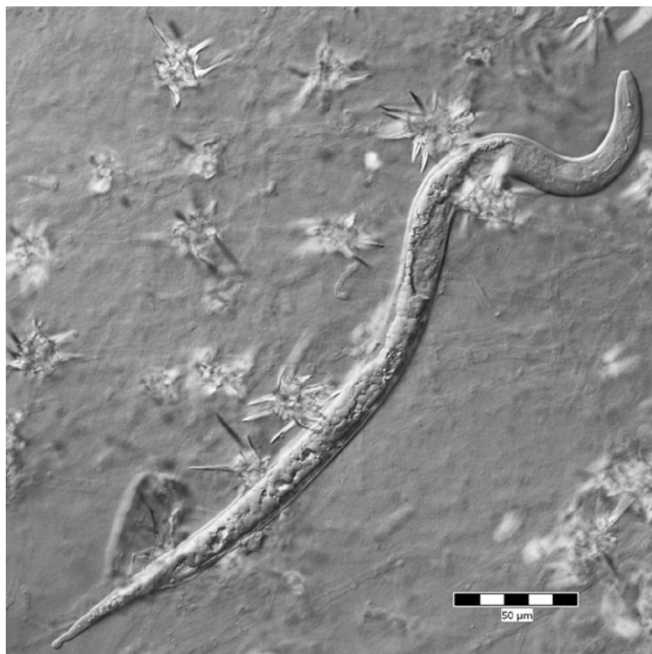
Přirozenými antagonisty háďátek, kterých se využívá při ochraně rostlin jako bioagens, jsou nematofágní houby a bakterie. Háďátka jsou hubena rovněž různými druhy dravých půdních členovců. (Stirling 2011)

3.6.2.1.1 Nematofágní houby

Výzkumnou činností byly objeveny nematofágní houby, které ovlivňují výskyt a velikost populací v půdě žijících fytoparazitických háďátek. Oproti nematocidům, půdním

sterelizátorům a fumigantům mají houby tu výhodu, že jejich využití nenese takové ekologické a toxikologické riziko. (Mugniéry a Phillips 2007; Santos et al. 1992; Jatala 2003)

Nematofágní houby se vyvinuly tak, že jsou schopny parazitovat na háďátkách rozličnými způsoby. Nematofágní houby jsou uzpůsobené k „lovení“ (obr.) a parazitování na různých taxonomických skupinách háďátek díky komplexní síti a škále struktur, které tvoří (sítě, adhezivní vlánka, zaškrucující smyčky) (Barron 1977; Bird a Herd 1995; Zouhar et al. 2013). Nematofágní houby svými specializovanými orgány tvoří různé pasti, kterými poškozují a zraňují háďátka.



Obrázek 10 *M. hapla* znehybněna houbou *S. rugosoannulata*. Zdroj: Zouhar et al. (2013)

Dle Hussaina et al. (2017) existuje 5 druhů nematofágních hub, u kterých byla ověřena efektivita při redukci populace háďátka kořenového (*M. hapla*). Těmito houbami jsou *Arthrobotrys oligospora*, *Dactylella oviparasitica*, *Clonostachys rosea*, *Stropharia rugosoannulata* (obr.) a *Lecanicillium muscarium* (Hussain a Zouhar 2017). Dalšími využívanými houbami v ochraně proti *Meloidogyne* sp. jsou *Myrothecium verrucaria*, *Glomus fasciculatum* (Nguyen et al. 2018; Kantharaju et al. 2005).

3.6.2.1.2 Bakterie

Přírozenými antagonisty háďátek *Meloidogyne* sp. jsou také bakterie. Spory *Bacillus* sp. jsou schopny přichytit se na kutikulu háďátka rodu *Meloidogyne*, *Globodera* a *Pratylenchus* a parazitovat na nich. Nejznámější bakterií, která parazituje na *Meloidogyne* sp. je *B. penetrans*. Spory *B. penetrans* vniknou do juvenilního jedince háďátka, *Meloidogyne* sp. a *B. penetrans* se následně množí uvnitř dospělé samice *Meloidogyne* sp. Z takto infikovaného háďátka se pak mohou uvolnit až miliony dalších spor *B. penetrans*. (Mugniéry a Phillips 2007)

3.6.2.1.3 Rostlinné silice

Účinnost několika rostlinných silic byla testována O. Doudou et al. (2010) na kořenovém háďátku v mrkvi. K testování byly využity silice *Ocimum basilicum*, *Mentha arvensis*, *Tagetes erecta*, *Azadirachta indica*, *Eugenia caryophyllata* a *Origanum majorana*, u nichž se předpokládaly nematocidní účinky.

Testy prokazovaly snižující se počet hálek se zvyšující se koncentrací silic, zejména hřebíčku (*Eugenia caryophyllata*) a majoránky (*Origanum majorana*). U některých variant byla také prokázána zvyšující se hmotnost sušiny i čerstvé hmoty. U ostatních testovaných rostlin byl efekt mnohem menší (Douda et al. 2010). Isoprenoid, který je obsažen v silicích hřebíčku, prokazuje i podle Malika et al. (1987) silné nematocidní účinky. (Malik et al. 1987)

Podle Doudy et al. (2010) je však pro určení rentability a ekonomické efektivity využití silic třeba další výzkum, který specifikuje efektivní dávku.

3.6.2.2 Chemická ochrana

Existuje pouze malé množství účinných látek pro chemickou ochranu rostlin před háďátky. Navíc výskyt háďátek v nižších úrovních půdního profilu nutí pěstitele aplikovat tyto nematocidy v nejvyšších doporučených koncentracích a dávkách. Jejich aplikace se tak navíc váže s riziky pro životní prostředí. Proti *M. hapla* se používají prostředky s účinnou látkou oxamyl a dazomet, které jsou ale příliš drahé. (Douda et al. 2021)

Proti *Meloydogine* sp. byl využíván fumigant mehylbromid (CH_3Br), který byl obecně všestranným fumigačním pesticidem na hubení škůdců, hlodavců a také proti houbovým chorobám. Ale v atmosféře se rozkládá za vzniku atomárního brómu. Atomární bróm pak poškozují ozonoféru. Jelikož měl nežádoucí vlivy na ozonovou vrstvu atmosféry, byl v Montrealském Protokolu uveden na seznamu látek poškozujících ozonovou vrstvu. V současné době je výroba i spotřeba této látky zakázána Evropským nařízením o látkách, které poškozují ozonovou vrstvu Země. (Petrлік a Válek 2010)

Žádná jiná látka však proti *M. hapla* nemá takovou účinnost jako methylobromid. V současné době jsou zkoumány alternativy k methylobromidu jako jsou: dichloropropen, chloropicrin, metolachlor, trifloxysulfuron, metam potassium, iodomethane, dimethyl

disulfide, 1,3-dichloropropene, fluensulfone, fluopyram a fosthiazate. (Ajwa et al. 2007; Mcsorley a McGovern 1996)

Stejně tak je zkoumán efekt ethandinitrilu, jenž se jeví jako látka, kterou je možné nahradit methylbromid. Již bylo prokázáno, že EDN je účinný prostředek v boji proti několika druhům hád'átek. (Lee et al. 2017; Douda et al. 2020; Park et al. 2014; Arbuzova et al. 2020) (Více o zkoumané látce v kapitole EDN.)

3.7 Od přirozené obrany rostlin k EDN

3.7.1 Přirozená obrana rostlin pomocí kyanogenních sloučenin

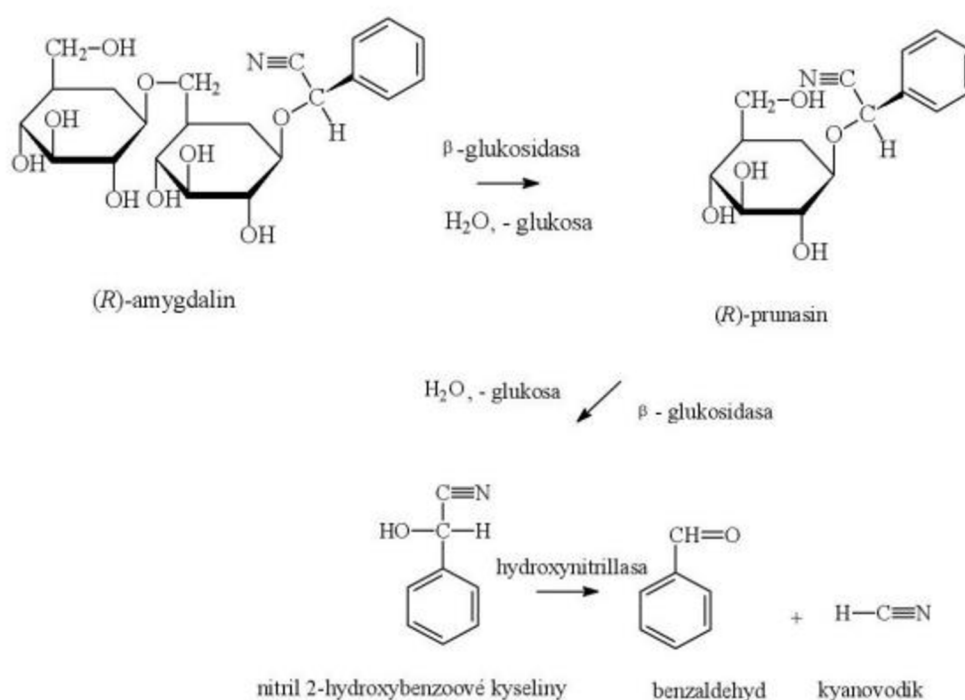
Rostliny si během evoluce přirozeně vytvořily obranné mechanismy proti herbivorům, parazitům a dalším patogenním činitelům. Obranné mechanismy rostlin mohou být pasivní nebo aktivní. Pasivní mechanismy jsou přítomny již před napadením škůdcem, zatímco aktivní jsou indukovány konfrontací se škůdcem. (Howe a Jander 2008)

Parazité rostlin jsou především hmyz a hád'átka. Rostliny se proti parazitům, herbivorům a mikroorganismům brání především **sekundárními metabolity**. SM nejsou přímo zahrnuté do procesu růstu, vývoje, či rozmnožování organismu. Na rozdíl od primárních metabolitů nedostatek těchto látek nezpůsobuje okamžitou smrt, ale v dlouhodobém časovém rozmezí snižuje odolnost. Sekundární metabolity se zařazují do různých skupin, jako fenoly, terpenoidy, dusíkaté sloučeniny. Některé jsou konstitutivně (pasivně) přítomné, jiné jsou indukovatelné a jejich množství se zvyšuje v závislosti na stresu, který syntézu indukuje. Konstitutivně přítomné metabolity jsou produkovány a kumulovány během celého života rostliny. Jsou to například rostliny, které sekretují toxiny do latexu a v důsledku toho mají tyto rostliny hořkou chuť. Indukovatelnou akumulací toxinů disponuje například *Nicotiana glauca*, ve které je stále přítomen nikotin a nornikotin, ale jeho množství se zvyšuje na dvojnásobnou až pětinasobnou hodnotu při poškození. (Divekar et al. 2022)

Toxické látky jsou syntetizovány především mladými listy, jelikož právě ony jsou nejvíce ohroženy parazity. Rostlinná říše disponuje poměrnou variabilitou antinutričních a toxických látek přítomných v rostlinné biomase. Mezi nejrozšířenější toxické látky v rostlinách patří **glykosidy**. Sekundární metabolity, toxické látky v rostlinách mohou být toxické také pro rostlinu samotnou, a proto jsou ukládány ve vakuolách rostlinných buněk v neaktivní formě

glykosidů, esterů nebo peptidů. V těchto formách bývají rozpustnější. Při poškození pletiva herbivorem nebo parazitem jsou tyto látky uvolňovány. (Bhat a Karim 2009)

Mezi glykosidy, které rostliny syntetizují se vyjímají kyanogenní glykosidy, které patří mezi přirozeně se vyskytující kyanosloučeniny v rostlinách. Tyto glykosidy jsou uloženy ve vakuolách a při jejich narušení, při požití herbivory, nebo jiným poškozením rostlinných pletiv, se tyto glykosidy dostávají do cytoplasmy, kde se dostávají do kontaktu s cytoplazmatickými enzymy. Enzymy pak rozkládají kyanogenní glykosidy a dochází k uvolňování kyanovodíku (HCN). Kyanogenní glykosidy jsou charakteristické hořkou chutí, býložravci se jim vyhýbají. V rostlině může být i několik různých kyanogenních glykosidů.



Obrázek 11: rozklad amygdalinu na jedovatý kyanovodík

Významným kyanogenním glykosidem je amygdalin, který se nachází v semenech peckovic jako jsou mandloně, meruňky, broskve, švestky, a třešně. Smrtelná dávka hořkých mandlí pro člověka je 10-60 jader (u dítěte 10, u dospělého 60). (Nyirenda 2020; Kovacikova et al. 2019)

Kyano-sloučeniny jsou látky, které se přirozeně vyskytují v rostlinách. Samy o sobě jsou neškodné. Tyto látky se podle jejich chemické podstaty dělí na již zmíněné kyanogenní glykosidy, dále pseudokyanogenní glykosidy a kyanogenní lipidy. Rozkladem těchto látek se uvolňuje kyanovodík. U člověka způsobí otravu v důsledku blokování enzymu přenášejícího kyslík (cytochrom-oxidasa) a přerušuje transport kyslíku a oxidační procesy v buňkách. (Rohn et al., 2019) Kyanidový jont má vysokou afinitu k železitým jontům a po průniku do buňky

rychle reaguje s trojmocným železem, které se tak nemůže účastnit dýchacího řetězce v mitochondriích. Je tak zablokován přenos elektronu na molekulární kyslík, a ten nemůže pak být využit při oxidačních pochodech. (Rechcigl 2018; Nyirenda 2020)

Kyanogeny jsou obsaženy v manioku, v semenech lnu setého, v semenech mnoha plodů (hrušky, jablka, jeřabiny, bezinky), ve zvýšené míře jsou v nezralých plodech a listech černého bezu. (Harborne 1999; Holstege 2005)

Pseudokyanogenní glykosid cykasin se vyskytuje v cykasovitých rostlinách, které se např. v tropických oblastech používají k lidské výživě, působí nepříznivě na játra, možná i karcinogenně. (Rechcigl 2018)

3.7.2 EDN (Ethandinitril)

Účinky kyanovodíku, jako prostředku proti škůdcům, byly již předmětem zkoumání při fumigaci dřevní hmoty, která byla zasažena tesařky a háďátkem borovým a zdá se být slibným nástrojem také v boji proti háďátku *M. hapla*. (Stejskal et al., 2014) Dnes se již dá využívat k asanaci smrkového dříví napadeného kůrovci. EDN je vhodný zejména na fumigaci většího objemu dříví pod plachtou. (UKZUZ, 2021)

Ethandinitril, jinak také dikyan, nebo EDN je jednou z kyanových sloučenin. Tyto sloučeniny se vyznačují buď jednomocným radikálem $-CN$ nebo aniontem CN^- . Volný radikál nemůže existovat, je ale známa sloučenina dikyan, jejíž vzorec je $(CN)_2$. Atomy uhlíku jsou v ní spojeny trojnými vazbami s atomy dusíku. (National Center for Biotechnology Information 2023)



Obrázek 12: Aplikace EDN na kulatině při kůrovcové kalamitě

Zdroj: eagri.cz available from: [ČAZV \(eagri.cz\)](http://eagri.cz)

Dikyan je jedovatý plyn, vonící po hořkých mandlích. Teplota varu (CN)² je -20,7 °C. Je rozpustný ve vodě a v ethanolu. Jeho spalováním za zvýšeného tlaku s kyslíkem lze dosáhnout namodralého plamene, jehož teplota je asi 4 800 °C. Dikyan je uváděn jako plyn s druhou nejvyšší teplotou hoření. EDN byl poprvé syntetizován v roce 1815 Josephem Louisem Gayem-Lussacem. (National Center for Biotechnology Information 2023)



Obrázek 13: struktura ethandinitrilu
zdroj: National Center for
Biotechnology Information, 2023;
available from:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9999>

Ethandinitril má široké spektrum využití. Využívá se například jako svařovací médium, může se použít při výrobě raketových paliv, dále se využívá v organických syntézách farmaceutickém a agrochemickém průmyslu, také se využívá v nanotechnologiích při výrobě polymerní polovodičové vrstvy a v neposlední řadě, jako fumigační prostředek při zemědělské a lesnické činnosti. (MUNI CTT, 2023; ACGIH 2020)

3.7.2.1 Mechanismus účinku EDN

Je totožný s kyanovodíkem, protože dikyan se rozkládá na kyanidový jont (CN⁻), který zabráni využití kyslíku v buňce, a tak i mitochondriálnímu dýchání, což vede k zadušení na buněčné úrovni. Konkrétně kyanid je inhibítoem cytochrom c oxidázy. Cytochrom c oxidáza je enzymatický membranový komplex, který se účastní posledního článku dýchacího řetězce, při kterém dochází k redukci molekuly O₂ na vodu. Kyanid se naváže na atom železa v tomto enzymu. V důsledku toho se naruší řetězec přenosu elektronů a buňka není schopna aerobně produkovat ATP pro energii. (Wikström a Krab 1979; Wishart et al. 2015; Lim et al. 2010; ATSDR 2000; Center for Quantitative Fisheries Ecology 2010)

EDN má oproti jiným alternativám k methylbromidu několik výhod. Po rozpadu EDN zůstává v půdě celkem významné množství dusíku, se kterým se pak dále dá pracovat při výživě rostlin a při výpočtu hnojících dávek. (Stevens et al., 2017) Dále EDN dobře proniká do půdy, jelikož je těžší než vzduch a jeho aplikace je díky této vlastnosti snazší. (O'Brien et al. 1999)

Faktory, které mohou ovlivnit účinnost fumigantu jsou technika aplikace fumigantu a enviromentální faktory. Zejména půdní vlastnosti – vlhkost půdy a teplota ovlivňují účinek nejvíce, jelikož teplota vzduchu ovlivňuje aktivitu škůdců, kteří při nízké teplotě mají nižší dýchací frekvenci. (Stejskal et al. 2019; Zhou et al. 2019)

EDN je šetrný k životnímu prostředí. K hlavnímu rozkladu dochází ještě v průběhu ošetření, tudíž koncentrace EDN na konci fumigace dosahuje jednotek gramů na metr krychlový, což nebývá problém rychle a bezpečně odvětrat. Zbylé EDN odvětrané do prostředí se při reakci se vzdušnou vlhkostí rychle a samovolně rozkládá. Rozklad EDN je rychlý. Konečnými rozkladnými produkty EDN jsou netoxické látky oxid uhličitý, čpavek a voda. Všechny produkty rozkladu se přirozeně vyskytují v půdě. EDN nerozkládá ozonoféru. (Hall et al., 2018; Ren et al., 2002)

Příznakem otravy u člověka je nevolnost, závrať, bolest v krku – pocit sevření hrdla, dýchací potíže, neklid, zvracení, celková zarudlost – růžové zbarvení kůže; při větší expozici se mohou objevit křeče, tachykardie – vysoká tepová frekvence, bezvědomí a zástava dýchání.

3.7.2.2 Informace od výrobce

Komerční přípravek EDN je vyráběn Lučebními závody Draslovka, a. s. Kolín a je plněn do ocelových tlakových lahví, které jsou osazeny dvouportovým ventilem, který je chráněn ocelovým kloboukem. Proti náhodnému úniku produktu z lahve jsou na obou portech ventilu umístěny plynotěsné zátky, které zároveň slouží jako ochrana proti mechanickému poškození závitů.

Informace o účinné látce

Identifikace
CAS: 460-19-5
EC: 207-306-5
Index. č.: 608-011-00-8

Harmonizovaná klasifikace
Press. Gas
Flam. Gas 1, H220 (Extrémně hořlavý plyn)
Acute Tox. 3*, H331 (Toxický při vdechování)
Aquatic Acute 1, H400 (Vysoce toxický pro vodní organismy)
Aquatic Chronic 1, H410 (Vysoce toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky)

Expoziční limity v pracovním prostředí

Další obchodní názvy
Cyanogen
Dinitril kyseliny šťavelové
EDN
Ethanedinitril

Dikyan
Oxalonitrile
Oxalyl
cyanide

látka	číslo CAS	PEL mg.m ⁻³	NPK-P mg.m ⁻³	zdroj
kyanovodík	74-90-8	1	5	nařízení č. 361/2007 v platném znění (od 29.10.2018)
oxalonitril	460-19-5		20	NIOSH REL

Obrázek 14: Parametry účinné látky; (zdroj: L.Z. Draslovka, a.s.)

VÚRV, v.v.i. a L. Z. Draslovka, a. s. se spolu s lesnickými partnery podílely na testech s cílem získat nová data o účinnosti EDN na různé druhy kůrovců. Jako výsledek byl v roce 2017 vypracován nový postup chemické asanace kůrovcového dřeva pod plachtou na skládkách. Byl schválen ÚKZÚZ a na výjimku byl používán v roce 2018 a 2019.

V sérii testů a provozních fumigací prováděných VÚRV a Draslovkou ve spolupráci s lesníky (např. APHA, Vojenské lesy a Lesy ČR), byla zjištěna vysoká (100%) účinnost přípravku EDN při fumigaci skládek dřeva pod plastovou (PE) plachtou. Již při expozici dřeva EDN po dobu 10 hodin byla zjištěna 100% účinnost na přirozenou populaci lýkožrouta smrkového a dalších podkorních škůdců.

3.7.2.2.1 Odborná způsobilost pro práci s EDN

Nakládání s přípravkem akutně toxickým kategorie 2 (Acute Tox. 2, H330) musí být zabezpečeno odborně způsobilou osobou (§44b zákona č. 258/2000 Sb., ve znění pozdějších předpisů). Osoby provádějící aplikaci musí mít odpovídající kvalifikaci a praxi pro práci s EDN a musí znát bezpečnostní postupy. Jen speciálně vyškolené a certifikované osoby mohou zacházet s EDN. Takovéto školení a certifikace musí jednak splnit všechny požadované zákonné normy a nad jejich rámec musí proběhnout certifikace výrobcem EDN, Lučebními závody Draslovka a.s. Kolín, podle aplikačního manuálu, který je nutné také dodržovat.

3.7.2.2.2 Aplikace EDN

Půda, na kterou bude EDN aplikováno, by měla být bez hrud, protože hroudy brání účinnému utěsnění půdy a snižuje účinnost fumigantu EDN. Před aplikací fumigantu je nutné důkladně rozbít hroudy a zarovnat vrchní vrstvu půdy. Na pozemku by neměly být rostlinné zbytky z předchozích plodin. Půda by měla být přiměřeně vlhká, v dobrých podmínkách pro zpracování. Optimální teplota půdy pro aplikaci EDN v hloubce zavádění je mezi 5 °C a 35 °C. (Draslovka a.s.)

Použití EDN fumigantu vyžaduje použití specifických nepropustných fólií s nízkým koeficientem LMTC pro minimalizaci emisí plynu. (Draslovka a.s.)

Půda by měla být dostatečně zvlhčena v požadované zóně fumigace. EDN fumigant lze aplikovat jako rozsáhlou nebo řádkovou léčbu. Měl by být aplikován alespoň 20 cm hluboko

pod povrchem půdy pomocí injekčního zařízení s radlicí. Ihned po injekci fumigantu do půdy (jak u rozsáhlé léčby, tak u řádkové léčby) je nutné půdu zakrýt těsnící fólií, aby se minimalizoval únik fumigantu a zvýšila účinnost fumigantu. Těsnící fólie by měla ležet na půdě po dobu 5 dnů. Následuje 5 dní odvětrávání před výsadbou plodin. Výsadba by měla probíhat v rámci ošetřené oblasti. (Draslovka a.s.)

3.7.2.2.3 Bezpečnostní pokyny

Přípravek je nebezpečný, nesmí se vdechovat. Může způsobit smrt při inhalaci. Je jedovatý při vstřebání do kůže a při požití. Dráždí oči, nos, hrdlo a kůži. Vyhněte se kontaktu s očima a kůží. Při používání produktu, při přípravě produktu k aplikaci a při odhalování ošetřené oblasti/materiálu je doporučeno nosit bavlněné overaly zapnuté až ke krku a zápěstí (nebo ekvivalentní oblečení), chemické rukavice sahající po lokty, nepropustnou obuv a celoobličejový respirátor s kazetou určenou pro EDN (nebo při hladinách nad 50 ppm) dýchací přístroj s dodávkou vzduchu. (Draslovka a.s.)

4 Metodika

Na volné půdě budou provedeny testy biologické účinnosti EDN na mortalitu hád'átka *M. hapla*. Půdní blok bude rozdělen na části a jednotlivé části/pruhy půdního bloku, které budou reprezentovat varianty pokusu, na nichž budou sledovány výnosové charakteristiky mrkve. Tyto varianty budou ošetřeny různou dávkou fumigantu EDN. Do ošetřené půdy pak bude zaseta mrkev.

4.1 Použitý materiál a technika:

K realizaci projektu je využita TIF folie o šířce 150 cm. Dále jako základ pro aplikační zařízení se využije tažený mulčovač Rain-flo 2600, který pokládá a zároveň přihrnuje dostatečným množstvím zeminy TIF fólii.

Mulčovač je možné připojit ke standardnímu tříbodovému závěsu traktoru kategorie II. Kontinuálně je možné regulovat hloubku kultivace a sílu napětí kladené folie. Dále je možné nastavit přítlak rotačních radlic, které zajišťují zakrytí folie zeminou. Také je možné regulovat přítlak válce, který formuje povrch záhonu. Zařízení je dále vybaveno sedačkou pro obsluhu a místem pro umístění tlakové nádoby pro hnací plyn a válců, jež zajišťují plynulé odvíjení zakrývací TIF folie.



Obrázek 15 Mulčovač Rain-Flo 2600
zdroj: www.rainfloirrigation.com

Fumigační prostředek EDN byl dodán firmou L. Z. Draslovka, a. s.

4.2 Experiment

Lokalita

Pokus bude probíhat na pokusném poli o rozloze cca 1 ha ve Středočeském kraji, v katastrálním území Litol, v obci Lysá nad Labem, v blízkosti řeky Labe. Lokalita je přirozeně zamořená háďátkem *M. hapla*. Pokusná parcela bude před pokusem rozdělena na pásy o šířce 1,5 m a délce 150 m. Jednotlivé pásy budou od sebe odděleny metr širokou mezerou. Tyto pásy budou plochou pro testování variant pokusu.



Obrázek 16: Lokace na části mapy Středočeského kraje (mapy.cz)



Obrázek 17: Pokusné pole (žlutá oblast) - ortofoto z katastrálních map
Zdroj: nahlizeniidokn.cuzk.cz



Obrázek 18: půda ošetřená fumigantem EDN, zpracovaná do pásů přikrytých TIF folií, k zabránění úniku fumigantu
zdroj: autor práce

Varianty

Na pokusné parcele budou pak v jednotlivých pásech založeny dvě varianty pokusu s rozdílnou dávkou EDN a 2 kontrolní varianty. Ve variantách pokusu s aplikací EDN byly aplikovány 2 varianty s dávkováním 30 g EDN/m² a 50 g EDN/m². Kontrolní varianty budou založeny na půdě bez aplikace EDN. Jedna z variant bude

přikryta TIF folií. Rozpis řádků s příslušnými variantami je v tabulce níže.

Tabulka 3: Rozpis s variantami

Řádek	Popis varianty
A	neošetřená kontrola
B	kontrola přikrytá fólií
C	kontrola přikrytá fólií
D	30 g EDN/m ²
E	30 g EDN/m ²
F	50 g EDN/m ²
G	50 g EDN/m ²

Fumigace EDN

EDN bude aplikován za pomoci mulčovače Rain-flo 2600. Fumigant bude vstřikován do půdy do hloubky 25 cm a takto ošetřená půda bude ihned přikryta TIF folií, která bude zahrnuta z obou stran zeminou mulčovačem tak, aby plyn nemohl z půdy uniknout. Pro správnou účinnost EDN je nezbytné pokusnou plochu dobře zajistit proti úniku fumigantu a nechat fumigant působit dostatečnou dobu. Poté budou zbytky plynu postupně odvětrávány, přičemž brzy dojde k rozkladu fumigantu.

Do takto připravené půdy bude poté zaseta mrkev obecná, která bude pěstována za stejných postupů a podmínek, jako při běžném, komerčním pěstování mrkve.

Odběr vzorků pro hodnocení

Odebrány budou vzorky rostlin z předem určených partií pozemku dle modelu úplného znáhodnění, které jsou hodnoceny jako technologické opakování.

Na každé variantě se bude sbírat z 15 lokalit. Z každé lokality se odebere 10 rostlinných vzorků, na kterých se pak budou vyhodnocovat výnosové charakteristiky rostlin a poškození háďátky.

Na vzorcích pak jsou sledovány tyto charakteristiky:

Počet hálek

Hmotnost kořene

Hmotnost natě

Délka kořene

Data budou statisticky vyhodnocena pomocí programu Statistika 12 a Excelu. Bude využita jednofaktorová ANOVA analýza pro každou charakteristiku zvlášť. Zjistím tak F-hodnoty a p – hodnoty, které umožňují posoudit statistickou významnost mezi variantami pro každou charakteristiku zvlášť. Dále provedu další kontrolní test.

4.3 Stanovení hypotézy

Pro analýzu jsem si stanovil nulovou a alternativní hypotézu.

Nulová hypotéza (H₀): Neexistuje žádný statisticky významný rozdíl mezi hodnotami charakteristik (počet hálek, hmotnost kořene, hmotnost listů, délka kořene) kontrolních a experimentálních skupin.

Alternativní hypotéza (H₁): Existuje statisticky významný rozdíl mezi hodnotami charakteristik (počet hálek, hmotnost kořene, hmotnost listů, délka kořene) kontrolních a experimentálních skupin.

U všech testů jsem si stanovil hladinu významnosti $\alpha = 0,05$.

5 Výsledky

Popis a shrnutí:

Výsledky testování jsou v grafech v následujících kapitolách. Data jsem podrobil dvěma testům, na kterých jsem ověřoval předpoklad alternativní hypotézy. Data byla zpracovávána v programu Statistica 12.

Jelikož se sklízela mrkev o něco dříve a nerozvinula se úplně, tak největší váhu ve statistickém vyhodnocování mají počty hálek na kořeni.

Při analýze datového souboru jsem nejprve vyhodnotil popisné charakteristiky. V následující tabulce uvádím průměrné hodnoty charakteristik se směrodatnými odchylkami. Z tabulky je zřejmé, že obě koncentrace testovaného EDN měly významný vliv na množství tvořených hálek na kořenech rostlin. V kontrastu s ošetřenou variantou jsou obě kontrolní varianty, které byly silně napadené hád'átkem, která tak tvořila průměrně mnohanásobně více hálek.

Můžeme si také všimnout mírné odlišnosti mezi kontrolou krytou fólií a neošetřenou variantou. Tento efekt byl patrně způsoben sterilizačním účinkem TIF folie zakrývající pokusnou variantu s kombinací slunečního záření.

Tabulka 4: Popisné charakteristiky průměrné hodnoty charakteristik se směrodatnými odchylkami. Počet hálek s roustoucím množstvím aplikovaného EDN klesá a blíží se 0. Malá písmena jsou výsledkem post – hoc Tukeyova a Bonferroniho testu. Hmotnost natě stoupá. Délka kořene stoupá.; Data zpracována pomocí programu Statistica 12 a Excel

Varianta	počet hálek	hmotnost kořene	hmotnost natě	délka kořene
neošetřená kontrola	12,55 ± 16,59 ^a	1,28 ± 1,08 ^a	1,33 ± 0,71 ^a	5,65 ± 1,77 ^a
kontrola krytá fólií	10,02 ± 12,71 ^a	2,22 ± 2,04 ^b	1,88 ± 1,25 ^a	7,97 ± 3,71 ^b
30 g EDN/m ²	0,40 ± 1,24 ^b	2,19 ± 1,86 ^b	3,11 ± 2,24 ^b	8,14 ± 3,00 ^b
50 g EDN/m ²	0,48 ± 1,65 ^b	1,46 ± 1,13 ^a	3,05 ± 4,57 ^b	8,52 ± 8,48 ^b

Výsledky prokázaly kladný účinek aplikace EDN. EDN má vliv na snížení napadení hád'átkem *M. hapla*. Největší statisticky významný rozdíl byl v posuzování počtu hálek na kořenech rostlin, přičemž mezi oběma pozitivními koncentracemi EDN nebyl výrazný rozdíl. Výsledkem většiny testů bylo rozdělení do skupin. Jedna skupina obsahuje ošetřené varianty,

které lépe prosperovaly a druhou skupinou jsou kontrolní varianty, u kterých byl vývoj utlumen přítomností hád'átek.

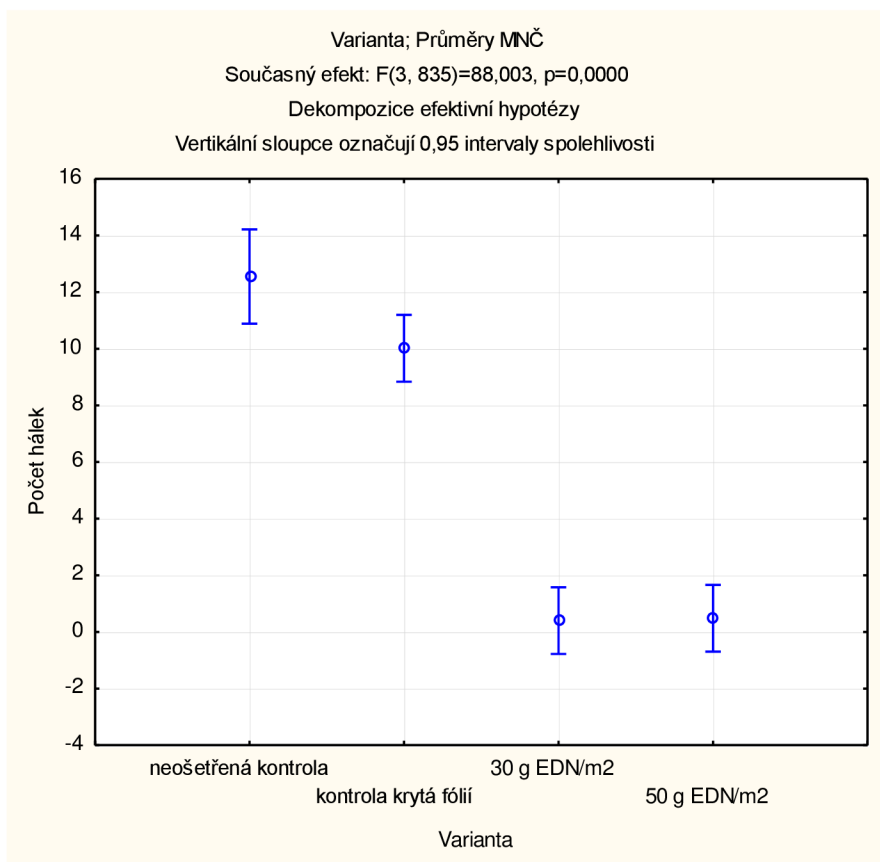
Avšak data k charakteristice hmotnosti kořene se lišila. Je to patrné již z tabulky popisných charakteristik výše. Průměrná hmotnost kořene ošetřená koncentrací 50 g EDN/m² je blíže k hodnotě neošetřené kontroly bez folie. Předpoklad je, že tento rozdíl mohl být způsoben několika faktory – časnější sklizní, možným fyto toxickým efektem, nerovnoměrné hnojení.

5.1 První testování: jednofaktorová ANOVA analýza

Počet hálek

Na grafu níže je zřejmé, že počet hálek s rostoucím množstvím aplikovaného EDN klesá a blíží se nule. Háčky jsou hlavním indikátorem přítomnosti hád'átek. Z tohoto faktu vyplývá, že EDN má pozitivní vliv na mortalitu hád'átek.

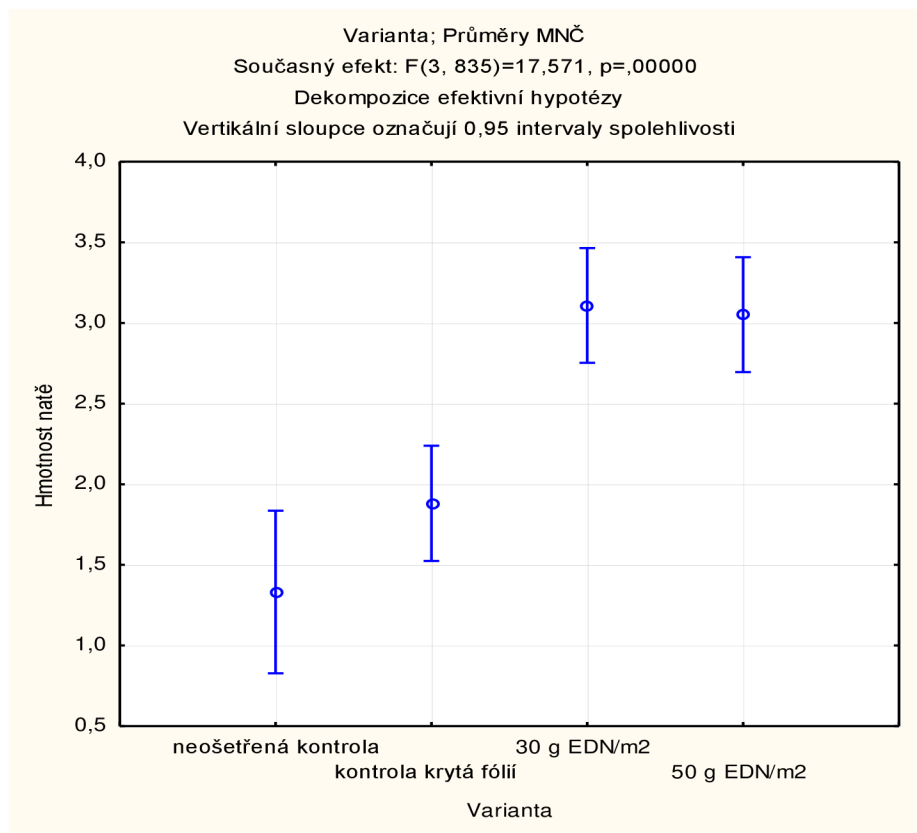
Graf 1: Výsledný graf jednofaktorové ANOVA analýzy vztažené ke hmotnosti natě



Hmotnost natě

Na hmotnosti natě lze také dokázat, že díky eliminaci háďátek se rostliny lépe rozvíjely (graf 2). Hodnota $P < 0.05$, což znamená, že rozdíly mezi variantami jsou statisticky významné.

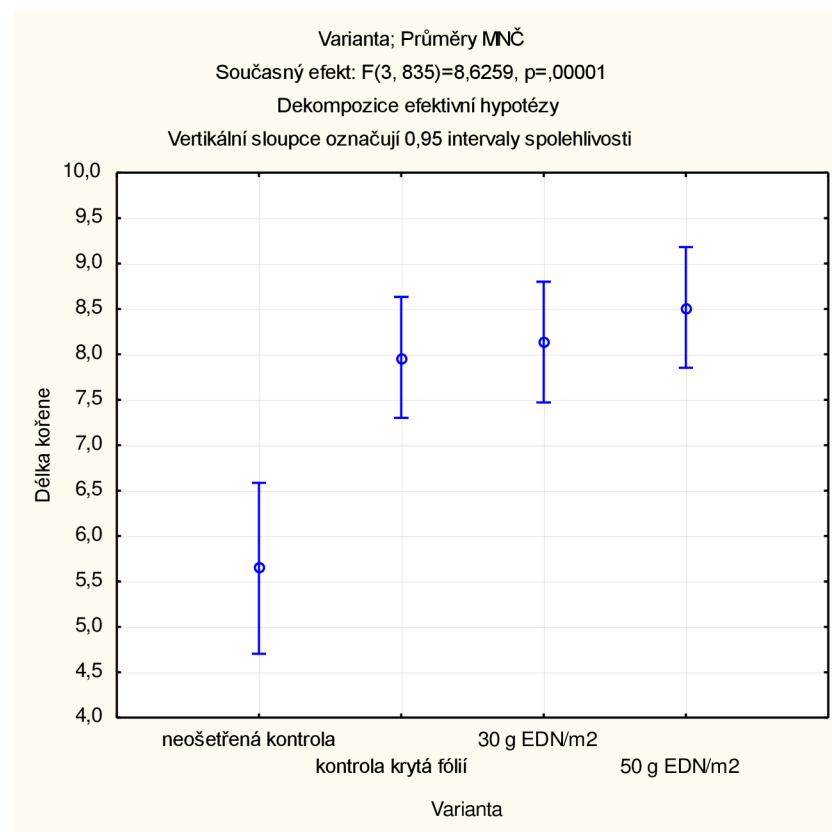
Graf 2: Výsledný graf jednofaktorové ANOVA analýzy vztážené ke hmotnosti natě



Délka kořene

Obdobné výsledky jako v předchozích analýzách jsou i u délky kořene. Avšak zde u kontrolní varianty kryté fólií je podobná délka kořenů k variantám s aplikací EDN.

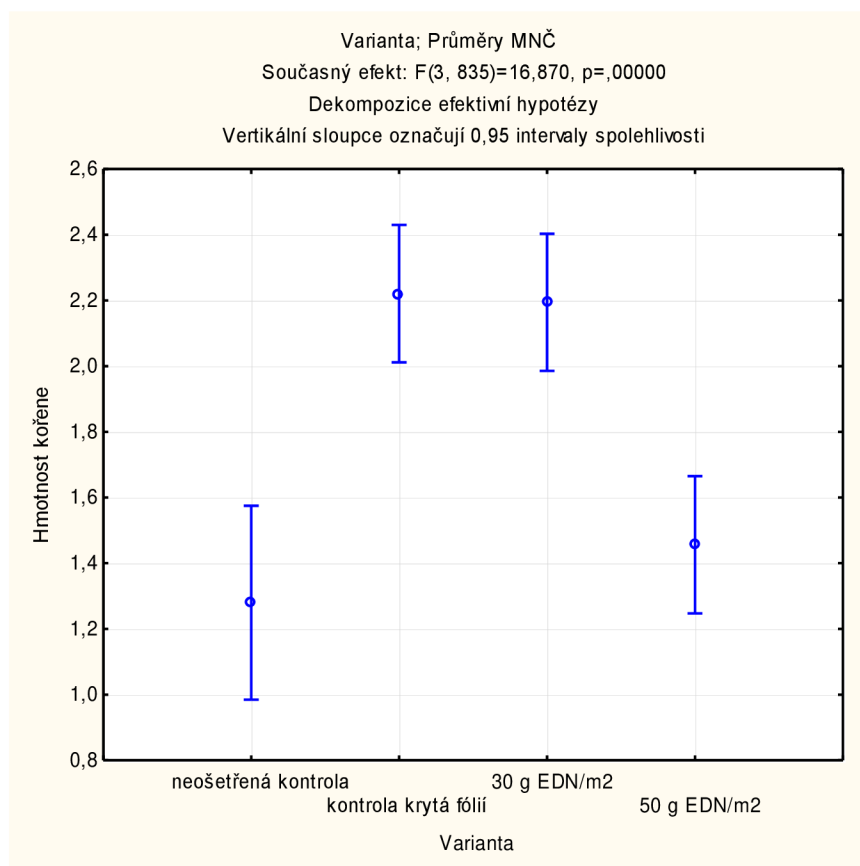
Graf 3: Výsledný graf jednofaktorové ANOVA analýzy vztážené k délkám kořenů



Hmotnost kořene

Poměrně odlišný výsledek od předchozích analýz na grafu níže. Průměrná hmotnost kořene u dávky 50 g EDN/ m² je o dost nižší než u druhé kontrolní varianty a 30g dávky. Dokonce je tato hodnota srovnatelná s neošetřenou kontrolou bez folie. Pravděpodobně je to způsobeno tím, že 50g dávka může být do určité míry fytotoxická.

Graf 4: Výsledný graf jednofaktorové ANOVA analýzy vztahené ke hmotnosti kořene



5.1.1 Post hoc Tukeyův test

Tukeyův test je statistický test, který se používá k identifikaci konkrétních párů skupin, mezi kterými existují statisticky významné rozdíly v průměrných hodnotách.

Výsledky, rozřazení do skupin, jsem již interpretoval v tabulce s průměrnými hodnotami na 1. straně kapitoly Výsledky.

Výsledky Tukeyova testu:

Tabulka 5: Test pro počet hálek

Tukeyův HSD test; proměnná Počet hálek (HÁDÁTKA DATA) Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 86,476, sv = 835,00					
Č. buňky	Varianta	{1}	{2}	{3}	{4}
		12,550	10,017	,40000	,47917
1	neošetřená kontrola		0,070667	0,000008	0,000008
2	kontrola krytá fólií	0,070667		0,000008	0,000008
3	30 g EDN/m ²	0,000008	0,000008		0,999710
4	50 g EDN/m ²	0,000008	0,000008	0,999710	

Tabulka 6: Test pro hmotnost kořene

Tukeyův HSD test; proměnná Hmotnost kořene (HÁDÁTKA DATA) Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 2,7166, sv = 835,00					
Č. buňky	Varianta	{1}	{2}	{3}	{4}
		1,2796	2,2207	2,1942	1,4560
1	neošetřená kontrola		0,000009	0,000012	0,773532
2	kontrola krytá fólií	0,000009		0,998058	0,000010
3	30 g EDN/m ²	0,000012	0,998058		0,000013
4	50 g EDN/m ²	0,773532	0,000010	0,000013	

Tabulka 7: Test pro hmotnost natě

Tukeyův HSD test; proměnná Hmotnost natě (HÁDÁTKA DATA) Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 7,9166, sv = 835,00					
Č. buňky	Varianta	{1}	{2}	{3}	{4}
		1,3312	1,8814	3,1090	3,0517
1	neošetřená kontrola		0,299056	0,000008	0,000008
2	kontrola krytá fólií	0,299056		0,000018	0,000038
3	30 g EDN/m ²	0,000008	0,000018		0,996089
4	50 g EDN/m ²	0,000008	0,000038	0,996089	

Tabulka 8: Test pro délku kořene

Tukeyův HSD test; proměnná Délka kořene (HÁDÁTKA DATA) Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 27,536, sv = 835,00					
Č. buňky	Varianta	{1}	{2}	{3}	{4}
		5,6458	7,9674	8,1354	8,5171
1	neošetřená kontrola		0,000468	0,000135	0,000013
2	kontrola krytá fólií	0,000468		0,985237	0,660713
3	30 g EDN/m ²	0,000135	0,985237		0,855945
4	50 g EDN/m ²	0,000013	0,660713	0,855945	

5.2 Druhé testování

5.2.1 Test normality dat

Provedl jsem 2 testy na normální rozdělení dat, Kolmogorov-Smirnovův test a Shapiro – Wilkův test.

Kolmogorov-Smirnovův test: $p < 0.01$ u všech sledovaných charakteristik

Shapiro – Wilkův test: $p < 0,05$ u všech sledovaných charakteristik

Z výsledku těchto testů lze soudit, že data nevykazují normální rozdělení.

Grafy a hodnoty jsou uvedené v přílohách (Testy normality).

Proto byly proveden ještě Kruskal - Wallisův test.

5.2.2 Kruskal - Wallisův test

Hlavním výstupem Kruskal Wallisova testu je hodnota H a p-hodnota. Pokud je p-hodnota menší než hladina významnosti, znamená to, že mezi skupinami existují statisticky významné rozdíly.

U všech testů (viz tabulky níže) vyšla p hodnota menší než je hladina významnosti, mezi variantami tedy existují statisticky významné rozdíly a EDN má na háďátka a jeho působení na rostliny významný vliv.

Tabulka 9 Kruskal-Wallisův test pro počet hálek

Závislá: Počet hálek	Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na poř.; Počet hálek (HÁDÁTKA DATA) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: $H (3, N= 839) =457,6121$ $p =0,000$			
	Kód	Počet platných	Součet pořadí	Prům. Pořadí
neošetřená kontrola	1	120	77151,5	642,9292
kontrola krytá fólií	2	239	142113,0	594,6151
30 g EDN/m ²	3	240	66466,5	276,9438
50 g EDN/m ²	4	240	66649,0	277,7042

Tabulka 10 Kruskal-Wallisův test pro délku kořene

Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na poř.; Délka kořene (HÁDÁTKA DATA) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H (3, N= 839) =63,75687 p =,0000				
Závislá: Délka kořene	Kód	Počet platných	Součet pořadí	Prům. Pořadí
neošetřená kontrola	1	120	31274,5	260,6208
kontrola krytá fólií	2	239	103830,5	434,4372
30 g EDN/m2	3	240	112643,0	469,3458
50 g EDN/m2	4	240	104632,0	435,9667

Tabulka 11: Kruskal-Wallisův test pro hmotnost kořene

Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na poř.; Hmotnost kořene (HÁDÁTKA DATA) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H (3, N= 839) =33,83561 p =,0000				
Závislá: Hmotnost kořene	Kód	Počet platných	Součet pořadí	Prům. Pořadí
neošetřená kontrola	1	120	40603,5	338,3625
kontrola krytá fólií	2	239	108241,0	452,8912
30 g EDN/m2	3	240	112269,5	467,7896
50 g EDN/m2	4	240	91266,0	380,2750

Tabulka 12: Kruskal-Wallisův test pro hmotnost natě

Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na poř.; Hmotnost natě (HÁDÁTKA DATA) Nezávislá (grupovací) proměnná : Varianta Kruskal-Wallisův test: H (3, N= 839) =157,2464 p =0,000				
Závislá: Hmotnost natě	Kód	Počet platných	Součet pořadí	Prům. Pořadí
neošetřená kontrola	1	120	28489,0	237,4083
kontrola krytá fólií	2	239	81221,0	339,8368
30 g EDN/m2	3	240	125966,5	524,8604
50 g EDN/m2	4	240	116703,5	486,2646

5.2.3 Post – hoc Bonferroniův test

Alternativou pro Tukeyův test (1. testování) pro identifikaci skupin, kterých se statistické rozdíly týkají, je Bonferroniův test. Bonferroniův test, nebo také Bonferroniho korekce. Tento test je vhodný pro data, která nesplňují předpoklady normálního rozdělení dat.

Bonferroniho korekce spočívá v dělení hladiny významnosti (α) počtem provedených testů. Tímto způsobem můžete provést mnohonásobná porovnání a identifikovat skupiny se statisticky významnými rozdíly, aniž byste zvýšili pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků.

Výsledky rozdělení do skupin pomocí Bonferroniho testu jsou stejné s Tukeyovým testem.

Tabulka 13: Post – hoc Bonferroniův test pro hmotnost kořene

Bonferroniho test; proměnná Hmotnost kořene (HÁDÁTKA DATA) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 2,7166, sv = 835,00				
Č. buňky	Varianta	Hmotnost kořene Průměr	1	2
1	neošetřená kontrola	1,279583	****	
4	50 g EDN/m2	1,456042	****	
3	30 g EDN/m2	2,194167		****
2	kontrola krytá fólií	2,220711		****

Tabulka 14: Post – hoc Bonferroniův test pro hmotnost natě

Bonferroniho test; proměnná Hmotnost natě (HÁDÁTKA DATA) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 7,9166, sv = 835,00				
Č. buňky	Varianta	Hmotnost natě Průměr	1	2
1	neošetřená kontrola	1,331250	****	
2	kontrola krytá fólií	1,881381	****	
4	50 g EDN/m2	3,051667		****
3	30 g EDN/m2	3,108958		****

Tabulka 15: Post – hoc Bonferroniův test pro délku kořene

Bonferroniho test; proměnná Délka kořene (HÁDÁTKA DATA) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 27,536, sv = 835,00				
Č. buňky	Varianta	Délka kořene Průměr	1	2
1	neošetřená kontrola	5,645833		****
2	kontrola krytá fólií	7,967364	****	
3	30 g EDN/m2	8,135417	****	
4	50 g EDN/m2	8,517083	****	

Tabulka 16: Post – hoc Bonferroniův test pro počet hálek

Bonferroniho test; proměnná Počet hálek (HÁDÁTKA DATA) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 86,476, sv = 835,00				
Č. buňky	Varianta	Počet hálek Průměr	1	2
3	30 g EDN/m2	0,40000	****	
4	50 g EDN/m2	0,47917	****	
2	kontrola krytá fólií	10,01674		****
1	neošetřená kontrola	12,55000		****

6 Diskuze

Ethandinitril se zkoumá jako alternativa k dříve používanému methylbromidu, který byl zakázán kvůli jeho účinkům na ozonovou vrstvu. V této práci byla zkoumána jeho účinnost na mortalitu hád'átka *M. hapla*. EDN snadno proniká do půdy a nezanechává v půdě žádná rezidua a neznečišťuje podzemní vodu. Díky těmto vlastnostem se hodí k využití při ochraně rostlin proti škůdcům.

Práce byla samostatně zpracovávána na části pokusu, který byl realizován a hodnocen v článku „*Field Validation of the Effect of Soil Fumigation of Ethanedinitrile (EDN) on the Mortality of Meloidogyne hapla and Carrot Yield Parameters*“ (Douda, Zouhar, Manasová, Hnatek a Stejskal 2021). Ta část pokusu, na kterém se zkoumal vliv EDN na mortalitu hád'átek *M. hapla* a která je zpracovávána v mé práci, byla realizována ke konci léta a rozdíly v jednotlivých kontrolních variantách pokusu a variantách ošetřených EDN nebyly tolik výrazné, jako v druhé části, která probíhala časněji a je součástí komplexnější analýzy ve zmíněném článku. (Douda et al. 2021)

Z výsledků analýzy v této práci vyplývá, že EDN má efekt na intenzitu napadení rostlin hád'átky a na velikost populace hád'átek v ošetřené půdě, a tak i na zlepšení růstu rostlin mrkve. Největším indikátorem vlivu na populace hád'átek *M. hapla* je v rámci mé práce výskyt hálek na kořenech rostlin. Z dat bylo zřejmé, že většina rostlin rostoucích v ošetřené půdě nemá žádné háčky na kořenech.

Také u dalších charakteristik byl prokázán statistický rozdíl mezi jednotlivými variantami. Druhou charakteristikou, u které se statisticky nejvíce projevil kladný efekt EDN na redukci populace hád'átka a na lepší životaschopnosti rostlin, byla hmotnost natě. Rostliny díky větší listové ploše jsou schopné asimilovat více látek v listech. Fotosyntéza intenzivněji probíhá ve zdravých nenapadených rostlinách. Na napadených rostlinách se mohou vyskytovat chlorózy a další poruchy, které mohou ovlivňovat proces fotosyntézy a růst rostlin. Za zmínku také stojí to, že hád'átka svou aktivitou na rostlinách otevírají možnosti pro další patogeny. Rostliny oslabené hád'átky jsou náchylnější například k houbovým chorobám a výkyvům počasí.

U charakteristiky hmotnosti kořene z analyzování dat vyplývá, že průměrná hmotnost kořene při koncentraci 50 g EDN/m² je nižší než při 30g koncentraci. Tento efekt může souviset s koncentrací dávky. Koncentrace 50 g EDN/m² může být fytotoxická a mohlo by to být předmětem dalšího zkoumání. Je možné, že průměrná hmotnost kořene byla ovlivněna jiným faktorem nebo kombinací více faktorů (například nerovnoměrné hnojení, výskyt jiného škůdce či choroby, nerovnoměrnost vsakování srážek). Avšak je vhodné k tomuto doplnit, že median hmotnosti kořene rostlin ve variantě ošetřené 50 g EDN/ m² je vyšší než u ostatních variant pokusu.

U analyzování hmotnosti kořene také nebyl nijak výrazný rozdíl mezi průměry kontrolní varianty kryté fólií a 30g koncentrace EDN/m².

Výsledky analýzy délky kořene potvrzují kladný vliv EDN na rozvoj rostlin. Nejkratší kořeny měly rostliny v kontrolní variantě bez krycí TIF fólie. Kontrolní varianta s TIF folií byla blíže svými hodnotami k variantě s 30 g EDN než k 1. kontrolní variantě. Rozdíl mezi 30g a 50g koncentrací nebyl moc zřetelný.

Již dříve byl zkoumán účinek EDN na hád'átka *Steinernema carpocapsae*, které parazituje na hmyzích škůdcích a využívá se jako bioagens. Bylo zjištěno, že EDN vykazuje obdobný nematocidní efekt jako methylbromid. (Ren et al. 2002; Waterford et al. 2004) Tento nematocidní efekt ale nebylo dosud možno vztáhnout na všechna hád'átka. *M. hapla* žije v odlišném prostředí, je ukryto v rostlinném pletivu v hálkách kořenů, které je do určité míry mohou chránit před nematocidy. Později však vznikla studie (Chung et al. 2007), která zkoumala vliv EDN na hád'átka *Meloidogyne* spp v podmínkách skleníku. V jejich pokuse byly využity menší dávky EDN (do 10 g/m²) a přesto byla prokázána vysoká efektivita při ochraně rostlin. Existují ještě další studie, které zkoumají pozitivní vliv EDN na snížení populace hád'átek v půdě a tvrdí, že jeho účinnost je srovnatelná s methylbromidem (Kokalis-Burelle et al. 2007; Mattner et al. 2006).

Při použití fumigantu se EDN začíná rozkládat. Benefitem použití EDN je jeho rozklad na neškodné produkty. Rozkládá se na netoxické látky a látky s hnojivým účinkem.

Nevýhodou aplikace EDN je jeho nebezpečnost pro pracovníky při manipulaci a aplikaci. EDN je vysoce toxický a může člověka ohrozit na zdraví. Zacházet proto s ním může jen proškolený personál.

Měla by být také zmíněna další nevýhoda. EDN má, tak jako na škůdce, stejný účinek na prospěšné a na necílové organismy, které bouhužel v ošetřovaném půdním horizontu odumřou. Následně se z větších hloubek půdy opět rozšíří (Mattner et al. 2006). Lze předpokládat, že větší nematocidní vliv bude EDN mít na *M. hapla*, protože parazit nežije v takových hloubkách. Jak velký vliv má EDN na populace necílových organismů? Toto by mělo být předmětem dalšího zkoumání.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo zjistit účinnost fumigačního prostředku, ethandinitrilu (EDN), na mortalitu fytoparazitického hád'átka *Meloidogyne hapla* při pěstování mrkve v polních podmínkách. V literární rešerši byla věnována pozornost popisu škůdce, hád'átka *M. hapla*, taxonomii, morfologii, diagnostice a hád'átkům v širším kontextu. Byly shrnuty možnosti ochrany a popsán fumigační prostředek EDN.

Analýzou vzorků a nasbíraných dat byla ověřována hypotéza, že EDN je účinný prostředek vhodný k použití jako nematocid proti *M. hapla*. Byly zkoumány dvě koncentrace EDN, 50 a 30 g EDN/m² v kontrastu s neošetřenými variantami. Sledovány byly čtyři faktory, které poukazovaly na přítomnost hád'átek a výnosové charakteristiky na rostlinách mrkve. Hlavním faktorem pro hodnocení byl výskyt hálek na kořenech rostlin pěstovaných na půdě ošetřené fumigantem v porovnání s variantami s neošetřenou půdou.

Prováděné testy potvrdily statisticky významný rozdíl mezi množstvím napadených rostlin v ošetřených a neošetřených variantách. Lze konstatovat, že ethandinitril je účinný prostředek, po kterém nezůstávají rezidua v půdě a je po rozkladu šetrný k životnímu prostředí. Fumigant se také účinně využívá při hubení dalších škůdců, jako je kůrovec a tesařík. Plyn jako takový je ale vysoce toxický pro veškeré organismy a je třeba dbát na bezpečnost práce během jeho aplikace.

8 Literatura

ABD-ELGAWAD, M. M. M. a T. H. ASKARY, 2015. Impact of phytonematodes on agriculture economy. *Biocontrol agents of phytonematodes* [online]. 3–49 [vid. 2023-04-16]. Dostupné z: doi:10.1079/9781780643755.0003

ABRANTES, Isabel, M. Teresa ALMEIDA, I. Luci CONCEIÇÃO, Ivânia ESTEVES a Carla MALEITA, 2023. Nematodes of potato and their management. *Potato Production Worldwide* [online]. 213–240 [vid. 2023-04-16]. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-822925-5.00024-4

ADAMSON, Martin L., 1987. Phylogenetic analysis of the higher classification of the Nematoda. *Canadian Journal of Zoology*. **65**(6), 1478–1482. ISSN 0008-4301.

AGRIOS, George N., 2005. *Plant pathology*. B.m.: Elsevier. ISBN 0080473784.

AJWA, H. A., T. TROUT, J. MUELLER, S. WILHELM, S. D. NELSON, R. SOPPE a D. SHATLEY, 2007. Application of Alternative Fumigants Through Drip Irrigation Systems. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.12.1349> [online]. **92**(12), 1349–1355 [vid. 2023-04-18]. ISSN 0031949X. Dostupné z: doi:10.1094/PHYTO.2002.92.12.1349

ARBUZOVA, Elena N., Oleg A. KULINICH, Andrei A. CHALKIN, Volker WEIS, Ruslan K. MAGOMEDOV, Yakov B. MORDKOVICH, Natalia I. KOZYREVA a Alexander Yu RYSS, 2020. Efficacy of ethanedinitrile fumigant application against the pinewood nematode, *bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchidae), in pine logs. *Russian Journal of Nematology* [online]. **28**(1), 71–78 [vid. 2023-04-18]. ISSN 08696918. Dostupné z: doi:10.24411/0869-6918-2020-10006

ATSDR, Thallium, 2000. ATSDR (Agency for toxic substances and disease registry). *Prepared by clement international corp., under contract*. **205**, 88–608.

BALDACCI-CRESP, Fabien, Mickaël MAUCOURT, Catherine DEBORDE, Olivier PIERRE, Annick MOING, Renaud BROUQUISSE, Bruno FAVERY a Pierre FRENDO, 2015. Maturation of nematode-induced galls in *Medicago truncatula* is related to water status and primary metabolism modifications. *Plant Science* [online]. **232**, 77–85 [vid. 2023-04-18]. ISSN 0168-9452. Dostupné z: doi:10.1016/J.PLANTSCI.2014.12.019

BARRETO, Alcileide V, Gustavo R C TORRES, Hugo A MEDEIROS, Rui SALES, Júnior GLAUBER, H S NUNES, Eduardo J DE ALMEIDA, Pedro L M SOARES, Adriana R DA SILVA, Jaime M DOS SANTOS, Editado POR, Claudio MARCELO, Oliveira RESUMO -ALMEIDA, P L M SOARES, A R SILVA a J M SANTOS, 2008. Novos Registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil e Estudo Morfológico Comparativo com *M. incognita*. *Web of Science* [online]. **32**(236), 236–241 [vid. 2023-04-17]. ISSN 0102-2997. Dostupné z: doi:10.17616/R31N39

BARRON, G. L., 1977. The nematode-destroying fungi. *The nematode-destroying fungi*.

BHAT, Rajeev a A. A. KARIM, 2009. Exploring the Nutritional Potential of Wild and Underutilized Legumes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. **8**(4), 305–331 [vid. 2023-04-17]. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/J.1541-4337.2009.00084.X

BIRD, J. a R. P. HERD, 1995. In vitro assessment of two species of nematophagous fungi (*Arthrobotrys oligospora* and *Arthrobotrys flagrans*) to control the development of infective cyathostome larvae from naturally infected horses. *Veterinary Parasitology* [online]. **56**(1–3),

181–187 [vid. 2023-04-18]. ISSN 0304-4017. Dostupné z: doi:10.1016/0304-4017(94)00663-W

BLOK, V. C. a T. O. POWERS, 2009. Biochemical and molecular identification. In: *Root-knot nematodes* [online]. UK: CABI, s. 98–118. Dostupné z: doi:10.1079/9781845934927.0098

CABI COMPENDIUM, 2022. Meloidogyne hapla (root knot nematode). *CABI Compendium* [online]. **CABI Compendium**. ISSN 2958-3969. Dostupné z: doi:10.1079/cabicompendium.33244

CARNEIRO, RMDG, J M S MONTEIRO, U C SILVA a G GOMES, 2016. Gênero Meloidogyne: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. *Diagnose de fitonematoides*. 47–72.

CENTER FOR QUANTITATIVE FISHERIES ECOLOGY, 2010. *Breathing* [online] [vid. 2023-04-16]. Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20100604162343/http://www.odu.edu/sci/cqfe/Understanding%20Fish/Breathing/Breathing.htm>

DA CUNHA, Tiago Garcia, Liliane Evangelista VISÔTTO, Everaldo Antônio LOPES, Cláudio Marcelo Gonçalves OLIVEIRA a Pedro Ivo Vieira Good GOD, 2018. Diagnostic methods for identification of root-knot nematodes species from Brazil. *Ciência Rural* [online]. **48**(2), e20170449 [vid. 2023-04-17]. ISSN 0103-8478. Dostupné z: doi:10.1590/0103-8478CR20170449

DE LEY, Paul a Mark L BLAXTER, 2004. A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. In: *Proceedings of the Fourth International Congress of Nematology, 8-13 June 2002, Tenerife, Spain*. B.m.: Brill, s. 633–653.

DECKER, H., 1981. Plant nematodes and their control. (Phytonematology). *Plant nematodes and their control. (Phytonematology)*.

DECRAEMER, Wilfrida a David J HUNT, 2006. Structure and classification. In: *Plant nematology*. B.m.: CABI Wallingford UK, s. 3–32.

DIVEKAR, Pratap Adinath, Srinivasa NARAYANA, Bhupendra Adinath DIVEKAR, Rajeev KUMAR, Basana Gowda GADRATAGI, Aishwarya RAY, Achuit Kumar SINGH, Vijaya RANI, Vikas SINGH, Akhilesh Kumar SINGH, Amit KUMAR, Rudra Pratap SINGH, Radhe Shyam MEENA a Tusar Kanti BEHERA, 2022. Plant Secondary Metabolites as Defense Tools against Herbivores for Sustainable Crop Protection. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **23**(5), 2690 [vid. 2023-04-17]. ISSN 14220067. Dostupné z: doi:10.3390/IJMS23052690/S1

DOUDA, O, 2018. Hospodářsky významné druhy fytoparazitických háďátek na území ČR. *Agromanual*. **7**, 59–61.

DOUDA, Ondřej, Marie MANASOVA, Miloslav ZOUHAR, Jonas HNATEK a Vaclav STEJSKAL, 2021. Field Validation of the Effect of Soil Fumigation of Ethanedinitrile (EDN) on the Mortality of Meloidogyne hapla and Carrot Yield Parameters. *Agronomy 2021, Vol. 11, Page 208* [online]. **11**(2), 208 [vid. 2023-04-12]. ISSN 2073-4395. Dostupné z: doi:10.3390/AGRONOMY11020208

DOUDA, Ondřej, Václav STEJSKAL, Marie MANASOVA, Miloslav ZOUHAR a Jonáš HNATEK, 2020. Inexpensive screening method to validate the efficacy of ethanedinitrile

fumigant on the forest invasive nematode pest *Bursaphelenchus xylophilus*. *Sustainability (Switzerland)* [online]. **12**(11) [vid. 2023-04-16]. ISSN 20711050. Dostupné z: doi:10.3390/SU12114765

DOUDA, Ondřej, Miloslav ZOUHAR, Jana MAZÁKOVÁ, Eva NOVÁKOVÁ a Roman PAVELA, 2010. Using plant essences as alternative mean for northern root-knot nematode (*Meloidogyne hapla*) management. *Journal of Pest Science* [online]. **83**(3), 217–221 [vid. 2023-04-16]. ISSN 16124758. Dostupné z: doi:10.1007/S10340-010-0287-4

DRAGANI RACHELLE, 2019. Classes of Nematodes. *sciencing.com* [online]. [vid. 2023-04-17]. Dostupné z: <https://sciencing.com/examples-of-nematodes-12421346.html>

ESBENSHADE, P R a A C TRIANTAPHYLLOU, 1990. Isozyme Phenotypes for the Identification of *Meloidogyne* Species 1. *Journal of Nematology*. **22**(1), 10–15.

FAGERHOLM, H P, 1996. Nematode parasites of marine-and shore birds, and their role as pathogens. *Bull. Scand. Soc. Parasitol.* **6**(2), 16–30.

FERRIS, Howard, 2022. Classes of Phylum Nematoda. *Department of Entomology and Nematology University of California* [online] [vid. 2023-04-17]. Dostupné z: <http://nemaplex.ucdavis.edu/Taxadata/Classes.htm>

FREITAS, L G, W S NEVES, R D L OLIVEIRA a L D'ARC, 2016. Métodos em nematologia vegetal. *Métodos em fitopatologia. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV.* 257–296.

FUTAI, Kazuyoshi, 2013. Pine Wood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172910> [online]. **51**, 61–83 [vid. 2023-04-16]. ISSN 00664286. Dostupné z: doi:10.1146/ANNUREV-PHYTO-081211-172910

GLIME, Janice M, 2017. Tardigrades.

GOODEY, J. B., M. T. FRANKLIN a D. J. HOOPER, 1965. T. Goodey's „The nematode parasites of plants catalogued under their hosts". *T. Goodey's „The nematode parasites of plants catalogued under their hosts"*. (3rd ed. (rev.)).

GUBANOV, N. M., 1951. A giant nematode from the placenta of cetaceans *Placentnema gigantissima* n.g. n.sp. *Doklady Akademii nauk SSSR.* **77**(6), 1123–1125.

HAMPL, Vladimír, 2010. *Diverzita parazitů.* 2010. B.m.: Živa.

HARBORNE, Jeffrey B., 1999. Plant Chemical Ecology. *Comprehensive Natural Products Chemistry* [online]. 137–196 [vid. 2023-04-18]. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-091283-7.00051-5

HEIMPEL, George E. a Nicholas J. MILLS, 2017. Biological control: Ecology and applications. *Biological Control: Ecology and Applications* [online]. 1–380 [vid. 2023-04-14]. Dostupné z: doi:10.1017/9781139029117

HIRSCHMANN, Hedwig, 1960. External characters and body wall of nematodes. *JN Sasser, and WR Jenkins, Nematology. Chapel Hill.*

HOLSTEGE, Christopher P., 2005. *Prunus* species. *Encyclopedia of Toxicology* [online]. 555–556 [vid. 2023-04-18]. Dostupné z: doi:10.1016/B0-12-369400-0/00810-3

HOWE, Gregg A a Georg JANDER, 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**, 41–66. ISSN 1543-5008.

HUNT, David J a Zafar A HANDOO, 2009. Taxonomy, identification and principal species. In: *Root-knot nematodes.* B.m.: CABI Wallingford UK, s. 55–97.

HUSSAIN, Manzoor, Muhammad KAMRAN, Khushwant SINGH, Miloslav ZOUHAR, Pavel RYŠÁNEK a Safdar Ali ANWAR, 2016. Response of selected okra cultivars to *Meloidogyne incognita*. *Crop Protection*. **82**, 1–6. ISSN 0261-2194.

HUSSAIN, Manzoor a Miloslav ZOUHAR, 2017. Potential of Some Nematophagous Fungi against *Meloidogyne hapla* Infection in Czech Republic. *Pakistan Journal of Zoology*. **49**(1). ISSN 0030-9923.

CHITWOOD, B. G., 1949. „Root-knot nematodes". Part 1. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. **16**(2), 90–114.

CHRISTIE, Jesse Roy, 1959. *Plant nematodes: their bionomics and control*. B.m.: Agricultural Experiment Station, University of Florida,.

CHUNG, B.J., O.Y. KWON, C.S. CHO, S.Y. KIM, K.J. MYONG, H. WAN, B.H. LEE a R. RYAN, 2007. Efficacy of ethandinitrile to control root knot nematodes in yellow melon cultivation. *Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions : [proceedings]* [online]. [vid. 2023-04-12]. Dostupné z: doi:10.3/JQUERY-UIJS

JATALA, P, 2003. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.24.090186.002321> [online]. **24**(1), 453–489 [vid. 2023-04-14]. ISSN 0066-4286. Dostupné z: doi:10.1146/ANNUREV.PY.24.090186.002321

JONES, John T., Annelies HAEGEMAN, Etienne G.J. DANCHIN, Hari S. GAUR, Johannes HELDER, Michael G.K. JONES, Taisei KIKUCHI, Rosa MANZANILLA-LÓPEZ, Juan E. PALOMARES-RIUS, Wim M.L. WESEMAEL a Roland N. PERRY, 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* [online]. **14**(9), 946–961 [vid. 2023-04-16]. ISSN 1364-3703. Dostupné z: doi:10.1111/MPP.12057

JÖNSSON, K. Ingemar, Elke RABBOW, Ralph O. SCHILL, Mats HARMS-RINGDAHL a Petra RETTBERG, 2008. Tardigrades survive exposure to space in low Earth orbit. *Current Biology* [online]. **18**(17) [vid. 2023-04-16]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/J.CUB.2008.06.048

JURÁŠEK, Viliam a Pavol DUBINSKÝ, 1993. *Veterinární parazitologie*. B.m.: Příroda, as. ISBN 8007006036.

KANTHARAJU, V., K. KRISHNAPPA, N.G. RAVICHANDRA a K. KARUNA, 2005. Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato by using indigenous isolates of am fungus, *Glomus fasciculatum*. *Indian Journal of Nematology* [online]. **35**(1), 32–36 [vid. 2023-04-14]. ISSN 0303-6960. Dostupné z: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijn&volume=35&issue=1&article=005>

KAPITOLA, Petr a Martina JURÁŠKOVÁ, 2016. ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ Odbor ochrany proti škodlivým organismům [online]. [vid. 2023-04-16]. Dostupné z: www.ukzuz.cz

KIONTKE, Karin a David H.A. FITCH, 2013. Nematodes. *Current Biology* [online]. **23**(19), R862–R864 [vid. 2023-04-16]. ISSN 0960-9822. Dostupné z: doi:10.1016/J.CUB.2013.08.009

KOKALIS-BURELLE, Nancy, Gary L PETERSON, Erin N ROSSKOPF, Nancy KOKALIS, Nancy KOKALIS--BURELLE BURELLE a Colin WATERFORD, 2007.

Preliminary investigation of ethanedinitrile for control of weeds and nematodes important to Florida production systems. Tomato volatiles View project Novel strategies for managing blast diseases on rice and wheat View project PRELIMINARY INVESTIGATION OF ETHANEDINITRILE FOR CONTROL OF WEEDS AND NEMATODES IMPORTANT TO FLORIDA PRODUCTION SYSTEMS WEEDS AND NEMATODES IMPORTANT TO FLORIDA PRODUCTION SYSTEMS Methods Methods [online]. [vid. 2023-04-12]. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/43267131>

KOVACIKOVA, Eva, Anton KOVACIK, Marek HALENAR, Katarina TOKAROVA, Lubica CHRASTINOVA, Lubomir ONDRUSKA, Rastislav JURCIK, Eduard KOLESAR, Jozef VALUCH a Adriana KOLESAROVA, 2019. Potential toxicity of cyanogenic glycoside amygdalin and bitter apricot seed in rabbits—Health status evaluation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* [online]. **103**(2), 695–703 [vid. 2023-04-17]. ISSN 1439-0396. Dostupné z: doi:10.1111/JPN.13055

LEE, Byung Ho, Jeong Oh YANG, Stephen BECKETT a Yonglin REN, 2017. Preliminary trials of the ethanedinitrile fumigation of logs for eradication of *Bursaphelenchus xylophilus* and its vector insect *Monochamus alternatus*. *Pest Management Science* [online]. **73**(7), 1446–1452 [vid. 2023-04-16]. ISSN 15264998. Dostupné z: doi:10.1002/PS.4476

LIM, Emilia, Allison PON, Yannick DJOUMBOU, Craig KNOX, Savita SHRIVASTAVA, An Chi GUO, Vanessa NEVEU a David S. WISHART, 2010. T3DB: a comprehensively annotated database of common toxins and their targets. *Nucleic acids research* [online]. **38**(Database issue) [vid. 2023-04-16]. ISSN 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/NAR/GKP934

LOPES, E A a S FERAZ, 2016. Importância dos fitonematoides na agricultura. *Diagnose de fitonematoides*. 1–10.

MAGGENTI, Armand., 1981. General nematology. 372.

MAGGENTI, Armand R., 2020. General Nematode Morphology. *Manual of Agricultural Nematology* [online]. 3–46 [vid. 2023-04-18]. Dostupné z: doi:10.1201/9781003066576-1

MALIK, M. S, N. K SANGWAN, KULDIP SINGH DHINDSA, K. K VERMA a D. S BHATTI, 1987. Nematicidal efficacy of some monoterpenes and related derivatives. *Pesticides*. **21**(5), 30–32. ISSN 0031-6148.

MATTNER, S. W., R. K. GOUNDER, R. C. MANN, I. J. PORTER, J. N. MATTHIESSEN, Y. L. REN a M. SARWAR, 2006. Ethanedinitrile (C₂N₂) - A novel soil fumigant for strawberry production. *Acta Horticulturae* [online]. **708**, 197–203 [vid. 2023-04-12]. ISSN 05677572. Dostupné z: doi:10.17660/ACTAHORTIC.2006.708.32

MCSORLEY, Rick a Robert MCGOVERN, 1996. *Efficacy of 1,3-dichloropropene formulations for control of plant-parasitic nematodes on tomato*.

MOENS, Maurice, Roland N. PERRY a James L. STARR, 2009. Meloidogyne species - a diverse group of novel and important plant parasites. *Root-knot Nematodes* [online]. 1–17 [vid. 2023-04-17]. Dostupné z: doi:10.1079/9781845934927.0001

MUGNIÉRY, Didier a Mark S. PHILLIPS, 2007. The Nematode Parasites of Potato. *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives* [online]. 569–594 [vid. 2023-04-07]. Dostupné z: doi:10.1016/B978-044451018-1/50068-3

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2023. Cyanogen. *PubChem Compound Summary for CID 9999* [online] [vid. 2023-04-17]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9999>

NGUYEN, Loan Thi Thanh, Ja Yeong JANG, Tae Yoon KIM, Nan Hee YU, Ae Ran PARK, Seungki LEE, Chang Hwan BAE, Joo Hong YEO, Jae Seoun HUR, Hae Woong PARK a Jin Cheol KIM, 2018. Nematicidal activity of verrucarin A and roridin A isolated from *Myrothecium verrucaria* against *Meloidogyne incognita*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* [online]. **148**, 133–143 [vid. 2023-04-14]. ISSN 0048-3575. Dostupné z: [doi:10.1016/J.PESTBP.2018.04.012](https://doi.org/10.1016/J.PESTBP.2018.04.012)

NOVÁKOVÁ, E a M ZOUHAR, 2009. Meloidogyne hapla-škůdce, kterého možná neznáte. *Zahradnictví*. **7**, 15–17.

NYIRENDA, Kumbukani K, 2020. Toxicity potential of cyanogenic glycosides in edible plants. *Medical toxicology*. 1–19. ISSN 1838802789.

O'BRIEN, IG, FJM DESMARCHELIER, 001,383 R YONGLIN - US PATENT 6 a undefined 1999, 1999. Cyanogen fumigants and methods of fumigation using cyanogen. *Google Patents* [online]. [vid. 2023-04-16]. Dostupné z: <https://patents.google.com/patent/US6001383A/en>

OLIVEIRA, Claudio Marcelo Gonçalves de, Ailton Rocha MONTEIRO a Vivian C BLOK, 2011. Morphological and molecular diagnostics for plant-parasitic nematodes: working together to get the identification done. *Tropical Plant Pathology*. **36**, 65–73. ISSN 1982-5676.

PARAMONOV, A. A., 1964. Principles of phytonematology. Vol. II. Taxonomy of phytonematodes. *Principles of phytonematology. Vol. II. Taxonomy of phytonematodes*.

PARK, Chung Gyoo, Joon Ki SON, Byung Ho LEE, Jin Hoon CHO a Yonglin REN, 2014. Comparison of ethanedinitrile (C₂N₂) and metam sodium for control of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchidae) and *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) in naturally infested logs at low temperatures. *Journal of Economic Entomology* [online]. **107**(6), 2055–2060 [vid. 2023-04-16]. ISSN 1938291X. Dostupné z: [doi:10.1603/EC14009](https://doi.org/10.1603/EC14009)

PERRY, Roland N. a Maurice MOENS, 2013. Plant Nematology, Second edition. *Plant Nematology* [online]. 568 pp. [vid. 2023-04-19]. Dostupné z: [https://books.google.be/books?hl=en&lr=&id=LTv7AgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=Perry,+R.N.,+Moens,+M.+\(Eds.\),+2006.+Plant+Nematology.+Wallingford,+UK:+CAB+International&ots=HH7qetKQc5&sig=ZhtQgj0N3EsObbsYRCCEZIUeTu8#v=onepage&q=Perry%2CR.N.%2CMoens%2CM.\(Eds](https://books.google.be/books?hl=en&lr=&id=LTv7AgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=Perry,+R.N.,+Moens,+M.+(Eds.),+2006.+Plant+Nematology.+Wallingford,+UK:+CAB+International&ots=HH7qetKQc5&sig=ZhtQgj0N3EsObbsYRCCEZIUeTu8#v=onepage&q=Perry%2CR.N.%2CMoens%2CM.(Eds)

PETRLÍK, J. a P. VÁLEK, 2010. Methylbromid. *Arnika* [online] [vid. 2023-04-18]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/methylbromid>

POULIN, R. a S. MORAND, 2000. The Diversity of Parasites. <https://doi.org/10.1086/393500> [online]. **75**(3), 277–293 [vid. 2023-04-17]. ISSN 00335770. Dostupné z: [doi:10.1086/393500](https://doi.org/10.1086/393500)

PRÝMAS, L., 2014. Hád'átka a řepa – to nejde dohromady. *Profi press s.r.o.* [online]. [vid. 2021-03-15]. Dostupné z: <https://www.uroda.cz/hadatka-a-repa-to-nejde-dohromady/>

RECHCIGL, Miloslav, 2018. *Handbook of naturally occurring food toxicants*. B.m.: CRC press. ISBN 135108139X.

REN, Y L, M SARWAR a E J WRIGHT, 2002. Development of cyanogen for soil fumigation. In: *Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Orlando, FL*. B.m.: Citeseer, s. 6–8.

RENČO, M, N SASANELLI a P KOVÁČIK, 2011. The effect of soil compost treatments on potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *Helminthologia*. **48**, 184–194. ISSN 0440-6605.

RENČO, M, N SASANELLI, I PAPAJOVÁ a Lara MAISTRELLO, 2012. Nematicidal effect of chestnut tannin solutions on the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* (Woll.) Barhens. *Helminthologia*. **49**, 108–114. ISSN 0440-6605.

ROSTLINOLÉKAŘSKÝ PORTÁL ÚKZÚZ, 2023. Škodlivé organismy (ŠO) > Škůdci > háďátka severní > Info | Rostlinolékařský portál. *Rostlinolékařský portál ÚKZÚZ* [online] [vid. 2023-04-17]. Dostupné

z: https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%224ca4d8ec858a63c9680a53084bb38086%22#rlp|so|skudci|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c452d72|popis

ROSYPAL, Stanislav, 2003. *Nový přehled biologie*. B.m.: Scientia. ISBN 8071832685.

SANTOS, Maria Amelia dos, S. FERRAZ a J. J. MUCHOVEJ, 1992. Evaluation of 20 Species of Fungi from Brazil for Biocontrol of *Meloidogyne incognita* Race 3. *Nematropica* [online]. 183–192 [vid. 2023-04-14]. ISSN 2220-5616. Dostupné z: <https://journals.flvc.org/nematropica/article/view/64041>

SEDLÁK, Edmund, 2000. *Zoologie bezobratlých*. B.m.: Masarykova univerzita, přírodovědecká fakulta. ISBN 8021023961.

SEESAO, Y., M. GAY, S. MERLIN, E. VISCOGLIOSI, C.M. ALIOUAT-DENIS a C. AUDEBERT, 2017. A review of methods for nematode identification. *Journal of Microbiological Methods* [online]. **138**, 37–49. ISSN 01677012. Dostupné z: doi:10.1016/j.mimet.2016.05.030

SMRŽ, Jaroslav, 2015. *Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů*. B.m.: Charles University in Prague, Karolinum Press. ISBN 8024622580.

STEJSKAL, Vaclav, Tomas VENDL, Zhihong LI a Radek AULICKY, 2019. Minimal Thermal Requirements for Development and Activity of Stored Product and Food Industry Pests (Acari, Coleoptera, Lepidoptera, Psocoptera, Diptera and Blattodea): A Review. *Insects 2019, Vol. 10, Page 149* [online]. **10**(5), 149 [vid. 2023-04-16]. ISSN 2075-4450. Dostupné z: doi:10.3390/INSECTS10050149

STIRLING, Graham R., 2011. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: An Ecological Perspective, a Review of Progress and Opportunities for Further Research. *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes*: [online]. 1–38 [vid. 2023-04-14]. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4020-9648-8_1

STIRLING, Graham R., 2018. Biological control of plant-parasitic nematodes. In: *Diseases of nematodes*. B.m.: CRC Press, s. 103–150. ISBN 1351071467.

ŠÁLEK, M a HRABIŠ F, 2015. *Obecná ekologie*.

TÁBORSKÝ, Vladimír a Josef ŠEDIVÝ, 1997. *Rostlinolékařství: učebnice pro střední zemědělské školy*. B.m.: Credit. ISBN 8090229522.

TILGNER, Erich Hunter, 2002. SYSTEMATICS OF PHASMIDA.

TRIANTAPHYLLOU, A. C., 1993. Hermaphroditism in Meloidogyne hapla. *Journal of Nematology* [online]. **25**(1), 15 [vid. 2023-04-18]. ISSN 0022-300X. Dostupné z: [/pmc/articles/PMC2619343/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2619343/)

VLK, F, 1985. *Ochrana rostlin–Nematologie obecná a speciální*. 1985. B.m.: Praha: Vysoká škola zemědělská.

VOLF, Petr a Petr HORÁK, 2007. *Paraziti a jejich biologie*. B.m.: Triton. ISBN 8073870088.

WATERFORD, C J, Y L REN, S MATTNER a M SARWAR, 2004. 9-1 ETHANEDINITRILE (C₂N₂)-A NOVEL SOIL FUMIGANT FOR INSECT, NEMATODE, PATHOGEN & WEED CONTROL.

WEISER, Jaroslav a Zdeněk MRÁČEK, 1988. *Parazitické hlístice hmyzu*. B.m.: Academia.

WESEMAEL, Wim M.L., Nicole VIAENE a Maurice MOENS, 2011. Root-knot nematodes (Meloidogyne spp.) in Europe. *Nematology* [online]. **13**(1), 3–16 [vid. 2023-04-18]. ISSN 1388-5545. Dostupné z: [doi:10.1163/138855410X526831](https://doi.org/10.1163/138855410X526831)

WHITEHEAD, A. G., 1969. The Distribution of Root-Knot Nematodes (Meloidogyne Spp.) in Tropical Africa. *Nematologica* [online]. **15**(3), 315–333 [vid. 2023-04-18]. ISSN 0028-2596. Dostupné z: [doi:10.1163/187529269X00362](https://doi.org/10.1163/187529269X00362)

WIKSTRÖM, Mårten a Klaas KRAB, 1979. Proton-pumping cytochrome c oxidase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Bioenergetics* [online]. **549**(2), 177–222 [vid. 2023-04-07]. ISSN 03044173. Dostupné z: [doi:10.1016/0304-4173\(79\)90014-4](https://doi.org/10.1016/0304-4173(79)90014-4)

WISHART, David, David ARNDT, Allison PON, Tanvir SAJED, An Chi GUO, Yannick DJOUMBOU, Craig KNOX, Michael WILSON, Yongjie LIANG, Jason GRANT, Yifeng LIU, Seyed Ali GOLDANSAZ a Stephen M RAPPAPORT, 2015. T3DB: the toxic exposome database. *Nucleic acids research* [online]. **43**(Database issue), D928-34. ISSN 1362-4962. Dostupné z: [doi:10.1093/nar/gku1004](https://doi.org/10.1093/nar/gku1004)

ZHOU, Wenwen, Yue ZHANG, Wei LI, Haoran JIA, Huajun HUANG a Baotong LI, 2019. Adsorption isotherms, degradation kinetics, and leaching behaviors of cyanogen and hydrogen cyanide in eight texturally different agricultural soils from China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. **185**, 109704 [vid. 2023-04-16]. ISSN 0147-6513. Dostupné z: [doi:10.1016/J.ECOENV.2019.109704](https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2019.109704)

ZIMMER, Carl, 2005. Vládce parazit.[sl]: nakl. *Paseka, z anglického originálu*. (s 262).

ZOUHAR, M., O. DOUDA, J. NOVÁKOVÁ, E. DOUDOVÁ, J. MAZÁKOVÁ, J. WENZLOVÁ, P. RYŠÁNEK a M. RENČO, 2013. First report about the trapping activity of Stropharia rugosoannulata acanthocytes for Northern Root Knot Nematode. *Helminthologia (Poland)* [online]. **50**(2), 127–131 [vid. 2023-04-18]. ISSN 04406605. Dostupné z: [doi:10.2478/S11687-013-0120-8/METRICS](https://doi.org/10.2478/S11687-013-0120-8/METRICS)

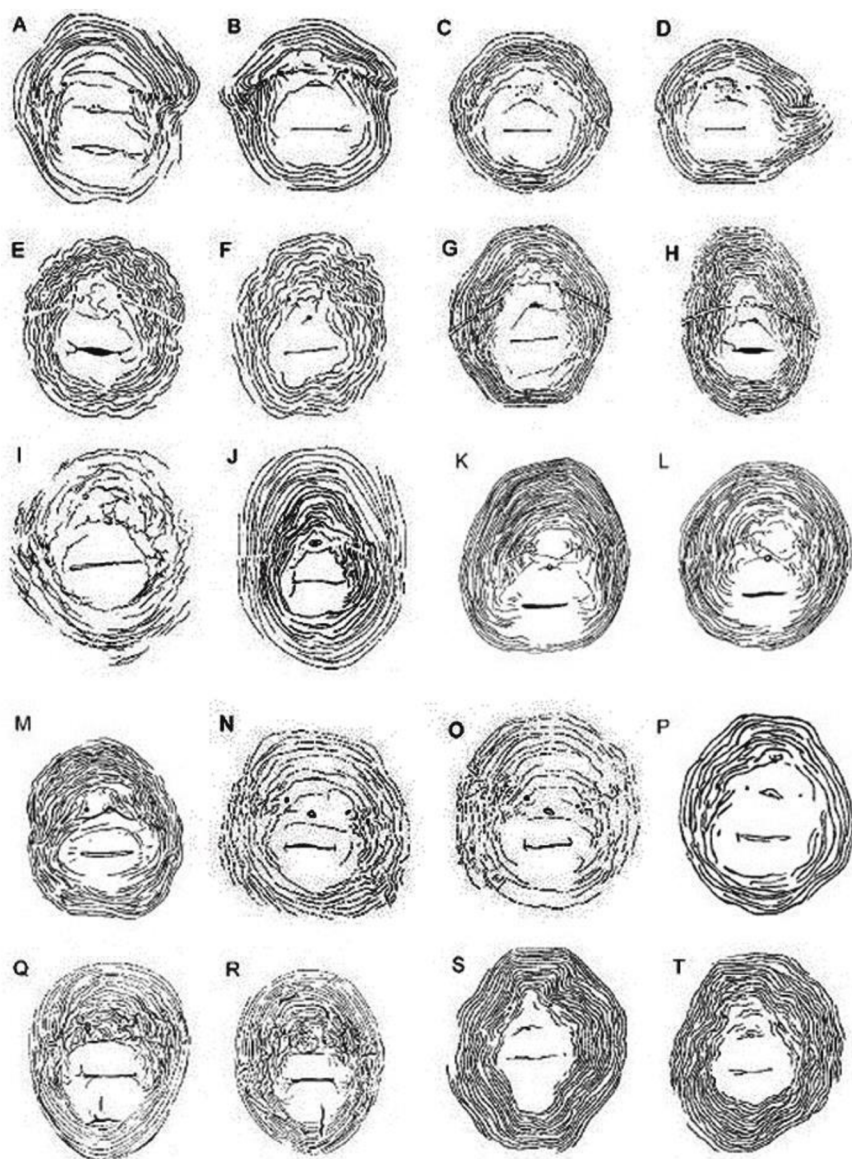
ZOUHAR, M a E NOVÁKOVÁ, 2009. Meloidogyne hapla – škůdce, kterého možná neznáte | Zahradnictví [online]. [vid. 2021-03-28]. Dostupné z: <https://www.zahradaweb.cz/meloidogyne-hapla-skudce-ktereho-mozna-neznate/>

ZOUHAR MIROSLAV, 2001. *MELOIDOGYNE HAPLA A GLOBODERA PALLIDA - DVA DRUHY HÁDÁTEK NOVĚ PROKÁZANÉ NA ÚZEMÍ ČR - Agris.cz* [online] [vid. 2023-04-14]. Dostupné z: <http://www.agris.cz/clanek/116682/meloidogyne-hapla-a-globodera-pallida---dva-druhy-hadatek-nove-prokazane-na-uzemi-cr>

ZUCKERMAN, Bert, 2012. *Plant parasitic nematodes*. B.m.: Elsevier. ISBN 0323147038.

*Literatura byla generována pomocí volně dostupného citačního manažeru Mendeley -
<https://www.mendeley.com/download-desktop/>*

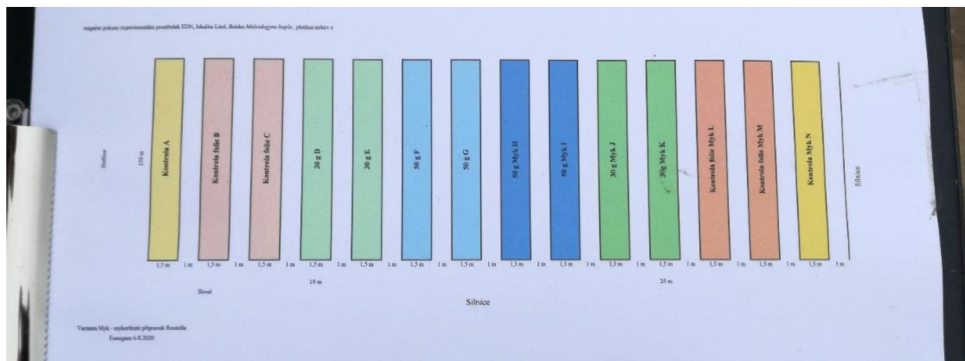
9 Samostatné přílohy



1. Obrázek 19: Srovnání perineálních vzorů pro 12 hlavních druhů rodu *Meloidogyne*. A, B: *M. arenaria*; C, D: *M. hapla*; E, F: *M. incognita*; G, H: *M. javanica*; I: *M. acronea*; J: *M. chitwoodi*; K, L: *M. enterolobii*; M: *M. ethiopica*; N, O: *M. exigua*; P: *M. fallax*; Q, R: *M. graminicola*; S, T: *M. paranaensis*.; zdroj: (Hunt a Handoo 2009)

9.1 Fotodokumentace ze základání experimentu

(zdroj fotografií: autor práce a Lucie Vacková):



Obrázek 20: Plánek experimentálního pole se zákresem jednotlivých variant



Obrázek 21: mulčovač Rain-flo 2600 s tlakovou lahví s plynem pro pohon válců



Obrázek 22 Tlaková láhev s fumigantem EDN



Obrázek 23: Připravená sestava



Obrázek 24 Mulčovač s válcem TIF folie



Obrázek 25 Zakládání první kontrolní varianty bez krycí folie 1



Obrázek 26: Zakládání první kontrolní varianty bez krycí folie 2



Obrázek 27: Příprava folie, počáteční manuální přehnutí zeminou



Obrázek 28: Kontrolní varianty zakrytá TIF folií

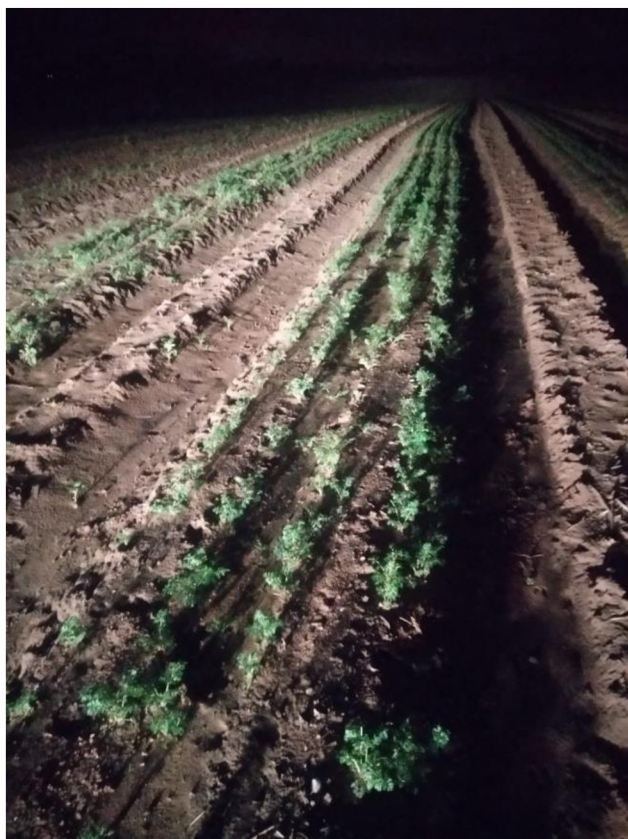


Obrázek 29: folie přihrnutá zeminou zabrání úniku fumigantu, který díky tomu správně zapůsobí



Obrázek 30: Pohled na označené varianty pokusu

9.2 Fotodokumentace z odběru vzorků:



Obrázek 31: Pokusné pole před odběrem vzorků



Obrázek 32: Vzorky z kontrolní varianty bez překrývací TIF folie



Obrázek 33: Vzorok z kontroly krytý TIF fólií



Obrázek 34: Vzorok z varianty ošetřené koncentrací 50g EDN/m²



Obrázek 35: Porovnání vzorků kontrolní varianty s variantou ošetřenou EDN

9.3 Tabulky a grafy k výsledkům:

9.3.1 Tukeyův test:

Tabulka 17

Tukeyův HSD test; proměnná Počet hálek (HÁDÁTKA DATA) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 86,476, sv = 835,00				
Č. buňky	Varianta	Počet hálek Průměr	1	2
3	30 g EDN/m2	0,40000	****	
4	50 g EDN/m2	0,47917	****	
2	kontrola krytá fólií	10,01674		****
1	neošetřená kontrola	12,55000		****

Tabulka 18

Tukeyův HSD test; proměnná Hmotnost natě (HÁDÁTKA DATA) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 7,9166, sv = 835,00				
Č. buňky	Varianta	Hmotnost natě Průměr	1	2
1	neošetřená kontrola	1,331250	****	
2	kontrola krytá fólií	1,881381	****	
4	50 g EDN/m2	3,051667		****
3	30 g EDN/m2	3,108958		****

Tabulka 19

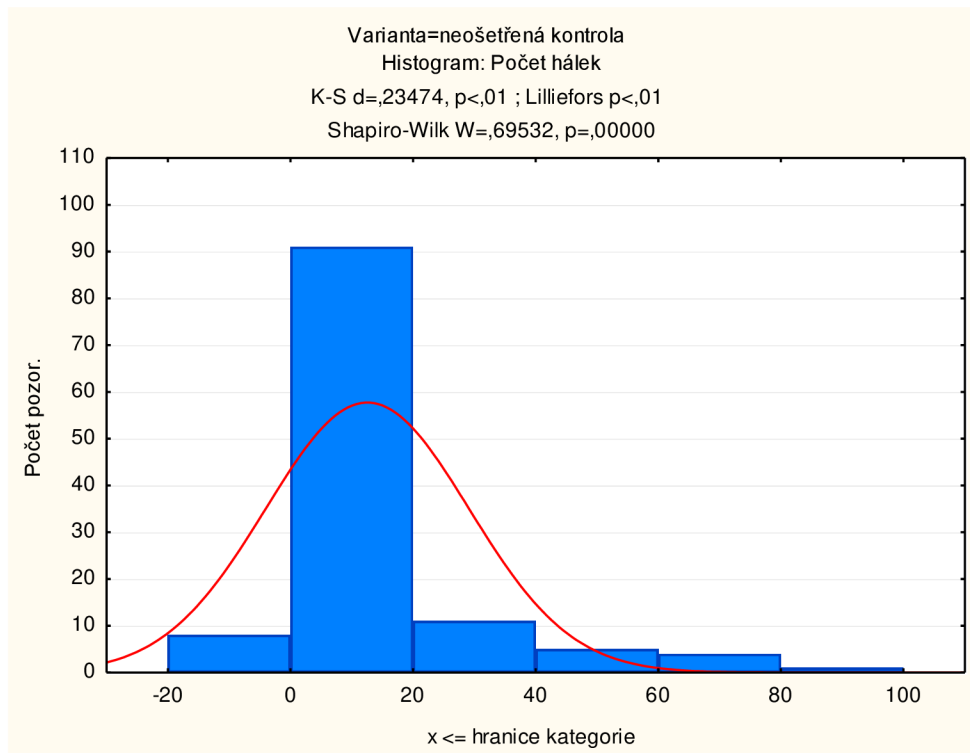
Tukeyův HSD test; proměnná Hmotnost kořene (HÁDÁTKA DATA) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 2,7166, sv = 835,00				
Č. buňky	Varianta	Hmotnost kořene Průměr	1	2
1	neošetřená kontrola	1,279583	****	
4	50 g EDN/m2	1,456042	****	
3	30 g EDN/m2	2,194167		****
2	kontrola krytá fólií	2,220711		****

Tabulka 20

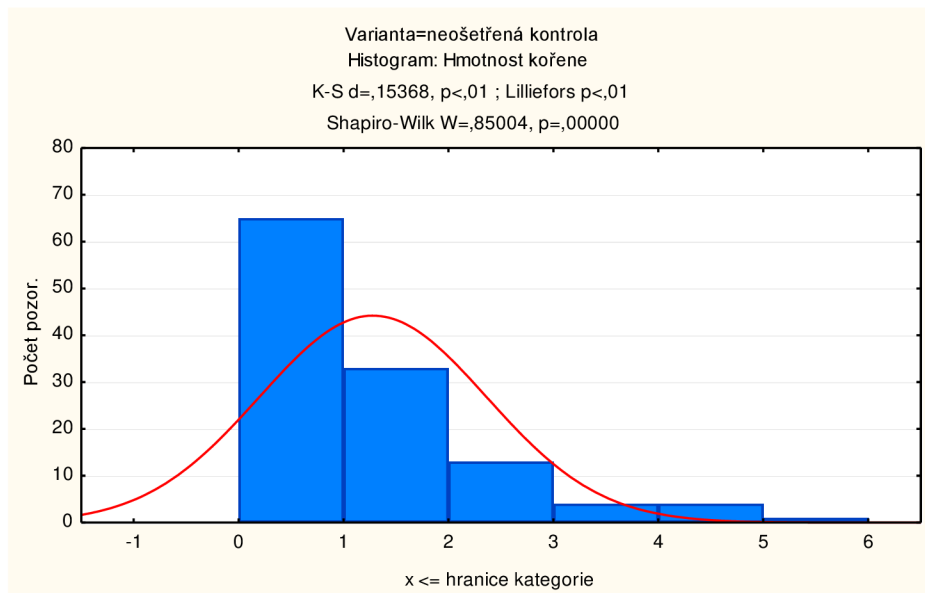
Tukeyův HSD test; proměnná Délka kořene (HÁDÁTKA DATA) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 27,536, sv = 835,00				
Č. buňky	Varianta	Délka kořene Průměr	1	2
1	neošetřená kontrola	5,645833		****
2	kontrola krytá fólií	7,967364	****	
3	30 g EDN/m2	8,135417	****	
4	50 g EDN/m2	8,517083	****	

9.3.2 Testy normality dat provedené v programu Statistica 12:

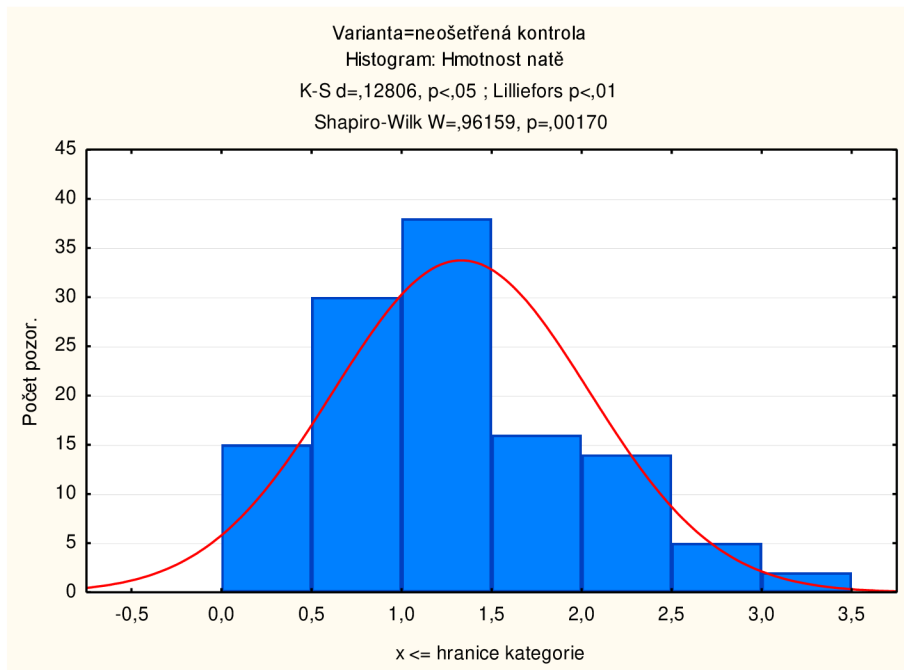
Graf 5



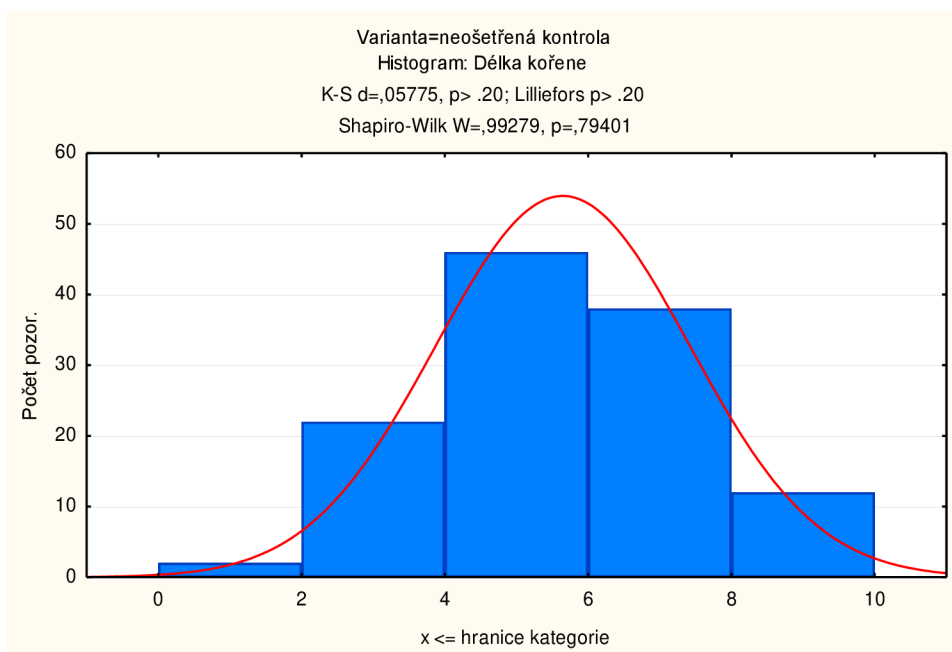
Graf 6



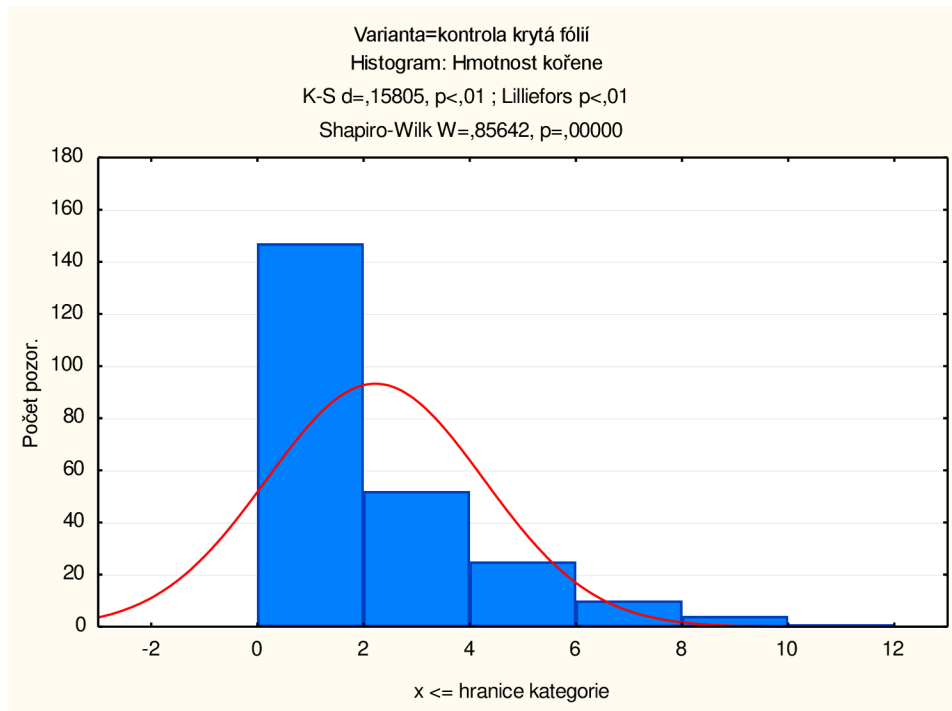
Graf 7



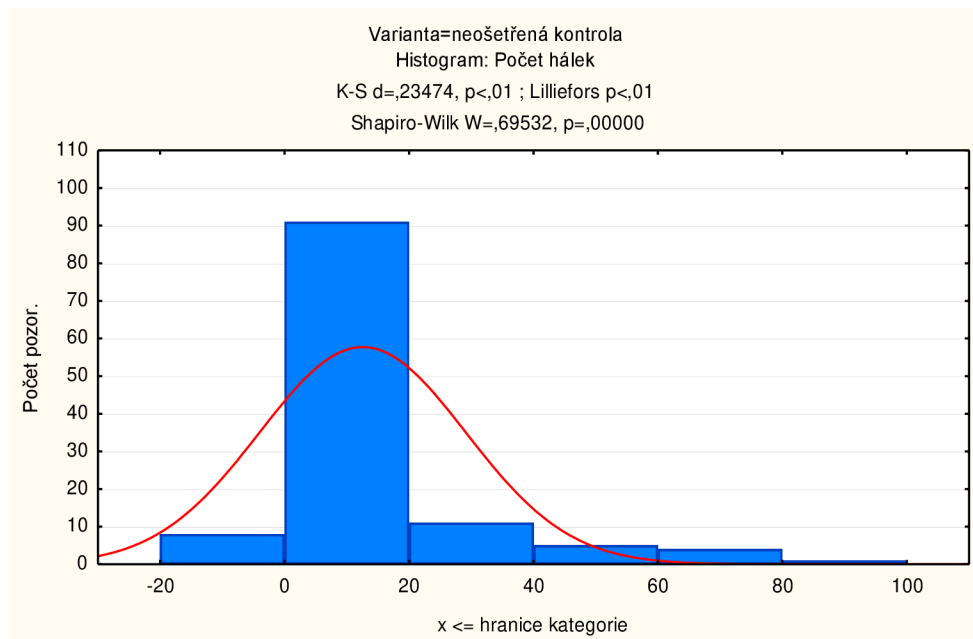
Graf 8



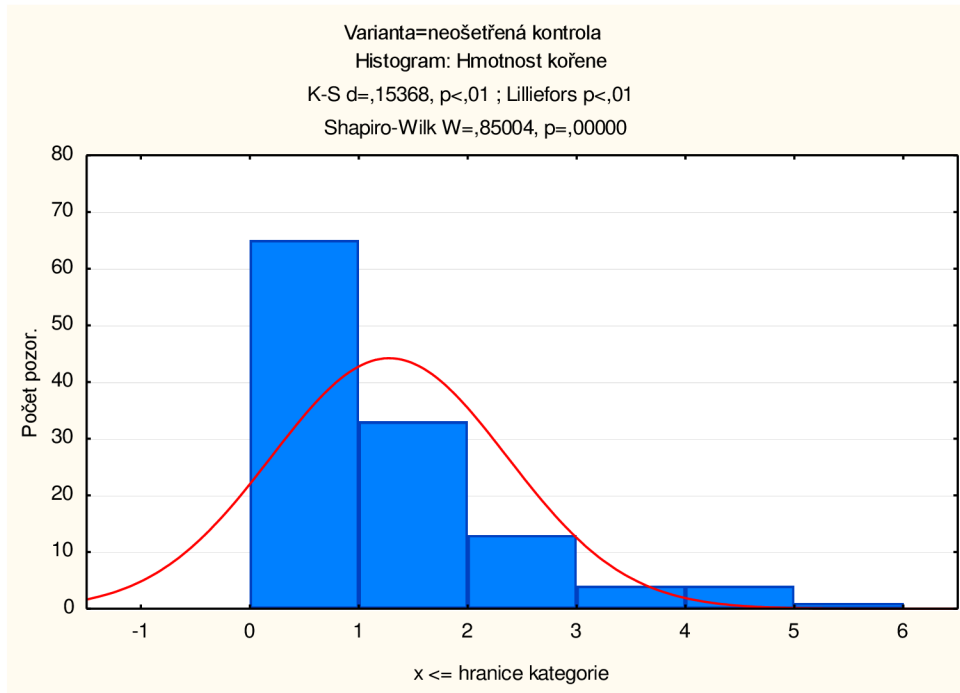
Graf 9



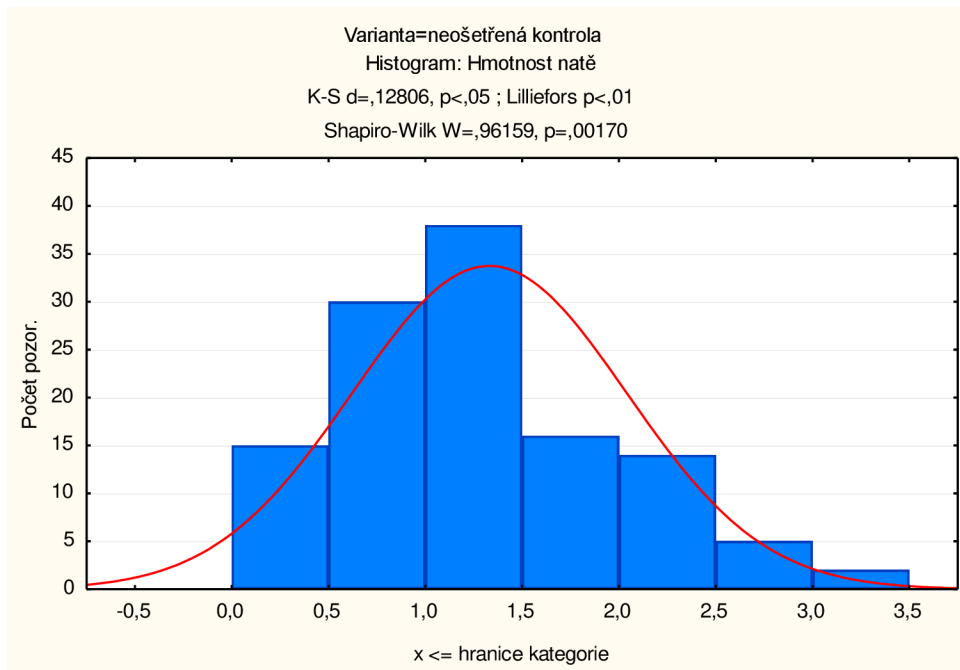
Graf 10



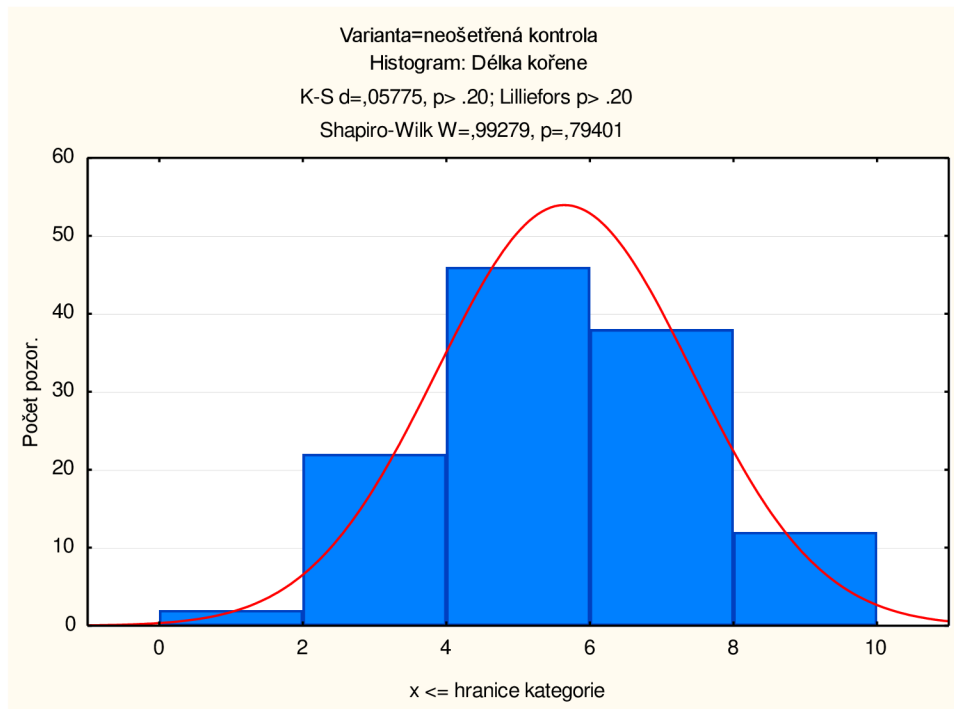
Graf 11



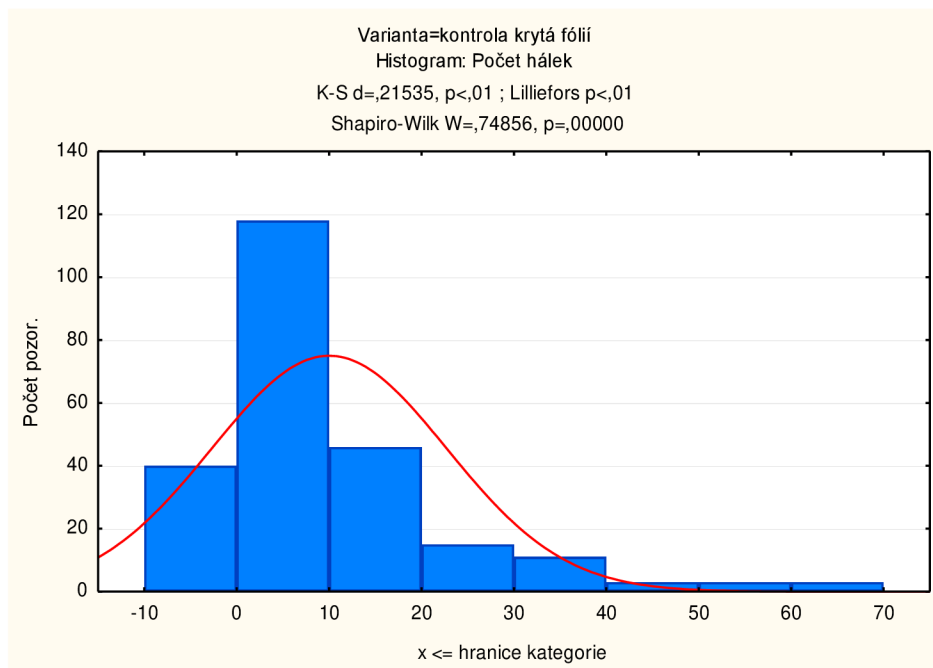
Graf 12



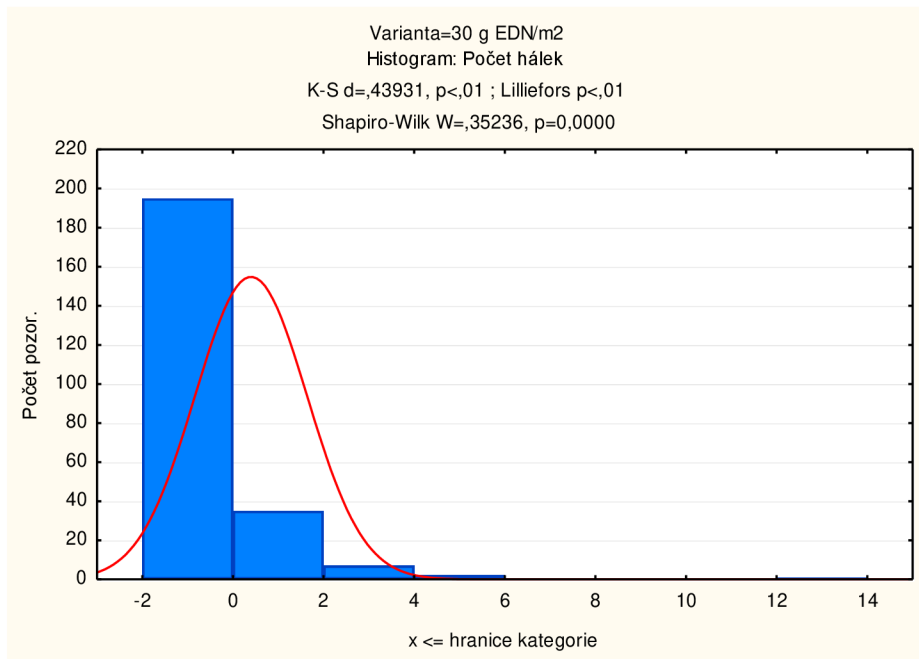
Graf 13



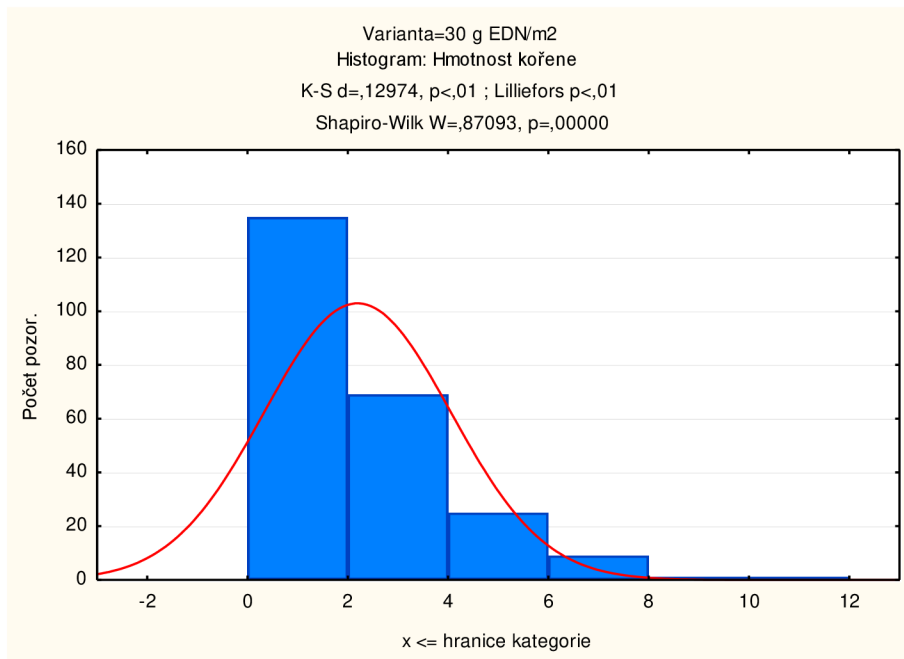
Graf 14



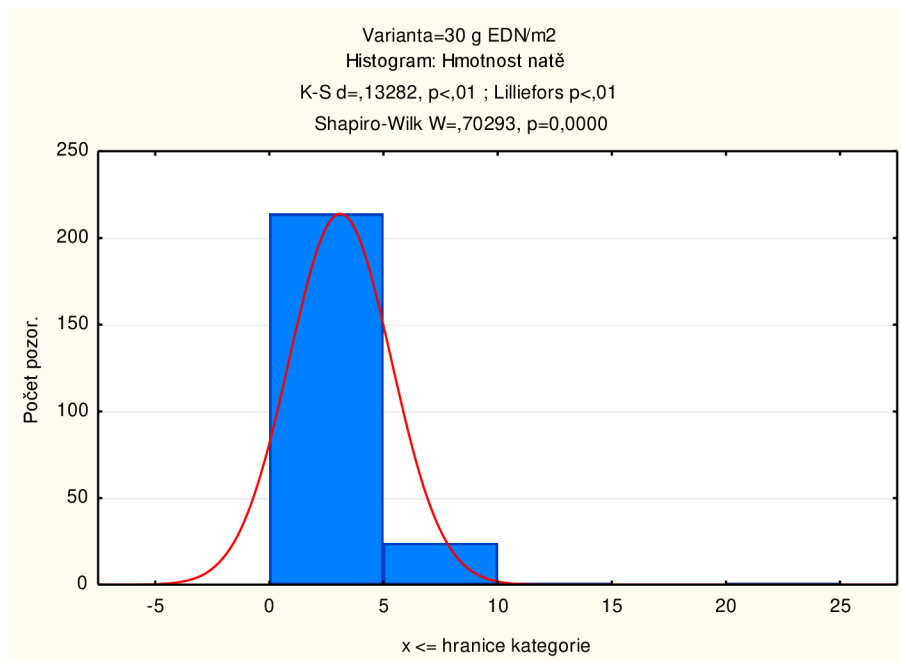
Graf 15



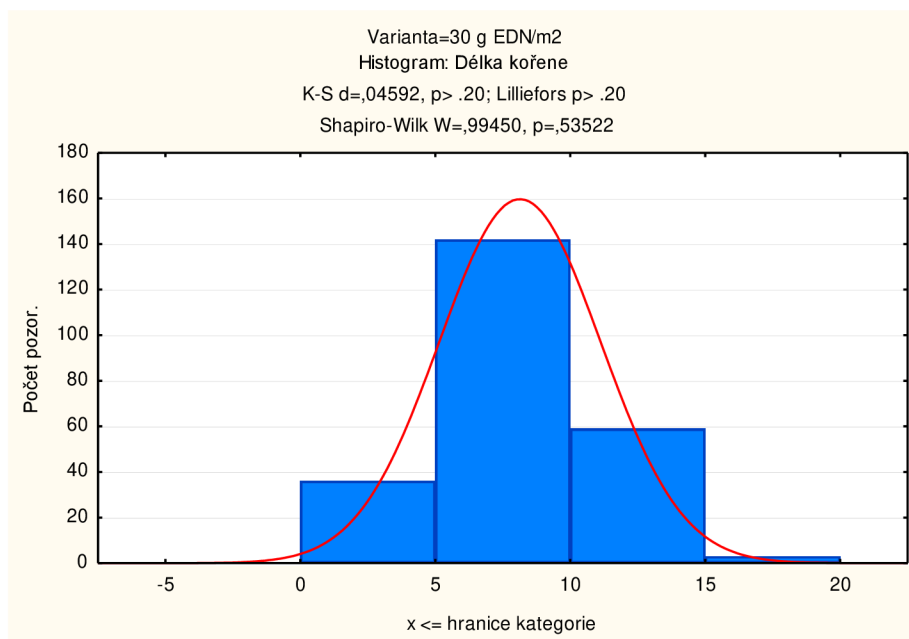
Graf 16



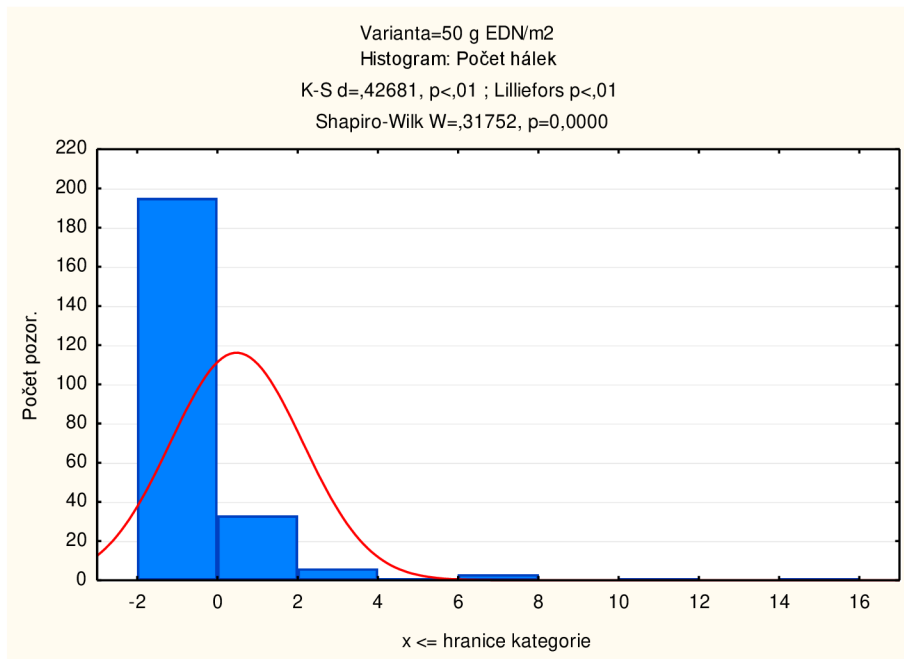
Graf 17



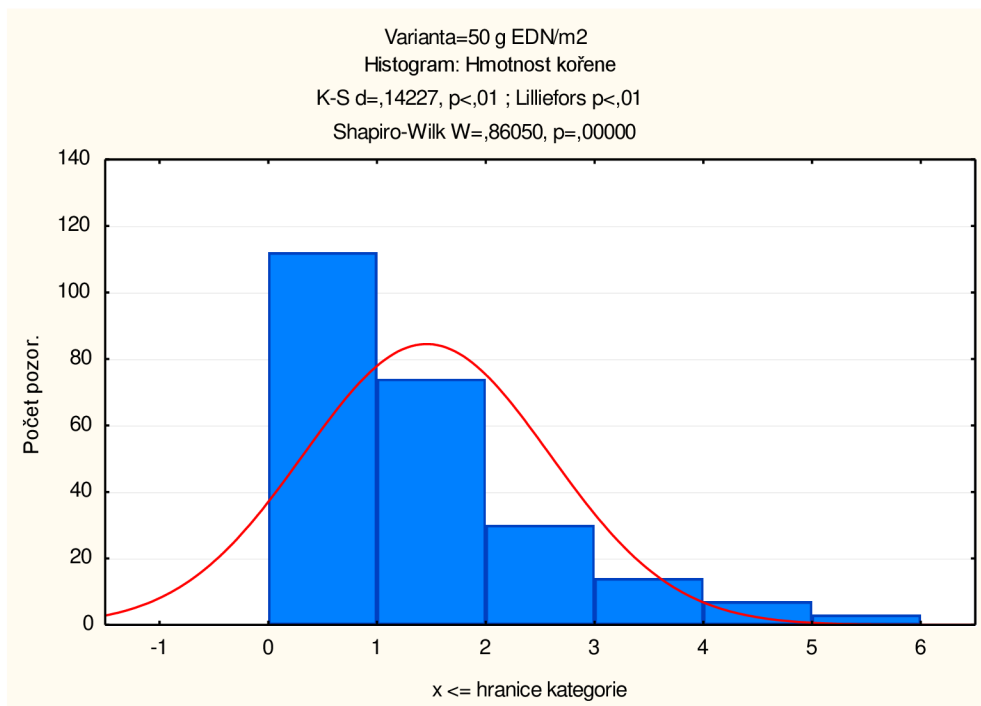
Graf 18



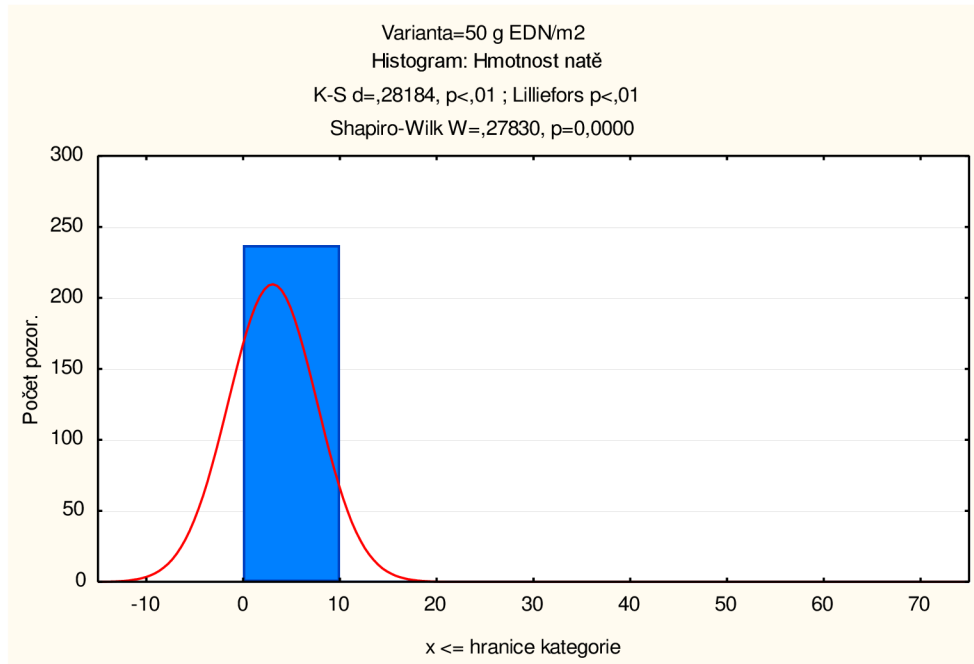
Graf 19



Graf 20



Graf 21



Graf 22

