

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra ochrany rostlin



**Hodnocení účinků přírodních a nesyntetických prostředků
ochrany na vybrané škůdce a jejich přirozené nepřátele**

doktorská disertační práce

Autor: **Ing. Michal Skalský**

Školitel: **prof. RNDr. Ing. František Kocourek, CSc.**

Praha 2020

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval prof. RNDr. Ing. Františku Kocourkovi, CSc. za jeho cenné rady, doporučení a odborné konzultace potřebné pro sepsání předkládané disertační práce. Rovněž bych chtěl poděkovat prof. Ing. Pavlu Ryšánkovi, CSc. za vstřícnost a pomoc při získání potřebných informací a podkladů.

Obsah

1. Úvod.....	4
2. Cíl práce.....	6
3. Literární přehled	6
3.1. Syntetické přípravky použité v experimentech	8
3.2. Přírodní a nechemické prostředky ochrany.....	11
3.3. Škůdci ovocných plodin, u kterých byl hodnocen vliv prostředků ochrany	17
3.4. Predátoři škůdců ovocných plodin, u kterých byl hodnocen vliv prostředků ochrany	18
4. Výsledky	21
4.1. Účinnost přípravků na přírodní bázi v ochraně proti puklici švestkové <i>Parthenolecanium corni</i> (Bouché, 1844).....	21
4.2. Účinnost agrochemikálií proti listohlodovi podlouhlému <i>Phyllobius oblongus</i>	29
4.3. Synergické vlivy herbicidu na bázi glyfosátů a tank mixových smáčedel na slíd'áky..	38
4.4. Účinky tzv. „ekologicky šetrných“ agrochemikálií na slunéčko východní <i>Harmonia axyridis</i> (Coleoptera: Coccinellidae).....	45
5. Diskuze.....	52
5.1. Účinnost přípravků na přírodní bázi v ochraně proti puklici švestkové <i>Parthenolecanium corni</i> (Bouché, 1844)	52
5.2. Účinnost agrochemikálií proti listohlodovi podlouhlému <i>Phyllobius oblongus</i>	54
5.3. Synergické vlivy herbicidu na bázi glyfosátů a tank mixových smáčedel na slíd'áky.	56
5.4. Účinky tzv. „ekologicky šetrných“ agrochemikálií na slunéčko východní <i>Harmonia axyridis</i> (Coleoptera: Coccinellidae).....	58
6. Závěry	59
7. Literatura	61

1. Úvod

Problematika aplikace insekticidů a jejich vlivu na životní prostředí je velmi široké téma. Jsou známy různé letální a subletální účinky insekticidů aplikovaných v ovocných sadech nejen na cílové organismy, kterými jsou různé druhy škůdců, ale také organismy necílové, a to především na opylovače (Park *et al.* 2015; Sandrock *et al.* 2014; Whitehorn *et al.* 2012; Muratet & Fontaine 2015) a různé druhy predátorů (Niedobová *et al.* 2016; Xiao *et al.* 2016; Şimşek *et al.* 2016). Neustálá, několikaletá aplikace konvenčních chemických insekticidů omezeného spektra účinných látek, vedla v některých případech k ukončení jejich používání, napří. neonikotinoidy či organofosfáty. Nejen z těchto důvodů je vytvářen tlak na nalezení nových účinných látek, které by mohly nahradit účinné látky dosud běžně používané. Současně je pozornost zaměřena na hledání účinných látek, především na přírodní bázi, za účelem snížení rizika vzniku rezistencí a snížení negativního dopadu pesticidů na životní prostředí a zdraví lidí. Proto se hledá možný potenciál využití účinnosti přípravků získaných například z výluhů z rostlin (napří. *Quassia amara* Linnaeus, 1762, *Pongamia pinnata* Linnaeus, 1758, výluhy z mořských řas, atp.), preparátů na bázi entomopatogenních hub či půdních bakterií (napří. *Bacillus thuringiensis*), různých druhů olejů (pomerančový olej, citrusový olej, petrolejový olej, řepkový olej aj.) atd.

Některé přírodní nebo nesyntetické přípravky a prostředky na ochranu rostlin mohou představovat výrazné riziko pro užitečné organismy (Biondi *et al.* 2011; Kang *et al.* 2007a; Kang *et al.* 2007b). Proto je žádoucí testovat vliv těchto látek nejen na škodlivé, ale také na užitečné organismy a v systémech pěstování ovoce aplikovat pouze ty, které představují co nejmenší riziko. Samotné testování představuje rovněž velkou výzvu pro inovaci postupů ochrany ovoce proti škodlivým organismům v systémech integrované a ekologické produkce, neboť tradiční hodnocení toxicity chemického ošetření využívaného v zemědělství na necílové organismy je směřované na studium letální dávky nebo koncentrace, což je nedostatečné zjištění skutečného efektu ošetření přípravkem. V posledních dvou desetiletích jsou čím dál častěji zjišťovány tzv. subletální vlivy po styku bezobratlých užitečných organismů s prostředky na ochranu rostlin nebo jejich rezidui. Užitečný organismus není přímo usmrcen, ale je narušena například schopnost lovu kořisti nebo je ovlivněna schopnost samečků nalézt partnerku, dále bývá ovlivňována schopnost učení a neurofyziologie testovaných organismů (Behrend & Rypstra 2018; Desneux *et al.* 2007; Korenko *et al.* 2016; Niedobová *et al.* 2016). Tyto změny chování mohou zůstat u zasažených jedinců po zbytek jejich života (Sih 2011). Subletální vlivy mohou mít zároveň na populace užitečných bezobratlých totožný dopad jako vlivy letální, neboť populace predátorů po styku s některými prostředky na ochranu rostlin přestávají plnit v ekosystému svou funkci. Mezi velmi významné

užitečné organismy v sadech patří pavouci (Araneae), slunéčka (Coccinellidae), zlatoočkovití (Chrysopidae) (Pekár & Kocourek 2004; Nedvěd 2014 a 2015; New 1975). Tito živočichové mají důležité postavení v trofickém řetězci. Jsou přirozenými antagonisty škůdců v sadech a pro účely testování látek na ochranu rostlin a jejich reziduí se dají použít jako modelová skupina.

Ochrana ovocných plodin proti škůdcům v režimu integrované produkce ovoce (dále IP) s možností využití syntetických přípravků na ochranu rostlin (nedostatečná účinnost, selekce rezistence apod.), je mnohdy velmi obtížná a komplikovaná. Situace v ekologickém pěstování ovoce (dále EP) je vzhledem k velmi omezenému spektru přípravků ještě složitější. S ohledem na to, že roste poptávka konzumentů po ovoci pěstovaném v EP, lze očekávat, že bude narůstat i tlak na množství vyprodukovaného ovoce v tomto režimu pěstování. Proto je zapotřebí nalézt již zmíněné nové přípravky a prostředky na ochranu rostlin, případně účinné látky a jiné metody ochrany proti škůdcům, které by bylo možné racionálně využít nejen v IP, ale také v systémech ekologického pěstování ovoce.

S ohledem na výše uvedené skutečnosti a fakta byla disertační práce zaměřena na získání nových poznatků o potenciálně efektivních, nových účinných látkách proti živočišným škůdcům ovoce, a to především za účelem rozšíření současného, již velmi omezeného, spektra přípravků na ochranu rostlin. Při komplexním pojetí integrované ochrany je potřeba vnímat také vliv pesticidů na užitečné organismy. Proto se disertační práce věnuje také rozšíření znalostí o subletálních a letálních vlivech na vybrané predátory.

Tématicky souvisí tato disertační práce také s aktuální koncepcí strategie Evropské komise Farm to Fork, jejíž součástí je například opatření, aby se do roku 2030 omezilo celkové používání a riziko chemických pesticidů o 50 % a používání nebezpečnějších pesticidů o 50 %. Provede revizi směrnice o udržitelném používání pesticidů, posílí ustanovení o integrované ochraně rostlin a podpoří rozsáhlejší využívání bezpečných alternativních způsobů ochrany sklizně před škodlivými organismy a chorobami.

2. Cíl práce

Základním cílem disertační práce je zhodnocení účinnosti přírodních a nesyntetických prostředků ochrany vůči vybraným škůdcům ovoce a jejich přirozeným nepřátelům, které jsou využitelné v systému integrované i ekologické produkci ovoce.

Hypotéza 1: Různé prostředky ochrany s účinnými látkami s různým mechanismem účinku vykazují rozdílné účinky na vybrané druhy živočišných škůdců a jejich přirozených nepřátel.

Hypotéza 2: Přírodní a nesyntetické prostředky ochrany mají stejný potenciál ochrany ovocných plodin proti škůdcům jako konvenčně používané chemické preparáty.

3. Literární přehled

Intenzifikace zemědělství se ve velké míře projevuje v oblasti pěstování ovoce, kdy má tento způsob hospodaření velmi významný vliv na negativní působení chorob a škůdců. Přestože dochází neustále k inovacím a vyvíjení nových metod ochrany, finanční ztráty pěstitelů ovoce, zapříčiněné škodlivými organismy, jsou stále závažné. Zároveň se samotné náklady na aplikaci ochranných opatření zvyšují, což v konečném důsledku snižuje konkurenceschopnost tuzemských pěstitelů ovoce v již tak problematickém období, jaké nyní ovocnářství zažívá (Kocourek *et al.* 2015).

Většina pěstitelů ovoce v ČR pečuje o své výsadby ve třech základních režimech hospodaření. Hospodaří buďto v konvenčním režimu ochrany, v systému integrované produkce ovoce nebo v systému ekologického pěstování ovoce. Každý z těchto způsobů pěstování ovoce více či méně zavazuje ovocnáře k plnění pevně stanovených závazků v návaznosti na získání státních dotací. Integrovaná produkce svými nařízeními a požadavky usiluje o ekonomickou produkci ovoce vysoké kvality při uplatnění dostupných ekologicky šetrných metod pěstování a minimalizace nežádoucích vedlejších účinků používaných agrochemikálií při současném zajištění intenzity produkce, udržení výsadeb v dobrém zdravotním stavu a plném využití výnosového potenciálu rostlin. Pěstitelé zařazení do IP musejí zároveň dodržovat zásady integrované ochrany rostlin (IOR). Definice integrované ochrany rostlin je, dle Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2009/128/ES z roku 2009, následující: „Integrovaná ochrana rostlin je pečlivé zvažování veškerých dostupných metod ochrany rostlin a následná integrace vhodných opatření, která potlačují rozvoj populací škodlivých organismů a udržují používání přípravků na ochranu rostlin a jiných forem zásahu na úrovních, které lze z

hospodářského a ekologického hlediska odůvodnit a které snižují či minimalizují rizika pro lidské zdraví nebo životní prostředí“. Z hlediska škodlivých organismů lze říci, že IOR je systém, který slučuje a využívá všechny známé metody regulace škodlivého výskytu houbových chorob a živočišných škůdců. Kromě přímých metod chemické a mechanické ochrany obsahuje i metody nepřímé, jako je volba stanoviště a odrůdy, obdělávání půdy, řez, podpora přirozených predátorů atd. Významnou součástí přímé ochrany rostlin je využívání biologických metod a dostupných biopreparátů a přípravků na bázi feromonů, registrovaných v Registru přípravků na ochranu rostlin spravovaného ÚKZÚZ. Hlavní ideou IOR je provádění ochranných opatření pouze v případě, že došlo k překročení prahu škodlivosti daného škodlivého organismu. Z tohoto důvodu by měli ovocnáři věnovat maximální možné úsilí samotnému monitoringu škodlivých organismů. Aby případné ochranné zásahy byly efektivní a přesně cílené, je nezbytné sledovat také vývojová stadia jednotlivých škůdců pro stanovení správného termínu ošetření. Tím dojde ke zvýšení efektivity ochrany a minimalizuje se počet nezbytných ochranných zásahů a s tím související množství reziduí pesticidních látek v životním prostředí (Kloutvorová *et al.* 2015; Kloutvorová *et al.* 2011; Lánský *et al.* 2005).

Pokud začleňujeme nové přípravky a pomocné prostředky do systémů ochrany ovoce, je potřeba, aby se jednalo o látky efektivní, tedy účinné k potlačení daného škodlivého organismu. Vhodným zdrojem pro nalezení takovýchto přípravků jsou zkušenosti ze zahraničí (Francie, Itálie, Německo, Rakousko, Velká Británie, USA atd.), kde je mnohem více rozšířena ekologická produkce a systémy ochrany zahrnují různé účinné látky přírodního původu. Současně je však třeba ověřit možnosti využití těchto látek pro podmínky ČR, neboť účinnost jejich aplikace může být ovlivněna klimatickými podmínkami regionů v ČR, které ovlivňují vývoj chorob a škůdců specificky pro dané oblasti. Rovněž také vliv odlišných pěstovaných odrůd, jiné půdní vlastnosti, specifické spektrum zástupců jednotlivých skupin organismů apod. mohou rozhodovat o úspěšnosti zvoleného ochranného opatření. Zároveň je ale potřeba znát vedlejší vliv přípravků na necílové organismy, a to především na predátory. U většiny prostředků registrovaných jako hnojiva či pomocné prostředky na ochranu rostlin není tento vedlejší, ať už letální či subletální, vliv na predátory znám. Pokud tedy chceme úspěšně zvládnout ochranu proti živočišným škůdcům ovoce, je potřeba správně začlenit do praxe komplex více faktorů, které spolu ale velmi úzce souvisejí. Přirození nepřátelé škůdců přispívají k trvalé udržitelnosti agroekosystémů (Rigby & Cáceres 2001) a to tím, že představují velmi významné možnosti, jak přispívat k potlačování škodlivých organismů nechemickou cestou (Barzman 2015). Hodnota bezobratlých užitečných organismů za poskytované ekosystémové služby byla ve Spojených státech vyčíslena na několik miliard dolarů ročně (Isaacs *et al.* 2009; Losey & Vaughan 2006; Wyckhuys *et al.* 2013). V současnosti se v zemích Evropské Unie registrují pomocné prostředky na

ochranu rostlin, které nepodléhají běžnému systému hodnocení a schvalování jako je tomu u přípravků na ochranu rostlin. Tyto prostředky zlepšují vitalitu rostlin a mohou mít také vedlejší insekticidní účinky. Některé jsou určeny také do systému ekologické produkce.

Proces začlenění látek na přírodní bázi do systému ochrany ovoce podporuje svým zaměřením plnění cílů integrované produkce, resp. integrované ochrany ovoce. Nové biologické přípravky a pomocné prostředky na ochranu rostlin se ve většině případů zakomponují také do systému ekologické produkce ovoce. Vzniknout tak nové možnosti ochrany a celkově nové systémy ochrany ovocných plodin za ekologicky příznivých podmínek pro životní prostředí. Avšak nestačí znát pouze data o účinnosti jednotlivých přípravků proti škůdcům. Je nutné se zaměřit také na širší pojetí této problematiky a hodnotit i možné fyto toxické účinky na ošetřený porost, negativní vlivy na necílové organismy atp.

3.1. Syntetické přípravky použité v experimentech

Reldan 22 (chlorpyrifos-methyl)

Účinná látka ze skupiny organofosfátů chlorpyrifos-methyl se vyznačuje širokým spektrem účinnosti na řadu druhů škůdců v zemědělství. Na hmyz působí kontaktně, požerově a fumigačně. Má nízkou rozpustnost ve vodě, látka je velmi těkavá a není mobilní. Na základě těchto vlastností existuje malé riziko vyluhování do podzemních vod. Pro savce není vysoce toxický, ale je klasifikován jako inhibitor acetylcholinesterázy a je považován za neurotoxický. Dále je také dráždivý a senzibilizující pokožku. Chloryrifos-methyl je velmi toxický pro ryby a vodní organismy s dlouhodobým reziduálním účinkem a středně toxický pro ptáky, vodní rostliny, řasy a žížaly (PPDB: Pesticide Properties DataBase 2019).

Chloryrifos-methyl, resp. komerční přípravky Reldan 22 a Pyrinex M22 s touto účinnou látkou jsou klasifikovány jako zvláště nebezpečné pro včely a jejich aplikace je možná až po skončení letové aktivity včel. Jsou, resp. byly povoleny, k aplikaci max. 1x za vegetační období. Na začátku roku 2020 bylo Evropskou komisí rozhodnuto o zákazu používání účinných látek chloryrifos a chloryrifos-methyl v členských státech EU.

Do experimentů byl Reldan 22 zahrnut jako standardní přípravek s širokým spektrem účinnosti proti mnoha druhům škůdců ovocných plodin a díky své neselektivnosti byl tento přípravek zařazen také do pokusů zaměřených na vliv vybraných přípravků na necílové organismy, v našem případě na larvy a dospělé sluněčka východního (*Harmonia axyridis*).

Mospilan 20 SP (acetamiprid)

Působí jako systémový, kontaktní a požerový jed. Je to heterocyklický aromatický neonicotinoid, vysoce rozpustný ve vodě, těkavý. Co se toxicity týče, jedná se o účinnou látku mírně toxickou pro savce, vysoce toxickou pro ptáky a žížaly a středně toxickou pro většinu vodních organismů. Závažnější negativní účinky na včely nejsou zaznamenány. Jedno z možných vysvětlení mohou poskytnout nedávno publikované výsledky výzkumu, během něhož byl identifikován enzym podílející se u včel a čmeláků na metabolizaci neonicotinoidů acetamiprid a thiacloprid. Autoři studie identifikovali enzym z komplexu enzymů cytochromu P450, který je odpovědný za metabolizaci těchto účinných látek na méně toxické produkty. To je dáno změnou ve struktuře těchto dvou látek, kterou se odlišují od ostatních neonicotinoidů (imidakloprid, klothianidin a thiamethoxam), jež jsou považovány za vysoce rizikové pro včely. Acetamiprid se dle výsledku studií v půdě nekumuluje, poměrně rychle se aerobně rozkládá, na jeho biodegradaci se podílejí také půdní mikroorganismy. Jako insekticidní účinná látka má uplatnění v ovocnářství, zelinářství a zahradnictví, Acetamiprid má ovicidní, larvicidní a adulticidní účinky. Jeho účinnosti je využíváno v ovocnářství především v ochraně proti mšicím, pilatkám, obalečům a dalším druhům škůdců. (PPDB: Pesticide Properties DataBase 2019; Kundoo *et al.* 2018)

Otázkou je, jak dlouho bude ještě možné přípravky s účinnou látkou acetamiprid používat. Nově totiž došlo na začátku roku 2020, stejně jako v případě účinných látek chlorpyrifos a chlorpyrifos-methyl, k ukončení používání nejběžnějšího z neonicotinoidů, účinné látky thiacloprid. Bylo vydáno rozhodnutí Evropské komise o ukončení používání pro členské státy EU. Zásoby lze spotřebovat do 3. února 2021. Acetamiprid tedy zůstává zatím poslední účinnou látkou ze skupiny neonicotinoidů, která je ještě povolena k používání bez omezení.

Do experimentů byl zařazen především jako jeden z nejběžněji používaných insekticidů v ovocnářství v ČR s širokým spektrem použití, a to v mnoha ovocných plodinách.

Roundup klasik Pro (glyfosát)

Přípravky s účinnou látkou glyfosát jsou širokospektrální systémové herbicidy. Celosvětově je glyfosát nejpoužívanější herbicidní účinnou látkou. Využití nalézá při aplikaci za účelem likvidace plevelů v polních plodinách, ale v také v ovocných sadech, lesnické produkci, v péči o městskou zeleň a u laické veřejnosti (zahrádkářů). Princip účinku glyfosátu je inhibice enzymu zapojeného do syntézy aminokyselin. Jeho účinnost je tedy pouze při aplikaci na rostoucí rostliny a není ho možné použít jako preventivní ošetření. Při aplikaci je glyfosát pevně vázán v půdě, nepředpokládá se tedy průsak do spodních vod, degraduje v závislosti na podmínkách v průměru 45 dnů. Oproti půdě, ve vodním prostředí degraduje pomaleji. I proto jsou přípravky obsahující účinnou látku glyfosát považovány za

nebezpečné pro vodní prostředí. Co se týče rizika pro člověka, ten může být glyfosátu vystaven kontaktem, vdechnutím či pozřením. Samotný čistý glyfosát je pro člověka pouze mírně toxický.

Vlivy glyfosátu, jakožto účinné látky, byly v kontextu s životním prostředím v minulosti hodnoceny jako minimálně škodlivé (Baylis 2000). Nutno podotknout, že samotná účinná látka se do životního prostředí běžně neaplikuje. Aplikuje se prostředek obsahující účinnou látku a různé přídatné látky, mimo jiné také smáčedla. Takováto směs má pozměněné vlastnosti a není ekotoxikologicky hodnocena, a to i přesto, v jak obrovském rozsahu se tyto směsi dostávají do životního prostředí. Pro konkrétní představu, účinná látka glyfosát je obsažena ve více než 750 různých produktech (Guyton *et al.* 2015) a za poslední dekádu jí bylo do životního prostředí aplikováno 6,1 miliard kilogramů (Benbrook 2016). Navíc samotní výrobci celé řady přípravků s obsahem glyfosátů (např. Monsanto 2019) doporučují přidávat k těmto produktům běžně dostupná tzv. tank-mixová smáčedla, pro zvýšení efektivity účinné látky. Přestože smáčedla mají schopnost měnit povrchové napětí a umožňují lepší pronikání účinné látky do cílového organismu, nepodléhají žádnému hodnocení ve smyslu vlivu na užitečné organismy, a to samé platí pro tank-mixové směsi přípravků na bázi glyfosátů a tank-mixových smáčedel. Jako modelová skupina pro zkoumání vlivů uvedených agrochemikálií a jejich směsí, byli zvoleni slíďáci rodu *Pardosa*. Tito pavouci se běžně vyskytují ve velkých populačních hustotách v celé řadě agroekosystémů, lesních ekosystémů, parcích i v zahradách, mají denní aktivitu a pohybují se po zemi, proto je velká pravděpodobnost, že se dostanou do přímého kontaktu s postřikem. Pavouci všeobecně jsou významnou součástí potravních řetězců a jsou schopni v globálním měřítku zkonzumovat 400 – 800 milionů tun kořisti ročně (Nyffeler & Birkhofer 2017). Nejen v agroekosystémech, ale v podstatě všude, kde se herbicidy na bázi glyfosátu používají, můžeme najít pavouky, kteří se významnou měrou podílejí na regulaci škůdců, což berou v úvahu hlavně takové způsoby hospodaření, jejichž cílem je zachování trvalé udržitelnosti (Barzman 2015). Byla publikována celá řada studií, které poukazují na abnormální reakce pavouků při styku s herbicidy a na jejich změny v predačním chování (např. Behrend & Rypstra 2018; Korenko *et al.* 2016). Změny v predačním chování nastávají i po kontaktu s tank-mixovými smáčedly (Niedobová *et al.* 2016). Nicméně o vlivu tank mixů herbicidů se smáčedly na pavouky se neví téměř nic.

3.2. Přírodní a nechemické prostředky ochrany

a) Entomopatogenní viry, bakterie

V ČR jsou v ochraně ovocných plodin používány preparáty obsahující viry rodu Betabaculovirus. Jedná se o selektivní prostředek ochrany, díky virulenci pro jeden nebo několik málo druhů škůdců z řad motýlů. Entomopatogenní viry se jako přírodě blízká metoda ochrany používají především v systémech ochrany proti obaleči jablečnému (virus granulózy obaleče jablečného – *Cydia pomonella granulovirus*, neboli CpGV) a obaleči zimolezovému (virus granulózy obaleče zimolezového – *Adoxophyes orana granulovirus*, neboli AdorGV). Housenky obaleče jablečného napadené virem CpGV se po několika dnech přestávají pohybovat, nepřijímají potravu, nespřádají vlákna a nakonec hynou. Při aplikaci ve správném termínu a dostatečnou dávkou hynou po vylíhnutí z vajíček dříve, než vytvoří závrtok do dužniny nebo k jádřinci. Aplikace CpGV se používá zejména při ošetření proti první generaci obaleče jablečného, a to v 3-5 opakovaných dávkách po 5 až 10 dnech. Virus AdorGV nezabrání způsobení škod na plodech, protože způsobuje vleklou infekci, díky které umírá jedinec až v posledním vývojovém stádiu. Upřednostňuje se tak jarní ošetření proti přezimujícím housenkám 2. a 3. instaru, které škodí požerem především na listech či květech (Sauer *et al.* 2017a; Kocourek *et al.* 2015; Kloutvorová *et al.* 2011).

V oblasti využití bakterií v ochraně ovocných plodin proti škůdcům se využívá požerového účinku entomopatogenní bakterie *Bacillus thuringiensis*, přesněji *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*. Bakterie tohoto kmene jsou účinné proti housenkám píďalek, obaleče jablečného, obaleče švestkového, obaleče východního, obaleče jabloňového a dalším druhům slupkových a pupenových obalečů. Ve světě se také používá *Bacillus thuringiensis* ssp. *tenebrionis* v ochraně proti květopasovi jabloňovému. V ČR není ale preparát s touto bakterií k dispozici. Po pozření bakterie *Bacillus thuringiensis* dochází u škůdce k paralýze střeva již během několika hodin. Jedinec přestává přijímat potravu, resp. způsobovat škody. Účinnost této bakterie má ale také svá specifika. Spory jsou velmi rychle inaktivovány slunečním zářením a spodní hranice, při které mohou být spory přijaty žírem hostitele je 15 °C (Weeks & Parris 2020; Branscome *et al.* 2019; Kocourek *et al.* 2015; Kloutvorová *et al.* 2011).

b) Hlístice a členovci

Pěstitelé ovoce mají možnost v rámci nechemických metod ochrany aplikovat či introdukovat různé druhy bioagens, mezi kterými se uplatňují především hlístice a draví roztoči. Z hlístic se používají zástupci z čeledí Steinernematidae a Heterorhabditidae. Na cílové škůdce účinkují díky symbióze s bakteriemi, které infikují hostitele. Při ošetření jsou aplikovány závlivkou nebo postřikem larvy třetího vývojového stupně. Co se týče konkrétních druhů, *Steinernema feltiae* se používá v

ochraně proti smutnicím, *Steinernema carpocapsae* proti přezimujícím housenkám obaleče jablečného a *Heterorhabditis bacteriophora* proti půdním larvám brouků a housenek (např. lalokonosci) (Kocourek *et al.* 2015; Kloutvorová *et al.* 2011; Ciche 2007).

Z dravých roztočů se v ovocnářství nejvíce používá introdukce roztoče *Typhlodromus pyri* za účelem redukce populací roztočů. Dále se pak například v jahodníkových porostech využívá dravých roztočů *Amblyseius californicus*, *Amblyseius cucumeris* a *Phytoseiulus presimilis* (Lorenzon *et al.* 2018; Kocourek *et al.* 2015; Kloutvorová *et al.* 2011).

c) Botanické insekticidy, oleje a anorganické látky

S tím, jak v posledních letech dochází k významné redukci portfolia konvenčních syntetických přípravků na ochranu rostlin, nastává trend hledání nových, k přírodě šetrnějších alternativ. Mezi tyto alternativy patří zejména právě přípravky a prostředky ochrany na bázi botanických extraktů, olejů a anorganických látek. Ve většině případech se jedná o látky, které působí po kontaktu se škůdcem, který následně hyne. Z olejů se v současné době nejvíce v ovocnářství používá řepkový olej Ekol, a to buď samostatně v rámci ošetření proti přezimujícím škůdcům, a nebo samostatně jako smáčedlo. Dále se používá také například přípravek na bázi extraktu ze semen stromu *Azadirachta indica*, komerční název NeemAzal T/S (Kocourek *et al.* 2015; Kloutvorová *et al.* 2011; Isman *et al.* 1991).

Na trhu jsou dostupné některé další olejnaté přípravky a prostředky, které jsou v současné době použitelné zejména pro zahrádkáře a drobné pěstitele, protože se prodávají ve formě malobalení. Jedná se například o přípravek Rock Effect, produkt obsahující olej z *Pongamia pinnata*. Je možné si také zakoupit dřevní štěpku z keře hořkoně obecné (*Quassia amara*) a vyrobit si tak potřebný extrakt. Nicméně účinná látka quassin, která se díky extrakci ze dřevní hmoty získá, je uvedena v Anexu I (European Commission 2020). Čeští ovocnáři tak mají zakázáno tuto účinnou látku aplikovat. V dohledné době se pravděpodobně uskuteční registrace přípravku na bázi přírodního pyretrinu, který se získává jako extrakt z kopretiny starčkolistě (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), pro použití přímo do ovocných plodin. Popis této látky je uveden níže.

Mezi anorganické látky používané v ovocnářství patří síra, která se úspěšně využívá v ochraně proti vlnovníkům a hálčivcům, a to i v průběhu vegetace. Dále se používá také kaolín, který je aplikován v předjaří za účelem synchronizace kladení mery hrušňové. Kaolín se v zahraničí využívá ve větší míře, a to především v rámci systému ochrany proti octomilce japonské (*Drosophila suzukii*).

Nosným přípravkem, který je v ovocnářství používán k ochraně proti různým druhům škůdců, je přípravek SpinTor s účinnou látkou spinosad, což je metabolit půdního mikroorganismu, aktinomycety *Saccharopolyspora spinosa* (Kocourek *et al.* 2015; Kloutvorová *et al.* 2011).

d) Feromony

Synteticky vyrobených feromonů se využívá v ovocnářství nejen pro potřeby monitoringu různých druhů škůdců (obaleči, štítenky, nesytka, a další), ale také jako nechemická metoda ochrany. Feromonové odparníky rozmístěné po celé ploše sadu vylučují samičí feromon. V důsledku přesycení dané výsadby samičím feromonem nejsou samečci schopni identifikovat samičku a spářit se s ní. Samičky zůstávají neoplozeny a dochází k redukci populace. Tato metoda je vhodná do systémů integrované ochrany, velké uplatnění nachází také v ekologické produkci ovoce a v rámci pěstování ovoce určeného pro dětskou výživu. Metoda matení samců nezanechává na ovoci žádná rezidua, je bezpečná pro životní prostředí a zdraví lidí, je selektivní k danému druhu škůdce, neovlivňuje negativně populace užitečných organismů a nedochází k selekci rezistentních jedinců k použitým feromonům. Nutno podotknout, že aplikací feromonových odparníků nedojde k tak rychlému snížení škodlivosti daného škůdce. Ke snižování populace škůdce a jeho škodlivosti dochází postupně. Je ideální doplnit tuto metodu o ošetření porostu přípravky na bázi entomopatogenních virů nebo *Bacillus thuringiensis*. Dalším rizikem při zavedení této metody je to, že v důsledku omezení aplikace syntetických pesticidů, které jsou v některých případech neselektivní, dochází k rozvoji sekundárních škodlivých organismů, živočišných škůdců a virů (mšice, červci, proliferace jabloně, aj.).

Od roku 2006 se v ČR používají feromonové odparníky v rámci tzv. metody dezorientace samců proti obaleči jablečnému (Isomate C Plus) a obaleči zimolezovému (Isomate CLR). V dalších letech byla tato metoda rozšířena o další druhy škůdců, a to obaleče východního, obaleče švestkového a obalečů z rodu *Grapholita* (Isonet A) a také nesytka jabloňovou (Isomate P) a nesytka rybízovou (Isomate Z). Nově nabízí firma Bayer feromonové odparníky s obchodním názvem RAK 1+2 M, které budou pravděpodobně v dohledné době použitelné také v ochraně jaderovin proti obalečům (Kocourek *et al.* 2015; Kloutvorová *et al.* 2011; Kutinkova *et al.* 2009).

Dále je níže uveden přehled konkrétních přípravků a prostředků ochrany na přírodní bázi, které byly zahrnuty do experimentů. Nutno podotknout, že u některých pomocných prostředků nejsou k dispozici podrobnější informace o složení, mechanismu účinku atp. Jedním z důvodů je fakt, že se mnohdy jedná o produkty (hnojiva, atd.), u kterých není při procesu registrace vyžadována podrobná dokumentace související s případnými vlivy na necílové organismy jako je tomu u klasických přípravků na ochranu rostlin, což samozřejmě plyne ze samotného charakteru pomocných prostředků na ochranu rostlin. Také proto byly podrobeny testování právě tyto látky.

Agrovital

Multifunkční pomocná látka (pinolene 96 %), používaná především jako smáčedlo, podporuje a prodlužuje kontaktní i systémovou účinnost přípravků na ochranu rostlin a chrání je proti odparu i

před úletem větrem a smyvem deštěm. Vlivem působení vzduchu a UV záření Agrovital na povrchu rostlinných pletiv polymerizuje a vytváří pružnou polopropustnou vícevrstevnou membránu přírodní živice. Přípravek je určen také pro ekologické zemědělství. Do pokusů zaměřených na vliv smáčedel samotných či v kombinaci s účinnou látkou glyfosát byl tento přípravek zahrnut s ohledem na jeho četné aplikace v zemědělství (Niedobová *et al.* 2019; Agrofert 2019).

Boundary SW

Jedná se o pomocný prostředek na ochranu rostlin s obsahem dusíku a uhlíku biologického původu. Jde o kapalný extrakt získaný fyzikální metodou z fermentovaných mořských hnědých řas, doplněný o extrakt ze sukulentů. Obsažené biologicky aktivní látky extrahované z mořských řas a sukulentů zvyšují odolnost rostlin proti abiotickým faktorům, stimulují tvorbu kořenového systému, a tak podporují jejich zdravý růst a vývoj (ICAS 2017).

Tento produkt získal certifikaci Ecocertu, jakožto produkt vhodný pro ekologické hospodaření v Evropě a Americe (Group ECOCERT 2019). V ČR byl registrován k aplikaci jak v režimu integrované ochrany, tak v režimu ekologické produkce zeleniny a ovoce. Nicméně na začátku roku 2019 bylo prokázáno prostřednictvím rozborů ÚKZÚZ, že Boundary SW obsahuje zakázanou účinnou látku matrine a v důsledku toho byl tento prostředek ochrany stažen z prodeje a byla zakázána jeho aplikace. Boundary SW měl velký potenciál jakožto akaricidní prostředek v ochraně ovoce a zeleniny proti roztočům (svilušky, vlnovníci, hálčivci). Nalezená účinná látka matrine, která je považována jako akaricidní, dokládá účinnost, jenž byla zjištěna v prováděných testech ve VŠÚO Holovousy.

EKOL

Pomocný prostředek na ochranu rostlin s fyzikálním působením na živočišné škůdce. Působí kontaktně, proto je potřeba při aplikaci dokonale smáčet porost aplikační kapalinou. EKOL obsahuje 90 % řepkového oleje a 10 % etoxylovaných mastných kyselin. Používá se buďto samotný, například proti přezimujícím škůdcům ovocných plodin v rámci předjarního ošetření nebo jako smáčedlo v tank-mixu s pesticidy. V minulých letech byl proti přezimujícím škůdcům aplikován tank-mix přípravků EKOL a Reldan 22. Vzhledem k ukončení používání přípravků Reldan 22 je možné proti přezimujícím škůdcům aplikovat již pouze samotný EKOL ve vyšších dávkách, a to alespoň 20 l/ha. EKOL se dále používá v ochraně okrasných dřevin a révy vinné. EKOL je povolen pro aplikaci v ekologickém a integrovaném systému pěstování ovoce.

FerrumOil

FerrumOil je tekuté foliární hnojivo s obsahem železa, hořčíku a dusíku zvyšující odolnost rostlin proti škůdcům a houbovým chorobám. Stopové prvky (Fe, Mg) jsou v komplexu s kyselinou citrónovou, čímž je hnojivo velmi rychle absorbováno pletivou rostlin. FerrumOil obsahuje také přírodní mastné kyseliny a terpeny, které zajistí přilnavost a rovnoměrné nanesení hnojiva na listovou plochu rostliny. Přírodní mastné kyseliny a terpeny v hnojivu snižují riziko napadení rostlin žravými škůdci a například výskyt padlí. Dle výrobce je oblast využití nejen v ovocnářství, ale také ve vinohradnictví a zelinářství (BIOKA 2019).

Konflic

Jedná se o pomocný prostředek na ochranu rostlin, který obsahuje 50 % rostlinných extraktů (*Quassia amara*) a 50 % draselného mýdla. V Evropě je tento prostředek používán k ochraně proti larvám škůdců a minujícím motýlům. S ohledem na přítomnost extraktu z *Quassia amara* se předpokládala účinnost zejména proti savým škůdcům. Tato teorie nebyla v rámci pokusů provedených ve VŠÚO Holovousy prokázána.

PREV-B2

V ovocnářství je používán jako kapalné foliární hnojivo s obsahem bóru a pomerančového oleje. Kromě využití jako hnojiva je PREV-B2 doporučován jako vhodný prostředek aplikovaný za účelem snížení populací savých a žravých škůdců. Mechanismus účinku je kontaktní, nejefektivnější proti drobným škůdcům (mšice, molice, svlušky aj.). Po zasažení škůdce dojde vlivem oleje k vysušení jeho těla a následně ke smrti (Skalský 2015). Do roku 2019 byl PREV-B2 povolen v režimu integrované a ekologické produkce ovoce a zeleniny. Jeho distribuce firmou Biocont sice skončila, ale na trhu je komerčně stále k dostání. Nejefektivnější byl PREV-B2 v oblasti ochrany ovocných plodin proti mšicím, které byl schopen v rámci kontaktní účinnosti velmi efektivně redukovat. Jako olejnatý prostředek s povoleným použitím i v režimu ekologické produkce byl tento přípravek zahrnut do pokusu zaměřeného na studium jeho případného vlivu na významného predátora mšic, slunéčko východní (*Harmonia axyridis*). V současné době již PREV-B2 není registrován k použití. Existují ale další přípravky a prostředky ochrany s obsahem pomerančového oleje, např. Pomol, Wetcit, apod.

Pyrethrum

Přípravek na bázi přírodního pyrethrinu získaného z květů chryzantém (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) se používá v zahraničí v ekologickém zemědělství (Maina *et al.* 2016). Přírodní pyrethriny nejsou perzistentní a velmi rychle podléhají biodegradaci a rozpadají se působením světla

nebo kyslíku (Sarwar & Salman 2015). Jako insekticidní látka vykazuje velmi dobrou účinnost proti hmyzím škůdcům. Pyrethriny působí toxicky na nervový systém hmyzu.

Siltac EC

Mechanismus účinku přípravku Siltac je fyzikální, založen na technologii 3D-IPNS (trojrozměrná imobilizující polymerní síťová struktura). Siltac EC obsahuje polymerní látky, především silikonové polymery. Na molekulární úrovni se vytváří trojrozměrná polymerní síť. Po aplikaci na porost a po kontaktu se škůdcem dochází k vytvoření specifické struktury podobné tenkému lepkavému filmu na povrchu těla daného škůdce. Tato struktura dané škůdce okamžitě imobilizuje a zneškodňuje. Na rozdíl od syntetických přípravků na ochranu rostlin nepůsobí Siltac toxicky nebo biochemicky. Vzhledem k tomu, že neobsahuje další chemické příměsi, nezanechává žádná rezidua. Fyzikálním působením přípravku nedochází ke vzniku rezistence ani po opakovaných aplikacích (ICB PHARMA 2019).

Přestože není tento produkt ještě na českém trhu, má velký potenciál v ochraně proti různým druhům škůdců ovocných plodin, jako jsou například svlušky, vlnovníci a hálčivci, mšice, štítenky a mery. Ve VŠÚO Holovousy byl Siltac EC úspěšně testován a diskutuje se s výrobcem o možné registraci v ČR.

SpinTor

Přípravek SpinTor obsahuje účinnou látku spinosad, což je přírodní produkt získaný fermentační činností bakterií *Saccharopolyspora spinosa*, která se běžně vyskytuje v půdě. Jako přírodní produkt se spinosad (směs dvou biologických komponentů - spinosynu A a spinosynu D) vyznačuje mimořádně nízkou toxicitou vůči člověku a teplokrevným živočichům. Spinosad je účinná látka s požerovým a kontaktním insekticidním účinkem. Tato látka ovlivňuje aktivitu neuronů hmyzích jedinců, u kterých nastává již po několika hodinách smrt. Doposud nebyla u cílových škůdců zjištěna rezistence. Účinnost se využívá především v ochraně proti škůdcům z řádu motýlů (Lepidoptera), brouků (Coleoptera), dvoukřídlých (Diptera) a trásnokřídlých (Thysanoptera). Naopak nepůsobí na savý hmyz (Bacci *et al.* 2016; Gazit *et al.* 2013; Linduska *et al.* 1998; Kerns 1996).

Wetcit

Smáčedlo obsahující ethoxylované alkoholy (8,1 % w/w), pomerančový olej a dodecylbenzensulfonát sodný. Wetcit má penetrační vlastnosti určené do tank mixu většiny přípravků na ochranu rostlin. Používá se pro zlepšení funkce insekticidů, akaricidů, fungicidů, herbicidů, pomocných prostředků a kapalných hnojiv. Příznivě ovlivňuje smáčivost a přilnavost aplikační

kapaliny, omezuje úlet postřiku, umožňuje lepší distribuci i na ty části rostlin, které nejsou při aplikaci přímo zasaženy. Právě s ohledem na široké spektrum použitelnosti při aplikaci bylo toto smáčedlo zařazeno do testování.

3.3. Škůdci ovocných plodin, u kterých byl hodnocen vliv prostředků ochrany

Listohlod podlouhlý *Phyllobius oblongus* (Linnaeus, 1758)

Dospělý jedinci s charakteristicky protáhlým noscem dosahují délky těla cca 4–7 mm. Krovky jsou většinou hnědé nebo černé. Pronotum je ve srovnání s krovkami úzké a černě zbarvené. Tykadla a končetiny jsou dlouhé, smolově hnědé. Při pohledu na ovocný strom lze listohloda zpozorovat nejen na listech a květech, ale také v různých záhybech a škvírách. V průběhu roku se setkáváme s jednou generací. Dospělí brouci se vyskytují na ovocných dřevinách v průběhu jarního období, kdy se živí květy a listy. Později dospělci opouštějí hostitelskou rostlin a samičky kladou vajíčka 2 – 5 cm pod povrch půdy v období od konce jara do začátku léta. Larvy jsou rhizofágní, po vylíhnutí se živí kořeny různých plevelů a trav, jako je např. *Lamium*, *Rumex* či *Poa*. Larvy během roku prochází pěti instary a přezimují v konečné fázi svého vývoje. Ke kuklení dochází v hliněných pouzdrech brzy na jaře následujícího roku, přičemž toto období trvá přibližně 17 dní. Tento nosatcovitý brouk poškozuje ovocné dřeviny ožíráním listů a květů, případně vyžíráním pupenů. Listy okusuje obvykle od kraje směrem ke středu. Hostitelskými rostlinami jsou jablono, hrušono, třešeno, višeno a meruňka (Kloutvorová *et al.* 2015; Kocourek *et al.* 2015).

Puklice švestková *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844)

Samičí štítky 4-6 mm velké, oválné a výrazně vypouklé, zvrásněné, světle hnědé až hnědé. Uvnitř štítků jsou uložena bílá oválná vajíčka o velikosti 0,3 mm. Nymfy jsou z počátku ploché a oválné, světle zelené, cca 0,5 mm dlouhé. Později zploštělé s elipsovitým tvarem těla, hnědavé až cca 1 mm dlouhé. Nymfy po ukončeném přezimování jsou hnědé, cca 2 mm dlouhé. Puklice švestková má jednu generaci za vegetační období. Rozmnožuje se většinou partenogeneticky. Samečci se objevují jen vzácně. Přezimují nymfy 2. instaru v paždích plodných nebo listových trnů, a to převážně na 2-letém dřevě. Na jaře se během dubna rozlézají a trvale přisávají na větvích. Trvalé přisátí lze rozpoznat podle vylučování voskových nitek na povrchu těla. Během května se nymfy mění v samičky kryté voskovým štítkem. Každá samička je schopná naklásť několik stovek vajíček pod

ochranný štít a potom odumírá. Odumřelé samičky chrání štítky snůšky vajíček. Prázdne štítky zůstávají na větvích i několik let. V červnu se z vajíček líhnou nymfy prvního instaru, které sají na listech. Svlékáním se mění v nymfy 2. instaru. Před opadem se nymfy stěhují převážně na dvouleté větvičky, kde přezimují. Nymfy puklic škodí sáním na listech a větvích. Vylučováním medovice dochází k sekundárnímu rozvoji černí. Při silnějším napadení může dojít ke snížení plodnosti stromů. Hostitelskými rostlinami jsou slivoň, angrešt, josta, broskvoň, líska, ořešák a vinná réva (Kloutvorová *et al.* 2015, Kocourek *et al.* 2015).

3.4. Predátoři škůdců ovocných plodin, u kterých byl hodnocen vliv prostředků ochrany

Slunéčko východní *Harmonia axyridis* (Pallas 1773)

Slunéčko východní je brouk, původem pocházející z východní Asie. V minulosti byl tento druh slunéčka záměrně introdukovan na další kontinenty včetně Evropy (Iperti & Bertand 2001). V rámci biologické ochrany rostlin proti různým druhům škůdců je slunéčko východní velmi efektivním predátorem. Na druhou stranu lze vnímat i jeho negativní dopady na původní druhy slunéček, které jsou slunéčkem východním významně potlačovány. Také mnohými lidmi je toto slunéčko často považováno za škodlivého brouka, a to z několika důvodů: migrace do lidských obydlí, nepříjemně páchnoucí tekutina produkovaná při obraně, pokousání lidské pokožky či problémy při zpracování vína v případě, že se ve zpracovaných hroznech nacházel dospělec slunéčka východního (Nedvěd 2014).

První nález slunéčka východního v České republice byl zaznamenán v roce 2006. Od roku 2007 probíhalo šíření po celé republice. Od začátku šíření je slunéčko východní nalézáno v ovocných sadech. V třešňových sadech likviduje mšici třešňovou (*Myzus cerasi*). V hrušňových sadech eliminuje meru skvrnitou (*Cacopsylla pyri*), na jabloních mšici jabloňovou (*Aphis pomi*). Slunéčko východní je také schopné snižovat populaci vlnatky krvavé (*Eriosoma lanigerum*), která má tělo kryté voskovou vrstvou a pro mnohé predátory je tímto nedostupná. Stejně tak si poradí i se mšicí švestkovou (*Hyalopterus pruni*), která je též pokrytá popraškem vosku. Na broskvoně je slunéčko východní lákáno při napadení mšicí broskvoňovou (*Myzus persicae*) (Nedvěd 2014).

Dospělci slunéčka východního jsou 4,9-8,2 mm dlouzí a 4,0-6,6 mm širocí. Tělo je mírně vyklenuté, zkráceně oválné (Kuznetsov 1997). Slunéčko východní je velmi rozmanité ve zbarvení krovek a mírně proměnlivé ve zbarvení štítu (předohrudi). Zbarvení je podle vědců dědičné a pravděpodobně spojené s řadou různých alel (Honek 1996). Hlava může být žlutá nebo černá se

žlutými značkami (Kuznetsov 1997). Štítek (pronotum) je nažloutlý s černým označením uprostřed. Tyto skvrny mohou být ve tvaru černých teček, dvou zakřivených čar, mohou být ve tvaru písmene M nebo černého lichoběžníku. Boční okraje štítu jsou nažloutlé. Krovky (elytra) mohou být žlutooranžové až červené s 0-19 černými skvrnami nebo černé s červenými skvrnami. Spodní část těla může být žlutooranžová až černá (Kuznetsov 1997). U dospělců slunéčka východního najdeme důležitý rozpoznávací znak – příčnou lištu na zadní části krovek. Ostatní druhy slunéček, které mají také tuto lištu, jsou jinak o hodně menší (Nedvěd 2014). Nicméně vliv na zbarvení a skvrnitost má také teplota, které byla vystavena kukla, potrava larev nebo průběh působení vnějších vlivů (Koch, 2003). *Harmonia axyridis* je druh vytvářející celou řadu variet. V Evropě jsou nejčastější var. *succinea*, var. *spectabilis* a var. *conspicua*.

Vajíčka jsou oválná, dlouhá asi 1,2 mm. Čerstvě nakladená vajíčka mají světle žlutou barvu a postupně tmavnou. Přibližně 24 hodin před vylíhnutím jsou vajíčka šedočerná. Kladená jsou v těsných snůškách po 20-70 kusech, přilepená vzpřímeně jedním koncem k podkladu (Nedvěd 2014).

Larvy procházejí čtyřmi instary. Larvy prvního instaru měří v rozmezí od 1,9 do 2,1 mm, ve čtvrtém instaru 7,5 až 10,7 mm. Tělo je pokryto mnoha výběžky. Na břicho mají hřbetní výběžky tři hroty a boční výběžky dva hroty (tzv. scoli). Instary lze od sebe relativně snadno odlišit na základě zbarvení. První instary obecně mají tmavě černé zbarvení (Rhoades 1996). Larvy druhého instaru mají pár žlutavých skvrn na prvním zadečkovém článku. Larvy třetího instaru mají oranžové zbarvení řady výběžků na 1.-5. zadečkovém článku. Larvy čtvrtého, posledního, instaru mají oranžově zbarvenou i kutikulu v okolí těchto výběžků a také žlutooranžové prostřední výběžky (Nedvěd 2014).

Kukla všech druhů slunéček je mumiová, tj. s částečně k tělu přitmelými končetinami a křídelnými pochvami. Koncem zadečku je přitmelená k podkladu. Na zadečku má též zbytky svlečené larvální kutikuly. Kukla slunéčka východního se od jiných druhů nejlépe pozná podle výrůstků na zbytcích larvální svlečky. Velikostí i zbarvením je podobná kukle slunéčka sedmitečného. Je 5-7 mm dlouhá, základní zbarvení je jasně oranžové s černými skvrnami proměnlivého rozsahu podle teploty před zakuklením. Ostatní velké druhy slunéček mají kuklu jinak zbarvenou. Kukla slunéčka východního má výrazně větší slévající se skvrny na středo a zadohrudí a na 2. a 3. zadečkovém článku než na ostatních částech těla (Nedvěd 2014).

Celkový vývoj trvá v průměru asi jeden měsíc (Potter *et al.* 2005). Délka života dospělé se pohybuje od 3 do 90 dnů. Někteří dospělci se mohou dožít tří let (Trnka 2009). V průběhu vegetace vytváří nejčastěji dvě generace. Plodnost samic je vysoká, v laboratorních podmínkách může vykazovat celková maximální plodnost až 3819 vajíček (Koch 2003), v přírodě dosahuje počtu okolo

2000 (Potter *et al.* 2005). Dospělci sluněčka východního jsou schopni se šířit na vzdálenost více než 50 km za rok (Van Lenteren *et al.* 2008).

Slíd'áci rodu *Pardosa* (druhov skupina *Pardosa lugubris*)

Menší, štíhlí slíd'áci s nápadně zúženou přední částí hlavohrudí, jejíž strany jsou téměř svislé. Hlavohrud' v oční části téměř tak široká jako oční pole, takže postranní oči se ocitají téměř na jejím okraji. Hlavohrud' obvykle s různě širokou světlou středovou podélnou páskou. Samice tvoří čočkovité až téměř kulovité kokony. Vylíhlá mláďata se nějaký čas zdržují na hřbetě zadečku samice. Na světě je známo 533 druhů, u nás se vyskytuje 24 druhů (Kůrka *et al.* 2015).

Všechny tři blízce příbuzné druhy (*Pardosa alacris*, *Pardosa lugubris* a *Pardosa saltans*) žijí na obdobných místech, někdy i společně na jednom stanovišti. Pobíhají od jara po suchém listí. Samci před samicemi bubnují do suchého listí a mvají makadly. Podle charakteristických semaforovitých pohybů makadel, které jsou u jednotlivých druhů odlišné, samice poznají samce svého druhu. Samice tvoří čočkovitý kokon modravého, modrozeleného, hnědavého nebo šedavého zbarvení (Kůrka *et al.* 2015).

Délka těla dospělci *Pardosa lugubris* a *Pardosa alacris* je 5-7 mm, hlavohrud' samice má tmavě hnědé zbarvení s bělavým podélným centrálním proužkem, dosahujícím až k předním očím, okraje úzce bělavě lemované. Nohy jsou hnědavé, tmavě kroužkované, zadeček červenohnědý, skvrnitý. Zbarvení u samce bývá kontrastnější, nohy nezřetelně kroužkované, femury černé, zadeček světle šedý, kontrastní k černým bokům hlavohrudí. *Pardosa lugubris* a *Pardosa alacris* jsou velmi blízce příbuzné druhy, u kterých je odlišení možné prakticky pouze u samci a to podle makadel, která jsou u *Pardosa alacris* kratší a jsou kontrastněji zbarven. Oba druhy se v ČR vyskytují hojně od nížin po střední a vyšší polohy (Kůrka *et al.* 2015).

Pavouci jsou v ovocných sadech, stejně jako v dalších typech agroekosystémů, nejpočetnější skupinou predátorů. Přestože je početnost pavouků na tak vysoké úrovni, jejich funkce, coby predátora škůdci, je značně snížena. A to vzhledem k tomu, že se pavouci živí širokým spektrem kořisti oproti např. sluněčkům, zlatoočkám či dravým plošticím. I tak bychom se měli snažit při managementu sadů aplikovat postupy, které by snižovaly riziko ohrožení populací pavouků na minimum. Bylo totiž mnohokrát prokázáno, že díky pavoukům dochází ke snížení početnosti škůdci, jako jsou mery, obaleči a další zástupci drobného až středně velkého hmyzu s měkkým tělem.

Prve slíd'áci rodu *Pardosa* se nabízejí jako ideální modelov skupina pro zkoumání vlivů výše zmíněných agrochemikálií a jejich směsí. Tito pavouci se běžně vyskytují ve velkých abundancích v celé řadě agroekosytémů, lesních ekosystémů, parcích i v zahradách, mají denní

aktivitu a pohybují se po zemi, proto je velká pravděpodobnost, že se dostanou do přímého kontaktu s postřikem.

4. Výsledky

4.1. Účinnost přípravků na přírodní bázi v ochraně proti puklici švestkové *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844).

Výstup A: Skalský, M., J. Niedobová and Popelka, J. 2019: The Efficacy of European Fruit Lecanium, *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) Control Using Natural Products. Horticultural Science. 2019, 46(4). DOI: 10.17221/215/2017-HORTSCI. (IF 0,925)

Charakteristika problematiky

Cílem této studie bylo porovnat účinnost přírodních insekticidů a konvenčního tank-mixu insekticidu s oleji za účelem redukovat přezimující nymfy puklice švestkové v ovocných sadech. Záměrem bylo nalézt ekologicky šetrnější možnost časně jarního ošetření proti jednomu ze škůdců ovocných plodin, zejména peckovin, a to v období, kdy přirození nepřátelé puklic a dalších necílových organismů jsou ve většině případů ve fázi přezimování. Některé tyto druhy, pasivně přítomné v sadech, mohou být negativně ovlivněny aplikací účinné látky chlorpyrifos-methyl, a to díky jejímu širokospektrálnímu použití. V neposlední řadě je tato účinná látka nebezpečná díky mechanismu účinku, který není pouze kontaktní, ale také fumigační. Běžně je ochrana ovocných plodin proti puklici švestkové směřována do období rozlézání mladých nymf letní generace. Důvodem pro hledání efektivního přípravku či prostředku obsahujícího účinnou látku/látku na přírodní bázi je rozšíření spektra účinných látek použitelných k ochraně proti puklicím a také snížení zátěže životního prostředí rezidui konvenčních pesticidů.

Metodický postup

Z výsadby slivoní VŠÚO Holovousy byly na konci února 2017 odebrány puklicemi infestované větve slivoní. Pokusy byly realizovány v laboratorních podmínkách při 21 ° C a při přirozené fotoperiodě. Napadené letorosty slivoní byly ošetřeny vybranými přípravky a prostředky na ochranu rostlin - Boundary SW, Konflic, Ekol (10 l), Ekol (20 l), Ekol (30 l) a tank-mix Ekol +

Reldan 22. Kontrolní varianta byla ošetřena destilovanou vodou. Dávkování bylo stanoveno dle doporučení od výrobce a odpovídalo polním dávkám registrovaným k aplikaci v ovocných sadech.

V rámci pokusu byly použity dva způsoby aplikace testovaných látek. V prvním pokusu byly letorosty s puklicemi ošetřeny ručním rozprašovačem. U druhého experimentu byla použita smáčecí metoda, kdy byly napadené větve puklicemi smáčeny v jednotlivých přípravcích na dobu 5 sekund. V rámci každé z šesti variant byla hodnocena 4 opakování. Každé opakování čítalo 100 nymf ($n = 400$ pro každé opakování, celkem $N = 5600$), u kterých byla hodnocena úmrtnost a následná účinnost. Po ošetření byly větve umístěny do odměrných válců s vodou, aby se zamezilo jejich zasychání. Výsledná účinnost byla hodnocena po 12 dnech. Pod binokulárním mikroskopem bylo počítáno množství živých a mrtvých nymf puklice švestkové. Účinnost přípravků byla stanovena dle Abbottova vzorce (Abbott 1925):

$$\text{Corrected \%} = \left(1 - \frac{\text{n in T after treatment}}{\text{n in Co after treatment}} \right) * 100$$

n = Insect population , T = treated , Co = control

Data byla dále podrobena statistické analýze s použitím statistického softwaru Past 3.11, Wilcoxonova testu a Hornovy metody.

<https://doi.org/10.17221/215/2017-HORTSCI>

The efficacy of European fruit lecanium, *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) control using natural products

MICHAL SKALSKÝ^{1*}, JANA NIEDOBOVÁ¹, JAN POPELKA²

¹Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd., Holovousy, Czech Republic

²Department of informatics and geoinformatics, Faculty of Environment, Jan Evangelista Purkyně University in Ústí nad Labem

*Corresponding author: michal.skalsky@vsuo.cz

Citation: Skalský M., Niedobová J., Popelka J. (2019): The efficacy of European fruit Lecanium, *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) control using natural products. Hort. Sci. (Prague), 46: 195–200.

Abstract: European fruit lecanium, *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) is among the leading worldwide pests of fruits such as plums, currants, jostaberry, grapevine and many others. This study is focused on testing the effectiveness of natural insecticide treatments compared with conventional insecticides on overwintering nymphs of the European fruit lecanium. In February of 2017, two experiments were conducted under laboratory conditions. The tested products were Boundary SW[®] (plant extract), Konflic[®] (plant extract), Ekol[®] (canola oil) and a tank-mix of Ekol[®] + Reldan 22[®] (canola oil and chlorpyrifos-methyl) as a chemical standard. The most effective product tested was the chemical standard tank-mix of Ekol[®] and Reldan 22[®], which was 100% effective in all experiments. High efficiency was also achieved with Ekol[®] (canola oil) in high concentrations. We can summarize, that using canola oil in high concentration has almost the same effect as the chemical standard. Using canola oil against European fruit lecanium meets the principles of Integrated Pest Management (IPM) and also the need to design cropping systems that are less dependent on synthetic pesticides.

Keywords: pest; orchards; overwintering nymphs; natural insecticides

European fruit lecanium, *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) (Hemiptera: Coccoidea), is a Palearctic polyphagous species with a worldwide distribution (BEN-DOV 1993; HOMMAY et al. 2007). This pest infests a wide range of host plants, including plums (*Prunus* sp.), currants (*Ribes* sp.), walnut (*Juglans regia*), hazelnut (*Corylus avellana*), grape (*Vitis vinifera*) and many others (ÜLGENTÜRK, TOROS 1999; KOCOUREK et al. 2015; SILVA et al. 2016; CABI 2017). European fruit lecanium produces one generation per year. The main hibernation stage is the second-stage nymph, which occurs on the undersides of host plant branches. In

the spring months (mainly in March and April), nymphs migrate to young twigs and remain there for the rest of their life cycle. During May, nymphs moult to become adult females, which are sessile. Their body is oviform and convex, with the size of 4–6 mm. Each female produces hundreds of eggs, which remain under the female's waxy shield. Old, empty waxy shields remain on the tree trunks and branches for many years. Nymphs of the first instar hatch in June and are light green, flat and oval, with a length of 0.5 mm. The nymphs then moult and become second instar, which overwinter on two year-old branches. Nymphs are red-brown to brown

Supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, National Agency for Agricultural Research (NAZV), Project No. QK1710200; by the Ministry of Education, Youth and Sports, project LO1608 – Pomology Research Center within the National Sustainable Development Strategy.

<https://doi.org/10.17221/215/2017-HORTSCI>

coloured, flat and elliptical-shaped, with a body size of approximately 2 mm (KOSZTARAB, KOZÁR 1988; LÁNSKÝ et al. 2005; KOCOUREK et al. 2015). Young summer nymphs suck plant sap mostly from the leaves and, when the population reaches high levels, may cause serious damage. Nymphs produce honeydew, which also damages leaves and fruits (SFORZA 2000). Honeydew serves as a substrate for saprophytic fungi, for example black sooty mould that reduces transpiration and photosynthesis in plants (BASHEER et al. 2011). The worst damage is considered to be the defoliation of plants, and, in a severe infestation the plant may even die (JAPOSHVILI et al. 2008). Our objectives was to find an effective treatment that is compatible with an integrated pest management (IPM) in orchard system, which uses all options to reduce pest populations giving priority to non-chemical measures. One of the principles of IPM is that a combination of non-chemical methods that may be individually less efficient than pesticides can synergize to provide effective control (BARZMAN et al. 2015).

The aim of this study was to compare the effectiveness of natural insecticides and conventional tank mixes of insecticides with oil additives against the overwintering nymphs of European fruit lecanium. Our intention was to find environmentally friendly, sustainable and effective treatments for early spring application against this serious pest to prevent high population levels when natural enemies and other non-target species are overwintering. The common summer applications of insecticides are directed at the first-instar nymphs, which disperse in the foliage to feed, but also threaten non-target species. The reasons for selecting naturally based plant protection products for this experiment were to extend the range of control options against European fruit lecanium and reduce the risks posed by conventional pesticides.

MATERIAL AND METHODS

At the end of February 2017, infested plum branches were sampled at the Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy (RBIP) in the Czech Republic for use in two experiments. Infested plum branches were treated with the following plant protection products: seaweed/succulent extract (Boundary SW[®], ICAS); *Quassia amara* extract (Konflic[®], Atlántica Agrícola); canola oil (Ekol[®], PROXIM s.r.o.) separately at 3 rates and tank-mixed with Chlorpyrifos-methyl (Reldan 22[®], Dow AgroSciences s.r.o.); plus a control (distilled water). Ekol[®] and Reldan 22[®] have been used as a chemical standard for several years. Ekol[®] consists of 90% canola oil and is commonly used in orchards especially during early spring. The organophosphate chlorpyrifos-methyl (Reldan 22[®]) is a broad-spectrum insecticide. Reldan 22[®] with Ekol[®] as an additive is commonly used in apple and sour-cherry orchards and is recommended for use as a tank-mix (GALL 2015), so, this combination served as a chemical standard. Boundary SW[®] and Konflic[®] are relatively new products that are almost unknown to fruit growers. Konflic[®] is a biopesticide containing 50% *Quassia amara* (L.) extract and is used for protection against aphids, whiteflies, caterpillars and other pests. Boundary SW[®] is a biopesticide containing seaweed and succulent extracts and used for protection against various fruit and vegetable pests. Details of all treatments used in our experiments are summarized in Table 1.

The efficacy of both biopesticides against European fruit lecanium is unknown. All plant protection products were used at rates recommended by their manufacturers: Boundary SW[®] (3.5 l/ha), Konflic[®] (3 l/ha), Ekol[®] (10, 20, and 30 l/ha), Ekol[®] + Reldan 22[®] (1 l/ha + 2.7 l/ha). Ekol[®] is commonly used at

Table 1. Plant protection products used in treatments and information about distributor, rate, active ingredient

Treat. No.	Trade name	Distributor	Rate (l/ha/1,000 l water)	Active ingredient
1	Control		–	–
2	Boundary SW	ICAS srl (International Company of Agro Science)	3.5	vegetal amino-acids, fatty acids
3	Konflic	Atlántica Agrícola, S.A.	3	<i>Quassia amara</i> extract 50% + potassium soap mixture of natural plant fertilization 50%
4	Ekol	PROXIM s.r.o.	10	canola oil 90%
5	Ekol	PROXIM s.r.o.	20	canola oil 90%
6	Ekol	PROXIM s.r.o.	30	canola oil 90%
7	Ekol + Reldan 22	PROXIM s.r.o. + Dow AgroSciences s.r.o.	1 + 2.7	canola oil 90% + chlorpyrifos-methyl 225 g/l

<https://doi.org/10.17221/215/2017-HORTSCI>

tree rates according to the height of the tree canopy. All three rates of this product were tested in our experiment. All experiments were performed under laboratory conditions at a temperature of 21°C and natural photoperiod (L : D, 16 : 8). Two methods of application were employed. In the first experiment, there were five branches infested with nymphs treated by directly spraying with a sprayer Solo 423 Port (Solo Germany). All agrochemicals were tested at the field recommended concentrations for orchards, according to the product labels and following the instructions provided by the Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture (2019). For the second experiment, the immersion method was used for another five branches infested with nymphs. Infested branches were immersed in treatments and control for 5 seconds. Experiments tested six candidate treatments plus a control, each consisting of four replicates; each replicate consisted of 100 nymphs ($n = 400$ per treatment, total $N = 5,600$ for both experiments). The nymphs, treatment and distilled water control for each branch were used only once. After treatments, branches were placed into volumetric cylinders with water to prevent drying out. Treatment efficacy was evaluated after 12 days. Live and dead nymphs were counted and recorded under a binocular microscope. The formula used for calculating the percent reduction of pest populations, by the tested products used the following formula after HENDERSON and TILTON (1955), who referred to it as a modification of ABBOTT (1925), as commonly used for the calculation of plant protection product efficacy (NOUR-ELDIN, SHOLLA 2015; EMAMI 2016; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al. 2017).

Abbott's formula (ABBOTT 1925):

$$\text{Efficacy (\%)} = \left(1 - \frac{n \text{ in } T \text{ after treatment}}{n \text{ in } Co \text{ after treatment}}\right) \times 100$$

where: n – insect population; T – treated; Co – control

Data were analysed using Past 3.11 statistical software (HAMMER 2015). As there were a small number of values in each test, we preferred robust to classical statistical methods. To compare each treatment to the standard Reldan 22[®] tank mixed with Ekol[®] separately, the Wilcoxon test was applied. To describe differences in pest population, Horn's pivot method was applied for computation of a 95% confidence interval, which is recommended for small sample sizes (≤ 20) (HORN 1983). Both the pivot half-sum and pivot range methods are robust in addressing outliers in small samples (DUŠEK et al. 2009).

As there is no variability of Ekol[®] (1 l/ha) + Reldan 22[®] values, we were not able to compute, test or express confidence for this treatment.

RESULTS AND DISCUSSION

Currently, integrated fruit production relies on the incidental control provided by various plant protection products that are applied against other pests and the basis for plum tree pest protection is spray against overwintering pests in the early spring (before leafing out) (KOCOUREK et al. 2015). Oil plant protection products are widely used in plum orchards and are very effective against a wide range of overwintering pests. The mode of action for many oils is suffocation and water loss (COPPING, DUKE 2007). We have found that an Ekol[®] treatment is very effective against overwintering nymphs of European fruit lecanium, if concentrate sprays are used (Ekol[®] at 20 and 30 l). Abbott's efficacy of canola oil (Ekol[®]) also varied according to the application method and rate (Table 2). The 10 l/ha rate showed a large difference in efficacy: 32.1% from the spray application and 98.0% from immersion. The 20 l/ha rate had 89.0% and 90.1% efficacy respectively. The results of Ekol[®] as an immersion treatment are comparable and not significantly different in mean number of live nymphs after treatment. As expected, the highest efficacy (98.60% in both experiments) was achieved with Ekol[®] at the rate of 30 l/ha. SKALSKÝ (2016) also reported insufficient efficacy of Ekol[®] at 10 l/ha against European fruit lecanium. Experiences with other types of oils are also known from Poland and England GANTNER et al. (2004) found that paraffin oil (Promanal 60 EC[®], Neudorff) reduced the number of European fruit lecanium larvae by an average of about 80%. Also, WARDLOW and LUDLAM (1975) achieved 100% efficiency by using a suspension of tar oil in a spring application. Tank-mixes of Ekol[®] (1 l/ha) and Reldan 22[®] caused 100% mortality of overwintering nymphs. According to the Wilcoxon test, the Ekol[®] treatment can achieve the same results as the tank mix, when it is applied by immersion (Table 2, Figs 1 and 2). The other two natural plant protection products, Boundary SW[®] and Konflic[®], had insufficient efficacy when sprayed. There was a statistically significant lower mean number of live nymphs using Ekol 10 and Boundary SW as an immersion. The lowest efficacy was obtained in the Konflic[®] treat-

Table 2. Efficacy of products tested against European fruit lecanium 2017. Efficacy computed according to Abbott's formula. Wilcoxon test applied for compare each treatment to the standard (Reldan 22 + Ekol)

Treatment	1. test (spray)			2. test (immersion)		
	Abbott's efficacy (%)	median number of nymphs	95% Horn's conf. limits for mean number of nymphs	Abbott's efficacy (%)	median number of nymphs	95% Horn's conf. limits for mean number of nymphs
Control		*89	(83.1; 94.9)		88.5*	(85; 91)
Boundary SW	26.5	*64	(47.8; 80.2)	84.4	16*	(1.9; 21.1)
Konflic	6.7	*83.5	(71; 96)	18.7	73*	(56.5; 84.5)
Ekol 10	32.1	*57.5	(34.6; 80.4)	98	1	(0; 6.2)
Ekol 20	89.0	*15	(0; 34.2)	90.1	10*	(2.3; 12.7)
Ekol 30	98.6	2	(0; 5)	98.6	1	(0; 3.7)
Ekol (1 l/ha) + Reldan 22	100.0	0	(0; 0)	100.0	0	(0; 0)

P-value: * < 0.1, ** < 0.05, *** < 0.001

ment, 6.7% as a spray and 18.7% as an immersion. The mean value of live nymphs (ranging from 71% to 96% for spraying and from 56.5% to 84.5% for immersing) is comparable to the results of the Control (roughly between 83% and 95% for both treatments). Boundary SW[®] also had lower efficacy in the spray experiment (26.5%), but higher in the immersing experiment (efficacy of 84.4%) and the mean is comparable to the canola oil results. SKALSKÝ (2016) also found that both products had low efficacy against European fruit lecanium. Boundary SW consists of seaweed and succulent extract, which are effective against mites and also leaf-rolling beetles *Coenorhinus aequatus* (Coleoptera: Attelabidae) (Germar, 1824) (HANKINS, HOCKEY 1990; SKALSKÝ 2017). However, several studies confirm sufficient insecticidal effects of Konflikt's[®] active ingredient, *Quas-*

sia amara (Sapindales: Simaroubaceae) extract. For example, PSOTA et al. (2010) found that applications of *Quassia amara* wood extract reduced apple sawfly *Hoplocampa testudinea* (Hymenoptera: Tenthredinidae) (Klug, 1814) infestation of fruitlets. Also, MANCIBO et al. (2000) recorded the anti-feedant activity of mahogany shoot borer *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) (Zeller). Summer is the second period when it is possible to treat plum trees against European fruit lecanium, because nymphs disperse during this period. In practice, treatment targeted against this pest is not applied in the summer. Rather, there is incidental control provided by the neonicotinoids used (for example Calypso 480 SC[®], Mospilan 20 SP[®]), which are applied against Plum Fruit Moth *Cydia funebrana* (Lepidoptera: Tortricidae) (Treitschke, 1835) or aphids (ANDREEV, KUTINKOVA 2010;

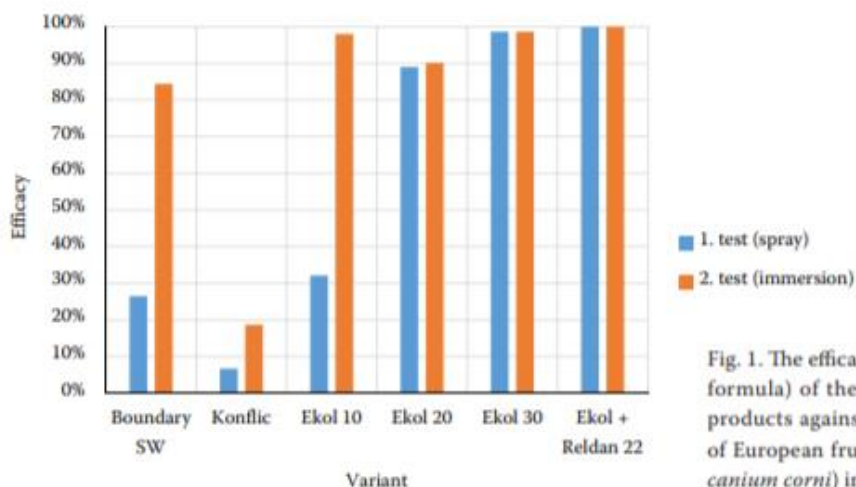


Fig. 1. The efficacy (according to Abbott's formula) of the tested plant protection products against overwintering nymphs of European fruit lecanium (*Parthenolecanium corni*) in 2017

<https://doi.org/10.17221/215/2017-HORTSCI>

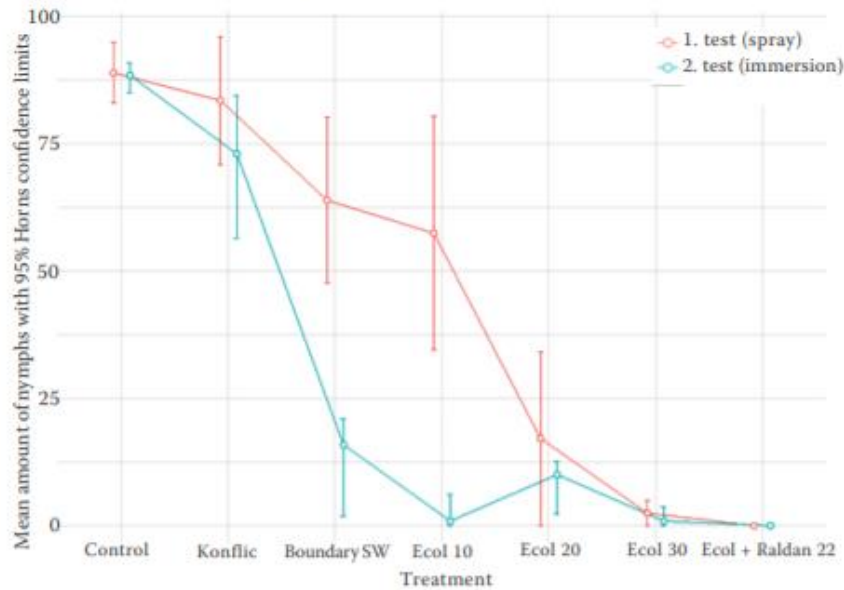


Fig. 2. Number of live nymphs 12 days after treatment along, with 95% confidence limits, Horn's pivot method

KOCOUREK et al. 2015). KOCOUREK et al. (2015) summarized active ingredients that are effective against European fruit lecanium: fenoxycarb, spirotetramat, spiroticlofen, sulfoxaflor, buprofezin and sulphur. Only fenoxycarb and sulphur-based preparations are suitable for Integrated Pest Management. Insecticide applications during vegetative periods have many disadvantages. One of the most problematic side effects of insecticide application is the increased mortality of pollinators, which are attracted by honeydew (SANTAS 1985). The active ingredient chlorpyrifos-methyl is used in many European countries and also in Australia and the USA (Pesticide Properties DataBase 2018). Currently, the active ingredient chlorpyrifos-methyl is formulated to Reldan 22[®]. Although the tank-mix of Reldan 22[®] and Ecol[®] in concentrations of 1 l/ha has been shown to be 100% effective, the use of the higher concentration of Ecol[®] by itself showed almost the same effectiveness (Table 2, Figs 1 and 2). Therefore, we can recommend the use of higher concentrated Ecol[®] against European fruit lecanium in orchards in the early spring. The advantages of oil plant protection products are that such products are environmentally friendly and offer the possibility of long-term sustainable methods to protect against this pest. Further investigation is necessary focusing on the effects of oil-based plant protection on antagonists of European fruit lecanium in early spring.

References

- Abbott W.S. (1925): A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265–267.
- Andreev R., Kutinkova H. (2010): Possibility of reducing chemical treatments aimed at control of plum insect pests. In: IX International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 874: 215–220.
- Barzman M., Bärberi P., Birch A.N.E., Boonekamp P., Silke Dachbrodt-Saaydeh, Graf B., Hommel B., Jensen J.E., Kiss J., Kudsk P., Lamichhane J.R., Messéan A., Moonen A.C., Ratnadass A., Riccil P., Sarah J.L., Sattin M. (2015): Eight principles of integrated pest management. *Agronomy for Sustainable Development*, 35: 1199–1215.
- Basheer A., Mahmalji M.Z., Berawe A. (2011): Survey of the parasitoids of the fruit scale insect, *Parthenolecanium corni* Bouché (Homoptera: Coccidae) on almond trees at Kalamon, Damascus countryside, Syria. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 21: 27–31.
- Ben-Dov Y. (1993): A systematic Catalogue of the Soft Scale Insects of the World (Homoptera: Coccoidea: Coccidae). Sandhill Crane Press, Gainesville.
- CABI (2017): Invasive species compendium. *Parthenolecanium corni* (European fruit lecanium). Available at <http://www.cabi.org/isc/datasheet/45556> (accessed July 12, 2017).
- Central Institute for Supervising and Testing in agriculture (2018): The register of plant protection products. Available

<https://doi.org/10.17221/215/2017-HORTSCI>

- at <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?type=0&vyhledat=A&stamp=1528228205186> (accessed April 23, 2019).
- Copping L.G., Duke S.O. (2007): Natural products that had been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*, 63: 524–554.
- Dušek D., Meloun M., Novák J. (2009): Computer-assisted statistical analysis in silviculture. Univariate data treatment. *Zprávy lesnického výzkumu*, 54: 145–153.
- Emami M.S. (2016): Field evaluation of two biorational compounds in the control of pear psylla, *Cacopsylla pyricola* (Förster), on pear trees. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 49: 1–4.
- Gall J. (2015): Přehled ochrany rostlin v únoru a březnu. *Rostlinolékař*, 1: 5–15.
- Gantner M., Jaśkiewicz B., Golan K. (2004): Occurrence of *Parthenolecanium corni* (Bouché) on 18 cultivars of hazelnut. *Folia Horticulturae*, 16: 95–100.
- Hammer Ø. (2015). PAST. Paleontological Statistics (version 3.11). Reference manual. Natural History Museum, University of Oslo, Oslo.
- Hankins S.D., Hockey H.P. (1990): The effect of a liquid seaweed extract from *Ascophyllum nodosum* (Fucales, Phaeophyta) on the two-spotted red spider mite *Tetranychus urticae*. *Hydrobiologia*, 204: 555–559.
- Henderson C.F., Tilton E.W. (1955): Tests with acaricides against the brow wheat mite, *Journal of Economic Entomology*, 48:157–161.
- Hommay G., Komar V., Lemaire O., Herrbach E. (2007): Grapevine virus A transmission by larvae of *Parthenolecanium corni*. *European Journal of Plant Pathology*, 121: 185–188.
- Horn P. (1983): Some Easy Statistics. *Journal of the American Statistical Association*, 78: 930–936.
- Japoshvili G., Gabroshvili N., Japoshvili B. (2008): *Parthenolecanium corni* Bouche' in the city of Tbilisi and its surroundings and comparison with some other European countries. *Bulletin of Entomological Research*, 98: 53–56.
- Kocourek F., Bagar M., Falta V., Holý K., Harašta P., Chroboková E., Kloutvorová J., Kúdela V., Lánský M., Náměstek J., Navrátil M., Ouředníčková J., Pluhař P., Psota V., Pultar O., Stará J., Sus J., Suchá J., Šafářová D., Špak J., Valentová L. (2015): Integrovaná ochrana ovocných plodin. Profi Press, Prague.
- Kosztarab M., Kozár F. (1988): Scale Insects of Central Europe. Akademia Kiado, Budapest.
- Lánský M., Falta V., Kloutvorová J., Kocourek F., Stará J., Pultar O. (2005): Integrovaná ochrana ovoce v systému integrované produkce. VŠÚO Holovousy s.r.o., Holovousy.
- Mancebo F., Hilje L., Mora G.A., Salazar R. (2000): Antifeedant activity of *Quassia amara* (Simaroubaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Crop Protection*, 19: 300–305.
- Nour-Eldin M.A., Sholla S.M.E. (2015): Using different fertilizers for controlling two spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch in green beans plant. *Middle East Journal of Agricultural Research*, 4: 270–276.
- Pesticide Properties DataBase, (2018): Chlorpyrifos-methyl. Available at: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/155.htm> (accessed August 31, 2017).
- Psota V., Ouředníčková J., Falta V. (2010): Control of *Hoplocampa testudinea* using the extract from *Quassia amara* in organic apple growing. *Horticultural science (Prague)*, 34: 139–144.
- Rodríguez-González A., Paláez H.J., González-Núñez M., Casquero P.A. (2017): Control of egg and neonate larvae of *Xylotrechus arvicola* (Coleoptera: Cerambycidae), a new vineyard pest, under laboratory conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23: 112–119.
- Santas L.A. (1985): *Parthenolecanium corni* (Bouché) an orchard scale pest producing honeydew foraged by bees in Greece. *Entomologia Hellenica*, 3: 53–59.
- Sforza R. (2000): Les cochenilles sur la vigne: Bio-éthologie, impact agronomique, lutte et prophylaxie. In: Stockel J. (ed.): *Les Ravageurs de la Vigne*, 130–147.
- Silva E.B., Maya M., Santos M., Cruz A., Botelho M., Franco J.C., Ribeiro H., Mexia A. (2016): *Parthenolecanium corni* (Bouché) (Hemiptera Coccidae) in vineyards in Portugal: Morphology, seasonal development, life cycle and reproduction. *Redia* 99: 215–217.
- Skalský M. (2016): Možnosti ochrany proti puklici švestkové *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) v systémech integrované produkce ovoce. *Rostlinolékař*, 6: 30–31.
- Skalský M. (2017): Účinnost vybraných přípravků proti nosatcovitým škůdcům. *Zahradnictví*, 16: 20–23.
- Ülgentürk S., Toros S. (1999): Faunistic studies on the Coccidae on ornamental plants in Ankara, Turkey. *Entomologica Bari*, 33: 213–217.
- Wardlaw L.R., Ludlam F.A.B. (1975): Biological Studies and Chemical Control of Brown Scale (*Parthenolecanium corni* (Bouché)) on Red Currant. *Plant Pathology* 24: 213–216.

Received for publication November 14, 2017

Accepted after corrections April 26, 2019

Published online November 26, 2019

4.2. Účinnost agrochemikálií proti listohlodovi podlouhlému *Phyllobius oblongus*

Výstup B: Skalský, M., Ouředníčková, J., Niedobová, J. and Hortová, B. 2020: Efficacy of agrochemicals against *Phyllobius oblongus*. Plant Protect. Sci., 56: 116-122. DOI: 10.17221/75/2019-PPS (IF 1,13)

Charakteristika problematiky

Listohlod podlouhý je polyfágní škůdce listnatých stromů. V centrální Evropě, včetně ČR, je listohlod podlouhý považován za významného škůdce ovocných školek (Morris 1997; Balan *et al.* 2001; Bayley *et al.* 2010; Markó *et al.* 2017). Dospělí brouci mohou způsobovat poškození mladým stromkům v průběhu jara žírem na listech, pupenech a květech (Savic 1963; Witter & Fields 1977; Billiald *et al.* 2010). V současné době nejsou dostatečné znalosti o systému ochrany sadů a ovocných školek proti tomu škůdci z pohledu efektivních přípravků a prostředků na ochranu rostlin aplikovatelných v případě přemnožení a potřeby eradikace. Je známo pouze používání širokospektrálního insekticidu obsahujícího účinnou látku chlorpyrifos-methyl Reldan 22 (Gall 2015). Chlorpyrifos-methyl je však velmi nebezpečný pro životní prostředí, necílové organismy a zdraví lidí. Proto byla tato účinná látka zakázána v různých státech EU, od roku 2020 již také v ČR. Z tohoto důvodu byla vypracována níže přiložená studie, s cílem nalezení nových perspektivních pesticidů jako náhrady za chlorpyrifos-methyl pro účely kontroly populací listohloda podlouhlého v jarním období.

Metodický postup

Pokusy zaměřené na hodnocení účinnosti vybraných přípravků na ochranu rostlin proti dospělcům listohloda podlouhlého byly uskutečněny v letech 2017 a 2018 v rámci laboratorních pokusů ve VŠÚO Holovousy. Dospělí jedinci byli odebráni z výsadeb VŠÚO Holovousy, s.r.o. (třešně, jabloně, hrušně). Listohlodi byli po odebrání z výsadeb přemístěni do klimaboxu s nastavenými podmínkami prostředí (22 ± 1 ° C, $75 \pm 5\%$ relativní vlhkosti, 16 : 8 hod. světlo/tma fotoperioda). Brouci byli uloženi v plastových nádobách (12 x 12 x 6 cm; 10 jedinců/1 nádoba) a byla jim v pravidelných intervalech poskytnuta potrava (neošetřenými listy třešní) a voda (navlhčený tampon).

Pro zvýšení míry výpovědní komplexnosti experimentu byly provedeny tři typy pokusů, v rámci kterých byla zkoumána reziduální, kontaktní a požerová účinnost sedmi přípravků či prostředků na ochranu rostlin. Jako kontrola byla použita destilovaná voda. Pro každý experiment bylo použito

160 dospělých jedinců (celkem N = 480). Pro jednotlivé varianty ošetření bylo každý rok použito pět brouků ve čtyřech replikacích (celkem 20 brouků), opět jako kontrola destilovaná voda. Každý brouk byl testován pouze jednou. Všechny látky byly testovány při koncentracích a polních dávkách stanovených dle Registru přípravků na ochranu rostlin (ÚKZÚZ) a doporučených výrobcem.

Za účelem stanovení reziduální účinnosti byla každá testovaná varianta aplikována pomocí Potterovy věže (Burkard Scientific), a to jak na dno Petriho misky (průměr 5,5 cm), tak také na vnitřní části víčka. Petriho misky se po aplikaci nechaly uschnout. Následně byl do každé Petriho misky umístěn jeden brouk spolu s neošetřeným listem jako potravou a kouskem navlhčené buničiny. Metodika pokusu stanovující kontaktní účinnost vybraných přípravků byla obdobná. Všichni dospělci listohloda podlouhlého byli ošetřeni pomocí Potterovy věže. Bezprostředně po postřiku byli brouci umístěni do čistých Petriho misek (průměr 5,5 cm). Zdroj potravy a vody byl poskytnut stejně jako v případě tarzálního testu. Požerový účinek testovaných látek se stanovoval tak, že byly smáčeny disky listů třešní o průměru 25 mm na 3 sekundy do přípravku. Po oschnutí byly listy přemístěny do Petriho misek. Každému broukovi byl nabídnut jeden ošetřený disk listu. Hodnocení účinnosti bylo provedeno 24, 48 a 72 hodin od aplikace přípravků, respektive prvního kontaktu s ošetřenou variantou. Výsledná data byla statisticky zpracována - Abbott's correction, ANOVA, Tukeyova HSD testu ($\alpha = 0,05$), STATISTICA 10.

Efficacy of agrochemicals against *Phyllobius oblongus*

MICHAL SKALSKÝ, JANA OUŘEDNÍČKOVÁ, JANA NIEDOBOVÁ*, BRONISLAVA HORTOVÁ

Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd., Hořice, Czech Republic

*Corresponding author: Naaudia@seznam.cz

Citation: Skalský M., Ouředníčková J., Niedobová J., Hortová B. (2020): Efficacy of agrochemicals against *Phyllobius oblongus*. Plant Protect. Sci., 56: 116–122.

Abstract: The contact, residual, and ingestion efficacy of two conventional insecticides was compared with that of another five environmentally friendly agrochemicals in a laboratory for the control of the European snout beetle. Very good efficacy was observed for the conventional product Reldan 22[®] after all types of exposures. The conventional Mospilan[®] 20 SP showed good efficacy after ingestion. SpinTor[®] was very effective 72 h after ingestion and contact, and Siltac[®] EC showed comparable efficacy with conventional insecticides 72 h after ingestion and residual contact. SpinTor[®] and Siltac[®] conform to the principles of organic farming and integrated pest management (IPM) and are able to replace both the tested conventional products in young fruit plantations and nurseries. Pyrethrum PNC – 17, FerrumOil, and Boundary SW did not sufficiently control the beetle.

Keywords: weevil; orchards; plant protection products; contact efficacy; residual efficacy; ingestion efficacy

The European snout beetle [*Phyllobius oblongus* (Linnaeus, 1758)] is a pest of broadleaf trees. It was even included to the international important species in relation to damaging poplar trees (Tilless et al. 2006). In central Europe and Great Britain, *P. oblongus* is also found in fruit plantations (Morris 1997; Balan et al. 2001; Bayley et al. 2010; Markó et al. 2017), where adult beetles can cause serious damage to young fruit trees during spring. They feed on leaves, buds, and flowers (Savic 1963; Witter & Fields 1977; Billiald et al. 2010). Targeted controls do not exist in orchards and we do not have sufficient knowledge of the efficiency of agrochemicals in the event of an outbreak of this pest. Only broad-spectrum insecticides containing chlorpyrifos-methyl (Reldan 22[®]) have been widely used against the pest (Gall 2015). Although the efficacy of chlorpyrifos-methyl against various pests is high, it is also detrimental to beneficial arthropods, with prolonged use (Suma et al. 2009; Mansour et al. 2011; Lozowicka 2015). In addition, evidence exists for negative consequences on the human population (Trasande 2017; PAN Europe 2018). For this reason,

use of chlorpyrifos-methyl to protect orchards has been withdrawn in a number of countries in the EU.

Consequently, there is a need for alternative agrochemicals for the control of the European snout beetle for early spring orchard protection.

Neonicotinoids are effective in lower doses compared to other conventional insecticides. The neonicotinoid product Mospilan[®] (20 SP, Mospilan, Czech Republic) (acetamiprid) is approved for foliar application on a range of pests of fruit and vegetable crops (Kundoo et al. 2018)

SpinTor[®] (SpinTor, spinosad, Czech Republic) is a metabolic product of the actinomycete *Saccharopolyspora spinosa* (Bacci et al. 2016). Spinosyns are expected to have great potential because these agrochemicals show a greater selectivity toward target insects while being relatively harmless to most beneficial arthropods and mammals (Cleveland et al. 2001) and have a proven efficacy for controlling a wide range of pests in agriculture (Kerns 1996; Linduska et al. 1998; Gazit et al. 2013).

Pyrethrum PNC – 17 (pyrethrins) is a product class extracted from chrysanthemum plants and

Supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, Project No. QK1710200, and by the Ministry of Education, Youth and Sports, Project No. LO1608 – Pomology Research Center within the National Sustainable Development Strategy.

<https://doi.org/10.17221/75/2019-PPS>

generally short of persistence (Sarwar & Salman 2015), and have broad usage in organic agriculture (Maina et al. 2016). They exhibit an excellent knockdown effect against flying insects, but weevils have been known to be resistant to pyrethrins for a very long time (Lloyd & Parkin 1963; Kikuta et al. 2012).

The vast majority of insecticides are biologically active on the nervous or metabolic pathways in the target insects, but it also is possible to find agrochemicals that act purely physically. For example, Siltac[®] EC (ICB Pharma, Poland) is a silicone-based product, which immobilises the insects that feed on the plants (ICB Pharma 2019).

Some fertilisers claim to protect against diseases and pests (Reuveni & Reuveni 1998; Nour-Eldin & Sholla 2015). For example, Boundary[®] SW (ICAS, Italy) claims to have insecticidal side effects and is sold as a fertiliser. It contains extracts from seaweed and succulent plants (ICAS 2018). Another fertiliser, FerrumOil[®] (Bioka, Slovakia), contains natural fatty acids and terpenes (Bioka 2019). Some terpenes and natural acids are known to have insecticidal properties (Perumalsamy et al. 2015; Dambolena et al. 2016).

Using laboratory tests to test for the residual, contact and ingestion efficacy, the aim of this study was to find an effective insecticidal treatment that would prevent damage to young trees from *P. oblongus*. The agrochemicals used in the study were selected on the basis of their current (recently approved) and potential (probably approved in the future) use in orchards. We also focused on agro-

chemicals (SpinTor[®], Pyrethrum PNC – 17, Siltac[®] EC, Boundary[®] SW, and FerrumOil[®]) that would fit into an Integrated Pest Management (IPM) Programme and be compliant with organic crops (Rigby & Cáceres 2001; Barzman).

MATERIAL AND METHODS

The experiments were conducted under laboratory conditions in 2017 and 2018 with adult *P. oblongus* collected by hand into plastic tubes within agrochemically untreated apple, pear, and cherry nurseries of the Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy, Hofice, Czech Republic (50°22'24.9"N, 15°34'53.2"E). The beetles were housed together in laboratory conditions (22 ± 1 °C, 75 ± 5% relative humidity, 16 : 8 light/dark photoperiod) in plastic catches (12 × 12 × 6 cm) two weeks prior to the laboratory experiment. They were fed *ad libitum* with untreated cherry tree leaves and water was provided on a moistened piece of tissue.

Application of agrochemicals. In three experiments, the residual, contact, and ingestion efficacy of seven agrochemicals were investigated. Distilled water was used as a control. For each experiment, 160 adult individuals (80 adult individuals in each year) were used (total *N* = 480). Five beetles in four replications (altogether 20 beetles) were used each year for each agrochemical treatment, again with distilled water as a control. Each beetle was tested once. All agrochemicals (Table 1) were tested at the concentrations and field doses recommended for orchards, according

Table 1. The specifications of the agrochemicals studied for the possible effects on *P. oblongus*

Trade name and formulation	Type	Distributor	Active ingredient	Specification	Dose/ha
Mospilan [®] 20 SP	C	Nisso Chemical Europe GmbH	Acetamiprid	Insecticide	0.25 kg
Siltac [®] EC	EF	ICB Pharma	3D-IPNS – polymers Silicones+siloxanes	physically based plant protection product	1.5 L
Boundary [®] SW	EF	ICAS SRL	fermented seaweed extract and succulent extract	auxiliary plant protection product	2.5–4.0 L
FerrumOil [®]	EF	Bioka s.r.o.	Fe,Mg, N+ terpenes, limonene, geraniol	fertilizer	2.0–6.0 L
SpinTor [®]	EF	Dow AgroSciences s.r.o.	Spinosad	insecticide	0.6 L
Reldan 22 [®]	C	Dow AgroSciences s.r.o.	Chlorpyrifos-methyl	broad-spectrum insecticide	2.7 L
Pyrethrum PNC – 17	EF	In registration process	Pyrethrum	insecticide	0.47 L

C – conventional; EF – environmental friendly

to the product labels, and while following the instructions provided by the Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture (2018), which provides the exact rules on how to use plant protection products (a very important group of agrochemicals).

For the residual efficacy tests, each treatment was sprayed using a Potter precision laboratory spray tower (Burkard Scientific, UK) into the bottom of a Petri dish (5.5 cm in diameter) and also into the inner part of the lid. The standard application was between 1.5 and 2 mg/cm², which is equivalent to wet deposit of a pesticide for a volume of 400 L/ha in orchards. Each Petri dish and its lid were then allowed to dry under a laboratory hood. One beetle was placed into each treated Petri dish along with an untreated leaf as food and a piece of moistened tissue to provide water. Each Petri dish was marked with an exclusive code consisting of an abbreviation for the treatment and number of the repetition.

For the contact efficacy test, each beetle was sprayed using the Potter tower. The amount of material applied was the same as for the residual efficacy methodology. Immediately after spraying, the beetles were placed into clean Petri dishes (5.5 cm in diameter) and water and food were provided as in the residual efficacy test.

For the ingestion effect test, cherry leaf disks (25 mm in diameter) were submerged (dipped) into the agrochemical treatment for 3 seconds. Each leaf disk was dried, then placed in the Petri dish with one beetle.

Efficacy assessment. The mortality of each individual was recorded 24, 48, and 72 h after the direct treatments (spraying), the first contact with the treatment residues on the Petri dish or the first contact with the treated cherry leaf disk.

Statistical analysis. Abbott's method (1925) was used for testing the agrochemical efficacy (e.g., Rodríguez-González et al. 2017). The data were transformed using an arcsine transformation. The untransformed means and standard errors are reported in the figures. The differences in the mortality of *P. oblongus* among the tested insecticides were analysed using a repeated-measures ANOVA with the exposure time as the repeated factor. The group means were compared using Tukey's HSD test ($\alpha = 0.05$). All the analyses were performed with STATISTICA 10 (version 10). All the laboratory experiments were conducted twice and, because the results from the two experimental runs were similar (variance between the two runs ≤ 0.05), the data were combined for analysis.

RESULTS

For each insecticidal mode of action, the insecticide treatment, exposure time, and their interactions significantly affected the mortality of *P. oblongus* (Table 2).

Residual effect of the tested agrochemicals. The efficacy was dependent upon exposure time (Table 2) for the *P. oblongus* exposure to the product residuals. The effectiveness of the insecticides generally increased over time, except Pyrethrum, which had the same efficacy at all exposure times (a mortality of only 5%). Reldan 22[®] was the most effective insecticide; the mortality was 100% at all the exposure times. Siltac[®] EC was also effective (a mortality of 65% at 72 h), with Mospilan[®] 20 SP, FerrumOil[®], Boundary[®] SW, SpinTor[®], and Pyrethrum PNC – 17 causing the lowest mortality in the *P. oblongus* at all the exposure times (Figure 1).

Contact effect of the tested agrochemicals. Reldan 22[®] had the highest efficacy when *P. oblongus* was sprayed directly with the products. The efficacy was 70% at 24 and 48 h, and 85% at 72 hours (Figure 1). Similarly, the efficacy from direct application of SpinTor[®] was 50% at 48 h and 85% at 72 hours. The lowest efficacy was observed for Boundary[®] SW, FerrumOil[®], and no mortality was recorded after the Pyrethrum PNC – 17 application. The efficacy of the insecticides was significantly affected by the exposure time (Table 2).

Ingestion effect of the tested agrochemicals. The most effective insecticide in the dipped leaf

Table 2. The analysis of variance results from the laboratory testing for the efficacy of the agrochemicals according to the treatment, time, and their interaction on the mortality of *P. oblongus*

Insecticidal mode of action	Factor	df	F	P
Residual	TR	6	48.04	< 0.0001
	T	2	29.99	< 0.0001
	TR × T	12	4.01	0.0004
Contact	TR	6	8.18	< 0.0001
	T	2	28.53	< 0.0001
	TR × T	12	3.89	0.0005
Ingestion	TR	6	16.53	< 0.0001
	T	2	45.82	< 0.0001
	TR × T	12	5.10	< 0.0004

The data for the analysis of variance were combined from the two experimental runs; *df* – degree of freedom; *F* – *F* value, *P* – significance level; TR – treatment; T – time

<https://doi.org/10.17221/75/2019-PPS>

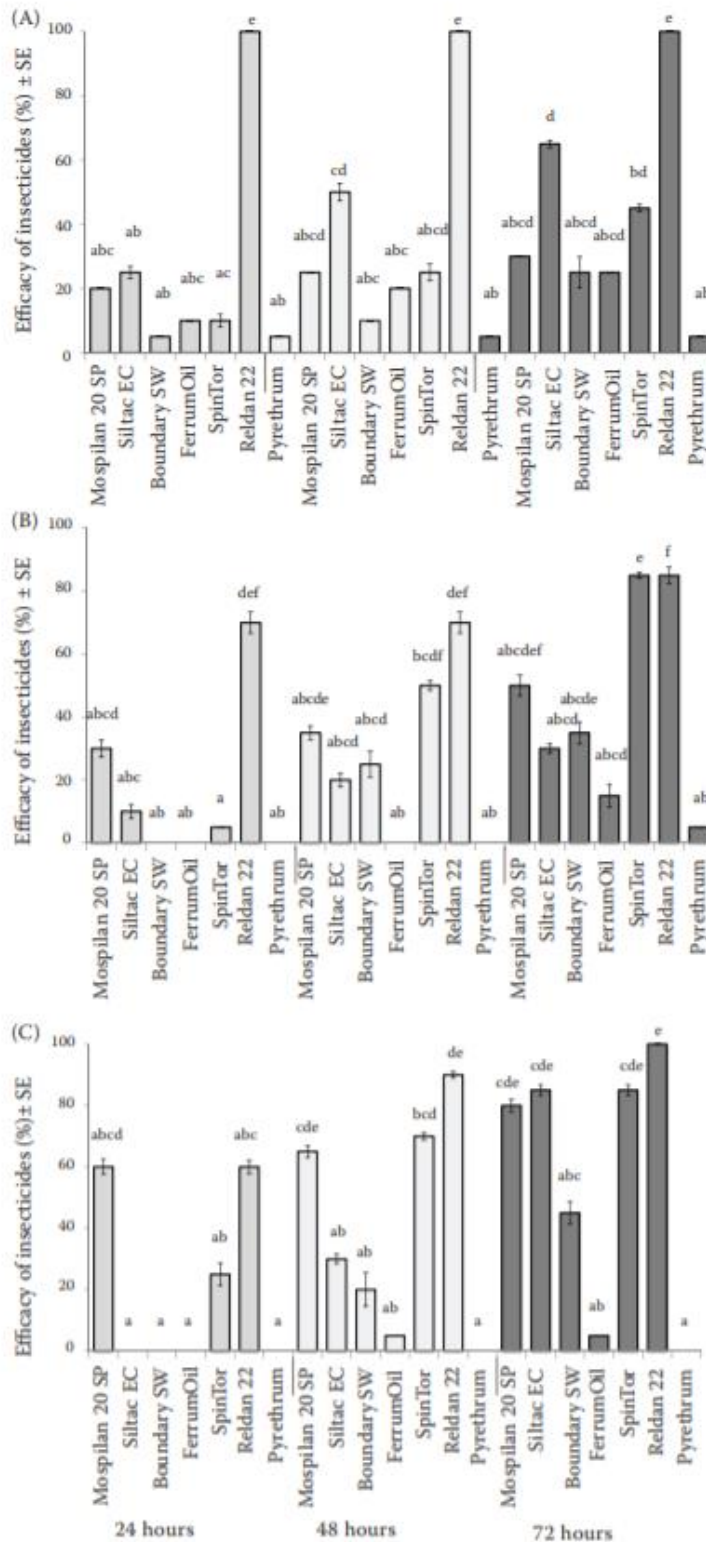


Figure 1. (A) The residual, (B) contact and (C) ingestion (product applied directly to a petri dish) effect of the agrochemicals on the mortality of *P. oblongus*

The results are presented as a mean percentage effect ± SE of the agrochemicals on the mortality of *P. oblongus*; the bars with the same letter do not differ significantly at $P < 0.05$; the different colours of the bars represent the exposure time (24, 48 and 72 h)

ingestion tests was Reldan 22[®], and its efficacy was dependent upon the exposure time (60, 90 and 100% at 24, 48, and 72 h, respectively). It was followed next by Mospilan[®] 20 SP (the efficacy was 60, 65 and 80% at 24, 48, and 72 h, respectively) and SpinTor[®] (an efficacy of 70% at 48 h and 85% at 72 hours). A high efficacy was also observed for Siltac[®] EC (30% at 48 h and 85% at 72 hours). Pyrethrum PNC – 17 had zero efficacy, and a very low efficacy was recorded for FerrumOil[®], and Boundary[®] SW (Figure 1C).

DISCUSSION

Seven agrochemical products were evaluated under laboratory conditions for the control of *P. oblongus* adults with the aim of identifying the products suitable to replace the broad-spectrum insecticide chlorpyrifos-methyl.

Spinosad (SpinTor[®]) had poor efficacy upon contact with the dried residue (10% after 24 h), the highest efficacy occurred 72 h after direct contact (85%), and after ingestion (85%). Bažok et al. (2016) achieved the highest effectivity of a spinosad by ingestion (36.36%) and ingestion combined with direct contact (45.45%) on the sugar beet weevil, *Bothynoderes punctiventris* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae) and 100% mortality after 24 h (direct spraying) was observed via contact with SpinTor[®] residues on *Phyllobius oblongus* (Skalský et al. 2015).

Mospilan[®] 20 SP had low efficacy after residual contact on *P. oblongus* adults, and its highest effectivity was achieved by ingestion (80% after 72 hours). This product has, however, been effective against the strawberry blossom weevil, *Anthonomus rubi* (Herbst, 1795) (Coleoptera: Curculionidae) (Labanowska et al. 2000). Thiamethoxam, a second-generation neonicotinoid, has been proven effective 72 h after ingestion of treated leaves against the eucalyptus snout beetle adults, *Gonipterus scutellatus* (Gyllenhal in Schönherr, 1833) (Coleoptera: Curculionidae), but the efficacy was insufficient 72 h after direct contact (Echeverri-Molina & Santolamazza-Cardone 2010).

Pyrethrin was relatively ineffective in our study on *P. oblongus* by all three methods of exposure. However, the efficacy of pyrethrum can be improved in formulation with other insecticides, such as piperonylbutoxide, gamma-cyclodextrin, or botanical oils (Watts & Berlin 1950; Biebel et al. 2003). Wanyika et al. (2009) found pyrethrins are effective against maize weevils [*Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855)] (Coleoptera: Curculionidae) when applied with oils extracted from

Azadirachta indica A. de Jussieu (neem tree), *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum, and *Gossypium hirsutum* Linnaeus. Natural pyrethrum extracts are very quickly degradable by UV (ultraviolet) light and lose their insecticidal activity. Therefore, it is necessary to make them photostable in pesticide formulations (Maina et al. 2016). Based on the references cited above, it is possible that the efficacy of Pyrethrum PNC – 17 could be improved by the addition of oils to the tank mixes, or when this active ingredient will be formulated into the final product. However, further investigation is warranted, due to the high probability of resistance.

According to the manufacturer, the mode of action of Siltac[®] EC is to physically create a thin, sticky film on the body of the insect that immobilises and rapidly eliminates them. The product is recommended for use on fruit trees and berries to control aphids, spider mites, rust mites, psyllids, and scale larvae (ICB Pharma 2019). However, our experiments indicate that this product may have other modes of action.

Both fertiliser products, Boundary[®] SW and FerrumOil[®], were low in the lethality of *P. oblongus*. In a previous study, however, Boundary[®] SW was 100% effective against the leaf-rolling beetles, *Anthonomus pomorum* (Linnaeus, 1758) and *Tatianaerhynchites aequatus* (Linnaeus, 1767) 24 h after being sprayed directly using a hand sprayer (Skalský 2017). To our knowledge, FerrumOil[®] has never been tested for its effect on pests. This product did not show any potential for acting against *P. oblongus*.

Our study offers an initial screening of agrochemicals, which require further investigation and field testing in commercial crops for the control of *P. oblongus*. Our laboratory tests showed a huge potential for SpinTor[®] and Siltac[®] EC, both of which could be incorporated into organic and IPM crops to reduce foliar and flower damage to fruit trees by *P. oblongus*. However, further field testing is required to support this.

REFERENCES

- Abbott W.S. (1925): A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265–267.
- Bacci L., Lupi D., Savoldelli S., Rossaro B. (2016): A review of Spinosyns, a derivative of biological acting substances as a class of insecticides with a broad range of action against many insect pests. *Journal of Entomological and Acarological Research*, 48: 40–52.
- Barzman M., Bärberi P., Birch A.N.E., Boonekamp P., Dachbrodt-Saaydeh S., Graf B., Hommel B., Jensen J.E., Kiss

<https://doi.org/10.17221/75/2019-PPS>

- J., Kudsk P., Lamichhane J.R., Messéan A., Moonen A.-C., Ratnadass A., Ricci P., Sarah J.-L., Sattin M. (2015): Eight principles of integrated pest management. *Agronomy for Sustainable Development*, 35: 1199–1215.
- Balan V., Ivascu A., Drosu S., Chireceanu C., Oprea M., Tudor V., Roman M., Gherghe P. (2001): Development of integrated fruit production at the Research Station for Fruit Tree. In: International Conference on Integrated Fruit Protection: Avilla J., Polesny F. (eds): Growing Baneasa. Oct 22–26, 2000, Bucharest, Romania Integrated Fruit Protection. IOBC/wprs Bulletin, 24: 67–71.
- Bayley D., Schmidt-Enthling M., Eberhart P., Herrmann J.D., Hofer G., Kormann U. Herzog U. (2010): Effects of habitat amount and isolation on biodiversity in fragmented traditional orchards. *Journal of Applied Ecology*, 47: 1003–1013.
- Bažok R., Šatvar M., Radoš L., Drmić Z., Lemić D., Čačija J., Virić Gašparić H. (2016): Comparative efficacy of classical and biorational insecticides on sugar beet weevil, *Bothynoderes punctiventris* Germar (Coleoptera: Curculionidae). *Plant Protection Science*, 52: 134–141.
- Biebel R., Rametzhof E., Klupal H., Polheim D., Viernsteina, H. (2003): Action of pyrethrum-based formulations against grain weevils. *International Journal of Pharmaceutics*, 256: 175–181.
- Billiald H.E., Straw N.A., Stewart A.J. (2010): Adult fecundity, host plant preferences, field activity and parasitism in the leaf weevil *Ptyllobius pyri* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Bulletin of Entomological Research*, 10: 303–314.
- Bioka (2019): FerrumOil. Available at: <https://www.bioka.sk/produkt/ferrumoil/> (accessed Mar 14, 2019).
- Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture (2018): The register of plant protection products. Available at: <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?type=0&vyhledat=A&stamp=1528228205186> (accessed Jun 5, 2018).
- Cleveland C.B., Mayers M.A., Cryer S.A. (2001): An ecological risk assessment for spinosad use on cotton. *Pest Management Science*, 58: 70–84.
- Dambolena J.S., Zunino M.P., Herrera J.M., Pizzolitto R.P., Areco V.A., Zygodlo J.A. (2016): Terpenes: natural products for controlling insects of importance to human health—a structure-activity relationship study. *Psyche*, 2016: 1–17.
- Echeverri-Molina D., Santolamazza-Cardone S. (2010): Toxicity of synthetic and biological insecticides against adults of the Eucalyptus snout-beetle *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Pest Science*, 83: 297–305.
- Elbert A., Haas M., Springer B., Thielert W., Nauen R. (2008): Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science*, 64: 1099–1105.
- Gall J. (2015): Přehled ochrany rostlin v únoru a březnu. *Rostlinolékař*, 1: 5–15.
- Gazit Y., Gavriel S., Akiva R., Timar D. (2013): Toxicity of baited Spinosad formulations to *Ceratitidis capitata*: from the laboratory to the application. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 147: 120–125.
- ICAS (2018): Boundary SW. Available at: http://www.icas-international.it/index.php?option=com_k2&view=item&layout=item&id=165&Itemid=318&lang=en (accessed Oct 2, 2018).
- ICB Pharma (2019): SILTAC® EC. Available at: <https://icb-pharma.com/en/produkty/siltac/> (accessed May 11, 2019).
- Kerns D.L. (1996): Control of lepidopterous larvae and leafminers in lettuce. *Arthropod Management Tests*, 21: 117–118.
- Kikuta Y., Ueda H., Takahashi M., Mitsumori T., Yamada G., Sakamori K., Takeda K., Furutani S., Nakayama K., Katsuda Y., Hatanaka A., Kazuhiko M. (2012): Identification and characterization of a GDGLipase-like protein that catalyzes the ester-forming reaction for pyrethrin biosynthesis in *Tanacetum cinerariifolium* – a new target for plant protection. *The Plant Journal*, 71: 183–193.
- Kundoo A.A., Dar S.A., Mushtaq M., Bashir Z., Dar M.S., Gul S., Ali M.T., Gulzar S. (2018): Role of neonicotinoids in insect pest management: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6: 333–339.
- Labanowska B.H., Gajek D., Niemczyk E. (2000): Usefulness of Mospilan® 20 SP in integrated pest management of soft fruits. *Bull OILB-SROP*, 23: 137–140.
- Linduska J., Ross M., Baumann D., Parr A. (1998): Foliar sprays to control ear-invading insects on sweet corn. *Arthropod Management Tests*, 23: 95–96.
- Lloyd C.J., Parkin E.A. (1963): Further studies on a pyrethrum® resistant strain of the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.). *Science of Food and Agriculture*, 14: 655–663.
- Lozowicka B. (2015): Health risk for children and adults consuming apples with pesticide residue. *Science of the Total Environment*, 502: 184–198.
- Maina E., Wanyika H., Gacanja A. (2016): Natural pyrethrum extracts photo-stabilized with organo clays. *Journal of Scientific Research and Report*, 9: 1–20.
- Mansour R., Suma P., Mazzeo G., Lebdi K.G., Russo A. (2011): Evaluating side effects of newer insecticides on the vine mealybug parasitoid *Anagyrus* sp. near *pseudococci*, with implications for integrated pest management in vineyards. *Phytoparasitica*, 39: 369–376.
- Markó V., Elek Z., Kovács-Hostyánszki A., Kőrösi A., Somay L., Földesi R., Varga A., Iván A., Báldi A. (2017): Landscapes, orchards, pesticides—Abundance of beetles (Coleoptera) in apple orchards along pesticide toxicity and landscape complexity gradients. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 247: 246–254.
- Morris M.G. (1997): Broad-nosed weevils. Coleoptera: Curculionidae (Entiminae). *Handbooks for the Identification*

<https://doi.org/10.17221/75/2019-PPS>

- of British Insects. Available at: <http://www.thewcg.org.uk/curculionidae/0282.htm> (accessed Jun 21, 2018).
- Nour-Eldin M.A., Sholla S.M.E. (2015): Using different fertilizers for controlling two spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch in green beans plant. Middle East Journal of Agriculture Research, 4: 270–276.
- Pan Europe (2018): EU should ban brain-harming chlorpyrifos to protect health. Available at: <https://www.env-health.org/IMG/pdf/-49.pdf> (accessed Mar 21, 2019).
- Perumalsamy H., Jang M.J., Kim J.R., Kadarkarai M., Ahn Y.J. (2015): Larvicidal activity and possible mode of action of four flavonoids and two fatty acids identified in *Milletia pinnata* seed toward three mosquito species. Parasite Vector, 8: 237–250.
- Reuveni R., Reuveni M. (1998): Foliar-fertilizer therapy — a concept in integrated pest management. Crop Protection, 17: 111–118.
- Rigby D., Cáceres D. (2001): Organic farming and the sustainability of agricultural systems. Agricultural Systems 61: 21–40.
- Rodríguez-González A., Paláez H.J., González-Núñez M., Casquero P.A. (2017): Control of egg and neonate larvae of *Xylotrechus arvicola* (Coleoptera: Cerambycidae), a new vineyard pest, under laboratory conditions. Australian Journal of Grape and Wine Research, 23: 112–119.
- Sarwar M., Salman M. (2015): Success stories of eco-friendly organically acceptable insecticides as natural products discovery. International Journal of Materials Chemistry and Physics, 1: 388–394.
- Savic G. (1963): Adult fecundity, host plant preferences, field activity and parasitism in the leaf weevil *Phyllobius pyri* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Zastita Bilja, 72: 183–194.
- Skalský M., Rybanská D., Silovská I. (2015): Hodnocení účinnosti vybraných přípravků proti *Phyllobius oblongus* (Linnaeus, 1756). Vědecké práce ovocnářské, 24: 129–136.
- Skalský M. (2017): Ověření účinnosti u vybaných přípravků proti nosatcovitým (Curculionidae). Zahradnictví, 16: 20–23.
- Suma P., Zappalà L., Mazzeo G., Siscaro G. (2009): Lethal and sub-lethal effects of insecticides on natural enemies of citrus scale pests. BioControl, 54: 651–661.
- Tillese V., Nef L., Charles J., Hopkin A., Augustin S. (1996): Damaging poplar insects – Internationally important species. Available online at: http://foris.fao.org/static/pdf/ipc/damaging_poplar_insects_eBook.pdf (accessed Dec 19, 2018).
- Trasande L. (2017): When enough data are not enough to enact policy: The failure to ban chlorpyrifos. PLoS Biology 15: e2003671. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003671>
- Wanyika H.N., Kareru P.G., Keriko J.M., Gachanja A.G., Kenji G.M., Mukiira N.J. (2009): Contact toxicity of some fixed plant oils and stabilized natural pyrethrum extracts against adult maize weevils (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 3: 66–69.
- Watts C.N., Berlin F.D. (1950): Piperonyl butoxide and Pyrethrins to control rice weevils. Journal of Economic Entomology, 43: 371–373.
- Witter J.A., Fields R.D. (1977). *Phyllobius oblongus* and *Sciaphillus asperatus* associated with sugar maple reproduction in northern Michigan. Environmental Entomology, 6: 150–154.

Received: June 13, 2019

Accepted: November 27, 2019

Published online: February 10, 2020

4.3. Synergické vlivy herbicidu na bázi glyfosátů a tank mixových smáčedel na slíd'áky

Výstup C: Niedobová, J., Skalský, M., Ouředníčková, J., Michalko, R. and Bartošová, A. 2019: Synergistic effects of glyphosate formulation herbicide and tank-mixing adjuvants on *Pardosa* spiders. *Environmental Pollution*. 249: 338-344 (IF 5.7)

Charakteristika problematiky

Agrochemikálie v životním prostředí mohou skutečně negativně ovlivnit populace užitečných bezobratlých organismů, jako jsou predátoři (Biondi *et al.* 2012; Desneux *et al.* 2007; Galvan *et al.* 2006; Niedobová *et al.* 2016). Stále více studií, které poukazují na skutečnost, že potlačování populací škůdců může být negativně ovlivněno letálními a subletálními vlivy pesticidů na pavouky (Benamú *et al.* 2010; Benamú *et al.* 2013; Brown *et al.* 2015; Evans *et al.* 2010; Korenko *et al.* 2016; Niedobova *et al.* 2016). Subletální vliv přípravků a prostředků na ochranu rostlin může u pavouků způsobit snížení schopnosti hledat potravu, ovlivnění plodnosti a pohybových schopností jedinců (Brown *et al.* 2015; Benamú *et al.* 2013; Everts *et al.* 1991; Niedobová *et al.* 2016). Predační aktivita pavouků, jež je spojená se schopností nalézt kořist, může být základním faktorem negativně/pozitivně ovlivňujícím populace pavouků.

Celosvětově nejprodávanějším pesticidem jsou herbicidy na bázi glyfosátu. Od konce 70. let 20. století se spotřeba glyfosátu zvýšila přibližně stokrát (Myers *et al.* 2016). Za posledních 10 let bylo do agroekosystémů aplikováno cca 6,1 miliardy kilogramů glyfosátu a jeho spotřeba v globálním měřítku stále roste (Benbrook 2016). Změny v chování při hledání potravy, po vystavení herbicidů na bázi glyfosátu, byly u pavouků již popsány (Behrend & Rypstra (2018), Benamú *et al.* (2010), Korenko *et al.* (2016) a Rittman *et al.* (2013)). Herbicidy na bázi glyfosátu jsou prodávány již jako konečné formulace, resp. produkty, bez bližšího popisu obsahu dalších látek jako jsou např. smáčedla, a to z důvodu obchodního tajemství. Pesticidy obsahují základní účinné látky, které jsou toxikologicky testovány (Desneux *et al.* 2007). Dále pak obsahují také specifické přídavné látky, jejichž složení a obsah podléhá obchodnímu tajemství (Mesnage *et al.* 2014; Sorgan *et al.* 2010). Velmi významná jsou v tomto ohledu smáčedla, která jsou součástí mnoha pesticidů (Cox and Sorgan, 2006). Smáčedla zvyšují účinnost a další vlastnosti takových směsí pesticidů (Holland 1996). Pouze velmi málo studií bylo věnováno problematice smáčedel a jejich subletálnímu vlivu na užitečné členovce. Právě tomuto tématu se věnuje předkládaná studie, konkrétně tedy zkoumání predáční schopnosti a následným změnám v čase u slíd'áků rodu *Pardosa* po přímé expozici glyfosátu samotného, v kombinaci se smáčedly a smáčedly samotnými.

Metodický postup

Subadultní pavouci a dospělé samice rodu *Pardosa* (N=177) byli odebráni z lesa na Vyškovsku. Pavouci byli determinováni dle Nentwig *et al.* (2018) jako komplex druhů *Pardosa lugubris/alacris*. Tito pavouci se vyskytují v ovocných sadech, kde se běžně aplikují herbicidy na bázi glyfosátu a jejich tank-mixy se smáčedly. Pavouci rodu *Pardosa* jsou predátoři s denní aktivitou, a proto mohou být níže zmíněnými prostředky přímo zasaženi.

Pavouci byli umístěni do plastových válcových lahviček s navlhčeným vatovým tampónkem. Všichni jedinci byli krmeni ad libitum octomilkou obecnou *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) po dobu šesti dnů. Před pokusem se nechali pavouci hladovět po dobu sedmi dnů dle Niedobové *et al.* (2016).

Pavouci byli náhodně vybráni do šesti skupin v návaznosti na testované varianty: Roundup klasik Pro, Wetcit, Agrovital, Roundup klasik Pro + Wetcit, Roundup klasik Pro + Agrovital a kontrola. Každá skupina, resp. varianta, obsahovala 29 - 30 jedinců. Jednotliví pavouci byli ošetřeni pod Potterovou věží (výrobce Burkard Scientific) při tlaku 50 kPa, aby bylo dosaženo nástřiku $2 \text{ mg/cm}^2 \pm 10 \%$. Ihned po aplikaci byli pavouci umístěni jednotlivě do Petriho misek s filtračním papírem na dně. Každému pavoukovi byly nabídnuty tři octomilky. V rámci prvního experimentálního dne byl zaznamenáván každou hodinu počet usmrcených octomilek (celkem čtyřikrát). Současně byly odebrány mrtvé octomilky a byly nahrazeny živými, vždy do počtu 3 ks pro jednoho pavouka. Při statistickém hodnocení byla brána do úvahy velikost jedinců, čas a přípravek či kombinace přípravků. Pro hodnocení byly použity Linear mixed effects models (LME), pracovalo se v programu R.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

journal homepage: www.elsevier.com/locate/envpol

Synergistic effects of glyphosate formulation herbicide and tank-mixing adjuvants on *Pardosa* spiders[☆]

Jana Niedobová^{a, *}, Michal Skalský^b, Jana Ouředníčková^b, Radek Michalko^c, Adéla Bartošková^a

^a Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of AgriSciences, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

^b Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd., Holovousy 129, 508 01, Hořice, Czech Republic

^c Department of Forest Ecology, Faculty of Forestry and Wood Technology, Mendel University in Brno, Brno, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 January 2019

Received in revised form

4 March 2019

Accepted 9 March 2019

Available online 11 March 2019

Keywords:

Spider

Surfactant

Herbicide

Tank mix

Foraging behavior

ABSTRACT

Glyphosate-based herbicides are the world's most consumed agrochemicals, and they are commonly used in various agroecosystems, including forests, as well as in urban zones and gardens. These herbicides are sold as formulations containing adjuvants. Other tank-mixing adjuvants (most often surfactants) are commonly added to these formulations prior to application. According to the manufacturers of agrochemicals, such tank mixes (as these are known in agronomic and horticultural practice) have modified properties and perform better than do the herbicides as used alone. The effects of these tank mixes on the environment and on beneficial arthropods are almost unknown. Therefore, we studied whether a herbicide formulation mixed with adjuvant has modified effects on one of the most common genera of ground-dwelling wolf spiders vis-à-vis the herbicide formulation and adjuvants themselves. Specifically, we studied the synergistic effect in the laboratory on the predatory activity (represented by the number of killed flies) of wolf spiders in the genus *Pardosa* after direct treatment using the glyphosate-based herbicide formulation Roundup klasik Pro[®], Roundup klasik Pro[®] in a mixture with the surfactant Wetcit[®], Roundup klasik Pro[®] in a mixture with the surfactant Agrovital[®], and the surfactants alone. We found that pure surfactants as well as herbicide-and-surfactants tank mixes significantly decrease the predatory activity of *Pardosa* spiders in the short term even as Roundup klasik Pro[®] did not itself have any such effect. Our results support the hypothesis that plant protection tank mixes may have modified effect on beneficial arthropods as compared to herbicide formulations alone. Therefore, testing of pesticide tank mixes is highly important, because it is these tank mixes that are actually applied to the environment.

© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Agroecosystems, but also ecosystems of gardens, parks, and urban greenery, are inhabited by numerous beneficial arthropods that are useful in terms of the valuable ecosystem services and biodiversity they provide (Miller, 2008; Pekár and Kocourek, 2004). Agrochemicals in the environment have many direct negative effects and can seriously affect beneficial invertebrate organisms such as predators (Biondi et al., 2012; Desneux et al., 2007; Galvan et al.,

2006; Niedobová et al., 2016). Increasing evidence suggests that pest suppression can be weakened by plant protection products having lethal but also sublethal effects on spiders (Benamú et al., 2010; Benamú et al., 2013; Brown et al., 2015; Evans et al., 2010; Korenko et al., 2016; Niedobová et al., 2016; Niedobová et al., 2018). Reduced foraging behavior, changes in fecundity, and changes in mobility are examples of sublethal effects that have been found in spiders after agrochemical exposure (Brown et al., 2015; Benamú et al., 2013; Everts et al., 1991; Niedobová et al., 2016; Niedobová et al., 2018). Predatory activity, which is connected with foraging behavior in spiders, may be a very important feature of the food web and consequently a driver of population and community dynamics, and so contact with agrochemicals could shift these very important food web linkages within the environment.

[☆] This paper has been recommended for acceptance by Prof. Dr. Klaus Kümmerer.

* Corresponding author.

E-mail address: naudia@seznam.cz (J. Niedobová).

The world's best-selling agrochemicals are glyphosate-based herbicides. Since the late 1970s, glyphosate consumption has increased approximately 100-fold (Myers et al., 2016). Glyphosate is the active ingredient contained in more than 750 different products used in numerous agroecosystems as well as for urban and home application (Guyton et al., 2015). These products are also commonly used as desiccants due to their ability to accelerate harvest of soybeans and other oil seed crops, dry edible beans, wheat, barley, and many other crops (Bennet and Shaw, 2000; Blackburn and Boutin, 2003; Gottrup et al., 1975; McNaughton et al., 2015; Mitsis et al., 2011; Whigham and Stoller, 1979). Over the past decade, 6.1 billion kilograms of glyphosate have been applied to agroecosystems, and their global consumption continues to grow (Benbrook, 2016). Changes in foraging behavior after exposure to glyphosate-based herbicide formulation in spiders have been reported by Behrend and Rypstra (2018), Benamú et al. (2010), Korenko et al. (2016), and Rittman et al. (2013).

Glyphosate herbicides are sold as formulations. Pesticide formulations generally contain active ingredients, which are toxicologically tested (Desneux et al., 2007), as well as specific additives, which are classified as inert and their specification is a trade secret (Mesnage et al., 2014; Sargan et al., 2010). Adjuvants are among the very important such additives, and large proportions of them are commonly included into plant protection products (Cox and Sargan, 2006). These materials enhance the activity or other properties of a pesticide mixture (Holland, 1996). The consumption of agronomic adjuvants is increasing. It has been projected that the agricultural adjuvants market has been expanding at a compound annual growth rate of 5.6% in recent years and that it will reach the value of \$3.18 billion by 2019 (MarketsAndMarkets.com, 2015). Neither toxicological evaluation nor authorization is required for adjuvants (Commission Regulation (EC) No 1107/2009), although it has been found that they can have lethal effect on various organisms, including beneficial arthropods (Cowles et al., 2000; Druart et al., 2010; Goodwin and McBrydie, 2000; Sims and Appel, 2007). Only very rarely have surfactants and their sublethal effects on beneficial arthropods been studied. Niedobová et al. (2016) did, however, find that agronomic surfactants significantly affected short-term predatory activity of *Pardosa agrestis* (Westring, 1861) spiders.

Although in the past glyphosate herbicides have been described as minimally harmful to the environment (Baylis, 2000; Lundgren, 2009; Howe et al., 2004), in 2015 the World Health Organization's International Agency for Research on Cancer classified glyphosate as "probably carcinogenic to humans" (Guyton et al., 2015). Numerous studies have shown glyphosate-based herbicide formulations to be harmful to human cells and to rat liver cells, and adjuvants have been found to be the cause of toxicity (Mesnage et al., 2013; Mesnage et al., 2015; Peixoto, 2005). These findings are very serious, because agronomic adjuvants are also offered separately for tank mixing. Most commonly these adjuvants are surfactants and are mixed with the formulated product and water in the sprayer tank before field application (Hochberg, 1996; Leaper and Holloway, 2000). This procedure produces chemical tank mixes with completely unknown effects on beneficial arthropods, the terrestrial environment, and human health. Although Cedergreen (2014) reviewed the cocktail effect and synergistic interactions within the environment of chemicals in mixtures, studies dealing with mixtures of formulated pesticides and adjuvants are still lacking, despite the frequent use of such mixtures. It is very important, therefore, to determine the real effect of the pesticide tank mixes actually applied and to identify which compounds of tank mixes or their combinations could negatively affect the ecosystem services provided by beneficial arthropods. These ecosystem services have been valued at several billion dollars

annually in the United States alone (Wyckhuys et al., 2013). Because such natural enemies as predators and parasitoids are able significantly to suppress pest populations, they are today valued components of pest management programs that are directed to agricultural sustainability (Barzman, 2015; Furlong and Zalucki, 2010).

Spiders are ideal model organisms for testing the effects of agrochemicals on beneficial arthropods. Ground-dwelling spiders, and in particular wolf spiders (Lycosidae), are the most ubiquitous generalist predators in the temperate zone (Wise, 1993). Their prey spectrum consists of species at different trophic levels, including herbivore pest species, and therefore they are able to reduce pest populations significantly (Birkhofer et al., 2008; Kuusk et al., 2008; Oelbermann et al., 2008; Oelbermann et al., 2009; Wise, 1993). To our knowledge, agrochemical mixtures of herbicide and surfactant have been studied only once, the result being that such mixture was shown to be lethal to theridiid spiders (Evans et al., 2010). The lack of evidence about tank mixtures of herbicide and surfactant is surprising, because agrochemical mixtures are commonly applied to field and forest agroecosystems, as well as to urban parks and gardens.

Because predatory activity in spiders is directly connected with pest suppression, our research was directed to studying prey capture efficiency and its changes over time in lycosid spiders of the genus *Pardosa* after direct exposure to the glyphosate formulation Roundup klasik Pro[®], to Roundup klasik Pro[®] in a mixture with the surfactant Wetcit[®], to Roundup klasik Pro[®] in a mixture with the surfactant Agrovital[®], and to the surfactants alone. The impact of mere disturbance caused by agrochemicals can be sometimes comparable with lethal effect, because spiders cease attacking prey (e.g., Michalko and Kosulić, 2015).

2. Materials and methods

2.1. Studied species, collection, care, and preparation for experiments

The genus *Pardosa* is a widely distributed ground-dwelling generalist predator in agroecosystems of the temperate zone (Lang, 2003). This genus also is used as a model organism for studying the effects of herbicides and surfactants (Michalková and Pekar, 2009; Niedobová et al., 2016; Korenko et al., 2016; Behrend and Rypstra, 2018). Subadult and adult females (N = 142) were collected in agrochemically untreated light forest at Drnovice, Czech Republic (49.2779258 N, 16.9373344E). On 24 April 2018, spiders were collected by hand separately into plastic tubes (13 mm in diameter and 60 mm long) each containing a moistened piece of facial tissue.

Spiders in plastic tubes were placed into laboratory conditions (22 ± 1 °C, 75 ± 5% RH and 16:8 [light:dark] photoperiod). With reference to Nentwig et al. (2018), they were determined as *Pardosa lugubris* group, which consists of two closely related species in central Europe: *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) and *Pardosa alacris* (C. L. Koch, 1833). Adult females of the two species are mostly indistinguishable (Kronstedt, 1992, 1999). These species are among the most common *Pardosa* species in Europe (Nentwig et al., 2018). Both species occur on the ground in orchard agroecosystems (Čejka et al., 2018), where glyphosate-based herbicides are commonly applied at ground level in the rows between orchard crops (Pesticides Action Network Europe, 2017). The two species also occur in urban parks and light forests (Fedoriak et al., 2012; Kúrka et al., 2015), where glyphosate-based herbicides are the most commonly used pesticides in forestry (Mihajlovich et al., 2004; Rolando et al., 2017). Spiders of the genus *Pardosa* are ground-dwelling with diurnal activity and may therefore come into

direct contact with herbicide tank mixes, because these agrochemicals are usually applied during the daytime without restrictions due to the flight activity of the bees.

Spiders were fed ad libitum with fruit flies *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (Diptera: Drosophilidae) for 6 days in total. Fruit flies are well accepted by *Pardosa* spiders (e.g., Behrend and Rypstra, 2018; Korenko et al., 2016; Niedobová et al., 2016). Prior to the experiment, spiders were then fasted for 7 days as described by Niedobová et al. (2016).

2.2. Agrochemical characteristics, preparation, and spraying

We used a commercial formulation of the herbicide Roundup klasik Pro[®], which contain 360 g/l of glyphosate. This formulation is produced by Monsanto Europe S.A. As surfactants, we used two products regarded as compatible with organic farming. The first, Wetcit[®], is a surfactant distributed by Oro Agri International Ltd (Fresno, CA, U.S.A.). Active ingredients are alcohol ethoxylate (10 g/l) and orange oil (50 g/l). Wetcit[®] is recommended for use with insecticides, fungicides, herbicides, and foliar fertilizers (Oro Agri, 2018). The second, Agrovital[®], is a surfactant manufactured by All agrochemicals were tested at the recommended field concentrations for orchards, according to the product labels, and following the instructions provided by the Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture (2018). In actual practice, Roundup klasik Pro[®] is generally applied at the dose of 6 l/ha with 200 l/ha of water. Concentrations for surfactants were: 0.3% for Wetcit and 0.14% for Agrovital. All agrochemicals were diluted in distilled water. The equivalent applied dose for spraying was recalculated to 2.06 mg/cm². Distilled water was used as a control treatment.

2.3. Laboratory testing

Spiders were divided into three categories according to size: small (mean [range] = 1.56 mm [1.3–1.83]), medium (mean [range] = 2.16 [1.84–2.37]), large (mean [range] = 2.54 mm [2.38–2.9]) to standardize their natural prey capture rate probability. Length and wide of prosoma was used as an aspect of size. This measurement was included into statistical analysis. Spiders from each category were then randomly selected into six treatment groups: Roundup klasik Pro[®] (N = 20), Wetcit[®] (N = 25), Agrovital[®] (N = 25), Roundup klasik Pro[®] + Wetcit[®] (N = 24), Roundup klasik Pro[®] + Agrovital[®] (N = 22), and Control (N = 26). Spiders were placed into small plastic chambers and treated under a Potter precision laboratory spray tower (Burkard Scientific) at 50 kPa of pressure to achieve agrochemical deposits of 2 mg/cm² ± 10%. This is the concentration recommended by the International Organization for Biological Control for ecotoxicological experiments on beneficial arthropods (Hassan, 1994). Immediately after spraying, spiders were placed into Petri dishes (5 cm in diameter) with filter paper on the bottom and with a piece of moistened facial tissue. Each Petri dish was marked with an exclusive code, consisting of an abbreviation for the treatment and number of the spider. Each spider was used only once. The methodology of studying short- and long-term predatory activity followed Niedobová et al. (2016). Fruit flies *D. melanogaster* were provided in the number of three individuals to each spider. During the first day (the day of spraying) the numbers of killed or consumed flies (recorded as death flies) were recorded each hour, four times in total. Killed or consumed flies were replaced with live ones to maintain the constant density of three flies each hour. The experiment continued over the next 4 days with the same spiders, the difference being that killed or consumed flies were recorded and replaced with live ones every 24 h. In total, then, we obtained four records for each spider of short-term predatory activity and four records for each spider of

long-term predatory activity. Spiders that molted 3 days before the spraying, during the experiment, or within 24 h after completion of the experiment were excluded from further analyses. The reason for this is that spiders which are soon to molt do not accept food and spiders which have just molted are very sensitive to agrochemicals (Heimbach et al., 2000). We also conducted an additional experiment where we observed the mortality of flies during 4 h. We established 30 Petri dishes each with 3 flies (N = 90) and observed the mortality for 4 h.

2.4. Statistical analyses

All statistical analyses were carried out in the R environment (R Development Core Team, 2014). We used linear mixed effects models (LME) to analyze the relatively short-term (4 h) and long-term (5 days) effects of agrochemicals on the mean predatory activity of *Pardosa* spiders. The individuals' identifications represented the random effects. The fixed effects consisted of the main effects treatment, time, size, and all their possible two-fold and three-fold interactions (Table 1). The terms were removed by backward selection according to the rule of marginality and their significance. Time acted as a factor, as we had only four-point measurements and the relationship might not be linear. When we investigated the long-term effect, the response variable was log_e(x + 1) transformed to approach normality. We also added the varIdent (treatment, time) and varExp (size) variance functions to deal with the heteroscedasticity. In the figures, we present only the effects of treatment and time for the population mean size (i.e., carapace length = 2.3 mm) because the size served only as a covariate that could affect the results, and the relationship between size and predatory activity was not size-specific (Table 1).

3. Results

In this study, we found no lethal effect of the tested agrochemicals and their mixtures on *Pardosa* spiders, but we found effects on predatory activity caused by commonly used field doses and application rates. There was a significant interaction between treatment and time (LME, P = 0.004, Fig. 1, Table 1). During the first hour, only the mixture of Roundup klasik Pro[®] and Agrovital[®] and the Wetcit[®] significantly reduced the predatory activity of spiders in comparison to the control (contrasts, P < 0.028). Other treatments did not differ significantly (contrasts, P > 0.109). During the second hour, only the mixture of Roundup klasik Pro[®] and Wetcit[®] and Agrovital[®] reduced the predatory activity in comparison to the control (contrasts, P < 0.007). Other treatments did not differ significantly from the control (contrasts, P > 0.084). During the third

Table 1
Results from linear mixed effects models investigating the effect of pesticides on *Pardosa* spiders. Significant effect of pesticides is highlighted in bold.

Duration	Term	F-value	d.f.	P-value
Short-term	Treatment	1.7	5112	0.137
	Size	38.3	1112	<0.001
	Time	26.1	3339	<0.001
	Treatment: Size	0.7	5107	0.591
	Treatment: Time	2.3	15,339	0.004
	Size: Time	1.4	3336	0.235
	Treatment: Size: Time	1.5	15,321	0.122
Long-term	Treatment	1.0	5111	0.442
	Size	68.5	1116	<0.001
	Time	5.9	3344	<0.001
	Treatment: Size	2.0	5106	0.083
	Treatment: Time	1.1	15,326	0.344
	Size: Time	2.1	3326	0.095
	Treatment: Size: Time	1.0	15,311	0.464

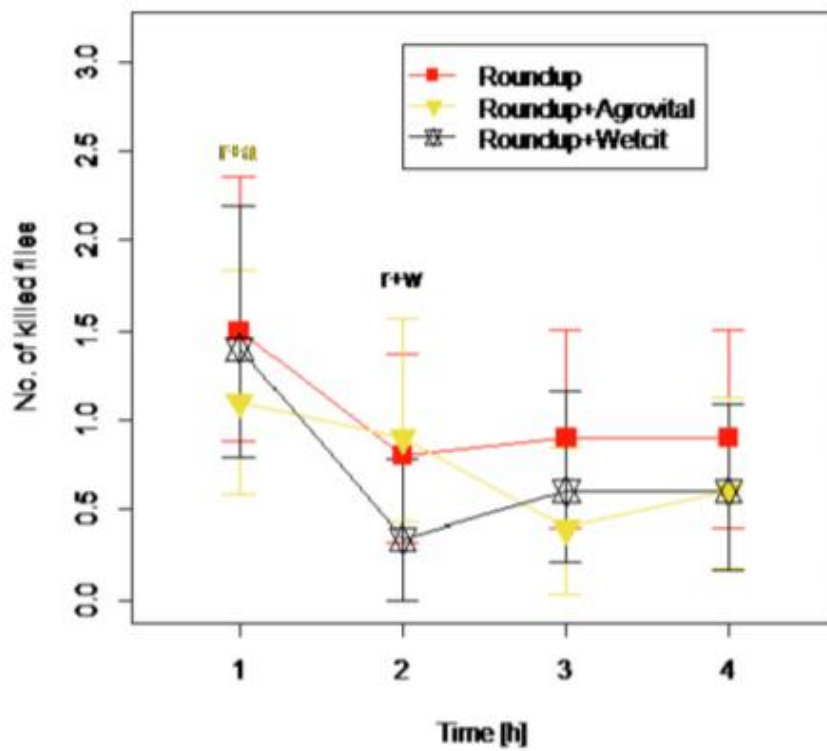
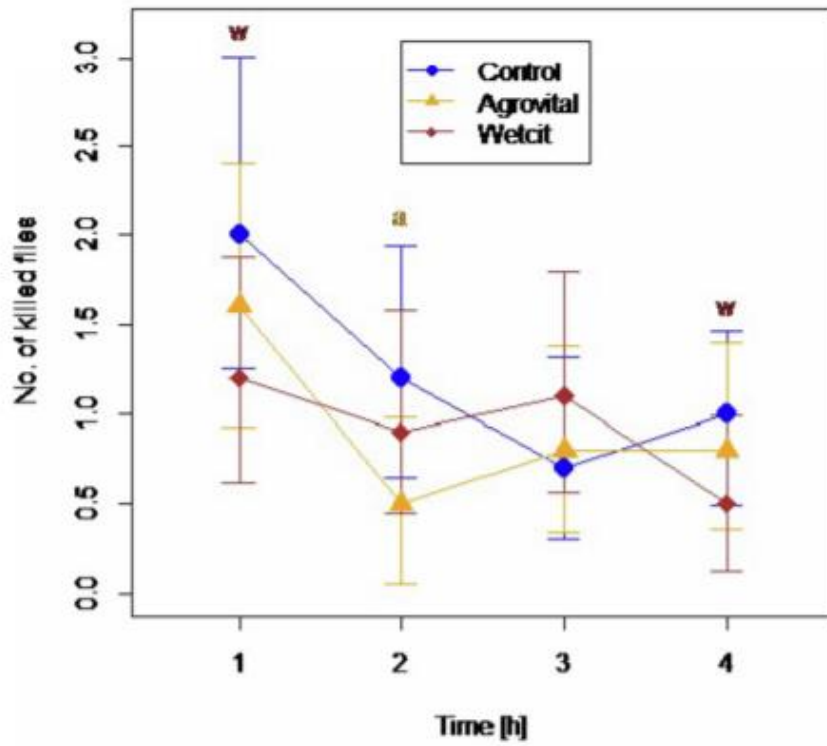




Fig. 2. *Pardosa* sp. sprayed with tested products and their mixtures. Surface tension of spiders is disrupted and spiders are wetted after treatments by pure surfactants, herbicide and surfactant mixtures, but also herbicide alone.

hour no treatment differed from the control (contrasts, $P > 0.120$). During the fourth hour, only Wetcit[®] reduced the predatory activity (contrasts, $P = 0.048$) while other treatments did not differ significantly from the control (contrasts, $P > 0.106$). The differences among treatments in number of killed flies were not blurred by the natural mortality of flies, which was low during the 4 h of experimental trials (3%, authors unpubl.). There was no significant long-term effect of the agrochemicals on the mean behavior (LME, $P = 0.083$, Table 1). We also found out, that *Pardosa* spiders were completely wetted after all agrochemical treatments (Fig. 2).

4. Discussion

Our objective was to test whether the commonly used glyphosate herbicide Roundup klasik Pro[®], the Roundup klasik Pro[®] in a mixture with the surfactant Wetcit[®], the Roundup klasik Pro[®] in a mixture with the surfactant Agrovital[®], and the surfactants alone affect the predatory activity of the widely distributed wolf spider species from the *Pardosa lugubris* group.

We did not find the lethal effect of the tested agrochemicals. Lethal effect of glyphosate-based herbicides also had not been found in previous studies (Behrend and Rypstra, 2018; Benamú et al., 2010; Korenko et al., 2016; Micháľková and Pekár, 2009; Wrinn et al., 2012). A lethal effect of adjuvant and pesticide mixture has been detected in the theridiid spider *Steatoda capensis* (Evans et al., 2010), in the hymenopteran parasitoid wasp *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Cocco and Hoy, 2008), and also in two predatory mites, *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt, 1951) and *Hemichyletia wellsina* Summers & Price, 1970 (Ray and Hoy, 2014).

We also did not find changes in predatory activity after Roundup klasik Pro[®] treatment, although a number of other authors have found differences in predatory behavior after treatment with glyphosate-based herbicide formulations. Behrend and Rypstra (2018) found that foraging behavior of the lycosid spider *Pardosa milvina* (Hentz, 1844) was affected after exposure to Buccaneer plus[®]. Also, Benamú et al. (2010) recorded changes in consumption pattern at 24 h post-treatment in the orb-weaver spider *Alpaida*

veniliae (Kayslerling, 1865). On the other hand, Micháľková and Pekár (2009) did not find changes in capture and consumption of flies in the lycosid spider *Pardosa agricola* (Thorell, 1856) after exposure to residues of Roundup Biaktiv[®]. We believe that differences in results could be caused by differences in the methods of herbicide application, dose, and spider species, as well as in herbicide composition, because different formulations are used in various commercial products). Herbicides formulations based on glyphosate include one or more adjuvants (Mesnage et al., 2015). Mesnage et al. (2013) found that formulations of glyphosate-based herbicide, which are always mixtures of active compound and adjuvants, were more toxic for human cells than was the active ingredient glyphosate. Similar results were published by Peixoto (2005) in relation to mitochondrial oxidative phosphorylation of rat's liver.

We found that both tank-mixing adjuvants affected predatory activity of spiders in the short term. Adjuvant-treated spiders preyed significantly less on flies in comparison to those in the control group. Wetcit[®] significantly reduced predatory activity during the first and fourth hours. Agrovital[®] significantly reduced predatory activity during the second hour. Niedobová et al. (2016) had reported that surfactants Saman[®], Trend 90[®], and Wetcit[®] significantly affected short-term predatory activity of the lycosid spider *Pardosa agrestis*. They found that Wetcit[®] treatment in minimally recommended concentration 1.5% caused predatory activity by males to increase significantly, but that of females was not affected. In our study, we did not evaluate sex-specific effect, because we studied only females. We used the maximally recommended concentration 0.3% and predatory activity of females decreased. This surfactant's mode of action on spiders is unknown and requires further investigation. Because Wetcit[®] is also allowed for organic farming, its negative effect on beneficial organisms was not expected. The effect of Wetcit[®] on spiders' predatory behavior could be caused by the orange oil compound, which is known to have properties toxic to insects (Kim and Lee, 2014).

We also found that glyphosate herbicide and surfactant mixtures have synergistic effect on the predatory activity of *Pardosa*

Fig. 1. Short-term comparison of the number of flies killed by *Pardosa* spiders exposed to the water control and pure adjuvants (A) or herbicide and mixtures of herbicide and adjuvants (B). Superscripts indicate which groups (w – wetcit, a – agrovital, r+a – Roundup klasik pro + agrovital, r+w – roundup klasik pro + wetcit) differed from the control ($P < 0.05$). Points indicate mean values and segment lines denote 95% confidence intervals.

4.4. Účinky tzv. „ekologicky šetrných“ agrochemikálií na slunéčko východní *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae)

Výstup D: Niedobová, J., Skalský, M., Faltýnek, Z. F., Hula, V. and Brtnický, M. 2019: Effects of so-called "environmentally friendly" agrochemicals on the harlequin ladybird *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*. 116: 173– 177. ISSN 1210-5759. DOI: 10.14411/eje.2019.018. (IF 1.0)

Charakteristika problematiky

Slunéčka jsou velmi významní predátoři mnoha druhů živočišných škůdců (Gao *et al.* 2009; Harwood *et al.* 2009; Greenstone *et al.* 2010; Moser *et al.* 2011; Aslam *et al.* 2013; Zilnik & Hagler 2013). Jedním z celosvětově nejrozšířenějších druhů náležících do čeledi Coccinellidae je slunéčko východní (*Harmonia axyridis*), vyskytující se v mnoha různých přirozených i zemědělských stanovištích (Brown & Miller 1998; Seo & Youn 2000; Koch 2003; Snyder *et al.* 2004; Brown *et al.* 2011). Tento druh je přirozeným regulátorem například následujících škůdců ovoce - mšice třešňové *Myzus cerasi* (Fabricius, 1775), mery skvrnitě *Cacopsylla pyri* (Linnaeus, 1761), mšice jabloňové *Aphis pomi* (de Geer, 1773), mšice švestkové *Hyalopterus pruni* (Geoffroy, 1762), mšice jitrocelové *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) atd. (Nedvěd 2014). Vzhledem k tomu, že je slunéčko východní aktivní ve dne, dostávají se všechna vývojová stádia slunéčka do kontaktu s aplikovanými pesticidy. I to je jedním z důvodů, proč je slunéčko východní používáno jako modelový organismus vědeckých prací zaměřených na studium vlivu pesticidů na užitečné členovce (Vincent *et al.* 2000; Michaud 2002; James 2003; Youn *et al.* 2003; Galvan *et al.* 2006). Přestože je u pesticidů vyžadováno hodnocení a posuzování rizik (Desneux *et al.* 2007), vedlejší vliv těchto prostředků na užitečné členovce hodnocen není. Proto byla zpracována studie zaměřená na hodnocení vlivu přípravků a prostředků ochrany rostlin, obsahující účinné látky na přírodní bázi, na larvy a dospělé slunéčka východního. A to v porovnání s širokospektrální účinnou látkou toxickou pro mnoho necílových orgasnimů, chlorpyrifos-methylem (Reldan 22).

Metodický postup

Předmětem studie bylo testování vlivu vybraných přípravků a prostředků na ochranu rostlin na mortalitu larev a dospělců slunéčka východního. Pro testování byly použity dva prostředky na ochranu rostlin na přírodní bázi s vedlejšími insekticidními účinky Boundary SW a Prev B2. Pro porovnání byl použit širokospektrální insekticid Reldan 22, organofosfát s účinnou látkou chlorpyrifos-methyl. Kontrolní varianta byla ošetřena destilovanou vodou. Larvy 4. instaru a dospělci

byli odebráni z neošetřovaných výsadeb VŠÚO Holovousy, s.r.o.. Následně došlo k jejich přemístění do laboratoře, kde byli odchycení jedinci umístěni do Petriho misek (průměr 85 mm) s filtračním papírem na dně. Všem jedincům byla poskytnuta potrava ad libitum v podobě mšice jabloňové (*Aphis pomi*) a vatový tamponěk jako zdroj vody. Larvy a dospělci byli náhodně rozděleni do čtyř skupin, korespondujících s plánovaným počtem testovaných variant. Každá skupina čítala 32 jedinců, jednotlivě umístěných do Petriho misek (celkem N dospělých=128, celkem N larev=128). Každá larva nebo dospělec byli použiti pro testování jen jednou. Následně byly dle doporučení výrobce namíchaný vybrané agrochemikálie. Přípravky byly aplikovány na testované jedince pomocí farmaceutického aplikátoru, u kterého byla přesně stanovena aplikovaná dávka. Jednalo se o dávku 0,05 ml aplikovanou ze vzdálenosti cca 15 cm. Po ošetření byla testovaným jedincům opět poskytnuta potrava a zdroj vody jako před aplikací. Předmětem hodnocení bylo stanovení mortality po 1, 10, 24, 34, 48, 58 a 72 hodinách od aplikace přípravků. Dosažené výsledky byly podrobeny statistickému zpracování. Rozdíly v přežívání slunéček po aplikaci insekticidů byly hodnoceny v programu R (použita byla analýza přežívání tzv. package "survival" in R x64 3.3.1). Jako proměnné byly použity: maximální čas, po který jedinci přežívali ošetření insekticidy. Hodnotili se živí a mrtví jedinci. Dále byl použit Kaplan-Maier test pro stanovování přežívání s "váhou" log-rank tests ($\rho=0$). Dospělci i larvy posledního instaru byli analyzováni zvlášť.



Effects of so-called “environmentally friendly” agrochemicals on the harlequin ladybird *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae)

JANA NIEDOBOVÁ¹, MICHAL SKALSKÝ^{1,*}, ZDENĚK FALTÝNEK FRIC², VLADIMÍR HULA³ and MARTIN BRTNICKÝ⁴

¹ Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd., Holovousy 129, 508 01 Hořice, Czech Republic; e-mails: naudia@seznam.cz, michal.skalsky@vsuo.cz

² Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Institute of Entomology, Branisovska 31, 370 05 Ceske Budejovice, Czech Republic; e-mail: fric@entu.cas.cz

³ Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of AgriSciences, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic; e-mail: hula@mendelu.cz

⁴ Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic; e-mail: martin.brtnicky@seznam.cz

Key words. Coleoptera, Coccinellidae, *Harmonia axyridis*, beneficial arthropod, integrated pest management, lethal effect, agrochemicals, Prev B2, Boundary SW

Abstract. A variety of plant protection products and other agrochemicals are used in agro-ecosystems. Products approved for integrated pest management (IPM) or organic farming should have minimal negative side effects on beneficial insects. The Asian harlequin ladybird *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) (Coleoptera: Coccinellidae) has become a widespread and important generalist predator of certain agricultural pests, mainly aphids, throughout Europe. We studied the effects of two agrochemicals, Boundary SW[®] (auxiliary plant protection product) and Prev B2[®] (foliar boron fertilizer), usually regarded as “environmentally friendly” and known to have insecticidal side effects against some fruit and vegetable pests (e.g., aphids, spider mites, weevils), on the last larval instar and adults of *Harmonia axyridis*. The conventional organophosphate insecticide Reldan 22[®] was used as a chemical standard for evaluating the lethal effect, because this product is usually effective against a broad spectrum of insects, and indeed was immediately lethal for both the adults and larvae of this species. However, whereas Prev B2[®] had no effect, adult ladybirds sprayed with Boundary SW[®] survived only for up to 25 h and also none of the larvae completed their development. Thus, although our experiments were not made under natural conditions, the use of Boundary SW[®] cannot be recommended for IPM and organic farming in terms of safeguarding insect predators such as *Harmonia axyridis* until further more detailed testing.

INTRODUCTION

Crop protection is usually based on a broad range of chemical pesticides and other agrochemicals, such as auxiliary plant protection products, adjuvants and fertilizers, which can have insecticidal side effects on beneficial arthropods (Desneux et al., 2007; Evans et al., 2010; Korenko et al., 2016; Niedobová et al., 2016). Beneficial arthropods, such as predators are able to significantly suppress pest populations in agro-ecosystems (Greenstone et al., 2010; Suenaga & Hamamura, 2015).

Ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) are very important biological control agents as their prey includes important pest taxa (Gao et al., 2009; Harwood et al., 2009; Greenstone et al., 2010; Moser et al., 2011; Aslam et al., 2013; Zilnik & Hagler, 2013). One of the currently most widespread and abundant species of the family Coccinellidae is the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*, a generalist predator that inhabits a wide range of natural as well as agricultural habitats (Brown & Miller, 1998; Seo & Youn, 2000; Koch, 2003; Snyder et al., 2004; Brown et al., 2011). This species may successfully regulate the abundance of aphids,

coccids, and many other pests. It is able to suppress black cherry aphid *Myzus cerasi* (Fabricius, 1775), pear psylla *Cacopsylla pyri* (Linnaeus, 1761), apple aphid *Aphis pomi* (de Geer, 1773), mealy plum aphid *Hyalopterus pruni* (Geoffroy, 1762), and green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) in orchards (Nedvěd, 2014). Because of its success in pest suppression, this beetle has been introduced as a biocontrol agent around the world (Kuroda & Miura, 2003; LaRock et al., 2003; Pervez & Omkar, 2006; Kinawy et al., 2008; Brown et al., 2011; Adachi-Hagimori et al., 2011). However, besides the role of this species as a biocontrol agent, the establishment of *H. axyridis* outside its native Asian range raised concerns about its possible negative effects on native insects (Brown & Roy, 2018; Masetti et al., 2018).

Ladybirds are vegetation-dwelling and active during the day (Hodek & Honěk, 1996; Seo & Youn, 2000; Nedvěd, 2014). They may therefore come into direct contact with various plant protection products in agro-ecosystems. Harlequin ladybirds are also used as a model organism for studying the effects of pesticides on beneficial arthropods (Vincent et al., 2000; Michaud, 2002;

* Corresponding author; e-mail: michal.skalsky@vsuo.cz

James, 2003; Youn et al., 2003; Galvan et al., 2006). Coccinellid susceptibility to plant protection products varies with species, type of treatment (Theling & Croft, 1988; Biondi et al., 2011) and developmental stage (Banken & Stark, 1997; Youn et al., 2003).

Risk assessments are required for pesticides (Desneux et al., 2007), but tests of agrochemicals, which could have insecticidal side effects on beneficial arthropods, are not required. Insecticidal side effects are referred to on product labels of some fertilizers, surfactants or agents promoting resistance in plants (e.g., ICAS, 2017; Biocont Laboratory, 2018). These products contain substances which are able to suppress some pests, but fall under fertilizer legislation [Council Regulation (EC) No. 834/2007 of 28 June 2007 on organic production and labelling of organic products and amending Regulations (EC) No. 1069/2009 and (EC) No. 1107/2009 COM(2016) 0157 final – 2016/0084 (COD)] is in the legislative process at present (Eur-Lex, 2017), there is currently no effective legislation in Europe dealing with the evaluation of these auxiliary plant protection products.

This preliminary study tests the insecticidal activity of two agrochemicals regarded as “environmentally friendly” for larvae and adults of the widespread generalist predator *H. axyridis*. These agrochemicals were selected on the basis of their current and potential use in agro-ecosystems. Boundary SW[®] is an auxiliary plant protection product containing biological ingredients (seaweed and succulent extracts), which increase the resistance of plants (ICAS, 2017) and also have insecticidal side effects against sucking and chewing pests such as aphids, spider mites, weevils and psyllids (Kloutvorová et al., 2015; Skalský, 2017). Prev B2[®] is a boron foliar fertilizer, which contains orange oil (Biocont Laboratory, 2018). Prev B2[®] is highly efficient against apple aphid (Skalský, 2015). Orange oil affects many species of insects (Sheppard, 1984; Raina et al., 2007) including some beneficial arthropods (Niedobová et al., 2016).

MATERIALS AND METHODS

Compounds and species studied

Fourth-instar larvae and adults of *Harmonia axyridis* were used for studying the effects of two agrochemicals regarded as “environmentally friendly” but with insecticidal side effects: Boundary SW[®] (producer ICAS SLR, Italy) and Prev B2[®] (producer Oro Agri International Ltd.). A broad spectrum insecticide (Reldan 22[®]) and a control sprayed only with water were used for comparison. Reldan 22[®] is a broad-spectrum organophosphate insecticide and its active ingredient, chlorpyrifos-methyl, is also used to protect various crops in many European countries, as well as in Australia and the United States (Li et al., 2015; Miclea et al., 2016; Pesticide Properties DataBase, 2018). Information on all the plant protection products tested, their type, specification, distributor, active ingredients and use is listed in Table 1.

Collection and maintenance of *Harmonia axyridis*

Both adults and larvae were collected by hand on 12 June 2017 on apple trees in orchards of the Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy (RBIP), Holovousy, Czech Republic. The plots where insects were collected were not previously treated with agrochemicals. Adults and larvae were placed separately in Petri dishes (85 mm in diameter) with filter paper on the bottom and reared under laboratory conditions at 22 ± 1°C with a 16L : 8D photoperiod for a week prior to the experiment. Adults and larvae were fed ad libitum with apple aphid (*Aphis pomi*) each day and water was provided on a piece of cotton pad. Only larvae of the last (fourth) instar were used in the experiments. Larvae and adults were identified following Nedvěd (2014, 2015).

Laboratory testing

Larvae and adults were randomly divided into four treatment groups. Each group consisted of 32 individuals and each individual was placed separately in a petri dish (total N adults = 128, total N larvae = 128). Each individual (larvae of last instar or adult) was used only once.

The agrochemicals were diluted in distilled water in accordance with the manufacturers' instructions: 0.5% for Prev-B2[®], 4% for Boundary SW[®] and 0.27% for Reldan 22[®]. The control group was exposed only to distilled water. Treatments were applied by direct spraying following the recommendation for field application. A pharmaceutical pump sprayer with precisely measured aerosol dose of 0.05 ml was used for spraying individuals in Petri dishes from a distance of 15 cm. The amount of treatment solution sprayed on a Petri dish with an individual was recalculated from field rates to the area of the Petri dish. Each Petri dish was marked with an exclusive code for the treatment. After treatments adults and larvae were fed and provided with water as previously. Mortality was determined 1, 10, 24, 34, 48, 58 and 72 h after treatment. The criterion for death was immobility of individuals when stimulated with a fine brush.

Data analysis

Differences in the proportions that survived the effects of insecticides were analysed using Survival Analyses (package “survival” in R x64 3.3.1). We used the maximum time for which the individuals survived as the time variable; individual treatments and the data were censored for the dead or alive status. We calculated a Kaplan-Meier estimate of survival with weighted log-rank tests ($\rho = 0$). We ran the analyses separately for effects of the treatments on adults and larvae of the last instar.

RESULTS

Adults

The survival of adults *H. axyridis* (Fig. 1) was affected not only by the conventional insecticide Reldan 22[®], but also by one of the tested “environmentally friendly” agrochemicals, Boundary SW[®]. The differences in the proportions that survived in the four treatments were strongly significant ($\chi^2 = 86.9$, $df = 3$, $p << 0.001$).

Table 1. Specifications of three plant protection products, two regarded as “environmentally friendly” and one conventional pesticide, used in this study of their possible effects on *Harmonia axyridis*, with an overview of distributor, active ingredient and target crops.

Trade name	Type	Specification	Distributor	Active ingredient	Use
Boundary SW [®]	Environmentally friendly	Auxiliary plant protection product	ICAS srl	Fermented seaweed extract and succulent extract	Fruits, vegetables, crops in greenhouses
Prev-B2 [®]	Environmentally friendly	Boron fertilizer	Oro Agri International Ltd.	Ethanolamine borate (2.1%), Orange oil (4.2%)	Fruits, vegetables, rape, cereals
Reldan 22 [®]	Conventional	Broad-spectrum insecticide	Dow AgroSciences Ltd.	Chlorpyrifos-methyl (225 g/l)	Fruits, cruciferous vegetable seedlings, rape, mustard, grain crops, storage pests

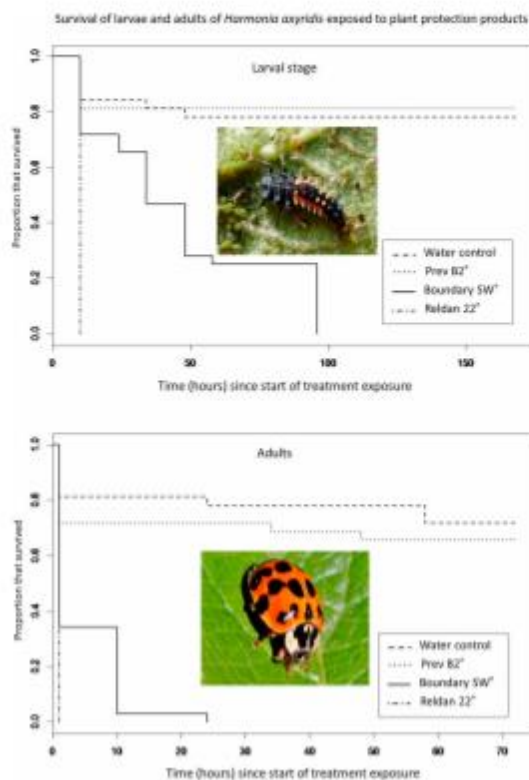


Fig. 1. Proportion of the larvae (top) and adults (bottom) of the lady beetle *H. axyridis* that survived after exposure to two “environmentally friendly” (Boundary SW[®] and Prev B2[®]) and one conventional pesticide (Reldan 22[®]) plant protection products plus a control (distilled water) treatment. The x-axis is the number of hours from start of exposure and y-axis proportion surviving.

The Prev-B2[®] and control treatments resulted in similar curves with only a few deaths and had no effect on the survival of the adult ladybirds, whereas the conventional insecticide Reldan 22[®] resulted in immediate death on spraying. Individuals exposed to Boundary SW[®] survived only for up to 25 h.

Larval stage

The results of the treatments of larvae (Fig. 1) were similar to those for adults. There were significant differences in survival ($\chi^2 = 106$, $df = 3$, $p < 0.001$), with no differences between the control and Prev-B2[®] treatments, immediate death after treatment with Reldan 22[®] and limited survival when treated with Boundary SW[®].

DISCUSSION

Even though none of the tests were carried out under natural conditions, the present study demonstrated that different plant protection products approved for IPM and organic farming can vary widely in their adverse effects on larvae and adults of *H. axyridis*. Although the method used (direct spraying in petri dishes with no possibility of escape) may represent the “maximum challenge” scenario for the experimental insects, no statistically significant decrease in survival of larvae or adults was recorded when treated with Prev-B2[®]. Kolafik (2017) also reports that contact with the residue of this product has no lethal effect on the

bumblebee *Bombus terrestris*. However, this study did not address possible sub-lethal effects. Agrochemicals can in various ways impair the performance of individuals that survive exposure to a given treatment (Desneux et al., 2007; Niedobová et al., 2016; Depalo et al., 2017). Prev-B2[®] contains orange oil, which is reported to be toxic for the Formosan subterranean termite (*Coptotermes formosanus* Shiraki, 1909), house fly (*Musca domestica* Linnaeus, 1758) and red fire ant (*Solenopsis invicta* Buren, 1972) (Sheppard, 1984; Raina et al., 2007). Orange oil is also a component of the non-ionic surfactant Wetcit[®], and Niedobová et al. (2016) report that Wetcit[®] affects the predatory activity of the wolf spider *Pardosa agrestis* (Westring, 1861).

In contrast, direct contact with the “environmentally friendly” agrochemical Boundary SW[®] is lethal to both larvae and adults of *Harmonia axyridis*, although death occurs much later than when similarly treated with Reldan 22 (Fig. 1). Nevertheless, Boundary SW[®] has been approved for IPM and organic farming [Council Regulation (EC) No. 834/2007 of 28 June 2007 on organic production and labelling of organic products and repealing Regulation (EEC) No. 2092/91]. This product is also approved by the American Regulation National Organic Program (Groupe ECOCERT, 2018). Boundary SW[®] contains liquid extract of fermented seaweed supplemented with an extract from succulents (ICAS, 2017). This product has proved 100% effective against leaf-rolling weevils *Anthonomus pomorum* (Linnaeus, 1758) and *Tatianaerhynchites aequatus* (Linnaeus, 1767) after 24 h when direct spraying is used (Skalský, 2017). Taskin et al. (2014) report that spraying the scale insect *Planococcus ficus* (Signoret, 1875) with this product results in mean mortalities of less than 20% after 25 h. We could find only a few studies on Boundary SW[®] and its effects on beneficial arthropods. Kolafik (2017) reports that contact with residues of commonly applied field doses of Boundary SW[®] did not affect the mortality of *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758) under laboratory conditions. Further studies under natural conditions are required to assess the ecological relevance of our preliminary results showing negative effects of Boundary SW[®] on *Harmonia axyridis*. However, Boundary SW[®] is primarily used as a general growth promotor for crops (ICAS, 2017) and therefore it is very likely that many beneficial arthropods come into contact with this product in different agro-ecosystems.

A number of other studies on biopesticides and environmentally friendly agricultural materials also indicate they adversely affect beneficial organisms. Biondi et al. (2011) note lethal and sub-lethal effects of so-called biopesticides on the generalist predatory bug *Orius laevigatus* (Fieber, 1860). Kang et al. (2007a) report that many environmental friendly agricultural materials are toxic for the important spider mite predator *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, 1957. Kang et al. (2007b) also tested environmentally friendly agricultural materials on developmental stages of *H. axyridis* and they state that products containing plant extracts might reduce its percentage egg hatch. Pavela et al. (2013) who studied the possibilities of using an extract of the seed of *Angelica archangelica* as a biopesticide against the aphid pest *Acyrtosiphon pisum* (Harris, 1776) also report its effect on the eggs, larvae and adults of *H. axyridis*. They record slight toxicity for the larvae of the 2nd–3rd instar at high concentration after direct contact. To sum up, the above results (including ours) indicate that many agrochemicals, which are not listed as pesticides (and a risk assessment of such products for beneficial arthropods is not required) but have (or may have) insecticidal side effects, should be tested for pesticidal effects against beneficial arthropods (e.g., Eur-Lex, 2017).

ACKNOWLEDGEMENTS. This work was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, National Agency

for Agricultural Research (NAZV), project QK1710200 and QJ1510352; by the Ministry of Education, Youth and Sports, project LO1608 – Pomology Research Center within the National Sustainable Development Strategy.

REFERENCES

- ADACHI-HAGIMORI T., SHIBAO M., TANAKA H., SEKO T. & MIURA K. 2011: Control of *Myzus persicae* and *Lipaphis erysimi* (Homoptera: Aphididae) by adults and larvae of a flightless strain of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) on non-heading *Brassica* cultivars in the greenhouse. — *Biocontrol* **56**: 207–213.
- ASLAM M., RUBY T., GHAFAR A., FAROOQ Z., HUSSAIN T. & RAFAY M. 2013: PCR-based detection of aphids in the gut contents of arthropod predators. — *Int. J. Agric. Biol.* **15**: 398–400.
- BANKEN J. & STARK J. 1997: Stage and age influence on the susceptibility of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) after direct exposure to Neemix, a neem insecticide. — *J. Econ. Entomol.* **90**: 1102–1105.
- BIOCONT LABORATORY 2018: *Prev-B2*. URL: http://www.biocont.cz/data/pr_produkty/8/files_cs/prevb2_etiketa_a4_platna_2013.pdf (last accessed 17 Dec. 2018).
- BIONDI A., DESNEUX N., SISCARO G. & ZAPPAALA L. 2011: Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. — *Chemosphere* **87**: 803–812.
- BROWN M.W. & MILLER S.S. 1998: Coccinellidae (Coleoptera) in apple orchards of eastern West Virginia and the impact of invasion by *Harmonia axyridis*. — *Entomol. News* **109**: 143–151.
- BROWN P.M.J. & ROY H.E. 2018: Native ladybird decline caused by the invasive harlequin ladybird *Harmonia axyridis*: evidence from a long-term field study. — *Insect Conserv. Div.* **11**: 230–239.
- BROWN P.M.J., THOMAS C.E., LOMBAERT E., JEFFRIES D.L., ESTOUP A. & HANDLEY L.J.L. 2011: The global spread of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): distribution, dispersal and routes of invasion. — *Biocontrol* **56**: 623–641.
- DEPALO L., LANZONI A., MASETTI A., PASQUALINI E. & BURGIO G. 2017: Lethal and sub-lethal effects of four insecticides on the aphidophagous coccinellid *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). — *J. Econ. Entomol.* **110**: 2262–2271.
- DESNEUX N., DECOURTYE A. & DELPUECH J.M. 2007: The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. — *Annu. Rev. Entomol.* **52**: 81–106.
- EUR-LEX 2017: *Proposal for a Regulation of the European Parliament and of the Council Laying Down Rules on the Making Available on the Market of CE Marked Fertilising Products and Amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 [COM(2016) 0157 final – 2016/0084 (COD)]*. URL: http://eur-lex.europa.eu/search.html?qid=1463149313434&PROC_NUM=0084&DB_INTER_CODE_TYPE=OLP&type=advanced&PROC_ANN=2016&lang=en (last accessed 20 Dec. 2017).
- EVANS S.E., SHAW E.M. & RYPSTRA A.L. 2010: Exposure to a glyphosate-based herbicide affects agrobiont predatory arthropod behaviour and long-term survival. — *Ecotoxicology* **19**: 1249–1257.
- GALVAN T.L., KOCH R.L. & HUTCHISON W.D. 2006: Toxicity of indoxacarb and spinosad to the multi-colored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae), via three routes of exposure. — *Pest. Manag. Sci.* **62**: 797–804.
- GAO S.J., ZHOU X.R., PANG B.P., VAN LOON J.J.A. & ZHANG G.Q. 2009: Development and use of a monoclonal antibody to detect semi-digested proteins of the English grain aphid, *Sitobion avenae*, in the guts of ladybird beetle predators. — *Entomol. Exp. Appl.* **133**: 193–198.
- GREENSTONE M.H.L., SZENDREI Z., PAYTON M.E., ROWLEY D.L., COUDRON T.C. & WEBER D.C. 2010: Choosing natural enemies for conservation biological control: use of the prey detectability half-life to rank key predators of Colorado potato beetle. — *Entomol. Exp. Appl.* **136**: 97–107.
- GROUPE ECOCERT 2018: *Impuls.bio. Suitable Products for Organic Farming*. URL: http://ap.ecocert.com/intrants/fournisseur.php?l=en&recherche_produit=&id=850&recherche_categorie=0&recherche_statut=1,0,0,0,0. (last accessed 18 April 2018).
- HARWOOD J.D., YOO H.J.S., GREENSTONE M.H., ROWLE D.L. & O'NEIL R.J. 2009: Differential impact of adults and nymphs of a generalist predator on an exotic invasive pest demonstrated by molecular gut-content analysis. — *Biol. Invas.* **11**: 895–903.
- HODEK I. & HONÉK A. 1996: *Ecology of Coccinellidae*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 464 pp.
- ICAS 2017: *Boundary SW*. URL: http://www.icasinternational.it/index.php?option=com_k2&view=item&layout=item&id=165&Itemid=318&lang=en (last accessed 31 Oct. 2017).
- JAMES D.G. 2003: Pesticide susceptibility of two coccinellids (*Stethorus punctum picipes* and *Harmonia axyridis*) important in biological control of mites and aphids in Washington hops. — *Biocontr. Sci. Technol.* **13**: 253–259.
- KANG E.-J., KANG M.-K., LEE H.-J., LEE D.-H., SEOK H.-B., KIM D.-A., GIL M.-L., SEO M.-J., YU Y.-M. & YOON Y.-N. 2007a: Effects of environment friendly agricultural materials to each developmental stages of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) in the laboratory. — *Kor. J. Appl. Entomol.* **46**: 97–107.
- KANG M.-K., KANG E.-J., LEE H.-J., LEE D.-H., SEOK H.-B., KIM D.-A., GIL M.-L., SEO M.-J., YU Y.-M. & YOON Y.-N. 2007b: Effects of environment friendly agricultural materials to *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) in the laboratory. — *Kor. J. Appl. Entomol.* **46**: 87–95.
- KINAWY M.M., AL-WAILI H.M. & ALMANDHARI A.M. 2008: Review of the successful classical biological control programs in Sultanate of Oman. — *Egypt. J. Biol. Pest Contr.* **18**: 1–10.
- KLOUTVOROVÁ J., SKALSKÝ M., OUŘEDNÍČKOVÁ J., HORTOVÁ B., VEJRAŽKA K., KOLÁŘEK P., KOMZÁKOVÁ O., TITĚRA D., VISOVÁ H., HORNÁ A. ET AL. 2018: [Methodology of Fruit Pest Control with Emphasis on Insect Pollinators]. Research and Breeding Institute of Pomology, Holovousy, 116 pp. [in Czech].
- KOCH R.L. 2003: The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: A review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. — *J. Insect Sci.* **3**: 32, 16 pp.
- KOLÁŘEK P. 2017: [Evaluation of natural bumblebee sensitivity to pesticide active substances in 2016.] — *Agromaniál* **2**: 54–55 [in Czech].
- KORENKO S., NIEDOBOVÁ J., KOLÁŘOVÁ M., HAMOUZOVÁ K., KYSELKOVÁ K. & MICHÁLEK R. 2016: The effect of eight common herbicides on the predatory activity of the agrobiont spider *Pardosa agrestis*. — *Biocontrol* **61**: 507–517.
- KURODA T. & MIURA K. 2003: Comparison of the effectiveness of two methods for releasing *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) against *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) on cucumbers in a greenhouse. — *Appl. Entomol. Zool.* **38**: 271–274.
- LA-ROCK D.R., MIRZAD Z., ELLINGTON J.J., CARRILLO T. & SOUTHWARD M. 2003: Control of green peach aphids *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) with lady beetles *Harmonia axyridis* on Chile *Capsicum annum* (Coleoptera: Coccinellidae) in the greenhouse. — *Southw. Entomol.* **28**: 249–253.

- LI D., HUANG Q., LU M., ZHANG L., YANG Z., ZONG M. & TAO L. 2015: The organophosphate insecticide chlorpyrifos confers its genotoxic effects by inducing DNA damage and cell apoptosis. — *Chemosphere* **135**: 387–393.
- MASETTI A., MAGAGNOLI S., LAMI F., LANZONI A. & BURGIO G. 2018: Long term changes in the communities of native ladybirds in Northern Italy: impact of the invasive species *Harmonia axyridis* (Pallas). — *BioControl* **63**: 665–675.
- MICHAUD J.P. 2002: Relative toxicity of six insecticides to *Cycloneda sanguinea* and *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). — *J. Entomol. Sci.* **37**: 83–93.
- MICLEA I., COSMA D., ZAHAN M., PERNEŞ A. & MICLEA V. 2016: In vitro evaluation of the Reldan 22[®] insecticide effects on swine oocyte maturation. — *Bull. Univ. Agric. Sci.* **73**: 144–149.
- MOSER S.E., KAJITA Y., HARWOOD J.D. & OBRACKI J.J. 2011: Evidence for utilization of Diptera in the diet of field-collected coccinellid larvae from an antibody-based detection system. — *Biol. Contr.* **58**: 248–254.
- NEDVĚD O. 2014: [*Asian Lady Beetle (Harmonia axyridis) a Helper in Biological Pest Control or Threat to Biodiversity? Certified Practice Methodology*]. South Bohemian University, České Budějovice, 67 pp. [in Czech].
- NEDVĚD O. 2015: *Ladybird Beetles (Coccinellidae)*. Academia, Prague, 304 pp.
- NIEDOBOVÁ J., HULA V. & MICHÁLKO R. 2016: Sublethal effect of agronomical surfactants on the spider *Pardosa agrestis*. — *Environ. Pollut.* **213**: 84–89.
- PAVELA R., ŽABKA R., VRCHOTOVÁ N., TRISKA J. & KAZDA J. 2013: Selective effects of the extract from *Angelica archangelica* L. against *Harmonia axyridis* (Pallas) – an important predator of aphids. — *Indust. Crop. Prod.* **51**: 87–92.
- PERVEZ A. & OMKAR 2006: Ecology and biological control application of multicoloured Asian ladybird, *Harmonia axyridis*: a review. — *Biocontr. Sci. Technol.* **16**: 111–128.
- PESTICIDE PROPERTIES DATABASE 2018: *Chlorpyrifos-methyl*. URL: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/155.htm> (last accessed 27 Sept. 2018).
- RAINA A., BLAND J., DOOLITTLE M., LAX A., BOOPATHY R. & FOLKINS M. 2007: Effect of orange oil extract on the formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). — *J. Econ. Entomol.* **100**: 880–885.
- SEO M.J. & YOUN Y.N. 2000: The Asian ladybird, *Harmonia axyridis*, as biological control agents: I. Predacious behavior and feeding ability. — *Kor. J. Appl. Entomol.* **39**: 59–71.
- SHEPPARD D.C. 1984: Toxicity of citrus peel liquids to the house fly and red imported fire ant. — *J. Agric. Entomol.* **1**: 95–100.
- SNYDER W.E., BALLARD S.N., YANG S., CLEVINGER G.M., MILLER T.D., AHN J.J., HATTEN T.D. & BERRYMAN A.A. 2004: Complementary biocontrol of aphids by the ladybird beetle *Harmonia axyridis* and the parasitoid *Aphelinus asychis* on greenhouse roses. — *Biol. Contr.* **30**: 229–235.
- SKALSKÝ M. 2015: [Evaluating the efficacy of products authorized for organic growing systems for apple aphid.] — *Zahradnictví* **14**(5): 16–18 [in Czech].
- SKALSKÝ M. 2017: [Effectiveness of selected agents against weevil pests.] — *Zahradnictví* **16**(2): 20–23 [in Czech].
- SUENAGA H. & HAMAMURA T. 2015: Effects of manipulated density of the wolf spider, *Pardosa astrigera* (Araneae: Lycosidae), on pest populations and cabbage yield: A field enclosure experiment. — *Appl. Entomol. Zool.* **50**: 89–97.
- TASKIN E., LAMAJ F., VERRASTRO V. & BALDACCHINO F. 2014: Laboratory efficacy of natural substances on *Planococcus ficus* (Sign.) and their impact on its two natural enemies. In Kovačević D. (ed.): *Proceedings of the Fifth International Scientific Agricultural Symposium "Agrosym 2014", Jahorina, Bosnia and Herzegovina, October 23–26, 2014*. University of East Sarajevo, pp. 483–490.
- THELING K.M. & CROFT B.A. 1988: Pesticide side effects on arthropod natural enemies: a database summary. — *Agr. Ecosyst. Environ.* **21**: 191–218.
- VINCENT C., FERRAM A., GUGE L., GAMBIER J. & BRUN J. 2000: Effects of imidacloprid on *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) larval biology and locomotory behaviour. — *Eur. J. Entomol.* **97**: 501–506.
- YOUN Y.N., SEO M.J., SHIN J.G., JANG C. & YU Y.M. 2003: Toxicity of greenhouse pesticides to multicolored Asian lady beetles, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). — *Biol. Contr.* **28**: 164–170.
- ZILNIK G. & HAGLER J.R. 2013: An immunological approach to distinguish arthropod viviphagy from necrophagy. — *BioControl* **58**: 807–814.

Received January 10, 2019; revised and accepted May 15, 2019
Published online May 31, 2019

5. Diskuze

5.1. Účinnost přípravků na přírodní bázi v ochraně proti puklici švestkové *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844)

V současné době, kdy dochází ke snižování spektra účinných látek pesticidů v ochraně ovoce proti živočišným škůdcům, jsou častěji využívány vedlejší účinnosti aplikovaných pesticidů proti dalším přítomným škůdcům v porostu. V systému ochrany proti škůdcům ovoce je jako základ považováno ošetření proti přezimujícím škůdcům, které se provádí v předjaří, nejpozději do fenofáze myšího ouška. Pro potlačení přezimujících škůdců se využívají olejnaté přípravky, v ČR nejčastěji řepkový olej, které je možné použít ve všech ovocných plodinách. Mechanismem účinku olejů je udušení a vysušení těl a vajíček cílových organismů (Copping & Duke 2007), jako jsou například mšice, svilušky, jarnice, puklice atd. Do roku 2020 bylo možné ošetřit ovocné plodiny proti přezimujícím škůdcům velmi účinnou kombinací řepkového oleje s účinnou látkou chlorpyrifos-methyl. Avšak platnost použití účinné látky chlorpyrifos-methyl byla v roce 2020 (16.4.2020) ukončena dle nařízení Evropské komise, a není tedy tento tank-mix možné nadále aplikovat. Předkládaná studie se zabývala právě hledáním efektivní náhrady nebo alternativy pro toto ošetření, a to v rámci dvou laboratorních pokusů, které se lišily způsobem aplikace přípravků a prostředků na ochranu rostlin na přezimující nymfy puklice švestkové *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844).

Z dosažených výsledků je patrné, že samotný řepkový olej může nahradit tank-mix řepkového oleje s chlorpyrifos-methylem v ochraně proti puklici švestkové v rámci ošetření proti přezimujícím škůdcům, ale pouze při aplikaci vyšších dávek olejů. Účinnost dle Abbotta se výrazně lišila pouze u nejnižší testované dávky řepkového oleje, 10 l/ha, kdy byla pozorována účinnost 32,1 % v rámci ošetření postřikem oproti účinnosti 98 % u smáčení. Nedostatečná účinnost dávky 10 l/ha proti puklici švestkové je zmíněna také v publikaci Skalský (2016). U dalších dvou variant vyšších dávek se účinnosti již tak markantně nelišily. Při ošetření puklic dávkou 20 l/ha bylo dosaženo účinnosti 89 %, respektive 90,1 %. U nejvyšší dávky, 30 l/ha, byla pozorována nejvyšší účinnost, a to 98,6 % v obou typech testů. Zkušenosti s dalšími druhy olejů jsou známy například z Polska a Velké Británie. Gantner *et al.* (2004) zjistili, že parafinový olej (Promanal 60 EC®, Neudorff) snižuje množství nymf puklice švestkové v průměru o 80 %. Použitím dehtového oleje v jarním období lze, dle Wardlow & Ludlam (1975), dosáhnout 100% účinnosti. Nutno podotknout, že parafinový ani dehtový olej nejsou v ČR povoleny k použití. Další testovaná varianta, tank-mix Ekol (1 l/ha) a Reldan 22 prokázal 100% účinnost v obou typech pokusů. V tomto případě plnil řepkový olej funkci smáčedla a hlavním přípravkem, který měl vliv na mortalitu nymf puklic, byl Reldan 22. Podle Wilcoxova testu lze aplikací řepkového oleje Ekol dosáhnout metodou smáčení obdobných výsledků jako v případě tank-

mixu Ekol + Reldan 22. Tato metoda je ale použitelná pouze v laboratoři. V ovocnářské praxi se ošetřuje porost postřikem pomocí rosičů. Při pohledu na výsledky je patrné, že tank-mix Ekol + Reldan 22 je možné, v případě potřeby redukce populace puklice švestkové, nahradit aplikací řepkového oleje v dávce alespoň 20 l/ha a více, kdy je dosaženo srovnatelné účinnosti. Další dva testované prostředky na ochranu rostlin obsahující účinné látky na přírodní bázi, Boundary SW a Konflic, prokázaly nedostatečnou účinnost v rámci aplikace postřikem, Konflic také u metody smáčení. Oproti tomu byla u Boundary SW pozorována 84,4% účinnost při ošetření puklic smáčecí metodou. Neúčinnost těchto dvou produktů byla prokázána také v publikaci Skalský (2016). Boundary SW obsahuje výtažky z mořských řas a sukulentů. Účinnost tohoto pomocného prostředku na ochranu rostlin byla prokázána proti roztočům a také zobonosce jablečné *Coenorrhinus aequatus* (Germar, 1824) (Hankins & Hockey 1990; Skalský 2017). Přestože se Boundary SW jevil velmi perspektivně v ochraně ovoce a zeleniny proti různým druhům škůdců, především roztočů, byla jeho distribuce a použití zakázáno, a to kvůli obsahu nepovolené účinné látky matrine. Co se týče produktu Konflic, některé studie dokládají dostatečnou insekticidní účinnost tohoto prostředku, obsahujícího extrakt z *Quassia amara*. Psota *et al.* (2010) zjistil, že aplikací extraktu ze dřeva *Quassia amara* dojde k redukci poškození jablek způsobené pilatkou jablečnou *Hoplocampa testudinea* (Klug, 1814). Snížení požerové aktivity *Hypsipyla grandella* (Zeller) zaznamenali také Mancebo *et al.* (2000).

Druhou možností, kdy lze ošetřit slivoně proti puklici švestkové, je období rozlézání nymf letní generace, což bývá zpravidla na začátku letního období (červen). V tomto případě není možné aplikovat přípravky na bázi olejů s ohledem na možnou fytoxicitu zelených částí rostlin. Proto se doposud aplikovaly především neonikotinoidní přípravky, jako například Calypso 480 SC a Mospilan 20 SP, a to v rámci ošetření proti dalším škůdcům, zejména proti obaleči švestkovému *Cydia funebrana* (Treitschke, 1835) nebo mšicím (Kocourek *et al.* 2015). Kocourek *et al.* (2015) zmiňuje další účinné látky efektivní pro redukci puklice švestkové - fenoxycarb, spirotetramat, spiroidiclofen, sulfoxaflor, buprofezin a síru.

Pokud se tedy zaměříme na ošetření přezimujících nymf puklice švestkové v předjaří, můžeme zvolit aplikaci řepkového oleje v dávce 20–30 l/ha. Tím dosáhneme srovnatelné účinnosti jako při aplikaci doposud nejčastěji používaného tank-mixu řepkového oleje s účinnou látkou chlorpyrifos methyl. Aplikace řepkového oleje navíc nezanechá v životním prostředí žádná rezidua.

5.2. Účinnost agrochemikálií proti listohlodovi podlouhlému *Phyllobius oblongus*.

Hodnocení účinnosti proti dospělcům listohloda podlouhlého *Phyllobius oblongus* (Linnaeus, 1758) bylo v rámci testování tří různých mechanismů účinku podrobena sedm přípravků či prostředků na ochranu rostlin, a to v laboratorních podmínkách VŠÚO Holovousy. Účelem studie bylo nalézt produkt vhodný k nahrazení širokospektrální insekticidní účinné látky chlorpyrifos-methyl (Reldan 22), která byla v rámci testování 100 % účinná proti listohlodům po 72 hodinách ve všech třech typech pokusů.

SpinTor (spinosad) prokázal nízkou účinnost (10 % po 24 hodinách) při tarsálním kontaktu listohlodů s rezidui přípravku, nejvyšší účinnost pak 72 hodin po přímém ošetření i v požerovém testu (85 %). Bažok *et al.* (2016) dosáhl účinnosti spinosadu proti rýhonosci řepnému *Bothynoderes punctiventris* (Germar, 1824) a to 36,36 % při požerovém testu a 45,45 % při požerovém testu v kombinaci s přímým ošetřením. Skalský *et al.* (2015) zjistili 100% mortalitu dospělců listohloda podlouhlého po 24 hodinách od aplikace po přímém ošetření a také po přímém kontaktu s mokřým reziduem.

Mospilan 20 SP (acetamiprid) měl nízkou účinnost na listohlody při tarsálním kontaktu a jen o něco vyšší při přímém postřiku brouků. Nejvyšší účinnosti dosáhl Mospilan 20 SP v požerovém testu, kde byla pozorována účinnost 80 % po 72 hodinách od aplikace. Tento přípravek je účinný také proti jiným škodlivým broukům, a to například proti květopasovi jahodníkovému *Anthonomus rubi* (Herbst, 1795) (Łabanowska *et al.* 2000). Z druhé generace neonikotinoidů, účinná látka thiamethoxam, byla účinnost po 72 hodinách od zahájení požerového testu, prokázána u *Gonipterus scutellatus* (Gyllenhal in Schönherr, 1833), avšak 72 hodin po přímém ošetření byla, stejně jako u listohloda podlouhlého, zjištěna nedostatečná účinnost (Echeverri-Molina & Santolamazza-Cardone 2010).

U přípravku Pyrethrum (pyrethrin) byla prokázána neúčinnost proti dospělcům listohloda podlouhlého u všech tří testovaných mechanismů účinku. Přestože je v několika studiích uvedeno, že se účinnost pyrethrinu může zvýšit v případě kombinace s dalšími účinnými látkami, jako jsou například piperonylbutoxid, gamma-cyclodextrin nebo rostlinné oleje (Watts & Berlin 1950; Biebel *et al.* 2003), zmíněné účinné látky piperonylbutoxid a gamma-cyclodextrin nejsou v integrované produkci ovoce v ČR povoleny k použití. Wanyika *et al.* (2009) potvrzují zvýšení účinnosti při ošetření pyrethrinu s rostlinnými oleji v rámci své studie, kde stanovili účinnost proti pilousovi kukuřičnému *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) u kombinace pyrethrinu s výluhy z *Azadirachta indica* A. de Jussieu (neem tree), *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum a *Gossypium hirsutum* Linnaeus. Extrakty z přírodního pyrethra jsou velmi rychle rozložitelné UV zářením, a tím

ztrácí svojí insekticidní účinnost. Proto je nezbytné vytvářet fotostabilní formulace pesticidů obsahující tuto účinnou látku (Maina *et al.* 2016) a zároveň lze předpokládat, že se bude tato účinná látka po aplikaci velmi rychle rozkládat, což sice snižuje riziko zanechání reziduí v životním prostředí, ale je tím omezena také perzistence účinné látky, a tudíž i její účinnost.

Přípravek Siltac EC působí fyzikálně, vytváří tenkou a lepkavou vrstvu na povrchu těl ošetřených organismů, díky čemuž dochází k imobilizaci a následně úhynu jedince. Tento přípravek je doporučován k ochraně ovocných plodin proti mšicím, sviluškám a dalším roztočům, merám atd. (ICB Pharma 2019). Z charakteru cílových skupin škůdců, které je Siltac EC schopen redukovat, lze odvodit, že jeho potenciál nebude v ochraně proti škůdcům typu listohlodů podlouhlého. To potvrzují i výsledky této studie, kdy byla vyhodnocena velmi nízká účinnost po přímém ošetření listohlodů. Zajímavé jsou oproti tomu výsledky požerového testu, kde byla zjištěna 85% účinnost po 72 hodinách od ošetření poskytnutých listů.

Oba pomocné prostředky na ochranu rostlin, které jsou považovány za hnojiva s vedlejšími insekticidními účinky, Boundary SW a FerrumOil, byly neúčinné v rámci testování účinnosti proti dospělcům listohlodů podlouhlého. U Boundary SW byla očekávána vyšší účinnost, a to v návaznosti na závěry studie Skalský (2017), kde je uvedena 100% účinnost Boundary SW proti květopasovi jabloňovému *Anthonomus pomorum* (Linnaeus, 1758) a zobonosce jablečné *Coenorrhinus aequatus* (Germar, 1824) 24 hodin po přímém ošetření testovaných jedinců. Avšak FerrumOil nebyl nikdy testován na ověření účinnosti proti škůdcům a ani v rámci této studie nebyl prokázán potenciál v eliminaci škodlivých brouků.

Tato studie je první komplexní studií, která se věnuje zkoumání účinnosti přípravků a prostředků na ochranu rostlin proti listohlodovi podlouhlému. Jako potenciální se k ochraně proti listohlodům jeví přípravky Spintor a Siltac EC. Přípravek SpinTor je v současné době registrován k použití jak v režimu ingerované produkce ovoce, tak v systému ekologického pěstování. Zároveň může SpinTor nahradit díky své účinnosti širokospektrální chlorpyrifos-methyl. Siltac EC není doposud v ČR registrován. S ohledem na fakt, že se jedná o výsledky laboratorních pokusů, je nutné další testování zaměřené na ověření laboratorních výsledků v rámci provozních ošetření v terénu, resp. v ovocnářských a školkařských výsadbách.

5.3. Synergické vlivy herbicidu na bázi glyfosátů a tank mixových smáčedel na slíd'áky.

Cílem studie bylo otestovat subletální vliv běžně používaného přípravku na bázi glyfosátu Roundup klasik Pro, a to jak samotného, tak v tank-mix kombinaci se smáčedly Wetcit a Agrovital, na široce rozšířený druh pavouka, slíd'áka hajního *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802). V rámci hodnocení nebyl zjištěn letální vliv testovaných přípravků, tedy mortalita pavouků. Skutečnost, že herbicidy na bázi glyfosátu nemají letální vliv na užitečné organismy, byla publikována již dříve (Behrend & Rypstra 2018; Benamú *et al.* 2010; Korenko *et al.* 2016; Michálková & Pekár 2009). Oproti tomu letální vliv smáčedel a tank-mixů byl zjištěn u snovačky *Steatoda capensis* (Hann, 1990) (Evans *et al.* 2010), u parasitoidní vosičky *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Cocco & Hoy 2008) a také u dvou druhů dravých roztočů *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt, 1951) a *Hemicheyletia wellsina* (Summers & Price, 1970) (Ray & Hoy 2014). Dále nebyly v rámci pokusu zjištěny žádné změny predační aktivity po expozici pavouků samotným přípravkem Roundup klasik Pro. K podobnému závěru dospěli Michálková & Pekár (2009) v pokusech se slíd'ákem přibřežním *Pardosa agricola* (Thorell, 1856). Oproti tomu někteří zahraniční autoři popsali změny predační aktivity po ošetření glyfosátem ve svých studiích u různých druhů pavouků (Behrend & Rypstra 2018; Benamú *et al.* 2010). Rozdílnost v těchto výsledcích může být způsobena odlišnými metodami aplikace herbicidu, dávkováním, druhem testovaného pavouka a v neposlední řadě také samotnou účinnou látkou, která se může u jednotlivých komerčních přípravků lišit. Herbicidní produkty na bázi glyfosátu totiž často obsahují jedno nebo i více přídatných smáčedel (Mesnage *et al.* 2015). Mesnage *et al.* (2013) zjistili, že formulace herbicidů na bázi glyfosátu, které obsahují směsi účinné látky a smáčedel, byly více toxické pro lidské buňky než samotná účinná látka glyfosát. Podobné výsledky publikoval Peixoto (2005) ve vztahu k negativnímu ovlivnění jater krysy.

V našem experimentu jsme zjistili, že obě smáčedla mají v krátkém časovém horizontu vliv na predační aktivitu testovaných pavouků. Pavouci ošetření smáčedly ulovili signifikantně méně octomilek v porovnání s kontrolní variantou. Wetcit signifikantně snížil predační aktivitu pavouků v průběhu první a čtvrté hodiny, Agrovital v průběhu druhé hodiny. Ovlivnění krátkodobé predační aktivity bylo prokázáno také ve studii Niedobová *et al.* (2016), a to u slíd'áka rolního *Pardosa agrestis* (Westring, 1861) po ošetření smáčedly Saman, Trend 90 a Wetcit. V případě Wetcitu bylo dále zjištěno, že po ošetření minimální doporučenou koncentrací 1,5 % se naopak predační aktivita zvýšila, ale pouze u samečků. V rámci naší studie nebyly stanoveny pohlavně specifické faktory, protože byly testovány pouze samičky. U těch byla, po námi stanovené maximální doporučené koncentraci 0,3 %, pozorována již zmíněná snížená predační aktivita.

Vliv Wetcitu na predační chování pavouků může být způsoben obsaženým pomerančovým olejem, o kterém je známo, že je v některých případech pro hmyz toxický (Kim & Lee 2014).

Ze získaných výsledků testování vlivu tank-mixů glyfosátu se smáčedly je patrný synergický efekt ovlivňující predační chování slíďáků. Opět v krátkém časovém horizontu obě směsi Roundup klasik Pro s Wetcitem a také Roundup klasik Pro s Agrovitalem snížily signifikantně predační aktivitu v porovnání s kontrolou. Tyto výsledky mohou souviset s tím, že smáčedla pozměňují fyzikální vlastnosti agrochemikálií. V této souvislosti byly pořízeny mikroskopické snímky těl pavouků po ošetření jednotlivých testovaných variant. Slíďáci mají ochlupené tělo, které vytváří na jeho povrchu určité povrchové napětí. To chrání pavouky proti pronikání vody přímo na jejich těla. Ze snímků pořízených po ošetření smáčedly bylo patrné, že toto povrchové napětí bylo narušeno, díky čemuž mohou látky pronikat přímo na těla pavouků.

Pavouci nevykazovali žádné změny v chování při lovu potravy od druhého do pátého hodnotícího dne. Je otázkou, zda množství tří octomilek bylo dostatečné, a jestli by v případě poskytnutí většího počtu kořisti byly rozdíly mezi ošetřenou a kontrolní variantou výraznější.

Výsledky této studie naznačují, že chování predátorů škůdců, v tomto případě pavouků, může být v ekosystémech, kde se aplikují herbicidy na bázi glyfosátu v kombinaci se smáčedly, negativně ovlivněno. Otázkou je, zda mohou mít tyto agrochemikálie dlouhodobý vliv na necílové organismy. Existuje určitá pravděpodobnost, že kontakt s agrochemikáliemi ovlivňuje chování, vývoj a plodnost užitečných členovců i později v průběhu jejich života. Behrend & Rypstra (2018) zjistili, že po kontaktu s herbicidem Buccaneer Plus (glyfosát) ovlivnilo chování dalšího instaru slíďáka *Pardosa milvina* (Hentz, 1844). Schneider *et al.* (2009) ve své studii popisují dlouhodobý vliv glyfosátu Glyfoglex 48 na zlatoočko *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861).

Závěry předkládané studie ukazují, že herbicidy na bázi glyfosátu v kombinaci se smáčedly a smáčedla samotná se mohou jevit jako doposud přehlížené potenciální environmentální riziko pro suchozemské ekosystémy.

5.4. Účinky tzv. „ekologicky šetrných“ agrochemikálií na slunéčko východní *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae).

Negativní vliv na dospělé slunéčka východního v podobě vysoké mortality byl potvrzen, dle předpokladu, u konvenčního insekticidu Reldan 22 (chlorpyrifos-methyl), ale zároveň také u pomocného prostředku na ochranu rostlin na přírodní bázi Boundary SW. Po ošetření dospělců přípravkem Reldan 22 nastala smrt testovaných jedinců téměř okamžitě. V případě Boundary SW k úhynu slunéček došlo po 25 hodinách od ošetření. Byly zjištěny signifikantní rozdíly mezi jednotlivými variantami v množství přeživších slunéček ($X^2 = 86.9$, $df = 3$, $p \ll 0.001$). PREV-B2 byl vyhodnocen jako netoxický pro dospělé slunéčka východního. Výsledná křivka téměř kopírovala křivku kontrolní varianty. Výsledky ošetření larev 4. instaru slunéčka východního byly obdobné jako u ošetření dospělých jedinců. Byly stanoveny signifikantní rozdíly v přežívání testovaných jedinců ($X^2 = 106$, $df = 3$, $p 0,001$). Stejně jako u pokusu s dospělci, také u tohoto experimentu nebyly pozorovány průkazné rozdíly u kontrolní varianty a PREV-B2. Naopak velmi rychlá smrt larev slunéček nastala po ošetření přípravkem Reldan 22 a s určitou časovou prodlevou také u Boundary SW.

Přestože byly experimenty realizovány v laboratorních podmínkách, výsledky této studie poukazují na fakt, že pomocné prostředky na ochranu rostlin registrované k použití v IP a EP se mohou značně lišit v jejich negativních účincích na necílové organismy, v tomto případě larvy a dospělé slunéčka východního.

Ačkoliv byly prostřednictvím použité metody aplikace jednotlivých variant zasažení testování jedinci přímým postřikem, nebyl u ošetření PREV-B2 zaznamenán statisticky významný pokles přežívání larev ani dospělců. Kolařík (2017) ve své práci zmiňuje, že PREV-B2 nemá letální vliv ani na čmeláka zemního *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758). Nevěnuje se však vlivům subletálním. PREV-B2, obsahující pomerančový olej, je uváděn jako toxický pro *Coptotermes formosanus* (Shiraki, 1909), mouchu domácí *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) a mravence *Solenopsis invicta* (Buren, 1972) (Sheppard 1984; Raina *et al.* 2007). Pomerančový olej je také obsažen ve smáčedle Wetcit, který dle studie Niedobová *et al.* (2016) negativně ovlivnil predáční aktivitu slíd'áka rolního *Pardosa agrestis* (Westring, 1861).

Druhý testovaný prostředek obsahující látky na přírodní bázi, Boundary SW, měl statisticky prokazatelný letální vliv na larvy i dospělé slunéčka východního, přestože smrt jedinců nastala později než po ošetření konvenčním přípravkem Reldan 22. Přesto byl v době testování Boundary SW schválen k použití v IP i EP ovoce i zelenině. U Boundary SW byla prokázána účinnost proti květopasovi jabloňovému *Anthonomus pomorum* (Linnaeus, 1758) a zobonosce jablečné

Coenorhinus aequatus (Germar, 1824) (Skalský 2017). Zkušenosti s testováním Boundary SW nejsou prakticky více publikovány. Byly nalezeny pouze dvě publikace, jedna zaměřená na škůdce, druhá na opylovače. Taskin *et al.* (2014) stanovili ve své práci velmi nízkou účinnost Boundary SW (méně než 20 %) na červce citroníkového *Planococcus ficus* (Signoret, 1875). Z pohledu užitečných organismů byl testován vliv Boundary SW na čmeláka zemního *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758). U tohoto prostředku však nebyl v rámci laboratorního testu pozorován vliv na mortalitu čmeláka zemního (Kolařík 2017).

Zkoumání vlivu pomerančových olejů a olejů obecně na užitečné bezobratlé organismy, by mělo být předmětem dalších výzkumných aktivit. S ohledem na výsledky výše uvedené studie by bylo žádoucí věnovat se obdobné problematice také konkrétně u Boundary SW. V současné době je ale tento pomocný prostředek na ochranu rostlin v ČR zakázáno používat s ohledem na obsah zakázané účinné látky matrine. Další testy jsou tedy bezpředmětné.

6. Závěry

Výsledky experimentů publikované v rámci této disertační práce byly rozděleny do čtyř témat zaměřených na stanovení účinnosti vybraných přípravků a prostředků na ochranu rostlin proti škůdcům a zároveň pokusy zaměřené na zhodnocení letálního a subletálního vlivu na dva druhy významných predátorů v ovocných sadech. Do experimentů byly zahrnuty různé přípravky a prostředky obsahující účinné látky na přírodní bázi, a k tomu pro porovnání přípravky konvenčně používané v ovocnářské praxi.

Při snaze nalézt alternativní způsob ochrany ovocných plodin proti přezimujícímu škůdci puklici švestkové (*Parthenolecanium corni*) s ohledem na co nejnižší zatížení životní prostředí bylo zjištěno, že běžně aplikovanou variantu ošetření tank-mixem Ekol (řepkový olej) + Reldan 22 (chlorpyrifos-methyl) je možné nahradit vyšší dávkou řepkového oleje samotného, a to již v dávce 20 l/ha, u které byla zjištěna účinnost proti přezimujícím nymfám puklice švestkové 90 %. Ostatní dva testované prostředky, také na přírodní bázi, nevykázaly dostatečně signifikantní účinnost. Jednalo se o produkty Konflic a Boundary SW.

Druhým škůdcem, u kterého byla v rámci studia stanovována účinnost různých ekologicky šetrných přípravků a prostředků na ochranu rostlin v porovnání s konvenčními, přírodě méně šetrnými insekticidy, byl listohlod podlouhý (*Phyllobius oblongus*). Dle získaných výsledků je možné v ovocnářské a školkařské praxi využít zejména přípravku SpinTor (spinosad) a v případě uvedení na český trh také přípravek Siltac EC (silikony+siloxany). V rámci provedených testů, zaměřených na tři způsoby expozice přípravků (tarsální, kontaktní a požerový), byla zjištěna účinnost u přípravku

SpinTor 85 % po 72 hodinách jak u kontaktního, tak u požerového pokusu. Přípravek Siltac EC vykázal uspokojivou účinnost v tarsálním pokusu - 65 % po 72 hodinách a vysokou účinnost v požerovém pokusu – 85 % po 72 hodinách. Jako standardní přípravek byl zvolen Reldan 22, který byl neúčinnější ve všech třech pokusech. Přesto je patrné, že i proti tomuto škůdci je možné zvolit ekologicky šetrnější variantu aplikovaného přípravku.

Protože je potřeba znát nejen účinnosti přípravků a prostředků na ochranu rostlin proti škůdcům, ale také jejich vliv na přirozené nepřátele, byly provedeny 2 pokusy zaměřené na studium letálního vlivu vybraných přípravků na významného predátora škůdců, slunéčko východní (*Harmonia axyridis*), a subletální vliv smáčedel, glyfosátu a jejich kombinací na pavouky rodu *Pardosa*, konkrétně na predáční aktivitu. Dle zjištěných výsledků bylo prokázáno signifikantní snížení predáční aktivity během první hodiny (kontrast, $P < 0,028$) po ošetření tank-mixem přípravků Roundup klasik Pro (glyfosát) a Agrovital (pinolen) a také po ošetření samotným smáčedlem Wetcit (pomerančový olej). V rámci hodnocení po dvou hodinách od aplikace byla významně snížena predáční aktivita pavouků po ošetření tank-mixem Roundup klasik Pro (glyfosát) a Wetcit (pomerančový olej) a smáčedla Agrovital (pinolen) (kontrast, $P < 0,007$). Snížení predáční aktivity bylo prokázáno u smáčedla Wetcit (pomerančový olej) také po čtyřech hodinách od ošetření (kontrast, $P = 0.048$). U varianty ošetřené samotným přípravkem Roundup klasik Pro (glyfosát) nebylo zjištěno snížení predáční aktivity.

Výsledky další studie orientované na vliv přírodě blízkých látek na užitečné organismy poukazují na fakt, že ani tzv. environmentálně šetrné prostředky nemusejí být nutně šetrné ke všem složkám životního prostředí. Bylo prokázáno, že Boundary SW (extrakt z mořských řas a sukulentů) způsoboval statisticky významnou mortalitu dospělců i larev slunéčka východního (*Harmonia axyridis*).

Závěrem lze konstatovat, že spektrum syntetických přípravků na ochranu rostlin v ovocnářství významně ubývá a je potřeba hledat alternativy právě v přípravcích a pomocných prostředcích na ochranu rostlin, které jsou ekologicky šetrnější, nemají významné negativní vlivy na necílové organismy a mohou být zavedeny do ovocnářské praxe ČR. Výsledky uvedené v předložené disertační práci však naznačují, že ne všechny přípravky a prostředky na ochranu rostlin, deklarované jako ekologicky šetrné, takové skutečně jsou a je tedy potřeba věnovat se této problematice v rámci dalšího výzkumu.

7. Literatura

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

Agrofert (2019) Agrovital. Dostupné online na <https://www.agrofert.cz/sites/default/files/downloads/agrovital.pdf> (Citováno 6.2. 2020).

Aslam, M., Ruby, T., Ghaffar, A., Farooq, Z., Hussain, T. & Rafay, M. (2013) PCR-based detection of aphids in the gut contents of arthropod predators. *Int J Agric Biol* 15: 398–400.

Balan, V., Ivascu, A., Drosu, S., Chireceanu, C., Oprea, M., Tudor, V., Roman, M. & Gherghe, P. (2001) Development of integrated fruit production at the Research Station for Fruit Tree. In: *International Conference on Integrated Fruit Protection: Avilla J., Polesny F. (eds): Growing Baneasa. Oct 22–26, 2000, Bucharest, Romania Integrated Fruit Protection. IOBC/wprs Bulletin*, 24: 67–71.

Barzman, M., Bärberi, P., Birch, N. E., Boonekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graf, B., Hommel, B., Jensen, J. E., Kiss, J., Kudsk, P., Lamichhane, J. R., Messéan, A., Moonen, A-C., Ratnadass, A., Ricci, P., Sarah, J-L. & Sattin, M. (2015) Eight principles of integrated pest management. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 1199-1215.

Bayley, D., Schmidt-Enthling, M., Eberhart, P., Herrmann, J.D., Hofer, G., Kormann, U. & Herzog, U. (2010) Effects of habitat amount and isolation on biodiversity in fragmented traditional orchards. *Journal of Applied Ecology*, 47: 1003–1013.

Baylis, A.D. (2000) Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. *Pest Manag. Sci.* 56(4): 299–308.

Bažok, R., Šatvar, M., Radoš, L., Drmić, Z., Lemić, D., Čačija, J. & Virić Gašparić, H. (2016) Comparative efficacy of classical and biorational insecticides on sugar beet weevil, *Bothynoderes punctiventris* Germar (Coleoptera: Curculionidae). *Plant Protection Science*, 52: 134–141.

Behrend, J.E. & Rypstra, A.L., (2018) Contact with a glyphosate-based herbicide has long-term effects on the activity and foraging of an agrobiont wolf spider. *Chemosphere* 194, 714-721.

Benamú, M.A., Schneider, M.I. & Sánchez, N.E. (2010) Effect of the herbicide glyphosate on biological attributes of *Alpaida veniliae* (Araneae, Araneidae), in laboratory. *Chemosphere* 78 (7), 871-876.

Benamú, M.A., Schneider, M.I., Gonzáles, A. & Sánchez, N.E. (2013) Short and long-term effects of three neurotoxic insecticides on biological and behavioural attributes of the orb-web spider *Alpaida veniliae* (Araneae, Araneidae): implications for IPM programs. *Ecotoxicology* 22, 1155-1164.

Benbrook, C.M. (2016) Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ. Sci. Eur.* 28(3), 1- 15.

Biebel, R., Rametzhofer, E., Klapal, H., Polheim, D. & Viernsteina, H. (2003) Action of pyrethrum-based formulations against grain weevils. *International Journal of Pharmaceutics*, 256: 175–181.

Billiard, H.E., Straw, N.A. & Stewart, A.J. (2010) Adult fecundity, host plant preferences, field activity and parasitism in the leaf weevil *Phyllobius pyri* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Bulletin of Entomological Research*, 10: 303–314.

Biondi A., Desneux N., Siscaro G. & Zappaalà L. (2011) Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. — *Chemosphere* 87(7): 803–812.

Biondi, A., Mommaerts, V., Smaghe, G., Viñuela, E., Zappalà, L. & Desneux, N. (2012) The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. *Pest. Manag. Sci.* 68(12), 1523-1536.

Branscome, D.D., Storey, R.D., Eldridge, J.R. & Brazil, E.E. (2019) Synergistic *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and cyantraniliprole mixtures for diamondback moth, beet armyworm, sugarcane borer, and soybean looper control. U.S. Patent 10,278,396.

Brown, M.W. & Miller, S.S. (1998) Coccinellidae (Coleoptera) in apple orchards of eastern West Virginia and the impact of invasion by *Harmonia axyridis*. *Entomol News* 109(2): 143–151.

Brown, P.M.J., Thomas, C.E., Lombaert, E., Jeffries, D.L., Estoup, A. & Handley, L.J.L. (2011) The global spread of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): distribution, dispersal and routes of invasion. *Biocontrol* 56: 623–641.

Brown, C., Hanna, C.J. & Hanna, C.J. (2015) The importance of pesticide exposure duration and mode on the foraging of an agricultural pest predator. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 94, 178-182.

Ciche, T. (2007) The biology and genome of *Heterorhabditis bacteriophora*, WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, Doi/10.1895/wormbook.1.135.1, <http://www.wormbook.org>

Copping, L.G. & Duke, S.O. (2007) Natural products that had been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*, 63: 524–554.

Cox, C. & Sorgan, M. (2006) Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. *Environ. Health Perspect.*, 114, 1803-1806.

Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.M. (2007) The sublethal effects of pesticide on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomo.* 525, 81-106.

Evans, S.E., Shaw, E.M. & Rypstra, A.L. (2010) Exposure to a glyphosate-based herbicide affects agrobiont predatory arthropod behaviour and long-term survival. *Ecotoxicology* 19 (7), 1249-1257.

Everts, J.W., Aukema, B., Mullié, W.C., van Gemerden, A., Rottier, A., van Katz, R. & van Gestel, C.A.M. (1991) Exposure of the ground dwelling spider *Oedothorax apicatus* (Blackwall) (Erigonidae) to spray and residues of deltamethrin. *Arch. Environ. Con. Tox.* 20, 13-19.

Echeverri-Molina, D. & Santolamazza-Cardone, S. (2010) Toxicity of synthetic and biological insecticides against adults of the Eucalyptus snout-beetle *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Pest Science*, 83: 297–305.

Gall, J. (2015) Přehled ochrany rostlin v únoru a březnu. *Rostlinolékař*, 1: 5–15.

Galvan, T.L., Koch, R.L. & Hutchison, W.D. (2006) Toxicity of indoxacarb and spinosad to the multi-colored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae), via three routes of exposure. *Pest. Manag. Sci.* 62, 797-804.

Gantner, M., Jaśkiewicz, B. & Golan, K. (2004) Occurrence of *Parthenolecanium corni* (Bouché) on 18 cultivars of hazelnut. *Folia Horticulturae*, 16: 95–100.

Gao, S.J., Zhou, X.R., Pang, B.P., van Loon, J.J.A. & Zhao, G.Q. (2009) Development and use of a monoclonal antibody to detect semi-digested proteins of the English grain aphid, *Sitobion avenae*, in the guts of ladybird beetle predators. *Entomol. Exp. Appl.* 133: 193–198

Greenstone, M.H.L., Szendrei, Z., Payton, M.E., Rowley, D.L., Coudron, T.C. & Weber, D.C. (2010) Choosing natural enemies for conservation biological control: use of the prey detectability half-life to rank key predators of Colorado potato beetle. *Entomol Exp Appl* 136: 97–107.

Hankins, S.D. & Hockey, H.P. (1990) The effect of a liquid seaweed extract from *Ascophyllum nodosum* (Fucales, Phaeophyta) on the two-spotted red spider mite *Tetranychus urticae*. *Hydrobiologia*, 204: 555–559.

Harwood, J.D., Yoo, H.J.S., Greenstone, M.H., Rowle, D.L. & O'Neil, R.J. (2009) Differential impact of adults and nymphs of a generalist predator on an exotic invasive pest demonstrated by molecular gut-content analysis. *Biol invasions* 11: 895–903.

Holland, P.T. (1996) Glossary of terms relating to pesticides. *Pure Appl. Chem.* 68, 1167-1193.

Honek, A. (1996) Variability and genetic studies. In: Hodek, I.; Honek, A.; editors. *Ecology of Coccinellidae*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Press.

ICAS (2017) Boundary SW. Dostupné online na http://www.icasinternational.it/index.php?option=com_k2&view=item&layout=item&id=165&Itemid=318&lang=en (Citováno 31.10. 2017).

ICB Pharma (2019) SILTAC® EC. Available at: <https://icbpharma.com/en/produkty/siltac/> (accessed May 11, 2019).

Isaacs, R., Tuell, J., Fiedler, A., Gardiner, M. & Landis, D. (2009) Maximizing arthropod-mediated ecosystem services in agricultural landscapes: the role of native plants. — *Front. Ecol. Environ.* 7(4): 196–203.

Isman, M., Koul, O., Arnason, J., Stewart, J., & Salloum, G. (1991) Developing a neobased insecticide for Canada. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 123(S159), 39-46. doi:10.4039/entm123159039-1

James, D.G. (2003) Pesticide Susceptibility of Two Coccinellids (*Stethorus punctum picipes* and *Harmonia axyridis*) Important in Biological Control of Mites and Aphids in Washington Hops. *Biocontrol Sci Techn* 13(2): 253–259.

Kang, E.J., Kang, M.K., Lee, H.J., Lee, D.H., Seok, H.B., Kim, D.A., Gil, M.L., Seo, M.J., Yu, Y.M. & Youn, Y.N. (2007a) Effects of environment friendly agricultural materials to each developmental stages of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) in the laboratory. *Kor. J. Appl. Entomol.* 46: 97–107.

Kang, M.K., Kang, E.J., Lee, H.J., Lee, D.H., Seok, H.B., Kim, D.A., Gil, M.L., Seo, M.J., Yu, Y.M. & Youn, Y.N. (2007b) Effects of environment friendly agricultural materials to *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) in the laboratory. *Kor. J. Appl. Entomol.* 46: 87–95.

Kerns, D.L. (1996) Control of lepidopterous larvae and leafminers in lettuce. *Arthropod Management Tests* 21: 117–118.

Kim, S.I. & Lee, D.W. (2014) Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. *J. Asia-Pac. Entomol.* 17(1), 13-17.

Koch, R.L. (2003) The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: A review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. *J Insect Sci* 3(1): 1–16.

Kocourek, F., Bagar, M., Falta, V., Holý, K., Harašta, P., Chroboková, E., Kloutvorová, J., Kůdela, V., Lánský, M., Náměstek, J., Navrátil, M., Ouředníčková, J., Pluhař, P., Psota, V., Pultar, O., Stará, J., Sus, J., Suchá, J., Šafářová, D., Špak, J. & Valentová, L. (2015) *Integrovaná ochrana ovocných plodin*. Profí Press, Prague.

Kolařík, P. (2017) Hodnocení citlivosti čmeláka zemního k účinným látkám pesticidů v roce 2016. [Evaluation of natural bumblebee sensitivity to pesticide active substances in 2016] *Agromanuál* 2: 54–55.

Korenko, S., Niedobová, J., Kolářová, M., Hamouzová, K., Kysilková, K. & Michalko, R. (2016) The effect of eight common herbicides on the predatory activity of the agrobiont spider *Pardosa agrestis*. *BioControl* 61(5), 507-517.

Kundoo, A.A., Dar, S.A., Mushtaq, M., Bashir, Z., Dar, M.S., Gul, S., Ali, M.T., Gulzar, S. (2018) Role of neonicotinoids in insect pest management: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6(1): 333–339.

Łabanowska, B.H., Gajek, D. & Niemczyk, E. (2000) Usefulness of Mospilan® 20 SP in integrated pest management of soft fruits. *Bull OILB-SROP*, 23: 137–140.

Lánský, M., Falta V., Kloutvorová J., Kocourek F., Stará J. & Pultar O. (2005) Integrovaná ochrana ovoce v systému integrované produkce. VŠÚO Holovousy s.r.o., Holovousy.

Linduska, J., Ross, M., Baumann, D., & Parr, A. (1998) Foliar sprays to control ear-invading insects on sweet corn. *Arthropod Management Tests* 23: 95–96.

Losey, J. H. & Vaughan, M. (2006) The economic value of ecological services provided by insects. — *Bioscience* 56: 311–323.

Maina, E., Wanyika, H. & Gacanja, A. (2016) Natural pyrethrum extracts photo-stabilized with organo clays. *Journal of Scientific Research and Report*, 9: 1–20.

Mancebo, F., Hilje, L., Mora, G.A. & Salazar, R. (2000) Antifeedant activity of *Quassia amara* (Simaroubaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Crop Protection*, 19: 300–305.

Markó, V., Elek, Z., Kovács-Hostyánszki, A., Kőrösi, A., Somay, L., Földesi, R., Varga, A., Iván, A. & Báldi A. (2017) Landscapes, orchards, pesticides—Abundance of beetles (Coleoptera) in apple orchards along pesticide toxicity and landscape complexity gradients. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 247: 246–254.

Mesnage, R., Bernay, B. & Séralini, G. E. (2013) Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. *Toxicology* 313(2-3), 122-128.

Mesnage, R., Defarge, N., Spiroux de Vendômois, J. & Séralini, G.E. (2014) Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles. *BioMed Res. Int.* 2014, 1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/179691>.

Mesnage, R., Defarge, N., Spiroux de Vendômois, J. & Séralini, G.E. (2015) Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. *Food Chem. Toxicol.* 84, 133-153.

Michalková, V. & Pekár, S. (2009) How glyphosate altered the behaviour of agrobiont spiders (Araneae: Lycosidae) and beetles (Coleoptera: Carabidae). *Biol. Control* 51(3), 444-449.

Michaud, J.P. (2002) Relative Toxicity of Six Insecticides do *Cycloneda sanguinea* and *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *J Entomol Sci* 37(1): 83–93.

Monsanto (2019) Maximizing glyphosate efficacy. Dostupné online na: <https://www.roundupreadyplus.com/resourcecenter/maximizing-glyphosate-efficacy>. (Citováno 23. 3. 2019).

Morris, M.G. (1997) Broad-nosed weevils. Coleoptera: Curculionidae (Entiminae). Handbooks for the Identification of British Insects. Available at: <http://www.thewcgc.org.uk/curculionidae/0282.htm> (accessed Jun 21, 2018).

Moser, S.E., Kajita, Y., Harwood, J.D. & Obracki, J.J. (2011) Evidence for utilization of Diptera in the diet of field-collected coccinellid larvae from an antibody-based detection system. *Biol Control* 58: 248–254.

Muratet, A. & Fontaine, B. (2015) Contrasting impacts of pesticides on butterflies and bumblebees in private gardens in France, *Biological Conservation*, Vol. 182, pp. 148–154.

Myers, J.P., Antoniou, M.N., Blumberg, B., Carroll, L., Colborn, T., Everett, L.G., Hansen, M., Landrigan, P.J., Lanphear, B.P., Mesnage, R., Vandenberg, L.N., vom Saal, F.S., Welshons, W.V. & Benbrook, C.M. (2016) Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. *Environ. Health* 15. 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12940-016-0117-0>

Nedvěd, O. (2014) Slunéčko východní (*Harmonia axyridis*) – pomocník v biologickém boji nebo ohrožení biodiverzity? Certifikovaná metodika pro praxi. [Asian lady beetle (*Harmonia axyridis*) a helper in biological pest control or threat to biodiversity? Certified practice methodology]. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice

Nedvěd, O. (2015) Brouci čeledi slunéčkovití (Coccinellidae) / Ladybird beetles (Coccinellidae). Academia, Prague.

Nentwig, W., Blick, T., Gloor, D., Hänggi, A. & Kropf, C., (2018) Version 5.2018. Available online at: <https://www.araneae.nmbe.ch>, (cited at 30th May 2018)

New, T. R. (1975) The biology of Chrysopidae and Hemerobiidae (Neuroptera), with reference to their usage as biocontrol agents: a review. *Ecological Entomology* 127(2): 115– 140.

Niedobová, J., Hula V. & Michalko, R. (2016) Sublethal effect of agronomical surfactants on the spider *Pardosa agrestis*. *Environ. Pollut.* 213, 84-89.

Nyffeler, M. & Birkhofer K. (2017) An estimated 400–800 million tons of prey are annually killed by the global spider community. *Sci. Nat.* 104: 30. <https://doi.org/10.1007/s00114-0171440-1>.

Park, M. G., Blitzer, E.J., Gibbs, J., Losey J.E. & Bryan, N. (2015) Negative effects of pesticides on wild bee communities can be buffered by landscape context, *Proceedings of the Royal Society B*, Vol. 282, Issue 1809.

Peixoto, F. (2005) Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. *Chemosphere* 61, 1115-1122.

Potter, M.F., Bessin, R. & Townsend, L. 2005: Asian Lady Beetle Infestation of Structures. U. K cooperative Extension service. Entfact 416: 1-4.

PPDB: Pesticide Properties DataBase 2019: A to Z List of Pesticide Active Ingredients. Dostupné online na: <https://www.roundupreadyplus.com/resourcecenter/maximizingglyphosate-efficacy>. (Citováno 5. 2. 2020).

Psota, V., Ouředníčková, J. & Falta, V. (2010) Control of *Hoplocampa testudinea* using the extract from *Quassia amara* in organic apple growing. *Horticultural science (Prague)*, 34: 139–144.

Raina, A., Bland, J., Doolittle, M., Lax, A., Boopathy, R., Folkins, M. (2007) Effect of orange oil extract on the Formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Econ. Entomol.* 100(3): 880–885.

Ray, H.A. & Hoy, A.M. (2014) Effects of reduced-risk insecticides on three orchid pests and two predacious natural enemies. *Fla. Entomol.* 97(3), 972-978.

Rhoades, M. H. (1996) Key to first and second instars of six species of Coccinellidae (Coleoptera) from alfalfa in Southwest Virginia. *Journal of the New York Entomological Society.* 104: 83–88.

Rigby, D. & Cáceres, D. (2001) Organic farming and the sustainability of agricultural systems. *Agricultural Systems* 61(1): 21–40

Rittman, S., Wrinn, K.M., Evans, S.C., Webb, A.W. & Rypstra, A.L. (2013) Glyphosate-Based Herbicide Has Contrasting Effects on Prey Capture by Two Co-Occurring Wolf Spider Species. *J. Chem. Ecol.* 39(10), 1247-1253.

Sandrock, Ch., Tanadini, M., Tanadini, L.G., Fauser-Misslin, A., Potts, S.G. & Neumann, P. (2014) Impact of Chronic Neonicotinoid Exposure on Honeybee Colony Performance and Queen Supersedure, *PLoS ONE* 9(8): e103592. doi:10.1371/journal.pone.0103592.

Sarwar, M. & Salman, M. (2015) Success stories of eco-friendly organically acceptable insecticides as natural products discovery. *International Journal of Materials Chemistry and Physics* 1(3): 388–394.

Sauer, A. J., Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Nguyen, P., Marec, F., Heckel, D. G., & Jehle, J. A. (2017a) Novel resistance to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) in codling moth shows autosomal and dominant inheritance and confers cross-resistance to different CpGV genome groups. *PloS one*, 12(6), e0179157. doi:10.1371/journal.pone.0179157

Savic, G. (1963) Adult fecundity, host plant preferences, field activity and parasitism in the leaf weevil *Phyllobius pyri* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Zastita Bilja*, 72: 183–194.

Seo, M.J., & Youn, Y.N. (2000) The Asian ladybird, *Harmonia axyridis*, as biological control agents: I. Predacious behavior and feeding ability. *Kor J Appl Entomol* 39: 59–71.

Sheppard, D.C. (1984) Toxicity of citrus peel liquids to the house fly and red imported fire ant. *J Agric Entomol* 1: 95–100.

Schneider, M.I., Sanchez, N., Pineda, S., Chi, H., Ronco, A. (2009) Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Ecological approach. *Chemosphere* 76, 1451-1455.

Sih, A. (2011) Effect of early stress on behavioral syndromes: an integrated adaptive perspective. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35: 1452-1465.

Şimşek, M. & Özkan, C. (2016) The Side Effects of Insecticide Efficient Biocidals to Beneficial Insects, *Turkish Journal of Occupational / Environmental Medicine and Safety*, Vol.1, No.4, 2016, ISSN : 2149-4711.

Skalský, M., Rybanská, D., Silovská, I. (2015) Hodnocení účinnosti vybraných přípravků proti *Phyllobius oblongus* (Linnaeus, 1756). *Vědecké práce ovocnářské*, 24: 129–136.

Skalský, M. (2016) Možnosti ochrany proti puklici švestkové *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) v systémech integrované produkce ovoce. *Rostlinolékař*, 6: 30–31.

Skalský, M. (2017) Účinnost vybraných přípravků proti nosatcovitým škůdcům. *Zahradnictví*, 16: 20–23.

Snyder, W.E., Ballard, S.N., Yang, S., Clevenger, G.M., Miller, T.D., Ahn, J.J., Hatten, T.D. & Berryman, A.A. (2004) Complementary biocontrol of aphids by the ladybird beetle *Harmonia axyridis* and the parasitoid *Aphelinus asychis* on greenhouse roses. *Biol Control* 30: 229–235.

Surgan, M., Condon, M. & Cox C. (2010) Pesticide risk indicators: unidentified inert ingredients compromise their integrity and utility. *Environ. Manag.*, 45, 834-841.

Taskin, E., Lamaj, F., Verrastro, V. & Baldacchino, F. (2014) Laboratory efficacy of natural substances on *Planococcus ficus* (Sign.) and their impact on its two natural enemies. Fifth international scientific agricultural symposium “Agrosym 2014”: 483–490.

Trnka, F. (2009) *Harmonia axyridis* – slunéčko. *Natura Bohemica příroda České republiky*. [online] [cit. 6.2.2018] Dostupné z: <http://www.naturabohemica.cz/harmonia-axyridis/>.

Van Lenteren, J. C., Loomans, A., J., M. & Babendreier, D. (2008) *Harmonia axyridis*: an environmental risk assessment for Northwest Europe. *BioControl*. 53(1): 37–54.

Vincent, Ch., Ferram, A., Guige, L., Gambier, J. & Brun, J. (2000) Effects of imidacloprid on *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) larval biology and locomotory behaviour. *Eur Journal Entomol* 97: 501–506.

Wanyika, H.N., Kareru, P.G., Keriko, J.M., Gachanja, A.G., Kenji, G.M. & Mukiira, N.J. (2009) Contact toxicity of some fixed plant oils and stabilized natural pyrethrum extracts against adult maize weevils (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3: 66–69.

Wardlow, L.R. & Ludlam, F.A.B. (1975) Biological Studies and Chemical Control of Brown Scale (*Parhenolecanium corni* (Bouché)) on Red Currant. *Plant Pathology* 24: 213–216.

Watts, C.N. & Berlin F.D. (1950) Piperonyl butoxide and Pyrethrins to control rice weevils. *Journal of Economic Entomology*, 43: 371–373.

Weeks, D.M. & Parris, M.J. (2020) A *Bacillus thuringiensis* kurstaki Biopesticide Does Not Reduce Hatching Success or Tadpole Survival at Environmentally Relevant Concentrations in Southern Leopard Frogs (*Lithobates sphenoccephalus*). *Environmental toxicology and chemistry*, 39(1), pp. 155-161.

Whitehorn, P. R., O'Connor, S. & Wackers, F.L. (2012) Goulson, D. Neonicotinoid Pesticide Reduces Bumble Bee Colony Growth and Queen Production, *Science*, Vol. 336, Issue 6079, pp. 351-352.

Witter, J.A., & Fields, R.D. (1977) *Phyllobius oblongus* and *Sciaphillus asperatus* associated with sugar maple reproduction in northern Michigan. *Environmental Entomology*, 6: 150–154.

Wyckhuys, K.A.G., Lu, Y., Morales, H., Vazques, L.L., Legaspi, J.C., Eliopoulos, P.A. & Hernandez, L.M. (2013) Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world. — *Biol. Control* 65: 152–167.

Youn, Y.N., Seo, M.J., Shin, J.G., Jang, C. & Yu, Y.M. (2003) Toxicity of greenhouse pesticides to multicolored Asian lady beetles, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Biological Control* 28: 164–170.

Xiao, D., Zhao, J., Guo, X., Chen, H., Qu, M., Zhai, W., Desneux, N., Biondi, A., Zhang, F. & Wang, S. (2016) Sublethal effects of imidacloprid on the predatory seven-spot ladybird beetle *Coccinella septempunctata*, *Ecotoxicology*, Vol.25, No.10, pp. 1782-1793.

Zilnik, G. & Hagler, J. R. (2013) An immunological approach to distinguish arthropod viviphagy from necrophagy. *BioControl*, 58: 807–814.