

Výzkum alternativních způsobů ochrany řepy cukrové proti háďátku řepnému *Heterodera schachtii* (Schmidt, 1871)

RESEARCH ON ALTERNATIVE METHODS OF SUGAR BEET PROTECTION AGAINST SUGAR BEET CYST NEMATODE
HETERODERA SCHACHTII (SCHMIDT, 1871)

Marie Maňasová¹, Jana Wenzlová¹, Ondřej Douda², Miloslav Zouhar¹, David Novotný², Pavel Ryšánek¹, Jana Mazáková¹,
Jaromír Chochola³, Klára Pavlů³, Lenka Šarovská⁴, Pavel Fridrich⁴, Andrei Novik⁵

¹ Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

² Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i.; ³ Řepařský institut, spol. s r. o.; ⁴ Moravskoslezské cukrovary, a. s.

⁵ Jet Company, s. r. o.

Háďátko řepné – *Heterodera schachtii* (Schmidt, 1871) patří mezi sedentární cystotvorná háďátka, u kterých existuje výrazný pohlavní dimorfismus, samičky jsou přisedlé citronkovitého tvaru a samci hadovití (obr. 1. a 2.).

První výskyt tohoto háďátka byl popsán v Německu v roce 1859 a dle svého objevitele profesora Hermanna Schachta dostalo své druhové jméno. Na našem území bylo poprvé objeveno roku 1886 a pojmenováno hlístek řepní (1). Tento škůdce se v současné době vykytuje ve všech oblastech, kde se intenzivně pěstuje řepa cukrová, a způsobuje značné ekonomické ztráty. Háďátko řepné bylo zjištěno v Evropě, Asii, Severní a Jižní Americe i v Austrálii (2, 3).

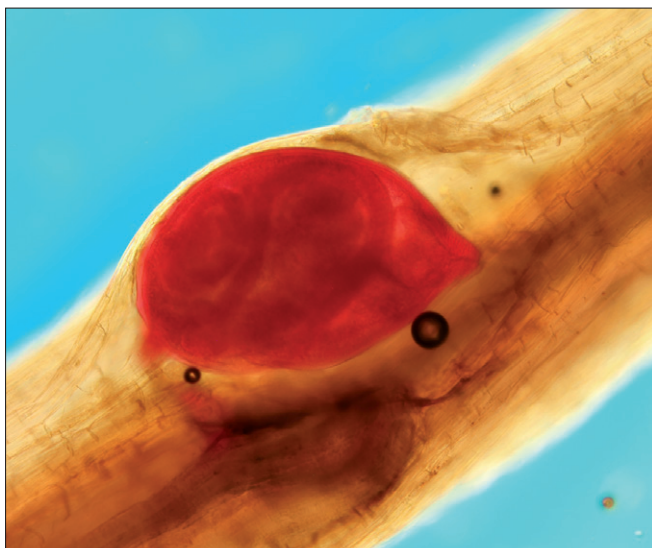
Hostitelský okruh *H. schachtii* je velice široký, zahrnuje více než 200 druhů rostlin napříč různými čeleděmi. Z hospodářsky významných druhů, patří mezi hostitele: řepa cukrová i krmná – *Beta vulgaris* var. *altissima* a *crassa*, řepka olejka – *Brassica napus* subs. *napus*, špenát – *Spinacea oleracea*, celer – *Apium graveolens*, hořčice – *Sinapis alba* či ředkev setá – *Rapbanus sativus*. Hostitelský okruh zahrnuje ovšem i mnoho plevelů, na kterých se může háďátko namnožit i v době, kdy na poli není hostitelská kulturní plodina (1, 4).

Líhnutí larev háďátka řepného je ovlivněno nejen přítomností kořenových difuzátů hostitelských rostlin v půdě (5), ale i příznivými klimatickými podmínkami, kdy se háďátka líhnou i bez přítomnosti hostitelských rostlin (6). Larvy po vylíhnutí opouštějí cystu a půdou putují směrem ke kořenovému vlášení hostitelských rostlin, kde se pomocí styletu dostávají do kořenů (7). V kořenech, pomocí enzymatických výměšků dorzálních jícnových žláz, vytvářejí obří buňky (syncytia), která háďátkům slouží k výživě (8). Ve stádiu larvy (obr. 3.) přijímají potravu obě pohlaví (9), v dospělosti již jen samice, které po posledním svlékání lahvicovitě zduřují a přijímají velké množství potravy. V poslední fázi kaudální konec samičky protrhne kořen a samička začne lákat samce (obr. 4.), kteří se nacházejí volně v půdě, dochází k oplození. Vajíčka v těle samičky dospívají až do fáze embryonů (obr. 5. a 6.), poté samička odumře a přemění se v cystu o velikosti 0,3–0,8 mm, která se uvolní do půdy, vývojový cyklus je ukončen. V příznivých podmínkách může mít *H. schachtii* až 2 generace za rok (10). Vývoj probíhá při teplotách 10–30 °C, optimální jsou ovšem teploty 20–25 °C. Embryony mohou v cystách přežívat až 10 let, podle úrovně

agrotechniky, půdních vlastností a také úrovně predace či parazitace na daném pozemku (8).

Hodnocení škodlivosti háďátka řepného procházelo změnami. VINDUŠKA (11) používal hodnotící stupnici založenou na počtu cyst s živým obsahem na 100 g půdy, kdy 1–10 cyst považoval za slabé zamoření, 10–20 za středně silné, 20–30 cyst za silné a více než 30 cyst za velice silné a určil, že k ekonomicky významným ztrátám dochází až při zamoření 100 a více cystami. Naproti tomu HANDRKOVÁ (12) zjistila, že k takovýmto ztrátám dochází již při silném zamoření, tedy přítomnosti 20–30 cyst ve 100 g půdy. V současné době přinesl CHOCHOLA (13) nové poznatky. K 30% ztrátám na výnosu cukrové řepy dochází již při zamoření 5 cystami na 100 g půdy, proto doporučil práh škodlivosti snížit na 3 cysty na 100 g půdy. V zahraničí se vedle počtu cyst na 100 g půdy používá hodnocení škodlivosti založené na počtu embryonů. V Holandsku je práh škodlivosti 100–1 500 embryonů na 100 cm³ půdy, v Německu 500 embryonů na 100 g (10) a ve Spojených státech amerických je tento počet nižší, jen 143 embryonů na 100 g půdy přičemž jedna cysta může obsahovat až několik set embryonů (8).

Pro stanovení prahu škodlivosti je třeba odebrat reprezentativní vzorek půdy z pozemků, správná metodika odběru tohoto vzorku je stále diskutovaným tématem, neboť výskyt háďátek na pozemcích je zpravidla ohniskovitý. V zahraničí, kde nejsou pozemky tak rozsáhlé, jako v České republice, se odebírají směsné vzorky skládající se ze 100 až 200 jednotlivých vpichů z 1–2 ha (14). V našich podmínkách, kde jsou obdělávané celky mnohonásobně větší, se ustálila stejná praxe, jako při agrochemickém zkoušení půd, tedy jeden směsný vzorek z 20–30 vpichů na 7–10 ha, což může přinášet nepřesnosti (13). V sousední SRN se osvědčilo odebírat směsný vzorek z 1 ha o váze 1 kg, který je složen minimálně z 200 vpichů, a to ze dvou různých hloubek 0–30 cm a 30–60 cm (14). Pro vyhodnocení počtu cyst je nutné cysty nejprve extrahovat z půdních vzorků. Při extrakci se využívá principu flotace, neboť cysty jsou díky přítomnosti vzduchových bublin lehčí než půdní částice a ve vodním sloupci plavou (obr. 7.). Na tomto principu pracují extrakční pomůcky, jako Fenwickova, Thomasova či Oostenbrickova konvice. Cysty jsou unášeny vodním proudem a zachytávány na sítu, kde jsou po vysušení spočítány (15).

Obr. 1. Mladá samička *H. schachtii* v kořenu cukrové řepy

Obr. 2. Larva 4 vývojového stupně a v ní formující se sameček



Ochrana proti hádátce řepnému se dá rozdělit na preventivní a kurativní. Mezi preventivní způsoby ochrany patří oseední postup se zařazováním speciálních meziplodin i rezistentních či tolerantních odrůd, stanovování přítomnosti hádátka na pěstebních plochách a omezení přejezdů mechanizace z ploch s přítomností hádátka na plochy nezasazené, mytí a dezinfekce mechanizace. Mezi kurativní metody patří aplikace konvenčních chemických nematicidů (8).

Čtyřletý cyklus zařazování řepy cukrové a ostatních hostitelských plodin do oseedního postupu je základní agrotechnické opatření pro snížení výskytu hádátka řepného (16). Při silném výskytu je pro ozdravení pozemku nutné počítat s delší časovou prodlevou návratu hostitelských plodin, a to i 8–10 let, neboť k nejvýraznějšímu poklesu populace hádátka, a to o 30–50 %, dochází v prvních dvou letech, ale v dalších již pokles není tak výrazný (17). Pro výraznější snížení populační hustoty se do oseedního postupu zařazují nepřátelské plodiny, které zapříčiní líhnutí larev druhého instaru, ale již neumožní dokončení jejich vývoje. Při tomto postupu musí být likvidovány hostitelské plevele i výdrol, aby nedocházelo k množení hádátka právě na těchto rostlinách (18). Pro ozdravení pozemku je vhodné zařazování meziplodin, jako jsou ředkev olejná a hořčice bílá (19). Dalším preventivním opatřením v rámci oseedních postupů je využití rezistentních odrůd cukrové řepy. Gen pro rezistenci pochází z divoké řepy *Beta procumbens*. Nematicidní efekt u rezistentních odrůd je výrazně vyšší, neboť řepa je na pozemku mnohem déle než meziplodina (20). Při dlouhodobém pěstování rezistentních odrůd hrozí ovšem riziko prolomení rezistence, proto je třeba na pozemku pravidelně pěstovat i odrůdy náchylné (21, 22, 23).

Jako kurativní ochrany lze využít nematicidů, jedná se o chemické agens využívané pro ničení nebo potlačování hádátek (24). Využití nematicidů je ovšem velmi nákladné a nebezpečné pro životní prostředí (25). Do roku 2008 byl registrován přípravek Furan 5 G, s účinnou látkou carbofuran. Momentálně je registrován obecně k dezinfekci půdy proti patogenním houbám, plevelům a půdním hádátkům Basamid Granulát, s účinnou látkou Dazomet a Vydate 10 G, s účinnou látkou Oxamyl, který je registrován mimo jiné i přímo proti hádátce řepnému (26).

Alternativou chemické ochrany je ochrana biologická, kterou lze chápat jako regulaci populace škůdce prostřednictvím jejich přirozených nepřátel. Do biologické ochrany lze tedy zahrnout využití a ochranu přirozených přítomných antagonistů a introdukci nových. Jako bioagens lze využít makro i mikroorganismů nebo extraktů z rostlin (24). Pro biologickou ochranu proti hádátkům na řepě cukrové není ovšem momentálně registrován žádný přípravek konvenční (26). Jako možné bioagens lze použít zejména nematofágní houby. Ty můžeme z hlediska jejich aktivity proti hádátkům rozčlenit do čtyř skupin na houby endoparazitické, houby parazitující na vajíčkách a cystách hádátek, houby vytvářející lapací struktury (tzv. „dravé houby“) a houby produkující toxiny (27).

Nematofágní houba *Stropharia rugosoannulata* Farlow ex Murrill (1922), česky límcovka vrásčitoprstenná, patří mezi

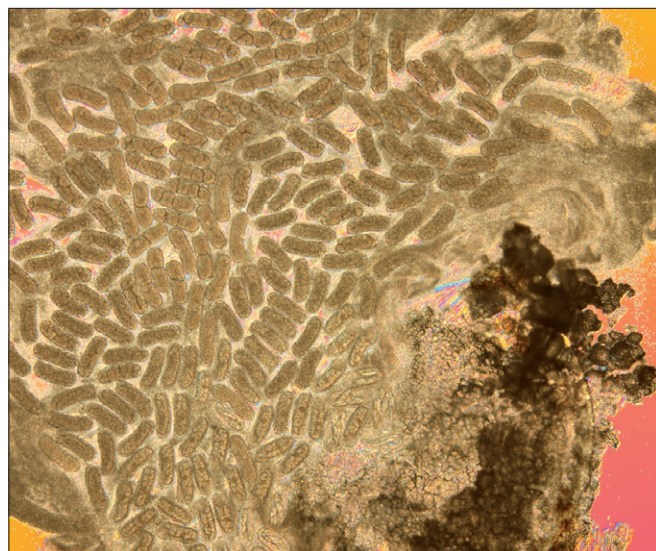
Obr. 3. Lahvicovitě zduřelá larva 3 vývojového stupně v kořenu



Obr. 4. Samičky *Heterodera schachtii* již vyhrézlé z kořenů cukrové řepy

Basidiomycota a je to jedlá nepříliš hojná houba (28). Z hlediska získávání potravy se řadí mezi „dravé“ nematofágní houby, tvořící lapací struktury. *S. rugosoannulata* vytváří velké hvězdicovité buňky (akantocyty) (obr. 8.), tento typ buněk je typický pro rod *Stropharia*. Ostré výběžky těchto buněk způsobí perforaci těla háďátek a jejich znehybnění (29). *Arthrobotrys oligospora* Fresen (1850), patří mezi Ascomycota, je to vláknitá půdní houba (28). Tento druh je nejrozšířenějším druhem nematofágních hub (30). *A. oligospora* je dalším zástupcem dravých nematofágních hub. Vytváří nejsložitější lapací struktury, tzv. lepivé sítě, které jsou tvořeny trojrozměrným komplexem lepivých vláken, jež se formují z lepivých větví (obr. 9.). Celá struktura je pokryta adhezivní látkou (31). Další nematofágní houbou z rodu *Arthrobotrys* je *A. dactyloides* Drechsler (1937), která také vytváří lepivé struktury, ale v jednodušší podobě než *A. oligospora*, její lapací strukturou jsou škrtící oka (32). *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., 1871, Basidiomycota,

Obr. 5. Rozdrcená bílá samička a v ní nakladená vajíčka (stáří samičky 30 dní od infekce)



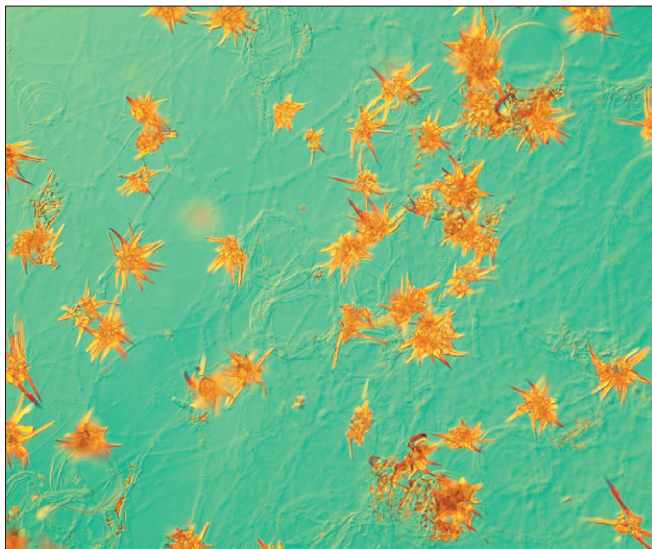
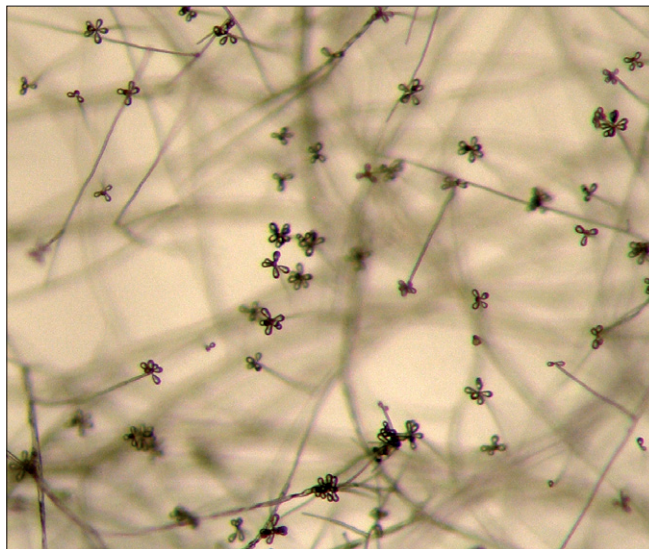
Obr. 6. Zralá vajíčka (embryony), uvnitř přítomné invazní larvy s výrazným ústním bodcem (styletem)



Obr. 7. Produkt extrakce háďátek z půdy pomocí flotační metody



česky hlíva ústříčná, vytváří tzv. toxocysty (33), nebo též lepivé knoflíky (34) či také lepivé uzlíky (31), jedná se o spojení toxického působení a lapavé struktury – směřovaných hyf (34). Tato houba byla úspěšně využita v in vitro podmínkách proti háďátku borovicovému, *Bursaphelenchus xylophilus* (35). Mezi endoparazitické houby patří *Hirsutella rhossiliensis* Minter & B.L. Brady (1980), Ascomycota, která vytváří nepohyblivé konidie. Ty po přichycení na háďátku začnou klíčit a klíčící hyfy penetruje kutikulu, v těle háďátka se poté vytváří infekční bulbus, ze kterého vyrůstají hyfy, které asimilují živiny (36). *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & W. Gams (2001), Ascomycota, je zástupcem nematofágních hub, které parazitují na vajíčkách hálkotvorných a cystotvorných háďátek a zároveň kolonizují rhizosféru rostlin (37). *Clonostachys rosea* (Link) Schroers, (1999)

Obr. 8. Akantocyty houby *Stropharia rugosoannulata*Obr. 9. Mycelium s konidiofory houby *Arthrobotrys oligospora*

je nematofágní houba produkující extracelulární proteázy (38), které ji umožňují hádátka znehybnit a hydrolyzovat proteiny kutikuly. Nejvyšší účinnost proteáz se ukazuje v alkalickém prostředí, což by mohl být kritický faktor pro nematofágní účinnost této houby (39). *C. rosea* je také velice účinné bioagens proti řadě houbových patogenů a zejména pak proti hmyzu a rovněž byl popsán nematofágní potenciál (40, 41).

Extrakty z rostlin ve formě esenciálních olejů jsou často používány jako tzv. botanické pesticidy. O tuto formu pesticidů je stále větší zájem (42), neboť většina chemických nematicidů je vysoce toxická a jejich aplikace je značně nákladná (43). Esenciální oleje nejsou čisté chemické sloučeniny, jejich hlavní složkou jsou terpenové a fenolové sloučeniny. Jsou to těkavé látky, jejichž důležitou vlastností je, že nejsou toxické pro savce, jsou přirozeně odbouratelné a jejich akumulace v prostředí je nízká (44). Použití esenciálních olejů proti hádátkům rodu *Heterodera* se zdá být slibné. Proti *Heterodera avenae* byl s pozitivním účinkem použit esenciální olej z rostliny *Valeriana amurensis* (45). Velice častým hádátkem, proti kterému je testována účinnost esenciálních olejů, je hádátka borovicové *Bursaphelenchus xylophilus*. V in vitro podmínkách prokázaly proti tomuto hádátku velice dobrou účinnost esenciální oleje z rostlin např. *Thymus vulgaris* (46), *Cinnamomum zeylanicum* (47), *Boswellia carterii*, *Paenonia montana* (48), *Litsea cubeba*, *Pimenta dioica* (49) a další.

Metodika – ošetření maloparcelkových pokusů nematofágními houbami, esenciálními oleji a látkami pro podporu růstu

Formulace nematofágních hub

Testované nematofágní houby byly *Arthrobotrys oligospora*, *Pleurotus ostreatus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Clonostachys rosea*. Houby byly kultivovány na pevném i tekutém médiu. Jako pevné médium byly zvoleny slaměné pelety. Kultivace probíhala v 3l plastových nádobách (obr. 10.). Kultivace hub v tekutých médiích probíhala za stálého třepání v 5l Erlenmayerových baňkách opatřených disruptory. Takto získané mycelium bylo

před aplikací smícháno se slámou pro zvýšení objemu tak, aby byla pokryta vždy celá plocha pokusné miniparcelky. Mycelium se slámou bylo u všech variant ředěno v poměru 1 : 1,3; celkový objem byl 100 l pro jedno opakování varianty, včetně 5 l mycelia v tekutém médiu, tedy 300 l celkem naformulovaného mycelia každé nematofágní houby. Pro rovnoměrné smísení mycelia a slámy bylo použito stavební míchačky o objemu 100 l.

Formulace esenciálních olejů

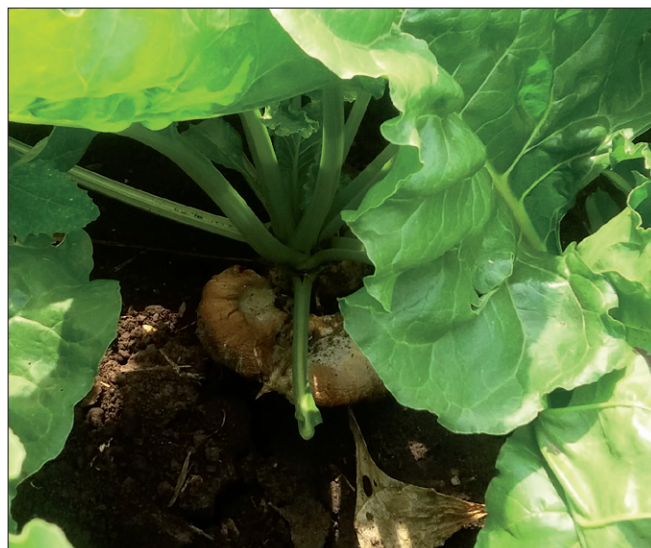
Testované esenciální oleje pocházely z rostlin; mateřídoušky obecné – *Thymus vulgaris*, vavřínu kubébového – *Litsea cubeba*, pelargonie vonné – *Pelargonium graveolens*, a rozmarýnu lékařského – *Rosmarinus officinalis*.

Obr. 10. Kultivační nádoba s pevným médiem s houbou *Pleurotus ostreatus*

Obr. 11. Detail maloparcelkových pokusů



Esenciální oleje byly před aplikací naředěny pomocí řepkového oleje a detergentu Tween 20 na koncentraci 10 %. Takto připravená formulace byla aplikována na sorbenty granin a sorbin elektrickým rozprašovačem, míchání v procesu impregnace bylo zajištěno prostřednictvím stavební míchačky o objemu 60 l. Na jedno opakování bylo připraveno vždy 1,5 kg sorbinu a 1,5 kg graninu impregnované testovaným esenciálním olejem.

Obr. 13. Plodnice hlívy *Pleurotus ostreatus* v porostu řepy

Ošetření pokusných ploch

Nematofágní houby i esenciální oleje byly aplikovány 10 dní po setí řepy v maloparcelkových pokusech na pokusných plochách ve dvou lokalitách, a to na lokalitě 1 ve středních Čechách a na lokalitě 2 ve Slezsku. Všechny varianty byly aplikovány ručně do mezířádku tak, aby nedošlo k porušení setového lůžka.

Obr. 12. Pokusné plochy



Testované látky pro podporu růstu byly Lignohumát profik a Albit. Oba tyto přípravky byly aplikovány na list od fáze 3. pravého listu, vždy po 14 dnech, až do zapojení porostu. Aplikční dávky byly u Lignohumátu profik 15 ml na 10 l vody v celkové dávce 300 l.ha⁻¹ a u Albitu 40 ml.ha⁻¹ v mixu 200 l.ha⁻¹.

Na každé lokalitě bylo založeno 14 pokusných variant ve třech opakováních. Jen kontrolní varianta měla 6 opakování, pro lepší hodnocení postupu infestace hádátky v průběhu vegetace. Jedna pokusná miniparcelka měla plochu 21 m², z čehož bylo sklizeno a vyhodnoceno 10 m² (obr. 11. až obr. 13.).

Vyhodnocení

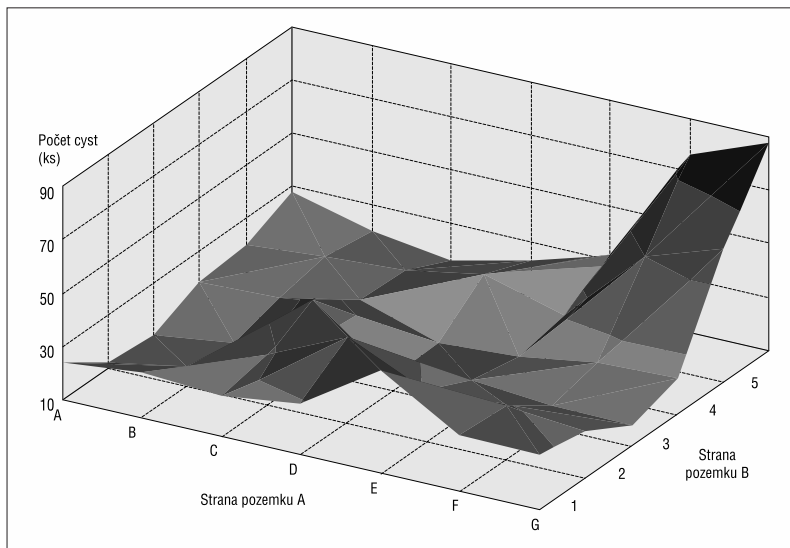
Hodnocen byl počet cyst hádátka *Heterodera schachtii* v půdě pokusných variant. Pro zhodnocení byly odebrány půdní vzorky z každé varianty, které se skládaly vždy ze 40 dílčích vpichů z okolí kořenového systému bulev. Tento půdní vzorek byl důkladně homogenizován a bylo z něj odebráno 3 × 100 g půdy pro extrakci cyst pomocí Fenwickovy konve. Po extrakci byl počet cyst stanoven pomocí počítání s využitím stereomikroskopu.

Výnos, cukernatost, obsah K, Na a α-aminoN řepy cukrové byl hodnocen s využitím mobilní laboratoře Řepářského institutu Semčice (užitný vzor č. zápisu 22408). Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí programu Statistika 12.0 (Statsoft USA), konkrétně analýzou rozptylu a jednoduchou nelineární regresní analýzou.

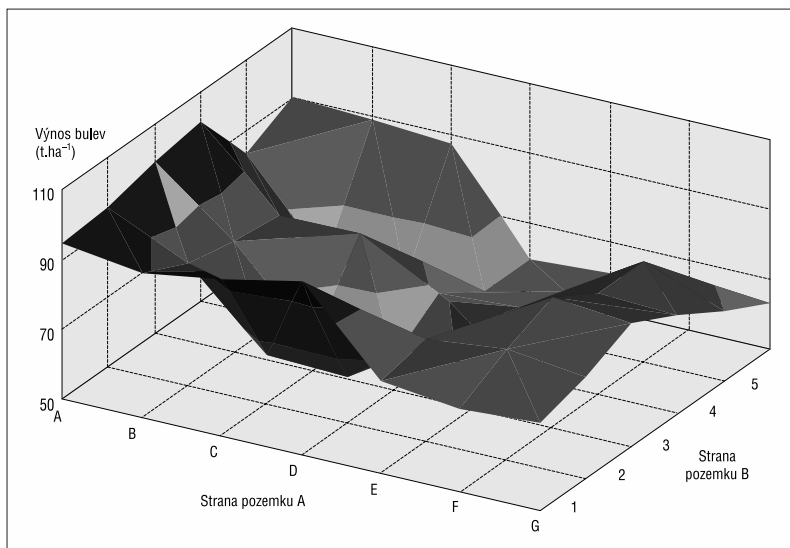
Výsledek

Pro testování účinnosti zvolených metod ochrany byly zvoleny dvě rozdílné lokality, a to jak z hlediska geografického umístění, tak z hlediska používaných osevních postupů a hospodaření. Zatím co na lokalitě 1 jsou dodržovány zásady dobrého hospodaření a cukrová řepa je řazena do osevního postupu ne dříve než za čtyři roky, na lokalitě 2 je řepa cukrová rok od roku pěstována již osm let a neklamně známky „únavy“ půdy jsou vidět zejména na výnosech cukrovky, které nedosahují často ani poloviny běžného výnosu. Na lokalitě 1 ve středních Čechách byla sklizeň provedena v ranějším termínu na konci září. Porost byl v dobré kondici, jen s ojedinělým výskytem houby *Cerkošpora beticola*. Na lokalitě 2 ve Slezsku byla sklizeň provedena v druhé polovině října. V porostu se opět vyskytovala houba *C. beticola* jen výjimečně. Na porost měl evidentně negativní dopad extrémní průběh počasí v roce 2015. I přes poměrně vysoké dávky esenciálních olejů nebyl na obou lokalitách zaznamenán negativní – fytotoxický účinek aplikovaných esenciálních olejů. Pro statistické analýzy bylo použito 216 půdních vzorků a 156 vzorků z bulev cukrové řepy. Získané výsledky neprokázaly statisticky významný vliv testovaných metod ochrany na snížení výskytu cyst hádátka řepného, nebo zlepšení výnosových charakteristik. Z analýzy

Obr. 14. Počet cyst na lokalitě 1 ve středních Čechách

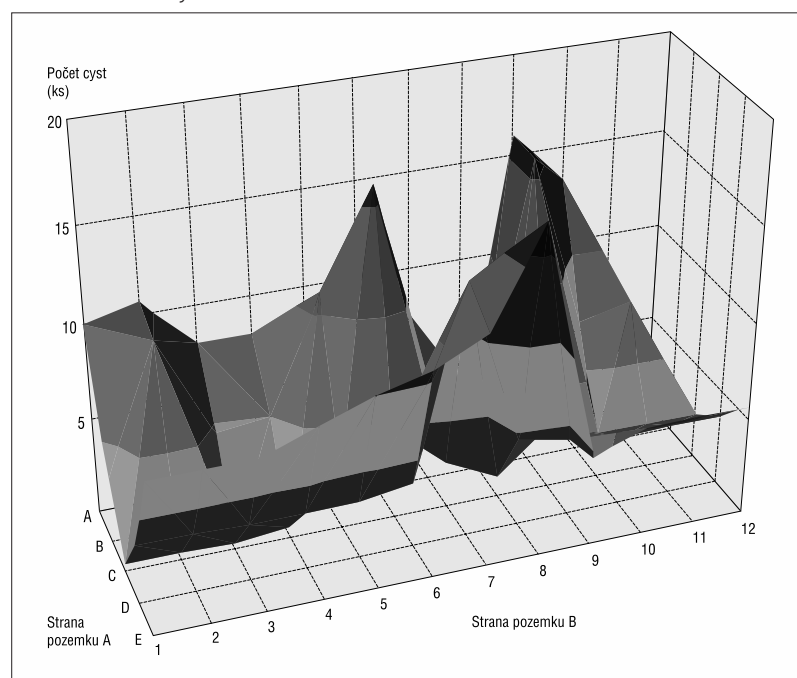


Obr. 15. Výnos řepy cukrové na lokalitě 1 ve středních Čechách

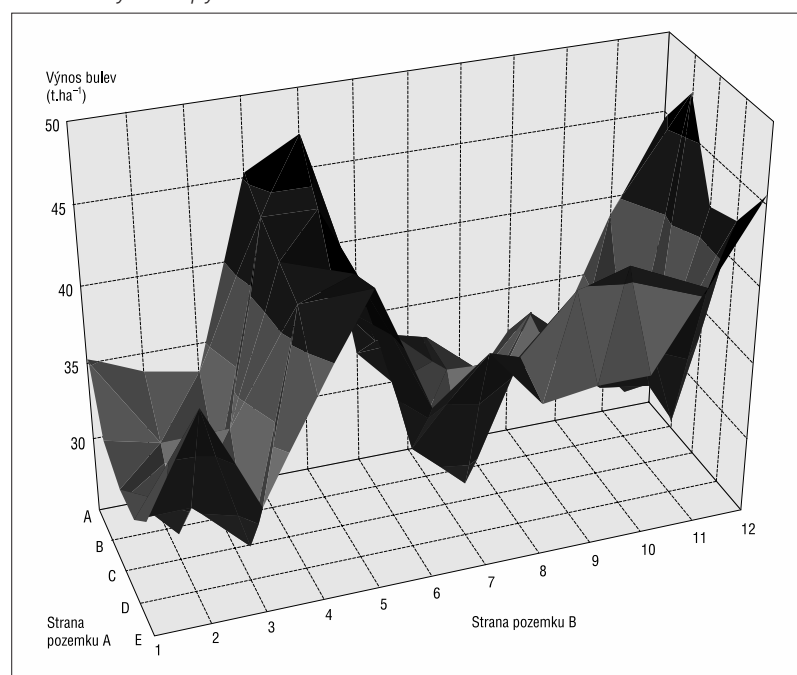


rozptylu byly ovšem dobře patrné trendy; varianta ošetřená nematofágní houbou *Clonostachys rosea* a přípravky na podporu růstu Albit a Lignohumát na lokalitě 2 vykazovala obdobný počet cyst jako tolerantní odrůda Panorama. Na lokalitě 1 stejný trend vykazovala varianta ošetřená esenciálním olejem z *Pelargonium graveolens*. Ke zlepšení výnosové charakteristiky – cukernatosti došlo na obou lokalitách u variant ošetřených nematofágní houbou *Arthrobotrys oligospora*, na lokalitě 1 i u ošetření nematofágní houbou *Pleurotus ostreatus* a při ošetření všemi esenciálními oleji, tedy *Thymus vulgaris*, *Litsea cubeba*, *Rosmarinus officinalis* a *Pelargonium graveolens*, a u přípravku na podporu růstu Albit. Hodnocení kvalitativních parametrů (obsah Na, K, a α-aminoN) ukázalo většinou statisticky významně horší výsledky u tolerantní odrůdy Panorama než u v pokusu aplikovaných metod ochrany cukrové řepy. Velmi důležitým výsledkem je pak potvrzení nepřímé závislosti mezi počtem hádátek a výnosem kořene cukrovky, a to na obou lokalitách, jak je patrné z grafů na obr. 14. až obr. 17. Získané výsledky byly podrobeny regresní analýze dat, a ta tuto závislost potvrdila.

Obr. 16. Počet cyst na lokalitě 2 ve Slezsku



Obr. 17. Výnos řepy cukrové na lokalitě 2 ve Slezsku



Diskuse

Dle SLAATSOVÉ (50) bývá počáteční hustota spor nematofágní houby v citlivých raných fázích vývoje rostliny často příliš nízká pro účinnou ochranu proti hádátkům. V pokusech prezentovaných v této publikaci byly nematofágní houby aplikovány až 10 dní po setí. Bylo by tedy vhodné otestovat působení nematofágních hub při aplikaci před setím, kdy by došlo k lepší kolonizaci půdy a tím rovnoměrnějšímu pokrytí účinnosti proti hádátku řepnému. Ideální by pak byla aplikace v podzimním období ještě před hlubokou orbou, tak aby aplikací hub

při jarní přípravě půdy nebyl poškozen půdní profil a bylo tak zajištěno optimální vzcházení porostu. Již v práci VINDUŠKY (51) bylo zjištěno při inokulaci houbovými organizmy zlepšení výnosových charakteristik – hmotnosti bulev a cukrnatosti oproti neošetřované kontrole až o 30 %. V této práci bylo evidentní zlepšení cukrnatosti na obou lokalitách a to na parcelkách ošetřených houbami *Arthrobotrys oligospora* a *Pleurotus ostreatus*. Na pokusné lokalitě 2 u varianty citlivé odrůdy ošetřené nematofágní houbou *Clonostachys rosea* dokonce vykazovalo hádátka řepné stejnou populační hustotu jako tolerantní odrůdy bez ošetření. V případě aplikace nematofágních hub bylo dosaženo obdobných výsledků, kterých bylo dosaženo při testování virulence nematofágních hub in vitro v práci ZOUHAR ET AL. (52) kde vykazovala *Arthrobotrys oligospora* nejlepší výsledky proti třem druhům hádátek *Ditylenchus dipsaci*, *Meloidogyne hapla* a *Globodera rostochiensis*. Aplikace houbových organismů je tedy bezesporu jednou z cest jak regulovat vliv hádátka řepného v porostech řepy cukrové. Otázkou je pouze výběr vhodného druhu nematofágní houby a dále pak skloubení formulace houby s agrotechnikou konkrétní plodiny v tomto případě řepy cukrové.

Rostlinné extrakty často v podobě esenciálních olejů jsou označovány jako rostlinné nebo také botanické pesticidy. Často vykazují účinnost proti houbovým a bakteriálním patogenům i proti živočišným škůdcům, a to často i najednou proti více zmiňovaným (53). Aplikace esenciálních olejů vedla ke zvýšení cukrnatosti na obou pokusných lokalitách oproti neošetřené kontrole. Na lokalitě 1 ve Středních Čechách vykazovala varianta citlivé odrůdy ošetřené esenciálním olejem z *Pelargonium graveolens* obdobnou populační hustotu hádátka řepného jako varianta osetá tolerantní odrůdou. Použití esenciálních olejů v rostlinolékařství sebou často nese určitou míru fytotoxicity (54). K tomuto jevu nedošlo v průběhu vegetace u žádného esenciálního oleje ani na jedné z pokusných lokalit. Tento fakt otevírá prostor k optimalizaci dávky, či změně formulace esenciálního oleje. Ze sledování vývoje populace hádátka v průběhu vegetace rovněž vyplývá, že tento významný škůdce je aktivní po celou dobu vegetace a „spící“ cysty se mohou díky vlivům prostředí aktivovat i ve druhé polovině vegetace, a proto je nezbytně nutné optimalizovat formulaci esenciálních olejů tak, aby poskytly ochrannou bariéru pro řepu cukrovou po co nejdelší dobu.

Zajímavé výsledky přinesly i aplikace látek na podporu růstu, jmenovitě Albit, který neměl vliv na snížení počtu cyst v půdě, nicméně velmi pozitivně ovlivnil cukrnatost ošetřené varianty na lokalitě 1.

Hádátka řepné je škůdcem, jehož výskyt je striktně ohniskovitý a rozdíly v infestaci půdy cystami se mohou výrazně lišit a to i v měřítku řádově metrů, jak je dobře patrné v grafech na obr. 14. a obr. 16. Z tohoto pohledu je nezbytně nutné ještě před případným plošným zásahem vymezit ohniska a soustředit

se na ochranu rostlin pouze na těchto významně infestovaných částech honu. Při porovnání výskytu cyst v půdě (obr. 14. a obr. 16.) a výnosu bulev (obr. 15. a obr. 17.) je jasné patrné, že na více infestovaných částech pokusného honu byly výnosy nižší a naopak.

Závěr

Háďátko řepné bylo v minulosti do značné míry opomíjeným škůdcem, jeho význam v posledních letech podtrhuje i tato studie, která vznikla jako výsledek zájmu pěstitelů řepy cukrové o tohoto škůdce a jeho vliv na kvalitativní a kvantitativní parametry řepy cukrové. Vzhledem k legislativní minimalizaci možnosti využití konvenční ochrany, je potřebné hledat nové možnosti regulace tohoto škůdce. Vhodnou alternativou se ukazuje využití nematofágních hub, zvláště těch v našich podmínkách přirozeně se vyskytujících, jako je *Stropharia rugosoannulata* – límcovka vráscitoprstenná a *Pleurotus ostreatus* – hlíva ústříčná, které prokázaly schopnost kolonizace našich polí. Další možnosti skýtá, i vzhledem k absenci fytoxicity pro řepu cukrovou, aplikace esenciálních olejů jako botanických nematocidů. Další integrující metodou jsou přípravky pro podporu růstu, jako je Albit, které pomáhají řepě cukrové vlivu háďátka *Heterodera schachtii* lépe vzdorovat. V této studii jsou nastíněny možné budoucí způsoby ochrany řepy cukrové proti tomuto háďátku, které se ukázaly jako velice slibné.

Tento článek vznikl za podpory projektu Technologické agentury ČR TA04021117, Výzkum metod integrované ochrany řepy cukrové proti háďátku řepnému, Research of integrated methods of Sugar Beet Nematode management.

Souhrn

Vzhledem k zátěži nematocidy pro životní prostředí i nákladům na jejich aplikaci je vhodné se zaměřit v ochraně proti háďátku *Heterodera schachtii* na biologické způsoby ochrany. Jako nadějně se ukazuje použití nematofágních hub a botanických pesticidů. Na maloparcelkových pokusech na dvou lokalitách ve Středních Čechách a Slezsku byly testovány účinky čtyř nematofágních hub: *Arthrobotrys oligospora*, *Pleurotus ostreatus*, *Stropharia rugosoannulata* a *Clonostachys rosea*, čtyř esenciálních olejů z rostlin: *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Pelargonium graveolens* a *Litsea cubeba* a dvou přípravků na podporu růstu rostlin: Albit a Lignohumát profilu proti *H. schachtii*. Nematofágní houby byly kultivovány na pevném i tekutém médiu, jako pevné médium byla zvolena sláma. Esenciální oleje byly formulovány s detergentem Tween 20 a sorbovány na granin a sorbin. Zhodnocením výsledků nebyl detekován statisticky významný rozdíl v žádné z pozorovaných charakteristik, ale jasné patrné byly zajímavé trendy. Na alespoň jedné lokalitě vykazovaly účinnost nematofágní houba *C. rosea*, esenciální olej z *P. graveolens* a oba přípravky na podporu růstu, kdy bylo dosaženo obdobného počtu cyst jako na variantě oseté tolerantní odrůdou; tyto varianty ošetření se tedy zdají být alternativou dosud téměř výhradně používaného konvenčního způsobu ochrany řepy proti háďátku řepnému. Zvýšení cukernatosti vykazovaly varianty ošetřené nematofágními houbami *A. oligospora* a *P. osteratus*, všechny varianty ošetřené esenciálními oleji a přípravkem Albit. Kvalitativní parametry (obsah Na, K, a α -amino N) byly u ošetřených variant většinou lepší než u tolerantní odrůdy. Regresní analýzou byla potvrzena závislost výnosu bulev na počtu cyst háďátka *H. schachtii*.

Klíčová slova: *Heterodera schachtii*, nematofágní houby, esenciální oleje, látky na podporu růstu, biologické ochrana.

Literatura

1. VAŇHA, J.; STOKLASA, J.: *Hlístí řepy cukrové*. Praha: Spolek pro průmysl cukrovarnický. 1895, 87 s.
2. BALDWIN, J. G.; MUNDO-OCAMPO, M.: Heteroderinae, cyst- and non-cyst-forming nematodes. In NICKLE, W. R. (Ed.): *A manual of agricultural nematology*. New York: Marcel Dekker Inc, 1991, s. 275–362.
3. KERR, E. D.; GRAY, F. A.; FRANC, G. D.: *Sugar beet nematode*. NebGuide. Plant Pathologists, 1992.
4. ZOUHAR, M. ET AL.: A study of the sugar beet nematode *Heterodera schachtii* host range concerning crop rotation changes in the Czech Republic. *S. Afr. J. Plant and Soil*, 27, 2010 (3), s. 289.
5. PULKRÁBEK, J.; STRIEGL, M.: Háďátko řepné a jeho potlačování (1. část). *Úroda*, 45, 1997 (3), s. 40.
6. VINDUŠKA, L.: Ovlivnění populace háďátka řepného *Heterodera schachtii* Schmidt. některými druhy rostlin. *Sborník ÚVTIZ – Ochrana rostlin*, 14, 1978 (2), s. 133–136.
7. LEE, L. D.: *The biology of nematodes*. London: Taylor & Francis, 2002, 635 s., ISBN: 0-415-27211-4.
8. COOKE, D. A.; THOMASON, I. J.: The Relationship Between Population Density of *Heterodera schachtii*, Soil Temperature, and Sugarbeet Yields. *J. of Nematology*, 11, 1979 (2), s. 124–128.
9. STEELE, A. E.: Population dynamics of *Heterodera schachtii* on tomato and sugarbeet. *J. of Nematology*, 7, 1975 (2), s. 105–111.
10. VLK, F.: *Ochrana rostlin – Nematologie obecná a speciální*. Praha: Vysoká škola zemědělská, 1985, 157 s.
11. VINDUŠKA, L.: Výskyt háďátka řepného (*Heterodera schachtii* Schmidt) v České socialistické republice. *Listy cukrov.*, 85, 1969 (7), s. 153–158.
12. HANDRKOVÁ, J.: *Způsoby omezení škodlivosti háďátka řepného v cukrovce*. Závěrečná zpráva výzkumu, VŠÚŘ Semčice, 1989, 70 s.
13. CHOCHOLA, J.: Vliv nematodů *Heterodera schachtii* Schmidt na výnos cukrové řepy. *Listy cukrov. řepař.*, 127, 2011 (12), s. 379–383.
14. *Heterodera Schachtii* Weißer Rübenzysten-Nematode. In *Landwirtschaftlicher Informationsdienst Zuckerrübe*. 2014, s. 1–4.
15. ČERMÁK, V.; GAAR, V.: Háďátko řepné (*Heterodera schachtii*) – vzorkování, detekce a identifikace. *Listy cukrov. řepař.*, 129, 2013 (9–10), s. 275–282.
16. KOUBOVÁ, D.: *Využití osevních postupů a tolerance odrůd v ochraně cukrovky proti háďátku řepnému*. 2007, [online] <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=103&ch=1&typ=1&val=56811>
17. WAUTERS, A.: The beet cyst nematode *Heterodera schachtii* Schmidt: its life cycle and some control measures. *Le Bettera-vier*, 27, 1993 (282), s. 17.
18. KAZDA, J.; PROKINOVÁ, E.: Využití osevního postupu při ochraně rostlin. *Úroda*. 49, 2001 (11), s. 9–11.
19. LELIVELT, C. L. C.; HOOGENDOORN, J.: The development of juveniles of *Heterodera schachtii* in roots of resistant and susceptible genotype of *Sinapis alba*, *Brassica napus*, *Raphanus sativus* and hybrids. *Europ. J. of Plant Pathology*, 99, 1993, s. 13–22.
20. *Nematoden: Erkennen, Handeln, Erträge sichern*. KWS. 52 s.
21. MÜLLER, J.: Detection of pathotypes by assessing the virulence of *Heterodera schachtii* populations. *Nematologica*, 38, 1992, s. 50–64.
22. HEINRICHS, C.: Problemlösungen bei der Bekämpfung des Rüben-nematoden *Heterodera schachtii* – Rheinische Erfahrungen mit nematodenresistenten Zuckerrüben = Solutions for the control of the sugar beet cyst nematode *Heterodera schachtii* – experiences with nematode resistant sugar beets in the Rhineland. *Gesunde Pflanzen*, 52, 2000 (2–3), s. 67–70.
23. HEINRICHS, C.: Biological control of the beet cyst nematode *Heterodera schachtii*. *Gesunde Pflanzen*. 62, 2011 (3–4), s. 101–106.
24. KÚDELA, V. ET AL.: *Česko-anglická rostlinolékařská terminologie*. Academia, Praha, 2007, 880 s., ISBN: 978-80-200-1550-1.
25. PULKRÁBEK, J. ET AL.: *Řepa cukrová – Pěstitelský rádce*. Kurent, s.r.o. Praha, 2007, 64 s., ISBN: 978-80-87111-00-0.
26. *Registr přípravků na ochranu rostlin*. [online] <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/>.

27. BARRON, G. L.; THORN, R. G.: Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. *Canadian J. of Botany*, 65, 1987, s. 774–778.
28. ANTONÍN, V.: *Encyklopedie hub a lišejníků*. Academia. Praha, 2006, 472 s., ISBN: 80-200-1476-4.
29. ZOUHAR, M. ET AL.: *Predikce nematofágní aktivity půdních hub* (Certifikovaná metodika). Praha: Česká zemědělská univerzita, 2010, 32 s., ISBN: 978-80-213-2152-6.
30. DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T.: *Compendium of soil fungi*. Volume 1, London: Academic Press LTD, 1980, 859 s.
31. GRAY, N. F.: Nematophagous fungi with particular reference to their ecology. *Biological revue*, 62, 1987, s. 245–304.
32. DRECHSLER, C.: New *Zoopagaceae* destructive to soil rhizopods. *Mycologia*, 29, 1937, s. 229–249.
33. CLÉMENÇON, H.: *Cytology and plectology of the hymenomycetes*. Cramer, Berlin, 2004, 488 s., ISBN 978-3-443-59101-4.
34. THORN, R. G.; BARRON, G. L.: Carnivorous mushrooms. *Science*, 224, 1984, s. 76–78.
35. MAMIYA, Y.; HIRATSUKA, M.; MURATA, M.: Ability of wood-decay fungi to prey on the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhner) Nickle, *Jap. J. of Nematology*, 35, 2005 (1), s. 21–30.
36. TEDFORD, E. C.; JAFFEE, B. A.; MULDOON, A. E.: Effect of temperature on infection of the cyst nematode *Heterodera schachtii* by the nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis*. *J. Invertebrate Pathology*, 66, 1995, s. 6–10.
37. KERRY, B. R. ET AL.: Growth and survival of *Verticillium chlamydosporium* Goddard, a parasite of nematodes in soil. *Biocontrol Science Technology*, 3, 1993, s. 355–365.
38. LI, J. ET AL.: Purification and characterization of an extracellular serine protease from *Clonostachys rosea* and its potential as a pathogenic factor. *Process Biochem*, 41, 2006, s. 925–929.
39. ESHEL, D. ET AL.: pH regulates endoglucanase expression and virulence of *Alternaria alternata* in persimmon fruit. *Mol Plant Microbe Interact*, 15, 2002, s. 774–779.
40. KARLSSON, M. ET AL.: Insights on the evolution of mycoparasitism from the genome of *Clonostachys rosea*. *Genome Biol. Evol.*, 7, 2015 (2), s. 465–480.
41. AHMED, M.; LAING, M. D.; NSAHAI, I. V.: A new control strategy for nematodes of sheep using chlamydospores of a fungus, *Clonostachys rosea* f. *rosea*, and an ethanolic extract of a plant, *Ananas comosus*. *Biocontrol Sci. and Technol.*, 24, 2014 (8), s. 860–871.
42. PAVELA, R.: *Botanické pesticidy*. České Budějovice: Kurent, 2011, 128 s., ISBN: 978-80-87111-26-0.
43. ZHAO, B. G.: Pine Wilt Disease in China. In *Zhao, B. G. et al. (Eds.): Pine Wilt Disease*. Tokyo, Japan: Springer, 2008, s. 18–25.
44. FIGUEIREDO, A. C.: Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragrance J.*, 23, 2008, s. 213–226.
45. LI, Y. C.; JI, H.; LI, H. T.: Gas Chromatography-Mass Spectrometric Analysis of Nematicidal Essential Oil of *Valeriana amurens* P Smirn ex Kom (Valerianaceae) Roots and its Activity against *Heterodera avenae*. *Tropical J. of Pharmaceutical Research*, 14, 2015 (9), s. 1673–1678.
46. KONG, J. O. ET AL.: Nematicidal and propagation activities of thyme red and white oil compounds toward *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). *J. of Nematology*, 39, 2007 (3), s. 237–242.
47. KONG, J. O. ET AL.: Nematicidal activity of plant essential oils against *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae). *J. of Asia-Pacific Entomology*, 9, 2006 (2), s. 173–178.
48. CHOI, I. H. ET AL.: Nematicidal activity of medicinal plant essential oils against the pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Applied Entomology and Zoology*, 42, 2007 (3), s. 397–401.
49. PARK, I. K. ET AL.: Nematicidal activity of plant essential oils and components from Ajowan (*Trachyspermum ammi*), Allspice (*Pimenta dioica*) and Litsea (*Litsea cubeba*) essential oils against pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *J. of Nematology*, 39, 2007 (3), s. 275–279.
50. SLAATS, B. E. ET AL.: *Wirksamkeit von verkapselten Hirsutella rhossiliensis gegen Heterodera schachtii an Zuckerrüben*. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlen. 404, 2006, s. 75–87.
51. VINDUŠKA, L.: Parazitace hub na cystách háďátka řepného *Heterodera schachtii*. *Rostlinná výroba*, 28, 1982 (3), s. 257–262.
52. ZOUHAR, M. ET AL.: Evaluation of the pathogenicity of selected nematophagous fungi. *Czech Mycology*, 61, 2010 (2), s. 139–147.
53. KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S.: Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International*, 4, 2008 (1), s. 63–84.
54. SINGH, G.; UPADHYAY, R. K.: Essential oils – a potent source of natural pesticides. *J. of scientific and industrial research*, 52, 1993 (10), s. 676–683.

Maňasová M., Wenzlová J., Douda O., Zouhar M., Novotný D., Ryšánek P., Mazáková J., Chochola J., Pavlů K., Šarovská L., Fridrich P., Novik A.: Research on Alternative Methods of Sugar Beet Protection against Sugar Beet Cyst Nematode *Heterodera schachtii* (Schmidt, 1871)

Considering the burden of nematicides on the environment and the costs spent on application, it is necessary to focus on biological methods of control of *Heterodera schachtii* in sugar beet crop. The use of nematophagous fungi and application of botanical pesticides are two promising biological strategies for control of this nematode species. In small plot trials on two sites in Central Bohemia and Silesia, the effects of four nematophagous fungi: *Arthrobotrys oligospora*, *Pleurotus ostreatus*, *Stropharia rugosoannulata* and *Clonostachys rosea*, four essential oils from plants: *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Pelargonium graveolens* and *Litsea cubeba* and two products promoting plant growth: Albite and pro Lignohumate were tested against *H. schachtii*. The nematophagous fungi were cultivated on solid (straw) and liquid medium. The essential oils were formulated with the detergent Tween 20 and adsorbed on Granin and Sorbin. Our results showed no statistically significant differences in any of the observed characteristics, however, some interesting trends were clearly evident. On at least one site, the variants with nematophagous fungus *C. rosea*, essential oil from *P. graveolens* and both products supporting plant growth showed the same effect (similar number of cysts) as in the case of the variant sown with a tolerant sugar beet variety. Therefore, these treatment options seem to be an alternative to previously almost exclusively conventional method used for protection against the beet cyst nematode. Increased sugar content was found in variants treated by nematophagous fungi - *A. oligospora* and *P. osteratus* and in all variants treated with essential oils and Albite. Qualitative parameters (content of Na, K, and α -amino N) were mostly better in alternatively treated variants than in the variant sown with a tolerant variety. Regression analysis confirmed the dependence of bulb yield on the number of nematode cysts.

Key words: *Heterodera schachtii*, nematophagous fungi, essential oils, substances promoting plant growth, biological plant protection.

Kontaktní adresa – Contact address:

Ing. Marie Maňasová, Ph. D., Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Katedra ochrany rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6 – Suchbát, Česká republika, e-mail: manasova@af.czu.cz