

# Hádátka řepné (*Heterodera schachtii*) – vzorkování, detekce a identifikace

BEET CYST NEMATODE (*HETERODERA SCHACHTII*) – SAMPLING, DETECTION AND IDENTIFICATION

Václav Čermák, Vladimír Gaar – Státní rostlinolékařská správa, Odbor diagnostiky, Olomouc

Závažný škůdce cukrové řepy i řady dalších rostlinných druhů, hádátka řepné *Heterodera schachtii*, neztrácí ani v současné době na významu.

Až ve druhé polovině 19. století se ukázalo, že za špatný zdravotní stav řepy nemůže často „půdní únava“, ale do té doby neznámý půdní patogen, hádátka řepné, jehož populace se výrazně zvyšuje pěstováním cukrové řepy na stejném pozemku několik let po sobě. Jeho přítomnost či absence na pozemku je i dnes důležitou informací při plánování budoucích aktivit pěstitele. Pro dokonalou znalost situace je v této souvislosti nutné učinit několik důležitých kroků: provést reprezentativní ovzorkování pozemku, extrakci odebraných půdních vzorků a kvalifikovanou diagnostiku případně zjištěných cyst hádátka. Cílem následujícího pojednání je shrnout některé důležité poznatky o těchto krocích.

## Rod *Heterodera* Schmidt, 1871

Do roku 2010 bylo popsáno více než 90 druhů patřících do rodu *Heterodera*, z nichž 80 je považováno za validních (1). V České republice byly do roku 2012 publikovány nálezy pouze čtyř druhů (*H. avenae* Wollenweber, 1924, *H. bumuli* Filipjev, 1934, *H. latipons* Franklin, 1969 a *H. schachtii* Schmidt, 1871).

### Hádátka řepné – stručný souhrn poznatků z území České republiky

První zmínka o hádátce řepné na území dnešní ČR pochází od J. Jozka z chrudimského časopisu „Hospodářský list“ z roku 1886 (2). VAŇHA, který se zabýval rozšířením hlístů řepných (*Heterodera*, *Dorylaimus* a *Tylenchus*) na Moravě (3), publikoval článek zabývající se otázkou škodlivosti hlístů na řepě při hledání důkazního materiálu v rámci soudního sporu (4) a v témže roce také komplexní dílo popisující od morfologie přes škodlivost až po rozšíření celou problematiku hádátka řepného (2). VAŇHA A STOKLASA (2) uvádějí počátky hlavního zájmu o rozšíření a otázku škodlivosti hádátka řepného na území Rakouska do roku 1891, kdy prof. Adolf rytíř z Liebenbergu upozornil jako první „na nebezpečnost, jaké hospodářství rakouskému hrozí“ a jako správce Spolku pro zvelebení zkušebnictví v Rakousku označil otázku rozšíření hádátka řepného za velmi naléhavou. C. k. ministerstvo orby proto oslovilo „všecky zemské korporace hospodářské i cukrovarnické dotazníkem, jak dalece jest tento hrozivý škůdce u nás rozšířen“. Při průzkumu byla zjištěna přítomnost *H. schachtii* v 22 moravských a 19 českých okresech. VAŇHA (5) publikoval článek o způsobech ochrany

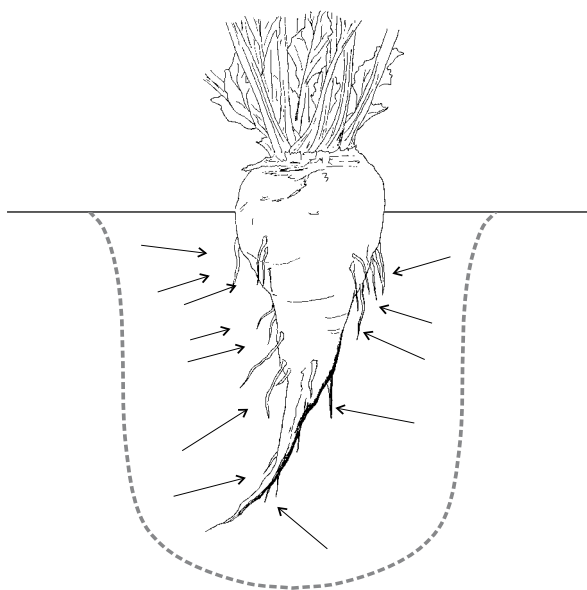
proti hádátkům a houbám na řepě pomocí vápnění a sucha. V krátké zprávě o škůdcích a chorobách řepy cukrové popisuje UZEL (6) způsob extrakce „hlístů řepných z bláta z usazovacích cukrovarnických jam a desinfikaci bláta pomocí vápna“.

Životní cyklus hádátka byl studován i později, a to v pracích o vývoji na řepě, plevelch a řepce ozimé (7–13). Zjišťováním cyst v půdních vzorcích se mimo výše uvedených autorů zabývali i RAMBOUSEK (14), ROZSYPAL (15) a HRABĚ (16). Hádátka řepné a jeho škodlivost spolu s problémem zaměňování půdní únavy za škody způsobené tímto hádátkem popsal a shrnul do letáku i BAUDYŠ (17). O pár let dříve BAUDYŠ (18) v textu o hádátce kořenovém uvedl poznámku o výskytu hádátka řepného na čekance „v okolí Čejče a na jiných místech“, jeho

Obr. 1. Řepná bulva parazitovaná hádátkem řepným



Obr. 2. Vertikální rozšíření háďátka řepného ve spojitosti s parazitací kořene řepy – nákres kořenové oblasti řepy s vyznačením zóny s největším předpokladem výskytu háďátka

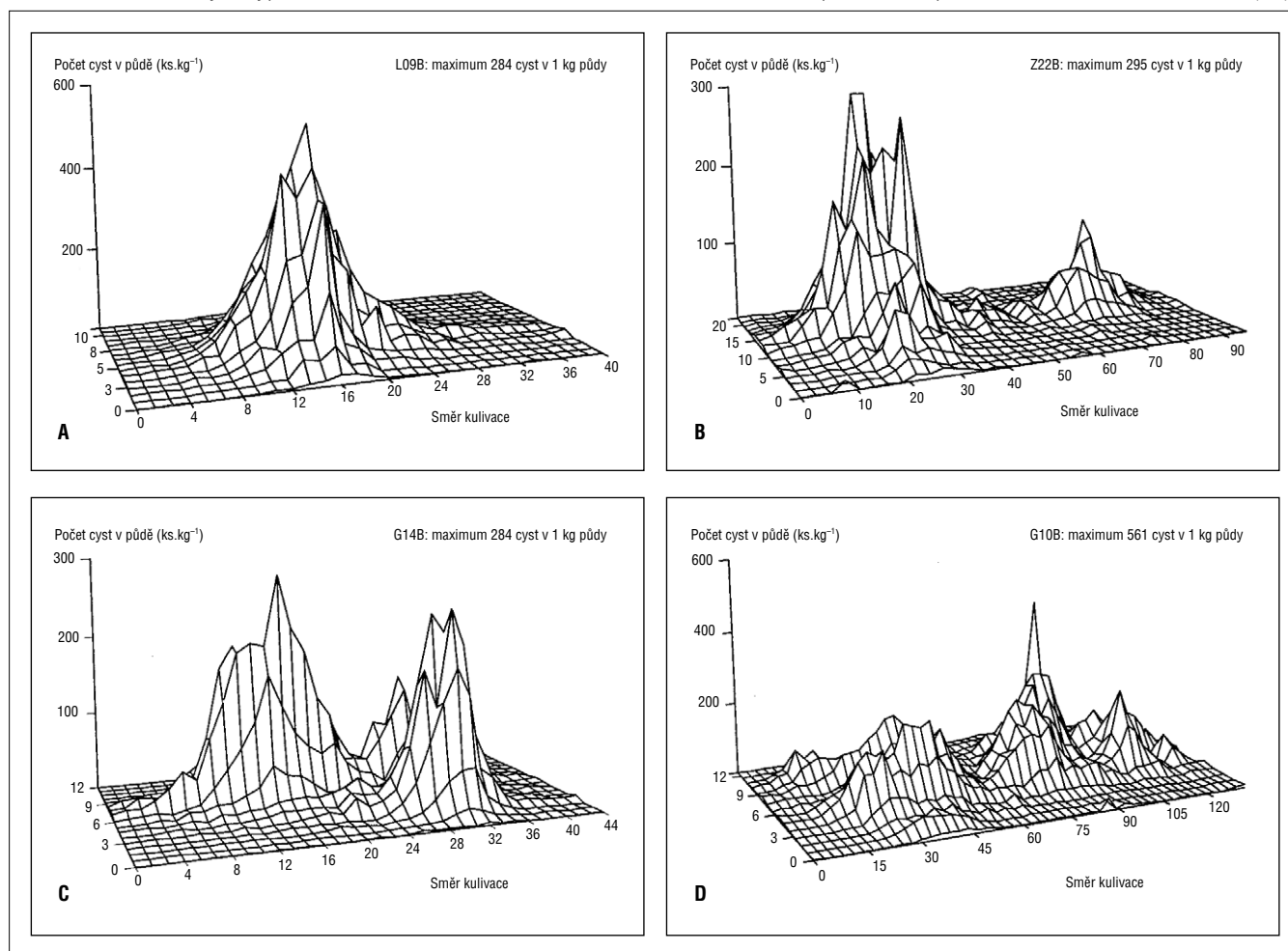


nízké škodlivosti (stejném výnosu čekanky při napadení tímto druhem) a možnosti využití čekanky v boji právě proti háďátku

řepnému, což popsal slovy: „háďátko řepné se vysiluje a půda se pěstováním čekanky háďátko řepného zbaví“. O škodlivosti háďátka píše i PROKŠOVÁ (19), DRACHOVSKÁ (20), STEHLÍK ET AL. (21) a BENADA ET AL. (22). Množství pokusů s ochranou proti háďátku řepnému shrnul ve své disertační práci NEORAL (23). Na řezech studoval syncytia háďátka řepného na kořenech cukrovky NEMEC (24, 25), jeho parazitaci houbami se věnoval ROZSYPAL (15). Později se rozšířením na území Československa ve svých publikacích zabýval VINDUŠKA (8, 26–28). O nematocidní ochraně publikovali VINDUŠKA (12) a ŠÁLY A VINDUŠKA (29).

Dle VINDUŠKY (8), který zkoumal rozšíření háďátka řepného na 472 lokalitách v 19 okresech (mimo Jihomoravský kraj) bývalého ČSSR bylo zjištěno, že pouze 10 % půd bylo nezamořených tímto škůdcem, zatímco 90 % půd řepářských oblastí je v různém stupni zamořeno. Hodnotící kritérium výskytu byl počet cyst s životaschopným obsahem na 100 g půdy (1 až 10 – slabý výskyt, 10 až 20 – střední výskyt, 20 až 30 – silný výskyt a nad 30 velmi silný výskyt). Nejvyšší zamoření ze zkoumaných lokalit bylo zjištěno v okresech Olomouc a Přerov. Jako poslední byl proveden průzkum výskytu háďátka řepného v Jihomoravském kraji (28). Z výsledků provedeného průzkumu vyplynulo, že v průměru zamořenost nedosahuje takové úrovně jako v českých krajích nebo v kraji Moravskoslezském. Pozitivní byla výše nezamořených ploch, která byla v průměru 28 %, kdežto např. ve Středočeském pouze 2,8 %. Později byl prováděn další průzkum, a to HANDRKOVOU (30), která při plošném průzkumu

Obr. 3. Několik různých typů ohnisek háďátka bramborového – ve směru kultivace pozemku; upraveno dle SCHOMAKERA A BEENA (47)



v okresech Jičín a Praha-západ našla hádátka prakticky na všech polích, ovšem ve velmi nízké koncentraci (0–3 cysty na 100 g půdy, s průměrem vždy pod 1 cystu na 100 g) a pouze jediný vzorek s výskytem 8 cyst na 100 g půdy. Poslední prací zabývající se výskytem a škodlivostí hádátka řepného je studie CHOCHOLY (31) o vlivu hádátka řepného na výnosy cukrové řepy.

### Vliv přítomnosti hádátka řepného na výnos

Základním hodnotícím kritériem pro stanovení prahu škodlivosti hádátka řepného by neměl být údaj postavený na počtu zjištěných cyst s živým (ale kvantitativně přesně nestanoveným) obsahem, neboť hodnoty vyjadřující silné poškození porostu či ekonomické ztráty na výnosu uvedené pouze počtem cyst na jednotku půdy nejsou příliš vypovídající a skutečnou populační hustotu hádátka nepodávají. V cystě může být 0–600 i více vajíček (larev), proto je nevhodnější pracovat s hodnotou vyjádřenou ve tvaru „počet vajíček/larev na jednotku objemu půdy“ (což je přesnější než na jednotku váhovou).

Dle bohaté publikované odborné literatury je práh ekonomické škodlivosti uváděn např. v Nizozemí v rozmezí 1000–1500 vajíček na 100 cm<sup>3</sup> (32), v NDR jej stanovili na 500 vajíček a larev na 100 g půdy (32), v USA dospěli k hodnotě 143 vajíček na 100 g půdy (33). Při dalších výzkumech se v USA došlo ke kritickým hodnotám ve výši 2–3,5 vajíček na 1 g půdy, či v jiné oblasti ve výši 1–5,2 vajíček na cm<sup>3</sup> půdy (34). GUSKOVA (35) uvádí, že 200 larev na 100 cm<sup>3</sup> půdy způsobuje 5% ztráty na výnosu řepy na Ukrajině, ale již 10% ztráty v Kyrgystánu, při zamoření 1300 larev na 100 cm<sup>3</sup> jsou ztráty 40 %, respektive 50 %. Firma KWS (36) vyčíslila 3–5% výnosové ztráty při výskytu 5–7 cyst ve 100 ml půdy (150–800 vajíček a larev ve 100 ml půdy). Hodnotných výsledků dosáhl ve svých pokusech CHOCHOLA (31), podle kterého má současná interpretace výsledků rozborů často charakter podcenění škodlivosti hádátka. Autor uvádí za spodní hranici škodlivého zamoření hodnotu „3–6 živých cyst na 100 g půdy“, což je hodnota korespondující s výše uvedenými přísnější posuzovanými prahy škodlivosti.

Jak je zřejmé, stanovit přesnou hodnotu, při níž lze očekávat významné snížení výnosu, nelze. Roli zde hraje velké množství faktorů, mezi něž patří počáteční populační hustota hádátka, odrůda řepy (náchylná, tolerantní či rezistentní), teplota a vlhkost půdy (v suchém a teplém létě jsou škody výraznější než ve vlhkém roce), fyzikálně-chemické vlastnosti půdy, průběh počasí během sezóny ad. Ekonomický práh škodlivosti pro určitou oblast a rok bývá často až zpětně odvozen na základě výnosu a cukernosti řepy, nákladů na ochranu a výživu rostlin, ceny cukru, a jeho hodnota tudíž není neměnná. Uváděné prahy škodlivosti jsou orientační a závisí na řadě výše uvedených proměnných faktorů.

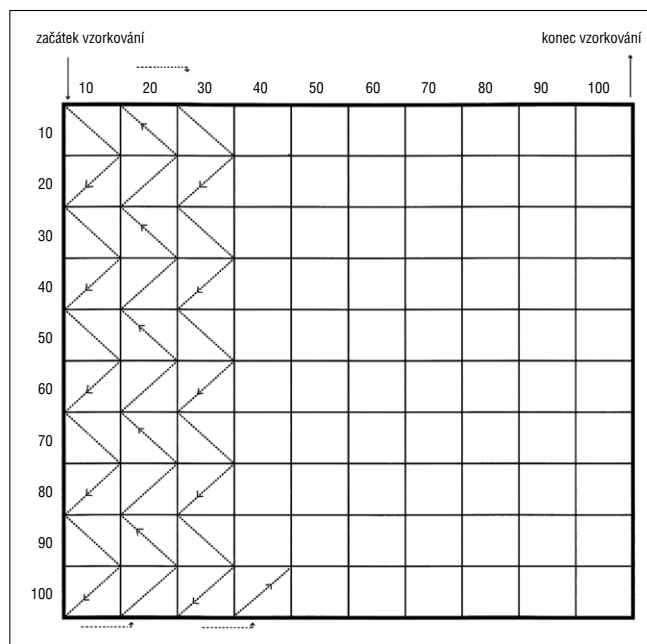
### Odběr půdních vzorků

#### Obecné zásady

#### Termín odběrů

Vzhledem k charakteru vzorku, důvodu odběru a použití informací získaných rozbohem je možné soustředit vzorkování do příhodného termínu s určitou prodlevou mezi odběrem a laboratorním rozbohem.

Obr. 4. Odběrové schéma z pozemku o rozloze 1 ha dle navrženého postupu



Obecně platí, že nevhodnější doba pro odběry půdních vzorků na cystotvorná hádátka je těsně před sklizní nebo po sklizni hostitelské rostliny nebo v jarním či podzimním termínu. Podzimní termín lze doporučit i s ohledem na eventuální vyšší populační hustotu hádátka po vegetační sezoně. Vzorky se neodebírají, pokud je půda extrémně suchá nebo mokrá.

### Schéma odběru – horizontální a vertikální rozšíření cyst na pozemku

Při odběrech je nutné vzít v úvahu nerovnoměrné horizontální i vertikální rozmístění hádátka na pozemku. Na pozemcích se vyskytují nejčastěji v ohniscích, převážně jsou pak nashromážděna v místech, kde jsou pro ně nejlepší podmínky, tzn. hlavně v okolí kořenů hostitelských rostlin. Jejich koncentrace na různých částech pozemku závisí mj. i na různé vlhkosti půdy v jednotlivých částech pozemku, půdním typu a dalších fyzikálně-chemických a biologických faktorech. Je proto nezbytné provést vzorkování systematicky (dodržet minimální počty odebraných směsných vzorků a s nimi souvisejících vzorků dílčích), aby byly získány reprezentativní vzorky, odrážející co nejpřesněji situaci na pozemku.

**Vertikální rozšíření hádátka v půdním profilu** udává, v jaké hloubce se patogen může vyskytovat a v jaké části půdního profilu je největší šance na jeho detekci – tedy do jaké hloubky by se mělo vzorkovat. Vertikální rozšíření hádátka je dáno v první řadě hloubkou kořenového systému hostitelské rostliny (37, 38) a rozložením jemného kořenového vlášení (obr. 2.). Dále je ovlivňováno fyzikálními vlivy, vlastnostmi a strukturou půdy (39–41) a v neposlední řadě vnějšími pestrebními agrotechnickými zásahy – kultivací půdy, kdy dochází zvláště u zralých cyst k jejich mísení – homogenizaci a zanášení do spodních vrstev půdního profilu (42).

Cukrová řepa může prokořeňovat až do hloubky 150 cm, avšak hlavní část bulvy, kořene a kořenového vlášení zasahuje v průměru do 60cm hloubky půdního profilu. Dle zjištění

Obr. 5: Vybrané nástroje pro odběr půdních vzorků na háďátka řepné



WHITEHEAD (43) bylo vertikální rozšíření háďátka řepného v půdním profilu stejně početné nebo ještě početnější v profilech 20–40 a 40–60 cm ve srovnání s profilem 0–20 cm. BEEN A SCHOMAKER (44) detekovali 90 % cyst háďátka bramborového na pozemcích s pěstovaným bramborem v horních 35 cm půdního profilu, ale několik cyst bylo zjištěno v hloubce až 80 a více cm.

Z výše uvedených poznatků vyplývá, že pro vzorkování na háďátka řepné je ideální se zaměřit na profil 5–40 cm půdy. Vzorkování do takové hloubky je zvláště při suché půdě dosti fyzicky a časově náročné. Proto je dobré vzorkovat v optimální době nejen s ohledem na potřebu získání výsledků rozborů z laboratoře, ale i z pohledu aktuální půdní charakteristiky a stavu vzorkovaného pěstebního pozemku (vlhkost, drobitost, tvrdost, kultivace, sněhová pokrývka, porost atd.). Sebelepší detekční metody nejsou schopny vynahradiť výslednou chybu v kvantitativním stanovení počtu cyst u vzorku chybně odebraného. Optimální je vzorkování z půdy mírně vlhké, která je dobře průchodná odběrnými nástroji, ale nelepí se a neslévá se do velkých hrud, které mohou negativně ovlivnit výtěžnost detekčních metod.

Všechna cystotvorná háďátka jsou obligátní parazité kořenů rostlin, takže jejich výskyt v určité hloubce půdního profilu je z velké části odrazem přítomnosti zdravých kořenů hostitelských rostlin a schopnosti háďátek se množit. Četnost kořenů v půdě je ovlivněna půdní vlhkostí, pH, pórovitostí, přítomností některých půdních horizontů a dostupností minerálních živin, zvláště dusíku. Hluboká prokypřenost a dostupnost živin v celém profilu umožňují vývoj bohatého kořenového systému rostlin a tím i nárůst populace háďátka.

**Horizontální rozšíření háďátek** udává výskyt patogena v prostoru (v ploše) a strukturu rozšíření (ohniska × homogenní rozšíření). Účelem odběru je zjištění výskytu a četnosti patogena na pozemku či také zjištění velikosti a tvaru ohnisek a jejich vzdálenosti, proto bude rozdílný přístup ke vzorkování s cílem pouhé detekce patogena na pozemku od případů,

kdy půjde též o zjištění ohnisek výskytu. Pokud se jedná pouze o zjištění přítomnosti patogena, bude důležitější počet dílčích vrypů a použitý odběrový vzorec pro vzorkování než velikost jednotek (šířka a délka pásů), kterými se pozemek rozdělí. Důraz na velikost a přesné zachycení dílčích odběrových ploch v plánech odběru má význam zejména pro co nejpřesnější vymezení eventuálního ohniska či ohnisek výskytu na pozemku a dle toho pak přijetí příslušných opatření. Vyhláška č. 75/2010 Sb. o opatřeních k zabezpečení ochrany proti zavlečení a šíření háďátka bramborového a háďátka nažloutlého (45) se sice týká háďátek rodu *Globodera*, ale je v tomto případě brána za vhodné vodítko pro vzorkování, které lze vztáhnout i na další cystotvorné druhy háďátek. Pro odběry vzorku udává minimální šířku 5 m a délku mezi body odběru vzorků maximálně 20 m. Ideální šířka pásu pro odběr vzorků za účelem vymezení polohy a velikosti ohniska na pozemku byla na základě výzkumu a výpočetních modelů SCHOOMAKERA A BEENA (46) stanovena na 11 m.

Rozšíření cystotvorných háďátek na pozemku není ve většině případů homogenní a na základě různých faktorů je rozšíření nepravidelné s výskytem větších či menších ohnisek. Dle zjištění

Obr. 6: Plavící zařízení pro extrakci cyst z půdního vzorku (A – Fenwickova konvice, B – modifikovaná, vlastnoručně vyráběná plavící konvice, C – Thomasova konvice)



SCHOMAKERA A BEENA (47) se ohniska cystotvorných háďátek druhů *Globodera pallida* a *Globodera rostochiensis* zvětšují a rozšiřují ve směru kultivace pozemku (obr. 3.). Vzhledem k podobnostem mezi háďátkem bramborovým a řepným lze předpokládat podobnou situaci i na polích s cukrovkou. Proto by vždy mělo jít vzorkování na cystotvorná háďátka ve směru kultivace pozemku a ne napříč.

Preferovaný odběrový vzorec při odběru jednotlivých dílčích vrypů je způsob „cik-cak“ po úhlopříčkách, který v rámci odběrových jednotek o předem definovaných rozměrech v pravouhlé souřadnicové síti nejlépe pokryje rozšíření patogena na pozemku (obr. 4.). Rozdělení pozemku na pokud možno stejně velké parcelky (části) a odběr stejného počtu dílčích vzorků z každé této části zajistí rovnoměrné ovzorkování pozemku a následně získání spolehlivé informace o četnosti výskytu patogena a jeho prostorovém uspořádání.

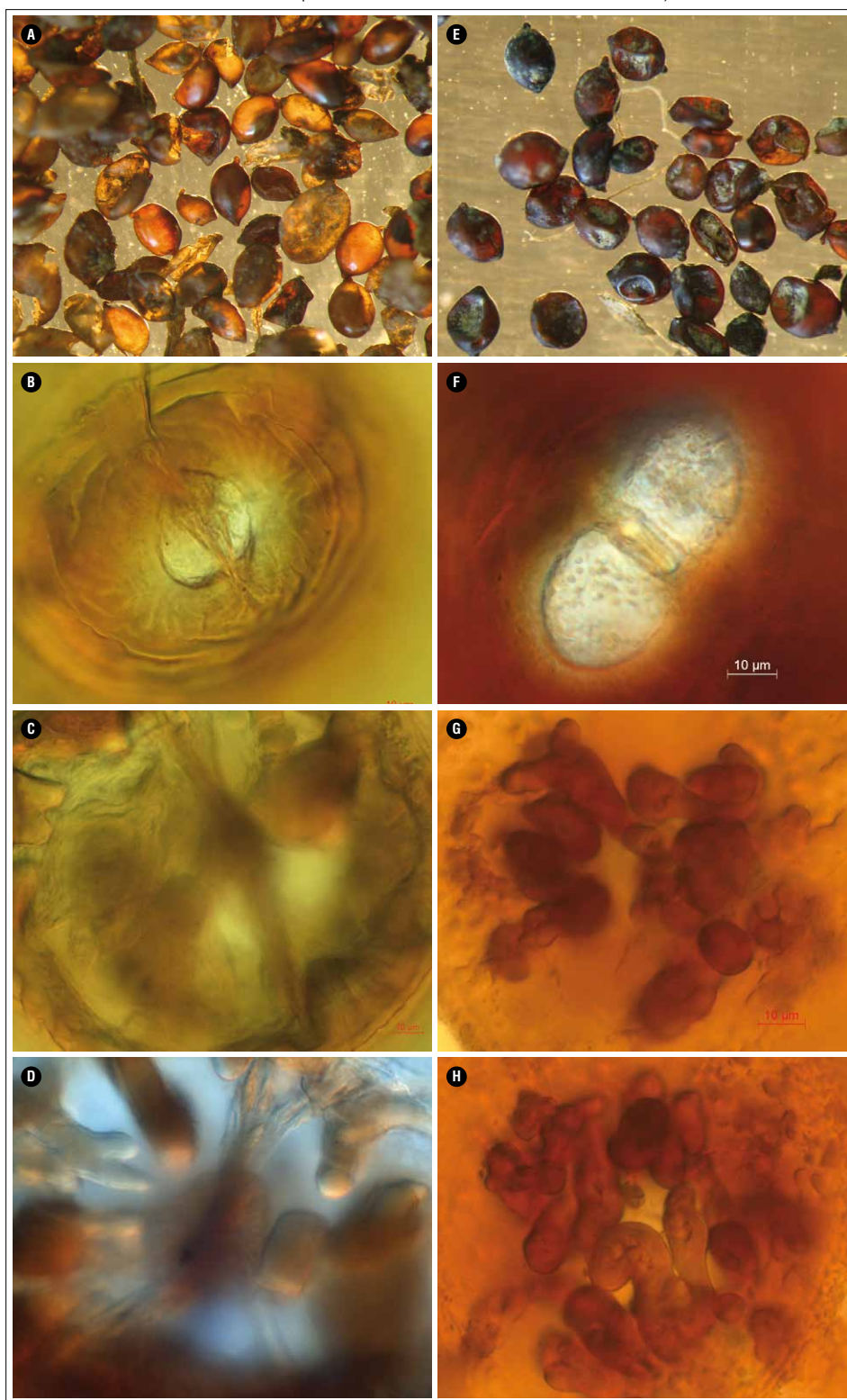
#### Metodika odběru vzorku

Z důvodu velkých teplotních a vlhkostních extrémů, menší hustoty kořenů, a tím i menší pravděpodobnosti výskytu háďátek ve svrchní vrstvě půdy (do cca 5 cm), se odebírají dílčí vzorky (vrypy) z hloubky 5–30 cm od povrchu půdy. V případě odběru vzorku z pozemku, kde došlo v nedávné době k orbě či jinému kultivačnímu zásahu ovlivňujícímu vertikální a horizontální promísení půdy na pozemku, lze dílčí vzorek odebrat i ze svrchní vrstvy.

Odběry se provádějí pomocí zahradnických či polních lopatek, rýčků, půdních vrtáků či sondýrek (obr. 5.). Velikost půdních vrtáků by měla být v průměru aspoň 3–4 cm, aby se snížilo nebezpečí poškození háďátek přímo při odběru. Použit lze také sazeč tulipánů o průměru 5 cm či půdní vrták o průměru až 10 cm, používaný na golfových hřištích.

Půdní vzorky se ve vegetačním období odebírají především z bezprostředního okolí rhizosféry pěstovaných rostlin. Aby se vyloučila možnost kontaminace vzorků odbíraných po sobě z jednotlivých pozemků, je nezbytné mezi odběry na různých pozemcích použít nářadí dokonale očistit, popř. dezinfikovat.

Obr. 7. Cysty háďátka řepného a háďátka ovesného (A – cysty háďátka řepného, E – cysty háďátka ovesného, B – perineum háďátka řepného, F – perineum háďátka ovesného, C, D – bullae háďátka řepného, G, H – bullae háďátka ovesného)



Velmi důležitým krokem je příprava samotného směsného vzorku. Jednotlivé dílčí vzorky o hmotnosti 10–50 g se smíchají v jeden směsný vzorek (ve větší nádobě, na plachtě apod.). V ideálním případě jsou jednotlivé vzorky zeminy postupně prosáté přes síto o velikosti ok 8–10 mm, čímž se ze vzorku odstraní větší kameny a organické části. Jemné kořeny rostlin

Tab. 1. Popis hlavních rozdílů určovacích znaků cyst obou druhů vyobrazených na obr. 7.

	<i>Heterodera schachtii</i>	<i>Heterodera avenae</i>
Barva zralé cysty	světle až tmavohnědá	tmavohnědá
Vulvální kužel	zřetelný, špičatý	zřetelný, oblý
Vulvální štěrbin	35–60 µm (délky zhruba jako vulvální můstek)	6–12 µm (výrazně kratší než vulvální můstek)
Bullae	silné, světle hnědé až hnědo-oranžové, často tvaru stoličky; umístěné v krátké vzdálenosti pod vulválním můstkem	silné, tmavohnědé, početné, převážně kulovité; umístěné ve vulválním kuželi
Podmůstek	přítomen – silný	chybí
Oblast perinea	ambifenestrální typ	ambifenestrální až bifenestrální typ

se ve vzorku ponechají, neboť na nich mohou být cysty, které při sušení odpadnou. Následně se půda jemně promísí (nejlépe rukama), až získá homogenní barvu a konzistenci. Po dokonalém promísění se ze vzorku odebere požadované množství pro laboratorní analýzu, tj. cca 1000 ml půdy. Nadměrně velký objem tohoto vzorku je zbytečný, jelikož se z něj analyzuje pouze malá část. Důležitější je dodržet počet dílčích vrypů. V souladu s dříve zmíněnou vyhláškou č. 75/2010 Sb., doporučujeme odebírat základní standardní směsný vzorek o objemu nejméně 1000 ml zeminy na 1 ha, složený z nejméně 100 dílčích vzorků (vrypů) na hektar. Odběr se provádí v pravoúhlé souřadnicové síti při velikosti parcel 100 m<sup>2</sup> (tedy o délce stran 10×10 m, obr. 4.), pokrývajících celý pozemek. Směsný vzorek se odebírá z každého (i započatého) hektaru (např. z pozemku o výměře 4,25 ha je to 5 vzorků). U pozemků do 0,1 ha se směsný vzorek skládá nejméně z 25 vrypů, při výměře do 0,5 ha z 50 vrypů.

Velikost vzorkované plochy a s ní související počty odebíraných souhrnných a dílčích vzorků je dána účelem vzorkování. Větší pozemky je vhodné před odběrem rozdělit na jednohektarové (nebo i menší) parcelky a podle potřeby na nich provést samostatné odběry vzorků.

Vzorek pro stanovení přítomnosti háďátek rodu *Heterodera* je nutno před extrakcí dokonale vysušit. Sušení půdy musí probíhat pozvolna při normální laboratorní teplotě (nejlépe v tenké vrstvě). Sušení při běžných teplotách je důležité z hlediska zachování kvality a životnosti obsahu cyst, který může být nezbytný pro druhovou identifikaci. U vzorků s požadavkem na rozbor na cystotvorná háďátka nejsou nutná žádná zvláštní opatření pro skladování vzorku před analýzou (na rozdíl od půdních vzorků na necystotvorná háďátka). Vzorky na stanovení přítomnosti cyst háďátka řepného a kvantifikování jejich obsahu se musí nechat vyschnout a doba skladování před analýzou může být až 6 měsíců. Po této době může docházet k poškození obsahu v cystách a ovlivnění výsledku rozboru skladováním vzorku. V žádném případě by vzorky neměly přemrznout nebo se přehřát nad teplotu 40 °C.

#### Balení, označování a odesílání vzorků

Odebrané vzorky musí být řádně zabaleny, aby se předešlo jejich vysypání a tím i znehodnocení (váhovým úbytkem nebo smícháním s dalšími vzorky v zásilce).

Nevysušené půdní vzorky se balí do pevných PE obalů („igelitů“), nikoli mikrotenu či papíru! Vysušené půdní vzorky lze balit i do pevných papírových sáčků. Větší objemy, popř. kamenitá půda s ostrými částicemi, se ukládají do dvojíých

obalů. Každý vzorek musí být jednoznačně a nesmazatelně označen, a to nejlépe přímo na povrchu vlastního obalu.

Řádně zabalené a označené půdní vzorky opatřené dokumentem identifikujícím místo odběru, datum, vzorkovatele ad. (nejčastěji je to průvodka nebo protokol o odběru) se vloží do přiměřeného přepravního obalu, náležitě zabalí a doručí do příslušné laboratoře. Vzorky chybně odebrané, balené nebo označené má laboratoř právo odmítnout nebo vyžadovat opakovaný odběr, a to z důvodu možnosti ovlivnění výsledků rozboru chybou, která se stala před doručením vzorku do laboratoře.

#### Detekce a identifikace háďátka řepného v půdních vzorcích

Ke zjištění přítomnosti cyst v půdním vzorku se obecně používají metody založené na rozdílné hmotnosti cyst a vody. Suché cysty obsahují drobné bublinky vzduchu, jsou tedy lehčí než voda a vyplouvají na povrch. Toho se využívá při jejich extrakci z půdy, pro kterou byla vyvinuta řada speciálních zařízení. Na principu tzv. flotace se z půdy izoluje háďátka řepná, stejně jako ostatní cystotvorné druhy (háďátka ovesné, bramborové ad.).

Existuje celá řada metod extrakce: nejjednodušší je tzv. proužková metoda, spočívající v tom, že se v přiměřené nádobě rozmíchá suchý půdní vzorek v dostatečném množství vody (s přidáním několika kapek detergentu) a vzniklá suspenze se rozvíří. Cysty vyplavou na hladinu a usazují se na filtračním papíru přehnutém přes okraj nádoby a zasahujícím pod hladinu suspenze. Z papíru se po jeho vyjmutí vybírají cysty tenkým štětečkem. Tato metoda je rychlá, levná, není závislá na velkém množství vody, je ale nejméně průkazná. Pomineme-li složitá a drahá zařízení (Schuilingova centrifuga, Seinhorstův elutriator, výkonné „karusely“, schopné vyplavit až 180 vzorků za hodinu) či méně rozšířený Wyeův promývač, je pro běžné použití nevhodnější Fenwickova konvice (obr. 6A), která je obecně nejpoužívanějším zařízením pro extrakce cystotvorných háďátek z půdy. V Evropě jej oficiálně vyrábí jediná firma, takže v řadě laboratoří se běžně používají vlastnoručně vyrobené plavící soupravy, fungující na stejném principu (flotace). Jde často o modifikovaná zařízení, která jsou levnější a přitom mohou pracovat prakticky stejně spolehlivě (obr. 6B). Při výrobě vlastních zařízení je nutné dbát na to, aby se vlivem nevhodné konstrukce nesnížila jejich funkčnost. Další nepříjemnou okolností je fakt, že mladé, plné cysty se často spíše vznášejí ve vodním sloupci a mohou tak při extrakci zůstat nezachyceny, což bývá jedna z příčin podhodnocení úrovně zamoření pozemku. K analýze se standardně používá

100–200 ml půdy. Jde o směsný vzorek, získaný dle výše uvedených pravidel pro odběr půdních vzorků.

Na rozdíl od cyst rodu *Globodera* cysty rodu *Heterodera* špatně snášejí vysychání (zejména rychlé) a jejich živý obsah významně degraduje. Pokud se provádějí testy životnosti obsahu cyst, mělo by schnutí vlhkého odebraného vzorku před extrakcí probíhat při teplotě do 25 °C. Produkt vyplavení půdního vzorku se zachycuje na sítkách a z důvodu snadnějšího vyhodnocení je nutné jej na povrchu prohlížecího sítko rovnoměrně rozprostřít (nejlépe ve vrstvě 1–2 mm). Suchý (nebo aspoň proschlý) obsah sítko je nutné celý pečlivě prohlédnout a veškeré zjištěné cysty vybrat jemným štětečkem k dalšímu vyšetření. Při hromadných analýzách lze velké množství organické hmoty oddělit od cyst pomocí alkoholu či acetonu (48, 49) nebo pomocí speciálního zařízení pracujícího na principu nakloněné vibrující roviny.

#### Identifikace hádátka řepného podle cyst

Cysty jsou přeměněná těla odumřelých samic některých rodů hlístic. Jsou to drobné, většinou necelý 1 milimetr dlouhé, ve stadiu zralosti většinou smolně tmavohnědé útvary (schránky), odolné vlivům vnějšího prostředí. Obsahují v závislosti na druhu a podmínkách až 600 i více vajíček. U rodu *Heterodera* jsou citronovitěho tvaru (jeden „výběžek“ je hlavová část samičky – krček, druhý je její vulvální kužel – obr. 7A, B) a jsou zprvu bílé, později hnědé až tmavohnědé. Obsah cysty zůstává živý až několik let, životnost s časem klesá.

Vzhledově jsou cysty hádátka řepného typické pro rod *Heterodera*, a tudíž na první pohled zaměnitelné s dalšími druhy tohoto rodu. Morfologicky a geneticky nejpodobnějšími a nejbližší příbuznými druhy hádátka řepnému jsou druhy, se kterými toto hádátko tvoří tzv. schachtii skupinu: *Heterodera trifolii* parazitující na bobovitých (zejména jetelích), *H. galeopsidis* na některých druzích konopí, hluchavek, mydlíc a šťovíků, *H. glycines* na sóji luštěnaté a celé řadě dalších druhů rostlin z více než 22 čeledí (např. *Fabaceae*, *Brassicaceae*, *Solanaceae*), *H. medicaginis* na tolici vojtěšce a *H. betae*, parazitující taktéž na řepě a řadě dalších druhů rostlin z čeledí *Cruciferae*, *Chenopodiaceae*, *Polygonaceae* a *Caryophyllaceae*. Morfologické rozdíly mezi výše uvedenými druhy nejsou výrazné a většinou je v případě neznalosti hostitelské rostliny, ve které se až na *H. betae* od hádátka řepného jednoznačně odlišují, nutné provést důkladné morfologické vyšetření cyst i larev, a to nejlépe na více jedincích zkoumané populace. Z důvodu velké podobnosti druhů jsou velmi vhodnými identifikačními nástroji molekulární diagnostické metody, popř. biologické testy.

Neodbornou diagnostikou cyst získaných z půdních vzorků z polí naší republiky lze nejčastěji zaměnit hádátka řepné s hádátkem ovesným (*Heterodera avenae*), které je v agrocenózách ČR velmi rozšířeným a hojným druhem (50). Oba druhy se často vyskytují na stejném pozemku, ale vybírají si odlišné hostitele.

I když mohou být rozdíly v obou druzích patrné často již pod binokulární lupou, je vhodné zakázku na rozbor půdního vzorku světit vybavené laboratoři se zkušenými diagnostiky.

Vzájemné rozlišení cyst rodů *Globodera* (např. hádátka bramborové) a *Heterodera* není zvláště obtížné, v rámci rodů však bývá přesná diagnostika často náročná.

Kromě cyst lze samozřejmě pro zodpovědnou diagnostiku využít i juvenilní stadia či dospělé hádátka a provést přesné taxonomické určení na základě morfologických znaků nebo použít diagnostické metody na molekulární úrovni.

#### Závěr

V dnešní překotné době jsou devítihodňové oševní postupy spíše teorií než praxí. Vše se řídí krátkodobými cíly v závislosti na aktuální poptávce na trzích, nárůstá zastoupení brukvovitých plodin v osevních postupech se soustředěním pěstování řepy opakovaně jen na nejlepších pozemcích s návratem po 3–4 letech. Přesné stanovení výskytu hádátka řepného na pozemcích je tak stále aktuálnější, zvláště ve spojitosti s rozhodováním o zařazení tolerantních či rezistentních odrůd a o přijetí dalších agrotechnických opatření vedoucích k redukci populační hustoty hádátka na pozemku. Přesné stanovení populační hustoty hádátka závisí na maximální pečlivosti během celého procesu, odběrem počínaje a správnou diagnostikou konče.

Cílem našeho článku je přispět ke zvýšení povědomí o této problematice a podpořit nezbytnost průzkumů na hádátka řepné na pěstebních pozemcích. Výsledky průzkumů by se měly stát jedním ze základních podkladů pro plánování osevních postupů se zařazenou cukrovkou a s tím souvisejících pěstebních opatření.

*Poděkování:* Děkuje Radku Bromovi (ÚKZÚZ) a Gabriele Schlesingerové (SRS) za přečtení rukopisu a jeho připomínkování.

#### Souhrn

Vzhledem k podobnostem lze pro vzorkování za účelem detekce hádátka řepného na pozemku využít podobná kritéria jako pro hádátka bramborové a nažloutlé daná Vyhláškou č. 75/2010 Sb. Odběr vzorků z dříve netestovaného pozemku zahrnuje vzorek zeminy o standardním objemu 1 000 ml zeminy na 1 ha odebraný z nejméně 100 dílků vzorků (vrypů) na 1 ha v pravoúhlé souřadnicové síti pokrývající celý pozemek o šířce 10×10 m. Vzorky se odebírají v řádcích ve směru kultivace v těsné blízkosti hostitelských rostlin (v oblasti rhizosféry), a to do hloubky cca 30 cm. Izolace cyst hádátka řepného se standardně provádí metodou plavení, a to v přístrojích na principu Fenwickovy konvice a jejich modifikacích. Za spolehlivou metodu identifikace hádátka řepného lze považovat mikroskopický (morfologicko-morfometrický) rozbor nebo molekulární analýzu cyst a/nebo larev prováděné řádně vyškolenými pracovníky laboratoře.

**Klíčová slova:** cukrová řepa, hádátka řepné, vzorkování, detekce.

#### Literatura

- SUBBOTIN, S. A.; MUNDO-OCAMPO, M.; BALDWIN, J. G.: *Systematics of Cyst Nematodes (Nematoda: Heteroderinae)*, 8B. Brill, Leiden, 2010, 512 s.
- VAŇHA, J.; STOKLASA, J.: *Hlístí řepy cukrové*. Praha: Spolek pro prům. cukrovarnický v Čechách, 1895, 87 s.
- VAŇHA, J.: Rozšíření hlístí řepných na Moravě. *Listy cukrovarnické*, 12, 1893/1894 (15), s. 264–265.
- VAŇHA, J.: Význam otázky nematodové. *Listy cukrovarnické*, 14, 1895/1896 (15), s. 259–260.
- VAŇHA, J.: Nový způsob ničení hlístků a škodlivých plísni v půdě. *Listy cukrovarnické*, 16, 1897/1898 (4), s. 75–77.
- UZEL, J.: Zpráva o škůdcích a chorobách řepy cukrové v Čechách r. 1907 a rostlin střídavě s ní pěstovaných. *Listy cukrovarnické*, 27, 1908/1909 (21), s. 333–336.
- VINDUŠKA, L.: Plevele a hádátka řepné (*Heterodera schachtii* Schmidt). *Ochrana rostlin*, 3, 1967 (4), s. 219–224.
- VINDUŠKA, L.: Výskyt hádátka řepného (*Heterodera schachtii* Schmidt) v České socialistické republice. *Listy cukrovarnické*, 85, 1969 (7), s. 153–158.

9. VINDUŠKA, L.: Délka vývoje u generací háďátka řepného *Heterodera schachtii* Schmidt. *Ochrana rostlin*, 6, 1970 (4), s. 281–286.
10. VINDUŠKA, L.: Vztahy mezi výskytem háďátka řepného *Heterodera schachtii* Schmidt a výnosem cukrovky. *Ochrana rostlin*, 7, 1971 (4), s. 271–276.
11. VINDUŠKA, L.: Počet generací *Heterodera schachtii* Schmidt na řepce ozimé a na plevelích. *Ochrana rostlin*, 8, 1972 (3), s. 207–210.
12. VINDUŠKA, L.: Růst populace háďátka řepného *Heterodera schachtii* Schmidt na monokultuře řepy. *Ochrana rostlin*, 8, 1972 (2), s. 89–93.
13. VINDUŠKA, L.: Použití nematocidů u cukrovky. *Rostlinná výroba*, 18, 1972 (8), s. 875–881.
14. RAMBOUSEK, F.: *Škůdcové a ochránci řepní*. Nákladem Ministerstva zemědělství republiky Československé, Praha, 1928, 415 s.
15. ROZYPAL, J.: *Houby na bádátku řepném Heterodera schachtii Schmidt v moravských půdách*. Zemský výzkumný ústav zemědělský, Brno, 1934, 421 s.
16. HRABĚ, S.: Příspěvek k metodice kvantitativního stanovení cyst háďátka řepného (*Heterodera schachtii*) v půdě. *Práce Moravské Akademie věd přírodních*, 25, 1953, s. 450–459.
17. BAUDYŠ, E.: Háďátka řepné čili hlístek řepový. *Zvláštní otisk z časopisu „Milotický Hospodář“*, 46, 1935 (6–7), s. 1–3.
18. BAUDYŠ, E.: Háďátka kořenové. *Zvláštní otisk z časopisu „Československý zemědělec“*, 42, 1923, s. 1–2.
19. PROKŠOVÁ, M.: Háďátka ve světle dnešních znalostí. *Příroda*, 44, 1951 (3–4), s. 37–43.
20. DRACHOVSKÁ-ŠÍMANOVÁ, M.: *Atlas řepných škůdců a chorob*. Praha: Ministerstvo potravinářského průmyslu, 1955, 47 s.
21. STEHLÍK, V.; BENC, S.; HAVRÁNEK, A.: *Řepářství*. Praha: SZN, 1956, 430 s.
22. BENADA, J.; ŠEDIVÝ, J.; ŠPAČEK, J. (eds): *Atlas chorob a škůdců řepy*. Praha: SZN, 1985, 264 s.
23. NEORAL, J.: *Boj proti bádátku řepnému (Heterodera schachtii Schmidt 1871) na cukrovce*. Kandidátská disertační práce, Kralice na Hané. In: Archiv Mendelu v Brně, 1964, 162 s.
24. NĚMEC, B.: Über die Nematodenkrankheit der Zuckerrübe. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten*, 21, 1910, s. 1–10.
25. NĚMEC, B.: Über die Gallen von *Heterodera Schachtii* auf der Zuckerrübe. *Studies from the Plant physiological laboratory of Charles university Prague*, 4, 1932 (2), s. 1–14.
26. VINDUŠKA, L.: Výskyt háďátka řepného v řepné oblasti Severočeského kraje. *Listy cukrovarnické*, 83, 1967 (7), s. 159–162.
27. VINDUŠKA, L.: Výskyt háďátka řepného v řepné oblasti Středočeského kraje. *Listy cukrovarnické*, 84, 1968 (5), s. 97–102.
28. VINDUŠKA, L.: Háďátka řepné v Jihomoravském kraji. *Listy cukrovarnické*, 90, 1974 (2), s. 42–43.
29. ŠÁLY, A.; VINDUŠKA, L.: Vplyv nematínu na pôdnu nematofaunu. *Ochrana rostlin*, 13, 1977 (2), s. 143–151.
30. HANDRKOVÁ, J.: *Způsoby omezení škodlivosti háďátka řepného v cukrovce*. Závěrečná zpráva výzkumu, VŠÚŘ Semčice, 1989, 70 s.
31. CHOCHOLA, J.: Vliv nematodů *Heterodera Schachtii* Schmidt na výnos cukrové řepy. *Listy cukrov. řepář.*, 127, 2011 (12), s. 379–383.
32. VLK, F.: *Ochrana rostlin – Nematologie obecná a speciální*. Vysoká škola zemědělská Praha, Praha, 1985, 157 s.
33. COOKE, D. A.; THOMASON, I. J.: The relationship between population density of *Heterodera schachtii*, soil temperatures, and sugarbeet yields. *J. Nematology*, 11, 1979, s. 124–128.
34. ROBB, J. G.; KERR, E. D.; ELLIS, D. E.: Factors Affecting the Economic Threshold for *Heterodera schachtii* Control in Sugar Beet. *Journal of Sugar Beet Research*, 29, 1992 (1–2), s. 31–43.
35. GUSKOVA, L. A.: *Agroatlas: Heterodera schachtii*. [online] [http://www.agroatlas.ru/en/content/pests/Heterodera\\_schachtii/](http://www.agroatlas.ru/en/content/pests/Heterodera_schachtii/).
36. CHOCHOLA, J.: *Průvodce pěstováním cukrové řepy*. KWS Osiva, Řepářský institut Semčice, 2010.
37. VALDEZ, R. B. ET AL.: Transmission of the hop strain of arabis mosaic virus by *Xiphinema diversicaudatum*. *Annals of Applied Biology*, 76, 1974, s. 113–122.
38. RENČO, M.; ČERMÁK, V.; GAAR, V.: Vertical distribution of hop cyst nematode in hop gardens in Central Europe. *J. Nematology*, 43, 2011 (3–4), s. 220–222.
39. BRODIE, B. B.: Vertical distribution of three nematode species in relation to certain soil properties. *J. Nematology*, 8, 1975 (3), s. 243–247.
40. FERRIS, V. R.; BERNARD, R. L.: Effect of soil type on population densities of nematodes in soybean rotation fields. *J. Nematology*, 3, 1971, s. 123–128.
41. CAVENESS, F. E.: The incidence of *Heterodera schachtii* soil population densities in various soil types. *Journal of the A.S.S.B.T.*, 10, 1958 (2), s. 177–180.
42. BOAG, B.; NELSON, R.: Nematode aggregation and its effect on sampling strategies. *Aspects of Applied Biology*, 34, 1994, s. 103–111.
43. WHITEHEAD, A. G.: Vertical distribution of potato, beet and pea cyst nematodes in some heavily infested soils. *Plant pathology*, 26, 1977, s. 85–90.
44. BEEN, T. H.; SCHOMAKER, C. H.: Development and evaluation of sampling methods for fields with infestation foci of potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis* and *G. pallida*). *Phytopathology*, 90, 2000, s. 647–656.
45. Vyhláška č. 75/2010 Sb. o opatřeních k zabezpečení ochrany proti zavlékání a šíření háďátka bramborového a háďátka nažloutlého a o změně vyhlášky č. 332/2004 Sb., o opatřeních k zabezpečení ochrany proti zavlékání a šíření původce rakoviny bramboru, háďátka bramborového a háďátka nažloutlého. *Sb. zákonů*, 2010.
46. SCHOMAKER, C. H.; BEEN, T. H.: The demarcation of *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* infestations in fields for seed potatoes, using a Monte Carlo approach. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 40, 2010, s. 147–157.
47. SCHOMAKER, C. H.; BEEN, T. H.: A model for infestation foci of potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* a *G. pallida*. *Phytopathology*, 89, 1999, s. 583–590.
48. DEN OUDEN, H.: Het bieten cysteaaltje en zijn bestrijding. I. Methoden te gebruiken bij het onderzoek naar kunstmatige en natuurlijke lokstoffen. *Meded. Inst. Suikercore. Bergen-o.-Zoom*, 24, 1954, s. 101–120.
49. SEINHORST, J. W.: Separation of *Heterodera* cysts from dry organic debris using ethanol. *Nematologica*, 20, 1975, s. 367–369.
50. SABOVÁ, M. ET AL.: Výskyt a rozšíření *Heterodera avenae* Woll., 1924 na území České socialistické republiky. *Ochrana rostlin*, 25, 1989 (1), s. 59–70.

### Čermák V., Gaar V.: Beet Cyst Nematode (*Heterodera schachtii*) – Sampling, Detection and Identification

Since there are some similarities, detection of beet cyst nematode can be done using criteria similar to other nematodes (*Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*) given in Regulation No. 75/2010 Coll. Sampling on previously untested plot comprises standard sample – 1 000 ml of soil on 1 ha taken from at least 100 partial samples (cuts) on one hectare in a rectangular coordinate system covering the whole plot with the width 10×10 m. Samples are taken in lines in the direction of cultivation in the immediate vicinity of the host plant (area of rhizosphere) approximately 30 cm deep. Extraction of beet cyst worm cysts is usually done by floating method in equipment working on the principle of Fenwick can and their modification. One method considered reliable is microscopic (morphological-morphometrical) analysis or molecular analysis of cysts and larvae performed by properly trained laboratory workers.

**Key words:** sugar beet, beet cyst nematode, sampling, detection.

### Kontaktní adresa – Contact address:

Ing. Václav Čermák, Státní rostlinolékařská správa, Odbor diagnostiky, Šlechtitelů 773/23, 779 00 Olomouc-Holice, Česká republika, e-mail: vaclav.cermak@srs.cz