ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin

Nové postupy v ochraně rostlin s využitím fumigačních technik

doktorská disertační práce

Autor: **Ing. Jonáš Hnátek**

Školitel: **doc. Ing. Miloslav Zouhar, Ph.D.**

Konzultant: **Ing. Marie Maňasová, Ph.D.**

Praha 2022

Prohlašuji, že jsem tuto disertační práci vypracoval samostatně, pod vedením vedoucího disertační práce a s použitím citované literatury.

Ve Štíhlicích dne: 3. 2. 2022 **Ing. Jonáš Hnátek**

Poděkování

Děkuji vedoucímu mé disertační práce doc. Ing. Miloslavu Zouharovi, Ph.D. za odborné vedení.

Dále děkuji vedení společnosti Lučební závody Draslovka a.s. Kolín, svým kolegům a pracovníkům VÚRV za spolupráci, a především své rodině za veškerou podporu.

Obsah

1. Úvod 7
2. Literární přehled 8
2.1. Fumigace 8
2.2. Fumiganty a jejich použití 8
2.2.1. Fosforovodík 11
2.2.2. Kyanovodík 12
2.2.3. Ethandinitril 13
2.2.4. Ostatní fumiganty 14
2.2.5. Aktuální stav registrace EDN a BLUEFUME 15
2.3. Vybraní škůdci a jejich eradikace pomocí fumigantů 16
2.3.1. Lýkožrout smrkový 16
2.3.2. Tesařík krovový 19
2.3.3. Háďátko borovicové 20
2.3.4. Háďátko severní 22
2.4. Fumigační metody ochrany proti vybraným škůdcům 24
3. Cíl práce 26
4. Hypotéza 26
5. Materiál a metody 27
5.1. Použití fumigantů 27
5.2. Místo a způsob fumigace 27
5.2.1. Popis fumigační komory a plastových boxů 28
5.2.2. Popis fumigačního kontejneru 28
5.2.3. Polní testy 29

5.3. Financování řešení 29
5.4. Biologický materiál 29
5.5. Design testů 30
5.5.1. Lýkožrout smrkový (EDN) 30
5.5.2. Tesařík krovový (EDN) 32
5.5.3. Háďátko borovicové (EDN) 33
5.5.4. Háďátko severní (EDN) 34
5.5.5. Rezidua fumigantů v komoditách (EDN, HCN) 36
5.5.6. Penetrace do dřeva (EDN) 37
6. Výsledky 38
6.1. Lýkožrout smrkový 38
6.2. Tesařík krovový 42
6.3. Háďátko borovicové 43
6.4. Háďátko severní 44
6.5. Propojení dat účinnosti na tesaříka krovového a háďátko borovicové a penetrace do dřeva 51
6.6. Rezidua v komoditách 57
7. Diskuse 59
7.1. Lýkožrout smrkový 59
7.1.1. Vliv způsobu zabalení hráně 59
7.1.2. Testy účinnosti EDN 60
7.2. Tesařík krovový 62
7.3. Háďátko borovicové 63
7.4. Háďátko severní 65
7.5. Penetrace EDN do dřeva 66

7.6. Rezidua v komoditách 68
8. Závěr 70
9. Seznam literatury 71
10. Seznam publikací autora k řešené problematice 83
11. Seznam použitých zkratek 87
12. Přílohy 89

1. Úvod

V této práci je posuzována možnost využití přípravků ethandinitrilu (EDN) a kyanovodíku nad rámec jejich stávajících registrací. Potřeba nových fumigačních přípravků je vyvolána hned několika aktuálními problémy.

Rozšiřování a zavlékání nepůvodních a invazivních druhů je v dnešní době velmi často skloňovaný pojem, a to nejen ve světe, ale také v Evropské unii a v České republice. Dříve byla regulace těchto škůdců z velké části řešena fytokaranténním používáním fumigantu methylbromidu, který je však nyní, kvůli jeho negativnímu vlivu na ozonovou vrstvu, ve většině zemích zakázán, nebo výrazně omezován. Tento přípravek byl používán především pro ošetřování dřevěného obalového materiálu, surového dřeva a dalších strategických komodit. Aktuálně chybí dostatek alternativ, které by byly schopné stejným způsobem eliminovat rizika spojená s převozem rostlinného materiálu.

Dále posledních několik let v České republice, ale také ve většině střední Evropy, probíhá doposud největší kůrovcová kalamita. Vyvstala tedy potřeba ošetřovat velké množství vytěženého dřeva a dosud využívané metody na to nejsou vždy nejvhodnější. A vzhledem k tomu, že dřevo je velmi často kvůli jeho přebytku určeno na export, je většinou jeho insekticidní ošetření povinností. V roce 2020 bylo dokonce exportováno přibližně 15,5 milionů m^3 jehličnaté kulatiny a vlákniny což je 58 % z celkově vyrobené jehličnaté kulatiny. Celkový dovoz surového dřeva byl okolo 2 milionů m^3 (MZe 2021). Pohyb takového množství dřeva představuje významnou hrozbu v rámci importu významných fytopatogenních organismů.

Také v případě výskytu karanténních škodlivých organismů, je nutné použít ty nejúčinnější prostředky k jejich eradikaci a moderní fumigační techniky to mohou umožnit.

Účinné látky ethandinitril a kyanovodík byly testovány mimo jiné z důvodu jejich dostupnosti přímo v České republice. Přípravky na jejich bázi jsou zde přímo produkovány a přípravek EDN (ú. l. ethandinitril) se dokonce nikde jinde na světě nevyrábí.

Vzhledem k propuknutí kůrovcové kalamity v průběhu řešení této disertační práce se větší část aktivit přesunula k výzkumné činnosti týkající se EDN jako k jednomu z možných řešení tohoto problému.

2. Literární přehled

2.1. Fumigace

Fumigace (plynování) je ošetření chemickou látkou v plynném stavu. Fumiganty jsou chemické látky, které za požadované (většinou běžné) teploty a tlaku mohou existovat v plynném stavu v dostatečné koncentraci, která je smrtelná pro škodlivé organismy (Monro 1961). Thoms & Busacca (2015) definují fumigant jako pesticid, který je do doby kontaktu s cílovým organismem v plynné formě. Dle Freeman (1951) je fumigant látka, která dokáže procházet kutikulou hmyzu a také vstupovat do cílového organismu pomocí dýchací soustavy.

Fumigací se likvidují škůdci v zemědělských a potravinářských provozech, obytných domech, historických objektech podlahových skladech, silech a kontejnerech s komoditou. Dále se jimi ošetřují obalové materiály, dřevěné palety a bedny, trámy, krovy, textilie (strukturální fumigace). Ovšem lze fumigovat i škůdce ukryté v zemi (půdní fumigace). Plynují se hlavně komodity určené na export nebo import. Některé země vyžadují ošetření komodit z důvodu obav ze zavlečení cizích druhů živočichů (zejména hmyzu) (Achrer 2005). Fumigaci lze rozdělit na několik základných druhů: fumigace půdy, fumigace komodit, fumigace prázdných prostor a fumigace využívaná jako karanténní opatření (Thoms & Busacca 2015).

2.2. Fumiganty a jejich použití

Fumigaci lze použít tam, kde je možné daný prostor zatěsnit, zabalit nebo zakrýt (Monro 1961). Největší výhodou fumigace je prostupnost molekul plynu do cílového substrátu (difuze), kdy na rozdíl od postřiků fumiganty pronikají dovnitř zrn, kde hubí nejen dospělce, ale i skrytá vajíčka a larvy škůdců (Monro 1961; Stejskal & Aulický 2011).

Další výhodou je velká adaptibilita fumigační techniky, rychlost působení plynů (což je velkou předností pro všechny typy karanténních opatření) a jejich vysoká účinnost na většinu živočišných škůdců. Dále pak možnost přímého použití na komodity určené pro potravinářský průmysl, které plyny nenarušují a zanechávají většinou mnohem méně reziduí než klasické postřikové insekticidy (Stejskal & Aulický 2011). Plynování je vhodné k dezinsekci velkých, členitých a málo přístupných prostorů. Plyny pronikají rovněž do členitých podzemních hnízdních systémů škodlivých hlodavců. Nelze však přehlédnout i některé nevýhody fumigace. Zcela klíčovou je jistě velká akutní toxicita plynů pro člověka a ostatní teplokrevné živočichy (Plachý & Stejskal 2005).

Fumiganty jsou většinou klasifikovány jako chemické látky nebo směsi, které mají přiřazenu třídu nebezpečnosti akutní toxicita kategorie 1 nebo 2 podle nařízení (ES) č. 1272/2008. Způsobilost pro nakládání s těmito látkami stanovuje zákon č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví.

Podle zmíněného zákona s takovými látkami může zacházet pouze osoba s příslušným vysokoškolským vzděláním, nebo která se úspěšně podrobila zkoušce odborné způsobilosti a mají osvědčení podle odstavce 4 § 44 b.

Historie moderní fumigace je poměrně krátká a řadí se do 30. let 20. století. To ovšem neznamená, že by fumigace nebyly dříve prováděny. Historicky zdokumentované je třeba používání síry pro vykuřování již v 5. století před naším letopočtem. Do dnešní doby se pro fumigace využívalo široké spektrum látek. Například těkavé látky z rostlin, oxid siřičitý, sirouhlík, chlór, formalin, terpentýn, chlorpikrin, ethylenoxid, sulfurylfluorid a mnoho dalších (Stejskal & Adler 1997).

V dnešní době jsou významněji užívány proti skladištním škůdcům pouze fosforovodík, methylbromid a kyanovodík (Stejskal & Adler 1997). Avšak použití v minulosti nejvíce využívaného methylbromidu, který byl používán jako prostředek na dezinfekci půdy, jako rodenticid, insekticid i fungicid, je nyní na základě Vídeňské úmluvy a Montrealského protokolu velmi omezeno.

Vídeňská úmluva na ochranu ozonové vrstvy (1985) byla sjednána za účelem ochrany lidského zdraví a životního prostředí proti nepříznivým účinkům lidské činnosti, které mění nebo by mohly měnit ozonovou vrstvu. Konkrétní závazky naplňující cíl stanovený ve Vídeňské úmluvě jsou upraveny prováděcím Montrealským protokolem o látkách, které poškozují ozonovou vrstvu (1987). Cílem Protokolu je přijímat a realizovat celosvětová opatření na vyloučení výroby a spotřeby téměř stovky regulovaných látek, které ozonovou vrstvu poškozují. Upravuje nakládání s látkami populárně označovanými jako freony a halony a dále výrobu a použití methylbromidu. Regulované látky jsou chemicky velmi stálé. Pronikají do vyšších vrstev atmosféry, kde způsobují zeslabování ozonové vrstvy, která život na Zemi chrání před vysoce intenzivním UV zářením (Achrer 2005). Americké ministerstvo zemědělství (USDA ERS, 2000) v roce 2000 odhadovali, že zákaz používání methylbromidu stojí zemědělce v USA ročně 400–450 milionů dolarů kvůli sníženým výnosům a vysokým cenám za alternativní způsoby ochrany.

Aktuálně je tedy možné v České republice provádět fumigace pouze pomocí fosforovodíku, nebo kyanovodíku. A dále je potom možné na zvláštní povolení od ÚKZÚZ používat přípravek EDN pro ošetřování kůrovcového dřeva.

Přes některé negativní aspekty patří fumigace již několik desetiletí k nejdůležitějším kurativním opatřením v ochraně před skladištními škůdci. Fumigace prázdných sil a skladů nebo naskladněných komodit insekticidními plyny se stala jedním z nejobvyklejších represivních opatření proti výskytu skladištních škůdců v ČR (Stejskal & Aulický 2011).

Fumigace je též jednou z možností ošetřování obalového dřevěného materiálu dle standardu ISPM 15 od IPPC (Dlouhý et al. 2014).

V roce 2020 byla hodnota trhu s fumiganty odhadována na 9 226,21 milionu Amerických dolarů (Anonym 2021).

Pro dosažení účinné fumigace je nutné dodržovat všechny předem stanovené standardy. Kvalita provedené fumigace se nejčastěji vyjadřuje pomocí tzv. Ct produktu (Ct-P), kde C je koncentrace a t je čas. Pomocí jednoho čísla lze tedy popsat průběh koncentrace v čase. Jednotkou je $g.m^3/h$ (Thoms & Busacca 2015; Stejskal et al. 2021). Tento vztah umožňuje výpočet optimální kombinace doby fumigační expozice a dávky fumigantu. Pokud je potřeba expozici zkrátit je nutné zvýšit dávku. Prodloužená doba fumigace naopak umožní snížení dávky fumigantu (Stejskal & Adler 1997). Konkrétní způsob výpočtu Ct produktu popisuje například Bond (1984).

Laboratorními testy je stanoven Ct produkt daného fumigantu potřebný pro dosažení 100% mortality cílového škůdce. Následně je pak možné porovnat tento Ct produkt a Ct produkt dosažený v ošetřovaném prostoru a posoudit, zda byla fumigace účinná.

Během fumigací, které jsou prováděny za reálných podmínek, dochází vždy k částečnému poklesu koncentrace (Monro 1969; Agrafioti et al. 2020). Koncentrace je ovlivněna mnoha faktory. Je to především chemická povaha fumigantu a jeho aplikovaná formulace (Stejskal et al. 2021), velikost iniciální dávky, délka expozice, povětrnostní podmínky (Wu et al. 2020), loading faktor ošetřované komodity, sorpční vlastnosti komodity a také především kvalita zatěsnění ošetřovaného prostoru (Monro 1969; Ren et al. 2011; Hall et al. 2015; Hall et al. 2017). Monro (1961) dokonce považuje utěsnění objektu za jeden z nejdůležitějších bodů fumigace.

Za určitou alternativu k fumigacím je možné považovat řízené atmosféry. Jsou to atmosféry, ve kterých jsou uměle změněné vzájemné poměry a přesně řízené koncentrace běžných atmosférických plynů (CO_2, N_2, O_2), které vedou k zahubení škodlivých organismů. Tato metoda však obvykle vyžaduje dlouhé expoziční doby a vyžaduje vysokou technologickou úroveň skladů (plynotěsnost) (Stejskal & Adler 1997).

2.2.1. Fosforovodík

V současné době je to jediný plyn registrovaný v ČR pro fumigace komodit (pesticidní využití).

Fosforovodík patří k relativně novějším typům fumigantů, jejichž hlavní rozvoj spadá až do padesátých let minulého století. Uvolňuje se ze dvou pevných formulací (fosfid hliníku a fosfid hořčíku) za pomoci vzdušné vlhkosti (Stejskal & Adler 1997). V současnosti je fosforovodík nejčastěji využívaný fumigant pro ošetřování skladovaných komodit (Aulicky et al. 2019). Při fumigaci obilovin je pak zcela dominantním fumigantem v ČR i v celosvětovém měřítku. Tento plyn se užívá mnoho let k fumigaci jak v podlahových skladech, tak v silech.

Měrná hmotnost plynu v poměru ke vzduchu je 1,115 x vyšší. Fosforovodík je bezbarvý plyn česnekového zápachu (Aulický & Stejskal 2011). Mechanismus účinku fosforovodíku spočívá v inhybici enzymů v mitochondriích a tím v poškození buněčného dýchání. Vyvolává také vznik velkého množství reaktivních kyslíkových radikálů. Nedostatek energie a poškození oxidativním stresem způsobí buněčnou smrt ve všech typech tkání (Široká et al. 2018).

Jeho technologické přednosti vysvětlují, proč je tak široce využíván. Snadné a bezpečné zacházení se sloučeninami kovových fosfidů. Úroveň reziduí v ošetřených komoditách je nízká. Nelze však přehlédnout, že fosforovodík má i některé vážné nedostatky jako jsou dlouhá doba expozice, korozivní účinky na některé kovy, výskyt vysoké úrovně rezistence zapříčiněné špatnou fumigační praxí (Stejskal a Adler, 1997). Vzhledem k tomu, jak moc je fosforovodík využíván, tak je velice náchylný ke vzniku rezistence (Aulicky et al. 2019).

První rezistence významných skladištních škůdců k fosforovodíku zdokumentoval Champ & Dyte (1976) v sedmdesátých letech. Nejvíce dokumentovaných případů rezistence bylo v Asii, severní Africe a Jižní Americe. Jako příčiny vzniku rezistence jsou uváděny špatná technologie fumigace, nízká kvalifikace a výjimečně dobré podmínky pro rychlé množení škůdců, které umožní 7–10 generací v kalendářním roce (Stejskal & Adler 1997). Wakil et al.

(2021) testoval 10 různých populací skladištních škůdců z různých geografických populací v Pákistánu a u všech byla potvrzena rezistence k fosforovodíku. Doporučují tedy využívání jiných strategií kontroly škůdců, než je fumigace fosforovodíkem.

2.2.2. Kyanovodík

Kyanovodík je nejstarším dodnes používaným fumigačním preparátem. Roku 1866 byl použit kyanovodík k hubení škůdců citrusů. Roku 1898 začíná účinnou fumigací mlýna entomologem Johnsonem éra moderní fumigační dezinsekce. V roce 1910 bylo poprvé použito kyanovodíku k fumigační deratizaci na lodích (Plachý & Stejskal 2005). Je to jedna z mála možných náhrad methylbromidu (Stejskal et al. 2013).

Je to bezbarvá kapalina s bodem varu 26 °C, bodem tuhnutí –14 °C. Jeho specifická hustota je 0,9 (Stejskal & Adler 1997). Kyanovodík (HCN) je v současné době registrován jako biocidní přípravek do prázdných prostor potravinářských provozů a také jako přípravek na ošetření dřeva, což představuje velmi slibnou náhradu za methylbromid v této oblasti. Výhodou kyanovodíku oproti fosforovodíku, je rychlejší účinnost na cílové organismy (Dlouhý et al. 2014).

Kyanovodík se ve svých sloučeninách běžně vyskytuje v přírodě jako látka sloužící rostlinám k obraně před škůdci. Například v hořkých mandlích, v peckách třešní, nebo v kasavě (Mora et al. 2016). Sollman (1944) uvádí, že některé potraviny a zelenina přirozeně obsahují HCN, a to většinou ve formě glykosidů. Z glykosidů se v rostlinách, nebo například v trávícím traktu uvolňuje čistý kyanovodík. Nejznámější kyanogenní glykosid je pravděpodobně amygdalin, který je přítomný především v listech a peckách třešní, mandlí broskví a podobně. Například pecky třešní ho obsahují okolo 170 mg na 100 g a hořké mandle až 250 mg na 100 g.

Kyanovodík je známý svojí vysokou toxicitou, obzvlášť pro teplokrevné živočichy. V minulosti byl užíván k ošetřování citrusových plodů v boji proti savému hmyzu. Stále je využíván v boji proti hlodavcům na lodích, v mlýnech a jiných provozech, zpracujících potraviny a krmiva. Kyanovodík je velmi používaným fumigantem v boji proti zamoření výrobků skladištními škůdci (Stejskal & Adler 1997).

Mechanismus účinku HCN (stejný je i v případě EDN) spočívá v inhibici enzymů zajišťujících buněčné dýchání. Kyanidový ion CN^- se váže na cytochromoxidázu místo železitého iontu. V důsledku toho je zablokován přenos elektronu na molekulární kyslík, který

nemůže být použit pro oxidační pochody, takže sled reakcí dýchacího řetězce v mitochondriích je přerušen. Vlivem kyanidů se tedy zablokuje nitrobuněčné aerobní metabolismus a buňky nejsou schopny využít kyslík.

Mechanismus otravy je reversibilní. Vytvořený komplex cytochromoxidázy s kyanidem je schopen disociace. Síra obsažená v jaterním thiosulfátu se naváže na kyanidový ion CN^- a dojde ke vzniku netoxických thiokyanatanů, které se převážně vyloučí močí. Odtržením kyanidového iontu z cytochromoxidázy se opět obnovuje buněčné dýchání (CDC 2021).

V případě závažných průběhů otravy jsou k dispozici antidota, v České republice je to například přípravek s účinnou látkou hydroxykobalamin, který na sebe váže kyanidový iont a mění se na netoxický a stabilní kyanokobalamin, který se vylučuje močí.

V současné době jsou v České republice dostupné dvě formulace přípravku, jehož účinnou látkou je kyanovodík. Starším typem formulace jsou plechovky, které obsahují kroužky z porézního materiálu, ve kterém je naabsorbováno 1,5 kg stabilizovaného kyanovodíku (obchodní název Uragan D2).

Novějším typem formulace jsou tlakové lahve, které obsahují 27,5 kg stabilizovaného kyanovodíku (obchodní název BLUEFUME).

Stabilizace kyanovodíku se provádí přídavkem kyseliny fosforečné a oxidu siřičitého. Obě formulace obsahují minimálně 97,6 % účinné látky kyanovodíku.

Podrobné fyzikální a chemické vlastnosti viz Přílohy Tab. 1.

2.2.3. Ethandinitril

Jako náhrada za methylbromid je testována fumigační účinnost ethandinitrilu (EDN), který nemá negativní vliv na ozónovou vrstvu (Brotherton & Lynn 1959; Hnatek et al. 2018).

Ethandinitril byl objeven v roce 1815, ale nebyl nijak využíván. V roce 1960 bylo patentováno jeho použití při výrobě hnojiv (STIMBR 2018). Použití ethandinitrilu jako fumigantu bylo patentováno v roce 1995 (patent číslo CA2192959).

Jedná se o plyn těžší než vzduch. Všechny jeho rozkladné produkty se přirozeně vyskytují v přírodě (Ren et al. 2002). Ethandinitril samovolně vzniká i při hoření a rozkladu organické hmoty a udává se, že tímto způsobem ho ročně vznikne okolo 15000 tun (STIMBR 2018). Dokonce při jeho rozkladu nevznikají jiné toxické látky (Hall et al. 2018). Ethandinitril,

jehož chemické složení je C_2N_2, také známý jako cyanogen, dikyan nebo oxalonitril je bezbarvý, má slzotvorné účinky a relativní hustotu oproti vzduchu 1,82 (JACC 2007).

Ethandinitril je díky svým vlastnostem vhodný pro aplikaci pod plachty, kde dobře udržuje svou koncentraci (Douda et al. 2020). V budoucnu by mohl být využíván pro dezinfekci půdy (háďátka, plevele, houbové patogeny), pro hubení skladištních škůdců i pro preventivní ošetřování přepravovaného rostlinného materiálu a dalších komodit za účelem zamezit zavlékání zejména karanténních organismů. Mechanismus účinku je stejný jako u výše zmiňovaného HCN. Hygienický limit TLV pro EDN je 10 ppm, oproti tomu methylbromid má 5 ppm a fosforovodík 0,3 ppm. Tyto hodnoty dokazují, že EDN je pro pracovníky z uvedených fumigantů nejbezpečnější (Hooper 2003). Ethandinitril rychle penetruje celým profilem dřeva (Ren et al. 2011) a kůra nijak významně neovlivňuje jeho sorpci (Hall et al. 2015). Velkou výhodou oproti některým dalším fumigantům je, že ethandinitril nemá korozivní účinky na kovy ani při relativně vysoké vzdušné vlhkosti (70 %) (Sarwar et al. 2003).

EDN není v České republice registrovaný přípravek, ale v roce 2018 bylo jeho použití poprvé povoleno na ošetřování kůrovcového dřeva v rámci výjimky, kterou uděluje Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský v případě mimořádných stavů v ochraně rostlin. Povolení je udělováno v případě nebezpečí vzniku škod, které nelze zvládnout jinými přijatelnými prostředky, a to na dobu nepřesahující 120 dní pro uvedení přípravku na trh a jeho omezené a kontrolované použití.

Podrobné fyzikální a chemické vlastnosti viz Přílohy Tab. 2.

2.2.4. Ostatní fumiganty

Dalším fumigantem, který je ve světě využíván je sulfurylfluorid. Tento fumigant však není určen pro plynování potravin, krmiv ani surovin, určených pro tyto účely. Používá se pouze pro strukturální fumigace dřevěných konstrukcí a dřeva, proti dřevokaznému hmyzu. Jako plyn je bezbarvý, bez zápachu a je 3,52 x těžší než vzduch. Bod varu má 96,4 °C. Pro zelené rostliny je sulfurylfluorid fytotoxický (Stejskal & Adler, 1997). V České republice není v současné době registrován.

2.2.5. Aktuální stav registrace EDN a BLUEFUME

BLUEFUME (ú. l. kyanovodík)

BLUEFUME (dále také jako BF) je v České republice registrován jako biocidní přípravek, a to jako PT08 pro ošetření dřevěného materiálu, PT14 jako rodenticid a PT18 jako insekticid, akaricid a přípravek pro kontrolu ostatních členovců. V rámci Evropy platí tato registrace také pro následující státy: Rakousko, Belgie, Chorvatsko, Německo, Itálie, Nizozemí, Rumunsko, Slovensko, Španělsko a Velká Británie. Ve Francii je to pak pouze PT14 a PT 18 a v Portugalsku PT18.

Mimo Evropu je na Novém Zélandu registrován pro fumigaci prázdných prostor a pro fumigaci banánů. V Malajsii, Maroku a na Mauriciu je registrován pro fumigace prázdných prostor a pro ošetřování letadel.

EDN (ú. l. ethandinitril)

V České republice je od roku 2018 Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským opakovaně udělováno povolení přípravku na ochranu rostlin EDN pro omezené a kontrolované použití pro ošetřování vytěženého smrkového dřeva proti lýkožroutu smrkovému a lýkožroutu severskému (např. č.j. UKZUZ 027771/2021). Výjimka je vždy platná na 120 dní a ke konci roku 2021 byla vydána celkem 7x.

Provádění fumigací půdy je možné na základě povolení pokusu nebo zkoušky přípravku na ochranu rostlin pro účely vývoje a výzkumu podle článku 54 odst. 2 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1107/2009, nebo ve spolupráci s výzkumnými organizacemi.

Ve světě je EDN registrováno v Austrálii pro předseťovou fumigaci půdy a pro fumigaci dřeva (Timber and Logs). V Koreji, Malajsii a Rusku je registrován pro fumigaci dřeva.

2.3. Vybraní škůdci a jejich eradikace pomocí fumigantů

2.3.1. Lýkožrout smrkový

Od roku 2015 vlastníci lesů v České republice a také ve většině střední Evropy čelí doposud největší kůrovcové kalamitě (Hnátek et al. 2021). Lýkožrout smrkový (*Ips typographus* (L.)) patří ve střední Evropě k nejvýznamnějším škůdcům lesa, v České republice je ve smyslu vyhlášky MZe č. 101/1996 Sb. v platném znění charakterizován jako kalamitní škůdce (Zahradník 2004). V roce 2019 bylo vytěženo 20,7 milionu m^3 napadeného smrkového dřeva což je o více než 70 % více než v roce 2018, kdy bylo vytěženo 12 milionů m^3 kůrovcového dřeva a v roce 2017 to bylo 5,34 milionu m^3 (MZe 2020). Hlásny et al. (2021) uvádí, že si kůrovcová kalamita v ČR v letech 2018–2019 vyžádala státní zásahy ve výši přibližně 260 milionů EUR.

Lýkožrout smrkový je jedním ze 110 zástupců podčeledi kůrovcovitých (Scolytinae), s nimiž se můžeme setkat v České republice (Doležal 2013). Dospělec je 4 – 5,5 mm dlouhý, hnědý až černohnědý. Bez zřetelného pohlavního dimorfismu (Zahradník 2014). Tvar těla je válcovitý, s odstávajícími žlutými chlupy. Krovky jsou lesklé, v řádkách hluboce tečkované, ale mezirýží jsou hladká. Zadní část krovek je vyhloubená, přičemž okraje výkrojku nesou čtyři hrbolky (zuby). Tykadla jsou krátká, žlutá, s plochou paličkou se zřetelně zprohýbanými švy. Vajíčka jsou asi 0,7 – 1 mm dlouhá, oválná, leskle bílá. Čerstvě vylíhlá larvička je asi 2 mm dlouhá a bělavá. Je beznohá, měkká, silněji sklerotizovaná je jen hlava nesoucí silná kusadla. Kukla je volná, krémově bílá, poslední zadečkový článek nese pár do stran mířících výrůstků, jimiž se kukla opírá o stěny kukelní komůrky. (Stejskal et al. 2021). V nižších polohách, přibližně do 700 m n. m. má zpravidla 2 generace do roka, ve vyšších polohách pouze jednu generaci. Za příznivých povětrnostních podmínek (časný nástup jara, teplé a dlouhé léto) mívá o generaci více (Zahradník 2014, Stejskal et al. 2020).

Lýkožrout smrkový je typickým sekundárním škůdcem, který v prvé řadě napadá čerstvě vytěžené smrkové dříví, polomy a fyziologicky oslabené stojící smrky. Při přemnožení, kdy nenalézá dostatek vhodného materiálu pro založení dalšího pokolení, napadá i zdravé smrky (Zahradník 2004). Tento škůdce v České republice napadá obvykle starší smrky. V případě přemnožení však může napadat i mladší stromy (Stejskal et al. 2020). Lýkožrout smrkový je z hlediska způsobu poškození fyziologickým škůdcem. K odumření stromu dochází v důsledku přerušení vodivých pletiv, ke kterému dochází při žíru larev. Obranné reakce stromu jsou limitujícím faktorem. Množství zahubených lýkožroutů v důsledku obranných reakcí může

pravděpodobně kolísat od několika desítek až po několik stovek. K odumření stromu dochází však teprve tehdy, jsou-li obranné reakce smrku překonány (Zahradník 2004).

Jarní rojení začíná v nižších a středních polohách na přelomu dubna a května. Letní rojení pak nastává po 8–10 týdnech po začátku jarního rojení (za velmi příznivých či velmi nepříznivých teplotních podmínek může být i zkráceno nebo prodlouženo), tedy zhruba od poloviny června do počátku srpna (Zahradník & Geráková 2010). Lýkožrout smrkový je polygamní druh (jeden samec se páří s několika samičkami), přičemž samice při rojení následují samce. Ti v první fázi náletu vyhledají vhodný strom, zavrtají se do kůry a vyhloubí snubní komůrku, do níž tzv. agregačními feromony lákají samičky. Agregační feromony působí zároveň i na další samce, což vede ke znásobení počtu atakujících brouků a ve výsledku k zahubení hostitelského stromu. Po páření samice hloubí matečné chodby rovnoběžné s osou kmene, po jejichž stranách kladou 60–80 vajíček. Tvorba mateřské chodby a kladení vajíček trvá 7–10 dnů (Skuhravý 2002). Mimo to se u lýkožrouta smrkového můžeme setkat s fenoménem tzv. sesterských přeletů. Tímto termínem se označuje přelet již dříve oplozených a částečně vykladených samic na jiný strom, kde po prodělání tzv. regeneračního žíru pokračují v kladení, aniž by se nutně znovu pářily. Požerek sesterské samice lze rozpoznat podle absence snubní komůrky (Doležal 2013). Po 6–18 dnech se z vajíček líhnou larvy, jejichž vývoj trvá 7-50 dnů s ohledem na teplotní podmínky. Období kukly trvá v průměru 8 dnů. Vylíhlí brouci jsou zpočátku bílí, postupně žloutnou, hnědnou a dále tmavnou a pohlavně dozrávají. Zimování lýkožrouta smrkového probíhá ve stadiu larvy, kukly nebo dospělce. Část jedinců zimuje v hrabance, část pod kůrou v místě vylíhnutí a část pod kůrou v místě náhradního zralostního žíru (Zahradník & Geráková 2010).

S výjimkou Středomoří a Velké Británie se vyskytuje v celé Evropě, dále severní Asií zasahuje přes severní Čínu až do Japonska (Zahradník 2014). V Evropě je hlavní hostitelskou dřevinou smrk ztepilý (*Picea abies* (L.) H. Karst.), i když jsou zdokumentovány případy, kdy žír a vývoj lýkožrouta probíhal v jedlích, borovicích a modřínech. V severovýchodní části areálu napadá rovněž smrk sibiřský (*Picea obovata* (Ledeb.)) a smrk východní (*Picea orientalis* (L.)) (Doležal 2013).

Napadené stromy je možné poznat podle odlupující se kůry, barevných změn jehličí, podle výskytu drtinek na patě kmene, podle přítomnosti závrtů v basální části kmene. Při slabém náletu, resp. při počáteční fázi náletu, kdy se strom úspěšně brání, jsou patrné výrony pryskyřice, kterými reaguje smrk na poškození (Zahradník 2004).

Metody ochrany lze členit na preventivní a supresivní (biologické, biotechnické, mechanické a chemické). Základem prevence je po celé rok důsledně vyhledávat a včas zpracovávat kůrovcové stromy a ostatní kůrovcové dříví. Dále je třeba odstraňovat z lesa veškerý materiál vhodný pro namnožení lýkožrouta smrkového. Přímá biologická ochrana v případě lýkožrouta smrkového zatím nepřipadá do úvahy, biologická ochrana tedy spočívá v podpoře přirozených nepřátel lýkožrouta smrkového (Zahradník 2004). Biotechnické metody se používají především pro monitoring kůrovce. Využívají se lapáky a feromonové lapače (Zahradník 2014). Lapákem se rozumí zdravý strom, který je ideálně těsně před rojením lýkožrouta smrkového pokácen, čímž se pro něj stvává atraktivním. Lapák může být ošetřen pomocí insekticidů, nebo musí být před dalším rojením z lesa odstraněn (Holuša et al. 2017).

Z hlediska prevence reinfestace je důležitý rychlý odvoz napadeného dřeva na sklady mimo lesní porosty. Nicméně problém z hlediska šíření kůrovce může být i samotný transport napadeného a chemicky neošetřeného nebo neodkorněného dřeva. Riziko představuje výlet kůrovců z převáženého dřeva a napadení porostů smrků podél cesty (Stejskal et al. 2020).

Mechanická asanace spočívá v odstraňování kůry. Ruční odkornění škrabákem je omezeno do stadia larev. Mechanické odkornění adaptérem na motorovou pilu je vysoce účinné, lze jej využít během celého vývoje kůrovců přímo na pařezu. Zásadním limitujícím prvkem mechanické asanace je však produktivita a dostatek lidských kapacit. Pro chemickou asanaci jsou v současné době registrovány přípravky na ochranu proti kůrovcům pomocí povrchového ošetření dřeva (kůry) postřikem, nicméně techniky jsou náročné na čas, dopravu postřikové kapaliny i manipulaci se dřívím. Alternativní chemickou ochranu přináší insekticidní sítě s dotykovým účinkem. Zásadním problémem postřiků a zejména pak sítí je, že nezahubí kůrovce uvnitř dřeva a ten může při další manipulaci (abrazi ošetřené kůry) a převozech vylétnout a napadnout další stromy (Stejskal et al. 2017). Postřiky většinou nevedou ke 100% kontrole cílového škůdce (Zahradník 1995). Další nevýhodou postřiků je vysoká pravděpodobnost zasažení necílových organismů (Frank & Sadof, 2011, Skrzecz et al. 2015).

Další chemickou metodou je fumigace. V dnešní době je povolená aplikace PH_3, kde však chybí data o účinnosti (Stejskal et al. 2021) a od roku 2018 je Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským opakovaně udělováno povolení přípravku na ochranu rostlin EDN pro omezené a kontrolované použití pro ošetřování vytěženého smrkového dřeva proti lýkožroutu smrkovému a lýkožroutu severskému (např. č.j. UKZUZ 027771/2021).

Předběžné studie prokázaly, že EDN vykazuje vysokou účinnost na všechna testovaný stádia lýkožrouta smrkového (Stejskal et al. 2017, Aulicky et al. 2018; Stejskal et al. 2020).

2.3.2. Tesařík krovový

Tesařík krovový (*Hylotrupes bajulus* (L.)) je nejvýznamnější kosmopolitní škůdce konstrukčního dřeva a historických budov (Stejskal et al. 2014). Patří do řádu Coleoptera (brouci) a do čeledi Cerambycidae (tesaříkovití).

Brouci jsou 7-25 mm dlouzí, nejčastěji šedočerní až černí, někdy červenohnědí. Samečci jsou asi o třetinu menší než samičky a mají delší tykadla. Dorostlé larvy tesaříka krovového jsou dlouhé asi 15-22 mm, bílé, s tmavou hlavou. Samičky kladou podlouhlá vajíčka (až 2 mm) pomocí výsuvného kladélka, až 2 cm hluboko do otvorů a štěrbin ve dřevě. Průměrně nakladou kolem 200 vajíček. Dospělí brouci žijí jen krátce, po spáření a nakladení vajíček brzy hynou, nepřijímají žádnou potravu. Z nakladených vajíček se asi po 2 až 3 týdnech vylíhnou larvy a začnou pronikat do dřeva (Urban 1997). Larva se vyvíjí v suchém opracovaném dřevě bez kůry. S oblibou napadá dřevěné, chemicky neošetřené stavby, trámy, prkna, podlahy, nábytek, sloupy apod. Ve stejném dřevě se vyvíjí mnoho generací po sobě, až ho zcela rozežere a znehodnotí. Vývoj trvá podle podmínek 3-15 let, kuklí se na jaře ve dřevě (Sláma 1998). Období kukly trvá 2–4 týdny. Čerstvě vylíhlí mladí brouci odpočívají v kolébce několik dnů, během nichž jim tuhne tělní pokryv. Dřevo opouštějí podélně oválnými otvory o průměru 5 až 10 mm, které bývají svou delší osou většinou orientovány podél dřevních vláken. K opuštění dřeva brouci také využívají výletové otvory zhotovené předtím jinými brouky, proto počet otvorů zdaleka neodpovídá počtu vylíhlých brouků, ani rozsahu poškození (Holan 2006). Ven vylétá v červnu. Ve volné přírodě se téměř nevyskytuje, nejčastěji se dá zastihnout na oknech budov, kde se vyvíjí (Sláma 1998). Soustředěným a opakovaným náporem škůdce dřevěné prvky ztrácejí statickou pevnost a soudržnost a pod zátěží krytiny, stropů, balkónů apod. se propadají. Škody způsobné tesaříkem krovovým jsou ze společenského a kulturního hlediska natolik závažné, že otázka prevence a obrany proti němu je nutno věnovat soustavnou a centrálně koordinovanou pozornost, jako je tomu např. ve Švýcarsku, Švédsku a Německu (Urban 1997).

Ochranu proti napadení dřeva tesaříkem krovovým je možné rozdělit na metody konstrukční, fyzikální a chemické. Konstrukční metody jsou nejúčinnějším způsobem ochrany. Jedná se o souhrn zásad vedoucí k minimalizaci podmínek vhodných pro degradaci dřeva,

a především slouží ke snížení vlhkosti dřeva. Jedná se především o výběr materiálu, eliminaci vad a sorpčních vlastností dřeva. Nejúčinnější chemickou metodou ochrany je hloubková tlaková impregnace. Díky lepší penetraci impregnační látky je dřevo lépe chráněno než při použití nátěru nebo postřiku (Svatoň 2000). Mezi fyzikální metody patří především tepelné ošetření. Například pro standard ISPM 15 od IPPC je pro ošetření obalového materiálu nutné dosáhnout teploty 56 °C pod dobu minimálně 30 minut, a to v celém profilu dřeva. Tento standard také upravuje použití methylbromidu, avšak NPPO doporučuje prosazování použití alternativních ošetření schválených v tomto standardu, vzhledem ke snahám o redukci užití methylbromidu (FAO 2009). Fumigace pomocí sulfurylfluoridu není v České republice využívána (ÚKZÚZ 2021).

2.3.3. Háďátko borovicové

Původ háďátka borovicového (*Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer/Nickle)) je v Severní Americe, zejména v USA odkud bylo pravděpodobně rozšířeno na infikovaném dřevě nebo dřevěných výrobcích (Nickle et al. 1981). Háďátko borovicové svým působením způsobuje celý soubor symptomů, který je celosvětově označován chřadnutí borovic (Zouhar et al. 2007). Toto chřadnutí borovic bylo poprvé zaznamenáno v Japonsku v roce 1905, ačkoliv v tu dobu ještě nebylo známo háďátko borovicové jako jeho původce. Až v roce 1971 bylo v asociaci s jeho vektorem, tesaříkem *Monochamus alternatus* (Hopeis), identifikováno jako příčina tohoto chřadnutí (Lee at al. 2017).

Na Japonské ostrovy bylo zavlečeno kolem počátku dvacátého století (Nickle et al. 1981). Skutečnost, že domácí, tedy severoamerické, jehličnany jsou většinou odolné, zatímco japonské druhy jsou náchylné, tento předpoklad podporuje. Z Japonska se pak rozšířil i do dalších asijských zemí, kromě Ruska (Li et al. 1983). Z Asie se háďátko dostalo do Evropy, kde bylo poprvé potvrzeno v roce 1999 v Portugalsku. Přes značné úsilí o jeho eradikaci se postupně rozšířilo na většinu kontinentálního území Portugalska a také na ostrov Madeira. Od roku 2008 byl výskyt několikrát zaznamenán i ve Španělsku, v oblastech poblíž portugalských hranic (Kapitola & Jurášková 2016).

B. xylophilus poškozuje pletiva v dřevních částech borovic a většiny dalších druhů jehličnanů (Zouhar et al. 2007). V Evropě jsou nejnáchylnějšími druhy *Pinus nigra* (J.F. Arnold), *Pinus pinaster* (Aiton) a *Pinus sylvestris* (L.) (Duncan & Moens 2006).

V pletivech dřeva se mohou háďátka aktivně pohybovat a dostávají se z jedné části dřeva do druhé. Byl prokázán, jak vstup háďátek ze zamořeného do nezamořeného bezprostředně sousedícího hranolu dřeva, tak i proniknutí z kořenů stromu napadeného do kořenů zdravého stromu přímým kontaktem kořenů. Podstatný pro šíření háďátek je ale hlavně pasivní způsob, tj. transport v infikovaném dřevě či prostřednictvím vektorů. Foretický vztah háďátko – brouk byl zjištěn celkem u 21 druhů z čeledi Cerambycidae, 2 druhů z čeledi Curculionidae a jednoho druhu z čeledi Buprestidae. Bez přenašečů nejsou až na zanedbatelné výjimky háďátka schopna dostat se z jednoho hostitelského stromu na druhý. Dospělci brouků (vektorů) mohou aktivně létat a vrcholu své letové aktivity dosahují asi 5 dní po opuštění stromu. Bylo zjištěno, že brouci jsou schopni s pomocí větru překonat vzdálenost až tři a výjimečně i více kilometrů. Ve většině případů se ale rozlétnou jen do okruhu několika stovek metrů (Zouhar et al. 2013).

Životní cyklus háďátka borovicového obsahuje dvě jeho formy (cykly), mykofágní (reproduktivní) a fytofágní (disperzní). Mykofágní začíná přenosem háďátek 4. instaru na oslabený nebo čerstvě odumřelý strom. Zde se háďátka živí především hyfami přítomných hub. Po přeměně na samce a samice se páří a kladou vajíčka. V závislosti na teplotě může životní cyklus trvat i pouhé 3 dny. Při výletu další generace brouků (vektorů) jsou háďátka přenášena na zdravé stromy, kde se živí buňkami pryskyřičných kanálků a velmi rychle se množí (fytofágní fáze) (Suzuki 2002, Vincente et al. 2012). Současným působením obrovského množství jedinců háďátka se drasticky mění evapotranspirační režim rostliny, což se navenek projevuje usycháním jehlic a celkovým vadnutím stromu vedoucím často k jeho rychlému odumření (Zouhar et al. 2007). V příznivých podmínkách pro háďátka dochází k odumření stromu již po 30–40 dnech od primárního napadení (Duncan & Moens 2006).

Mezinárodní doprava napadeného dřeva je nejpravděpodobnějším způsobem šíření háďátka *B. xylophilus*. Tento druh byl zachycen v řadě případů v řezivu, kulatině i hoblinách dovážených do Evropy z USA, Kanady a řady asijských států. Háďátka přicházejí do kontaktu s přirozeným vektorem nejspíš tak, že se dostávají do dřeva, které larvy či kukly přenašeče již obsahuje. Háďátka mohou poměrně velmi rychle opustit hobliny či piliny. Pokud tento materiál přijde do styku se zbytky stromů či nařezanými poleny, může dojít ke spojení s vektorem. Vysoce rizikový zdroj zavlečení představují dřevěné palety a podkladové dřevo při přepravě jakéhokoli materiálu, proto je nutné věnovat značnou pozornost právě tomuto aspektu (Zouhar et al. 2007).

B. xylophilus je v EU i ČR regulovaným (karanténním) škodlivým organismem, zařazeným v přílohách směrnice Rady 200/29/ES, resp. V přílohách vyhlášky č. 215/2008 Sb. Tyto předpisy stanovují zákaz zavlékání dotyčných organismů na území EU a regulují dovoz komodit (Kapitola & Jurášková 2016).

Napadené stromy není prakticky možné nijak ošetřit (Suzuki 2002). Například v Koreji se provádí letecká aplikace insekticidů, jako je acetamiprid a thiacloprid. Dále je zde v napadených oblastech využíváno feromonových pastí pro odchyt dospělců tesaříků, kteří háďátkům slouží jako přenašeči. Byly zde i pokusy, kdy byla prováděna injektáž nematocidů přímo do kmenů stromů. Avšak při řešení problémů s háďátkem borovicovým se většinou jedná jen o důslednou likvidaci napadených stromů, jejich štěpkování a následnou sterilizaci rostlinného materiálu (Kwon et al. 2011, Park et al. 2014).

Ochrana proti háďátku borovicovému je tedy především preventivní, důležité je například odstraňování oslabených stromů. Jedná se hlavně o dodržování pravidel spojených s převozem rizikového materiálu, karanténou zasažených oblastí a provádění kontrolních rozborů na přítomnost háďátka při převozech (Vincente et al. 2012). Preventivní postupy ošetřování dřevěného obalového materiálu jsou stanovena standardem ISPM 15, jedná se hlavně o tepelné ošetřování.

2.3.4. Háďátko severní

Jednotlivé druhy rodu *Meloidogyne* se navzájem liší okruhem hostitelských rostlin a teplotními nároky. Kořenová sedentární háďátka rodu *Meloidogyne* patří v zemědělské praxi k významným a častým škůdcům polních i zahradních plodin. Hospodářské ztráty způsobené tímto rodem háďátek byly v celosvětovém měřítku vyčísleny přibližně na 100 miliard USD/rok (Oka et al. 2000). Většina druhů však škodí v tropických a subtropických oblastech, některé druhy se ale adaptovaly i v klimatických podmínkách mírného pásma (Siddiqi 2000).

Na území ČR se mezi významné škůdce zařadilo až v nedávno uplynulých letech. Monitoring celosvětově rozšířeného fytoparazitického háďátka severního (*Meloidogyne hapla* (Chitwood)) byl v České republice zahájen v letech 2000-2001, přičemž byly zaznamenány ohniskové výskyty v několika oblastech Středočeského kraje (Douda & Zouhar 2008). První výskyt tohoto háďátka v České republice popisuje Zouhar et al. (2003) v roce 2003. Ztráty na porostech jsou pravidelně hlášeny zvláště u porostů na mrkve a petržele pěstovaných na lehkých písčitých půdách v Polabí (Douda et al. 2018). V současnosti *M. hapla* není zavedeno

v legislativní ochraně. Jako škodlivý organismus dle vyhlášky č. 215/2008 Sb. jsou vedeny hálkotvorná háďátka *M. chiwoodi* (Golden et al.) a *M. fallax* (Karssen) (Čermák & Gaar 2010). Z toho důvodu i kvůli tomu, že pěstitelé, na jejichž plochách bylo háďátko detekováno, zcela nepochopili význam nálezů a nebezpečí, které háďátka představují, bylo od začátku monitorování háďátko *M. hapla* rozšířeno prostřednictvím zemědělské mechanizace na mnoho dalších ploch. Nekontrolované rozšiřování společně s opakovaným pěstováním rostlin patřících do hostitelského okruhu mělo za následek zvýšení zastoupení *M. hapla* v půdě. Na území ČR tak lze momentálně nalézt lokality, kde se dají sledovat symptomy napadení i na rostlinných druzích, u nichž takto intenzivní symptomy nejsou běžné nebo nebyly dříve vůbec popsány (Douda et al. 2018).

Životní cyklus háďátek rodu *Meloidogyne* probíhá částečně v půdě, ale hlavní část života tito škůdci tráví přisedlí na kořenech rostlin (Taylor 1971). Vývoj všech druhů háďátek rodu *Meloidogyne* je v podstatě obdobný. Líhnou se larvy druhého vývojového stupně, které se aktivně pohybují v půdě a hledají hostitelské rostliny. Kořen hostitelské rostliny napadají těsně za kořenovou špičkou, larva se v tomto místě zachycuje v pletivu hostitelské rostliny a několikrát se svléká. Po diferenciaci pohlaví samičky bobtnají a jejich ocas vyhřezává z kořene ven. Dochází ke vzniku kořenové hálky, která obsahuje jednu či více samiček. Samečci kořen opouštějí, pohybují se v půdě a vyhledávají samičky. Po spáření samička produkuje vajíčka do vaječného vaku tvořeného želatinou. Ve vaječném vaku živé samičky jsou zastoupena vajíčka různých vývojových stadií. Z vaječného vaku se následně vajíčka uvolňují do půdy (Decker 1969).

Například u mrkve se příznaky napadení projevují hálkami na kořenech a dále dochází k tvorbě nadměrného množství postranních kořenů a vzniku tzv. vousatosti (Nagachandrabose 2018).

V současnosti nejsou speciálně proti tomuto druhu háďátka v ČR registrovány žádné účinné nematocidy. Tato situace spolu se zákazem používání methylbormidu v ochraně rostlin a neexistujícím rezistentními odrůdami kořenové zeleniny vede v našich podmínkách k absenci praktických prostředků pro ochranu před tímto háďátkem (Douda et al. 2018).

2.4. Fumigační metody ochrany proti vybraným škůdcům

HCN

Pro háďátko borovicové a tesaříka krovového Stejskal et al. (2014) stanovil Ct produkty (concentration – time, vyjádřeno v g.h/m^3) a dobu pro HCN potřebnou pro jejich 100% mortalitu. Koncentrace 20 g/m^3 HCN vedla k 100% mortalitě larev tesaříka krovového za méně než jednu hodinu. Ct produkt byl menší než 18,66 g.h/m^3. Dávky HCN 10 g/m^3 a 20 g/m^3 vedly k 100% mortalitě háďátka borovicového po 40, respektive po 18 hodinách. Ct produkt byl <424.00 g.h/m^3 pro 20 °C a 10 g/m^3 a <349.51 g.h/m^3 pro 25 °C a 20 g/m^3.

Nematocidní účinky HCN byly také prokázány v práci Maňasová et al. (2012). Kdy bylo jako modelový škůdce použito háďátko *Caenorhabditis elegans* (Maupas), které reprezentovalo skupinu fytoparazitických háďátek, kam patří například i háďátko *Bursaphelenchus xylophilus*. Háďátka byla vystavena dávce 7 g HCN/m^3 po dobu 270 minut, kdy bylo dosaženo 100% mortality tohoto modelového druhu.

Účinnost na dřevokazný hmyz z rodu *Anobium* sp. a *Lyctus* sp. za rozdílných teplotních podmínek, expozic i iniciálních koncentrací byla ověřena například v práci Parkin & Busvine, (1937) a Bletchly (1953).

Rambeau et al. (2001) uvádí, že všechny významné škůdce ve mlýnech a potravinářských závodech, včetně *Tribolium confusum* (Jacquelin du Val), *Tribolium castaneum* (Herbst), *Plodia interpunctella* (Hübner) lze hubit při dosažení Ct produktu 10 g.h/m^3. Pro dosažení 100% mortality těchto škůdců i pod 10 cm vrstvou mouky je však nutné dosáhnout Ct produktu 60 g.h/m^3.

EDN

Vzhledem k hledání alternativy k omezovanému methylbromidu se v poslední době objevuje stále více studií, které přináší slibné výsledky, potvrzující vhodnost EDN k jeho zamýšlenému použití (Ren et al. 2011; Hall et al. 2015; Hal et al. 2017; Najar-Rodriguez et al. 2020).

Vhodnost pro fumigaci dřeva byla prokázána například v práci Pranamornkith et al. (2014) kde je uvedeno, že EDN je potenciální alternativou methylbromidu pro fytosanitární ošetřování dřeva exportovaného z Nového Zélandu proti škůdci *Arhopalus ferus* (Mulsant). Pro

dospělce tohoto škůdce byla LD99 pro tříhodinovou expozici 12,6 g/m^3. EDN pro stejné použití také navrhuje Najar-Rodriguez et al. (2015).

Park et al. (2021) prokázal jak v laboratorních, tak v polních testech účinnost EDN na významné dřevokazné škůdce, například *Tomicus piniperda* (L.), *Cryphalus fulvus* (Niijima), *Hyphantria cunea* (Drury) a *Reticulitermes speratus* (Kolbe), kteří přirozeně napadají borové dřevo.

Park et al. (2014) zmiňuje, že EDN má vysoký potenciál pro fumigace čerstvého borového dřeva v boji proti fytoparazitickým háďátkům a jejich hmyzím vektorům i za nízkých teplot a také provedl několik úspěšných terénních fumigací za nízké teploty (Park et al. 2012).

Pro fumigaci půdy bylo EDN použito například v práci Stevens et al. (2019), kde prokázala slibnou účinnost EDN proti několika klíčovým půdním škůdcům, háďátkům i plevelům (*Cyperus esculentus* (L.), *Cyperus rotundus* (L.)). Uvádí také, že EDN rychle proniká skrz půdní profil.

3. Cíl práce

Cílem práce je otestovat účinnost ethandinitrilu (EDN), jako nového fumigantu v zemědělství.

Otestovat možnost používání HCN jako pesticidu, zjistit jeho možné fytotoxické účinky a případná rezidua v ošetřených komoditách.

4. Hypotéza

Ethandinitril má stejnou nebo vyšší biocidní a pesticidní účinnost jako do této doby široce používané fumiganty.

Biocidně využívané HCN lze využívat také jako pesticidní přípravek pro regulaci skladištních škůdců i škůdců rostlin.

5. Materiál a metody

5.1. Použití fumigantů

V souvislosti se stávající registrací a stavem registračních procesů ve světě bylo orientačně použití fumigantů zvoleno následovně:

EDN: fumigace surového dřeva a půdy

HCN: fumigace prázdných prostor, zpracovaného dřeva a komodit

Oba testované přípravky, EDN (ú. l. ethandinitril) a BLUEFUME (ú. l. kyanovodík), jsou vyráběny v Lučebních závodech Draslovka a.s. Kolín (dále jen LZD). EDN je dodáváno v ocelových tlakových lahvích, které obsahují 50 kg přípravku (viz Příloha Obr. 1). BF je dodáván v kompozitních tlakových lahví, které obsahují 27,5 kg přípravku (viz Příloha Obr. 2).

5.2. Místo a způsob fumigace

Provedené experimenty lze rozdělit do tří skupin:

- laboratorní testy v malé fumigační komoře nebo v plastových boxech
- testy v plynotěsném přepravním kontejneru
- polní testy
    - na pronajatých pozemcích, kde probíhala aplikace EDN do půdy
    - fumigace kůrovcového dřeva na základě povolení pokusu přípravku na ochranu rostlin pro účely vývoje a výzkumu od ÚKZÚZ
    - výzkum v rámci komerčních fumigací kůrovcového dřeva

Fumigační komora a kontejner se nachází v areálu Lučebních závodu Draslovka a.s. Kolín (dále jako LZD).

5.2.1. Popis fumigační komory a plastových boxů

Fumigační komora

Jedná se o izolovanou plynotěsnou komoru z nerezavějící oceli o objemu 650 dm^3. Fumigační komora je vybavena rukavicemi a pro manipulaci se vzorky uvnitř komory a průzorem z polykarbonátu. Vzorky jsou vkládány skrz přírubu a při provozu odebírány přechodovou komorou vybavenou dvěma šroubovacími uzávěry a odvětráním (viz Příloha Obr. 3).

Přípravek BLUEFUME je dávkován přes septum pomocí injekční stříkačky. Dávkování přípravku EDN se provádí otevřením ventilu kovové vzorkovnice, která je před začátkem fumigace vložena skrz přírubu spolu se vzorky. Vzorkovnice je naplněna přesně odváženým množstvím EDN. Nucená cirkulace je zajištěna dmychadlem. Teplota je kontrolována teploměrem a dataloggery a udržována pomocí výměníku chladicím médiem, jehož teplota se upravuje v Unistatu. Pro odběr plynných vzorků z komory slouží septa. Při ukončení fumigace odplyny odcházejí do alkalické absorpční kolony.

Fumigační plastové boxy

Jedná se o 10 litrové Lock and Lock polypropylenové boxy se silikonovým těsněním (viz Příloha Obr 4).

5.2.2. Popis fumigačního kontejneru

Fumigační kontejner je izolovaná modifikace námořního kontejneru (objem 30 m^3), který je upraven na pokusné aplikace fumigantů (Užitný vzor č. 35 023). Na bocích a střeše jsou umístěné zasklené otvory pro vizuální monitorování testů uvnitř kontejneru. Na boční stěně jsou instalovány příruby pro aplikaci fumigantu a napojení pro případné analýzy. Všechny vstupy a výstupy jsou osazeny uzavíracími ventily. Vstup do kontejneru je zajištěn jednokřídlými plynotěsnými uzamykatelnými vraty. Odvětrání kontejneru je napojeno do alkalické absorpční kolony (viz Příloha Obr. 5).

5.2.3. Polní testy

Ověření účinnosti na háďátko *Meloidogyne hapla* probíhalo na pozemku v katastru obce Litol.

Aplikace EDN do půdy probíhala metodou shank, kdy je fumigant aplikován do půdy v plynné formě a půda je ihned zakryta plastovou folií, která zamezí úniku přípravku. Použit byl aplikátor Rain-Flo 2600 (viz Příloha Obr. 6) osazený třemi aplikačními radlicemi formující hrůbek 1 m široký.

5.3. Financování řešení

Práce byla financována ze zdrojů Lučebních závodů Draslovka a.s. Kolín a za podpory Technologické agentury České republiky, konkrétně z projektů:

TH02030328: Světově nová technologie aplikace přípravku Ethandinitril (EDN) k ošetření půdy a půdních substrátů jako ekologická alternativa k methylbromidu.

TH02030329: Nová fumigační technologie k eradikaci invazivních a karanténních druhů škůdců šířených v surovinách v ČR a EU.

5.4. Biologický materiál

Testování probíhá mimo jiné na škůdcích *Ips typographus*, *Hylotrupes bajulus*, *Bursaphelenchus xylophilus* a *Meloidogyne hapla*. Všechna vývojová stádia *Ips typogrtaphus* byla z přirozeně napadeného smrkového dřeva, získaného v průběhu polních testů. Háďátka jsou zajišťována ve spolupráci s katedrou ochrany rostlin na ČZU a s VÚRV. Larvy *Hylotrupes bajulus* dodává MPA Eberswalde Institut.

5.5. Design testů

5.5.1. Lýkožrout smrkový (EDN)

Polní testy

Fumigace dřeva napadeného lýkožroutem smrkovým se prováděla přímo v lese v místě jeho těžby v rámci komerčních fumigací. Dřevo bylo naskládáno na PE silážní folii (tloušťka 0,15 mm). Následně byla umístěna překryvná folie, která byla spojena s folií podkladní pomocí pružinových svorek (viz Příloha Obr. 7). Podle objemu fumigovaného prostoru byla zvolena dávka EDN, která odpovídala 50 g EDN/m^3. Aplikace EDN byla provedena pomocí PE hadic a aplikační sestavy napojené na tlakové lahvi. Jako hnací plyn byl využit dusík v samostatné tlakové lahvi, který se následně také využil k pročištění aplikačních tras. Expozice byla 10 hodin, po kterých byla odstraněna překryvná folie a zbytkové EDN bylo odvětráno. Podrobný popis ošetřování kůrovcového dřeva je popsán v Aplikačním manuálu výrobce nebo v Metodice ošetření napadeného dříví lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus*) pomocí přípravku EDN. Po celou dobu všech ošetření probíhal monitoring koncentrace EDN pomocí přístroje Gasmet DX 4040 (FTIR).

Ověření vlivu podkladní plachty

První část testů sloužila k ověření důležitosti použití podkladní plachty. Byly provedeny 4 iniciační fumigace za rozdílných podmínek (2 s podkladní plachtou a 2 bez podkladní plachty) a 10 validačních fumigací za identických podmínek (5 s podkladní plachtou a 5 bez podkladní plachty) (viz Příloha Obr. 8). Parametry jednotlivých testů jsou uvedeny v tabulce č. 1. Po testech byl porovnán průběh koncentrace EDN mezi jednotlivými testy s podkladní plachtou a bez ní.

Tabulka 1. Parametry fumigací, kde byl stanovován vliv podkladní plachty

Pokus	**Iniciální testy**				**Validační testy**	
	Pokus č. 1 Hráň s podkladní plachtou	**Pokus č. 2 Hráň s podkladní plachtou**	**Pokus č. 3 Hráň bez podkladní plachty**	**Pokus č. 4 Hráň bez podkladní plachty**	**Pokus č. 1–5 Hráně s podkladní plachtou**	**Pokus č. 6–10 Hráně bez podkladní plachty**
Souřadnice	49.8691562N, 15.8100427E	49.63475833N, 16.59741666E	49.6311864N, 13.7992239E		50.8239758N, 14.2903497E	
Velikost hráně (prostor pod plachtou)	225 m^3	453 m^3	248 m^3	364 m^3	12 m^3	12 m^3
Loading faktor	60–64 %					
Množství EDN	11,25 kg	22,6 kg	12,4 kg	18,3 kg	0,6 kg	0,6 kg
Monitorovací body (MP)	1. 0,5 m vysoko, vlevo/2. 1 m vysoko, střed/3. 1,5 vysoko, vpravo				1 m vysoko, střed	
Průměrná teplota pod plachtou	2.2 °C	10.4 °C	8.6 °C	8.6 °C	13.9 °C	13.7 °C
Průměrná relativní vlhkost pod plachtou	77.1 %	84.9 %	88.4 %	88.4 %	84.0 %RH	90.8 %RH
Vlhkost dřeva	Čerstvé dřevo s vlhkostí nad 50 %					
Průměrná rychlost větru	2 m/s	15 m/s	3 m/s	3 m/s	2 m/s	

Účinnost EDN na lýkožrouta smrkového

V druhé části testů byla sledována účinnost přípravku EDN na přirozenou populaci lýkožrouta smrkového (vajíčka, larvy, kukly, dospělci) při fumigaci skládky dřeva o celkovém objemu pod plachtou 86 m^3 (4,3 kg EDN). „Loading faktor“ složeného dřeva byl 62 % a čistý objem ošetřeného dřeva byl 53 m^3. Pro testy byly použity napadené lapáky neodkorněného smrkového dřeva o délce 4 m. V průběhu ošetření byla zaznamenána průměrná teplota pod plachtou 26,3±0,03 °C (min. 25,5 a max. 27,7 °C) a relativní vzdušná vlhkost 88,7±0,87 % (68,0 - 100,0 %). Koncentrace EDN byla měřena na třech monitorovacích bodech (nahoře, ve středu a dole) ve středu hráně.

Před zabalením hráně a aplikací přípravku byly náhodně vybrány kontrolní vzorky neošetřeného dřeva (celkový počet 6 ks kmenů o délce 4 m vykazující přirozenou infestaci cílovým škůdcem). Tyto vzorky byly umístěny mimo dosah účinnosti přípravku. Po ošetření a odvětrání dřeva bylo z náhodných míst vybráno 6 ks kmenů. Ošetřené a kontrolní kmeny byly zkráceny na délku 1 m (z důvodu převozu do skladu a následných kontrol) a řádně označeny pro zpětnou identifikaci. Celkem tedy bylo odebráno 24 metrových kusů ošetřené kulatiny a 24 metrových kusů kontrolních. Následně byly vzorky dřeva převezeny do skladu ve VÚRV, v.v.i., kde byly zabaleny separátně do vaků z prodyšné tkaniny Uhelon 53 S (viz Příloha Obr. 9) a ponechány na dolíhnutí dospělců xylofágních škůdců. V pravidelných intervalech, 1x za týden, byly prováděny kontroly dolíhnutých dospělců škůdců, a to po dobu 3 měsíců a dále v závislosti na teplotách. Celkově byl výlet monitorován po dobu 12 měsíců. Primárně byl sledován výlet dospělce lýkožrouta smrkového, proběhla však také determinace dalších škůdců.

5.5.2. Tesařík krovový (EDN)

Testy ve fumigační komoře

Stanovení potřebného Ct produktu pro dosažení 100% mortality daného škůdce.

Testy probíhaly na larvách v rozmezí 100–300 mg, Larvy byly ve fumigační komoře vystaveny EDN v nejmenším možném množství obalového materiálu (ve špalíčkách velikosti 70 x 25 x 40 mm s maximální tloušťkou 30 mm.), který pro ně zajistil vhodné životní podmínky a tím zajistil jejich přežití v negativních kontrolách a zároveň významně nezpomalil působení fumigantu. Testování probíhalo při teplotě 22 ± 3 °C. Po posouzení mortality se z naměřených koncentrací v daných časech vypočítá Ct produkt potřebný pro usmrcení konkrétního škůdce či jeho stadia.

Dávka: 25 a 50 g EDN/m^3

Doba expozice: 1, 3 a 6 hodin (čas potřebný k dosažení 100% mortality škůdců pro tento druh obvyklý (Stejskal et al. 2014)).

Počet opakování pro jednu koncentraci: 4

Počet opakování pro jednu aplikaci: 5 (EPPO 1994; EPPO 2001)

5.5.3. Háďátko borovicové (EDN)

Testy ve fumigační komoře

Stanovení potřebného Ct produktu pro dosažení 100% mortality daného škůdce.

Testy probíhaly na směsi všech vývojových stadií háďátka. Testy probíhaly v 50 ml polyethylenových ampulích, které byly místo víčka překryty tkaninou Uhelon o průměru ok 80 μm, což umožnilo volný přístup EDN do ampulí. Do každé ampule bylo umístěno 20 g pilin (*Pinus sylvestris*) a následně byla napipetována suspenze háďátek. Po fumigaci byla háďátka separována pomocí Baermannovy metody a po 12 hodinách extrakce byl pomocí stereomikroskopu určen počet živých a mrtvých háďátek. Stejně bylo postupováno i s neošetřenou kontrolou.

Testování probíhalo při teplotě 22 ± 3 °C. Po posouzení mortality se z naměřených koncentrací v daných časech vypočítá Ct produkt potřebný pro usmrcení konkrétního škůdce či jeho stadia.

Baermannova metoda: modifikovaná verze (užitný vzor číslo CZ 24090 U1)

Dávka: 25 a 50 g EDN/m^3

Doba expozice: 6, 12, 18, 24, 30 a 40 hodin (čas potřebný k dosažení 100% mortality škůdců pro tento druh obvyklý (Stejskal et al. 2014).

Počet opakování pro jednu koncentraci: 3

Počet opakování pro jednu aplikaci: 1500 (EPPO 1994; EPPO 2001)

Testy ve fumigačním kontejneru

Byly provedeny experimenty testující účinnost aplikace plynného ethandinitrilu (EDN) na háďátko *B. xylophilus* v podmínkách simulujících přítomnost tohoto škodlivého organismu v kmenech stromů. Tento experiment využil modelového systému (Artificial Dismantling Log-ADL) (viz Příloha Obr. 12). Tento systém umožňuje vložení zkoumaného objektu do otvoru uvnitř klády a její uzavření tak, aby jedinou cestou pro cestu fumigantu k objektu bylo vlastní dřevo.

Pro testování účinnosti fumigantu byly připraveny různě veliké ADL (10x10x47; 20x20x47; 30x30x47 cm). V těchto experimentech bylo použito dřevo napadené háďátky tak, aby podmínky pro testování co nejvíce kopírovaly reálné podmínky. Za tímto účelem byla

háďátka množena ve větvích borovice *Pinus sylvestris* o rozměrech 150x25 mm. Tyto segmenty byly inokulovány v laboratorních podmínkách pomocí suspenze háďátek a segmenty byly uzavřeny do polyetylenových obalů a inkubovány po dobu 28 dní při teplotě 23 °C v termostatu. Po inkubaci bylo pomocí modifikované Baermanovy nálevkové metody stanoveno množství háďátek v infikovaném segmentu dřeva tak, aby bylo možné tento segment použít pro vlastní ověření účinnosti EDN na mortalitu *B. xylophylus*. Do každého ADL bylo vloženo cca 12 000 háďátek. Segmenty byly nastříhány na 2 cm špalíky tak, aby bylo možné připravit fumigační kapsli pro vložení do ADL. Kapsle byla tvořena filtrační tkaninou o rozměrech ok 1 μm. Tímto způsobem bylo zabráněno úniku háďátek do ADL a zároveň byl umožněn volný přístup fumigantu k háďátkům v napadeném dřevě. Celkem bylo připraveno k fumigačnímu experimentu 32 ADL. Vzorky byly umístěny do fumigačního kontejneru, zbývající prostor v lodním kontejneru byl vyplněn dřevěnou kulatinou, aby loading faktor odpovídal komerčním fumigacím (50 %) a celý objem kontejneru byl následně ošetřen EDN, a to cílovou koncentrací 50 g/m^3, po dobu 24 h. Po odvětrání byly ADL rozebrány a počet přeživších háďátek po extrakci pomocí modifikované Baermannovy metody stanoven vizuálně pod stereomikroskopem.

5.5.4. Háďátko severní (EDN)

Testy ve fumigační komoře

Pro testování účinnosti fumigantu byly zvoleny koncentrace 7, 12, 20 a 36 g/m^3, které jsou nižší než standardně aplikovaná dávka do půdy. Doba ošetření pro tento pilotní test byla stanovena na 48 hodin. Pro fumigaci byla získána přirozeně zamořená půda z lokality v katastru městské části Litol (Lysá nad Labem), zeměpisné souřadnice 50°11'3.288"N, 14°50'16.429"E. Půda byla odebrána v objemu dvou kubických metrů, její homogenizace byla provedena promícháním ve stavební míchačce a takto homogenizovaná půda byla uskladněna na volné pěstební ploše a následně používána pro všechny další experimenty.

Vždy 200 g promíchané půdy bylo naváženo do sáčku z netkané textilie, umístěno do nerezové fumigační komory a ošetřováno EDN ve výše uvedených koncentracích a časových intervalech. Mezi jednotlivými fumigacemi byla komora vždy úplně odvětrána. Všechny experimenty byly provedeny v pěti opakováních. Po jednom týdnu od ošetření byla půda přemístěna do plastových květináčů a do půdy přesazena sazenice mrkve odrůdy Darina ve fázi dvou pravých listů. Neošetřená kontrolní varianta byla založena obdobně, přičemž rostliny byly přesazeny přímo do přirozeně zamořené půdy. Rostliny byly následně pěstovány ve skleníku

při přirozené fotoperiodě, teplotě 25 °C a pravidelné zálivce do fáze pěti pravých listů. Následně byly rostliny opatrně vyjmuty z květináčů a z jejich kořenového systému byla omyta půda. Dále byly rostliny osušeny a na kořenech byl stanoven počet kořenových hálek.

Získaná data o počtu hálek byla použita pro vyhodnocení účinnosti fumigace a rovněž pro sledování účinků fumigantu na rostliny mrkve. V průběhu testů bylo sledováno případné fytotoxické působení přípravku EDN.

Polní testy

Aplikace EDN do půdy se prováděla metodou shank. Aplikace EDN probíhala do hloubky 20 cm a ošetřovány byly jednotlivé řádky o šířce 1,5 m. Izolační pásy byly tvořeny neošetřenými záhony o šířce 1 m (viz Příloha Obr. 10). Pro zakrytí byla použita plastová folie TIF (výrobce 2 Gamma). Folie byla z pole odstraněna 10 dní po aplikaci fumigantu, a následně byl pozemek ještě 4 dny odvětráván.

V roce 2019 bylo pro ošetření volné pěstební plochy přirozeně napadené háďátkem *Meloidogyne hapla* použito dvou koncentrací EDN, které odpovídaly koncentracím účinným pro eradikaci háďátka v in vitro podmínkách, rovněž byl brán zřetel na případnou fytotoxicitu EDN. Pozemek měl délku 150 m. Varianty byly následující: kontrola bez ošetření, kontrola bez ošetření zakrytá folií, ošetření EDN 30 g/m^2 a ošetření EDN 50 g/m^2, každá varianta měla dvě opakování. 14 dní po aplikaci byla na pozemek vyseta mrkev odrůd Natuna F1 a Naval F1. Rostliny ve fázi BBCH 49 byly sklizeny a podrobeny laboratornímu rozboru.

V roce 2020 se navázalo na experimenty z roku 2019. Experimentální pozemky se nezměnily. Velikost pokusných parcel zůstala stejná. Varianty byla následující: varianta ošetřená 50 g EDN/m^2, varianta ošetřená 30 g EDN/m^2, kontrola bez ošetření zakrytá TIF a kontrola bez ošetření a bez zakrytí, všechny varianty byly ve čtyřech opakováních, přičemž dvě opakování každé varianty byla ošetřena mykorhizním experimentálním přípravkem Rootella, který by měl urychlit obnovení prospěšných mikroorganismů v půdě po fumigaci. Termín výsevu a odrůdy byly stejné jako v roce 2019. Rostliny byly sklizeny v růstové fázi BBCH 18 a to z důvodu nepříznivých klimatických podmínek.

Pro vyhodnocení účinnosti byly stanoveny tyty parametry: hmotnost kořene, hmotnost natě, délka kořene a počet hálek. Získaná data byla podrobena statistickému vyhodnocení pomocí analýzy rozptylu s využitím programu Statistica 12.0 (StatSoft Tulsa USA).

Podrobnější vyhodnocení výsledků analýzy rozptylu bylo provedeno Tukeyho testem, rovněž v programu Statistica.

5.5.5. Rezidua fumigantů v komoditách (EDN, HCN)

Fumigace byly provedeny na volně sypané komoditě (pšenice – odrůda Bonanza o vlhkosti 13,8 %, rýže – Phka malis jasmin rice o vlhkosti 12 %) v 10 litrovém plastovém boxu s aktivní cirkulací vzduchu (viz Příloha Obr. 4). Při fumigaci EDN byly použity koncentrace 50, 30 a 10 g/m^3. Při fumigaci HCN byly použity koncentrace 30, 20 a 10 g/m^3 a expoziční doba 24 hodin.

Fumigant byl aplikován do volného prostoru nad zrny v plynné fázi. Atmosféra nad zrny byla nasávána cirkulačním čerpadlem, které mělo výstup 2 cm nad středem dna nádoby. Odvětrávání probíhalo tak, že čerpadlo nasávalo čerstvý vzduch s výstupem na dno boxu a z atmosféry nad zrny byl veden odpadní vzduch do alkalické vypírky. Následně byly v různých časových intervalech odebrány vzorky a množství reziduí bylo stanoveno fotometricky. Měření probíhalo minimálně do doby, než hodnoty reziduí neklesly pod 15 ppm, což je maximální možný obsah CN^- v komoditách.

Při fotometrickém stanovení bylo naváženo 5-7 g komodity do 50 g NaOH a připravený roztok byl uložen na 2 hodiny do ultrazvukové lázně při 20 °C. Takto připravený vzorek byl destilován a následně byla fotometricky stanovena množství reziduí vyjádřených jako suma CN^-. Metoda byla prováděna dle normy ČSN ISO 6703-2 (Spektrofotometrické stanovení volných CN^-). Díky použité metodě pro stanovení reziduí při extrakci vzorku pomocí NaOH přechází zbytkový kyanovodík i ethandinitril do vodné fáze ve formě rozpustného kyanidu a tudíž může bát tato metoda použita jak pro HCN tak pro EDN.

5.5.6. Penetrace do dřeva (EDN)

Testovány byly tři druhy dřeva: smrk ztepilý (*Picea abies*), borovice lesní (*Pinus sylvestris*) a javor mléč (*Acer platanoides* (L.)). Pro testování bylo použito pět dřevěných bloků (100 x 100 x 120 mm) pro každý ze tří časově nezávislých pokusů při teplotě 22 ± 3 °C. Před zahájením testování byla stanovena vlhkost dřevěných bloků. Po aplikaci dané dávky (25 a 50 g EDN/m^3) se odebíraly vzorky a měřila koncentrace EDN uprostřed dřevěného bloku, tedy v otvoru (25 mm v průměru a 60 mm hluboký), který byl vyvrtaný a zakrytý sklem se septem pro odběr plynného vzorku (viz Příloha Obr. 11), Odběr vzorků probíhal také ve volném prostoru komory, a to v krátkých časových intervalech (1x za hodinu) po dobu 24 hodin. Odebrané vzorky se okamžitě analyzovaly na plynovém chromatografu. Z naměřených koncentrací byl vypočítán Ct produkt pro dané časy.

6. Výsledky

6.1. Lýkožrout smrkový

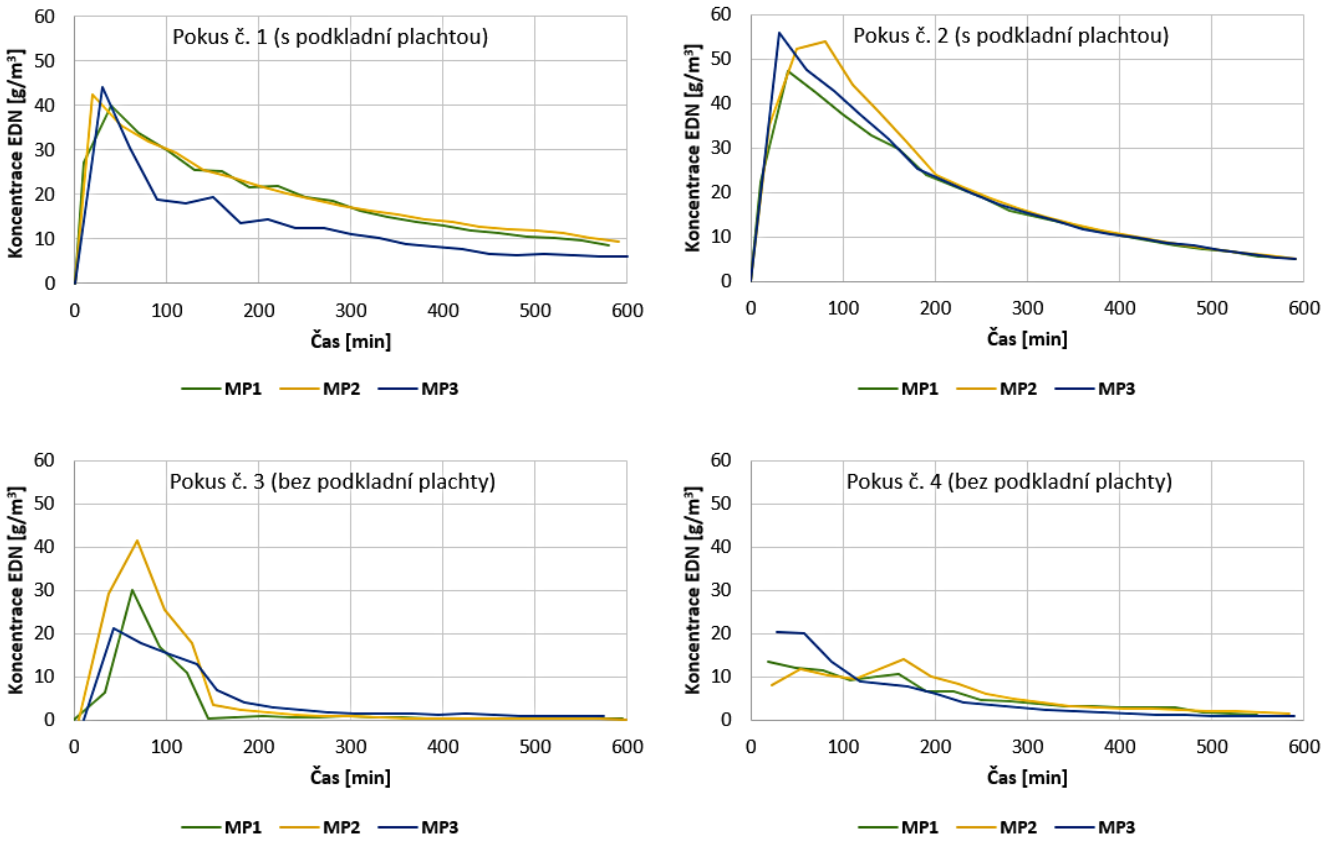
Polní testy

Vliv podkladní plachty na koncentrace EDN

Iniciální testy

V Grafu 1 jsou znázorněny průběhy koncentrace EDN v rámci iniciálních testů, a to vždy ve třech odběrových místech (MP). V Tabulce 2 je uvedena maximální dosažená koncentrace, koncentrace na konci fumigace a dosažený Ct produkt.

Graf 1. Průběh koncentrací EDN během iniciálních testů, pokus č. 1 a 2 s podkladní plachtou, pokus č. 3 a 4 bez podkladní plachty.



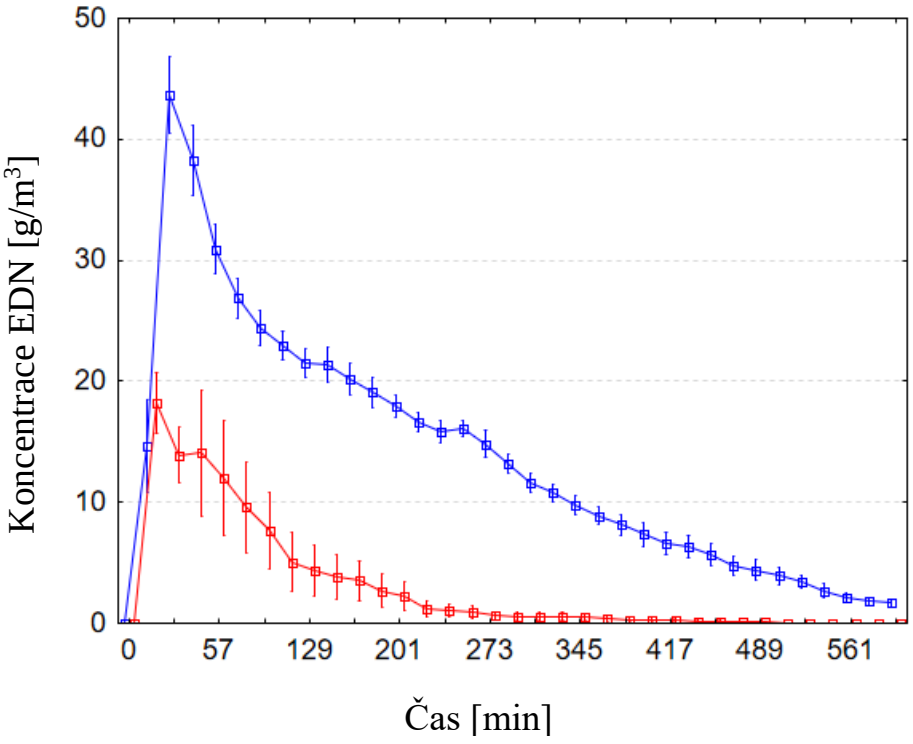
Tabulka 2. Data naměřena v iniciálních testech: střední (± SE) maximální koncentrace, střední (± SE) koncentrace na konci fumigace, střední (± SE) Ct P

	Střední (± SE) maximální koncentrace (g/m^3)	**Střední (± SE) koncentrace na konci fumigace (g/m^3)**	**Střední (± SE) Ct P (g.h/m^3)**
Pokus č. 1 (s podkladní plachtou)	42,1 ± 1,2	8,0 ± 1,26	169,2 ± 18,9
Pokus č. 2 (s podkladní plachtou)	52,4 ± 2,6	5,1 ± 0,07	196,9 ± 6,4
Pokus č. 3 (bez podkladní plachty)	30,9 ±5,8	0,4 ±0,22	46,1 ± 8,8
Pokus č. 4 (bez podkladní plachty)	16,0 ± 2,2	1,1 ± 0,23	54,2 ± 1,2

Validační testy

V Grafu 2 jsou znázorněny průběhy středních (±SE) koncentrací EDN během validačních testů. V Tabulce 3 je uvedena maximální dosažená koncentrace, koncentrace na konci fumigace a dosažený Ct produkt.

Graf 2. Průběh středních (±SE) koncentrací EDN během validačních testů. Modrá linie: pokusy 1–5 s podkladní plachtou. Červená linie: pokusy 6–10 bez podkladní plachty.



Tabulka 3. Data naměřena ve validačních testech: střední (± SE) maximální koncentrace, střední (± SE) koncentrace na konci fumigace, střední (± SE) Ct P

	Střední (± SE) maximální koncentrace (g/m^3)	**Střední (± SE) koncentrace na konci fumigace (g/m^3)**	**Střední (± SE) Ct P (g.h/m^3)**
Pokus č. 1–5 (s podkladní plachtou)	44,1 ± 2,92	1,7 ± 0,31	139,8 ± 5,4
Pokus č. 6–10 (bez podkladní plachty)	18,2 ± 2,49	0,002 ± 0,002	28,9 ± 10,3

Účinnost EDN

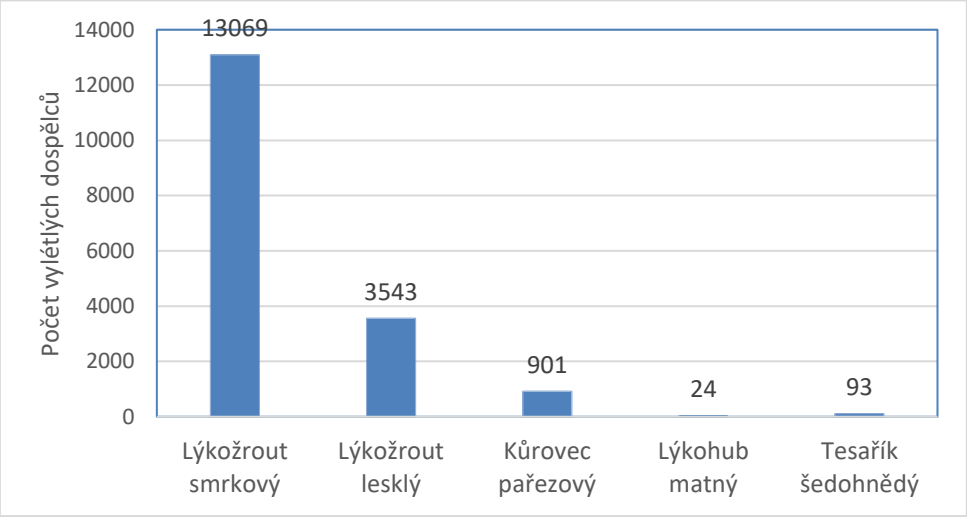
Z naměřených koncentrací byl vypočítán dosažený Ct produkt. V horní části skládky byl vypočítán Ct produkt 186,04 g.hod/m^3, ve střední části skládky byl vypočítán Ct produkt 168,24 g.hod/m^3 a v dolní části skládky byl Ct produkt 154,99 g.hod/m^3.

Z neošetřených kontrolních vzorků dřeva se vylíhlo celkem 17 630 ks jedinců 5 druhů škůdců z řádu brouci: 13 069 ks lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*); 3 543 ks lýkožrouta lesklého (*Pityogenes chalcographus* (L.)); 901 ks kůrovce pařezového (*Dryocoetes autographus* (Ratzeburg)); 24 ks lýkohuba matného (*Polygraphus poligraphus* (L.)) a 93 ks tesaříka šedohnědého (*Tetropium fuscum* (Fabricius)). Celkový výlet dospělců z rodu Coleoptera z kontrolních vzorků je zobrazen v Grafu 3. Suma kumulativního výletu dospělců lýkožrouta smrkového z kontrolních vzorků je zobrazena v Grafu 4.

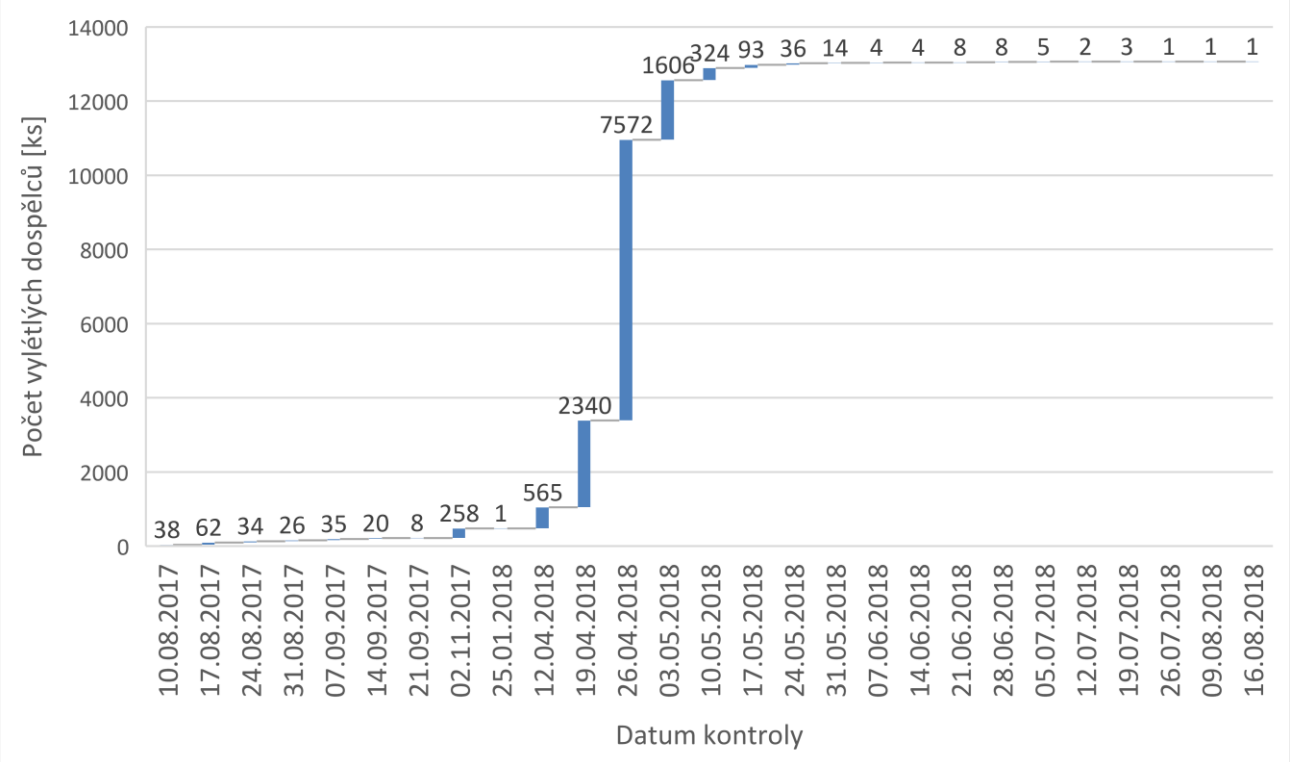
V ošetřených vzorcích dřeva se nevylíhli žádní škůdci po celou dobu kontroly.

Vylíhlí dospělí jedinci lýkožrouta smrkového byli nalezeni celkem ve 23 dílčích vzorcích neošetřené kontroly z celkového počtu 24 dílčích vzorků.

Graf 3. Celkový výlet dospělců z řádu Coleoptera z kontrolních vzorků (24 ks metrových výřezů).



Graf 4. Suma kumulativního výletu dospělců lýkožrouta smrkového z kontrolních vzorků (24 metrových výřezů).



6.2. Tesařík krovový

Testy ve fumigační komoře

V obou iniciálních dávkách byla zjištěna 100% mortalita larev již v expozici po 3 hodinách. V expozičním čase 1 hodina byla zjištěna nižší mortalita larev v iniciální dávce 25 g/m^3, která byla 25 %, zatímco v iniciální dávce 50 g/m^3 byla zjištěna mortalita 73,33 %. Na základě zjištěných údajů byly vypočítány Ct-produkty pro obě iniciální dávky. Pro iniciální dávku 25 g/m^3 byl vypočítán průměrný Ct produkt 85,33 g.hod/m^3 a pro iniciální dávku 50 g/m^3 byl 105,62 g.hod/m^3. Dosažená mortalita je uvedena v Tabulce 4 a dosažené Ct produkty pro jednotlivá opakování jsou v Tabulce 5.

Tabulka 4. Procento mortality larev tesaříka krovového v iniciální dávce EDN 25 g/m^3 a 50 g/m^3.

	Expozice a dávka							
	1 hodina		3 hodiny		6 hodin		Kontrola	
	25 g/m^3	50 g/m^3	25 g/m^3	50 g/m^3	25 g/m^3	50 g/m^3	25 g/m^3	50 g/m^3
1. opakování	20	100	100	100	100	100	0	0
2. opakování	60	100	100	100	100	100	0	0
3. opakování	20	60	100	100	100	100	0	0
4. opakování	0	33,3	100	100	100	100	0	0
Průměr	25,0 ± 12,58	73.33 ± 16.34	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Tabulka 5. Naměřené Ct-produkty pro larvy tesaříka krovového v iniciální dávce 25 g/m^3 a 50 g/m^3.

	Ct produkt (g.h/m^3)	
	25 g/m^3	50 g/m^3
1. opakování	89,93	48,09
2. opakování	88,53	50,71
3. opakování	84,14	163,12
4. opakování	78,72	160,56
Průměr	85,33 ± 2,53	105,62 ± 32,48

6.3. Háďátko borovicové

Testy ve fumigační komoře

V obou iniciálních dávkách byla zjištěna 100% mortalita háďátek již v expozici po 6 hodinách. Na základě zjištěných údajů byly vypočítány Ct produkty pro obě iniciální dávky. Pro iniciální dávku 25 g/m^3 byl vypočítán průměrný Ct produkt 157,34 g.hod/m^3 a pro iniciální dávku 50 g/m^3 byl 311,57 g.hod/m^3. Dosažená mortalita je uvedena v Tabulce 6 a dosažené Ct produkty pro jednotlivá opakování jsou v Tabulce 7 a 8.

Tabulka 6. Počet živých háďátek borovicových po ošetření přípravkem EDN iniciální dávkou 25 g/m^3.

	Expozice						
	6 hodin	12 hodin	18 hodin	24 hodin	30 hodin	40 hodin	kontrola
1. opakování	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	432.00 ± 59.76
2. opakování	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	307.60 ± 17.47
3. opakování	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	302.00 ± 16.54

Tabulka 7. Počet živých háďátek borovicových po ošetření přípravkem EDN iniciální dávkou 50 g/m^3.

	Expozice						
	6 hodin	12 hodin	18 hodin	24 hodin	30 hodin	40 hodin	kontrola
1. opakování	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	564.20 ± 51.05
2. opakování	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	837.00 ± 48.70
3. opakování	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	595.00 ± 49.04

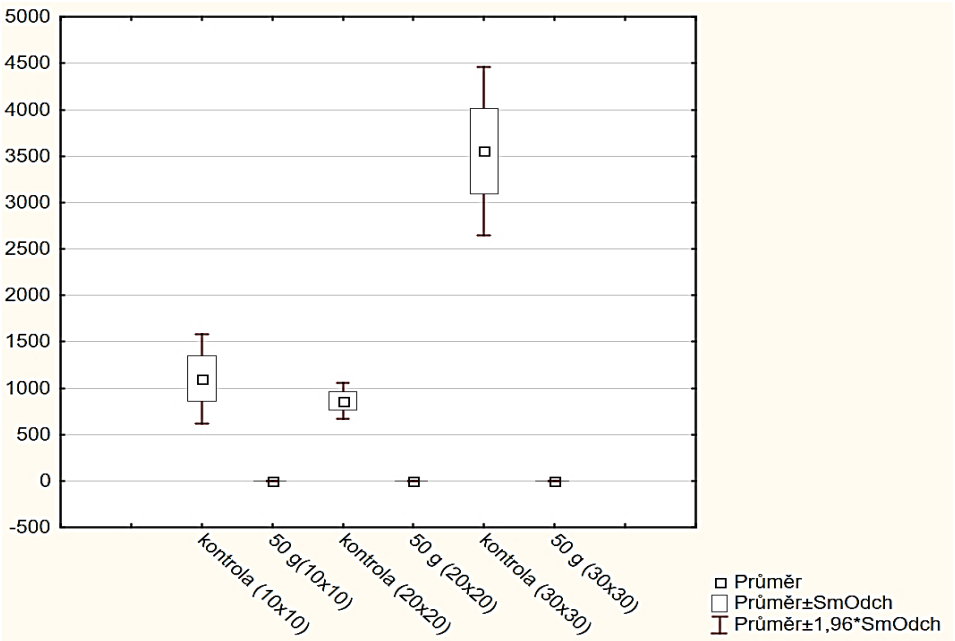
Tabulka 8. Naměřené Ct produkty pro háďátka druhu *Bursaphelenchus xylophilus* v iniciální dávce 25 g/m^3 a 50 g/m^3.

	Ct produkt (g.h/m^3)	
	25 g/m^3	50 g/m^3
1. opakování	150,13	296,25
2. opakování	166,36	313,83
3. opakování	155,52	324,64
Průměr	157,34 ± 4,77	311,57 ± 8,27

Testy v kontejneru

Výsledky experimentu prokázaly 100% účinnost EDN na mortalitu *B. xylophilus* v provozních podmínkách. Výše uvedeným způsobem proběhla validace metod aplikace v modelovém systému ADL. V Grafu 5 je znázorněna účinnost na mortalitu *B. xylophilus* v modelových ADL pro jednotlivé varianty.

Graf 5. Účinnost EDN na mortalitu *B. xylophilus* v modelových ADL vyjádřená počtem přeživších jedinců.

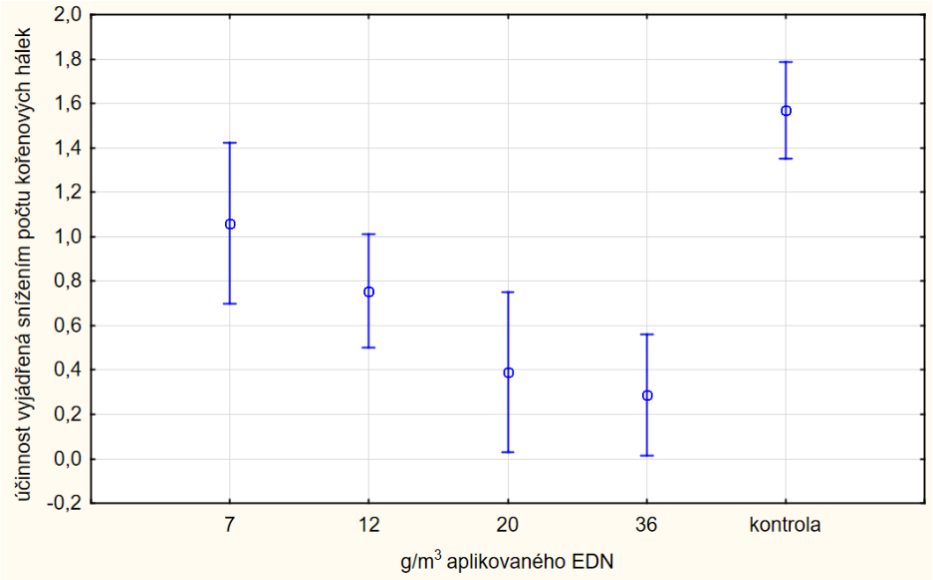


6.4. Háďátko severní

Testy ve fumigační komoře

Během vegetace nebyly na rostlinách mrkve pozorovány žádné negativní důsledky ošetření (fytotoxické působení). Z výsledků jasně vyplývá, že ve většině případů dochází se vzrůstající dobou ošetření a množstvím EDN ke snížení napadení háďátkem *Meloidogyne hapla*, například z výsledků analýzy rozptylu získaných dat při ošetření expozicí 48 hodin, jednoznačně vyplývá statisticky významný rozdíl mezi neošetřenou kontrolou a variantami ošetřenými 12, 20 a 36 g EDN/m^3. Účinnost na snížení počtu kořenových hálek po ošetření EDN je znázorněna v Grafu 6.

Graf 6: Výsledky analýzy rozptylu získaných dat o vlivu EDN po 48 hodinách expozice, na snížení napadení kořenů mrkve háďátkem *Meloidogyne hapla*. Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti.

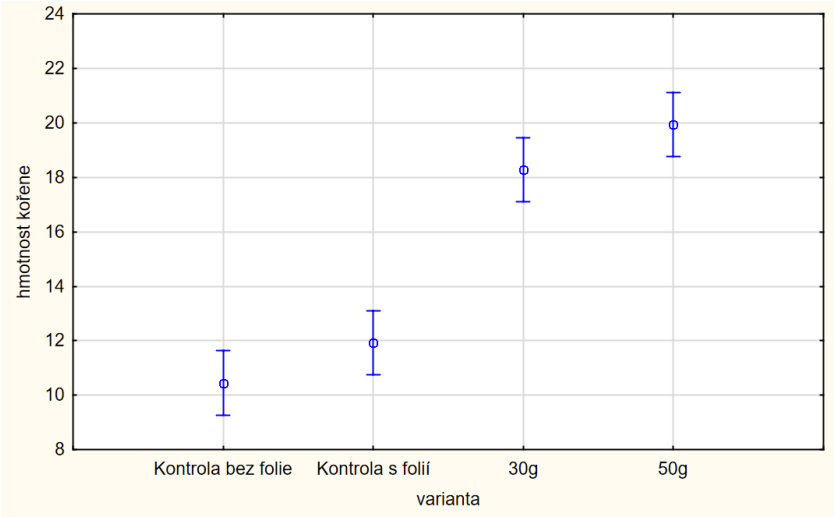


Polní testy

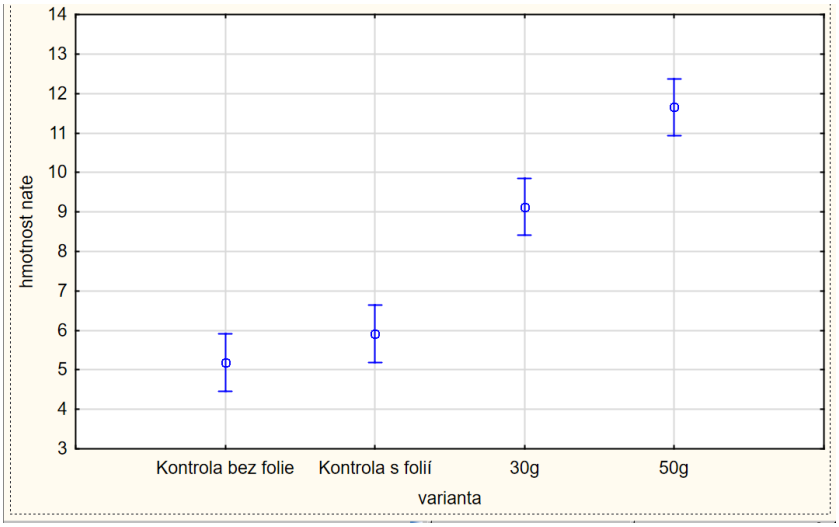
2019

Výsledky jednoznačně prokázaly kladný účinek aplikace EDN na snížení napadení pěstované mrkve háďátkem severním *M. hapla* (viz Příloha Obr. 13). Statisticky významný rozdíl oproti kontrolám byl detekován v případě obou aplikovaných koncentrací EDN. Délka kořene byla aplikací EDN rovněž pozitivně ovlivněna, statisticky významný rozdíl byl detekován u obou aplikovaných dávek EDN. Parametr hmotnost listů byl ovlivněn v případě obou ošetření, a to statisticky významně od obou kontrol. Hmotnost kořene pak byla rovněž statisticky významně vyšší, a to v případě obou dávek EDN. Z výsledků je dobře patrná jak účinnost EDN na snížení škod způsobených háďátky. Výsledky jsou zpracovány v Grafech 7-10.

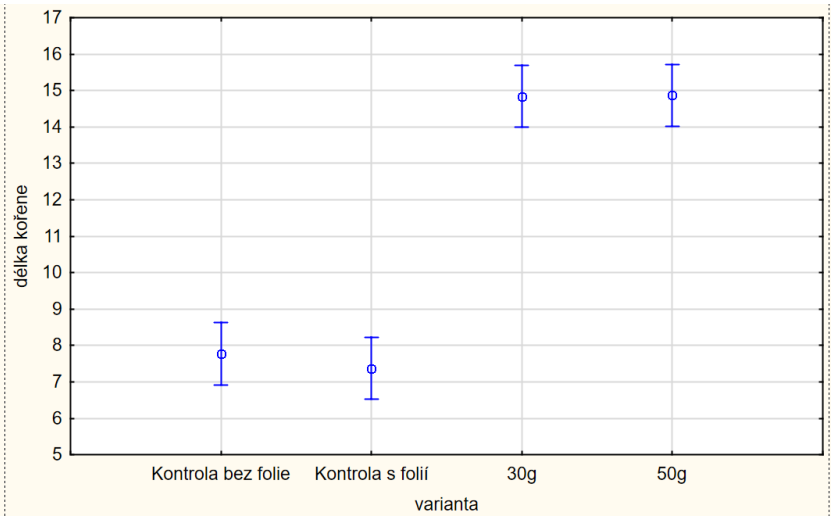
Graf 7. Vyhodnocení vlivu EDN na hmotnost kořene mrkve (g). Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti.



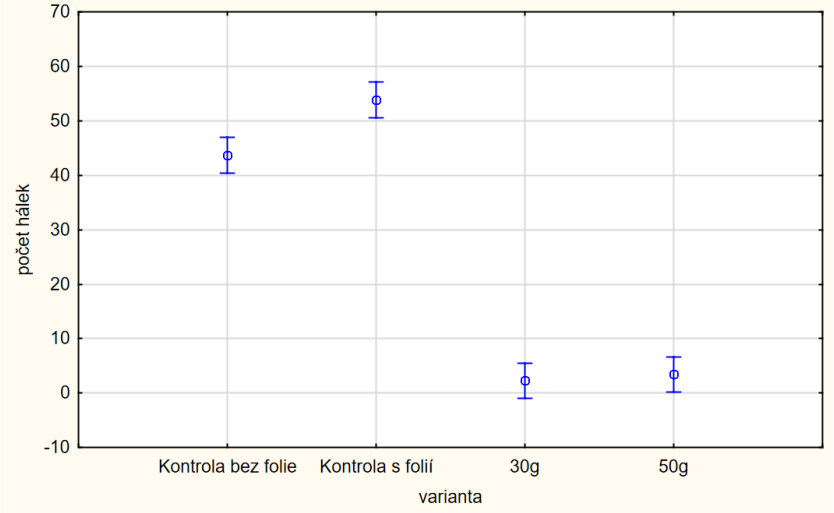
Graf 8. Vyhodnocení vlivu EDN na hmotnost natě mrkve (g). Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti.



Graf 9. Vyhodnocení vlivu EDN na délku kořene mrkve (cm). Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti.



Graf 10. Vyhodnocení vlivu EDN na počet hálek na kořenech mrkve. Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti.



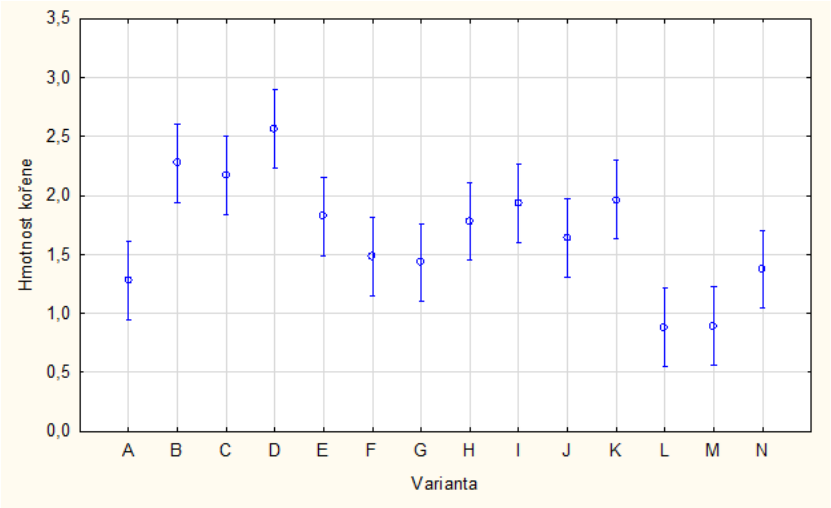
2020

Výsledky potvrdily závěry experimentů z roku 2019. Jednoznačně prokázaly kladný účinek aplikace EDN na snížení napadení významným škůdcem háďátkem severním *M. hapla* i efekt přihnojení rostlin rozkladnými produkty tohoto fumigantu. Výsledky ovlivněny povětrnostními podmínkami, zejména přísuškem v době vzcházení mrkve a zkrácením doby vegetace. Došlo ke statisticky významnému rozdílu v počtu hálek od ošetřených variant i variant ošetřených EDN a přípravkem Rootella od kontrolních variant bez ošetření (i bez

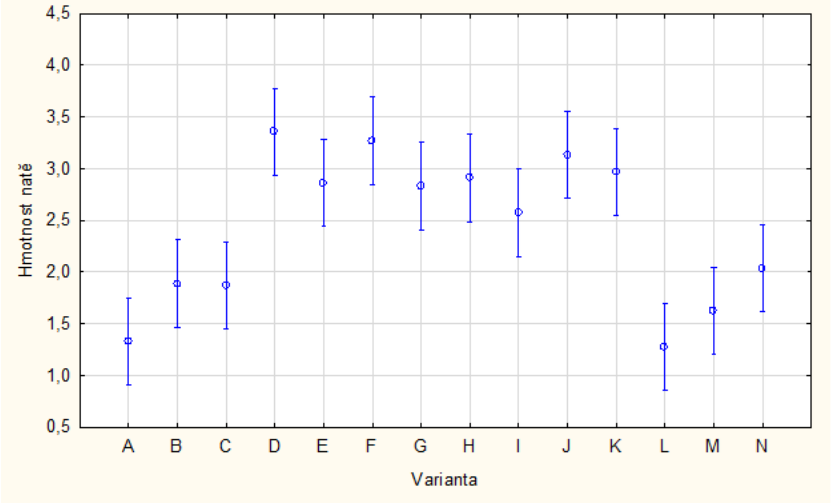
ošetření přípravkem Rootella). V parametru hmotnosti natě byly detekovány statisticky významnými rozdíly mezi kontrolními variantami a mezi variantami ošetřenými. V parametrech týkajících se kořenového systému k rozdílům nedošlo. Výsledky jsou zpracovány v Grafech 11-14, kde označení pokusných variant je následující:

A	neošetřená kontrola
B	kontrola přikrytá fólií
C	kontrola přikrytá fólií
D	30 g EDN/m²
E	30 g EDN/m²
F	50 g EDN/m²
G	50 g EDN/m²
H	50 g EDN/m² + Rootella
I	50 g EDN/m² + Rootella
J	30 g EDN/m² + Rootella
K	30 g EDN/m² + Rootella
L	kontrola přikrytá fólií + Rootella
M	kontrola přikrytá fólií + Rootella
N	kontrola pouze ošetřená Rootellou

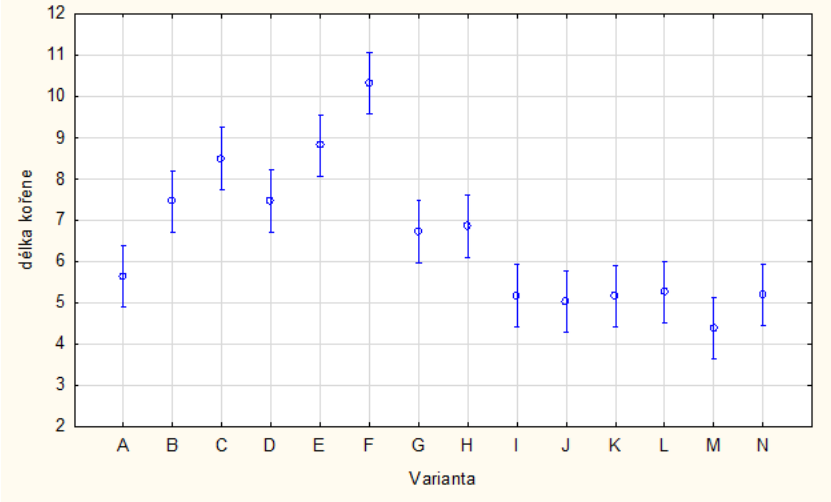
Graf 11. Vyhodnocení vlivu EDN na hmotnost kořene mrkve (g). Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti.



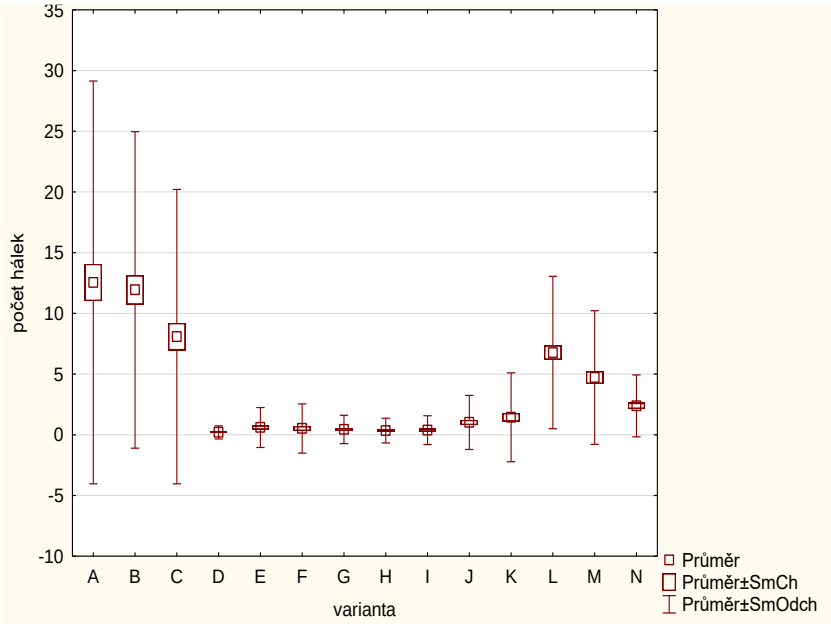
Graf 12. Vyhodnocení vlivu EDN na hmotnost natě mrkve (g). Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti.



Graf 13. Vyhodnocení vlivu EDN na délku kořene mrkve (cm). Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti.



Graf 14. Vyhodnocení vlivu EDN na počet hálek na kořenech mrkve.



V jednotlivých variantách se neprojevilo žádné fytotoxické působení, které by bylo způsobené aplikací EDN.

Byly také provedeny rozbory konzumní části mrkve vypěstované na pozemku po aplikaci EDN a oproti neošetřené kontrole je ve všech variantách vyšší množství celkového dusíku, fosforu, draslíku, vlákniny a sacharózy. Konkrétní hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 9.

Tabulka 9. Kvalitativní parametry konzumní části mrkve vyjádřené ve 100 % sušiny vzorku kořene.

	Varianta		
Sledovaný parametr	Neošetřená kontrola	30 g/m^2	50 g/m^2
N – celkový	1,30 % ± 2 %	1,60 % ± 2 %	1,53 % ± 2 %
P	0,28 % ± 5 %	0,30 % ± 5 %	0,35 % ± 5 %
K	2,60 % ±	2,80 % ±	2,80 % ±
Vláknina	8,5 % ±	9,3 % ±	8,600 % ±
Sacharóza	45,70 % ±	51,80 % ±	50,1 % ±

6.5. Propojení dat účinnosti na tesaříka krovového a háďátko borovicové a penetrace do dřeva

Samotná rychlost průniku fumigantu do dřeva není jasně vypovídající hodnotou, proto jsou výsledky interpretovány pomocí porovnání dosaženého Ct produktu uvnitř špalků a Ct produktu potřebného pro dosažení 100% mortality cílových škůdců. V testech bylo použito celkem 15 dřevěných bloků pro každou iniciální dávku fumigantu. Průměrná vlhkost špalků je uvedena v Tabulce 10.

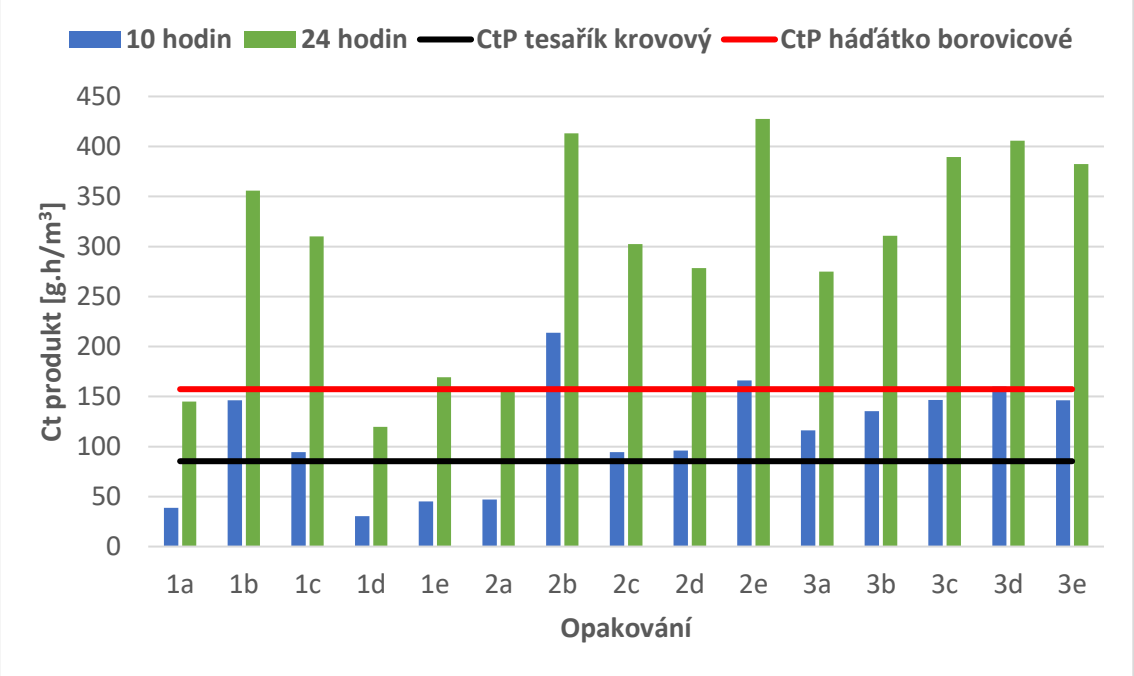
Tabulka 10. Průměrná vlhkost dřevěných špalků

Dřevo	Koncentrace EDN	Průměrná vlhkost dřeva
Borovice	25 g/m^3	17,41 %
	50 g/m^3	13,40 %
Smrk	25 g/m^3	13,83 %
	50 g/m^3	10,02 %
Javor	25 g/m^3	11,97 %
	50 g/m^3	21,49 %

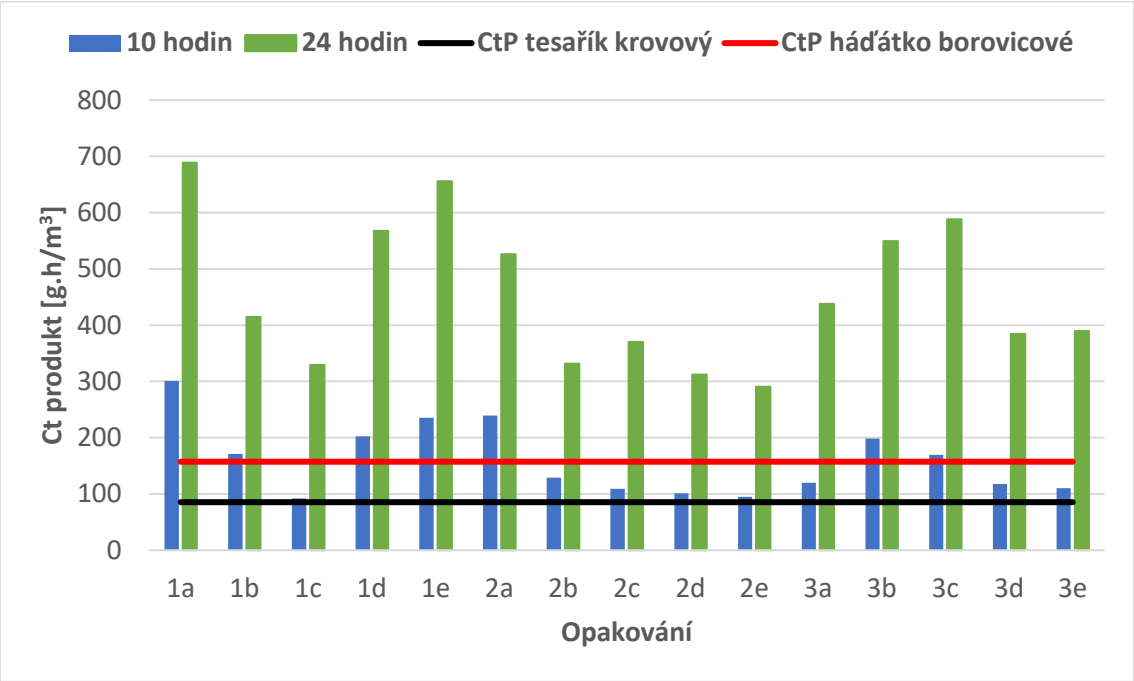
Borovice lesní

Průměrný Ct produkt dosažený po 10hodinové expozici při iniciální dávce EDN 25 g/m^3 byl 111,77 ± 14,03 g.hod/m^3 (30,42 – 213,90) a při iniciální dávce EDN 50 g/m^3 byl 159,39 ± 16,49 g.hod/m^3 (92,13 – 300,60). Po 24hodinové expozici byly zjištěny Ct produkty při iniciální dávce EDN 25 g/m^3 byl 296,11 ± 27,03 g.hod/m^3 (119,60 – 427,49) a při iniciální dávce EDN 50 g/m^3 byl 455,80 ± 33,54 g.hod/m^3 (290,40 – 688,73). Dosažené Ct produkty pro iniciální dávku 25 g/m^3 jsou znázorněny v Grafu 15 a pro iniciální dávku 50 g/m^3 jsou v Grafu 16.

Graf 15. Dosažené Ct-Produkty u borovice lesní (*Pinus sylvestris*) v 10 a 24hodinové expozici při iniciální dávce EDN 25 g/m^3



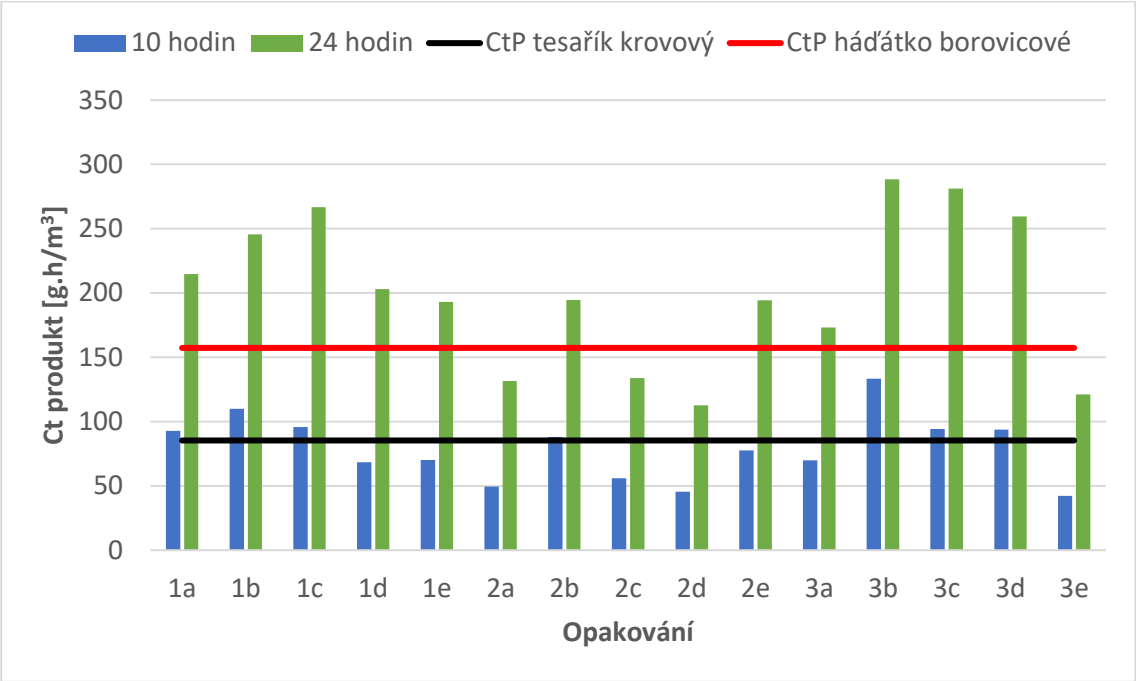
Graf 16. Dosažené Ct-Produkty u borovice lesní (*Pinus sylvestris*) v 10 a 24hodinové expozici při iniciální dávce EDN 50 g/m^3



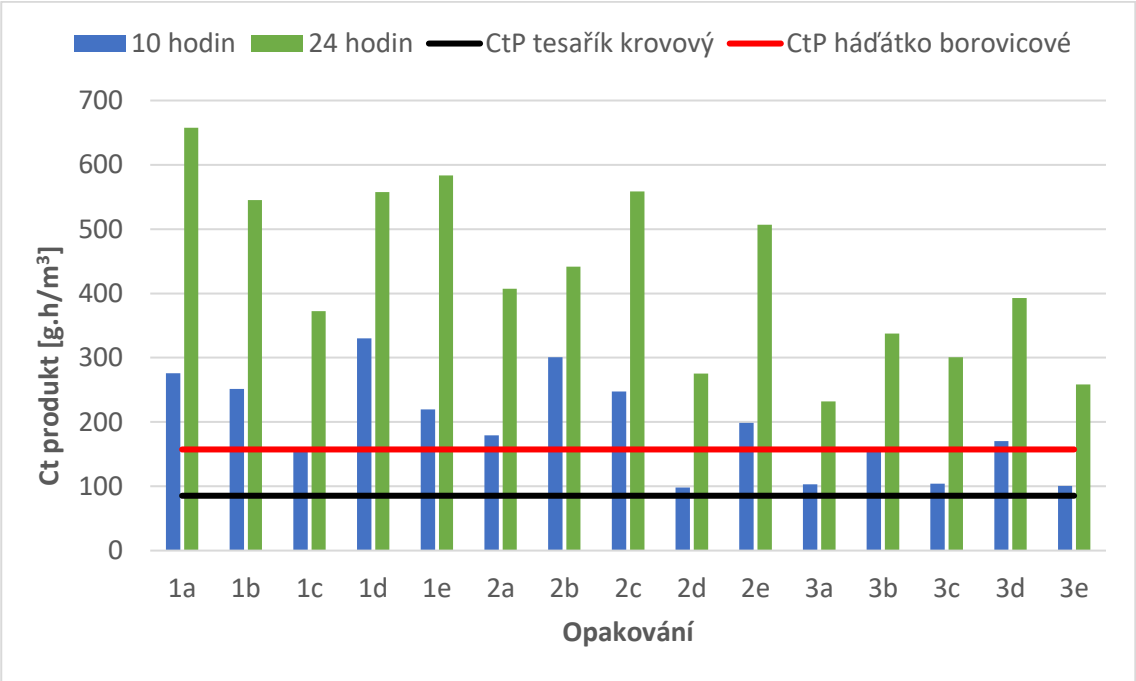
Smrk ztepilý

V testech bylo použito celkem 15 dřevěných bloků pro každou iniciální dávku fumigantu. Průměrný Ct produkt dosažený po 10hodinové expozici při iniciální dávce EDN 25 g/m^3 byl 79,18 ± 6,57 g.hod/m^3 (42,26 – 133,35) a při iniciální dávce EDN 50 g/m^3 byl 193,26 ± 19,62 g.hod/m^3 (98,36 – 329,91). Po 24hodinové expozici byly zjištěny Ct produkty při iniciální dávce EDN 25 g/m^3 byl 200,90 ± 15,18 g.hod/m^3 (112,68 – 288,31) a při iniciální dávce EDN 50 g/m^3 byl 428,54 ± 34,52 g.hod/m^3 (231,94 – 657,49). Dosažené Ct produkty pro iniciální dávku 25 g/m^3 jsou znázorněny v Grafu 17 a pro iniciální dávku 50 g/m^3 jsou v Grafu 18.

Graf 17. Dosažené Ct-Produkty u smrku ztepilého (*Picea abies*) v 10 a 24hodinové expozici při iniciální dávce EDN 25 g/m^3



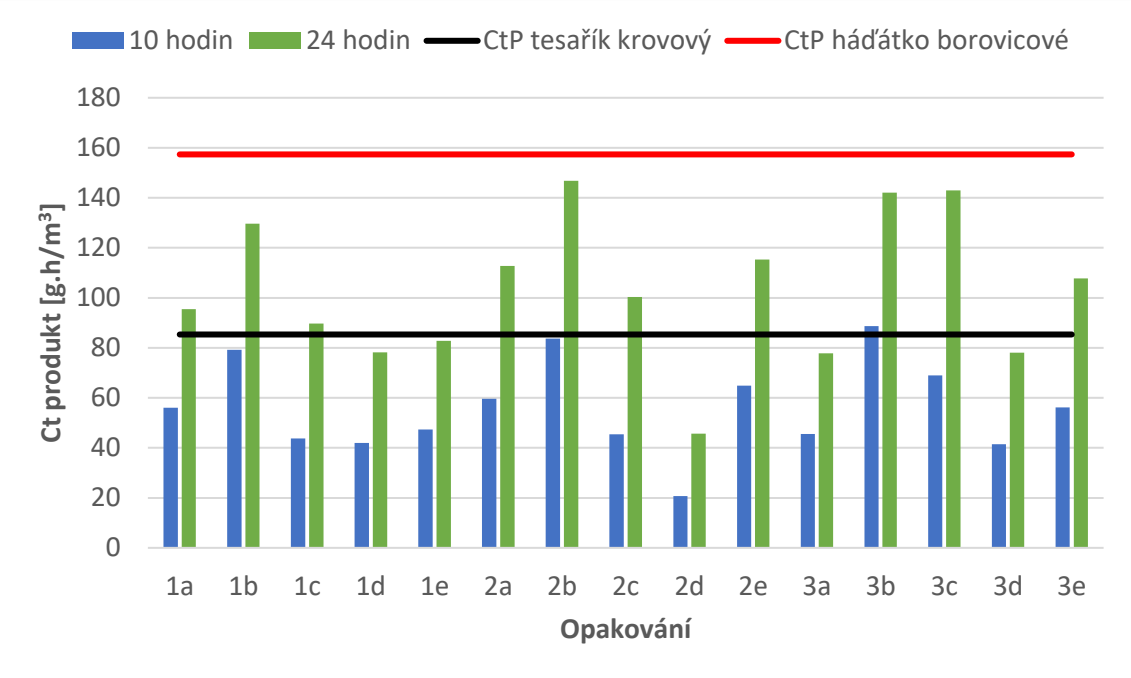
Graf 18. Dosažené Ct-Produkty u smrku ztepilého (*Picea abies*) v 10 a 24hodinové expozici při iniciální dávce EDN 50 g/m^3



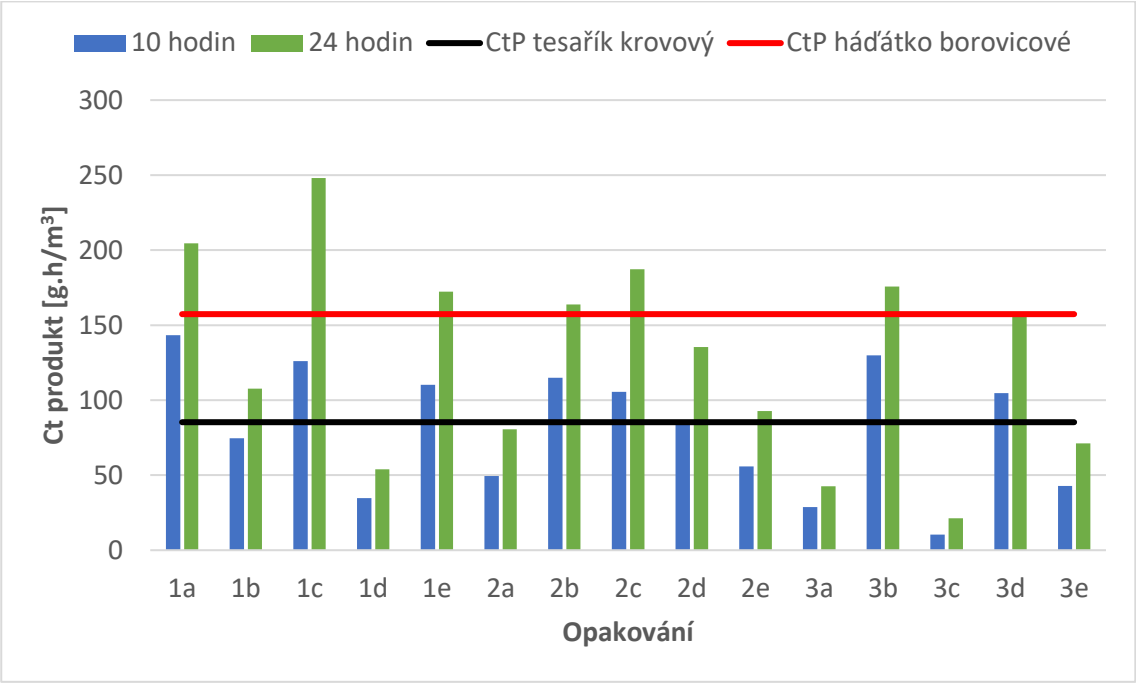
Javor mléč

V testech bylo použito celkem 15 dřevěných bloků pro každou iniciální dávku fumigantu. Průměrný Ct produkt dosažený po 10hodinové expozici při iniciální dávce EDN 25 g/m^3 byl 54,55 ± 4,72 g.hod/m^3 (20,77 – 88,66) a při iniciální dávce EDN 50 g/m^3 byl 81,14 ± 10,79 g.hod/m^3 (10,47 – 143,26). Po 24hodinové expozici byly zjištěny Ct produkty při iniciální dávce EDN 25 g/m^3 byl 103,04 ± 7,51 g.hod/m^3 (45,70 – 146,81) a při iniciální dávce EDN 50 g/m^3 byl 127,72 ± 17,12 g.hod/m^3 (21,36 – 247,98). Dosažené Ct produkty pro iniciální dávku 25 g/m^3 jsou znázorněny v Grafu 19 a pro iniciální dávku 50 g/m^3 jsou v Grafu 20.

Graf 19. Dosažené Ct-Produkty u javoru mléč (*Acer platanoides*) v 10 a 24hodinové expozici při iniciální dávce EDN 25 g/m^3



Graf 20. Dosažené Ct-Produkty u javoru mléč (*Acer platanoides*) v 10 a 24hodinové expozici při iniciální dávce EDN 50 g/m^3



6.6. Rezidua v komoditách

Rýže

Při fumigacích EDN, kde byla použita nejvyšší koncentrace 50 g/m^3, byla rezidua stanovena v průměru 7,6 ppm ihned po ukončení fumigace. Pro koncentraci 30 g/m^3 EDN byla průměrná rezidua 8,2 ppm ihned po ukončení fumigace a pro nízké koncentrace EDN, 10 g/m^3, byla rezidua 3,2 ppm ihned po ukončení fumigace.

Po fumigaci HCN, kde byla použita nejvyšší koncentrace 32 g/m^3, byla naměřena rezidua po 24 hodinách odvětrávání v průměru 14,6 ppm, po 48 hodinách odvětrávání byla rezidua 10,1 ppm. Pro koncentraci 20 g/m^3 HCN byla rezidua 7,7 ppm po 24 hodinách odvětrávání. Pro nejnižší koncentraci HCN byla rezidua 7,3 ppm ihned po ukončení fumigace, po 24 hodinách odvětrávání byla rezidua 3,5 ppm. Konkrétní hodnoty pro EDN jsou uvedeny v Tabulce 11 a pro HCN v Tabulce 12.

Tabulka 11. Rezidua CN^- po fumigaci EDN v rýži

Specifika fumigace		**Množství reziduí/doba odvětrávání**	
Varianta	**Koncentrace EDN [g/m^3]**	**0 h**	**24 h**
a1	50	7,6 ppm	5,8 ppm
a2	50	7,4 ppm	5,8 ppm
a3	50	7,8 ppm	5,1 ppm
b1	30	7,9 ppm	4,7 ppm
b2	30	8,6 ppm	4,0 ppm
b3	30	8,1 ppm	4,3 ppm
c1	10	3,2 ppm	-
c2	10	3,1 ppm	-
c3	10	3,2 ppm	-

Tabulka 12. Rezidua CN^- po fumigaci HCN v rýži

Specifika fumigace		**Množství reziduí/doba odvětrávání**		
Varianta	**Koncentrace HCN [g/m^3]**	**0 h**	**24 h**	**48 h**
a1	32	-	15,1 ppm	10,4 ppm
a2	32	-	13,9 ppm	10,3 ppm
a3	32	-	14,9 ppm	9,6 ppm
b1	20	-	8,1 ppm	4,5 ppm
b2	20	-	7,9 ppm	5,6 ppm
b3	20	-	7,0 ppm	4,2 ppm
c1	10	8,0 ppm	3,7 ppm	-
c2	10	6,5 ppm	3,4 ppm	-
c3	10	7,3 ppm	3,4 ppm	-

Pšenice

Při fumigacích EDN, kde byla použita nejvyšší koncentrace, 50 g/m^3, byla rezidua stanovena v průměru 12,7 ppm po 24hodinovém odvětrávání. Pro koncentraci 30 g/m^3 EDN byla rezidua 8,8 ppm, po 24hodinovém odvětrání. Pro nejnižší koncentraci EDN, 10 g/m^3, byly rezidua 8,7 ppm ihned po ukončení fumigace.

Po fumigaci HCN, kde byla použita nejvyšší koncentrace, 30 g/m^3, byla naměřena rezidua v průměru 11,9 ppm po 24hodinovém odvětrávání, po 48 hodinách odvětrávání byla rezidua 8,5 ppm. Pro koncentraci 20 g/m^3 HCN byla průměrná rezidua 8,1 ppm po 24 hodinách odvětrávání. Pro nejnižší koncentraci HCN, 10 g/m^3, byla rezidua 8,3 ppm ihned po ukončení fumigace, po 24 hodinách odvětrávání byly rezidua 3,9 ppm. Konkrétní hodnoty pro EDN jsou uvedeny v Tabulce 13 a pro HCN v Tabulce 14.

Tabulka 13. Rezidua CN^- po fumigaci EDN v pšenici

Specifika fumigace		**Množství reziduí/doba odvětrávání**		
Varianta	**Koncentrace EDN [g/m^3]**	**0 h**	**24 h**	**48 h**
a1	50	-	11,3 ppm	10,5 ppm
a2	50	-	12,1 ppm	9,7 ppm
a3	50	-	14,9 ppm	9,6 ppm
b1	30	-	10,9 ppm	9,4 ppm
b2	30	-	7,9 ppm	5,6 ppm
b3	30	-	7,6 ppm	-
c1	10	8,0 ppm	3,7 ppm	-
c2	10	10,8 ppm	7,4 ppm	-
c3	10	7,3 ppm	3,4 ppm	-

Tabulka 14. Rezidua CN^- po fumigaci HCN v pšenici

Specifika fumigace		**Množství reziduí/doba odvětrávání**		
Varianta	**Koncentrace HCN [g/m^3]**	**0 h**	**24 h**	**48 h**
a1	32	-	9,6 ppm	7,0 ppm
a2	32	-	11,2 ppm	8,9 ppm
a3	32	-	14,9 ppm	9,6 ppm
b1	20	-	7,0 ppm	6,8 ppm
b2	20	-	7,9 ppm	5,6 ppm
b3	20	19,2 ppm	9,4 ppm	-
c1	10	8,0 ppm	3,7 ppm	-
c2	10	9,6 ppm	4,5 ppm	-
c3	10	7,3 ppm	3,4 ppm	-

7. Diskuse

7.1. Lýkožrout smrkový

7.1.1. Vliv způsobu zabalení hráně

Provedený výzkum zcela jasně prokázal vliv způsobu zatěsnění hráně na kvalitu fumigace, respektive na dosažené Ct produkty, při aplikaci stanovené dávky 50 g EDN/m^3, během ošetření kůrovcového dřeva. Absence podkladní plachty měla negativní vliv na průběh koncentrace EDN v čase. Způsobený pokles koncentrace je jasně viditelný v grafech 1 a 2. Jak již bylo zmíněno, tak k určitému poklesu koncentrace fumigantu během fumigací za reálných podmínek dochází vždy (Monro 1969; Agrafioti et al. 2020). Způsobuje to chemická povaha fumigantu, povětrnostní podmínky, délka fumigace, loading faktor (Wu et al. 2020; Stejskal et al. 2021), ale jedním z hlavních faktorů, který ovlivňuje pokles koncentrace je kvalita provedeného zatěsnění (Monro 1969; Ren et al. 2011; Hall et al. 2015; Hall et al. 2017). Úroveň zatěsnění ošetřovaného prostoru (například fumigačních komor (Monro 1969), prostor pod plachtou (Rajendran 2004), nebo přepravních kontejnerů (Stejskal et al. 2020)) patří k nejdůležitějším faktorům, který ovlivňuje množství ztrát fumigantů do okolního prostředí (Someren Graven 2004). K poklesu fumigantu dochází však také v případě pomyslného „dokonalého“ zatěsnění bez úniků. Je to způsobeno sorpcí fumigantu na aktivní povrch dřeva nebo plachet (Ren et al. 2011; Hall et al. 2015). Ren et al. (2011), během jejich výzkumu prokázali, že 63 % aplikovaného EDN bylo absorbováno do dřevěných bloků.

Získaná data týkající se dynamiky koncentrace EDN není možné přímo porovnat s existujícími publikovanými pracemi. Částečně lze pro porovnání použít práci Najar-Rodriguez et al. (2020), kde byly provedeny fumigace hrání dřeva pod plachtou (*Pinus radia* (D. Don)), které byly umístěné na nepropustném asfaltovém povrchu. Mezi dynamikou poklesu koncentrace EDN v provedených pokusech a v práci Najar-Rodriguez et al. (2020), jsou porovnatelné rozdíly, i přes částečně odlišné parametry fumigací (délka expozice, použitá dávka). V práci Najar-Rodriguez et al. (2020), byl například poměrně konzistentní poměr mezi iniciální dávkou a konečnou koncentrací těsně před odvětráváním. Ve všech devíti pokusech bylo na konci fumigace méně než 1 % iniciální dávky. V námi provedených testech to bylo 16 % a 10 % v případě použití podkladní plachty. Rozdíl je s největší pravděpodobností způsoben kratší expoziční dobou v našem případě. Konečné koncentrace z práce Najar-Rodriguez et al. (2020) se podobají spíše datům z fumigací bez podkladní plachty, kde bylo dosaženo 0,8 a 2,2 % iniciální dávky. Je možné porovnat také iniciální koncentraci

a dosaženou koncentraci. V práci Najar-Rodriguez et al. (2020) bylo dosažena koncentrace, která odpovídala 124 % aplikované dávky. V našem případě to bylo 94,4 % v pokusech s podkladní plachtou a 46,9 % bez podkladní plachty. To naznačuje, že vliv nezakryté půdy ovlivňuje koncentraci značným způsobem hned od začátku fumigace.

Průměrný dosažený Ct produkt v případě testů za identických podmínek (validačních testů) byl 4,8 x nižší a v případě různých podmínek (iniciálních testů) byl 3,7 x nižší bez podkladní plachty než v testech s podkladní plachtou. Fumigace bez podkladní plachty tedy způsobí značné ztráty fumigantu, což může vést k nízké účinnosti fumigace (Najar-Rodriguez et al. 2020; Aulicky et al. 2019).

Ct produkty v práci Najar-Rodriguez et al. (2020) byly 515 až 818 g.h/m^3, což je přibližně 2,6 – 17,7x více než v našem případě (46–169 g.h/m^3). Důvodem takového rozdílu je rozdílná doba fumigace, v našem případě to bylo 10 hodin a v porovnávané práci to bylo 16, 20 a 24 hodin. Také iniciální dávka byla vyšší (80, 100 a 120 g/m^3) oproti 50 g/m^3. Dalším důvodem je také jiné ošetřované dřevo (borovice vs. smrk). Variabilita dosažených Ct produktů je však v práci Najar-Rodriguez et al. (2020) vyšší než v našich testech se stejným způsobem zatěsnění. Například při použití nejvyšší dávky (120 g/m^3) a expozičního času 16 hodin, bylo dosaženo nejnižšího Ct produktu 515 g.h/m^3. Zatímco nejvyššího Ct produktu bylo dosaženo při dávce 100 g/m^3 a expozičním čase 20 hodin. To mimo jiné naznačuje, že dynamika koncentrací fumigantů v průběhu ošetření je velmi ovlivněna dalšími faktory prostředí (Wu et al. 2020). Také teplota (Stejskal et al. 2019) a rychlost větru může fumigaci značně ovlivnit (Maier et al. 2010; Plumier et al. 2018).

Pro ověření vlivu zmíněných faktoru bude nutné provést další terénní testy.

7.1.2. Testy účinnosti EDN

Existuje přibližně 35 vědeckých prací, kde bylo EDN identifikováno jako možná alternativa k methylbromidu (viz část diskuse tesařík krovový). Avšak účinnost přímo na lýkožrouta smrkového v dostupných vědeckých publikacích doposud stanovena nebyla.

Z neošetřených kontrolních vzorků dřeva se vylíhlo celkem 17 630 ks jedinců 5 druhů škůdců z řádu brouci: 13.069 ks lýkožrouta smrkového; 3 543 ks lýkožrouta lesklého; 901 ks kůrovce pařezového; 24 ks lýkohuba matného a 93 ks tesaříka šedohnědého. V ošetřených vzorcích dřeva se nevylíhli žádní škůdci po celou dobu kontroly. Na základě těchto výsledků

můžeme konstatovat, že v provedeném experimentu byla dosažena 100% účinnost na lýkožrouta smrkového, respektive i na další sledované škůdce.

Vzhledem k aktuální potřebě ošetřovat velká množství dřeva najednou, nebudeme pro porovnání účinnosti jednotlivých metod posuzovat odkorňování, které sice dosahuje také až 100% účinnosti, avšak pracnost této metody omezuje její použití jen na malá množství dřeva (Stejskal et al. 2017). Podobně účinné jsou také metody založené na fyzikálním principu, jako například ošetření pomocí tepla nebo mikrovlnného záření. Takové ošetření však vyžaduje transport dřeva do specializovaných zařízení (Stejskal et al., 2021).

Použitelnou metodou je chemická asanace postřikem, která je u skládek dřeva možná, i když nedosahuje plné účinnosti jako v případě asanace jednotlivých kmenů. Postřik do nitra skládky neproniká a brouci tak mohou zdárně dokončit svůj vývoj (Zahradníková & Zahradník 2015). Na základě dosažené koncentrace EDN a jejího monitoringu ve třech rozdílných bodech v hráni (v horní části skládky byl dosažen Ct-produkt 186,04 g.hod/m^3, ve střední části skládky byl dosažen Ct produkt 168,24 g.hod/m^3 a v dolní části skládky byl dosažen Ct produkt 154,99 g.hod/m^3) je možné tvrdit, že EDN proniká do celého profilu hráně a působí tedy i v místech, kde ošetření postřikem není možné.

Zahradník & Zahradníková (2018) uvádějí, že v případě asanace kůrovcového dříví postřikem se uplatňuje požerový účinek insekticidu, tzn., že rojící se brouk se kontaminuje při prokousávání výletového otvoru. Současně povolené insekticidy nemají penetrační účinek, což znamená, že nepronikají pod kůru. Z toho také vyplývá, že jestliže rojící se brouk použije starší výletový otvor jiného dospělce, nedojde k jeho kontaminaci a přežívá. Takto může přežít až třetina brouků. EDN rychle penetruje celým profilem dřeva (Ren et al. 2011) a kůra nijak významně neovlivňuje jeho sorpci (Hall et al. 2015). Chemickou asanaci pomocí postřiku je doporučeno provádět nejpozději ve stádiu kukel. Termín asanace ovlivňuje i rychlost účinku insekticidu na rojící se brouky. Je-li provedena těsně před výletem, je účinek velmi rychlý, téměř okamžitý. S narůstajícím časem mezi ošetřením a vyrojením se rychlost účinku insekticidu zpomaluje (Zahradník & Zahradníková 2018). Vzhledem k akutnímu působení EDN na dřevokazný hmyz (Pranamornkith et al. 2014) je možné EDN používat na všechna stádia lýkožrouta smrkového a teoreticky tedy v jakémkoliv termínu.

V práci Najar-Rodriguez (2020) byla posuzována účinnost proti jinému druhu podkorního škůdce (*Hylastes ater* (Paykull)). Provedeno bylo 9 terénních fumigací, které jsou popsány výše. Dosažené Ct produkty se pohybovaly v rozmezí 515 až 818 g.h/m^3 a během

experimentu bylo ve všech případech dosaženo 100% mortality všech stádií škůdce. V práci dále uvádějí, že jejich doporučení pro fytosanitární ošetření pomocí 100 g EDN/m^3 po dobu 20 hodin je zvoleno s jistou rezervou a bylo by tedy vhodné provést doplňující výzkum s nižšími dávkami EDN, které by stále mohly vykazovat 100% účinnost.

Zahradník (2014) uvádí, že v případě, že jsou obranné reakce smrku překonány, může teoreticky pro vlastní zahubení smrku postačovat i pouhých několik desítek až stovek úspěšně založených požerků, koncentrovaných do místa, kde došlo k úspěšnému ataku samci a následné produkci agregačních feromonů, které přilákaly další samce a následně i samice. Během provedeného testu byl průměrný počet nalezených jedinců lýkožrouta smrkového v jednom dílčím neošetřeném vzorku o délce 1 m 544,5 ks. To znamená, že z pouhého jednoho metru kmene, pokud nebude účinně ošetřen, může vylétnout dostatek kůrovců, kteří jsou schopni zahubit další zdravý strom.

Z uvedeného vyplývá, použití přípravku EDN je vhodné pro ošetření většího množství dřeva najednou, pro které je nyní nedostatek účinných alternativ.

7.2. Tesařík krovový

Na základě provedených testů byly vypočítány Ct produkty potřebné pro dosažení 100% mortality larev tesaříka krovového. Pro iniciální dávku 25 g/m^3 byl vypočítán průměrný Ct produkt 85,33 g.hod/m^3 a pro iniciální dávku 50 g/m^3 byl 105,62 g.hod/m^3. V prvním expozičním čase (1 hodina) docházelo již ke značné mortalitě. V druhém expozičním čase (3 hodiny) bylo dosaženo mortality 100 %, Ct produkt byl tedy vypočítán z hodnot naměřených pro expoziční čas 3 hodiny, avšak reálný Ct produkt bude pravděpodobně nižší, protože ke 100% mortalitě mohlo dojít již například po 2 hodinách.

Účinnost EDN přímo na tesaříka krovového prozatím nebyla nikde publikována, můžeme však porovnat účinnostní testy, které byly prováděny na jiných druzích tesaříků. Například Park et al. (2012) stanovili Ct produkt potřebný pro dosažení 99% mortality larev tesaříka *Monochamus alternatus* (Hope) při nízkých teplotách, který byl 329.4 g.h/m^3. Na základě dalšího výzkumu Park et al. (2014) uvádějí, že pro dosažení 100% mortality *Monochamus alternatus* v borovém dřevu je vhodné použít dávku 97 g EDN/m^3. Kdy toto bylo ověřeno opět za nízkých teplot, a to již od -7 °C.

Lee et al. (2016) dosáhli 100% účinnosti na larvy *Monochamus alternatus* během 3 terénních fumigací, kdy bylo dosaženo Ct produktu v rozmezí 398,6 – 595,9 g.h/m^3 při

teplotách od 3–23 °C a loading faktoru 30–46 %. Mezi lety 2013-2015 provedli Lee et al. (2017) rozsáhlý výzkum, během kterého provedli 24 různých fumigací s cílem zjistit účinnost EDN na larvy *Monochamus alternatus*. Fumigace dřeva probíhaly jak pod plachtou, tak v kontejnerech za různých podmínek: vlhkost dřeva 24,1 – 43,5 %, loading faktor 5–40 %, teplota 10,5-17,3 °C. Použita byla dávka 40–100 g/m^3 EDN. Při dosažení Ct produktu 194,9 g.h/m^3 nastávala 100% mortalita larev *Monochamus alternatus*. Na základě těchto výsledků Lee et al. (2017) označují EDN jako fumigant účinný i v polních podmínkách a uvádí, že EDN může být alternativou k přípravku Metam sodium (MS) pro ošetřování dřeva, a to v širokém rozmezí teplot. Park et al. (2014) rovněž uvádějí že EDN nabízí možnost účinnější kontroly *Monochamus alternatus* než používané Metam sodium, kdy bylo dosahováno 100% účinnosti s dávkou 1162 g MS/m^3. Účinnost EDN na další dřevokazné škůdce *Anoplophora glabripennis* (Motschulsky)*, Monochamus alternatus, Reticulitermes speratus* (Kolbe)*, Tomicus piniperda, Hyphantria cunea* (Drury) popisuje Park (2012). Fumigační plán pro tesaříka *Arhopalus ferus* (Mulsant) byl nastaven v práci Najar-Rodriguez et al. (2015) a Pranamornkith et al. (2014). Barak et al. (2005) zmiňují, že EDN vykazuje vyšší účinnost proti rodu *Monochamus* a *Anoplophora* než methylbromid, který při teplotě 4,4 °C a expozici 24 hodin pro dosažení 99% účinnosti potřebuje Ct produkt 1196 g.h/m^3.Na základě provedených laboratorních testů a dostupných dat na podobné škůdce je prokazatelné, že EDN má vysoký potenciál v ošetřování dřeva nejen proti podkornímu hmyzu, ale také proti hmyzu, který žije hlouběji ve dřevě. Účinnost je srovnatelná a mnohdy lepší než u používaných fumigantů, nebo u omezovaného methylbromidu.

7.3. Háďátko borovicové

V publikacích, které jsou uvedené v předchozí části diskuse (7.2.) byla účinnost často posuzována také pro háďátko borovicové, jelikož většina uvedených tesaříků představuje vektor pro přenos tohoto háďátka a vyskytují se na stejných místech.

V provedených testech byla pro obě iniciální dávky zjištěna 100% mortalita háďátek již v expozici po 6 hodinách. Na základě zjištěných údajů byly vypočítány Ct produkty pro obě iniciální dávky. Pro iniciální dávku 25 g/m^3 byl vypočítán průměrný Ct produkt 157,34 g.hod/m^3 a pro iniciální dávku 50 g/m^3 byl 311,57 g.hod/m^3.

Park et al. (2012) dosáhli při několika terénních testech 100% mortality háďátka borovicového při dosažení Ct produktu 231 g.h/m^3, avšak již při Ct produktu 152,5 g.h/m^3

dosahoval 99,99% mortality přičemž teplota během testů byla pouze 5 °C a Park et al. (2012) uvádějí, že se jednalo o dřevo s velmi vysokou vlhkostí, kdy bývá zpravidla účinnost nižší. Tyto hodnoty z polních testů jsou velmi podobné, hodnotám naměřeným během našich laboratorních experimentů. Bonifácio et al. (2014) uvádějí, že účinnost dalšího možného fumigantu, sulfurylfluodiru, je dostatečná pouze při použití na dřevo s nízkou vlhkostí a při dávkách nad 100 g/m^3 a expozičních časech delších než 24 hodin. Někteří jedinci dokonce dokázali přežít ošetření dávkou 168,5 g/m^3 po dobu 24 hodin (Dwinel et al. 2005). Pro methylbromid je potřebná dávka pro dosažení 100% účinnosti 112 g/m^3, a to pouze pro suché dřevo (Soma et al. 2006).

Během fumigací, které provedli Park et al. (2014), bylo prokázáno že účinnost EDN nebyla ovlivněna velikostí ošetřovaných klád a že EDN má dobrou schopnost penetrovat i do vlhkého dřeva. Účinnosti nad 95 % bylo dosaženo při dávce 97 g EDN/m^3. Lee et al. (2016) dosáhli 100% účinnosti na háďátko borovicové během 3 terénních fumigací, kdy bylo dosaženo Ct produktu v rozmezí 398,6–595,9 g.h/m^3 při teplotách od 3 °C do 23 °C a loading faktoru 30-46 %. Zmiňují, že účinnost je vyšší při nízké vlhkosti dřeva (L(Ct)99: 31 g.h/m^3) než při vysoké vlhkosti (L(Ct)99: 430 g.h/m^3). Ve zcela aktuální studii posuzují Uzunovic et al. (2021) účinnost EDN na háďátko borovicové a 4 houbové patogeny z rodů *Heterobasidion*, *Geosmithia*, *Phytophthora* a *Ceratocystis*. Byly provedeny jak laboratorní testy s cílovými organismy v malých dřevěných špalíkách, tak testy s velkými špalky. V malých špalíkách bylo EDN účinné již při expozici 1 hodiny a dávce 50 g EDN/m^3. Ve velkých špalkách přežívali jedinci, kteří byli hlouběji ve dřevu při expozici 1, 3 a 6 hodin, při expozici 24 hodin a dávce 50 g/m^3 již byla účinnost 100 %. To naznačuje, že je nutné brát v úvahu dobu potřebnou pro dostatečnou penetraci EDN do dřeva. Ostatní patogeny byli účinně hubeny již při expozici 6 hodin a dávce 50 g/m^3, což potvrzuje také významné fungicidní působení přípravku EDN.

7.4. Háďátko severní

Je nutné mít na paměti, že v případě fumigací půdy se nejedná o ošetření cílené proti jednomu druhu cílového škůdce, ale zasahuje všechny přítomné organismy. Proto je k fumigaci vhodné přistoupit tehdy, kdy nelze využít jiné druhy ošetření nebo agrotechnických opatření, například pro eradikaci karanténních organismů. Ve světě se fumigace půdy používá nejvíce na plochách, kde probíhá vysoce intenzivní pěstování plodin s vysokou přidanou hodnotou, kde také zároveň probíhá pravidelné doplňování živin pomocí organických a minerálních hnojiv. V dostupných publikacích je většinou účinnost fumigace půdy posuzována na základě širokého spektra cílových organismů.

Získaná data z laboratorních fumigací jasně prokazují vysokou účinnost ošetření EDN na mortalitu háďátka *Meloidogyne hapla* při koncentraci 12 g/m^3 a vyšší. Během polních testů pak byla hmotnost kořene a další kvalitativní parametry významně vyšší, a to v případě obou dávek EDN (30 a 50 g EDN/m^2). Z výsledků je dobře patrná jak účinnost EDN na snížení škod způsobených háďátky, tak na následku podporu růstu.

Nematocidní účinky EDN na háďátka v půdě ověřovali Wateford et al. (2006), v laboratorních testech, při kterých byla ověřována účinnost EDN na háďátko *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ve fumigační komoře, která byla ze 30 % naplněna půdou, byla 100% účinnost při 5 g/m^3 a expozici 5 hodin. Na základě dalších provedených laboratorních testů uvádějí, že EDN proniká půdou rychleji než methylbromid. Ve skleníkových pokusech trvalo rovnoměrné prostoupení půdou ve vrstvě 25 cm méně než 5 minut po aplikaci. Při těchto testech byla také hodnocena účinnost na plevelné druhy (např. *Orobanche* sp.). Při použití dávky 25 g/m^2 došlo k úspěšnému potlačení plevelů (účinnost byla podobná jako při použití 50 g/m^2 methylbromidu). Posuzováno bylo také možné negativní fytotoxické působení EDN na následné plodiny. Pouze při vysokých dávkách (100 g/m^3) došlo k dočasnému zpomalení růstu jahodníku, a to ještě v případě, že byl vysazován ihned po odstranění folie bez času ponechaného pro odvětrání půdy. Stevens et al. (2019) uvádějí, že díky vysoké tenzi par (těkavosti) je možné oproti současně používaným půdním fumigantům zkrátit interval mezi odstraněním folie a výsadbou na minimum, bez rizika fytotoxicity. Rovněž během námi provedených testů nebylo pozorováno žádné fytotoxické působení.

Vliv na výnos mrkve po ošetření půdy EDN zmiňují Ren et al. (2003), kteří uvádějí že oproti neošetřené kontrole došlo k 55% nárůstu výnosu a k 79% redukci patogenu *Pythium*

sulcatum (R.G. Pratt & J.E. Mitch). EDN má podobný vliv na výnos jahod jako kombinace methylbromidu a chlorpikrinu (Cal et al. 2004).

Účinnost na půdní patogeny testovali Waterford et al. (2006). V laboratorních podmínkách, kdy byl ošetřovaný prostor z 50 % zaplněn půdou docházelo při 24hodinové expozici k účinné eradikaci *Sclerotium rolfsi* (Sacc.), *Pythium sulcatum*, *Rhizoctonia solani* (E. Bald. & Cabrini), *Fusarium acuminatum* (Ellis & Everh), *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn), *Phytophthora cryptogea* (Pethybr. & Laff.), *Bipolaris soroikiniana* (Sacc.) Shoemaker, již při dávce 5–10 g/m^3. Lombardo et al. (2012) uvádějí, že například solarizace ve sklenících prokazuje lepší účinnost než fumigace pomocí přípravků s účinnou látkou chlorpikrin nebo 1,3-dichloropropen.

Zajímavým výsledkem získaným v rámci našeho výzkumu je stimulace růstu rostlin mrkve pozorovaná po ošetření půdy EDN. Vyšší hmotnost rostlin v těchto variantách je možné vysvětlit mimo jiné rozkladem EDN na látky, které jsou bohaté na dusík. Rozkladnými produkty se zabývali Ajwa et al. (2016). Uvádějí, že hlavními rozkladnými produkty jsou HCN a amoniak, které se dále rychle rozkládají na oxid uhličitý a nitráty. EDN se v půdě rozloží přibližně za dva týdny. Tato skutečnost může být při aplikaci EDN pro ochranu rostlin výhodou, protože amoniak je pro rostliny běžně používaným zdrojem dusíku; tento efekt bude předmětem dalšího výzkumu.

Zvolený design testů tedy koresponduje s těmito výsledky a dávka 50 g/m^2 a 4 dny odvětrávání po 10 dnech ošetření by měla být vhodná pro komerční využívání

7.5. Penetrace EDN do dřeva

Protože je EDN relativně nový fumigant, tak velká část studií, které dříve ve světě proběhly, nebyly v souladu se standardizovanými protokoly. Parametry testů se lišily například v zařízení, ve kterém fumigace probíhaly a v jejich objemech, v loading faktorech, vlhkostech dřeva atd. Proto se většina výsledků nedá jednoznačně porovnávat. Pronikání fumigantů do dřeva je velmi ovlivněno sorpcí a tím pádem poklesem koncentrace v ošetřovaném prostoru. Například při loading faktoru 11 % a 44 % je po 10 hodinách zbytková koncentrace z iniciální dávky 50 g/m^3 61 respektive 20 % (Pranamornkith et al. 2014). Čím je koncentrace okolo dřeva nižší, tím pomaleji do dřeva fumigant proniká. O sorpci je pojednáváno v první části diskuse, která se vztahuje k terénním testům.

Rychlostí penetrace fumigantů do dřeva se zabývali Ren et al. (2011). Během experimentů ve fumigační komoře obsahující borové bloky (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) měřili pokles fumigantů po jejich aplikaci až po dosažení rovnovážných hodnot uvnitř špalku a v okolí špalků. Pro methylbromid, sulfurylfluorid a EDN použil dávku 48 g/m^3, a pro fosforovodík dávku 1 g/m^3. V průběhu ošetření bylo absorbováno 70 % MB, 35 % SF, 63 % EDN a 25 % PH_3. Nejrychleji prostoupilo dřevěné bloky EDN a PH_3. Na základě těchto výsledků Ren et al. (2011) uvádějí, že pro ošetření dřeva je nejvhodnější EDN a PH_3. A tedy, že EDN má velký potenciál nahradit methylbromid při ošetřování dřeva. Ren et al. (2006) uvádějí, že EDN rychle prochází dřevem, kdy rychlost průniku není významně ovlivněna uspořádáním dřevních vláken ani vlhkostí dřeva. Také během fumigací, které provedli Park et al. (2014) bylo prokázáno že účinnost EDN nebyla ovlivněna velikostí ošetřovaných klád a že EDN má také dobrou schopnost penetrovat i do vlhkého dřeva.

Výše uvedené potvrzuje vhodnost EDN pro ošetřování dřeva. Na základě zjištěných výsledků můžeme porovnat Ct produkty dosažené u dřevěných bloků s průměrnou hodnotou Ct produktu potřebnou pro usmrcení 100 % jedinců háďátka borovicového a larev tesaříka krovového a odvodit následující:

Borovice

100% mortalita larev tesaříka by byla dosažena při iniciální dávce 50 g/m^3 v expozici 10 hodin a při iniciální dávce 25 g/m^3 v expozici 24 hodin. 100% mortalita háďátek by byla dosažena při iniciální dávce 50 g/m^3 a expozici 24 hodin.

Smrk

100% mortalita larev tesaříka by byla dosažena při iniciální dávce 50 g/m^3 v expozici 10 hodin a při iniciální dávce 25 g/m^3 v expozici 24 hodin. 100% mortalita háďátek by byla dosažena při iniciální dávce 50 g/m^3 a expozici 24.

Javor

100% mortalita larev tesaříka by byla dosažena při iniciální dávce 50 g/m^3 a expozici 24 hodin. U háďátek by byla při dávce 50 g/m^3 dosažena 100% mortalita pouze u 46,7 % dřevěných bloků. Javor mléč není hostitelem háďátka borovicového, může však být hostitelem tesaříků, kteří slouží háďátkům jako přenašeč.

7.6. Rezidua v komoditách

Ani jeden z testovaných přípravků není aktuálně v České republice pro fumigaci komodit povolen (HCN bylo využíváno v minulém století). Pro toto použití je mimo jiné nezbytné stanovit hodnoty reziduí. Maximální přípustné hodnoty pro jednotlivé komodity jsou stanoveny v Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 299/2008). Pro kyanovodík v obilovinách je to 15 ppm (15 mg/kg).

Existuje velmi málo publikovaných historických údajů týkající se světové spotřeby fumigantů pro ošetření obilí ve vztahu k HCN. Údaje většinou mají charakter obecného tvrzení. Např. Ren et al. (1996) ve své publikaci uvádějí, že HCN se dříve pro fumigace obilí používal, avšak dnes se již využívá málo.

Ramadan et al. (2019) provedli experiment, kdy fumigovali vzorky pšenice v 1,125 l nádobách pomocí přípravku EDN o koncentraci 4,8 g/m^3 a expozici 24 hodin. Po jednom týdnu odvětrávání naměřili limity reziduí mnohem nižší než limit povolený pro fosforovodík, který je 0,1 ppm. I když byla použita dávka nižší než v našich experimentech, výsledky naznačují rychlý pokles reziduí CN^-. Cílem námi provedených testů bylo stanovit rezidua po aplikaci dávky, která by mohla odpovídat budoucí komerční praxi.

Použité dávky fumigantů během testů vychází z dříve udávaných hodnot, kdy však rezidua nebyla tak přísně posuzována. Dávku 32 g HCN/m^3 uvádí Bond (1984). Dávku 20 g/m^3 uvádějí Horák et al. (1987). Pro EDN je to dávka, která je v některých výše zmíněných zemích registrována pro ošetření dřeva (50 g/m^3).

Dalším sledovaným kritériem při ošetřování semen je případný vliv fumigantů na jejich následnou klíčivost. Protože například tepelné ošetření při delších expozicích může vést ke snížení klíčivosti; navíc jsou některé variety pšenice náchylnější k poškození teplem než jiné (Ghaly & Van Der Touw 1982). Horák (1959) uvádí, že HCN nesnižuje ani nezvyšuje klíčení ošetřovaných semen. U EDN je pro dosažení devitalizačních účinků na obilí uváděna dávka 115 g/m^3 a expozice 5 dní, nebo dosažení Ct produktu 13800 g.h/m^3 (Ryan et al. 2006).

O tom že například HCN má vysoký potenciál pro ošetřování obilí pojednává Banks (2012). Zmiňuje globální problémy s velmi odolným rušníkem obilním, karanténním škůdcem v mnoha státech, na kterého však HCN velmi dobře účinkuje.

Na základě provedených testů můžeme konstatovat, že pro ošetřované množství a použitou dávku fumigantu je pro EDN dostatečná doba odvětrávání méně než 24 hodin. Pro vyšší dávky BLUEFUME, tj. 32 g/m^3, je dostatečná doba odvětrávání 48 hodin.

8. Závěr

V této disertační práci byla posuzována možnost využití fumigantů ethandinitrilu (EDN) a kyanovodíku (BLUEFUME) nad rámec jejich stávajících registrací. Potřeba nových fumigačních přípravků je vyvolána hned několika aktuálními aspekty. Vhledem k zákazu používání methylbromidu je nedostatek alternativ pro fytokaranténní ošetřování rostlinného materiálu, které by bránily šíření nepůvodních a invazivních druhů, nebo řešily problémy s kalamitními a karanténními škůdci.

Prostřednictvím získaných výsledků byla prokázána možnost účinného využití přípravku EDN pro ošetřování dřeva a půdy proti zvoleným cílovým škůdcům. Velmi pravděpodobně bude však EDN účinné proti širokému spektru dalších škůdců a patogenů, což potvrzují další uvedené publikace. EDN, které je používané jako přípravek na ochranu rostlin například v Austrálii má v České republice zatím velmi omezené využití, a to kvůli zdlouhavým registračním procesům. Využití se však bude neustále pomalu rozšiřovat.

Na základě výsledků z iniciálních testů ošetření kůrovcového dřeva, byla udělena výjimka od ÚKZÚZ pro řešení mimořádných stavů v ochraně rostlin pro použití EDN. Výjimka byla poprvé udělena v roce 2018 a od té doby bylo tímto způsobem ošetřeno přibližně 465 000 m^3 kůrovcového dřeva. V souvislosti s tím byla vytvořena metodika ošetření napadeného dříví lýkožroutem smrkovým určená pro pracovníky v lesnictví a profesionální pracovníky v ochranné dezinfekci, dezinsekci a deratizaci a návaznosti na toto použití vznikla také metodika fumigace dřev proti invazním tesaříkům rodu *Anoplophora* sp.

Dalším výsledkem je ověřená technologie pěstování kořenové zeleniny na pozemcích s výskytem škůdce *Meloidogyne hapla*.

Vhledem k prioritě ošetřování dřeva byla disertační práce zaměřena spíše na výzkum spojený s EDN. Pro HCN byly stanoveny rezidua po ošetření komodit, což je nezbytná součást případné registrační dokumentace pro pesticidní použití přípravku.

Stanovené cíle byly splněny a hypotézy potvrzeny. Výzkum však bude nadále pokračovat a bude se týkat především upřesnění Ct produktu pro háďátko borovicové a tesaříka krovového, problematiky rozkladných produktů EDN v půdě, reziduí v dalších komoditách a případného ovlivnění jejich klíčivosti.

9. Seznam literatury

Achrer J. 2005. Úvod do problematiky ochrany ozonové vrstvy. Pages 3-12 in Archer J. editor. Ochrana ozonové vrstvy v České republice. Ministerstvo životního prostředí. Praha.

Ajwa H, Xuan R, Guerrero J. 2016. Fate of EDN fumigant in soil. Presentation 3 in Preplant part: chemicals in Proceedings of the 2016 annual international research conference on MBr alternatives and emissions reductions, MBAO, Orlando.

Anonym. 2021. 2021-2027 Global and regional fumigation products industry status and prospects professional market research report standard version. 360 Market Updates. Available online: https://www.360marketupdates.com/2021-2027-global-and-regional-fumigation-products-industry-status-and-prospects-professional-market-18108881 (accessed on December 2021).

Aulický R, Stejskal V. 2011. Certifikovaná metodika anti-rezistentní strategie standardní a ohniskové fumigace brouků fosforovodíkem ve skladovaných obilovinách. VÚRV, Praha.

Aulicky R, Stejskal V, Frydova B. 2019. Field validation of phosphine efficacy on the first recorded resistant strains of *Sitophilus granarius* and *Tribolium castaneum* from the Czech Republic. J. Stored Prod. Res. **81**: 107–113, DOI: 10.1016/j.jspr.2019.02.003.

Agrafioti P, Sotiroudas V, Kaloudis E, Bantas S, Athanassiou CG. 2020. Real time monitoring of phosphine and insect mortality in different storage facilities. J. Stored Prod. Res. **89**, DOI: 10.1016/j.jspr.2020.101726.

Aulicky R, Stejskal V, Frydova B. 2019. Field validation of phosphine efficacy on the first recorded resistant strains of *Sitophilus granarius* and *Tribolium castaneum* from the Czech Republic. J. Stored Prod. Res. **81**: 107-113, DOI: 10.1016/j.jspr.2019.02.003.

Banks J. 2012. Gas processes, CA and fumigation, for quarantine and biosecurity. Pages 667-677 in Navarro S, Banks HJ, Jayas DS, Bell CH, Noyes RT, Ferizli AG, Emekci M, Isikber AA, Alagusundaram K. editors. Proceedings of 9th. international conference on controlled atmosphere and fumigation in stored products. ARBER Professional Congress Services, Antalya.

Barak AV, Wang YJ, Xu L, Rong Z, Hang X and Zhan G. 2005. Methyl bromide as a quarantine treatment for *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) in regulated wood packing material. J Econ Entomol **98**: 1911–1916.

Bletchly JD. 1953. The effect of hydrogen cyanide on the eggs of the commonfurniture beetle, *Anobium punctatum* (Deg.). Bull. Entomolog. Res. **44** (03): 415-418.

Bond EJ. 1984. Manual of Fumigation for Insect Control. FAO Plant Production and Protection Paper No. 54. FAO, Roma.

Bonifácio LF, Sousa E, Naves P, Inácio M L, Henriques J, Mota M, Barbosa P, Drinkall MJ., Buckley S. 2014. Efficacy of sulfuryl fluoride against the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchidae), in *Pinus pinaster* boards. Pest Manage. Sci. **70**: 6–13.

Brotherton TK, Lynn JW. 1959. The synthesis and chemistry of cyanogen. Chem. Rev. **59** (5): 841–883.

Cal DA, Martinez-Treceño A, Lopez-Aranda J, Melgarejo P. 2004. Chemical alternatives to methyl bromide in Spanish strawberry nurseries. Plant Dis. **88**: 210–214, DOI: 10.1094/PDIS.2004.88.2.210.

CDC. 2019. The National Institute for Occupational Safety and Health. U.S. Department of Health & Human Services. Available online: https://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0161.html (accessed on November 2021).

Čermák V, Gaar V. 2010. Hálkotvorná háďátka *Meloidogyne chitwoodi.* MZe, Praha.

Champ BR. Dyte CE. 1976. Report of the FAO Global survey of pesticide Susceptibility of stored grain pests. FAO, Rome.

Decker H. 1969. Phytonematologie – Biologie und Bekämpfung Planzenparazität nematoden. VEB Detcher Landwirtschaftsverlag, Berlin.

Dlouhý M, Aulický R, Lišková J, Šimbera J, Stejskal V. 2014. Certifikovaná metodika bezpečné aplikace HCN pomocí nové komory a formulace pro ochranu osiv a rostlinných materiálů proti skladištním broukům a zavíječům. VÚRV, Praha.

Doležal P. 2013. Jak se žije v lese (smrkovém) – kapitoly ze života lýkožrouta smrkového. Živa **2013** (5): 229–230.

Douda O, Zouhar M. 2008. Alternativní ochrana zeleniny vůči fytoparazitickým háďátkům rodu *Ditylenchus* a *Meloidogyne.* VÚRV, Praha.

Douda O, Zouhar M, Maňasová M, Hnátek J. 2018. Nový prostředek pro ochranu mrkve seté (*Daucus carota*) proti háďátku *Meloidogyne hapla* – výsledky modelové studie. Rostlinolékař **2018** (1): 19-21.

Douda O, Maňasová M, Zouhar M, Hnátek J, Stejskal V. 2021. Field validation of the effect of soil fumigation of ethanedinitrile (EDN) on the Mortality of *Meloidogyne hapla* and carrot yield parameters. Agronomy **11**: (208), DOI: 10.3390/agronomy11020208.

Douda O, Stejskal V, Maňasová M, Zouhar M, Hnátek J. 2020. Inexpensive screening method to validate the efficacy of ethanedinitrile fumigant on the forest invasive nematode pest *Bursaphelenchus xylophilus*. Sustainability **12**: (4765), DOI: 10.3390/su12114765.

Duncan LW, Moens M. 2006. Migratory endoparasitic nematodes. Pages 123-152 in Perry RN, Moens M. editors. Plant nematology. CABI Publishing, Wallingford.

Dwinell LD, Thoms E, Prabhakaran S. 2005. Sulfuryl fluoride as a quarantine treatment for the pinewood nematode in unseasoned pine. Presentation 68 in Proceedings of 2005 annual international research conference on methyl bromide alternatives and emissions reductions, MBAO, San Diego.

EPPO. 1994. PP 1/188(2) *Aphelenchoides* spp. on ornamentalis, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin **24**: 307-314.

EPPO. 2001. PP 1/25(3) *Globodera* and *Heterodera* spp., Bulletin OEPP/EPPO Bulletin **31**: 307-311.

FAO. 2018. Regulation of wood packaging material in international trade. FAO, Secretariat of the International Plant Protection Convention, Rome.

Frank SD, Sadof CS. 2011. Reducing insecticide volume and nontarget effects of ambrosia beetle management in nurseries. J. Econ. Entomol. **104**: 1960–1968, DOI: 10.1603/ec11124 416.

Freeman JA. 1951. Pest infestation control in breweries and maltings. J. Inst. Brew. **57**: 326-337.

Ghaly TH, Van Der Touw JW. 1982. Heat damage studies in relation to high temperature disinfestation of wheat. J. Agric. Engng Res. **27**: 329-36.

Hall M, Adlam A, Matich A, Najar-Rodriguez A, Pal P, Brash D. 2018. Quantification of hydrogen cyanide as a potential decomposition product of ethanedinitrile during pine log fumigation. N. Z. J. For. Sci. **48** (7), DOI: 10.1186/s40490-018-0114-x.

Hall M, Najar-Rodriguez A, Pranamornkith T, Adlam A, Hall A, Brash D. 2015. Influence of dose, bark cover and end-grain sealing on ethanedinitrile (C2N2) sorption by pine (*Pinus radiata* D. Don) logs. N. Z. Plant Prot. **68**: 13–18, DOI: 10.30843/nzpp.2015.68.5792.

Hall M, Najar-Rodriguez A, Adlam A, Hall A, Brash D. 2017. Sorption and desorption characteristics of methyl bromide during and after fumigation of pine (*Pinus radiata* D. Don) logs. Pest Manag. Sci. **73**(5): 874–879, DOI: 10.1002/ps.4355.

Hlásny TS, Zimová K, Merganičová P, Štěpánek R, Modlinger M, Turčáni. 2021. Devastating outbreak of bark beetles in the Czech Republic: Drivers, impacts, and management implications, Forest Ecology and Management **490**: (119075), DOI: 10.1016/j.foreco.2021.119075.

Holan J. 2006. Dřevo v domácnosti – ochrana, údržba, renovace. Era Goup, Brno.

Holuša J, Hlásný T, Modlinger R, Lukášová K, Kula E. 2017. Felled trap trees as the traditional method for bark beetle control: Can the trapping performance be increased? Forest Ecology and Management **404**:165-173, DOI: 10.1016/j.foreco.2017.08.019.

Hooper JL, Desmarchelier JM, Ren Y, Allem SE. 2003. Toxicity of cyanogen to insect of stored grain. Pest Management Science **59:** 353–357.

Horák E. 1959: Vliv fumigace na germinaci. Technika vykupu, mlynarstvi a pekarstvi **5**: 350-353.

Horák E, Verner PH, Wittlingerová. 1987. Příručka pro dezinfekci, dezinsekci a deratizaci. MZe ČSR, SZN. Praha.

Kapitola P. Jurášková M. 2016. Háďátko borovicové *Bursaphelenchus xylophilus.* ÚKZÚZ, Praha.

Kwon TS, Shin JH, Lim JH, Kim YK, Lee EJ. 2011. Management of pine wilt disease in Korea through preventative silvicultural control. For. Ecol. Manage. **261**: 562–569.

JACC. 2007. JACC Report 53 – Cyanides of hydrogen, sodium and potassium, and acetone cyanohydrin vol II. Ecetoc. Available online: https://www.ecetoc.org/publication/jacc-report-53-cyanides-of-hydrogen-sodium-and-potassium-and-acetone-cyanohydrin-vol-ii/ (accessed on December 2021).

Lee BH, Park CG, Ren YL. 2017. Evaluation of different applications of ethanedinitrile (C_2N_2) in various fumigation chambers for control of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambicidae) in naturally infested logs. Journal of Economic Entomology **110**: 502-506, DOI: 10.1093/jee/tox052.

Lee BH, Yang JO, Beckett S, Ren YL. 2016. Preliminary trials of the ethanedinitrile fumigation of logs for eradication of *Bursaphelenchus xylophilus* and its vector insect *Monochamus alternatus*. Pest. Manag. Sci., **73**: 1446-1452, DOI: 10.1002/ps.4476.

Li GW, Shao GY, Huo YL, Xu FY. 1983. Discovery of and preliminary investigations on pine wood nematodes in China. Forest Science and Technology **7**: 25-28.

Lombardo S, Longo AMG, Lo Monaco A, Mauromicale G. 2012. The effect of soil solarization and fumigation on pests and yields in greenhouse tomatoes, Crop Protection **37**: 59-64, DOI: 10.1016/j.cropro.2012.02.010.

Maier D, Bhadriraju S, Chayaprasert W. 2010. Comparison of leakage rates of methyl bromide and sulfuryl fluoride during structural fumigations. Pages 230-237 in Carvalho MO et al. editors. Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored Product Protection. Julius Kühn-Institut, Berlin.

Manasova M, Douda O, Zouhar M, Novakova E, Mazakova J, Rysanek P. 2012. Gaseous hydrogen cyanide as an agent to control nematodes in plant materials. Sci. Agri. Bohem. **43**, 53-57.

Ministerstvo zemědělství České republiky. 2020. Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky v roce 2019. MZe ČR, Praha.

Ministerstvo zemědělství České republiky. 2021. Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky v roce 2020. MZe ČR, Praha.

Monro HAU. 1961. Manual of fumigation for insect control. Food and Agricultue Organization, Rome.

Monro HAU. 1969. Manual of Fumigation for Insect Control, 2nd. Ed.; St. Paul's Press, Malta.

Mora CA, Halter JG, Adler C, Hund A, Anders H, Yu K, Stark WJ. 2016. Application of the *Prunus* spp. cyanide seed defense system onto wheat: Reduced insect feeding and field growth tests. J. Agric. Food Chem. **64**: 3501–3507.

Najar-Rodriguez AJ, Afsar S, Esfandi K, Hall M, Adlam A, Wilks C, Noakes E, Richards K. 2020. Laboratory toxicity and large-scale commercial validation of the efficacy of ethanedinitrile, a potential alternative fumigant to methyl bromide, to disinfest New Zealand *Pinus radiata* export logs. J. Stored Prod. Res. **88** (101671) DOI: 10.1016/j.jspr.2020.101671.

Najar-Rodriguez AJ, Hall MKD, Adlam AR, Hall AJ, Burgess SB, Somerfield KG, Page BBC, Brash DW. 2015. Developing new fumigation schedules for the phytosanitary treatment of New Zealand export logs comparative toxicity of two fumigants to the burnt pine longhorn beetle *Arhopalus ferus*. N. Z. Plant Prot. **68**: 19–25, DOI: 10.30843/nzpp.2015.68.5793.

Nagachandrabose S. 2018. Liquid bioformulations for the management of root-knot nematode, *Meloidogyne hapla* that infects carrot, Crop Protection **114**: 155-161, DOI: 10.1016/j.cropro.2018.08.022.

Nickle WR, Golden AM, Mamiya Y, Wergin WP. 1981. On the taxonomy and morphology of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer 1934) Nickle 1970. Journal of Nematology **13**(3): 385-392.

Oka Y, Koltai H, Bar-Eyal M, Mor M, Sharon E, Chet I, Spiegel Y. 2000. New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. Pest Management Science **56:** 983–988.

Park CG, Cho JH, Yoo M, Kim BS, Lee BH, Ren Y. 2012. Ethandinitirile (C_2N_2): Timber and log fumigation update. Pages 421-425 in Navarro S, Banks HJ, Jayas DS, Bell CH, Noyes RT, Ferizli AG, Emekci M, Isikber AA, Alagusundaram K, editors. Proceedings of the 9th international conference on controlled atmosphere and fumigation in stored products. ARB ER Professional Congress Services, Ankara.

Park MG, Ren Y, Lee BH. 2021. Preliminary study to evaluate ethanedinitrile (C_2N_2) for quarantine treatment of four wood destroying pests. Pest Manag. Sci, **77**: 5213-5219, DOI:10.1002/ps.6562.

Park CG, Son J, Lee B, Cho JH, Ren YL. 2014. Comparison of ethanedinitrile (C_2N_2) and metam sodium for control of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchidae) and *Monochanus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) in naturally infested logs at low temperatures. J. Econ. Entomol. **107**: 2055–2060, DOI: 10.1603/EC14009.

Parkin EA, Busvine JR. 1937. The toxicity of hydrogen cyanide to certain woodboring insects. Ann. Appl. Biol. **24**: 131-143.

Plachý J, Stejskal V. 2005. Historický vývoj vyřazení methylbromidu a implementace alternativ. Pages 111-128 in Archer J. editor. Ochrana ozonové vrstvy v České republice. Ministerstvo životního prostředí. Praha.

Plumier BM, Maier DE. 2018. Sensitivity analysis of a fumigant movement and loss model for bulk stored grain to predict effects of environmental conditions and operational variables on fumigation efficacy. J. Stored Prod. Res. **78**: 18–26, DOI: 10.1016/j.jspr.2018.05.012.

Pranamornkith T, Hall MKD, Najar-Rodriguez A, Adlam AR, Somerfield KG, Page BBC, Hedderley DI, Brash DW. 2014. Ethanedinitrile potential methyl bromide alternative to control *Arhopalus ferus* (Mulsant) in New Zealand sawn timber exports. N. Z. Plant Prot. **67**: 75–79, DOI: 10.30843/nzpp.2014.67.5754.

Rajendran S. 2004. Fumigation of Shipping or freight containers. Outlooks Pest Manag. **15**, 222–228. DOI: 10.1564/15oct10.

Ramadan GRM, Abdelgaleil SAM, Shawir MS, El-bakary AS, Edde PA, Phillips TW. 2019. Residue analysis of the fumigant pesticide ethanedinitrile in different agricultural commodities using ether extraction and GC-MS, Journal of Stored Products Research **83**: 331-337, DOI: 10.1016/j.jspr.2019.08.004.

Ramadan GRM, Abdelgaleil SAM, Shawir MS, El-bakary AS, Edde PA, Phillips TW. 2020. Sorption of ethanedinitrile in fumigated commodities and its impact on efficacy for *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and *Lasioderma serricorne*, (Coleoptera: Anobiidae) control. J. Stored Prod. Res. **86**, DOI: 10.1016/j.jspr.2020.101573.

Rambeau M, Benitez D, Dupuis S, Ducom P, 2001. Hydrogen cyanide as an immediate alternative to methyl bromide for structural fumigations. Pages 101-111 in: Donahaye EJ, Navarro S, Leesch JG, editors. Proceeding of the international conference on controlled atmosphere and fumigation in stored products, Executive Printing Services, Clovis.

Ren YL, Lee BH, Padovan B. 2011. Penetration of methyl bromide, sulfuryl fluoride, ethanedinitrile and phosphine into timber blocks and the sorption rate of the fumigants. J. Stored Prod. Res. **47**: 63-68, DOI: 10.1016/j.jspr.2010.04.006.

Ren YL, O'Brien G, Desmarchelier J. 1996. Effect of hydrogen cyanide and carbonyl sulphide on the germination and plumule vigour of wheat. Pestic. Sci. **41**: 1-5.

Ren YL, Sarwar M, Wright EJ. 2002. Development of cyanogen for soil fumigation. Presentation 63 in Proceedings of the 2002 annual international research conference on MBr alternatives and emissions reductions, MBAO, Orlando.

Ren YL, Wang YJ, Barak AV, Wang X, Liu YS, Dowsett HA. 2006. Toxicity of ethanedinitrile to *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) larvae. J. Econ. Entomol. **99**: 308–312.

Ren, YL, Waterford C, Matthiessen JN, Mattner SW, Gregorio R, Sarwar M. 2003. First results from ethanedinitrile (C2N2) field trials in Australia. Presentation 3 in Preplant part 5: New products in Proceedings of the 2003 annual international research conference on MBr alternatives and emissions reductions, MBAO, San Diego.

Ryan R, Martin P, Haines N, Reddi R, Beven D, Harvey A. 2006. Sterigas™ & Cosmic™: update on proposed new fumigants. Presentation 21 in Preplant poster presentation in Proceedings of the 2006 annual international research conference on MBr alternatives and emissions reductions, MBAO, Orlando.

Sarwar M, Mahon D, Ren YL. 2003. Interaction of ethanedinitrile (C2N2) with contact materials used in grain storage. Pages 221-223 in Wright EJ, Webb MC, Highley E. editors. Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference. CSIRO, Canberra.

Siddiqi MR. 2000. Tylenchida parasites of plans and insect. 2nd edition. CAB international, Wallingford.

Skrzecz I. Grodzki W, Kosibowicz M, Tumialis D. 2015. The alpha-cypermethrin coated net for protecting Norway spruce wood against bark beetles (*Curculionidae, Scolytinae*). J. Plant Prot. Res. ***55***: 156-161, DOI: 10.1515/jppr-2015-0020.

Skuhravý V. 2002. Lýkožrout smrkový (*Ips typographus*) a jeho kalamity – Agrospoj, Praha.

Sláma M. 1998. Tesaříkovití - Cerambycidae České republiky a Slovenské republiky: (brouci - Coleoptera): výskyt, bionomie, hospodářský význam, ochrana. Kabourek, Zlín.

Sollman T. 1944. A manual of pharmacology. Saunders, Philadelphia.

Soma Y. Komatsu H. Abe Y. Itabashi T. Matsumot Y. Kawakami F. 2006. Effects of some fumigants on mortality of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* infesting wooden packages, 6. Mortal. of pine wood nematode and longhorn beetles by methyl iodide tarpaulin fumigation. Res. Bull. Plant Prot. Jpn. **42**: 7–13.

Someren Graver JE. 2004. Guide to Fumigation under Gas Proof Sheets, FAO, Available from https://www.fao.org/3/a-AU098e.pdf (accessed August 2021).

STIMBR. 2018. EDN frequently asked questions: Ethanedinitrile (EDN): An alternative to methyl bromide. STIMBR.org. Available online: http://www.stimbr.org.nz/uploads/1/4/1/0/14100200/edn_faqs_2018__2018-02-28_.pdf (Accessed January 2022).

Stejskal V, Adler C S. 1997. Fumigace a řízené atmosféry. Sdružení pracovníků dezinfekce, dezinsekce a deratizace České republiky. Praha.

Stejskal V, Aulický R. 2011. Certifikovaná metodika anti-rezistentní strategie standardní a ohniskové fumigace brouků fosforovodíkem ve skladovaných obilovinách. VÚRV, Praha.

Stejskal V, Douda O, Zouhar M, Manasova M, Dlouhy M, Simbera J, Aulicky R. 2014. Wood penetration ability of hydrogen cyanide and its efficacy for fumigation of *Anoplophora glabripennis, Hylotrupes bajulus* (Coleoptera), and *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda). International Biodeterioration & Biodegradation **86**: 189–195. DOI: 10.1016/j.ibiod.2013.08.024.

Stejskal V, Vendl T, Aulicky R, Athanassiou C. 2021. Synthetic and natural insecticides: gas, liquid, gel and solid formulations for stored-product and food-industry pest control. Insects **12**: 590, DOI: 10.3390/insects12070590

Stejskal V, Vendl T, Kolar V, LI Z, Aulicky R. 2020. First population quantification of the infestation of legumes by stored product bruchids imported in freight containers into Europe. Bull. Insectology **73**: 233–239.

Stejskal V, Vendl T, Li Z, Aulicky R. 2019. Minimal thermal requirements for development and activity of stored product and food industry pests (Acari, Coleoptera, Lepidoptera, Psocoptera, Diptera and Blattodea): A Review. Insects **10** (149) DOI: 10.3390/insects10050149.

Stevens MC, Freeman JH, Boyd NS. 2019. Impact of ethanedinitrile rates and application method on nutsedge species and tomato root galling. Crop Protection **116**: 1-6, DOI: 10.1016/j.cropro.2018.10.001.

Suzuki K. 2002. Pine wilt disease – a threat to pine forest in Europe. Dendrobiology. **48**: 71-74.

Svatoň J. 2000. Ochrana dřeva, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno.

Široká Z, Svobodová Z, Maršálek P, Hodkovicová N, Václavík J. 2018. Poruchy zdraví související s otravami zvířat. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno.

Taylor AL. 1971. Introduction to research on plant nematology (An FAO guide to the study and control of plant parasitic nematodes), FAO, Rome.

Thoms EM, Busacca JD. 2015. Fumigants.Pages 150-156 in Caballero B, Finglas PM, Toldrá F, editors. Encyclopedia of Food and Health. Academic Press: Cambridge.

Uzunovic A, Kus S, Hook A, Leal I. 2021. Potential of the fumigant ethanedinitrile to kill the pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) and other forest pathogens. Forest Pathology **51** (00: e12723), DOI: 10.1111/efp.12723.

ÚKZÚZ. 2021. eagri. MZe. Praha. Available from https://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/dovoz-vyvoz/dreveny-obalovy-material/informace-k-susarnam/pruvodce-implementaci-IPSM15.html (accessed December 2021).

Urban J. 1997. Ochrana dřeva I.: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno.

USDA. 2000. Economic implications of the Methyl Bromide phaseout. Agricultural information bulletin 756: 8.

Vicente C, Espada M, Vieira P, Mota M. 2012. Pine Wilt Disease: a threat to European forestry. Eur J Plant Pathol **133:** 89–99, DOI: 10.1007/s10658-011-9924-x.

Wakil W, Kavallieratos NG, Usman M, Gulzar S, El-Shafie HAF. 2021. Detection of Phosphine Resistance in Field Populations of Four Key Stored-Grain Insect Pests in Pakistan. Insects **12**, 288, DOI: 10.3390/insects12040288.

Waterford C, Ren YL, Mattner SW, Sarwar M. 2006. Ethanedinitrile (C2N2) – a novel soil fumigant for insect, nematode, pathogen, and weed control. Acta Hortic. (Wagening.) **708**, 197–203.

Wu F, Qushim B, Guan Z, Boyd NS, Vallad GE, MacRae A, Jacoby T. 2020. Weather Uncertainty and Efficacy of Fumigation in Tomato Production. Sustainability **12**, 199, DOI: 10.3390/su12010199.

Zahradník P. 1995. Vaztak 10 EC v ochraně proti kůrovcům. Lesnická Práce **74**: 30–31.

Zahradník P. 2004. Ochrana smrčin proti kůrovcům. Lesnická práce. Kostelec nad Černými lesy.

Zahradník P, Geráková M. 2010. Lýkožrout smrkový *Ips typographus* (L.). Příloha časopisu Lesnická práce 12/2010. Lesnická práce **89**.

Zahradník P (editor). 2014. Metodická příručka integrované ochrany rostlin pro lesní porosty. Lesnická práce. Kostelec nad Černými lesy.

Zahradník P, Zahradníková M. 2018. Metoda asanace kůrovcového dříví a ochrana skládek. Příloha časopisu Lesnická práce, Lesnická práce **97** (5).

Zahradníková M, Zahradník P. 2015. Netradiční metody ochrany lesa před kůrovcovitými (Coleoptera: Curcilionidae: Scolytinae). Zprávy lesnického výzkumu **60**: 37-46.

Zouhar M, Rysanek P, Tesarova B. 2003. Occurrence of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne hapla* in the Czech Republic. Plant Disease **87** (1): 98-98.

Zouhar M, Gaar V, Mazáková J, Ryšánek P, Marek M. 2007. Diagnostika významných háďátek rodu *Bursaphelenchus*. ČZU, Praha.

Zouhar M, Douda O, Dlouhý M, Lišková J. 2013. Háďátko rodu *Bursaphelenchus*, analýza rizik a možnosti řízení rizik pomocí fumigace – výzkum v rámci projektu NAZV QI111B065. Pages 43-52 in Stejskal V, Frýdová B, editors. Sborník ze semináře a workshopu VVF a ŽP Nové metody a přístupy k řízení rizik regulovaných škůdců v ČR a legislativní problémy použití biocidů a pesticidů ve skladech rostlinných produktů a ve mlýnech. VÚRV, Praha.

10. Seznam publikací autora k řešené problematice

Publikace s impakt faktorem

Douda O, Maňasová M, Zouhar M, Hnátek J, Stejskal V. 2021. Field validation of the effect of soil fumigation of ethanedinitrile (EDN) on the Mortality of *Meloidogyne hapla* and Carrot Yield Parameters. Agronomy **11**: (208) DOI: 10.3390/agronomy11020208

Douda O, Stejskal V, Maňasová M, Zouhar M, Hnátek J. 2020. Inexpensive screening method to validate the efficacy of ethanedinitrile fumigant on the forest invasive nematode pest *Bursaphelenchus xylophilus*. Sustainability **12**: (4765) DOI: 10.3390/su12114765

Hnátek J, Stejskal V, Vendl T, Aulický R, Málkova J, Zouhar M. 2021. Fumigation of insect-infested wooden logs by EDN using two scenarios of plastic tent-tarpaulin sealing: wooden logs stacks placed on bottom plastic sheets or directly on underlying soil. Sustainability **13**: (13377) DOI: 10.3390/su132313377

Recenzované publikace

Douda O, Zouhar M, Maňasová M, Hnátek J. 2018. Nový prostředek pro ochranu mrkve seté (Daucus carota) proti háďátku Meloidogyne hapla – výsledek modelové studie. Rostlinolékař **28**: 19–21.

Maňasová M, Zouhar M, Wenzlová J, Hnátek J, Douda O. 2020. Ethandinitril jako alternativa methylbromidu při ochraně rostlin proti háďátku severnímu *Meloidogyne hapla*. Rostlinolékař **30**: 18-19.

Ostatní publikace

Aulicky R, Stejskal V, Vendl T, Vybíral O, Mochán M, Hnátek J, Jonáš A. 2018. Fumigace dřeva pomocí přípravku EDN, Inhibice líhnutí a výletu kůrovců a tesaříků po ošetření napadených smrkových lapáků pomocí fumigace přípravkem EDN pod plachtou. Lesnická práce **97** (8): 43-45.

Hnátek J, Maňasová M, Zouhar M, Jonáš A. 2019. Nová metoda ochrany proti *Plasmodiphora brassicae* – původci nádorovitosti košťálovin. Agromanuál **14** (7): 31–33.

Hnátek J, Maňasová M, Zouhar M, Wenzlová J, Mazáková J, Ryšánek P, Douda O. 2020. Nové postupy ochrany proti *Plasmodiophora brassicae* – poloprovozní testy. Agromanuál **15** (7): 24–25.

Hnátek J, Stejskal V, Jonáš A, Málková J, Aulicky R, Weiss V. 2018. Two new fumigation preparations (EDN® and BLUEFUME™) to control soil, wood, timber, structural and stored product pest arthropods – an overview. The Kharkov Entomol, Soc. Gaz. **26**: 115-118.

Stejskal V, Aulický R, Hnátek J. 2020. Fumigace přípravkem EDN k ošetření dřeva napadeného kůrovci. Agromanuál **15** (2): 68–69.

Stejskal V, Aulický R, Vendl T, Jonáš A, Hnátek J, Ščigel R, Málková J. 2018. Eliminace líhnutí a výletu fytokaranténních a dalších škůdců z ošetřeného dřeva pomocí fumigace ethandinitrilu (EDN). DDD **2018/4**: 135-138.

Stejskal V, Jonáš A, Hnátek J, Aulicky R, Mochán M, Vybíral O. 2017. Nová technologie fumigace dřeva proti kůrovcům, první výsledky testování použití přípravku EDN v ochraně lesa v České republice. Lesnická práce **96** (11): 19-21.

Metodiky

Stejskal V, Hnátek J, Vendl T, Vokněr J, Kadlec J, Aulicky R. 2021. Metodika ošetření napadeného dříví lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus*) pomocí přípravku EDN®. VÚRV, v.v.i., Praha.

Stejskal V, Hnátek J, Vendl T, Vokněr J, Kadlec J, Aulicky R. 2021. Metody fumigace dřev proti invazním tesaříkům rodu *Anoplophora* sp. VÚRV, v.v.i. Praha.

Ověřené technologie

Hnátek J, Zouhar M, Maňasová M, Wenzlová J, Douda O, Aulický R. 2020. Ověřená technologie pěstování kořenové zeleniny na pozemcích s výskytem škůdce *Meloidogyne hapla.*

Hnátek J, Zouhar M, Maňasová M, Wenzlová J, Douda O, Aulicky R. 2020. Ověřená technologie pěstování řepky olejné a brukvovité zeleniny na pozemcích s výskytem patogena *Plasmodiophora brassicae.*

Užitné vzory

Hnátek J, Zouhar M, Maňasová M, Aulicky R, Douda O. 2021. Zařízení pro ošetření dřeva proti háďátku *Bursaphelenchus xylophilus*. Užitný vzor č. 35 023.

Konference

Hnátek J, Jonáš A, Kupcová T, Ščigel R. 2018. Commercial fumigations of wood in Czech forests – first experiences. MBAO, Orlando, USA.

Málkova J, Aulický R, Dlouhý M, Stejskal V, Hnátek J, Hampl J, Trocha A. 2016. Efficacy of ethanedinitrile and hydrogen cyanide on wood infesting insects. Pages 477-478 in Navarro S, Jayas DS, Alagusundaram K, editors. Proceedings of the 10th international conference on controlled atmosphere and fumigation in stored products. CAF Permanent Committee Secretariat, Winnipeg, Canada.

Maňasová M, Zouhar M, Wenzlová J, Hnátek J, Douda O, Ryšánek P. 2019. A new method for field treatment of soil against to northern root knot nematode *Meloidogyne hapla*. Poster at the 22nd symposium of the Nematological Society of Southern Africa.

Stejskal V, Aulický R, Jonáš A, Hnátek J, Málkova J. 2018. Bluefume (HCN) and EDN® as fumigation alternatives to methyl bromide for control of primary stored product pests. Pages 604-608 in Adler CS, et al. editors. Proceedings of the12th International working conference on stored product protection (IWCSPP). Julius-Kühn-Archiv, Berlin, Germany.

Stejskal V, Hnátek J, Málková J, Jonáš A, Aulicky R. 2018. Strukturální fumigace – nový přípravek Bluefume. Strany 119–121 v Davidová P, Rupeš V, editoři. Sborník XIII. Konference DDD 2018 Přívorovy dny. Sdružení pracovníků DDD ČR, z.s. Praha, ISBN: 978-80-02-02799-7.

Stejskal V, Jonáš A, Aulicky R, Hnátek J, Vendl T, Vybíral O, Ščigel R. 2018. Fumigation of bark beetle infested wood by EDN. MBAO, Orlando, USA.

Stejskal V, Jonáš A, Hnátek J, Málková J, Aulický R. Fumigační přípravek EDN pro účely fytokarantény a ošetření komodit. Strany 115–118 v Davidová P, Rupeš V, editoři.

Sborník XIII. Konference DDD 2018 Přívorovy dny. Sdružení pracovníků DDD ČR, z.s. Praha, ISBN: 978-80-02-02799-7.

Trocha A, Aulický R, Hnátek J, Krchová L. 2016. Využití nové aplikační technologie Uraganu D2 (Bluefume) pro fumigaci prázdných prostor. Strana 26 v Davidová P, Rupeš V, editoři. Sborník XII. Konference DDD 2016 Přívorovy dny. Sdružení pracovníků DDD ČR, z.s. Praha, ISBN: 978-80-02-02659-4.

11. Seznam použitých zkratek

°C – stupeň Celsia, jednotka teploty

µm – mikrometr

ADL – uměle vytvořený rozebíratelný dřevěný blok (artificial dismantling log)

BBCH – makrofenologická stupnice růstových fází plodin

BF – BLUEFUME

C – koncentrace

cm – centimetr, jednotka soustavy SI

Ct-P – Ct produkt

č. – číslo

ČR – Česká republika

ČSN – chráněné označení českých technických norem (Česká státní norma)

dm^3 – decimetr krychlový, jednotka objemu

EU – Evropská Unie

FTIR – infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (Fourier transform infrared (spectroscopy))

g – gram, jednotka soustavy SI

$g.h/m^3$ – jednotka Ct produktu

IPPC – integrovaná prevence a omezování znečištění (Integrated Pollution Prevention and Control)

ISO – Mezinárodní organizace pro normalizaci

ISPM – mezinárodní standard pro fytosanitární opatření (International Standards for Phytosanitary Measures)

kg – kilogram, jednotka soustavy SI

ks – kus

l – litr, jednotka objemu

LF – loading faktor

LZD – Lučební závody Draslovka a.s. Kolín

m – metr, jednotka soustavy SI

m n.m. – metrů nad mořem

m/s – metry za sekundu, jednotka soustavy SI

m^2 – metr čtvereční, jednotka plochy

m^3 – metr krychlový, jednotka objemu

max – maximálně

mg – miligram, jednotka soustavy SI

min – minimálně

min – minuta

mm – milimetr, jedno

MS – Metam Sodium

Mze – Ministerstvo zemědělství

NPPO – Národní organizace ochrany rostlin (National plant protection organization)

obr. – obrázek

PE – polyethylen

ppm – jednotka koncentrace (parts per milion)

PT – typ biocidního – produktu (Product Type)

SE –- střední chyby průměru (standard error)

t – teplota

TIF – totally impermeable film

ú. l. – účinná látka

ÚKZÚZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

v.v.i. – veřejná výzkumná instituce

VÚRV – Výzkumný ústav rostlinné výroby

12. Přílohy

Seznam obrázků a tabulek v příloze

Obrázek 1. Tlaková lahev s přípravkem EDN

Obrázek 2. Tlaková lahev s přípravkem BLUEFUME

Obrázek 3. Malá fumigační komora

Obrázek 4. Plastové boxy při testech stanovování reziduí

Obrázek 5. Fumigační kontejner

Obrázek 6. Shank – přístroj pro aplikaci EDN do půdy

Obrázek 7. Zabalená hráň smrkové kulatiny v průběhu fumigace přípravkem EDN

Obrázek 8. Validační pokus pro ověření vlivu podkladní plachty na koncentraci EDN

Obrázek 9. Zabalená smrková kulatina, určená pro kontrolu účinnosti přípravku EDN na lýkožrouta smrkového

Obrázek 10. Aplikace EDN do půdy

Obrázek 11. Nákres dřevěného bloku pro měření penetrace EDN

Obrázek 12. ADL v průběhu testů účinnosti EDN na háďátko borovicové

Obrázek 13. Vizuální porovnání kořenu mrkve pěstované na pozemcích po aplikaci EDN (zleva: neošetřená kontrola, EDN v dávce 30 g/m^2, EDN v dávce 50 g/m^2)

Tabulka 1. Fyzikální a chemické vlastnosti BLUEFUME (Bezpečnostní list BLUEFUME)

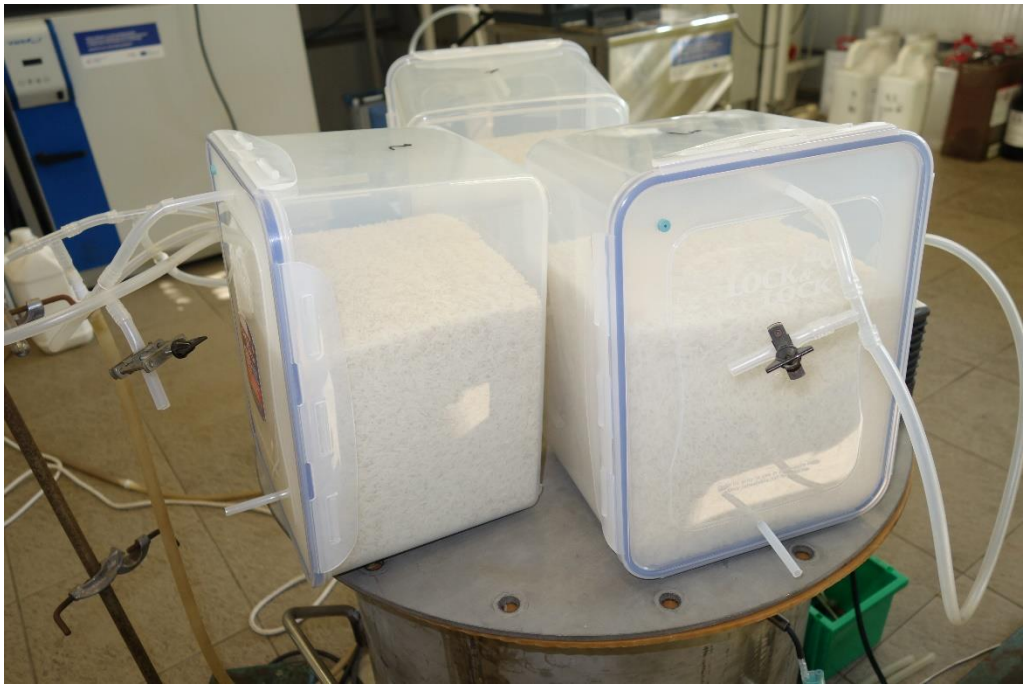
Tabulka 2. Fyzikální a chemické vlastnosti EDN (Bezpečnostní list EDN)

Obrázek 1. Tlaková lahev s přípravkem EDN

Obrázek 2. Tlaková lahev s přípravkem BLUEFUME

Obrázek 3. Malá fumigační komora

Obrázek 4. Plastové boxy při testech stanovování reziduí



Obrázek 5. Fumigační kontejner

Obrázek 6. Shank – přístroj pro aplikaci EDN do půdy

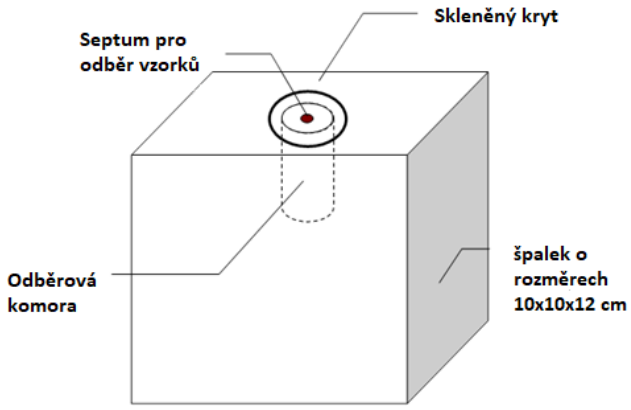
Obrázek 7. Zabalená hráň smrkové kulatiny v průběhu fumigace přípravkem EDN

Obrázek 8. Validační pokus pro ověření vlivu podkladní plachty na koncentraci EDN

Obrázek 9. Zabalená smrková kulatina, určená pro kontrolu účinnosti přípravku EDN na lýkožrouta smrkového

Obrázek 10. Aplikace EDN do půdy

Obrázek 11. Nákres dřevěného bloku pro měření penetrace EDN



Obrázek 12. ADL v průběhu testů účinnosti EDN na háďátko borovicové

Obrázek 13. Vizuální porovnání kořenu mrkve pěstované na pozemcích po aplikaci EDN (zleva: neošetřená kontrola, EDN v dávce 30 g/m^2, EDN v dávce 50 g/m^2)

Tabulka 1: Fyzikální a chemické vlastnosti BLUEFUME (Bezpečnostní list BLUEFUME)

Vzhled:		**Bezbarvá kapalina / plyn**
Zápach:		Po hořkých mandlích
pH (při 20 °C)		pH vodného roztoku (0,1 g/l): 2,79
Bod tání/bod tuhnutí (°C):		-15,3
Počáteční bod varu a rozmezí bodu varu (°C):		26,1
Meze výbušnosti nebo hořlavosti:	horní mez (% obj.)	40
	dolní mez (% obj.)	5,6
Tlak páry:		82,8 kPa při 20 °C
Hustota páry:		0,9359 (vzduch = 1)
Relativní hustota:		0,69 (voda = 1)
Rozpustnost:		Neomezeně mísitelný s vodou při 22,2 °C organická rozpouštědla (při 20 °C / 68 °F): při 20 Toluen > 250 g/l Metanol > 250 g/l Etylacetát > 250 g/l n-heptan 20 - 25 g/l Dichloretan > 250 g/l
Rozdělovací koeficient: n-oktanol/voda:		Pow = -0,69
Teplota samovznícení:		540 °C
Teplota rozkladu (°C):		54 °C
Výbušné vlastnosti:		Není klasifikován jako výbušný
Oxidační vlastnosti:		Není klasifikován jako oxidující

Tabulka 2. Fyzikální a chemické vlastnosti EDN (Bezpečnostní list EDN)

Vzhled:		Bezbarvý plyn
Zápach:		Nespecifický
Bod tání/bod tuhnutí (°C):		-28,2 ± 0,3 °C
Počáteční bod varu a rozmezí bodu varu (°C):		-21,4 ± 0,3 °C
Hořlavost:		ANO
Meze výbušnosti nebo hořlavosti:	horní mez (% obj.)	14,3 ± 0,8
	dolní mez (% obj.)	6,45 ± 0,8
Tlak páry:		480 kPa při 20 °C
Hustota páry:		1,8 (vzduch = 1)
Relativní hustota:		0,95 (voda = 1)
Rozpustnost:		2,34 g/l vody (20 °C) n-Heptan: 41.6 g/l (20 °C) toluen: 70.5 g/l (20 °C) dichlormethan: 121.5 g/l (20 °C) aceton: 216.8 g/l (20 °C) ethyl-acetát: 272.6 g/l (20 °C)
Rozdělovací koeficient: n-oktanol/voda:		Pow = 0,07
Teplota samovznícení:		650 °C
Výbušné vlastnosti:		Nemá výbušné vlastnosti ve smyslu Nařízení (EU) 1272/2008 a směrnice rady 67/548/EHS
Oxidační vlastnosti:		Nemá oxidační vlastnosti