

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Biologické metody monitorování rezistentních populací
vybraných škůdců řepky k insekticidům**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Adam Zdražil

Vedoucí práce: Ing. Jan Kazda, CSc.

Konzultant: prof. RNDr. Ing. František Kocourek, CSc.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Biologické metody monitorování rezistentních populací vybraných škůdců řepky k insekticidům" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 6. 4. 2016

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Janu Kazdovi, CSc. za vstřícnost a vedení mé diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat prof. RNDr. Ing. Františku Kocourkovi, CSc., za odbornou konzultaci, cenné rady a pomoc při vedení a hodnocení pokusů. Mé poděkování patří také Ing. Jitce Staré, PhD. za pomoc se statistickým zpracováním mé práce.

Zvláštní poděkování patří mé rodině za trpělivost a podporu během celého studia a také mým blízkým za motivaci a pomoc během studia.

Biologické metody monitorování rezistentních populací vybraných škůdců řepky k insekticidům

Souhrn

Literární část práce popisuje biologii, hospodářský význam a metody chemické ochrany proti blýskáčku řepkovému, krytonosci šešulovému a dřepčíku olejkovému. Popsána je rezistence těchto škůdců k zoocidům na našem území, částečně v okolních státech Evropy a nastíněny principy antirezistentní strategie. Dále jsou charakterizovány jednotlivé skupiny insekticidů, jejichž účinné látky jsou hodnoceny v praktické části práce. Shrnuty jsou poznatky o rezistenci škůdců k insekticidům, konkrétně typy a mechanismy rezistence. Následně jsou popsány metody monitorování rezistentních populací škůdců rostlin.

Byly získány nové poznatky z hodnocení rezistence tří škůdců řepky pomocí biologických metod. U krytonosců šešulových bylo hodnoceno šest lokalit, u blýskáčků řepkových sedm a u dřepčíků olejkových dvě lokality. Všechny lokality byly z území Čech. Pro hodnocení rezistence byly použity metody lahvičkového testu (adult-vial test) č. 11, č. 25, č. 27 a metody topikální aplikace dle metodiky IRAC. Celkem byla hodnocena účinnost šesti pyrethroidů (deltamethrin, lambda-cyhalothrin, cypermethrin, esfenvalerát, etofenprox a tau-fluvalinát) dvou neonikotinoidů (thiacloprid, acetamiprid), jednoho organofosfátu (chlorpyrifos - pouze u dřepčíka olejkového) a oxadiazinu (indoxacarb) v různých koncentracích. Hodnocena byla mortalita brouků po 24h u blýskáčků a krytonosců a 48h u dřepčíků od působení účinné látky. Následně byly stanoveny hodnoty letální koncentrace LC_{50} (tzv. střední hodnota letální koncentrace) a LC_{95} .

U blýskáčka řepkového byla potvrzena rezistence k pyrethroidům s výjimkou tau-fluvalinátu, účinek neonikotinoidů byl variabilní, acetamiprid a thiacloprid vykazovaly na populacích z některých lokalit sníženou účinnost. Hodnocené populace krytonosce šešulového i dřepčíka olejkového byly velmi citlivé ke klasickým pyrethroidům, naopak neonikotinoidy na ně měly nedostatečnou účinnost, především thiacloprid. Citlivost populací blýskáčka řepkového i dřepčíka olejkového k účinné látce indoxacarb byla vysoká.

Klíčová slova: škůdci, řepka olejka, hodnocení rezistence, insekticidy

Biological methods of monitoring insecticides resistant populations of selected oilseed rape pests

Summary

The literary part of the thesis describes biology, economic importance and methods of chemical protection against pollen beetle, cabbage seed weevil and cabbage stem flea beetle. The resistance of these pests against zoocides in the Czech republic and in some parts of neighbour European countries is described and principles of antiresistance strategies are outlined. Each group of insecticides is described and their active components are rated in the practical part of the thesis. Findings about pest resistance are summarized - resistance types and mechanisms in particular. Then monitoring of resistant populations of plant pests are described.

New findings concerning the resistance of three oilseed rape pests were acquired using biological methods. For cabbage seed weevil six areas were evaluated, for pollen beetle seven and for cabbage stem flea beetle two areas were evaluated. All the evaluated areas are in the Czech republic.

The adult-vial test number 11, nr. 25, nr. 27 according to IRAC methodology and topical application test were used to rate the resistance. The efficiency of five pyrethroids (deltamethrin, lambda-cyhalothrin, esfenvalerate, etofenprox, tau-fluvalinate, cypermethrin), one organophosphate (chlorpyrifos - cabbage stem flea beetle only) and one oxadiazin (indoxacarb) in different concentrations were rated.

The mortality of the pests was rated 24 hours after active component functioning for pollen beetle and cabbage seed weevil and after 48 hours for cabbage stem flea beetle. Then lethal concentration LC_{50} and LC_{95} values were assessed.

For pollen beetle, the resistance against pyrethroids was confirmed with the exception, the effect of neonicotinoids was variable, acetamiprid and thiacloprid showed reduced efficiency in populations of some areas. Assessed populations of cabbage seed weevil and cabbage stem flea beetle were very sensitive to pyrethroids, but neonicotinoids showed insufficient efficiency. The indoxacarb sensitivity of pollen beetle and cabbage stem flea beetle was high.

Keywords: pests, oilseed rape, resistance rating, insecticides

Obsah

1	Úvod	9
2	Cíl práce	10
3	Literární přehled	11
3.1	Rostlinolékařská diagnostika	11
3.2	Blýskáček řepkový (<i>Meligethes aeneus</i> Fabricius, 1775)	12
3.2.1	Charakteristika	12
3.2.2	Hospodářský význam	12
3.2.3	Chemická ochrana.....	13
3.2.4	Rezistence škůdce	13
3.3	Krytonosec šešulový (<i>Ceutorhynchus obstrictus</i> Marsham, 1802)	14
3.3.1	Charakteristika	14
3.3.2	Hospodářský význam	15
3.3.3	Chemická ochrana.....	15
3.3.4	Rezistence škůdce	15
3.4	Dřepčík olejkový (<i>Psylliodes chrysocephala</i> Linnaeus, 1758)	16
3.4.1	Charakteristika	16
3.4.2	Hospodářský význam	16
3.4.3	Chemická ochrana.....	16
3.4.4	Rezistence škůdce	17
3.5	Vybrané skupiny insekticidů	18
3.5.1	Pyrethroidy	18
3.5.2	Neonikotinoidy.....	19
3.5.3	Organofosfáty	20
3.5.4	Oxadiaziny.....	20
3.6	Rezistence u škůdců	22
3.6.1	Typy rezistence	24
3.6.2	Mechanismy rezistence	25
3.6.3	Metody monitorování rezistence	27
3.7	Antirezistentní strategie	27
4	Materiál a metody	29
4.1	Sběr vzorků	29
4.2	Účinné látky	29
4.3	Biologické metody hodnocení rezistence	30
4.3.1	Lahvičkový test (adult - vial test)	30
4.3.2	Topikální aplikace.....	32

4.3.3	Statistické vyhodnocení dat.....	34
5	Výsledky	35
5.1	Blýskáček řepkový	35
5.1.1	Topikální aplikace.....	35
5.1.2	Lahvičkový test (adult-vial test, tarzální test).....	41
5.1.3	Porovnání zvolených metod hodnocení rezistence.....	46
5.2	Krytonosec šešulový	47
5.2.1	Lahvičkový test (adult-vial test, tarzální test).....	47
5.3	Dřepčík olejkový.....	51
5.3.1	Lahvičkový test (adult-vial test, tarzální test).....	51
6	Diskuze	53
6.1	Blýskáček řepkový	53
6.1.1	Topikální aplikace.....	53
6.1.2	Lahvičkový test (adult-vial test)	54
6.2	Krytonosec šešulový	55
6.3	Dřepčík olejkový.....	56
7	Závěr	59
8	Seznam použité literatury.....	60
9	Seznam v textu uvedených tabulek a grafů	65

1 Úvod

Řepka má v současnosti silné postavení v českém i evropském zemědělství v důsledku jejího širokospektrého využití v potravinářském a krmivářském průmyslu s výrazně narůstajícím nepotravinářským využitím. Řepka vyniká vysokou plasticitou, díky které prošla za posledních třicet let výraznou kvalitativní změnou. První, nejvýznamnější, byla přeměna řepky olejné z technické plodiny na plodinu, která se stala jednou z nejvýznamnějších surovin potravinářského průmyslu. Díky šlechtění byla řepka zbavena z potravinářského hlediska nežádoucí kyseliny erukové a následně pak i nejvýznamnějších antinutričních látek –glukosinolátů, které limitovaly její využití v krmivářství. Dalšími konvenčními a genetickými metodami šlechtění došlo k výrazné změně v obsahu a složení mastných kyselin dle individuálních požadavků zpracovatelů (Bečka et al., 2007).

Hojnému pěstování řepky nejen na našem území, ale i v okolních zemích Evropy, napomáhá Evropská unie podporou biopaliv. Řepka se v minulých letech stala nejen významnou plodinou z hlediska potravinářského průmyslu či krmiv, ale i významnou energetickou plodinou využívanou v oblasti biopaliv. Vláda České republiky, která svým usnesením v roce 2014 schválila Víceletý program podpory využívání biopaliv a vysokoprocentních směsí biopaliv v dopravě na období 2015 - 2020 jen potvrzuje tento fakt.

Ozimá řepka je v současnosti jednou z mála plodin, které se z pohledu ekonomiky vyplatí pěstovat, a proto se také její plochy v České republice ustálily nad úrovní vysoce přesahující 300 000 hektarů. Pěstební technologie jsou velmi náročné na počet vstupů i míru používání pesticidů, zvláště v oblastech, které nejsou pro pěstování řepky optimální (Spitzer, 2012).

Mnoho pěstitelů se při použití chemické (insekticidní) ochrany dopouští chyb, například chybného termínu aplikace, což způsobuje, že velké množství pesticidů je aplikováno zbytečně. Nevyhnutelným důsledkem je zvýšené zatížení životního prostředí rezidui, pokles vlivu užitečných organismů, přirozených nepřátel škůdců a samozřejmě pokles nebo ztráta účinnosti pesticidů vlivem rozvoje rezistentních populací škůdců (Havel a Seidenglanz, 2012).

2 Cíl práce

Zhodnotit vhodnost různých metod testování citlivosti lokálních populací vybraných škůdců řepky k různým typům insekticidů pro účely detekce a monitoringu rezistence populací k insekticidům. V případě zjištění rezistence populací k insekticidům navrhnout pro tohoto škůdce antirezistentní strategie. Na několika lokálních populacích blýskáčka řepkového budou porovnány dvě metody detekce rezistentních populací k několika typům účinných látek insekticidů. Na vybraných populacích krytonosce šešulového bude ověřována vhodnost dvou metod IRAC pro detekci a monitoring rezistence populací k pyrethroidům a neonikotinoidům. Na vybraných populacích dřepčíka olejkového bude stanovena pomocí metod IRAC č. 11, 021, 025, a 027 citlivost dospělců k pyrethroidům, neonikotinoidům, organofosfátům a oxadiazinům. Budou stanoveny hodnoty LC_{50} , LC_{95} pro lokální populace uvedených škůdců. Výsledkem budou poznatky o rezistenci lokálních populací škůdců řepky k insekticidům. Pro rezistentní populace budou navrženy antirezistentní strategie. Práce bude řešena v rámci projektu NAZV QJ1230167.

Vědecká hypotéza této práce spočívá v předpokladu, že je metoda topikální aplikace vhodná pro detekci rezistence u všech hodnocených skupin insekticidů a dále v ověření, zda je u populací krytonosce šešulového a dřepčíka olejkového na území Čech snižena citlivost k pyrethroidům, jako je tomu u populací blýskáčka řepkového.

3 Literární přehled

3.1 Rostlinolékařská diagnostika

Rostlinolékařská diagnostika je podle ustanovení § 72 zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči, ve znění pozdějších předpisů, v rámci odborných rostlinolékařských činností zajišťována Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem (ÚKZÚZ) a to na dvou základních úrovních – terénní diagnostiku běžných chorob a škůdců zajišťují rostlinolékařští inspektoři, složitější rozborů za pomoci laboratorních postupů jsou prováděny v diagnostických laboratořích Odboru diagnostiky. Rostlinolékařskou diagnostiku dělíme do tří pracovišť (Anon., 2015a):

- Laboratorní diagnostika

Laboratoře Odboru diagnostiky ÚKZÚZ podle ustanovení § 5 odst. 3 zákona č. 147/2002 Sb. vykonávají působnost Národní referenční laboratoře pro diagnostiku škodlivých organismů na úseku rostlinolékařské péče. Diagnostické laboratoře rozborují zpravidla vzorky odebrané rostlinolékařskými inspektory, kterým také předávají výsledky rozborů.

Laboratorní diagnostika je specializovaná podle jednotlivých skupin škodlivých organismů v rámci oborů bakteriologie, entomologie, mykologie, nematologie a virologie. Pro potřebu detekce a identifikace jsou využívány biochemické metody.

- Referenční laboratoře

Národní referenční laboratoř koordinuje činnost referenčních laboratoří. Ústav pověřuje právnické osoby, které se přihlásí na jeho výzvu, výkonem odborné činnosti referenční laboratoře pro diagnostiku škodlivých organismů.

- Terénní diagnostika

Rostlinolékařští inspektoři provádí základní detekci a diagnostiku běžných škodlivých organismů metodami symptomatologie a mikroskopie. Pro potřebu složitějších postupů detekce a identifikace škodlivých organismů zajišťují odběr vzorků, jejich evidenci a předání do diagnostických laboratoří.

3.2 Blýskáček řepkový (*Meligethes aeneus* Fabricius, 1775)

3.2.1 Charakteristika

Dospělec je tmavě zbarven s výrazným kovovým leskem, tykadla má paličkovitá. Velikost imág je 2 - 2,5 mm. Larvy jsou po vylíhnutí bezbarvé a později mléčně bílé se žlutohnědou hlavou, jsou oligopodní, ke konci vývoje dlouhé asi 4 mm. Na každé straně jednotlivých tělních článků je tmavá skvrna (Lokaj a Uhlíř, 2009).

Blýskáček, *Meligethes aeneus* F. (Coleoptera: Nitidulidae) je jedním z hlavních evropských škůdců v řepce a může působit významné ekonomické ztráty bez použití chemické ochrany. Po téměř dvě desetiletí, byla evropská populace blýskáčků efektivně regulována syntetickými pyrethroidy, což způsobilo, že mnoho populací je rezistentních vůči pyrethroidům, které u hmyzu působí na přenos vzruchů sodíkovými kanály v centrálním nervové soustavě hmyzu (Nauen et al., 2012).

3.2.2 Hospodářský význam

Brouci přezimují pod listím, zbytky rostlin apod. Při teplotě půdy 10 °C svá zimoviště opouštějí a při teplotě vzduchu od 15 °C začínají nalétávat na porosty řepky. Na řepce se prokousávají do pupat a zčásti je vyžírají. Největší škody vznikají za chladného počasí, v době nasazování pupat. Vajíčka blýskáčci kladou do květů, potravou pro larvy je pyl a škodí žírem na vrcholových květech jen při enormním výskytu. Dorostlé larvy padají na zem a kuklí se v půdě. Vylíhlí brouci se znovu živí pylem (škody na jarní řepce). Na konci srpna odlétají mladí brouci do zimovišť (Kazda, 2014). Ohroženy jsou zejména slabé řídké porosty. V současnosti se v jednotlivých letech či regionech vyskytuje ve škodlivém množství nepravidelně. Příčinou může být intenzivní ochrana proti šešulovým škůdcům, která hubí i larvy blýskáčka. V minulosti i množství blýskáčků přesahující hodnoty uváděného prahu škodlivosti nezpůsobilo při hodnocení výnosu velké škody. Je možné, že nové odrůdy svým velkým výnosovým potenciálem (zakládají více kvítků) dokážou nahradit do určité míry poškozená pupata. Přesto patří stále k závažným škůdcům, jeho výskyt je nutno pravidelně kontrolovat. Každoročně se proti němu ošetřuje 70 – 80 % ploch. Velké škody způsobují dospělci nově vylíhlé generace na porostech jarní řepky – v mimořádných případech mohou ztráty na výnosech dosáhnout až 80 % (Anon., 2015b).

3.2.3 Chemická ochrana

Chemická ochrana proti blýskáčku řepkovému se doporučuje provádět při překročení prahu škodlivosti v období od prvního výskytu zelených poupat do počátku květu. Práh škodlivosti uvádí Kazda (2014) ve fázi (BBCH 51) uzavřených poupat jednoho dospělého a tři dospělé ve fázi vrcholových květenství (BBCH 55-57). Intenzivní insekticidní ochrana proti šesulovým škůdcům ve fázi BBCH 65–70 redukuje populaci blýskáčka řepkového a snižuje rizika škodlivého výskytu v příštím roce.

Pyrethroidy, jak uvádí Kazda (2014) rychle účinkují na dospělé, mají však krátké reziduální působení. Účinnost se snižuje při vysokých i nízkých teplotách v době aplikace. Vzhledem k prokázané rezistenci proti pyrethroidům u blýskáčků na většině území České republiky, je nutné pečlivě zvážit jejich použití. Pyrethroidy jsou pro včely nebezpečné.

Neonikotinoidy mají odlišný mechanismus účinku než pyrethroidy. Dospělci blýskáčků hynou po delší době než u pyrethroidů, ale velmi rychle přestávají přijímat potravu. Svou účinností jsou v současnosti spolehlivější než pyrethroidy a zároveň mají i delší reziduální účinnost.

Organofosfáty působí na imága blýskáčků velmi spolehlivě a rychle a mají relativně dlouhou reziduální účinnost. Zápornou vlastností je jejich toxicita pro včely, z tohoto důvodu je možná aplikace organofosfátů pouze před květem řepky (Kazda, 2014).

3.2.4 Rezistence škůdce

Seidenglanz et al. (2015) publikovali aktuální, rozsáhlejší, výzkum citlivosti blýskáčka řepkového k pyrethroidu lambda-cyhalothrinu, který probíhal v letech 2012 a 2013 na území České republiky a Slovenska (93 populací v roce 2012, 83 populací v roce 2013) za použití IRAC metody číslo 11, verze 3. Z výsledků vyplývá, že rezistentní populace převládaly v obou letech. Průměrná procenta úmrtnosti, při běžně aplikované evropské polní dávce 7,5 g účinné látky na hektar byla 60,95 % v roce 2012 a 61,36 % v roce 2013. Hodnoty LC₅₀ odhadované pro testované populace přesáhly hodnotu v Evropě běžně používané polní dávky v mnoha případech (22,09 % populací v roce 2012 a 17,14 % v roce 2013). Pouze u 10,47 % a 7,14 % populací byly hodnoty LC₉₀ pod touto běžně používanou polní dávkou (v letech 2012 a 2013, v uvedeném pořadí). Slovenské populace blýskáčků se zdály o něco méně rezistentní v porovnání s Českou republikou.

První výskyt rezistentní populace v České republice byl zjištěn vůči účinné látce acetamipridu. U blýskáčka řepkového existují mezi populacemi z různých regionů České republiky významné rozdíly v citlivosti k jednotlivým účinným látkám pyrethroidům. V ČR i ve většině zemí Evropy v současné době účinkují na populace blýskáčka rezistentní vůči deltamethrinu, lambda-cyhalothrinu nebo cypermethrinu účinné látky bifenthrin nebo tau-fluvalinate (Slater et al., 2011). Vyšší účinnost tau-fluvalinatu může být způsobena také vyšší dávkou účinné látky oproti ostatním pyrethroidům, se kterou je přípravek povolen (Anon., 2015b).

U blýskáčka nebyla dosud prokázána mnohočetná rezistence mezi pyrethroidy a neonikotinoidy, konkrétně mezi účinnými látkami lambda-cyhalothrin a acetamiprid. Rovněž nebyla zjištěna mnohočetná rezistence mezi pyrethroidy a organofosfáty. Dále je nezbytné přizpůsobit aplikaci přípravků teplotním podmínkám, tj. ošetřovat u pyrethroidů při teplotách pod 20 °C, u organofosfátů nad 15 °C, nesnižovat doporučenou dávku přípravku, používat pesticidy pouze v případě překročení prahu škodlivosti (selektivní ošetření, okrajové ošetření) a používat tank-mix přípravků pouze v případě, že je takový způsob použití povolen výrobcem (Anon., 2015b).

V roce 2012 byl nově registrován přípravek Plenum, z hlediska použití na blýskáčka s novou účinnou látkou pymetrozine, která má úplně jiný mechanismus účinku, než dosud používané pesticidy proti blýskáčku (Kazda, 2012).

3.3 Krytonosec šešulový (*Ceutorhynchus obstrictus* Marsham, 1802)

3.3.1 Charakteristika

Jedná se zbarvením o šedého, 2,5 - 3 mm velkého nosatce. Má jednu generaci za rok a dospělci, kteří přezimují v půdě či jiných úkrytech, přeletují do porostu řepky v době zakvétání. Po žíru na brukvovitých rostlinách se koncem dubna a začátkem května brouci páří a samičky kladou vajíčka po jednom do malých šešulí a vylíhlé larvy se živí vyvíjejícími se semeny. Krytonosec šešulový má 1 generaci do roka (Rotrekl, 2000).

Je nejmenším ze všech krytonosců žijících na řepce. Svým zbarvením připomíná krytonosce řepkového. Je však menší a na stranách štítu jsou patrné při zvětšení a pohledu ze strany malé špičaté hrbolky. Larvy jsou bělavé, rohlíčkovitě zahnuté, beznohé s nápadnou hnědou hlavou (apodní eucephální). Na konci vývoje se velikost pohybuje mezi 3 - 4,5 mm. (Kazda et al., 2009).

3.3.2 Hospodářský význam

Při vysokém výskytu dospělců krytonosce šešulového dochází k poškození malých šešulí a k predispozici pro škodlivé výskyty houbových chorob. Hodnoty prahu škodlivosti jsou často mnohonásobně překračovány, aniž by docházelo k poškození porostů. Při silnějším výskytu mohou v některých letech způsobovat škody zejména houbové choroby šešulí v místech mechanického poškození dospělci i vylézajícími larvami krytonosců. Škodlivost krytonosce šešulového postupně narůstá. V literatuře často uváděný symbiotický vztah mezi bejломorkou kapustovou a krytonoscem šešulovým nebyl výzkumem prokázán. Bejломorka může klást vajíčka do otvorů po kladení vajíček samičkou krytonosce (Anonym., 2015c).

3.3.3 Chemická ochrana

Cílená chemická ochrana se obvykle neprovádí. Výskyty krytonosce šešulového snižuje aplikace insekticidů proti jiným škůdcům - blýskáčku řepkovému nebo bejlomorce kapustové (Kazda, 2014). U několika populací z území Čech krytonosce šešulového (*Ceutorhynchus obstrictus*) byla poprvé v České republice prokázána rezistence k přípravkům na bázi acetamipridu (Kocourek a Stará, 2014). K ochraně proti blýskáčkům a krytonoscům je tedy třeba přistupovat komplexně a volbu přípravků pro ošetření přizpůsobit výskytu konkrétních škůdců v porostu a účinnosti přípravků proti nim.

3.3.4 Rezistence škůdce

V některých evropských zemích byla zjištěna rezistence tohoto škůdce k insekticidům. Například v sousedním Polsku byly potvrzeny rezistentní populace krytonosce šešulového k acetamipridu (Zamojska a Wegorek, 2014). V České republice byl v letech 2012 a 2013 zjištěn na několika lokalitách zvýšený podíl jedinců rezistentních k acetamipridu a také populace se sníženou citlivostí vůči deltamethrinu (Kocourek a Stará, 2014). V případě prokázání rezistence vůči insekticidům je třeba využívat maximálně antirezistentní strategie.

K ochraně proti blýskáčkům a krytonoscům je tedy třeba přistupovat komplexně a volbu přípravků pro ošetření přizpůsobit výskytu konkrétních škůdců v porostu a účinnosti přípravků proti nim (Kocourek et al., 2015a). Antirezistentní strategie využitelné proti rezistentním populacím krytonosce šešulového, nebo k oddálení dalšího postupu rezistence jsou založeny především na střídání účinných látek z různým mechanismem účinku a nesnižování doporučené dávky udávané výrobcem.

3.4 Dřepčik olejkový (*Psylliodes chrysocephala* Linnaeus, 1758)

3.4.1 Charakteristika

Dřepčici patří do čeledi mandelinkovitých (Chrysomelidae). Jsou to drobní, 3 - 4,5 mm velcí, modročerní, lesklí brouci, jen části noh a hlavy jsou červenohnědé. Mají delší nitkovitá tykadla. Při vyrušení rychle odskakují nebo padají k zemi. Podle tohoto způsobu pohybu se nedají zaměnit za žádné jiné brouky žijící v blízkosti rostlin (Kazda et al., 2007). Škodí většinou dospělci typickým žírem na listech - dírkováním, vykusují drobné otvůrky asi 1 mm velké. Larvy jsou špinavě bílé s četnými tmavými skvrnkami, z nichž vyrůstají brvy. Hrudní a anální štítky jsou tmavé. Larvy mají 3 páry noh a dosahují délky 7 mm (SRS, 2002).

3.4.2 Hospodářský význam

Brouci způsobují okénkový žír na listech. Larvy, jejichž žír je významný, prozírají srdéčka rostlin a lodyhy nebo vykousávají chodby v žebrech listů. Listy žloutnou, vadnou a zahnívají, lodyhy se lámou a podélně praskají (Lokaj a Uhlíř, 2009).

Protože se však často vyskytují ve velkém množství, mohou způsobit silné poškození rostlin. Škodí především na vzházejících brukvovitých nebo merlíkovitých užitkových i okrasných rostlinách. Za horkého a suchého počasí v létě se často přemnoží, potom způsobují značné škody i na vzrostlých rostlinách, kde se vyskytují v obrovském množství. Zvláště náchylná je brukvovitá zelenina, zejména květák nebo čínské či pekingské zelí. Na tyto rostliny mohou dřepčici přenášet i virové choroby (Kazda et al., 2007).

3.4.3 Chemická ochrana

Velmi úspěšné bylo setí již namořeného osiva. Po zákazu mořit některými neonikotinoidy je důležité pro správný aplikační termín a účinnost postřiku sledovat práh škodlivosti. K signalizaci lze využít Mörickeho misky nebo vizuální kontrolu. Práh škodlivosti je na podzim 1 dospělec na 1 m řádku, na jaře 1 larva na rostlinu. Ošetření se provádí na dospělé dříve, než dojde k vykladení vajíček (Kazda, 2014). Účinnost ochrany cílená na larvy je nízká. Počty dospělých brouků redukuje i chemická ochrana cílená na jiné škůdce v porostech řepky.

3.4.4 Rezistence škůdce

Neonikotinoidní moření řepky účinkovalo dostatečně na dřepčíka olejkového, tudíž nedocházelo k jeho namnožení a hospodářské škodlivosti. Po zákazu Evropské komise mořit účinnými látkami klothianidin, imidacloprid a thiomethoxam v roce 2013, kvůli rizikům těchto účinných látek pro včely došlo k nárůstu škodlivosti tohoto škůdce v řadě regionů České republiky (Kocourek et al., 2015b). Jak uvádí Zimmer et al. (2014a) na přemnožené populace dřepčků v západní Evropě nemělo ani moření neonikotinoidy dostatečnou účinnost a i přes moření osiva se po desetiletí prováděly proti dřepčům pyrethroidní postřiky. První výskyty rezistentních jedinců tohoto škůdce k pyrethroidům byly prokázány od roku 2009. Tato rezistence se projevuje jako křížová rezistence k různým účinným látkám ze skupiny pyrethroidů. Příkladem u populací ze severního Německa uvádí Zimmer et al. (2014a) je rezistence k látkám lambda-cyhalothrin, etofenprox nebo tau-fluvalinate.

3.5 Vybrané skupiny insekticidů

Tabulka 1: Seznam účinných látek povolených v České republice pro ochranu řepky před škůdci (skupiny insekticidů využitelné pro střídání v rámci antirezistentní strategie)

Skupina	Název skupiny	Podskupina	Účinná látka	Poznámka
1	pyretroidy I (ether pyretroidy)	1.1.	etofenprox	
2	pyretroidy II (ester pyretroidy)	2.1.	deltametrin lambda-cyhalotrin cypermetrin alpha-cypermetrin zeta-cypermetrin gamma-cyhalothrin beta-cyfluthrin	
		2.2.	tau-fluvalinate	
3	neonikotinoidy	3.1.	acetamiprid thiacloprid	
		3.2.	thiacloprid + deltametrin	povolen proti jiným škůdcům
4	organofosfáty	4.1.	pyrimiphos-methyl	
		4.2.	chlorpyrifos-methyl chlorpyrifos + cypermetrin	povolen proti jiným škůdcům
5	oxadiaziny	5.1.	indoxacarb	
6	triaziny	6.1.	pymetrozine	

(Anon., 2015b)

3.5.1 Pyrethroidy

Pyrethroidy jsou široce používány při ochraně proti škodlivým členovcům v zemědělství a proti vektorům lidských onemocnění, kvůli jejich relativně nízké toxicitě pro savce a silným insekticidním vlastnostem. Nicméně, několik posledních desetiletí intenzivního používání DDT a pyrethroidů vedlo k rozvoji rezistence u mnohých populací škůdců. Jedním z hlavních druhů rezistence k pyrethroidům je kdr (knock-down resistance), která zahrnuje snížení citlivosti místa účinku (target-site) k pyrethroidům a udává křížovou rezistenci (cross-resistance) k DDT (Dong et al., 2014; Nauen et al., 2012).

Nedostatek jiných dostupných insekticidů s odlišnými mechanizmy účinku a možnosti překrývajícího se pyrethroidního ošetření proti krytonoscům mají za následek silný selekční tlak na rezistenci. Výsledkem je rezistence k pyrethroidům rozšířená u populací evropských blýskáčků. Monitoring rezistence pomocí lahvičkových testů (adult-vial test) při využití

lambda-cyhalothrinu jako referenčního pyrethroidu byl prováděn mezi lety 2007 a 2010 a odhalil výskyt populací rezistentních k pyrethroidům v téměř všech evropských zemích včetně Německa, Francie, Polska, Velké Británie, Dánska, Švédska a mnoha dalších. Podobných výsledků dosáhlo několik autorů (Slater et al., 2011; Zimmer a Nauen, 2011).

Velmi nepříjemnou komplikací je výskyt a rychlé šíření rezistence blýskáčků proti syntetickým pyrethroidům. Tato rezistence byla poprvé detekována v roce 2008 na Opavsku a od té doby byla zjištěna ve velké části České republiky. Rezistence je metabolické povahy, což znamená, že blýskáčci pomocí jediného mechanismu detoxikace dokážou zneškodnit celou skupinu příbuzných účinných látek se stejným mechanismem účinku. Výsledkem je, že dvě třetiny registrovaných přípravků ztrácí účinnost na blýskáčky a použití některých zbylých účinných přípravků může být problematické, protože buď jsou sice účinné, ale toxické pro včely nebo u nich existují náznaky, že by v blízké budoucnosti mohlo také dojít k nežádoucím změnám citlivosti. Vzniku rezistence a posunům v citlivosti k účinným látkám insekticidů lze jen těžko dlouhodobě zabránit, lze je ale výrazně zpomalit uváženým používáním insekticidů. Právě nadbytečné používání insekticidů je jedním z faktorů podporujících vznik a rozvoj rezistence (Havel a Seidenglanz, 2012).

3.5.2 Neonikotinoidy

Jiný název pro neonikotinoidy je chloronikotinyly. Jedná se o systémové insekticidy. V rostlině jsou rozváděny akropetálně, v listech translaminárně. Přípravky z této skupiny jsou toxické pro dospělé i larvy savého hmyzu (mšice, křísky, třásněnky) i některých druhů žravého hmyzu, včetně půdního. Působí velmi rychle jako požerové a kontaktní nervové jedy. Váží se na acetylcholinový nikotinový receptor na subsynaptické membráně a blokují jej. Neonikotinoidy mají též ovicidní účinky. Po pozření účinné látky hmyz ustane v dalším žíru, čímž přestává škodit přímo i jako případný vektor virů. Účinkují již ve velmi nízkých koncentracích po dobu 12 a více týdnů (SRS, 2002).

Neonikotinoidy jsou skupinou insekticidů odvozenou z nikotinu izolovaného z rostliny tabáku. Imidacloprid je široce používaný pesticid vzhledem k jeho vysoké afinitě k hmyzím acetylcholinovým receptorům. Stejně jako nikotin, účinkuje na nervový systém hmyzu. V celosvětovém měřítku je považován za jeden z insekticidů používaný v největším objemu. Má široké uplatnění v zemědělství. Jedná se například o přípravky s obchodním názvem Admire, Gaucho, Provado nebo Confidor. Imidacloprid je antagonistou nikotinových

acetylcholinových receptorů (nAChR) a vykazuje selektivní toxicitu pro hmyz před obratlovci (Matsuda et al., 2001).

Velkou část použití neonikotinoidů tvoří aplikace povlaku na osivo do půdy (moření), kde je pak účinná látka přijímána rostlinnými kořeny a poté rozváděna do vrchních částí a odlišných pletiv, než kam byl přípravek aplikován, včetně květů, jejich pylu a nektaru. Tudiž, bez ohledu na to, kde škůdce nebo necílový organismus (například živící se rostlinným materiálem nebo i sběrem pylu či nektaru) přijde do kontaktu nebo napadne takto ošetřenou rostlinu, je pravděpodobné, že přijde i do kontaktu s těmito účinnými látkami (Sanchez et al., 2016). V roce 2013 zakázala Evropská komise moření účinnými látkami klothianidin, imidacloprid a thiomethoxam.

3.5.3 Organofosfáty

Jedná se o organické sloučeniny, které mají přítomen fosfor v molekule organické sloučeniny. Působí inhibiči cholinesterázy u zasažených škůdců. Vzniklé poškození nervové soustavy je ireverzibilního a kumulativního charakteru. Organofosfáty vykazují pozitivní korelaci mezi biologickými účinky a teplotou. Při teplotách pod 15 °C většinou účinkují nedostatečně (SRS, 2002).

Primárním místem účinku organofosfátů je enzym acetylcholinesteráza, který negativně ovlivňuje, inaktivuje enzym a blokuje degradaci neurotransmiteru acetylcholinu. Mezi příznaky intoxikace patří neklid, třes, křeče a ochrnutí (Bloomquist, 2015).

3.5.4 Oxadiaziny

Oxadiaziny fungují na bázi blokování sodíkových kanálů. Mají pomalejší účinnost než pyrethroidy a způsobují zvyšující se mortalitu v průběhu několika dní, v závislosti na způsobu vystavení účinné látce. Pokud jde o neurofyziologické účinky, centrální nervová soustava zasaženého hmyzu vykazuje velmi sníženou nervovou aktivitu na rozdíl od nadměrné aktivity a nadměrného vnitřního napětí způsobených například pyrethroidy. Nervová blokáda je nakonec celková a stabilní, čímž dochází k zabránění neuronální aktivity pro elektrické stimuly (nervového, nervosvalového přenosu) u sodíkových kanálů. Nedostatek elektrické dráždivosti (citlivosti) nervů je zodpovědný za paralýzu. Tento mechanismus účinku je necitlivý k rezistenci cílového místa (knock-down resistance), která se vyvinula používáním pyrethroidů. Nejvýznamnějšími zástupci v ochraně proti hmyzím škůdcům z této skupiny jsou indoxacarb a metaflumizone (Bloomquist, 2015).

Indoxacarb je na základě svého mechanismu účinku a díky selektivitě vůči užitečným členovcům využitelný v systémech integrované ochrany a produkce. Indoxacarb je kontaktní a požerový insekticid specificky účinný na housenky motýlů a některé další skupiny hmyzu, blokuje u nich přenos vzruchu v neurosynapsích. Účinkuje rovněž ovicidně a hubí všechna larvální stádia citlivých druhů hmyzu. Ošetření má za následek rychlé zastavení žiru a rychlý úhyn hmyzu. (Anon., 2016a)

3.6 Rezistence u škůdců

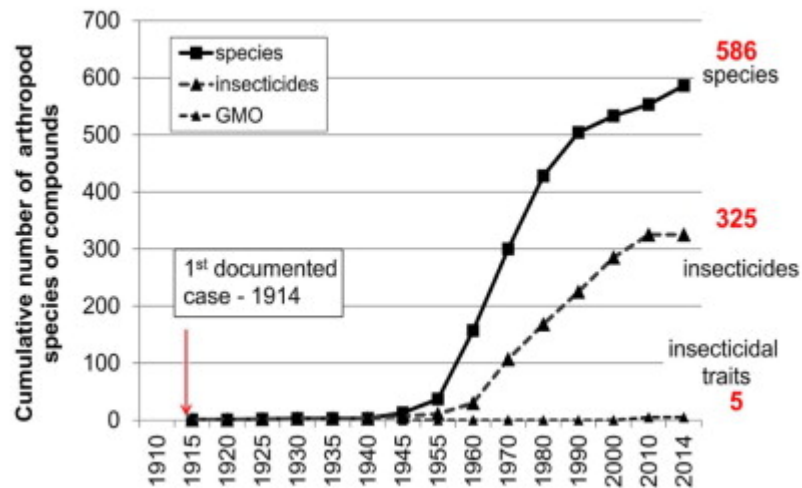
Rezistence k insekticidům je příkladem evolučního procesu, ve kterém jsou selektovány rezistentní genotypy ohrožených populací.

Rezistence může být definovaná jako dědičná změna v citlivosti populace škůdce, která je vyjádřena opakovaným selháním insekticidu ve srovnání s očekávanou úrovní ochrany, když je postupováno v souladu s doporučeními v etiketě pro daný škodlivý organismus (Prokop, 2012).

Klíčem k řešení problematiky rezistence škůdců k insekticidům je schopnost detekovat přítomnost rezistentních druhů hmyzích škůdců. Některé z prvních standardizovaných testů pro určování insekticidní rezistence byly vytvořeny Světovou zdravotnickou organizací po roce 1950 pro komáry jako přenašeče chorob. Během posledních 30 let organizace IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) ve svých pracovních skupinách vyvinula a potvrdila 30 standardizovaných metod pro detekci rezistence cílenou na širokou škálu škůdců, primárně zaměřenou na škůdce plodin a škodící roztoče. Biologické metody organizace IRAC se vyznačují jednoduchostí na provedení, spolehlivostí, reprodukovatelností a souladem v rozlišování citlivých oproti rezistentním fenotypům. Navíc pracovní skupiny zabývající se metodami detekce spravují vyhledávací referenční databázi dalších téměř 160 odlišných metod biologických zkoušek zjišťování rezistence, které byly publikovány ve vědecké literatuře (Sparks a Nauen, 2014).

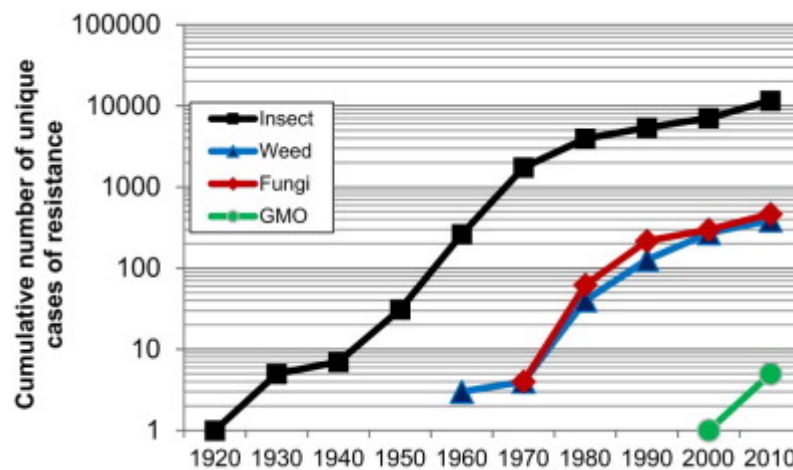
Rezistence k insekticidům byla hlavním faktorem ovlivňujícím ochranu proti hmyzím škůdcům po více než půl století. První zdokumentovaný případ dokazující rezistenci hmyzu k insekticidu byl publikován před 100 lety a je spojen s užitím polysulfidu vápenatého proti štítence žhoubné (Melander, 1914). Poté následovalo několik hlášených, ojedinělých případů rezistence k insekticidům do poloviny 40. let 20. století. Zavedení syntetických, organických insekticidů (DDT, cyklodieny, organofosforové insekticidy) ve 40. letech 20. století vedlo k obrovskému zlepšení insekticidní účinnosti i spektra účinnosti, což následně zapříčinilo rozšíření používání těchto nástrojů pro boj s hmyzími škůdci. Není překvapením, že tím nastal rychlý nárůst počtu případů rezistence, díky masivnímu a opakovanému používání těchto látek. Od konce 40. let se počet případů rezistence k insekticidním látkám stále zvyšuje (Graf 1). Dále se také v 60. a 70. letech objevila rezistence k herbicidům a fungicidům

(Graf 2). Avšak případy rezistence k insekticidům jsou stále mnohem vyšší, než je tomu u rezistence herbicidních a fungicidních látek (Sparks a Nauen, 2014).



Graf 1: Kumulativní nárůst (a) počtu druhů rezistentních k jednomu nebo více insekticidům, (b) počet insekticidů, pro které jeden nebo více druhů prokazují rezistenci a (c) počet GMO plodin pro které byla zaznamenána rezistence.

(Sparks a Nauen, 2014)



Graf 2: Kumulativní nárůst jednotlivých případů rezistence u insekticidů, herbicidů a fungicidů.

(Sparks a Nauen, 2014)

Jednou z nejjednodušších forem ochrany proti insekticidní rezistenci škůdců je střídání insekticidů. V průběhu let byla vyvinuta řada systémů využívajících tuto koncepci. Tyto systémy ochrany se zaměřují zpravidla na střídání látek s odlišným mechanismem účinku, jak to doporučuje organizace IRAC. Některé příklady tohoto přístupu byly vyvinuty v reakci na rezistenci k pyrethroidům u škůdců bavlníku a dále pro řadu jiných hmyzích škůdců. Proto boj proti hmyzí rezistenci spolu s aplikací postupů integrované ochrany rostlin bude stále důležitějším nástrojem k udržení účinnosti starších i nových insekticidů (Sparks, 2013).

Používání insekticidů samo o sobě rezistenci nevytváří, jak popisuje Prokop (2012), rezistence se objevuje, když přirozeně se vyskytující genetická mutace umožní malému počtu jedinců (typicky asi jedna ku sto tisícům) odolávat a přežít účinek insekticidu, pokud je tato výhoda udržována opakovanou aplikací stejného insekticidu, rezistentní jedinci se reprodukují a genetická změna, která způsobila rezistenci, je přenášena z rodičů na potomstvo, až se nakonec stane početnější variantou v rámci populace. Tento selekční proces je stejný jako proces, který pohání evoluční změny. Proces trvá déle, pokud genů odpovědných za rezistenci je málo, nebo jsou přítomné s malou frekvencí. Rezistence by neměla být zaměňována s tolerancí, která se může objevit po subletální expozici insekticidu a není přenášena na potomstvo.

Genetický základ rezistence

Geny rezistence mohou být dominantní, semidominantní nebo recesivní. Pokud je rezistence založena na genech dominantních nebo semidominantních, stačí jeden rodič jako vlastník těchto vlastností, aby se mohla přenést na potomstvo. V případě recesivní rezistence musí být oba rodiče vlastníky této vlastnosti. Naštěstí mnoho mechanismů rezistence (např. kdr) je kontrolováno recesivními nebo semidominantními geny, které zvyšují šanci zvládat rezistentní populaci. Pokud je rezistence geneticky dominantní, může se rychle vytvořit v rámci populace a je mnohem složitější s ní bojovat (Prokop, 2012).

3.6.1 Typy rezistence

Rezistence škůdců k jedné z mnoha skupin účinných látek není jediným typem rezistence. Dalšími typy, které je třeba uvést, jsou multiplikativní a křížová rezistence. Jedná se o případy kombinovaných mechanismů rezistence.

Multiplikativní (mnohonásobná) rezistence, je rezistence vůči navzájem chemicky nepříbuzným insekticidům. Známá je rezistence vůči organofosfátům a karbamátům založená

na zvýšené aktivitě enzymu acetyl-cholin esterázy kombinovaná s rezistencí založenou na modifikaci acetylcholinu snižující citlivost vůči přípravkům obsahujícím pirimicarb nebo triazamate (Prokop, 2011).

Křížová rezistence (cross-resistance) vzniká, pokud při vytvoření rezistence k jednomu pesticidu zároveň vzniká rezistence i k některým jiným, často se stejným nebo podobným mechanismem účinku. V literatuře se udává za příklad rezistence hmyzu k DDT, díky které vznikaly i populace rezistentní k pyrethroidům.

3.6.2 Mechanizmy rezistence

U hmyzích škůdců rozlišujeme pět hlavních mechanismů rezistence k insekticidům (Kocourek et al., 2015a; Onstadt, 2008):

- Metabolická rezistence

Tato forma rezistence se vztahuje k situaci, kdy organismus zvyšuje rychlost metabolizace (rozkladu) daného toxinu. Tato situace může nastat zvyšováním hladiny enzymů odpovědných za rozklad či změnu pesticidu na méně toxickou formu. Další možností je strukturální změna přímo v enzymu, která umožňuje efektivnější zásah proti působení insekticidu (Onstadt, 2008). Mezi enzymy, které se zúčastňují degradace insekticidních látek, patří monooxygenázy, karboxylázy, glutation-S-transferázy a další (Prokop, 2011).

- Omezená účinnost penetrace

Rezistence, díky sníženému pronikání insekticidů skrz kutikulu se objevuje, když hmyz vyvine dědičné mechanismy (mechanismus), které snižují nebo zabraňují vstupu toxinu do hmyzího těla. Rezistence v důsledku snížené penetrace je často pozorována v kombinaci s jinými mechanismy rezistence (Onstadt, 2008).

- Zvýšené vylučování účinné látky pesticidu

Zvýšené vylučování (obstavení) nastává, když se enzymy nebo bílkoviny v těle hmyzu navážou na molekuly pesticidu a následně je odvádí od cílového místa účinku dané pesticidní látky do různých organel, jako jsou tuková tělíska nebo do hemolymfy, kde jsou bezpečně uchovány. Tato forma ukládání toxinů mohla vzniknout již na počátku

evoluce hmyzu a je zřejmě ovlivněna interakcemi s kvetoucími rostlinami, z nichž mnohé obsahují pro hmyz škodlivé sekundární metabolity (Onstadt, 2008).

Mimo ukládání patří k tomuto způsobu obrany rezistentního hmyzu vylučovat škodliviny rychleji, než je tomu u hmyzu citlivého a snižovat tak účinek insekticidní látky (Prokop, 2011).

- Redukce citlivosti v místě působení insekticidu

Necitlivost cílového místa účinku pesticidu se vztahuje k situaci, kdy se jedná o nahrazení nebo změnu cílové molekuly (molekul), která přímo interaguje s pesticidem, což má za následek, že účinná látka je méně toxická pro daného škůdce. Tento druh rezistence byl pozorován u řady druhů v reakci na různorodost pesticidů (Onstadt, 2008).

Vzhledem k tomu, že klasifikace insekticidních účinných látek podle IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) je založena právě na odlišných mechanismech účinku používaných látek, jsou při výskytu tohoto typu rezistence prakticky vždy ovlivněny všechny látky zařazené do jedné skupiny IRAC.

Všechny syntetické pyrethroidy, např. pyrethrum a DDT, jsou ovlivněny rezistencí založenou na přítomnosti alel označované jako kdr (z anglického knock-down resistance). Typ kdr rezistence je založen na bodové mutaci nukleotidu, která vede ke změně struktury receptoru v buněčné membráně nervového systému hmyzu, na něž se insekticid váže (Kocourek et al., 2015b).

Další dobře známá rezistence cílového místa je způsobena modifikací enzymu acetylcholinesterázy, což je enzym odpovědný za kontrolu šíření nervového signálu v synapsích. Modifikovaná acetylcholinesteráza propůjčuje hmyzu rezistenci k některým karbamátům a organofosfátům (Prokop, 2011).

- Rezistence podmíněná změnou chování

Tato rezistence je způsobena změnou chování. Rezistentní jedinci vybavení tímto typem rezistence jsou schopni rozpoznat přítomnost insekticidu a vyhnout se mu (Prokop, 2011).

3.6.3 Metody monitorování rezistence

Metody monitoringu rezistence škůdců k zoocidům lze rozdělit a popsat následujícím způsobem dle (Staré et al., 2009).

Biologické metody

Biologické metody detekce rezistence spočívají v hodnocení mortality vybraných jedinců, vystavených působení účinné látky o určité koncentraci. Jedná se o metody s kontaktním nebo požerovým účinkem. Mezi kontaktní testy řadíme testy topikální (aplikace účinné látky přímo na kutikulu hmyzu), tarsální (pohyb hmyzu po povrchu ošetřeném insekticidem, kontakt přes chodidla), ponořovací (ponoření hmyzu do roztoku obsahujícího účinnou látku o zvolené koncentraci). Požerový test spočívá v konzumaci insekticidně ošetřené potravy hmyzu.

Genetické (molekulární) metody

Genetických metod se využívá u detekce bodových mutací genů. Metoda založená na studiu polymorfismů délky restrikčních fragmentů (RFLP) byla navržena tak, aby zaznamenala bodovou mutaci ve fragmentech amplifikovaných pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Druhá metoda využívající oboustrannou amplifikaci specifických alel je PCR (Bi-PASA). Za využití zmíněných metod je možné určit, jestli došlo k mutaci genu na obou alelách chromozomu (rezistentní homozygot), jedné alele (heterozygot), případně zda ani na jedné alele k mutaci nedošlo (citlivý homozygot). Rozlišení genotypů umožňuje určit podíl rezistentních alel v populaci a míru rizika, že celá populace ztratí citlivost k insekticidu.

Proteomické (metabolické) metody

Proteomické metody se používají pro stanovení stupně aktivity enzymů, podílejících se na detoxifikaci insekticidu. Jedinci rezistentních populací mají tyto enzymy aktivnější a dokážou tedy insekticid mnohem lépe detoxikovat (metabolicky odbourat). Hlavními skupinami enzymů, podílejících se na metabolické rezistenci hmyzu k zoocidům jsou glutation-S-transferázy, cytochrom P450 a esterázy.

3.7 Antirezistentní strategie

Antirezistentní strategií se rozumí opatření k zamezení rezistence škodlivých organismů k přípravkům, což je zakotveno v zákoně č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči, konkrétně v ustanovení § 5 Integrovaná ochrana rostlin a profesionální uživatelé jsou povinni se tímto zákonem řídit.

Základem antirezistentních postupů je střídání přípravků s různým mechanismem účinku. Dalším důležitým faktorem je správný aplikační termín. Tím je myšleno jednak správné načasování postřiku, ale i vhodné podmínky podnebí při aplikaci. Správná teplota, vyhovující povětrnostní podmínky, srážky, to vše rozhoduje o tom, zda bude zvolený postřik uspokojivě účinný. Pokud se správná aplikace nepovede, dochází k ekonomickým ztrátám zemědělce a také k zbytečnému zatěžování životního prostředí.

Jak vyplývá z kontrol ÚKZUZ, kontrolované podniky se antirezistentních postupů z větší míry drží. U větších podniků se problematika antirezistentní strategie řeší ve větší míře, než u malých subjektů. Ty většinou spoléhají na doporučení firemního poradce (Anonym., 2016b).

Nedílnou součástí obrany před rezistencí škůdců je právě monitoring citlivých, respektive rezistentních populací. Díky výsledkům monitoringu je možné odhalit změny, trendy v citlivosti jednotlivých druhů škůdců a reagovat na změny doporučením změny strategie na základě aktuálních informací. Samozřejmostí je také kontrola a hodnocení účinnosti provedené ochrany, které je důležitým a prvním ukazatelem vhodnosti daného přípravku na ochranu rostlin před škůdci.

4 Materiál a metody

4.1 Sběr vzorků

Imága všech tří vybraných druhů škůdců byla odchycena v roce 2015 pomocí entomologického smýkadla v porostech ozimé řepky na celkem sedmi lokalitách na území Čech. Konkrétně pro hodnocení rezistence u blýskáčka řepkového a krytonosce šešulového se jednalo o lokality Lety, Sezemice, Plástovice, Praha - Ruzyně, Mimoň a Karlštejn, navíc u blýskáčka byla pomocí topikální aplikace hodnocena i lokalita Žehuň. U pokusů s dřepčíkem olejkovým byli testovány dvě populace, a to z Potěch u Čáslavi (sběr imág 26. 6. 2015) a z Prahy-Ruzyně (sběr imág 24. 6. až 30. 6. 2015).

Sběr dospělců blýskáčka řepkového a krytonosce šešulového probíhal současně. Termín sběru těchto škůdců byl následující:

Karlštejn - 22. 4. 2015

Sezemice - 29. 4. 2015

Žehuň - 29. 4. 2015

Plástovice - 5. 5. 2015

Lety - 5. 5. 2015

Mimoň - 12. 5. 2015

Praha-Ruzyně - 27. 4. 2015

Po odchytu v každé z lokalit byli brouci umístěni do izolátoru, v našem případě z látkového monofilu, kam jim byla přidána přirozená potrava z dané lokality. Takto nachystané vzorky populací byly popsány místem a datem sběru a převezeny k samotnému testování do Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni.

4.2 Účinné látky

U blýskáčka řepkového bylo hodnoceno pět účinných látek pyrethroidů (deltamethrin, lambda-cyhalothrin, etofeprox, esfenvalerate a tau-fluvalinate), dva neonikotinoidy (acetamiprid, thiacloprid) a jeden oxadiazin (indoxacarb).

V roce 2015 byl velmi nízký výskyt krytonosce šešulového. Z důvodu nízkého počtu v terénu nasbíraných brouků byla hodnocena rezistence krytonosce ke čtyřem účinným látkám, dvěma

pyrethroidům (deltamethrin, lambda-cyhalothrin) a dvěma neonikotinoidům (acetamiprid, thiacloprid). V případech, kdy na vybraných lokalitách nedošlo k odběru dostatečného množství jedinců, bylo hodnocení provedeno primárně k jednomu pyrethroidu a jednomu neonikotinoidu.

Pro všechny účinné látky byly testovány koncentrace odpovídající nejvyšší povolené polní dávce přípravku na blýskáčka řepkového, a to v dávkách 1000, 100, 20 a 10 % z této dávky v přepočtu na 400 l vody na hektar. Následné vyhodnocení mortality brouků bylo provedeno po 24 hodinách.

U pokusů s dřepčikem olejkovým bylo hodnoceno šest účinných látek pyrethroidů (deltamethrin, lambda-cyhalothrin, cypermethrin, esfenvalerate, etofenprox, tau-fluvalinate) dva neonikotinoidy (thiacloprid, acetamiprid) a jeden organofosfát (chlorpyrifos). Pro všechny účinné látky byly testovány koncentrace odpovídající nejvyšší povolené dávce přípravku do řepky (případně jiné plodiny pokud nebyly do řepky povoleny). Dávka činila 100, 20, 10, 0 a 0,1 % polní dávky v přepočtu na 400 l vody na hektar. V případě dřepčíků bylo hodnocení mortality prováděno po 48 hodinách.

4.3 Biologické metody hodnocení rezistence

Hodnocení rezistence u blýskáčka řepkového a krytonosce šešulového proběhlo za pomoci lahvičkových testů (adult-vial test) dle metodiky IRAC - č. 11 (pyrethroidy), č. 21 (neonikotinoidy) a č. 27 (oxadiaziny) a dále navíc u blýskáčka i pomocí topikální aplikace (modifikace metody FAO - Food and Agriculture Organization). U dřepčíka olejkového byla testována rezistence pomocí metod IRAC č. 11 (pyrethroidy), č. 21 (neonikotinoidy), č. 25 (organofosfáty) a č. 27 (oxadiaziny) doporučených IRAC pro hodnocení rezistence blýskáčka řepkového.

4.3.1 Lahvičkový test (adult - vial test)

Tento typ hodnocení rezistence je určen metodikou organizace IRAC a jak bylo zmíněno výše, jednotlivé testy jsou očíslovány dle skupin účinných látek. V našem případě hodnocení to byla metoda č. 11 (pyrethroidy), metoda č. 21 (neonikotinoidy), metoda č. 25 (organofosfáty) a metoda č. 27 (oxadiaziny). Postup u jednotlivých metod je obdobný s výjimkou koncentrací vybraných účinných látek, z tohoto důvodu je uveden příkladem

popis postupu na metodě č. 11 pro hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k pyrethroidům.

Použitý popis metody č. 11 je ve shodě s metodikami (IRAC, 2009; Kocourek et al., 2015a).

Materiál potřebný pro tuto metodu

- Nádoby na hmyz (např. monofilové izolátory nebo 0,5 l sklenice překryté monofilem), jemný malířský štěteček, kádinky na ředění pesticidů, pipety a špičky pro ředění tekutých pesticidů nebo laboratorní váhy pro vážení práškových pesticidů, 20 ml skleněné lahvičky, zařízení pro rotování lahviček (např. ohřívač párků), nálevka pro přemístění brouků do lahviček, filtrační papíry, klimabox pro zajištění kontrolovaných podmínek v průběhu pokusu.

Popis metody

- Bylo nasbíráno (smýkáním) přibližně 100 - 200 dospělců blýskáčka řepkového na různých místech pole. Brouci byli uchováni v dobře větrané nádobě (monofilovém izolátoru). Na dno izolátoru byl umístěn suchý filtrační papír a do nádoby vloženo několik kvetoucích rostlin řepky jako zdroj potravy. Brouci nesměli být před hodnocením rezistence vystaveni stresu (vysoké teploty, vlhkost nebo hladovění). Manipulace s brouky před pokusem byla omezena na minimum.
- Nasbíraní brouci byli co nejrychleji přemístěni do laboratoře, kde bylo prováděno hodnocení rezistence. Způsob transportu zamezil vysokým teplotám, vlhkosti a stresu hladověním.
- Brouci byli po přemístění do laboratoře uchováni v dobře větrané nádobě a samotné testování proběhlo až následující den.
- Pro hodnocení rezistence byly použity skleněné lahvičky s vnitřním povrchem 20 - 80 cm². Nové lahvičky je třeba před použitím vypláchnout v mýdlové vodě, v acetonu a nechat sušit alespoň 4 hodiny před použitím.
- Byl vypočítán povrch lahviček podle vzorce: $S = \pi r^2 + (2 \pi r) * h$
- Byly připraveny roztoky lambda-cyhalothrinu (jiné pyrethroidní účinné látky) v acetonu, pro monitoring rezistence byly IRAC stanoveny 3 doporučené koncentrace lambda-cyhalothrinu, a to 0,075 µg/cm² (100% doporučené polní dávky 7,5 g úč.

látky/ha) a $0,015 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (20% doporučené polní dávky) a $0,75 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (1000 % doporučené polní dávky). Poslední roztok byl kontrolní (pouze aceton)

- Skleněné lahvičky byly naplněny roztokem (v závislosti na velikosti lahviček bylo třeba, aby stěny lahviček byly kompletně pokryty roztokem. Lahvičky rotovaly při pokojové teplotě, dokud nedošlo k odpaření acetonu.
- Použity byla tři opakování od každé koncentrace a kontrolní varianty (v návodu IRAC uvádí dvě opakování).
- Do každé lahvičky bylo umístěno 10 - 12 brouků (pro přemístění brouků do lahviček bylo využito malířského štětečku a plastového trychtýře), následně byly lahvičky uzavřeny prodyšným víčkem a ve svislé poloze nechány inkubovat při teplotě $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a vlhkosti 60 % (IRAC vlhkost neuvádí).
- Mortalita brouků byla vyhodnocena po 24 hodinách. Hodnocení mortality brouků se provádělo po vysypání brouků z lahvičky doprostřed kruhové výseče z filtračního papíru o průměru 8 cm. Spočítáni byli mrtví brouci a také brouci vážně postižení. Za vážně postižené byli počítáni brouci, kteří nebyli schopni kruhovou výseč během jedné minuty opustit.
- Výsledek hodnocení byl vyjádřen jako procento mortality a byla provedena korekce na mortalitu v kontrolní neošetřené variantě podle Abbotta (1925), tj. $A = [(P-C)/(100-C)] * 100$, kde A je výsledná mortalita v ošetřené variantě po korekci, P je mortalita v ošetřené variantě před korekcí a C je mortalita v kontrolní neošetřené variantě. Mortalitu počítáme jako podíl součtu mrtvých a postižených brouků z celkového počtu hodnocených brouků. Pokud by byla mortalita v kontrolní variantě vyšší než 20 %, je třeba pokus zopakovat.

4.3.2 Topikální aplikace

Tato forma detekce rezistence spočívá v přímé aplikaci účinné látky ve vybraných koncentracích na dorsální část těla hmyzu. Jedná se o modifikaci metody organizace FAO (Food and Agriculture Organization).

Materiál potřebný pro tuto metodu

- Nádoby na hmyz, jemný malířský štěteček, kádinky na ředění pesticidů, pipeta (1 μl) a špičky pro ředění tekutých pesticidů nebo laboratorní váhy pro vážení práškových pesticidů, 20 ml skleněné lahvičky, zkumavky, nálevka pro přemístění brouků

do lahvíček, filtrační papíry, klimabox pro zajištění kontrolovaných podmínek v průběhu pokusu.

Popis metody

- Bylo nasbíráno (smýkáním) přibližně 100 - 200 dospělců blýskáčka řepkového na různých místech pole. Brouci byli uchováni v dobře větrané nádobě (monofilovém izolátoru). Na dno izolátoru byl umístěn suchý filtrační papír a do nádoby vloženo několik kvetoucích rostlin řepky jako zdroj potravy. Brouci nesměli být před hodnocením rezistence vystaveni stresu (vysoké teploty, vlhkost nebo hladovění). Manipulace s brouky před pokusem byla omezena na minimum.
- Nasbíraní brouci byli co nejrychleji přemístěni do laboratoře, kde bylo prováděno hodnocení rezistence. Způsob transportu zamezil vysokým teplotám, vlhkosti a stresu hladověním.
- Brouci byli po přemístění do laboratoře uchováni v dobře větrané nádobě a samotné testování proběhlo až následující den.
- Do zkumavek byly připraveny vybrané účinné látky o zvolených koncentracích (ředěné acetonem).
- Nádobka s deseti dospělci byla vysypána do plastové misky vystlané filtračním papírem.
- Pomocí mikropipety byl na dorsální stranu všech brouků aplikován 1 μ l účinné látky o vybraných koncentracích. U každé koncentrace byla připravena tři opakování, včetně kontrolní varianty s acetonem.
- Ihned po aplikaci byli brouci přemístěni do skleněných lahvíček s prodyšným víčkem
- Brouci v lahvíčkách byli inkubováni při teplotě 20 +/- 2 °C a vlhkosti 60 %.
- Mortalita brouků byla vyhodnocena po 24 hodinách. Hodnocení mortality brouků se provádělo po vysypání brouků z lahvíčky doprostřed kruhové výseče z filtračního papíru o průměru 8 cm. Spočítáni byli mrtví brouci a také brouci vážně postižení. Za vážně postižené byli počítáni brouci, kteří nebyli schopni kruhovou výseč během 1 min opustit.
- Výsledek hodnocení byl vyjádřen jako procento mortality a byla provedena korekce na mortalitu v kontrolní neošetřené variantě podle Abbotta (1925), tj. $A = [(P-C)/(100-C)]*100$, kde A je výsledná mortalita v ošetřené variantě po korekci, P je mortalita v ošetřené variantě před korekcí a C je mortalita v kontrolní neošetřené

variantě. Mortalitu počítáme jako podíl součtu mrtvých a postižených brouků z celkového počtu hodnocených brouků. Pokud by byla mortalita v kontrolní variantě vyšší než 20 %, je třeba pokus zopakovat.

4.3.3 Statistické vyhodnocení dat

Hodnocení mortality dřepčiků olejkových bylo provedeno po 48 hodinách. U blýskáčků řepkových a krytonosců šešulových bylo vyhodnocení prováděno po 24 hodinách. Výsledky LC_{50} a LC_{95} byly určeny pomocí probitové analýzy v programu XLSTAT z dat mortality brouků po působení zmíněných účinných látek o zvolených koncentracích.

5 Výsledky

5.1 Blýskáček řepkový

U blýskáčka řepkového byla použita metoda topikální aplikace i lahvičkový test pro diagnostiku rezistence u vybraných populací. Na závěr byly porovnány hodnoty LC₅₀ a LC₉₅ a zhodnocena vhodnost a rozdíly mezi výsledky těchto dvou metod.

5.1.1 Topikální aplikace

Tabulka 2: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Lety			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	185,610	(75,287-1320,801)	10209,908	(1399,899-x)
deltamethrin	20	158,975	(83,346-467,614)	3753,034	(992,224-66969,515)
etofenprox	100	323,822	(149,409-1227,555)	44293,941	(6294,791-x)
tau-fluvalinate	120	2653,588	(688,267-x)	x	(41183,893-x)
acetamiprid	50	61,009	(36,934-112,029)	1340,824	(517,840-7242,997)
indoxacarb	60	9,118	(5,971-12,689)	56,265	(32,033-210,472)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Hodnoty blýskáčků stanovené topikální aplikací pro populaci z lokality Lety prokazují vysoký stupeň rezistence blýskáčků k účinným látkám pyrethroidů. U všech čtyř testovaných účinných látek (lambda-cyhalothrin, deltamethrin, etofenprox i tau-fluvalinate) byla prokázána velmi neuspokojivá účinnost na dospělé blýskáčka řepkového. Hodnoty LC₅₀ pro blýskáčka řepkového jsou u všech zmíněných látek několikanásobně vyšší, než je hodnota maximální povolené polní dávky. Nejméně citliví byli brouci k tau-fluvalinatu a lambda-cyhalothrinu (Tab. 2).

Jediným hodnoceným zástupcem ze skupin neonikotinoidů byl acetamiprid. Citlivost imág blýskáčka řepkového k acetamipridu byla v porovnání s pyrethroidy vyšší, avšak nikoliv

vyhovující. Hodnota LC₉₅ pro blýskáčka řepkového byla na lokalitě Lety 27krát vyšší, než je hodnota maximální povolené polní dávky. Naopak zcela vyhovující účinnou látku představuje indoxacarb ze skupiny oxadiazinů. Testování jedinci vykazovali velmi vysokou citlivost.

Tabulka 3: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Žehuň			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	152,357	(61,713-986,656)	11744,718	(1523,203-x)
deltamethrin	20	60,239	(36,937-113,138)	878,069	(363,413-3919,736)
etofenprox	100	242,729	(148,318-456,195)	3899,431	(1576,911-18578,913)
tau-fluvalinate	120	44,884	(32,608-65,208)	266,985	(151,330-759,844)
acetamiprid	50	31,739	(22,595-47,445)	211,031	(117,565-567,872)
indoxacarb	60	29,983	(16,351-53,098)	1285,376	(455,576-9321,897)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Na této lokalitě hodnoty LC₅₀ opět prokázaly rezistenci blýskáček k pyrethroidům (Tab. 3). Hodnoty LC₅₀ pro blýskáčka řepkového přibližně trojnásobně převyšují maximální povolené dávky jednotlivých přípravků, s výjimkou lambda-cyhalothrinu, u kterého došlo k převýšení více než desetinásobnému. Jediným dostatečně účinným pyrethroidem na této lokalitě byl tau-fluvalinate.

Hodnota LC₉₅ blýskáčka řepkového na lokalitě Žehuň pro insekticidní látku acetamiprid (neonikotinoid) prokázala dostatečnou účinnost, naproti tomu pro indoxacarb (oxadiazin) byla hodnota LC₉₅ 20krát vyšší, než je maximální povolená polní dávka, což ukazuje na sníženou citlivost populace k této účinné látce (Tab. 3).

Tabulka 4: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Sezemice			
		LC_{50}	(CI)	LC_{95}	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	69,164	(32,119-261,968)	5548,426	(941,397-x)
deltamethrin	20	44,357	(27,841-78,942)	603,110	(263,671-2436,593)
etofenprox	100	190,180	(120,249-338,220)	2224,816	(996,123-8676,114)
tau-fluvalinate	120	29,394	(19,896-43,506)	251,929	(130,557-945,073)
acetamiprid	50	38,041	(23,793-67,289)	752,421	(298,841-4063,701)
indoxacarb	60	18,972	(11,905-29,849)	299,760	(140,190-1190,987)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Na populaci blýskáček řepkových z lokality Sezemice se znovu potvrdil trend nedostatečné účinnosti pyrethroidů. Hodnoty LC_{50} blýskáčka řepkového po působení deltamethrinu a etofenproxu byly přibližně 2krát vyšší, v případě lambda-cyhalothrinu dokonce více než 5krát vyšší, než je hodnota maximální povolené koncentrace polní dávky těchto insekticidních látek. Jediným dostatečně účinným pyrethroidem byl na této lokalitě tau-fluvalinate (Tab. 4). Po působení účinné látky acetamiprid (neonikotinoid) hodnota LC_{95} blýskáčka řepkového 15krát vyšší, než je maximální povolená polní koncentrace, což značí sníženou citlivost této populace k acetamipridu. Indoxacarb (oxadiazin) byl dostatečně účinný (Tab. 4).

Tabulka 5: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Plástovice			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	47,241	(29,029-87,890)	566,051	(240,827-2616,524)
deltamethrin	20	106,449	(66,015-196,630)	989,750	(435,477-4909,794)
etofenprox	100	274,679	(170,804-496,904)	3324,750	(1458,155-13729,193)
tau-fluvalinate	120	40,647	(28,334-60,829)	307,894	(162,748-1042,387)
acetamiprid	50	41,123	(30,435-59,138)	139,007	(86,876-377,861)
indoxacarb	60	12,462		15,472	

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Kromě tau-fluvalinatu byly všechny testované pyrethroidy na populaci blýskáčka řepkového z Plástovic nedostatečně účinné, po jejich působení jednotlivé hodnoty LC₅₀ několikanásobně překračovaly maximální povolenou polní koncentraci. Pouze tau-fluvalinate účinkoval dostatečně. U acetamipridu byla účinnost v porovnání s pyrethroidy mnohem vyšší a populace blýskáčka řepkového byla dostatečně citlivá. Citlivost populace blýskáček z této lokality k účinné látce indoxacarb je velmi vysoká (Tab. 5).

Tabulka 6: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Mimoň			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5				
deltamethrin	20	35,472	(21,091-66,638)	814,411	(301,231-5166,287)
etofenprox	100	169,658	x	942,280	x
tau-fluvalinate	120	86,797	(58,067-137,880)	903,730	(451,026-2908,231)
acetamiprid	50				
indoxacarb	60				

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Díky velmi nízkému výskytu blýskáček řepkových na lokalitě Mimoň byly celkově hodnoceny tři účinné látky. Všechny patří do skupiny pyrethroidů, hodnoty LC₉₅ pro blýskáčka řepkového na lokalitě Mimoň po ošetření etofenproxem a tau-fluvalinatem byly přibližně 9krát vyšší, než je maximální povolená koncentrace polní dávky, což značí sníženou citlivost populace, v případě deltamethrinu byla hodnota LC₉₅ dokonce 22krát vyšší. Tato hodnota ukazuje na počínající rezistenci této populace k deltamethrinu (Tab. 6).

Tabulka 7: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Karlštejn			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5				
deltamethrin	20	139,604	(61,709-471,918)	2840,180	(680,394-x)
etofenprox	100	142,603		258,575	
tau-fluvalinate	120	50,292	(31,498-75,834)	425,135	(225,366-1502,909)
acetamiprid	50				
indoxacarb	60				

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Díky nízkému výskytu blýskáčka řepkového na této lokalitě byly hodnoceny pouze pyrethroidy. Hodnoty LC₅₀ pro blýskáčka řepkového na lokalitě Karlštejn ukazují na rezistenci k účinným látkám etofenproxu a deltamethrinu, v případě deltamethrinu se jedná o vysoký stupeň rezistence, protože hodnota LC₅₀ po působení této účinné látky byla 7krát vyšší, než maximální povolená koncentrace polní dávky.

Tabulka 8: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Ruzyně			
		LC_{50}	(CI)	LC_{95}	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	54,864	(21,610-422,100)	18990,800	(1411,502-x)
deltamethrin	20	61,408	(29,608-209,163)	7372,923	(1187,659-x)
etofenprox	100	214,404	(122,333-463,377)	7707,018	(2345,003-69634,806)
tau-fluvalinate	120	53,313	(39,787-75,958)	288,914	(170,691-715,996)
acetamiprid	50	30,176	(19,402-48,899)	516,850	(232,801-2060,718)
indoxacarb	60	5,512	(2,007-8,795)	63,718	(32,533-401,314)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Výsledky hodnocení rezistence z lokality Ruzyně potvrzují neúčinnost pyrethroidů mimo tau-fluvalinate, který účinkoval dostatečně. Hodnoty LC_{50} byly po působení zmíněných nedostatečně účinných pyrethroidů několikanásobně vyšší, než je horní hranice povolené koncentrace pro polní aplikaci (Tab. 8). Hodnota LC_{95} po působení acetamipridu byla 10krát vyšší, než je maximální povolená koncentrace polní dávky, což ukazuje na sníženou účinnost tohoto neonikotinoиду. Indoxacarb byl na populaci blýskáčka řepkového na této lokalitě vysoce účinný.

5.1.2 Lahvičkový test (adult-vial test, tarzální test)

Tabulka 9: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 021 a 027

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Lety			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	7,303	(4,988-11,556)	64,482	(32,33820-221,300)
deltamethrin	20	691,299	(173,907-47707,357)	139 625,470	(6121,828- x)
esfenvalerate	20	14,199	(5,130-40,708)	7753,133	(801,218-x)
etofenprox	100	46,170	(29,983-74,314)	681,794	(306,608-3000,955)
tau-fluvalinate	120	37,694	(25,828-57,386)	313,041	(159,367-1187,260)
thiacloprid	180	6017,388	(2150,776-x)	178051,803	(21144,396-x)
acetamiprid	50	70,442	(46,833-116,803)	572,863	(287,864-1803,292)
indoxacarb	60	12,317	(7,958-18,018)	104,277	(56,806-338,817)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Účinek vybraných pyrethroidů na blýskáčka řepkového z lokality Lety byl variabilní, jak potvrdil lahvičkový test. Hodnoty LC₉₅ pro blýskáčka řepkového na této lokalitě byly po působení deltamethrinu a esfenvalerátu stonásobně vyšší, než hodnoty maximálních povolených koncentrací pro polní aplikace u daných insekticidů. Porovnání hodnot LC₉₅ po působení lambda-cyhalothrinu, etofenproxu a tau-fluvalinatu s maximální povolenou polní dávkou prokazují dostatečnou účinnost lambda-cyhalothrinu a tau-fluvalinatu. Naopak mírně sníženou účinnost měl etofenprox. Hodnoty LC₅₀ A LC₉₅ po působení thiaclopridu byly extrémně vysoké (Tab. 9). Hodnota LC₉₅ po působení acetamipridu byla desetinásobně vyšší, než hodnota maximální povolené polní dávky, to potvrzuje částečně sníženou citlivost této populace a acetamipridu. Indoxacarb byl dostatečně účinný.

Tabulka 10: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Sezemice			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	2,217	(1,476-3,116)	14,250	(8,146-47,039)
deltamethrin	20	34379,858	x	x	x
esfenvalerate	20	0,225	(0,000-1,463)	159,885	(28,900-x)
etofenprox	100	10,663	(4,233-16,338)	73,934	(40,040-503,471)
tau-fluvalinate	120	11,156	x	14,022	x
thiacloprid	180	3523,524	(542,474-x)	114853853,210	x
acetamiprid	50	6,758	x	217,958	(83,618-2204,910)
indoxacarb	60	2,992	(0,037-10,125)	3730,115	(462,453-x)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Hodnoty LC₅₀ pro blýskáčka řepkového na lokalitě Sezemice byly po působení deltamethrinu i thiaclopridu extrémně vysoké, takže populace je k těmto zoocidům rezistentní. Sníženou citlivost měla tato populace i k esfenvalerátu a indoxacarb, po jehož působení byla hodnota LC₉₅ více než šedesátinásobně vyšší, než hodnota maximální povolené koncentrace polní dávky (Tab. 10). Acetamiprid byl dostatečně účinný.

Tabulka 11: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Plástovice			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	2,648	(1,559-4,073)	36,700	(17,431-171,842)
deltamethrin	20				
esfenvalerate	20	2,229	(1,051-3,330)	20,587	(10,764-117,884)
etofenprox	100	49,358	(34,906-74,646)	329,458	(177,999-1021,214)
tau-fluvalinate	120	6,836	(0,950-13,075)	124,868	(59,210-1443,247)
thiacloprid	180	1483,483	(379,228-X)	5553329,350	(73872,087-x)
acetamiprid	50	6,023	(3,123-8,785)	49,269	(25,919-287,590)
indoxacarb	60	5,192	x	6,640	x

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Působení testovaných pyrethroidů na populaci blýskáčků z Plástovic bylo dostatečně účinné. Hodnoty LC₅₀ a LC₉₅ pro blýskáčka řepkového po působení thiaclopridu jsou znovu extrémně vysoké a potvrzují rezistenci místní populace blýskáčka řepkového k thiaclopridu. Druhý testovaný neonicotinoid acetamiprid byl oproti thiaclopridu dostatečně účinný, stejně jako indoxacarb (Tab. 11).

Tabulka 12: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Ruzyně			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	1,953	(1,065-2,978)	28,566	(13,767-139,604)
deltamethrin	20	4,272	(2,579-6,561)	48,354	(24,087-195,278)
esfenvalerate	20	5,183	(3,093-8,204)	98,689	(43,440-497,482)
etofenprox	100	62,200	(38,054-107,189)	1287,102	(521,707-6822,738)
tau-fluvalinate	120	6,743	(0,818-12,875)	115,633	(54,541-1653,356)
thiacloprid	180	1310,646	(365,374-85735,852)	3797301,098	(67211,895-x)
acetamiprid	50	10,108	(1,777- 25,278)	8411,030	(1003,669-x)
indoxacarb	60	0,545	(0,000-2,618)	23,182	(10,292-x)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Hodnocené pyrethroidy byly až na etofenprox dostatečně účinné. Hodnota LC₉₅ pro blýskáčka řepkového na lokalitě Ruzyně byla po působení etofenproxu 10krát vyšší, než je maximální koncentrace polní dávky. Tyto hodnoty ukazují na sníženou účinnost tohoto pyrethroidu (Tab. 12).

Hodnocená populace byla rezistentní k neonikotinoidu thiaclopridu, jak potvrzuje hodnota LC₅₀. Hodnoty LC₅₀ a LC₉₅ byly v případě thiaclopridu opět velmi vysoké. Druhý testovaný neonikotinoid acetamiprid nebyl také dostatečně účinný, po jeho působení byla hodnota LC₉₅ 160krát vyšší, než je maximální hodnota povolené polní dávky, což značí rezistenci blýskáčků řepkových k neonikotinoidům na této lokalitě. Indoxacarb prokázal vyhovující vysokou účinnost.

Tabulka 13: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Mimoň			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5				
deltamethrin	20	13,261	(7,668-23,933)	430,382	(155,296-2904,486)
esfenvalerate	20				
etofenprox	100	99,602	(50,625-231,113)	9269,308	(2015,296-276544,709)
tau-fluvalinate	120	13,362	(9,725-16,071)	31,793	(23,739-77,277)
thiacloprid	180				
acetamiprid	50				
indoxacarb	60				

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Na populaci blýskáčka řepkového z lokality Mimoň byly hodnoceny tři účinné látky ze skupiny pyrethroidů. Nejhorší účinnost měl etofenprox, kde hodnota LC₉₅ pro blýskáčka řepkového byla po jeho působení téměř 100krát vyšší, než je maximální povolená koncentrace polní dávky. Sníženou účinnost měl i deltamethrin. Tau-fluvalinate prokázal dostatečnou účinnost (Tab. 13).

Tabulka 14: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Karlštejn			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	6,674	(3,432-12,742)	424,462	(124,246-5417,838)
deltamethrin	20	18,946	(9,144-44,478)	2426,378	(479,447-x)
esfenvalerate	20				
etofenprox	100	64,056	(37,392-118,725)	2048,784	(700,347-16906,632)
tau-fluvalinate	120	14,120	(11,023-16,780)	30,969	(23,749-63,321)
thiacloprid	180				
acetamiprid	50				
indoxacarb	60				

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Na lokalitě Karlštejn byly z hlediska účinnosti hodnoceny pouze pyrethroidy. Populace blýskáčka řepkového byla uspokojivě citlivá pouze k tau-fluvalinatu. Hodnoty LC₉₅ pro blýskáčka řepkového po působení ostatních testovaných pyrethroidů byly velmi vysoké a v řádu desetinásobků převyšovaly maximální povolenou polní koncentraci (Tab. 14).

5.1.3 Porovnání zvolených metod hodnocení rezistence

Z výsledků hodnocení citlivosti vybraných populací blýskáčka řepkového je patrné, že obě metody (topikální aplikace i lahvičkový test) jsou pro hodnocení rezistence k pyrethroidům a zachycení trendů vhodné.

Oproti tomu lahvičkový test je pro detekci rezistence blýskáčka řepkového k neonikotinoidům využitelný pouze do výše koncentrace maximální povolené polní dávky. Při použití vyšších dávek, než je maximální povolená polní dávka jsou výsledky lahvičkového testu zkreslené (chybné), což se v našem případě projevilo především na thiaclopridu (Tab. 10, 11, 12). Pracovní hypotéza příčin daného zkreslení je souvislost mechanismu účinku neonikotinoidů a lepšího vstřebávání při přímé aplikaci na krovky dospělců.

Pro detekci rezistence u indoxacardu jsou obě metody použitelné a dávají podobné výsledky.

Dále z údajů vyplývá, že pro detekci rezistence je metoda topikální aplikace pro většinu přípravků citlivější než lahvičkový test (adult-vial test). Pro blýskáčka řepkového je reálnější pro biologické simulace a je celkově vhodnější.

5.2 Krytonosec šesulový

5.2.1 Lahvičkový test (adult-vial test, tarzální test)

Hodnocení rezistence u krytonosce šesulového proběhlo za pomoci lahvičkových testů (adult-vial test) dle metodiky IRAC. Konkrétně se jednalo o metodu č. 11 (pyrethroidy) a metodu č. 21 (neonikotinoidy).

Tabulka 15 Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šesulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011 a 021

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Lety			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5				
deltamethrin	20	2,602	x	2,959	x
thiacloprid	180				
acetamiprid	50	1,407	(0-3,591)	22,367	(11,588-9566,875)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Hodnoty LC₅₀ a LC₉₅ pro krytonosce šesulového z lokality Lety (Tab. 15) ukázaly vysokou účinnost obou hodnocených insekticidních látek. Pyrethroid deltamethrin byl stejně jako neonikotinoid acetamiprid dostatečně účinný.

Tabulka 16: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šesulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011 a 021

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Žehuň			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	0,885	x	1,198	x
deltamethrin	20	2,284	x	2,694	x
thiacloprid	180	2,526	(0-15,835)	10040,364	(917,712-x)
acetamiprid	50	11,976	(3,737-24,575)	1355,597	(334,663-52158,640)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

U lokality Žehuň byla potvrzena dostatečná účinnost obou pyrethroidních účinných látek deltamethrinu i lambda-cyhalothrinu (Tab. 16).

Hodnocení pro vybrané neonikotinoidy ukazuje na nedostatečnou účinnost, hodnota LC₉₅ byla 55krát (thiacloprid) a 27krát (acetamiprid) vyšší, než je maximální povolená polní dávka těchto účinných látek (Tab. 16). Tyto hodnoty prokazují rezistenci populace k těmto neonikotinoidům.

Tabulka 17: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šesulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011 a 021

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Sezemice			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	0,893	x	1,205	x
deltamethrin	20	2,185	x	2,609	x
thiacloprid	180	71,340	(38,573-125,017)	3036,365	(1020,849-30051,324)
acetamiprid	50	1,296	(0,004-5,043)	844,959	(151,939-x)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Hodnoty LC₅₀ a LC₉₅ prokázaly dobrou účinnost hodnocených pyrethroidů lambda-cyhalothrinu i deltamethrinu (Tab. 17). Hodnota LC₉₅ pro blýskáčka řepkového z lokality

Sezemice byla po působení zvolenými neonikotinoidy zhruba 16krát vyšší u obou účinných látek (thiacloprid, acetamiprid).

Tabulka 18: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šešulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 11 a 021

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Plástovice			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	12,5	*		*	
deltamethrin	20				
thiacloprid	180	30,098	(6,457-56,944)	576,994	(249,975-6863,954)
acetamiprid	50	10,218	(6,090-15,582)	123,581	(59,735-584,270)

* lambda-cyhalothrin byl 100 % účinný (100% mortalita ve všech koncentracích)

Na této lokalitě byly neonikotinoidy dostatečně účinné.

Tabulka 19: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šešulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 021

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Mimoň			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
thiacloprid	180	6,003	(0,139-13,575)	159,263	(70,122-7060,172)

Z důvodu extrémně nízkého počtu krytonosců šešulových na lokalitě Mimoň byla hodnocena pouze účinnost neonikotinoиду thiaclopridu, který byl dostatečně účinný, jak dokazuje hodnota LC₉₅.

Tabulka 20: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šesulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 021

Účinná látka/Lokalita	max. dávka (ppm)	Karlštejn			
		LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
thiacloprid	180	0,183	x	540,638	x

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Hodnocení účinnosti thiaclopridu u této populace prokázalo dostatečnou účinnost. Na této populaci byl testován i pyrethroid lambda-cyhalothrin, který usmrtil všechny brouky ve všech koncentracích, ale program XLSTAT 2016 neumožnil probitovou analýzu dat.

5.3 Dřepčik olejkový

Doposud nebyly publikovány žádné jiné práce týkající se rezistence dřepčika olejkového k pesticidům na území České republiky. Orientace při výběru vhodné chemické ochrany proti tomuto škůdci je tak obtížná. Dřepčici byli testováni pomocí lahvičkového testu (adult-vial test, tarzální test) podle metodiky IRAC č. 11, primárně určeného pro blýskáčka řepkového. Testovány byly dvě lokality Praha-Ruzyně a Potěhy (Středočeský kraj).

5.3.1 Lahvičkový test (adult-vial test, tarzální test)

Tabulka 21: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců dřepčika olejkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č.11, 021, 025 a 027

Účinná látka/Lokalita	Ruzyně				
	max. dávka (ppm)	LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	6,3	0,126	(0,081-0,188)	0,588	(0,351-1,542)
deltamethrin	4,7	0,151	(0,092-0,240)	1,223	(0,629-3,443)
cypermethrin	6	0,071	(0,035-0,125)	1,339	(0,651-4,354)
esfenvalerate	4,5	1,252	x	2,795	x
etofenprox	25	17,839	(14,056-23,947)	56,345	(36,376-166,770)
tau-fluvalinate	25	2,958	(2,040-4,896)	8,269	(4,976-22,258)
chlorpyrifos	187	175,561	(141,165-247,327)	463,411	(305,581-1222,580)
thiacloprid	40	374,372	(149,094-1960,065)	23466,04	(16507,631-x)
acetamiprid	15	8,463	(7,228-9,432)	12,413	(10,859-16,942)
indoxacarb	16	7,365	(6,620-8,658)	10,508	(8,867-15,718)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Populace dřepčika olejkového z lokality Ruzyně byla velmi citlivá k testovaným pyrethroidům (Tab. 21). Hodnoty LC₉₅ dřepčika olejkového po působení pyrethroidů ukazují nejnižší citlivost populace k účinné látce etofenprox.

Obě testované účinné látky ze skupiny neonikotinoidů vykazovaly navzájem velkou variabilitu v působení na tuto populaci dřepčika olejkového. Velmi nízkou účinnost měl thiacloprid, hodnota LC₅₀ potvrzuje velmi silnou rezistenci (Tab. 21). Naproti tomu hodnoty LC₅₀ a LC₉₅ u acetamipridu byly vyhovující a ošetření přežívalo minimum populace, stejně tomu bylo i v případě účinné látky indoxacarb. Druhou nejnižší účinnost po thiaclopridu prokázal chlorpyrifos (LC₅₀), ke kterému měla populace sníženou citlivost.

Tabulka 22: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC₅₀ a LC₉₅ v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců dřepčika olejkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021, 025 a 027

Účinná látka/Lokalita	Potěhy				
	max. dávka (ppm)	LC ₅₀	(CI)	LC ₉₅	(CI)
lambda-cyhalothrin	6,3	0,704	(0,476-1,012)	2,715	(1,779-5,154)
deltamethrin	4,7	0,58	(0,378-0,857)	3,829	(2,342-7,991)
cypermethrin	6	0,543	(0,353-0,830)	3,258	(1,931-7,137)
esfenvalerate	4,5	3,934	(3,308-5,614)	8,134	(5,672-26,144)
etofenprox	25	13,777	(11,061-16,915)	32,874	(23,744-83,973)
tau-fluvalinate	25	5,017	(3,401-7,083)	26,781	(17,333-52,021)
chlorpyrifos	187	112,2	x	141,25	x
thiacloprid	40	2036,77	(645,840-41034,729)	821948,1	(40876,686-x)
acetamiprid	15	6,266	(5,541-7,163)	9,815	(8,301-13,642)
indoxacarb	16	8,487	(6,063-11,065)	33,347	(22,274-77,720)

x - nebylo statisticky vyhodnoceno

Výsledky hodnocení rezistence populace dřepčíků olejkových z lokality Potěhy (Tab. 22) bylo pro pyrethroidy velmi podobné jako na lokalitě Ruzyně (Tab. 21). Pyrethroidy měly dostatečnou účinnost. Pyrethroidem, ke kterému byli brouci nejméně citliví, byl opět etofenprox.

Ze získaných hodnot LC₅₀ a LC₉₅ byl jasně nejméně účinný thiacloprid, u kterého lze populaci označit za velmi silně rezistentní k tomuto neonikotinoidu. Druhý neonikotinoid acetamiprid měl dostatečnou účinnost. Hodnota LC₅₀ po působení chlorpyrifosu naznačuje snižování účinnosti (Tab. 22).

6 Diskuze

Testování vybraných druhů škůdců pomocí biologických metod bylo prováděno v rámci dlouhodobého projektu Metody diagnostiky rezistence živočišných škůdců k pesticidům a antirezistentní strategie pro minimalizaci vlivu pesticidů na životní prostředí. K hodnocení byly vybrány účinné látky pyrethroidů a neonikotinoidů, které se běžně při chemické ochraně řepky využívají, a které byly z hlediska rezistence škůdců k insekticidům hodnoceny v jiných státech Evropy (Slater et al., 2011; Zamojska a Wegorek, 2014). Získaná data slouží především k získání dílčích údajů o rezistenci škůdců, která budou použita k sestavení delší časové řady a popsání trendů v účinnosti přípravků a citlivosti populací vybraných škůdců ke zvoleným skupinám insekticidů na území České republiky. Citlivost populací těchto škůdců má rozhodující vliv, zda použití chemické ochrany proti nim není zbytečné. V takovém případě je výsledkem ekonomická ztráta zemědělce, stabilizace nebo navýšení rezistentních populací a zbytečné zatížení životního prostředí.

6.1 Blýskáček řepkový

6.1.1 Topikální aplikace

Pyrethroidy

Účinnost pyrethroidů na vybraných lokalitách byla velmi podobná. Nejméně citliví byli brouci k účinné látce deltamethrin, kde u populace z lokality Karlštejn můžeme hovořit o zcela rezistentní populaci blýskáčka řepkového k této látce. U ostatních pyrethroidních látek hodnoty LC_{50} potvrzují rezistenci testované populace s výjimkou tau-fluvalinátu, který jako jediný pyrethroid prokázal dostatečnou účinnost. K obdobným závěrům došel Hansen (2008), který také pomocí topikální aplikace hodnotil účinnost pyrethroidů lambda-cyhalothrinu a tau-fluvalinatu u populací blýskáčků v Dánsku. U zbylých tří testovaných účinných látek (lambda-cyhalothrin, deltamethrin, etofenprox) byla prokázána velmi neuspokojivá účinnost na dospělé blýskáčků řepkových a nelze je k dalšímu ošetření porostu řepky doporučit. Topikální aplikací byl potvrzen výskyt rezistentních populací i na severu Evropy, konkrétně k lambda-cyhalothrinu (Tiilikainen a Hokkanen, 2008).

Neonikotinoidy

Jediným hodnoceným zástupcem ze skupin neonikotinoidů byl acetamiprid. Citlivost imág blýskáčků k acetamipridu byla v porovnání s pyrethroidy vysoká, avšak nikoliv vždy vyhovující. Ze získaných dat je patrné, že existuje velká variabilita ve výsledcích účinnosti acetamipridu z odlišných lokalit. Jednotlivé populace blýskáčka řepkového mají k acetamipridu různou úroveň citlivosti.

Oxadiaziny

Zcela vyhovující účinnou látku představuje indoxacarb ze skupiny oxadiazinů. Testování jedinci vykazovali velmi vysokou citlivost k tomuto insekticidu a lze jej doporučit pro ošetření porostů řepky i pro postupy antirezistentní strategie, aby se alespoň oddálila úplná rezistence blýskáčků k pyrethroidům.

6.1.2 Lahvičkový test (adult-vial test)

Pyrethroidy

Výsledky účinnosti vybraných insekticidních látek ze skupiny pyrethroidů byly vyjádřeny pomocí LC_{50} a LC_{95} pro blýskáčka řepkového u všech testovaných populací. Výsledné hodnoty LC_{50} a LC_{95} ukazují, že až na výjimku, kterou představuje tau-fluvalinate, byly všechny hodnocené populace nedostatečně citlivé k účinným látkám klasických pyrethroidů (deltamethrin, lambda-cyhalothrin, esfenvalerate), ale i ether pyrethroidu etofenproxu. Etofenprox byl dostatečně účinný pouze na lokalitě Sezemice (Tab.10). Hodnoty letálních koncentrací LC_{50} i LC_{95} pro tau-fluvalinate prokázaly jeho dostatečnou účinnost na všech lokalitách mimo Lety, kde nebyl dostatečně účinný a jeho působení přežívalo více než 5 % populace (Tab. 9).

Výsledky jsou ve shodě s mnoha evropskými závěry monitoringu citlivosti populací blýskáčků k pyrethroidům (Slater et al., 2011; Zamojska a Wegorek, 2014). Rezistence k pyrethroidům je nyní rozšířená skrz celou Evropu a předpokládá se, že je způsobena zvýšenou (metabolickou) detoxikací cytochromem P450, případně i mutací cílového místa účinku (target-site) pyrethroidů - sodíkových kanálů, přenášejících vzruchy (Zimmer et al., 2014b).

Neonikotinoidy

Účinek acetamipridu se velmi odlišoval od druhého testovaného neonikotinoиду thiaclopridu. Snížený účinek byl patrný na lokalitách Lety a Ruzně u acetamipridu. Tyto výsledky se shodují s hodnocení k acetamipridu ze sousedního Polska, kde byla popsána snížená citlivost blýskáčků k tomuto neonikotinoиду (Wegorek a Zamojska, 2006). Hodnocení účinnosti thiaclopridu vykazovalo extrémně hodnoty. Ty prokazují vysoký stupeň rezistence, avšak tyto údaje také svědčí o zkreslení výsledků lahvičkového testu pro thiacloprid. Lahvičkový test pro detekci rezistence škůdců k thiaclopridu není vhodný.

Antirezistentní strategie

Rezistence k pyrethroidům je rozšířená po celé Evropě. Mimo obecné zásady popsané v literárním přehledu práce, je potřeba zdůraznit využití přípravků s jiným mechanismem účinku. Registrace přípravků na bázi neonikotinoídů, organofosfátů, spinosynů a oxadiazinů zajišťuje alternativu v chemické ochraně a postupech antirezistentních strategií nejen v České republice, ale v celé Evropě (Slater et al., 2011). Z výsledků této práce jsou k tomu vhodné přípravky s účinnou látkou indoxacarb. V případě, že už je zvoleno pyrethroidní ošetření, volit přípravky s účinnou látkou tau-fluvalinate. Monitoring a detekce rezistence k insekticidům v souvislosti s doporučeními a následným použitím efektivní antirezistentní strategie je v současnosti jednou z nejdůležitějších oblastí ochrany proti škůdcům rostlin (Nauen a Denholm, 2005). Je důležité nepoužívat postřiky preventivně, ale podle prahů škodlivosti a nesnižovat koncentrace účinné látky.

6.2 Krytonosec šesulový

Pyrethroidy

Z výsledků monitorování rezistence krytonosce šesulového (lahvičkový test) na vybraných lokalitách (Lety, Žehuň i Sezemice) na území Čech, byla potvrzena dostatečná účinnost pyrethroidního ošetření účinnými látkami deltamethrin i lambda-cyhalothrin. Dostatečnou citlivost krytonosců k pyrethroidům publikoval Seidenglanz (2014). Zdá se, že pyrethroidy zatím nemají tendenci navyšovat počet rezistentních jedinců krytonosce šesulového a díky jejich uspokojivé účinnosti je lze doporučit pro ošetření porostů řepky i v rámci uplatňování postupů antirezistentní strategie v ochraně proti těmto škůdcům řepky. Podobnou účinnost pyrethroidů na stejných lokalitách z let 2012 - 2014 publikovali Kocourek a Stará (2014), což dokazuje, že na těchto lokalitách prozatím nedochází k výrazné selekci rezistence k pyrethroidům.

Neonikotinoidy

Naopak je tomu u neonikotinoidů, kde získaná data prokazují selekční tlak a nedostatečnou účinnost účinných látek thiaclopridu a acetamipridu na některých lokalitách (Tab. 16, Tab. 17). Na těchto testovaných populacích se potvrdil trend sníženého účinku neonikotinoidů na krytonosce šešulové. To je v souladu s předešlým monitoringem rezistentních populací k neonikotinoidu acetamipridu na stejných lokalitách z let 2012 - 2014 (Kocourek a Stará, 2014). Snížení citlivosti k neonikotinoidům u populací krytonosce šešulového, zvláště pak k acetamipridu bylo zjištěno i v sousedním Polsku. (Zamojska a Wegorek, 2014). Z těchto důvodů by neměly být na lokalitách, kde se projevila populace se sníženou citlivostí neonikotinoidy dále v ochraně proti krytonoscům využívány, aby nedocházelo ke zvyšování selekčního tlaku a následně selekci vysoce rezistentních populací krytonosce šešulového na území České republiky.

Antirezistentní strategie

V ochraně proti krytonosci je třeba dodržovat obecná doporučení, střídát přípravky s různým mechanismem účinku a z různých skupin účinných látek, přizpůsobit aplikaci přípravků teplotním podmínkám, nesnižovat doporučenou dávku přípravku, používat pesticidní ochranu pouze na základě překročení prahů škodlivosti. Dále není vhodné používat tank-mix přípravků se stejným mechanismem účinku a tank-mix přípravků používat jen v případě, je-li takový způsob použití výrobcem doporučen (Kocourek a Stará, 2014).

6.3 Dřepčík olejkový

Pyrethroidy

Výsledky u vybraných šesti účinných látek ze skupiny pyrethroidů byly vyjádřeny pomocí LC_{50} a LC_{95} dřepčíka olejkového u obou testovaných populací. Pro úplnost byly do tabulky vloženy koncentrace účinných látek v ppm, které odpovídají 100 % maximálně povolené polní dávky přípravku přepočteno na 400 litrů vody na hektar. Výsledné hodnoty LC_{50} a LC_{95} ukazují, že obě hodnocené populace jsou velmi citlivé na účinné látky klasických pyrethroidů (deltamethrin, lambda-cyhalothrin, cypermethrin, tau-fluvalinate a esfenvalerate). Hodnoty letálních koncentrací LC_{50} i LC_{95} zvolených pyrethroidů byly vyšší (LC_{95} významně vyšší) u populace z Potěh oproti populaci z Prahy-Ruzyně. Získaná data pro lokalitu Ruzyně mohou být interpretována jako citlivost lokálních populací dřepčíka olejkového k pyrethroidům

na území České republiky, než se mohl projevit selekční tlak na rezistenci (baseline). Tyto údaje mohou být použity pro následný monitoring citlivosti dalších populací dřepčíka olejkového v České republice (Kocourek et al., 2015b). Jedinou výjimkou testovaných pyrethroidů byl etofenprox, který nebyl dostatečně účinný (Tab. 21). Kromě etofenproxu lze testované účinné látky ze skupiny pyrethroidů doporučit pro následující období, dokud nedojde k oslabení účinnosti selekcí rezistentních populací. Díky podobné chemické stavbě molekul lze předpokládat, že podobně vysokou účinnost mají i látky beta-cyhalothrin, gama-cyhalothrin, zeta-cypermethrin a alfa-cypermethrin.

Neonikotinoidy

Výsledky testování ukazují nedostatečnou účinnost neonikotinoidů, především u účinné látky thiacloprid, který se v současnosti v ochraně porostů řepky využívá. Hodnoty LC_{50} a LC_{90} pro thiacloprid (Tab. 21, 22) ukazují na vysoký stupeň rezistence dřepčíků z obou testovaných lokalit. Po aplikaci acetamipridu byly hodnoty LC_{50} a LC_{95} významně nižší než tomu bylo u thiaclopridu. Z výsledků se ukazuje velká variabilita účinnosti jednotlivých neonikotinoidů na dřepčíka olejkového. Oproti neonikotinoidům dříve používaných k moření osiva řepky je účinnost nesrovnatelná. Příčinou poklesu účinnosti testovaných neonikotinoidů je s vysokou pravděpodobností selekce v důsledku předchozího používání neonikotinoidních mořidel (Kocourek et al., 2015b). Z vyhodnocení získaných dat vyplývá, že přímý postřik na bázi thiaclopridu nelze proti dřepčíkovi olejkovému doporučit.

Organofosfáty

Za pomoci lahvičkového testu byla potvrzena snížená účinnost chlorpyrifosu, který je součástí přípravku Nurelle. Hodnoty LC_{50} a LC_{95} jsou u obou lokalit rozdílné. Díky velké variabilitě dat pro populaci Potěhy nebylo možné vymežit konfidenční interval. Zjištěná data naznačují riziko výskytu rezistentních populací dřepčíka olejkového k organofosfátům. Nutností je pak další monitoring citlivosti tohoto druhu k organofosfátům, jelikož se chlorpyrifos (přípravek Nurelle) doporučuje pro střídání s pyrethroidním ošetřením v rámci antirezistentní strategie.

Oxadiaziny (indoxacarb)

Ze skupiny oxadiazinů byla testována pouze jedna účinná látka indoxacarb. Tato účinná látka je povolena u jiných hmyzích škůdců nebo plodin, například přípravek Avaunt 15 EC, který je povolen proti blýskáčkovi v porostech řepky. Indoxacarb prokázal dostatečnou účinnost

u obou testovaných populací, hodnoty LC_{50} i LC_{95} ukazují vysokou citlivost brouků dřepčíka olejkového k této účinné látce (Tab. 21, 22). Měla by proběhnout diskuze o povolení přípravků s účinnou látkou indoxacarb do porostů řepky proti dřepčíku olejkovému. Povolení by zajistilo rozšíření antirezistentní strategie.

Antirezistentní strategie

Pro zajištění antirezistentní strategie je u dřepčíka olejkového k dispozici méně účinných látek, než je tomu například u blýskáčka řepkového. Díky zákazu neonicotinoidního moření osiva, které na dřepčíky působilo, se tento druh opět dostává mezi nezanedbatelné škůdce. Jak dokazuje monitoring v sousedním Německu, kde Zimmer et al. (2014a) potvrdil křížovou rezistenci dřepčíka k různým účinným látkám pyrethroidů, je potřeba uplatňovat antirezistentní strategii pro snížení či alespoň oddálení selekce rezistentních populací. Kocourek et al. (2015b) uvádí jako maximální počet pyrethroidního ošetření na podzim roven dvěma, výjimečně třem při aplikaci na výdrol, z toho na druhé či třetí podzimní ošetření doporučuje Nurelle, mimo jiné také pro jeho větší účinnost na již vylíhlé larvy. Jak již bylo zmíněno, je nutné povolit v ochraně proti dřepčíkům více účinných látek, z tohoto testování můžeme doporučit indoxacarb. Závěrem, výsledky nedoporučují využívat v ochraně proti dřepčíkovi olejkovému neonicotinoidy s účinnou látkou thiacloprid.

7 Závěr

Pyrethroidy

Z dosažených výsledků vyplývá, že účinnost testovaných pyrethroidů na vybrané populace blýskáčka řepkového byla nedostatečná. Jedinou výjimku tvořil tau-fluvalinate, který ve většině případů působil dostatečně a lze ho doporučit k dalšímu použití k ochraně proti blýskáčkům řepkovým.

Hodnocené populace krytonosce šešulového byly k pyrethroidům velmi citlivé a lambda-cyhalothrin i deltamethrin nevykazovaly známky zvyšování selekčního tlaku na rezistenci k pyrethroidům. Při případném používání pyrethroidů k ochraně proti krytonosci šešulovému je třeba zohlednit vliv na blýskáčka řepkového a z výsledků této práce lze přednostně doporučit tau-fluvalinate.

Výsledné hodnoty LC_{50} a LC_{95} dřepčíka olejkového ukazují, že obě hodnocené populace jsou velmi citlivé na účinné látky klasických (ester) pyrethroidů (deltamethrin, lambda-cyhalothrin, cypermethrin, tau-fluvalinate a esfenvalerate). Jedinou výjimkou testovaných pyrethroidů byl etofenprox, který nebyl dostatečně účinný.

Neonikotinoidy

Výsledné hodnoty LC_{50} a LC_{95} ukazují, že hodnocené populace blýskáčka řepkového jsou nedostatečně citlivé k účinným látkám thiaclopridu a acetamipridu.

U krytonosce šešulového získaná data prokazují selekční tlak a nedostatečnou účinnost účinných látek thiaclopridu a acetamipridu. Působení thiaclopridu přežívalo více jedinců než v případě acetamipridu. U testovaných populací se potvrdil trend sníženého účinku neonikotinoidů na krytonosce šešulového.

Výsledky testování dřepčíka olejkového ukazují nedostatečnou účinnost neonikotinoidů, především u účinné látky thiacloprid. Hodnoty LC_{50} a LC_{90} po působení thiaclopridu ukazují na velmi vysokou rezistenci dřepčíka olejkového z obou testovaných lokalit, naproti tomu účinnost acetamipridu na tohoto škůdce byla dostatečná.

Organofosfát chlorpyrifos účinkoval na dřepčíka olejkového zatím dostatečně. Indoxacarb, (oxadiazin) testovaný na blýskáčku řepkovém i dřepčíku olejkovém, prokázal dostatečnou účinnost. Metoda detekce rezistence topikální aplikace je citlivější pro většinu přípravků a lze ji použít u všech hodnocených účinných látek.

8 Seznam použité literatury

Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 2 (18). 265-267.

Anon. Rostlinolékařská diagnostika [online]. Resortní portál Ministerstva zemědělství. 2015a [cit. 2015-09-01]. Dostupné z <<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/skodlive-organisms/rostlinolekarska-diagnostika/>>.

Anon. Rostlinolékařský portál [online]. Resortní portál Ministerstva zemědělství. 2015b [cit. 2015-12-28]. Dostupné z <http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#ior|met:097a4ac9ec868121c8cd4d6f9a001c54|kap1:skudci|kap:63e674ca7e9d9ae87dae215de3004023>.

Anon. Rostlinolékařský portál [online]. Resortní portál Ministerstva zemědělství. 2015c [cit. 2015-11-20]. Dostupné z <http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#ior|met:097a4ac9ec868121c8cd4d6f9a001c54|kap1:skudci|kap:f50546d2ac767ccc6ca48bbc1a1c86de>.

Anon. Du pont, etiketa přípravku Steward. 2016a [cit. 2016-02-15]. Dostupné také z <http://agromanual.cz/download/pdf_etiketa/e_steward_30_wg.pdf>.

Anon. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský [online]. 2016b [cit. 2016-02-16]. Dostupné z <<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/skodlive-organisms/integrovan-a-ochrana-rostlin/kontrola-dodrzovani-zasad-ior/x2015/vysledky-monitoringu-dodrzovani-zasad.html>>.

Bečka, D., Vašák, J., Zukalová, H., Mikšík, V. 2007. Řepka ozimá pěstitelský rádce, Kurent, s.r.o., Praha, 56 s. ISBN: 978-80-87111-05-5. Dostupný také z : <http://www.agroporadenstvi.cz/UserFiles/File/Repka/MethodikaRepka_Tisk.pdf>.

Bloomquist, J. R. Insecticides: Chemistries and Characteristics 2nd Edition [online]. Emerging Pathogens Institute. November 2015 [cit. 2016-01-10]. Dostupné z <<http://ipmworld.umn.edu/bloomquist-insecticides>>.

Dong, K., Du, Y., Rinkevich, F., Nomura, Y., Xu, P., Wang, L., Silver, K., Zhorov, B.S. 2014. Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 50. 1-17.

Hansen, L. M. 2008. Occurrence of insecticide resistant pollen beetles (*Meligethes aeneus* F.) in Danish oilseed rape (*Brassica napus* L.) crops. *OEEP/EPPO Bulletin*. 38. 95–98.

Havel, J., Seidenglanz, M. 2012. Chyby při aplikaci insekticidů proti blýskáčkům a stonkovým krytonoscům. *Agromanuál*. 7 (3). 52-55.

IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) Susceptibility Test Method 011 [online]. June 2009 [cit. 2015-12-28]. Dostupné z <<http://www.irc-online.org/methods/meligethes-aeneus-adults>>.

Kazda, J., Mikulka, J., Soukup, J., Šaroun, J., Vaculík, A., Vašák, J., Volf, M. 2009. Jak dále v pěstování řepky ozimé. *DAS*. Praha. 60 s.

Kazda, J. 2012. Blýskáček řepkový. *Agromanuál*. 7 (3). 46.

Kazda, J., Prokinová, E., Ryšánek, P. 2007. Škůdci a choroby rostlin. *Euromedia Group*. Praha. 288 s. ISBN: 978-80-242-1886-1.

Kazda, J. 2014. Škůdci polní plodin. *Profi Press*. Praha. 111 s. ISBN: 978-80-86726-61-8.

Kocourek, F., Stará, J. 2014. První výskyty rezistentních populací krytonosce šešulového v ČR. Úroda. 10. 22-24.

Kocourek, F., Stará, J., Zichová T., Hubert, J., Nesvorná, M. 2015a. Metodika pro hodnocení rezistence škůdců k zoocidům pomocí biologických metod a antirezistentní strategie pro zabránění výskytu rezistence. 1. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby. ISBN: 978-80-7427-190-8.

Kocourek F., Stará J., Zdražil A. 2015b. Účinnost kontaktních insekticidů na dřepčíka olejkového. Úroda. 10 (9). 30-35.

Lokaj, Z., Uhlíř, P. 2009. Entomologie (nejen) pro farmáře. BASF s.r.o., Praha. 172 s.

Matsuda, K., Buckingham, S., Kleier, D., Rauh J. J., Grauso M., Sattelle D. and David B. Sattelle D. B. 2001. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. TRENDS in Pharmacological Sciences. 22 (11). 573-579.

Melander, A. L. 1914. Can Insects Become Resistant to Sprays? Journal of Economic Entomology. 7 (2). 167-173.

Nauen, R., Denholm, I. 2005. Resistance of Insect Pests to Neonicotinoid insecticides: Current Status and Future Prospects. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 58. 200-215.

Nauen, R., Zimmer, T. Ch, Andrews, M., Slater, R., Bass, Ch., Ekbom, B., Gustafsson, G., Hansen, M. L., Kristensen, M., Zebitz, P. W. C., Williamson, S. M. 2012. Target-site resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus* F. Pesticide Biochemistry and Physiology. 103 (3). 173-180.

Onstad, D. W. (ed.) 2008. Insect Resistance Management: Biology, Economics and Prediction. Elsevier. Amsterdam. p. 305. ISBN: 978-0-12-373858-5.

Prokop, M. 2012. Rezistence hmyzích škůdců vůči insekticidům. Farmář. 18 (12). 27-29.

Prokop, M. 2011. Obrana hmyzích škůdců před účinky insekticidních přípravků. Agromanuál. 6 (8). 34-35.

Rotrekl, J. 2000. Zemědělská entomologie (nejdůležitější škůdci polních plodin). Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Brno. 83 s. ISBN: 80-7157-473-2.

Sanchez, H. L., Hernandez, D. D, Martin, M. T., Nozal, M. J., Higes, M., Bernal, J. L. 2016. Residues of neonicotinoids and their metabolites in honey and pollen from sunflower and maize seed dressing crops. Journal of Chromatography A. 1428. 220-227.

Seidenglanz M., Poslušná J., Kolařík P., Rotrekl J., Havel J., Hrudová E., Tóth P., Bernardová M., Spitzer T. 2014: Citlivost blýskáčka, krytonosce a dřepčíků k insekticidům. Úroda. 62 (2). 42–46.

Seidenglanz, M., Poslušná, J., Rotrekl, J., Kolařík, P., Hrudová, E., Tóth, P., Havel, J., Bernardová M. 2015. *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae) resistance to lambda-cyhalothrin in the Czech Republic in 2012 and 2013. Plant Protection Science. 51. 94–107.

Slater, R., Ellis, S., Genay, J. P., Heimbach, U., Huart, G., Sarazin, M., Longhurst, C., Müller, A., Nauen, R., Rison, J. L., Robin, F. 2011. Pyrethroid resistance monitoring in European populations of pollen beetle (*Meligethes* spp.): a coordinated approach through the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). Pest Management Science. 67. 633-638.

Sparks, T.C. 2013. Insecticide discovery: An evaluation and analysis. Pesticide Biochemistry and Physiology 107 (9). 8-17.

Sparks, T.C., Nauen R. 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. Pesticide Biochemistry and Physiology. 121 (6). 122-128.

Spitzer, T. 2012. Dlouhodobé sledování vlivu insekticidního ošetření proti stonkovým krytonoscům. Agromanuál. 7 (3). 50-51.

Stará, J., Falta, J., Kocourek, F. 2009. Metodika hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k insekticidům. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 16 s. ISBN: 978-80-7427-020-8.

Státní rostlinolékařská správa. 2002. Metodická příručka pro ochranu rostlin. Díl II. živočišní škůdci. Státní rostlinolékařská správa odbor přípravků na ochranu rostlin v Brně. Brno. 414s.

Tiilikainen, T. M., Hokkanen, H. M. T. 2008. Pyrethroid resistance in Finnish pollen beetle (*Meligethes aeneus*) populations – is it around the corner? OEPP/EPPO Bulletin. 38. 99–103.

Wegorek, P., Zamojska, J. 2006. Resistance of pollen beetle (*Meligethes aeneus* F.) to pyrethroids, chloronicotinylns and organophosphorous insecticides in Poland. Integrated Control in Oilseed Crops IOBC/wprs Bulletin. 29 (7). 135-140.

Zamojska, J., Wegorek, P. 2014: Preliminary Studies on the Susceptibility Level of *Ceutorchynhus assimilis* (Coleoptera: Curculionidae) to Acetamiprid and Chlorpyrifos in Poland and Resistance Mechanisms of the Pest to Acetamiprid. Journal of Insect Science. 14. 265.

Zimmer, C. T., Nauen, R. 2011. Pyrethroid resistance and thiacloprid baseline susceptibility of European populations of *Melighetes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae) collected in winter oilseed rape. Pest Management Science. 67 (5). 599-608.

Zimmer, C. T., Bass, C., Williamson, M. S., Kausman., Wölfel, K., Gutbrod, O., Nauen, R. 2014b. Molecular and functional characterization of CYP6BQ23, a cytochrome P450 conferring resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus*. Insect Biochemistry and Molecular Biology. 45. 18-29.

Zimmer, C. T., Müller, A., Heimbach, U., Nauen, R. 2014a. Target-site resistance to pyrethroid insecticides in German population of the cabbage stem flea beetle, *Psylliodes chrysocephala* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). Pesticide Biochemistry and Physiology. 108. 1-7.

9 Seznam v textu uvedených tabulek a grafů

Tabulka 23: Seznam účinných látek povolených v České republice pro ochranu řepky před škůdci (skupiny insekticidů využitelné pro střídání v rámci antirezistentní strategie)

Tabulka 24: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Tabulka 25: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Tabulka 26: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Tabulka 27: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Tabulka 28: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Tabulka 29: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Tabulka 30: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené topikální aplikací

Tabulka 31: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 021 a 027

Tabulka 32: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Tabulka 33: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Tabulka 34: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Tabulka 35: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Tabulka 36: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců blýskáčka řepkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021 a 027

Tabulka 37 Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šešulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011 a 021

Tabulka 38: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šešulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011 a 021

Tabulka 39: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šešulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011 a 021

Tabulka 40: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šešulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 11 a 021

Tabulka 41: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šešulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 021

Tabulka 42: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců krytonosce šešulového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 021

Tabulka 43: Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců dřepčíka olejkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č.11, 021, 025 a 027

Tabulka 44. : Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC_{50} a LC_{95} v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců dřepčíka olejkového pro populaci na zvolené lokalitě z roku 2015 stanovené lahvičkovým testem podle metod IRAC č. 011, 021, 025 a 027

Graf 1: Kumulativní nárůst (a) počtu druhů rezistentních k jednomu nebo více insekticidům, (b) počet insekticidů, pro které jeden nebo více druhů prokazují rezistenci a (c) počet GMO plodin pro které byla zaznamenána rezistence.

Graf 2: Kumulativní nárůst jednotlivých případů rezistence u insekticidů, herbicidů a fungicidů.