

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Zhodnocení vlivu vybraných pesticidů na rostliny
a necílové organismy**

Diplomová práce

Alžběta Mikulová

Rostlinolékařství

Vedoucí práce: prof. Ing. Pavel Ryšánek, CSc.

Školitel specialista: RNDr. Tomáš Erban, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci „Zhodnocení vlivu vybraných pesticidů na rostliny a necílové organismy“ vypracovala samostatně s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 09. 04. 2019

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce prof. Ing. Pavlu Ryšánkovi, CSc. Nejvíce bych však chtěla poděkovat svému školiteli RNDr. Tomáši Erbanovi, Ph.D., z Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v. v. i., Praze 6 Ruzyni, pod jehož vedením práce vznikala, a díky němuž jsem získala mnoho cenných zkušeností a znalostí. Ráda bych mu také poděkovala za jeho snahu, ochotu a čas věnovaný této diplomové práci a za jeho odbornou, materiální a finanční podporu. Děkuji také dalším pracovníkům z VÚRV: RNDr. Brunu Sopkovi, Ph.D., za pomoc se statistickým zpracováním, Martinu Markovičovi za pomoc s obstaráváním celých textů literárních zdrojů a Mgr. Julii Chalupníkové, Mgr. Justyně Zítekové, Ing. Mgr. Miroslavě Bodrinové a Mgr. Eleně Shcherbachenko za pomoc a rady poskytnuté při práci v laboratoři. Dále bych ráda poděkovala Ing. Martě Václavíkové, Ing. Taťaně Halešové a Ing. Daniele Tomešové za zpracování vzorků řepky v laboratořích ALS Czech Republic, s. r. o. Tato práce byla podpořena z projektu TAČR č. TH03030178 – Nové metody hodnocení rizik přípravků na ochranu rostlin vůči necílovým půdním organismům: Hodnocení rizik zatížení půdního prostředí xenobiotiky na diverzitu.

Chtěla bych také poděkovat své rodině a přátelům za psychickou podporu po celou dobu studia.

Zhodnocení vlivu vybraných pesticidů na rostliny a necílové organismy

Souhrn

V zemědělství se často využívají přípravky na ochranu rostlin (POR), které mají eliminovat ztráty způsobené škodlivými organismy rostlin. Během aplikace dochází k úniku látek do prostředí. Jen malá část aplikované látky se dostane přímo k cílovému organismu. Zbytek je unášen větrem, navázán na půdní částice, dostává se do povrchových a podzemních vod a v neposlední řadě zasahuje necílové organismy.

Cílem diplomové práce bylo shrnout informace z literatury k problematice používání POR a získat nové poznatky o jejich vlivu na půdního chvostoskoka *Folsomia candida* a rostlinu ozimou řepku olejku *Brassica napus* L. convar. *napus* forma *biennis*. Na chvostoskocích byly provedeny biotesty, při nichž byly testovány účinné látky a přípravky – imidaklopid, thiaklopid, acetochlor, alachlor, Biscaya a Confidor. Metodika byla testována a vyvíjena v různých podmínkách a koncentracích. V průběhu došlo ke změně substrátu a teploty. Biotesty zpravidla probíhaly po dobu 4 týdnů a v každém opakování se nacházelo 10 dospělých jedinců. Byl pozorován vliv na mortalitu a změny chování chvostoskoků. Zjištěné počty byly statisticky zpracovány pomocí jednofaktorové analýzy (ANOVA). V rostlině byla sledována distribuce účinné látky thiaklopid při použití přípravku Biscaya v listech a kořenech. Vzorky byly poslány do laboratoře firmy ALS Czech Republic, kde došlo k detekci koncentrace thiaklopidu uvnitř rostlinných pletiv. Následně byly výsledky statisticky zpracovány metodou ANOVA.

Z výsledků vyplývá, že běžně naležitelná rezidua některých pesticidů v půdě, mají statisticky významný vliv na mortalitu chvostoskoků. K těmto látkám patřil v daných koncentracích a podmínkách imidaklopid, acetochlor a alachlor. U imidaklopidu byl pozorován zvláštní jev. Pokud byl imidaklopid aplikován v menších dávkách, měl v daných podmínkách větší vliv na mortalitu chvostoskoků v porovnání s desítkrát až stokrát většími koncentracemi. Výsledky sledování distribuce thiaklopidu po umělé aplikaci POR Biscaya k ozimé řepce olejce prokazují větší kumulaci thiaklopidu v kořenech oproti zelenému částem. Zajímavým zjištěním bylo nalezení malého množství účinné látky thiaklopid v kontrolních rostlinách, i přes použití nemořených semen.

Klíčová slova: pesticidy, rezidua, *Folsomia candida*, chvostoskoci, řepka, neonikotinoidy.

Evaluation of the impact of selected pesticides on plants and non-target organisms

Summary

In agriculture, plant protection products (PPPs) are often used to eliminate losses caused by harmful organisms – pathogens, pests and weeds. Substances can escape into the environment during the application. Only a small part of the applied substances gets directly to the target organism. The rest is carried away by wind, bound to soil particles, enters the surface and groundwater and affects non-target organisms.

The aim of this thesis was to summarize information from the literature on the use of PPPs and to gain new knowledge about their influence on the soil springtail *Folsomia candida* and winter canola *Brassica napus* L. convar. *napus* forma *biennis*. Biotests on springtails tested the active substances and formulations - imidacloprid, thiacloprid, acetochlor, alachlor, Biscaya and Confidor. The methodology was tested and developed under various conditions and concentrations. During the period of time, the type of substrate and temperature changed. In general, the biotests lasted for 4 weeks and there were 10 adults in each replication. An effect on mortality and changes in behavior of springtails were observed. The obtained results were statistically analyzed using one-factor analysis (ANOVA). The distribution of thiacloprid, using Biscaya, was studied in leaves and roots of plants. Samples were sent to the laboratory of ALS Czech Republic where thiacloprid concentration was detected within plant tissues. Subsequently, the results were statistically evaluated using ANOVA.

The results show that commonly found residues of some pesticides in soils significantly influenced the mortality of springtails – the compounds that affected under tested conditions included imidacloprid, acetochlor and alachlor. Special phenomenon has been observed with imidacloprid. Since application of imidacloprid in smaller doses had greater influence on the mortality of springtails compared to applied concentrations 10 to 100 times higher. The results of monitoring the distribution of thiacloprid after artificial application of POR Biscaya to winter oilseed rape showed greater accumulation of thiacloprid in roots compared to green parts. An interesting finding was observed. Despite the use of non-treated seeds, there was small amount of thiacloprid found in control plants.

Key words: pesticides, residues, *Folsomia candida*, springtails, canola, neonicotinoids.

Obsah

| | |
|---|-----------|
| 1. ÚVOD | 1 |
| 2. VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE | 2 |
| 3. LITERÁRNÍ PŘEHLED | 3 |
| 3.1. Prostředky na ochranu rostlin | 3 |
| 3.1.1. Základní rozdělení metod ochrany rostlin podle Agrios (2005) | 3 |
| 3.1.2. Integrovaná ochrana rostlin (IOR)..... | 4 |
| 3.2. Chemická ochrana rostlin | 5 |
| 3.2.1. Legislativa přípravků na ochranu rostlin | 6 |
| 3.2.2. Modelové druhy a hodnocení rizik pesticidů..... | 7 |
| 3.2.3. Nejvýznamnější plodiny | 9 |
| 3.2.4. Cílové organismy..... | 10 |
| 3.2.5. Řepka olejka ozimá (<i>Brassica napus</i> L. convar. <i>napus</i> forma <i>biennis</i>)..... | 11 |
| 3.2.5.1. Chemická ošetření | 12 |
| 3.2.5.1.1. Regulace růstu | 12 |
| 3.2.5.1.2. Škodlivé organismy a přípravky na ochranu rostlin..... | 12 |
| 3.2.5.1.3. Sklizeň a desikace | 14 |
| 3.3. Necílové organismy | 15 |
| 3.3.1. Ptáci..... | 15 |
| 3.3.2. Vodní organismy | 15 |
| 3.3.3. Členovci..... | 15 |
| 3.3.4. Necílové půdní organismy..... | 16 |
| 3.3.4.1. Chvostoskoci (Collembola)..... | 17 |
| 3.3.4.1.1. <i>Folsomia candida</i> | 18 |
| 3.3.4.1.2. Pokyny OECD k testům reprodukce chvostoskoků v půdě | 19 |
| 3.3.4.1.3. Laboratorní experimenty s imidaklopridem a thiaklopridem..... | 20 |
| 3.3.5. Rostliny | 20 |
| 3.4. Ekologické důsledky chemické ochrany rostlin | 21 |
| 3.4.1. Klady a zápory..... | 21 |
| 3.4.2. Zakázané pesticidy | 21 |
| 3.4.2.1. DDT | 22 |
| 3.4.3. V současnosti velmi diskutované pesticidy | 22 |
| 3.4.3.1. Neonikotinoidy..... | 22 |
| 3.4.3.2. Glyfosát..... | 24 |
| 3.5. Jak eliminovat používání chemických prostředků na ochranu rostlin | 26 |
| 3.5.1. Integrované zemědělství | 26 |
| 3.5.2. Rezistentní odrůdy..... | 27 |
| 3.5.3. Systém hospodaření “Pasture cropping” | 27 |
| 4. MATERIÁL A METODY | 30 |
| 4.1. <i>Folsomia candida</i> | 30 |
| 4.1.1. Chov modelového druhu <i>Folsomia candida</i> | 30 |
| 4.1.2. Použité přípravky a účinné látky v experimentech | 30 |
| 4.1.3. Použité nádoby a substráty k experimentům | 30 |
| 4.1.4. Biotesty..... | 31 |
| 4.1.5. Pokus č. 1: Testování vlivu thiaklopridu (ředící řada) v půdě a do potravy (1 týden)..... | 32 |
| 4.1.5.1. Aplikace thiaklopridu do půdy | 32 |
| 4.1.5.2. Aplikace thiaklopridu do potravy..... | 33 |
| 4.1.6. Pokus č. 2: Testování vlivu imidaklopridu (ředící řada) v půdě po dobu 1 týdne | 34 |
| 4.1.7. Pokus č. 3 a č. 4: Testování vlivu POR (Confidor a Biscaya) v půdě po dobu 3 týdnů | 35 |

| | |
|---|-----------|
| 4.1.8. Pokus č. 5: Testování vlivu imidaklopridu (25 a 250 µg/kg s. p.) v půdě (4 týdny)..... | 36 |
| 4.1.9. Pokus č. 6: Simulace vlivu reziduí alachloru, acetochloru a imidaklopridu v půdě | 37 |
| 4.1.9.1. Pokus založený v listopadu 2018 | 37 |
| 4.1.9.2. Pokus založený v lednu 2019 | 38 |
| 4.2. Řepka olejka (<i>Brassica napus</i> L. convar. <i>napus</i> forma <i>biennis</i>) | 39 |
| 4.2.1. Sledování distribuce účinné látky po aplikaci POR (Biscaya) v pletivech řepky olejky | 39 |
| 4.2.1.1. Postup pěstování..... | 39 |
| 4.2.1.2. Použité pesticidy na experiment..... | 39 |
| 4.2.1.3. Biotesty | 39 |
| 4.3. Vyhodnocení výsledků | 41 |
| 5. VÝSLEDKY | 42 |
| 5.1. <i>Folsomia candida</i>..... | 42 |
| 5.1.1. Pokus č. 1: Testování vlivu thiaklopridu (ředící řada) v půdě a do potravy (1 týden) | 42 |
| 5.1.2. Pokus č. 2: Testování vlivu imidaklopridu (ředící řada) v půdě po dobu 1 týdne | 43 |
| 5.1.3. Pokus č. 3: Testování vlivu POR (Confidor) v půdě po dobu 3 týdnů | 44 |
| 5.1.4. Pokus č. 4: Testování vlivu POR (Biscaya) v půdě po dobu 3 týdnů | 45 |
| 5.1.5. Pokus č. 5: Testování vlivu imidaklopridu (25 a 250 µg/kg s. p.) v půdě (4 týdny)..... | 46 |
| 5.1.6. Pokus č. 6: Simulace vlivu reziduí alachloru, acetochloru a imidaklopridu v půdě | 47 |
| 5.1.7. Zhodnocení pokusů s chvostokoky | 50 |
| 5.2. Řepka olejka (<i>Brassica napus</i> L. convar. <i>napus</i> forma <i>biennis</i>) | 51 |
| 5.2.1. Pokus č. 7: Sledování distribuce účinné látky po aplikaci POR (Biscaya) v pletivech řepky olejky | 51 |
| 6. DISKUZE | 53 |
| 7. ZÁVĚR | 57 |
| 8. SEZNAM LITERATURY | 58 |
| 9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ | 77 |
| 10. SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY | 78 |
| 10.1. Seznam zkoumaných pesticidních látek a jejich metabolitů v půdě..... | 78 |
| 10.2. Fotodokumentace | 79 |
| 10.2.1. <i>Folsomia candida</i> | 79 |
| 10.2.2. Řepka olejka ozimá (<i>Brassica napus</i> L. convar. <i>napus</i> forma <i>biennis</i>)..... | 80 |
| 10.3. Seznam použitých přístrojů, techniky, chemikálií a programů | 81 |
| 10.4. Seznam tabulek, fotografií a grafů | 82 |

1. Úvod

V podmínkách dnešního zemědělství dominují plochy monokultur, konvenční způsoby zpracování půdy a s tím je pak spojeno nadměrné používání prostředků na ochranu rostlin (POR), (Knudsen et al. 2006). Využívání POR přineslo mnoho výhod jako zvýšení výnosu plodin, snížení poškození rostlin, zjednodušení sklizně a odstoupení od složitých metod ochrany rostlin. Na druhé straně však existuje i mnoho nevýhod, jako jsou nežádoucí účinky na životní prostředí a organismy, snížení biodiverzity, rozšiřování rezistence škůdců, patogenů a plevelných rostlin (Barzman et al. 2015). POR se při aplikaci dostávají pouze v malém množství na cílové místo určení. V průměru zasáhne cílového škůdce méně než 0,1 % (Pimentel 1995), zbytek se váže v okolním prostředí – ovzduší, podzemní a povrchová voda, necílové organismy a půdní koloidy (Pimentel 1995; van der Werf 1996). Tyto látky se pozvolna uvolňují i po letech aplikace a mohou tak ovlivňovat rozličné necílové organismy – člověka, savce, ptáky, opylovače, hmyz, vodní organismy, ostatní členovce a rostliny (Aktar 2009; Mahmood et al. 2016).

POR mají velký vliv na rostliny a půdní organismy, které se nacházejí v přímé blízkosti aplikovaných pesticidů na poli. Jelikož se většina půdních organismů nachází v horních 10 cm půdy, jsou většinou prvními na řadě (Rusek 2000a). Přestože je v Evropské unii přísná registrace pesticidních látek, provádí se u často přehlížených půdních organismů pouze testy vlivu pesticidních látek na úmrtnost (Evropská komise 2011; Úřední věstník Evropské unie 2013). Rostliny a půdní organismy plní mnoho důležitých funkcí, proto je důležité se jimi zabývat podrobněji. V rámci této diplomové práce byl zvolen modelový druh půdního chvostoskoka *Folsomia candida* a polní plodina ozimá řepka olejka *Brassica napus* L. convar. *napus* forma *biennis*, na kterých byly zkoumány vlivy vybraných účinných látek a POR.

V posledních letech je snaha o snížení negativních vlivů používání POR na prostředí a změnu zavedených metod. K těm patří integrovaná ochrana rostlin (EISA 2012; Rana 2013), rezistentní odrůdy (Robinson 1996; Birch et al. 2011), GMO plodiny (Klümper & Qaim 2014), poměrně přísná legislativa při registraci pesticidních látek v Evropské unii (Damalas & Eleftherohorinos 2011; European Crop Protection 2013), vhodná aplikace přípravků (Matthews 2008) a systém pěstování “Pasture cropping“ (Seis 2006a).

2. Vědecká hypotéza a cíle práce

Během posledních staletí se velice rozšířilo používání POR. Půdní organismy, které se nacházejí v místě aplikací, jsou aplikovanými přípravky negativně ovlivňovány. Přesto jsou půdní organismy zpravidla přehlíženou skupinou necílových organismů. Proto je potřeba zavést nové účinné metody k přesnější determinaci negativních vlivů používaných chemických látek v prostředí. Jednou z klíčových skupin půdních organismů jsou chvostoskoci. Chvostoskok *F. candida* je velmi citlivý organismus a patří mezi jedny z modelových organismů při registraci pesticidních látek.

Cílem diplomové práce bylo shrnout poznatky k problematice používání POR a získat nové informace o vlivu různých účinných látek a POR na vybrané necílové organismy. Jako modelový druh byl zvolen půdní chvostoskok *F. candida* a rostlina ozimá řepka olejka *Brassica napus* L. convar. *napus* forma *biennis*. Předpokladem je, že reziduální koncentrace účinných látek, které můžeme běžně nalézt v půdě, mají vliv na mortalitu a chování chvostoskoků. Samotná aplikace POR může ovlivňovat i plodinu. Látky, které byly zvoleny, se běžně používaly k ochraně řepky olejky před škodlivými organismy anebo jako herbicidy a dnes jsou v Evropské unii kromě thiaklopridu zakázány. Byly provedeny biotesty aplikovaných účinných látek a POR aplikací do půdy: thiaklopid, imidaklopid, alachlor, acetochlor, Confidor a Biscaya. Následně byla sledována distribuce účinné látky thiaklopid v rostlině při použití přípravku Biscaya, která může ovlivnit samotnou rostlinu a další necílové organismy jako opylovače a dravé roztoče.

3. Literární přehled

3.1. Prostředky na ochranu rostlin

Základním předpokladem k dosažení úspěšného provedení ochrany rostlin, je determinace původu poškození rostliny. Poté, co spolehlivě určíme původce, je důležité zvolit vhodnou metodu ochrany, která splňuje ekologické, ekonomické, ale i právní a bezpečnostní požadavky (Agrios 2005; Kazda et al. 2010; Barzman et al. 2015). Původcem poškození rostliny mohou být biotické nebo abiotické vlivy. Mezi biotické vlivy, neboli poškození způsobená živými činiteli, patří škůdci a choroby. Do abiotických vlivů můžeme zařadit například nedostatek živin, poškození chemickými látkami, vlhkem a suchem (Schulze et al. 2005). Metody ochrany rostlin proti původcům chorob a škůdcům se rozdělují na metody přímé a nepřímé. K nepřímým metodám patří metody agrotechnické, šlechtitelské a organizační. Tyto metody mají za cíl zamezit šíření chorob a škůdců preventivními opatřeními. Přímé metody ochrany rostlin hubí škůdce a původce chorob. Mezi přímé metody patří chemické, biologické, mechanické a fyzikální metody (Kazda et al. 2010).

3.1.1. Základní rozdělení metod ochrany rostlin podle Agrios (2005)

1) Kontrolní metody vedoucí k odstranění patogenu z hostitelské rostliny

- Opatření proti patogenům či zavlečení nepůvodních patogenů do země
 - certifikované zdravé rostliny
 - certifikovaná semena nebo sadba prosté patogenů
 - zdravý vegetativně množený materiál
 - meristémové kultury
 - prevence pronikání patogenu povrchem rostliny (např. aplikací dodecyl alkoholem)

2) Kontrolní metody, které zamezují nebo snižují inokulum patogenu

- zlikvidování napadených rostlin nebo podezřelých z napadení, aby nedocházelo k dalším epidemiím
- střídání plodin
- hygienická opatření – odstranění posklizňových zbytků, prořezávání infikovaných rostlin, desinfekce náradí, desinfekce zemědělských strojů před jejich přesunutím z jednoho pole na druhé
- vytvoření nevhodných podmínek pro patogena – správná teplota a vlhkost při skladování, úprava pH, správný spon mezi rostlinami, používání kompostů bez původců chorob a škůdců

- monitoring náletu škůdců – lapáky

3) Biologické metody

- supresivní půda – půda, ve které je značně potlačeno napadení rostliny patogeny a původci chorob (biotické a abiotické faktory)

4) Antagonistické mikroorganismy

- použití antagonistických organismů a mikroorganismů
- nepřátelské rostliny hlavně pro hád'átka
- antagonistické rostliny

5) Fyzikální metody

- sterilizace půdy horkem (vodou, vzduchem)
- sterilizace UV světlem, radiací
- zmrazení

6) Chemické metody

- sterilizace půdy chemickými látkami
- fumigace
- kontrola přenašečů virů

7) Tlumení choroby imunizací, nebo zlepšení odolnosti hostitele

- křížová ochrana – rostlina je uměle infikována mírným kmenem viru. Tato rostlina již nemůže být napadena jiným kmenem téhož viru.
- indukovaná rezistence
- zlepšení růstových podmínek rostlin
- rezistentní odrůdy

8) Ochrana rostlin zajištěná přes transgenní rostliny

- transgenní rostliny, které tolerují abiotické stresy
- transgenní rostliny se specifickými geny pro rezistenci
- transgenní rostliny s geny odvozenými od patogenu
- transgenní rostliny s geny kódující nukleové kyseliny
- transgenní rostliny s geny odvozenými od jiných rostlin
- transgenní rostliny s geny odvozenými od jiných organismů

3.1.2. Integrovaná ochrana rostlin (IOR)

Poprvé se s termínem Integrovaná ochrana setkáváme v roce 1959. IOR je zakotvena v zákoně na ochranu rostlin a má za cíl omezit použití chemických přípravků na minimum.

K realizování IOR se využívá biologických, biotechnických, mechanických, šlechtitelských a pěstitelských metod (Böhringer et al. 1996). Je považována při kombinaci těchto několika metod za nejpříjatelnější řešení při ochraně rostlin proti patogenům a škůdcům (Tichá 2001).

Podle zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů § 5, IOR má za cíl používat takové metody ochrany rostlin, které lze z hospodářského a ekologického hlediska odůvodnit a které nemají negativní vliv na růst pěstovaných rostlin, a které nenarušují zemědělské a lesnické ekosystémy. Profesionální uživatelé jsou povinni uplatňovat všeobecné zásady IOR, jako je (ČR 2004):

- sledování výskytu škodlivých organismů,
- použití preventivních opatření, která mají co nejmenší vedlejší účinky na necílové organismy a životní prostředí,
- zamezení rezistence škodlivých organismů k přípravkům,
- sledování úspěšnosti použitých opatření

Evropská unie a obdobně i Česko jako její člen vyžaduje uplatňování osmi zásad IOR (EU 2009; ČR 2012):

- 1) Prevence a potlačení škodlivých organismů
- 2) Monitoring či sledování škodlivých organismů
- 3) Rozhodování – zvolení konkrétního opatření nebo způsobu ochrany rostlin
- 4) Ne-chemické metody
- 5) Výběr vhodného pesticidu
- 6) Snížená spotřeba pesticidů
- 7) Anti-rezistentní strategie
- 8) Zhodnocení použitých metod na ochranu rostlin

3.2. Chemická ochrana rostlin

Chemická ochrana rostlin je založena na použití pesticidních přípravků, takzvaných přípravků na ochranu rostlin. Přípravky na ochranu rostlin (POR) jsou definovány podle organizace EPPO (2004) jako látky nebo směsi látek chemické, biologické nebo mikrobiální povahy (houby, viry, bakterie, protozoa), které se používají v zemědělství, lesnictví, zahradnictví nebo v prostorách, kde se skladují potraviny a další rostlinné produkty. Účelem použití POR je ochrana rostlin před škůdci, chorobami a plevely nebo podpora a změna růstu rostlin (EPPO 2004).

3.2.1. Legislativa přípravků na ochranu rostlin

Registrace pesticidů je komplexní proces (vědecký, legální, administrativní), který je časově velmi náročný a vyžaduje značnou část finančních prostředků a odborných znalostí ze strany vědecké společnosti, výrobců pesticidů a registračních úřadů. Hodnotí se široká škála účinků spojených s používáním pesticidního přípravku a jeho možným účinkem na lidské zdraví a životní prostředí. Registrace je důležitým krokem v řízení pesticidů. Umožňuje určit, které pesticidní přípravky je povoleno používat, pro jaké účely, k jakým plodinám, jak je aplikovat a jak s nimi správně a bezpečně zacházet. V neposlední řadě také umožňuje vykonávat kontrolu jejich používání a zajistit správné balení, obalové materiály, etikety a bezpečnostní listy (Damalas & Eleftherohorinos 2011).

Základní legislativou pro regulaci pesticidů v Evropské unii jsou následující směrnice a nařízení (European Crop Protection 2013):

- Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2009/128/ES (2009/128/EC) – o vytvoření rámce pro udržitelný rozvoj používání pesticidů
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1185/2009 – o statistice pesticidů
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 396/2005 – o maximálních limitech reziduí pesticidů v potravinách a v krmivech
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1272/2008 – o klasifikaci výrobků, označování a balení
- Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES (2000/60/EC) – o vodní politice
- Směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/83/ES (98/83/EC) – o kvalitě vody určené pro spotřebu člověka
- Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2006/118/ES (2006/118/EC) – o ochraně podzemních vod
- Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2004/35/ES (2004/35/EC) – o odpovědnosti za životní prostředí

Legislativa Evropské unie pro registraci pesticidů vyžaduje komplexní testování účinných látek. V souladu s vědeckými pokroky se pokusy a dokumentace s látkami rok od roku rozšiřují. V dnešní době je to více než 100 specifických testů, které zahrnují (European Crop Protection 2013):

- Fyzikální a chemické vlastnosti látky (barva, zápach, rozpustnost)
- Analytické metody (detekce potencionálních reziduí)
- Studie toxicity a metabolismu (akutní a chronická toxicita u lidí a zvířat)

- Rezidua v potravinách (maximální limity reziduí)
- Ekologické a ekotoxikologické studie (osud produktu v půdě, ve vodě a ve vzduchu; vliv na necílové organismy)
- Účinnost látky

Proces schvalování POR probíhá ve dvou fázích. Nejprve je hodnocena účinná látka a následně formulovaný přípravek. Výsledky všech provedených vědeckých testů účinné látky jsou přezkoumány Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA). Poté jsou všechny dokumenty předány stálému výboru Evropské komise pro potravinový řetězec a zdraví zvířat. Ten rozhoduje o schválení nebo zamítnutí konkrétní účinné látky. Pokud dojde ke schválení, formulovaný přípravek může být registrován v každém členském státě jednotlivě nebo v rámci geografických zón (severní, střední a jižní). Doba trvání od výzkumu po dodání přípravku na trh se pohybuje okolo deseti až jedenácti let (European Crop Protection 2013).

3.2.2. Modelové druhy a hodnocení rizik pesticidů

Součástí registrace POR je hodnocení rizik pesticidů na různé citlivé necílové organismy. Mezi modelové druhy používané k ekotoxikologickým studiím pesticidů patří (viz tabulku č. 1) ptáci, vodní organismy, včely, členovci, žížaly a necílové půdní mikroorganismy. Zpravidla se hodnotí akutní a chronická toxicita, zejména tedy účinky na mortalitu a vývoj druhu (Evropská komise 2011). Testy u konkrétních druhů se provádějí podle předepsaných postupů Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (OECD), Agentury pro ochranu životního prostředí (US EPA), Evropské a Středozevní organizace ochrany rostlin (EPPO), dokumentace Evropské unie a dalších patentovaných metod (Úřední věstník Evropské unie 2013). V budoucnosti by bylo vhodné zavést pro necílové organismy jako součást registrace pesticidních látek metody, které poskytují komplexní pohled na problematiku a dokáží ukázat mechanismus účinku. Takovými metodami jsou OMICs přístupy (Erban et al. 2016). Použitím protetických metod můžeme odhalit, zda nedochází ke změnám, které nejsou na první pohled patrné (Erban et al. 2016). Příkladem může být vysokokapacitní protetikou nedávno prokázaný odhalený mechanismus vlivu imidaklopridu a jeho metabolitů na mevalonátovou dráhu a syntézu mastných kyselin u čmeláků (Erban et al. 2019). Obecně pak lze sledovat změny v chování, dýchání, rozmnožování, biochemických procesech a dalších vnitřních mechanismech (Dutt & Lee 2000; Erban et al. 2016).

Tabulka č. 1: Modelové organismy při ekotoxikologických testech k registraci pesticidů (Evropská komise 2011)

| Skupina modelového organismu | Zkoumaná data | Parametr | Příklad používaného druhu |
|--------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| Ptáci | Akutní orální toxicita | LD ₅₀ , NOAEL | křepelka japonská (<i>Coturnix coturnix japonica</i>); |
| | Krátkodobá dietární toxicita Subchronická toxicita a reprodukce | LC ₅₀ NOEC | křepelka viržinská (<i>Colinus virginianus</i>); kachna divoká (<i>Anas platyrhynchos</i>) |
| Vodní organismy | | | |
| - Ryby | Akutní toxicita Chronická toxicita (juvenilní ryby, rané stádium ryb, během celého životního cyklu) Biokoncentrace | LC ₅₀ NOEC | pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>); teplomilný druh ryb |
| - Sladkovodní bezobratlí | Akutní toxicita Chronická toxicita | EC ₅₀ EC ₅₀ | hrotnatka <i>Daphnia</i> sp. (<i>Daphnia magna</i>); druh vodního hmyzu; druh vodního korýše (nepatřící do rodu <i>Daphnia</i>); druh vodního plže druh řas |
| - Růst řas | Účinky na růst řas | EC ₅₀ , NOEC | |
| - Organismy žijící v sedimentu | Účinky na přežití a vývoj | EC ₅₀ , NOEC | pakomár rodu <i>Chironomus</i> |
| - Vodní rostliny | Účinky herbicidů | | druh vodní rostliny |
| Včely | Akutní toxicita Krmná zkouška na včelím plodu | LD ₅₀ | včela medonosná (<i>Apis mellifera</i>) |
| Jiní členovci než včely | Vliv na mortalitu Subletální účinky | | dravý roztoč (<i>Typhlodromus pyri</i>); parasitická vosička (<i>Aphidius rhopalosiphii</i>) |
| Žížaly | Akutní toxicita Subletální účinky | LC ₅₀ NOEC | žížala hnojní (<i>Eisenia foetida</i>) |
| Necílové půdní organismy | Hodnocení dopadu účinné látky na aktivitu půdních organismů | | chvostoskok (<i>Folsomia candida</i>); roztoč (<i>Hypoaspis aculeifer</i>) |

3.2.3. Nejvýznamnější plodiny

Podle informací z roku 2015 rozloha zemědělské půdy zaujímala 4 862 647 440 ha, tedy 37,265 % z celkového zemského povrchu (World Bank 2018). Na přelomu roků 2017 a 2018 byly celosvětově nejpěstovanější skupinou plodin obilnin, které zaujímaly celkovou plochu 1 001,45 mil. ha s výnosem 2 615,4 milionů tun. Druhé v pořadí byly olejnin s rozlohou 244,8 milionů ha. Podle jednotlivých plodin (viz tabulku č. 2) byla nejpěstovanější pšenice s 220 mil. ha, poté kukuřice, rýže, sója, palma olejná a ječmen (USDA 2018).

V Česku patřily mezi nejpěstovanější plodiny (viz tabulku č. 3) pšenice, řepka olejka, ječmen a kukuřice. Pšenice ozimá a jarní byla pěstována na celkové rozloze 819 690 ha s výnosem 4 525 734,1 t (EAGRI 2018, ČSÚ 2019a).

Tabulka č. 2: Přehled nejpěstovanějších plodin ve světě v roce 2017/2018 (USDA 2018)

| Pořadí | Název plodiny | Plocha (mil. ha) | Celkový výnos (mil. t) |
|--------|------------------|------------------|------------------------|
| 1. | pšenice | 220 | 763,06 |
| 2. | kukuřice | 190,61 | 1 076,18 |
| 3. | rýže | 162,62 | 495,07 |
| 4. | sója | 124,69 | 339,47 |
| 5. | palma (olej) | 70,37 | 39,50 |
| 6. | ječmen | 48,07 | 144,01 |
| 7. | čirok | 40,13 | 57,82 |
| 8. | řepka olejka | 35,37 | 74,03 |
| 9. | bavlník | 33,56 | neuvedeno |
| 10. | bavlník (semena) | 32,91 | 45,13 |
| 11. | slunečnice | 25,98 | 47,41 |
| 12. | arašídy | 25,9 | 44,91 |
| 13. | oves | 9,51 | 23,41 |
| 14. | žito | 4,02 | 12,29 |

Tabulka č. 3: Přehled nejpěstovanějších plodin v Česku v roce 2017/2018 (EAGRI 2018; ČSÚ 2019a; ČSÚ 2019b; EAGRI 2019a)

| Pořadí | Název plodiny | Plocha (ha) | Celkový výnos (t) |
|--------|------------------------------|-------------|-------------------|
| 1. | pšenice | 819 690 | 4 525 734 |
| 2. | řepka olejka | 411 802 | 1 422 771 |
| 3. | ječmen | 324 724 | 1 618 833 |
| 4. | kukuřice (na zeleno a siláž) | 223 829 | 6 670 000* |
| 5. | kukuřice (na zrno) | 82 127 | 473 000* |
| 6. | vojtěška | 65 412 | 350 000* |
| 7. | cukrová řepa | 64 760 | 4 976 687 |
| 8. | jetel luční | 60 020 | 305 000* |
| 9. | oves | 42 821 | 166 246 |

* - přibližně

3.2.4. Cílové organismy

Pesticidy se nejvíce používají na regulaci organismů, mezi které patří zejména plevelné rostliny, houbové a bakteriální organismy a škůdci hmyzího původu. Podle FAO bylo v roce 2014 celkově použito 4 113 443,89 t účinných látek pesticidů (FAO 2018). Globálně nejpoužívanější skupinou pesticidů byly herbicidy z 25,10 % (hlavně amidy), fungicidy a baktericidy z 12,06 % (převážně anorganické látky) a insekticidy ze 7,5 % (nejvíce organofosfáty), zbylých 55,34 % tvořily ostatní nespecifické pesticidy (Zhang 2018). V Evropské unii bylo pořadí ve stejném roce trochu rozdílné. Mezi první skupinu patřily fungicidy a baktericidy ze 43,76 %, poté herbicidy z 31,15 % a insekticidy z 5,23 % (FAO 2017). V Česku (viz tabulku č. 4) byly dle statistik nejvíce používány herbicidy a desikanty ze 48,2 %, následované fungicidy z 27,49 %, zoocidy z 10,7 % a regulátory růstu z 8,67 %. Nejnáročnějšími plodinami z hlediska potřeby ochrany byly obilniny následované olejninami a kukuřicí. Nejpoužívanějšími účinnými látkami (viz tabulku č. 5) byly glyfosát, chlormekvát chlorid, chlorpyrifos, tebukonazol, prochloraz (EAGRI 2019b).

Tabulka č. 4: Spotřeba pesticidů v rámci jednotlivých skupin v Česku v roce 2014 (EAGRI 2019b)

| Pořadí | Skupina látek | Spotřeba účinné látky (t) | Rozložení v % |
|--------|-----------------------|---------------------------|---------------|
| 1. | herbicidy a desikanty | 6 334 | 48,20 |
| 2. | fungicidy | 3 611 | 27,49 |
| 3. | zoocidy | 1 405 | 10,70 |
| 4. | regulátory růstu | 1 138 | 8,67 |
| 5. | ostatní | 470 | 3,58 |
| 6. | rodenticidy | 179 | 1,37 |
| | celkem | 13 140 | 100 |

Tabulka č. 5: Spotřeba účinných látek v Česku v roce 2014 (EAGRI 2019b)

| Pořadí | Účinná látka | Použití | Spotřeba účinné látky (t) |
|--------|---------------------|-----------------|---------------------------|
| 1. | glyfosát | herbucid | 858 |
| 2. | chlormekvát chlorid | regulátor růstu | 552 |
| 3. | chlorpyrifos | insekticid | 179 |
| 4. | tebukonazol | fungicid | 171 |
| 5. | prochloraz | fungicid | 168 |
| 6. | metazachlor | herbucid | 152 |
| 7. | pethoxamid | herbucid | 133 |
| 8. | pendimethalin | herbucid | 113 |
| 9. | terbuthylazin | herbucid | 113 |
| 10. | síra | fungicid | 107 |
| 11. | chlortoluron | herbucid | 104 |

3.2.5. Řepka olejka ozimá (*Brassica napus* L. convar. *napus* forma *biennis*)

Řepka olejka patří v Česku a v Evropské unii k jedné z nejpěstovanějších olejnin (Eurostat 2018) a zároveň je dle statistik aktuálně druhá nejpěstovanější plodina v Česku (ČSÚ 2019a). V celosvětovém měřítku je řepka po sóje a palmě třetí nejpěstovanější olejninou s celkovou rozlohou 35,37 mil. ha a výnosem 74,03 mil. tun. Největšími producenty jsou Kanada, Čína a Indie. V Kanadě je řepka pěstována na přibližně 9,27 mil. ha. V porovnání s Kanadou má Evropská unie srovnatelnou produkci, kolem 20 mil. t (USDA 2018). Řepka se využívá v potravinářském průmyslu, a to zejména pro produkci oleje

a margarínu. Dále se dodává do krmných směsí, slouží jako bionafta, používá se do maziv, kosmetiky, vosků a plastických hmot. Pro zemědělce je poměrně zajímavou plodinou, neboť zvyšuje úrodnost půdy, je atraktivní pro včely a dodává organickou hmotu do půdy (Urban et al. 2014).

3.2.5.1. Chemická ošetření

Řepka olejka patří mezi nejvíce ošetřované plodiny chemickými látkami, a tak dohromady s její velkou výměrou v Česku, ale i globálně je její chemická ochrana významným tématem (Eurostat 2018; USDA 2018). Mezi chemická ošetření patří ochrana před škodlivými organismy, regulace růstu, ale také desikace porostu před sklizní (Bečka et al. 2007; Baranyk et al. 2007; Baranyk et al. 2010). Všechny tyto použité látky mohou negativně ovlivnit necílové organismy (Aktar 2009).

3.2.5.1.1. Regulace růstu

Regulátory růstu patří k jedné z používaných metod při pěstování řepky a v Česku se jich využívá až u 62 % ploch řepky. Používají se nejen k podpoře růstu, ale také k zabrzdění příliš narostlého porostu. Doba aplikace je na podzim ale i na jaře. V podzimním období aplikací regulátorů růstu rostlina především reaguje založením většího počtu listů, vytvořením mohutnějšího kořenového systému a tvorbou silnějších buněčných stěn. Na jaře se použitím regulátorů růstu dociluje výška porostu, zvýšení délky a počtu vyvinutých větví, čímž dochází ke zlepšení přístupu světla do nižších partií porostu, šesule jsou pevnější a dociluje se zlepšení schopnosti osychání po dešti (Baranyk et al. 2010). Mezi používané regulátory růstu patří např. mepikvát chlorid, chlormekvát, trinexapak-ethyl, natrium 4-nitrofenolát, natrium 2-nitrofenolát a natrium 5-nitroguajakolát (EAGRI 2019c).

3.2.5.1.2. Škodlivé organismy a přípravky na ochranu rostlin

Řepka olejka je poměrně náročnou plodinou na ochranu proti škodlivým organismům. Za dosti problematické škodlivé organismy v porostu řepky ozimé se považují plevelné rostliny (viz tabulku č. 6), a proto také mezi nepoužívanější prostředky na ochranu patří herbicidy (EAGRI 2019c). Používají se herbicidy, zejména (viz tabulku č. 7) glyfosát, metazachlor, pethoxamid a napropamid (EAGRI 2019c). Nejproblematictější plevelné rostliny v ozimé řepce jsou výdrol předpolodiny, svízel přítula, heřmánkovité plevele a další (Baranyk et al. 2010).

Tabulka č. 6: Spotřeba skupiny pesticidů u ozimé řepky olejky v Česku v roce 2017 (EAGRI 2019c)

| Pořadí | SKUPINA PESTICIDŮ | Spotřeba účinné látky (t) |
|--------|-------------------|---------------------------|
| 1. | herbicity | 617 |
| 2. | fungicidy | 212 |
| 3. | insekticidy | 134 |
| 4. | regulátory růstu | 33 |
| 5. | desikanty | 9 |
| 6. | moluskocidy | 8 |
| 7. | biopreparáty | 4 |
| 8. | rodenticidy | 1 |
| | celkem | 1 021 |

Tabulka č. 7: Největší spotřeba účinných látek u ozimé řepky olejky v Česku v roce 2017 (EAGRI 2019c)

| Pořadí | Název účinné látky | Skupina pesticidů | Spotřeba účinné látky (t) |
|--------|--------------------|-------------------|---------------------------|
| 1. | glyfosát | herbicide | 211 |
| 2. | metazachlor | herbicide | 159 |
| 3. | chlorpyrifos | insekticide | 92 |
| 4. | pethoxamid | herbicide | 85 |
| 5. | tebukonazol | fungicide | 70 |
| 6. | napropamid | herbicide | 28 |
| 7. | chinmerak | herbicide | 26 |
| 8. | thiofanát-methyl | fungicide | 24 |
| 9. | mepikvát chlorid | regulátor růstu | 24 |
| 10. | dimethachlor | herbicide | 24 |
| 11. | dimethenamid-P | herbicide | 22 |
| 12. | thiakloprid | insekticide | 22 |

Dalšími významnými škodlivými organismy řepky, proti kterým se používá velké množství POR, jsou houbové organismy (viz tabulku č. 6). Nejpoužívanějšími fungicidy jsou tebukonazol, thiofanát-methyl, prochloraz a azoxystrobin (EAGRI 2019c). V našich podmínkách se nejčastěji setkáváme s těmito houbovými chorobami: fómové černání stonků

řepky (*Leptosphaeria maculans*), sklerotiniová hniloba (*Sclerotinia sclerotiorum*), verticilové vadnutí (*Verticillium dahliae*, *Verticillium longisporum*), plíseň šedá (*Botryotinia fuckeliana*), a čerň řepková (*Alternaria brassicae*), (Bečka et al. 2007; Baranyk et al. 2007; Baranyk et al. 2010; EAGRI 2019d).

K živočišným škůdcům řepky patří zejména: plži (Gastropoda), dřepčík olejkový (*Psylliodes chrysocephala chrysocephala*), krytonosec zelný (*Ceutorhynchus pleurostigma*), osenice polní (*Agrotis segetum*), pilatka řepková (*Athalia rosae*), květílka zelná (*Delia radicum*), krytonosec řepkový (*Ceutorhynchus napi*), krytonosec čtyřzubý (*Ceutorhynchus pallidactylus*), blýskáček řepkový (*Meligethes aeneus*), krytonosec šesulový (*Ceutorhynchus obstrictus*), bejломorka kapustová (*Dasineura brassicae*) a mšice zelná (*Brevicoryne brassicae*), (Bečka et al. 2007; Baranyk et al. 2007; Baranyk et al. 2010; EAGRI 2019e). Nejpoužívanější insekticidy jsou na bázi účinných látek (viz tabulku č. 7) chlorpyrifos, thiakloprid, cypermethrin, malathion a acetamiprid (EAGRI 2019c).

3.2.5.1.3. Sklizeň a desikace

Řepka olejka kvete a dozrává nejednotně, proto je důležité zvolit správný termín sklizně. Další z možností jak omezit ztráty během sklizně, je využití regulace dozrávání, pozvolné desikace nebo razantní desikace k sjednocení dozrávání porostu. Využitím chemických přípravků dochází k umělému vysušení nadzemních částí rostliny několik týdnů před sklizní. Regulace dozrávání je šetrnější zásah v porovnání s desikací, využívá se u porostů nezaplevelených a nepoškozených škodlivými organismy (Baranyk et al. 2007). Přípravky vhodné pro regulaci dozrávání dostupné v Česku jsou karboxylovaný styren butadien kopolymer a polyvinylpyrrolidon (EAGRI 2019f). Desikace se používá u zaplevelených nebo poškozených porostů razantnějšími přípravky (Baranyk et al. 2007). Mezi používané desikanty patří dikvát (EAGRI 2019c). Dříve velmi používaný glyfosát byl k tomuto účelu od počátku roku 2019 v Evropské unii zakázán. Glyfosát se nesmí používat k desikaci u plodin k potravinovým účelům (European Commission 2019; EAGRI 2019g). Desikace před sklizní může vést k otravě opylovačů (Erban et al. 2017), především pokud jsou porosty řepky zaplevelené kvetoucími rostlinami. Příkladem může být violka trojbarevná (*Viola tricolor*), která je navštěvována včelou medonosnou (*Apis mellifera*), (Matušková & Erban 2013).

3.3. Necílové organismy

POR pomáhají eliminovat škodlivé organismy a patogeny. Mohou však také kontaminovat okolní prostředí - půdu, vodu, vzduch a další vegetaci, zejména pokud dojde k nesprávné aplikaci přípravku. Kontaminované prostředí působí negativně na celou řadu necílových organismů, mezi které patří lidé, savci, ptáci, ryby, užitečný hmyz, půdní organismy a necílové rostliny. Největším problémem je bioakumulace pesticidních látek v potravních řetězcích. Může přímo ovlivnit dravce přes konzumovanou potravu, která je kontaminována (Aktar 2009; Mahmood et al. 2016).

3.3.1. Ptáci

Populace ptáků od počátku konvenčního zemědělství silně poklesla. Jedním z hlavních příčin tohoto úpadku je používání pesticidních látek. V minulosti to byla především expozice insekticidem DDT a jeho metabolitů (Carson 1962; IARC 1991; Mahmood et al. 2016). V dnešní době mohou být ptáci ohroženi pesticidními látkami přímo (kontaminovaná potrava - namořená semena nebo kontaminovaná živočišná potrava; přímý kontakt při aplikaci), nebo nepřímo (nedostatkem živočišné potravy - pesticidní látky snižují populace žížal, hmyzu a hlodavců). Prostředky na ochranu rostlin mohou ovlivnit nervový systém, způsobit změny chování a zapříčinit smrt (Isenring 2010).

3.3.2. Vodní organismy

Voda kontaminovaná pesticidy představuje velkou hrozbu pro vodní formu života. Do vody se dostávají nepřímo (únikem při aplikaci, prosakováním přes půdu) anebo přímo (aplikace proti škodlivým organismům vyvíjejících se ve vodě – př. komáři). Můžou ovlivňovat vodní rostliny, snížit přístupnost kyslíku ve vodě a způsobit fyziologické změny v populacích ryb (Mahmood et al. 2016). Vysoce toxické pesticidy pro ryby jsou například chlorpyrifos, který způsobuje netečnost, morfologické deformace, změny v plavání a změny v aktivitě mozku (Deb & Das 2013) a glyfosát, který má vliv na plavání a dýchání (Liong et al. 1988).

3.3.3. Členovci

Populace užitečného hmyzu jako jsou brouci a opylovači, mohou výrazně poklesnout při použití širokospektrálních insekticidů, jako jsou organofosfáty, pyretridy a karbamáty (Mahmood et al. 2016). Mnoho druhů rostlin potřebuje k vlastní úspěšné reprodukci živočišné zástupce tzv. opylovače, kteří zahrnují velké množství zástupců divokých včel, včel

samotářek, zdomácnělých včel a čmeláků. Některé plodiny pěstované člověkem (řepka olejka, tolíce vojtěška, jetele, ovoce, zelenina) a převaha divokých rostlin se bez tohoto druhu rozmnožování nedokáže obejít (McGregor 1976). Proto klesající počty opylovačů mohou vést k úbytku rostlinných druhů a tedy i k poklesu důležitých potravin pro člověka a chovaná zvířata (Kearns & Inouye 1997). Mezi faktory, které podporují snížení počtu opylovačů, patří ztráta a fragmentace biotopů, agrotechnické metody, nemoci, predátoři, invazivní druhy a další (Kluser & Peduzzi 2007). Negativní vlivy na chování včel a čmeláků mají zejména neonicotinoidy, které ovlivňují paměť, schopnost učení, sběr pylu a komunikaci (Tison 2016; Stanley et al. 2015; Erban et al. 2019).

3.3.4. Necílové půdní organismy

Škola V. V. Dokučejeva definuje půdu takto: „Půda je svrchní, zvětralá vrstva zemské kůry, pozměněná klimatickými a chemickými vlivy a činností organismů. Je to komplikovaný oživený systém (biologický útvar) se specifickými znaky a vlastnostmi.“ (Rusek 2000a). Půda je půdou pouze tehdy, pokud se zde nacházejí živé organismy, rostliny a jejich kořeny, protože bez těchto činitelů žádná půda nemůže nikdy vzniknout. V nepřítomnosti se může pouze vytvořit minerální substrát tzv. regolit, který můžeme nalézt třeba na Měsíci (Rusek 2000a). Výskyt jednotlivých druhů organismů v půdě podmiňují faktory jako je teplota, voda, chemické složení půdního roztoku, agrotechnická opatření, znečištění chemikáliemi (pesticidy, hnojiva) a těžkými kovy (Rusek 2000c,d).

Průměrné rozložení půdy (Rusek 2000a):

- 94% minerální část
- 6% organická hmota
 - 85% - mrtvá frakce
 - 8,5% - živé rostlinné kořeny
 - 6,5% - edafon
 - 50% bakterie + aktinomycety
 - 25% houby
 - 25% další zooedafon

Rozdělení edafonu (Rusek 2000a):

- Fytoedafon – bakterie, aktinomycety, houby a řasy
- Zooedafon – prvoci, bezobratlí, obratlovci

Aplikované POR se dostávají ve velké míře do půdy, kde mohou být převzaty rostlinami, půdními koloidy nebo půdními organismy (van der Werf 1996). Jelikož se ve vrchní vrstvě půdy (5 – 10 cm) nachází 95% všech půdních organismů (Rusek 2000a), je velice pravděpodobné, že budou ovlivněny aplikovanými látkami. Půda sama o sobě nedokáže rozložit každou škodlivou látku, která se do půdy dostane. Chemická zátěž ovlivňuje edafon buďto přímo přes půdní vodu nebo nepřímo přes potravní zdroje (Rusek 2000c). Půdní mikrobiota zaujímá nejhojnější skupinu organismů na Zemi. Do této skupiny patří bakterie, půdní houby a řasy. V půdě mají mnoho funkcí: pomáhají v procesech dekompozice, jsou součástí koloběhu biogenních prvků, slouží jako potrava pro ostatní půdní živočichy a některé z nich dokáží vyvolat onemocnění rostlin a fytopatogenních organismů (Rusek 2000b). Například bylo prokázáno, že některé fungicidy narušují procesy nitrifikačních a denitrifikačních bakterií (Pell et al. 1998), herbicid glyfosát ovlivňuje růst a aktivitu některých bakterií (Santos & Flores 1995) a herbicidy chlorothalonil a propikonazol způsobují zastavení růstu mykorrhizních hub (Laatikainen & Heinonen-Tanski 2002). Velmi citlivými půdními organismy k pesticidním látkám jsou také žížaly, u kterých způsobují fyziologické poruchy (Schreck et al. 2008).

3.3.4.1. Chvostoscoci (Collembola)

Třída chvostoscoci (Collembola) patří do kmene členovci (Arthropoda) a podkmene vzdušnicovci (Diplopoda). Jsou to drobní členovci, kteří mají v průměru kolem 1 – 2 mm (Kazda et al. 2010). V současnosti je přibližně 8800 popsanych druhů po celém světě (Bellinger et al. 2018). Chvostoscoci jsou jedni z nejpočetnějších půdních organismů na Zemi. Mnoho z těchto druhů se živí pozůstatky listů, půdními houbami a plísněmi. Přispívají k fragmentaci mrtvého organického materiálu a tím stimulují cyklus živin a degradaci dalšími mikroorganismy (Seastedt 1984). Nalezneme je v rozmanitých oblastech. Vyskytují se v půdním prostředí od pobřežních oblastí, přes horské vrcholy až po tropické deštné pralesy (Fountain & Hopkin 2005). Mají šestičlenný zadeček, žvýkáci nebo bodavě savé ústní ústrojí, 4 – 6 členná tykadla a druhotně nepárové abdominální přívěsky (Novák et al. 1959).

Někteří půdní živočichové jsou přizpůsobeni k přežití záplav půdy morfologickými zvláštnostmi. Jednou z nich je plastrón – což je nesmáčitelná oblast na povrchu těla pokrytá jemnými chloupky. Chvostoscoci mají obdobu plastrónu – delší chloupky na povrchu těla zadržují vzduchovou bublinu. Ztráty mezo a makrofauny při záplavách půdy bez dostatku

kyslíku, se dokáží vyšplhat až k 90 %. Během suchého období u chvostoskoků probíhá anhydrobióza – dochází ke ztrátě velkého procenta vody a panožky se zasouvají do tělního pancíře. V tomto stavu dokáží přežít i několik let (Rusek 2000c).

3.3.4.1.1. *Folsomia candida*

Taxonomické zařazení (*Folsomia candida* Willem, 1902):

Kmen: Arthropoda (členovci)

Podkmen: Hexapoda (šestinozí)

Třída: Entognatha (skytočelistní)

Řád: Collembola (chvostoskoci)

Podřád: Entomobryomorpha (huňatky)

Nadčeleď: Isotomidea

Čeleď: Isotomidae (poskokoví)

Podčeleď: Proisotominae

Rod: *Folsomia*

Folsomia candida je standardním modelovým laboratorním organismem již více než padesát let. Je považován za necílový organismus, který je citlivý na znečištění. Z tohoto důvodu se na tomto organismu nejčastěji testuje vliv používaných pesticidů a polutantů (Fountain & Hopkin 2005).

Zástupci rodu *Folsomia* mají tělo složené z hlavičky (cephalon), hrudi (thorax) a zadečku (abdomen). Na konci zadečku mají velmi dobře vyvinutou skákací vidličku (furca). Hrudní část je složena ze tří spojených článků a na každém z nich se nachází pár končetin. Zadeček má dohromady šest částí. V dospělosti dosahuje jedinec délky od 1,5 do 3 mm. Jejich barva těla je bílá až jemně do žluta. Na tykadlech se nachází smyslový orgán, který zaznamenává přítomnost chemikálií ve vzduchu. I přestože chvostoskoci nemají oči (Fountain & Hopkin 2005), dokáží detekovat ultrafialové a bílé světlo, kterým se snaží vyhýbat ve prospěch tmavých prostorů. Předpokládá se, že detekci světla zajišťují ne-oční interní fotoreceptory nebo jiné fotosenzitivní struktury (Fox et al. 2007). Na prvním břišním článku se nachází břišní trubice, která vyměňuje tekutiny s vnějším prostředím. *F. candida* se od ostatních druhů liší především velkým množstvím silných sít na skákací vidličce (Fountain & Hopkin 2005).

Folsomia candida je považována za druh, který je tvořen výhradně ze samičího pohlaví a rozmnožuje se pomocí partenogeneze (Hopkin 1997). Objevily se i některé náznaky, že samci tohoto druhu mohou existovat (Fрати et al. 2004). V článku z roku 2009

bylo potvrzeno, že samci existují, jsou však velmi zřídka k nalezení – jsou menšího vzrůstu a dosahují délky kolem 1,25 mm. Bylo pozorováno, že na jednu samici osmého až desátého instaru, která naklade 10 000 potomků, připadá jeden samec. Pro starší instary pak platí, že se samec objeví, když samice naklade 1000 potomků (Krogh 2009). Řadu reprodukčních zvláštností u různých druhů členovců způsobuje velmi rozšířený bakteriální symbiont *Wolbachia* sp. (Werren et al. 1995; Bourtzis & O'Neill 1998). Jedním z nich je i *F. candida*, u kterého byla tato bakterie detekována nejen v tkáních vaječníků ale také mozku (Czarnetzki & Tebbe 2004).

Byl proveden pokus s antibiotiky, aby se prokázalo, jak daná bakterie ovlivňuje rozmnožování u druhu *F. candida*. Bylo zjištěno, že po aplikaci rifampicinu, kdy v těle došlo k úplnému vyhubení bakterie *Wolbachia*, *F. candida* kladla sterilní vajíčka. Z toho lze vyvodit, že bakterie nehraje roli v oogenezi, jak se předpokládalo, ale má důležitou úlohu v indukci reprodukce (Pike & Kingcombe 2009).

Bylo nalezeno celkem dvanáct instarů tohoto druhu (Krogh 2009). Při 20° C za 21 až 24 dní se vajíčko vyvine do šestého instaru – tedy pohlavně vyspělého dospěléce. Jedna samice naklade kolem 30 až 50 vajíček najednou. Aby se vajíčko vylíhlo, trvá mu to přibližně 7 až 10 dní. Vajíčka jsou bílá kulovitá a mají něco kolem 80 - 100 μm (Fountain & Hopkin 2005).

3.3.4.1.2. Pokyny OECD k testům reprodukce chvostoskoků v půdě

Metodika vydaná OECD je používána při registraci pesticidů v Evropské unii (Úřední věstník Evropské unie 2013). Popisuje postup testu chemické látky na chvostoskoky žijící v půdě. K pokusům má být připravena modifikovaná půda s konkrétními obsahy rašeliny, kaolinu, písku, uhličitanu vápenatého a dalšími složkami přesně definovanými. Po přípravě půdy má být naváženo 30 g suché půdy do nádob ze skla nebo plastu. Chemická látka se zpravidla připravuje ve dvanácti koncentracích a alespoň ve dvou opakováních společně s kontrolou, která by měla mít alespoň šest opakování. Lze použít čtyři metody aplikace chemické látky do půdy: 1) smíchání s vodou; 2) smíchání s organickým rozpouštědlem; 3) smíchání s pískem, nebo 4) aplikace chemické látky na povrch půdy. Podmínky pokusu by měly být: teplota v rozmezí 20 ± 1° C, nastavení světla a tmy v poměru 16:8 h. Do každé nádoby by mělo být přidáno 10 samiček druhu *Folsomia candida*, které jsou 9 až 12 dní staré. Potrava v podobě kvasnic (2 – 10 mg) se přidává na počátku pokusu a během druhého týdne. Na konci pokusu jsou chvostoskoci vyplaveni z půdy a spočítáni.

Následně se zjišťují hodnoty NOEC/LOEC, LC₅₀ a EC₅₀ pomocí počítačových programů (OECD 2009).

3.3.4.1.3. Laboratorní experimenty s imidaklopridem a thiaklopridem

Několik studií se zabývalo vlivem imidaklopridu na úmrtnost *Folsomia candida*. Některé hodnoty LC₅₀ a NOEC uvedené v literatuře se mezi sebou velmi významně liší (viz tabulku č. 8). Lze je vysvětlit pomocí rozdílných podmínek použitých během pokusů. K těmto faktorům patří délka pokusu, jiný typ půdy, rozdílné podmínky pokusu (teplota, světlo) a použitím komerční formulace na místo účinné látky (Idinger 2002; EFSA 2008; Reynolds 2008; Alves et al. 2014; van Gestel et al. 2017). Ze dvou studií vyplývá, že formulace Confidor byla více toxická v porovnání s účinnou látkou ostatních studií (Idinger 2002; EFSA 2008). Thiakloprid byl zkoumán ve dvou studiích, které došly k velmi podobným hodnotám LC₅₀ a EC₅₀ (viz tabulku č. 8). Byly výrazně vyšší než u účinné látky imidakloprid (Akeju 2014; van Gestel et al. 2017).

Třigenerační vliv účinných látek imidaklopridu a thiaklopridu prokázal, že imidakloprid byl k chvostoskokům více toxický. Účinky imidaklopridu byly u všech generací perzistentní, zatímco u thiaklopridu byl nalezen potenciál pro obnovu populace chvostoskoků v dalších generacích (van Gestel et al. 2017).

Tabulka č. 8: Vypočítané hodnoty LC₅₀, EC₅₀ a NOEC při aplikaci imidaklopridu a thiaklopridu na chvostoskoky *Folsomia candida* v rámci různých studií

| Imidakloprid | LC₅₀ | EC₅₀ | NOEC |
|------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|
| EFSA 2008 | - | - | 1,25 mg/kg s. p. |
| Reynolds 2008 | 1,38 mg/kg s. p. | 0,598 mg/kg s. p. | - |
| van Gestel et al. 2017 | 0,21 – 0,44 mg/kg s. p. | 0,14 – 0,29 mg/kg s. p. | 0,1 mg/kg s. p. |
| Gaucho 600 FS | LC₅₀ | EC₅₀ | NOEC |
| Alves et al. 2014 | 20,96 mg/kg s. p. | - | 10 mg/kg s. p. |
| Confidor | LC₅₀ | EC₅₀ | NOEC |
| Idinger 2002 (WG 70) | 0,11 – 2,6 mg/kg s. p. | 0,15 mg/kg s. p. | 0,1 mg/kg s. p. |
| EFSA 2008 (SL 200) | - | - | 0,32 mg/kg s. p. |
| Thiakloprid | LC₅₀ | EC₅₀ | NOEC |
| van Gestel et al. 2017 | 3,3 – 9 mg/kg s. p. | 1,5 – 3,3 mg/kg s. p. | 0,1 – 3,3 mg/kg s. p. |
| Akeju 2014 | 4,38 mg/kg s. p. | 2,13 mg/kg s. p. | 2,1 mg/kg s. p. |

s. p. – suché půdy

3.3.5. Rostliny

Také rostliny patří mezi necílové organismy. Rezidua pesticidů a jejich metabolity se mohou uvolňovat do okolí z opadaných listů, které byly ošetřeny POR, i po mnoha letech

od aplikace (Benton et al. 2015). Významným problémem jsou rezidua pesticidů v půdě, která negativně ovlivňují následné plodiny, a to zejména jejich klíčení a růst. Mezi problematické herbicidy patří ALS inhibitory (inhibitory acetolaktát syntetázy), triainy, triazinony a pyridin-karboxylové kyseliny (Jursík & Soukup 2019). Citlivou plodinou k ALS inhibitorům je řepka olejka, především k herbicidům ze skupiny sulfonylmočovin, které se používají v obilninách (Baranyk et al. 2007). Některé herbicidy aplikované v blízkosti přírodní vegetace mohou poškodit necílové rostliny různými způsoby, příkladem jsou typická poškození: kroucení, žloutnutí, nekrózy listů, celkové odumření rostliny a opožděné kvetení. To představuje zvláštní hrozbu pro ohrožené druhy rostlin (Boutin et al. 2014). Z některých studií vyplývá, že insekticidy, které nepřímo ovlivňují výnos plodin tím, že redukuje herbivorní škůdce, ovlivňují i fyziologické procesy samotných rostlin. Bylo sledováno, že neonikotinoidy imidakloprid a thiamethoxam významně ovlivnily transkriptom sóji. Byly potlačeny geny, které slouží k obraně rostlin před patogeny a škůdci. Dále došlo k pozměnění hormonů růstu rostliny (Wulff et al. 2019).

3.4. Ekologické důsledky chemické ochrany rostlin

3.4.1. Klady a zápory

Zavedení používání pesticidů pro ochranu rostlin pomohlo zvýšit výnos plodin, zjednodušilo systém sklizně a umožnilo odstoupení od složitých metod ochrany rostlin. Na druhé straně, ale závislost na chemické kontrole přinesla nežádoucí účinky na životní prostředí a zdraví živých organismů. Nadměrné a opakované používání pesticidů se stejnou účinnou látkou přináší další problém spojený s rezistencí škůdců, patogenů a plevelných rostlin (Barzman et al. 2015). Budoucnost rostlinné výroby není jen ohrožena rozšiřující se odolností vůči pesticidům, ale i poklesem dostupnosti účinných látek. Mnoho účinných látek z trhu mizí a jen málo nových je k dispozici. Mezi lety 2001 a 2009 pokleslo množství dostupných účinných látek z 1000 na 250 a tento trend neustále klesá (Jensen 2017).

3.4.2. Zakázané pesticidy

V Evropské unii bylo v roce 2019 z dostupných 1383 účinných látek pouze 483 povoleno a 843 neschváleno k používání. Nejvíce neschválených látek patří do skupiny herbicidů, insekticidů a fungicidů (European Commission 2016a). Některé látky zakázané v Evropské unii se stále využívají v jiných zemích světa. Příkladem může být herbicid acetochlor (European Commission 2016b), který je v Severní Americe povolen (NPIC

Product Research Online 2019) nebo neonikotinoidy s omezeným použitím v Evropské unii pouze ve sklenících - imidakloprid (European Commission 2016c) a thiamethoxam (European Commission 2016d), které jsou v zemích mimo EU a např. v Severní Americe povolené (NPIC Product Research Online 2019).

3.4.2.1. DDT

První široce používaný syntetický pesticid DDT, známý pod systematickým názvem 1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan byl poprvé vyroben již v roce 1874 a až později v roce 1939 byly v Basileji objeveny jeho insekticidní vlastnosti. Tento pesticid se používal ve vysokých dávkách již během druhé světové války – hlavně proti vším a komárům, později od roku 1945 v domácnostech a v zemědělství (West & Campbell 1946). Při tak vysokých dávkách se k této látce poměrně rychle vytvořila rezistence některých druhů škůdců – příkladem může být moucha domácí (*Musca domestica*) ve Švédsku (Wiesmann 1947). Jedna z prvních zmínek o negativních vlivech DDT na lidské zdraví, byla publikována v Britském lékařském časopisu již v roce 1945 (Wigglesworth 1945). Ale až po vydání knihy *Mlčící jaro* (Carson 1962) se mezi lidmi zvedla vlna obav o lidské zdraví a životní prostředí (Graham 1970). Bylo zjištěno, že DDT negativně ovlivňuje nejen hmyz, ale také další organismy, jako jsou ryby, ptáci a lidé (Carson 1962; IARC 1991). Tato látka je perzistentní, proto se pomalu rozkládá nejen uvnitř živých organismů, ale také v prostředí (IARC 1991). Jelikož je DDT silně lipofilní, kumuluje se uvnitř živých organismů nejen při aplikaci pesticidu, ale také přes potravní řetězec (Woodwell et al. 1967; Macek & Korn 1970). I v dnešní době můžeme nalézt rezidua této látky na místech, kde se tento pesticid aplikoval před více než čtyřiceti lety (Zádorová et al. 2013). Proto po roce 1970, kdy proběhli velké protesty na Den Země v Americe (Rome 2010), ve většině rozvinutých zemí bylo použití DDT omezeno nebo úplně zakázáno (US EPA 1972). Přestože DDT přineslo mnoho problémů, pomohlo zachránit mnoho životů redukcí přenašečů původce malárie v Africe (Attaran et al. 2000).

3.4.3. V současnosti velmi diskutované pesticidy

3.4.3.1. Neonikotinoidy

Neonikotinoidy jsou neurotoxické systémové insekticidy, které jsou absorbovány prostřednictvím listů nebo kořenů rostlin a následně jsou rozváděny do všech rostlinných tkání. V posledních letech bylo zaznamenáno několik zpráv, které dokumentují podstatné obavy ohledně používání neonikotinoidních pesticidů v důsledku jejich perzistence

v životním prostředí a škodlivých účinků na užitečný, necílový hmyz (Krupke et al. 2012). Tato skupina má společný způsob působení: napodobuje působení neurálních vysílačů ovlivňujících centrální nervový systém, což má za následek paralýzu a smrt hmyzu (Shivanandappa et al. 2014). Mnoho laboratorních pokusů popisuje negativní vlivy na chování včel a čmeláků po aplikaci smrtících a subletálních dávek. Bylo sledováno, že neonikotinoidy ovlivňují paměť, schopnost učení a sběr pylu (Tison 2016; Stanley et al. 2015). Naproti tomu je problematické sledovat jejich vliv v polních pokusech (Blacquièere et al. 2012).

Neonikotinoidní pesticidy lze rozdělit do tří hlavních tříd: chlorpyridinylové sloučeniny (imidaklopid, nitenpyram, acetamiprid, thiaklopid), chlorthiazolylové sloučeniny (thiamethoxam, klothianidin) a tetrahydrofurylové sloučeniny (dinotefuran). Použití neonikotinoidů se neustále zvyšuje kvůli jejich jedinečnému způsobu působení a nízké hladině rezistence mezi hmyzími škůdci. Tyto pesticidy jsou vysoce účinné proti hmyzím škůdcům s bodavě savým a kousacím ústrojím, jako jsou mšice a brouci. Ukázalo se, že ošetření osiva těmito pesticidy je velmi účinnou strategií ochrany rostlin, která vede nejen k vyšší účinnosti ochrany, ale také ke snížení pracovní síly a nákladů pro pěstitele (Jeschke et al. 2010). Při použití neonikotinoidů k ošetření osiva je plodina schopná pohltnout pouze 1,6% až 20% účinné látky k ochraně před cílovými škůdci. Zbytek znečišťuje okolní prostředí a způsobuje nepříznivé účinky na půdní organismy, jako jsou bakterie, houby, žížaly, obojživelníci, vodní hmyz a další (Goulson 2013).

Stabilita neonikotinoidů se značně liší v závislosti na podmínkách prostředí. Různé faktory prostředí, jako je pH, teplota, vlhkost, obsah organické hmoty a struktura půdy, ovlivňují degradaci těchto pesticidů. Navíc povaha pesticidu, počáteční koncentrace a typ formulace také mají vliv na perzistenci pesticidů v životním prostředí. Mezi neonikotinoidní skupinou pesticidů jsou imidaklopid a klothianidin extrémně perzistentní s poločasem rozpadu 3000 až 6931 dní v půdě (Goulson 2013). Některé studie rovněž ukázaly, že zvýšená biotransformace těchto pesticidů může být dosažena určitými mikrobiálními populacemi za optimalizovaných podmínek prostředí (Hussain et al. 2016). Významný výzkum identifikace neonikotinoidních bakteriálních kmenů a identifikace genů a enzymů odpovědných za dekontaminaci neonikotinoidů je zapotřebí pro pochopení mikrobiálních cest degradace. Bakteriální biodegradace může být rozdělena do dvou kategorií: katabolická, přičemž neonikotinoid poskytuje jediný zdroj uhlíku nebo dusíku pro růst,

nebo kometabolická, přičemž biodegradace závisí na doplnění dalšími zdroji uhlíku a/nebo dusíku (Hussain et al. 2009). Bylo zjištěno, že více než 13 různých čistých bakteriálních kultur je schopno degradovat nejvíce studovanou neonikotinoidní pesticidní látku imidakloprid. Nejrychlejší bakteriální biologická degradace imidaklopridu v kapalně kultuře nebo v půdní suspenzi byla zaznamenána u čisté bakteriální kultury *Pseudoxanthomonas indica* (Ma et al. 2014). Některé metabolity neonikotinoidů jsou toxičtější a perzistentnější než původní pesticidy. U imidaklopridu je to například metabolit olefin, který může být až desetkrát toxičtější pro hmyz (Nauen et al. 1999).

3.4.3.2. Glyfosát

V posledních letech je zejména vědeckou společností velmi prověřována látka glyfosát. Glyfosát (N-(fosfonomethyl)glycin) je účinná látka více než sedmi set padesáti širokospektrálních herbicidů – jako je Roundup, Dominator a Gladiator. Herbicidy na bázi glyfosátu patří mezi jedny z nejpoužívanějších, a to nejen v zemědělství, ale také ve městech, v okolí silnic, v domácnostech a v lesnictví (Guyton et al. 2015). Od roku 1996 je glyfosát spojován s geneticky modifikovanými plodinami, které jsou navrženy tak, aby byly schopné tolerovat tuto účinnou látku během cílené eradikace plevelných druhů na polích během kultivace (Shah et al. 1993). Používá se také během desikace před sklizní čiroku, pšenice, řepky a dalších plodin (Bovey et al. 1975).

Mechanismus účinku glyfosátu spočívá v inhibici enzymu enolpyruvylshikimát 3-fosfát syntetázy (EPSPS). Touto inhibicí dojde k zabránění biosyntézy aromatických aminokyselin a dalších sekundárních metabolitů v rostlinách a některých mikroorganismech. EPSPS katalyzuje reakci mezi fosfoenolpyruvátem (PEP) a shikimát 3-fosfátem (S3P). Glyfosát blokuje místo vazby PEP, rostlina má nedostatek bílkovin a následkem toho hyne (Boocock & Coggins 1983).

Enzymy EPSPS se v různých organismech liší, a to v molekulové hmotnosti a v sekvenční homologii – celkem rozeznáváme dvě třídy, které mají různou toleranci vůči glyfosátu. Enzymy I. třídy jsou citlivé na glyfosát a jsou přítomny ve všech rostlinách a v některých bakteriích (*Escherichia coli*). Enzymy II. třídy se vyskytují pouze u některých bakterií (*Staphylococcus aureus*), které mohou tolerovat až vysoké koncentrace glyfosátu (Kishore et al. 1988).

Obratlovci postrádají šikimátovou cestu, a proto je glyfosát považován za jeden z nejméně toxických pesticidů používaných v zemědělství (Duke et al. 2003; Williams et al. 2012). Některé studie však naznačují, že glyfosát negativně ovlivňuje necílové organismy, a to převážně v kombinaci s dalšími látkami přítomnými ve formulacích pesticidu – jako je adjuvant POEA. U něho byla zjištěna daleko větší toxicita než u samotného glyfosátu (Defarge et al. 2016). Mezi tyto necílové organismy patří mikro řasy a vodní mikroorganismy (Goldsborough et al. 1988; Tsui & Chu 2003), půdní mikroorganismy (Newman et al. 2016), ale také včely (Balbuena et al. 2015; Motta et al. 2018), žížaly (Gaupp-Berghausen et al. 2015) a chvostokoci (Simões et al. 2018).

Agentura pro ochranu životního prostředí USA (US EPA) došla po důkladném přezkoumání mnoha studií k závěrům, že s ohledem na nízkou akutní toxicitu glyfosátu jsou rizika spojená s konzumací potravin u člověka minimální. Stejně tak u pracovníků, kteří by přišli do kontaktu s glyfosátem při míchání produktu – v takovém případě může dojít pouze k očním a kožním poraněním. Proto se doporučuje používat při práci s glyfosátem ochranné pomůcky (US EPA 1993). Stejně tak další studie a vědecké články neprokázaly při používaných dávkách glyfosátu, zásadní rizika vůči lidskému zdraví, zejména ke karcinogenitě (Williams et al. 2000; EC 2002; Mink et al. 2011; Greim et al. 2015). Přesto ale Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) v roce 2015 překlasifikovala glyfosát do skupiny 2A, tj. jedná se o látky pravděpodobně karcinogenní pro člověka. Překlasifikování proběhlo na základě několika studií – u pracovníků, na hlodavcích a na lidských buňkách. Existují indicie o tom, že expozice glyfosátu nebo přípravkům na bázi glyfosátu jsou genotoxické – způsobují poškození chromozomů v krevních buňkách a oxidativní stres (Paz-y-Miño et al. 2007; Kwiatkowska et al. 2014; Guyton et al. 2015; IARC 2017).

Použití těchto pesticidů se, po uvedení na trh v roce 1974, zvýšilo exponenciálně. Aplikace proti plevelům na polích a do geneticky modifikovaných plodin má za následek zvýšení reziduí glyfosátu a jeho primárního metabolitu AMPA nejen v plodinách při sklizni (Tadeo et al. 2000; Arregui et al. 2003), ale také ve zpracovávaných potravinách (Zoller et al. 2018), ve vodě, v půdě (Miles et al. 1988; Aparicio et al. 2013) a v dalších organismech (Krüger et al. 2014). Rozšiřuje se také rezistence některých plevelů k této účinné látce (Lorraine-Colwill et al. 1999; Powles 2014). Recentní studie ukazuje na odlišné chování glyfosátu a AMPA v půdě v závislosti na vlhkosti půdy, což je důležité pro vysvětlení rychlosti degradace (Erban et al. 2018).

3.5. Jak eliminovat používání chemických prostředků na ochranu rostlin

3.5.1. Integrované zemědělství

Jednou z možností, jak snížit používání POR je integrované zemědělství, které ve svém programu zahrnuje integrovanou ochranu rostlin. Základním předpokladem je zhodnocení všech dostupných metod ochrany rostlin a zvolení takové, která je ekonomicky a ekologicky opodstatněná – tedy tento systém se snaží snížit a minimalizovat rizika pro životní prostředí a lidské zdraví a zároveň podporovat ziskovost a udržitelnost. Tam, kde je to možné, podporuje přírodní mechanismy ochrany proti škůdcům a patogenům – jako je biologická ochrana. Tento systém podporuje vidinu, že pokud je plodina dobře pěstovaná v rámci vhodného osevního postupu, měla by být konkurenceschopnější proti plevelům, odolnější vůči napadení škůdci a patogeny a zároveň by měla vyžadovat méně intervencí (EISA 2012; Rana & Chopra 2013).

Hlavními body tohoto systému jsou (EISA 2012):

- Postupy během ochrany rostlin
 - Zvolení vhodného plánu ochrany rostlin
 - pochopení všech interakcí mezi plodinami, škůdci, patogeny a vnějším prostředím
 - následné rozhodnutí o potřebných krocích k pěstování dané plodiny (př.: výběr vysoce kvalitních odrůd odolných/tolerantních ke škůdcům nebo patogenům; vhodný pěstební systém plodin na jedné lokalitě)
 - Strategie k zabránění rezistence škůdců a patogenů k pesticidům
 - Dovednosti pěstitele v identifikaci škůdců, nemocí a plevelů
 - Ochota pěstitele zlepšovat ochranu rostlin
 - Ochrana užitečných druhů a podpora biodiverzity
 - Dodržování IOR
- Proces rozhodování
 - Zhodnocení vlivu všech metod ochrany rostlin na životní prostředí
 - Odůvodnitelnost zvolených opatření na ochranu rostlin
 - Nechemická ochrana jako první volba
 - Stanovení konkrétní metody, dávky a načasování aplikace
 - Minimalizace nežádoucích účinků zvolené metody

- Postupy související s ochranou rostlin
 - Dodržování předepsaných dávek pesticidů a maximálních limitů reziduí
 - Kontrola aplikačních zařízení na ochranu rostlin
 - Správná skladovatelnost prostředků na ochranu rostlin
 - Ochrana životního prostředí během míchání a plnění produktů na ochranu rostlin
 - Sledování ochranné lhůty
 - Použití produktů na ochranu rostlin pouze tam, kde jsou potřeba
 - Posklizňová ochrana pouze pokud je třeba
 - Skladování a likvidace prázdných obalů, zbytku prostředků na ochranu rostlin
 - Správné vymytí aplikačních strojů

- Zhodnocení ochrany rostlin
 - Posouzení výsledků daných opatření na ochranu rostlin
 - Vytvoření nového plánu na ochranu rostlin pro další rok

3.5.2. Rezistentní odrůdy

Využitím standardně vyšlechtěných rezistentních odrůd ke konkrétním škodlivým činitelům (hmyzí škůdci, houbové organismy, bakterie, viry a další), můžeme zredukovat množství použitých pesticidních látek (Robinson 1996; Birch et al. 2011). Nevýhody daných odolných odrůd oproti těm náchylným bývají: menší potenciální výnos během příznivých podmínek, rozdílné složení látek produktu, které ovlivňují chuť při konzumaci, časová náročnost na vyšlechtění, náchylnost k jinému škodlivému organismu a poměrně krátkodobá účinnost odolnosti (Russell 1978; Fehr 1991; My Agriculture Information Bank 2015). Některé z nevýhod mohou být překonány genetickým inženýrstvím při tvorbě geneticky modifikovaných organismů (Ulukan 2009), které jsou v evropském prostředí odsuzovanou alternativou ke klasickému šlechtění (Raman 2017).

3.5.3. Systém hospodaření "Pasture cropping"

Jednou z možností, jak snížit používání prostředků na ochranu rostlin, je systém, který byl vyvinut v Austrálii Colinem Seisem pod názvem "Pasture cropping". Princip této metody spočívá ve vysévání plodin do trvalých, přirozených pastvin, které v danou chvíli procházejí dormancí. Polní plodiny tedy rostou symbioticky s vytrvalými lučnými rostlinami a povrch pole je celoročně pokryt rostlinnou biomasou (Seis 2006a; Seis 2006b; Tallman 2012).

Aby systém mohl fungovat, je nezbytné najít takové přirozené vytrvalé rostliny, které budou dobře doplňovat danou polní plodinu na konkrétní lokalitě – sezonou růstu, neovlivňovat negativně výnos hlavní plodiny a nezpůsobovat další problémy, které by mohly nastat při jejich nevhodné kombinaci (Seis 2006a).

V době, kdy se na poli nachází přirozená vegetace, dobytek (ovce, skot) zajišťuje jejich spásání. Důležité je ale najít rovnováhu mezi počtem dobytka a délkou spásání na jedné lokalitě. Rostliny jsou spásány pouze do takové délky, aby měly dostatečně silný kořenový systém na regeneraci. Dobytek nejen přináší na pole potřebné živiny v podobě výkalů, ale také stimuluje růst rostlin a půdních mikroorganismů (Seis 2006a; Seis 2006b; Tallman 2012).

Tento systém oproti konvenčnímu zemědělství podporuje biodiverzitu – zástupce hmyzu, členovců, obratlovců a různých mikroorganismů (Hendrix 1990; Seis 2006a; Seis 2006b). Zvýšení biodiverzity zajišťuje nižší tlak škodlivých organismů rostlin, které jsou eliminovány přirozenými nepřáteli (Ives et al. 2000; Wilby & Thomas 2002) a proto také dochází ke snížení aplikace pesticidů.

Jelikož je pole pokryto celoročně rostlinnou biomasou, dochází k pozvolnému zvyšování obsahu organické hmoty, neboť půdní mikroorganismy mají možnost se vyvíjet a rozšiřovat. Na polích, která zůstávají ležet téměř půl roku ladem, mnohé mikroorganismy ustávají ve své aktivitě nebo odumírají, neboť kde nejsou rostliny, tam se některé mikroorganismy nemohou vyvíjet (Goulding et al. 2010). Tyto mikroorganismy žijí v symbióze s rostlinami – rostliny jim poskytují uhlík a oni na oplátku předávají rostlinám živiny, ke kterým se rostlina má problém sama dostat (Smith & Read 1997; Seis 2006a; Leu 2007).

Arbuskulární mykorhiza je jednou z nejdůležitějších symbiotických vztahů mezi houbami z kmene Glomeromycota a cévnatými rostlinami (Schüßler et al. 2001). Hlavním produktem je glomalín – ve vodě nerozpustný glykoprotein, který se tvoří na hyfách a sporách dané houby (Wright & Upadhyaya 1996). Jak houba prorůstá půdou (většinou vytváří dlouhé a spletené vazby mezi různými rostlinami a dalšími mikroby), glomalín zajišťuje, aby půdní částice byly pevně spojeny dohromady, a tím zlepšuje kvalitu půdy (Wright & Upadhyaya 1998; Rillig 2004). Půda je schopna lépe absorbovat vodu, je méně náchylná k erozi a obsah organické hmoty se pozvolna zvyšuje (Jastrow 1996; Wright & Upadhyaya 1998; Bruce et al. 2005).

Pokud hospodář používá konvenční způsoby zemědělství (orba, kypření), porušuje důležité mykorrhizní vazby, které jsou následně nezbytné k zajištění kvalitní úrodné půdy (Wright et al. 1999; Rillig 2004; Wright 2007; Helgason et al. 2010). Takto obhospodařované půdy trpí erozí, malým obsahem organické hmoty, poklesem biodiverzity, zamořením plevely, náchylností na choroby a škůdce a neschopností pohltit vodu, která naprší při větších deštích. V půdním horizontu voda chybí a zároveň dochází k zasolování při odpařování nahromaděné vody z povrchu půdy (Hendrix 1990; Swift et al. 2004; Leu 2007; Tallman 2012).

Pro zemědělce má tento způsob hospodaření několik výhod:

- z pole může sklídit dvě plodiny (hlavní plodinu a přírodní trávy, které může použít jako krmivo pro dobytek)
- snížení eroze půdy
- zlepšení kvality půdy – organická hmota se pozvolna rozšiřuje
- zlepšení struktury půdy – glomalin, stále prokořeněný půdní horizont
- zlepšení absorpce vody
- snížení aplikace herbicidů – menší tlak plevelných rostlin
- snížení aplikace hnojiv – dobytek, rostliny a mikroby zajišťují dostatečné množství živin
- snížení prostředků na ochranu rostlin proti patogenům a škůdcům – zvýšení biodiverzity zajišťuje nižší tlak škodlivých organismů
- zvýšení biodiverzity rostlin a dalších organismů

Jsou zde ale také nevýhody:

- nižší výnos během prvních pár let od zavedení této techniky
- problematika zemědělských strojů – potřeba speciálně upravených secích strojů
- plodiny mohou být více náchylné k hmyzím škůdcům
(Bruce et al. 2005; Seis 2006a; Seis 2006b; Tallman 2012).

4. Materiál a metody

4.1. *Folsomia candida*

4.1.1. Chov modelového druhu *Folsomia candida*

Modelovým druhem pro zhodnocení vlivu pesticidů byl zvolen chvostoskok druhu *Folsomia candida*, který byl získán do chovů ve VÚRV, v. v. i. v roce 2016. Tento druh pocházel z chovů a sbírek z Českých Budějovic od RNDr. Vladimíra Šustry, CSc.

Modelový druh byl chován v plastových nádobách na černém dřevěném uhlí a vodě. Krmná potrava v podobě sušených kvasnic (Lahůdkové droždí, Country Life, Nenačovice, Česko) se přidávala podle potřeby, zpravidla jednou za jeden nebo dva týdny. Tyto chovy byly umístěny v klimaboxech (Pol-Eko Aparatura, Wodzisław Śląski, Polsko) bez světla při stálé teplotě 18 °C. Každý týden byly tyto chovy kontrolovány.

4.1.2. Použité přípravky a účinné látky v experimentech

Mezi použité přípravky patřila Biscaya 240 OD (účinná látka thiaklopid, Bayer CropScience, Monheim am Rhein, Německo) a Confidor 200 OD (účinná látka imidaklopid; Bayer CropScience) z insekticidních přípravků na bázi neonikotinoidů, používaných převážně v porostech řepky olejky.

Jako účinné látky byly zvoleny: thiaklopid, imidaklopid, alachlor a acetochlor (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA). Alachlor a acetochlor patří v Evropské unii mezi zakázané účinné látky herbicidů (European Commission 2016b; European Commission 2016e), s jejichž rezidui se můžeme běžně setkat i dnes v půdě a ve vodě.

4.1.3. Použité nádoby a substráty k experimentům

Nádoby: standardní skleněné kádinky 100 ml, skleněné kádinky 500 ml (Simax Czech Republic, Sklárný Kavalier, Sázava, Česko)

Půdní substrát: BioBizz All-Mix, Praha 9- Letňany, Česko

Zemina: Starý sad, Praha 6- Ruzyně, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Česko

Před použitím půdního substrátu a zeminy, byly poslány vzorky do laboratoře (ALS Czech republic Praha, Česko) k analýze na přítomnost nevhodných látek. Výsledky prokázaly nepřítomnost pesticidních látek a jejich některých metabolitů (viz tabulku č. 37).

4.1.4. Biotesty

Během diplomové práce došlo k optimalizaci pokusů s chvostoskoky *F. candida*. Metodika byla testována a vyvíjena v různých podmínkách a koncentracích. Z počátku byly využity podobné podmínky, jako jsou předepsané v metodice vydané OECD, která se používá při registraci pesticidů v Evropské unii (Úřední věstník Evropské unie 2013), později došlo k modifikaci. Proto počáteční pokusy byly převážně indikační a v průběhu času došlo k jejich vylepšení. Koncentrace byly nejprve testovány pomocí ředící řady, následně byla zkoumána reálná rezidua látek, která se běžně nachází v půdě. Z počátku byli chvostoskoci testováni v biosubstrátu (BioBizz All-Mix, Praha 9- Letňany, Česko) při teplotě 20 ° C. Postupem času však bylo zjištěno, že se chvostoskokům daří lépe v teplotě 18 ° C. Proto byly chvostoskoci přesunuti do klimaboxů (Pol-Eko Aparatura), kde byla teplota stabilní a s minimálním přístupem světla. Byl vyměněn biosubstrát za půdu (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha 6- Ruzyně, Česko), aby byly testovány reálné podmínky. V porovnání s metodikou vydanou OECD, byli použiti dospělci *F. candida* v posledním stádiu vývoje, stejné velikosti. Metodika naproti tomu využívá jedince stejně staré v rozmezí 9-12 dní.

Tabulka č. 9: Porovnání podmínek během experimentů s chvostoskoky *F. candida*

| Parametr | OECD metodika | Podmínky č. 1 | Podmínky č. 2 |
|---------------|-------------------|---------------------------|---------------------------|
| Teplota | 20 ± 1 ° C | 20 ± 1 ° C | 18 ° C |
| Světlo:tma | 16:8 h | 0:24 h | 0:24 h |
| Substrát | Definovaná zemina | Biosubstrát | Přírodní zemina |
| Počet jedinců | 10 ks | 10-130 ks | 10 ks |
| Stáří jedinců | 9-12 dní | Poslední stádium dospělce | Poslední stádium dospělce |
| Délka pokusu | 28 dní | 1 týden až 4 týdny | 4 týdny |

4.1.5. Pokus č. 1: Testování vlivu thiaklopridu (ředící řada) v půdě a do potravy (1 týden)

4.1.5.1. Aplikace thiaklopridu do půdy

Cílem pokusu bylo zjistit, zda má thiakloprid (Sigma-Aldrich) při různých koncentracích vliv na úmrtnost chvostoskoků po týdenní expozici. Byl testován vliv těchto koncentrací: 1,5625, 12,5 a 100 $\mu\text{g/kg}$ s. p. (suché půdy). Použité koncentrace vycházejí z ředící řady (viz tabulku č. 10). Každá koncentrace a kontrola byla připravena ve třech opakováních.

Tabulka č. 10: Ředící řada

| | | | | | | |
|----------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| 100 $\mu\text{g/kg}$ | 50 $\mu\text{g/kg}$ | 25 $\mu\text{g/kg}$ | 12,5 $\mu\text{g/kg}$ | 6,25 $\mu\text{g/kg}$ | 3,125 $\mu\text{g/kg}$ | 1,5625 $\mu\text{g/kg}$ |
|----------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|

Pokus s thiaklopridem trval po dobu jednoho týdne. K pokusu byl použit bio substrát (BioBizz All-Mix) bez pesticidů a dalších nevhodných chemikálií. Tento substrát byl lyofilizován (Heto Powerdry LL3000 Freeze Dryer, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) a následně použit při pokusech. Do dvanácti 100 ml kádinek (Simax Czech Republic) byl nasypán substrát o hmotnosti 8,5 g. Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 0,16 mg thiaklopridu v 1 l nano vody (Barnstead Nanopure, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) důkladným promícháním. Následně byly (podle tabulky č. 11) připraveny tři různé zásobní roztoky pro jednotlivé koncentrace.

Tabulka č. 11: Příprava zásobních roztoků pro různé koncentrace thiaklopridu.

| Zásobní roztok č. | Koncentrace | Původní zásobní roztok (ml) | Nano H ₂ O (ml)* |
|-------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 | 1,5625 $\mu\text{g/kg}$ s. p. | 26,6 | 58,4 |
| 2 | 12,5 $\mu\text{g/kg}$ s. p. | 3,3 | 81,7 |
| 3 | 100 $\mu\text{g/kg}$ s. p. | 0,4 | 84,6 |

s. p. – suché půdy; * – Barnstead Nanopure, Thermo Fisher

Následně bylo do každé kádinky napipetováno 17 ml příslušného připraveného zásobního roztoku podle koncentrace (substrát velmi dobře vsakoval vodu, proto byla zvolena poměrně vysoká dávka roztoku). Poté bylo do každé z kádinek pomocí štětečku přeneseno deset chvostoskoků druhu *F. candida* stejné velikosti, posledního stádia. Krmivo v podobě suchých kvasnic (Lahůdkové droždí, Country Life) bylo chvostoskokům nasypáno do víčka zkumavky typu Eppendorf (0,5 ml) a zalito 50 μl vody. Kádinky byly přikryty víčkem z alobalu a umístěny v místnosti o stálé teplotě 20° C s minimálním přístupem světla. Po týdnu byli chvostoskoci pomocí flotace spočítáni.

4.1.5.2. Aplikace thiaklopridu do potravy

Cílem pokusu bylo zjistit, zda má thiakloprid (Sigma-Aldrich) při různých koncentracích vliv na úmrtnost chvostoskoků po týdenní expozici v potravě. Byl zkoumán vliv těchto koncentrací: 12,5 a 100 µg/kg s. p. (suché půdy). Použité koncentrace vycházejí z ředící řady (viz tabulku č. 10). Každá koncentrace a kontrola byla připravena ve třech opakováních.

Tabulka č. 10: Ředící řada

| | | | | | | |
|------------------|----------|----------|-------------------|------------|-------------|--------------|
| 100 µg/kg | 50 µg/kg | 25 µg/kg | 12,5 µg/kg | 6,25 µg/kg | 3,125 µg/kg | 1,5625 µg/kg |
|------------------|----------|----------|-------------------|------------|-------------|--------------|

Pokus s thiaklopridem trval po dobu jednoho týdne. K pokusu byl použit bio substrát (BioBizz All-Mix). Do devíti 100 ml kádinek (Simax Czech Republic) byl nasypán substrát o hmotnosti 8,5 g a napipetováno 17 ml nano vody (Barnstead Nanopure, Thermo Fisher). Byl vytvořen roztok 20 µg thiaklopridu/l nano vody, z kterého byly připraveny dva další rozkoky (viz tabulku č. 12).

Tabulka č. 12: Příprava zásobních roztoků pro různé koncentrace thiaklopridu.

| Zásobní roztok č. | Koncentrace | Původní zásobní roztok (µl) | Nano H₂O (µl)* |
|--------------------------|--------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 12,5 µg/kg s. p. | 450 | 50 |
| 2 | 100 µg/kg s. p. | 56 | 444 |

s. p. – suché půdy; * – Barnstead Nanopure, Thermo Fisher

Bylo připraveno 9 víček zkumavek typu Eppendorf (0,5 ml), do každého bylo naváženo 9 mg sušených kvasnic (Lahůdkové droždí, Country Life) a napipetováno 50 µl příslušného roztoku. Následně bylo do každé z kádinek pomocí štětečku přeneseno deset chvostoskoků druhu *F. candida* stejné velikosti, posledního stádia. Kádinky byly přikryty víčkem z alobalu a umístěny v místnosti o stálé teplotě 20 °C s minimálním přístupem světla. Po týdně byli chvostoskoci pomocí flotace spočítáni.

4.1.6. Pokus č. 2: Testování vlivu imidaklopridu (ředící řada) v půdě po dobu 1 týdne

Cílem pokusu bylo zjistit, zda má imidakloprid (Sigma-Aldrich) při různých koncentracích vliv na úmrtnost chvostoskoků po týdenní expozici. Byl zkoumán vliv těchto koncentrací: 1,5625, 12,5 a 100 µg/kg s. p. (suché půdy). Použité koncentrace vycházejí z ředící řady (viz tabulku č. 10). Každá koncentrace a kontrola byla připravena ve třech opakováních.

Tabulka č. 10: Ředící řada

| | | | | | | |
|------------------|----------|----------|-------------------|------------|-------------|--------------|
| 100 µg/kg | 50 µg/kg | 25 µg/kg | 12,5 µg/kg | 6,25 µg/kg | 3,125 µg/kg | 1,5625 µg/kg |
|------------------|----------|----------|-------------------|------------|-------------|--------------|

Pokus trval po dobu jednoho týdne. K pokusu byl použit bio substrát (BioBizz All-Mix). Do 100 ml skleněných kádinek (Simax Czech Republic) byl navážen lyofilizovaný substrát o hmotnosti 4 g. Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 1,32 mg imidaklopridu v 1l nano vody (Barnstead Nanopure, Thermo Fisher) důkladným promícháním. Následně byly (podle tabulky č. 13) připraveny tři různé zásobní roztoky pro jednotlivé koncentrace.

Tabulka č. 13: Příprava zásobních roztoků pro různé koncentrace imidaklopridu.

| Zásobní roztok č. | Koncentrace | Původní zásobní roztok (ml) | Nano H₂O (ml)* |
|--------------------------|--------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 1,5625 µg/kg s. p. | 0,023 | 39,977 |
| 2 | 12,5 µg/kg s. p. | 0,189 | 39,811 |
| 3 | 100 µg/kg s. p. | 1,515 | 38,485 |

s. p. – suché půdy; * – Barnstead Nanopure, Thermo Fisher

Následně bylo do každé kádinky nepipetováno 8 ml příslušného připraveného zásobního roztoku podle koncentrace. Poté bylo do každé z kádinek pomocí štětečku přeneseno deset chvostoskoků druhu *F. candida* stejné velikosti, posledního stádia. Kádinky byly přikryty víčkem z alobalu a umístěny v místnosti o stálé teplotě 20 °C s minimálním přístupem světla. Po týdnu byli chvostoskoci pomocí flotace spočítáni.

4.1.7. Pokus č. 3 a č. 4: Testování vlivu POR (Confidor a Biscaya) v půdě po dobu 3 týdnů

Cílem pokusu bylo zjistit, zda má POR Confidor 200 OD (účinná látka imidaklopid, Bayer CropScience) a Biscaya 240 OD (účinná látka thiaklopid, Bayer CropScience) při různých koncentracích mají vliv na úmrtnost chvostoskoků po tří týdenní expozici. Byl zkoumán vliv těchto koncentrací: 10, 100 a 1000 µg/kg s. p. (suché půdy). Každá koncentrace a kontrola byla připravena ve třech opakováních.

Pokus trval po dobu tří týdnů. K pokusu byl použit bio substrát (BioBizz All-Mix). Do 100 ml skleněných kádinek (Simax Czech Republic) byl navážen lyofilizovaný substrát o hmotnosti 4 g. Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 1 ml Confidor v 1 l nano vody (Barnstead Nanopure, Thermo Fisher) a 1 ml Biscaya v 1 l nano vody důkladným promícháním. Následně bylo (podle tabulky č. 14) připraveno šest různých zásobních roztoků pro jednotlivé koncentrace.

Tabulka č. 14: Příprava zásobních roztoků pro různé koncentrace přípravků Confidor a Biscaya.

| Zásobní roztok č. | Koncentrace | Původní zásobní roztok (ml) | Nano H ₂ O (ml)* |
|-------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 | Confidor 10 µg/kg s. p. | 0,200 | 39,800 |
| 2 | Confidor 100 µg/kg s. p. | 2,000 | 38,000 |
| 3 | Confidor 1000 µg/kg s. p. | 20,000 | 20,000 |
| 4 | Biscaya 10 µg/kg s. p. | 0,165 | 39,835 |
| 5 | Biscaya 100 µg/kg s. p. | 1,665 | 38,335 |
| 6 | Biscaya 1000 µg/kg s. p. | 16,665 | 23,335 |

s. p. – suché půdy; * – Barnstead Nanopure, Thermo Fisher

Následně bylo do každé kádinky nepipetováno 8 ml příslušného připraveného zásobního roztoku podle koncentrace. Poté bylo do každé z kádinek pomocí štětečku přeneseno deset chvostoskoků druhu *F. candida* stejné velikosti, posledního stádia. Kádinky byly přikryty víčkem z alobalu a umístěny v místnosti o stálé teplotě 20° C s minimálním přístupem světla. Po třech týdnech byli chvostoskoci pomocí flotace spočítáni.

4.1.8. Pokus č. 5: Testování vlivu imidaklopridu (25 a 250 µg/kg s. p.) v půdě (4 týdny)

Cílem pokusu bylo zjistit, zda má imidakloprid (Sigma-Aldrich) při různých koncentracích vliv na úmrtnost chvostoskoků po čtyřtýdenní expozici. Byl zkoumán vliv těchto koncentrací: 25 a 250 µg/kg s. p. (suché půdy). Každá koncentrace a kontrola byla připravena ve třech opakováních.

Pokus trval po dobu čtyřtýdnů. K pokusu byl použit bio substrát (BioBizz All-Mix). Do 500 ml skleněných kádinek (Simax Czech Republic) byl navážen lyofilizovaný substrát o hmotnosti 40 g. Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 10,5 mg imidaklopridu v 1 l nano vody (Barnstead Nanopure, Thermo Fisher) důkladným promícháním. Následně byly (podle tabulky č. 15) připraveny dvě různé zásobní roztoky pro jednotlivé koncentrace.

Tabulka č. 15: Příprava zásobních roztoků pro různé koncentrace imidaklopridu.

| Zásobní roztok č. | Koncentrace | Původní zásobní roztok (ml) | Nano H ₂ O (ml)* |
|-------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 | 25 µg/kg s. p. | 0,380 | 319,620 |
| 2 | 250 µg/kg s. p. | 3,808 | 316,192 |

s. p. – suché půdy; * – Barnstead Nanopure, Thermo Fisher

Následně bylo do každé kádinky nepipetováno 80 ml příslušného připraveného zásobního roztoku podle koncentrace. Poté bylo do každé z kádinek pomocí štětečku přeneseno 130 chvostoskoků druhu *F. candida* stejné velikosti, posledního stádia. Kádinky byly přikryty víčkem z alobalu a umístěny v místnosti o stálé teplotě 20 °C s minimálním přístupem světla. Po čtyřech týdnech byli chvostoskoci pomocí flotace spočítáni.

4.1.9. Pokus č. 6: Simulace vlivu reziduí alachloru, acetochloru a imidaklopridu v půdě

Cílem pokusu bylo zjistit, zda mají alachlor, acetochlor a imidaklopid (Sigma-Aldrich) vliv na úmrtnost chvostoskoků po čtyř týdenní expozici. Byl zkoumán vliv těchto koncentrací: alachlor 20 mg/kg s. p. (suché půdy), acetochlor 20 mg/kg s. p. a imidaklopid 2 µg/kg s. p. Koncentrace vycházejí z reálných reziduí nalezených běžně v půdách. Každá koncentrace a kontrola byla připravena v deseti opakováních.

Pokus byl proveden dvakrát v různých časových úsecích (v listopadu 2018 a lednu 2019) a trval po dobu čtyř týdnů. K pokusu byla použita zemina ze starého sadu v areálu VÚRV v Ruzyni. U této zeminy nebyly nalezeny žádné pesticidy ani jiné další nevhodné chemikálie. Zemina byla proseta a lyofilizována (Heto Powerdry LL3000 Freeze Dryer, Thermo Fisher) a následně použita při pokusech.

4.1.9.1. Pokus založený v listopadu 2018

Do 100 ml skleněné kádinky (Simax Czech Republic) byla navážena zemina o hmotnosti 23,1 g (20 g sušiny). Zásobní roztok alachloru byl připraven rozpuštěním 89,7 mg v 1 l nano vody (Barnstead Nanopure, Thermo Fisher), acetachloru 100 mg v 1 l nano vody a imidaklopid 1 mg v 1 l nano vody důkladným promícháním. Následně byly (podle tabulky č. 16) připraveny tři různé zásobní roztoky pro jednotlivé koncentrace.

Tabulka č. 16: Příprava zásobních roztoků pro různé koncentrace alachloru, acetochloru a imidaklopridu.

| Zásobní roztok č. | Koncentrace | Původní zásobní roztok (ml) | Nano H ₂ O (ml)* |
|-------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 | Alachlor 20 mg/kg s. p. | 49,06 | 26,84 |
| 2 | Acetochlor 20 mg/kg s. p. | 75,90 | 0,00 |
| 3 | Imidaklopid 2 µg/kg s. p. | 0,44 | 75,46 |

s. p. – suché půdy; * – Barnstead Nanopure, Thermo Fisher

Následně bylo do každé kádinky nepipetováno 6,9 ml příslušného připraveného zásobního roztoku podle koncentrace. Poté bylo do každé z kádinek pomocí štětečku přeneseno deset chvostoskoků druhu *F. candida* stejné velikosti, posledního stádia. Kádinky byly přikryty víčkem z alobalu a umístěny do klimaboxu (Pol-Eko Aparatura) o stálé teplotě 18 ° C s minimálním přístupem světla. Po čtyřech týdnech byli chvostoskoci pomocí flotace spočítáni.

4.1.9.2 Pokus založený v lednu 2019

Do 100 ml skleněné kádinky (Simax Czech Republic) byla navážena zemina o hmotnosti 20,938 g (20 g sušiny). Zásobní roztok alachloru byl připraven rozpuštěním 90,96 mg v 1 l nano vody, acetochloru 100 mg v 1 l nano vody a imidakloprid 1,08 mg v 1 l nano vody důkladným promícháním. Následně byly (podle tabulky č. 17) připraveny tři různé zásobní roztoky pro jednotlivé koncentrace.

Tabulka č. 17: Tvorba zásobních roztoků pro různé koncentrace alachloru, acetochloru a imidaklopridu.

| Zásobní roztok č. | Koncentrace | Původní zásobní roztok (ml) | Nano H ₂ O (ml)* |
|-------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 | Alachlor 20 mg/kg s. p. | 48,370 | 51,312 |
| 2 | Acetochlor 20 mg/kg s. p. | 44,000 | 55,682 |
| 3 | Imidakloprid 2 µg/kg s. p. | 0,407 | 99,275 |

s. p. – suché půdy; * – Barnstead Nanopure, Thermo Fisher

Následně bylo do každé kádinky nepipetováno 9,062 ml příslušného připraveného zásobního roztoku podle koncentrace. Poté bylo do každé z kádinek pomocí štětečku přeneseno deset chvostoskoků druhu *F. candida* stejné velikosti, posledního stádia. Kádinky byly přikryty víčkem z alobalu a umístěny do klimaboxu (Pol-Eko Aparatura) o stálé teplotě 18° C s minimálním přístupem světla. Po čtyřech týdnech byli chvostoskoci pomocí flotace spočítáni.

4.2. Řepka olejka (*Brassica napus* L. convar. *napus* forma *biennis*)

Pro pokus byla použita nemořená semínka *Brassica napus* L. convar. *napus* forma *biennis*, která byla vypěstována Výzkumným ústavem rostlinné výroby v Praze.

4.2.1 Sledování distribuce účinné látky po aplikaci POR (Biscaya) v pletivech řepky olejky

4.2.1.1 Postup pěstování

Semínka se nechala naklíčit na buničině a následně po vyklíčení byla přesazena do malých plastových sadbovačů naplněných bio substrátem (BioBizz All-Mix). Řepka pak byla pěstována ve skleníku po dobu tří měsíců, od listopadu 2016 do února 2017. Ve skleníku se udržovala teplota kolem 20 °C a bylo nastaveno světlo od 6 hodin ráno do 9 hodin večer. Rostliny byly kontrolovány a pravidelně zalévány, tři krát týdně nebo podle potřeby. K zalévání byla použita ‚pitná‘ voda, bez pesticidů zkontrolovaná podle LC-MS/MS (viz tabulku č. 37). Po týdnu byla řepka přesazena ze sadbovačů do malých čtvercových květináčů. Za další měsíc se řepka přesadila do velkých plastových květináčů (Plastia, Nové Veselí, Česko), které byly široké 20-30 cm a 26 cm hluboké. Do každého květináče bylo naváženo 1,7 kg půdního substrátu (BioBizz All-Mix), který byl před experimentem analyzován na přítomnost nevhodných látek.

4.2.1.2 Použité pesticidy na experiment

Mezi použité přípravky patřila Biscaya 240 OD (účinná látka thiakloprid) z insekticidních přípravků na bázi neonikotinoidů, používaných převážně v porostech řepky olejky.

4.2.1.3 Biotesty

Cílem pokusu bylo zjistit v jakém množství se pesticid thiakloprid akumuluje v půdě, kořeni a listu řepky olejky po aplikaci v přípravku Biscaya 240 OD. Byly testovány tyto dávky: 250 a 2500 µg účinné látky na 1 kg sušiny půdy. Koncentrace byly zvoleny podle laboratorního modelového pokusu s imidaklopridem (Seifrtova et al. 2017) tak, aby bylo jasné viditelné, v jaké části rostliny se účinná látka akumuluje nejvíce. Získané výsledky lze se zmíněnou studií porovnat díky stejným použitým dávkám. Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 1 ml Biscaya v 1 l nano vody (Barnstead Nanopure, Thermo Fisher) důkladným promícháním. Připravený roztok tedy obsahoval 240 mg thiaklopridu v 1001 ml. Celkem bylo pět opakování pro každou koncentraci a kontrolu – dohromady patnáct rostlin.

Tabulka č. 18: Výpočty dávkování roztoku Biscaya k rostlinám (250 a 2500 µg/kg s. p.)

| Koncentrace 250 µg/kg s. p. | | Koncentrace 2500 µg/kg s. p. | |
|------------------------------------|---------|-------------------------------------|---------|
| 240 mg | 1001 ml | 240 mg | 1001 ml |
| 0,25 mg | x ml | 2.5 mg | x ml |
| $x = (0.25/240)*1001$ | | $x = (2.5/240)*1001$ | |
| x = 1.04271 ml | | x = 10.4271 ml | |
| x = 1.04 ml | | x = 10.4 ml | |
| $1.04*1.7 = 1.768$ ml | | $10.4*1.7 = 17.68$ ml | |

* s. p. – suché půdy

U koncentrace 250 µg/kg s. p. bylo vypočítáno, že na 1 kg substrátu bude potřeba 1,04 ml zásobního roztoku. Což pro substrát o hmotnosti 1,7 kg odpovídá 1,768 ml roztoku (viz tabulku č. 18). Proto bylo do skleněné nádoby napipetováno 1,768 ml zásobního roztoku, který byl rozpuštěn ve 100 ml nano vody. Každá rostlina byla zvlášť zalita tímto roztokem a následně i propláchnutím skleněné nádoby 3 x 100 ml nano vody. U koncentrace 250 µg/kg s. p. bylo vypočítáno, že na 1 kg substrátu bude potřeba 10,4 ml zásobního roztoku. Což pro substrát o hmotnosti 1,7 kg odpovídá 17,68 ml roztoku (viz tabulku č. 18). Proto bylo do skleněné nádoby napipetováno 17,68 ml zásobního roztoku, který byl rozpuštěn ve 100 ml nano vody. Každá rostlina byla zvlášť zalita tímto roztokem a následně i propláchnutím skleněné nádoby 3 x 100 ml nano vody. Kontrolní rostliny byly zality 4 x 100 ml nano vody.

Expozice rostlin přípravkem Biscaya trvala čtyři týdny. Rostliny byly po celou dobu sledovány a nadále zalévány pitnou vodou. Po čtyřech týdnech byl pokus ukončen. Rostliny byly opatrně vyndány ze substrátu a následně byly sesbírány listy, kořeny a substrát. Kořen byl pečlivě očištěn od substrátu. Půda byla důkladně homogenizována před samotným odebráním 3 g vzorků. Poté byly zváženy listy, kořeny a zemina u každé rostliny zvlášť. Tedy dohromady bylo 15 vzorků půdy (5 kontrola, 5 koncentrace 250 µg/kg a 5 koncentrace 2500 µg/kg), 15 vzorků listů a 15 vzorků kořenů. Sesbírané vzorky byly skladovány při -80 °C až do analýzy.

Vzorky byly poslány do ALS Czech republic ke zpracování a provedení UHPLC-MS/MS analýzy. Byly použity přístroje: Xevo TQ-S triple-quadrupole mass spectrometer (Waters, Milford, MA, USA) a Acquity ultraperformance liquid chromatography systém (UHPLC; Waters, Milford, MA, USA).

4.3. Vyhodnocení výsledků

Tabulky a grafy byly vytvořeny v programu Microsoft Word a Microsoft Excell. Získaná data byla zpracována ve statistickém programu R (Version 3.5.2., R Foundation for Statistical Computing, Rakousko) a následně byla vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5. Výsledky

5.1. *Folsomia candida*

5.1.1 Pokus č. 1: Testování vlivu thiaklopridu (ředící řada) v půdě a do potravy (1 týden)

Tabulka č. 19: Počet chvostoskoků po aplikaci thiaklopridu do půdy po dobu 1 týdne

| Koncentrace | <i>Folsomia candida</i> (N) | | | |
|--------------|-----------------------------|--------------|------------|-----------|
| | 0,0 | 1,5626 µg/kg | 12,5 µg/kg | 100 µg/kg |
| Kádinka (č.) | | | | |
| 1 | 7 | 8 | 7 | 10 |
| 2 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 3 | 10 | 9 | 10 | 10 |
| AV (±) | 9 | 9 | 9 | 10 |
| SD (±) | 1,41 | 0,82 | 1,41 | 0 |

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; č. – číslo; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 20: Počet chvostoskoků po aplikaci thiaklopridu do potravy po dobu 1 týdne

| Koncentrace | <i>Folsomia candida</i> (N) | | |
|--------------|-----------------------------|------------|-----------|
| | 0,0 | 12,5 µg/kg | 100 µg/kg |
| Kádinka (č.) | | | |
| 1 | 10 | 10 | 9 |
| 2 | 8 | 8 | 8 |
| 3 | 10 | 7 | 10 |
| AV (±) | 9,33 | 8,33 | 9 |
| SD (±) | 0,94 | 1,25 | 0,82 |

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; č. – číslo; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 21: Statistické vyhodnocení vlivu thiaklopridu na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy a potravy) po dobu 1 týdne

| | Stupně volnosti | F hodnota | p hodnota |
|-------------|-----------------|-----------|-----------|
| Thiakloprid | 1 | 0,804 | 0,383 |
| Kádinka | 1 | 1,264 | 0,277 |
| Aplikace | 1 | 0,617 | 0,443 |
| Reziduální | 17 | | |

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA)

Podle statistického zpracování (viz tabulku č. 21) lze vyvodit, že účinná látka thiakloprid po týdenní expozici nemá signifikantní ($p > 0,05$) vliv na úmrtnost chvostoskoků ve srovnání s kontrolou.

5.1.2. Pokus č. 2: Testování vlivu imidaklopridu (ředící řada) v půdě po dobu 1 týdne

Tabulka č. 22: Počet chvostoskoků po aplikaci imidaklopridu do půdy po dobu 1 týdne

| <i>Folsomia candida</i> (N) | | | | |
|-----------------------------|-----|--------------|------------|-----------|
| Koncentrace | 0,0 | 1,5626 µg/kg | 12,5 µg/kg | 100 µg/kg |
| Kádinka (č.) | | | | |
| 1 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 2 | 10 | 9 | 10 | 8 |
| 3 | 10 | 10 | 10 | 8 |
| AV (±) | 10 | 9,66 | 10 | 8,66 |
| SD (±) | 0 | 0,47 | 0 | 0,94 |

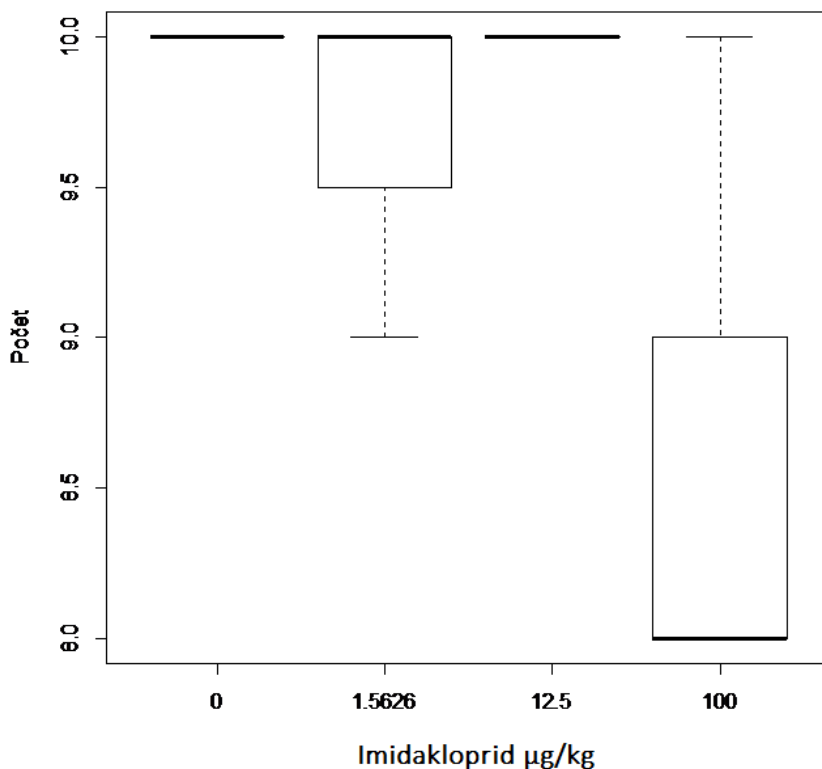
N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; č. – číslo; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 23: Statistické vyhodnocení vlivu imidaklopridu na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy) po dobu 1 týdne

| | Stupně volnosti | F hodnota | p hodnota |
|--------------|-----------------|-----------|---------------|
| Imidakloprid | 1 | 9,164 | 0,0143 |
| Kádinka | 1 | 1,415 | 0,2646 |
| Reziduální | 9 | | |

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

Graf č. 1: Boxplot – vliv imidaklopridu na mortalitu *F. candida* v rozdílných koncentracích



Graf č. 1 znázorňuje vliv koncentrací účinné látky imidakloprid na úmrtnost chvostoskoků. Podle statistického zpracování (viz tabulku č. 23) lze vyvodit, že účinná látka imidakloprid po týdenní expozici má asi jen v koncentraci 100 µg/kg signifikantní ($p \leq 0,05$) vliv na úmrtnost chvostoskoků ve srovnání s kontrolou.

5.1.3. Pokus č. 3: Testování vlivu POR (Confidor) v půdě po dobu 3 týdnů

Tabulka č. 24: Počet chvostoskoků po aplikaci přípravku Confidor do půdy po dobu 3 týdnů

| <i>Folsomia candida</i> (N) | | | | |
|-----------------------------|------|----------|-----------|------------|
| Koncentrace | 0,0 | 10 µg/kg | 100 µg/kg | 1000 µg/kg |
| Kádinka (č.) | | | | |
| 1 | 8 | 10 | 10 | 9 |
| 2 | 10 | 8 | 10 | 9 |
| 3 | 9 | 9 | 10 | 10 |
| AV (±) | 9 | 9 | 10 | 9,33 |
| SD (±) | 0,82 | 0,82 | 0 | 0,47 |

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; č. – číslo; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 25: Statistické vyhodnocení vlivu přípravku Confidor na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy) po dobu 3 týdnů

| | Stupně volnosti | F hodnota | p hodnota |
|------------|-----------------|-----------|-----------|
| Confidor | 1 | 0,024 | 0,881 |
| Kádinka | 1 | 0,172 | 0,688 |
| Reziduální | 9 | | |

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA)

Podle statistického zhodnocení (viz tabulku č. 25) lze vyvodit, že přípravek Confidor po třítýdenní expozici nemá signifikantní ($p > 0,05$) vliv na úmrtnost chvostoskoků.

5.1.4. Pokus č. 4: Testování vlivu POR (Biscaya) v půdě po dobu 3 týdnů

Tabulka č. 26: Počet chvostoskoků po aplikaci přípravku Biscaya do půdy po dobu 3 týdnů

| Koncentrace | <i>Folsomia candida</i> (N) | | | |
|--------------|-----------------------------|----------|-----------|------------|
| | 0,0 | 10 µg/kg | 100 µg/kg | 1000 µg/kg |
| Kádinka (č.) | | | | |
| 1 | 8 | 8 | 5 | 7 |
| 2 | 10 | 7 | 7 | 8 |
| 3 | 9 | 10 | 7 | 9 |
| AV (±) | 9 | 8,33 | 6,33 | 8 |
| SD (±) | 0,82 | 1,25 | 0,94 | 0,82 |

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; č. – číslo; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 27: Statistické vyhodnocení vlivu přípravku Biscaya na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy) po dobu 3 týdnů

| | Stupně volnosti | F hodnota | p hodnota |
|------------|-----------------|-----------|-----------|
| Biscaya | 1 | 0,012 | 0,917 |
| Kádinka | 1 | 3,287 | 0,103 |
| Reziduální | 9 | | |

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA)

Podle statistického zhodnocení (viz tabulku č. 27) lze vyvodit, že přípravek Biscaya po třítydenní expozici nemá signifikantní ($p > 0,05$) vliv na úmrtnost chvostoskoků.

5.1.5. Pokus č. 5: Testování vlivu imidaklopridu (25 a 250 µg/kg s. p.) v půdě (4 týdny)

Tabulka č. 28: Počet chvostoskoků po aplikaci imidaklopridu do půdy po dobu 4 týdnů

| <i>Folsomia candida</i> (N) | | | |
|-----------------------------|-------|----------|-----------|
| Koncentrace | 0,0 | 25 µg/kg | 250 µg/kg |
| Kádinka (č.) | | | |
| 1 | 94 | 90 | 73 |
| 2 | 80 | 101 | 86 |
| 3 | 104 | 75 | 71 |
| AV (±) | 92,66 | 88,66 | 76,66 |
| SD (±) | 9,84 | 10,66 | 6,65 |

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; č. – číslo; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 29: Statistické vyhodnocení vlivu imidaklopridu na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy) po dobu 4 týdnů

| | Stupně volnosti | F hodnota | p hodnota |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|
| Imidakloprid | 1 | 3,187 | 0,124 |
| Kádinka | 1 | 0,064 | 0,809 |
| Reziduální | 6 | | |

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA)

Podle statistického zhodnocení (viz tabulku č. 29) lze vyvodit, že účinná látka imidakloprid po čtyřtýdenní expozici nemá signifikantní ($p > 0,05$) vliv na úmrtnost chvostoskoků.

5.1.6. Pokus č. 6: Simulace vlivu reziduí alachloru, acetochloru a imidaklopridu v půdě

Tabulka č. 30: Počet chvostoskoků po aplikaci imidaklopridu, alachloru, acetochloru do půdy po dobu 4 týdnů (podzim 2018)

| <i>Folsomia candida</i> (N) | | | | |
|-----------------------------|------|--------------|--------------|-------------|
| Koncentrace | 0,0 | Ala 20 mg/kg | Ace 20 mg/kg | Imi 2 µg/kg |
| Kádinka (č.) | | | | |
| 1 | 8 | 4 | 3 | 2 |
| 2 | 9 | 3 | 3 | 2 |
| 3 | 5 | 5 | 3 | 2 |
| 4 | 5 | 5 | 6 | 3 |
| 5 | 4 | 4 | 3 | 2 |
| 6 | 6 | 2 | 5 | 2 |
| 7 | 7 | 7 | 1 | 0 |
| 8 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 9 | 5 | 3 | 1 | 2 |
| 10 | 4 | 5 | 3 | 1 |
| AV (±) | 5,9 | 4,4 | 3,4 | 2,2 |
| SD (±) | 1,58 | 1,43 | 1,69 | 1,47 |

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; č. – číslo; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 31: Počet chvostoskoků po aplikaci imidaklopridu, alachloru, acetochloru do půdy po dobu 4 týdnů (zima 2019)

| <i>Folsomia candida</i> (N) | | | | |
|-----------------------------|------|--------------|--------------|-------------|
| Koncentrace | 0,0 | Ala 20 mg/kg | Ace 20 mg/kg | Imi 2 µg/kg |
| Kádinka (č.) | | | | |
| 1 | 3 | 3 | 1 | 2 |
| 2 | 3 | 2 | 0 | 7 |
| 3 | 7 | 4 | 0 | 2 |
| 4 | 4 | 4 | 0 | 3 |
| 5 | 3 | 1 | 2 | 7 |
| 6 | 6 | 6 | 0 | 4 |
| 7 | 4 | 2 | 1 | 5 |
| 8 | 2 | 2 | 0 | 9 |
| 9 | 2 | 4 | 0 | 4 |
| 10 | 5 | 2 | 1 | 7 |
| AV (±) | 3,9 | 3 | 0,5 | 5 |
| SD (±) | 1,58 | 1,41 | 0,67 | 2,28 |

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; č. – číslo; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 32: Statistické porovnání vlivu jednotlivých pesticidů (alachlor, acetochlor, imidaklopid) po dobu 4 týdnů aplikací do půdy (podzim 2018)

| | Stupně volnosti | F hodnota | p hodnota |
|------------|-----------------|-----------|-----------------|
| Ošetření | 3 | 9,277 | 0,000111 |
| Reziduální | 36 | | |

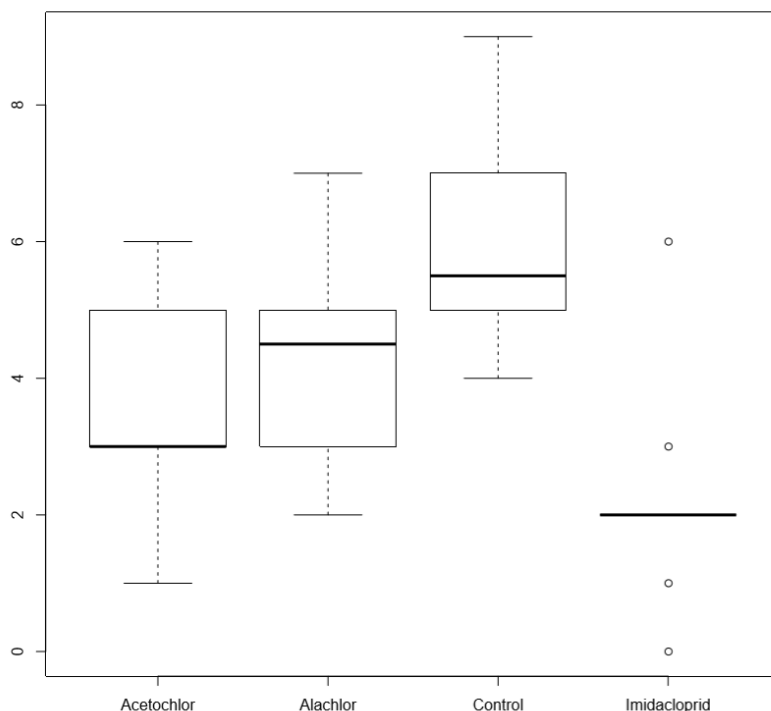
Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

Tabulka č. 33: Statistické porovnání vlivu jednotlivých pesticidů mezi sebou (alachlor, acetochlor, imidaklopid) po dobu 4 týdnů aplikací do půdy (podzim 2018)

| | Rozdíl | Spodní hranice | Horní hranice | p adj |
|-----------------------------|--------|----------------|---------------|-----------------|
| Alachlor-Acetochlor | 1,0 | -0,9596711 | 2,9596711 | 0,523180 |
| Kontrola-Acetachlor | 2,5 | 0,5403289 | 4,4596711 | 0,007845 |
| Imidaklopid-Acetochlor | -1,2 | -3,1596711 | 0,7596711 | 0,364903 |
| Kontrola-Alachlor | 1,5 | -0,4596711 | 3,4596711 | 0,185191 |
| Imidaklopid-Alachlor | -2,2 | -4,1596711 | -0,2403289 | 0,022713 |
| Imidaklopid-Kontrola | 3,7 | -5,6596711 | -1,7403289 | 0,000067 |

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

Graf č. 2: Boxplot - vlivu jednotlivých pesticidů (alachlor, acetochlor, imidaklopid) na mortalitu *F. candida* (podzim 2018)



Podle statistického zhodnocení (viz tabulku č. 32) lze vyvodit, že aplikace jednotlivých účinných látek po čtyř týdnů expozici má signifikantní vliv ($p \leq 0,05$)

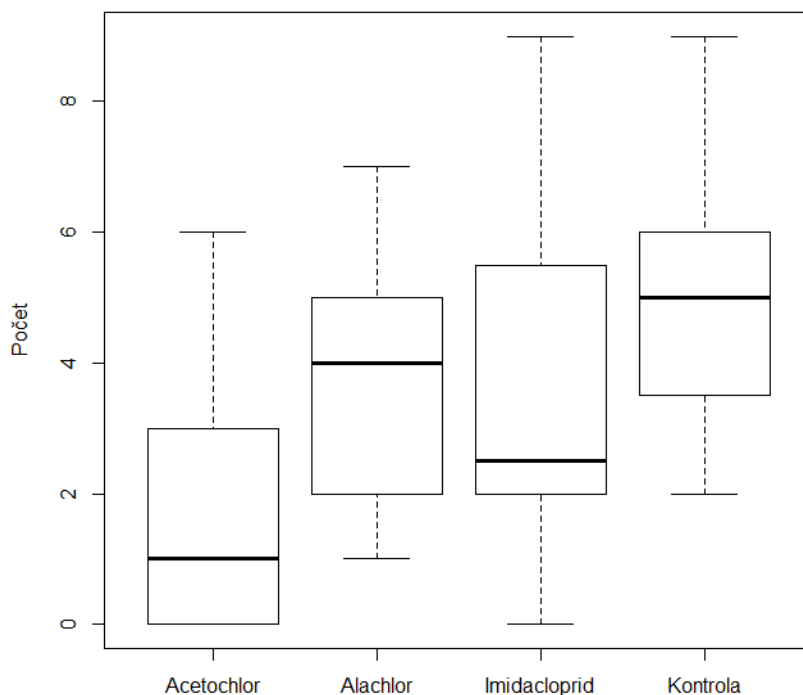
na úmrtnost chvostoskoků ve srovnání s kontrolou. Z grafu č. 2 vyplývá, že největší vliv na úmrtnost má účinná látka imidaklopid, poté acetochlor a následně alachlor. Signifikantní rozdíl ($p \leq 0,05$) můžeme pozorovat mezi kontrolou a imidaklopidem a mezi kontrolou a acetochlorem (viz tabulku č. 33).

Tabulka č. 34: Statistické vyhodnocení – Aplikace pesticidů do půdy v čase (2018, 2019)

| | Stupně volnosti | F hodnota | p hodnota |
|------------|-----------------|-----------|----------------|
| Pesticid | 3 | 7,535 | 0,00018 |
| Čas | 1 | 3,927 | 0,05118 |
| Reziduální | 75 | | |

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

Graf č. 3: Boxplot - vlivu jednotlivých pesticidů (alachlor, acetochlor, imidaklopid) na mortalitu *F. candida* (podzim 2018 a zima 2019)



Statistickým porovnáním aplikací pesticidů v čase (viz tabulku č. 34) můžeme zjistit, že zde není významný signifikantní vliv ($p > 0,05$). Hodnota pro Čas (viz tabulku č. 34) se blíží $p \leq 0,05$ a po zaokrouhlení je hodnota dokonce rovna 0,05, proto má smysl pokus opakovat v čase. Zejména pro aplikaci imidaklopidu, kde můžeme pozorovat poměrně velké rozdíly v úmrtnosti chvostoskoků (viz tabulku č. 30 a č. 31). Signifikantní rozdíl ($p \leq 0,05$) lze pozorovat mezi aplikací různých účinných látek. Z grafu č. 3 vyplývá, že největší vliv na úmrtnost chvostoskoků má účinná látka acetochlor, poté imidaklopid a následně alachlor.

5.1.7. Zhodnocení pokusů s chvostoskoky

Statisticky bylo pozorováno, že v našich experimentech imidaklopid aplikovaný v menších dávkách měl větší vliv na úmrtnost chvostoskoka *F. candida*. Tyto experimenty probíhaly v rozdílných podmínkách (jiný substrát, rozdílná teplota), které mohly mít vliv na sledované výsledky. Větší mortalita byla pozorována při aplikaci 2 µg/kg s. p. (suché půdy) v porovnání s koncentracemi 25 a 250 µg/kg s. p. Imidaklopid se chová nepředvídatelně i v čase. Ve zvolených podmínkách měla týdenní expozice imidaklopidem na chvostoskoky větší vliv oproti expozici čtyřtýdenní ve shodných podmínkách.

V průběhu pokusů bylo také pozorováno chování chvostoskoků. Pouhým okem bylo viditelné, že chvostoskoci po aplikaci imidaklopidu byli daleko živější v porovnání s kontrolou a dalšími účinnými látkami.

Přípravky na ochranu rostlin Confidor 200 OD a Biscaya 240 OD měly statisticky insignifikantní vliv ($p > 0,05$) na mortalitu *F. candida* v daných podmínkách. Bylo zjištěno, že čistá účinná látka imidaklopid má větší vliv na úmrtnost v porovnání s imidaklopidem v přípravku Confidor. Experimenty se od sebe lišily rozdílnými podmínkami (jiný substrát, rozdílná teplota), což mohlo výrazně ovlivnit sledované výsledky pokusů.

Dále bylo pozorováno, že alachlor a acetochlor mají rozdílný vliv na úmrtnost chvostoskoků, i přestože jejich strukturální vzorce jsou velmi podobné. Sumární vzorec mají stejný $C_{14}H_{20}ClNO_2$. Statisticky bylo potvrzeno, že acetochlor má větší vliv na úmrtnost *F. candida* oproti alachloru.



Obrázek č. 1 a č. 2: Strukturální vzorec acetochloru (PubChem 2019a) a alachloru (PubChem 2019b)

5.2. Řepka olejka (*Brassica napus* L. convar. *napus* forma *biennis*)

5.2.1. Pokus č. 7: Sledování distribuce účinné látky po aplikaci POR (Biscaya) v pletivech řepky olejky

Tabulka č. 35: Koncentrace thiaklopridu po aplikaci Biscaya v rostlině a v půdě (4 týdny)

| Název | List ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | Kořen ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | Půda ($\mu\text{g}/\text{kg}$ s. p.) |
|--|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| KONTROLA | | | |
| 1 | 0,166 | 0,067 | N. D. |
| 2 | 0,076 | 0,019 | N. D. |
| 3 | 0,171 | 0,071 | N. D. |
| 4 | 0,067 | 0,047 | N. D. |
| 5 | 0,156 | 0,038 | N. D. |
| 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | | | |
| 1 | 5,679 | 1,042 | 201,661 |
| 2 | 13,924 | 10,514 | 147,069 |
| 3 | 8,976 | 5,440 | 173,798 |
| 4 | 16,326 | 10,666 | 310,621 |
| 5 | 21,855 | 3,968 | 193,673 |
| 2500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | | | |
| 1 | 126,808 | 448,709 | 1934,980 |
| 2 | 330,131 | 549,266 | 3882,950 |
| 3 | 112,468 | 473,691 | 5423,431 |
| 4 | 119,098 | 334,598 | 1669,335 |
| 5 | 201,075 | 497,362 | 6118,813 |

N. D. – není definováno; Větší hodnoty než by měly být reálně naměřené, jsou zvýrazněné tučně;

s. p. – suché půdy

Při analýze byly použity přístroje, které detekovaly různé druhy účinných látek přípravků na ochranu rostlin. Ve vzorcích nebyly nalezeny žádné jiné účinné látky, kromě aplikovaného thiaklopridu. V kontrolních rostlinách bylo nalezeno malé množství účinné látky thiaklopid (viz tabulku č. 35), a to i přesto, že byla použita nemořená semena řepky olejky. Látka se nemohla dostat ke kontrolním rostlinám při aplikaci přípravku Biscaya k ostatním rostlinám pokusu, protože v půdě nebylo detekováno žádné množství této látky.

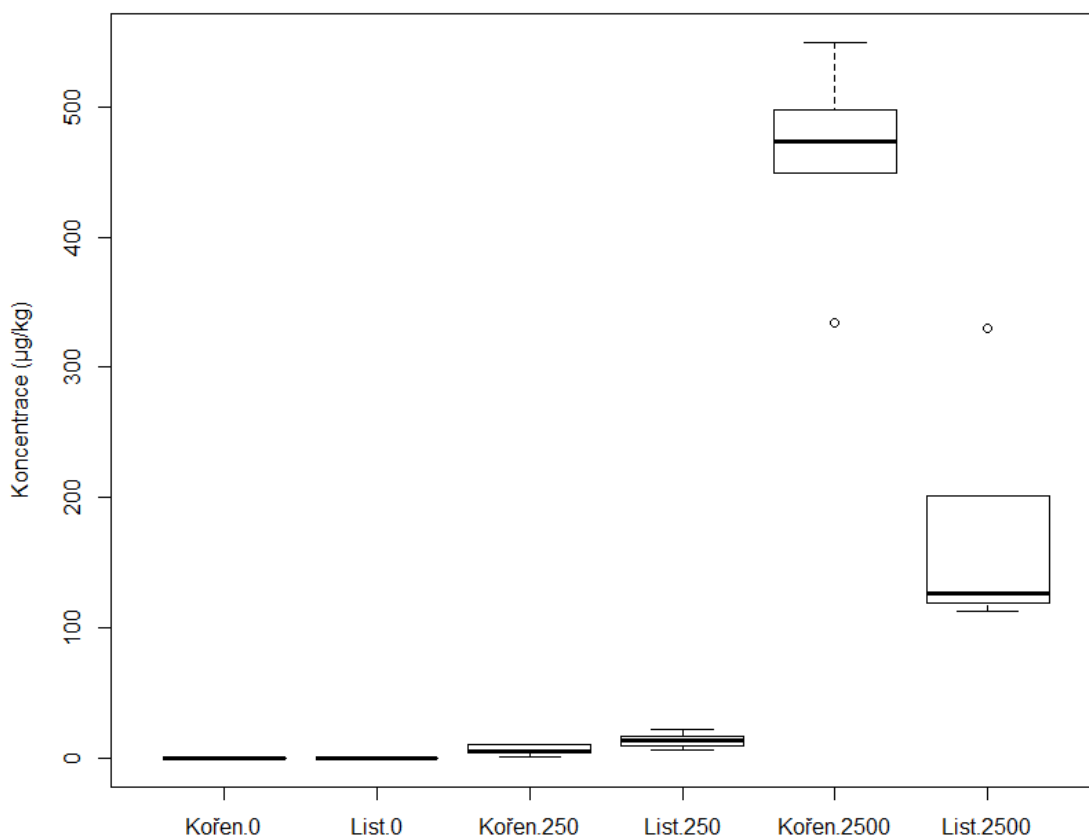
V půdě u koncentrace 250 a 2500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bylo nalezeno větší množství účinné látky thiaklopid než bylo původně aplikováno (viz tabulku č. 34). To lze vysvětlit tak, že odebrané vzorky pocházely z místa, kde se nacházelo větší množství navázané látky na půdní koloidy substrátu, i přes důkladnou homogenizaci před odebráním vzorků.

Tabulka č. 36: Statistické vyhodnocení – Aplikace přípravku Biscaya do půdy

| | Stupně volnosti | F hodnota | p hodnota |
|----------------|-----------------|-----------|--|
| Aplikace | 1 | 89,027 | $4,87 \times 10^{-10}$ |
| Rostlinná část | 1 | 8,589 | 0,0068 |
| Reziduální | 27 | | |

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

Graf č. 4: Boxplot - distribuce účinné látky thiaklopidu po aplikaci POR (Biscaya) v pletivech řepky olejky



Podle statistického zhodnocení (viz tabulku č. 36) lze vyvodit, že přípravek Biscaya při zvyšující se dávce po čtyř týdenní expozici má signifikantní ($p \leq 0,05$) vliv na ukládání účinné látky thiaklopidu v rostlině. Tato látka se nalézá ve větším množství v kořenech oproti zeleným částem řepky olejky (viz graf č. 4).

6. Diskuze

Využívání POR je součástí zavedené praxe v zemědělství. POR přinesly mnoho kladů a záporů. Pomohly zvýšit výnos plodin, snížit poškození rostlin a zjednodušit průběh sklizně. Na druhou stranu však přinesly i nežádoucí účinky na životní prostředí, necílové organismy, biodiverzitu a rozšiřování rezistence škodlivých organismů (Barzman et al. 2015). Tato práce se snažila přispět ke shrnutí problematiky používání POR v literární rešerši a zkoumat vliv vybraných účinných látek a POR na konkrétní necílové organismy. POR mohou významně ovlivňovat půdní organismy, které se nalézají v horních 10 cm půdy (Rusek 2000a), tedy v bezprostřední blízkosti aplikace látek. Ale v porovnání s opylovači jsou poměrně přehlíženou skupinou, a to i přesto, že mají mnoho důležitých funkcí v půdě a tudíž i pro pěstované plodiny (Rusek 2000a; Rusek 2000b). Přestože je registrace pesticidních látek v Evropské unii poměrně přísná, vyžaduje u půdních organismů pouze testy na mortalitu (Evropská komise 2011; Úřední věstník Evropské unie 2013). Vzhledem k vědeckotechnickému pokroku by bylo vhodné využívat při registracích také moderní vysokokapacitní metody, jako jsou OMICs. Pomocí nichž můžeme zjistit, zda nedochází ke změnám, které nejsou na první pohled patrné (Erban et al. 2016).

Jedním z přehlížených organismů je chvostoskok *F. candida*, který se nachází v půdách na mnoha lokalitách světa (Fountain & Hopkin 2005). Tento organismus byl zvolen jako modelový druh této diplomové práce. Jelikož je to velmi citlivý organismus, bylo na něm již v minulosti provedeno mnoho pokusů s chemickými látkami (Fountain & Hopkin 2005) a v Evropské unii je využíván při testech POR podle předepsané metodiky vydané OECD (Úřední věstník Evropské unie 2013). Po důkladném pozorování chování chvostoskoků byla v této práci metodika v průběhu času modifikována. V porovnání s původní metodikou se liší půdním substrátem, teplotou, poměrem mezi tmou a světlem, věkem jedinců a délkou pokusu. Podmínky pokusu byly změněny na základě lepší fyziologie chvostoskoků při nižší teplotě a minimálním přístupu světla. Proto by do budoucna mělo dojít k těmto změnám i při oficiálních biotestech.

Ve vědeckých člancích byly zkoumány vlivy různých chemických látek na chvostoskoka *F. candida*. Jenou z těchto účinných látek byl neonicotinoid imidakloprid, který je velice toxický pro včely a další opylovače. Nedávno byl u čmeláka zemního prokázán skrytý mechanismus účinku blokace mevalonátové dráhy a syntézy mastných kyselin (Erban et al. 2019). Celkem čtyři studie zkoumaly letální dávky imidaklopridu u tohoto

chvostoskoka (EFSA 2008; Reynolds 2008; Alves et al. 2014; van Gestel et al. 2017). Jejich výsledky se mezi sebou velmi lišily. LC_{50} bylo stanoveno v rozmezí od 0,21 do 20,96 mg/kg s. p. (Alves et al. 2014; van Gestel et al. 2017), a nejnižší pozorovaná hodnota NOEC byla 0,1 mg/kg s. p. (van Gestel et al. 2017). V této práci byly pozorovány změny i při velmi nízkých koncentracích. Dávka 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ s. p. (která se v podobě reziduí běžně nachází v půdě) způsobila změny nejenom počtem mrtvých jedinců, ale také viditelnou změnou chování pouhým okem. Chvostoskoci byli v porovnání s kontrolou pohyblivější. Zajímavý jev byl pozorován i v porovnání s vyššími koncentracemi 2, 25 a 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ s. p. Bylo zjištěno, že nižší koncentrace způsobila výrazně vyšší úmrtnost. To lze vysvětlit rozdílnými podmínkami během experimentů, které mohly mít vliv na sledované výsledky, nebo skutečností, že imidaklopid má zpožděný a kumulativní vliv, který byl již dříve pozorován u včel a čmeláků (Marletto et al. 2003; Rondeau et al. 2014). Proto by bylo zajímavé pozorovat podrobněji vliv účinné látky imidaklopidu v různých koncentracích na proteinové úrovni chvostoskoků, v rozdílných teplotách a na různých substrátech. A vysvětlit tento nepředvídatelný fenomén nízkých dávek imidaklopidu podrobněji. Otázkou je zda může být mechanismus účinku podobný jako v případě blokace mevalonátové dráhy a syntézy mastných kyselin u čmeláků (Erban et al. 2019).

Experimenty, které zkoumaly vliv účinné látky imidaklopidu (NOEC = 1,25 mg/kg s. p.) v porovnání s přípravkem Confidor SL 200 (NOEC = 0,32 mg/kg s. p.), zaznamenaly větší vliv formulace na úmrtnost chvostoskoků (EFSA 2008). Naopak v našich pokusech takové rozdíly nebyly pozorovány. Větší úmrtnost chvostoskoků *F. candida* byla zaznamenána při použití čisté látky. Lze předpokládat, že aditivní látky ve formulaci POR nějakým způsobem inhibovaly funkci účinné látky, nebo rozdílné koncentrace a podmínky během pokusů (teplota, substrát) mohly ovlivnit fyzické a chemické vlastnosti látek. V porovnání s dalším neonikotinoidem thiaklopidem byl imidaklopid více toxický. EC_{50} imidaklopidu bylo stanoveno v rozmezí 0,14 – 0,598 mg/kg s. p., naproti tomu thiaklopid v rozmezí desetkrát větším mezi 1,5 – 3,3 mg/kg s. p. (Reynolds 2008; van Gestel et al. 2017). Tomu odpovídá i výsledek v této práci. Při aplikaci thiaklopidu do půdy nebyl v daných koncentracích (1,5625, 12,5, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ s. p.) pozorován žádný statisticky významný vliv na mortalitu chvostoskoků. Další zajímavé experimenty by mohly zkoumat vliv POR na symbiotickou bakterii rodu *Wolbachia* sp., která ovlivňuje rozmnožování nejen chvostoskoků, ale i dalších členovců (Werren et al. 1995; Bourtzis & O'Neill 1998). Stálo by také za to, aby do budoucna byly provedeny další podrobnější testy

u všech POR na proteinové úrovni, pozorování dýchání ve speciálních komůrkách a zkoumání pohybu a chování pomocí speciálních kamer, jako v případě čmeláků (Crall et al. 2018).

Také rostliny včetně samotných plodin patří mezi poměrně přehlížené necílové organismy. Rezidua pesticidů a jejich metabolity se mohou uvolňovat do okolí z ošetřených částí rostlin i po mnoha letech od aplikace (Benton et al. 2015) a negativně ovlivnit vnitřní pochody rostlin. Významným problémem jsou rezidua herbicidů v půdě u následných plodin (Jursík & Soukup 2019) a aplikované insekticidy, které ovlivňují fyziologické procesy samotných rostlin. Neonikotinoidy imidakloprid a thiamethoxam významně ovlivnily hormony růstu a geny, které slouží k obraně před škůdci a patogeny (Wulff et al. 2019). Proto je nesmírně důležité, zaměřit se podrobněji na fyziologii rostlin po kontaktu s aplikovaným POR. Pro tuto práci byla zvolena jedna z nejvíce pěstovaných plodin v Česku, řepka olejka (ČSÚ 2019a). Tato plodina je velmi náročná na výživu a ochranu proti patogenům, škůdcům a plevelům (Eurostat 2018; USDA 2018). V minulosti byly v Evropské unii používány neonikotinoidní insekticidy na ochranu před jejími škůdci. Protože bylo prokázáno, že mají negativní vliv na včely a další opylovače, byly nejprve zakázány jako mořidla, později i při venkovních aplikacích. Dnes se mohou využívat pouze ve sklenících (European Commission 2016c; European Commission 2016). Tyto látky se systemicky dostávají do rostliny a cirkulují všemi rostlinnými pletivy. Škůdci, kteří napadnou danou rostlinu, umírají po konzumaci jejich pletiv (Krupke et al. 2012). Avšak kontakt necílových organismů s těmito pletivy může způsobit různé problémy. Příkladem mohou být již zmiňovaní opylovači, kteří navštěvují květy řepky olejky pro její pyl a nektar (Tison 2016; Krupke et al. 2012; Stanley et al. 2015). Dalšími z nich mohou být draví roztoči, kteří se živí nejen roztoči, ale také pylem rostlin (Yu & Byers 1993) a samotná rostlina (Wulff et al. 2019).

V této práci byla řepka pěstována ve skleníku. K řepce byl aplikován neonikotinoid thiakloprid ve formulaci Biscaya ve dvou rozdílných koncentracích 250 a 2500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ s. p., celkem v 5 opakováních. Koncentrace byly zvoleny z modelového pokusu s imidaklopridem (Seifrtova et al. 2017), aby bylo možné sledovat distribuci látky v rostlině. Bylo pozorováno, že se zvyšující se dávkou thiaklopridu, se látka akumulovala především v kořenech oproti listům řepky. Bylo by zajímavé zjistit množství koncentrace thiaklopridu v pylu a následně provést experimenty s necílovými organismy, kteří se jím živí (včely, draví roztoči,

parazitoidi rostlinných škůdců). Ačkoliv v kontrolních rostlinách neměly být detekovány žádné účinné látky POR, bylo nalezeno malé množství thiaklopridu. Vysvětlením může být, že nemořená semena řepky obsahovala stopy thiaklopridu, který byl pravděpodobně použit během předešlého pěstování. Thiaklopid se pravděpodobně nakumuloval v semenech přes generaci. Látka se nemohla dostat ke kontrolním rostlinám během aplikace přípravku Biscaya k ostatním rostlinám pokusu, protože v půdě nebylo detekováno žádné množství této látky. Součástí dalších experimentů by mohlo být pozorování kumulace POR uvnitř tvorby semen řepky. Během práce byly také provedeny experimenty s ozimou řepkou olejkou a přípravkem Biscaya. Tento pokus měl sledovat vliv thiaklopridu na proteinové úrovni a následné změny ve fyziologii rostliny. Pro časovou náročnost zpracování vzorků bohužel nebyly experimenty zařazeny do této práce.

Jelikož byly v rámci této diplomové práce pozorovány negativní účinky POR na necílové organismy, je pro budoucí generace nezbytné snížit jejich nadměrné používání. Lze tomu zabránit již při registraci POR a předejít tak rizikům ex post při využití moderních vysokokapacitních metod, jako jsou OMICs (Erban et al. 2016). Dále lze zvolit vhodnou metodu pěstování rostlin. Jednou z možností je snížení rozsáhlých ploch monokultur ve prospěch menších druhově rozmanitých parcel, které mohou zajistit více potenciálních predátorů a parazitoidů škůdců plodin (Lichtenberg 2017). Dalšími možnostmi, které mohou pomoci, jsou zavedení systému pěstování "Pasture cropping" (Seis 2006a) a zvolení integrované ochrany rostlin (EISA 2012; Rana 2013). Dalším velkým problémem je vysoký únik POR převážně během aplikace přípravků na ochranu rostlin. V průměru dosáhne cílového škůdce méně než 0,1 % (Pimentel 1995), Tento problém můžeme omezit vhodnou aplikací látek. Dodržovat předepsanou dávku pesticidu, využít systému precizního zemědělství a proti-úletových trysek (správný tlak a velikost kapek postřiku). Důležité je také dodržovat zóny v oblasti vodních zdrojů a načasovat správný termín aplikace. To znamená v bezvětří, ráno nebo večer (Matthews 2008).

7. Závěr

Výsledky diplomové práce potvrzují, že testované účinné látky POR ovlivňují mortalitu půdního chvostoskoka *F. candida*. V průběhu byly změněny podmínky experimentů, proto porovnávané výsledky mohou být ovlivněny rozdílnou teplotou a použitým substrátem. Statisticky významný vliv ($p \leq 0,05$) byl pozorován převážně při aplikaci účinných látek acetochlor, imidaklopid a alachlor. U účinné látky thiaklopid a u POR Confidor a Biscaya nebylo prokázáno v daných dávkách a podmínkách, že by statisticky významně ovlivňovaly chování nebo úmrtnost chvostoskoků. Z výsledků také vyplývá, že se imidaklopid chová velmi nepředvídatelně. Menší koncentrace měly výrazně větší vliv na úmrtnost v porovnání s koncentracemi desetkrát až stokrát většími. To může být vysvětleno z dříve publikovaných článků zpožděným a kumulativním vlivem imidaklopidu na včely a čmeláky. Bylo také zjištěno, že čistá účinná látka imidaklopid má větší vliv na úmrtnost v porovnání s imidaklopidem v přípravku Confidor 200 OD. Lze předpokládat, že aditivní látky ve formulaci POR nějakým způsobem inhibují funkci účinné látky. Do budoucna by bylo zajímavé pozorovat podrobněji vliv účinné látky imidaklopidu v různých koncentracích na proteinové úrovni chvostoskoků, v rozdílných teplotách a na různých substrátech. Další zajímavé experimenty by mohly zkoumat vliv POR na symbiotickou bakterii rodu *Wolbachia*, která ovlivňuje rozmnožování chvostoskoků. Tyto experimenty by mohly být předmětem dalších prací.

Výsledky sledování distribuce thiaklopidu po artificiální aplikaci POR Biscaya k ozimé řepce olejce prokazují větší kumulaci thiaklopidu v kořenech oproti zeleným částem. Zajímavým zjištěním bylo nalezení malého množství účinné látky thiaklopid v kontrolních rostlinách, a to i přesto, že byla použita nemořená semen. Stopy této účinné látky se do semen dostaly pravděpodobně z předešlého pěstování. Další experimenty by mohly sledovat kumulaci účinné látky v pylu a semenech rostliny při aplikaci reálných dávek POR a jejich vliv na další necílové organismy (včely, dravé roztoče, parazitoidy, půdní organismy) a na změnu vnitřních procesů rostliny viditelné na proteinové úrovni.

8. Seznam literatury

- Agrios GN. 2005. Plant Pathology, 5th edition. Elsevier Academic Press, Burlington, Massachusetts, United States of America.
- Akeju TO. 2014. Assessment of the effects of the neonicotinoids thiacloprid and acetamiprid on soil fauna [MSc. Thesis]. Faculty of Science and Technology, University of Coimbra, Portugal.
- Aktar W, Sengupta D, Chowdhury A. 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology* **2**(1):1-12.
- Alves PRL, Cardoso EJB, Martines AM, Sousa JP, Pasini A. 2014. Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **105**:65–71.
- Aparicio VC, De Gerónimo E, Marino D, Primost J, Carriquiriborde P, Costa JL. 2013. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere* **93**(9):1866-1873.
- Arregui MC, Lenardón A, Sanchez D, Maitre MI, Scotta R, Enrique S. 2003. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. *Pest Management Science* **60**(2):163-166.
- Attaran A, Maharaj R. 2000. Doctoring malaria, badly: the global campaign to ban DDT. DDT for malaria control should not be banner. *BMJ* **321**(7273):1403-1405.
- Balbuena MS, Tison L, Hahn M-L, Greggers U, Menzel R, Farina WM. 2015. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *Journal of Experimental Biology* **218**(17):2799-2805.
- Baranyk P, Fábry A, Nerad D, Kuchtová P, Koprna R, Soukup J, Dostálová J, Kazda J, Balík J, Šaroun J, Škeřík J, Markytán P, Humpál J, Volf M. 2007. Řepka: pěstování, využití, ekonomika. Profi Press, Praha, Česko.
- Baranyk P, Balík J, Kazda J, Markytán P, Šaroun J, Zelený V, Volf M, Havel J, Hájková M, Lošák T, Plachká E, Vrbovský V, Zehnálek P, Richter R, Májek B, Švanc J, Štranc D, Šmirous P, Stražil Z, Škeřík J. 2010. Olejniny. Profi Press, Praha, Česko.

- Barzman M, Bàrberi P, Birch ANE, Boonekamp P, Dachbrodt-Saaydeh S, Graf B, Hommel B, Jensen JE, Kiss J, Kudsk P, Lamichhane JR, Messéan A, Moonen A-C, Ratnadass A, Ricci P, Sarah J-L, Sattin M. 2015. Eight principles of integrated pest management. *Agronomy for Sustainable Development* **35**(4):1199-1215.
- Bečka D, Vašák J, Zukalová H, Mikšík V. 2007. Řepka ozimá: pěstitelský rádce. Kurent, Praha, Česko.
- Benton EP, Grant JF, Webster RJ, Nichols RJ, Cowles RS, Lagalante AF, Coots CI. 2015. Assessment of imidacloprid and its metabolites in foliage of Eastern hemlock multiple years following treatment for hemlock woolly adelgid, *Adelges tsugae* (Hemiptera: Adelgidae), in forested conditions. *Journal of Economic Entomology* **108**(6):2672–2682.
- Birch ANE, Begg GS, Squire GR. 2011. How agro-ecological research helps to address food security issues under new IPM and pesticide reduction policies for global crop production systems. *Journal of Experimental Botany* **62**(10):3251-3261.
- Blacquièrè T, Smaghe G, van Gestel CAM, Mommaerts V. 2012. Neonicotinoids in bees: review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology* **21**(4):973-992.
- Boocock MR, Coggins JR. 1983. Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase inhibition by glyphosate. *FEBS Letters* **154**(1):127-133.
- Bourtzis K, O'Neill S. 1998. *Wolbachia* infections and arthropod reproduction. *Bioscience* **48**(4):287-293.
- Boutin C, Strandberg B, Carpenter D, Mathiassen SK, Thomas PJ. 2014. Herbicide impact on non-target plant reproduction: what are the toxicological and ecological implications? *Environmental Pollution* **185**:295-306.
- Bovey RW, Miller FR, Baur JR. 1975. Preharvest desiccation of grain *Sorghum* with glyphosate. *Agronomy Journal* **67**(5):618-621.
- Böhringer M, Kulíková V, Günter J. 1996. Ochrana rostlin. Blesk, Ostrava, Česko.

- Carson R. 1962. *Silent Spring*. Houghton Mifflin, Cambridge, Massachusetts, United States of America.
- Crall JD, Switzer CM, Oppenheimer RL, Versypt ANF, Dey B, Brown A, Eyster M, Guérin C, Pierce NE, Combes SA, de Bivort BL. 2018. Neonicotinoid exposure disrupts bumblebee nest behavior, social networks, and thermoregulation. *Science* **362**(6415):683-686.
- Czarnetzki AB, Tebbe CC. 2004. Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia* in Collembola. *Environmental Microbiology* **6**(1):35-44.
- Damalas CA, Eleftherohorinos IG. 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **8**(5):1402-1419.
- Deb N, Das S. 2013. Chlorpyrifos toxicity in fish: a review. *Current World Environment* **8**(1):77-84.
- Defarge N, Takács E, Lozano VL, Mesnage R, Spiroux de Vendômois J, Séralini G-E, Székács A. 2016. Co-formulants in glyphosate-based herbicides disrupt aromatase activity in human cells below toxic levels. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **13**(3):(264) DOI: 10.3390/ijerph13030264.
- Duke SO, Scheffler BE, Boyette D, Lydon J. 2003. Herbicides, biotechnology for control of weeds. Pages 733-742 in Plimmer JR, Gammon DW, Ragsdale NN, editors. *Encyclopedia of Agrochemicals*. Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey, United States of America.
- Dutt MJ, Lee KH. 2000. Proteomic analysis. *Current Opinion in Biotechnology* **11**(2):176-179.
- EC (European Commission). 2002. Review report for the active substance glyphosate. Pages 1-56 in Annex I of Directive 91/414/EEC, European Union.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2008. Conclusion regarding the peer review of the active substance imidacloprid. *EFSA Scientific Report* **148**:1-120.

- EISA (European Initiative for Sustainable Development in Agriculture). 2012. European Integrated Farming Framework. A European definition and characterisation of Integrated Farming (IF) as guideline for sustainable development of agriculture. EISA. Haslemere, United Kingdom.
- Erbán T, Kamler M, Šulcová K, Titěra D, Seifrtová M, Riddellová K, Hubert J, Hortová B, Halešová T. 2016. Hodnocení vlivu xenobiotik na včely v průběhu ontogeneze metodami proteomické, metabolomické a genomické analýzy. Certifikovaná metodika. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, Česko.
- Erbán T, Trojaková L, Kamler M, Titěra D. 2017. Detection of the desiccant and plant growth regulator chlormequat in honeybees and comb pollen. *Veterinární Medicína* **62**(11):596-603.
- Erbán T, Stehlik M, Sopko B, Markovic M, Seifrtová M, Halesová T, Kovaricek P. 2018. The different behaviors of glyphosate and AMPA in compost-amended soil. *Chemosphere* **207**:78-83.
- Erbán T, Sopko B, Talacko P, Harant K, Kadliková K, Halesová T, Riddellová K, Pekas A. 2019. Chronic exposure of bumblebees to neonicotinoid imidacloprid suppresses the entire mevalonate pathway and fatty acid synthesis. *Journal of Proteomics* **196**:69-80.
- EU (European Union). 2009. ANNEX III. General principles of integrated pest management. Directive 2009/128/EC of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides. Pages L 309/85. *Official Journal of European Union* **52**:L309/1-L309/87.
- Evropská komise. 2011. Nařízení komise (EU) č. 544/2011 ze dne 10. června 2011, kterým se provádí nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1107/2009, pokud jde o požadavky na údaje o účinných látkách. Brusel, Belgie.
- Fehr W. 1991. Principles of Cultivar Development: Theory and Technique. Macmillian Publishing Company, Ames, Iowa, United States of America.
- Fountain MT, Hopkin SP. 2005. *Folsomia candida* (Collembola): a “standard” soil arthropod. *Annual Review of Entomology* **50**:201-222.

- Fox GL, Coyle-Thompson CA, Bellinger PF, Cohen RW. 2007. Phototactic responses to ultraviolet and white light in various species of Collembola, including the eyeless species, *Folsomia candida*. *Journal of Insect Science* **7**(1):1-12.
- Fрати F, Negri I, Fanciulli PP, Pellecchia M, De Paola V, Scali V, Dallai R. 2004. High levels of genetic differentiation between *Wolbachia*-infected and non-infected populations of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae). *Pedobiologia* **48**:461-468.
- Graham F. 1970. *Silent Spring*. Houghton Mifflin Company, Cambridge, Massachusetts, United States of America.
- Gaupp-Berghausen M, Hofer M, Rewald B, Zaller JG. 2015. Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. *Scientific Reports* **5**:12886. DOI: 10.1038/srep12886.
- Goldsborough LG, Brown DJ. 1988. Effect of Glyphosate (Roundup[®] formulation) on periphytic algal photosynthesis. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **41**:253-260.
- Goulding KWT, Murray PJ, Sohi SP, Gilliam LM, Williams JK, Clark IM, Hirsch PR. 2010. Soil without plants: the consequences for microorganisms and mesofauna. Pages 134-137 in 19th World Congress of Soil Science. *Soil Solutions for a Changing World*. Brisbane, Australia.
- Goulson D. 2013. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology* **50**(4):977-987.
- Greim H, Saltmiras D, Mostert V, Strupp C. 2015. Evaluation of carcinogenic potential of the herbicide glyphosate, drawing on tumor incidence data from fourteen chronic/carcinogenicity rodent studies. *Critical Reviews in Toxicology* **45**(3):185-208.
- Guyton KZ, Loomis D, Grosse Y, El Ghissassi F, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Scoccianti C, Mattock H, Straif K. 2015. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *Lancet Oncology* **16**(5):490-491.
- Helgason BL, Walley FL, Germida JJ. 2010. No-till soil management increases microbial biomass and alters community profiles in soil aggregates. *Applied Soil Ecology* **46**(3):390-397.

- Hendrix PF, Crossley DA Jr, Blair JM, Coleman DC. 1990. Soil biota as components of sustainable agroecosystems. Pages 637–654 in Edwards CA, Lal R, Madden P, Miller RH, House G, editors. Sustainable Agricultural Systems. Soil and Water Conservation Society, Ankeny, Iowa, United States of America.
- Hopkin SP. 1997. Biology of the Springtails (Insecta: Collembola), 1st edition. Oxford University Press, Oxford, United Kingdom.
- Hussain S, Siddique T, Arshad M, Saleem M. 2009. Bioremediation and phytoremediation of pesticides: recent advances. Critical Reviews in Environmental Science and Technology **39**(10):843-907.
- Hussain S, Hartley CJ, Shettigar M, Pandey G. 2016. Bacterial biodegradation of neonicotinoid pesticides in soil and water systems. FEMS Microbiology Letters **363**(23):1-13.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). 1991. DDT and associated compounds. Pages 179-249 in IARC, editors. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans – Volume 53 Occupational Exposures in Insecticide Application, and Some Pesticides. IARC, Lyon, France.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). 2017. Glyphosate. Pages 321-412 in Baldi I, Blair A, Calaf GM, Egeghy PP, editors. Some Organophosphate Insecticides and Herbicides. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC, Lyon, France.
- Idinger J. 2002. Laboratory studies to detect effects of selected plant protection products on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae). Journal of Plant Diseases and Protection, **109**(5):512-529.
- Isenring R. 2010. Pesticides reduce biodiversity. Pesticides News **88**:4-7.
- Ives AR, Klug JL, Gross K. 2000. Stability and species richness in complex communities. Ecology Letters **3**(5):399-411.
- Jastrow JD. 1996. Soil aggregate formation and the accrual of particulate and mineral-associated organic matter. Soil Biology and Biochemistry **28**:665-676.

- Jeschke P, Nauen R, Schindler M, Elbert A. 2010. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**(7):2897-2908.
- Jursík M, Soukup J. 2019. Rezidua herbicidů v půdě a jejich vliv na následné plodiny. *Agrotip* **2019**(1-2):14-16.
- Kazda J, Mikulka J, Prokinová E. 2010. *Encyklopedie ochrany rostlin*. Profi Press, Praha, Česko.
- Kearns CA, Inouye DW. 1997. Pollinators, flowering plants, and conservation biology. *Bioscience* **47**(5):297-307.
- Kishore G, Shah D, Padgett S, della-Cioppa G, Gasser C, Hironaka DReC, Taylor M, Wibbenmeyer J, Eichholtz D, Hayford M, Hoffmann N, Delannay X, Horsch R, Klee H, Rogers S, Rochester D, Brundage L, Sanders P, Fraley RT. 1988. 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase, from biochemistry to genetic engineering of glyphosate tolerance. Pages 37-48 in Hedlin et al., editors. *Biotechnology for Crop Protection*. American Chemical Society, Washington, District of Columbia, United States of America.
- Kluser S, Peduzzi P. 2007. *Global Pollinator Decline: A Literature Review*. UNEP/GRID-Europe, Geneva, Switzerland.
- Klümper W, Qaim M. 2014. A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. *PloS one* **9**(11):e111629. DOI:10.1371/journal.pone.0111629.
- Knudsen MT, Halberg N, Olesen JE, Byrne J, Iyer V, Toly N. 2006. Global trends in agriculture and food systems. Pages 1-48 in Halberg N, Alroe HF, Knudsen MT, editors. *Global Development of Organic Agriculture-Challenges and Prospects*. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom.
- Krogh PH. 2009. Toxicity testing with the collembolans *Folsomia fimetaria* and *Folsomia candida* and the results of a ringtest. Danish Environmental Protection Agency, Miljøstyrelsen, Denmark.
- Krupke CH, Hunt GJ, Eitzer BD, Andino G, Given K. 2012. Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. *PLoS ONE* **7**(1):(e29268) DOI: 10.1371/journal.pone.0029268.

- Krüger M, Schledorn P, Schrödl W, Hoppe H-W, Lutz W, Shehata AA. 2014. Detection of glyphosate residues in animals and humans. *Journal of Environmental and Analytical Toxicology* **4**(2):(210) DOI: 10.4172/2161-0525.1000210.
- Kwiatkowska M, Huras B, Bukowska B. 2014. The effect of metabolites and impurities of glyphosate on human erythrocytes (*in vitro*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* **109**:34-43.
- Laatikainen T, Heinonen-Tanski H. 2002. Mycorrhizal growth in pure cultures in the presence of pesticides. *Microbiological Research* **157**(2):127-137.
- Leu A. 2007. Organics and soil carbon: Increasing soil carbon, crop productivity and farm profitability. Pages 19-26 in *Managing the Carbon Cycle Katanning Workshop*. Mossman, Australia.
- Lichtenberg EM, Kennedy CM, Kremen C, Batary P, Berendse F, Bommarco R et al. 2017. A global synthesis of the effects of diversified farming systems on arthropod diversity within fields and across agricultural landscapes. *Global Change Biology*, **23**(11):4946-4957.
- Liong PC, Hamzah WP, Murugan V. 1988. Toxicity of some pesticides towards freshwater fishes. *Malaysian Agriculture Journal* **54**(3):147-156.
- Lorraine-Colwill DF, Hawkes TR, Williams PH, Warner SAJ, Sutton PB, Powles SB, Preston C. 1999. Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum*. *Pesticide Science* **55**(4):489-491.
- Ma Y, Zhai S, Mao SY, Sun SL, Wang Y, Liu ZH, Dai YJ, Yuan S. 2014. Co-metabolic transformation of the neonicotinoid insecticide imidacloprid by the new soil isolate *Pseudoxanthomonas indica* CGMCC 6648. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* **49**(9):661-670.
- Macek KJ, Korn S. 1970. Significance of the food chain in DDT accumulation by fish. *Journal of the Fisheries Board of Canada* **27**(8):1496-1498.
- Mahmood I, Imadi SR, Shazadi K, Gul A, Hakeem KR. 2016. Effects of pesticides on environment. Pages 253-269 in Hakeem, KR, Akhtar MS, Abdullah SNA, editors. *Plant, Soil and Microbes*. Springer, Cham, Switzerland.

- Marletto F, Patetta A, Manino A. 2003. Laboratory assessment of pesticide toxicity to bumblebees. *Bulletin of Insectology* **56**(1):155-158.
- Matthews GA. 2008. Pesticide application methods. 3rd edition. Blackwell Science, London, United Kingdom.
- Matušková L, Erban T. 2013. Desikace je možný zdroj otravy včel. *Včelařství* **66**(12):406-407.
- McGregor SE. 1976. Insect Pollination of Cultivated Crop Plants. Agricultural Research Service, US Department of Agriculture. Washington, District of Columbia, United States of America.
- Miles CJ, Moye HA. 1988. Extraction of glyphosate herbicide from soil and clay minerals and determination of residues in soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **36**(3):486-491.
- Mink PJ, Mandel JS, Lundin JI, Scurman BK. 2011. Epidemiologic studies of glyphosate and noncancer health outcomes: a review. *Regulatory Toxicology Pharmacology* **61**(2):172-84.
- Motta EVS, Raymann K, Moran NA. 2018. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**(41):10305-10310.
- Nauen R, Reckmann U, Armbrorst S, Stupp H-P, Elbert A. 1999. Whitefly-active metabolites of imidacloprid: biological efficacy and translocation in cotton plants. *Pest Management Science* **55**(3):265-271.
- Newman MM, Hoilett N, Lorenz N, Dick RP, Liles MR, Ramsier C, Kloepper JW. 2016. Glyphosate effects on soil rhizosphere-associated bacterial communities. *Science of the Total Environment* **543**:155-160.
- Novák V, Káš V, Nosek J. 1959. Živěna půdní (edafon). Československá akademie zemědělských věd ve Státním zemědělském nakladatelství, Praha, Česko.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 2009. Test No. 232: Collembolan Reproduction Test in Soil, OECD Publishing, Paris, France, DOI: 10.1787/9789264076273-en.

- Paz-y-Miño C, Sánchez ME, Arévalo M, Muñoz MJ, Witte T, De-la-Carrera GO, Leone PE. 2007. Evaluation of DNA damage in an Ecuadorian population exposed to glyphosate. *Genetics and Molecular Biology* **30**(2):456-460.
- Pell M, Stenberg B, Torstensson L. 1998. Potential denitrification and nitrification tests for evaluation of pesticide effects in soil. *Ambio A Journal of the Human Environment* **27**(1):24-28.
- Pike N, Kingcombe R. 2009. Antibiotic treatment leads to the elimination of *Wolbachia* endosymbionts and sterility in the diploid collembolan *Folsomia candida*. *BMC Biology* **7**:(54). DOI: 10.1186/1741-7007-7-54.
- Pimentel D. 1995. Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and environmental Ethics* **8**(1):17-29.
- Powles S. 2014. Global herbicide resistance challenge. *Pest Management Science* **70**:1305.
- Raman R. 2017. The impact of Genetically Modified (GM) crops in modern agriculture: A review. *GM Crops and Food* **8**(4):195-208.
- Rana SS, Chopra P. 2013. Integrated Farming System. Department of Agronomy, College of Agriculture, CSK Himachal Pradesh Krishi Vishwavidyalaya, Palampur, India.
- Reynolds WN. 2008. Imidacloprid insecticide treatments for Hemlock woolly adelgid, *Adelges tsugae* Annand (Hemiptera: Adelgidae), Affect a non-target soil arthropod community surrounding Eastern Hemlock, *Tsuga canadensis* (L.) Carriere [MSc. Thesis]. University of Tennessee, Knoxville, United States of America.
- Rillig MC. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science* **84**(4):355-363.
- Robinson RA. 1996. Return to resistance: breeding crops to reduce pesticide dependence. International Development Research Centre, Ottawa, Canada.
- Rome A. 2010. The Genius of Earth Day. *Environmental History* **15**(2):194-205.
- Rondeau G, Sánchez-Bayo F, Tennekes HA, Decourtye A, Ramírez-Romero R, Desneux N. 2014. Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. *Scientific Reports* **4**(5566):1-8.

- Rusek J. 2000a. Živá půda - Bohatost a rozmanitost života v půdě. *Živa* **48**(1):25-27.
- Rusek J. 2000b. Živá půda – Diverzita a funkce půdní mikroflóry. *Živa* **48**(2): 73-76.
- Rusek J. 2000c. Živá půda – Ekofyziologie půdních živočichů a voda. *Živa* **48**(4):169-172.
- Rusek J. 2000d. Živá půda – Bez života není půda více půdou. *Živa* **48**(6):267-670.
- Russell GE. 1978. Plant breeding for pest and disease resistance: studies in the agricultural and food sciences. Butterworth-Heinemann. Newcastle upon Tyne, United Kingdom.
- Santos A, Flores M. 1995. Effects of glyphosate on nitrogen fixation of free-living heterotrophic bacteria. *Letters in Applied Microbiology* **20**(6):349-352.
- Seastedt TR. 1984. The role of microarthropods in decomposition and mineralization processes. *Annual Review of Entomology* **29**(1):25-46.
- Seifrtova M, Halesova T, Sulcova K, Riddelova K, Erban T. 2017. Distributions of imidacloprid, imidacloprid-olefin and imidacloprid-urea in green plant tissues and roots of rapeseed (*Brassica napus*) from artificially contaminated potting soil. *Pest Management Science* **73**(5):1010-1016.
- Seis C. 2006a. Pasture-cropping: a land management technique. Pages 59-61 in Kristiansen P, Kemp C, editors. *Organics – Solutions to Climate Change*. Proceedings 3rd OFA national organic conference. OFA (Organic Federation of Australia), Mossman, Queensland, Australia.
- Seis C. 2006b. Pasture cropping as a means to managing land. *Australian Organic Journal* **66**:42-43.
- Shah DM, Rogers SG, Horsch RB, Fraley RT. 1993. Glyphosate-resistant plants. Patent No. 5,188,642. United States Patent and Trademark Office, Washington, District of Columbia, United States of America.
- Schreck E, Geret F, Gontier L, Treilhou M. 2008. Neurotoxic effect and metabolic responses induced by a mixture of six pesticides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa nocturna*. *Chemosphere* **71**(10):1832-1839.

- Shivanandappa T, Rajashekar Y. 2014. Mode of action of plant-derived natural insecticides. Pages 323-345 in Singh D. editors. *Advances in Plant Biopesticides*. Springer, New York City, New York, United States of America.
- Schulze EF, Beck E, Muller-Hohenstein K. 2005. Environment as stress factor: stress physiology of plants. Pages 7-21 in Czeschlik D, editors. *Plant Ecology*, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany.
- Schüßler A, Schwarzott D, Walker C. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research* **105**(12):1413-1421.
- Simões T, Novais SC, Natal-da-Luz T, Devreese B, de Boer T, Roelofs D, Sousa JP, van Straalen NM, Lemos MF. 2018. An integrative omics approach to unravel toxicity mechanisms of environmental chemicals: effects of a formulated herbicide. *Scientific Reports* **8**(1):11376 DOI: 10.1038/s41598-018-29662-6.
- Smith SE, Read DJ. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, San Diego, California, United States of America.
- Stanley DA, Smith KE, Raine NE. 2015. Bumblebee learning and memory is impaired by chronic exposure to a neonicotinoid pesticide. *Scientific Reports* **5**:16508.
- Swift MJ, Izac A-MN, van Noordwijk M. 2004. Biodiversity and ecosystem services in agricultural landscapes — are we asking the right questions? *Agriculture, Ecosystems and Environment* **104**(1):113-134.
- Tadeo JL, Sanchez-Brunete C, Perez RA, Fernández MD. 2000. Analysis of herbicide residues in cereals, fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A* **882**(1-2):175-191.
- Tichá K. 2001. *Biologická ochrana rostlin*. Granada Publishing, Praha, Česko.
- Tison L. 2016. Neonicotinoid insecticides impair foraging behavior, navigation, learning, and memory in honey bees (*Apis mellifera*). [Doctoral dissertation]. Freie Universität Berlin, Berlin, Germany.

- Tsui MTK, Chu LM. 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: Comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* **52**:1189–1197.
- Ulukan H. 2009. The evolution of cultivated plant species: classical plant breeding versus genetic engineering. *Plant Systematics and Evolution* **280**(3-4):133-142.
- Urban J, Vašák J, Pulkrábek J, Pazderů K, Faměra O, Capouchová I, Tomášek J, Adamčík J, Bečka D, Štranc P, Dvořák P, Kuchtová P. 2014. *Zemědělské systémy II. (Rostlinná produkce)*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha, Česko.
- US EPA (US Environmental Protection Agency). 1993. RED facts: glyphosate. Pages 1-7 in *Prevention, Pesticides and Toxic Substances*. United States of America.
- Úřední věstník Evropské unie. 2013. Sdělení Komise v rámci provádění nařízení Komise (EU) č. 284/2013 ze dne 1. března 2013, kterým se stanoví požadavky na údaje o účinných látkách v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1107/2009 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh. 2013/C 95/02.
- van der Werf HMG. 1996. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **60**(2-3):81-96.
- van Gestel CAM, de Lima e Silva C, Lam T, Koekkoek JC, Lamoree MH, Verweij RA. 2017. Multigeneration toxicity of imidacloprid and thiacloprid to *Folsomia candida*. *Ecotoxicology* **26**(3):320-328.
- Werren JH, Zhang W, Guo LR. 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences* **261**:55-71.
- West TF, Campbell GA. 1946. *DDT the synthetic insecticide*. Chapman And Hall Ltd, London, United Kingdom.
- Wiesmann R. 1947. Untersuchungen über das physiologische Verhalten von *Musca domestica* L. verschiedener Provenienzen. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* **20**(5):484-504.

- Wigglesworth VB. 1945. A case of DDT poisoning in man. *British Medical Journal* **1**(4397):517.
- Wilby A, Thomas MB. 2002. Natural enemy diversity and pest control: patterns of pest emergence with agricultural intensification. *Ecology Letters* **5**(3):353-360.
- Williams GM, Kroes R, Munro IC. 2000. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **31**:117-165.
- Williams AL, Watson RE, DeSesso JM. 2012. Developmental and reproductive outcomes in humans and animals after glyphosate exposure: a critical analysis. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* **15**(1):39-96.
- Woodwell GM, Wurster CF Jr, Isaacson PA. 1967. DDT residues in an east coast estuary: a case of biological concentration of a persistent insecticide. *Science* **156**(3776):821-824.
- Wright SF, Green VS, Cavigelli MA. 2007. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. *Soil and Tillage Research* **94**(2):546-549.
- Wright SF, Starr JL, Paltineanu IC. 1999. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Science Society of America Journal* **63**(6):1825-1829.
- Wright SF, Upadhyaya A. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science* **161**:575-586.
- Wright SF, Upadhyaya A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* **198**:97-107.
- Wulff JA, Kiani M, Regan K, Eubanks MD, Szczepaniec A. 2019. Neonicotinoid insecticides alter the transcriptome of soybean and decrease plant resistance. *International Journal of Molecular Sciences* **20**(3):783-799.

Yu DS, Byers JR. 1993. Natural enemies of pests associated with prairie crops. Agriculture Canada Publication, Lethbridge, Alberta, Canada.

Zádorová T, Penížek V, Šefrna L, Drábek O, Mihaljevič M, Volf Š, Chuman T. 2013. Identification of Neolithic to Modern erosion–sedimentation phases using geochemical approach in a loess covered sub-catchment of South Moravia, Czech Republic. *Geoderma* **195**:56-69.

Zhang WJ. 2018. Global pesticide use: Profile, trend, cost/benefit and more. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences* **8**(1):1-27.

Zoller O, Rhyh P, Rupp H, Zarn JA, Geiser C. 2018. Glyphosate residues in Swiss market foods: monitoring and risk evaluation. *Food Additives and Contaminants: Part B* **11**(2):83-91.

Internetové zdroje

Bellinger PF, Christiansen KA, Janssens F. 2018. Checklist of the Collembola: note on the collembolan ordinal morphogenetic relationships. Available from: <http://www.collembola.org> (accessed August 2018).

Bruce SE, Howden SM, Graham S, Seis C, Ash J, Nicholls AO. 2005. Pasture-cropping: effect on biomass, total cover, soil water and nitrogen. In 'Grassland conservation and production: both sides of the fence. In Proceedings of the 4th Stipa Conference. Burra, South Australia. Available from: <http://pasturecropping.com/14-articles> (accessed December 2018).

ČR (Česká republika). 2012. Vyhláška č. 205/2012 Sb., o obecných zásadách integrované ochrany rostlin. Available from: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-205#f4732827> (accessed November 2018).

ČR (Česká republika). 2014. § 5 zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů. Available from: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-326#p5> (accessed November 2018).

- ČSÚ (Český statistický úřad). 2019a. Osevní plochy zemědělských plodin k 31. 05. 2018. Available from: https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystup-objekt&z=T&f=TABULKA&skupId=346&katalog=30840&pvo=ZEM02A&pvo=ZEM02A&evo=v527_!_ZEM02A-2018_1 (accessed January 2019).
- ČSÚ (Český statistický úřad). 2019b. Odhady sklizní – září 2018. Available from: <https://www.czso.cz/csu/czso/cris/odhady-sklizni-zari-2018> (accessed January 2019).
- US EPA (United States Environmental Protection Agency). 1972. DDT Ban Takes Effect. Available from: <https://archive.epa.gov/epa/aboutepa/ddt-ban-takes-effect.html> (accessed December 2018).
- EAGRI. 2018. Přílohy: Žně 2018 – celá ČR. Available from: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/roslinna-vyroba/roslinne-komodity/obiloviny/prubeh-sklizne/sklizen-2018/postup-sklizne-obilovin-a-repky-vcr-k20.html> (accessed January 2019).
- EAGRI. 2019a. II. Odhad pěstování cukrové řepy a výroby cukru v kampani 2018/2019. Available from: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/roslinna-vyroba/roslinne-komodity/cukrova-repa-a-cukr/statistika/> (accessed January 2019).
- EAGRI. 2019b. Spotřeba přípravků na ochranu rostlin v roce 2014. Available from: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/pripravky-na-or/ucinne-latky-v-por-statistika-spotreba/spotreba-pripravku-na-or/spotreba-v-jednotlivych-letech/> or http://eagri.cz/public/web/file/436848/celek_2014_CS.pdf (accessed January 2019).
- EAGRI. 2019c. Spotřeba přípravků na ochranu rostlin v roce 2017. Available from: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/pripravky-na-or/ucinne-latky-v-por-statistika-spotreba/spotreba-pripravku-na-or/spotreba-v-jednotlivych-letech/> or http://eagri.cz/public/web/file/587990/celek_2017_CZ.pdf (accessed January 2019).
- EAGRI. 2019d. Rostlinolékařský portál – řepka olejka (ozimá) – ochrana proti chorobám. Available from: http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22097a4ac9ec868121c8cd4d6f9a001c54%22#ior|met:097a4ac9ec868121c8cd4d6f9a001c54|kap1:choroby|kap:c horoby (accessed February 2019).

- EAGRI. 2019e. Rostlinolékařský portál – řepka olejka (ozimá) – ochrana proti škůdcům. Available from: http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22097a4ac9ec868121c8cd4d6f9a001c54%22#ior|met:097a4ac9ec868121c8cd4d6f9a001c54|kap1:skudci|kap:skudci (accessed February 2019).
- EAGRI. 2019f. Registr přípravků na ochranu rostlin – Plodina, oblast použití: řepka; Biologická funkce: fyzikální působení. Available from: <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx> (accessed February 2019).
- EAGRI. 2019g. Tiskové zprávy - Ministerstvo zemědělství výrazně omezí používání glyfosátu, od ledna zakáže jeho plošnou aplikaci. Available from: http://eagri.cz/public/web/mze/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/x2018_ministerstvo-zemedelstvi-vyrazne-omezi.html (accessed February 2019).
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2004. PP1/227(1) - Definition of a plant protection product. EPPO. Available from: <https://pp1.eppo.int/standards/PP1-227-1> (accessed December 2018).
- European Commission. 2016a. EU Pesticides database – Not approved pesticides. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN> (accessed January 2019).
- European Commission. 2016b. EU Pesticides database – Not approved pesticides: Alachlor. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=923> (accessed January 2019).
- European Commission. 2016c. EU Pesticides database – Active substance detail: Imidacloprid. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1473> (accessed January 2019).
- European Commission. 2016d. EU Pesticides database – Active substance detail: Thiamethoxam. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides->

database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1937
(accessed January 2019).

European Commission. 2016e. EU Pesticides database – Not approved pesticides: Acetochlor. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=913>
(accessed January 2019).

European Commission. 2019. Pesticides – Glyphosate. Available from: https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/glyphosate_en (accessed February 2019).

European Crop Protection. 2013. Registering plant protection products in the EU (Report). Available from:
http://www.ecpa.eu/sites/default/files/7450_Registration%20brochure_3.pdf or
<http://www.ecpa.eu/regulatory-policy-topics/registration-and-placement-pesticides-eu-market> (accessed February 2019)

Eurostat. 2018. Main annual crop statistics. Available from: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Main_annual_crop_statistics (accessed January 2019).

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2017. FAOSTAT Archive: Pesticide sales statistics. Available from: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Archive:Pesticide_sales_statistics&oldid=327059 (accessed January 2019).

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2018. FAOSTAT Pesticides Use. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize> (accessed January 2019).

Janssens F, Lawrence PN. 2018. Checklist of the Collembola: Are Collembola terrestrial Crustacea? Available from: <https://www.collembola.org/publicat/crustacn.htm>
(accessed August 2018).

Jensen JE. 2017. Perspectives on the implementation of IPM in EU — the advisory perspective. Available from: <http://www.pure-ipm.eu/node/430> (accessed August 2018).

- My Agriculture Information Bank. 2015. Merits and demerits of resistance breeding. Available from: <http://agriinfo.in/default.aspx?page=topic&superid=3&topicid=2150> (accessed January 2019)
- NPIC Product Research Online. 2019. Searching the active ingredients of pesticides. Available from: <http://npic.orst.edu/NPRO/#> (accessed January 2019).
- PubChem (U. S. National Library of Medicine). Acetochlor. 2019a. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1988#section=2D-Structure> (accessed March 2019)
- PubChem (U. S. National Library of Medicine). Alachlor. 2019b. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/alachlor#section=2D-Structure> (accessed March 2019)
- Tallman S. 2012. No-till case study, Brown's ranch: improving soil health improves the bottom line. ATTRA, National Sustainable Agriculture Information Service. Available from: <https://attra.ncat.org/viewhtml/?id=414> (accessed October 2018).
- World Bank. 2018. Agricultural land (sq.km). Available from: <https://data.worldbank.org/indicator/AG.LND.AGRI.K2?end=2016&start=1961&view=chart> (accessed January 2019).
- USDA (United States Department of Agriculture) – Foreign Agricultural Service. 2018. World Agricultural Production – Current Report. Available from: <https://www.fas.usda.gov/data/world-agricultural-production> or <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf> (accessed January 2019).

9. Seznam použitých zkratek a symbolů

| Zkratka | Název |
|-------------------|---|
| ALS inhibitory | inhibitory acetolaktát syntetázy |
| ČSÚ | český statistický úřad |
| DDT | dichlordifenyltrichlorethan |
| EC ₅₀ | half maximal effective concentration (účinná koncentrace pro 50% testovaných organismů) |
| EAGRI | portál ministerstva zemědělství |
| EFSA | European Food Safety Authority (Evropský úřad pro bezpečnost potravin) |
| EISA | European Initiative for Sustainable Development in Agriculture (Evropská iniciativa za udržitelný rozvoj v zemědělství) |
| EPPO | European and Mediterranean Plant Protection Organization (Evropská a středozevní organizace ochrany rostlin) |
| EPSPS | enolpyruvylshikimát 3-fosfát syntetáze |
| <i>F. candida</i> | <i>Folsomia candida</i> |
| FAO | Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organizace pro výživu a zemědělství) |
| IOR | integrovaná ochrana rostlin |
| IARC | International Agency for Research on Cancer (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny) |
| LC ₅₀ | lethal concentration causing 50% mortality (letální koncentrace pro 50% testovaných organismů) |
| NOEC | no observed effect concentration (nejvyšší koncentrace, která nezpůsobuje toxickou odpověď) |
| NOAEL | no observed adverse effect level (nejvyšší testovaná dávka/koncentrace látky, která nezpůsobila škodlivý účinek) |
| OECD | Organisation for Economic Co-operation and Development (Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj) |
| PEP | fosfoenolpyruvát |
| POR | prostředky na ochranu rostlin |
| S3P | shikimát 3-fosfátem |
| USDA | United States Department of Agriculture (Ministerstvo zemědělství v USA) |
| US EPA | US Environmental Protection Agency (Agentura pro ochranu životního prostředí) |
| VÚRV | Výzkumný ústav rostlinné výroby |

10. Samostatné přílohy

10.1. Seznam zkoumaných pesticidních látek a jejich metabolitů v půdě

Tabulka č. 37: Seznam sledovaných pesticidních látek a jejich metabolitů v substrátu, zemině a vodě při pokusech s chvostoskoky a řepkou olejkou

| Název látky | Název látky |
|------------------------|---------------------------|
| 6-Chloronicotinic acid | Imidacloprid urea |
| Acetamiprid | Indoxacarb |
| Acetochlor | Isoproturon |
| Aldicarb | Isoproturon-desmethyl |
| Aldicarb sulfone | Isoproturon-monodesmethyl |
| Aldicarb sulfoxide | Kresoxim-methyl |
| Amitraz | Malaoxon |
| Azoxystrobin | Malathion |
| Boscalid | Metazachlor |
| Cadusafos | Metconazole |
| Carbaryl | Methidathion |
| Carbofuran | Methiocarb |
| Carbofuran-3-hydroxy | Methiocarb sulfone |
| Chlorpyrifos | Methiocarb sulfoxide |
| Clomazone | Methomyl |
| Clothianidin | Methomyl oxime |
| Cyproconazole | Pethoxamid |
| Diazinon | Phosmet |
| Dichlorvos | Phosmet oxon |
| Dicrotophos | Phosphamidon |
| Dimethoate | Pirimicarb |
| Dimoxystrobin | Prochloraz |
| Epoxiconazole | Propoxur |
| Fenoxycarb | Pyrimethanil |
| Fipronil | Tebuconazole |
| Fipronil sulfone | Thiacloprid |
| Imidacloprid | Thiamethoxam |
| Imidacloprid olefin | |

10.2. Fotodokumentace

10.2.1. *Folsomia candida*



Fotografie č. 1 - 5: *Folsomia candida* z chovu RNDr. Vladimíra Šustry, CSc.



Fotografie č. 6: Pokus s chvostokoky – aplikace pesticidů do půdy (Alachlor, Acetochlor, Imidaklopid)

10.2.2. Řepka olejka ozimá (*Brassica napus* L. convar. *napus* forma *biennis*)



Fotografie č. 7 - 11: Pokus s řepkou olejkou – aplikace pesticidu Biscaya

10.3. Seznam použitých přístrojů, techniky, chemikálií a programů

| Produkt | Výrobce |
|---|---|
| 100 ml kádinky | Simax Czech Republic, Sklářny Kavalier, Sázava, Česko |
| 500 ml kádinky | Simax Czech Republic, Sklářny Kavalier, Sázava, Česko |
| acetochlor (produkční číslo: 33379) | Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA |
| Acquity UPLC system | UHPLC; Waters, Milford, MA, USA |
| alachlor (produkční číslo: 45316) | Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA |
| Barnstead Nanopure | Thermo Fisher, Waltham, MA, USA |
| Biscaya 240 OD | Bayer CropScience, Monheim am Rhein, Německo |
| klimabox | Pol-Eko Aparatura, Wodzisław Śląski, Polsko |
| Confidor 200 OD | Bayer CropScience, Monheim am Rhein, Německo |
| excel | Microsoft Office, USA |
| imidaklopid (produkční číslo: 37894) | Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA |
| Heto Powerdry LL3000 Freeze Dryer | Thermo Fisher, Waltham, MA, USA |
| pipety | Thermo Fisher, Waltham, MA, USA |
| plastové květináče | Plastia, Nové Veselí, Česko |
| půdní substrát | BioBizz All-Mix, Praha 9- Letňany, Česko |
| statistický software R (R version 3.5.2.) | R Foundation for Statistical Computing, Rakousko |
| sušené kvasnice – lahůdkové droždí | Country Life, Nenačovice, Česko |
| thiaklopid (produkční číslo: 37905) | Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA |
| váha | Kern & Sohn, Balingen, Německo |
| Xevo TQ-S Mass Spectrometer | Waters, Milford, MA, USA |
| víčka zkumavek 1,5ml | Eppendorf, Hamburg, Německo |
| zemina | Starý sad, VÚRV, Praha 6- Ruzyně, Česko |

10.4. Seznam tabulek, fotografií a grafů

Seznam tabulek:

- Tabulka č. 1:** Modelové organismy při ekotoxikologických testech k registraci pesticidů (Evropská komise 2011).
- Tabulka č. 2:** Přehled nejpěstovanějších plodin ve světě v roce 2017/2018 (USDA 2018).
- Tabulka č. 3:** Přehled nejpěstovanějších plodin v Česku v roce 2017/2018 (EAGRI 2018; ČSÚ 2019a; ČSÚ 2019b; EAGRI 2019a).
- Tabulka č. 4:** Spotřeba pesticidů v rámci jednotlivých skupin v Česku v roce 2014 (EAGRI 2019b).
- Tabulka č. 5:** Spotřeba účinných látek v Česku v roce 2014 (EAGRI 2019b).
- Tabulka č. 6:** Spotřeba skupiny pesticidů u ozimé řepky olejky v Česku v roce 2017 (EAGRI 2019c).
- Tabulka č. 7:** Největší spotřeba účinných látek u ozimé řepky olejky v Česku v roce 2017 (EAGRI 2019c).
- Tabulka č. 8:** Vypočítané hodnoty LC_{50} , EC_{50} a NOEC při aplikaci imidaklopridu a thiaklopridu na chvostoskoky *Folsomia candida* v rámci různých studií.
- Tabulka č. 9:** Porovnání podmínek během experimentů s chvostoskoky *F. candida*.
- Tabulka č. 10:** Ředící řada.
- Tabulka č. 11:** Tvorba zásobních roztoků pro různé koncentrace thiaklopridu.
- Tabulka č. 12:** Tvorba zásobních roztoků pro různé koncentrace thiaklopridu.
- Tabulka č. 13:** Tvorba zásobních roztoků pro různé koncentrace imidaklopridu.
- Tabulka č. 14:** Tvorba zásobních roztoků pro různé koncentrace přípravků Confidor a Biscaya.
- Tabulka č. 15:** Tvorba zásobních roztoků pro různé koncentrace imidaklopridu.
- Tabulka č. 16:** Tvorba zásobních roztoků pro různé koncentrace alachloru, acetochloru a imidaklopridu.
- Tabulka č. 17:** Tvorba zásobních roztoků pro různé koncentrace alachloru, acetochloru a imidaklopridu.
- Tabulka č. 18:** Výpočty dávkování roztoku Biscaya k rostlinám (250 a 2500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ s. p.)
- Tabulka č. 19:** Počet chvostoskoků po aplikaci thiaklopridu do půdy po dobu 1 týdne.
- Tabulka č. 20:** Počet chvostoskoků po aplikaci thiaklopridu do potravy po dobu 1 týdne.
- Tabulka č. 21:** Statistické vyhodnocení vlivu thiaklopridu na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy a potravy) po dobu 1 týdne.
- Tabulka č. 22:** Počet chvostoskoků po aplikaci imidaklopridu do půdy po dobu 1 týdne.
- Tabulka č. 23:** Statistické vyhodnocení vlivu imidaklopridu na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy) po dobu 1 týdne.
- Tabulka č. 24:** Počet chvostoskoků po aplikaci přípravku Confidor do půdy po dobu 3 týdnů.

- Tabulka č. 25:** Statistické vyhodnocení vlivu přípravku Confidor na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy) po dobu 3 týdnů.
- Tabulka č. 26:** Počet chvostoskoků po aplikaci přípravku Biscaya do půdy po dobu 3 týdnů.
- Tabulka č. 27:** Statistické vyhodnocení vlivu přípravku Biscaya na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy) po dobu 3 týdnů.
- Tabulka č. 28:** Počet chvostoskoků po aplikaci imidaklopridu do půdy po dobu 4 týdnů.
- Tabulka č. 29:** Statistické vyhodnocení vlivu imidaklopridu na mortalitu chvostoskoků (aplikace do půdy) po dobu 4 týdnů.
- Tabulka č. 30:** Počet chvostoskoků po aplikaci imidaklopridu, alachloru, acetochloru do půdy po dobu 4 týdnů (podzim 2018).
- Tabulka č. 31:** Počet chvostoskoků po aplikaci imidaklopridu, alachloru, acetochloru do půdy po dobu 4 týdnů (zima 2019).
- Tabulka č. 32:** Statistické porovnání vlivu jednotlivých pesticidů (alachlor, acetochlor, imidakloprid) po dobu 4 týdnů aplikací do půdy (podzim 2018).
- Tabulka č. 33:** Statistické porovnání vlivu jednotlivých pesticidů mezi sebou (alachlor, acetochlor, imidakloprid) po dobu 4 týdnů aplikací do půdy (podzim 2018).
- Tabulka č. 34:** Statistické vyhodnocení – Aplikace pesticidů do půdy v čase (2018, 2019).
- Tabulka č. 35:** Koncentrace thiaklopridu po aplikaci Biscaya v rostlině a v půdě (4 týdny).
- Tabulka č. 36:** Statistické vyhodnocení – Aplikace přípravku Biscaya do půdy.
- Tabulka č. 37:** Seznam sledovaných pesticidních látek a jejich metabolitů v substrátu, zemině a vodě při pokusech s chvostoskoky a řepkou olejkou.

Seznam fotografií a obrázků:

- Fotografie č. 1-5:** *Folsomia candida* z chovu RNDr. Vladimíra Šustru, CSc.
- Fotografie č. 6:** Pokus s chvostoskoky – aplikace pesticidů do půdy (Alachlor, Acetochlor, Imidakloprid).
- Fotografie č. 7-11:** Pokus s řepkou olejkou – aplikace pesticidu Biscaya.
- Obrázek č. 1:** Strukturní vzorec acetochloru (PubChem 2019a).
- Obrázek č. 2:** Strukturní vzorec alachloru (PubChem 2019b).

Seznam grafů:

- Graf č. 1:** Boxplot – vliv imidaklopridu na mortalitu *F. candida* v rozdílných koncentracích.
- Graf č. 2:** Boxplot – vlivu jednotlivých pesticidů (alachlor, acetochlor, imidakloprid) na mortalitu *F. candida* (podzim 2018).
- Graf č. 3:** Boxplot – vlivu jednotlivých pesticidů (alachlor, acetochlor, imidakloprid) na mortalitu *F. candida* (podzim 2018 a zima 2019).
- Graf č. 4:** Boxplot – distribuce účinné látky thiakloprid po aplikaci POR (Biscaya) v pletivech řepky olejky.