



Zemědělská  
fakulta  
Faculty  
of Agriculture

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

# JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

## ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra Agroekosystémů

### Diplomová práce

Možnosti využití odrůdové odolnosti bramboru a botanických  
insekticidů pro regulaci mandelinky bramborové *Leptinotarsa*  
*decemlineata* v ekologickém zemědělství.

Autor práce: Bc. Jana Šašková  
Vedoucí práce: Ing. Marek Kopecký, Ph.D., Ing. Jiří Peterka, Ph.D.  
Konzultant práce: Ing. Rostislav Zemek CSc.

České Budějovice 2021

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne .....

Podpis

## Abstrakt

Tato diplomová práce se zabývá vlivem odrůdy bramboru na potravní chování *Leptinotarsa decemlineata*, účinností botanických insekticidů na tohoto škůdce a možnosti využití kombinace nízkých dávek těchto přípravků a odrůdové odolnosti bramboru pro regulaci škůdce v podmínkách ekologického zemědělství. Cílem bylo zjistit, zda dospělci mandelinky bramborové preferují určitou odrůdu a zda tato potravní preference koreluje s obsahem glykoalkaloidů. Dále byl toxikologickými testy hodnocen účinek tří vybraných přípravků o koncentracích 0,1 %, 1 %, 10 % a 100 % doporučené dávky na mortalitu dospělců *L. decemlineata* a vypočteny hodnoty letálních koncentrací LC<sub>50</sub> a LC<sub>90</sub>. V dalších experimentech byl zkoumán synergický vliv odrůdy na mortalitu mandelinky po ošetření nízkými koncentracemi vybraných insekticidů. Bylo zjištěno, že ze tří testovaných odrůd mandelinka preferovala odrůdu Velur, poté odrůdu Jindra a jako poslední odrůdu Dominika. Nejvíce preferovaná odrůda měla průkazně vyšší obsah solaninu oproti zbývajícím odrůdám. Všechny tři testované přírodní insekticidy působily úhyn ošetřených mandelinek. Střední smrtelná koncentrace (LC<sub>50</sub>) byla nejvyšší u přípravku NeemAzal, poté Spintor a Rock Effect. Výsledky experimentů kombinace nízkých dávek insekticidů a odrůdy bramboru neprokázaly statisticky významné rozdíly v mortalitě mezi více a méně preferovanou odrůdou.

**Klíčová slova:** botanické insekticidy; ekologické zemědělství; glykoalkaloidy; *Leptinotarsa decemlineata*; preference odrůdy; *Solanum tuberosum*

## Abstract

This diploma thesis deals with the influence of potato variety on the feeding behavior of *Leptinotarsa decemlineata*, the effectiveness of botanical insecticides on this pest and the possibility of using a combination of low doses of these products and varietal resistance of potatoes for pest control in organic farming. The aim was to find out whether the adult potato beetle prefers a certain variety and whether this food preference correlates with the content of glycoalkaloids. Furthermore, the effect of three selected preparations at concentrations of 0.1 %, 1 %, 10 % and 100 % of the recommended dose on the mortality of *L. decemlineata* adults was evaluated by toxicological tests and the values of lethal concentrations  $LC_{50}$  and  $LC_{90}$  were calculated. In further experiments, the synergistic effect of the variety on mandelin mortality after treatment with low concentrations of selected insecticides was investigated. It was found that of the three tested varieties, mandelinka preferred the Velur variety, then the Jindra variety and, lastly, the Dominika variety. The most preferred variety had a statistically higher solanine content compared to the remaining varieties. All three tested natural insecticides caused the death of the treated mandelins. The mean lethal concentration ( $LC_{50}$ ) was highest for NeemAzal, followed by Spintor and Rock Effect. The results of experiments combining low doses of insecticides and potato varieties did not show statistically significant differences in mortality between the more and less preferred varieties.

**Keywords:** botanical insecticides; organic farming; glycoalkaloids; *Leptinotarsa decemlineata*; variety preferences; *Solanum tuberosum*

## **Poděkování**

Děkuji touto cestou vedoucímu bakalářské práce Ing. Marku Kopeckému, Ph.D., a Ing. Jiřímu Peterkovi, Ph.D., za vedení a odbornou pomoc poskytnutou při zpracování této práce, dále bych chtěla poděkovat panu Ing. Rostislavu Zemkovi, CSc., za odbornou pomoc a poskytnuté informace. Děkuji také své rodině za velkou pomoc a podporu při studiu. Tato práce vznikla za podpory grantu s názvem č. QK1910270 (projekt „Inovace integrované ochrany brambor proti mandelince bramborové založené na nových poznatcích genetických a biologických charakteristik“).

## Obsah

|  |    |
|--|----|
| Úvod .....   | 8  |
| 1. Ekologické zemědělství .....  | 10 |
| 1.1 Ekologické zemědělství v ČR .....  | 11 |
| 1.2 Statistika EZ .....  | 12 |
| 1.3 Ochrana rostlin v ekologickém zemědělství .....                                  | 14 |
| 1.3.1 Nepřímé metody ochrany rostlin .....   | 15 |
| 1.3.2 Význam biodiverzity pro ekologické zemědělství.....                            | 15 |
| 1.3.3 Přímé metody ochrany rostlin.....  | 16 |
| 1.3.4 Přípravky na ochranu rostlin pro ekologické zemědělství.....                   | 17 |
| 2. Botanické pesticidy .....   | 19 |
| 2.1 Botanické pesticidy první generace.....  | 19 |
| 2.2 Botanické pesticidy druhé generace .....   | 21 |
| 2.3 Botanické pesticidy třetí generace.....  | 22 |
| 3. Brambor hlíznatý .....  | 23 |
| 3.1 Původ a historie .....   | 23 |
| 3.2 Choroby a škůdci bramboru .....  | 24 |
| 3.3 Pěstování brambor v EZ .....   | 28 |
| 3.4 Mandelinka bramborová <i>Leptinotarsa decemlineata</i> (Say) .....               | 30 |
| 3.4.1 Bionomie <i>L. decemlineata</i> .....  | 30 |
| 3.4.2 Metody nechemické regulace <i>L. decemlineata</i> .....                        | 32 |
| 3.4.3 Biologické preparáty proti <i>L. decemlineata</i> .....                        | 32 |
| 3.4.4 Insekticidy proti <i>L. decemlineata</i> a pomocné látky povolené pro EZ ..... | 34 |
| 3.4.5 Metody chemické regulace <i>L. decemlineata</i> .....                          | 34 |
| 3.4.6 Problém rezistence.....  | 35 |
| 3.5 Obranné mechanismy rostlin.....  | 36 |
| 3.5.1 Sekundární metabolity rostlin.....   | 37 |
| 3.5.2 Glykoalkaloidy bramboru hlíznatého .....                                       | 38 |
| 3.6 Šlechtění odrůd bramboru .....   | 40 |
| 4. Cíl práce a hypotézy.....   | 42 |
| 5. Materiál a metodika .....   | 43 |
| 5.1 Pokusné rostliny .....   | 43 |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 5.2   | Charakteristika odrůd brambor.....  | 44 |
| 5.3   | <i>L. Decemlineata</i> .....  | 45 |
| 5.4   | Biotesty.....   | 45 |
| 5.4.1 | Stanovení potravní preference <i>L. decemlineata</i> .....  | 45 |
| 5.4.2 | Stanovení letálních dávek insekticidů a pomocných látek rostlin na <i>L. decemlineata</i> .....               | 47 |
| 5.4.3 | Stanovení synergického účinku vybraných přípravků a odrůdy bramboru na mortalitu <i>L. decemlineata</i> ..... | 48 |
| 6.    | Výsledky .....  | 50 |
| 6.1   | Vliv odrůdy bramboru na potravní preferenci <i>L. decemlineata</i> .....                                      | 50 |
| 6.1.1 | Výskyt <i>L. decemlineata</i> na dané polovině Petriho misky s terčikem .....                                 | 50 |
| 6.1.2 | Odrůdová preference <i>L. decemlineata</i> na základě velikosti požerků .....                                 | 50 |
| 6.1.3 | Porovnání odrůd z hlediska obsahu glykoalkaloidů .....  | 51 |
| 6.2   | Vliv koncentrace přípravku na mortalitu <i>L. decemlineata</i> .....  | 53 |
| 6.3   | Stanovení synergického účinku vybraných přípravků a odrůdy bramboru na mortalitu <i>L. decemlineata</i> ..... | 54 |
| 7.    | Diskuse.....  | 57 |
|       | Závěr.....  | 61 |
|       | Seznam literatury .....   | 62 |
|       | Seznam tabulek.....   | 72 |
|       | Seznam grafů .....  | 73 |
|       | Seznam obrázků.....   | 73 |
|       | Seznam použitých zkratk .....   | 75 |
|       | Příloha.....  | 76 |

## Úvod

Brambor hlíznatý (*Solanum tuberosum* L.) z čeledi lilkovité (Solanaceae) zaujímá z hlediska lidské výživy čtvrté místo mezi nejvýznamnějšími plodinami pěstovanými na celém světě. Spotřeba brambor v roce 2019 byla 69 kg na obyvatele ČR. Osázené plochy České republiky *Solanum t.* v roce 2020 činily 23,8 tis ha. Odolným a nejúpornějším škůdcem bramboru stále zůstává mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) s výraznou schopností snižovat výnos hlíz bramboru. Škody působí především na listech a stoncích, ale pokud má nedostatek potravy, může požírat i vyčnívající hlízy z hrůbků. Poslední desítky let se stále zvyšuje výskyt rezistence *L. decemlineata* na účinné látky syntetických insekticidů. Mandelinka má totiž výraznou schopnost adaptace na insekticidní účinné látky, které je schopna detoxikovat nebo tolerovat. Její odolnost a úpornost je zapříčiněna zejména genetickou informací, ale také vysokou plodností, schopností migrace, úzkým spektrem hostitelské rostliny a agronomickými faktory.

V ochraně rostlin u konvenčního systému hospodaření stále převládá používání pesticidů, často nepromyšlené a neuvážené. Právě neznalost zemědělce spoluvytváří ideální podmínky pro rozvoj rezistentních populací *L. decemlineata*. Výzkumný ústav bramborářský v Havlíčkově Brodě již od roku 2009 sleduje rezistentní populace mandelinek u nás a zkouší v polních podmínkách desítky rozdílných insekticidů a vydává doporučení pro jejich používání proti mandelince na příští pěstební období. Vznik a rozvoj rezistence lze potlačit, nelze ji však plně zastavit.

Ekologické zemědělství je již dnes celosvětově rozšířeným systémem hospodaření v krajině. Využívá přírodních přirozených vztahů mezi biotickou a abiotickou složkou zemědělského ekosystému. Má své zastánce i odpůrce, ale faktem zůstává, že svou filozofií a přístupem k zemědělství a krajině přispívá ke zlepšení stavu životního prostředí a zkvalitňuje životy zvířat i lidí. Ekologické zemědělství využívá v ochraně rostlin proti mandelince přírodní chemické látky, fyzikální a biologické metody. A to jednak samostatně, ale i v jejich kombinaci.

Využití geneticky upravovaných odrůd se zdá jako vhodné řešení ke snížení výskytu chorob a škůdců, ty jsou však v ekologickém zemědělství zakázány. Šlechtitelé mohou ale využít povolené metody v oboru šlechtitelství pro získání požadovaného ideotypu plodiny. V praxi pak lze využít přirozené rozdíly mezi jednotlivými odrůdami, které jsou více či méně odolné vůči chorobám a škůdcům, anebo zvolit odrůdu s vyšším výnosem podle výběru zemědělce. Praxe však dokazuje, že na úspěšné produkci brambor se podílí více faktorů.



Botanické insekticidy jsou chemické přírodní látky formulované do komerčně dostupných přípravků. Základem těchto přípravků jsou sekundární metabolity rostlin, které představují perspektivní látky použitelné k ochraně rostlin. Tyto metabolity vykazují vysokou pravděpodobnost určité biologické aktivity proti jiným organismům. Sekundární metabolity obsahují několik desítek látek, často v synergickém účinku. Právě této výhody lze využít k zabránění genových mutací škůdce, a tím vzniku genu rezistence. Dalším přínosem je relativně krátký poločas rozpadu v životním prostředí, díky němuž jsou vnímány jako environmentálně šetrné. Nevýhodou však zůstává jejich cena, jelikož mohou těžko konkurovat syntetickým insekticidům. Uplatnění nalézají u ekologických zemědělců, zahrádkářů a malopěstitelů.

# 1. Ekologické zemědělství

Ekologické zemědělství (EZ) je moderním systémem zemědělské výroby na celém světě, s historií sahající do začátku 20. století. EZ vychází ze zásad setrvalého rozvoje a holistického světového názoru. Je produkčním systémem, který současně usiluje o uchování a zlepšení přírodních zdrojů a upřednostňuje kvalitu produktů před kvantitou. EZ uplatňuje etický přístup vůči chovaným zvířatům (welfare), usiluje o zachování biologické diverzity druhů rostlin a živočichů, uplatňuje ochranu životního prostředí, a tím i ochranu zdraví populace. EZ významně přispívá k zaměstnanosti obyvatel v zemědělství, a tak zamezuje vysídlení venkova a podporuje komunitní život v obci (Urban, 2015). Produkci EZ jsou bioprodukty a biopotraviny těšící se stále větší oblibě spotřebitelů. Úrodnost půdy se udržuje organickými hnojivy nejlépe z vlastní produkce, pestřými osevními postupy, využíváním zeleného hnojení a meziplodin a šetrným zpracováním půdy. Díky těmto postupům se kulturní krajina stává rozmanitější a členitější. Tento projev je přirozeně nápomocen zemědělcům v ochraně rostlin před chorobami a škůdci a vytváří se tak biologická rovnováha. V národní i evropské legislativě je jasně definován zákaz pro přenos embryí, genových manipulací, používání hormonů a vyloučeno je také používání syntetických agrochemikálií (Dvorský a Urban, 2014).

Typy a směry EZ byly inspirovány různými náboženstvími, mytickými postavami a životními filozofiemi, které tak položily základy pro dnešní moderní ekologické zemědělství. Evropsky rozšířené dva hlavní směry, které jsou základem pro dnešní EZ, jsou biologicko-dynamické zemědělství a organicko-biologické zemědělství. Biologicko-dynamické hospodaření založil v roce 1924 Rudolf Steiner, rakouský filozof a přírodovědec. Rozšířilo se v zemích západní, střední a severní Evropy. Tento směr je založen na antroposofické filozofii (lidská moudrost). Veškerý život, půda a okolní vesmír tvoří nedílný celek. Život na Zemi je podle této filozofie ovlivňován silami kosmického původu – půda jako živý organismus také podléhá přírodním silám a jejich cykličnosti (Paull, 2011).

Organicko-biologické zemědělství se provozuje v celé Evropě, vzniklo ve 30. letech 20. století ve Švýcarsku. Bylo pojmenováno po německém lékaři Müllerovi. Müllerovy výzkumy ukázaly, že složení půdních mikroorganismů má vliv na zdravotní stav rostlin a tyto mikroorganismy se v půdě vyskytují ve třech vrstvách. Vrchní vrstva je zónou rozkladu, druhá vrstva je tvořena bakteriemi mléčného kvašení, které utvářejí biologický filtr zabraňující škodlivým bakteriím a jedovatým zplodinám proniknout do třetí vrstvy, což je zóna humusová, kde mají rostliny své kořeny. Orba se v rámci této metody

neprovádí a hnojí se organickými hnojivy (Barton, 2018). Dalšími typy ekologického organického zemědělství jsou Howard-Balfour, organické zemědělství „Lemaire – Boucher“, biologické zemědělství Clauda Auberta, systém ANOG, zemědělství Mazdaznan, veganické zemědělství aj.

## 1.1 Ekologické zemědělství v ČR

Počátek dnešního ekologického zemědělství tedy rozšířil filozof Rudolf Steiner svými přednáškami roku 1924 v tehdejší německé Dolní Slezsku, jeho názor se později šířil Evropou a celým světem. V době, kdy se šířilo biodynamické zemědělství západní Evropou, byla u nás doba těžké totality. Změna komunistického JZD (jednotná zemědělská družstva) byla zcela nemožná a kritika se na dlouhou dobu odmlčela. Ke svobodnému rozvoji dochází až v 90. letech, kdy byly umožněny svobodné cesty do zahraničí, možnost se vzdělávat a přebírat zkušenosti od zemí, kde se již běžně takto hospodařilo. V té době byly poskytovány jedny z prvních národních dotací a ekologičtí farmáři se sdružovali a zakládali svazy (např. Pro-Bio). Tyto přípravy a postupné začleňování mezi země EU (Evropská unie) trvalo do roku 2003.

Po vstupu České republiky (ČR) do Evropské unie 1. května 2004 se ekologické zemědělství stalo nedílnou součástí agrární politiky České republiky. Ministerstvo zemědělství vydalo tzv. Akční plán, ve kterém byly vytyčeny cíle vždy na dobu pěti let. Kontrolní organizace působící v ČR (KEZ o.p.s. Chrudim, ABcert AG Brno, Biokont CZ, s.r.o. Brno, Bureau Veritas Praha) zajišťuje Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) a ten je římo podřízen Ministerstvu zemědělství ČR. Kontrolní organizace sledují registrované subjekty, zda dodržují národní i evropskou legislativu a certifikaci biopotravin, bioproduktů.

V horských a v podhorských oblastech v ČR má své největší zastoupení podíl trvalých travních porostů s chovem extenzivních masných plemen hovězího skotu, koz a ovcí. Méně se pak chová mléčných plemen skotu a méně je farem zaměřených na chov prasat z důvodu náročnosti na chovné podmínky a ekonomiku (Šejnohová et al., 2019).

Ekologické zemědělství (resp. ekologická produkce) je legislativně pevně ukotvený systém s přísně nastavenými a kontrolovanými pravidly stanovenými na základě Evropského parlamentu (EP) a Evropské rady (ER), které upravují prováděcí nařízení Evropské komise (ES), např. nařízení Rady (ES) č. 834/2007 o ekologické produkci a označování bioproduktů, nařízením Komise (ES) č. 889/2008, prováděcí pravidla k nařízení (834/2007), nařízením Komise (ES) č. 1235/2008 udávající normy o ekologické produkci a označování ekologických produktů ze třetích zemí, upravující nařízení Rady

(ES) č. 834/2007, nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1107/2009 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh. Dále pak národní zákony č. 242/2000 Sb., o ekologickém zemědělství a zákon č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči, který byl změněn zákonem č. 369/2019 Sb., a vyhlášky č. 16/2006 Sb., provádějící některá ustanovení zákona o ekologickém zemědělství a č. 76/2015 Sb., o podmínkách provádění opatření ekologického zemědělství.

Státní zemědělský intervenční fond (SZIF) je státní institucí, která vznikla zákonem č. 256/2000 Sb., o Státním zemědělském intervenčním fondu a o změně některých dalších zákonů. SZIF vyplácí, kontroluje a administruje finanční podpory z evropských fondů a národních zdrojů. V celé EU se rozdělují dotační podpory v rámci Společné zemědělské politiky poskytované z Evropského zemědělského záručního fondu (EAGF) a Evropského zemědělského fondu pro rozvoj venkova (EAFRD) a v rámci společné rybářské politiky z Evropského námořního a rybářského fondu (ENRF). V České republice se vyplácí dotační podpory podle Horizontálního plánu rozvoje venkova (HRDP) a Operačního rozvoje venkova, který čerpá finanční prostředky z EAFRD. Pro finanční podporu v EZ jsou vypsány dva hlavní programy: 1) Agroenvironmentálně-klimatické opatření (AEKO) a 2) Ekologické zemědělství. Cílem AEKO je podpořit způsoby využití zemědělských půd, které jsou v souladu s ochranou a zlepšením životního prostředí, krajiny a jejich vlastností. Druhý dotační program podporuje systémy hospodaření šetrné k životnímu prostředí, zaměřené na obnovu rozmanitosti krajiny, udržení půdní úrodnosti aj. (eAGRI, 2020a).

## **1.2 Statistika EZ**

Podle údajů z Registru ekologických podnikatelů k 31. 12. 2019 hospodařilo ekologicky 4 690 subjektů, a to na celkové výměře 540 993 ha, což představuje podíl 15,22 % z celkové výměry zemědělského půdního fondu v ČR registrované v LPIS (Tabulka 1.1). Plochy obhospodařované ekologickými zemědělci opět vzrostly, a to o 2045 ha meziročně. Podle Honsové (2020) je ekologické zemědělství v ČR stále na vzestupu, hospodaří se již na necelých šestnácti procentech výměry zemědělské půdy. Meziročně stoupl i celkový počet ekologických zemědělců, a to o 2 %.

Tabulka 1.1: Výměra půdy a počet farem v ekologickém zemědělství v ČR ve vybraných letech (Šejnohová et al., 2019).

| Rok  | Počet farem hospodařících v EZ | Celková výměra ploch v EZ (ha) | Podíl z celkové výměry ZPF (%) | Meziroční změna počtu farem v EZ (%) | Meziroční změna výměry ploch v EZ (%) |
|------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1990 | 3                              | 480                            | -                              | -                                    | -                                     |
| 1999 | 473                            | 110 756                        | -                              | -                                    | -                                     |
| 2010 | 3 517                          | 448 202                        | 10,55                          | 30,8                                 | 12,5                                  |
| 2011 | 3 920                          | 482 927                        | 11,4                           | 11,5                                 | 7,7                                   |
| 2012 | 3 923                          | 488 483                        | 11,56                          | 0,1                                  | 1,2                                   |
| 2013 | 3 926                          | 493 896                        | 11,70                          | 0,1                                  | 1,1                                   |
| 2014 | 3 885                          | 493 971                        | 11,72                          | -1                                   | 0                                     |
| 2015 | 4 115                          | 494 661                        | 11,74                          | 5,9                                  | 0,1                                   |
| 2016 | 4 243                          | 506 070                        | 12,03                          | 3,1                                  | 2,3                                   |
| 2017 | 4 399                          | 520 032                        | 12,37                          | 3,7                                  | 2,8                                   |
| 2018 | 4 596                          | 538 894                        | 12,82                          | 4,5                                  | 3,6                                   |
| 2019 | 4 690                          | 540 993                        | 15,22                          | 2                                    | x                                     |

Pozn: Data vždy k 31. 12. daného roku. V roce 2019 byla upravena metodika pro výpočet celkové výměry ploch v EZ a podílu celkové výměry ZPF v ČR, proto nejsou uvedeny meziroční změny výměry ploch EZ- x.

Orná půda v roce 2019 v EZ dosáhla 16,7 % z celkové výměry půdy v režimu hospodaření EZ (Tabulka 1.2). Stále v EZ dominují trvalé travní porosty, v roce 2019 s výměrou již téměř 444 tis. ha a podílem 82,1 % na celkové výměře ekologicky obhospodařované půdy. Trvalé kultury zaujímají podíl kolem 1 % v rámci všech ekologicky obhospodařovaných ploch, z nichž převládaly ovocné sady (intenzivní a extenzivní) s 59,3 %, vinice zaujímaly 15,3 % ploch a chmelnice 0,2 %. Od roku 2015 byla zahrnuta kategorie „jiná trvalá kultura“ (z velké části krajnotvorný sad), která tvořila 25,3 % z plochy Trvalé kultury v ČR (cca 1 580 ha).

Tabulka 1.2: Srovnání struktury půdního fondu (Šejnohová et al., 2019).

| Užití půdy            | 1999 |      |      |      |      |      |      |      |  |
|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|--|
|                       | 1999 | 2003 | 2005 | 2008 | 2011 | 2014 | 2017 | 2019 |  |
| Orná půda             | 12,4 | 7,7  | 8,1  | 10,3 | 12,3 | 11,4 | 13,8 | 16,7 |  |
| Trvalé travní porosty | 86,7 | 90,7 | 82,3 | 82,4 | 82,4 | 82,3 | 82,3 | 82,1 |  |
| Trvalé kultury        | 0,3  | 0,4  | 0,3  | 0,9  | 1,6  | 1,2  | 1,2  | 1,2  |  |
| Ostatní plochy        | 0,5  | 1,1  | 9,2  | 6,4  | 3,5  | 2,8  | 2,8  | 0    |  |

Pozn: Data vždy k 31.12. daného roku.

Tabulka (1.3) ukazuje strukturální složení ekologických subjektů a porovnání mezi roky 2018/2019. Jako výrobce biopotravin bylo ke konci roku 2019 registrováno 826 subjektů. Meziročně jde o navýšení o 10,4 %, což představuje udržení růstu z předchozích let. Počet ekologicky hospodařících včelařů a pěstitelů hub se meziročně nemění.

Tabulka 1.3: Strukturální složení subjektů v režimu hospodaření EZ (Šejnohová et al., 2019).

| Rok  | 2018  | 2019  |
|--|-------|-------|
| Ekologické subjekty podle typu činnosti        | Počet |       |
| Ekologický zemědělec                           | 4596  | 4690  |
| Výrobce biopotravin                            | 748   | 826   |
| Distributor – obchodník                        | 938   | 1 003 |
| Výrobce nebo dodavatel ekologických krmiv      | 61    | 63    |
| Výrobce nebo dodavatel eko. rozmnož. materiálu | 58    | 69    |
| Ekologický chovatel včel                       | 10    | 10    |
| Ekologický chovatel ryb                        | 17    | 18    |
| Ekologický pěstitel hub                        | 3     | 3     |
| Eko. sběrač volně rostoucích rostlin           | 17    | 20    |
| Ostatní  | 9     | 10    |

Pozn: Data vždy k 31.12. daného roku.

Vzrůstající trend navyšování ekologických ploch i registrovaných subjektů se předpokládá i v dalších letech, soudě podle vývoje v ostatních státech EU i světa. Roste obliba v konzumaci biopotravin a tlak veřejnosti a zemědělců na zlepšování životního prostředí (Šejnohová et al., 2019).

### 1.3 Ochrana rostlin v ekologickém zemědělství

Termínem „ochrana“ rozumíme veškerá opatření směřující k omezení škod na úrodě, které mají na svědomí nežádoucí organismy. Jde o snahu kompenzovat nedostatečnou druhovou pestrost agroekosystémů a sníženou schopnost rostlin odolávat infekcím patogeny.

Země EU se zavázaly (směrnice 128/2009/ES) od roku 2009 k udržitelnému používání pesticidů. Je to snaha o vytvoření alternativních přístupů nebo postupů s cílem omezení závislosti na používání pesticidů. Systém ochrany rostlin byl nazván Integrovaný systém ochrany rostlin (Integrated Pest Management – IPM) a je využíván v konvenčním systému hospodaření (KZ). Principem IPM je využití co nejefektivnějšího, ekologicky šetrnějšího a ekonomicky výhodného postupu při regulaci škodlivých organismů. Stále však povoluje používání syntetických pesticidů (Onillon a Gullino, 1999). V ČR je směrnice EU implementována do zákona č. 369/2019Sb. v původním znění zákona o rostlinolékařské péči č. 326/2004 Sb.

Zvláštní zpráva Evropského účetního dvora z roku 2020 uvádí, že syntetické pesticidy jsou příčinou znečištění a mají přímý účinek zejména na stav biodiverzity, vodních útvarů a půdy. Dále hodnotí kriticky uplatňování IPM v EU a požaduje udržitelné používání pesticidů, a tím snižování rizik a vlivu na životní prostředí a lidské zdraví. Také

v minulosti byla provedena řada výzkumů EU, které hodnotí negativní dopady pesticidů na biodiverzitu (Geiger et al., 2010). EU v prosinci roku 2019 představila strategii s názvem Zelená pro Evropu (European Green Deal), která mimo jiná závažná témata řeší toxické látky znečišťující životní prostředí. V budoucnu lze tedy očekávat větší tlak na snižování spotřeby pesticidů v EU.

Ochrana rostlin v ekologickém zemědělství se opírá především o prevenci výskytu nežádoucích organismů. Využívány jsou převážně nepřímé metody ochrany, jejichž cílem je přirozená regulace výskytu nežádoucích organismů vytvářením vhodných podmínek pro výskyt přirozených nepřátel tak, aby jejich vzájemný poměr byl vyvážený. Zároveň zabráňuje vzniku vhodných podmínek pro výskyt škodlivých patogenů nebo škůdců. V ekologickém zemědělství je legislativně zakázáno používat syntetické pesticidy, které jsou používány v IPM (Kalinová, 2018).

### **1.3.1 Nepřímé metody ochrany rostlin**

Pro efektivní ochranu rostlin se přednostně využívají nepřímé (preventivní) metody ochrany, tj. výběr odrůdy a stanoviště, odstranění infikovaných rostlin, eliminace přenašečů, zdravé certifikované osivo/sadba, vytváření prvků a podmínek pro rozvoj přirozených nepřátel, správné agrotechnické postupy (např. zpracování půdy, výživa rostlin, střídání plodin v osevním postupu, založení porostu aj.). Preventivní způsoby ochrany rostlin vždy přímo korespondují se správnými zásadami pěstitelské praxe. Důsledné dodržování a promyšlené používání zvyšuje výnosy i ekonomiku ekologicky hospodařícího podniku. Pouze některé chyby lze v průběhu roku napravit přímým zásahem za využití fyzikálních a biologických způsobů regulace (Kalinová, 2018).

### **1.3.2 Význam biodiverzity pro ekologické zemědělství**

Rozmanitost a pestrost agroekosystému nepřímo napomáhají při regulaci škodlivých organismů. Přirozené přírodní či vytvořené prvky v krajině (např. meze, remízky, extenzivní sady, rozptýlená zeleň aj.) udržují vyvážený poměr škodlivých organismů a jejich antagonistů (Mackovčín et al., 2010).

Biodiverzita je v čase proměnlivá ať zásahem člověka, samovolně či přírodní katastrofou. Ochrana biodiverzity je v ČR uvedena v zákoně o ochraně přírody a krajiny č. 114/1992 Sb. a v dokumentu schváleném v roce 2005 (Strategie ochrany biologické rozmanitosti České republiky). V EU platí Evropská směrnice 92/43/EHS o ochraně přírodních stanovišť, volně žijících živočichů a planě rostoucích rostlin a směrnice 79/409/EHS o ochraně volně žijících ptáků (Natura 2000). ČR se rovněž připojila k

Úmluvě o biologické rozmanitosti (Convention on Biological Diversity – CBD), platné od roku 1993.

Studie uvádějí, že za posledních 100 let dochází k výraznému snižování biodiverzity, dále k pozitivnímu vlivu ekologického způsobu hospodaření na ptáky, hmyz – zejména predátory, pavouky, edafon a květenu (Jouzi et al., 2017; Hansen et al., 2001; Stolze et al., 2000). Pozitivnímu vlivu ekologického hospodaření významnou měrou napomáhá nižší intenzita produkce a vyšší variabilita stanovišť, větší podíl přirozených a polopřirozených stanovišť, ostrůvkovité zeleně a míst, která mohou poskytnout trvalé nebo dočasné stanoviště mnoha živočišným a rostlinným druhům.

### 1.3.3 Přímé metody ochrany rostlin

Přímá ochrana řeší důsledek chybné pěstitelské praxe či vyšší moci bez přičinění farmáře, lze ji v EZ rozdělit na:

- a) fyzikální způsoby ochrany – termické metody (např. propařování, spalování), biotechnické metody (např. optické a světelné lapače, el. výboje aj.), mechanické metody (lepové desky, lapací pásy, mechanický sběr škůdců, odstranění napadených rostlin aj.)
- b) chemické způsoby – biochemické metody (např. lákadla, pohlavní feromony), některé přípravky na bázi mědi, síry aj., povolené legislativou pro EZ
- c) biologické způsoby ochrany rostlin – biologické preparáty, botanické pesticidy (např. repelenty, rostlinné výluhy) a pomocné látky povolené legislativou pro EZ.

Biologická ochrana rostlin (Biological pest control – BPC) je nedílnou součástí IPM a, spolu se zásadami správné pěstitelské praxe pro EZ, alternativou k chemické ochraně rostlin pro ekologické zemědělce. BPC využívá ekologických vztahů mezi biotickou a abiotickou složkou agroekosystému a záměrně využívá přirozených nepřátel ke snížení škůdců a chorob s cílem udržet takovou hladinu poškození, která neohrožuje efektivitu hospodaření. Základními strategiemi BPC jsou podpora užitečných organismů v daném prostředí a introdukce, vnášení užitečných organismů do prostředí. První strategie používá k zapojení biologických metod do systému ochrany rostlin podporu přirozeně rozšířených užitečných organismů, tzn. zachování refugií, např. biokoridory s kvetoucími rostlinami, zejména pro pyl (zdroj potravy pro hmyz), tvorba záměrně neošetřovaných ploch a biokoridorů s cílem podpořit populační dynamiku užitečných druhů a udržet stanovištní diverzitu v rámci biotopu. Dále pak uplatňování pěstitelských technologií, správných agrotechnických zásahů, které co nejméně narušují prostředí, jeho živé i neživé složky, a tím přispívají k přirozené rovnováze mezi půdními mikroorganismy a podporují výskyt



přirozených nepřátel škůdců. Druhá strategie biologické ochrany rostlin, tj. introdukce užitečného organismu do prostředí, je hojně využívána v ekologickém zemědělství, ale v poslední dekádě stále sílí snaha využívat ji i v IPM (Hrudová, 2015).

#### **Skupiny přirozených nepřátel podle Osborna a Landy (1992):**

- a) parazit – potravní vazba na hostitele, převažuje užší specializace (hostitel), Hymenoptera
- b) parazitoid – potravní vazba a vývojová vazba na hostitele, převažuje užší specializace (hostitel, vývojové stádium), Hymenoptera
- c) predátor – dravec, potravní vazba na oběť, vývojem není vázán na oběť, převažuje širší potravní spektrum, letální interakce, Insecta, Acarina
- d) patogen – původce nemoci (biologický činitel způsobující onemocnění hostitele), obligátní a fakultativní mikroorganismy, např. entomopatogenní bakterie, entomopatogenní houby, viry, háďátka aj.
- e) Bioagens – prostředek obsahující živé makroorganismy ve formě výrobku poskytovaného uživateli proti škodlivým organismům na rostlinách nebo rostlinných produktech.

#### **1.3.4 Přípravky na ochranu rostlin pro ekologické zemědělství**

Pesticid je souhrnné označení látek používaných k potlačování a hubení pro člověka nežádoucích organismů chemickým a biologickým způsobem (Prokinová, 2019). Biologické pesticidy jsou uvedeny v usnesení Evropského parlamentu ze dne 15. 2. 2017 o biologických pesticidech představujících nízké riziko (2016/2903(RSP)), (Europa.eu 2017). Přírodní preparáty nebo preparáty na biologické bázi mají minimální vliv na necílové organismy. Biologické pesticidy působí převážně na vybraného škůdce. Hlavními skupinami jsou mikrobiální (biopreparáty) a makrobiální insekticidy (bioagens). Skupina mikrobiálních insekticidů je zastoupena viry, viroidy, bakteriemi, řasami, houbami a prvoky. Tyto mikroorganismy postrádají aktivní schopnost vyhledávání potenciálního hostitele a svého cíle dosahují pasivními prostředky. Oproti nim makrobiální insekticidy jsou aktivní v dosažení cíle, reagují na prostředí a na přítomnost potenciálních hostitelů. Tato skupina je zastoupena parazity, predátory z kmene členovců Arthropoda, entomopatogenními (parazitickými) hlísticemi z kmene Nematoda. Makrobiální insekticidy jsou především využívány pro regulaci živočišných škůdců, kteří poškozují rostliny nebo rostlinné produkty (Osborne a Landa, 1992).

Praktická realizace těchto patogenů škodlivých organismů je limitována řadou faktorů, např. znalosti pěstitele, pečlivost při aplikacích a extrémní počasí. Extrémní průběh počasí může vést k tomu, že přípravek nebude účinkovat. Jde o živé organismy a každý organismus potřebuje vodu a má své teplotně-vlhkostní nároky. Limitujícími faktory mohou být i vnitřní faktory patogenu, např. citlivost, pohlaví, rezistence či vývojové stádium (Prokinová, 2017).

Do skupiny biologických pesticidů lze zařadit i biochemické pesticidy (feromony, lákadla) a botanické pesticidy (přípravky obsahující sekundární metabolity, výluhy, extrakty, oleje aj.). V seznamu povolených přípravků a dalších přípravků na ochranu rostlin jsou uvedeny biopřípravky členských zemí EU (Matyjasczyk, 2018). Tyto přípravky s podobnou účinností, které jsou dostupné na trhu a nejsou vedeny jako přípravky na ochranu rostlin, jsou nazývány jako tzv. pomocné přípravky, a jsou uvedeny v registru hnojiv na stránkách Ministerstva zemědělství (Prokinová, 2017).

### **Mechanismy účinku biologických pesticidů**

Jedním z mechanismů působení preparátů je mykoparazitismus. Jde o konkurenční, predační vztah dvou organismů, v rámci hyperparazitismu je patogen přímo atakován specifickým bioagens. Mezi hyperparazity lze zařadit tzv. hypoviry, mykoparazitické houby, obligátní bakteriální patogeny a částečně i predátory (Milgroom a Cortesi, 2004).

Amenzalizmus - vztah dvou či více organismů, který musí škodit minimálně jednomu z nich nebo může škodit svými sekundárními metabolity. Podmínkou je ale dostatečná dávka a vzdálenost od cílového organismu (Haas a Défago, 2005).

Produkce metabolitů je skupina, která se prolíná s předchozím typem. Jde o látky sekundárních metabolitů, které působí na ostatní organismy (retardace růstu, blokující enzymy aj.). Bylo prokázáno, že některé produkty enzymatického štěpení mají nepřímou účinnost proti rostlinným patogenům. Například oligosacharidy štěpené z buněk hyf jsou signálními molekulami v rostlinných pletivech a indukují obrannou reakci rostlin (Radman et al., 2003).

Kompetice - konkurenční vztah dvou organismů soutěžících o zdroje a životní prostor. Bylo pozorováno, že nepatogenní mikroorganismy pronikají svými vlákny do buněk hostitele (kvasinky, houby) a čerpají z něho pro svoji výživu potřebné látky. (Shahraki et al., 2009).

Elicitace - spouštěné obranné reakce rostlin. Působením kyseliny salicylové a jasmonátů dochází k produkci alkaloidů a dalších sekundárních metabolitů. Pomocí bioagens lze indukovat obě cesty obranných reakcí (Bleša, 2020; Robatzek a Saijo, 2008).

## 2. Botanické pesticidy

Účinnou látkou botanických pesticidů jsou tzv. rostlinné sekundární metabolity obranného mechanismu. Za sekundární metabolity se původně považovaly odpadní látky primárního metabolismu nebo intracelulárního detoxikačního procesu. Předpokládá se, že sekundární metabolismus je výsledkem biochemické adaptace rostlin na okolní prostředí a základní prvek regulačního systému vývoje rostlin (Campos, 2019). Tyto sekundární metabolity (Allelomony) hrají podstatnou roli ve vzájemných vztazích mezi organismy. Allelo-sloučeniny jsou látky, které ovlivňují řadu pochodů v těle organismů. Rozdělují se na allomony – zjednodušeně látky prospěšné pro hostitelskou rostlinu (repelenty, antifidanty, jedy) a kairomony – látky prospěšné pro škůdce (atraktanty, lapače, fagostimulanty), (Buczowska a Rochalska, 2010).

V průběhu evoluce pomáhají sekundární metabolity rostlinám čelit stresům a napadení chorobami a škůdci. Tyto látky mají schopnost potlačovat vývoj a příjem potravy škodlivého patogenu. Mohou ho také ale přímo usmrtit patogeny. Pro izolaci těchto látek lze využít různé extrakční metody, a to i využití jednoduché macerace rostlin ve vodě (Pavela, 2017).

### 2.1 Botanické pesticidy první generace

Pavela (2011) přehledně rozděluje botanické pesticidy do třech kategorií: botanické pesticidy první, druhé a třetí generace. Botanické pesticidy první generace, jejichž začátek používání sahá hluboko do lidské historie, se využívaly jako extrakty z rostlin s insekticidními účinky.

1) Pyretrum - rostlinný materiál obsahující pyretroidní látky, obsahují rostliny: chryzantémy, listopadky, kopretiny, řimbaby, vratiče. Při výrobě insekticidních přípravků se uplatnily především dva druhy z rodu *Pyrethrum* (*Chrysanthemum cinerariifolium* Trevis a *Chrysanthemum coccineum*). Suchá droga (květy) obsahuje skupinu látek pyrethriny, které působí jako kontaktní a požerový jed. Přípravky se do Evropy dovážejí v podobě polotovarů, především z Keni. Zde jsou poté formulovány do známých přípravků, např. Organihum Protex, Natur Forte EC. Používá se jako repelent a neselektivní insekticid (Copping a Menn, 2000).

2) Nikotin - rostlinné látky extrahující se z druhů *Nicotiana tabacum* L. a *Nicotiana rustica* L. Rod *Nicotiana* zahrnuje několik desítek druhů, které jsou původem ze Severní a Jižní Ameriky, Austrálie aj. Nicotinové alkaloidy působí na hmyz velmi rychle jako

nervový jed. Vzhledem k tomu, že je nicotin jedovatý pro člověka, jsou přípravky stahovány z trhu. U nás se používal přípravek Savel, ale jeho registrace již skončila. Výluh si můžeme vyrobit sami doma. Tabákovou drť smícháme s vodou v poměru 1:30 a macerujeme 24 hodin, poté scedíme a zředíme zhruba 10krát. Koncentraci je důležité nejdříve vyzkoušet a aplikovat na malých plochách a jen u okrasných rostlin (Jacobson, 1989).

3) Rotenon - isoflavonoid, který se ve většině syntetizuje z rostlin čeledě *Fabaceae*. *Lonchocarpus utilis* A.C. Sm., *Piscidia piscipula* L. Sarg., *Mundulea sericea* Willd. A. Chev., všechny druhy *Derris* sp.. Rotenon působí jako nervový jed, paralyzuje dýchání hmyzu. U nás nejsou přípravky povoleny, v USA, Indii, Číně jsou povoleny, i když Rotenon je mírně toxický pro člověka (Jacobson, 1989).

4) Ryanodine - alkaloid získávaný z rostliny *Ryana speciosa* Vahl. V Americe je prodáván jako přípravek s názvem Ryanex. Jsou to požerové a kontaktní jedy způsobující poruchu příjmu potravy u hmyzu. Používá se proti černopásce bavlníkové, obaleči východnímu, třásněnkám na citrusech (Sattelle et al., 2008).

5) Veratrin - skupina alkaloidů extrahovaná ze semen rostliny *Sabadilla officinarum* Retz, anebo rozdrcená semena na prach. Tyto přípravky byly používány proti všim a parazitům domorodým obyvatelstvem. Jsou využívány i proti škůdcům na polích (mšice, třásněnky aj.), (Isman, 2020).

6) Quassin - látka chitinového typu, mezi které patří i další látky (terpeny, ferulin, helenalin, neoquassin) získávané z *Quassia amara* L., česky hořkoň. Tyto látky se používají jako léčiva pro člověka, ale také pro ochranu rostlin, např. proti mšicím na chmelu. Přípravek u nás není registrovaný, ale je možné si ho vyrobit doma (dřevo se vaří cca 2 hodiny, scedí, naředí, přidá se smáčedlo – olej), (Isman, 2020).

7) Rostlinné oleje a mýdlo - rostlinné oleje se používaly k ochraně proti nežádoucím parazitům a škůdcům. Mechanismem účinku u olejů je pokrytí těla tenkým filmem a následnému znemožnění dýchání (olivový, arašídový, řepkový, slunečnicový, ale také živočišný, velrybí, delfíní aj.). Synergickým účinkem některých olejů mohou být i jiné biologické látky, které zvyšují účinnost. Použitím může být postřik zjara na kůru stromů proti vajíčkům přezimujících škodlivých organismů. Z rostlinných olejů se mohou vyrábět insekticidní mýdla nepatřící do řady botanických insekticidů. Tato mýdla ze solí mastných kyselin působí na dýchání hmyzu, který zadusí (Pavela, 2011).

## 2.2 Botanické pesticidy druhé generace

Do této skupiny se řadí všechny botanické pesticidy, které vznikaly zhruba od poloviny 20. století, jejichž cílem bylo minimalizovat používání syntetických pesticidů. Tyto přípravky působí nejen kurativně, ale i preventivně. Nevykazují negativní účinky na lidské zdraví a zdraví zvířat. Obsahují směs biologicky aktivních látek, které zvyšují synergii účinku jiného pesticidu. Zabraňují tím vzniku rezistence u hmyzu. Jejich biodegradabilita je rychlá.

1) *Azadirachta indica* Juss pochází z oblasti Asie, Pákistánu, Srí Lanky, Thajska a rozšířena byla do Ameriky a Afriky. Ve své domovině známá léčivá rostlina, léčivou látkou je Azadirachtin. U hmyzu způsobuje poškození hormonálního systému, blokuje vylučování neurosekretních látek, poruchy páření a způsobuje poruchy v období vývoje. Přípravky se vyrábějí po celém světě, nejvíce jich vyprodukuje Indie a USA. V Evropě je největším výrobcem Trifolio-M GmbH s výrobkem známým pod jménem NeemAzal T/S, který je povolen v EZ po celé EU. Používá se proti housenkám listožravých motýlů, mandelince bramborové, molícím aj. Tyto přípravky jsou nejúčinnější na juvenilní stádia hmyzu, působí protipožerově (Kühne, 2008).

2) *Pongamia pinnata* L. si postupně nachází cestu ve výrobě přípravků. Stromy pocházející z Indie, Bangladéše a Malajsie jsou ve své domovině ceněny pro léčivé účinky. Využívá se dřevo pro svou vysokou výhřevnost, lisováním plodů se získává olej, části rostliny se používají v lidovém léčitelství. Účinnou látkou jsou terpeny a polyfenoly. Extrakty či oleje mají protipožerové a repelentní účinky. Přípravky se využívají buď jako výluhy, oleje, či olej v kombinaci s dalšími extrakty (nejčastěji je míchán s neemovým olejem 1:1). Přípravky, které je možno využívat v EZ, jsou v EU registrované pod značkou Rock Effect. Přípravky se používají jak kurativně, tak preventivně, důležitá je předepsaná koncentrace (Pavela, 2011), (Negi et al., 1997).

3) *Calceolaria andina* L. je rostlina žijící ve vysokých nadmořských výškách And. Skupinou jejích účinných látek je naftochinon. Jsou středem zájmu výzkumů pro své vlastnosti nejen fungicidní a insekticidní, ale i bakteriální. Středem zájmu jsou především ve výzkumech lékařských pro svůj inhibiční účinek na bujení některých typů rakovinných buněk. Zkoumá se také jejich negativní vliv na necílové organismy, jež je velice pravděpodobný, protože účinek preparátu je okamžitý (Isman, 2020).

4) *Reynoutria* sp. (křídlatky) jsou invazivní druhy rostlin. U nás se můžeme setkat se dvěma druhy - sachalinská a japonská. Byly dovezeny do Evropy jako okrasné druhy. Zastánci jsou ceněny pro své schopnosti tvorby biomasy pro energetické účely.

Z lékařských účelů jsou rostliny testovány pro antivirální a protirakovinotvorné účinky. V ochraně rostlin je *Reynoutria* sp. ceněna pro své fungicidní účinky (proti plísni šedé, padlí aj.), (Pavela, 2011).

5) *Sophora flavescens* Ait. (jerlíný) jsou stromy nebo keře našich parků a zahrad. Využívány jsou především v Číně, kde nalezneme velkou nabídku různých extraktů. Mají insekticidní a fungicidní účinky (proti molicím, mšicím, sviluškám, proti plísni šedé, rzím, aj.), (Isman, 2020).

6) *Sapindus* sp. - rod Sapindaceae zahrnuje cca 12 keřů. Tyto keře obsahují velké množství saponinů a další vysoce aktivní látky (steroidy, flavonoidy, flavoniny, aj.). Jsou ceněné pro svoje fungicidní a insekticidní účinky prověřené staletými v Peru a Indii. V současnosti jsou přípravky vyráběny v Indii, USA a Brazílii. U nás je vyráběn přípravek s *S. trifoliatus* L., který je povolen na ochranu zeleniny proti plzákům a šnekům, je registrovaný jako pomocná látka (Pavela, 2011).

7) Aromatické rostliny jsou rozsáhlou skupinou botanických pesticidů druhé generace (odhaduje se cca 10 000 druhů). Extraktem jsou esenciální oleje, které jsou pro škůdce toxické. Mají však rychlý poločas rozpadu, a proto nejsou toxické pro necílové organismy. Esenciální oleje vynikají nízkými náklady při jejich výrobě. Nejsou příliš toxické pro teplokrevné živočichy. Jejich biologická účinnost je obvykle univerzální. Kontaktní účinnost je rychlá a okamžitá. Rezidua jsou nízká, rychle se rozpadají. V ČR jsou přípravky na trhu, např. HF-Mykol (obsahuje 23,8 fenyklového oleje), Myco-Sin VIN (obsahuje mimo jiné extrakt ze šalvěje lékařské), Rock Effect Profi (obsahuje extrakt z tymiánu). Mezi jedny z neznámějších aromatických rostlin využívaných nejen k ochraně rostlin patří dostupný česnek (Pavela, 2011; Scott et al., 2003).

### **2.3 Botanické pesticidy třetí generace**

Toto je zcela nová skupina botanických pesticidů, které mohou zvýšit vitalitu a zdravý růst rostlin. Jsou to látky podobné rostlinným hormonům či látky povzbuzující syntézu vlastních hormonů. Mohou to být přípravky, které elicitují syntézu látek obranného charakteru u ošetřovaných rostlin. Elicitaci takovýchto látek můžeme v rostlinách navodit obvykle stresem. Vyvolání stresu v rostlinách látkami s biocidními účinky - lze vyprovokovat aktivitu genů zodpovědných za syntézu obranných látek. Tyto botanické pesticidy jsou ve fázi výzkumů a registrací. Další příklady rostlin a jejich potenciální využití v ochraně rostlin: *Acer* spp., *Acorus calamus* L.- puškovec, *Ajuga* spp., *Amorpha* spp., *Angelica arhcangelica* L., *Berberis* spp., *Capsicum annum* L., *Carum carvi* L.,

*Chenopodium* spp., *Citrus* spp., *Medicago sativa* L., *Mentha* sp., *Piper nigrum* L., *Salix* spp. aj. (Pavela, 2011).

Od pradávna mají rostliny svou roli pro domácí využití k přípravě botanických pesticidů. Začíná se sběrem rostlin, využívají se různé suché části rostlin (drogy) a z nich se vyrábí rostlinné extrakty. Jde o neúčinnější získávání biologicky aktivních látek obranného charakteru. Suché části se macerují v rozpouštědle (voda, organická rozpouštědla: ethanol, methanol, aceton, benzen, chloroform). Může jít o kvasné výluhy, odvary z rostlin, nálevy z rostlin či mořidla osiva a sadby. Dalšími tradičními přípravky minerálního či živočišného původu jsou například: popel ze dřeva (kůra listnatých stromů) - aplikuje se jemně rozdrčený jako popraš proti mšicím. Manganistan draselný se používá zejména proti padlí a plísni šedé. Kamenec (síran hlinitodraselný), který působí repelentně proti hmyzu a slimákům. Aplikuje se jako popraš. Proti červcům a molcím se připraví roztok. Vodní sklo má podobné účinky jako výluh z přesličky, má fungicidní účinky. Mazlavé mýdlo je směs syrového sádla a louhu draselného. Bordeauxská jícha je směs modré skalice a vápenného mléka. Jíchu je nutné co nejdříve aplikovat, jelikož stáním se snižuje účinnost. Theobaldův roztok je směs draselné soli, vody a vodního skla. Používá se k nátěru kmenů stromů pro odstranění přezimujících škůdců. Lepidlo k odchyту hmyzu se připravuje z řepkového oleje, vepřového sádla, terpentýnu a kalafuny. Používá se k nátěru papírových pásů, které se omotávají kolem kmenů pro odchyт škůdců (Pavela, 2011).

### **3. Brambor hlíznatý**

#### **3.1 Původ a historie**

Brambor hlíznatý (*Solanum tuberosum* L.) patří do čeledi lilkovitých (Solanaceae). Horské oblasti And jsou původní oblastí bramboru, který byl dovezen do Evropy španělskými loděmi. V 17. století se brambor v Čechách pěstoval jako okrasná rostlina, a teprve o sto let později se začal pěstovat na poli (Kutnar, 2005). V podmínkách České republiky se pěstuje jako jednoletá rostlina, rozmnožující se vegetativně i generativně. Pro zemědělské účely se každoročně množí z nově vytvořených hlíz. V ekologickém podniku jsou brambory neodmyslitelnou součástí pěstovaných plodin. Diviš (2010) uvádí, že plocha bio brambor se většinou pohybuje pod hranicí jednoho hektaru na jedné farmě. Celková roční spotřeba na osobu se pohybuje kolem 65–70 kg konzumních brambor. Pěstování brambor ovlivňuje řada faktorů, které mají za následek snižování výnosů a u bio

brambor to platí násobně. Výnos bio brambor se snižuje až o 39 %, proto je cílem tyto faktory tlumit dodržováním zásad.

V ČR podle Českého statistického úřadu se v roce 2019 pěstovaly brambory na ploše 29,4 tis ha, z toho 22,9 tis ha v zemědělském sektoru s produkcí 623 tis. t a 6,2 tis ha osázeli malopěstitelé. V ekologickém režimu hospodaření byly brambory v roce 2019 pěstovány na ploše 355 ha s produkcí 4 126 t, tj. podíl na celkové produkci brambor 0,66 % (Tabulka 1.4).

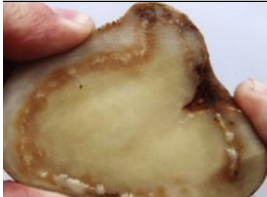
Tabulka 1.4: Plochy a produkce EZ na orné půdě v letech 2018 a 2019, srovnání s celkovou produkcí v ČR v roce 2019 pro vybrané plodiny (Šejnohová et al., 2019).

| Plodiny  | 2018                   |                 | 2019                   |                 | 2019 (ČR)           |              | Podíl na celkové |
|----------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|---------------------|--------------|------------------|
|          | celková plocha EZ (ha) | EZ produkce (t) | celková plocha EZ (ha) | EZ produkce (t) | celková plocha (ha) | produkce (t) | produkci (%)     |
| Pšenice  | 11799                  | 24650           | 14 046                 | 28 810          | 839 446             | 4 812 163    | 0,60             |
| Brambory | 299                    | 3782            | 355                    | 4 126           | 22 894              | 622 660      | 0,66             |
| Řepka    | 421                    | 0               | 936                    | 247             | 379 778             | 1 156 973    | 0,02             |

### 3.2 Choroby a škůdci bramboru


Patogeny bakteriálních chorob se vyskytují v půdě, vodě i v rostlinách, cílem je zamezení vzniku nových lokalit. Bakterie pronikají do rostliny různými poraněními na stonku, hlízami nebo také průduchy. Bakteriální choroby jsou uvedeny v tabulce (3.5). Bakteriální hnědá hniloba bramboru byla prvně detekována v roce 2010 v závlahové vodě na Labi. Od roku 2015 se provádí řízená detekce původce této choroby (eAGRI, 2020b).

Tabulka 3.5: Bakteriální choroby bramboru (eAGRI, 2020b).

| Foto  | Český název, původce   | Význam, příznaky, projevy, choroby  | Zdroj choroby   |
|---|--|---|---|
|  | <b>Bakteriální kroužkovitost bramboru,</b><br><i>Clavibacter michiganensis</i> | Díky karanténním podmínkám nezpůsobuje výrazné škody. Rostlina postupně žlutne, vadne a nekrotizuje. Hlízy na řezu, hnědé cévní svazky. | Infikovaná sadba, při podezření se musí zlikvidovat podle předepsané karanténní metodiky. |

Obrázek 3.1






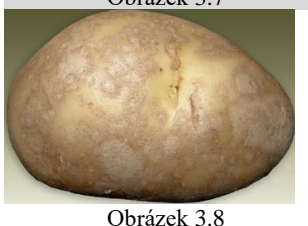
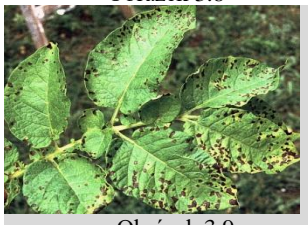



|   |  |  |  |
|---|--|--|--|
|  | <p><b>Bakteriální černání stonku a měkká hniloba hlíz bramboru,</b><br/><i>Pectobacterium carotovorum,</i><br/><i>Pectobacterium atrosepticum,</i><br/><i>Dickeya chrysanthemi</i></p> | <p>Významná choroba ve vlhkých teplých letech způsobuje rozsáhlé škody. Příznakem je černání stonku nad povrchem půdy, postupně celý stoněk odumírá. Dužina hlíz se mění v hnědou kašovitou hmotu.</p> | <p>Infikovaná sadba, přenos možný mechanizací, vodou i hmyzem.</p>                                   |
|  | <p><b>Bakteriální hnědá hniloba bramboru</b><br/><i>Ralstonia solanacearum</i></p>   | <p>Karanténní, škodlivý organismus, projevuje se povadnutím mladých listů, poté svinováním listů a na řezu stonku hnědnutím cév. Na řezu hlízy mají hnědé cévní svazky a vytékající sliz.</p>          | <p>Infikovaná sadba, podmáčená půda, záplavová a zavlhová voda. Ochrana dle karanténní metodiky.</p> |
|  | <p><b>Aktinobakteriální obecná strupovitost bramboru,</b><br/><i>Streptomyces scabiei</i></p>  | <p>Poškozuje vzhled hlíz, zhoršuje skladovatelnost a ovlivňuje klíčivost sadby. Příznakem jsou korkovité strupy na slupce bramboru.</p>  | <p>Běžně se vyskytují v půdě, proniká do hlíz již od 5 mm jejich velikosti.</p>                      |

Nejzávažnější chorobou bramboru je plíseň bramboru, jejíž původcem je *Phytophthora infestans*. Plíseň bramborová se objevuje téměř každoročně a působí ztráty v desítkách procent. Proti této chorobě se využívá především preventivní ochrana, např. výběr lokality, výběr sadby, zamezení zaplevelení, ale také přímá ochrana fungicidy.

Houbové choroby jsou uvedené v tabulce (3.6). Zdrojem těchto chorob jsou spory v půdě, na rostlinných zbytcích či infikovaná sadba. Zdrojem infekce u skládkových chorob bývá mechanické poškození. Tyto choroby se rozvíjejí při skladování brambor, jejichž patogeny jsou také houbové mikroorganismy: vodnatá hniloba brambor (*Pythium ultimum*), fusariová hniloba bramboru (*Fusarium coeruleum*), fomová hniloba bramboru (*Phoma foveata*). Společným znakem chorob je nevhodnost hlíz pro skladování.

Tabulka 3.6: Houbové choroby bramboru (eAGRI, 2020b).







| Foto  | Český název, původce   | Význam, příznaky, projevy, choroby  | Zdroj choroby                                    |
|---|--|---|--|
|  | <p><b>Rakovina bramboru,</b><br/><i>Synchytrium endobioticum</i></p> | <p>Závažná choroba, karanténní charakter. Silná deformace orgánů a tvorba nádorů.</p> | <p>Spory houby přežívající v půdě až 30 let.</p> |

|   |  |   |   |
|---|--|---|---|
|    | <p><b>Plíseň bramboru,</b><br/><i>Phytophthora infestans</i><br/>(Mont.) De Bary.</p>  | <p>Nejzávažnější choroba. Rychle se šíří za vlhka, tepla. Příznaky žlutozelené skvrny na okraji listů, později hnědnou a nekrotizují.</p> | <p>Oospory v půdě, infikovaná sadba, infikované natě. Nevhodné pro skladování.</p>                              |
|    | <p><b>Vločkovitost hlíz bramboru,</b><br/><i>Rhizoctonia solani,</i></p>   | <p>Příznaky nekrózy-žloutnutí listů, následně dřívější odumírání. Hlízy jsou deformovány s rozprasky.</p>                                 | <p>Zdrojem infekce je půda a infikovaná sadba.</p>  |
|    | <p><b>Stříbřitost slupky bramboru,</b><br/><i>Helminthasporium solani,</i></p>   | <p>Vada vzhledu hlíz, hlavně u mytých odrůd ovlivňující prodejnost. Na hlízách světle hnědé skvrny získávají stříbřitý vzhled.</p>        | <p>Napadení především z infikované sadby.</p>   |
|   | <p><b>Hnědá a terčovitá skvrnitost bramboru,</b><br/><i>Alternaria solani</i><br/>(terčovitá skvrnitost),<br/><i>Alternaria alternata</i><br/>(hnědá skvrnitost)</p> | <p>Méně závažná choroba. Na listech se vytvářejí žluté, pak hnědé skvrny nekrózy, totéž u hlíz</p>  | <p>Původci mají mnoho hostitelů, přezimují v půdě a na rostlinných zbytcích. K infekci dochází při sklizni.</p> |
|  | <p><b>Fusariová hniloba bramboru,</b> <i>Fusarium coeruleum</i></p>  | <p>Nejběžnější skládkovou hnilobou. Hlízy jsou napadeny mechanickým poškozením. Nejdříve v hlíze nekrotické skvrny, hnilobné léze.</p>    | <p>Fusaria nejsou schopna napadat hlízy s neporušenou slupkou, téměř vždy po mechanickém poškození.</p>         |
|  | <p><b>Fomová hniloba bramboru,</b> <i>Phoma foveata</i></p>  | <p>Skládková choroba, (silný ročník spjat s chladem a vlhkým počasím). Na slupce tvoří propadlé zvětšující se skvrny.</p>                 | <p>Zdrojem je infikovaná sadba a mechanické poškození.</p>  |
|  | <p><b>Vodnatá hniloba brambor,</b> <i>Pythium ultimum</i></p>  | <p>Nečekaná lokální choroba objevující se po sklizni. Rozklad hlíz při uvolňování většího množství vody.</p>                              | <p>Zdroj z půdy. Šíření mechanickým poškozením při sklizni.</p>   |

Virové choroby ( Tabulka 3.7) jsou nejčastěji přenášeny mšicemi, infikovanou sadbou či mechanickým poškozením. Nejvýznamnějšími přenašeči všech závažných virů bramboru jsou především mšice broskvoňová, *Myzus persicae*, a mšice řešetláková, *Aphis nasturtii*. Důležitým vektorem viru Y a viru svinutky je také mšice chmelová *Phorodon humuli*.

Prognózu a monitoring náletu mšic provádí ÚKZÚZ a pro členy Poradenského svazu Bramborářský kroužek, pak Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, kde jsou uvedeny výstupy (Hausvater et al., 2014).



Tabulka 3.7: Virové choroby bramboru (Dědič, 2014).

| Foto  | Český název, synonyma – zkratka  | Význam, příznaky, projevy, choroby  | Zdroj choroby   |
|---|--|---|---|
| <br>Obrázek 3.13   | <b>A virus bramboru</b> ,<br>Mírná mozaika,<br>Potato virus A-<br>PVA      | Těžká virová choroba způsobuje mírnou mozaiku spojenou se zvlněním listů, nebo bez příznaků. Snížení výnosu až o 40 %.              | Přenos infikovanou sadbou, nepersistentní přenos velkým počtem druhů mšic, mechanicky přenos (obtížně). Vážnější v kombinaci s jinými viry. |
| <br>Obrázek 3.14   | <b>M virus bramboru</b> ,<br>Lžicovitá mozaika,<br>Potato virus<br>M-PVM   | Lehká virová choroba. Slabé či žádné příznaky, infekce způsobuje zakrsávání, skvrnitost, mozaiku, lžicovité svinování listů.        | Přenos infikovanou sadbou, nepersistentní přenos mšicemi, mechanicky přenos.  |
| <br>Obrázek 3.15  | <b>S virus bramboru</b> ,<br>Potato virus S-<br>PVS                        | Lehká virová choroba, téměř bez příznaků. Zhrubnutí listů, prohloubení žilek, případně bronzovitost.                                | Přenos infikovanou sadbou, nepersistentní přenos mšicemi, mechanicky přenos.  |
| <br>Obrázek 3.16 | <b>Y virus bramboru</b> ,<br>Nekrotická mozaika,<br>Potato virus Y-<br>PVY | Těžká virová choroba, mozaika, kadeřavost, zakrslost, opad listů, nekrózy. Hlízy mají nekrotickou kroužkovitost. Výnos snížen 80 %. | Infikovaná sadba, přenos velkým počtem druhů mšic. Mechanický přenos.   |
| <br>Obrázek 3.17 | <b>X virus bramboru</b> ,<br>Mozaika bramboru,<br>Potato virus X-<br>PVX   | Lehká virová choroba. Kombinované infekce s dalšími viry působí velké ztráty.   | Přenos infikovanou sadbou, mechanicky a mšicemi.  |
| <br>Obrázek 3.18 | <b>Virová svinutka brambor</b> ,<br>Potato leafroll<br>Luteovirus-<br>PLRV | Těžká virová choroba, snižuje výnos až o 90 %, prvotní příznaky žloutnutí listů, po okraji zčernalé, kožovité svíjející se listy.   | Infikovanou sadbou, za vegetace persistentní, cirkulativní přenos mšicemi, zvláště mšice broskvoňová ( <i>Myzus persicae</i> ).             |

K nejúpornějším škůdcům bezesporu patří mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata* Say.), podrobněji je popsána v samostatné kapitole. Další škůdci jsou

drátovci (*Elateridae*) poškozující podzemní části rostlin, v hlízách vytváří četné chodbičky vyplněné trusem. Ochrana proti drátovcům spočívá v agrotechnických opatření. Mšice (*Aphidoidea*) jsou nejvýznamnějšími přenašeči virových onemocnění. Hád'átko bramborové (*Globodera rostochiensis* W.) škodí sáním na kořenech, jedná se o karanténního škůdce, jehož ochrana je stanovena karanténními předpisy. Škůdci, jejich charakteristika a škodlivost jsou uvedeni (Tabulka 3.8).

Tabulka 3.8: Škůdci bramboru (eAGRI, 2020b).

| Foto  | Český a latinský název  | Charakteristika  | Škodlivost   |
|---|---|--|--|
|  <p>Obrázek 3.19</p>   | <b>Mandelinka bramborová,</b><br><i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say | Dospělý brouk přezimuje v půdě, má čtyři larvální stádia. V teplých oblastech mohou založit i druhou generaci.               | Hospodářsky nejvýznamnější škůdce bramboru. Larvy i dospělci škodí žírem rostlin i vyčnívajících hlíz.                   |
|  <p>Obrázek 3.20</p>  | <b>Mšice,</b> <i>Aphidoidea</i>                                       | Hmyz velký 1–6 mm se savým ústrojím, může být okřídlený či bezkřídlý, rozmnožuje se partenogenezí i pohlavním rozmnožováním. | Nejvýznamnějšími přenašeči virových onemocnění (kromě viru PVX). Ochrana insekticidy hlavně v množitelských porostech.   |
|  <p>Obrázek 3.21</p> | <b>Hád'átko bramborové,</b><br><i>Globodera rostochiensis</i> W.      | Drobný půdní červ s nitkovitým tělem. (samičky nabývají tvaru cysty, v nichž jsou stovky larev)                              | Škodí sáním na kořenech. Karanténní škůdce. Ochrana dle karanténní metodiky.   |
|  <p>Obrázek 3.22</p> | <b>Drátovci,</b> <i>Elateridae</i>                                    | Drátovci jsou larvy brouka kovaříka. Vývoj larvy trvá 3–5 let. Živí se rostlinnými zbytky v půdě.                            | Poškozují podzemní části rostlin, v hlízách vytváří četné chodbičky vyplněné trusem. Ochrana agrotechnickými opatřeními. |

### 3.3 Pěstování brambor v EZ

Výběr odrůdy, a především kvalita sadby, je v EZ velmi důležitá. Pro ekologického zemědělce jsou vhodné odrůdy s kratší vegetační dobou, odrůdy s rychlým počátečním růstem, které nasazují menší počet hlíz a vykazují vyšší odolnost proti chorobám. Odrůdy zcela rezistentní vůči plísní bramboru zatím neexistují. Odrůdy odolné vůči strupovitosti jsou dostupné. Vhodné odrůdy do EZ, např. Magda, Adéla, Rosara, Bionta, Laura, Red Anna aj., (Diviš, 2007).



Biologická příprava sadby předkličováním má rozhodující vliv na snížení poškození porostu plísní bramboru i na kvalitu hlíz (vyšší pevnost slupky, nižší obsah nitrátů a cukrů, vyšší obsah vit. C) (Dvořák a Bicanová, 2007).

Organizace České technologické platformy pro ekologické zemědělství (ČTPEZ), která prezentuje dílčí výsledky výzkumu JU v Českých Budějovicích, popisuje, že v nižší nadmořské výšce se mohou uplatňovat především velmi rané a rané odrůdy, naproti tomu ve vyšších polohách polopozdní a pozdní odrůdy. Je to dáno především zásobením rostlin vodou a také nižším tlakem napadení plísní bramboru a mandelinkou (Moudrý et al., 2009).

Zařazování brambor do osevních postupů (OP) má příznivý vliv na úrodnost půdy a zvyšuje tím výnosy následných plodin (Hamouz et al., 2007). Pro významné omezení chorob a škůdců je důležité dodržet minimálně čtyřletý odstup od zařazení brambor v OP. Řadí se nejčastěji mezi dvě obiloviny s vylepšením výživového stavu půdy. Pro brambory je vhodné využít meziplodiny.

Dobře prokypřená ornice je nutností pro dobrý růst stolonů a zvětšování objemu hlíz brambor. Po sklizni obilnin je vhodné provedení podmítky, která šetří půdní vláhu, má plevelohubný účinek a ulehčí zpracování půdy na podzim. Organická hnojiva se zapravují do půdy na podzim orbou. K základním agrotechnickým opatřením patří regulace zaplevelení, která rovněž snižuje výskyt chorob a škůdců. Kvalitní sadba a její biologická příprava zaručují výnos při nižší hustotě porostu a dále zaručují nízkou redukci rostlin. Optimální hustota porostu je asi 42–44 tisíc rostlin na 1 hektar. Při určení termínu výsadby by měla rozhodovat teplota půdy, která má být prohřáta na 8 °C (Diviš, 2007). V EZ jsou využívány většinou jen organická hnojiva, nejlépe z vlastní produkce. Aplikace hnoje je doporučována v dávce 30 t. ha<sup>-1</sup> na podzim. Na jaře je aplikace nevhodná. Vhodné je i využití zeleného hnojení, je doporučováno využít hořčici bílou, svazenky, luskoviny či jetele (Diviš, 2012). Pro ochranu rostlin proti zaplevelení je prvotní výběr předplodiny, dodržování čtyřletého odstupu v řazení v OP a důsledná mechanická kultivace (nahrnování hlíny, proorávka naslepo, vláčení a plečkování). Zařazování víceleté pícniny do osevních postupů má silný odplevelující efekt. Rozšířené plevele jsou např. laskavec ohnutý (*Amaranthus retroflexus* L.), ježatka kuří noha (*Echinochloa crus-galli* L.), merlík bílý (*Chenopodium album* L.), pětour maloúborný (*Galinsoga parviflora* Cav.), pcháč rolní (*Cirsium arvense* L.).

Virové, houbové a bakteriální choroby jsou popsány v kapitole 3.2. Choroby a škůdci. Ochrana proti nim spočívá v preventivních opatřeních, musí se však realizovat s předstihem, s cílem zabránit rozšíření choroby (Rasocha a Hausvater, 2001). Metody

regulace spočívají v prevenci (certifikovaná sadba, vhodné stanoviště, vhodný pozemek, čtyřletý odstup pěstování, předcházení mechanického poškození hlíz, pěstitelská praxe a další). U houbových chorob je nejvíce rozšířena plíseň bramborová (*Phytophthora infestans*). Z přímých opatření proti plísni bramborové prozatím neexistuje přípravek pro EZ, a proto je povoleno používat přípravky na bázi mědi (např. Champion 50 WP (hydroxid měďnatý), Kuprikol 50 (oxichlorid mědi), je třeba dodržet maximální množství 6 kg čisté mědi na 1 ha. Infikované rostlinné zbytky je třeba neprodleně odstranit z pozemku (Vokál et al., 2013). U bakteriálních chorob je zapotřebí dbát zvýšené pozornosti u bakteriální kroužkovitosti bramboru (*Clavibacter michiganensis*), jedná se o karanténní chorobu a jako taková podléhá likvidaci dle karanténní metodiky. Zdrojem infekcí bývá přenos mechanizací, vodou anebo hmyzem, projevují se většinou ve vlhkých teplých létech. Ochrana spočívá opět v prevenci (např. hustota porostu, výběr stanoviště aj.). Také ochrana před škůdci prvotně využívá preventivní opatření. Je založena na dodržení minimálně čtyřletého odstupu, minimálně 500 m izolační vzdálenosti od plochy brambor předešlého roku, správné agrotechnice aj. (Diviš, 2012).

Sklizeň může probíhat v několika fázích, a to přímá jednofázová sklizeň vyoráváním brambor a ručním sběrem, nebo dělená dvoufázová sklizeň. Hlízy jsou vyorávačem ukládány do meziřádku a později po osušení sklízečem sklizeny a odvezeny (Vokál et al., 2013). Při napadení nati plísni bramborovou (10–20 %) se doporučuje ukončit vegetaci. Dále se doporučuje časový odstup pro nízké poškození hlíz, oschnutí a zahojení hlíz (2 týdny), je předpokladem dobrého skladování. Postupné zchlazování hlíz až na teplotu 5–8 °C pro krátkodobé skladování konzumních brambor (Diviš 2007).

### **3.4 Mandelinka bramborová *Leptinotarsa decemlineata* (Say)**

Mandelinka bramborová *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824) patří do třídy Insecta (hmyz), řádu Coleoptera (brouci), čeledi Chrysomelidae (mandelinkoví), rodu *Leptinotarsa* (mandelinka). Byla objevena Thomasem Nuttal, popsána a pojmenována byla Thomasem Say. Mandelinka je původem ze Severní Ameriky, později se rozšířila po celém kontinentu. Do Evropy byla zavlečena v 16. stol. obchodními loděmi spolu s bramborami (Hausvater a Doležal, 2013).





#### **3.4.1 Bionomie *L. decemlineata***

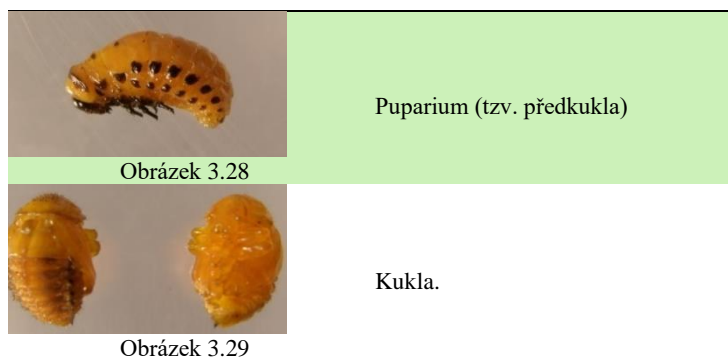
Hostitelské spektrum *L. decemlineata* je lilek brambor, rajče, lilek vejcoplodý a jiné lilkovité rostliny. Dospělci jsou dlouzí 10–12 cm a na krovkách mají černožluté pruhy. Vajíčka jsou žlutě zbarvená, z nich se líhnou zprvu tmavočervené larvy s černou hlavou,

později, jak dorůstají, se zbarvují do růžova až žluta. Larvy mají vysoce klenutý zadeček a v posledním instaru dorůstají až 15 mm.

Životní cyklus *L. decemlineata* začíná po úspěšném přezimování, které ovlivňuje řada faktorů (např. kvalita a dostatek potravy, průběh zimy). V jarním období (měsíc květen) z půdy prohřáté nad 14 °C vylézají z hloubky kolem 10–40 cm dospělí jedinci. Ti pak vyhledají potravu a páří se, k oplození samiček může dojít již na podzim. Na spodní stranu listu klade samička vajíčka v počtech 30–35 kusů. Vajíčka jsou 1,5 mm veliká. V teplém období s dostatkem potravy mandelinka může vytvořit za jeden rok plné dvě generace a naklazením 300–800 vajec si zajišťuje velkou populaci. Larvy se líhnou po 10 dnech v závislosti na okolní teplotě (ideální 20 °C) a prochází čtyřmi vývojovými stádii, tzv. instary (Tabulka 3.9). V průběhu až 4 týdnů, kdy se larvy neustále živí především listy, stonky, ale často požírá i hlízy vyčuhující z brázd. Poté spadnou do hlíny a zahrabou se 5–12 cm do země a zakuklí se. Toto stádium trvá 14 dní a následně dojde k vylíhnutí dospělého jedince, který ihned zahajuje žír. Životní cyklus *L. decemlineata* je odvislý od klimatických podmínek (2–3 měsíce), (Vokál et al., 2013).

Tabulka 3.9: Vývojová stádia *L. decemlineata* (obrázky foto autor).

| Foto vývojová stádia  | Popis   |
|---|---|
|  <p data-bbox="598 1272 730 1299">Obrázek 3.23</p> | Snůška vajíček na spodní straně listu a dospělá samice. |
|  <p data-bbox="598 1451 730 1478">Obrázek 3.24</p> | Larvy I. instaru.                                       |
|  <p data-bbox="598 1630 730 1657">Obrázek 3.25</p> | Larvy II. instaru.                                      |
|  <p data-bbox="598 1809 730 1836">Obrázek 3.26</p> | Larvy III. instaru.                                     |
|  <p data-bbox="598 1966 730 1993">Obrázek 3.27</p> | Larvy IV. instaru.                                      |



Podle Bessina (2003) ve státě Kentucky utvoří *L. decemlineata* plně dvě generace a v příhodných podmínkách může založit i třetí. *L. decemlineata* je odolný škůdce nejen z hlediska reprodukce, ale také z toho důvodu, že bez potíží dokáže hladovět až 28 dní v produkčním období a dokáže uletět při hledání potravy až tři kilometry (Gui a Boiteau, 2010).

### 3.4.2 Metody nechemické regulace *L. decemlineata*

Na malých plochách lze využít ruční sběr brouků a larev a jejich následné ničení. U větších pěstebních ploch ekologických farem byly vyvinuty speciální stroje na odsávání *L. decemlineata* napadených porostů. Pořizovací cena těchto strojů je pro eko-zemědělce nákladná a využití stroje je jednoúčelové.

Vhodnou metodou nechemické regulace škodlivých organismů je pro ekologické zemědělce biologická ochrana rostlin BPC. BPC využívá ekologických vztahů mezi biotickou a abiotickou složkou agroekosystému a záměrně využívá přirozených nepřátel ke snížení škůdců, chorob a plevelů s cílem udržet takovou hladinu poškození, která neohrožuje efektivitu hospodaření. V našich podmínkách patří k nejčastějším predátorům *L. decemlineata* ptactvo, ploštice, slunéčka, střevláci, škvoři a pavouci. Redukce výskytu *L. decemlineata* těmito živočichy je však poměrně malá (Doležal a Hausvater, 2020).

### 3.4.3 Biologické preparáty proti *L. decemlineata*

V rámci EU se v ekologickém zemědělství využívají pro uplatnění biologické ochrany především mikroorganismy, zvláště entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* a bakterie *Bacillus thuringiensis* (Matyjasczyk, 2018). V současné době nejsou v ČR registrovány a povoleny mikrobiální pesticidy k ochraně brambor (Doležal a Hausvater, 2020).

Entomopatogenní bakterie *Bacillus thuringiensis*, ssp. *Tenebrionis* je obsažená v přípravku Novodor FC. Ten byl využíván k regulaci *L. decemlineata*, ale skončila mu



registrace v roce 2008. V Belgii, Německu i Francii je Novodor FC běžně používán zemědělci (Kuthan a Trubská, 2017). Wraight a Ramos (2017) svým výzkumem potvrdili hypotézu, že *Beauveria bassiana* obsažená v přípravku Mycotrol ve formátu smáčivého prášku s kombinací přípravku Novodor v olejové suspenzi má synergický účinek. Obě látky se doplňují, za teplých a suchých podmínek byla nízká aktivita Mycotrolu vyvážena vysokou aktivitou Novodoru a za chladných, vlhčích podmínek byla nízká aktivita Novodoru vyvážena vysokou aktivitou Mycotrolu. Výsledky tedy potvrdily silné doplňkové působení těchto biopreparátů, aplikovaných společně pro potlačení výskytu *L. decemlineata*.

Entomopatogenní houby jsou stabilizačním prvkem půdy téměř po celém světě. Vyskytují se také v rostlinách, vodě a byly izolovány z více jak 40druhů členovců (Zemek et al., 2016). Tyto entomopatogeny vynikají svou šetrností vůči životnímu prostředí a neškodí ani necílovým hmyzím druhům, oproti chemickým insekticidům. Bio insekticid Boverol na bázi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* byl dříve v ČR používán při regulaci populací larev *L. decemlineata*, zavíječe kukuřičného a obaleče jablečného. Přípravku skončila registrace v roce 1997 (Koubová, 2009). V Evropské unii jsou běžně používané přípravky na bázi houby *Beauveria bassiana* (např. Mycotrol). Přípravek Mycotrol v olejové formě potvrdil účinnost až 65 % a větší odolnost proti dešti, oproti smáčivému prášku (Wraight a Ramos, 2002).

V roce 2018 byl proveden polní pokus se svolením ÚKZÚZ s biopreparátem entomopatogenní houbou *Isaria fumosorosea* proti mandelince, výsledky byly hodnoceny v mé bakalářské práci (Šašková, 2019). Pokus byl proveden na třech odrůdách brambor s cílem ověřit účinek preparátu zmíněné houby pro použití v EZ. Výsledky ukázaly, že velkou proměnnou jsou abiotické podmínky prostředí. Nároky entomopatogenní houby na teplotu okolí jsou 20–30 °C. Bohužel ročník vykazoval extrémní teploty až ke 40 °C a nízkou vlhkost až k 72 % v dopoledních hodinách s velice nízkým úhrnem srážek. Účinek preparátu nebyl prokázán v polních podmínkách. Oproti tomu v laboratorních podmínkách vykazoval preparát obsahující entomopatogenní houbu *I. fumosorosea*, + kmene CCM 8367 na konci pokusu účinek 92,6 % mortality. Nejvyšší citlivost vykazovaly larvy IV. instaru, následované předkuklami a kuklami (Hussein et al., 2016; Zemek et al., 2016). Také Mantzoukas (2018) potvrdil ve svém výzkumu vysokou účinnost *I. fumosorosea* na motýla travařka krétská *Sesamia nonagrioides* Le Fébvre, kdy virulence dosahovala od 70 %–98 %.

Entomopatogenní hlístice rodu *Steinernema* jsou velké 0,7–1 mm. Do těla larev se dostávají trávicím či dýchacím ústrojím. Hlístice infikují hostitele pomocí symbiotických

bakterií rodu *Xenorhabdus* a *Photorhabdus*. V uhynulých larvách se hlístice dále množí a hledají nové hostitele. Celý vývoj trvá 2–3 týdny (Nermuť et al., 2020). Hlístice se běžně používají proti larvám smutnic *Sciaridae* v dostupném přípravku, např. Nemaplus firmy Biocont Laborator. Účinnost byla prokázána i u *L. decemlineata*. Zemek et al. (2016) při regulaci *L. decemlineata* dosáhl lepších výsledků při použití kombinace entomopatogenní houby *Isaria fumosorosea* a hlístic, kde mortalita larev dosahovala až 98 %.

#### 3.4.4 Insekticidy proti *L. decemlineata* a pomocné látky povolené pro EZ

Ekologičtí zemědělci, na rozdíl od těch konvenčně hospodařících, nemají k dispozici široké spektrum přípravků na ochranu rostlin. Mohou použít jen omezený počet registrovaných pesticidů a pomocných preparátů (Doležal a Hausvater, 2019). V ČR jsou registrované insekticidy pro EZ určené k regulaci *L. decemlineata* pouze se dvěma účinnými látkami (Tabulka 3.10), (eAGRI, 2020d).

Tabulka 3.10: Registrované insekticidy proti *L. decemlineata* povolené pro EZ.

| Název přípravku | Držitel povolení                 | Biologická funkce | Název účinné látky |
|-----------------|----------------------------------|-------------------|--------------------|
| Mandelinka STOP | AGRO CS, a.s.                    | Insekticid (I)    | Spinosad           |
| NeemAzal-T/S    | Trifolio-M GmbH                  | I                 | Azadirachtin       |
| NeemAzal-T/S    | Trifolio-M GmbH                  | I                 | Azadirachtin       |
| SpinTor         | AGRO CS, a.s.                    | I                 | Spinosad           |
| SpinTor         | AgroBio Opava, s.r.o.            | I                 | Spinosad           |
| SpinTor         | LOVELA Terezín, s.r.o.           | I                 | Spinosad           |
| SpinTor         | Dow AgroSciences, s.r.o.         | I                 | Spinosad           |
| SpinTor         | Dow AgroSciences, s.r.o.         | I                 | Spinosad           |
| SPINTOR 240 SC  | BIOCONT LABORATORY, spol. s r.o. | I                 | Spinosad           |

#### 3.4.5 Metody chemické regulace *L. decemlineata*

Chemické prostředky na ochranu rostlin jsou definovány v nařízení č. 1107/2009/ES jako: „Přípravky v podobě, v níž jsou dodávány uživateli, sloužící k ochraně rostlin, regulaci růstu a k uchovávání rostlinných produktů. Za dodržení pravidel užívání insekticidů jsou nejúčinnější přímou ochranou napadených porostů brambor pro KZ. K použití insekticidů se přistupuje při významném výskytu *L. decemlineata*, při počtu 100 jarních brouků, 14 ohnisek larev na 1 ha nebo při výskytu 5000 larev na 1 ha. Insekticidy se aplikují postřikem ohroženého porostu. Registrované přípravky jsou uvedeny v Příloze č. 1. Přesnější pokyny

a dávkování přípravků jsou uvedeny v registru a na rostlinolékařském portálu ÚKZÚZ a také na etiketě přípravků. Při aplikaci přípravků je nutné si uvědomit, že mandelinka bramborová se vyznačuje vysokou flexibilitou, velmi rychle se adaptuje na chemické látky a rychle dochází k selekci rezistentních jedinců vůči nim (Doležal a Hausvater, 2020).

### 3.4.6 Problém rezistence

*L. decemlineata* je považována za jeden z nejúspěšnějších druhů hmyzu, pokud jde o schopnost vyvinout rezistenci vůči insekticidům. V posledních dekádách let se ochrana proti hmyzím škůdcům opírá o chemické insekticidy a podněcuje tím vývoj rezistence škůdců vůči insekticidům (Huseth, 2014). Od poloviny padesátých let si *L. decemlineata* vyvinula rezistenci na 56 různých insekticidů (Whalon et al., 2016). Trvalé používání však vedlo ke zvyšování rezistence nejen na neonikotinoidy v různých oblastech světa, což vyvolává velké obavy ohledně udržitelnosti insekticidů (Szendrei et al., 2012).

Kaplanoglu et al. (2017) ve své studii zkoumají mechanismy rezistence na imidaklopid u *L. decemlineata*. U citlivé populace identifikovali 102 různě exprimovaných transkriptů kódujících detoxikační enzymy a xenobiotické transportéry. Právě tyto detoxikační enzymy a xenobiotické transportéry rozkládají a vylučují molekuly účinných látek insekticidů. Dále prokázali, že potlačení genů CYP4Q3 a UGT2 významně zvýšilo citlivost rezistentních brouků na imidaklopid, což naznačuje, že nadměrná exprese těchto dvou genů přispívá k rezistenci na imidaklopid u zkoumaných brouků.

Také ve studii Cletse et al. (2016) bylo sledováno, jak po úspěšném potlačení genů způsobujících rezistenci došlo ke snížení naměřené rezistence na imidaklopid projevující se v metabolismu. Hlavním cílem těchto pokusů je přispět k obnově citlivosti k insekticidu imidaklopiridu. Katoch et al. (2013) však upozorňuje na nevýhody této metody jako potlačení i necílových genů, které mají podobnou homologii.

V České republice se již od roku 2009 provádí každoroční pokusy na rezistenci *L. decemlineata* pod záštitou Výzkumného ústavu bramborářského (VÚB) v Havlíčkově Brodě. Polní pokusy z roku 2018, založené na Brněnsku, ukazují rostoucí problémy s rezistencí k insekticidním přípravkům. Mimo prakticky neúčinné pyrethroidy a kombinace pyrethroidů a organofosfátů se potvrdila snížená účinnost přípravku na bázi acetamipridu, ale i lokální problémy s přípravky na bázi thiamethoxamu a thiaclopridu (Doležal a Hausvater, 2019). Kocourek a Stará (2019) uvádí, že v ČR nebyla doposud zjištěna rezistence vůči spinosadu (Spintor), azadirachtinu (NeemAzal-T/S) ani vůči diamidům chlorantraniliprolu (Coragen 20 SC) a cyantraniliprolu (Benevia). Pro Českou republiku každoročně VÚB vydává doporučení pro pěstování brambor na další

sezónu (antirezistentní strategie). Doležal a Hausvater (2019) uvádí, že lze potlačit vznik a rozvoj rezistence, ale nelze ji však plně zastavit.

### 3.5 Obranné mechanismy rostlin

Rostliny nemohou ze svého stanoviště uniknout před působením negativních faktorů, a proto se musely adaptovat. Během koevoluce s patogeny a herbivory vyvinuly řadu obranných mechanismů. Jedná se o systém, který je založen na signálních kaskádách a specifických metabolitech. Obrana proti napadení může být jak aktivní, tak i pasivní. Pasivní obranou jsou strukturní bariéry (kutikula, vosky, trichomy, trny, mléčnice, buněčná stěna, lignifikace) a chemické bariéry (sekundární metabolity). Tyto látky jsou přítomné ve struktuře pletiv rostlin, nejsou aktivně spouštěny, ale zabraňují svým složením vniknutí patogenu do rostlinných struktur. Fytopatogen odebírá rostlině živiny a ovlivňuje metabolické procesy. Rostliny po napadení fytopatogenním organismem zapojí své obranné mechanismy (Ovesná et al., 2015).

Aktivní obrana (indukovaná) je spuštěna rozpoznáním rostlinnými receptory při odhalení patogenních mikrobiálních molekul (např. flagelin - složka bičíků bakterií, chitin - složka stěn hub, faktor EF-Tu, lipopolysacharidy, peptidoglykany či  $\beta$ -glukany). Odpovědí rostliny je tzv. imunita spuštěná (Kunze et al., 2004). Spuštěnou imunitu se patogeny snaží takzvaně vypnout pomocí efektoru, ale i tyto patogenní efekторы se rostliny naučily rozpoznat a utlumit - imunita spuštěná efektořem. Obranné látky lze rozdělit na fytohormony, proteiny PR – stresové proteiny, hypersenzitivní reakce (Matušinský et al., 2016).

Napadení patogenem či herbivorním hmyzem spouští signál pomocí rostlinných fytohormonů. Nejčastěji to bývají kyselina salicylová (SA) a kyselina jasmonová (JA). Obecně JA zprostředkovává širokospektrální rezistenci proti nekrotrofickým patogenům a herbivornímu hmyzu, zatímco SA je hlavní regulátor obrany proti biotrofickým a hemibiotrofickým patogenům (Wang et al., 2019).

Působení obou je protichůdné (antagonistické). Přesto existují důkazy, že obě fytohormonální dráhy mohou být aktivovány v některých případech současně. Tsuda (2017) ve studii uvádí, že při napadení bakterií *Pseudomonas syringae* jsou místa působení obou SA a JA prostorově oddělena. Signální cesty SA a JA jsou aktivní v různých sousedních buňkách, čímž se dosáhne současné aktivace ve stejném listu.

Zvláštností larev *L. decemlineata* je užití mikrobiálních symbiotických organismů ve svých orálních sekretech k vyvolání produkce SA, a tím antagonistické potlačení JA, sloužící proti herbivornímu hmyzu v pokusu na rostlinách rajčete (Zhang et al., 2017).

### 3.5.1 Sekundární metabolity rostlin

Sekundární metabolity sloužící k obraně rostlin vůči škodlivým organismům jsou označovány jako toxiny, které se v rostlině syntetizují a spouští tzv. signální kaskádu drah (Cieśla a Michniewska, 2013). Slouží jako prostředky pro transport kovů, jako činitelé symbiózy mezi mikroby a rostlinami, hlísticemi, hmyzem a vyššími zvířaty, a jako diferenciacní efekторы (Demain a Fang, 2001). Tyto přírodní látky vykazují vysokou strukturní rozmanitost, téměř neobsahují halogeny (Cl, F, Br), jde o odpadní látky rostlin a jsou tedy v přírodě lehce odbouratelné. Navíc u nich nehrozí vytvoření rezistence populací škůdců z důvodu kombinace velkého počtu účinných látek, které jsou často v synergickém vztahu a s různým mechanismem účinku (Pavela, 2011).

Terpenoidy jsou největší skupinou sekundárních metabolitů, jsou to aromatické látky odvozené od izoprenu. Cyklické a acyklické uhlovodíky vyskytující se v rostlinných buněčných vakuolách se rozdělují do skupin: monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny, triterpeny, tetraterpeny, polyterpeny (Tholl, 2015). Monoterpeny jsou skupina jednodušších látek s charakteristickou vůní, působí jako antifidant (např. limonen, menthol aj.). Ve vyšších koncentracích se využívají jako insekticidy, ale v nízkých dávkách mohou působit i jako atraktanty (Pavela, 2011). Seskviterpeny jsou skupinou látek tvořící často jednu z hlavních složek silic a esenciálních olejů, např. humulen vyskytující se v chmelu, azulen silice v heřmánku aj. (Jahodář a Klečáková, 1999). Do skupiny diterpenů patří, pro lidský organismus důležitý, Retinol. Dalším ve skupině je např. fytol. Ten je rozšířen v zelených částech rostlin, je součástí chlorofylu a také vitamínu E a K. Skupinu triterpenů tvoří především saponiny, fytosteroidy a glykosidy, které inhibují růst hmyzu a mají antifidantní a repelentní účinky. Nejznámějším triterpenoidem je botanický insekticid azadirachtin (Pavela, 2011). Do skupiny tetraterpenů spadají karotenoidy, známé jako vitamíny. Vitamíny jsou ceněné pro lidský organismus svými antioxidačními účinky (Grassmann, 2005). Polyterpeny jsou jinak označovány jako kaučuky. Tyto dvě poslední skupiny Pavela (2011) označuje za látky, které je možno využít jako pomocné látky při výrobě přípravků z toho důvodu, že se jen u některých projeví inhibiční účinky vůči patogenům.

Fenolické sloučeniny jsou také řazeny mezi obranné látky rostlin. Jejich charakteristika je, že mají na aromatické jádro navázanou skupinu (-OH). Dle Pavely (2011) mají větší účinnost fenoly oproti jejich kyselinám. Častým vyskytujícím se fenolem v rostlinách je thymol čeledi *Laminaceae*.

Polyfenolické sloučeniny jsou dělené do tří skupin na taniny, lignany a flavonoidy. Flavonoidy jsou rozšířenou skupinou sekundárních metabolitů, které mají více funkcí v rostlině (jsou odpovědné za barvu, vůni květin, ovoce, klíčení semen, lákají opylovače, ovlivňují růst a vývoj sazenic, mají antimikrobiální účinky a detoxikační účinky, ovlivňují mrazuvzdornost a odolnost proti suchu aj.), (Samantha et al., 2011). Většina flavonoidů vykazuje chronickou toxicitu a jen málo z nich vykazuje akutní toxicitu. Taniny neboli třísloviny jsou obsaženy nejen v rostlinách, ale i v plodech a semenech. Taniny inhibují příjem potravy a růst hmyzu (Pavela, 2011). Lignany mají shodné využití jako taniny. Podle Cui et al. (2020) ve farmacii jsou lignany zkoumány jako antivirotika.

Alkaloidy jsou chemicky aminy mající velmi výrazné účinky na nervový systém živočichů. Rostliny je využívají jako obranu proti požeru, případně vznikají jako odpadní metabolity při metabolismu dusíku. Název „alkaloidy“ je odvozen od jejich typické vlastnosti, alkalické povahy, snadno tvořící soli s kyselinami. Ovlivňují metabolismus škodlivých organismů a při vyšší koncentraci jsou toxické. Jejich funkce je rozmanitá a odvíjí se dle jejich struktury. Alkaloidy se již stovky let využívají v lékařství, kosmetice, ochraně rostlin, jsou také ale řadu let zneužívané jako tzv. návykové látky (morfin, kodein, heroin, atropin, chinin, strychnin, nikotin, kofein aj.). Alkaloidy se rozdělují do devíti skupin na základě skeletu a biosyntetických prekurzorů. Jednou ze skupin jsou steroidní alkaloidy, pod které se řadí cholestanové glykoalkaloidy lilku (*Solanum*), solanin a tomatin (Hajšlová et al., 2005).

### 3.5.2 Glykoalkaloidy bramboru hlíznatého

Glykoalkaloidy (GA) patří ke skupině přirozených toxinů v hlízách brambor. Alkaloidy obsažené v bramboru bývají často uváděny pod společným názvem solanin, který však není jednou látkou, ale skupinou příbuzných GA. Těchto sloučenin je známo přes 20, z toho 10 bylo zjištěno v bramboru (Tabulka 3.11). Vyšší obsah alkaloidů lze nalézt pod slupkou a v okolí oček hlíz až 75 %, v dužině až 20 %. Je obecně uznáváno, že hlavní GA v bramborách jsou právě  $\alpha$ -chaconin a  $\alpha$ -solanin, které představují asi 95 % celkových glykoalkaloidů (TGA z angl. total glycoalkaloid) (Zrůst, 2004).

Tabulka 3.11: Nejvýznamnější GA izolované z listů nebo hlíz druhů *Solanum* (G e l d e r, 1990 – upraveno Zrůst, 2004)

| Glykosid          | Aglykon   | Sacharidická část | Struktura         |
|-------------------|-----------|-------------------|-------------------|
| $\alpha$ -solanin | solanidin | solatriosa        | A: R-Gal<Rham/Glu |
| $\beta$ -solanin  | solanidin | solatriosa        | B: R-Gal-Glu      |
| $\gamma$ -solanin | solanidin | galaktosa         | C: R-Gal          |

|                    |            |                |                        |
|--------------------|------------|----------------|------------------------|
| $\alpha$ -chaconin | solanidin  | chacotriosa    | D: R-Glu<Rham-a/Rham-b |
| $\beta$ 1-chaconin | solanidin  | chacotriosa    | E: R-Glu-Rham-a        |
| $\beta$ 2-chaconin | solanidin  | chacotriosa    | F: R-Glu-Rham-b        |
| $\gamma$ -chaconin | solanidin  | glukosa        | G: R-Glu               |
| dehydrocommersonin | solanidin  | commertetraosa | H: R-Gal-Glu<Glu/Glu   |
| demissin           | demissidin | lycotetraosa   | I: R-Gal-Glu<Glu/Xyl   |
| commersonin        | demissidin | commertetraosa | jako H                 |
| solasonin          | solasodin  | solatriosa     | jako A                 |
| $\alpha$ -tomatin  | tomatidin  | lycotetraosa   | jako I                 |

R = aglykon; Gal = galaktosa; Glu = glukosa; Rham = rhamnosa; Xyl = xylosa

Symbol "<" v charakteristice struktury sacharidické části znamená, že na substituovaný sacharid se váží dva další sacharidy (oddělené „/“).

Rostliny si vytvářejí GA jako podstatnou součást svého obranného systému proti predátorům a stresovým podmínkám. Alkaloidy podílející se na resistenci bramboru vůči *L. decemlineata* se označují jako leptiny. Tyto GA bramboru se vyskytují v listech a vynikají svými antifidantními účinky. Leptiny spolu s dalšími alkaloidy (commersonin, dehydrocommersonin, demissin, leptin I a II, leptinin I a II, solamarine, tomatin, sisunin, solasonin, solamargin) se vyskytují v bramboru v menší míře. Leptiny se vyskytují v listech nekulturních druhů bramboru, např. *Solanum chaconense*, působí protipožerově a v koncentraci 1 mM, oproti tomu GA solanin a chaconin odrazují *L. decemlineata* při koncentracích >6 mM. Jak uvádí Bushway et al. (1987), dávky alkaloidů inhibující cholinesterázu by musely být třikrát větší, aby dosáhly shodného účinku jako organofosfátový insekticidy.

Výhodu, že se leptiny vyskytují pouze v listech, využívá šlechtitelství nových odrůd. Plané druhy bramboru se projevují až extrémně vysokými hodnotami GA. Při použití takového materiálu jako donorů rezistencí je pravděpodobné, že i po několikanásobném zpětném křížení mohou být obsahy GA v hybridech stále vysoké (Kowalski et al., 1999).

Hladina GA je geneticky dána odrůdou, pokud by rostlina v průběhu vývoje neprodělala stres, zůstala by hladina GA neměnná, ale za působení stresu (např. ročníku, stanoviště, způsobu pěstování, napadení škůdců, skladování) dochází k velké variabilitě hladiny GA v hlízách (4–164 mg.100 g<sup>-1</sup>čerstvé hmoty). Působením faktorů se tyto hodnoty mohou až zdvojnásobit (Zrůst, 2004). Dále GA kolísají podmínkami růstu, případným mechanickým poškozením, intenzitou a složením záření, sklizní, podmínkami a teplotou skladování. Není doporučeno osušení hlíz na slunci, či vystavení slunečnímu záření při manipulacích, protože tím dochází ke kumulaci GA v hlízách (Friedman, 2006).

Holland a Taylor (1979) uvádějí, že plíseň bramborová dokáže odbourávat  $\alpha$ -solanin. Solanidin inhibuje alternariovou skvrnitost brambor třikrát účinněji než  $\alpha$ -chaconin a pětikrát účinněji než  $\alpha$ -solanin (Smith et al., 2001).

Toxické účinky byly prokázány u dospělců mšic, třásněnek, svilušek i molic. Účinky mají i proti housenkám a larvám listožravých škůdců (Pavela, 2006). GA jsou rovněž toxické i pro další organismy. Vyhláška č. 305/2004 Ministerstva zdravotnictví ČR uvádí pro brambory hygienický limit glykoalkaloidů 200 mg/kg. Podle studie německého Spolkového úřadu pro hodnocení rizik (BfR) by z toxikologického hlediska lidského zdraví měla být doporučována denní dávka maximálně 0,5 mg glykoalkaloidů na kg tělesné hmotnosti. Smrtelná dávka pro člověka se pohybuje mezi 2–5 mg solaninu na kg tělesné hmotnosti. Hygienický limit celkové koncentrace glykoalkaloidů by měl být snížen na 100 mg/kg čerstvých hlíz (BfR.de, 2018).

### 3.6 Šlechtění odrůd bramboru

První zmínka z území České republiky o šlechtitelské stanici pochází ze stanice „Starohraběte Františka Salm-Reifferscheida ve Valečově u Německého Brodu“. Z té doby neznámý autor popisuje šedesát tři odrůd brambor dovezených z Ameriky. V současnosti (2019) bylo registrováno 119 odrůd (29 odrůd velmi raných, 35 odrůd raných, 35 odrůd poloraných a 21 odrůd polopozdních až pozdních), z toho 62 odrůd českých. Odrůdy registrované ve všech státech EU uvedené ve Společném katalogu odrůd druhů zemědělských rostlin uvádí téměř 1500 odrůdy (Domkářová et al., 2019).

V České republice je několik firem, které se zabývají šlechtěním nových odrůd brambor (především SATIVA Keřkov, SELEKTA Pacov, VESA Velhartice, částečně i Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod a další soukromé subjekty). Podniky mají dlouholetou tradici a jsou specializovány na své obory. Keřkovské odrůdy vynikají svou stolní hodnotou. Pacovské odrůdy mají obecně vysokou odolnost vůči virovým chorobám, plísni bramboru a dalším škodlivým faktorům. VÚB se zabývá především tvorbou nových genových zdrojů využitelných pro šlechtění a pro odolnost odrůd plísni bramborové. VESA Velhartice je širěji zaměřena na tvorbu nových kvalitních odrůd brambor všech ranostních skupin a užitkových směrů. Množitelské porosty certifikované sadby jsou zařazeny do katastrálních území uzavřených pěstebních oblastí pro výrobu základní sadby brambor, mimo tato katastrální území není sadba brambor uznávána. Uznávání a uvedení sadby na trh je pod dohledem státní organizace ÚKZÚZ, která se řídí zákonem 334/2020 Sb., kterým se mění zákon č. 219/2003 Sb., o uvádění do oběhu osiva a sadby pěstovaných rostlin a prováděcí vyhláškou 365/2020 Sb., stanovující uzavaření



pěstitelské oblast. Novošlechtění brambor využívá v drtivé většině kombinační mezidruhové a meziodrůdové šlechtění brambor trvajících 10 až 12 let, než je nová sadba uznána. V ČR převládají odrůdy odolné virovým chorobám s cílem dosáhnout odolných odrůd vůči plísni bramborové, jako např. Axa, Monika, Jindra aj. Šlechtitelé využívají metody, jakými jsou haploidizace, polyploidizace, mutační šlechtění, genové manipulace a tkáňové kultury.

Cílem udržovacího šlechtění je uchovat charakteristické vlastnosti odrůdy v nezměněné podobě po celou dobu registrace odrůdy. Zkušenosti dokazují, že opakovaně vegetativně množené hlízy v našich podmínkách časem ztrácejí svoji schopnost generativního rozmnožování, a to zhruba po pěti letech. Šlechtění se provádí v polních podmínkách pozitivním klonovým výběrem s ohledem na odrůdově typické vlastnosti a zdravotní stav materiálu. Nebo je množení šlechtitelského materiálu založeno na explantátovém způsobu množení vycházejícím z řízkování rostlin ozdravených meristemových klonů v podmínkách *in vitro*. Zdravotní stav u obou způsobů udržovacího šlechtění je kontrolován metodou ELISA (metoda diagnostiky přítomnosti virů v hlízách bramboru). Z důvodu napadení patogenů a zvyšujícího se počtu výskytů rezistentních populací *L. decemlineata* vůči syntetickým pesticidům se v praxi využívá přirozené rezistence odrůd (Produkce brambor, 2020).

Přirozená odolnost odrůd je podmíněna geny rezistence rostliny. Geny určují obranné mechanismy rostlin a odrůd, u *Solanum tuberosum* jsou jimi steroidní glykoalkaloidy (SGA). Profily GA lze předat potomkům během šlechtění a hybridizace divokých a kulturních brambor určených k vývoji vylepšených odrůd brambor. Složení a hladina GA je jedním z kritérií pro uznání nových kultivarů brambor (Kozuke et al., 2008; Tingey, 1984).

Ginzberg et al. (2009) uvádějí, že jednou z možností zvýšení odolnosti brambor proti mandelince je genetická úprava. Navrhují využití rozložení GA v rostlině. Žádoucí by byla genetická úprava brambor, zabránění toxickým hladinám GA v hlízách a zároveň udržení vysokých hladin GA v jiných částech rostlin (např. v listech).

Zrůst (2004) doporučuje, aby se potenciálně toxická povaha různých GA hodnotila už u počátečního rodičovského materiálu v rámci šlechtitelského programu, zejména když se využívá planých druhů jako zdroje žádané charakteristiky. Prugar (1994) navrhuje, aby se při šlechtění pamatovalo na genotypy určené speciálně pro ekologické pěstební technologie, schopné využívat dusík ze zdrojů charakteristických jeho postupným uvolňováním. EZ by tak mělo mít k dispozici své vlastní přizpůsobené odrůdy.

## 4. Cíl práce a hypotézy

Cílem práce bylo zjistit, jak odrůda bramboru ovlivňuje potravní preferenci *L. decemlineata* a stanovit účinnost vybraných botanických insekticidů v laboratorních podmínkách. Dále pak stanovit synergický účinek subletálních dávek insekticidů v kombinaci s rezistentní odrůdou bramboru proti *L. decemlineata*.

Hypotézy:

- 1) *L. decemlineata* upřednostňuje listy odrůd s nižším obsahem glykoalkaloidů.
- 2) Extrakty z některých rostlin mohou být dostatečně účinné pro regulaci *L. decemlineata*.
- 3) Subletální dávky insekticidů působí vyšší mortalitu škůdce na rezistentní odrůdě bramboru.

## 5. Materiál a metodika

Materiál a metodický postup byl stanoven na základě cíle práce. Experimentální práce zahrnovala následující dílčí testy, které jsou uvedeny v kapitolách:

5.4.1 Stanovení potravní preference *L. decemlineata*.

5.4.2 Stanovení letálních dávek insekticidů a pomocných látek rostlin na *L. decemlineata*.

5.4.3 Stanovení synergického účinku vybraných přípravků a odrůdy bramboru na mortalitu *L. decemlineata*.

Pro splnění cílů této práce bylo zapotřebí nejprve vypěstovat nadzemní části bramboru a zajistit dospělé brouky *L. decemlineata* z ekologicky obhospodařované plochy, nebo minimálně z plochy bez chemického ošetření, např. od malopěstitelů. Rostliny bramboru byly pěstovány v květináčích ve venkovních podmínkách. Zbylé fáze pokusu probíhaly ve vyčleněné místnosti v mém domě v Dolním Bukovsku.

### 5.1 Pokusné rostliny

Celkem bylo osázeno 36 květináčů třemi odrůdami: Dominika, Jindra a Velur. Využity byly černé plastové květináče s horním průměrem 190 mm a výškou 260 mm, vždy po 12 kusech na odrůdu (Obrázek 5.1). Hlízy byly sázeny do substrátu pro využití v ekologickém zemědělství (substrát NATURA – výrobce Agro CS a. s.). Výsadba byla provedena dne 23. 4. 2020 tak, aby byla vrstva 60–80 mm substrátu nad hlízami. Květináče byly umístěny na slunné stanoviště a v průběhu vegetace jim byla poskytnuta zálivka dle potřeby. Při vyšších denních teplotách ranní i večerní zálivka.



Obrázek 5.1: Odrůda Jindra (foto autor).

## 5.2 Charakteristika odrůd brambor

### Dominika

Poloraná konzumní odrůda bramboru povolena od roku 2016, s velmi vysokým výnosem žlutých oválných hlíz. Hlízy mají hladkou slupku a sytě žlutou dužninu. Po uvaření se vyznačují vynikající chutí varného typu A. Oloupané hlízy mají vynikající stabilitu barvy za syrova i po uvaření. Vyniká také odolností proti mechanickému poškození, virovým a skládkovým chorobám. Odrůda je odolná i proti rakovině bramboru (D1) a háďátku bramborovému (Ro1). Vyžaduje půdy s rovnoměrným zásobením živinami, včetně hořčíku. Doporučuje se kvalitní ochrana proti plísni bramborové a nechat porosty přirozeně dozrát. Dominika byla vyšlechtěna společností VESA Velhartice a. s. (VESA, 2010).

### Jindra

Polopozdní konzumní odrůda, která je povolena od roku 2018, určená pro přímý konzum a zpracování. Krátce oválné hlízy s hladkou slupkou a sytě žlutou dužninou, varného typu B se vyznačují vysokým výnosem. Hlízy mají vynikající stabilitu barvy po oloupaní. Vyšší sušina a stabilita barvy dává předpoklad pro využití hlíz při loupání a zpracování pro výrobky z brambor. Po oloupaní za syrova ani po uvaření netmavne. Odolnost proti virovým chorobám a plísni bramborové je na velmi dobré úrovni. Odrůda je odolná proti háďátku bramborovému (Ro1), také obecné strupovitosti brambor, mechanickému poškození a skládkovým chorobám. Tato odrůda byla také vyšlechtěna společností VESA Velhartice a. s. (VESA, 2010).

### Velur

Raná a poloraná odrůda pro zpracování na lupínky. Hlízy jsou krátce oválné, středně velké až velké a středně odolné proti mechanickému poškození. Slupku mají hlízy načervenalé hnědou a dužinu světle žlutou. Počáteční růst nati je středně rychlý, počet hlíz pod trsem středně vysoký a nízký. Odrůda je odolná proti napadení virovými chorobami, středně odolná proti napadení plísni bramboru na nati a středně odolná proti napadení aktinobakteriální obecnou strupovitostí bramboru. Výnos hlíz středně vysoký až vysoký. Krátce oválný tvar. Odrůda vyniká odolností vůči mechanickému poškození a skládkovým chorobám. Tato odrůda byla také vyšlechtěna společností VESA Velhartice a.s. (VESA, 2010), (foto Příloha 6).

## **Glykoalkaloidy**

Obsah GA je uveden v registračních listech odrůdy, které byly poskytnuty na vyžádání ze šlechtitelské stanice firmy VESA Velhartice. Z hlediska negativního dopadu na lidské zdraví se z GA u jednotlivých odrůd brambor hodnotí chaconin a solanin. Vliv odrůdy na obsah GA byl statisticky testován pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA). V případě průkazného faktoru ( $P < 0,05$ ) byl proveden Tukey post hoc test pro mnohočetné porovnání jednotlivých odrůd. Výpočty byly provedeny v on-line programu (Interactive Statistical Pages, 2021).

### **5.3 *L. Decemlineata***

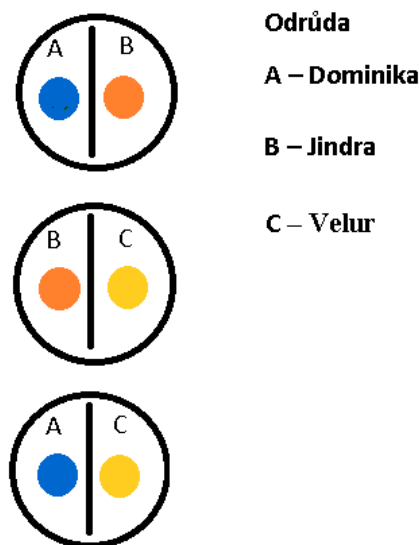
Dospělí brouci *L. decemlineata* byli ručně nasbíráni na poli u Vidova (okres České Budějovice) z porostu brambor, který nebyl chemicky ošetřován (foto Příloha 5). Byli umístěni do plastových odvětraných boxů s filtračním papírem na dně, který byl dle potřeby zvlhčen destilovanou vodou. *L. decemlineata* byla vždy po 12 h poskytnuta potrava a boxy byly jednou za den vymyty destilovanou vodou a čištěny od trusu. Tyto boxy byly umístěny během pokusu ve stejné místnosti, kde probíhaly biotesty, pro zajištění stejných podmínek.

## **5.4 Biotesty**

### **5.4.1 Stanovení potravní preference *L. decemlineata***

Biotest potravní preference u *L. decemlineata* proběhl s odrůdami Dominika, Jindra a Velur. Tyto biotesty byly provedeny opakovaně ve třech termínech (25. 8., 26. 8. a 27. 8. 2020). Do plastových Petriho misek o průměru 90 mm byl vložen filtrační papír, který byl namáčen s miskou, a po okapání přebytečné vody byla vložena imaga (dospělec) *L. decemlineata* (foto Příloha 8). Z odebraných vzorků listů bramboru všech tří odrůd byly korkovrtem vyřezány terčíky o průměru 30 mm (foto Příloha 7). Do každé Petriho misky byly umístěny dva terčíky vždy tak, aby se odrůdy prostřídaly mezi sebou (Obrázek 5.2). Celkem bylo použito třicet misek pro každou kombinaci A/B, B/C, A/C, kde A – Dominika, B – Jindra a odrůda C – Velur. Pro vyloučení vnějších vlivů, např. směru světla, byl u poloviny misek terčík A umístěn vpravo a u druhé poloviny vlevo. Všechny Petriho misky byly umístěny do vyčleněné místnosti s průměrnou denní teplotou  $\pm 23$  °C (digitální teploměr Emos E0114) a umělým osvětlením 400 lm pro zajištění přirozeně dlouhého dne. Po 12 hodinách byly vždy pořízeny fotografie (zařízení Huawei Y5 2019 s rozlišením 13

MP, foto uložené v rozlišení 5,17 MB) pro místa výskytu *L. decemlineata* na dané polovině misky s terčíkem a zaznamenání požerku u každého terčíku.



Obrázek 5.2: Schéma rozmístění terčíků v misce (autor).

### Metodika hodnocení

Podíl imag *L. decemlineata*, vyskytujících se na jedné či druhé polovině Petriho misky v jednotlivých testech dvojího výběru, byl znázorněn pomocí koláčových grafů v programu MS-Excel. Pro statistické vyhodnocení odrůdové preference byly zjištěné podíly porovnávány s očekávaným poměrem 1:1, kdy 50 % brouků by bylo na každé polovině misky (nulová hypotéza = mandelinka nevykazuje preferenci k žádné ze dvou nabízených odrůd). Pro tento účel byl použit neparametrický  $\chi^2$  test (Siegel a Castellan, 1988) a výpočty byly provedeny pomocí on-line kalkulatoru (GraphPad Software, 2021).

Velikost listové plochy zkonzumované mandelinkou (foto Příloha 9) byla stanovena pomocí obrazové analýzy s využitím programu ImageJ (Schneider et al., 2012). Pro tento účel byly fotografie terčíků nejprve převedeny do osmibitového formátu, zkalibrovány a pomocí automatického prahování byla změřena zbývající, tedy nesežraná plocha terčíku. Odečtením této hodnoty od plochy neporušeného terčíku (tj. 70 mm<sup>2</sup>) byla získána plocha listu sežraná broukem. Data byla prezentována v podobě sloupcových grafů (průměry ± SE) v programu MS-Excel a statisticky analyzována pomocí neparametrického Wilcoxonova znaménkového testu (Siegel a Castellan, 1988). Výpočty byly provedeny pomocí on-line kalkulatoru (SciStatCalc Software, 2013).

#### 5.4.2 Stanovení letálních dávek insekticidů a pomocných látek rostlin na *L. decemlineata*

Test účinnosti insekticidů byl proveden 28. 8. 2020 tak, že imaga byla namočena pomocí pinzety do roztoku dané koncentrace na 1 vteřinu (tzv. „dip test“) a vložena do Petriho misky na navlhčený filtrační papír bez potravy (foto Příloha 12). Mortalita byla odečítána a zaznamenávána denně po dobu sedmi dnů. Přípravky Rock Effect, NeemAzal – T/S a Spintor byly ředěny destilovanou vodou na koncentrace 100 %, 10 %, 1 % a 0,1 %. Na každý přípravek bylo použito 80 dospělých brouků a 20 brouků jako kontrola. Kontrolní imaga byla namáčena pouze v destilované vodě. Pro předejití kontaminace byla nejdříve imaga namáčena v destilované vodě, poté v roztoku přípravku.

**Spintor** (Dow AgroSciences s.r.o., UK), přípravek s účinnou látkou spinosad, není botanický pesticid, je ale zaregistrován a povolen pro použití v EZ. Účinná látka je získávána fermentací z aktinomycet *Sacharopolyspora spinosa* vyskytujících se v půdě. Působí jako požerový, kontaktní, insekticidní preparát (Kowalska, 2010).

Příprava základní koncentrace (100 %): laboratorní pipetou bylo odebráno 15 µl přípravku, který byl smíchán se 40 ml destilované vody. Ve sterilní skleněné nádobě byl roztok promíchán a následně ředěn na koncentrace 10 %, 1 % a 0,1 % (Tabulka 5.1).

Tabulka 5.1: Doporučené dávkování dle výrobce Spintor

| Plodina | Termín aplikace   | OL | Dávka                                  |
|---------|---|----|--|
| Brambor | podle signalizace, od larválního stupně L1, L2, max. 2x | 7  | 1,5 ml / 3–5 / vody 100 m <sup>2</sup> |

**NeemAzal T/S** (Trifolio-M GmbH, Lahnau, Německo) je rostlinný přípravek extrahovaný z rostliny *Azadirachta indica*, s účinnou látkou azadirachtin, ve formě emulgovaného koncentrátu aktivně proniká do listů a je částečně distribuován rostlinou. Škůdce se kontaminuje požerem nebo sáním a zastavuje žír.

Příprava základní koncentrace (100 %): laboratorní pipetou bylo odebráno 50 µl přípravku, který byl smíchán se 10 ml vody, naměřené odměrným válcem. Ve sterilní skleněné nádobě byl roztok promíchán a následně ředěn na koncentrace 10 %, 1 % a 0,1 % (Tabulka 5.2).

Tabulka 5.2: Doporučené dávkování dle výrobce NeemAzal T/S

| Plodina | Termín aplikace   | OL | Dávka | Postřiková kapalina |
|---------|---|----|-------|---------------------|
| Brambor | podle signalizace, od larválního stupně L1 do L3, max. 2x | 4  | 2,5 l | 300–700 l           |

**Rock Effect** (Agro CS a.s., Česká republika) je pomocný přípravek k podpoře zdravotního stavu rostlin ve formě emulgovatelného koncentrátu, určený pro zvýšení odolnosti a obranyschopnosti rostlin vůči škůdcům a chorobám. Účinnou látkou přípravku je 93,5 hm. % oleje z *Pongamia pinnata*.

Příprava základní koncentrace (100 %): v odměrném válci bylo naměřeno 20 ml přípravku, který byl smíchán s 1 l destilované vody. Ve sterilní skleněné nádobě byl roztok promíchán a následně ředěn na koncentrace 10 %, 1 % a 0,1 % (Tabulka 5.3).

Tabulka 5.3: Doporučené dávkování dle výrobce Rock Effect

| Plodina        | Účel použití                       | OL | Dávka                        |
|----------------|------------------------------------|----|------------------------------|
| Rajče, brambor | zvýšení odolnosti rostlin – škůdci | -  | 1–3 % (100–300 ml/10 l vody) |

### Metodika hodnocení

Vliv koncentrace jednotlivých insekticidů na mortalitu *L. decemlineata* byl analyzován pomocí probitové analýzy v programu SAS<sup>®</sup> Studio for Linux (SAS Institute, 2018) s použitím procedury PROBIT v SAS/STAT<sup>®</sup> modulu (SAS Institute, 2017). Touto analýzou byla stanovena koncentrace, při které uhynie polovina brouků (LC<sub>50</sub>), a tato koncentrace byla použita pro následující test.

#### 5.4.3 Stanovení synergického účinku vybraných přípravků a odrůdy bramboru na mortalitu *L. decemlineata*

Posledním testem bylo zjištění účinnosti vybraných insekticidů v kombinaci s krměním *L. decemlineata* listy jedné ze dvou odrůd, z nichž jedna vyšla v testech dvojího výběru jako nejvíce a druhá jako nejméně preferovaná (foto Příloha 14 a 15). Po zhodnocení analýzy LC<sub>50</sub> byly vybrány insekticidy Rock Effect a NeemAzal T/S. Celkem bylo použito 80 brouků, polovina byla krmena dle prvního testu pro *L. decemlineata* nejchutnější odrůdou Velur a druhá polovina nejméně chutnou odrůdou Dominika. Imaga byla namáčena pinzetou do 70% roztoku Rock Effect (40 brouků) a 2% roztoku NeemAzal T/S (40 brouků). Opět byla imaga vkládána do Petriho misek s navlhčeným filtračním papírem a každý den ve stejnou hodinu krmeny terčíky listů o průměru 30 mm. Test byl založen 5. 9. 2020 a trval po dobu sedmi dní a každý den byla zaznamenána mortalita. Podle potřeby byl filtrační papír zvlhčován destilovanou vodou pomocí injekční stříkačky.



## **Metodika hodnocení**

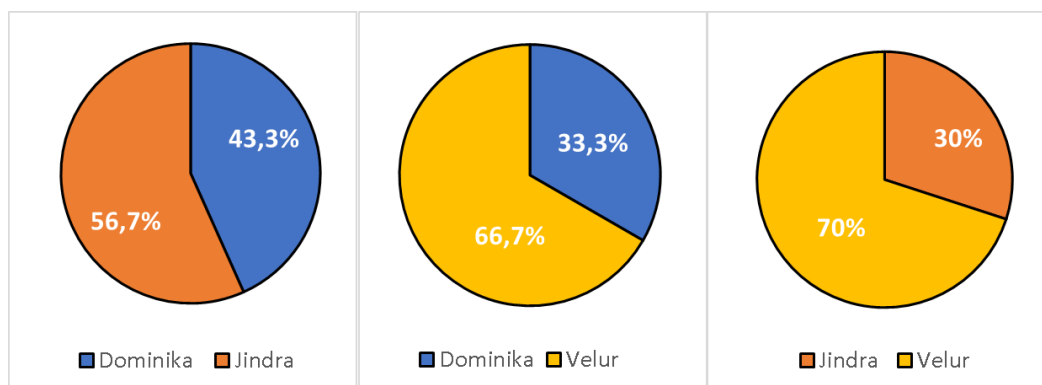
Získaná data byla znázorněna pomocí křivky kumulativní úmrtnosti mandelínek krmených terčíky listů odrůdy Dominika a Velur, zvláště pro pokusy s přípravkem Rock Effect a pokusy s NeemAzal T/S, a následně podrobena analýze přežívání. Průměrná doba do smrti a spodní letální kvartil ( $LT_{25}$ , počet dní do uhynutí 25 % brouků) byly stanoveny pomocí Kaplan-Meierova odhadu funkce přežití. Statistiky Wilcoxonova a log-rank testu byly použity k testování hypotézy, že úmrtnost (doba do smrti) se na jednotlivých odrůdách lišila. Výpočty byly provedeny procedurou LIFETEST v modulu SAS/STAT® (SAS Institute, 2017).

## 6. Výsledky

### 6.1 Vliv odrůdy bramboru na potravní preferenci *L. decemlineata*

#### 6.1.1 Výskyt *L. decemlineata* na dané polovině Petriho misky s terčikem

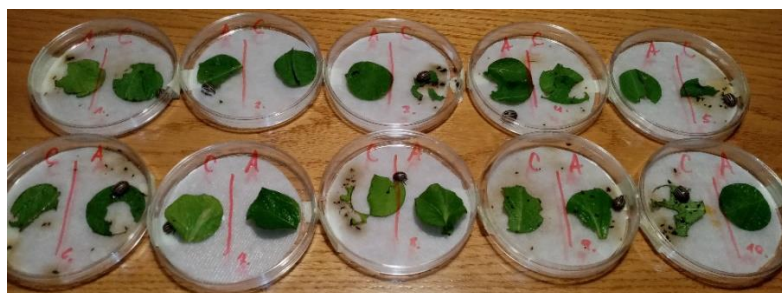
*L. decemlineata* se statisticky průkazně více vyskytovala na části poloviny misky, kde byla odrůda Velur, oproti odrůdě Jindra (Chi-kvadrát test;  $x^2 = 4,8$ ;  $P=0,0285$ ). Statisticky neprůkazný byl výskyt *L. decemlineata* na polovině misky u odrůdy Velur, oproti odrůdě Dominika (Chi-kvadrát test;  $x^2 = 3,333$ ;  $P=0,0679$ ) a také u kombinace odrůd Dominika a Jindra (Chi-kvadrát test;  $x^2 = 0,533$ ;  $P=0,4652$ ). Podíl *L. decemlineata* vyskytující se na jedné nebo druhé odrůdě je znázorněn v grafu 5.1.



Graf 5.1: Podíl výskytu *L. decemlineata* na straně Petriho misky s listem dané odrůdy v testech dvojího výběru.

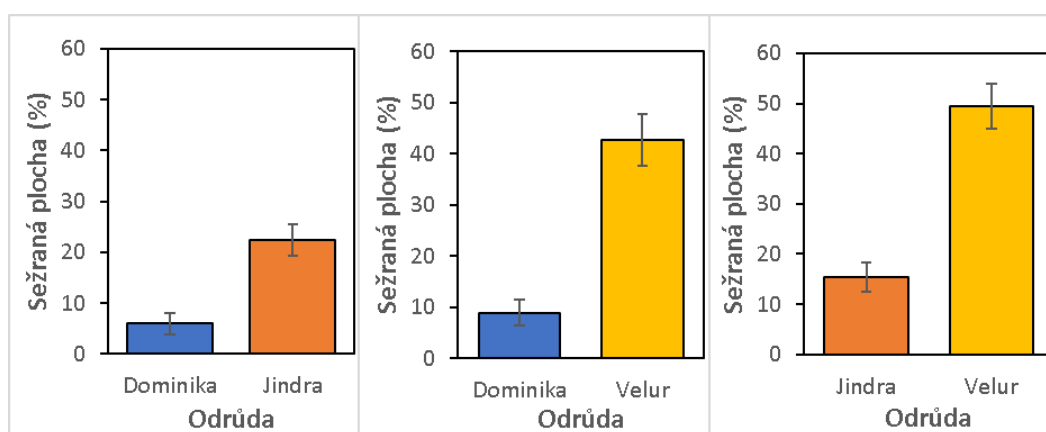
#### 6.1.2 Odrůdová preference *L. decemlineata* na základě velikosti požerků

Ve všech Petriho miskách byly po dvanácti hodinách patrné požerky alespoň na jednom z listových terčiků, přičemž *L. decemlineata* nikdy zcela nezkonsumovaly oba terčíky (Obrázek 6.1).



Obrázek 6.1: Požerky po 12 hodinách u kombinace odrůd Dominika a Velur (foto autor).

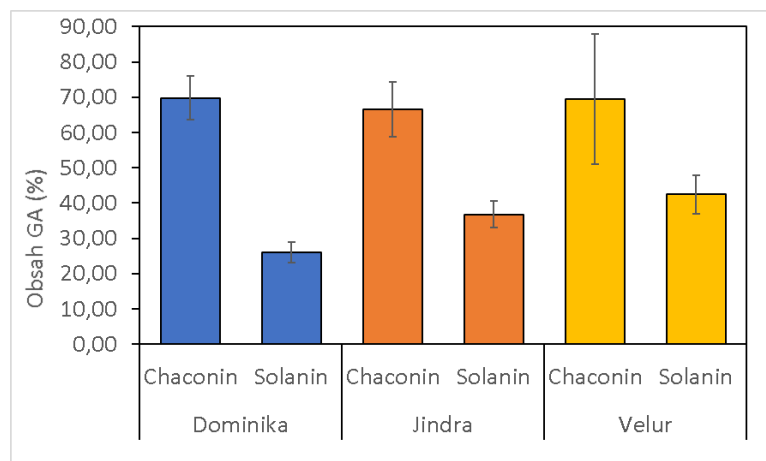
Získané výsledky ukázaly, že ve všech třech sériích testů dvojího výběru byl v průměru požerok na listovém terčíku jedné odrůdy vždy větší než na terčíku druhé odrůdy (Graf 5.2). Když měla imaga na výběr mezi odrůdou Velur a Jindra, konzumovaly více odrůdu Velur. Rozdíl v sežrané ploše byl statisticky vysoce průkazný (Wilcoxonův znaménkový test,  $Z=-4,6166$ ,  $P<0,001$ ), indikující výraznou potravní preferenci. Odrůda Velur byla mandelinkou preferována i v případě, kdy druhou možností byla odrůda Dominika a kdy rozdíl ve velikosti požerku byl statisticky vysoce průkazný (Wilcoxonův znaménkový test,  $Z=-4,3355$ ,  $P<0,001$ ). V testu, kdy byl mandelince nabízen výběr mezi odrůdami Dominika a Jindra, konzumovali brouci statisticky vysoce průkazně více listy odrůdy Jindra (Wilcoxonův znaménkový test,  $Z=-3,7624$ ,  $P<0,001$ ). Na základě těchto výsledků lze stanovit pořadí odrůd dle preference mandelinkou od nejvíce k nejméně preferované takto: Velur, Jindra, Dominika.



Graf 5.2: Preference odrůdy na základě hodnocení požerků ( $\pm$  SME) v testech dvojího výběru.

### 6.1.3 Porovnání odrůd z hlediska obsahu glykoalkaloidů

Obsah GA chaconinu a solaninu byl zprůměrován za období od roku 2016 až 2019 na pěstebních plochách v Čáslavi a Lípě. Pro přehledné procentické zobrazení obsahu GA u všech tří odrůd, byly tyto výsledky zaznamenány do grafu (Graf 5.3).



Graf 5.3: Obsah glykoalkaloidů (mg.kg<sup>-1</sup>) v hlízách bramboru (průměr ± SE).

Vliv odrůdy na obsah chaconinu nebyl statisticky průkazný (ANOVA,  $F=0,1660$ ,  $P=0,8488$ ), (Tabulka 6.1). Byl však zjištěn statisticky vysoce průkazný rozdíl v obsahu solaninu (ANOVA,  $F=25,1549$ ,  $P<0,001$ ), (Tabulka 6.2).

Tabulka 6.1: Výsledky analýzy rozptylu obsahu chaconinu v odrůdách bramboru.

| Zdroj variability | Součet čtverců odchylek | Stupně volnosti | Rozptyl  | Testové kritérium ( $F$ ) | Pravděpodobnost ( $p$ ) |
|-------------------|-------------------------|-----------------|----------|---------------------------|-------------------------|
| Mezi skupinami    | 38.6134                 | 2               | 19.3067  | 0.1660                    | 0.8488                  |
| Uvnitř skupin     | 1511.6285               | 13              | 116.2791 |                           |                         |
| Celkem            | 1550.2419               | 15              |          |                           |                         |

Následné mnohonásobné porovnání odhalilo, že obsah solaninu byl významně nižší u odrůdy Dominika oproti odrůdám Velur i Jindra (Tukey test,  $P<0,001$ ). Rozdíl mezi odrůdami Velur a Jindra průkazný nebyl (Tukey test,  $P=0,3565$ ).

Tabulka 6.2: Výsledky analýzy rozptylu obsahu solaninu v odrůdách bramboru.

| Zdroj variability | Součet čtverců odchylek | Stupně volnosti | Rozptyl  | Testové kritérium ( $F$ ) | Pravděpodobnost ( $p$ ) |
|-------------------|-------------------------|-----------------|----------|---------------------------|-------------------------|
| Mezi skupinami    | 798.9484                | 2               | 399.4742 | 25.1549                   | 0.0000                  |
| Uvnitř skupin     | 206.4477                | 13              | 15.8806  |                           |                         |
| Celkem            | 1005.3961               | 15              |          |                           |                         |

## 6.2 Vliv koncentrace přípravku na mortalitu *L. decemlineata*

Všechny tři testované přírodní insekticidy působily úhyn ošetřených mandelínek. Probitová analýza prokázala statisticky významný vztah mezi koncentrací přípravku (v procentech výchozí doporučené koncentrace podle návodu výrobce) a mortalitou brouků u všech zkoumaných přípravků (Tabulka 6.3).

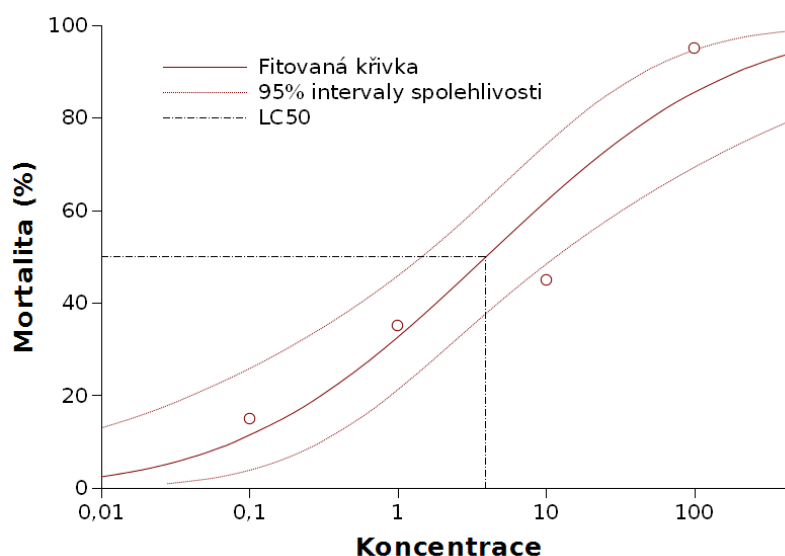
Tabulka 6.3: Výsledky probitové analýzy s hodnotami letálních koncentrací přípravků aplikovaných na mandelinku bramborovou.

| Přípravek  | LC <sub>50</sub> * | LC <sub>90</sub> * | $\chi^2$ | df | P       |
|------------|--------------------|--------------------|----------|----|---------|
| Spintor    | 3,90               | 193,72             | 23,10    | 1  | <0,0001 |
| NeemAzal   | 1,36               | 70,62              | 21,67    | 1  | <0,0001 |
| RockEffect | 68,07              | 102284,00          | 8,26     | 1  | 0,0041  |

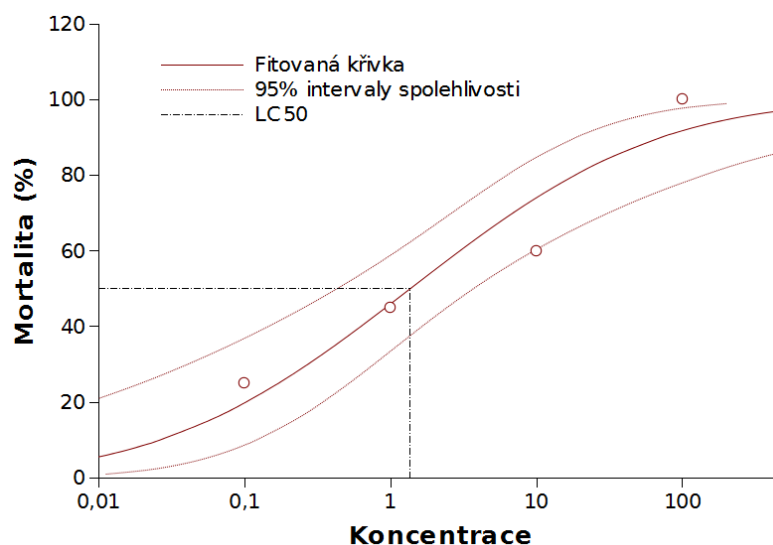
Pozn: LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> - letální koncentrace při které uhynie 50 či 90% populace  
 $\chi^2$  - testové kritérium  
 df - počet stupňů volnosti  
 P - pravděpodobnost

\* % základní koncentrace doporučené výrobcem.

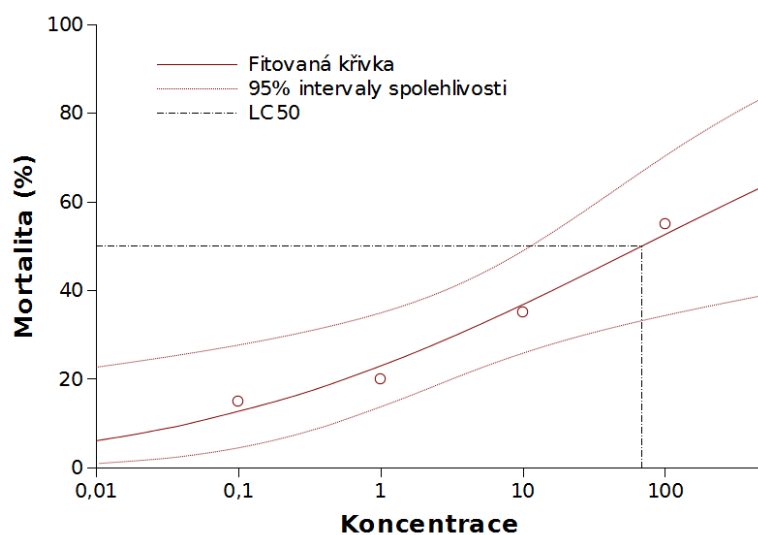
Log-probitová regresní funkce popisující vztah mezi koncentrací Spintoru a úmrtností má tvar  $y = -0,4469 + 0,7557x$  (Graf 5.4), v případě NeemAzalu má tvar  $y = -0,1 + 0,7472x$  (Graf 5.5) a při použití Rock Effectu má tvar  $y = -0,7394 + 0,4034x$  (Graf 5.6). Z výsledků je patrné, že nejvyšší účinnost byla zjištěna u přípravku NeemAzal, kde střední smrtelná koncentrace (LC<sub>50</sub>) byla pouhých 1,36%. Nejvyšší hodnota LC<sub>50</sub> (68,07%) byla zjištěna u přípravku Rock Effect. U tohoto přípravku by extrapolovaná hodnota LC<sub>90</sub> činila přes 100 tis. % (Tabulka 5.3).



Graf 5.4: Log-probitová regresní křivka závislosti mortality *L. decemlineata* na koncentraci přípravku Spintor.



Graf 5.5: Log-probitová regresní křivka závislosti mortality *L. decemlineata* na koncentraci přípravku NeemAzal.

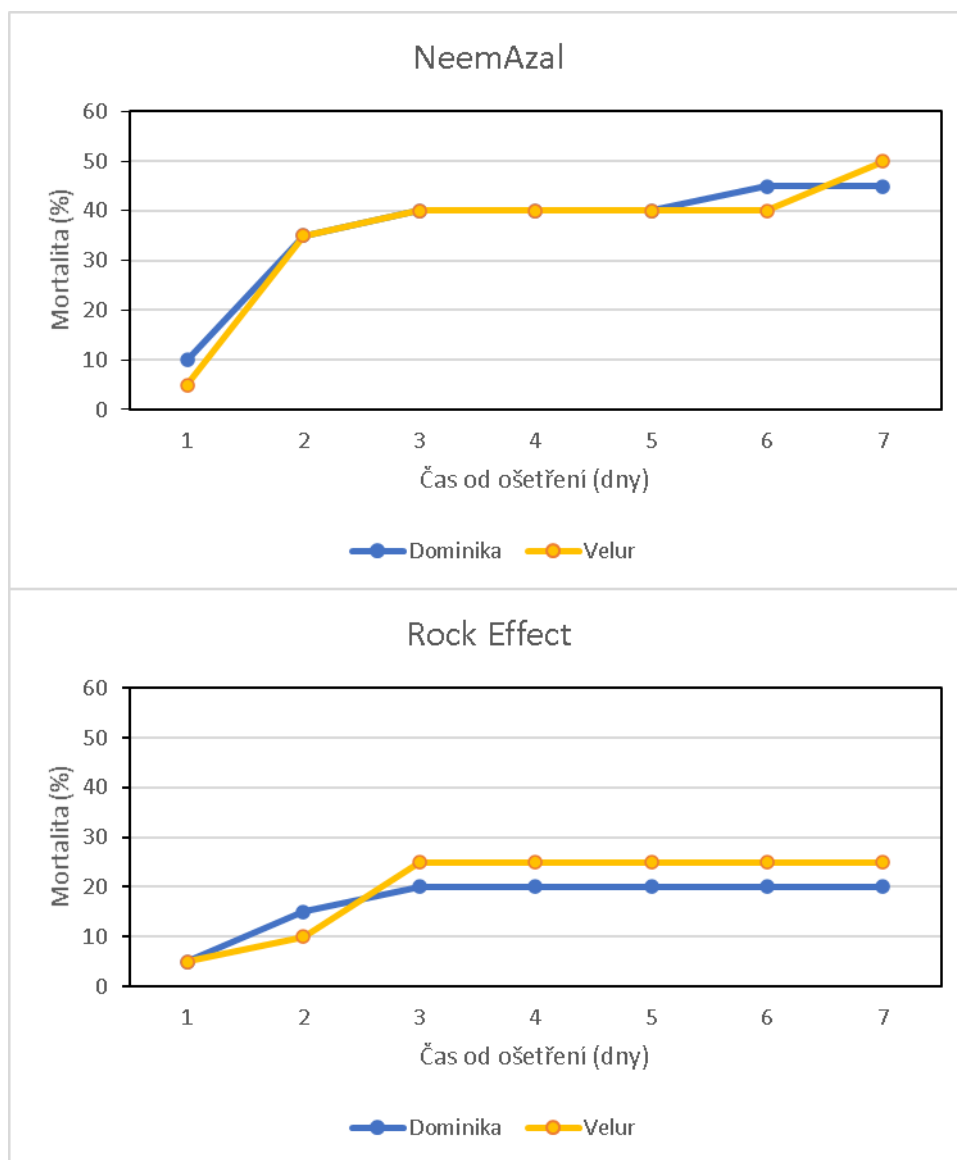


Graf 5.6: Log-probitová regresní křivka závislosti mortality *L. decemlineata* na koncentraci přípravku Rock Effect

### 6.3 Stanovení synergického účinku vybraných přípravků a odrůdy bramboru na mortalitu *L. decemlineata*

Grafy kumulativní mortality *L. decemlineata* během doby trvání experimentu ukázaly rozdíly v účinnosti přípravků; vliv odrůdy se však projevil jen minimálně (Graf 5.7). Úmrtnost *L. decemlineata* dosáhla na konci experimentu, tj. po sedmi dnech, vyšších hodnot u brouků krměných listy preferované odrůdy Velur oproti pokusům, kdy byli brouci krměni odrůdou Dominika, a to jak při aplikaci přípravku NeemAzal, tak v případě přípravku Rock Effect (Tabulka 6.4). Analýza přežívání neodhalila statisticky významný vliv odrůdy u NeemAzalu (Wilcoxonův test,  $\chi^2 = 0,0020$ ,  $P = 0,9646$ ; log-rank test,  $\chi^2 =$

0,0246,  $P = 0,8762$ ) ani u Rock Effectu (Wilcoxonův test,  $\chi^2 = 0,0990$ ,  $P = 0,7530$ ; log-rank test,  $\chi^2 = 0,1047$ ,  $P = 0,7462$ ). Rozdíly v průměrné době přežití a spodním letálním kvartilu ( $LT_{25}$ ) *L. decemlineata* jsou tak patrné jen mezi přípravky, ne však mezi odrůdami (Tabulka 5.5). Výsledky tak nepotvrdily hypotézu, že účinnost insekticidního přípravku proti *L. decemlineata* je ovlivněna odrůdou bramboru.



Graf 5.7: Vliv kombinace odrůdy a nízké dávky insekticidu na kumulativní mortalitu *L. decemlineata*.

Tabulka 6.4: Mortalita, průměrná doba přežití a spodní letální kvartil ( $LT_{25}$ ) u *L. decemlineata* po ošetření subletálními koncentracemi přípravku NeemAzal, Rock Effect a krmené listy odrůdy Dominika, nebo Velur.

| Přípravek   | Odrůda   | Mortalita <sup>a</sup> | Doba přežití±SE | $LT_{25}$ (95% CI) |
|-------------|----------|------------------------|-----------------|--------------------|
|             |          | (%)                    | (dny)           | (dny)              |
| NeemAzal    | Dominika | 45                     | 4,35±0,49       | 2 (1–6)            |
|             | Velur    | 50                     | 5,00±0,58       | 2 (1–7)            |
| Rock Effect | Dominika | 20                     | 2,80±0,13       | --                 |
|             | Velur    | 25                     | 2,80±0,15       | --                 |

<sup>a</sup> Kumulativní procento uhynulých brouků na konci pokusu (7 dní po ošetření).



## 7. Diskuse

Stále se rozšiřující schopnost rezistence *L. decemlineata* a potenciální nepříznivé důsledky chemických pesticidů na životní prostředí a lidské zdraví, podnítily úsilí vědců k nalézání alternativních metod ochrany před škodlivými organismy. Jednou z možných metod je využití přirozené odolnosti hostitelských rostlin bramboru. Rostliny se brání hmyzím škůdcům produkcí tzv. sekundárních metabolitů. Hlavními sekundárními metabolity bramboru jsou steroidní glykoalkaloidy (SGA) solanin a chaconin, které tvoří asi 95% celkových glykoalkaloidů v kulturních odrůdách brambor (Munafo a Gianfagna, 2015). Jako obranné GA byly identifikovány především solanin, chaconin, tomatin, leptiny a demissiny (Sablon et al., 2013). U divoce rostoucích brambor *Solanum chacoense* jsou obsaženy GA leptiny a leptininy (Mweetwa et al., 2012). GA inhibují acetylcholinesterázu v neuronech a působí na hmyzí škůdce jako antifidanty (Tingey, 1984).

Tématem mé práce bylo testovat možnosti využití odrůdové odolnosti bramboru a botanických insekticidů pro regulaci mandelinky bramborové *Leptinotarsa decemlineata* v ekologickém zemědělství. Výsledková část práce je členěna na tři dílčí cíle.

Prvním cílem mé práce bylo zjistit, zda odrůda bramboru ovlivňuje potravní preferenci *L. decemlineata*. Nejprve jsem hodnotila výskyt *L. decemlineata* na dané polovině Petriho misky v testech dvojího výběru, kde se *L. decemlineata* statisticky průkazně nejvíce vyskytovala na odrůdě Velur oproti odrůdě Jindra; ostatní kombinace nebyly statisticky průkazné. Pořadí preference od nejvíce k nejméně konzumované; Velur, Jindra, Dominika. Další metodou pro odhalení potravní preference *L. decemlineata* bylo hodnocení na základě velikosti zkonsumované plochy terčíku. Statisticky vysoce průkazný byl rozdíl ve zkonsumované ploše u odrůdy Velur oproti Jindře a Dominice. U kombinace odrůd Dominika a Jindra konzumovali brouci statisticky vysoce průkazně více listy odrůdy Jindra. Pořadí preference lze uvést takto Velur, Jindra, Dominika. První metoda je spíše orientační, není tak citlivá, resp. pro statistickou průkaznost by bylo potřeba mít více dat (opakování v testech). Druhá metoda je pracnější a přesnější; výsledky druhé metody i tak odpovídají preferenci zjištěné první metodou. Szafrank et al., (2008) testovali potravní preferenci *L. decemlineata* a zjistili, že látky na povrchu listu odrůdy (těkavé látky, vosky) ovlivňují příjem hostitelské rostliny. Také zjistili, že látky obsažené v listech (alkany, seskviterpenové uhlovodíky, voskové estery, estery kyseliny benzoové, mastné kyseliny, ethyl, isopropyl a fenyletylestery, aldehydy, ketony, methylketony, primárních alkoholů,  $\beta$ -amyrinu a sterolů) neovlivnily příjem potravy dospělých *L. decemlineata*. Naproti tomu sterolové látky (cholesterol,  $\beta$ -sitosterol a stigmasterol)

působily jako fagostimulanty pro larvy. Dále uvádí, že výše zmíněné látky obsažené v listech, byly obsaženy ve zkoumaných odrůdách bramboru v různém poměru. Žláznaté trichomy na listech bramboru ovlivňují preferenci odrůdy *L. decemlineata* (Yencho a Tingey, 1994). V pokusech k mé bakalářské práci byl prokázán statisticky vysoce významný vliv odrůdy na výskyt a poškození *L. decemlineata* (Šašková, 2019).

Odrůda ovlivňuje obsah GA, který je vysoce variabilní v závislosti na řadě faktorů (Zarzecka et al., 2013; Moudrý et al., 2009; Hajšlová et al., 2005; Wszelaki et al., 2005; Morris a Petermann, 1985). Existuje však řada studií s různými výsledky o účinnosti GA (chaconin, solanin, leptiny aj.) vůči *L. decemlineata*. Sinden et al. (1986) uvádí, že GA leptiny a leptininy (hydroxylované a O-acetylované formy  $\alpha$ -solaninu a  $\alpha$ -chaconinu) u divoce rostoucích druhů brambor *Solanum chacoense* mají antifidantní účinky vůči *L. decemlineata*, navíc se leptiny vyskytují pouze v listech. Hollister a Jarvis (2001) prokázali, že leptin I odrazuje *L. decemlineata* a že solanin a tomatin působí na leptin I a ten pak vyvolává poruchy nervové aktivity. Marciniak et al., (2010) uvádí toleranci *L. decemlineata* k dávkám GA (solaninu, chaconinu) a také, že nemají žádný kardiotropní účinek na *L. decemlineata*. GA (chaconin, solanin z brambor a tomatin z rajčat) byly testovány proti skladištním škůdcům (*Tribolium castaneum* Herbst, *Sitophilus oryzae* L.) , kdy nejtoxičtější byl chaconin, solanin a poté tomatin autoři také poukázali na synergický účinek směsi všech tří testovaných GA (Nenaah 2011). Vliv odrůdy na obsah chaconinu není statisticky průkazný, u solaninu je vliv odrůdy statisticky vysoce průkazný. Nejvíce solaninu obsahuje odrůda Velur, pak Jindra a Dominika. *L. decemlineata* preferovala odrůdu Velur s nejvyšším obsahem solaninu ze všech tří odrůd. Mweetwa et al., (2012) prokázali, že solanin a chaconin nepůsobí jako antifidant. Toto tvrzení také potvrdila studie Lorenzena et al. (2001). Kowalski et al. (1999) prokázali nepříznivé účinky leptinu I na vývoj *L. decemlineata*, ale u solaninu a chaconinu vliv prokázán nebyl, naopak uvádí, že mohou zvýšit přírůstek larev. Oproti tomu Hare (1987) testoval přidání GA (solamarin, tomatin, chaconin a solanin) do potravy a došel k závěru, že vývoj larev byl negativně ovlivněn všemi testovanými alkaloidy. Mnoho studií zkoumající vliv GA na vývoj *L. decemlineata* má nejednoznačné výsledky (Hollister a Jarvis, 2001).

Dalším cílem práce bylo zjistit vliv koncentrace přípravku na mortalitu *L. decemlineata*. Zjistila jsem, že všechny tři přípravky působily úhyn mandelinek. Probitová analýza prokázala statisticky významný vztah mezi koncentrací přípravku (v procentech výchozí doporučené koncentrace podle návodu výrobce) na mortalitu brouků u všech zkoumaných přípravků. Z výsledků je patrné, že nejvyšší účinnost byla zjištěna u přípravku NeemAzal, kde střední smrtelná koncentrace (LC<sub>50</sub>) byla pouhých 1,36%. U

Spintoru byla zjištěna střední účinnost s  $LC_{50}=3,90\%$ . Nejnižší účinnost byla zjištěna u přípravku RockEffect se střední smrtelnou koncentrací 68,07%. Gödel et al. (2020) ve své studii uvádí, že spinosad je vysoce účinný v laboratorních i polních podmínkách a i když nespadá do kategorie botanických pesticidů je povolen pro EZ. Osman (2010) testoval pět přípravků povolených pro EZ a dva přípravky chemické, používané v konvenčním zemědělství a zjistil, že spinosad byl na druhém místě v účinnosti, mezi dvěma chemickými insekticidy. Barčić et al., (2006) testovali ve tříletých polních pokusech přípravky s účinnými látkami spinosad, neemový olej, aj. a zjistili, že účinnost spinosadu byla přes 90% se zbytkovou insekticidní aktivitou 10 až 20 dní a u neemového oleje byla zjištěna účinnost od 54% až 87,9%, ale zbytková insekticidní aktivita byla příliš krátká. U kombinace přípravků (spinosad, neemový olej, *Bt.t.* a pyrethrin) dosáhla účinnost 97% se zbytkovou insekticidní aktivitou 21 dní. Kocourek a Stará (2019) uvádí, že v ČR nebyla doposud zjištěna rezistence vůči spinosadu (Spintor) a azadirachtinu (NeemAzal-T/S). Bastarache et al., (2020) uvádí, že se již vyskytují rezistentní populace hmyzu na spinosad (např. *Tuta absoluta*, *Spodoptera litura*, *L. decemlineata*), chybí ale více informací a studií o rezistenci *L. decemlineata* na spinosad. Dle Kleina et al. (2021) ve východní části státu New York, na ostrově Long Island si *L. decemlineata* během krátké doby vyvinula rezistenci vůči spinosadu a rozšiřuje se i na další místa. Chaudhary et al. (2017) uvedli, že velký potenciál mají zejména neemový a karanja olej z hlediska rezistence a pro udržitelné používání v ochraně rostlin. Kaethner (1992) uvádí, že kombinace přípravků AZT- extrakt VR s neemovým olejem, je vysoce účinná na všechny instary larev *L. decemlineata*. Imága po přímém kontaktu s neemovým olejem vykazovali sníženou konzumaci listů a také snížení plodnosti. Také Trdan et al., (2007) v laboratorních podmínkách zkoušeli účinnosti neemového oleje a potvrdili vysokou mortalitu dospělých brouků až 90%. Kovaříková a Pavela (2019) testovali jak NeemAzal, Rock Effect, tak i jejich směsi a došly k výsledku, že insekticidní aktivita přípravku NeemAzal byla velmi dobrá, přípravek Rock Effect měl podstatně nižší účinnost na všechny stádia. Největší účinnosti bylo dosaženo kombinací přípravků v poměru 1:1, kdy byl zjištěn synergický účinek. Přípravek Rock Effect, jehož účinnou složkou je pongamia olej (karanja olej) má antiovipoziční efekt, působí jako antifidant, zastavuje vývoj larev (Kumar a Singh, 2001). Pavela (2007) také uvádí antiovipoziční účinky a repelentní účinky karanja oleje a zmiňuje jeho velký potenciál v udržitelné ochraně rostlin.

Posledním cílem práce bylo stanovení synergického účinku vybraných přípravků (NeemAzal, Rock Effect) a odrůdy bramboru (Dominika, Velur) na mortalitu *L. decemlineata*. Výsledky mortality *L. decemlineata* během doby trvání experimentu

ukázaly rozdíly v účinnosti přípravků; vliv odrůdy se však projevil jen minimálně. Účinnost vybraných přípravků byla již diskutována, synergický efekt s odrůdou nebyl prokázán. Příčin může být několik, např. že rozdíly v kvalitě potravy zjištěné pomocí testu potravní preference nejsou natolik významné, aby měly vliv na fyziologii dospělců *L. decemlineata* a v kombinaci se subletálními dávkami insekticidů se tyto rozdíly projeví ve vyšší či nižší mortalitě. Stres v důsledku méně vhodné potravy by se také mohl projevit až po delší době. Jiné výsledky by rovněž mohly být získány při aplikaci postřiku na list. V tomto případě by *L. decemlineata* byla vystavena nejen kontaktnímu, ale i požerovému působení účinné látky. V takovém případě by antifidantní účinky přípravku a sekundárních metabolitů v listech mohly mít aditivní efekt.

Pro pěstitele se doporučuje vybírat odrůdy s nízkými až středními hodnotami obsahu GA (solani, chaconin) z důvodu variability, závislosti a interakce mezi faktory ovlivňující hladinu GA a tím i škodlivosti na lidském zdraví (Přichystalová-Fialková et al., 1999; Sinden a Webb, 1972). Botanické insekticidy jsou komplexní směsi mnoha funkčních sekundárních metabolitů a je proto pro mandelinku složité vyvinout si rezistenci, na rozdíl oproti chemickým insekticidům, které obsahují často jednu účinnou látku (Kovaříková a Pavela, 2019).

Pro účel vypěstování odolných odrůd bramboru proti *L. decemlineata* se využívají ke šlechtění divoce rostoucí odrůdy brambor *Solanum chacoense*, či využití genetické manipulace, za účelem začlenění leptinu aj. GA, a využití jejich antifidantních účinků (Sinden et al., 1980). Genetické manipulace jsou však v EZ zakázány.

## Závěr

Předkládaná diplomová práce v první části shrnuje obecné a aktuální poznatky o ochraně rostlin bramboru, a možnosti využití odrůdové odolnosti bramboru a botanických insekticidů pro regulaci mandelinky bramborové *L. decemlineata* v ekologickém zemědělství. Cílem testů bylo zjistit, zda odrůda bramboru ovlivňuje potravní preferenci *L. decemlineata* a stanovit účinnost vybraných botanických insekticidů v laboratorních podmínkách. Dále pak stanovit synergický účinek subletálních dávek insekticidů v kombinaci s rezistentní odrůdou bramboru proti *L. decemlineata*.

Výsledky získané při řešení diplomové práce lze shrnout do těchto bodů:

1. Všechny tři testované přípravky byly toxické pro dospělce *L. decemlineata*; nejvyšší účinnost měly přípravky NeemAzal a Spintor, nejnižší účinnost byla zjištěna u přípravku Rock Effect. Hypotéza, že extrakty z některých rostlin mohou být dostatečně účinné pro regulaci *L. decemlineata* se potvrdila.
2. *L. decemlineata* vykazovala statisticky významnou potravní preferenci k odrůdě Velur a nejmenší k odrůdě Dominika.
3. Zjištěná potravní preference *L. decemlineata* pravděpodobně nesouvisí s obsahem glykoalkaloidů solaninu a chaconinu v bramboru. Hypotéza, že *L. decemlineata* upřednostňuje listy odrůd s nižším obsahem glykoalkaloidů (solanin, chaconin) se nepotvrdila.
4. Synergické působení odrůdy bramboru a nízkých dávek insekticidu na mortalitu dospělců *L. decemlineata* se nepodařilo prokázat. Hypotéza, že subletální dávky insekticidů působí vyšší mortalitu škůdce na rezistentní odrůdě bramboru se nepotvrdila.

## Seznam literatury

- Azimi, M., A.A. et al. (2008). Studies on the Lethal Effects of Spinosad on Adults of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) with Two Bioassay Methods. *Asian Journal of Biological Sciences*. 2(1): 1–6.
- Barčić, I. et al. (2006). Combinations of several insecticides used for integrated control of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*, Say., Coleoptera: Chrysomelidae). *J Pest Sci*. 79: 223.
- Barton, A. G. (2018). *The Global History of Organic Farming*, Oxford University Press. Great Britain, ISBN 978-0-18-964253-3.
- Bessin, R. (2003). Colorado potato beetle management, University of Kentucky College of agriculture, food and environment, Lexington, KY 40546, 156 (1): 101– 110.
- BfR.de, (2018). Speisekartoffeln sollten niedrige Gehalte an Glykoalkaloiden (Solanin) enthalten, Das Bundesinstitut für Risikobewertung. [cit. 2021-03-23], Dostupné online z <https://www.bfr.bund.de/cm/343/speisekartoffeln-sollten-niedrige-gehalte-an-glykoalkaloiden-solanin-enthalten.pdf>.
- Bleša, D. et al. Využití biologické ochrany v produkci rostlin, 2020, Agromanuál, [cit. 2021-03-23], dostupné online z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/vyuziti-biologicke-ochrany-v-produkci-rostlin>.
- Buczowska, A. a Rochalska M. (2013). Zastosowanie alomonów roślinnych do ochrony roślin na gruntach orných przed szkodliwymi owadami, *Kwartalnik Polskiej Nauki Rolniczej nr 343*. Wydany przez PAN PF Rolnictwo, Leśnictwo i Weterynaria. str. 19–32.
- Bushway, R.J. et al. (1987). Inhibition of acetyl cholinesterase by solanaceous glycoalkaloids and alkaloids. *American Potato Journal* 64, 409–413.
- Cieśla, P. a Michniewska A. (2013). *Wpływ wybranych związków chemicznych na organizmy żywe*. Kraków. Uniwersytet Pedagogiczny, Instytut Biologii, 103 s., ISBN: 978-83-7271-796-2.
- Campos, E.V.R. et al. (2019). Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. *Ecological Indicators*. 105: 483-495.
- Copping, L.G. a Mennj, J. (2000). Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science* (8): 651-676 .
- Cui, Q., et al. (2020). Lignans and Their Derivatives from Plants as Antivirals. *Molecules*, 25(1): 12-19.
- Dědič, P.(2014). *Hlavní virové choroby bramboru v ČR*. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský. ISBN 978-80-86940-55-7.

- Demain, A. L. a FANG, A. (2000). The Natural Functions of Secondary Metabolites. FIECHTER, A., ed. *History of Modern Biotechnology I*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2000-1-30, s. 1-39.
- Diviš, J. *Pěstování rostlin: (učební texty pro obor provozní podnikatel a pozemkové úpravy a převody nemovitostí)*. 2., dopl. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2010. ISBN 978-80-7394-216-8.
- Diviš, J.(2012). Brambory v ekologickém zemědělství, časopis *Zemědělec* 20. str. 25, [cit. 2021-03-23], Dostupný online na [https://aa.ecn.cz/img\\_upload/8d8825f1d3b154e160e6e5c97cf9b8b3/ekozem20str25.pdf](https://aa.ecn.cz/img_upload/8d8825f1d3b154e160e6e5c97cf9b8b3/ekozem20str25.pdf).
- Diviš, J.(2007). Potato – the significant product in ecological farming, *Sborník z konference „Ekologické zemědělství 2007“*. pp. 6.-7.2.
- Doležal, P. a Hausvater E.(2020). Ochrana brambor proti mandelince bramborové a výsledky pokusů s insekticidy v roce 2019. *Agromanuál*., [cit. 2021-03-23], dostupný online z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/ochrana-brambor-proti-mandelince-bramborove-a-vysledky-pokusu-s-insekticidy-v-roce-2019>.
- Doležal P. a Hausvater E. (2019). Výsledky pokusů s přípravky proti mandelince bramborové v roce 2018. *Agromanuál*., [cit. 2021-03-23. Dostupný online z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/vysledky-pokusu-s-pripravky-proti-mandelince-bramborove-v-roce-2018>.
- Domkářová J. et. al. (2019). České odrůdy konzumních brambor 2019, Vydala ČMŠSA, Zelený pruh 99, 140 02 Praha; Poradenský svaz Bramborářský kroužek. z. s. a Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s. r. o. Grafická úprava Jiří Trachtulec. [cit. 2021-03-23]. Dostupné online z: <https://www.vubhb.cz/cs/knihovna/ostatni-publikace/ceske-odrudy-konzumnich-brambor-2019>.
- Dvorský, J. a J., Urban (2014). *Základy ekologického zemědělství: podle nařízení Rady (ES) č. 834/2007 a nařízení Komise (ES) č. 889/2008 s příklady*. 2., aktualizované vydání. Brno: ÚKZÚZ. ISBN 978-80-7401-098-9.
- Dvořák, P. a Bicanová E.(2007). *Brambory v systému ekologického zemědělství*, konference, Organic farming 2007, [cit. 2021-01-2]. Dostupný online z: [http://organicfarming.agrobiologie.eu/proceedings\\_pdf/42\\_dvorak\\_bicanova\\_s131-133.pdf](http://organicfarming.agrobiologie.eu/proceedings_pdf/42_dvorak_bicanova_s131-133.pdf).
- eAGRI, (2020a). *Dotační programy EZ*, [cit. 2020-11-20], Dostupný online z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/ekologicke-zemedelstvi/dotace/>.

- eAGRI. (2020b). *Choroby a škůdci bramboru*. [cit. 2021-1-6]. Dostupný online z: [http://eagri.cz/public/app/srs\\_pub/fytoportal/](http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/).
- eAGRI. (2020c). *Registr přípravků*, [cit. 2020-11-20]. Dostupný online z: <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx>.
- Europa.eu, (2017). European Parliament resolution of 15 February 2017 on low-risk pesticides of biological origin (2016/2903(RSP)), [cit. 2020-11-20]. Dostupný online z: EUR-Lex - 52017IP0042 - EN - EUR-Lex (europa.eu).
- Feuerhake, K. a Schmutterer, E. (1982). Einfache Verfahren zur Gewinnung und Formulierung von Niemsamenextrakten und deren Wirkung auf verschiedene Schadinsekten / Use of simple methods for extraction of neem seeds, formulation of extracts and their effect on various insect pests. *Zeitschrift Für Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection*, 89(12): 737-747.
- Friedman, M. (2006). Potato Glycoalkaloids and Metabolites. Roles in the Plant and in the Diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (23): 8655-8668.
- Göldel, B. et al. (2020). Alternatives to Synthetic Insecticides in the Control of the Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) and Their Environmental Benefits. *Agriculture*. 10(12):611.
- GraphPad Software. (2021). *Chi kvadrát test*. [cit. 2021-03-23]. Dostupné online z: <https://www.graphpad.com/quickcalcs/chisquared1/>.
- Grassmann, J.(2005). Terpenoids as Plant Antioxidants. *Plant Hormones*. Elsevier. s. 505-535.
- Gui, L. a G. Botieau. (2010). Effect of food deprivation on the ambulatory movement of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 134(2): 138-145.
- Haas, D. a G. Défago. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology* . 3(4): 307-319.
- Hajšlová, J. et al. (2005). Quality of organically and conventionally grown potatoes: Four-year study of micronutrients, metals, secondary metabolites, enzymic browning and organoleptic properties. *Food Additives and Contaminants*. 22(6): 514–534.
- Hamouz, K.. *Rané brambory: pěstitelský rádce*. Praha: Pro katedru rostlinné výroby, FAPPZ, ČZU v Praze vydalo vydavatelství Kurent, 2007. ISBN 978-80-903522-9-2.
- Hansen, B. et al. (2001). Approaches to assess the environmental impact of organic farming with particular regard to Denmark. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 83(1-2): 11-26.
- Hare, J.D. Growth of *Leptinotarsa decemlineata* larvae in response to simultaneous variation in protein and glycoalkaloid concentration. *J Chem Ecol* 13, 39–46.



- Hausvater, E. et al. (2014). *Mšice - přenašeči virových chorob brambor a ochrana proti nim*. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský, 2014. Praktické informace. ISBN 978-80-86940-60-1.
- Hausvater, E. a P. Doležal. (2013). *Ochrana brambor proti mandelince bramborové*. Vyd. 5. aktualiz. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský. ISBN 978-80-86940-50-2.
- Hollister, J.R. a Jarvis J.D. (2001). Engineering lepidopteran insect cells for sialoglycoprotein production by genetic transformation with mammalian  $\beta$ 1,4-galactosyltransferase and  $\alpha$ 2,6-sialyltransferase genes, *Glycobiology*. 11(1): 1–9.
- Hrudová, E. (2015). *Ochrana rostlin v ekologickém zemědělství*. Brno: Mendelova univerzita v Brně. ISBN 978-80-7509-268-7.
- Hussein, H. M. et al. (2016). Laboratory Evaluation of *Isaria fumosorosea* CCM 8367 and *Steinernema feltiae* Ustinov against Immature Stages of the Colorado Potato Beetle. *PLOS ONE*. 11(3):254–270.
- Huseth, A. S. et al. (2014). Managing Colorado Potato Beetle Insecticide Resistance: New Tools and Strategies for the Next Decade of Pest Control in Potato. *Journal of Integrated Pest Management*. 5(4):1-8.
- Chaudhary, S. et al. (2017). Progress on *Azadirachta indica* Based Biopesticides in Replacing Synthetic Toxic Pesticides. *Frontiers in Plant Science*. 8:610.
- Interactive Statistical Pages. (2021). *Anova analýza*. [cit. 2021-03-23]. Dostupné online z: <https://statpages.info/anova1sm.html>.
- Isman, M. B. et al. (1990). Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38(6): 1406-1411.
- Isman, M. B. (2020). Botanical Insecticides in the Twenty-First Century—Fulfilling Their Promise? *Annual Review of Entomology*. 65(1): 233-249.
- Jacobson, M. (1989). Botanical Pesticides. *Insecticides of Plant Origin*. Washington, DC: American Chemical Society. s. 1-10.
- Jahodář, L. a Klečáková, J. (1999). Toxicita hvězdnicovitých s přihlédnutím k farmaceuticky významným druhům. *Chemické listy*. 93: 320–326.
- Jouzi, Z. et al. (2017). Organic Farming and Small-Scale Farmers: Main Opportunities and Challenges. *Ecological Economics*. 132: 144-154.
- Kalinová Pexová J. (2018) . Ochrana rostlin v EZ, Program e-learning HU/05/b/f/pp – 170018 „Ecologica“, Dostupný online z: [http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/ecologica/ochrana\\_rostlin.pdf](http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/ecologica/ochrana_rostlin.pdf).

- Kaplangolu, E. et al. (2017). Overexpression of a cytochrome P450 and a UDP-glycosyltransferase is associated with imidacloprid resistance in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Scientific Reports*. 7(1):20–45.
- Katoch, R. et al. (2013). RNAi for Insect Control: Current Perspective and Future Challenges. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 171(4): 847-873.
- Kaethner, M. (1992). Fitness reduction and mortality effects of neem-based pesticides on the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col., Chrysomelidae). *Journal of Applied Entomology*. 113(1–5): 456–465.
- Klein, C. et al. (2021). Geographic Variation in Dominance of Spinosad Resistance in Colorado Potato Beetles (Coleoptera: Chrysomelidae), *Journal of Economic Entomology*. 114(1): 320–325.
- Kocourek, F. a Stará, J. (2019), Změny v rezistenci mandelinky bramborové vůči insekticidům. Agromanuál. VÚRV Praha-Ruzyně, [cit. 2021-03-23]. Dostupný online z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/zmeny-v-rezistenci-mandelinky-bramborove-vuci-insekticidum>.
- Koubová D.(2009). Využití hub v biologické ochraně rostlin proti škůdcům. [cit. 2021-03-23], Dostupný online z: [[http://www.bio-info.cz/uploads/download/Vyuziti\\_hub\\_v\\_biologicke\\_ochrane\\_rostlin.pdf](http://www.bio-info.cz/uploads/download/Vyuziti_hub_v_biologicke_ochrane_rostlin.pdf)]
- Kovaříková, K. a Pavela, R. (2019). United Forces of Botanical Oils: Efficacy of Neem and Karanja Oil against Colorado Potato Beetle under Laboratory Conditions. *Plants*, 8(12): 23–37.
- Kowalska, J.(2010). Spinosad effectively controls Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) in organic potato. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science*. 60(3): 283-286.
- Kowalski, S. P. et al. (1999). Performance of Colorado potato beetle larvae, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), reared on synthetic diets supplemented with *Solanum* glycoalkaloids. *American Journal of Potato Research*. 76(5): 305-312.
- Kozuke, N. et al. (2008). Distribution of Glycoalkaloids in Potato Tubers of 59 Accessions of Two Wild and Five Cultivated *Solanum* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 (24):11920-11928.
- Kumar, M. a Singh, R.. (2002). Potential of *Pongamia glabra* Vent as an Insecticide of Plant Origin. *Biological Agriculture & Horticulture*. 20(1): 29-50.
- Kutnar, F. (2005). *Malé dějiny brambor*. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, Etnologický ústav AV ČR, Nové tiskárny Pelhřimov, ISBN 80-902567-9-1.

- Kühne, S. (2008). Efficacy of biological insecticides to control the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) in organic farming, *16. Th IFOAM Organic Congress*, Modena, Italy, June 16-20.
- Kunze et al. (2004). The N Terminus of Bacterial Elongation Factor Tu Elicits Innate Immunity in Arabidopsis Plants. *The Plant Cell*. 16(12): 3496-3507.
- Lorenzen, J.H. et al. (2001). Resistant Potato Selections Contain Leptine and Inhibit Development of the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae), *Journal of Economic Entomology*. 94(5):1260–1267.
- Mackovčín, P. et al. (2010)., *Územní systém ekologické stability krajiny (Territorial system of Landscape ecological stability)*. 69(1):365–378.
- Mantoukas, S.(2018). Asian Journal of Botany, Pathogenicity of fungal agents to the MCB *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in laboratory conditions, *Systems.enpress-publisher*. 265–267.
- Marciniak, A. (2010). Influence of cation and anion structure of the ionic liquid on extraction processes based on activity coefficients at infinite dilution. A review, *Fluid Phase Equilibria*. 294 (1–2): 213-233.
- Matušinský P. et al. (2016). Výzkum alternativních způsobů ochrany obilnin proti houbovým patogenům. *Obilnářské listy* 2/2016:38–40.
- Matyjaszczyk, E. (2018). Plant protection means used in organic farming throughout the European Union. *Pest Management Science*. 74(3): 505-510.
- Mayes M. A. et al. (2003). Spinosad toxicity to pollinators and associated risk, *Rev Environ Contam Toxicol*. 179:37-71.
- Milgroom, M.M.G. a Cortesi P. (2004). Biological Control Of CHesnut Blight With Hypovirulence: A Critical Analysis. *Annual Review of Phytopathology*. 42(1): 311-338.
- Morris, S.C. a Petermann, J.B. (1985). Genetic and environmental effects on levels of glycoalkaloids in cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.) *Food Chemistry*. 18 (4): 271-282.
- Moudrý, J. et al. (2009). Vybrané výsledky výzkumu v ekologickém zemědělství na Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, Vydavatel ČPTEZ, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, zemědělská fakulta, [cit. 2021-03-23], Dostupný online z: [http://bioinstitut.cz/documents/projektJCU\\_000.pdf](http://bioinstitut.cz/documents/projektJCU_000.pdf).
- Munafò, J.P. a Gianfagna TJ. (2015). Chemistry and biological activity of steroidal glycoalkaloids from the *Lilium* genus. *Nat. Prod. Rep*. 32:454–477.
- Mweetwa, A. M. et al.(2012). Steroidal glycoalkaloids in *Solanum chacoense*. *Phytochemistry*, 75: 32-40.

- Negi, R.S. et al. (1997). Egg laying and adult emergence of *Callosobruchus chinensis* on green gram (*Vigna radiata*) treated with pongam oil. *Indian. Entomol.* 59: 362–365.
- Nenaah, G. (2011). Individual and synergistic toxicity of solanaceous glycoalkaloids against two coleopteran stored-product insects. *J Pest Sci.* 84: 77–86.
- Nermuť, J. et al. (2020). Dissemination of *Isaria fumosorosea* Spores by *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*. *Journal of Fungi.* 6(4):398–401.
- Onillon, J-C. a Gullino, L. M. (1999). Implementation of IPM: From Research to the Consumer. *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops.* 14: 411–419.
- Osborne, L. a Landa, Z. (1992). Biological Control of Whiteflies with Entomopathogenic Fungi. *The Florida Entomologist.* 75(4): 456–471.
- Osman, M.A.M. (2010): Biological efficacy of some biorational and conventional insecticides in the control of different stages of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Plant Protect. Sci.* 46: 123-134.
- Ovesná, J. et al. (2015). Jaké mechanismy využívají rostliny pro obranu proti houbovým patogenům. *Chem. Listy.* 109: 613–618.
- Paull, J.(2011). Attending the first organic Agriculture Course: Rudolf Steiner's Agriculture Course at Koberwitz. *European Journal of Social Sciences.* 21(1): 64–70.
- Pavela, R. (2006). *Rostlinné insekticidy, hubíme hmyz bez chemie.* Praha. Grada publishing a. s. ISBN: 978-80-247-6401-6.
- Pavela, R. (2007). Possibilities of Botanical Insecticide Exploitation in Plant Protection. *Pest Technology.* 1 (1):47–52.
- Pavela, R.(2011). *Botanické pesticidy – 2. vydání.* Vydavatelství Kurent. České Budějovice. ISBN 978-80-8711-126-0.
- Pavela, R.(2017). Botanické pesticidy, nadějná alternativa ochrany rostlin. *Agrojournal.* [cit. 2021-03-23], Dostupný online z: <https://www.agrojournal.cz/clanky/botanicke-pesticidy-nadejna-alternativa-ochrany-rostlin-313>.
- Produkce Brambor (2020), Agrární komora ČR, , [cit. 2021-03-23]. Dostupné online z: [http://www.akcr.cz/data\\_ak/20/v/Brambory2020sbornik.pdf](http://www.akcr.cz/data_ak/20/v/Brambory2020sbornik.pdf).
- Prokinová, E. (2017). Využití biologické ochrany rostlin v systému ekologického pěstování plodin. *Agromanuál.* [cit. 2021-03-23], Dostupné online z <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana->

obecne/vyuziti-biologicke-ochrany-rostlin-v-systemu-ekologickeho-pestovani-plodin.

- Prokinová, E. (2019). Fungicidní účinné látky, *Agromanuál*, [cit. 2021-03-23], Dostupné online z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/fungicidni-ucinne-latky>.
- Prugar, J. (1994), Jakost rostlinných produktů konvenčního a ekologického zemědělství, 1.vyd. Praha: *Ústav zemědělských a potravinářských informací*, 48 s. ISSN 0862-3562.
- Přichystalová-Fiálková, V. et al. (1999). Obsah  $\alpha$ -chaconinu a  $\alpha$ -solaninu v hlízách velmi raných odrůd bramboru (*Solanum tuberosum* L.). *Věd práce VÚB*, 13: 91–102.
- Radman, R. et al. (2003). Elicitation of plants and microbial cell systems. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 37(1):91–102.
- Rasocha, V. a Hausvater, E.(2001). Choroby a škůdci brambor, časopis *Úroda*, [cit. 2021-03-23]. Dostupný online z: <https://www.uroda.cz/choroby-a-skudci-brambor/>.
- Robaztek, S. a Saijo, Y. (2008). Plant immunity from A to Z. *Genome Biology* . 9(4): 304.
- Sablon, L. et al. (2013). Chemical Ecology of the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae), and Potential for Alternative Control Methods. *Insects*. 4: 31-54.
- Samantha, A.. et al. (2011). Roles of flavonoids in plants, *Int J Pharm Sci Tech*, Vol-6, Issue-1: 12–35.
- SAS Institute (2018). SAS Stat Studio 3.8: User's Guide; SAS Institute: Cary, NC, USA.
- SAS Institute (2017). SAS/STAT 14.3: User's Guide; SAS Institute: Cary, NC, USA.
- Sattelle, D. B. et al. (20008). Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemicals. *Invertebrate Neuroscience*. 8(3): 107–119.
- SciStatCalc Software. (2013). *SciStatCalc*. [cit. 2021-03-23]. Dostupné online z: <https://scistatcalc.blogspot.com/2013/10/wilcoxon-signed-rank-test-calculator.html>.
- Siegel, S. a Castellan, N. J. (1988). Nonparametric Statistics for the Behavioural Sciences. *Biometrika*, 44:538.
- Sinden, S.L. a Webb, R.E. (1972) Effect of variety and location on the glycoalkaloid content of potatoes. *American Potato Journal*. 49:334–338.
- Sinden, S.L. et al. (1980). Glycoalkaloids and resistance to the Colorado potato beetle in *Solanum chacoense* Bitter. *American Potato Journal*. 57: 331–343.

- Sinden, S.L. et al. (1986). Leptine Glycoalkaloids and Resistance to the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in *Solanum chacoense*, *Environmental Entomology*, 15(5): 1057–1062.
- Scott, I.M. et al. (2003). Botanical insecticides for controlling agricultural pests: Piperamides and the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* say (Coleoptera). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 54(4): 212–225.
- Schneider, C. A. et al. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*. 9(7): 671–675.
- Smith, D. B. et al. (2001). Synergism between the potato glycoalkaloids  $\alpha$ -chaconine and  $\alpha$ -solanine in inhibition of snail feeding. *Phytochemistry*. 57(2): 229–234.
- Stolze, M. et al. (2000). Environmental impacts of organic farming in Europe. *Organic Farming in Europe: Economics and Policy*, 6: 35. Universität Hohenheim, Stuttgart-Hohenheim, ISBN 3-933403-05-7.
- Szafranek, B. et al. (2008). Leaf surface compounds of the potato (*Solanum tuberosum*) and their influence on Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) feeding. *Chemoecology*. 18:205–216
- Szendrei, Z., et al. (2012). Resistance to neonicotinoid insecticides in field populations of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest Management Science*. 68(6): 941–946.
- Šašková, J. (2019). *Ověření účinku biopreparátu na bázi entomopatogenní houby Isaria fumosorosea na mandelinku bramborovou (Leptinotarsa decemlineata Say) v ekologickém a konvenčním zemědělství*. Bakalářská práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta Agroekosystémů..
- Šejnohová, H. et al. (2019). Statistická šetření ekologického zemědělství Základní statistické údaje. [cit. 2021-03-23]. Dostupné online z [http://eagri.cz/public/web/file/668681/Statistika\\_ekologickeho\\_zemedelstvi\\_2019.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/668681/Statistika_ekologickeho_zemedelstvi_2019.pdf).
- The European Green Deal (2019). Communication from the Commission to the European Parliament, the European Council, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions. [cit. 2021-03-23] Dostupn online z <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=COM%3A2019%3A640%3AFIN>.
- Tholl, D. (2015). Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants. SCHRADER, Jens a Jörg BOHLMANN, ed. *Biotechnology of Isoprenoids*. 1-13: 63–106.
- Tingey, W. M. (1984). Glycoalkaloids as pest resistance factors. *American Potato Journal*. 61(3): 157–167.

- Trdan, S. et al. (2007). Effect of temperature on efficacy of three natural substances to Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae), Acta Agriculturae Scandinavica. *Soil & Plant Science*. 57(4): 293-296.
- Tsuda, K.(2018). Division of Tasks: Defense by the Spatial Separation of Antagonistic Hormone Activities. *Plant and Cell Physiology* . 59(1): 3–4.
- Urban, J.(2015), Ekologické zemědělství, Bioinstitut [cit. 2020-11-20]. Dostupný online z: <http://bioinstitut.cz/cz/ekologicke-zemedelstvi>.
- Vesa. (2010). *Charakteristika odrůd*. [cit. 2021-1-6]. Dostupný online z: <http://www.vesa-velhartice.cz/cz/odrudy-brambor.htm>.
- Vokál, B. et al. (2013). *Brambory, šlechtění, pěstování, užití, ekonomika*, vydavatelství Profi Press Praha, ISBN 978-80-86726-54-0.
- Wang, J. et al. (2019). Jasmonate action in plant defense against insects. *Journal of Experimental Botany* .70(13): 339–340.
- Whalon, M. E. et al. (2008). Global Pesticide Resistance in Arthropods, Department of Entomology, Michigan State University, East Lansing, USA, ISBN 978184593353.
- Wraight, S.P a Ramos, M. E. (2002). Application Parameters Affecting Field Efficacy of *Beauveria bassiana* Foliar Treatments against Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Biological Control*. 23(2): 164–178.
- Wraight, S.P a Ramos, M. E. (2017). Characterization of the synergistic interaction between *Beauveria bassiana* strain GHA and *Bacillus thuringiensis morrisoni* strain tenebrionis applied against Colorado potato beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*. 144: 47–57.
- Wszelaki A.L. et al. (2005). Sensory quality and mineral and glycoalkaloid concentrations in organically and conventionally grown redskin potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *J Sci Food Agric*. 85:720–726.
- Yencho, G.C. a Tingey, W.M. (1994), Glandular trichomes of *Solanum berthaultii* alter host preference of the Colorado potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 70: 217–225.
- Zarzecka, K. et al. (2013). Glycoalkaloid contents in potato leaves and tubers as influenced by insecticide application. *Plant Soil Environ*.59:183–188.
- Zemek, R. et al. (2016). Využití mikroskopických hub a parazitických hlístic k hubení mandelinky bramborové, *Akademický bulletin AV ČR*, Praha, (7-8): 12–14.
- Zhang, L. et al. (2017). Jasmonate signaling and manipulation by pathogens and insects. *Journal of Experimental Botany*. 68(6): 1371–1385.

Zrůst, J. (2004). Glykoalkaloidy u brambor a ostatních komodit, publikace pro VÚRV Praha 6, [cit. 2020-11-20], Dostupný online z: <http://www.phytosanitary.org/projekty/2003/vvf-19-03.pdf>.

## Seznam tabulek

|   |    |
|---|----|
| Tabulka 1.1: Výměra půdy a počet farem v EZ v ČR ve vybraných letech.....   | 12 |
| Tabulka 1.2: Srovnání struktury půdního fondu.....  | 13 |
| Tabulka 1.3: Strukturální složení subjektů v režimu hospodaření EZ.....   | 14 |
| Tabulka 1.4: Plochy a produkce EZ na orné půdě v letech 2018 a 2019, srovnání celkovou produkcí v ČR v roce 2019 pro vybrané plodiny..... | 24 |
| Tabulka 3.5: Bakteriální choroby bramboru.....  | 25 |
| Tabulka 3.6: Houbové choroby bramboru.....  | 25 |
| Tabulka 3.7: Virové choroby bramboru.....   | 27 |
| Tabulka 3.8: Škůdci bramboru.....   | 28 |
| Tabulka 3.9: Vývojová stádia <i>L. decemlineata</i> .....   | 31 |
| Tabulka 3.10: Registrované insekticidy proti <i>L. decemlineata</i> povolené pro EZ.....  | 34 |
| Tabulka 3.11: Nejvýznamnější GA izolované z listů nebo hlíz druhů <i>Solanum</i> .....  | 38 |
| Tabulka 5.1: Doporučené dávkování dle výrobce Spintor.....  | 47 |
| Tabulka 5.2: Doporučené dávkování dle výrobce NeemAzal T/S.....   | 47 |
| Tabulka 5.3: Doporučené dávkování dle výrobce Rock Effect.....  | 48 |
| Tabulka 6.1: Výsledky analýzy rozptylu obsahu chaconinu v odrůdách bramboru.....  | 52 |
| Tabulka 6.2: Výsledky analýzy rozptylu obsahu solaninu v odrůdách bramboru.....   | 52 |
| Tabulka 6.3: Výsledky probitové analýzy s hodnotami letálních koncentrací přípravků aplikovaných na mandelinku bramborovou.....           | 53 |
| Tabulka 6.4: Mortalita, průměrná doba přežití a spodní letální kvartil (LT <sub>25</sub> ).....   | 56 |



## Seznam grafů

|  |    |
|--|----|
| Graf 6.1: Podíl výskytu <i>L. decemlineata</i> na odrůdě.....  | 50 |
| Graf 6.2: Preference odrůdy a hodnocení požerků.....   | 51 |
| Graf 6.3: Obsah glykoalkaloidů (mg.kg <sup>-1</sup> ) v hlízách bramboru (průměr ± SE).....                                  | 52 |
| Graf 6.4: Log-probitová regresní křivka závislosti mortality mandelinky bramborové na koncentraci přípravku Spintor.....     | 53 |
| Graf 6.5: Log-probitová regresní křivka závislosti mortality mandelinky bramborové na koncentraci přípravku NeemAzal.....    | 54 |
| Graf 6.6: Log-probitová regresní křivka závislosti mortality mandelinky bramborové na koncentraci přípravku Rock Effect..... | 54 |
| Graf 6.7: Účinnost přípravků a kumulativní mortalita <i>L. decemlineata</i> (7 dní).....                                     | 55 |

## Seznam obrázků

|   |    |
|---|----|
| Obrázek 3.1: Bakteriální kroužkovitost (Obrázek 2.1 až 2.22) ,[cit. 2020-11-20], dostupný na: <a href="http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/">http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/</a> ..... | 24 |
| Obrázek 3.2: Bakteriální černání stonku a měkká hniloba hlíz bramboru.....  | 25 |
| Obrázek 3.3: Bakteriální hnědá hniloba bramboru.....  | 25 |
| Obrázek 3.4: Aktinobakteriální obecná strupovitost bramboru.....  | 25 |
| Obrázek 3.5: Rakovina bramboru.....   | 25 |
| Obrázek 3.6: Plíseň bramboru.....   | 26 |
| Obrázek 3.7: Vločkovitost hlíz bramboru.....  | 26 |
| Obrázek 3.8: Stříbřitost slupky bramboru.....   | 26 |
| Obrázek 3.9: Hnědá a terčovitá skvrnitost bramboru.....   | 26 |
| Obrázek 3.10: Fusariová hniloba bramboru.....   | 26 |
| Obrázek 3.11: Fomová hniloba bramboru.....  | 26 |
| Obrázek 3.12: Vodnatá hniloba brambor.....  | 26 |
| Obrázek 3.13: A virus bramboru.....   | 27 |

|  |    |
|--|----|
| Obrázek 3.14: M virus bramboru.....  | 27 |
| Obrázek 3.15: S virus bramboru.....  | 27 |
| Obrázek 3.16: Y virus bramboru.....  | 27 |
| Obrázek 3.17: X virus bramboru.....  | 27 |
| Obrázek 3.18: Virová svinutka brambor.....   | 27 |
| Obrázek 3.19: Mandelinka bramborová.....   | 28 |
| Obrázek 3.20: Mšice.....   | 28 |
| Obrázek 3.21: Hád'átko bramborové.....   | 28 |
| Obrázek 3.22: Drátovci.....  | 28 |
| Obrázek 3.23: Snůška vajíček (foto autor).....                                     | 31 |
| Obrázek 3.24: Larvy I. instaru (foto autor).....                                   | 31 |
| Obrázek 3.25: Larvy II. instaru (foto autor).....                                  | 31 |
| Obrázek 3.26: Larvy III. Instaru (foto autor).....                                 | 31 |
| Obrázek 3.27: Larvy IV. instaru (foto autor).....                                  | 31 |
| Obrázek 3.28: Předkukla (foto autor).....  | 32 |
| Obrázek 3.29: Kukla (foto autor).....  | 32 |
| Obrázek 5.1: Odrůda Jindra (foto autor).....                                       | 43 |
| Obrázek 5.2: Schéma rozmístění terčíků v misce (autor). ....                       | 46 |
| Obrázek 6.1: Požerky po 12 hod. kombinace odrůd Dominika a Velur (foto autor)..... | 50 |

## Seznam použitých zkratk

|       |  |
|-------|--|
| AEKO  | Agroenvironmentálně-klimatické opatření                  |
| BCP   | Biological pest control                                  |
| BfR   | Spolkový úřad pro hodnocení rizik (Německo)              |
| ČPTEZ | Česká technologická platforma pro ekologické zemědělství |
| ČR    | Česká republika  |
| EAFRD | Evropského zemědělského fondu pro rozvoj venkova         |
| EAGF  | Evropského zemědělského záručního fondu                  |
| ENRF  | Evropského námořního a rybářského fondu                  |
| EP    | Evropského parlamentu                                    |
| ER    | Evropské rady  |
| ES    | Evropské komise  |
| EU    | Evropské unie  |
| EZ    | Ekologické zemědělství                                   |
| GA    | Glykoalkaloidy   |
| HRDP  | Horizontálního plánu rozvoje venkova                     |
| IPM   | Integrated Pest Management                               |
| JA    | kyselina jasmínová                                       |
| JZD   | jednotná zemědělská družstva                             |
| KZ    | Konvenční systém hospodaření                             |
| LPIS  | Veřejný registr půdy                                     |
| OP    | Osevní postup  |
| SA    | kyselina salicylová                                      |
| SZIF  | Státní zemědělský intervenční fond                       |
| TGA   | total glykoalkaloidy                                     |
| ÚKZUZ | Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský           |
| VÚB   | Výzkumného ústavu bramborářského v Havlíčkově Brodě      |
| ZPF   | Zemědělský půdní fond                                    |

## Příloha

Příloha 1: Insekticidy registrované v ČR proti mandelince bramborové (Registr přípravků na ochranu rostlin ÚKZÚZ, leden 2021).

| Účinná látka       | Obchodní jméno přípravku | Držitel povolení                      |
|--------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| acetamiprid        | Acetamiprid-Q 20 SP      | Q-CHEM NV                             |
| acetamiprid        | Acetguard                | Nisso Chemical Europe GmbH            |
| acetamiprid        | Avenger SP               | Prager Fischhandel s.r.o.             |
| acetamiprid        | Ceta 20 SP               | Synergy Generics Ltd.                 |
| acetamiprid        | Diaspid 20 SP            | AUVERONE s.r.o.                       |
| acetamiprid        | Gazelle                  | Nisso Chemical Europe GmbH            |
| acetamiprid        | Monster                  | AgriStar - agrochemicals s.r.o.       |
| acetamiprid        | Mospilan 20 SP           | *                                     |
| acetamiprid        | NeoNic                   | Crop Chem Handelsgesellschaft mbH     |
| acetamiprid        | SUBSTRAL CAREO Ultra     | Evergreen Garden Care UK Limited      |
| acetamiprid        | YOROI                    | Nisso Chemical Europe GmbH            |
| alpha-cypermethrin | Alfametrin ME            | Basf SE                               |
| alpha-cypermethrin | Athalic 50ME             | Auverone s.r.o.                       |
| alpha-cypermethrin | Vaztak Active            | Basf SE                               |
| beta-cyfluthrin    | Bulldock                 | Rolana s.r.o.                         |
| beta-cyfluthrin    | Bulldock 25 EC           | Nufarm GmbH and Oc KG                 |
| cyantraniliprol    | Benevia                  | FMC Agro Česká republika spol. s r.o. |
| deltamethrin       | Decis Mega               | Bayer AG                              |
| deltamethrin       | Decis Protech            | Bayer AG                              |
| deltamethrin       | Decis Protech            | SBM Développement S.A.S.              |
| deltamethrin       | Delmetros 100 SC         | INNIGO Sp. z o.o.                     |
| deltamethrin       | DEMETRINA 25 EC          | DIACHEM S.P.A.                        |
| deltamethrin       | Dinastia                 | Bayer AG                              |
| deltamethrin       | Fast M                   | PROST a.s.                            |
| deltamethrin       | Koron 100 SC             | INNIGO Sp. z o.o.                     |

|                    |                                 |   |
|--------------------|---------------------------------|---|
| deltamethrin       | Rhago 50 EW                     | AUVERONE s.r.o.   |
| deltamethrin       | Sanium Ultra                    | SBM Développement S.A.S.  |
| deltamethrin       | Scatto                          | Isagro S.p.A.   |
| flupyradifuron     | Sanium System                   | SBM Développement S.A.S.  |
| chlorantraniliprol | Coragen 20 SC                   | FMC Agro Česká republika spol. s r.o.   |
| lambda-cyhalothrin | Karate se Zeon tech. 5 CS       | Syngenta Limited, AGRO CS a.s., LOVELA Terezín s.r.o., AgroBio Opava, s.r.o.  |
| lambda-cyhalothrin | Karate Zeon 050 CS              | Česká agrární společnost s r.o., MVDr. Petr Löwenthal, Ing. Rudolf Gogolín, Ing. Ivo Kaspar, Josef Kovář, Ivo Volkmer, FARMA VENDOLSKÝ s.r.o. |
| lambda-cyhalothrin | Kendo 5 CS                      | Syngenta Limited  |
| lambda-cyhalothrin | ODRG-Lambdacyhalotrin           | Odbytové družstvo ROVINA Group, s.r.o.  |
| lambda-cyhalothrin | RC-Lambdacyhalotrin 50 CS       | Euro Chemicals s.r.o.   |
| lambda-cyhalothrin | Samuraj                         | LOVELA Terezín s.r.o.   |
| lambda-cyhalothrin | Streetfighter 5 CS              | AUVERONE s.r.o.   |
| tau-fluvalinate    | EVURE                           | ADAMA Agricultural Solution Limited (ADAMA Group)   |
| tau-fluvalinate    | Mavrik Smart                    | ADAMA Agricultural Solution Limited (ADAMA Group)   |
| thiamethoxam       | Actara 25 WG                    | Syngenta Crop Protection AG   |
| zeta-cypermethrin  | Agrosales - zetacypermethrin    | AGROSALES s.r.o.  |
| zeta-cypermethrin  | Agrosales – zetacypermethrin II | AGROSALES s.r.o.  |
| zeta-cypermethrin  | AV Cyper                        | AUVERONE s.r.o.   |
| zeta-cypermethrin  | BEC Zetacyp                     | BECESANE s.r.o.   |
| zeta-cypermethrin  | Fury 10 EW                      | Statek Miroslav, a.s., PZ-Lesinka s.r.o., Česká agrární společnost s r.o., AGRO-DANNHORN s.r.o., FMC Corporation                              |
| spinosad           | Spintor                         | Dow AgroSciences s.r.o., LOVELA Terezín s.r.o., AgroBio Opava, s.r.o., AGRO CS a.s.   |
| azadirachtin       | NeemAzal-T/S                    | Trifolio-M GmbH   |

Příloha 2: Sazení brambor (foto autor).



Příloha 3: Růst brambor (foto autor).



Příloha 4: Rostliny bramboru (foto autor).





Příloha 5: Pole u Vidova, sesbírané *L. decemlineata* (foto autor).



Příloha 6: Hlízy (foto autor).



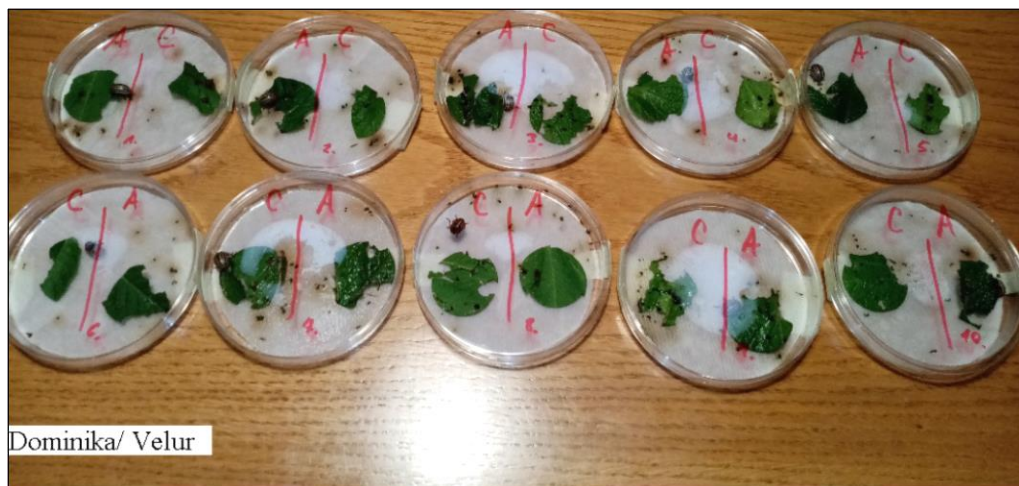
Příloha 7: Založení pokusu (foto autor).



Příloha 8: Kombinace odrůd v Petriho miskách (foto autor).



Příloha 9: Stanovení potravní preference (foto autor).





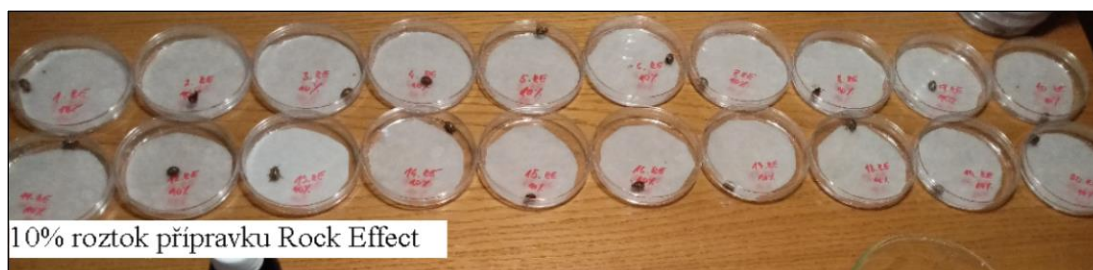
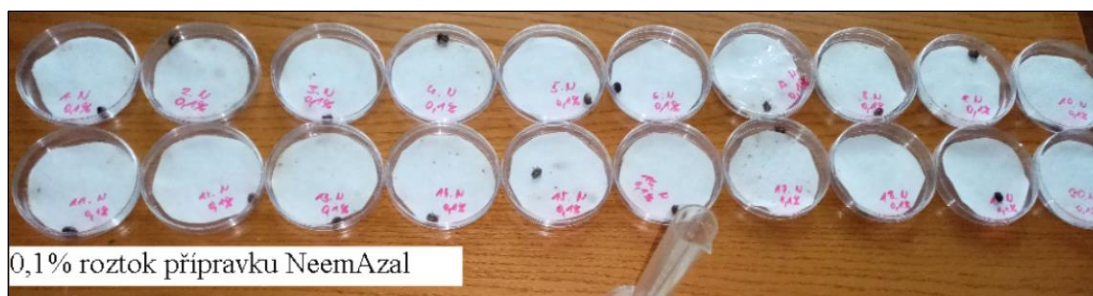
Příloha 10: Stanovení potravní preference - tabulka výsledků.

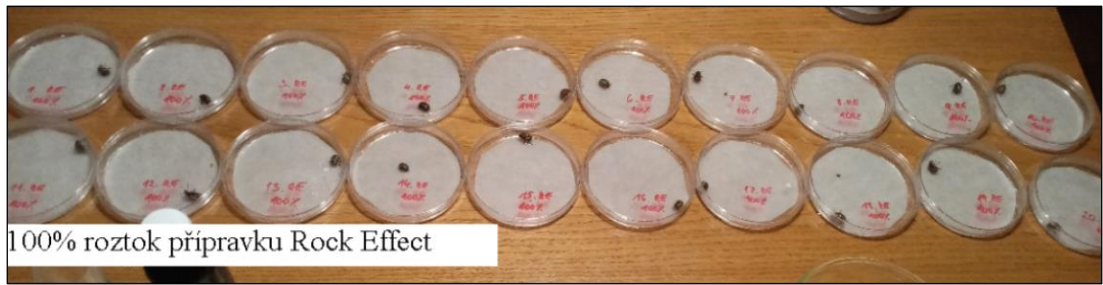
| Kombinace odrůd   |          |        |                   |          |       |                   |        |       |
|-------------------|----------|--------|-------------------|----------|-------|-------------------|--------|-------|
|                   | Dominika | Jindra |                   | Dominika | Velur |                   | Jindra | Velur |
| <b>průměr (%)</b> | 6        | 22,4   | <b>průměr (%)</b> | 8,9      | 42,7  | <b>průměr (%)</b> | 15,4   | 49,5  |
| <b>SME</b>        | 2,13     | 3,09   | <b>SME</b>        | 2,58     | 5,01  | <b>SME</b>        | 2,85   | 4,55  |

Příloha 11: Obsah SGA- průměr za pěstební plochy Čáslav a Česká Lípa.

| Odrůda          | SGA      | Průměr (%) | SME   |
|-----------------|----------|------------|-------|
| <b>Dominika</b> | Chaconin | 69,83      | 6,09  |
|                 | Solanin  | 26         | 2,88  |
| <b>Jindra</b>   | Chaconin | 66,5       | 7,81  |
|                 | Solanin  | 36,83      | 3,87  |
| <b>Velur</b>    | Chaconin | 69,5       | 18,45 |
|                 | Solanin  | 42,5       | 5,48  |

Příloha 12: Stanovení letálních dávek přípravků (Rock Effect, Spintor, NeemAzal), (foto autor).

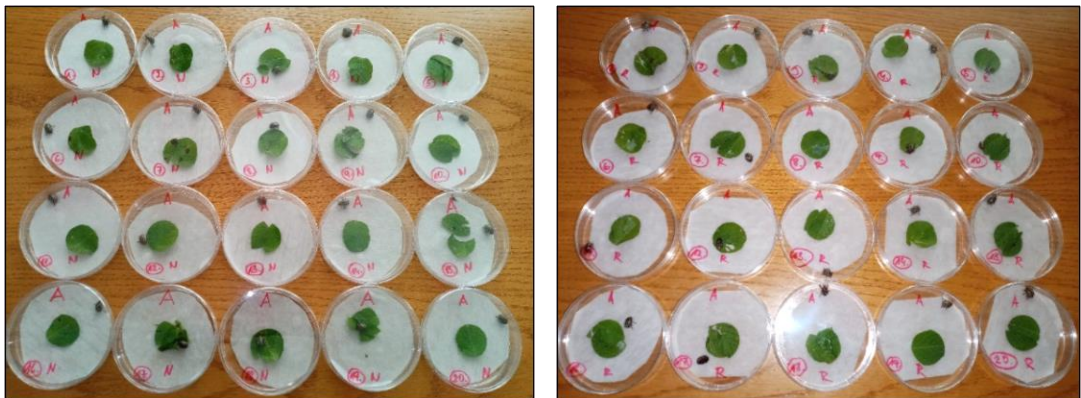




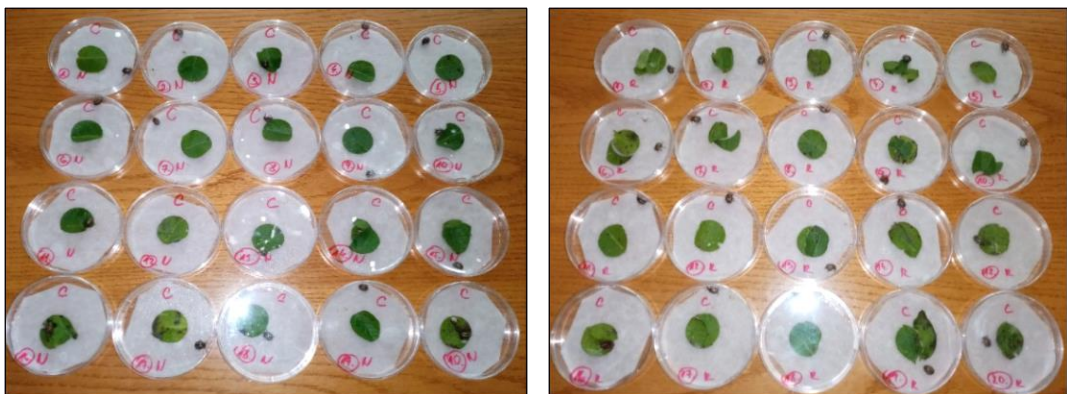
Příloha 13: Mortalita (%) imág v testu- Stanovení letálních dávek insekticidů.

| Dny   | Přípravek   | Koncentrace |     |     |      |
|-------|-------------|-------------|-----|-----|------|
|       |             | 100%        | 10% | 1%  | 0,1% |
| 1 - 7 | Spintor     | 95%         | 45% | 35% | 15%  |
|       | Neem Azal   | 100%        | 60% | 45% | 25%  |
|       | Rock Effect | 55%         | 35% | 20% | 15%  |

Příloha 14: Stanovení synergického účinku (NeemAzal, Rock Effect) na odrůdě Dominika a hodnocení mortality *L. decemlineata* (foto autor).



Příloha 15: Stanovení synergického účinku (NeemAzal, Rock Effect) na odrůdě Velur a hodnocení mortality *L. decemlineata* (foto autor).



Příloha 16: Mortalita (%) imág krmených odrůdami Dominika a Velur.

| Odrůda   | Dominika  |             | Velur     |             |
|----------|-----------|-------------|-----------|-------------|
|          | NeemAzal  | Rock effect | NeemAzal  | Rock effect |
| Dny      | %         | %           | %         | %           |
| <b>1</b> | 10        | 5           | 5         | 5           |
| <b>2</b> | 35        | 15          | 35        | 10          |
| <b>3</b> | 40        | 20          | 40        | 25          |
| <b>4</b> | 40        | 20          | 40        | 25          |
| <b>5</b> | 40        | 20          | 40        | 25          |
| <b>6</b> | 45        | 20          | 40        | 25          |
| <b>7</b> | <b>45</b> | <b>20</b>   | <b>50</b> | <b>25</b>   |