

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Citlivost mandelinky bramborové k novým přípravkům na
bázi diamidů**

Bakalářská práce

Student: Petr Kolín

Obor: Rostlinná produkce

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

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

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Citlivost mandelinky bramborové k novým přípravkům na bázi diamidů" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce prof. Ing. Pavlu Ryšánkovi, CSc. a konzultantovi prof. RNDr. Ing. Františku Kocourkovi, CSc. za jejich trpělivost, odbornou pomoc a rady při zpracování práce. Dále bych rád poděkoval Ing. Tomáši Hovorkovi za veškerou pomoc a konzultace při zpracování práce. Děkuji také Ing. Jitce Staré, Ph.D. za pomoc při zpracování pokusů a výsledků a Bc. Janě Vincíkové s Annou Macákovou za pomoc v laboratoři při provádění pokusů. V neposlední řadě děkuji i přátelům a spolužákům, kteří mi poskytovali morální podporu a zlepšovali náladu v průběhu celého studia.

Citlivost mandelinky bramborové k novým přípravkům na bázi diamidů

Souhrn

Mandelinka bramborová je na našem území rezistentní k většině dříve používaných účinných látek insekticidů. Některé dosud účinné látky ze skupiny neonikotinoidů, jako byl thiamethoxam a thiacloprid, byly v posledních letech v EU zakázány. Ve spektru povolených přípravků na mandelinku bramborou zůstaly účinné diamidy konkrétně, obsažené např. v přípravcích Coragen a Benevia. Pro tyto přípravky je třeba zjistit citlivost škůdce před jejich plošným využíváním. V rámci bakalářské práce byla zpracována rešerše k uvedené problematice a experimentálně byla zjištěna citlivost několika populací k přípravkům na bázi diamidů. Pro účinné látky těchto přípravků byla stanovena hodnota LC50 a LC90 pro larvy L2 a L4 po topikální aplikaci a LC50 a LC90 po aplikaci přípravků na listy bramboru v požerovém testu. Výsledky testů prokazují, že diamidy jsou účinné insekticidy, u kterých dosud v ČR nedošlo ke vzniku rezistence. U požerového testu na larvách L2 byly hodnoty stupně rezistence u obou hodnocených diamidů na stupni 1 = vysoce citlivá populace. Výsledky práce ukazují, že u diamidů je pro hodnocení účinnosti vhodnější požerový test než test topikální. Účinné látky diamidů byly účinnější i při aplikaci na larvy vývojového stupně L2 oproti stupni L4.

Klíčová slova: mandelinka bramborová, rezistence, insekticidy, diamidy, *Leptinotarsa decemlineata*

Sensitivity of Colorado potato beetle to new insecticides based on diamides

Summary

The Colorado potato beetle within our borders is resistant to most groups of active pesticide compounds. Some of the still potent compounds from the group of neonicotinoids such as thiamethoxam and thiacloprid were banned in the EU. In the spectrum of still permitted effective compounds against the Colorado potato beetle remained diamides contained in the Coragen and Benevia. Susceptibility to those insecticides needs to be tested before a large-scale usage. The thesis consisted of research into the topic and susceptibility of several populations which were tested in laboratory experiments. Active components were tested using determination of the insecticidal effect LC50 and LC90 on larvae L2 and L4 with topical application and application on potato leaves where LC50 and LC90 were determined after the leaf consumption. Test results show diamides as effective insecticides without developed insecticidal resistance in the Czech Republic. Leaf consumption test on L2 larvae showed populations as highly susceptible for both tested diamides. Results of the thesis show that leaf application is more suitable for susceptibility testing than topical application for diamides. Active pesticide compounds of diamides were also more effective when applied on larvae L2 rather than larvae L4.

Keywords: Colorado potato beetle, resistance, insecticides, diamides, *Leptinotarsa decemlineata*

Obsah

1 Úvod	10
2 Cíl práce.....	11
3 Literární rešerše.....	12
3.1 Lilek brambor.....	12
3.1.1 Taxonomie	12
3.1.2 Popis.....	12
3.1.3 Agrotechnický význam bramboru	12
3.1.4 Hospodářský význam.....	13
3.1.5 Škůdci	13
3.2 Mandelinka bramborová.....	14
3.2.1 Taxonomie	14
3.2.2 Historie, výskyt a šíření	14
3.2.3 Příznaky poškození a hospodářský význam	15
3.2.4 Popis a Životní cyklus.....	16
3.2.4.1 Vajíčka	16
3.2.4.2 Larvy	16
3.2.4.3 Kukla.....	16
3.2.4.4 Dospělec.....	16
3.2.5 Monitoring a ochrana.....	16
3.3 Pesticidy	18
3.3.1 Historie.....	18
3.3.2 Mechanismy účinku	18
3.3.3 Klasifikace insekticidů.....	19
3.3.4 Insekticidy používané proti mandelince bramborové.....	19
3.3.4.1 Pyretroidy.....	19
3.3.4.2 Neonikotinoidy.....	20
3.3.4.3 Kombinace pyretroidu a organofosfátu.....	20
3.3.4.4 Spinosiny.....	20
3.3.4.5 Biologické přípravky.....	21
3.3.5 Diamidy	21
3.3.5.1 Mechanismus účinku.....	21
3.3.5.2 Spektrum použití	22
3.3.5.3 Cyantraniliprol	22
3.3.5.4 Chlorantraniliprol.....	22
3.4 Rezistence.....	24

3.4.1	Rezistence a tolerance.....	24
3.4.2	Mechanismy rezistence.....	24
3.4.2.1	Behaviorální rezistence.....	25
3.4.2.2	Fyziologická rezistence	25
3.4.3	Typy rezistence	26
3.4.3.1	Rezistence jednoduchá.....	26
3.4.3.2	Rezistence křížová	26
3.4.3.3	Rezistence mnohočetná	26
3.4.3.4	Rezistence kombinovaná	26
3.4.4	Detekce rezistence	26
3.4.4.1	Metody biologické.....	27
3.4.4.2	Metody biochemické	27
3.4.4.3	Molekulární metody.....	27
3.4.5	Řízení hmyzí rezistence	27
3.4.5.1	Antirezistentní strategie pro ochranu proti mandelince bramborové.....	28
3.4.5.2	Souhrn hlavních zásad integrované ochrany proti mandelince bramborové	28
4	Metodika.....	29
4.1	Materiál.....	29
4.1.1	Sběr a chov mandelinek.....	29
4.1.2	Chemikálie.....	29
4.2	Průběh pokusu.....	29
4.2.1	Požerový test.....	29
4.2.2	Topikální test	31
4.2.3	LC50 a LC90	31
5	Výsledky	32
5.1	Cyantraniliprol.....	32
5.1.1	Požerová aplikace	32
5.1.2	Topikální aplikace	32
5.2	Chlorantraniliprol.....	33
5.2.1	Požerová aplikace	33
5.2.2	Topikální aplikace	34
5.3	Stupeň rezistence.....	35
5.4	Index rezistence	36
6	Diskuze	38
6.1	Porovnání účinnosti na larvy L2 a L4 a požerové a topikální aplikace....	38
6.2	Stupeň rezistence.....	38
7	Závěr.....	40

8 Literatura.....	41
9 Seznam tabulek, obrázků a grafů.....	I

1 Úvod

Problematika ochrany rostlin před škůdci je stále aktuální téma. Mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824)) patří k nejrozšířenějším a nejvýznamnějším škůdcům lilku bramboru (*Solanum tuberosum* (Linné, 1753)).

Mandelinka ukazuje svou schopnost adaptace na množství dalších rostlin z čeledi *Solanaceae* spolu s adaptací k různým klimatickým podmínkám, což hrálo významnou roli při jejím globálním rozšíření. Nelze také přehlédnout rychlý vznik rezistence k insekticidním přípravkům (Schoville et al. 2018).

Důvodem je její adaptace na obranné látky rostlin, které je schopna detoxifikovat nebo tolerovat. Vznik rezistence také ovlivňuje vysoká plodnost, schopnost migrace a úzké spektrum hostitelských rostlin. Z agronomických faktorů jsou nejvýznamnější intenzita selekčního tlaku, tj. počet aplikací za rok a koncentrace pěstování brambor v regionu (Hausvater & Doležal 2014).

Pro ochranu před tímto hmyzím škůdcem bylo v průběhu let vyvinuto mnoho přípravků s cílem zamezit ztrátám na výnosu. Dospělci i larvy mandelinky bramborové škodí na rostlinách lilku bramboru především žírem natě. Výskyt obou vývojových stádií se časově prolíná, čímž zároveň roste význam mandelinky bramborové jako škůdce.

Přípravky určené pro ochranu rostlin před mandelinkou je třeba neustále nahrazovat, a to jak z důvodů vzniku rezistence, tak kvůli nově zjištěným nežádoucím účinkům na necílové organismy, mezi které patří i člověk, nebo účinkům na životní prostředí. Hausvater & Doležal (2014) uvádí, že od poloviny 20. století je známa rezistence mandelinky nejméně vůči 52 různým látkám ze všech hlavních tříd insekticidů.

V posledních letech byly zakázány látky ze skupiny organofosfátů – chlorpyrifos nebo chlorpyrifos-methyl a některé látky ze skupiny neonikotinoidů – thiaklopid (Minář 2020).

Na trhu se objevily nové látky ze skupiny diamidů. Byly syntetizovány na základě poznatků o insekticidních vlastnostech jihoamerického stromu *Ryania speciosa*. Princip účinku diamidů spočívá v jejich cílovém místě, kterým je ryanodinový receptor, který reaguje na vápenaté ionty v tělech živočichů (Van Petegem 2012).

Pro tyto přípravky je třeba zjistit jejich účinnost na populace mandelinky bramborové a porovnat ji s dalšími již používanými insekticidy na trhu.

2 Cíl práce

Cílem práce bylo zjistit účinnost nových insekticidů na bázi diamidů na mandelinku bramborovou. Práce se skládá z teoretické části zaměřené na problematiku rezistence a části experimentální. V teoretické části bylo zpracováno téma rezistence škůdců k insekticidům a zároveň stručně obsažena problematika mandelinky bramborové jakožto nejvýznamnějšího škůdce brambor. V experimentální části byly na třech populacích mandelinky bramborové provedeny několikadenní požerové testy na larvách vývojového stupně L2 a L4, doprovázené testy s topikální aplikací. Byla hodnocena mortalita po aplikacích několika koncentrací účinných látek přípravků. Výsledek byl posuzován na základě LC50 a LC90.

3 Literární rešerše

3.1 Lilek brambor

Lilek brambor (*Solanum tuberosum*) je původem rostlina pocházející z And, z tropických vysoce položených oblastí. Plodina je pěstována po celém světě, ale velký význam má v mírném podnebném pásu. Současná světová produkce se pohybuje okolo 308 milionů tun hlíz z 19 milionů ha (FAO 2020).

3.1.1 Taxonomie

Doména: *Eukaryota*

Říše: *Plantae*

Oddělení: *Magnoliophyta*

Třída: *Magnoliopsida*

Řád: *Solanales*

Čeleď: *Solanaceae*

Rod: *Solanum*

Druh: *Solanum tuberosum* (Linné, 1753)

3.1.2 Popis

Jedná se o vytrvalou bylinu s podzemními oddenkovými výběžky (stolony), na nichž se tvoří hlízy. Hlíza má na povrchu korkový parenchym, obsahuje škrob, bílkoviny, vitamíny C a B. Řapíkaté listy jsou přetrhovaně lichozpeřené a spolu s lodyhou krátce chlupaté. Květy jsou uspořádány v mnohokvětých vijanech. Koruna má bílou, růžovou nebo nařialovělou barvu, mnohé kultivary ale nekvetou. Plodem je kulatá bobule zelené až žlutozelené barvy. Semena jsou bílé barvy, zploštělá a mají ledvinovitý tvar. Období květu je od června do srpna (Novák & Skalický 2017; Rostlinolékařský portál 2020b).

3.1.3 Agrotechnický význam bramboru

Brambory jsou řazeny v osevním postupu ke zlepšujícím a odplevelujícím plodinám, nenáročným na předplodinu. Brambory hnojené organickými hnojivy nejčastěji zařazujeme mezi dvě obilniny. Jako předplodina zanechávají ornici v dobrém kulturním stavu po mechanickém intenzivním ošetření a úspěšném ničení plevelů. Plné porosty zastiňují půdu a přispívají tak k půdní zralosti. Opakované pěstování brambor po sobě nebo nedodržení intervalu alespoň tří let v osevním postupu představuje nebezpečí v zamoření hád'átkem bramborovým, zvýšený výskyt mandelinky bramborové, vyšší tlak plísně bramborové, kořenomorky bramborové a viróz. Další nebezpečí spočívá v hlízách zanechaných v půdě. Plevelné brambory se pak stávají shromaždištěm škůdců a původců chorob, tím ohrožují další porosty a zabraňují ozdravení půdy (Pulkrábek 2020).

3.1.4 Hospodářský význam

Brambory hrály důležitou roli v růstu lidské populace. Především z důvodu, že poskytují největší počet živin a dostatečné množství vitamínů v poměru k využití pěstební ploše (Langer 1963).

Langer (1963) dále uvádí, že brambory výrazně přispěly ke zlepšení zemědělské produktivity a přinesly výživnější potravu v porovnání s plodinami Starého světa.

Data Českého statistického úřadu uvádí, že za rok 2019 bylo v České republice sklizeno celkem 28 868 ha brambor, z toho v zemědělském sektoru 22 894 ha a v rámci samozásobení domácností (plochy do 1 ha) 5 974 ha. Celková produkce brambor dosáhla 756 310 tun. Průměrný výnos u brambor celkem dosáhl 26,20 t/ha (Agrární komora České republiky 2020).

3.1.5 Škůdci

Mimo mandelinky bramborové patří mezi časté škůdce larvy kovaříkovitých (*Elateridae*), označovaní také jako drátovci, mšice (*Aphididae*) a osenice polní (*Agrotis segetum*) (Rostlinolékařský portál 2020b).

Mezi potenciální škůdce můžeme považovat dřepčíky rodu *Epitrix*, kteří způsobují škody na hlízách bramboru. Jejich výskyt v Evropě byl potvrzen v Portugalsku a Španělsku. Dle EPPO jsou potenciálně závažní škůdci a v rámci Evropské unie byla přijata opatření k omezení šíření tohoto škůdce (Růžička 2011, Kroutil 2017).

3.2 Mandelinka bramborová

Mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata*), také označovaná jako americký brouk podle pojmenování propagandy československé vlády v 50 letech, případně nazývaná koloradský brouk, tedy názvem odvozeným od anglického pojmenování Colorado potato beetle, patří mezi nejvýznamnější škůdce brambor.

3.2.1 Taxonomie

Doména: *Eukaryota*

Říše: *Metazoa*

Kmen: *Arthropoda*

Třída: *Insecta*

Řád: *Coleoptera*

Čeleď: *Chrysomelidae*

Rod: *Leptinotarsa*

Druh: *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824)

3.2.2 Historie, výskyt a šíření

Mandelinku bramborovou objevil v roce 1811 Thomas Nuttall a následně v roce 1824 ji popsal a pojmenoval Thomas Say ze vzorků získaných z Rocky Mountains (Skalnaté hory) v Coloradu, kde se vyskytovala na rostlinách z čeledi *Solanaceae* – *Solanum rostratum*. Po zahájení pěstování brambor v této oblasti (1845–1850) se objevila velmi brzo i na nich. Odtud se dále šířila do oblastí na východ až k pobřeží Atlantiku. V roce 1874 se poprvé objevila i v Evropě, a to v okolí velkých přístavů, kam byla zavlečena obchodními loděmi (Doležal & Hausvater 2018).

Mandelinka se v Evropě po zavlečení začala hromadně rozšiřovat nejdříve ve Francii, (Bordeaux) v roce 1922. Brouk se rychle šířil Evropou navzdory intenzivní snaze jeho expanzi zabránit. V Belgii a Španělsku byl poprvé zaznamenán v roce 1935, v Lucembursku 1936, v Holandsku a Švýcarsku v roce 1937, v Rakousku 1941, v Maďarsku a původním Československu v roce 1945, v Polsku a Rumunsku v roce 1947 a v Turecku v roce 1949. V současné době je tento škůdce rozšířen ve všech zemích bývalého SSSR a postupně se rozšířil dále na východ, především do míst s intenzivní produkcí brambor. V Číně byla mandelinka zaznamenána v provincii Xinjiang až v roce 1993 (Liu et al. 2012).

Přemnožení mandelinky bramborové, ke kterému v Evropě došlo v roce 1950, bylo u nás, v Německé demokratické republice a Polské lidové republice propagandisticky využito. Rozvinula se rozsáhlá kampaň, která byla vedena jak po linii státní, tak stranické. Kampaň provázející boj proti mandelince bramborové probíhala nejmohutněji v roce 1950, ale proti „americkému brouku“, kterého k nám „úmyslně zavlekli úkladní imperialisté“, se bojovalo po celá padesátá léta. Své mytizace byl brouk zbaven až s postupným politickým uvolňováním v letech šedesátých. Zase se stal obyčejným škůdcem, který se v klimaticky vhodných podmínkách dokáže rychle množit a napáchat obrovské škody (Formánková 2008).

Mandelinka bramborová je škůdce, který má v zemích, kde se vyskytuje, největší ekonomický dopad na produkci brambor díky škodám, které způsobuje (Hare 1990).

Plocha zasažená mandelinkou zabírá okolo 8 milionů km² v Severní Americe a stejně velkou plochu na Euroasijském kontinentu. Nezasažené klimaticky vhodné oblasti jsou části východní Asie, části Indického subkontinentu, oblasti mírného podnebného pásu v Jižní Americe, Africe a Austrálii (Weber 2003).

Dospělci se šíří létáním i pohybem po zemi. Slunečné počasí s průměrnými teplotami mezi 17-20 °C vede k masivnímu šíření. Dospělec se po zemi pohybuje rychlostí až 2,1 cm/s. Let je možný, když teplota vzroste nad 15 °C a odhaduje se, že brouk se při něm pohybuje rychlostí mezi 2,2 a 3 m/s. Přelety se uskutečňují v oblastech nízko nad zemí, většinou do 10 metrů. Avšak v rámci velkých polních celků je častější přesun po zemi než přelet. Migrační lety, které mohou být v rámci stovek metrů, jsou většinou uskutečňovány ve výškách do 15 metrů nad zemí. Letící jedinci však mohou být zachyceni větrem a vzdušnými proudy mohou být pasivně šířeni stovky kilometrů i přes vodní plochy. Dospělci mohou být přenášeni také vodou (Bach 1982; Boiteau et al. 2003; MacQuarrie & Boiteau 2003; EPPO 2020).

Dospělci i larvy se mohou lehce šířit antropogenně, a to ve všech formách balení a převozu hostitelských rostlin. Právě mezinárodní přeprava čerstvé zeleniny pěstované na půdách s přezimujícími brouky je jeden z jeho běžných transportů (Breithaupt 2010).

Mandelinka je úzce vázána na rostliny čeledi *Solanaceae*, zejména rostliny rodu *Solanum*. Mezi rostliny, které napadá, patří *Solanum cornutum* (lilek zobanitý), *Solanum nigrum* (lilek černý), *Solanum melongena* (lilek vejcoplodý), *Solanum dulcamara* (lilek potměchuť), *Solanum luteum* (lilek žlutý), *Solanum tuberosum* (lilek brambor) a *Solanum elaeagnifolium* (lilek hlošinolistý). Dále napadá další rostliny této čeledi *Solanum lycopersicum* (rajče jedlé) a rostliny rodu *Capsicum* (paprika) Napadání nekulturních druhů může sloužit jako zdroj napadení kulturních rostlin (Biological Record Centre 2020).

3.2.3 Příznaky poškození a hospodářský význam

Škodí brouci i larvy. Brouci a larvy způsobují požerky většinou od okraje listů. Při nekontrolovaném rozmnožení způsobují holožírny a snížení výnosu hlíz o desítky procent. V České republice způsobuje největší škody v teplejších ranobramborářských oblastech na jižní Moravě a v Polabí, kde stihne vytvořit i dvě úplné generace za rok (Rostlinolékařský portál 2020a).

V období, kdy již nemá dostatek „zelené potravy“ se často přesouvá i na hlízy, a to nejenom na ty, které vyčnívají ze země, ale i na hlízy těsně pod povrchem půdy. Jedná se především o dospělé druhé generace. Žír na rostlinách provádí jak larvy ve všech vývojových stadiích, tak dospělci. Uvádí se, že jedna larva mandelinky bramborové spotřebuje během svého celého larválního vývoje 40 cm² listové plochy a dalších 10 cm² denně jako dospělý brouk (Doležal & Hausvater 2018).

3.2.4 Popis a Životní cyklus

3.2.4.1 Vajíčka

Žlutá nebo světle oranžová, oválně protáhlá vajíčka jsou přibližně 1,2 mm dlouhá. Jsou kladena ve shlucích přibližně 12–25 vajíček na spodní stranu listu brambor. Samičky je k listu přilepují speciálním sekretem. Delší osa vajíčka je téměř kolmá k povrchu listu. Vajíčka ve shluku obvykle tvoří nepravidelné řádky a larvy se z nich líhnou zároveň (CABI 2020).

Průměrná plodnost jedné samice je 500 vajíček. Embryonální vývoj je závislý na teplotě, při 20 °C se larvy líhnou v průměru za 10 dnů (Rostlinolékařský portál 2020a).

3.2.4.2 Larvy

Larvy prochází čtyřmi vývojovými stupni (instary) označované L1, L2, L3, L4 (Rostlinolékařský portál 2020a).

Jejich barva se mění v průběhu vývoje. První instar je třešňově červený, nohy a hlava jsou černé, lesklé. S dalšími instary se barva mění na mrkvově červenou až bledě oranžovou. Hlava a nohy jsou černé až tmavě hnědé na hřbetě se nachází dvě řady nápadné, tečkované kresby. Zcela vyvinutá larva posledního instaru je přibližně 15 mm dlouhá (CABI 2020).

3.2.4.3 Kukla

Po dokončení vývoje larvy zalézají do země, nejčastěji do hloubky 5–12 cm, kde se kuklí a přibližně po 14 dnech se líhnou dospělci (letní brouci), kteří mohou být v příznivých teplotních podmínkách základem pro vývoj druhé generace. Část populace však v některých letech vytváří neúplnou nebo úplnou druhou generaci, především v teplejších oblastech (Rostlinolékařský portál 2020a).

3.2.4.4 Dospělec

Hlava a hřbet jsou žluto oranžové s černou kresbou, nohy oranžovo žluté, krovky žluto oranžové s pěti podélnými pruhy černé barvy. Délka těla je přibližně 8,5 – 11,5 mm (CABI 2020).

Přezimuje brouk v půdě v hloubce 10–40 cm. Úspěšnost přezimování záleží nejvíce na dostatku a kvalitě potravy v závěru vegetace a také na průběhu zimy. Úspěšnější přezimování je v lehčích písčitých půdách a v méně proměnlivých teplotních a vlhkostních podmínkách. Brouci vylézají ze země obvykle v polovině května po vzestupu teplot v půdě na 14 °C, vyhledávají potravu a páří se. K oplození samic však může dojít již na podzim (Rostlinolékařský portál 2020a).

3.2.5 Monitoring a ochrana

Výskyt škůdce se zjišťuje počítáním dospělců a ohnisek larev na 1 ha. Závisí na koncentraci ploch a četnosti zařazení brambor v osevních sledech, průměrné teplotě oblasti a na příznivých podmínkách pro přezimování. Ty jsou vhodnější v lehčích písčitých půdách, naopak

v těžkých půdách a půdách s vysokým obsahem humusu je úhyn vyšší. Z hlediska průběhu zimy dospělci dobře přezimují v zimách chladnějších se stálým počasím, při proměnlivém počasí a častém rozmrzání půdy přežívá méně jedinců, v teplých zimách jsou také více napadáni bakteriemi a plísněmi. Prognózu lze provádět podle počtu dospělců v porostech v jarním období. Předpoklad potřeby ošetření je při výskytu 100 brouků na jaře po náletu do porostů. Za práh škodlivosti je pak považováno 14 ohnisek larev na 1 ha nebo výskyt 5000 larev na 1 ha. V praxi však rozhodování podle těchto hodnot nelze paušalizovat. Je známo, že výskyt škůdce v porostu není rovnoměrný, a zvláště plochy o více hektarech nevyžadují přímý zásah na celé ploše, což platí zejména v bramborářské oblasti (Hausvater & Doležal 2014).

U mandelinky bramborové, která je jedním z hlavních škůdců lilkovitých plodin po celém světě, již bylo zkoušeno mnoho strategií ochrany rostlin. Mezi tyto strategie patří například ruční sběr, využití predace ptáky, využití přirozených nepřátel, postřiky hranic pozemků, příkopové lapače, použití tepelného ničení pomocí propanových pleček a střídání plodin (Casagrande 1987).

3.3 Pesticidy

Pesticidy jsou chemické prostředky využívané k hubení a ochraně před škůdci. Kořen slova je latinské „*cida*“ což znamená zabít. Obecný termín „pesticidy“ lze použít na široké spektrum chemických látek včetně insekticidů, rodenticidů, herbicidů, fungicidů a podobných chemikálií (Morrison & Murphy 2006).

Organizace OSN pro výživu a zemědělství uvádí následující definici pesticidů: „Pesticidy zahrnují skupiny insekticidů, fungicidů, herbicidů, dezinfekčních prostředků a jakýchkoliv látek nebo směsí látek určených k prevenci, ničení nebo tlumení jakéhokoli škůdce, včetně vektorů patogenů lidí nebo zvířat, nežádoucích druhů rostlin nebo zvířat způsobující ztráty během produkce nebo zpracování, skladování, přepravy nebo uvádění na trh potravin, zemědělských komodit, dřeva a dřevěných výrobků nebo krmiv pro zvířata nebo látek, které lze podávat zvířatům za účelem hubení hmyzu, pavoukoců nebo jiných škůdců v tělech nebo na jejich tělech. Termín zahrnuje látky určené k použití jako regulátory růstu rostlin, defolianty, vysoušedla nebo prostředky k probírce ovoce nebo k prevenci předčasného opadu ovoce, a látky aplikované na plodiny před nebo po sklizni k ochraně komodity před znehodnocením během skladování a přepravy (Roser 2019).

3.3.1 Historie

Snad první zaznamenané použití pesticidů bylo kolem roku 1550 před naším letopočtem, kdy Egypťané používali k hubení blech v domovech nespécifikované chemikálie. Řecký básník Homer (asi 800 př. n. l.) psal o mytologickém hrdinovi Odysseovi který během svého putování popsaném v *Odyssey* spaloval síru „za účelem očištění haly, domu a dvora“. Kolem roku 900 př. n. l. byl v Číně používán jako insekticid arzen. Plinius Starší (23–79 n. l.), římský válečník a filozof, popsal ve svém díle *Naturalis historia* množství použití raných insekticidů, včetně žluči ještěrky zelené k ochraně jablek před červy a hnilobou. Později najdeme řadu použitých materiálů s pochybnými výsledky: mezi nimi například výtažky z pepře a tabáku, mýdlové vody, vápna, octa, terpentýnu, rybího oleje, solanky. Do roku 1870 našeho letopočtu bylo jako pesticidy použito mnoho anorganických chemikálií. Na začátku druhé světové války (1940) byl výběr insekticidů omezen na několik arseniků, ropných olejů, nikotinu, řimbaby, rotenonu, síry, plynného kyanovodíku a kryolitů. Byla to právě druhá světová válka, která otevřela éru moderní chemické kontroly zavedením nové koncepce kontroly hmyzu – syntetických organických insekticidů, z nichž první bylo DDT (Freedman 1994; Ware & Whitacre 2004).

3.3.2 Mechanismy účinku

Insekticidy můžeme rozdělit dle způsobu jakým se dostanou do těla škůdce, či jakým způsobem jsou distribuovány ošetřenou rostlinou (Šefrová 2006).

Dotykové (kontaktní) insekticidy působí na hmyz po zasažení a do těla se dostávají přes kutikulu, dále požerové (žaludeční) insekticidy, které přijímá hmyz s potravou a také respirační (dýchací) insekticidy pronikající do těla skrz průduchy (plyny, látky s vysokou tenzí par). Některé přípravky mají kombinovaný (polyvalentní) účinek, obvykle s převahou určitého typu působení. Pesticidy s hlubkovým účinkem pronikají do rostlinných pletiv a hubí hmyz i na protilehlé straně listu, než na kterou byly aplikovány, ale nejsou rozváděny vodivými pletivy.

Systémově působící přípravky jsou rozváděny vodivými pletivami, působí i na místech nezasažených postřikem a na přírůstcích rostlin a jejich účinnost není ovlivňována povětrnostními vlivy (Šefrová 2006).

V těle škůdce se účinná látka šíří hemolymfou a ovlivňuje nejrůznější orgány a životní funkce. Velkou skupinu tvoří nervové jedy narušující přenos nervových vzruchů. Tyto látky, například organofosfáty, karbamáty nebo chlornikotinyly, inhibují enzym acetylcholinesterázu, který katalyzuje štěpení acetylcholinu. Když v těle hmyzu objeví nadbytek acetylcholinu, nemůže dojít k přenosu vzruchu a jeho nepřetržité trvání vede ke křečím a hynutí hmyzu. Jiné látky mění propustnost membrán nervových buněk pro sodíkové nebo draselné kationty, sem patří chlorované uhlovodíky a pyretroidy. Propustnost membrán nervových buněk může být ovlivněna také pro chloridové anionty, to způsobují látky ze skupiny avermektinů. Výsledný efekt vede k narušení elektrického potenciálu vně a uvnitř buňky a následné vedení nervových vzruchů, což se opět projevuje ztrátou koordinace, křečemi a hynutím postižených jedinců. Inhibitory syntézy chitinu jsou požerové a ovlivňují enzymatický proces tvorby chitinu a tím brání vzniku nové kutikuly během vývoje. Při přechodu do následujícího instaru dochází k poruchám, vývoji defektních jedinců nebo jejich hynutí ještě před svlékáním. Ontogenezi narušují také analogy hmyzích hormonů, nejčastěji juvenilního hormonu. Synteticky vytvořené látky na bázi juvenoidního hormonu, označované jako juvenoidy, vyvolávají vznik přespočetných larválních instarů, larvy jsou neschopny se zakuklit a hynou nebo jsou kukly defektní, dospělci kladou sterilní vajíčka. Při jejich aplikaci přímo na vajíčka dochází k poruchám embryogeneze (Šefrová 2006).

3.3.3 Klasifikace insekticidů

Jako přírodní insekticidy jsou označovány látky produkované rostlinami. K nejznámějším patří nikotin, anabasin, amygdalin, quassasiin, ryanodin, pyretrin a další (Šefrová 2006).

Syntetické insekticidy jsou anorganické nebo organické povahy. Anorganické insekticidy jsou většinou jedovaté také pro teplokrevné obratlovce, proto se v současnosti obvykle nepoužívají. Patří sem sloučeniny arzenu, fluoru a barya, polysulfidy vápníku, síranovápenná jílka, propargit, methylbromid a dusíkaté vápno. Organické insekticidy zahrnují látky s různým chemickým složením a působením (Šefrová 2006).

ÚKZÚZ spravuje registr obsahující přípravky registrované v České republice a souběžně dovážené přípravky na ochranu rostlin podle zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči.

3.3.4 Insekticidy používané proti mandelince bramborové

3.3.4.1 Pyretroidy

Termín pyretroid se běžně používá k označení syntetického insekticidu, který je strukturálně odvozen od přírodních pyretrinů (Soderlund et al. 2002).

Hlavní nevýhodou využití pyretra jako insekticidu je jeho nestabilita na slunci a vzduchu, která tak snižuje jeho efektivitu při ochraně před škůdci, u které je reziduální aktivita klíčová. Vývoj syntetických pyretroidů je výsledkem snahy o úpravu struktury přírodních pyretrinů za účelem zvýšení fotostability při zachování silné a rychlé insekticidní aktivity a relativně nízké akutní toxicity toxinu pyretrinu pro savce (Soderlund et al. 2002).

Je známo, že pyretroidy narušují běžnou funkci hmyzího nervového systému úpravou propustnosti sodíkových kanálů citlivých na napětí, které zprostředkovávají přechodné zvýšení propustnosti sodíku pro nervovou membránu, která slouží pro přenos nervového vzruchu (Soderlund et al. 2002).

Pyretroidy slouží k ochraně před širokým spektrem škůdců, i když se dávka účinné látky u nejcitlivějších a nejodolnějších druhů může výrazně lišit. V rostlinné produkci se pyretroidy používají na stejných plochách jako insekticidy, akaricidy a ovicidy. Pro ochranu včel musí být pyretroidy aplikovány v takových časech a množstvích, aby se minimalizovaly škody na opylovačích a včelstvech (Casida 1980).

3.3.4.2 Neonikotinoidy

Neonikotinoidy patří do skupiny syntetických insekticidů. Jsou běžně používány v zemědělství k ochraně rostlin před napadením škůdci. Obzvláště účinné jsou proti savým škůdcům, jako jsou mšice či molice i škůdcům způsobujícím žír na rostlinách, mezi které patří například brouci. Mimo využití v zemědělství se také používají pro ochranu před parazity lidí i zvířat, jako jsou štěnice nebo blechy. Jak jejich jméno naznačuje, neonikotinoidy jsou chemicky příbuzné nikotinu – velice účinnému přírodnímu insekticidu, který produkují rostliny tabáku jako ochranu před býložravým hmyzem. Stejně jako nikotin i neonikotinoidy působí na nervový systém hmyzu, přesněji nikotinový acetylcholinový receptor, iontový kanál, který má klíčovou roli v přenosu nervového vzruchu (Jeschke et al. 2011).

V roce 2020 Evropská komise rozhodla o neschválení účinné látky thiaklopid, která se řadí do skupiny neonikotinoidů. Odkladná lhůta proto skončila 3. února 2021. Důvodem neschválení bylo riziko kontaminace podzemních vod metabolity thiaklopidu s možnými škodlivými účinky na lidské zdraví. Nemohla být také plně posouzena rizika pro vodní organismy, včely a necílové suchozemské rostliny (Minář 2020).

3.3.4.3 Kombinace pyretroidu a organofosfátu

Přípravky z této kategorie používané proti mandelince bramborové již nelze používat. Jednalo se o přípravky Nurelle D, Nurelle a Daskor. Přípravky obsahují účinnou látku chlorpyrifos nebo chlorpyrifos-methyl a Evropská komise rozhodla o jejich neschválení na základě jejich genotoxického potenciálu. Odkladná lhůta pro doprodej i spotřebu končila současně, dne 16. dubna 2020 (Minář 2020).

3.3.4.4 Spinosiny

Spinosad je insekticid produkováný Dow Agrosience (Indianapolis, Indiana, USA), který se získává fermentací z přirozeně se vyskytujících půdních aktinomycet *Saccharopolyspora spinosa*. Spinosad obsahuje dva insekticidní faktory, spinosin A a D, které jsou v konečném produktu obsaženy v poměru přibližně 85:15. Spinosad je vysoce efektivní jak při pozření, tak přiřímené aplikaci na tělo mnoha škůdců z čeledí *Lepidoptera*, *Diptera*, *Thysanoptera*, *Coleoptera*, *Orthoptera*, *Hymenoptera* a dalších. Působí na nikotinové acetylcholinové a gama aminomáselné (GABA) receptory nervového systému hmyzu. Škůdci

po zasažení přestávají s požerem a do 24 hodin dochází k paralýze a smrti. Kromě toho spinosad vykazuje nízkou toxicitu pro savce (Cisneros et al. 2002; Hertlein et al. 2011).

3.3.4.5 Biologické přípravky

V České republice se proti mandelince používá jeden biologický přípravek, a to NeemAzal T/S obsahující účinnou látku azadirachtin.

Azadirachtin je triterpentoid ze skupiny limonoidů, který se nachází ve třech druzích stromů *Azadirachta indica*, *A. excelsa* a *A. siamensis*. Jedná se o chemicky zajímavou látku, která je díky své komplexní struktuře složitě syntetizována. Z biologického hlediska působí jako antifeedant, tj. prostředek odpuzující nebo zabraňující příjmu potravy hmyzu a jako růstový disruptor pro většinu hmyzu. Pro obratlovce je však tato látka netoxická. Azadirachtin je předmětem zkoumání pro chemiky i biology už přes 40 let. Jako významný přírodní pesticid však ještě nedosáhl významného místa na trhu (Morgan 2009).

3.3.5 Diamidy

Insekticidy na bázi diamidů mají společné cílové místo, ryanodinový receptor a jsou řazeny ve skupině 28 – Modulátory ryanodinových receptorů, IRAC klasifikace. Flubendiamid je ftalový diamid, zatímco chlorantraniliprol a cyantraniliprol jsou anthranilické diamidy. I přes strukturální odlišnosti se obě skupiny váží na stejné místo receptoru. Jiný výzkum ukazuje na možnost že u mouchy se ftalové a anthranilické insekticidy váží na odlišná alosterická místa ryanodinových receptorů (Teixeira & Andaloro 2013).

Ryanodinové receptory hmyzu navzájem vykazují výraznou podobu v sekvenci aminokyselin, ale jsou výrazně odlišné od receptorů zastoupených u savců (Sattelle et al. 2008).

3.3.5.1 Mechanismus účinku

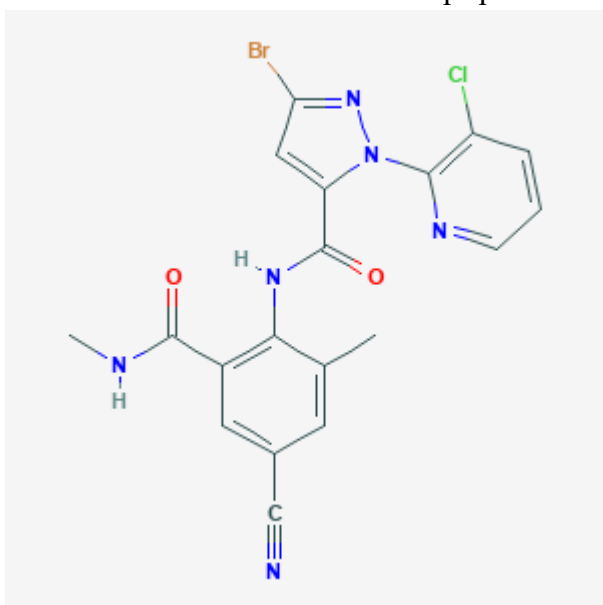
Ryanodinové receptory jsou pojmenované podle ryanodinu, sekundární látky produkované a získávané z rostliny *Ryania speciosa*. Ryanodinový receptor moderuje vypouštění vápenatých iontů z vápníkových kanálů a nachází se na endoplazmatickém retikulu. Ryanodin se naváže na ryanodinové receptory a naruší tak tok vápníku tím, že jej zablokuje v částečně otevřeném stavu. V minulosti byl proto používán jako insekticid, ale vysoká toxicita ryanodinu pro savce jej vyloučila z dalšího užívání v polních podmínkách. Avšak snaha o využití blokace vápených kanálů s použitím insekticidních molekul přetrvala. Úspěch s využitím tohoto principu přišel s potvrzením účinnosti mechanismu účinku u flubendiamidu, objeveného Nihon Nohyankem v Japonsku, který se zaměřoval na modulaci (otevření) ryanodinového receptoru. Podobné výsledky byly získány společností DuPont s účinnými látkami chlorantraniliprol a cyantraniliprol. Tento výzkum potvrdil, že insekticidy na bázi diamidů dosahují požadovaného efektu na vápené kanály bezpečněji a efektivněji než samotný ryanodin. Diamidy se váží na ryanodinové receptory, čímž způsobí, že vápené kanály zůstanou otevřené, což vede k nekontrolovatelnému uvolnění zásob vápníku v organismu. Jelikož se vápník podílí na množství buněčných procesů, vede ztráta schopnosti regulovat vápník k letargii, zastavení krmení a následně ke smrti cílového organismu (Teixeira & Andaloro 2013).

3.3.5.2 Spektrum použití

Spektrum použití diamidů je široké. Chlorantraniliprol je účinný vůči druhům molic, hmyzu způsobujícímu minování, brouků, termitů a motýlů. Cyantraniliprol působí na druhy z řádů *Lepidoptera*, *Homoptera*, *Coleoptera*, *Diptera* and *Thysanoptera*. Kromě aplikace na povrch rostliny může být chlorantraniliprol a cyantraniliprol aplikováno do rostliny přes kořenový systém, tedy umožňuje aplikaci látek přímo do půdy systémy kapkové závlahy, postřikem do brázd, či jiným zapravením účinné látky do půdy (Teixeira & Andaloro 2013).

3.3.5.3 Cyantraniliprol

Cyantraniliprol (Obrázek 1) je triviální název účinné látky 5-bromo-2-(3-chloropyridin-2-yl)-N-[4-cyano-2-methyl-6-(methylcarbamoyl)phenyl]pyrazole-3-carboxamide, která je k roku 2021 na českém trhu obsažena v přípravcích Benevia a Exirel.

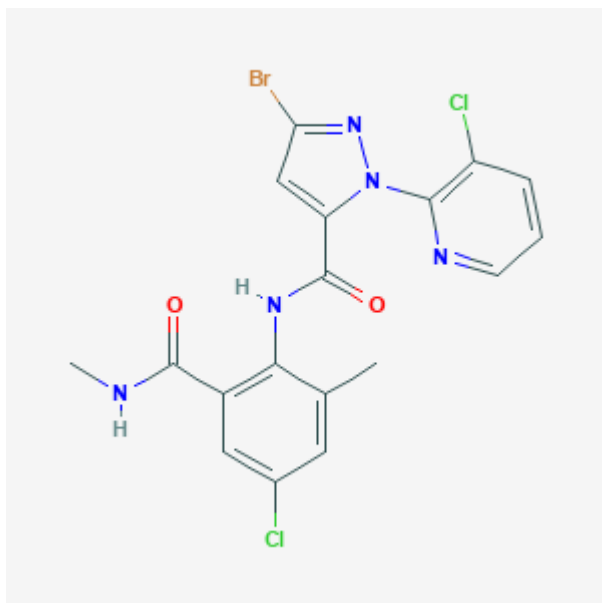


Obrázek 1: Chemická struktura cyantraniliprolu (Zdroj: PubChem; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

Pro pozemní aplikaci proti mandelince bramborové na porost bramboru se pro přípravek Benevia doporučuje 300-600 litrů vody na hektar, s dávkou 0,125 l/ha. Přípravek aplikujeme v růstových fázích 12-70 BBCH, avšak možná je pouze jedna aplikace přípravku za růstové období. Ochranná lhůta pro poslední aplikaci do porostu před sklizní je 14 dní (eagri.cz 2021a).

3.3.5.4 Chlorantraniliprol

3-bromo-N-[4-chloro-2-methyl-6-[(methylamino)carbonyl]phenyl]-1-(3-chloro-2-pyridinyl)-1H-pyrazole-5-carboxamide triviálním názvem chlorantraniliprol (Obrázek 2) je účinná látka obsažená v registrovaných přípravcích Ampligo, Coragen 20 SC a Voliam Targo.



Obrázek 2: Chemická struktura chlorantraniliprolu (Zdroj: PubChem; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

Do porostu bramboru se přípravek Coragen 20 SC aplikuje s těmito doporučeními. Dávka vody se pohybuje v rozmezí 300-600 l/ha. Aplikujeme na porost pouze jedenkrát za růstové období v rozmezí růstových fázích 31-60 BBCH podle signalizace. Dávka účinné látky na hektar je 0,05-0,06 l/ha a ochranná lhůta pro poslední aplikaci před sklizní je 14 dní (eagri.cz 2021b).

3.4 Rezistence

Při opakovaném používání pesticidů dochází postupně k selekci rezistentních populací škůdců, která je závažným problémem v současných systémech pěstování zemědělských plodin. Rezistence může být definována mnoha způsoby. Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) (2020) definuje rezistenci jako „dědičnou změnu v citlivosti populace škůdce, která se projeví při opakovaném neúspěchu látky ve snaze docílit požadované úrovně ochrany, za použití doporučené dávky přípravku na daného škůdce“.

Lee et al. (2001) uvádí definici podle Světové zdravotnické organizace z roku 1971, formulovanou jako „Získanou vlastnost kmene škůdce, která mu umožňuje tolerovat takové dávky toxické látky, které by byly letální pro běžnou populaci stejného druhu“.

Od poloviny dvacátého století se zemědělství spolu s insekticidy pohybuje ve stejném schématu. Agrochemický průmysl představí insekticid, škůdci si vytvoří rezistenci, je představen nový přípravek jako náhrada a ten se používá, dokud si na něj škůdce opět nevytvoří rezistenci. Časy velkého množství levných širokospektrálních insekticidů již skončily. Vývoj a registrace nových insekticidů je stále složitější a dražší proces. Navíc současně používané přípravky přestávají fungovat právě v důsledku selekce vzniku rezistentních populací nebo jsou staženy z trhu z důvodu ochrany životního prostředí (Alyokhin et al. 2008).

3.4.1 Rezistence a tolerance

Insekticidní rezistence odkazuje na získanou dědičnou vlastnost populace organismu odolat vystavení dávce insekticidu, která by usmrtila většinu náchylné populace stejného druhu. Hmyz a další členovci získávají rezistenci k přírodním i syntetickým insekticidům mnohými genetickými změnami. Je známo, že rezistence na insekticidy se vyskytuje u cílových druhů škůdců prakticky pro všechny třídy insekticidů (Zhu 2004).

Na rozdíl od rezistence je tolerance vůči insekticidům přirozenou charakteristikou a není výsledkem vynucených změn v genetickém složení populace. Proto je tolerance často označována jako přirozená rezistence. Mnoho faktorů může vést k toleranci vůči insekticidům u hmyzu. Například starší larvy hmyzu jsou tolerantnější k mnoha insekticidům než larvy mladé stejného druhu, a to kvůli podstatným rozdílům ve velikosti těla, tloušťce kutikuly a schopnosti detoxikace (Zhu 2004).

3.4.2 Mechanismy rezistence

Insekticidní rezistence může být rozdělena na dva hlavní typy: behaviorální rezistence a rezistence fyziologická. Díky behaviorální rezistenci je populace schopná vyhnout se nebo zkrátit dobu vystavení se insekticidu. Naproti tomu fyziologická rezistence spočívá na mechanismu fyziologické modifikace, jako je například snížení kutikulární propustnosti nebo zvýšení metabolické detoxifikace (Dang et al. 2017).

3.4.2.1 Behaviorální rezistence

Behaviorální rezistence může být rozdělena do dvou podkategorií: chování závislé na podnětu a chování na podnětu nezávislé. Chování závislé na podnětu je podmíněno smyslovými vjemy hmyzu, díky kterým hmyz zaznamená ošetřený povrch před tím, než je vystaven letální dávce, to vede k vyhýbací reakci vyvolanou účinnou látkou. Naopak chování nezávislé na podnětu ukazuje na chování hmyzu, které mu zabrání přijít do kontaktu s účinnou látkou. Toto chování nevyžaduje smyslové vjemy vyvolané účinnou látkou, aby došlo k vyhnutí se ošetřené ploše (Dang et al. 2017).

Tyto mechanismy rezistence byly zaznamenány u několika tříd insekticidů. Patří mezi ně pyrethroidy, organochloriny, organofosfáty a karbamáty. Hmyz může přestat s požerem, pokud přijde do kontaktu s některým z insekticidů, může také opustit ošetřenou plochu a přesunout se například na spodní stranu listu, přesunout se hlouběji do porostu nebo jej zcela opustit (IRAC 2020).

3.4.2.2 Fyziologická rezistence

3.4.2.2.1 Metabolická rezistence

Rezistentní hmyz detoxikuje toxin rychleji než citlivý hmyz, nebo toxické molekuly rychle vylučuje z těla. Metabolická rezistence je nejčastější mechanismus rezistence škůdců a v současné době představuje největší problém. Hmyz využívá své vnitřní enzymové systémy k degradaci účinné látky insekticidu. Nadprodukce některých enzymů tak rozkládá účinné látky insekticidu před tím, než dosáhnou cílového místa a naváží se na něj. Odolnější populace mohou produkovat vyšší úroveň enzymů nebo disponují jejich efektivnějšími formami. Krom vyšší efektivity mohou tyto enzymy ukazovat širší spektrum aktivity, mohou tedy například rozkládat větší množství účinných látek insekticidů (IRAC 2020, Khan et al. 2020).

3.4.2.2.2 Snížená citlivost cílového místa

Cílové místo, kde má insekticid působit, může být modifikováno genetickou mutací tak, aby došlo k zabránění navázání účinné látky na receptor nebo k jiné interakci mezi ním a účinnou látkou insekticidu. Následkem toho dojde k redukci nebo eliminaci efektu insekticidu. Bylo zjištěno, že rezistence způsobená změnami cílovými molekulami insekticidu je výsledkem bodových mutací v jejich genech (Tangtrakulwanich & Reddy 2014).

3.4.2.2.3 Snížená kutikulární prostupnost

Tento typ rezistence je morfologický mechanismus, který zabraňuje látkám proniknout do těla škůdce. Odolný hmyz může také toxiny absorbovat pomaleji než hmyz citlivý. Odolnost vůči průniku toxinů nastává, když si hmyz na své vnější kutikule vytvoří bariéru, která zpomaluje absorpci chemických látek do jeho těla. Takto se hmyz může chránit před širokým spektrem insekticidů. Snížená kutikulární prostupnost se často vyskytuje spolu s dalšími formami rezistence a zpomalená absorpce účinných látek zvyšuje efektivitu dalších mechanismů rezistence (Tangtrakulwanich & Reddy 2014, Mallet 1989).

3.4.3 Typy rezistence

3.4.3.1 Rezistence jednoduchá

Jedná se o rezistenci škůdce k jedné účinné látce s jedním mechanismem účinku. Avšak častější je vznik nebo větší náchylnost k selekci rezistence křížové (Buhler 2020).

3.4.3.2 Rezistence křížová

Anglicky cross-resistance, je rezistence škůdce k více účinným látkám zoocidů se stejným mechanismem účinku. Příkladem křížové rezistence může být rezistentní populace mandelinky bramborové k organofosfátům, která je podmíněna mutací typu kdr. Přestože lokální populace mohla být vystavena selekčnímu tlaku jen jedné z mnoha účinných látek organofosfátů, vykazuje populace rezistenci ke všem účinným látkám organofosfátů, tedy i k těm, se kterými se nesetkala. Střídání přípravků ze skupiny organofosfátů na takovou rezistentní populaci tak nezajistí požadovanou účinnost (Kocourek et al. 2017).

3.4.3.3 Rezistence mnohočetná

Mnohočetná rezistence (multiple resistance) je méně častá, avšak nebezpečnější, protože výrazně snižuje množství insekticidů použitelných ochraně před daným škůdcem (Buhler 2020).

U tohoto typu rezistence dochází k rezistenci škůdce současně ke dvěma a více skupinám účinných látek pesticidů s různým mechanismem účinku. Jedná o nejzávažnější případy rezistence škůdců k zoocidům, kdy ochrana může selhávat proti většině účinných látek v té době registrovaných zoocidů. Příkladem mnohočetné rezistence v ČR může být rezistence mandelinky bramborové současně k organofosfátům, pyretroidům a jejich směsným přípravkům a v posledních letech ještě k některým účinným látkám neonikotinoidů (Kocourek et al. 2017).

3.4.3.4 Rezistence kombinovaná

V populaci (jedinci) dochází současně ke kombinaci více mechanismů rezistence. Například metabolická rezistence v kombinaci s kdr (typ rezistence snížení citlivosti citlivého místa) k jedné skupině účinných látek (Kocourek 2019).

3.4.4 Detekce rezistence

Pokud se ukáže, že účinná látka nemá účinek, který se u něj předpokládal, je v první řadě třeba identifikovat problém. Existuje mnoho příčin, které mohou vést k problémům se sníženou účinností přípravku krom rezistence. Ty zahrnují například nedostatečné pokrytí porostu látkou při její aplikaci, použití nevhodné dávky, chybná identifikace škůdce, nepříznivé podmínky prostředí, nevhodný čas aplikace a další. Běžné chyby při ošetřování porostu mohou být snadno připisovány rezistenci. Proto by měly být zkoumány i tyto faktory stejně jako možnost selekce rezistence (FAO 2012).

Detekce rezistence spočívá v identifikaci výrazné změny v citlivosti populace škůdce k pesticidu. Rezistence může být zjištěna různými způsoby jako je *ad hoc* pozorování, které mohou provádět vědečtí pracovníci, zemědělci nebo systematickým monitoringem prováděným pro orgány státní správy (UKZÚZ). Monitorování rezistence zachycuje změny frekvence nebo stupně rezistence v čase a prostoru. Monitorování lze také použít k vyhodnocení účinnosti různých strategií, které se používají k prevenci, zpomalení nebo řízení rozvoje rezistence. Detekce a monitoring jsou nejučinnější v počátcích projevů rezistence. V zásadě by monitoring rezistence měl probíhat vždy, když existuje podezření nebo pravděpodobnost na vznik rezistence (FAO 2012).

R4P (Reflection and Research on Resistance to Pesticides) Network (2016) uvádí následující rozdělení metod detekce rezistence.

3.4.4.1 Metody biologické

Biologické metody byly navrženy tak, aby odlišovaly fenotypové reakce na jednu či více účinných látek pesticidů. Jsou založeny na principu vystavení živého škůdce pesticidu, s následným porovnáním výsledků této expozice s vhodnými deskriptory.

Jako deskriptory se často používají úmrtnost, přežití a růst tetovaného organismu, ale existují další možnosti (R4P 2016).

3.4.4.2 Metody biochemické

Většina pesticidů působí tak, že se navážou a inaktivují v těle škůdce protein, který je pro něj životně důležitý. Jejich účinnost tak závisí na počtu molekul pesticidů, které se navážou na cílové místo. Biochemické metody odhalují odlišnosti v cílovém místě pesticidu nebo neutralizaci účinné látky v těle škůdce (R4P 2016).

3.4.4.3 Molekulární metody

Molekulární metody, metody fungující na bázi nukleových kyselin, detegují mutace, které se podílejí na vzniku rezistence. Testovaný materiál je z živé či mrtvé tkáně, jednoho genotypu z hromadného genotypu (tj. populace). Dostatečné množství DNA nebo RNA vhodné kvality musí být extrahována pro vlastní analýzu (R4P 2016).

3.4.5 Řízení hmyzí rezistence

Řízená hmyzí rezistence, zkráceně IRM z anglického insect resistance management, je označení pro soubor opatření, která se využívají pro zabránění, prevenci nebo oddálení nástupu či vývoje rezistence živočišných druhů k zoocidům. Tento pojem je vnímán širěji než samotná antirezistentní strategie, která je však jeho základem (Kocourek et al. 2015).

Systém řízení hmyzí rezistence je velmi proměnlivý u různých druhů škůdců a podléhá dynamickým změnám v čase. Mění se jak vlivem změn v pěstitelských technologiích, tak i s pokrokem světové vědy a výzkumu (Kocourek et al. 2015).

3.4.5.1 Antirezistentní strategie pro ochranu proti mandelince bramborové

Mandelinka bramborová je druh škůdce, u kterého se velmi rychle selektuje rezistence k širokému spektru účinných látek insekticidů. Má predispozici k selekci rezistence v důsledku řady mechanismů, které umožňují detoxikovat široké spektrum metabolitů rostlin a také mnoho různých účinných látek insekticidů (Kocourek et al. 2015).

Antirezistentní strategie je založena na rotaci účinných látek insekticidů s různým mechanismem účinku pro každou následující generaci. To znamená, že by měl být použit na druhou generaci mandelinky bramborové insekticid s jiným mechanismem účinku, než byl použit proti první generaci. U mandelinky je velmi významné provádět ošetření na nejcitlivější stadium (larvy L1 a L2). U starších larev a u dospělců rychle roste tolerance k pesticidům, což přispívá k rychlejší selekci rezistence (Kocourek et al. 2015).

3.4.5.2 Souhrn hlavních zásad integrované ochrany proti mandelince bramborové

- V rámci reálných možností věnovat pozornost agrotechnickým opatřením.
- Pravidelně, tj. nejméně jednou týdně sledovat výskyt škůdce v porostech.
- K použití insekticidů přistoupit při dosažení prahu škodlivosti mandelinky bramborové.
- Ošetřovat pouze plochu s výskytem škůdce. Zejména u větších pozemků a rozloze několika ha postačí ošetřit pouze okraje pozemků a ostatní ohniska výskytu.
- Pro zabránění vývoje rezistentních populací střídat insekticidy, resp. účinné látky insekticidů s odlišným mechanismem účinku. Toto střídání je vhodné dodržet i mezi jednotlivými pěstitelskými ročníky.
- Pokud možno výrazně omezit použití pyretroidů, případně dosud povolených neonikotinoidů, ke kterým byla zaznamenána rezistence škůdce.
- Ošetření porostů brambor neprovádět za vysokých teplot, ale upřednostňovat aplikaci přípravků po ránu, či v pozdějším odpoledním čase (při vysokých teplotách se snižuje účinnost některých insekticidů, především pyretroidů).
- Dodržovat registrovanou dávku a koncentraci přípravku a použít smáčedlo.
- Ošetřovat v optimálním termínu, tj. přednostně při maximálním výskytu larev prvního vývojového stupně v porostech (účinnost na malé larvy je u všech přípravků vyšší než na dorostlé larvy a na dospělé).
- Dodržovat ochrannou lhůtu mezi posledním ošetřením a sklizní brambor (Hausvater & Doležal 2014).

4 Metodika

Metoda topikální aplikace FAO č. 12 byla vyvinuta pro testování rezistence mandelinky bramborové k DDT a byla založena na aplikaci zvolených koncentrací insekticidu na dospělce mandelinky bramborové. Pro účely hodnocení rezistence k látkám používaným v současné době jsme tuto metodu modifikovali a zavedli testování na larvách L2 a L4, na které je zpravidla cíleno ošetření insekticidy v polních podmínkách. Topikální test slouží k porovnání s požerovým testem.

4.1 Materiál

K práci v laboratoři bylo využito následující vybavení. Nádoby na larvy (plastové krabičky překryté monofilem, monofilové rukávce o přibližné délce 50 cm a průměru 30 cm, plastové kelímky o průměru 9 cm a výšce 5 cm s prodyšným víčkem, maliřský štěteček, pinzeta, kádinky na ředění insekticidů, pipety a špičky pro ředění pesticidů nebo laboratorní váhy pro vážení pesticidů ve formě prášku, neošetřené listy bramboru, filtrační papír, klimabox s integrovaným teploměrem pro zajištění kontrolovaných podmínek v průběhu pokusu a stopky.

4.1.1 Sběr a chov mandelinek

Larvy pro testy byly sbírány na vybraných polích brambor v lokalitách Praha-Ruzyně, Trávčice a Obříství. Sběr probíhal v průběhu června a července roku 2020. Nejčastěji byly sbírány larvy druhého instaru a pro potřebu pokusu byly v laboratoři dochovány larvy L4. Larvy byly sbírány s dostatkem neošetřených listů bramboru, které následně sloužily jako potrava po dobu transportu a také v průběhu pokusu. Pro transport byly využity monofilové rukávce, do kterých byly larvy umístěny zároveň s rostlinným materiálem. Následně byly larvy v laboratoři umístěny do plastové krabice překryté monofilovým rukávem, která obsahovala čerstvé neošetřené listy bramboru zapíchnuté do zelené aranžovací hmoty Florex nasáklé vodou nebo byly ihned rozděleny k použití v pokusu. Larvy L1 byly umístěny zvlášť k dochování na potřebný instar, nebylo s nimi manipulováno, pouze byla doplňována neošetřená potrava.

4.1.2 Chemikálie

Pro pokus byla použita účinná látka cyantraniliprol obsažená v komerčním přípravku Benevia a účinná látka chlorantraniliprol obsažená v komerčním přípravku Coragen. Pro ředění byly použity analytické standardy účinných látek insekticidů a dimethylformamid jako rozpouštědlo. Pro kontrolní opakování byla použita také voda.

4.2 Průběh pokusu

4.2.1 Požerový test

Připravili jsme přesně naředěné roztoky testovaných insekticidů. Pro ředění jsme použili analytické standardy účinných látek insekticidů (např. firma Sigma) a jako rozpouštědlo byl použit dimethylformamid. Obvyklé rozmezí dávek je 4 %, 20 %, 100 % a 200 % doporučené koncentrace pro polní aplikaci, v případě rezistence je však nutné volit vyšší dávky, např. 500

% nebo 1500 %. Pro prvotní testování je vhodné připravit více koncentrací (podle přípravku v rozpětí 4–1500 % polní dávky) a na základě orientačních výsledků následně optimalizovat jejich rozsah.

V pokusu byly použity dávky 0,1 %, 4 %, 100 % doporučené polní dávky pro cyantraniliprol. V jednom opakování byla použita koncentrace 1 % doporučené polní dávky k zpřesnění výsledků. Koncentrace 0,1 %, 4 % a 100 % doporučené polní dávky byly použity pro účinnou látku chlorantraniliprol. Množství účinné látky v g/ha v jednotlivých koncentracích je uvedeno v tabulce 1.

Tabulka 1: Koncentrace použitých látek

cyantraniliprol		chlorantraniliprol	
% doporučené polní dávky	množství účinné látky v g/ha	% doporučené polní dávky	množství účinné látky v g/ha
0,10 %	0,0125	0,10 %	0,012
1 %	0,125	-	-
4 %	0,5	4 %	0,48
100 %	12,5	100 %	12

Následně byly larvy instaru L2 nebo L4 rozděleny za pomoci štětečku či pinzety do plastových kelímků po 10 kusech ve třech opakováních na každou koncentraci a také byly připraveny larvy pro kontrolní opakování. Obvykle tedy šlo o 120–150 larev na jednu variantu pokusu. Na dně kelímku byl umístěn filtrační papír.

Aplikace účinné látky dané koncentrace byla provedena ponořením listů do roztoků insekticidů po dobu 10 sekund.

Následně se ošetřené listy nechaly oschnout na připraveném filtračním papíru tak, aby nedošlo k jejich záměně (Obrázek 3).

Oschlé listy byly následně umístěny do jednotlivých kelímků k larvám. Kelímky byly viditelně označeny s informacemi o použité účinné látce, její koncentraci a o které opakování se jedná (1.–3.). Zároveň byly připraveny kelímky s kontrolním opakováním, kde byly listy bramboru ošetřeny v dimethylformamidu (použitým rozpouštědlem) a vodě. Kelímky jsme následně



Obrázek 3: Listy bramboru po aplikaci účinných látek

umístili do klimaboxu s kontrolovanou teplotou (22–24 °C), vlhkostí (60 %) a světelný režimem 16 h : 8 h (světlo: tma).

Po 24 hodinách jsme vyjmuli kelímky z klimaboxu. Proběhla kontrola mortality, data byla zaznamenána, mrtví jedinci odstraněni a do kelímku bylo vloženo čerstvé krmivo ošetřené výše zmíněným způsobem a opět umístěny do klimaboxu.

Stejná procedura kontroly mortality proběhla také po 48 hodinách a následně závěrečná kontrola mortality po 72 hodinách, po které byly případné přeživší larvy zlikvidovány a pokus ukončen.

Výsledek hodnocení jsme vyjádřili jako procento mortality a provedli jsme korekci 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. Pokud by byla mortalita v kontrolní variantě vyšší než 20 %, bylo by třeba pokus zopakovat.

4.2.2 Topikální test

Připravili jsme roztoky účinných látek o koncentraci 0,1 %, 4 % a 100 % chlorantraniliprol a cyantraniliprol. Jako rozpouštědlo byl použit dimethylformamid.

Na larvy byl aplikován jednotlivě dávkovačem Eppendorf 1 µl roztoku insekticidu o dané koncentraci. Jednou koncentrací jsme ošetřili 10 larev ve 3 opakováních, tedy celkem 30 larev. V kontrolní variantě byly neošetřené larvy a larvy ošetřené dimethylformamidem.

Kelímky jsme následně umístili do klimaboxu s kontrolovanou teplotou (22–24 °C), vlhkostí (60 %) a světelný režimem 16 h : 8 h (světlo : tma).

Stejně jako u požerového testu jsme výsledek hodnocení vyjádřili jako procento mortality a provedli jsme korekci na mortalitu v kontrolní neošetřené variantě podle Abbotta (1925). Pokud by byla mortalita v kontrolní variantě vyšší než 20 %, bylo by třeba pokus zopakovat.

4.2.3 LC50 a LC90

Z dat získaných v pokusu jsme stanovovali LC50 a LC90 populací pro obě použité účinné látky. LC50 (lethal concentration) je koncentrace účinné látky potřebná k 50% mortalitě jedinců z testované populace. LC90 ukazuje potřebnou koncentraci účinné látky vedoucí ke smrti 90 % jedinců z testované populace.

Tato data následně slouží k určování dalších hodnot, které slouží k hodnocení účinnosti použitých insekticidních látek.

5 Výsledky

5.1 Cyantraniliprol

5.1.1 Požerová aplikace

Tabulka 2 ukazuje hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci cyantraniliprolu na larvy L2 mandelinky bramborové. Obě hodnoty můžeme porovnat s hodnotami z tabulky 3, která ukazuje stejnou látku aplikovanou na larvy L4. Z dat je patrné, že pro mortalitu 50 % i mortalitu 90 % je potřeba vyšší koncentrace účinné látky než u larev L2.

Tabulka 2: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci cyantraniliprolu na larvách vývojového stupně L2

Lokalita	Larvy	LC50	95 % CL	LC90	95 % CL	slope ± SE
Ruzyně	L2	0,08	0,04-0,13	0,56	0,30-1,77	1,50±0,29
Trávčice	L2	0,03	0,01-0,69	0,46	0,18-2,67	1,10±0,23
Obříství	L2	0,02	-*	0,04	-*	3,90±176,03

CL = Confidential limit (Interval spolehlivosti)

SE = Standard error (Standartní chyba)

*Interval spolehlivosti nestanoven

Tabulka 3: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci cyantraniliprolu na larvách vývojového stupně L4

Lokalita	Larvy	LC50	95 % CL	LC90	95 % CL	slope ± SE
Ruzyně	L4	0,17	-*	0,59	-*	2,37±2,07
Trávčice	L4	0,10	0,05-0,20	0,63	0,31-1,93	1,64±0,28
Obříství	L4	0,40	-*	0,91	-*	3,77±211,03

CL = Confidential limit (Interval spolehlivosti)

SE = Standard error (Standartní chyba)

*Interval spolehlivosti nestanoven

5.1.2 Topikální aplikace

V tabulce 4 a 5 jsou zaznamenány hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci látky cyantraniliprol. Opět se ukazuje že larvy L2 jsou citlivější než larvy L4. Zároveň je v porovnání s tabulkami 2 a 3 patrné, že požerová aplikace vyžaduje nižší koncentrace k dosažení požadované mortality.

Tabulka 4: Hodnoty LC50 a LC90 po topikální aplikaci cyantraniliprolu na larvy vývojového stupně L2

Lokalita	Larvy	LC50	95 % CL	LC90	95 % CL	slope ± SE
Ruzyně	L2	0,74	-*	1,43	-*	4,55±200,49
Trávčice	L2	-	-	-	-	-
Obříství	L2	0,46	0,16-1,16	15,77	4,82-157,08	0,85±0,17

CL = Confidential limit (Interval spolehlivosti)

SE = Standard error (Standartní chyba)

*Interval spolehlivosti nestanoven

Tabulka 5: Hodnoty LC50 a LC90 po topikální aplikaci cyantraniliprolu na larvy vývojového stupně L4

Lokalita	Larvy	LC50	95 % CL	LC90	95 % CL	slope ± SE
Ruzyně	L4	3,00	1,46-5,44	15,54	8,20-46,41	1,83±0,36
Trávčice	L4	-	-	-	-	-
Obříství	L4	5,14	-*	9,61	-*	4,91±258,67

CL = Confidential limit (Interval spolehlivosti)

SE = Standard error (Standartní chyba)

*Interval spolehlivosti nestanoven

5.2 Chlorantraniliprol

5.2.1 Požerová aplikace

Výsledky LC50 a LC90 pro účinnou látku chlorantraniliprol při požerové aplikaci jsou v tabulkách 6 a 7. Stejně jako u předchozí účinné látky je patrné, že larvy L2 jsou k účinné látce citlivější než larvy L4.

Tabulka 6: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci chlorantraniliprolu na larvách vývojového stupně L2

Lokalita	Larvy	LC50	95 % CL	LC90	95 % CL	slope ± SE
Ruzyně	L2	0,13	-*	0,49	0,20-0,52	2,28±65535,0
Trávčice	L2	0,09	0,04-0,17	0,61	0,29-2,09	1,50±0,26
Obříství	L2	0,05	0,03-0,11	0,35	0,16-1,23	1,60±0,29

CL = Confidential limit (Interval spolehlivosti)

SE = Standard error (Standartní chyba)

*Interval spolehlivosti nestanoven

Tabulka 7: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci chlorantraniliprolu na larvách vývojového stupně L4

Lokalita	Larvy	LC50	95 % CL	LC90	95 % CL	slope ± SE
Ruzyně	L4	0,11	0,05-0,24	1,50	0,62-7,05	1,15±0,21
Trávčice	L4	0,18	0,08-0,35	1,58	0,71-6,03	1,34±0,23
Obříství	L4	0,22	0,06-0,59	9,93	2,92-120,72	0,81±0,17

CL = Confidential limit (Interval spolehlivosti)

SE = Standard error (Standartní chyba)

5.2.2 Topikální aplikace

Po topikální aplikaci můžeme na hodnotách LC50 a LC90 v tabulce 8 a 9 pozorovat vyšší citlivost larev L2 k účinné látce. Stejně jako v případě cyantraniliprolu hodnoty ukazují, že požerová aplikace chlorantraniliprolu (Tabulka 6,7) je účinnější než aplikace topikální (Tabulka 8,9).

Tabulka 8: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci chlorantraniliprolu na larvy vývojového stupně L2

Lokalita	Larvy	LC50	95 % CL	LC90	95 % CL	slope ± SE
Ruzyně	L2	0,92	0,43-17,01	10,15	1,87-2800,81	1,25±65535,0
Trávčice	L2	-	-	-	-	-
Obříství	L2	1,99	1,05-3,61	9,25	4,91-26,05	1,95±0,36

CL = Confidential limit (Interval spolehlivosti)

SE = Standard error (Standartní chyba)

Tabulka 9 Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci chlorantraniliprolu na larvy vývojového stupně L4

Lokalita	Larvy	LC50	95 % CL	LC90	95 % CL	slope ± SE
Ruzyně	L4	4,42	1,98-8,99	34,37	14,93-247,15	1,46±0,36
Trávčice	L4	-	-	-	-	-
Obříství	L4	-	-	-	-	-

CL = Confidential limit (Interval spolehlivosti)

SE = Standard error (Standartní chyba)

5.3 Stupeň rezistence

Na základě dat z průběhu pokusů jsme stanovili stupeň rezistence škodlivého organismu dle IRAC č.11 (Tabulka 10).

Tabulka 10: Stupně rezistence škodlivých organismů dle IRAC č.11(zdroj: Kocourek & Stará (2018))

Stupeň citlivosti	Popis	Mortalita
1	vysoce citlivá populace	laboratorní účinnost 100% dávky i 20% dávky musí dosáhnout hodnoty 100 % (podle Abbotta)
2	citlivá populace	laboratorní účinnost 100% dávky musí dosáhnout hodnoty 100 % (podle Abbotta); laboratorní účinnost 20% dávky je pod hodnotou 100 % (podle Abbotta)
3	středně rezistentní populace	laboratorní účinnost 100% dávky se pohybuje v intervalu od 90 do 99,99 % (podle Abbotta)
4	rezistentní populace	laboratorní účinnost 100% dávky se pohybuje v intervalu od 50 do 89,99 % (podle Abbotta)
5	vysoce rezistentní populace	laboratorní účinnost 100% dávky je pod hodnotou 50 % (podle Abbotta)

Z tabulky 11 je patrné, že všechny populace až na jednu (Obříství L4) vykazují vysokou citlivost (stupeň 1) vůči cyantraniliprolu i chlorantraniliprolu při požerové aplikaci. V případě populace larev L4 z lokality Obříství test ukázal střední stupeň rezistence (stupeň 3) vůči látce chlorantraniliprol.

Stejným způsobem jsme stanovili stupeň rezistence u topikálních testů. Tabulka 12 ukazuje, že larvy vývojového stupně L2 u populace Praha-Ruzyně vykazují vyšší citlivost vůči látce cyantraniliprol (1- vysoce citlivá populace) i chlorantraniliprol (2- citlivá populace) oproti larvám vývojového stupně L4, které po aplikaci obou látek vykazují stupeň rezistence 4 - rezistentní populace. V případě lokality Trávčice L2, L4 a Obříství L4 nebyla rezistence vyhodnocena.

Tabulka 11: Stupně rezistence populací m. bramborové k vybraným insekticidům po požerové aplikaci (1-vysoce citlivá populace, 2-citlivá populace, 3-středně rezistentní populace, 4-rezistentní populace, 5-vysoce rezistentní populace)

Lokalita	Vývojový stupeň	Cyantraniliprol	Chlorantraniliprol
Praha-Ruzyně	L2	1	1
	L4	1	1
Trávčice	L2	1	1
	L4	1	1
Obříství	L2	1	1
	L4	1	3

Tabulka 12: Stupně rezistence populací *m. bramborové* k vybraným insekticidům po topikální aplikaci (1-vysoce citlivá populace, 2-citlivá populace, 3-středně rezistentní populace, 4-rezistentní populace, 5-vysoce rezistentní populace)

Lokalita	Vývojový stupeň	Cyantraniliprol	Chlorantraniliprol
Praha-Ruzyně	L2	1	2
	L4	4	4
Trávčice	L2	-	-
	L4	-	-
Obříství	L2	3	3
	L4	3	-

5.4 Index rezistence

Z dat uvedených v tabulkách 2. – 9. jsme na základě LC50 a LC90 stanovili také index rezistence (RR=Resistance Ratio). Hodnocení $RR < 5$ je citlivá populace, hodnota $RR = 5-10$ značí středně rezistentní populaci a $RR > 10$ je silně rezistentní populace.

Index rezistence z hodnot LC50 (Tabulka 13) ukazuje všechny populace jako citlivé, a to pro oba použité přípravky po aplikaci na oba instary larev mandelinky.

V tabulce 14 jsou zaznamenány hodnoty indexu rezistence vyhodnocené na základě hodnoty LC90 po požerové aplikaci přípravku. Hodnoty pro larvy vývojového stupně L2 po aplikaci přípravku cyantraniliprol ukazují v případě lokalit Praha-Ruzyně a Trávčice hodnoty značící silnou rezistenci. Tyto hodnoty způsobila výrazně nízká hodnota LC90 z lokality Obříství, patrná v tabulce 2. Střední stupeň rezistence vykazují larvy L4 z lokality Obříství. Ostatní populace jsou vysoce citlivé k oběma použitým látkám.

Tabulka 13: Index rezistence z hodnot LC50 po požerové aplikaci

přípravek	Larvy	Praha-Ruzyně	Trávčice	Obříství
Cyantraniliprol	L2	4,22	1,72	1,00
	L4	3,86	1,00	1,61
Chlorantraniliprol	L2	2,47	1,62	1,00
	L4	1,00	1,58	2,00

Tabulka 14: Index rezistence z hodnot LC90 po požerové aplikaci

přípravek	Larvy	Praha-Ruzyně	Trávčice	Obříství
Cyantraniliprol	L2	14,03	11,55	1,00
	L4	1,00	1,07	1,53
Chlorantraniliprol	L2	1,41	1,76	1,00
	L4	1,00	1,05	6,63

Tabulka 15 a tabulka 16 ukazují Index rezistence z hodnot LC50 a LC90 po topikální aplikaci na instary larev mandelinky bramborové. Až na výjimku v případě látky cyantraniliprol aplikované na larvy L2 (Tabulka 16) z lokality Obříství (silně rezistentní populace) se testované populace ukazují jako vysoce citlivé. Na většinu pokusů topikální aplikace insekticidu z lokality Trávčice nebylo dostatečné množství larev. Stejná situace nastala u několika variant pro populaci Obříství. Tato komplikace má za následek zkrácení dat pro výpočet hodnot indexu rezistence a je potřeba to zohlednit při interpretaci výsledků.

Tabulka 15: Index rezistence z hodnot LC50 po topikální aplikaci

přípravek	Larvy	Praha-Ruzyně	Trávčice	Obříství
Cyantraniliprol	L2	1,61	-	1,00
	L4	1,00	-	1,71
Chlorantraniliprol	L2	1,00	-	2,16
	L4	1,00	-	-

Tabulka 16: Index rezistence z hodnot LC90 po topikální aplikaci

přípravek	Larvy	Praha-Ruzyně	Trávčice	Obříství
Cyantraniliprol	L2	1,00	-	11,06
	L4	1,62	1,00	-
Chlorantraniliprol	L2	1,10	-	1,00
	L4	1,00	-	-

6 Diskuze

Cílem práce bylo zjistit účinnost diamidů na populaci mandelinky bramborové. Přípravky cyantraniliprol a chlorantraniliprol byly testovány na populacích z lokalit Praha-Ruzyně, Trávčice a Obříství. Výsledky byly porovnány v účinnosti při požeru po aplikaci na list a topikální aplikaci přímo na larvy škůdce. Také byla porovnána účinnost s již používanými účinnými látkami insekticidů pro regulaci mandelinky bramborové.

6.1 Porovnání účinnosti na larvy L2 a L4 a požerové a topikální aplikace

Výsledky pokusů ukazují, že požerový test je výrazně účinnější než topikální test. Přitom je třeba zohlednit, že při požerovém testu byly larvy vystaveny účinné látce diamidů po dobu 72 hodin.

V případě 100% koncentrace doporučené polní dávky však docházelo až na výjimky k 100% mortalitě již po 24 hodinách po zahájení pokusu. V případě přežití některých jedinců v opakování docházelo k jejich úmrtí do 48 hodin po zahájení pokusu. Také 4% koncentrace doporučené polní dávky vykazovala vysokou mortalitu, která se u larev L2 po 72 hodinách pohybovala v rozmezí 86,67 – 100 %. U larev vývojového stupně L4 se mortalita po aplikaci 4% koncentrace účinných látek po 72 hodinách pohybovala v rozmezí 46,67 – 86,67 %.

Z tohoto pozorování můžeme usuzovat, že larvy L2 jsou k oběma účinným látkám citlivější než larvy L4. Proto s využitím metod prognóz a signalizace můžeme při včasné zachycení rozšíření škůdce v porostu zvýšit účinnost aplikace insekticidu.

Při porovnání dat z tabulky 11 a tabulky 12 je patrná výraznější efektivita požerové aplikace oproti topikální aplikaci. Larvy L4 z lokality Praha-Ruzyně vykazovaly 4 stupeň rezistence (rezistentní populace) při topikální aplikaci, ale při požerové aplikaci byl stupeň rezistence 1 (vysoce citlivá populace). U larev L2 ze stejné populace nebyl rozdíl mezi způsobem aplikace tolik patrný, k látce chlorantraniliprol při topikálním testu vycházela hodnota stupně rezistence 2 (citlivá populace), ostatní hodnoty ukazovaly stupeň 1 (vysoce citlivá populace).

Ve vzorcích mandelinky bramborové populace z lokality Obříství byly rozdíly požerového a topikálního testu patrné. V případě účinné látky cyantraniliprol, kdy byla opět efektivnější požerová aplikace, která odpovídá stupni rezistence 1 (vysoce citlivá populace) oproti stupni 3 (středně rezistentní populace) u topikální aplikace. Výjimkou byla požerová aplikace chlorantraniliprolu u larev L4 s hodnotou stupně rezistence 3 (středně rezistentní populace). Bohužel u této varianty kvůli nedostatku brouků neproběhl topikální test, takže není možné porovnávat účinnost těchto způsobů aplikace.

6.2 Stupeň rezistence

Vyhodnocení stupně rezistence z pokusů jsme porovnali s výsledky z pokusů na dalších používaných látkách, které uveřejnili Kocourek & Stará (2018).

Tabulka 17: Stupeň rezistence larev L2 podle dat z předchozích pokusů Kocourka & Staré (2018) v porovnání s našimi výsledky (zeleně) (1-vysoce citlivá populace, 2-citlivá populace, 3-středně rezistentní populace, 4- rezistentní populace, 5-vysoce rezistentní populace)

lokalita	Cyantrani	Chlorantra	Lambd	Lambd	Chlorpi	Thiakl	Acetam	Thiameth
	liprol (2020)	niliprol (2020)	a – cyhalot hrin (2020)	a – cyhalot hrin (2018)	ryfos (2018)	oprid (2018)	iprid (2018)	oxam (2018)
Praha- Ruzyně	1	1	5	5	5	4	5	3
Trávčice	1	1	5	-	5	5	5	2
Obříství	1	1	5	-	-	-	-	-
Semice	-	-	-	5	5	5	5	-
Dolánky nad Ohří	-	-	-	-	-	5	-	4
Vysoká u Příbramě	-	-	-	-	5	5	-	-
Těšovice	-	-	-	5	4	5	5	-
Troubsko	-	-	-	-	4	5	5	-
Útěchovič ky u Pelhřimo va Vícov	-	-	-	5	5	3	4	-
	-	-	-	5	5	5	4	-

V tabulce 17 je uvedeno porovnání stupně rezistence larev L2 mandelinky bramborové k několika používaným insekticidům. Z tabulky je na první pohled patrné, že larvy jsou vysoce citlivé k námi testovaným diamidům. K thiamothoxanu, ze skupiny neonikotinoidů byly larvy podle testů Kocourka a Staré (2018) středně rezistentní v populaci Praha-Ruzyně a citlivé v populaci Trávčice. K dalšímu z neonikotinoidů, acetamipridu, byly populace vysoce rezistentní nebo rezistentní. Látky thiakloprid (neonikotinoid) a chlorpyrifos (organofosfát) se již nesmí používat, ale i vůči nim byly populace z velké části silně rezistentní. Látka lambda – cyhalothrin byla testována spolu s diamidy a výsledky testů potvrdily výsledky z roku 2018, tedy larvy byly vysoce rezistentní u všech testovaných populací.

Toto porovnání ukazuje, že oba testované diamidy jsou vysoce účinné na populace larev mandelinky bramborové. Důvodem k tomu je krátká doba používání přípravků s těmito účinnými látkami. Škůdce si ještě nestihl vytvořit mechanismy vedoucí k rezistenci k těmto přípravkům. Při dodržování zásad integrované ochrany proti mandelince bramborové můžeme výrazně zpomalit rychlost vzniku rezistence k diamidům a tím prodloužit období jejich efektivního užívání k ochraně proti tomuto škůdci.

Vývoj rezistence k diamidům cyantraniliprol a chlorantraniliprol je třeba nadále sledovat a provést testy rezistence z dalších lokalit ke zpřesnění zkoumaných výsledků.

7 Závěr

Z výsledků pokusů z roku 2020 vyplývá, že insekticidy na bázi diamidů – cyantraniliprol a chlorantraniliprol, jsou účinnými prostředky na ochranu porostů brambor před larvami (L2 a L4) mandelinky bramborové a v rámci hodnocených lokalit u nich nedošlo ke vzniku rezistence.

Výsledky práce ukazují, že pro diamidy je pro hodnocení účinnosti vhodnější požerový test než test topikální. Účinné látky diamidů byly účinnější při aplikaci na larvy nižšího vývojového stupně (L2) oproti stupni L4.

Tyto poznatky se dají aplikovat v zemědělské praxi, a to v případě včasného zachycení přítomnosti škůdce v porostu a způsobu aplikace insekticidu, který nemusí přijít do kontaktu se škůdcem, ale po pozření ošetřené rostliny se dostaví očekávaný efekt mortality škůdce.

8 Literatura

- Agrární komora České republiky. 2020. Produkce brambor s uplatněním půdoochranných, protierozních a biologických postupů. Agrární komora České republiky, Olomouc.
- Alyokhin A, Baker M, Mota-Sanchez D, Dively G, Grafius E. 2008. Colorado potato beetle resistance to insecticides. *American Journal of Potato Research* **85**:395-413.
- Bach CE. 1982. The influence of plant dispersion on movement patterns of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *The Great Lakes Entomologist* **15**:247-252.
- Biological Record Centre. 2020. Database of insects and their food plants. Wallingford. Available from <http://www.brc.ac.uk/dbif/invertebratesresults.aspx?insectid=4742> (accessed December 2020).
- Boiteau G, Alyokhin A, Ferro DN. 2003. The Colorado potato beetle in movement. *The Canadian Entomologist* **135**:1–22.
- Breithaupt J. 2010. *Leptinotarsa decemlineata*. Ecoport. Available from http://ecoport.org/ep?Arthropod=26353&entityType=AR****&entityDisplayCategory=full (accessed December 2020).
- Buhler W. 2020. PES: Introduction to insecticide resistance. Pesticide Environmental Stewardship. Available from <https://pesticidestewardship.org/resistance/insecticide-resistance/> (accessed January 2021).
- Casagrande RA. 1987. The Colorado potato beetle: 125 years of mismanagement. *Bulletin of the Entomological Society of America* **33**:142-150.
- Casida JE. 1980. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environmental Health Perspectives* **34**:189-202.
- CABI. 2020. Invasive species compendium. Centre for Agriculture and Bioscience International. Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/30380#F0211B6C-0217-4B29-BAC6-27C3609A84E0> (accessed December 2020).
- Cisneros J, Goulson D, Derwent LC, Penagos DI, Hernández O, Williams T. 2002. Toxic effects of spinosad on predatory insects. *Biological Control* **23**:156-163.
- Dang K, Doggett SL, Veera Singham G, Lee C-Y. 2017. Insecticide resistance and resistance mechanisms in bed bugs, *Cimex* spp. (*Hemiptera: Cimicidae*). *Parasites & Vectors* **10**.
- Doležal P, Hauvater E. 2018. Mandelinka bramborová. Nejvýznamnější škůdce bramborové natě. *Agromauál* **5**:34-37.
- Eagri.cz. 2021a. Registr přípravků no ochranu rostlin: Benevia, ÚKZÚZ. Available from <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Detail.aspx?id=30864> (accessed March 2021).

- Eagri.cz. 2021b. Registr přípravků na ochranu rostlin: Coragen 20 SC, ÚKZÚZ. Available from <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Detail.aspx?id=31140&stamp=1530403270250> (accessed March 2021).
- EPPO. 2020. Data sheets on quarantine pests *Leptinotarsa decemlineata*. Available from <https://gd.eppo.int/taxon/LPTNDE/documents> (accessed February 2021).
- FAO. 2012. International code of conduct on the distribution and use of pesticides guidelines on prevention and management of pesticide resistance Available from http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Code/FAO_RMG_Sept_12.pdf (accessed February 2021).
- FAO. 2020. Databases & Software: Potato, FAO. Available from <http://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/potato/en/> (accessed December 2020).
- Formánková P. 2008. Kampaň proti „americkému brouku“ a její politické souvislosti. Paměť a dějiny **01**:22-38.
- Freedman B. 1994. Environmental ecology: the impacts of pollution and other stresses on ecosystem structure and function. Academic Press, San Diego.
- Hare JD. 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. Annual Review of Entomology **35**:81-100.
- Hausvater E, Doležal P. 2014. Metodika integrované ochrany brambor proti mandělnice bramborové (*Leptinotarsa decemlineata*). Výzkumný ústav bramborářský, Havlíčkův Brod.
- Hertlein MB, Thompson GD, Subramanyam B, Athanassiou CG. 2011. Spinosad: A new natural product for stored grain protection. Journal of Stored Products Research **47**:131-146.
- Insecticide Resistance Action Committee. 2020. IRAC-online: Resistance. IRAC. Available from <https://irac-online.org/about/resistance/mechanisms/> (accessed December 2020).
- Jeschke P, Nauen R, Schindler M, Elbert A. 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry **59**:2897-2908.
- Khan S, Uddin M, Rizwan M, Khan W, Farooq M, Sattar Shah A, Subhan F, Aziz F, Rahman K, Khan A, Ali S, Muhammad M. 2020. Mechanism of insecticide resistance in insects/pests. Polish Journal of Environmental Studies **29**:2023-2030.
- Kocourek F, Stará J, Hovorka T. 2019. Rezistence škůdců k insekticidům – příčina selhání ochrany. Selská revue 78-82.
- Kocourek F, Stará J, Zichová T, Hubert J, Nesvorná M. 2015. Metodika pro hodnocení rezistence škůdců k zoocidům pomocí biologických metod a antirezistentní strategie pro zabránění výskytu rezistence. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha.

- Kocourek F, Stejskal V, Aulický R. 2017. Rezistence škodlivých organismů k pesticidům ve vztahu k bezpečnosti potravin. Vědecký výbor fytoosanitární a životní prostředí.
- Kocourek F, Stará J. 2018. Rostoucí rezistence mandelinky bramborové vůči insekticidům v ČR, Agromanuál **5**:38-40.
- Kroutil P. 2017. Karanténní dřepčící u brambor. Agromanuál. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/karantenni-drepcici-u-brambor> (accessed February 2021).
- Langer WL, 1963. Europe's initial population explosion. The American Historical Review **69**:1-17.
- Lee S, Kim J, Lee H. 2001. Insecticide resistance in increasing interest. Journal of Applied Biological Chemistry **44**:105-112.
- Liu N, Li Y, Zhang R. 2012. Invasion of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, in China: dispersal, occurrence, and economic impact. Entomologia Experimentalis et Applicata **143**:207-217.
- MacQuarrie CJK, Boiteau G. 2004. Vertical distribution profile of Colorado potato beetle [Coleoptera: Chrysomelidae] in flight above host, resistant host and non-host fields. Phytoprotection **84**:133-139.
- Minář P. 2020. Informace o neschválení účinných látek chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl a thiakloprid Evropskou komisí, ÚKZÚZ. Available from <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/pripravky-na-or/neviditelný-1/> (accessed February 2021).
- Morgan ED. 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. Bioorganic & Medicinal Chemistry **17**:4096-4105.
- Morrison RD, Murphy B. 2006. Environmental forensics contaminant specific guide. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- Novák J, Skalický M. 2017. Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika. Powerprint, Praha.
- Pulkrábek J. Brambory v osevním postupu. Available from http://agrobiologie.cz/SMEP3/Okopaniny/okopaniny/php/skripta/kapitola29ea.html?titul_key=5&idkapitola=50 (accessed February 2021).
- R4P Network. 2016. Trends and challenges in pesticide resistance detection. Trends in plant science **21**:834-853.
- Roser M. 2019. Pesticides. Our world in data. Available from <https://ourworldindata.org/pesticides> (accessed February 2021).

- Rostlinolékařský portál. 2020a. Ochrana proti škůdcům: mandelinka bramborová. ÚKZÚZ. Available from http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/fy-public/?key=%22ca662b7ef5fa0d7a2057817ea903e687%22#ior|met:ca662b7ef5fa0d7a2057817ea903e687|kap1:skudci|kap:f50546d2ac767ccc6ca48bbc1a25e006 (accessed December 2020).
- Rostlinolékařský portál. 2020b. Plodinová metodika: lilek brambor. ÚKZÚZ. Available from http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/fy-public/?key=%22ca662b7ef5fa0d7a2057817ea903e687%22#ior|met:ca662b7ef5fa0d7a2057817ea903e687|kap1:plodiny|kap:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c248922 (accessed December 2020).
- Růžička T. 2011. Dřepčící rodu Epitrix. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha.
- Sattelle DB, Cordova D, Cheek TR. 2008. Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemicals. *Invertebrate neuroscience* **8**:107-119.
- Schoville SD et al.. 2018. A model species for agricultural pest genomics: the genome of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Scientific Reports* **8**.
- Soderlund DM, Clark JM, Sheets LP, Mullin LS, Piccirillo VJ, Sargent D, Stevens JT, Weiner ML. 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology* **171**:3-59.
- Šefrová H. 2006. Rostlinolékařská entomologie. Konvoj, Brno.
- Tangtrakulwanich K, Reddy GV. 2014. Development of insect resistance to plant biopesticides: An overview. Springer, New Delhi.
- Teixeira LA, Andaloro JT. 2013. Diamide insecticides: Global efforts to address insect resistance stewardship challenges. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **106**:76-78.
- Van Petegem F. 2012. Ryanodine receptors: structure and function. *Journal of Biological Chemistry* **287**:31624-31632.
- Ware GW, Whitacre DM. 2004. The pesticide book. MeisterPro Information Resources, Willoughby, OH.
- Weber D. 2003. Colorado beetle: pest on the move. *Pesticide Outlook* **14**:256-259.
- Zhu KY. 2004. Encyclopedia of Entomology. Springer, Dodrecht.

9 Seznam tabulek, obrázků a grafů

Tabulka 1: Koncentrace použitých látek	30
Tabulka 2: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci cyantraniliprolu na larvách vývojového stupně L2.....	32
Tabulka 3: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci cyantraniliprolu na larvách vývojového stupně L4.....	32
Tabulka 4: Hodnoty LC50 a LC90 po topikální aplikaci cyantraniliprolu na larvy vývojového stupně L2.....	32
Tabulka 5: Hodnoty LC50 a LC90 po topikální aplikaci cyantraniliprolu na larvy vývojového stupně L4.....	33
Tabulka 6: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci chlorantraniliprolu na larvách vývojového stupně L2.....	33
Tabulka 7: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci chlorantraniliprolu na larvách vývojového stupně L4.....	33
Tabulka 8: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci chlorantraniliprolu na larvy vývojového stupně L2.....	34
Tabulka 9: Hodnoty LC50 a LC90 po požerové aplikaci chlorantraniliprolu na larvy vývojového stupně L4.....	34
Tabulka 10: Stupně rezistence škodlivých organismů dle IRAC č.11(zdroj: Kocourek & Stará (2018))	35
Tabulka 11: Stupně rezistence populací m. bramborové k vybraným insekticidům po požerové aplikaci (1-vysoce citlivá populace, 2-citlivá populace, 3-středně rezistentní populace, 4-rezistentní populace, 5-vysoce rezistentní populace)	35
Tabulka 12: Stupně rezistence populací m. bramborové k vybraným insekticidům po topikální aplikaci (1-vysoce citlivá populace, 2-citlivá populace, 3-středně rezistentní populace, 4-rezistentní populace, 5-vysoce rezistentní populace)	36
Tabulka 13: Index rezistence z hodnot LC50 po požerové aplikaci.....	36
Tabulka 14: Index rezistence z hodnot LC90 po požerové aplikaci.....	36
Tabulka 15: Index rezistence z hodnot LC50 po topikální aplikaci	37
Tabulka 16: Index rezistence z hodnot LC90 po topikální aplikaci	37
Tabulka 17: Stupeň rezistence larev L2 podle dat z předchozích pokusů Kocourka & Staré (2018) v porovnání s našimi výsledky (zeleně) (1-vysoce citlivá populace, 2-citlivá populace, 3-středně rezistentní populace, 4- rezistentní populace, 5-vysoce rezistentní populace)	39
Obrázek 1: Chemická struktura cyantraniliprolu (Zdroj: PubChem; https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)	22
Obrázek 2: Chemická struktura chlorantraniliprolu (Zdroj: PubChem; https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)	23
Obrázek 3: Listy bramboru po aplikaci účinných látek.....	30