

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



VLIV SUBLETÁLNÍCH DÁVEK VYBRANÝCH INSEKTICIDŮ NA CHOVÁNÍ PARAZITOIDA *VENTURIA CANESCENS*

Influence of sublethal doses of selected insecticides on different behavioral traits of stored product pest parasitoid *Venturia canescens*

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí práce: RNDr. Jan Kabíček, CSc.

Autor práce: Bc. Kateřina Šubrtová

2009

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma: **Vliv subletálních dávek vybraných insekticidů na chování parazitoida *Venturia canescens***, vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze, dne 1. dubna 2010

Kateřina Šubrtová

.....

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji všem, kteří mi umožnili zpracovat předkládanou diplomovou práci. Za čas věnovaný konzultacím Ing. Janu Lukášovi, Ph.D., a za poskytnutí pracovního prostředí Výzkumnému ústavu rostlinné výroby, v.v.i. Praha - Ruzyně.

SOUHRN

Na prvním místě v ochraně rostlin stále převládá ochrana chemická, ale jednou z alternativ k této je ochrana biologická. Aby biologická ochrana byla efektivní, je nutné znát důsledky, které vyplývají z používání prostředků chemické ochrany rostlin.

Cílem této práce bylo získat informace o vlivu běžně používaných biocidů na parazitoida *Venturia canescens* (Gravenhorst, 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae), který se efektivně využívá k ochraně před skladištními škůdci. Byl testován vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine[®]) ze skupiny pyrethroidů, bendiocarb (Ficam 80 W[®]) ze skupiny karbamátů, chlorpyrifos-metyl - 400 g (Reldan[®] 40 EC) ze skupiny organofosfátů.

Subletální efekt těchto účinných látek byl testován na parazitoida ve dvou různých laboratorních pokusech, které napodobovaly možné způsoby aplikace biocidů ve skladech. Byl testován vliv hmotnosti jedince na přežívání po zasažení účinnou látkou deltamethrin a stanoveny letální koncentrace LC 50 – 95 a letální časy LT 50. V další části pokusu byly sledovány změny v chování parazitoida v prostředí ošetřeném biocidy. Parazitoidi byli umístěni do arény, ve které byla polovina povrchu ošetřena určitými účinnými látkami deltamethrin, bendiocarb a chlorpyrifos-methyl. Výsledky byly zpracovány pomocí programu EthoVision[®] 3.

Bylo zjištěno, že hmotnost jedince *V. canescens* nemá signifikantní vliv na přežívání po zasažení účinnou látkou deltamethrin. Pro tuto účinnou látku byly stanoveny letální koncentrace LC 50 = 0.12 %. Pro 0.05 % koncentraci byl letální čas LT 50 = 25.63 hodin a pro 1 % koncentraci LT 50 = 2.01 hodin.

Byl prokázán statisticky významný rozdíl v působení testovaných biocidů na dobu strávenou parazitoidem na ošetřené části ($F_{2,39} = 19.39$ $p < 0.005$). U přípravků K-Othrine[®] 25 WP a Ficam[®] 80 W nebyl zjištěn signifikantní rozdíl ošetření. Mezi K-Othrine[®] 25 WP a Reldan[®] 40 EC se projevil signifikantní rozdíl ošetření. Reldan[®] 40 EC a Ficam[®] 80 W vykazují signifikantní rozdíl na ošetření. V další části pokusu byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly účinků ošetření mezi použitými biocidy na délku trasy v ošetřené části arény ($F_{2,39} = 12.043$, $p < 0.005$). U přípravků K-Othrine[®] 25 WP a Ficam[®] 80 W nebyl signifikantní rozdíl ošetření. Mezi K-Othrine[®] 25 WP a Reldan[®] 40 EC se projevil signifikantní rozdíl ošetření. Reldan[®] 40 EC a Ficam[®] 80 W vykazovaly signifikantní rozdíl ošetření na délku trasy v části arény, kde byl použit biocid. V poslední části pokusu nebyl

prokázán statisticky průkazný rozdíl mezi testovanými biocidy na rychlost pohybu parazitoida ($F_{2,39} = 3.0967$ $p < 0.05$).

Výsledky získané v této práci poukazují na Reldan[®] 40 EC, jako na vhodný přípravek k ochraně skladů před škůdci. S ohledem na jeho nejmenší negativní působení na parazitoida *Venturia canescens*. Naopak použití přípravku Ficam[®] 80 W ze skupiny karbamátů, se zdá jako nejméně vhodné v kombinaci s biologickou ochranou.

Klíčová slova: parazitoid, *Venturia canescens*, biologická ochrana, chemická ochrana, biocidy

SUMMARY

In plant protection on the first place stands chemical protection and one of the alternatives for this is biological protection. To be biological protection effective, it is necessary to know results, which become from using chemical plant protection agents.

The goal of this thesis was to get information about the influence of usually used biocides on parasitoid *Venturia canescens* Gravenhorst, 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae), which is effectively used in protection against warehouse infestans. The influence of active substances deltamethrin (K-Othrine[®]) from group of pyrethroids, bendiocarb (Ficam 80 W[®]) from the group of carbamates, chlorpyrifos-methyl 400 g (Reldan[®] 40 EC) from the group of organophosphates was tested.

Sublethal effect of these active substances was tested on parasitoid in two different laboratory tests, which were simulating possible ways of application of biocides in warehouses. The influence of weight on surviving of specimen after biocide affection was tested, and lethal concentrations were determined LC 50 – 95 and lethal times LT 50. In the next part of the test were observed changes of parasitoid's behaviour in biocide treated area. Parasitoids were placed into the arena, in which was half of surface treated by active substances deltamethrin, bendiocarb and chlorpyrifos-methyl. Resultst were elaborated in EthoVision[®] 3.

It was find out, that weight of specimen *V. canescens* has no significant influence on surviving after the deltamethrin treatment. For this active substance was determined lethal concentration LC 50 = 0.12 %. For 0.05 % concentration was lethal time LT 50 = 25.63 hours and for 1 % concentration LT 50 = 2.01 hours.

Statistically significant differences were founded in treatment of tested biocides to the time, that parasitoid spent in treated part of arena ($F:_{2,39} = 19.39$ $p < 0.005$). For preparations K-Othrine[®] 25 WP and Ficam[®] 80 W was not found significant difference. Between K-Othrine[®] 25 WP and Reldan[®] 40 EC was founded significant difference of the treatment. Reldan[®] 40 EC and Ficam[®] 80 W shows significant difference in the treatment. In the next part of the test were founded several different of treatment effects between used biocides to the mowed distance in the treated part of the arena ($F:_{2,39} = 12.043$ $p < 0.005$). Between preparations K-Othrine[®] 25 WP and Ficam[®] 80 W was not found significant difference of the treatment. For preparations K-Othrine[®] 25 WP and Reldan[®] 40 EC was significant difference founded. Reldan[®] 40 EC a Ficam[®] 80 W were showing significant

difference of the treatment in moved distance in the treated part of the arena. In the last part of the test statistically significant difference was not approved between used biocides to movement velocity of parasitoid ($F_{2,39} = 3.0967$ $p < 0.056$). Between applied preparations was not founded significant difference in argument movement velocity.

Results founded in this thesis points on Reldan[®] 40 EC, like a proper preparation for warehouse protection against infestants with a regard to its smallest negative treatment on *Venturia canescens*. On the other side use of preparation Ficom[®] 80 W looks like at least proper, in a combination with a biological protection.

Key words: parasitoid, *Venturia canescens*, biological protection, chemical protection, biocides

OBSAH

1 ÚVOD	9
2 LITERÁRNÍ REŠERŠE	11
2.1 Biologická ochrana	11
2.1.1 Přirození nepřátelé	12
2.1.2 Parazitoidi	12
2.1.3 Hostitelská specifita parazitoidů	13
2.1.4 <i>Venturia canescens</i> (GRAVENHORST, 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae)	14
2.2 Chemická ochrana	14
2.2.1 Insekticidy.....	15
2.2.1.1 Rozdělení a působení insekticidů.....	16
2.2.1.2 K-Othrine® 25 WP	18
2.2.1.3 Ficam® 80 WP	18
2.2.1.4 Reldan® 40 EC	19
2.2.2 Účinky pesticidů na chování členovců.....	19
3 CÍL PRÁCE	21
4 MATERIÁL A METODIKA PRÁCE	22
4.1 Původ laboratorních chovů.....	22
4.2 Laboratorní chov hostitele <i>Ephestia kuehniella</i>	22
4.3 Laboratorní chov parazitoida <i>Venturia canescens</i>	23
4.4 Způsoby testování insekticidů.....	23
4.4.1 Aplikace biocidů na <i>Venturia canescens</i> pro stanovení LC 50	24
4.4.1.1 Příprava biocidních roztoků pro metodu jednorázového ponoření	24
4.4.1.2 Testování biocidů na <i>Venturia canescens</i> (metodou jednorázového ponoření)	24
4.4.2 Aplikace biocidů pro sledování chování parazitoida <i>Venturia canescens</i> programem EthoVision® 3	25
4.4.2.1 Příprava biocidních roztoků.....	25
4.4.2.2 Testování biocidů na <i>Venturia canescens</i>	26
4.4.2.3 Práce s programem EthoVision® 3.....	29
4.5 Analýza dat.....	30
5 VÝSLEDKY	31
5.1 Vliv účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP) na parazitoida <i>Venturia canescens</i> v závislosti na hmotnosti jedince (aplikace metodou jednorázového ponoření)	31
5.1.1 Stanovení letálních koncentrací LC 50 – 95 účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP) u parazitoida <i>Venturia canescens</i> v závislosti na hmotnosti jedince (aplikace metodou jednorázového ponoření)	31
5.1.2 Stanovení letálních časů LT 50 pro jednotlivé koncentrace účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP) u parazitoida <i>Venturia canescens</i> v závislosti na hmotnosti jedince (aplikace metodou jednorázového ponoření)	33

5.1.3	Vliv účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP) na parazitoida <i>Venturia canescens</i> (aplikace pomocí přístroje Burkard®) na čase	36
5.2	Vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine® 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan® 40 EC) a bendiocarb (Ficam® 80 W) na parazitoida <i>Venturia canescens</i>	37
5.2.1	Vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine® 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan® 40 EC) a bendiocarb (Ficam® 80 W) na čas strávený v ošetřené a neošetřené části arény	37
5.2.2	Vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine® 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan® 40 EC) a bendiocarb (Ficam® 80 W) na délku trasy v ošetřené a neošetřené části arény	39
5.2.3	Vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine® 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan® 40 EC) a bendiocarb (Ficam® 80 W) na rychlost pohybu v ošetřené a neošetřené části arény	41
6	DISKUZE.....	43
7	ZÁVĚR	47
8	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	49

1 ÚVOD

Současná ochrana rostlin je nejčastěji spojována s ochranou pomocí chemických prostředků – pesticidů a používání těchto chemických látek se dostalo na úroveň, která začíná být na hranici možností. Používání pesticidů má mimo pozitivní vlastnosti i řadu negativních externalit, jako je rezistence k chemickým přípravkům, zvyšující se náklady na vývoj nových účinných látek, riziko přítomnosti reziduí v potravinovém řetězci, negativní vliv na životní prostředí v krátkodobém i dlouhodobém horizontu (snižování druhové rozmanitosti organismů v přírodě, celkové zatěžování životního prostředí atd.). Jako odpověď na dlouhodobé výhradní používání chemických prostředků pro ochranu rostlin přichází v posledních letech trend potravin ze systémů s minimální spotřebou pesticidů či jejich úplným vyloučením.

V důsledku společenské poptávky a zájmu minimalizovat negativa spojená s chemickou ochranou se soustředí výzkumná činnost na nalezení alternativní metody k ochraně chemické. Patří sem i biologické metody regulace škodlivých organismů. Biologická ochrana je už asi pojem známý, zahrnuje v podstatě, co je v přírodě známé a přirozené. Jde o využívání přirozených nepřátel, jako jsou parazitoidi, predátoři či mikroorganismy, k potlačování populací škodlivých druhů omezováním jejich vývoje a šíření. Jejím cílem není úplné vymýcení těchto škodlivých druhů, ale jejich potlačení pod ekonomický práh škodlivosti. Biologické metody ochrany rostlin jsou založeny na antagonistických mezidruhových vztazích, které jsou stejně jako jiné biologické procesy, ovlivněny celou řadou faktorů. Stejně bioagens může fungovat zcela odlišně, pokud bude mít jiné prostředí a podmínky. Biologické metody ochrany patří k rychle se rozvíjejícímu alternativnímu přístupu. V současnosti je intenzivně rozvíjen výzkum mikrobiálních preparátů a užitečných makroorganismů. Jejich úlohu však nelze přeceňovat, v blízké budoucnosti totiž není možné předpokládat, že by biologická ochrana nahradila beze zbytku chemické pesticidy.

Biologická ochrana je přínosná zejména tam, kde platí striktní zákaz nebo omezení v použití chemických pesticidů, tj. v ekologickém zemědělství, organickém zahradnictví nebo v rámci integrované ochrany (lze používat zpravidla vybrané druhy biocidů) proti škůdcům. Může být také řešením pro některé oblasti, v nichž buď nejsou registrovány žádné chemické pesticidy, nebo tam, kde v důsledku nástupu rezistence škůdců vůči registrovaným přípravkům není k dispozici dostatečně účinná náhrada.

Vliv biocidů na přirozené nepřátele skladištních škůdců není dostatečně prozkoumán. Aby biologická ochrana byla efektivní, je nutné znát důsledky, které vyplývají ze souběžného používání prostředků chemické ochrany rostlin spolu s bioagens, protože přítomnost nebo introdukce bioagens je vždy ovlivněna a limitována použitými přípravky chemické ochrany.

Tato diplomová práce si bere za cíl získat informace o vlivu běžně používaných biocidů na parazitoida *Venturia canescens*, který je potencionálně využitelný k ochraně před skladištními zavíječi.

2 LITERÁRNÍ REŠERŠE

2.1 Biologická ochrana

Biologické metody ochrany rostlin proti škodlivým organismům se intenzivně rozvíjejí teprve v posledních desetiletích, ale první snahy o jejich využití se objevily již ve druhé polovině 19. století. Jde o metody z hygienických, zdravotních, environmentálních a často i ekonomických důvodů žádoucí a perspektivní (LAŠTŮVKA & ŠEFROVÁ, 2004).

Biologická ochrana je cílevědomé používání živých organismů (roztočů, hmyzu, hlístic, virů, bakterií, hub aj.) pro udržení škodlivých biologických činitelů (škůdci, choroby, plevelné rostliny) pod úroveň jejich škodlivého množství v porostech kulturních rostlin. Je třeba zdůraznit, že touto cílevědomostí není jen vysazení (introdukce) komerčně dostupných nebo jinak získaných bioagens, ale také využití spontánních výskytů užitečných organismů v porostu. Pokud se používá biologická ochrana delší dobu, zpravidla stoupá frekvence i druhové spektrum spontánních výskytů bioagens, nezřídka i takových, které se jinak pro potřeby ochrany draze kupují (PULTAR, 2008).

Biologická ochrana proti škůdcům je jednou z alternativ nebo suplementem chemické ochrany. Úspěšně se etablovala ve skleníkovém hospodářství, omezeně v ovocnářství, vinařství, zelinářství a okrajově v polních kulturách. Úspěšnost úzce souvisí s tím, do jaké míry lze v daném agroekosystému regulovat prostřednictvím abiotických faktorů faktory biotické (LUKÁŠ, 2008). Biologické metody ochrany rostlin (zde máme na mysli užší pojetí nezahrnující např. GMO nebo šlechtění na rezistenci) jsou založeny na antagonistických mezidruhových vztazích, které jsou, stejně jako jiné biologické procesy, ovlivněny celou řadou faktorů. Tentýž prostředek (bioagens) může fungovat za různých podmínek a v různých prostředcích zcela odlišně (LAŠTŮVKA & ŠEFROVÁ, 2004).

Biologické prostředky působí pomaleji než chemické, očekávaná účinnost se zpravidla dostaví se zpožděním, se kterým se musí počítat. Ke svému dokonalému působení vyžadují biologickou, prostorovou i časovou koincidenci s faktory ovlivňujícími jejich vývoj a aktivitu. Patří sem zejména přítomnost hostitele (cílového škůdce nebo náhradní potravy, kterou jsou schopni se živit) a působení optimálních abiotických faktorů (teploty, vlhkosti a délky dne). Účinná biologická ochrana je naplněna dosažením rovnovážného, nebo jemu blízkého stavu, orientačně dosažením tzv. efektivního poměru mezi škůdcem a jeho antagonistou. Tento poměr se může lišit při různých biotických a abiotických podmínkách.

Efektivního poměru se dosahuje iniciální introdukcí bioagens v efektivním poměru ke škůdci, dalším dosazováním bioagens, nebo snížením populační hustoty škůdce jinou metodou (PULTAR, 2008).

2.1.1 Přirození nepřátelé

Přirození nepřátelé jsou organismy, žijící na úkor jiných živočišných druhů (v našem případě živočišných škůdců) do té míry, že významně snižují jejich životaschopnost. Organismy, které vážný vliv na své hostitele nemají, jako například blechy na psa, mezi přirozené nepřátele nepočítáme. Přirození nepřátelé působí smrt hostitele nebo snižují jeho schopnost rozmnožování.

Organismy, které nepříznivě ovlivňují život jiných organismů tím, že žijí na jejich úkor, lze rozdělit do dvou skupin.

První skupinu tvoří původci chorob. Jsou to různé druhy mikroorganismů, především viry, bakterie, houby a prvoci. Původci chorob jsou významnou složkou biologického odporu prostředí proti škůdcům.

Druhou skupinu přirozených nepřátel tvoří organismy, jejichž velikost je srovnatelná s velikostí škůdce. Sem patří tři typy přirozených nepřátel. Paraziti – živočichové získávající svou výživu z jednoho jedince, takzvaného hostitele, na kterém parazitují, ale obvykle ho nezabíjejí. Proto jejich význam pro biologickou ochranu je malý. Parazitoidi – živočichové rovněž žijící z jednoho hostitele, ve kterém uskutečňují svůj vývoj a nakonec jej zabíjejí. Predátoři (dravci) – živočichové živící se požíváním většího počtu kusů kořisti, kterou zabíjejí (HONĚK & ŘEZÁČ, 2008).

2.1.2 Parazitoidi

Parazitoidi jsou jedni z přirozených nepřátel, kteří se využívají v biologické ochraně proti hmyzím škůdcům škodících převážně ve skleníkovém, polním a skladovém hospodářství a také v potravinářském průmyslu. Parazitoidi jsou živočichové, kteří získávají výživu z jednoho, často velmi specifického hostitele, ve kterém uskutečňují svůj larvální vývoj a na konci svého vývoje hostitele zabijí (GODFRAY, 1994). Hospodářsky významné jsou především malé druhy z řádu blanokřídlých (Hymenoptera) a dvoukřídlých (Diptera). Ve většině případů svého hostitele zabíjejí tím, že jejich larvální vývoj probíhá uvnitř těla

hostitele (takzvaný endoparazitoid) - živi se tkáněmi hostitelova těla. Jiné druhy parazitoidů (ektoparazitoidi) žijí zachyceni na povrchu těla hostitele a požírají jej zvenčí. Parazitoidi mohou napadat všechna vývojová stádia hostitele, jednotlivé druhy parazitoidů se však na jednotlivá stádia specializují (HONĚK & ŘEZÁČ, 2008).

Podle množství parazitoidů, kteří se vylíhnou z jednoho hostitele, rozlišujeme parazitoidy na solitérní a gregariální. Pokud se z hostitele vylíhne vždy jen jeden parazitoid, nazýváme ho solitérním. Naopak u parazita gregariálního se mohou z hostitele vylíhnout dva i více parazitoidů (GODFRAY, 1994). *Venturia canescens* je zástupcem solitérního typu parazitoida - z jednoho parazitovaného těla hostitele se vždy vylíhne pouze jeden parazitoid (SALT, 1964). Například *Habrobracon hebetor* je zástupce gregariálního typu, který na povrch těla naklade několik vajíček, ze kterých se líhnou larvy, které vysávají hemolymfu z těla hostitele. A z jednoho hostitele se tak vylíhne několik nových parazitoidů (ANTOLIN et al., 1995).

Pokud hostitel po parazitaci dále pokračuje ve svém vývoji, tedy přijímá potravu a zvětšuje svojí velikost těla, jedná se o tzv. koinobiontního parazitoida (př. *Venturia canescens*). Pokud hostitel již nepokračuje v dalším vývoji (parazitoid mu v tom brání), jedná se o tzv. idiobiontního parazitoida (př. *Habrobracon hebetor*) (ASKEW & SHAW, 1986).

2.1.3 Hostitelská specifita parazitoidů

Ve většině parazitických taxonů má více než polovina druhů velkou hostitelskou specifitu. Příčiny specifity jsou dvě bariéry – **ekologická** (nutno se setkat), **fyzilogická** (nutno infikovat a přežít). Na mšicích a motýlech bylo pozorováno, že za hostitelskou specializaci jsou odpovědné spíše rozdíly v preferencích než ve schopnostech využívat daný hostitelský druh. V přírodě je specifita ovlivněna spíše ekologickými bariérami – evoluční zájmy parazita i hostitele na včasné rozpoznání nevhodného hostitele se shodují - parazit si vytvoří specifické mechanismy zabraňující nevhodné interakci. Evoluční důvody existence specifity – a) evoluční bariéry, zejména trade offs (výměna něčeho za něco) b) změna hostitelské specifity vyžaduje nejen změnu fyziologie, ale současně i změnu chování - jednoduchý mutant je znevýhodněn (FLEGR, 2007).

2.1.4 *Venturia canescens* (GRAVENHORST, 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae)

Parazitoida *V. canescens* v literatuře také najdeme pod synonymy *Nemeritis canescens*, *Idechtis canescens*, *Exidechtis canescens*, *Campoplex canescens* a *Devorgilla canescens*. Český ekvivalent je lumek domácí (STEJSKAL, 2004).

Venturia canescens je larvální endoparazitoid mnoha skladištních škůdců z řádů motýlů (Lepidoptera), zejména zavíječů. Mezi hostitele tohoto parazitoida patří zavíječ moučný (*Ephestia kuehniella*), zavíječ paprikový (*Plodia interpunctella*), zavíječ skladištní (*Ephestia elutella*), zavíječ fíkový (*Cadra figulilella*), zavíječ rohovníkový (*Ectomyelois ceratoniae*), zavíječ voskový (*Galleria mellonella*) (SALT, 1975).

Obr. 1: Samička *V. canescens* (foto Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. Praha - Ruzyně)



2.2 Chemická ochrana

Chemické metody jsou v současnosti nejvýznamnějším způsobem ochrany proti všem skupinám škodlivých organismů. Vývoj a výroba přípravků na ochranu rostlin patří celosvětově k významným odvětvím chemického průmyslu.

Velkou předností chemické ochrany je, že jde o rychlý, účinný, dostupný a relativně levný způsob ochrany, který je možno snadno prakticky realizovat. Zejména dlouhodobé používání chemických prostředků má však řadu nevýhod – toxicitu pro člověka, domácí i volně žijící zvířata. Nesprávná aplikace těchto vysoce biologicky aktivních látek může negativně ovlivnit prakticky všechny složky životního prostředí včetně vody a půdy.

Opakované používání může vést ke vzniku rezistence škodlivých organismů a tím ke snížení účinnosti. Takový organismus, který nemá přirozených antagonistů (vyhubila je chemická ochrana), může způsobit mimořádně velké škody. Tyto škody se řeší použitím dalších chemických prostředků a problémy se postupně jen zvyšují. Současně tím narůstají náklady na ochranu plodin a pěstování se přestává vyplácet (KAZDA a kol., 2003).

Trend snižování využívání chemické ochrany se projevuje ve všech oblastech, kde jsou aplikovány pesticidy a biocidy. Dlouhodobě se omezuje jak spektrum účinných látek, tak jejich aplikační množství. Tato tendence se současné době v rámci EU výrazně prohlubuje a do budoucna se počítá s dalšími výraznými omezeními. Kromě technologických problémů (rezistence), zdravotních rizik (rezidua) či škodlivosti pro životní prostředí, vzrůstá rovněž přímý zájem konzumentů o potraviny ze systémů s minimální spotřebou pesticidů/biocidů či s jejich plným vyloučením (LUKÁŠ, 2008).

2.2.1 Insekticidy

Insekticidy jsou chemické přípravky určené k hubení hmyzu. Na fyziologické úrovni narušují účinné látky těchto přípravků metabolické procesy hmyzu do té míry, že hmyz následkem těchto změn přímo hyne nebo je jeho vývoj různými mechanismy jinak inhibován. Hmyz má mnohvrstevnatou vnější kostru, která představuje pro průnik insekticidů velkou překážku. A dokonce když se insekticid přes ni dostane, je schopen se detoxikovat. Některé insekticidy jsou kontaktní jedy, které usmrccují oběť tak, že se v důsledku narušení metabolických procesů udusí nebo dehydratuje (RODALE et al., 1992).

Látky proti hmyzím škůdcům používali lidé již dříve např. tabák, anabasin, rostliny z rodu *Pyrethrum*, rotenon (SVOBODOVÁ, 2005).

Tabák je jako insekticid používán od konce 17. století, jeho aktivní látkou je nikotin. Jak pro hmyz, tak pro člověka je velmi toxický. Je absorbován listy rostlin a zůstává aktivní po dobu několika týdnů. Roten je získáván z kořenů řady jihoamerických luskovin z rodu *Lonchocarpus*. Je to neselektivní pomalu působící nervový jed, který hmyz paralyzuje poté, co jej pozře. Je vysoce toxický pro ryby, ptáky a prasata. Pyrethriny jsou získávány z květů *Pyrethrum cinerariaefolium* a *Chrysanthemum coccineum*. Pyrethriny poškozují centrální nervový systém hmyzu (RODALE et al., 1992).

2.2.1.1 Rozdělení a působení insekticidů

Insekticidy je možno rozdělit:

1. podle působení na vývojová stádia: ovocidy, larvicidy, adulticidy
2. podle vstupu do organismu: kontaktní, perorální, respirační
3. podle mechanismu účinku: nervové jedy, respirační jedy, ostatní jedy (cytoplasmatické, gastrointestinální, hormonální, genetické)
4. podle původu: - rostlinné :
 - a) pyrethriny
 - b) alkaloidy
 - c) synergické látky

- syntetické: a) anorganické

b) organické: (organofosfáty, karbamáty, syntetické pyrethroidy, substituované fenoly, fumiganty, látky ovlivňující chování, bioracionální látky, bioinsekticidy, nepovolené látky - chlorované uhlovodíky a chemosterilanty (BUCKLE, 2002)).

Síra a některé botanické pesticidy byly používány po celá staletí, avšak rozšířené používání syntetických pesticidů je fenoménem až moderní doby. Dopady nadměrného používání těchto chemikálií na zdraví člověka a na kvalitu životního prostředí způsobují stále větší znepokojení.

Nejznámějším příkladem skrytého rizika užívání pesticidů je syntetický organický insekticid - DDT (dichlordifenyiltrichlorethan). Tento syntetický insekticid byl ve velké míře používán za druhé světové války. Zdálo se, že jde o velmi efektivní a levný prostředek na hubení hmyzích škůdců. DDT prakticky vymítlo malárii z mnoha částí světa a byla mu vzdávána pocta označením „záračný insekticid“ (RODALE et al., 1992).

Vzápětí se také projeví i negativní vlastnosti DDT, jako např. dlouhodobá rezidua, která se kumulují v tělesných tucích živočichů. Nejhuře na tom byli živočichové stojící na vrcholu trofického řetězce, především ryby, ptáci, savci a také člověk. Našly se také stopy DDT v tuku domácích zvířat, mléce skotu i zemědělských plodinách. DDT také porušovalo metabolismus u vápníku a způsobovalo tak neplodnost a úbytek užitečných dravých ptáků (BARTOŠ & VERNER, 1979).

Zákaz používání DDT ve spojených státech z 1. ledna roku 1973 předznamenal začátek změny. Od té doby řada studií zdokumentovala, jak používání pesticidů negativně ovlivňuje zdraví člověka a znečišťuje životní prostředí. Jelikož je toxicita pesticidů testována

na savcích, nikoliv už na ptácích a dalších zvířatech, je těžké říci, jaké vedlejší účinky pesticidy mají celkově (RODALE et al., 1992).

Častou složkou insekticidů jsou organofosforové sloučeniny - organofosfáty. Jejich smrtelná dávka (konkrétně parathionu) je pro dospělého 100 mg, pro pětileté dítě pouze 2 mg. Jsou to složité organické látky odvozené od kyseliny fosforečné. Jsou rozpustné v tučích a tukových rozpouštědlech, málo rozpustné ve vodě. Odpařují se i za běžných teplot. Rozkládají se (hydrolyzují) účinkem zásaditých látek (louh sodný, soda). Vlastnosti všech látek jsou v podstatě stejné, liší se však co do intenzity toxického působení.

Fluorofosfáty spolu s kyanofosfáty se používaly jako bojové plyny v 1. světové válce (sarin, soman, tabun – všechny jsou nyní zakázány). Dále se používali deriváty kyseliny pyrofosforečné, proti mšicím, svluškám a háďátkům, ale jejich toxicita je pro ostatní živočichy stále vysoká. Další skupinou organofosfátů jsou deriváty kyseliny thiofosforečné, jejich výhodou je selektivní toxicita k hmyzu. Pro savce jsou relativně málo toxické, patří sem parathion, metathion, diazion, acephat, chlopyriphos, pirimiphos-methyl (BUCKLE, 2002).

Organofosforové insekticidy inhibují enzym acetylcholinesterázu. Tento enzym řídí hydrolyzu acetylcholinu. Při inaktivaci acetylcholinesterázy nedochází ke štěpení acetylcholinu na cholin a díky tomu se acetylcholin hromadí v nervové synapsi. Důsledkem je nepřetržitě předávání nervových vzruchů, což vede ke zhroucení nervové koordinace, hmyz dostává křeče a nakonec hyne (FUKUTO, 1990).

Karbamáty jsou deriváty nebo estery kyseliny karbaminové. Mají různorodé účinky a vlastnosti. Společným rysem je inhibice cholinesterázy. Jsou nervovými jedy. Na rozdíl od organofosfátů poškození nervového systému při prvních příznacích otravy je reverzibilní. Usmrcují pohyblivé jedince (larvy, nymfy a dospělé) škůdců. Vajíčka nehubí (FUKUTO, 1990).

Pyrethroidy jsou látky s insekticidním účinkem, které se využívají hlavně jako antiparazitika. Předlohou pro jejich přípravu byly pyrethriny z kopretiny (*Pyrethrum*). V prostředí se velmi rychle rozkládají. Pyrethroidy se rozdělují do dvou skupin na základě chemické struktury a mechanismu toxického účinku:

- **pyrethroidy T** (tremor) – neobsahují α -kyano skupinu - reverzibilně blokují sodíkové kanály nervových vláken
- **pyrethroidy CS** (choreoatetóza, salivace) – obsahují α -kyano skupinu - reverzibilně blokují sodíkové kanály nervových vláken a navíc ovlivňují – inhibují - GABA receptory v nervových vláčkách

Pyrethroidy jsou vysoce toxické pro ryby a pro včely jsou pyrethroidy rovněž jedovaté. Toxicita pyrethroidů pro savce je nízká, ovšem kočky, psi a mláďata ostatních zvířat jsou citlivější (SVOBODOVÁ, 2005).

Regulátory růstu hmyzu (IGR) jsou chemické napodobeniny hmyzích hormonů. IGR narušují příjem potravy, rozvoj jedince nebo reprodukci určitého druhu hmyzu, přičemž pro ostatní druhy hmyzu představují jen malé riziko. V současné době jsou v obchodech IGR určené k ochraně proti mšicím, molicím a blechám (RODALE et al., 1992).

2.2.1.2 K-Othrine[®] 25 WP

Vodou smáčitelný práškový insekticidní přípravek pro profesionální použití, určený k hubení škodlivého a obtížného hmyzu. Je použitelný v bytech, obchodech, zdravotnických zařízeních, potravinářských provozovnách a výrobnách, jakož i v objektech živočišné výroby apod.

R 51/53 Toxický pro vodní organismy, může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí.

Přípravek obsahuje nebezpečnou látku [S]-a-cyano-3-phenoxybenzyl-(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate (deltamethrin) EC 258-256-6.

Působí jako kontaktní insekticid ve velmi krátké době a má dlouhou reziduální účinnost (v závislosti na ošetřeném povrchu a použité koncentraci 3 i více měsíců). Účinná látka se neodpařuje, je odolná působení světla a tepla, je bez zápachu a nezanechává viditelných stop.

Hubí dospělce i larvální stádia hmyzu. Používá se k hubení rybenek, rusů domácích, švábů obecných, cvrčků domácích, pisivek, vos, molů, zavíječů, komárů a různých druhů much a blech (BAYER CROPSCIENCE, 2007).

2.2.1.3 Ficam[®] 80 WP

Postřikový insekticidní přípravek ve formě smáčitelného prášku používaný ve zdravotnických zařízeních, potravinářském průmyslu a zemědělství.

R 50/53 Toxický pro vodní organismy, může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí.

Účinná látka: 80% bendiocarb (2,2-dimethylbenzol[1,3]dioxol-4-yl-methylkarbamát)
EC 245-216-8.

Používá se jako ochranný prostředek proti švábům, rusům, cvrčkům, mravencům, rybenkám, mouchám, kožojedům, rušníkům, štěnicím a dalším druhům škodlivého a obtížného hmyzu (BAYER CROPSCIENCE, 2007).

2.2.1.4 Reldan[®] 40 EC

Reldan[®] 40 EC je postřikový širokospektrální insekticid ve formě emulgovatelného koncentrátu po ředění vodou určený k hubení savých a žravých škůdců na ovocných dřevinách, révě, brukvovité zelenině a chryzantémách, na česneku a k hubení škůdců na uskladněném obilí a asanaci skladů.

Účinná látka: 400 g/l chlorpyrifos-methyl EC 227-011-5.

Reldan[®] 40 EC působí jako kontaktní, požerový a dýchací insekticid s výrazným fumigačním efektem. Po aplikaci proniká do rostlinných pletiv, není však rozváděn cévními svazky. Reldan[®] 40 EC vykazuje po aplikaci významnou reziduální aktivitu, která snižuje počet nutných insekticidních zásahů v období déletrvajícího tlaku škůdců. Reldan[®] 40 EC hubí škůdce ve všech vývojových stádiích, pokud jsou přípravkem zasaženi. Fumigační efekt přípravku umožňuje hubení i těch jedinců, kteří zůstávají skryti před účinkem kontaktních a požerových insekticidů.

2.2.2 Účinky pesticidů na chování členovců

Za posledních 20 let byly účinky pesticidů na užitečné členovce, často předmětem vzrůstajícího počtu studií a potenciální výsledky byli opakovaně přezkoumávány. Nejvíce pozornosti získali dvě skupiny organismů, přirození nepřátelé a opylovači, kvůli své cennosti v integrovaném zemědělství (DRIESCHE & BELLOWS, 1996) a opylovacích procesech (HAYNES, 1988; CROFT, 1990; RICHARDS, 1993; THOMPSON, 2003).

Po dlouhou dobu klasické laboratorní metody zkoumající vedlejší efekty chemikálií na užitečné členovce, byly zaměřeny na střední smrtelnou dávku (LD 50) nebo smrtelnou koncentraci (LC 50). V druhé fázi byly zkoumány účinky pesticidů na užitečných členovcích průběžnými výběrovými testy (škodlivý hmyz/užiteční členovci), k odhalení produktů s nejnižší necílovou aktivitou (CROFT, 1990). Nicméně odhad selektivity byl založen

na hodnotách LD 50 a vedlejší efekty na užitečné členovce stále přetrvávají kvůli nedostatku pozornosti na subletální účinky. Subletální účinky jsou definovány jako účinky - fyziologické nebo týkající se chování - na jednotlivce, kteří přežijí vystavení pesticidu (pesticidní dávky/koncentrace, která může být subletální nebo letální). Subletální dávka nebo koncentrace je definována jako indukce navozující zřejmou úmrtnost v experimentální populaci (LITTLE, 1990).

Další často zmiňovaný parametr ve spojení s účinky pesticidů na vývoj hmyzu je rychlost vývoje. Rychlost vývoje může mít obrovský dopad na skutečné tempo růstu a fenologickou synchronnost s hostitelem nebo kořistí. Zvýšení rychlosti vývoje může znamenat značnou nevýhodu pro parazitoidy, jestliže poruší synchronnost s vhodným okamžikem pro přístupnost hostitele. Proto se používá např. fenoxycarb k prodloužení vývoje predátora *Chrysoperla rufilabris*, ve všech stádiích vývoje kromě kukly (LIU & CHEN, 2001).

CÔNSOLI et al. (1998) uvádí, že stádium kukly *Trichogramma praetiosum* je daleko více citlivá k pesticidům, než stádium vajíčka a larvy. Prodloužení délky vývoje bylo pozorováno i u jiných predátorů (vystavených neurotickým insekticidům) (GEORGE & AMBROSE, 1999) a parazitoidů (vystavených botanickým insekticidům) (CHARLESTON et al. 2005). Vliv pesticidů může záviset i na pohlaví. U predátora *Supputius cincticeps*, který byl vystaven látce permethrin se zpomalila doba vývinu u samic, ale zrychlila se doba vývinu u samců (ZANUNCIO, 2003). Malformace, které nastaly u přirozených nepřátel po vystavení pesticidům, mohly vést ke snížení predace nebo parazitoidní účinnosti a vitality. Další studie poukazuje na zkrácení holeně 3. páru nohou u samce parazitoida *Cotesia plutellae* a na larvy *Plutella xylostella*, které se živily zelím ošetřeným rostlinnými pesticidy (CHARLESTON et. al. 2005). U dospělců predátora *Rhinocoris kumarii* se rozvinuly četné abnormality v trávicím traktu, varleti a vaječníku po zasažení organofosfátovými insekticidy (GEORGE & AMBROSE, 2004).

3 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo zjistit vliv vybraných insekticidů na parazitoida skladištních škůdců *Venturia canescens*.

Bylo použito insekticidů ze skupiny pyrethroidů K-Othrine[®] 25 WP (účinná látka: deltamethrin), karbamátů Ficam[®] 80 WP (účinná látka: bendiocarb) a širokospektrálního insekticidu ze skupiny organofosfátů Reldan[®] 40 EC.

1. Byl testován vliv účinné látky deltamethrin (K-Othrine[®]) ze skupiny pyrethroidů, použita byla aplikace metodou jednorázového ponoření na parazitoida *Venturia canescens*. Cílem bylo stanovit letální koncentraci LC 50 s ohledem na hmotnost parazitoida. Dále vliv této účinné látky na chování parazitoida v závislosti na různých koncentracích a času od aplikace.
2. Byl testován vliv účinných látek bendiocarb (Ficam 80 W[®]) ze skupiny karbamátů, deltamethrin (K-Othrine[®]) ze skupiny pyrethroidů a chlorpyrifos-metyl - 400 g (Reldan[®] 40 EC) ze skupiny organofosfátů. Cílem bylo zjistit vliv těchto biocidů na chování parazitoida *Venturia canescens*. Pomocí počítačového programu EthoVision[®] 3 byla sledována a vyhodnocena doba strávená v ošetřené části a neošetřené části arény, rychlost a vzdálenost pohybu, v závislosti na tom, v jaké části arény se právě vyskytovali.

4 MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

4.1 Původ laboratorních chovů

Laboratorní pokusy byly prováděny na oddělení ochrany zásob a bezpečnosti potravin ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i. Praha - Ruzyně, od dubna roku 2009 do prosince 2009.

Hostitelský kmen *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) pocházel z laboratorních chovů skladištních škůdců z oddělení ochrany zásob VÚRV Praha – Ruzyně.

Testovaný kmen *Venturia canescens* pochází z faunistického průzkumu prováděného v pražských mlýnech v roce 2000. Odchycení jedinci byli následně převedeni do laboratorního chovu VÚRV Praha – Ruzyně, a jsou zde udržováni až do současnosti.

4.2 Laboratorní chov hostitele *Ephestia kuehniella*

Larvy zavíječe moučného (*Ephestia kuehniella*) (Lepidoptera: Pyralidae) byly chovány na potravním substrátu (směs prosetého pšeničného šrotu, sušených pivovarských kvasnic a glycerinu v poměru 10 : 2 : 2). Připraveným substrátem byla naplněna průhledná plastová miska s víkem (d : š : v = 170 mm : 125 mm : 65 mm). Připravený substrát byl inokulován cca 200 vajíčky (0.015g) *Ephestia kuehniella* a uložen do klimaboxu za konstantní teploty 25 °C ± 1 °C, RVV 60 % ± 5 %. Zde byla uložena přibližně 20-25 dní, kdy larvy dosáhly posledního larválního stádia (L5) a byly připraveny k parazitaci.

Pro parazitaci se používají právě larvy v posledním (pátém – L5) instaru larválního vývoje. Samička vyhledá larvu hostitele na základě výměšků mandibulárních žláz ústního ústrojí. Poté naklade do hemolymfy hostitele vajíčko. V přirozených podmínkách klade samička vždy jen jedno vajíčko do jedné larvy, ale v laboratorních podmínkách při nedostatku hostitelských larev může docházet k superparazitismu. Je-li nakladeno více jak jedno vajíčko, dochází v průběhu larválního vývoje ke kompetici a méně vyspělá larva je napadena dravější vyvinutou larvou.

4.3 Laboratorní chov parazitoida *Venturia canescens*

Venturia canescens je chována na hostitelských larvách zavíječe moučného – *Ephestia kuehniella*.

Do krabičky kde je připraven potravní substrát (směs prosetého pšeničného šrotu, sušených pivovarských kvasnic a glycerinu v poměru 10 : 2 : 2) s hostitelskými larvami *Ephestia kuehniella*, bylo přidáno 15 dospělců *Venturia canescens*, které zde slouží k parazitaci hostitelské larvy *E. kuehniella*. Do krabičky byla ještě přidána mistička s kapkou 50 % vodného roztoku medu – jako zdroj potravy. Takto připravená krabička byla po celou dobu uchována v klimaboxu při konstantní teplotě 27 °C, RVV 65 – 75 %. Při této teplotě trvá vývoj 25 ± 1 den.

4.4 Způsoby testování insekticidů

1. Byl testován vliv účinné látky deltamethrin (K-Othrine[®]) ze skupiny pyrethroidů, použita byla aplikace metodou jednorázového ponoření, na parazitoida *Venturia canescens*. Cílem bylo stanovit letální koncentraci LC 50, letální časy LT 50 a jejich závislost na váze parazitoida. Dále vliv této účinné látky na chování parazitoida v závislosti na různých koncentracích a času od aplikace.
2. Byl testován vliv účinných látek bendiocarb (Ficam 80 W[®]) ze skupiny karbamátů, deltamethrin (K-Othrine[®]) ze skupiny pyrethroidů, chlorpyrifosmetyl - 400 g (Reldan[®] 40 EC). Cílem bylo zjistit vliv těchto biocidů na chování parazitoida *Venturia canescens*. Pomocí počítačového programu EthoVision[®] 3 byla sledována a vyhodnocena doba strávená v ošetřené části a neošetřené části arény, rychlost a vzdálenost v závislosti na tom, v jaké části arény se právě vyskytovali.

4.4.1 Aplikace biocidů na *Venturia canescens* pro stanovení LC 50

4.4.1.1 Příprava biocidních roztoků pro metodu jednorázového ponoření

K namíchání roztoků byly použity Erlenmayerovy baňky o objemu 100 ml. Biocidní roztok obsahoval 100 ml destilované vody a potřebné množství biocidu k vytvoření požadované koncentrace. Např.: pro vytvoření 0.1 % koncentrace bylo do 100 ml destilované vody přidáno 0.1g biocidu K-Othrine[®]. Pro vytvoření kontrolního roztoku postupujeme stejně, samozřejmě bez přidání biocidu. Baňky byly poté uzavřeny gumovým uzávěrem, řádně promíchány a uloženy do chladničky při stále teplotě 2 ± 1 °C.

Pro deltamethrin (K-Othrine[®] 25 WP) byla vytvořena koncentrační řada: 0.025 %, 0.05 %, 0.075 %, 0.1 %, 0.25 %, 0.5 %, 0.75 %, 1 % (Tab. 1).

Tab. 1: Koncentrační řada účinné látky deltamethrin (K-Othrine[®] 25 WP) testovaných na *Venturia canescens*.

Parazitoid	Testovaný biocid – koncentrace	Doba působení biocidu [s]
<i>Venturia canescens</i>	Kontrolní vzorek - 0 %	2 - 3
	K-Othrine [®] 25 WP - 0.025 %, 0.05 %, 0.075 %, 0.1 %, 0.25 %, 0.5 %, 0.75 %, 1 %	2 – 3

4.4.1.2 Testování biocidů na *Venturia canescens* (metodou jednorázového ponoření)

Nejdříve byly připraveny Petriho misky o průměru 90 mm a výšce 14 mm. Misky před použitím byly řádně vydesinfikovány roztokem přípravku Savo[®] a usušeny v sušárně. Do takto připravených misek byl položen (do menší části Petriho misky) filtrační papír také o průměru 90 mm (kvalitativní standartní – stupeň 4 – vyznačující se vysokým průtokem s dobrým zachytem velkých částic, Whatman[®]).

Když byly připraveny Petriho misky, mohlo se začít s vážením *V. canescens*. Před vlastní aplikací biocidu byli parazitoidi v krabičce znehybněni pomocí anesthese oxidu uhličitého CO₂, nebo vloženi do mrazicího boxu 3 – 5 min.), kde proběhlo jejich ochlazení

a částečné znehybnění (jinak by nebylo možné jejich odchycení). Poté již byl každý parazitoid zvlášť uchycen měkkou entomologickou pinzetou a vložen do plastové epruvety (délka: 40 mm, průměr 10 mm) a zvážen na analytické váze METTLER® AE 240. Po zvážení bylo přistoupeno k vlastnímu namáčení. Před vlastní aplikací biocidů byly roztoky temperovány na laboratorní teplotu 20 ± 1 °C. Usazený roztok biocidů byl v baňce důkladně homogenizován. Opět byl každý parazitoid uchycen entomologickou pinzetou a ponořen do biocidního roztoku o příslušné koncentraci. *V. canescens* byla vystavena působení biocidu po dobu 2 – 3 sekund. Přebytečný roztok biocidu byl z parazitoidea a pinzety odstraněn pomocí buničité vaty. Po vysušení se vosičky vložily do umělohmotných epruvet. Pro každou koncentraci bylo provedeno minimálně 10 opakování. Celá koncentrační řada biocidu spolu s kontrolou byla testována v jeden den a v ranních hodinách.

Odečet mortality byl prováděn po celou dobu působení biocidu (po 30 min, 1, 2, 4, 6, 24, 48 a 72 hodinách). Do mortality byly započteny všechny mrtvé nepohybující se vosičky, za mrtvé byly považovány ty, které nereagovaly pohybem na podnět vyvolaný kontaktem se špičkou pinzety. Do mortality se zaznamenával čas od doby působení biocidu do uhynutí a použitá koncentrace.

Poté byly stanoveny LC 50 – 95, a LT 50. Letální koncentrace (LC) udává koncentraci daného biocidu, při níž zemře určitá procentická část testovaných jedinců. Např. při LC 50 zemře 50 % testovaných jedinců, při LC 95 zemře 95 % testovaných jedinců. Letální čas LT 50 udává čas, za který při dané koncentraci biocidu zemře 50 % testovaných jedinců.

4.4.2 Aplikace biocidů pro sledování chování parazitoidea *Venturia canescens* programem EthoVision® 3

4.4.2.1 Příprava biocidních roztoků

Kromě K-Othrinu® 25 WP zde bylo použito biocidů - Ficam® 80 W a Reldan® 40 EC. Roztoky byly připraveny stejným způsobem, jako u předešlého pokusu. A to tak, že na 100 ml vody bylo přidáno potřebné množství biocidu pro vytvoření požadované koncentrace.

Byly použity koncentrace, které doporučuje výrobce u K-Othrinu® 25 WP je to 1 %, u Ficamu® 80 W tedy 0,3 % a u Reldanu® 40 EC 0.7 %. (Tab. 2)

Tab. 2: Koncentrace účinných látek přípravků K-Othrine[®] 25 WP, Ficam[®] 80 W a Reldan[®] 40 EC použitých při pokusu (metodou jednorázového ponoření).

Parazitoid	Testovaný biocid – koncentrace	Doba působení biocidu [s]
<i>Venturia canescens</i>	Kontrolní vzorek - 0 %	2 – 3
	K-Othrine[®] 25 WP - 1 %	2 – 3
<i>Venturia canescens</i>	Kontrolní vzorek - 0 %	2 – 3
	Ficam[®] 80 W – 0.7 %	2 – 3
<i>Venturia canescens</i>	Kontrolní vzorek - 0 %	2 – 3
	Reldan[®] 40 EC – 0.3 %	2 – 3

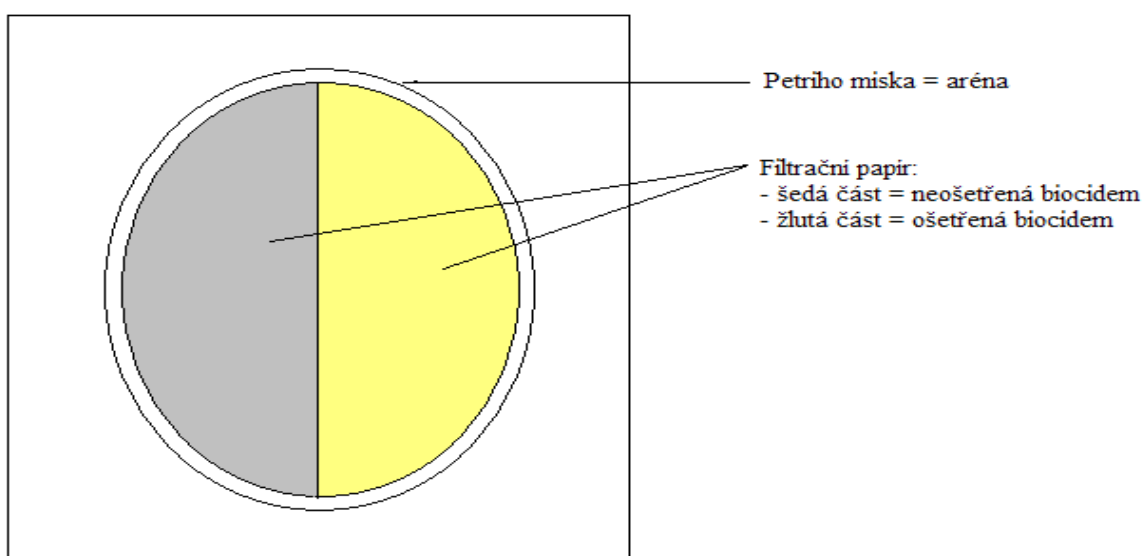
4.4.2.2 Testování biocidů na *Venturia canescens*

V tomto pokusu nebyl biocid aplikován na parazitoida, ale pouze na filtrační papír. A to pomocí přístroje Burkard[®], který umožňuje kontrolovanou a cílenou aplikaci testovaného přípravku na filtrační papír podle předem přednastaveného vzorce. U tohoto pokusu byla vybrána aplikace pouze na polovinu filtračního papíru (viz obr. 3). Proto, aby mohlo být sledováno chování parazitoidů v prostředí, kde je ošetřena jen část povrchu. Aplikace účinné látky byla provedena jednorázově na set 6 filtračních papírů, které se ponechaly po dobu cca 5 minut zaschnout.

Obr. 2: Aplikace biocidu na filtrační papíry pomocí přístroje Burkard®.



Obr. 3: Ilustrativní vzhled filtračního papíru po aplikaci biocidu přístrojem Burkard® (žlutá část je biocidem ošetřená, šedá neošetřená).



Již suché filtrační papíry byly umístěny pomocí pinzety do menší části Petriho misky. Do takto připravené arény, kde polovina byla ošetřena insekticidem a druhá ne, byli opatrně entomologickou pinzetou vloženi parazitoidi. Vosičky byly umístěny po jedné do arény, a vždy na polovinu filtračního papíru, která nebyla ošetřena insekticidem. Takto připravené Petriho misky byly po šesti vedle sebe umístěny pod kameru (viz obr. 4), která snímala každý pohyb parazitoida uvnitř arény. Kamera byla typu Panasonic WP-CP480, 1/3" barevná s digitálním zpracováním obrazu, která využívala technologie Super Dynamic III. s vysokou kvalitou obrazu a rozlišovací schopností.

Videa byla natáčena po dobu 3 minut, následně uložena do počítače a pomocí programu EthoVision[®] 3 zpracována. Poté byla vyhodnocena analýza pohybu *Venturia canescens* po aréně. Tato část pokusu byla zaměřena na chování parazitoida v prostoru, který byl z poloviny ošetřen biocidem. Bylo sledováno, zda se ošetřené části vyhýbal, jestli se tam pohyboval rychleji a jakou vzdálenost v jednotlivých zónách urazil. Tento pokus byl proveden se třemi biocidy (K-Othrine[®] 25 WP, Ficam[®] 80 W a Reldan[®] 40 EC) a u každého minimálně 12x zopakován.

Obr. 4: Petriho misky s *Venturia canescens* pod snímacím zařízením.

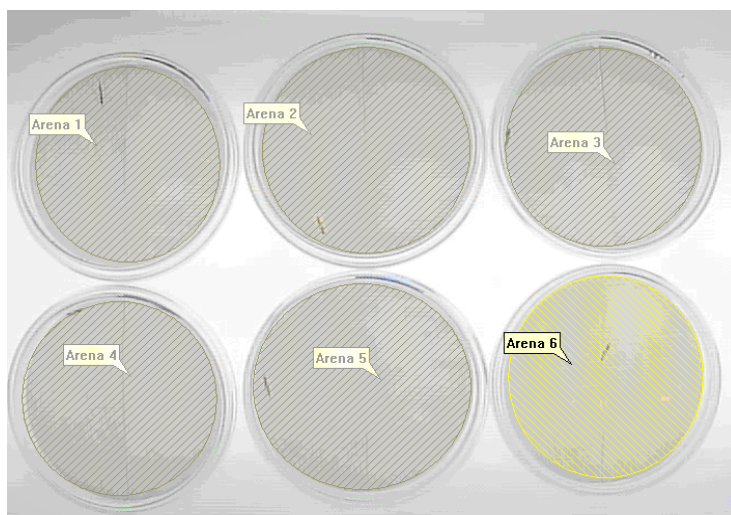


4.4.2.3 Práce s programem EthoVision® 3

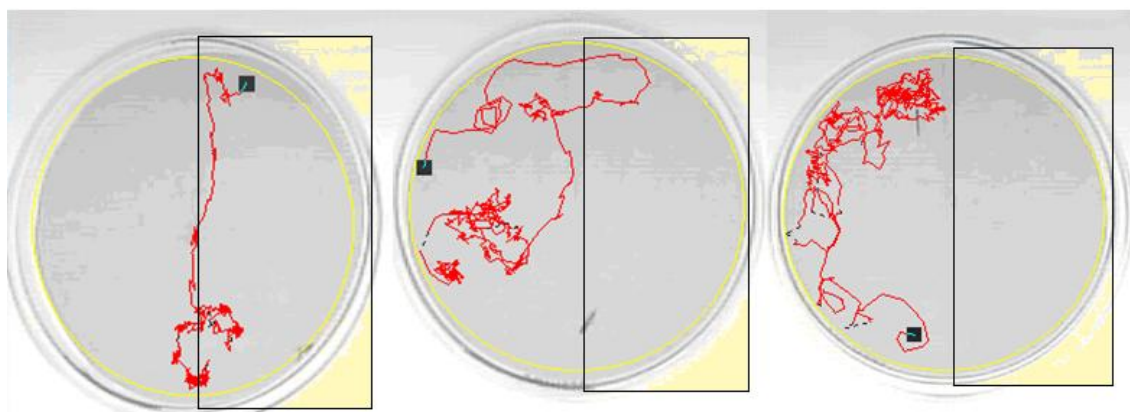
Program EthoVision® je softwarová platforma, která slouží k automatickému sledování a analýze chování, pohybu a činnosti zvířat.

Pro tuto diplomovou práci, bylo potřeba vytvořit arénu z poloviny ošetřenou biocidem, do které se vložila *V. canescens*. Takto připravených 6 arén se umístilo pod kameru, a začala nahrávka videa (3 min). Poté se již v programu musí na detekovat jednotlivá aréna, v ní ošetřená část, sledovaný parazitoid a nastavit jednotlivé parametry, které chceme sledovat. Ilustrativní ukázka z programu je na obr. 5 a 6.

Obr. 5: Zobrazuje 6 arén, u kterých se právě detekuje jejich plocha, délka a *V. canescens* uvnitř arény.



Obr. 6: Tři Petriho misky (= 3 arény), obdélník označuje biocidem ošetřenou část, červená čára značí pohyb *V. canescens* po aréně a černý čtvereček aktuální pozici. Na levé části vidíme, že se parazitoid vyskytoval na hranici obou zón. Na zbylých dvou arénách je patrné, že se vosička ošetřené části vyhýbala.



4.5 Analýza dat

Analýza vlivu koncentrace testovaných přípravků a hmotnosti parazitoida *Venturia canescens* byla provedena prostřednictvím obecných lineárních modelů (GLM) předpokládající binomické rozdělení chyb (pomocí statistického programu R <http://cran.at.r-project.org>). Nerovnováha disperzního parametru ve vztahu k předpokládanému binomickému rozdělení byla ošetřena aplikací quasibinomického rozdělení chyb. Data byla nejprve proložena iniciálním modelem, ze kterého poté byly postupně odstraňovány nejvíce nesignifikantní proměnné až do získání minimálního funkčního modelu (tzn. modelu, ve kterém byly všechny proměnné signifikantní). Iniciální model vycházel z designu pokusu daného počtem proměnných. Například u *V. canescens* testované na filtračním papíru s aplikovaným bendiocarbem při dvou teplotách a dvou reziduálních expozicích měl tento model pro výpočet letálních koncentrací tvar $\ln(\text{počet mrtvých jedinců/počet přeživších jedinců}) = \ln(\text{dávka} + 1e^{-6}) * \text{hmotnost}$, kde * představuje sumu jedné 2-cestné interakce a dvou jednotlivých proměnných. Pro analýzu průběhu mortality v čase byla aplikována analýza přežívání s pravostranným cenzurováním dat pomocí parametrických regresních modelů přežívání interferenční stromová analýza dat řešící vztah mezi koncentrací přípravku, hmotnosti parazitoidů a jejich vliv na přežívání (v rámci této analýzy koncové uzly odpovídají počtu vosiček, pro které byly spočítány Kaplan-Meier křivky přežívání s pomocí zásuvných modulů „party“ a „survival“).

Analýzy rozptylů a t-testy pro jednotlivé přípravky byly provedeny pomocí počítačového programu Statistica 9 (STATSOFT © <http://www.statsoft.cz>).

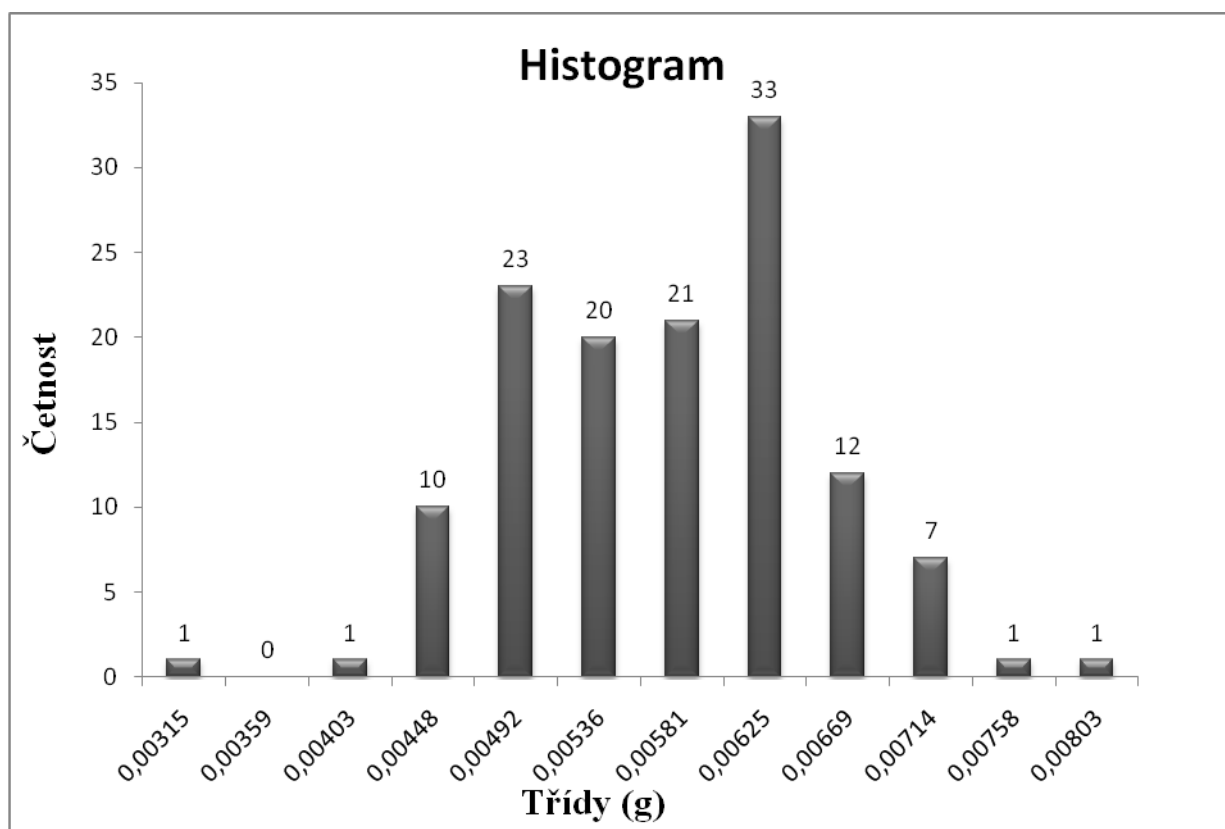
5 VÝSLEDKY

5.1 Vliv účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP) na parazitoida *Venturia canescens* v závislosti na hmotnosti jedince (aplikace metodou jednorázového ponoření)

5.1.1 Stanovení letálních koncentrací LC 50 – 95 účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP) u parazitoida *Venturia canescens* v závislosti na hmotnosti jedince (aplikace metodou jednorázového ponoření)

Výsledky byly vyhodnoceny po 24 hodinách od vystavení *Venturia canescens* biocidu. V kontrole byla zjištěna nulová mortalita. Vliv hmotností jedinců *Venturia canescens* na mortalitu v rámci sledované koncentrační řady nebyl signifikantní na hladině významnosti $p < 0.05$. K vážení bylo použito 130 vosiček a jejich hmotnost se pohybovala v rozmezí 315 – 803 mg, průměrná hmotnost byla 551.8 mg, medián byl 556.5 mg a modus 609 mg. Četnostní rozložení jednotlivých hmotností je zobrazeno v grafu 1.

Graf 1: Četnosti jednotlivých hmotností (g) u parazitoida *Venturia canescens* (n = 130).



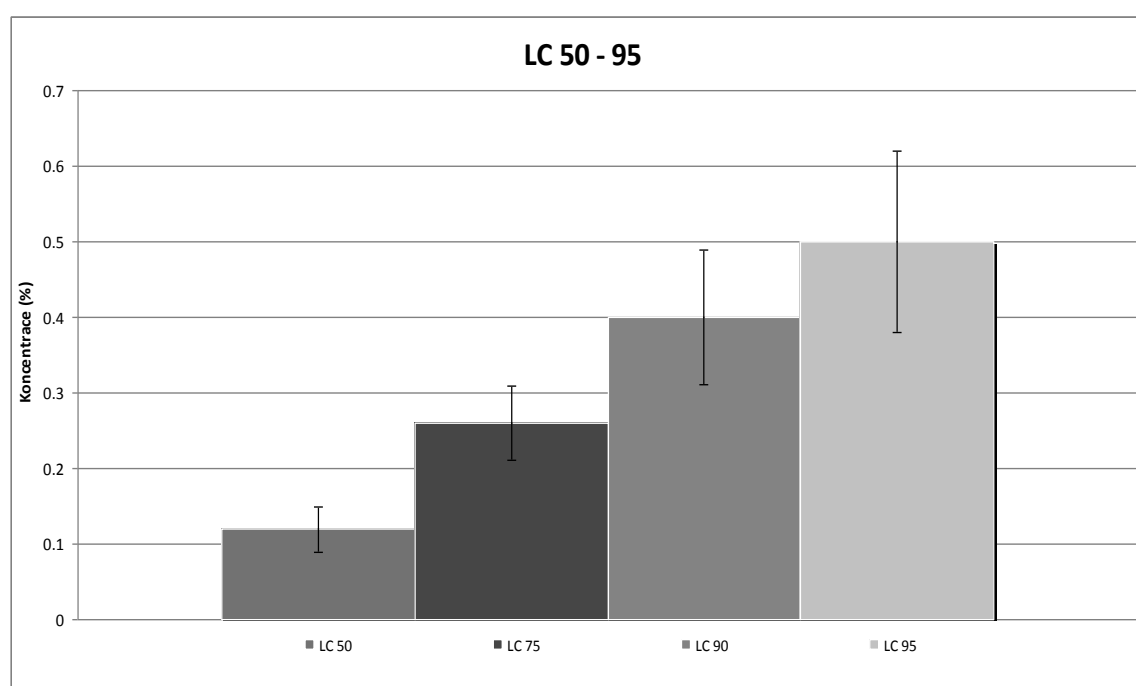
Po 24 hodinách nezahynula v koncentracích 0.025 % a 0.075 % žádná vosička. V koncentraci 0.05 % byla zjištěna 13,3 % mortalita, v koncentraci 0.1 % byla 93.3 % mortalita a v koncentraci 0.25 % byla mortalita 70 %. U posledních třech koncentrací 0.5 %, 0.75 % a 1 % byla po 24 hodinách 100 % mortalita

Výsledky stanovení jednotlivých letálních koncentrací LC 50 - 95 účinné látky deltametrin (K-Othrine® 25 WP) u *Venturia canescens* jsou uvedeny v tabulce 3. Pro letální koncentraci LC 50 byla vypočtena hodnota 0.12 % (± 0.03 SE), pro letální koncentraci LC 95 to byla hodnota 0.5 % (± 0.12 SE). Vliv stoupající koncentrace účinné látky deltamethrin na mortalitu vyjadřuje graf 2.

Tab. 3: Letální koncentrace LC 50 - 95 a střední chyby SE účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP; metoda jednorázového ponoření) u *Venturia canescens* po 24 hodinách od expozice.

Letální koncentrace (%)	Koncentrace (%)	Střední chyba SE
LC 50	0.12	0.03
LC 75	0.26	0.05
LC 90	0.4	0.09
LC 95	0.5	0.12

Graf 2: Letální koncentrace LC 50 - 95 a střední chyby SE účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP; metoda jednorázového ponoření) u *Venturia canescens* po 24 hodinách od expozice.



5.1.2 Stanovení letálních časů LT 50 pro jednotlivé koncentrace účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP) u parazitoida *Venturia canescens* v závislosti na hmotnosti jedince (aplikace metodou jednorázového ponoření)

Pro stanovení letálních časů LT 50 byla pro deltamethrin (K-Othrine® 25 WP) použita stejná data jako při stanovení letálních koncentrací LC 10 – LC 95. výsledky byly vyhodnoceny po 24 hodinách od expozice biocidu. V kontrolách byla zjištěna nulová mortalita.

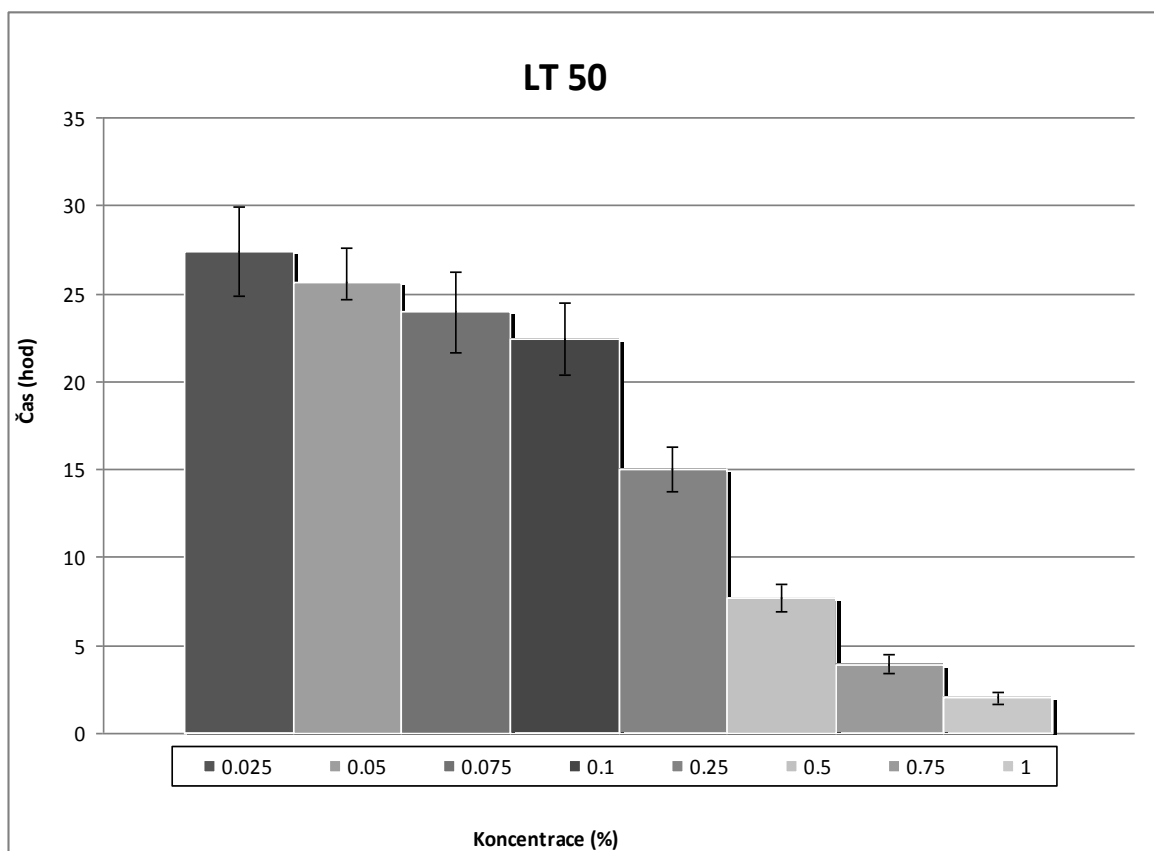
U hmotnosti *Venturia canescens* nebyla zjištěna signifikantně rozdílná doba přežívání na deltamethrin.

Hodnota LT 50 pro koncentraci 0.025 % byla 27,41 hodin ($\pm 2,76$ SE). LT 50 pro 0.075 % byla 23.97 hodin (± 2.29 SE), pro 0.1 % = 22,42 hodin (± 2.09 SE), pro 0.5 % = 7.68 hodin (± 0.77 SE) a pro 1 % koncentraci to bylo 2.01 hodin (± 0.37 SE). Hodnoty jednotlivých letálních časů pro všechny použité koncentrace účinné látky deltamethrin jsou uvedeny v tabulce 4 a grafické znázornění LT 50 v grafu 3.

Tab. 4: Letální časy LT 50 a střední chyby SE pro jednotlivé koncentrace účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP; metoda jednorázového ponoření) u *Venturia canescens* po 24 hodinách od expozice.

Koncentrace (%)	LT 50 (hodiny)	Střední chyba SE (hodiny)
0.025	27.41	2.76
0.05	25.63	2.52
0.075	23.97	2.29
0.1	22.42	2.09
0.25	14.99	1.29
0.5	7.68	0.77
0.75	3.93	0.54
1	2.01	0.37

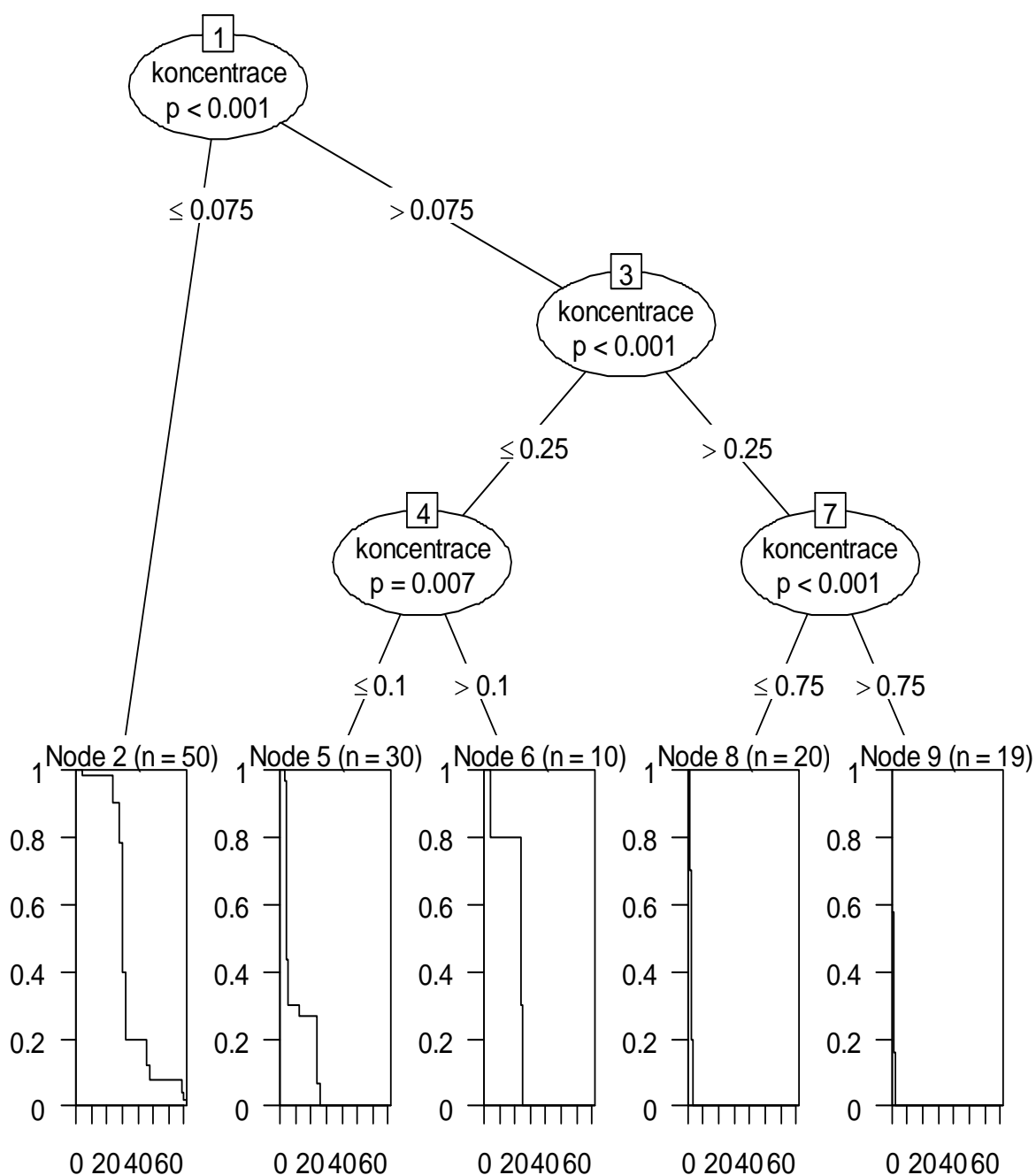
Graf 3: Letální časy (LT 50) a střední chyby SE účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP; metoda jednorázového ponoření) u *Venturia canescens*.



Závislost přežívání u *Venturia canescens* na čase znázorňuje graf 4. Hmotnost vosiček neměla na přežívání žádný vliv. Signifikantní je zde pouze koncentrace přípravku.

Signifikantní rozdíly mezi jednotlivými koncentracemi znázorňuje rozdělení pavoukem, kdy první zlomovým bodem je koncentrace 0.075 % na hladině významnosti $p < 0.001$. Při nižší koncentraci než 0.075 % je průběh přežívání zobrazen na levém grafu vytvořeného z 50 případů ($n = 50$, node 2). Při vyšší koncentraci než 0.075 % je průběh přežívání zobrazen na pravé části grafu. Druhým zlomovým bodem je koncentrace 0.25 % na hladině významnosti $p < 0.001$. U koncentrace ≤ 0.25 jsou dva intervaly na hladině významnosti $p = 0.007$, u koncentrací ≤ 0.1 % je graf vytvořen z 30 případů ($n = 30$, node 5), u koncentrací > 0.1 % z 10 případů ($n = 10$, node 6). U koncentrací vyšší než 0.25 % na hladině významnosti $p < 0.001$ se graf opět dělí na dva intervaly koncentrací ≤ 0.75 % ($n = 20$, node 8) a > 0.75 % tvořené z 19 případů ($n = 19$, node 9).

Graf 4: Intenferenční stromový graf zobrazující vztah mezi koncentrací přípravku K-Othrine® 25 WP a přežíváním (osa x: 1 = 100% přežívá, 0 = vše v daný čas uhynulo) *Venturia canescens*. Koncové uzly odpovídají počtu vosiček, pro které byly spočítány Kaplan-Meier křivky přežívání.



5.1.3 Vliv účinné látky deltamethrin (K-Othrine® 25 WP) na parazitoida *Venturia canescens* (aplikace pomocí přístroje Burkard®) v závislosti na čase od doby aplikace

Tento pokus z důvodu malého počtu opakování není statisticky průkazný. Souhrnné výsledky pro jednotlivé koncentrace účinné látky deltamethrin závislé na čase od doby aplikace jsou uspořádány v tabulce 5.

Rychlost pohybu byla nejvyšší ve všech třech časech u kontrol (0.58 – 0.7 cm/s). Dále již ve výsledcích není žádný prokazatelný efekt působení účinné látky na koncentraci a čas od doby aplikace.

Tab. 5: Závislost délky trasy a rychlosti pohybu na aplikační koncentraci přípravku K-Othrine® 25 WP a času od aplikace (60, 90 a 120 minut) na parazitoida *Venturia canescens*.

Čas od aplikace	Koncentrace (%)	Délka trasy (cm)	Rychlost pohybu (cm/s)
60 min	0.75	16.01	0.25
	0.50	27.43	0.15
	0.25	122.54	0.51
	0.1	15.15	0.08
	0.05	108.43	0.61
	Kontrola	67.57	0.65
90 min	0.75	16.87	0.10
	0.50	30.11	0.20
	0.25	40.08	0.44
	0.1	13.03	0.47
	0.05	10.52	0.17
	Kontrola	84.63	0.70
120 min	0.75	5.45	0.01
	0.50	25.29	0.14
	0.25	65.1	0.56
	0.1	34.77	0.12
	0.05	98.33	0.46
	Kontrola	108.12	0.58

5.2 Vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine[®] 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan[®] 40 EC) a bendiocarb (Ficam[®] 80 W) na parazitoida *Venturia canescens*

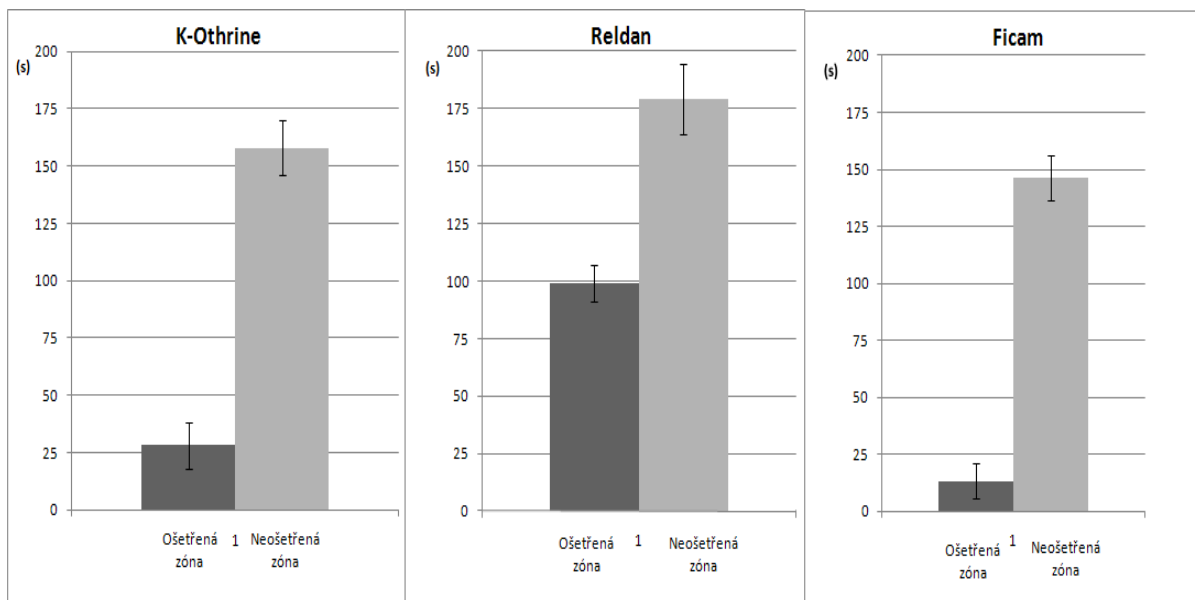
5.2.1 Vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine[®] 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan[®] 40 EC) a bendiocarb (Ficam[®] 80 W) na čas strávený v ošetřené a neošetřené části arény

U tohoto pokusu byly použity doporučené koncentrace jednotlivých přípravků, a Petriho miska byla rozdělena na dvě části (biocidem ošetřená a neošetřená zóna). Celkový čas strávený v jednotlivé aréně (doba natáčení) byl 3 minuty (180 sekund). U většiny grafů z této skupiny je celková doba strávená v aréně delší, a to proto, že se vosička pohybovala na rozmezí zón (ošetřené a neošetřené části). A program EthoVision[®] 3 tuto dobu přičítal ke každému parametru zvlášť.

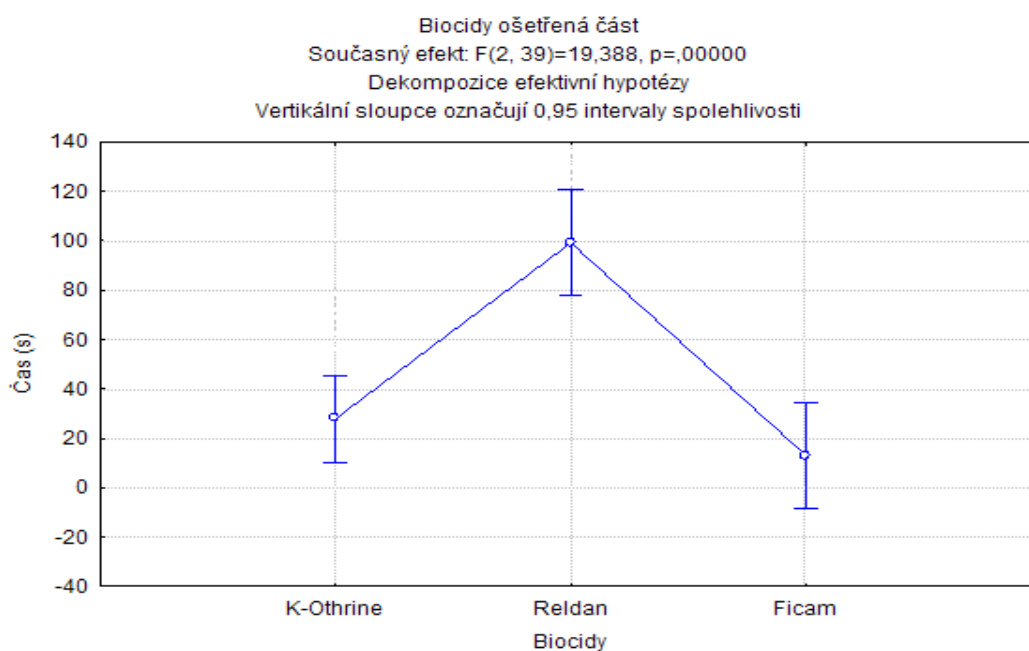
U přípravku K-Othrine[®] 25 WP byly zjištěny tyto hodnoty: v neošetřené části byla *Venturia canescens* detekována 157.93 sekundy (± 7.32 SE), v ošetřené části 28.05 sekundy (± 7.51 SE). U přípravku Reldan[®] 40 EC pobyla *V.canescens* v neošetřené části 179.3 sekundy (± 15.47 SE) a v ošetřené 99.2 sekundy (± 6.15 SE). U přípravku Ficam[®] 80 W byla vosička v neošetřené části 146.3 sekundy (± 7.67 SE) a v ošetřené 13.12 sekundy (± 9.71 SE). Závislost jednotlivých účinných látek na pohyb po aréně znázorňují grafy 5 - 7.

Jednotlivé rozdíly účinků ošetření mezi použitými biocidy na dobu strávenou v ošetřené části arény zobrazuje graf 7 ($F_{2,39} = 19.39$, $p < 0.005$). U přípravků K-Othrine[®] 25 WP a Ficam[®] 80 W není signifikantní rozdíl ošetření. Mezi K-Othrine[®] 25 WP a Reldan[®] 40 EC se projevil signifikantní rozdíl ošetření. Reldan[®] 40 EC a Ficam[®] 80 W vykazují signifikantní rozdíl na ošetření. Z této části pokusu vyšel nejlépe přípravek Reldan[®] 40 EC, který měl nejmenší vliv na parazitoida *V. canescens*.

Graf 5 - 7: Závíslost doby strávené (průměry + SE), *Venturia canescens* v ošetřené a neošetřené části Petriho misky, na doporučených koncentracích účinných látek deltamethrin (K-Othrine® 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan® 40 EC) a bendiocarb (Ficam® 80 W) (průměrné hodnoty + SE).



Graf 8: Analýza rozptylů pro časy *Venturia canescens* strávené v ošetřené části arény, pro jednotlivé účinné látky přípravků: K-Othrine® 25 WP, Reldan® 40 EC a Ficam® 80 W ($F_{2,39} = 19.39$, $p < 0.005$).

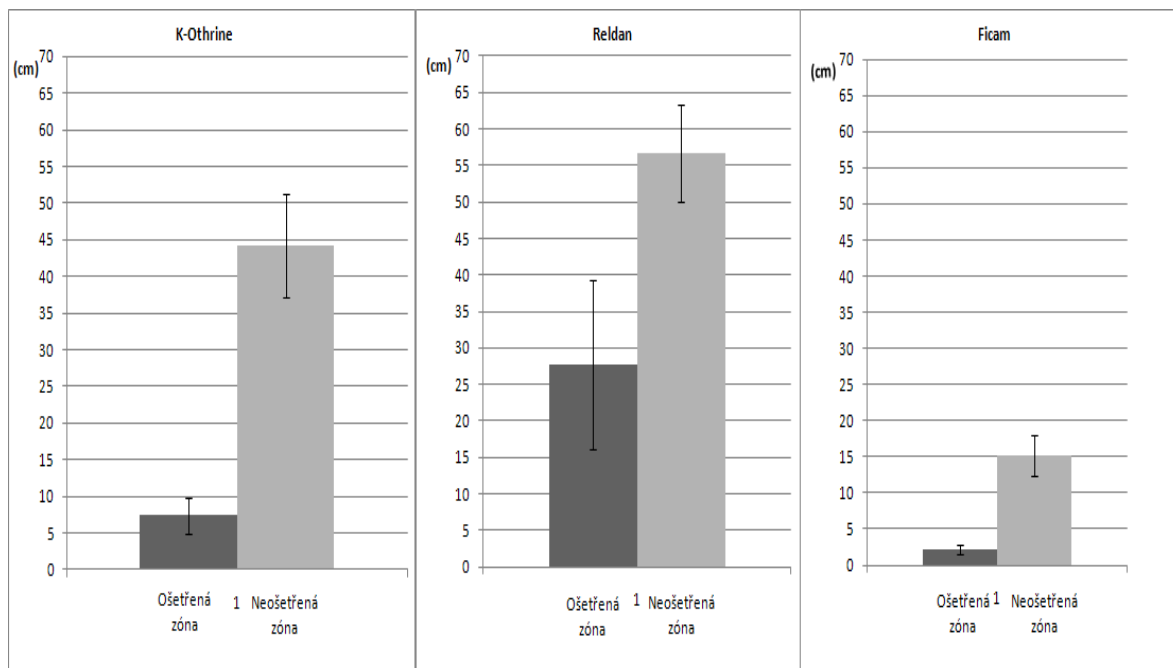


5.2.2 Vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine[®] 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan[®] 40 EC) a bendiocarb (Ficam[®] 80 W) na délku trasy v ošetřené a neošetřené části arény

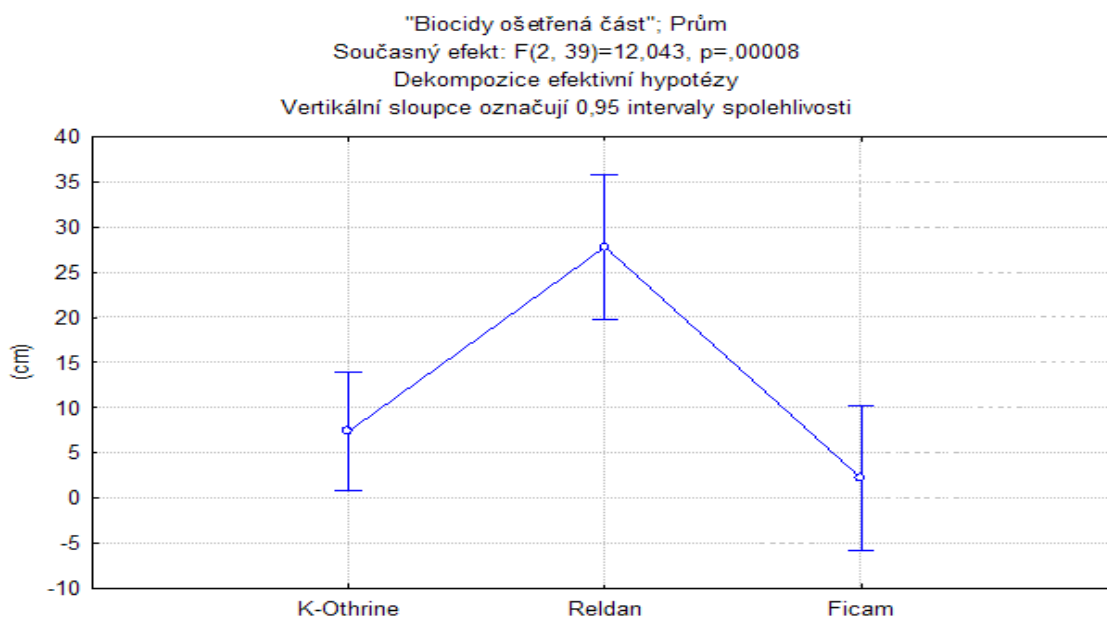
U všech třech použitých přípravků se projevil signifikantní vliv ošetření na délku trasy *Venturia canescens*. U přípravku K-Othrine[®] 25 WP v neošetřené části vosička v průměru urazila 44.21 cm (\pm 7.89 SE), v ošetřené 7.39 cm (\pm 2.35 SE). U přípravku Reldan[®] 40 EC v neošetřené části 56.8 cm (\pm 7.58 SE), v ošetřené 27.8 cm (\pm 11.64 SE). U třetího přípravku Ficam sjednotit velikost písma[®] 80 W to v neošetřené části byla vzdálenost 15.14 cm (\pm 3.87 SE) a v ošetřené 2.21 cm (\pm 1 SE). Závislost délky trasy *V.canescens*, na tom v jaké části arény se vyskytovaly, zobrazují grafy 9 – 11.

Jednotlivé rozdíly účinků ošetření mezi použitými biocidy na délku trasy v ošetřené části arény zobrazuje graf 11 ($F_{2,39} = 12.043$, $p < 0.005$). U přípravků K-Othrine[®] 25 WP a Ficam[®] 80 W není signifikantní rozdíl ošetření. Mezi K-Othrine[®] 25 WP a Reldan[®] 40 EC se projevil signifikantní rozdíl ošetření. Reldan[®] 40 EC a Ficam[®] 80 W vykazují signifikantní rozdíl na ošetření. Obdobně jako u předešlé části pokusu, měl nejmenší negativní vliv na parazitoida přípravek Reldan[®] 40 EC ze skupiny karbamátů.

Graf 9 - 11: **Závislost délky trasy, *Venturia canescens* v ošetřené a neošetřené části Petriho misky, na doporučených koncentracích účinných látek deltamethrin (K-Othrine® 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan® 40 EC) a bendiocarb (Ficam® 80 W) (průměrné hodnoty + SE).**



Graf 12: **Analýza rozptylů pro délku trasy *Venturia canescens* v ošetřené části arény, pro jednotlivé účinné látky přípravků: K-Othrine® 25 WP, Reldan® 40 EC a Ficam® 80 W ($F_{2,39} = 12.043$, $p < 0.005$).**

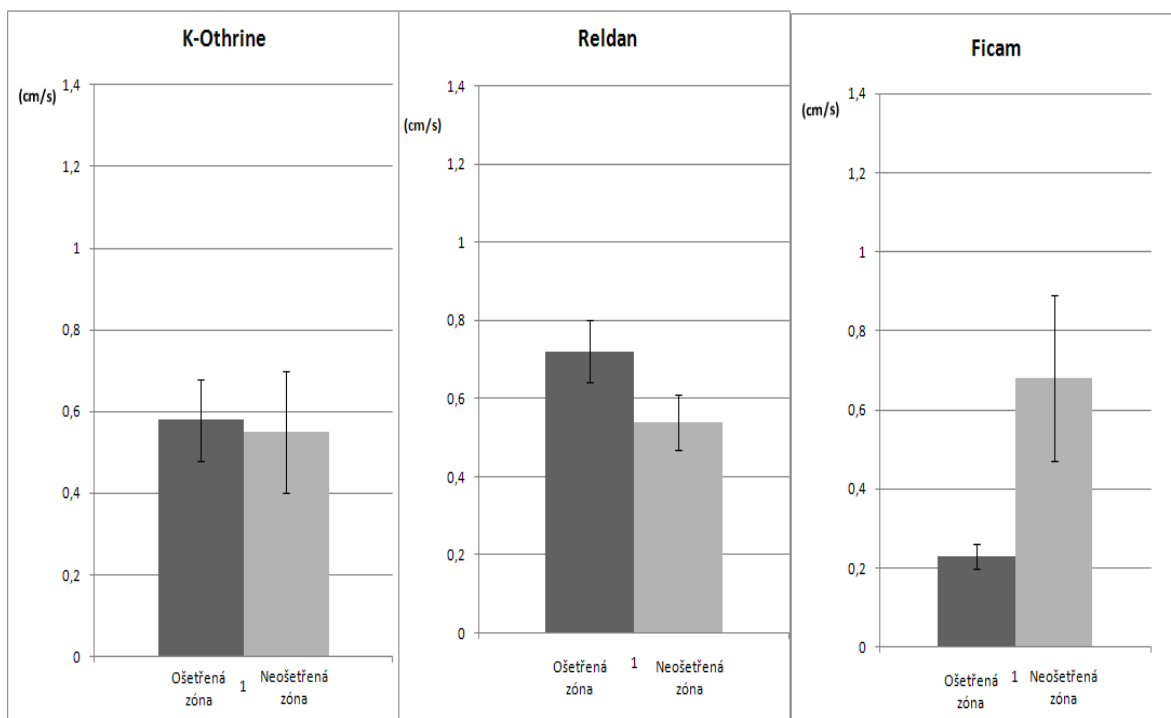


5.2.3 Vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine[®] 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan[®] 40 EC) a bendiocarb (Ficam[®] 80 W) na rychlost pohybu v ošetřené a neošetřené části arény

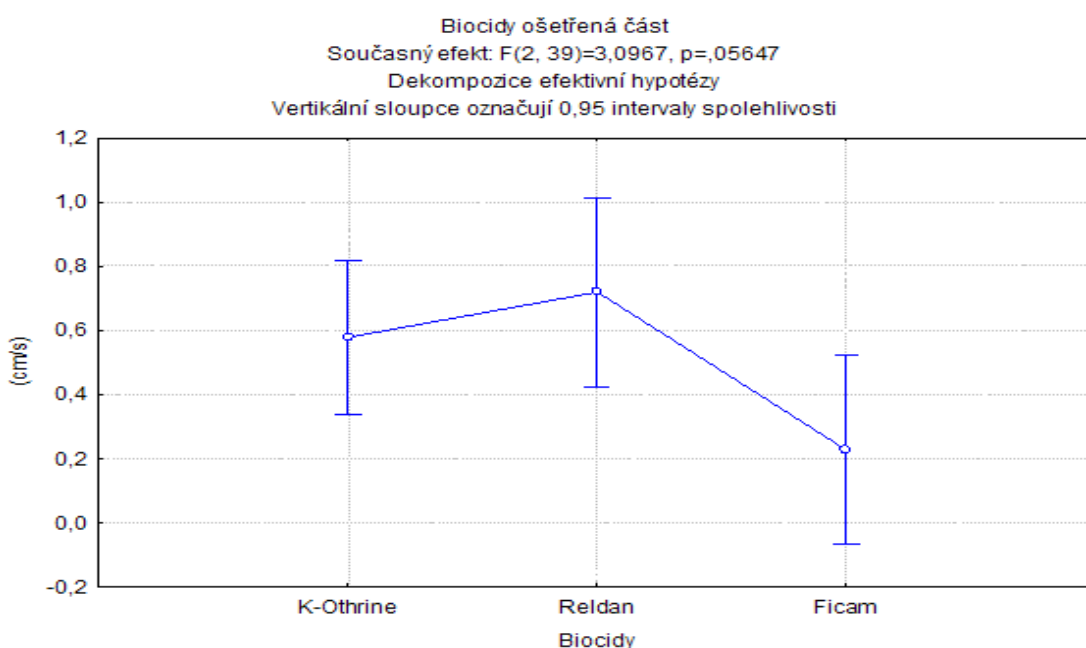
U K-Othrine[®] 25 WP v neošetřené části byla průměrná rychlost *V.canescens* 0.55 cm/s (± 0.1 SE), v ošetřené 0.58 cm/s (± 0.15 SE). U přípravku Reldan[®] 40 EC v neošetřené části 0.54 cm/s (± 0.1 SE) a v biocidem ošetřené části 0.72 cm/s (± 0.1 SE). U Ficam[®] 80 W se v neošetřené části vosička pohybovala průměrnou rychlostí 0.68 cm/s (± 0.93 SE) a v ošetřené 0.23 cm/s (± 0.04 SE). Rychlost pohybu v ošetřené a neošetřené části arény u jednotlivých biocidů zobrazují grafy 13 – 15.

Jednotlivé rozdíly účinků ošetření mezi použitými biocidy na rychlost pohybu v ošetřené části arény zobrazuje graf 16 ($F_{2,39} = 3.0967$, $p < 0.056$). Mezi použitými biocidy není signifikantní rozdíl ošetření na parametr rychlosti pohybu.

Graf 13 - 15: **Závislost rychlosti pohybu, *Venturia canescens* v ošetřené a neošetřené části Petriho misky, na doporučených koncentracích účinných látek deltamethrin (K-Othrine® 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan® 40 EC) a bendiocarb (Ficam® 80 W) (průměrné hodnoty + SE).**



Graf 16: **Analýza rozptylů pro rychlost pohybu *Venturia canescens* v ošetřené části arény, pro jednotlivé účinné látky přípravků: K-Othrine® 25 WP, Reldan® 40 EC a Ficam® 80 W ($F_{2,39} = 3.0967$, $p < 0.056$).**



6 DISKUZE

Venturia canescens je parazitoid skladištních škůdců, který slouží jako modelový druh pro různé ekologické a etologické studie. Jen velmi okrajově byl však doposud studován účinek biocidů na tento druh a zcela opomíjen byl přímý vliv insekticidů (doporučených či subletálních dávek) na chování tohoto parazitoida. V důsledku toho jsou výsledky této práce unikátní a jsou srovnávány pouze ve vztahu k podobně zaměřeným studiím na jiných druzích parazitoidů.

V této diplomové práci byl v jednom z pokusů testován vliv účinné látky deltamethrinu přípravku K-Othrine® 25 WP na *Venturia canescens* v závislosti na hmotnosti jedince (k aplikaci přípravku byla použita metoda jednorázového ponoření). U hmotnosti *Venturia canescens* nebyla zjištěna signifikantně rozdílná doba přežívání po aplikaci deltamethrinu.

Pro deltamethrin byla u *V.canescens* vypočtena letální koncentrace $LC_{50} = 0.12\%$ a hodnota $LC_{90} = 0.4\%$. V koncentracích 0.025% a 0.075% byla po 24 hodinách zjištěna nulová mortalita. Zajímavé jsou výsledky u koncentrace 0.1% , kdy po 24 hodinách byla mortalita 93.3% a u vyšší koncentrace 0.25% to bylo pouhých 70% . ŠAMBERGOVÁ (2005) také ve své práci zkoumala vliv účinných látek deltamethrinu a bendiocarbu. U deltamethrinu zjistila, že $LC_{50} = 0.41\%$ oproti tomu u bendiocarbu jen 0.018% . A u deltamethrinu letální koncentrace $LC_{90} = 3.837\%$, ale u bendiocarbu jen 0.03% . Z toho vyvodila, že *V.canescens* je mnohem citlivější ke karbamátům než k pyretroidům. Naše výsledky se, ale u deltamethrinu výrazně liší. Ačkoliv byli k testování použiti jedinci pocházející ze stejného kmene, koncentrace i formulace přípravku. Rozdíl byl pouze v šarži daného biocidu, což by také mohlo být vysvětlení pro rozdílnost výsledků. Další možné vysvětlení, proč se výsledky tak liší, je ve zvýšení citlivosti (resp. ztrátě původní rezistence) vůči použitým biocidům. ŠAMBERGOVÁ (2005) svůj pokus prováděla o 5 let dříve. *Venturia canescens* v průměru za jeden měsíc vytvoří 1 generaci tj. 12 generací / 1 rok a 60 generací / 5 let. Pokud se hostitel vyskytuje v přirozeném prostředí, kde je systematicky aplikován dotyčný biocid, je vystaven trvalému selekčnímu tlaku vedoucímu k selekci fyziologicky rezistentního kmene parazitoida za podmínky, že je (jsou) v populaci přítomna (y) mutace, které tuto selekci umožní. Ale na tyto laboratorní generace již nepůsobí selekční tlak prostřednictvím potenciálně rezistentního hostitele ani prostředí, proto by mohlo dojít ke

ztrátě odolnosti kmenu, se kterým byly pokusy prováděny. Tuto hypotézu by bylo zajímavé podrobit dalšímu výzkumu. BAKER et. al (1995) testoval dva kmeny parazitoida *Habrobracon hebetor*. U prvního kmenu, pocházejícího z laboratorního chovu, byla pro účinnou látku malathion technický 95 % malathion) vypočtena hodnota letální dávky LD 50 = 0.21 µg na povrch skla (CI₉₅: 0.17 µg, 0.23 µg). U druhého kmenu, nalezeného v kukuřičném silu, kde byla prováděna chemická ochrana, byla vypočítána hodnota LD 50 = 1.59 µg na povrch skla (CI₉₅: 1.44 µg, 1.72 µg). Kmen *H. hebetor* který byl chován laboratorně a nikdy nepřišel do styku s malathionem, byl tedy citlivější než kmen nalezený v silech, kde byla prováděna chemická ochrana.

ELIOT (1983) testoval deltamethrin na *V. canescens* a jejím hostiteli *Epehstia kuehniella*. A u pyrethroidů zjistil 2 – 145 x větší toxicitu na *E. kuehniella* než na jejího parazitoida. U karbamátů zjistil, že jsou 7.5 x toxičtější pro *E. kuehniella* než pro *V. canescens*. Tato skutečnost, že hostitel je citlivější k pyrethroidům a karbamátům než *Venturia canescens*, naznačuje možnost aplikace těchto biocidů proti škůdcům ve skladech, aniž by tím byli hubeni parazitoidé.

V této práci byla dále vypočtena doba přežívání u *Venturia canescens*. Pro deltamethrin nebyl zjištěn signifikantní rozdíl úmrtnosti v závislosti na hmotnosti parazitoida. Signifikantní je zde pouze koncentrace přípravku. Zjištěny byly tyto hodnoty: LT 50 pro koncentraci 0.05 % = 25.62 hodin (± 2.52 SE) a pro 1 % koncentraci 2.01 hodin (± 0.37 SE). ŠAMBERGOVÁ (2008) uvádí u 0.05 % koncentrace letální čas (LT 50) 38.82 hodin, a 29.64 hodin pro 1 % koncentraci. Dále uvádí dobu přežívání u *V. canescens* v závislosti na teplotě prostředí. U přípravků s účinnou látkou deltamethrin při teplotách 10 °C a 30 °C nebyla statisticky prokázána rozdílná doba přežívání u *V. canescens*. Ale u přípravků s účinnou látkou bendiocarb byla statisticky prokázána rozdílná doba přežívání v prostředí s rozdílnou teplotou (10 °C a 30 °C). Při teplotě 10 °C byla pro koncentraci 0.015 % vypočtena hodnota Lt 50 = 59.28 hodin a pro 0.3 % koncentraci byla hodnota LT 50 = 19.11 hodin. Při teplotě 30 °C byla pro koncentraci 0.015 % vypočtena hodnota LT 50 = 36.82 hodin a pro 0.3 % koncentraci byla hodnota LT 50 = 20.86 hodin. Při teplotě 30 °C přežívá *V. canescens* na nízkých a středních hodnotách bendiocarbu kratší dobu než při teplotě 10 °C. U vyšších koncentrací je doba přežívání srovnatelná.

V další části této práce se zkoumal vliv účinných látek deltamethrin (K-Othrine® 25 WP), chlorpyrifos-methyl (Reldan® 40 EC) a bendiocarb (Ficam® 80 W) na změny chování parazitoida *Venturia canescens*. Parazitoid byl umístěn do arény, v které byla jedna polovina ošetřena příslušným přípravkem s danou koncentrací. A byla sledována jeho rychlost, čas a pohyb v závislosti na tom, v jaké části arény se zrovna vyskytoval.

Délka trasy v neošetřené části byla signifikantně vyšší a obdobně, doba strávená v neošetřené části byla signifikantně delší u všech třech použitých biocidů. U rychlosti pohybu parazitoida *V. canescens* již nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Pro dobu strávenou v jednotlivé části arény u jednotlivých účinných látek byly zjištěny tyto hodnoty: pro deltamethrin byla vosička v neošetřené části detekována 157.93 sekundy (± 7.32 SE), v ošetřené části 28.05 sekundy (± 7.51 SE). U účinné látky chlorpyrifos-methyl pobyla *V. canescens* v neošetřené části 179.3 sekundy (± 15.47 SE) a v ošetřené 99.2 sekundy (± 6.15 SE). U bendiocarbu byla včelička v neošetřené části 146.3 sekundy (± 7.67 SE) a v ošetřené 13.12 sekundy (± 9.71 SE). DELPEUCH et. al. (1998) sledoval mortalitu jedinců *Trichogramma brassicae* po aplikaci účinné látky deltamethrin, a zjišťoval rozdílný vliv na samce a samice. U citlivosti na insekticid nezjistil průkazný rozdíl mezi pohlavími. Odhadovaná dávka vyvolávající 0.1 % mortalitu LD 0.1 % pro obě pohlaví je 5,76 μg účinné látky. Pohybová aktivita samců byla stejná při použití LD 0.1 % deltamethrinu jako při jeho nepoužití. Rozdíl v lineární rychlosti, úhlové rychlosti a délky trasy mezi samci vystavenými a nevystavenými působení insekticidu, nebyl průkazný. Dávka chlor-pyrifosu LD 0.1 %, která nevyvolá znatelnou mortalitu, nevyvolává ani velký vliv na pohybovou rychlost. Jen malý rozdíl byl u ošetřených samců v úhlové rychlosti. Tento rozdíl, korespondující se snížením úhlové rychlosti, je ve shodě s intoxikací, která spíše zvyšuje úhlovou rychlost způsobenou nekoordinovanými pohyby. Samice buď ošetřené insekticidem, nebo ne, urazili kratší vzdálenost než samci.

SMALLMAN & MANSINGH (1969) uvádějí, že subletální účinky pesticidů na larvální vývoj mohou vyvolávat odchylky ve vývoji nervových tkání, způsobenými neurotoxickými látkami. Vzhledem k významnosti cholinergickému systému ve vývoji hmyzu, existuje mnoho možných subletálních efektů. Růstové regulátory hmyzu také často ovlivňují vývoj užitečných členovců.

U délky pohybu pro jednotlivé účinné látky byly v této práci zjištěny tyto hodnoty: u deltamethrinu parazitoid v neošetřené části v průměru urazil 44.21 cm (± 7.89 SE), v ošetřené 7.39 cm (± 2.35 SE). Pro chlorpyrifos-methyl v neošetřené části 56.8 cm (± 7.58

SE), v ošetřené 27.8 cm (± 11.64 SE), a pro bendiocarb to v neošetřené části byla vzdálenost 15.14 cm (± 3.87 SE) a v ošetřené 2.21 cm (± 1 SE). U rychlosti pohybu pro jednotlivé účinné látky byly zjištěny tyto hodnoty: pro deltamethrin se parazitoid v neošetřené části pohyboval průměrnou rychlostí 0.55 cm/s (± 0.1 SE), v ošetřené 0.58 cm/s (± 0.15 SE). Pro chlorpyrifos-methyl v neošetřené části byla průměrná rychlost 0.54 cm/s (± 0.1 SE) a v biocidem ošetřené části 0.72 cm/s (± 0.1 SE). U bendiocarbu se v neošetřené části vosička pohybovala průměrnou rychlostí 0.68 cm/s (± 0.93 SE) a v ošetřené 0.23 cm/s (± 0.04 SE).

Z těchto výsledků se můžeme domnívat, že prostředí, které je ošetřeno účinnou látkou bendiocarb je pro parazitoida nejméně přívětivé. Parametry, které jsme zde sledovaly, byly pro bendiocarb vždy nejnižší. Tuto skutečnost lze přičíst k těkavosti a silnému zápachu použitého přípravku Ficam[®] 80 W. Pro ověření této hypotézy bude potřebné provést další pokusy.

Studie zkoumající parazitoidy poukazují na omezený výlet dospělců z kukly při použití deltamethrinu (KRESPI et al., 1991; SCHNEIDER et al., 2003; SABER et al., 2005). Omezený výlet dospělců byl taktéž pozorován u predátora *Mallada signatur*, vystavenému rostlinnému insekticidu azadirachtin A (AzaA), ve stádiu kukly (QI, et. al., 2001). Ve většině těchto studií zůstalo nejasné, zda omezený výlet dospělců je spjat s přímým účinkem pesticidů nebo jestli jsou za to přímo odpovědné jiné odchylky jako např. malformace orgánů. SCHNEIDER et al. (2003) uvádí snížení výletu dospělců napadeného hostitele po vystavení spinosadu v endoparazitoidovi *Hyposoter didimator*, nicméně spojuje svůj objev se zřejmou neschopností larev vytvářet hedvábí, materiál nutný k výstavbě kokonů. Podobný objev byl učiněn u predátora *Chrysoperla Carnea* vystavenému látce fenoxycarb (obdoba juvenilního hormonu) (BORTOLOTTI et al., 2005).

7 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo zjistit vliv subletálních dávek těchto běžně používaných insekticidů: K-Othrine[®] 25 WP (deltamethrin), Ficam[®] 80 W (bendiocarb) a Reldan[®] 40 EC (chlorpyrifos-methyl), na chování parazitoida *Venturia canescens*.

Pro účinnou látku deltamethrin byly stanoveny letální koncentrace LC 50 – LC 95. Pro letální koncentraci LC 50 byla vypočtena hodnota 0.12 % (± 0.03 SE), pro letální koncentraci LC 95 to byla hodnota 0.5 % (± 0.12 SE). Hmotnost *Venturia canescens* neměla signifikantní vliv na mortalitu, signifikantní byla pouze koncentrace přípravku.

Pro účinnou látku deltamethrin, v jednotlivých koncentracích, byly stanoveny letální časy LT 50. LT 50 pro koncentraci 0.025 % byl 27,41 hodin ($\pm 2,76$ SE). LT 50 pro koncentraci 0.05 % byl 25.63 (± 2.52 SE), LT 50 pro 0.075 % byl 23.97 hodin (± 2.29 SE), pro 0.1 % = 22,42 hodin (± 2.09 SE), pro koncentraci 0.25 % = 14.99 hodin (± 1.29 SE) pro 0.5 % = 7.68 hodin (± 0.77 SE), pro koncentraci 0.75 % = 3.93 hodin (± 0.54 SE) a pro 1 % koncentraci 2.01 hodin (± 0.37 SE).

Byl prokázán statisticky významný rozdíl v působení testovaných biocidů na dobu strávenou parazitoidem na ošetřené části ($F_{2,39} = 19.39$, $p < 0.005$). U přípravků K-Othrine[®] 25 WP a Ficam[®] 80 W není signifikantní rozdíl ošetření. Mezi dvojicí přípravků K-Othrine[®] 25 WP/ Reldan[®] 40 EC a Reldan[®] 40 EC/ Ficam[®] 80 W se projevil signifikantní rozdíl ošetření. Pro jednotlivé účinné látky byly zjištěny tyto hodnoty: pro deltamethrin byla vosička v neošetřené části detekována 157.93 sekundy (± 7.32 SE), v ošetřené části 28.05 sekundy (± 7.51 SE). U účinné látky chlorpyrifos-methyl pobyla *V.canescens* v neošetřené části 179.3 sekundy (± 15.47 SE) a v ošetřené 99.2 sekundy (± 6.15 SE). U bendiocarbu byla vosička v neošetřené části 146.3 sekundy (± 7.67 SE) a v ošetřené 13.12 sekundy (± 9.71 SE).

Jednotlivé rozdíly účinků ošetření mezi použitými biocidy na délku trasy v ošetřené části arény ($F_{2,39} = 12.043$, $p < 0.005$) byly statisticky průkazné. U přípravků K-Othrine[®] 25 WP a Ficam[®] 80 W není signifikantní rozdíl ošetření. Mezi K-Othrine[®] 25 WP a Reldan[®] 40 EC se projevil signifikantní rozdíl ošetření. Reldan[®] 40 EC a Ficam[®] 80 W vykazují signifikantní rozdíl na ošetření. Pro jednotlivé účinné látky byly zjištěny tyto hodnoty: pro deltamethrin parazitoid v neošetřené části v průměru urazil 44.21 cm (± 7.89 SE), v ošetřené

7.39 cm (± 2.35 SE). Pro chlorpyrifos-methyl v neošetřené části 56.8 cm (± 7.58 SE), v ošetřené 27.8 cm (± 11.64 SE), a pro bendiocarb to v neošetřené části byla vzdálenost 15.14 cm (± 3.87 SE) a v ošetřené 2.21 cm (± 1 SE).

Nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl mezi testovanými biocidy na rychlost pohybu parazitoida ($F_{2,39} = 3.0967$, $p < 0.056$). Pro jednotlivé účinné látky byly zjištěny tyto hodnoty: pro deltamethrin se parazitoid v neošetřené části pohyboval průměrnou rychlostí 0.55 cm/s (± 0.1 SE), v ošetřené 0.58 cm/s (± 0.15 SE). Pro chlorpyrifos-methyl v neošetřené části byla průměrná rychlost 0.54 cm/s (± 0.1 SE) a v biocidem ošetřené části 0.72 cm/s (± 0.1 SE). U bendiocarbu se v neošetřené části vosička pohybovala průměrnou rychlostí 0.68 cm/s (± 0.93 SE) a v ošetřené 0.23 cm/s (± 0.04 SE).

Výsledky získané v této práci poukazují na Reldan[®] 40 EC, jako na vhodný přípravek k ochraně skladů před škůdci. S ohledem na jeho nejmenší negativní působení na parazitoida *Venturia canescens*. Naopak použití přípravku Ficam[®] 80 W ze skupiny karbamátů, se zdá jako nejméně vhodné v kombinaci s biologickou ochranou.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ANTOLIN, M.F., ODE, P.J., STRNAD, M.R. 1995. Variable sex ratios and ovicide in an outbreeding parasitic wasp. *Animal Behaviour* 49, 592 p.
- ASKEW, R.R. & SHAW, M.R. 1986. Parasitoid communities: Their size, structure and development, *in*: *Insect Parasitoids*, edited by J. Waage and D. Greathead, Academic Press, London, 225-264.
- BAKER, J.E., WEAVER, D.K., THRONE, J.E., ZIETTLER, J.L. 1995. Resistance to protectant insecticides in two field strains of the stored-product insect parasitoid *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Entomology* 88 (3), 512-519.
- BARTOŠ, J. & VERNER, P. 1979. Ochrana proti skladištním škůdcům a chorobám. Státní zemědělské nakladatelství Praha, 339 s.
- BORTOLOTTI, L. SBRENNA, A.M. SBRENNA, G. 2005. Action of fenoxycarb on metamorphosis and cocoon spinning in *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae): identification of the JHA-sensitive period. *European Journal of Entomology* 102: 27-32.
- BUCKLE, A. 2002. Rodenticides and insecticides, *in*: *The Biocides Business: regulation, safety and applications*, edited by D.J. Knight and M. Cook, Wiley-VCH Verlag GmbH Co. KGaA, Weinheim, 267-286.
- CÔNSOLI, F.L. PARRA, J.R.P HASSAN, S.A. 1998. Side effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lep., Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology* 122: 43-47.
- CROFT, B.A. 1990. *Arthropod Biological Control Agents and Pesticides*. New York: Wiley, 723 p.
- CHARLESTON, D.S. KFIR, R. DICKE, M. VET, L.E.M. 2005. Impact of botanical pesticides derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on the biology of two parasitoid species of the diamondback moth. *Biological Control* 33: 131-142.
- DELPUECH, J.M., LEGALLET, B., TERRIER, O., FOUILLET, P. 1998. Modifications of the sex pheromonal communication of *Trichogramma brassicae* by a sublethal dose of deltamethrin. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 729-739.
- DRIESCHE, R.G. & BELLOWS, T.S. 1996. *Biological Control*. New York: Chapman & Hall, 539 p.

- ELLIOTT, M., JANES, N.F., STEVENSON, J.H., WALTERS, J.H.H., 1983. Insecticidal activity of the pyrethrins and related compounds. Part XIV: Selectivity of pyrethroid insecticides between *Ephestia kuehniella* and its parasite *Venturia canescens*. *Pesticide Science* 14: 423-426.
- FUKUTO, T.R. 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides, *Environmental Health Perspectives* 87: 245-254.
- GEORGE, P.J.E. AMBROSE, D.P. 1999. Insecticidal impact on the post-embryonic development of *Rhynocoris kumarii* Ambrose nad livingstone (Het.,Reduviidae). *Journal of Applied Entomology* 123: 509-512.
- GEORGE, P.J.E. AMBROSE, D.P. 2004. Toxic effects of insecticides in the histomorphology of alimentary canal, testis and ovary in a reduviid *Rhynocoris kumarii* Ambrose and Livingstone (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Advanced Zoology* 25: 46-50.
- GODFRAY, H.C.J. 1994. *Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press, New Jersey, 473 p.
- HAYNES, K.F. 1988. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Review of Entomology* 33: 149-168.
- HONĚK, A. ŘEZÁČ, M. Podpora využití přirozených nepřátel v polních podmínkách, v: Význam predátorů a parazitoidů v integrovaných systémech ochrany rostlin. *Metodika VÚRV Praha – Ruzyně*, 7-8.
- KAZDA, J. JINDRA, Z. KABÍČEK, J. PROKINOVÁ, E. RYŠÁNEK, P. STEJSKAL, V. 2003. Ochrana rostlin proti chorobám a škůdcům, v: *Choroby a škůdci polních plodin, ovoce a zeleniny*, 149-151.
- KRESPI, L. RABASSE, J.M. DEDRYVER, C.A. NENON, J.P. 1991. Effect of three insecticides on the life cycle of *Aphidius uzbekistanicus* Luz. *The Journal of Applied Entomology* 111: 113-119.
- LAŠTŮFKA, Z. ŠEFROVÁ, H. 2004. Perspektivy a úskalí biologické ochrany rostlin. *Rostlinolékař* 6, 20-21.
- LITTLE, E.E. 1990. Behavioral toxicology: stimulating challenges for a growing discipline. *Environmental Toxicology & Chemistry* 9: 1-2.
- LIU, T.X. CHEN, T.Y. 2001. Effects of the insect growth regulator fenoxycarb on immature *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *Florida Entomologist* 84: 628-633.

- LUKÁŠ, J. 2008. Biologická ochrana skladovaných komodit, v: Význam predátorů a parazitoidů v integrovaných systémech ochrany rostlin. Metodika VÚRV Praha – Ruzyně, 45-46.
- PULTAR, O. 2008. Základní metodiky použití biologické ochrany rostlin v temperovaných prostorách, v: Význam predátorů a parazitoidů v integrovaných systémech ochrany rostlin. Metodika VÚRV Praha – Ruzyně, 22-23.
- QI, B.Y. GORDON, G. GIMME, W. 2001. Effects of neem-fed prey on the predacious insects *Harmonia conformis* (Boisduval) (Coleoptera: Coccinellidae) and *Mallada signatus* (schneider) (Neuroptera:Chrysopidae). Biological Control 22: 185-190.
- RICHARDS, K.W. 1993. Non-*Apis* bees as crop pollinators. Revue Suisse de Zoologie 100: 807-822.
- RODALE, R. BRADLEY, M.F. ELLIS, B.W. 1992. Rodale's All-New Encyclopedia of Organic Gardening. Rodale Press, 347 p.
- SABER, M. HEJAZI, M.J. KAMALI, K.MOHARRAMIPOUR, S. 2005. Lethal and sublethal effects of fenitrothion and deltamethrin residues on the egg parasitoid *Trissolcus grandis*. Journal of Economic Entomology 98: 35-40.
- SALT, G. 1964. The ichneumonid parasite *Nemeritis canescens* (Gravenhorst) in relation to the wax moth *Galleria mellonella* (L.). Transactions of the Royal Entomological Society of London 116, 8 p.
- SCHNEIDER, M.I. SMAGGHE, G. GOBBI, A. VINUELA, E. 2003. Toxicity and pharmacokinetics of insect growth regulators and other novel insecticides on pupae of *Hyposoter didymator*, a parasitoid of early larval instars of lepidopteran pests. Journal of Economic Entomology 96: 1054-1065.
- SMALLMAN, B.N. & MANSINGH, A. 1969. Cholinergic system in insect development. Annual Review of Entomology 14: 387-408.
- STEJSKAL, V. 2004. Names of tests – Schadlingsnamen – Jména škůdců. DDD Servis Praha s.r.o., 369 s.
- ŠAMBERGOVÁ, V. Vliv vybraných biocidů na *Venturia canescens* a *Cephalonomia tarsalis*. Bakalářská práce, katedra Ochrany rostlin, Česká zemědělská universita v Praze, 47 s.
- ŠAMBERGOVÁ, V. Vliv vybraných biocidů na parazitoidy skladištních škůdců v závislosti na teplotě prostředí a jejich reziduální účinnosti. Diplomová práce, katedra Ochrany rostlin, Česká zemědělská universita v Praze, 72 s.

- THOMPSON, H.M. 2003. Behavioural effects of pesticides in bees: their potential for use in risk assessment. *Ecotoxicology* 12: 317-330
- ZANUNCIO, T.V. SERRAO, J.E. ZANUNCIO, J.C. GUEDES, R.N.C. 2003. Permethrin-induced hormesis on the predator *Supputius cincticeps* (Stål, 1860) (Heteroptera:Pentatomidae). *Crop Protection* 22: 941-947

- BAYER CROPSCIENCE – produkty a řešení – DDD prostředky (on-line). © 2007, poslední revize červen 2007 (citováno 2010-01-09). <<http://www.pestcontrol-expert.com/bayer/cropscience/bespestcontrol.nsf/id/68B21183801251DCC125748900314810?open>>.
- DOW AGROSCIENCES – přípravky- Reldan 40 EC (on-line). © 2005, poslední revize leden 2006 (citováno 2010-0109) <<http://www.dowagro.cz/pripravky.html>>.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM R© 2007 (on-line). A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (accessed 26 June 2009) <<http://www.R-project.org>>.
- STATSOFT © 2004 -2010 (on-line). Program Statistica 9, <<http://www.statsoft.cz>>.
- UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE - Přírodovědecká fakulta - Prof. RNDr. Jaroslav Flegr, CSc. Evoluční a teoretická parazitologie (on-line) - **Syllevar.doc** © 2007, poslední revize 19.9.2007 (citováno 2009-12-13). Dostupné z <<http://web.natur.cuni.cz/~flegr/dokumenty/>>
- VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO - Prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc., Pesticidy (on-line). © 2005, poslední revize 7.5.2006 (citováno 2009-12-7). Dostupné z <<http://vfu-www.vfu.cz/fvhe/toxikologie/web/soubory/prednaska5pesticidy.ppt>>