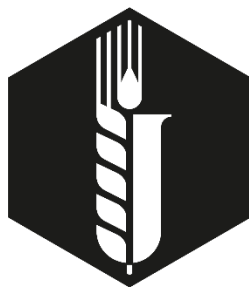


Mikroskopická diagnostika háďátka bukového (*Litylenchus crenatae*) – příčiny závažného onemocnění dřevin r. *Fagus*



Ondřej Douša

Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha v.v.i.



Certifikovaná metodika

ISBN: 978-80-7427-424-4

Mikroskopická diagnostika háďátka bukového (*Litylenchus crenatae*) – příčiny závažného onemocnění dřevin r. *Fagus*

Obsah

| | |
|--|----|
| Cíl metodiky | 3 |
| Vlastní popis metodiky | 3 |
| Charakteristika onemocnění a historie jeho výskytu | 3 |
| Biologie a přenos háďátka <i>Litylenchus crenatae</i> | 6 |
| Metodika odběru vzorků, jejich zpracování a morfologické diagnostiky háďátka <i>Litylenchus crenatae</i> | 7 |
| Srovnání „novosti postupů“ | 17 |
| Popis uplatnění Certifikované metodiky | 17 |
| Ekonomické aspekty | 17 |
| Seznam použité související literatury | 18 |
| Seznam publikací, které předcházely metodice | 19 |
| Poznámka a poděkování | 19 |
| Přílohy k certifikované metodice | 19 |

Cíl metodiky

Cílem této metodiky je poskytnout odborné veřejnosti nové informace o původci onemocnění listů buků (Beach Leaf Disease, BLD), kterým je fytoparazitické háďátko druhu *Litylenchus crenatae* (autor navrhuje český název druhu háďátka bukové) a popsat způsob monitoringu a mikroskopické diagnostiky tohoto škodlivého organismu. Háďátko bukové se rychle šíří v USA i Kanadě a hrozí riziko zavlečení do Evropy v rostlinách rodu *Fagus* nebo na zbytcích napadených listů buků např. v kontejnerech se zbožím mířícím do Evropy. Druh je zařazen na výstražném seznamu organizace EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization, EPPO1) Včasné rozpoznání příznaků v počátcích výskytu dává naději na včasnou eradikaci ohniska před rozšířením háďátka do lesních porostů.

Vlastní popis metodiky

Charakteristika onemocnění a historie jeho výskytu

Onemocnění BLD se projevuje především příznaky na listech buků. Na listech se objevují tmavé skvrny ohraničené žilnatinou; v první fázi vzniká na listech typický pruhovaný vzor. Příznaky se dále vyvíjejí v nekrózu pletiva listů, může docházet i ke žloutnutí. V pozdních stádiích onemocnění jsou na listech patrné i deformace, povrch listů je v místě skvrn zvlněný či prohnutý (Obr. 1, 2). Na jednom stromě mohou být jak listy asymptomatické, tak listy vykazující silné příznaky. Symptomy se většinou šíří ze spodní části koruny nahoru. Silně napadené stromy mohou vykazovat předčasnou tvorbu bukvic. Ze zasažených pupenů se netvoří listy. Následuje odumírání větví a v poslední fázi strom usychá. Doba od pozorování prvních příznaků po odumření je u starších buků cca 6 let, mladší stromy s průměrem kmene pod 5 cm odumírají do 3 let (Ewing et al., 2019; Fearer et al., 2022).

Symptomy odpovídající onemocnění byly poprvé pozorovány v USA v roce 2012 na severozápadě státu Ohio (lesy v oblasti Lake County Metroparks) na listech buku velkolistého (*Fagus grandifolia*). Zpočátku bylo poškození přisuzováno abiotickým faktorům, jako např. teplejším zimám a suchým jarům. V následujících letech ale byly příznaky onemocnění pozorovány na nových lokalitách a jejich závažnost se zvyšovala, což ukazovalo na biotickou příčinu, a to neznámý mikroorganismus. V první fázi výzkumu příčiny onemocnění se pozornost zaměřila na viry a fytoplazmy, které mohou někdy způsobovat příznaky výše uvedeného typu. V dalších letech byly příznaky pozorovány na dalších lokalitách, a to ve státech Pensylvánie a New York a také v Kanadě (Ontario).

V Japonsku byly příznaky na listech způsobené v té době nepopsaným druhem háďátka řádu Tylenchida zjištěny poprvé již v roce 2004 na dřevinách druhů *Fagus crenata*, *Fagus sylvatica*, *Alnus hirsuta*, *Alnus maximowiczii* a *Ostrya japonica* (Kanzaki et al., 2019). Špatný stav vzorků ale v té době nedovolil přesné určení druhu háďátka spojeného s tímto poškozením. V dalších letech byly listy s obdobnými příznaky zjišťovány v dalších oblastech, a to zejména v severovýchodní části ostrova Honšú. Následně byla háďátka extrahovaná z příznakových listů identifikována jako nový druh čeledi Anguinidae, morfologicky podobný zástupcům rodů *Ditylenchus* a *Litylenchus*. Na základě morfologických a molekulárních analýz se jako nejpodobnější jevil druh *Litylenchus coprosoma*, což vedlo k popisu extrahovaných háďátek jako druhu *Litylenchus crenatae* (Kanzaki et al., 2019).



Obr. 1: příznaky napadení listů buku velkolistého háďátkem *Litylenchus crenatae*



Obr. 2: příznaky napadení listů buku háďátkem *Litylenchus crenatae*

V roce 2020 byla jako hlavní příčina poškození buků pozorovaného v USA a Kanadě pomocí biologických testů v řízených podmínkách určeno háďátko *Litylenchus crenatae* (Carta et al., 2020). Určité morfologické rozdíly jedinců ze Severní Ameriky vedly k popisu této populace jako samostatného poddruhu *Litylenchus crenatae mccannii*. K roku 2023 byly příznaky poškození kromě výše uvedených oblastí pozorovány na bucích ve státech Connecticut, Massachusetts, Michigan, New Jersey, New York, Pensylvánie, Rhode Island, Západní Virginie a Virginie (Kantor et al., 2022; Viera et al., 2023), patrný je tedy velmi rychlý postup onemocnění. V rámci projektu organizace Euphresco č. 2020-A-334 „FAGUSTAT“ byl prováděn v letech 2021 a 2022 monitoring buků v Belgii, Nizozemí, Rumunsku, Slovinsku, Velké Británii a Irsku. Odebírány byly zejména listy buků vykazující symptomy odpovídající napadení stromů háďátkem bukovým. V žádném z odebraných vzorků nebylo háďátko *Litylenchus crenatae* zjištěno (Viaene et al., 2022) a jeho přítomnost v Evropě nebyla ke konci roku 2023 potvrzena.

Z taxonomického hlediska je řazeno háďátko *Litylenchus crenatae mccannii* takto:

Kmen *Nematoda* (*Nemate*) *Hlístice* (*Nematoda*)

Třída *Secernentea*

Podtřída *Diplogasteria*

Podřád *Tylechina*

Nadčeleď *Tylenchoidea*

Čeleď *Anguinidae*

Rod *Litylenchus*

Druh *crenatae*

Poddruh *mccannii*

Biologie a přenos háďátka *Litylenchus crenatae*

Lze předpokládat, že celý životní cyklus háďátek rodu *Litylenchus* probíhá v listech. Nejdéle známým druhem rodu *Litylenchus* je háďátko *Litylenchus coprosoma*, které bylo popsáno z Nového Zélandu (Zhao et al., 2011) z místní dřeviny druhu *Coprosma repens*, na jejíchž listech způsobuje poměrně slabé poškození. Vajíčka a dospělci háďátka *Litylenchus coprosoma* byli v listech zjištěni, v půdě pod napadenou rostlinou ani v suchých lisech nebyla živá háďátka nalezena (Zhao et al., 2011). V minulosti byly pozorovány obdobné příznaky na listech různých dřevin; tyto příznaky byly asociovány s fytoparazitickými háďátky druhů *Ditylenchus leptosoma*, *Subanguina chilensis* a *Zeatylenchus pittosporum* (Reed et al., 2020).

Obdobně je tomu u háďátka bukového; asymptomatické listy buku obsahují háďátka rovněž i když v malém množství, tato skutečnost je analogicky známa dlouho např. u druhů *Aphelenchoides fragariae* (Reed et al., 2020) či *Ditylenchus dipsaci*. Na počátku vegetační sezóny je háďátek druhu *Litylenchus crenatae mccannii* většinou extrahováno málo a v pupenech a velmi mladých listech bývají přítomna vajíčka (Carta et al., 2020). V průběhu roku populace rychle roste a na podzim mohou symptomatické listy obsahovat stovky až tisíce jedinců. V říjnu se spolu s opadem listů počet jedinců snižuje, háďátka už ze silně poškozených listů nemohou přijímat potravu a přezimují v opadaných listech a v pupenech. Opadané listy neusychají, pokud jsou v zimě kryty sněhem a ledem. Obdobně přežívají zimu i některá háďátka rodu *Aphelenchoides* (Jagdale a Grewal, 2006). Infikované listy se na další lokality mohou šířit větrem. Počet háďátek v listech je přes zimu konstantní, pokud listy neuschnou, velmi nízké teploty (-26 °C) nemají na počet háďátek žádný vliv, a to ani na háďátka v pupenech nekrytých sněhem. Z tohoto důvodu lze provádět odběr neuschlých listů a pupenů i v zimě. Ve vzorcích listů lze očekávat přítomnost i dalších druhů, např. fyto a mykofágního r. *Aphelenchoides* či bakteriofágních hlístic r. *Plectus* (Reed et al., 2020; Viaene et al., 2022). Některá háďátka čeledi Anguinidae jsou rezervoárem různých bakterií, např. rodů *Erwinia* a *Pseudomonas*, ze kterých pochází řada bakterií velmi významných z hlediska ochrany rostlin jako např. *Erwinia amylovora* a *Pseudomonas syringae*, tyto druhy však nebyly v souvislosti s háďátky nikdy detekovány a přítomnost těchto bakterií s onemocněním buku nesouvisí (Burke et al., 2020).

Způsob přenosu háďátka *Litylenchus crenatae* na nové lokality není dosud zcela objasněn. S velkou pravděpodobností dochází k přenosu deštěm, určitou roli mají téměř určité i bezobratlí vektorů, na buku žije celá řada druhů brouků a listy jsou kolonizovány roztoči. Možný je i přenos ptáky kteří se živí bukvicemi, lze předpokládat že druh *Litylenchus crenatae* může vstupovat do anabiotického stavu tak jak je to u háďátek čeledi Anguinidae běžné a není pro něj tedy problémem přežít v zaživacím traktu ptáků a šířit se ptačím trusem (Carta et al., 2023).

Metodika odběru vzorků, jejich zpracování a morfologické diagnostiky háďátka *Litylenchus crenatae*

Vzhledem k invaznímu šíření háďátka bukového v USA a Kanadě a škodlivosti tohoto druhu i na evropském buku lesním je budoucnosti důležité zabránit introdukci tohoto druhu do ČR např. importem okrasných dřevin. Z tohoto důvodu je vhodné, aby byli pracovníci organizací statní správy zodpovědní za dozor zejména na vstupních místech s problematikou háďátka bukového seznámeni a byli schopni provádět odběr vzorků vykazujících příznaky napadení háďátkem a tyto vzorky odeslat je do příslušných diagnostických laboratoří.

Monitoring výskytu háďátka *Litylenchus crenatae* je prováděn odběrem vzorků listů, pupenů a bukvic. Odebrané vzorky je možné před vlastní extrakcí skladovat cca 2 týdny v teplotě 8 °C, nicméně okamžité zpracování je nejvhodnější. Odebrané vzorky jsou opatřeny údaji o datu odběru, druhu a popř. odrůdě buku, názvu lokality, GPS souřadnicích místa odběru a poznámkou, zda byly na odebraném materiálu patrné příznaky odpovídající napadení háďátkem *Litylenchus crenatae*. Před extrakcí vzorku vhodné zaznamenat počet odebraných listů a hmotnost vzorku.



Obrázek 3: listy buku velkolistého (*Fagus grandifolia*; vlevo) a buku lesního (*Fagus sylvatica*; vpravo) připravené k extrakci háďátek

Extrakci háďátek z biologického materiálu je možné provést pomocí modifikované Baermannovy nálevkové metody. Před zpracováním listů je vhodné je omýt a osušit filtračním papírem, tímto způsobem se odstraní případně přítomné necílové druhy háďátek nacházející se na povrchu listů. Před extrakcí se listy homogenizují nastříháním na kousky o velikosti cca 5 x 5 mm, pro stříhání je vhodné použít vícebřité nůžky na byliny. Nastříhané listy se po zabalení do jednoho listu standardní buničité vaty umístí do nálevky naplněné vodou, vzorek je v nálevce podložen plastovou sítovinou. Extrakce probíhá minimálně 24 hodin při laboratorní teplotě a po uplynutí této doby je obsah skleněné zkumavky na spodním konci nálevky přelit do Petriho misky a pod stereomikroskopem prohlédnut za účelem detekce případně přítomných háďátek.

Mikroskopická diagnostika háďátka bukového (*Litylenchus crenatae*) – příčiny závažného onemocnění dřevin r. *Fagus*

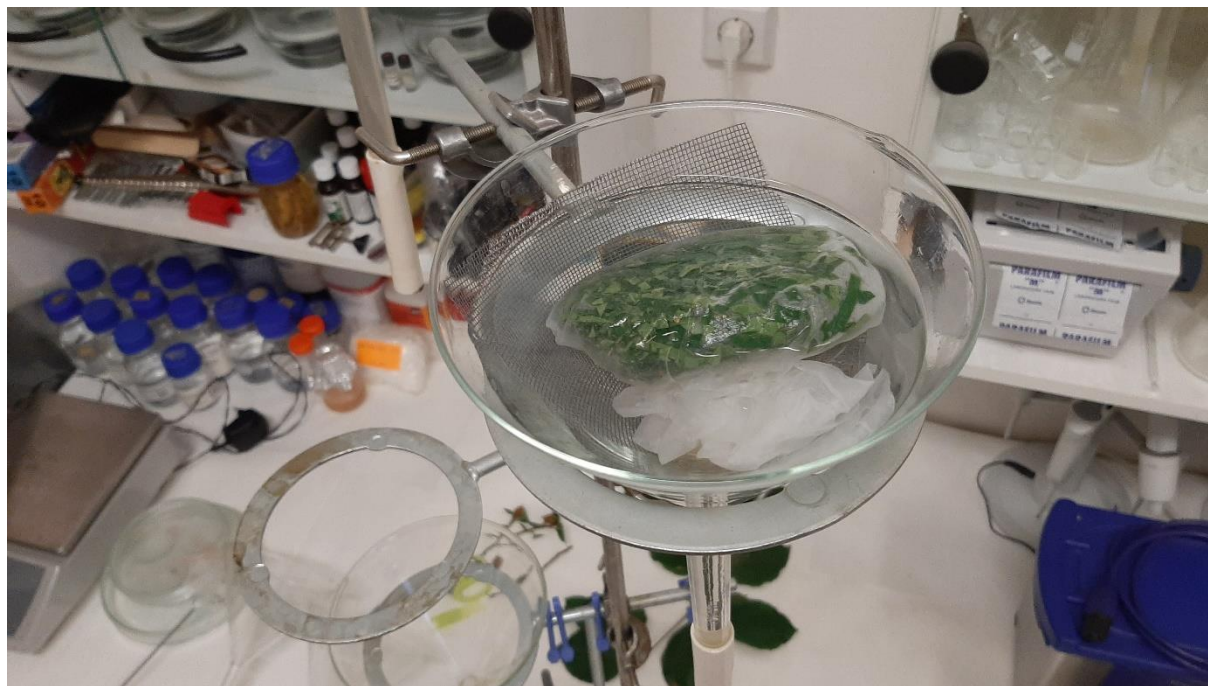


Obrázek 4: příprava vzorku listů pro extrakci



Obrázek 5: homogenizovaný vzorek připravený pro extrakci háďátek

Mikroskopická diagnostika háďátka bukového (*Litylenchus crenatae*) – příčiny závažného onemocnění dřevin r. *Fagus*



Obrázek 6: extrakce háďátek Baermannovou nálevkovou metodou



Obrázek 7: extrakce háďátek Baermannovou nálevkovou metodou

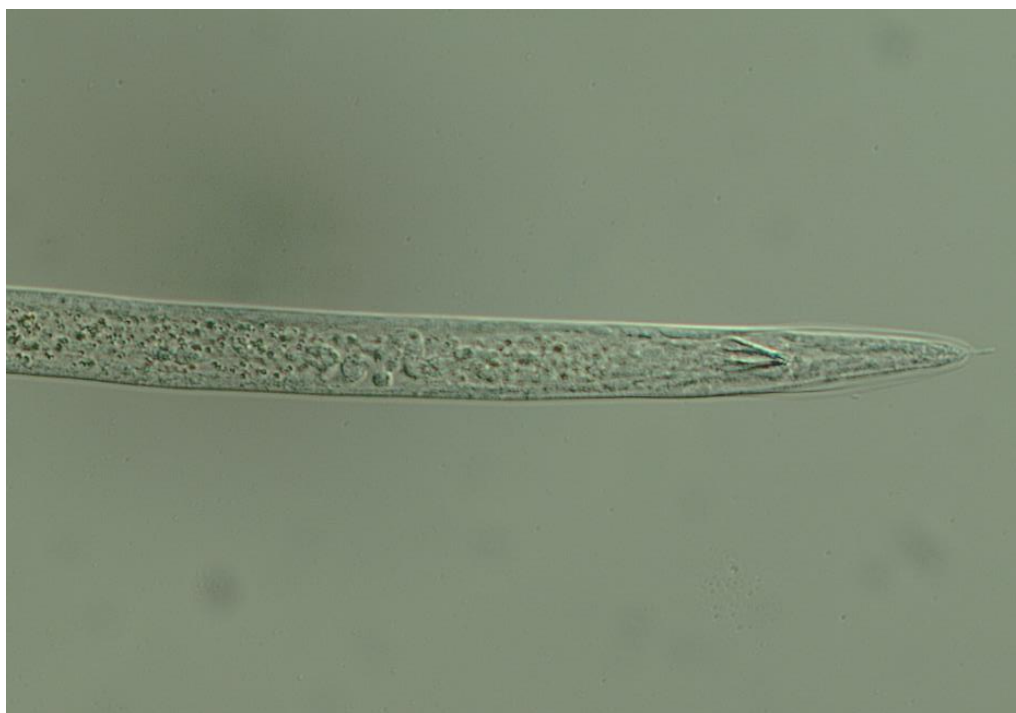
Pro mikroskopickou diagnostiku háďátek je nezbytná příprava dočasných či trvalých preparátů. Vhodné je použití nativních preparátů, kdy je krycí sklo k podložnímu přichyceno lakem. Preparáty tohoto typu se dají připravit velmi rychle a umožňují háďátka pozorovat a měřit několik hodin až při 1000násobném zvětšení. Pro mikroskopickou identifikaci háďátka *Litylenchus crenatae* se používá měření následujících tělesných rozměrů: celková délka těla (L), největší šířka těla (W), délka styletu, délka konusu styletu, délka jícnu, délka postvulválního váčku, délka ocasu, šířka těla u řitního otvoru, délka pářící jehlice (spikula) a délka vodiče pářící jehlice (gubernákulum). Některé z těchto údajů je pak možné použít pro výpočet nematologických indexů dále charakterizující určované háďátko. V případě druhu *Litylenchus crenatae* přichází v úvahu výpočet indexu **a** (podíl délky těla háďátka a největší šířky těla), **b** (podíl délky těla háďátka a délky jícnu), **c** (podíl délky těla háďátka a délky ocasu), **c'** (podíl délky ocasu a šířky těla v místě řitního otvoru), **V** (pozice vulvy vyjádřená v % délky od předního konce těla), **PUS/VAD** (poměr délky postvulválního váčku a vzdálenosti od vulvy k řitnímu otvoru vyjádřený v %) a **PUS/BW** (podíl délky postvulválního váčku a největší šířky těla). Pro spolehlivou mikroskopickou diagnostiku je nutné provést měření alespoň 10 jedinců a vypočítat aritmetický průměr všech hodnot pro porovnání s údaji uvedenými v tabulkách 1 a 2.

U háďátek čeledi Anguinidae může morfologickou diagnostiku někdy komplikovat výskyt jedinců vyznačujících se větší šířkou těla („obese morph“), jedinci tohoto typu byli popsáni i u háďátka *Litylenchus crenatae*, jejich výskyt byl v USA prokázán zejména koncem jara a na podzim (Corta et al., 2020), morfometrické údaje pro tuto formu háďátka však nebyly dosud publikovány.

Mikroskopická diagnostika háďátka bukového (*Litylenchus crenatae*) – příčiny závažného onemocnění dřevin r. *Fagus*



Obrázek 8: celkový tvar těla háďátka *Litylenchus crenatae*



Obrázek 9: ocas samce háďátka *Litylenchus crenatae*, frontální pohled, patná je pářící jehlice a pářící plachetka.

Mikroskopická diagnostika háďátka bukového (*Litylenchus crenatae*) – příčiny závažného onemocnění dřevin r. *Fagus*



Obrázek 10: háďátko *Litylenchus crenatae*, laterální pohled, patrné boční pole s podélnými rýhami (incisurami).



Obrázek 11: přední část těla háďátka *Litylenchus crenatae* s patrným ústním bodcem (styletem).

Mikroskopická diagnostika háďátka bukového (*Litylenchus crenatae*) – příčiny závažného onemocnění dřevin r. *Fagus*



Obrázek 12: zadní část těla samice háďátka *Litylenchus crenatae*, patrná je vulva.



Obrázek 13: laterální pohled na zadní část těla samce háďátka *Litylenchus crenatae* s pářicí jehlicí (spikulou).

| Character | <i>L. c. mccannii</i> Perry, OH, Live, young | <i>L. c. mccannii</i> Perry OH Fixed, young | <i>L. crenatae</i> Japan Fixed, young | <i>L. c. mccannii</i> N. America Live, mature | <i>L. crenatae</i> Japan, Fixed, mature |
|--------------------------|--|---|---|---|---|
| <i>n</i> | 27 | 10 | 10 | 50 | 10 |
| Body L μm | 889 \pm 119 (625–1084) | 823 \pm 61 (750–947) | 863 \pm 33 (837–915) | 740–908 (625–1109) | 816 \pm 32 (758–870) |
| Body W μm | 14.2 \pm 1.0 (12.1–16.1) | 11.4 \pm 1.1 (9.9–13.5) | 12.3 \pm 0.9 (11.0–13.5) | 12.8–16.2 (10.6–16.1) | 22.9 \pm 2.6 (18.4–27.7) |
| Stylet μm | 9.2 \pm 0.5 (8.4–10.3) | 9.7 \pm 0.9 (8.5–11.2) | 8 \pm 0.4 (7.4–8.5) | 9.3–9.6 (7.5–11.4) | 10.6 \pm 0.5 (9.9–11.3) |
| Styl conus μm | 4.6 \pm 0.4 (3.6–5.2) | – | 3.1 \pm 0.2 (2.8–3.5) | – | 3.3 \pm 0.2 (3.9–4.6) |
| Pharynx L μm | 193.5 \pm 35.7 (126.3–244.2) | 152.6 \pm 16.2 (133–186) | 203 \pm 5.9 (192–213) | 142–210 (100–244) | 123 \pm 6.7 (110–131) |
| PUS μm | 34.3 \pm 6.1 (22.7–45.0) | – | 32 \pm 3.4 (29–39) | 23–37 (14–64) | 68 \pm 7.4 (57–81) |
| Tail L μm | 54.3 \pm 6.1 (39.8–64.4) | 48.3 \pm 6.2 (34.5–56.4) | 55 \pm 3.8 (50–63) | 44–56 (31.5–64.4) | 33 \pm 2.3 (30–36) |
| <i>a</i> | 63.0 \pm 10.0 (43.8–76.8) | 72.9 \pm 9.3 (61–86) | 67.5 \pm 5.8 (60.7–74.4) | 46–69 (31–79) | 35.9 \pm 3.4 (30.2–41.1) |
| <i>b</i> | 4.7 \pm 0.7 (3.8–6.6) | 5.4 \pm 0.7 (4.5–6.6) | 5.3 \pm 0.6 (4.5–6.3) | 4.1–5.4 (3.3–6.8) | 6.6 \pm 0.4 (6.1–7.6) |
| <i>c</i> | 16.4 \pm 1.5 (13.3–20.1) | 17.4 \pm 3.3 (13–25) | 15.7 \pm 0.7 (14.4–16.7) | 15.7–16.8 (12.6–20.2) | 24.5 \pm 1.9 (18.5–25.1) |
| <i>c'</i> | 5.7 \pm 0.8 (4.3–7.9) | 6.0 \pm 1.0 (4.3–7.9) | 6.3 \pm 0.5 (5.5–7.4) | 5.3–6.0 (2.2–7.9) | 2.9 \pm 0.3 (2.5–3.3) |
| V% | 76.6 \pm 1.4 (73–79) | 76.9 \pm 1.2 (75–79) | 77.4 \pm 0.5 (76.6–78.3) | 77–80 (73–87) | 81.5 \pm 1.0 (79.4–83.2) |
| PUS/VAD% | 27 \pm 8 (22–50) | | 22.9 \pm 2.1 (20.2–25.9) | 15–25 (20–50) | 57.9 \pm 7 (47–73) |
| PUS/BW | 2.8 \pm 0.5 (1.9–3.8) | | 2.6 \pm 0.4 (2.2–3.5) | 1.8–2.8 (1.1–3.9) | 3.5 \pm 0.4 (2.8–4) |

Tabulka 1: základní tělesné rozměry samic různých populací háďátka *Litylenchus crenatae* (Carta et al., 2020)

Mikroskopická diagnostika háďátka bukového (*Litylenchus crenatae*) – příčiny závažného onemocnění dřevin r. *Fagus*

| Character | <i>L. c. mccannii</i> Kirtland, OH Live 2-2018 | <i>L. c. mccannii</i> Crawford, PA Live 9-2018 | <i>L. c. mccannii</i> Ontario, Canada Live 5-2018 | <i>L. c. mccannii</i> Perry, OH Fixed 11-2017 | <i>L. crenatae</i> Japan Fixed 6-2017 |
|------------------------------|--|--|---|---|---|
| <i>n</i> | 8 | 3 | 5 | 4 | 8 |
| Body L μm | 657 \pm 64 (554-772) | 586.3 \pm 73.3 (502-635) | 611.8 \pm 109.1 (511.8-778.2) | 548.0 \pm 16.7 (534.5-566.7) | 707 \pm 41 (642-773) |
| Body W μm | 16.7 \pm 2.3 (13.5-20.3) | 15 \pm 0 (15) | 15.4 \pm 1.5 (13.1-17.6) | 15.1 \pm 2.5 (12.1-16.7) | 12.4 \pm 0.8 (11.3-13.5) |
| Stylet μm | 11.2 \pm 0.4 (10.6-12.0) | 10 \pm 0 (10) | 9.8 \pm 0.3 (9.6-10.1) | 11.1 \pm 0.5 (10.5-11.4) | 10.2 \pm 0.4 (9.9-11.0) |
| Styl conus μm | 4.8 \pm 0.3 (4.4-5.3) | | 3.4 \pm 0.1 (3.4-3.6) | | 3.6 \pm 0.3 (3.5-4.3) |
| Pharynx L μm | 143.2 \pm 11.8 (124.9-159.7) | | 121.2 \pm 13.4 (117.8-134.9) | 113.9 \pm 5.0 (108.5-118.1) | 135 \pm 14 (116-157) |
| Tail L μm | 34.9 \pm 3.3 (30.1-41.5) | | 33.3 \pm 3.9 (29.0-36.7) | 35.3 \pm 1.6 (33.7-37.9) | 34 \pm 2.6 (30-38) |
| <i>a</i> | 40.0 \pm 7.8 (31.1-57.3) | 41.9 \pm 0.6 (41.5-42.3) | 45.6 \pm 2.6 (41.1-47.8) | 36.1 \pm 5.4 (33.3-44.1) | 57.2 \pm 4.7 (48.9-61.9) |
| <i>b</i> | 4.6 \pm 0.4 (4.1-5.3) | | 4.5 \pm 4.1 (3.9-5.0) | 4.8 \pm 0.2 (4.6-4.9) | 4.3 \pm 0.3 (3.9-4.8) |
| <i>c</i> | 18.9 \pm 2.0 (16.2-22.7) | | 19.1 \pm 1.9 (17.0-22.7) | 15.5 \pm 0.2 (15.3-15.9) | 21.1 \pm 2.0 (18.5-25.1) |
| <i>c'</i> | 3.2 \pm 0.2 (2.9-3.5) | | 3.4 \pm 0.3 (2.8-3.9) | | 3.6 \pm 0.4 (3.0-4.1) |
| Spicule L μm | 17.1 \pm 2.4 (13.7-19.7) | 15 \pm 0 (15) | 16.5 \pm 2.1 (14.3-17.6) | 16.3 \pm 1.4 (14.9-17.6) | 15.6 \pm 1.2 (14.2-17.7) |
| Gubernaculum L μm | 6.9 \pm 0.7 (6.4-8.0) | 6 \pm 1 (5-7) | 5.9 \pm 0.2 (5.7-6.0) | 5.3 \pm 0.8 (4.3-6.1) | 6.5 \pm 0.4 (6.0-7.1) |

Tabulka 2 základní tělesné rozměry samců různých populací háďátka *Litylenchus crenatae* (Carta et al., 2020)

Srovnání „novosti postupů“

Metodika popisuje postupy pro monitoring a mikroskopickou diagnostiku hád'átka *Litylenchus crenatae*; informace týkající se speciálně tohoto druhu uvedené v metodice jsou pro Českou republiku nové a nebyly dosud v češtině publikovány.

Popis uplatnění Certifikované metodiky

Metodika je určena pro organizace podílející se na diagnostice fytopatogenních a fytoparazitických organismů. Včasná, přesná a spolehlivá diagnostika škodlivého organismu je prvním a zcela zásadním krokem v procesu ochrany rostlin, to platí zejména v případě nově se objevujících škodlivých organismů, kterým je i hád'átka *Litylenchus crenatae*. Introdukce tohoto druhu na naše území by měla velmi vážné důsledky, jelikož buk lesní, který je náchylnou dřevinou tvoří v ČR významnou součást lesních porostů i okrasné zeleně.

Výsledek byl spolufinancován z projektu institucionální podpory na rozvoj VÚRV, v.v.i. č. rozhodnutí RO0423 MZe ČR. VÚRV a projektu vědecké mobility CZ.02.2.69/0.0/0.0/18_053/0016953.

Ekonomické aspekty

Ekonomické dopady využití metodiky nelze přesně kvantifikovat, jsou závislé na případné přítomnosti hád'átka *Litylenchus crenatae* na území ČR. V USA nicméně vedl výskyt tohoto druhu k velkým ekonomickým škodám a má značné důsledky i z hlediska poškození životního prostředí. Pouze ve státě Ohio byly škody vyčísleny na 225 milionů USD (Wilke, 2019). Porosty buku k roku 2020 zaujímají v ČR plochu 235 755 ha, což je 9 % ploch lesních porostů, podíl této dřeviny díky novým výsadbám roste (MZe, 2021). Cílem této metodiky je v případě výskytu hád'átka *Litylenchus crenatae* na našem území škody na buku jako významné složce lesních porostů omezit včasnou detekcí tohoto škodlivého organismu a přijetím příslušných mimořádných rostlinolékařských opatření.

Seznam použité související literatury

- Burke, D. J., Hoke, A. J., Koch, J. (2020). The emergence of beech leaf disease in Ohio: Probing the plant microbiome in search of the cause. *Forest Pathology*, 50(2), e12579.
- Carta, L. K., Handoo, Z. A., Li, S., Kantor, M., Bauchan, G., McCann, D., Bauchan G., McCann D., Gabriel C. K., Yu Q., Reed S., Koch J., Martin D., Burke, D. J. (2020). Beech leaf disease symptoms caused by newly recognized nematode subspecies *Litylenchus crenatae mccannii* (Anguinata) described from *Fagus grandifolia* in North America. *Forest Pathology*, 50(2), e12580.
- Carta, Lynn K., Shiguang Li., Mowery J. (2023). "Beech leaf disease (BLD), *Litylenchus crenatae* and its potential microbial virulence factors." In *Forest Microbiology*, pp. 183-192. Academic Press.
- EPPO 1:
https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/alert_list_nematodes/litylenchus_crenatae.
- Ewing, C.J., Hausman, C.E., Pogacnik, J., Slot, J., Bonello, P., (2019). Beech leaf disease: An emerging forest epidemic. *Forest Pathology*, 49(2), p.e12488.
- Fearer, C. J., Volk, D., Hausman, C. E., & Bonello, P. (2022). Monitoring foliar symptom expression in beech leaf disease through time. *Forest Pathology*, 52(1), e12725.
- Jagdale, G. B., Grewal, P. S. (2006). Infection behavior and overwintering survival of foliar nematodes, *Aphelenchoides fragariae*, on hosta. *Journal of Nematology*, 38(1), 130.
- Kantor, M., Handoo, Z., Carta, L., Li, S. (2022). First report of beech leaf disease, caused by *Litylenchus crenatae mccannii*, on american beech (*Fagus grandifolia*) in Virginia. *Plant disease*, 106(6), 1764.
- Kanzaki, N., Ichihara, Y., Aikawa, T., Ekino, T., Masuya, H., (2019). *Litylenchus crenatae* n. sp. (Tylenchomorpha: Anguinidae), a leaf gall nematode parasitising *Fagus crenata* Blume. *Nematology*, 21(1), pp.5-22.
- MZe (2021). Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky v roce 2020. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky, 124 s., ISBN 978-80-7434-625-5.
- Reed, S. E., Greifenhagen, S., Yu, Q., Hoke, A., Burke, D. J., Carta L. K., Handoo Z. A., Kantor, M. R., Koch J. (2020). "Foliar nematode, *Litylenchus crenatae* ssp. *mccannii*, population dynamics in leaves and buds of beech leaf disease-affected trees in Canada and the US." *Forest Pathology* 50, no. 3 e12599.

- Vieira, P., Kantor, M. R., Medina-Mora, C. M., Sakalidis, M. L., Handoo, Z. A. (2023). First report of the beech leaf disease nematode *Litylenchus crenatae mccannii* (Nematoda: Anguinidae) in Michigan. *Plant Disease*, 107(7), 2266.
- Wilke, C. (2019). A Mysterious Disease is Killing Beech Trees. *The Scientist*. <https://www.the-scientist.com/news-opinion/a-mysterious-disease-is-killing-beech-trees-65358>.
- Zhao, Z.Q., Davies, K., Alexander, B. and Riley, I.T., (2011). *Litylenchus coprosma* gen. n., sp. n. (Tylenchida: Anguinata), from leaves of *Coprosma repens* (Rubiaceae) in New Zealand. *Nematology*, 13(1), pp.29-44.

Seznam publikací, které předcházely metodice

- Viaene N., Ebrahimi N., Haegeman A., Douda O., van Bruggen A., Ogris N., Širca S., Stare B.G., Prior T., Pérez Sierra A., Groza M., Coman M., Hurley M., Lanterbecq D., Van Kerkhove S., Leroy Q. (2022). FAGUSTAT: Investigating Beech Leaf Disease, a threat to beech trees and forests in Europe. Book of abstracts, 7th International Congress of Nematology, 1 to 6 May 2022, Conference Centre of Antibes Juan-les-Pins, France, 826 pp.

Poznámka a poděkování

Autorem všech fotografií v této metodice je Ondřej Douda. Fotografie listů obsahujících háďátka bukové i mikroskopických preparátů byly pořízeny v Belgii z materiálu získaného v rámci řešení projektu Euphresco č. 2020-A-334 „FAGUSTAT“ z USA.

Autor by chtěl na tomto místě poděkovat kolegyním Nicole Viaene a Negin Ebrahimi (Instituut voor Landbouw-, Visserij- en Voedingsonderzoek, Merelbeke, Belgie) za umožnění přístupu k tomuto biologickému materiálu a seznámení s problematikou onemocnění buků vyvolaným háďátkem *Litylenchus crenatae*.

Přílohy k certifikované metodice

uzavřená smlouva s: ÚKZÚZ

nezávislé oponentní posudky:

Mikroskopická diagnostika háďátka bukového (*Litylenchus crenatae*) – příčiny závažného onemocnění dřevin r. *Fagus*

1 posudek odborníka z daného oboru, zpracoval: Ing. Vladimír Gaar

1 posudek ze státní správy zpracoval: Ing. Václav Čermák, Ph.D.