

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Synergický účinek látek aplikovaných v době květu
řepky na škůdce a necílové organismy**

Diplomová práce

**Autor práce: Bc. Pavla Pabišková
Obor studia: Rostlinolékařství (AML)**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Pavel Ryšánek, CSc.
Školící specialista: RNDr. Tomáš Erban, Ph.D.**

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci „Synergický účinek látek aplikovaných v době květu řepky na škůdce a necílové organismy“ vypracovala samostatně pod vedením vedoucího a školitele diplomové práce, s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 24. 7. 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou dovolila poděkovat panu prof. Ing. Pavlu Ryšánkovi, CSc., za vedení práce a její zprostředkování. Poděkování především dále patří panu RNDr. Tomáši Erbanovi Ph.D., z Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v. v. i., v Praze 6-Ruzyni, za odborné vedení, velkou pomoc s touto prací, ochotu, poskytnutí cenných informací, rad, připomínek a času, aby tato práce mohla vzniknout. Poděkovat taktéž musím i dalším pracovníkům z VÚRV Ruzyně: RNDr. Brunu Sopkovi, Ph.D., za pomoc se statistickým zpracováním a vyhodnocením dat, dále Mgr. Sylvě Číhalové, Mgr. Julii Chalupníkové, Ing. Mgr. Miroslavě Bodrinové, Mgr. Eleně Shcherbachenko, ale hlavně slečně Kateřině Bártové za pomoc, rady a čas, který mi v laboratoři poskytly.

Velice také děkuji své rodině, především svým dvěma malým dcerám za umožnění studovat, a přátelům za psychickou podporu po celou dobu studia.

Synergický účinek látek aplikovaných v době květu řepky na škůdce a necílové organismy

Souhrn

V zemědělské praxi se používají přípravky na ochranu rostlin (dále jen POR) nejen samostatně, ale velice často aplikovány v tzv. tank mixu, což má ekonomické a praktické výhody. Na druhou stranu může mít aplikace v tank mixu odlišný účinek na škůdce a představovat zvýšené riziko pro necílové organismy. Ačkoliv nejsou některé látky cílené proti škůdcům, může být jejich použití v tank mixu důvodem vyšší efektivity na cílové organismy. Vliv pesticidů na cílové, ale i necílové organismy je tedy aktuální mezinárodně významné téma.

Práce je v literární rešerši věnována ochraně rostlin, řepce oleje, škůdcům a chorobám řepky, ochraně řepky, necílovým organismům a synergickým účinkům pesticidů. V praktické části je zhodnocen synergický účinek prostředků a pomocných látek na ochranu rostlin na necílového členovce *Folsomia candida*. Zaměření práce bylo na látky aplikované v tank mixu v době květu řepky, insekticid thiakloprid, fungicidy tebukonazol a propikonazol a rostlinné regulátory růstu (natrium-5-nitroguajakolát; natrium-2-nitrofenolát; natrium-4-nitrofenolát). Byl potvrzen předpoklad, že látky aplikované v tank mixu mají vliv na větší úmrtnost chvostoskoků v půdě. Na tomto podkladu pak byly založeny pokusy, kdy se předpokládalo, že vitamíny skupiny B přidané do zásobních roztoků budou alespoň z části eliminovat synergický vliv použitých pesticidů. Následně byla zjištěná data zpracována jednofaktorovou analýzou (ANOVA).

Z výsledků vyplývá, že použití POR v tank mixu významně ovlivňuje necílové půdní organismy. Kombinace tank mixu těchto látek je pro modelový druh obzvláště nebezpečná. Řešením při používání POR by se mohla stát kombinace s vitamíny B, kdy testy prokázaly nižší mortalitu testovaných živočichů v porovnání s předcházejícími výsledky. Mortalitu pravděpodobně ovlivnilo lepší fitness těchto členovců, kdy jim touto cestou byla dodávána strava pro jejich endosymbiotickou bakterii rodu *Wolbachia*.

Klíčová slova: eliminace, ochrana rostlin, necílové organismy, řepka olejka, synergismus, *Wolbachia*

Synergistic effect of compounds applied at winter oilseed rape blossoming phase on pests and non-target organisms

Summary

In agricultural practice, plant protection products (PPPs) are also available, but often often applied in a so-called tank mix, which has economic and practical advantages. On the other hand, application in a tank-mix can present different effects on pests and pose risks to non-target organisms. Although some compounds are not pesticides by nature, their use in a mix tank may be a reason for higher efficacy on target organisms. The impact of pesticides on target as well as non-target organisms is a topical international topic.

The works are in literary restrictions on the protection of plants, oilseed rape, pests and diseases of rape, protection of rape, non-target organisms and synergistic effects of pesticides. In practical parts, the synergistic effect of PPPs and auxiliaries on non-target arthropods *Folsomia candida* is evaluated. Use of the insecticide thiacloprid, fungicides tebuconazole and propinoconazole and plant growth regulators (sodium 5-nitroguaiacolate; sodium 2-nitrophenolate; sodium 2-nitrophenolate). The assumption that the substances applied in the tank-mix had an effect on the greater mortality of the tailfish in the soil was confirmed. For this purpose, experiments have been found to find that Group B vitamins have been added to containers and the synergistic effects of your pesticides have been eliminated. Subsequently, the obtained data were processed by single-factor analysis (ANOVA).

The results indicate that the use of PPPs significantly affects non-target soil organisms. The combination of tank mix of these substances is especially dangerous for a model species. A solution could be using PPPs with vitamins B, where the tests showed low mortality of test animals compared to previous results. Mortality may be influenced by better fitness of these arthropods, due to addition of food for their endosymbiotic bacteria of the genus *Wolbachia*.

Keywords: elimination, plant protection, non-target organisms, oilseed rape, synergistic, *Wolbachia*

Obsah

1. Úvod	10
2. Vědecká hypotéza a cíl práce	11
3. Literární rešerše	12
3.1. Ochrana rostlin.....	12
3.1.1. Metody ochrany rostlin	12
3.1.2. Integrovaná ochrana	13
3.1.3. Nepřímé metody ochrany	14
3.1.3.1. Metody agrotechnické	14
3.1.3.2. Metody šlechtitelské.....	14
3.1.3.3. Metody organizační (legislativní)	15
3.1.3.3.1. Rostlinolékařské pasy a karanténní opatření	16
3.1.4. Přímé metody ochrany	17
3.1.4.1. Mechanické metody	17
3.1.4.2. Fyzikální metody.....	17
3.1.4.3. Biologické metody	18
3.1.4.4. Biotechnické metody.....	19
3.1.4.5. Chemické metody.....	19
3.1.5. Nejrozšířenější skupiny organických insekticidů.....	20
3.1.5.1. Organofosfáty	20
3.1.5.2. Karbamáty.....	21
3.1.5.3. Pyretroidy	21
3.1.5.4. Neonikotinoidy	21
3.1.6. Rezistence	22
3.1.6.1. Insecticide Resistance Action Committee (IRAC)	22
3.1.6.2. Rezistence škůdců vůči insekticidům.....	23
3.1.6.3. Mechanismy rezistence	24
3.1.6.4. Molekulární mechanismy rezistence vůči fungicidům.....	25
3.1.6.5. Metody diagnostiky rezistence	26
3.1.7. Použití ochrany v tank-mixu	26
3.2. Řepka olejka (<i>Brassica napus</i> subsp. <i>napus</i>)	27
3.2.1. Charakteristika	27
3.2.2. Původ a rozšíření řepky	28
3.2.3. Pěstování řepky v Česku	29
3.2.4. Možnosti využití řepky olejky	29

3.2.5.	Technologie pěstování ozimé řepky	30
3.3.	Škůdci a choroby řepky olejky.....	31
3.3.1.	Choroby ozimé řepky v období setí a vzcházení	31
3.3.2.	Škůdci ozimé řepky v období setí a vzcházení.....	32
3.3.3.	Choroby ozimé řepky v období podzimu.....	33
3.3.4.	Škůdci ozimé řepky v období podzimu	34
3.3.5.	Choroby ozimé řepky v období časného jara	36
3.3.6.	Škůdci ozimé řepky v období jara	37
3.3.7.	Choroby ozimé řepky v období květu a tvorby šešulí	38
3.3.8.	Škůdci ozimé řepky v období květu a tvorby šešulí	41
3.4.	Ochrana řepky.....	43
3.4.1.	Monitoring škůdců řepky.....	43
3.4.2.	Management řepky olejky	44
3.4.2.1.	Šlechtitelské metody ochrany řepky	44
3.4.2.2.	Chemické metody.....	45
3.4.2.2.1.	Používání pesticidů v posledních letech	45
3.4.2.2.2.	Spotřeba účinných látek do porostů řepky v roce 2018/2019.....	47
3.4.2.3.	Fungicidní ochrana	48
3.4.2.4.	Herbicidní ochrana	48
3.4.2.5.	Insekticidní ochrana	48
3.4.3.	Rezistence na přípravky v řepce	49
3.4.4.	Ochrana řepky přípravky v tank mixu	50
3.5.	Výživa rostlin a látky pomocné.....	51
3.5.1.	Význam výživy rostlin	51
3.5.1.1.	Hnojení řepky.....	51
3.5.2.	Regulátory růstu.....	52
3.5.3.	PR proteiny.....	55
3.5.4.	Syntetické regulátory růstu.....	57
3.6.	Necílové organismy.....	58
3.6.1.	Necílové vodní organismy	59
3.6.2.	Rostliny jako necílové organismy	60
3.6.3.	Ptáci, obratlovci a další necíloví živočichové	61
3.6.4.	Necílové půdní organismy	62
3.6.4.1.	Členovci.....	62
3.6.4.2.	Chvostokoci.....	63

3.6.4.2.1. <i>Folsomia candida</i>	64
3.6.4.3. Mikroorganismy jako symbionti.....	65
3.6.4.3.1. <i>Wolbachia</i> spp.....	65
3.6.4.3.2. <i>Folsomia candida</i> a symbiotismus s <i>Wolbachia</i> spp.....	66
3.6.4.4. Mikroorganismy a syntéza vitamínů B2 a B7	66
3.6.4.4.1. <i>Wolbachia</i> spp. a syntéza vitamínů	66
3.6.4.4.2. Pesticidy a mikrobiom	67
3.7. Synergické účinky pesticidů.....	68
3.7.1. Synergické účinky pesticidů s kovy	69
4. Materiál a metody	71
4.1. Chov modelového druhu chvostoskoka <i>F. candida</i>	71
4.1.1. Biotesty s chvostoskoky a metodika OECD.....	71
4.1.2. Přípravky používané v experimentech s chvostoskoky.....	72
4.1.3. Použité nádoby a substrát	76
4.1.4. Rozpustnost vitamínů.....	76
4.2. Experimenty účinku přípravků na ochranu rostlin	78
4.2.1. Pokus č. 1: Testování vlivu přípravků na ochranu rostlin (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich tank mixu) v půdě po dobu 4 týdnů	78
4.2.1.1. Pokusy založené v červenci, srpnu a září 2019	78
4.2.2. Pokus č. 2: Testování vlivu vitamínů B2 a B7 na eliminaci synergického účinku přípravků na ochranu rostlin v tank mixu (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik) po dobu 4 týdnů	79
5. Výsledky.....	81
5.1. Biotesty s chvostoskoky	81
5.1.1. Pokus č. 1: Testování vlivu POR (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik) a jejich mixu po dobu 4 týdnů – založeno červenec 2019.....	81
5.1.2. Pokus č. 2: Testování vlivu vitamínů B2 a B7 na eliminaci synergického účinku přípravků na ochranu rostlin v tank-mixu (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik) po dobu 4 týdnů (listopad, prosinec 2019, leden 2020).....	88
6. Diskuse	92
7. Závěr	97
8. Seznam použité literatury	98
9. Seznam použitých zkratk a symbolů.....	138
10. Samostatné přílohy	140
10.1. Zkoumané pesticidní látky a jejich metabolity v půdě	140
10.2. Časová osa výskytu chorob a škůdců řepky	141
10.3. Fotodokumentace	142

10.4. Seznam použitých přístrojů, techniky, chemikálií a programů	145
10.5. Seznam tabulek, fotografií a grafů	146

1. Úvod

Rostoucí používání přípravků na ochranu rostlin vedlo k rozšířeným obavám z vlivu těchto přípravků na životní prostředí a zejména na lidské zdraví. V reakci na tyto obavy byly uzavřeny mezinárodní dohody a stanoveny vnitrostátní regulační rámce za účelem regulace používání přípravků na ochranu rostlin. Je nezbytné, aby regulační systémy byly založeny na současných spolehlivých vědeckých poznatcích. Půdní organismy jsou nezbytnými účastníky většiny funkcí půdy, které podporují jejich ekosystémové služby (FAO & ITPS 2017).

Směsi pesticidů jsou v Evropské unii (EU) běžné v lidské potravě (NRC 1993), dále také ve vodním prostředí, včetně jezer, řek, potoků a dalších povrchových vod (Gilliom 2007). Posouzení kumulativní toxicity pesticidů ve směsích pro životní prostředí je trvale zkoušeno (Monosson 2005). Kontaminace pesticidy je pro zemědělské půdy jednou z nejvážnějších hrozeb (Baćmaga et al. 2019). Pesticidy zlepšují produktivitu a kvalitu zemědělských plodin, a proto jsou široce využívány po celém světě. Z ekonomického hlediska jsou pesticidy v zemědělském odvětví ve většině případů účinným nástrojem v boji proti škůdcům (Babut et al. 2013), přesto časté a nesprávné použití těchto přípravků na ochranu rostlin může působit nepříznivě na přírodní prostředí (Yang et al. 2012). Při častém používání v průběhu vegetačního období mohou pesticidy přinést výsledky, které jsou v rozporu s jejich zamýšleným účelem (Carvalho 2017).

2. Vědecká hypotéza a cíl práce

Když před více jak půl stoletím přišly na trh přípravky na ochranu rostlin, lidé si mysleli, že jsou před různými chorobami a škůdci už chráněni. Bohužel myšlenky se nenaplnily a snaha o dobré se začala spíše měnit v opak. Nikdo nemyslel na vedlejší účinky, které mohou tyto přípravky mít na okolní životní prostředí. Chvostoskok *Folsomia candida*, velmi citlivý vůči chemickým látkám, je tak používán jako jeden z modelových druhů, který je schopen ukázat nám kontaminaci půdy škodlivými látkami.

Vědecká hypotéza: Různé látky (prostředky na ochranu rostlin, pomocné látky) aplikované v tank mixu mohou mít odlišné působení a mohou být rizikovější pro necílové organismy než při oddělené aplikaci.

Cílem práce je zhodnotit synergický účinek prostředků na ochranu rostlin a pomocných látek na vybraný necílový modelový organismus.

3. Literární rešerše

3.1. Ochrana rostlin

Ochrana rostlin je odvětví zemědělské vědy, které určuje způsoby a prostředky kontrol chorob, škůdců a plevelů nejrůznějších plodin, jakož i soubor opatření používaných v zemědělství a lesnictví k prevenci a odstranění škod způsobených škodlivými organismy. Cílem ochrany rostlin je nejen ničit škodlivé organismy nebo omezit jejich činnost, ale také předpovědět včas, který se kdy objeví, a rozsah, v jakém se mohou šířit, zabránit tomu, aby se zvláště škodlivé organismy přesunuly z některých zemí a oblastí do ostatních. Abychom mohli ochranu rostlin provádět správně, je potřeba vycházet z údajů z jiných zemědělských odvětví, jako je výběr a pěstování rostlin, fytopatologie, zoologická entomologie, zoologická a botanická taxonomie, anatomie, morfologie, ekologie, geografie, ale i genetika, biochemie či fyziologie rostlin a živočichů (Oliavkov & Humakov 2010). Důležité jsou rovněž poznatky z meteorologie, klimatologie, fyziky a chemie, hygieny a toxikologie (Baier et al. 1985).

Kontrola škodlivého organismu je stejně stará jako zemědělství, neboť vždy bylo nutné udržovat plodiny bez škůdců, aby se maximalizovala produkce potravin. Před vznikem věd o rostlinolékařství se zemědělci rozvinuli v mnoha kulturních praktikách prostřednictvím zkušebních a chybových zkušeností s cílem minimalizovat škody způsobené hmyzími škůdci (Sorensen et al. 2016). Pro udržení škodlivých organismů (chorob, škůdců, plevelů) pod hospodářským prahem škodlivosti je k dispozici široká škála individuálních opatření s různými ekologickými, ekonomickými a sociálně-ekonomickými dopady. Pro snížení poškození se provádí preventivní opatření (Baier et al. 1985).

3.1.1. Metody ochrany rostlin

Výskyt chorob a škůdců je omezován metodami přímými a nepřímými. Cílem nepřímých metod je zamezení škodlivého výskytu, kdy se vytvářejí nepříznivé životní podmínky pro původce a jejich charakter je preventivní. Cílem přímých metod je již zahubení původců chorob a škůdců (Kazda et al. 2010).

3.1.2. Integrovaná ochrana

Integrovaná ochrana rostlin (IOR) znamená pečlivé zvážení všech dostupných metod ochrany rostlin a následnou integraci vhodných opatření, která odrazují od vývoje populací škodlivých organismů a udržují používání přípravků na ochranu rostlin a dalších forem intervence na úrovních, které jsou ekonomicky a ekologicky odůvodněné, a redukují nebo minimalizují důsledky pro lidské zdraví a životní prostředí. Tato ochrana zdůrazňuje růst zdravé plodiny s co nejmenším možným narušením agroekosystémů a podporuje přirozené mechanismy ochrany proti škůdcům (Smith et al. 1976). Cílem není pouze snaha o maximální výnos plodiny, ale hlavně snížení výskytu těchto organismů pod ekonomický práh škodlivosti až případné zamezení porušení rovnováhy ekosystému, za co nejnižší aplikace chemických přípravků (Pastorek et al. 2002). K přesnému určení termínu, kdy ochranu použít, je nutné využívat metody prognózy a signalizace (Kazda et al. 2010).

Integrované metody ochrany rostlin se obecně ukázaly být úspěšnější u trvalých plodin než u krátkodobých plodin, jelikož jejich biocenózy jsou stabilnější a mohou být trvaleji ovlivněny, zatímco krátkodobé jsou nevyhnutelně předmětem neustálé změny (Baier et al. 1985). Od roku 2014 jsou všechny doporučené metody integrované ochrany rostlin pro všechny pěstitele polních plodin povinné podle Nařízení Evropského parlamentu a rady č. 1107/2009 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh (EC 2019a) a ve Směrnici Evropského parlamentu a rady 2009/128/ES (EC 2019b).

Zásady IOR jsou formulovány ve vyhlášce 205/2012 Sb. k zákonu 326/2012 Sb. a jsou následující:

- prevence nebo potlačení škodlivých organismů (střídání plodin, agrotechnika, výběr odrůd, osivo a sadba, podpora užitečných organismů atd.),
- monitoring výskytu škodlivých organismů, prognózy, systém varování a včasná diagnóza,
- rozhodování o ošetření podle prahů škodlivosti a způsobu ochrany,
- preference nechemických prostředků,
- výběr vhodných přípravků s co nejmenšími vedlejšími účinky pro okolní prostředí,
- používání pesticidů v co nejmenším množství,
- uplatňování antirezistentních strategií,
- zhodnocení úspěšnosti provedených ochranných opatření (PV-Agri 2013).

3.1.3. Nepřímé metody ochrany

Nepřímé metody ochrany rostlin dělíme na:

- agrotechnické,
- šlechtitelské,
- organizační (Baier et al. 1985).

3.1.3.1. Metody agrotechnické

Agrotechnické metody jsou založeny na použití obecných a specifických způsobů hospodaření za účelem vytvoření ekologických podmínek, které jsou nepříznivé pro vývoj a reprodukci škodlivých organismů, a které napomáhají ke zvýšení kapacity ochrany rostlin (Oliakov & Humakov 2010). První použití těchto metod bylo provedeno ve 20. století ruským entomologem Kurdumovem (Zubkov 2005).

Metody spočívají podle Trunečky (1997) v(e):

- výběru vhodného stanoviště,
- dodržení osevních postupů,
- volbě vhodné odrůdy a směsných kultur,
- obdělávání půdy,
- hnojení a výživě,
- sklizni,
- skladování,
- posklizňových opatřeních.

3.1.3.2. Metody šlechtitelské

Slouží k zavedení nových odrůd, které mohou být i geneticky modifikované a jsou rezistentní vůči určitým patogenům a škůdcům či mají proti nim pouze zvýšenou odolnost (Kazda et al. 2010). Šlechtění je ovšem běh na dlouhou trať a dodnes je vyšlechtěno jen málo takto odolných odrůd. Bohužel ani šlechtění nemá trvalé výsledky, neboť patogeni jsou schopni po určité době rezistenci překonat (Kazda & Škeřík 2008). Použití geneticky modifikovaných odrůd může usnadnit ochranu jak proti patogenům a škůdcům, tak i plevelům. Ztráty, které tyto organismy na kulturních porostech způsobují, dosahují minimálně 30 %. Nesmíme opomenout, že používáním těchto odrůd jsme šetrnější k životnímu prostředí (Holec & Soukup 2006).

3.1.3.3. Metody organizační (legislativní)

Zahrnují monitoring, prognózu a signalizace škodlivých organismů. Vyhodnocují podmínky pro pěstování a organizaci práce. Jejich základem je ale i dodržování zákonů, vyhlášek a dalších předpisů (Kazda et al. 2010).

Právní předpisy pro přípravky na ochranu rostlin jsou dány jak zákony a vyhláškami České republiky, tak nařízeními a směrnicemi Evropské komise. Legislativa Česku je řízena následujícími předpisy:

- zákon č. 252/1997 Sb., o zemědělství (ČR 2019a),
- zákon č. 326/2004 Sb. o rostlinolékařské péči pozměněný zákonem č. 369/2019 (ČR 2019b),
- zákon č. 147/2002 Sb., o Ústředním kontrolním a zkušebním ústavu zemědělském (ČR 2017a),
- vyhláška č. 327/2012 Sb., o ochraně včel, zvěře, vodních organismů a dalších necílových organismů při použití přípravků na ochranu rostlin (ČR 2017b),
- vyhláška č. 215/2008 Sb., o opatřeních proti zavlečení a rozšiřování škodlivých organismů rostlin a rostlinných produktů (ČR 2019c),
- vyhláška č. 205/2012 Sb., o obecných zásadách integrované ochrany rostlin (ČR 2014).

Vzhledem k tomu, že je Česko součástí Evropské unie, jsme povinni dodržovat další legislativní opatření, kterými jsou:

- 1107/2009 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh (EC 2019a)
- 540/2011 Prováděcí nařízení Komise (EU), kterým se provádí nařízení č. 1107/2009, pokud jde o seznam schválených účinných látek (EC 2011a)
- 544/2011 Nařízení Komise (EU), kterým se provádí nařízení č. 1107/2009, o požadavcích na údaje o účinných látkách (EC 2011b)
- 545/2011 Nařízení Komise (EU), kterým se provádí nařízení č. 1107/2009, o požadavcích na údaje o přípravcích na ochranu rostlin (EC 2013)
- 546/2011 Nařízení Komise (EU), kterým se provádí nařízení č. 1107/2009, o jednotné zásady pro hodnocení a povolování přípravků na ochranu rostlin (EC 2018)
- 547/2011 Nařízení Komise (EU), kterým se provádí nařízení č. 1107/2009, o požadavcích na označování přípravků na ochranu rostlin (EC 2013b)

- 1185/2009 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) o statistice pesticidů (EC 2017)
- 2009/128/ES Směrnice Evropského parlamentu a Rady, kterou se stanovuje rámec pro činnost Společenství za účelem dosažení udržitelného používání pesticidů (EC 2019b)
- 2000/60/ES Směrnice Evropského parlamentu a Rady o vodní politice (EC 2014a)
- 98/83/ES Směrnice Evropského parlamentu a Rady o kvalitě vody určené pro spotřebu člověka (EC 2015)
- 2006/118/ES Směrnice Evropského parlamentu a Rady o ochraně podzemních vod (EC 2014b)
- 2004/35/ES Směrnice Evropského parlamentu a Rady o odpovědnosti za životní prostředí (EC 2019c).

Na základě těchto opatření, která jsou ve směrnicích stanovena, vypracovaly země Evropské unie národní akční plány. V EU a v ostatních státech světa je registrováno několik set látek používaných či využívaných jako pesticidy. V Česku se mohou používat jen látky povolené Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ). ÚKZÚZ taktéž sestavil povinné a doporučující věty s ohledem na rizika pro necílové organismy uváděné na etiketě přípravků (Klašková 2012).

K roku 2019 bylo v Evropské unii povoleno používat pouze 483 účinných látek z celkem dostupných 1383 účinných látek (EC 2016). V každé členské zemi EU musí každý přípravek projít podle Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority- EFSA) před uvedením na trh schvalovacím procesem (EFSA 2013).

3.1.3.3.1. Rostlinolékařské pasy a karanténní opatření

Rostlinolékařské pasy garantují zdravotní stav rostlin. Je zde možnost zpětného dohledání původu. Musí je mít rostliny, rostlinné produkty a jiné předměty podle vyhlášky č. 215/2008 Sb., přílohy 9 rizikové z hlediska možného přenosu karanténních škodlivých organismů uváděné do oběhu. V EU a Česku o ně žádají pěstitelé, dovozci, obchodníci a výrobci. Ti musí být v úředním registru, musí vést záznamy o původu, evidenci rostlin a rostlinných produktů, vedení plánů pozemků a objektů získání na základě kontrol ÚKZÚZ na výskyt karanténních chorob a škůdců (Mazáková 2018).

Karanténní opatření zahrnují mimořádná rostlinolékařská opatření. Karanténní režim je splnění a dodržení podmínek dané vyhláškou při dovozu, přemísťování, přechovávání a

manipulaci karanténních škodlivých organismů (KŠO) pro pokusné, vědecké a šlechtitelské účely nejen uvnitř státu (Klašková 2012).

3.1.4. Přímé metody ochrany

Tyto metody dělíme na:

- mechanické,
- fyzikální,
- biologické,
- biotechnické,
- chemické,

kterými se ničí škodlivé organismy a omezují jejich výskyt (Roh et al. 2003).

3.1.4.1. Mechanické metody

Historicky byly mechanické a kulturní postupy hlavními metodami, které zemědělci používali k předcházení ztrátám plodin (Sorensen et al. 2016). Mechanické metody ochrany rostlin (použití bariérových a pasových příkopů, lepivých proužků, různých zařízení pro zachycení škůdců), které kdysi hrály důležitou roli, jsou nyní málo využívané, protože vyžadují hodně práce a nejsou příliš účinné (Oliakov & Humakov 2010). V současnosti se používají jen na malých zahrádkách a plochách (Kazda et al. 2010).

3.1.4.2. Fyzikální metody

Fyzikální metody přímo ničí škodlivé organismy, snaží se zpomalit jejich vývoj nebo zabránit jejich šíření, slouží jako alternativa k pesticidům při řízení půdních patogenů (Katan 2000). Tyto metody byly používány nejvíce v 60. a 70. letech 20. století. Předpokladem byla částečná náhrada toxických insekticidů. Jejich vysoká energetická náročnost však způsobila, že se v současnosti prakticky nepoužívají (Kazda et al. 2010). Využíváno je těchto metod především proti houbovým a virovým chorobám, desinfekci půdy a ničení plevelů (Trunečka 1997). Tepelné metody často vyžadují vstup velkého množství energie, aby se zabíjely škodlivé organismy působením tepla (spalování, výroba páry, horké vody nebo vzduchu). Solarizace využívá sluneční energii, plastová fólie (většinou vyrobená z polyethylenu) musí být umístěna nad celou oblastí nebo mezi řadami plodin, aby se dosáhlo skleníkového efektu (Singh & Pandey 2012). Enviromentální dopad těchto metod není zanedbatelný. Účinky tepla na

biocenózu jsou ve většině případů ovšem neselektivní, takže populace mikroflóry a mikrofauny se musí znovu obnovit a dosáhnout rovnováhy (Stoll 1988).

Mezi tyto metody se řadí i použití zvukových efektů na plašení ptáků, které je nutno střídát, taktéž mají význam a využití při signalizaci živočišných škůdců, kdy se jedná o lákání na barvu, případně světelné lapače v nočních hodinách (Kazda et al. 2010). Použití hluku k vystrašení ptáků je nespecifické a má vliv na jiné organismy, jejichž způsob života (hnízdění, páření, chov mladých) může být narušen. Světelné pasti přitahují většinu nočního okřídleného hmyzu, a tudíž lákají i jiné necílové organismy (Stoll 1988).

3.1.4.3. Biologické metody

Biologické metody ochrany rostlin jsou založeny na použití dravých a parazitních druhů hmyzu, dravých roztočů, mikroorganismů, hád'átek, ptáků, savců a dalších živočichů k potlačení nebo snížení počtu škodlivých organismů. První úspěšné pokusy o využití prospěšného hmyzu byly provedeny v Číně, kdy se zkoušel dravý hmyz v boji proti housenkám a dalším škůdcům (Oliakov & Humakov 2010). Tato metoda ochrany rostlin zahrnuje používání organismů a jejich aktivitu k ochraně a zvýšení odolnosti vůči biotickým (škodlivým organismům) a abiotickým limitujícím faktorům. Pro účely ochrany proti škůdcům a chorobám jsou užitečné organismy zvláště chráněny a podporovány, uvolňovány ve velkém množství nebo zavedeny do stanovišť, kde se dosud nevyskytovaly. Biologická kontrola plevelů se do dnešního dne primárně týká zavádění prospěšných organismů do nových stanovišť (Stoll 1988). Další biologickou metodou je indukce rezistence vůči onemocnění. Toho lze dosáhnout například infekcí rostlin patogenními mikroorganismy s nízkou virulencí (Mazáková 2018).

Existují úzké vazby mezi biologickou a integrovanou ochranou rostlin, neboť obě metody přikládají značnou důležitost regulaci pomocí biotických omezujících faktorů. Mají-li se takovéto metody ukázat jako účinné, musí se používat jen málo nebo vůbec nepoužívat preventivní a širokospektrální pesticidy. Biologické metody mohou být aplikovány pouze v omezeném měřítku u intenzivně využívaných agrobiocenóz, které jsou pro některé druhy špatné, ale mohou hrát důležitější úlohu v oblastech, kde se provádí extenzivní hospodaření a žijí rozmanité druhy. Jejich limity jsou určeny především efektivitou prospěšných organismů a jejich závislostí na podmínkách prostředí (Stoll 1988).

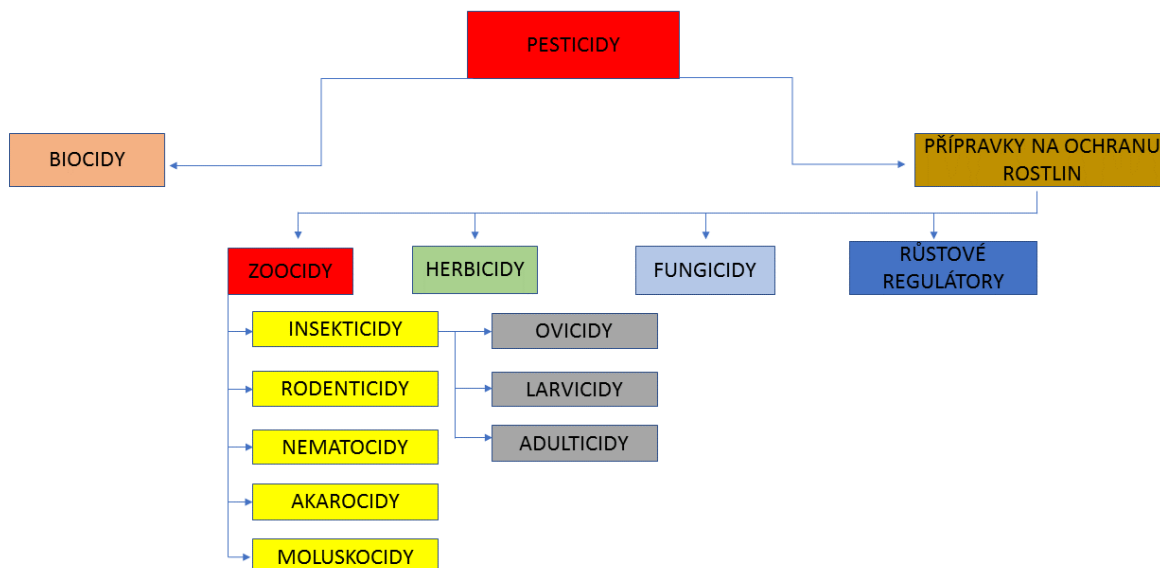
3.1.4.4. Biotechnické metody

Podstatou je využití přirozených reakcí škůdců na fyzikální a chemické podněty. Využívají se podněty čichové či látky, které ovlivňují chování, rozmnožování a celkový vývoj. Nejvíce jsou používány feromonové látky, jež lákají samečky škůdců do pastí (Kazda et al. 2010). Dále se používají agregační a svlékací feromony (Kocourek et al. 2017). Důraz je kladen na opatření, jejichž cílem není zabránit přímému zabíjení škodlivých organismů, ale spíše umožnit sledování populace za účelem předpovědi, obranných opatření a odrazování. Škodlivé organismy lze zabít kombinací biotechnologických metod s chemickými opatřeními (Oliakov & Humakov 2010). Pokud jsou škodlivé organismy přitahovány stimuly nebo usmrceny kombinací takových opatření s použitím jedu, mohou být současně postiženy i jiné organismy. Bylo prokázáno, že opakované použití regulátorů růstu (hormonů) podporuje rozvoj rezistence ze strany cílových organismů. Existuje také riziko nežádoucích účinků na užitečné organismy, kdy například larvy včel a další hmyz konzumují kontaminovaný pyl či jiné části rostlin (Stoll 1988).

3.1.4.5. Chemické metody

Nejvíce rozšířené a používané metody, které obsahují celou řadu různých chemických látek (Roh et al. 2003). Při chemické ochraně rostlin se používají eradikační, ochranné a léčebné metody k ničení škodlivých organismů nebo proti napadení a pronikání škodlivých organismů, případně i k léčení rostlin (nebo částí rostlin), které již byly napadeny nebo jsou nemocné. Přestože chemické metody lze tímto způsobem rozdělit na základě jejich účinků, hranice mezi jednotlivými kategoriemi jsou poněkud nejisté, protože mnoho pesticidů má více než jeden typ účinku. Pesticidy obecně zabíjejí škodlivý organismus tím, že ovlivňují životně důležité metabolické procesy nebo narušují vodivý systém. Selektivita se může měnit vhodným výběrem účinné látky, formulace, aplikační techniky a doby aplikace (Stoll 1988). Jejich aplikace se používá zejména na velkých plochách (Trunečka 1997). Ačkoliv jde o rychlý způsob ochrany, opakované používání může vést ke vzniku rezistence škodlivých organismů, čímž se snižuje její účinnost (Kazda et al. 2010). Tyto chemické přípravky jsou svými látkami ale také velkým rizikem a nebezpečím pro své okolí, tedy pro celé životní prostředí (Kužma 2009). Jejich cílem je být co nejvíce účinné proti cílovým organismům, ale co nejméně proti necílovým organismům, jako jsou včely, ptáci, vodní a půdní živočichové, ale v neposlední řadě také sám člověk (Kazda & Škeřík 2008).

Chemické prostředky na ochranu rostlin, souhrnně nazývané pesticidy dělíme podle druhu působení na (Seifert 1985):



Obr. č. 1: Dělení pesticidů dle Prokop (2017) podle Seiferta (1985)

Pesticidy jsou členěny podle působení na organismus na kontaktní, systémové a mezostemicky působící. Existují též různé formy jejich používání, ať už se jedná o práškové formy, postřiky, granuláty, suspenze, roztoky, emulze, aerosoly, plyny, koncentráty, pasty, smáčitelné prášky, nátěry či impregnace. Tato různorodost vyplývá z ekonomických a technických možností používání daného přípravku, ale samozřejmě i vlastností škůdce (Nikonorow et al. 1983).

3.1.5. Nejrozšířenější skupiny organických insekticidů

3.1.5.1. Organofosfáty

Nejpoužívanější skupinou insekticidů jsou organofosfáty. Jedná se o estery kyseliny fosforečné. Ireverzibilně inhibují enzym acetylcholinesterázu (Stejskal et al. 2008) a způsobují tak závažnější formu cholinergní otravy (Metcalf 1989). Pokud enzym, který katalyzuje rozklad acetylcholinu (nervového přenašeče) v organismu chybí, není tedy acetylcholin rozložen na cholin a kyselinu octovou, není odbouráván a jeho hladina se zvyšuje (Stejskal et al. 2008). Jeho přebytek způsobuje v nervové soustavě křeče a hmyz pak následně hyne. Ve většině

případů se jedná o neselektivní přípravky, které jsou dlouhodobě perzistentní a usmrcují pouze pohyblivé organismy (Kazda et al. 2010). Jsou velmi toxické pro necílové organismy (Stejskal et al. 2008).

3.1.5.2. Karbamáty

Jedná se o estery kyseliny karbaminové či karbamidové, tedy takzvané karbamátové insekticidy. Do této skupiny patří aldicarb, karbofuran, karbaryl, ethienokarb, fenobucarb, oxamyl a methomyl (Fukuto 1990). Stejně jako organofosfáty inhibují enzym acetylcholinesterázu (Stejskal et al. 2008). Tyto insekticidy zabíjejí hmyz reverzibilní inaktivací enzymu acetylcholinesterázy (Fukuto 1990). Toxicita pro necílové organismy je též vyšší, avšak vytvoření rezistence je na ně nižší (Stejskal et al. 2008). Poškození nervového systému je však při prvních příznacích otravy reverzibilní (Kazda et al. 2010).

3.1.5.3. Pyretroidy

Syntetické pyretroidy vznikly přeměnou přírodních pyretrínů. Škůdce se při kontaktu s nimi velmi rychle omráčí, ztrácí koordinaci, nemůže létat a výsledkem bývá smrt. Struktura derivátů těchto pyretroidů je stejná, liší se substituenty, které jsou toxické pouze proti určitému hmyzu (Feo et al. 2010). Pyretroidy dělíme do dvou základních skupin. Skupina pyretroidů typu I. neobsahuje kyanidovou skupinu. Skupina pyretroidů typu II. obsahují kyanidovou skupinu na alfa pozici (Eisler 2007).

Pyretroidy jsou taktéž jako organofosfáty a karbamáty nervové jedy, neselektivní insekticidy, které jsou pro jiné necílové organismy toxické (Kazda et al. 2010). Pyretroidy jsou toxické pro prospěšný hmyz, jako jsou včely, vážky, jepice, ovádi a pro některé další bezobratlé, včetně těch, které tvoří základ vodních a suchozemských potravinových sítí (Zaveri 2010). Jsou toxické pro vodní organismy včetně ryb (Thatheyus & Gnana Selvam 2013). Jejich působení je ovšem ovlivňováno teplotou. Teplota pod 15 °C nebo naopak nad 25 °C snižuje účinnost a hmyz není usmrcen, pouze omráčen a po několika hodinách se může vzpamatovat (Kazda et al. 2010).

3.1.5.4. Neonikotinoidy

Neonikotinoidy jsou nejvýznamnějšími syntetickými insekticidy používanými v zemědělství (Tomizawa & Casida 2000). Působí na organismy při požití nebo dotyku jako nervové jedy. Usmrcují larvy i dospělé savého hmyzu, ale i některé druhy žravého hmyzu.

Neonikotinoidy se váží na acetylcholinový nikotinový receptor na subsynaptické membráně, kde ho zablokují (Zhang et al. 2000). Nervové vzruchy jsou utlumeny a hmyz v tomto důsledku hyne (Kazda et al. 2010). Působí také na potlačení vývoje vajíček, kdy hmyz přestává přijímat potravu (Chao et al. 1997). Účinkují již ve velmi nízkých dávkách (Kazda et al. 2010).

3.1.6. Rezistence

Rezistence vůči pesticidům je adaptace populace škůdců, na kterou se vztahuje pesticid, jehož výsledkem je snížená citlivost na chemickou látku. Jinými slovy, škůdci vyvíjejí odolnost vůči chemikáliím prostřednictvím přirozeného výběru: nejodolnější organismy jsou ty, které přežijí a dokáží předat své genetické rysy svému potomstvu (Karaağaç 2012). Za posledních 40 let se objevila odolnost hmyzu proti insekticidům jako obrovský problém, který ohrožuje schopnost člověka ovládat nejen škůdce v zemědělství, ale také hmyzí vektory, které přenášejí patogeny lidí a zvířat (Metcalf 1989) a stává se rostoucím problémem (Karaağaç 2012). Šíření genů pro křížovou a vícenásobnou rezistenci mezi hmyzem způsobilo, že většina současných českých insekticidů je zastaralá a jako náhražky se vyvíjí velmi málo nových insekticidů. Nejvhodnější strategií pro udržení adekvátní kontroly hmyzích škůdců je integrovaná ochrana proti škůdcům nebo IOR, u kterých je užitečná složka řízení insekticidů (Metcalf 1989). Vliv na rezistenci mají faktory biologické, genetické, ale i provozní, jež může člověk ovlivnit (Karaağaç 2012).

3.1.6.1. Insecticide Resistance Action Committee (IRAC)

Insekticidní rezistence je dlouhodobý a rozšiřující se problém při kontrole škůdců. Efektivní správa rezistence proti insekticidům (IRM) je nezbytná, pokud má být zachována užitečnost současných i budoucích insekticidů. V roce 1984 byla založen Insecticide Resistance Action Committee (IRAC), mezinárodní asociace zabývající se ochranou rostlin. Společnost IRAC působí jako odborná technická skupina v rámci společnosti CropLife International zaměřená na zajištění dlouhodobé účinnosti produktů na ochranu proti hmyzu, roztočům a klíšťatům prostřednictvím účinného řízení odolnosti pro udržitelné zemědělství a zlepšení veřejného zdraví. Klíčovou funkcí IRAC je pokračování v rozvíjení klasifikačního schématu (MoA), který poskytuje aktuální informace o způsobech působení nových a zavedených insekticidů a akaricidů, a který slouží jako základ pro vývoj vhodných IRM strategií ochrany rostlin a řízení vektorů. Klasifikační schéma IRAC (MoA) pokrývá více než 25 různých způsobů působení a nejméně 55 různých chemických tříd. Rozmanitost zajišťuje odolnost

chemických prostředků a poskytuje tak přístup k IRM, který slouží jako přímý prostředek k identifikaci potenciální možnosti jejich střídání (Sparks & Nauen 2015). Problematikou rezistence se zabývá též databáze členovců, u nichž byla potvrzena rezistence a nazývá se Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD). Vznikla na základě několika garantů veřejných institucí, mezi nimiž byl i IRAC. Tato databáze monitoruje jednotlivé případy výskytu rezistence členovců již od roku 1914 až do současnosti s uvedením příslušného místa, času a dalších informací výskytu, přičemž je volně přístupná veřejnosti prostřednictvím internetových stránek (Prokop 2010).

3.1.6.2. Rezistence škůdců vůči insekticidům

V roce 1914 A. L. Melander ohlásil první případ rezistence vůči insekticidům (Karaağaç 2012). Zvyšování dávek vede hmyz k jeho toleranci. Někteří jedinci v populaci pak vykazují nějakou již existující genetickou změnu, buď z náhodné mutace nebo reakce na mutagenní látku, která v důsledku toho přináší schopnost přežít vystavení insekticidům, pak tato genetická vlastnost může být předána nové generaci. Vybraní jedinci obohacují genový fond a úroveň rezistence v populaci stoupá. Dochází k tomu za předpokladu, že insekticid se usadil na povrchu listu a hmyz ho pozřel, za druhé insekticid dosáhl biochemického cílového místa v nervovém systému hmyzu a za třetí, insekticid působil na cíl, v případě organofosfátů nebo karbamátů na acetylcholinesterázy centrálního nerovného systému hmyzu a v případě pyretroidů na iontové kanály membránových nervových buněk (Price 1991). Známo také je, že škůdci s kratší generací vytvářejí odolnost mnohem rychleji než ostatní (Daly et al. 1998).

Vznik a vývoj rezistence škůdců ovlivňuje řada hlavních důvodů. Zvláště pokud se insekticidy používají opakovaně a neuváženě, častá aplikace, málo přípravků s různým účinkem mechanismu, dlouhotrvající selekční tlak, špatná informovanost veřejnosti, ale i neexistující celoevropská antirezistentní strategie (Herda 2008). Rezistence je též ovlivněna vlastnostmi insekticidu, tedy jeho účinnou látkou, její strukturou, působením na škůdce a případné genetické dispozici. V Česku existuje rezistence u mšice chmelové, mandelinky bramborové, blýskáčka řepkového, obaleče jablečného a mery skvrnitě (Stará & Kocourek 2012a). V roce 1947 bylo zjištěno 447 druhů rezistentních na pesticidy (Callaghan 1991), Miller (2004) uvedl, že jiné zdroje odhadují nárůst od roku 1945 asi na 1000 druhů, v roce 2012 jich bylo už potvrzených 573 (Stará a Kocourek 2012a), avšak v současnosti není přibližný počet znám.

Navzdory mnohaletému výzkumu alternativních metod kontroly škůdců a chorob v Evropě si pesticidy zachovávají zásadní úlohu při zajišťování celosvětové produkce potravin, což bude potřeba i nadále, kvůli stále se zvyšujícímu nárůstu počtu obyvatelstva (Karaağaç 2012).

3.1.6.3. Mechanismy rezistence

Podle Onstada (2008) dělíme mechanismy rezistence na těchto pět základních (Kocourek & Stará 2009):

- **Rezistence podmíněná změnou chování**

Porozumění chování může být rozděleno do dvou širokých kategorií: chování závislé na podnětu a chování nezávislé na stimulaci (Chareonviriyaphap et al. 2013). Senzorická stimulace hmyzu k detekci povrchu ošetřeného toxinem před získáním letální dávky vyvolává toxické reakce (Lockwood et al. 1984). Tento typ rezistence vzniká, pokud škůdce předchází kontaktu s insekticidem vyhýbáním se místu aplikace. Pokud škůdce škodí na transgenní rostlině, může se vyhnout postříkanému místu tím, že požívá pouze části s nižším množstvím transgenního proteinu (Prokop 2011). Této rezistenci se dá předejít střídáním insekticidů (Onstad 2008).

- **Omezená účinnost penetrace účinných látek pesticidu přes kutikulu hmyzu**

Kontaktní insekticidy musí projít kutikulou před dosažením cílového místa (Liu et al. 2006). Odolný hmyz rozvíjí kutikulární bariéry tím, že vyvíjí tlustší kůžičku nebo změní kutikulární strukturu, aby se snížila míra penetrace insekticidů do hmyzu (Koganemaru et al. 2013). Odolnost proti penetraci může poskytnout ochranu hmyzu proti různým třídám insekticidů (Nkya et al. 2014). Odolnost proti pronikání také funguje v kombinaci s jinými mechanismy rezistence, protože se předpokládá, že snížená kutikulární penetrace by mohla pomoci prodloužit detoxikačnímu enzymu metabolizovat insekticid nebo umožnit hmyzu exkretizovat insekticid před dosažením svého cíle (Zhu et al. 2013). Odolnost proti penetraci byla zaznamenána u různých druhů hmyzu. Odolnost proti penetraci hraje zásadní roli při insekticidní rezistenci. Nicméně ve srovnání s jinými mechanismy fyziologické rezistence zůstává odolnost proti pronikání nejméně chápaným. Byly vyvinuty různé RNA a genomové sekvenční pokusy k identifikaci putativních genů spojených s rezistencí proti kutikulární penetraci (Bai et al. 2011).

- **Zvýšené vylučování účinné látky pesticidu nebo ukládání do organel**

Odolný hmyz může detoxikovat nebo zničit pesticid a rychle zbavit tělo toxických molekul. Metabolické rezistence jsou nejběžnějším mechanismem. Hmyz využívá vnitřní enzymové systémy k rozkladu insekticidů. Rezistentní kmeny mohou mít vyšší hladiny nebo účinnější formy těchto enzymů. Tyto enzymové systémy mají také široké spektrum účinnosti, což znamená, že mohou degradovat mnoho různých insekticidů (Karaağaç 2012). K ukládání účinné látky pesticidu do organel dochází při navázání molekuly pesticidu na enzym, který jej pak přemísťuje z cílového místa do různých částí (Prokop 2011).

- **Redukce citlivosti nervového systému na místě působení insekticidu vlivem mutace genů**

Patří mezi typ časté příčiny rezistence hmyzu. Tento mechanismus rezistence mění cílovou molekulu reagující přímo s pesticidem. Cílová molekula je geneticky upravena. Z tohoto důvodu pak následně nedochází k navázání insekticidu a je snížena jeho účinnost (Prokop 2011). Příkladem typu tohoto mechanismu je rezistence u mandelinky bramborové (Stará & Kocourek 2012b).

- **Zvýšení metabolismu biologicky aktivních látek**

Rozklad škodlivých látek metabolickou cestou je běžnou obranou organismu. Hmyz je pak schopen produkovat větší množství detoxikačního enzymu, a tak sníží přijatelnost toxicity látky pro škůdce či k detoxikaci začne produkovat účinnější formu enzymu, jež umožní snadněji metabolizovat účinnou látku pesticidu (Patil et al. 1996). Hmyz se tak stává rezistentním a je schopen rozložit větší množství látky. Mezi enzymy způsobující rozklad látek patří monooxygenázy, karboxylázy, glutathion S-transferázy a další (Prokop 2011).

3.1.6.4. Molekulární mechanismy rezistence vůči fungicidům

Ma & Michailides (2005) uvádějí jako základní molekulární mechanismy rezistence patogenu vůči fungicidům následující:

- modifikace cílového místa,
- syntéza jiného (zástupného) enzymu, schopného nahradit cílový enzym,
- zvýšená syntéza cílových míst, proti kterým má fungicid působit,
- snížený příjem fungicidu,

- metabolický rozklad fungicidu,
- jiné nepoznané mechanismy.

3.1.6.5. Metody diagnostiky rezistence

Ochrana plodin je základním prvkem bezpečnosti potravin. Účinnost přípravků na ochranu rostlin je ohrožena vývojem rezistentních patogenů, plevelů a hmyzu. I přesto, že jsou pesticidy většinou nové syntetické sloučeniny, jsou cílové druhy často schopny vyvíjet rezistenci již velmi brzy. Rezistence k pesticidům představuje rychlý vývoj za silných selektivních tlaků, které mohou být použity k řešení základních otázek týkajících se evolučních původů adaptací na nové podmínky. Důsledky pro hodnocení a řízení rizika rezistence a poučení z rezistence k pesticidům by mělo být uplatňováno při zavádění nových, nechemických metod kontroly škůdců (Hawkins et al. 2019). V současné době existuje mnoho diagnostických metod rezistence škůdců k insekticidům. Jedná se o biologické metody, molekulární metody, které zahrnují tzv. OMICs metody a to genomické (KDR rezistence), transkriptomické, proteomické, kde je vidět souvislost díky sledování jednotlivých markerů a metabolické (Andjelković et al. 2017), genetické (epigenetické mechanismy) a metabolické metody (Stará et al. 2009). Mezi antirezistentní mechanismus je v posledních letech řazena RNA interference (RNAi), sloužící pro kontrolu a hubení škůdců (Zotti et al. 2017). Předjetí výskytu rezistentních populací znamená dodržovat antirezistentní strategie. Výběr vhodného přípravku závisí na výsledcích z monitoringu, podle kterých zjistíme, v které lokalitě byla rezistence blýskáčka na daný přípravek nejnižší a účinek daného přípravku nejvyšší (Stará & Kocourek 2011).

3.1.7. Použití ochrany v tank-mixu

Používání směsi dvou nebo více pesticidů je mezi zemědělci velmi běžné (Das 2014). Pesticidy se téměř vždy vyskytují ve směsích s jinými. Toxikologické účinky nízkodávkových pesticidních směsí na lidské zdraví jsou do značné míry neznámé, ačkoli rostou obavy o jejich bezpečnost. Kombinace toxikologických účinků dvou nebo více složek pesticidní směsi může mít jednu ze tří forem: nezávislost, přidání dávky nebo interakce. Ne všechny směsi pesticidů s podobnými chemickými strukturami vytvářejí aditivní účinky, takže pokud působí na více místech, jejich směsi mohou vyvolat různé toxické účinky. Doplnkový přístup také selhává při hodnocení směsí, které zahrnují sekundární chemickou látku, která mění toxikokinetiku pesticidu v důsledku zvýšené aktivace nebo snížené detoxikace, následované zvýšenou nebo

sníženou toxicitou. Příklady takových interakcí zahrnují předpokládané mechanismy pro zesílení toxicity pyretroidních, karbarylových a triazinových herbicidů organofosfáty, jak mohou být některé organofosforečnany zesíleny jinými organofosfáty nebo předchozí expozicí organokovovými sloučeninám či synergismus mezi pyretroidními a karbamátovými sloučeninami a antagonismus mezi triazinovými herbicidy a prochlorazem. Zvláštní interakce jsou rovněž řešeny, například pesticidy, které působí jako endokrinní disruptory, kumulativní toxicitu organofosforečnanů a organochlorinů, což vede k estrogením účinkům a k podpoře zpožděné polyneuropatie vyvolané organofosfátem (Hernández et al. 2013). Škůdci, kteří jsou rezistentní na jeden nebo více pesticidů mohou být citliví na kombinaci toxických látek a může dojít k synergii daných komponentů (Das 2014). Aplikace tankové směsi pesticidů nebo pesticidů a tekutého hnojiva může ušetřit čas, práci, energii a náklady na vybavení. Kombinace pesticidů obvykle mění absorpce, translokace rostlin, metabolismus a toxicitu v místě působení jedné nebo více látek (Regupathy & Ramasubramnian 2004). Populace škůdců, která má být kontrolována, by měla být vnímavá nebo mít nízkou úroveň rezistence na každý insekticid použitý ve směsi a neměl by mít křížovou rezistenci populace dotčených rezistentních škůdců. Insekticidní směs by měla zpomalit vývoj rezistence a měla by mít významný synergismus ke snížení selekčního tlaku pesticidu na škůdce (Attique et al. 2006).

3.2. Řepka olejka (*Brassica napus* subsp. *napus*)

3.2.1. Charakteristika

Celým názvem brukev řepka olejka je dvouděložná rostlina z čeledi brukvovitých. Je odolná i vůči holomrazům do $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, podmínkou však je průměr kořenového krčku nad 8 mm. Pro jarovizaci je nutná teplota $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 30–60 dnů, které jsou časově krátké. Řepka přezimuje ve fázi listové růžice, teprve až na jaře tvoří generativní orgány (Baranyk et al. 2005). Kořen řepky je mohutný kulový a obsahuje velké množství postranních kořenů (Parnell & Curtis 2012). Stonky jsou vzpřímené, jednoduché až volně rozvětvené, lysé nebo řídce chlupaté (Callihan et al. 2000; Gulden et al 2008; OECD 2012). Může dorůst výšky od 80 cm až do 1,5 m (Křepelka 2013). Listy jsou voskovité, lyrovitého tvaru s lysou spodní stranou. Květenství je okolík a tvoří se na hlavních a axilárních větvích (Callihan et al. 2000; Gulden et al. 2008; OECD 2012). Plody jsou šešule a semena jsou hnědočerná, mohou být i žlutá. Květ řepky je jasně žlutý, světle žlutý, dokonce i bílý a je stavěn podle čísla čtyři. Z větší části se jedná o

samosprašnou rostlinu, i když velice láká včely. Kvete obvykle v květnu po dobu 20–25 dnů (Parnell & Curtis 2012). Vegetační doba ozimé řepky je nejčastěji 320–330 dnů. V nadmořských výškách nad 600 m n. m. může být i po celý rok (Baranyk et al. 2005). Řepka má šest hlavních fází růstu. Každý tento růstový stupeň je ovlivněn teplotou, vlhkostí, světlem, výživou a odrůdou (Kandel & Knodel 2011).

3.2.2. Původ a rozšíření řepky

Řepka olejka vznikla s největší pravděpodobností zkřížením brukve zelné a brukve řepáku v oblasti Středomoří. Jedná se o tzv. amfiallotetraploid s 38 chromozomy (Baranyk et al. 2005), který má nízkou vnitrodruhovou variabilitu a jednotlivé taxony jsou rozšiřovány o geny, jež pocházejí z původních druhů (Diederichsem et al. 2009).

Plodiny rodu *Brassica*, včetně řepky, patřily k nejranějším rostlinám, které lidstvo široce pěstovalo již před 10 000 lety (Snowdon et al. 2006). Jisté záznamy poukazují na to, že se odrůda řepky *Siddhartha*, pěstovala 4 000 let př. n. l. v Indii a o 2 000 let později byla rozšířena do Japonska a Číny (Alpmann et al. 2009). Brukvovité rostliny byly známy už v antické době. S cíleným pěstováním se zřejmě začalo již ve 13. století severně od Alp, neboť již ve 12. století docházelo v Evropě k získávání řepkového oleje a až do konce 19. století sloužil řepkový olej do lamp. Od 16. století je již řepka známa jako polní plodina pěstovaná v Nizozemí (Alpmann et al. 2009) a také se v této době využívalo semen řepky na výrobu mýdla (Mathiola 2005). Fábry et al. (1975) uvádějí, že u druhu *Brassica napus* L. nebyla objevena planá forma této rostliny, a že původní rozšíření bylo v západní a střední Evropě, dále ve východní Asii. Následně byla řepka rozšiřována do východní a severní Evropy, ale i Jižní a Severní Ameriky.

V současné době se řepka pěstuje ve dvou formách, jarní a ozimé (Vašák et al. 2000) a jedná se o plodinu mírného klimatického pásma (Habekotté 1996). Jarní řepka obývá hlavně významné pěstitelské oblasti Indického subkontinentu, Číny, západní Sibíře, Kazachstánu a severního Kavkazu. V evropských oblastech se vyskytuje od řeky Dněpru k Britským ostrovům až po Skandinávii, Pobaltí a Bělorusko. V Severní Americe ji nalezneme zvláště v Kanadě. Svá stanoviště má ale i v Argentině, severní Africe či Novém Zélandu (Smutný 2008). Ozimý typ řepky je podstatně méně rozšířen, avšak ve střední a západní Evropě je řepka olejka pěstována převážně jako právě tento typ s vegetační dobou okolo 320 dnů (Diepenbrock & Grosse 1995). Pěstování této formy je také ale v nejižnější části Skandinávie, severním Kavkazu, západní Ukrajině, části Běloruska, na západě a severu Spojených států amerických a jihu Kanady

(Babůrek 2000). V Česku je podíl ozimého typu řepky v rozmezí 90–100 % v závislosti na jednotlivých letech (Vašák et al. 2000).

V současnosti se objevuje problém s řepkou, která nejen sama pro sebe může představovat plevelnou rostlinu. Na vině je výdrol semen, za nějž může morfologie způsobu dozrávání. Takto plevelná řepka má nepříznivý vliv na sklizeň v budoucím roce, neboť se jedná o genotypy neurčité generace (Budziński & Jankowski 2008). Semena řepky mají velkou životnost a dokáží vyklíčit až po 8 či 10 letech (Górski 2003).

3.2.3. Pěstování řepky v Česku

Některé zmínky o historii pěstování řepky v Česku vedou do 8. až 10. století, tedy do doby přílohového hospodářství (Fábry 2000). Jiné doložené údaje se zmiňují o řepce v Čechách v době posledních Přemyslovců (Winter 1906). Z nejstarších dob jsou doložené podklady o pěstování olejné formy *Brassica rapa* L. s tím, že později přišla ze západu olejná forma *Brassica napus* L. (Fábry 2000).

Největší rozmach v Čechách v pěstování řepky nastal hlavně v polovině 19. století (Baranyk et al. 2005). Od roku 1980 produkce řepky v Česku prudce vzrostla (Baranyk & Fábry 2007), a to zejména díky pěstování odrůd s minimálním podílem kyseliny erukové, zjednodušení pěstování, zvýšení výnosů a změny kvality olejů (Baranyk et al. 2005). V současnosti dosahují osevní plochy kolem 400 000 ha (Baranyk & Fábry 2007) a vysoké výnosy jsou stabilizované (Prokinová et al. 2006). Ty jsou docíleny včasným výsevem, mořením osiva proti chorobám a škůdcům, likvidací výdrolu na pozemku a správnou aplikací herbicidů a insekticidů (Baranyk & Fábry 2007). Nyní již existují i odrůdy bez kyseliny erukové a se sníženým obsahem glukosinulátů, a proto je řepka řazena v potravinářství mezi kvalitní oleje (Baranyk et al. 2016).

Od roku 2000 je řepka nejvýznamnější exportní komoditou rostlinné výroby v Česku (Baranyk a kol. 2005). V roce 2019 byla osevní plocha řepky olejky 379 778 ha (ČSÚ 2019) a průměrný výnos činil 3,05 t/ha (ČSÚ 2020).

3.2.4. Možnosti využití řepky olejky

Využití je opravdu široké. Nejvíce je řepka olejka, jak již z názvu plyne, využívána k výrobě oleje. Hojně se využívá v potravinářství, farmacii i v chemickém průmyslu (Křepelka

2013). Asi nejznámější je řepkový olej a vzhledem k tomu, že řepka patří mezi první opylované rostliny, mohou z ní velmi brzy včelaři vyrábět med (Heuzé et al. 2017). Druhotně lze řepku v zemědělství využívat pro výrobu extrahovaných šrotů, pokrutin do krmných směsí, také ale jako pícninu či zelenou hmotu na ekologické (zelené) hnojení. Zde se ovšem musí užívat uváženě kvůli případnému dalšímu rozšíření škůdců řepky. Použít se dá i na topení jako pelety vyráběné lisováním biomasy a svou výhřevností jsou srovnatelné s peletami dřevěnými (Křepelka 2013).

V průmyslu se používá k výrobě mazacích a hydraulických olejů, fermeží, kosmetických produktů, mýdel, pracích prostředků, masážních olejů a výlisky ze semen se dají využít jako krmivo pro hospodářská zvířata. Energetickým využitím řepky je výroba transesterifikací nenasycených mastných kyselin na biopalivo – bionaftu, která je biologicky odbouratelná (Křepelka 2013). Díky tomu se řepka stala pravidelnou součástí osevních postupů sloužící jako nezbytný zdroj financí pro zemědělský podnik (Vašák et al. 2000). Mezi její další pozitiva patří, že je velice dobrou předplodinou pro výnos ozimých obilnin (Volf 2004), kdy může být produkce navýšena klidně až o 400 kg/ha (Baranyk et al. 2005).

3.2.5. Technologie pěstování ozimé řepky

Základem pro úspěšné pěstování ozimé řepky je výběr vhodného pozemku v nadmořské výšce 400–600 m n. m. a včas sklizená předplodina (Baranyk et al. 2007). Nejvhodnějšími předplodinami jsou rané brambory, ozimé směsky (převážně ječmen), jarní směsky (zejména pšenice), směsky sklizené na zeleno (hrách či kmín), pícniny po první nebo druhé seči. Naopak nevhodné předplodiny jsou pozdní pšenice a jarní ječmen. Mrówczyński et al. (2006) uvádějí, že nejlepšími předplodinami jsou dokonce bobovité jako např. vojtěška.

Řepka má podobné požadavky na vlhkost jako obilniny a může být pěstována na široké škále půd. Nejlépe se hodí pro hlinité půdy. Pokud roste na půdě se špatnou vnitřní drenáží, dobrá povrchová nebo podpovrchová drenáž je nezbytná, protože řepka nemůže tolerovat stojatou vodu nebo podmáčené půdy. Není vhodné proto řepku sít jak do příliš mokré, tak půdy sušší, neboť kontakt mezi půdou a osivem bude obtížný. V oblastech, kde je vysoké riziko tepla a sucha, je důležité vyhnout se výsevu na písčinych půdách. Řepka je méně tolerantní k suchu než jiné plodiny s malými zrny. Neměla by být též setá do zasolených půd (Kandel & Knodel 2011). Pěstování řepky není vhodné na půdách s pH nižším než 5,5 nebo vyšším než 8,3 (Callihan et al. 2000; Gulden a kol. 2008; OECD 2012). Samozřejmostí je jemně zpracovaná půda a tradiční orebná technologie do hloubky 18–22 cm, podmítka (10–15 cm), kypření (do

25 cm) a předseťové zpracování půdy Možností je i bezorebná technologie (Urban & Vašák 2016). Volí se mezi odrůdami liniovými a hybridními. Hybridní odrůdy jsou pěstovány více, neboť dosahují vyšších výnosů (Baranyk et al. 2005). Osivo musí být do země dobře vyseto, nejlépe do vlhké půdy, což je důležité pro rychlou klíčivost (Kandel & Knodel 2011). Hloubka výsevu je 1,5–2 cm (Urban & Vašák 2016). Řepka klíčí již při teplotě 1 °C (Baranyk et al. 2005). Optimální teplota pro klíčení je 20 °C. Nepříznivé podmínky prostředí (teplotní výkyvy, nízká vlhkost půdy, prodloužená tma) mohou vyvolat u semen sekundární spánek (Gulden 2003; Gulden et al. 2008; Johnson et al. 2004). Seť se provádí v termínu většinou od 15.–31. 8. (Urban & Vašák 2016), podle oblasti pěstování a půdních podmínek již od 5. srpna (Baranyk et al. 2005). Bylo zjištěno, že rozmezí řádků 23–30 cm optimalizuje výtěžek (Kutcher et al. 2013). Hustota by měla být 70–100 rostlin/m² (Canola Council of Canada 2014). Sklízí se až další rok v 1. pol. července až max. začátku srpna (Urban & Vašák 2016).

Ve většině případů je pěstována jako semenná jednoletá, objevují se však i typy dvouleté bulevnaté řepky, tedy tuřínu (Baranyk et al. 2005).

3.3. Škůdci a choroby řepky olejky

Pěstovaná dvounulová odrůda řepky je často napadána škůdci i chorobami a pěstování bez používání chemických přípravků je téměř nemožné (Křepelka 2013). Ozimá řepka je napadána škůdci i chorobami od prvopočátku své vegetace na poli. Rostlina je napadána jednotlivými druhy v jednotlivých fázích růstu (Bečka et al. 2007).

3.3.1. Choroby ozimé řepky v období setí a vzházení

- **Odumírání klíčících rostlin** (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp., *Pythium* spp., *Olpidium brassicae*)

Původcem tohoto onemocnění je komplex houbových půdních organismů. Vzházejícím rostlinám jsou napadány kořenové krčky i báze stonků, které hnědnou, měknou, zaškrcují se a malé rostlinky padají, následně odumírají (Kazda et al. 2010). Toto onemocnění vzniká na těžkých, slévavých půdách, kde se vytváří půdní škraloup, je nedostatek vláhy při vzházení a pozdější přemokření. Podporováno je i nízkou teplotou půdy a hlubokým výsevem. Preventivní

ochrana spočívá v kvalitním zpracování půdy, likvidaci posklizňových zbytků a výsevem zdravého mořeného osiva. Chemická ochrana při napadení již není možná (Prokinová 2010).

3.3.2. Škůdci ozimé řepky v období setí a vzházení

- **Plži – slimáčkovití (*Agriolimacidae*), plzákovití (*Arionidae*)**

Tito škůdci nepoškozují jen vzházející rostliny, ale již klíčící semena v půdě a rostliny následně vůbec nevzejdou (Kazda & Škeřík 2008). Rostliny jsou poškozovány nepravidelným žírem na listech, hypokotylu a kořenech. Následně jsou zničeny úplně. Objevují se od zasetí do fáze 2–4 listů, později jejich škodlivost klesá díky chladnému počasí. Přívětivé je pro ně jak teplé a vlhké počasí v létě, tak na podzim (Kazda et al. 2010). Nejčastěji a nejvíce škodí plzák španělský (*Arion lusitanicus*) (Kazda et al. 2008a). Prevencí je kvalitní předset'ová příprava a včasné setí. Jako chemická ochrana se používají přípravky s účinnými látkami metaldehyd a fosforečnan železitý (Kocourek et al. 2018). Insekticidní moření osiva je neúčinné (Kazda et al. 2010). Přípravky proti slimákům nazývané moluskoidy na bázi metaldehydu způsobují po požití vyschnutí a mrtví slimáci zůstávají na povrchu půdy. Přípravek s účinnou látkou fosforečnan železitý je příznivější pro životní prostředí, neboť neohrožuje necílové organismy, protože mrtví plži zůstávají skrytí v půdě (Kocourek et al. 2017).

- **Dřepčící rodu *Phyllotreta***

Tito brouci jsou velikosti 1,9–3,5 mm, mají nitkovitá tykadla a třetí pár nohou je skákavý. Pod povrchem půdy ožírají dospělci klíčními rostlinkám děložní listy a rostliny pak následně nevzházejí. Na povrchu půdy vyžírají do listů mělké jamky a dírky. Rostliny zasychají a pokud je výskyt velký, hynou (Arnett et al. 2002). Výskyt je ve velkém množství obvykle za suchého a horkého průběhu léta a podzimu (Gunstone et al. 2004). Během roku se vyvíjí jedna generace (Vašák et al. 2000).

Prevencí jsou správné agrotechnické postupy. Moření osiva je v současnosti zakázáno (Kocourek et al. 2018). Při vyšším výskytu je možné používat postřikové přípravky na bázi pyretroidů a organofosfátů (Kocourek et al. 2017). Účinnými látkami pyretroidů jsou cyfluthrin, deltamethrin, cypermethrin a cyhalothrin (Kocourek et al. 2018). Dřepčící rodu *Phyllotreta* vykazují jistou citlivost k těmto látkám (Kocourek et al. 2017). Neonikotinoidy byly v tomto případě neúčinné, neboť vykazovaly po testování selekční rezistenci na thiaklopid (Kocourek et al. 2017).

- **Osenice polní** (*Agrotis segetum*)

Motýlí samice jsou o velikosti 32–42 mm, samci jsou menší. Zbarvení je šedohnědé s nevýraznou černou kresbou. Housenky jsou lysé a dorůstají velikosti 40–60 mm (Alford et al. 2003). Škodí pouze housenky 1. instaru, které jsou široce polyfágní. Ožirají brambory, jahody, řepu, kukuřici, slunečnici, ozimé obilniny, vinice, ale i ovocné stromy a plevely. Podkusují řapíky a listy nechávají uschnout. Dříve se objevovala pouze jedna generace za rok, nyní se objevuje i druhá, která je pro řepku škodlivější (Alford et al. 2003; Kazda et al. 2008b). Nejpriznivější je pro ně teplý a suchý konec léta a podzim. Poškození končí při významném poklesu teplot (Vašák et al. 2000). Ochrana musí být provedena v 1. až 2. období instaru housenky (Kazda et al. 2010).

3.3.3. Choroby ozimé řepky v období podzimu

- **Fómová hniloba brukvovitých** (*Leptosphaeria maculans*, anam. *Phoma lingam*)

Leptosphaeria maculans způsobuje rakovinu stonku. Symptomy obvykle zasahují bazální stonky, objevují se malé šedé oválné léze na listech a kořenová hniloba (protože houba může přímo pronikat kořeny) (Sprague et al. 2007). *L. maculans* infikuje širokou škálu brukvovitých plodin včetně kapusty a řepky olejky, přičemž je zvláště virulentní na *Brassica napus* (Dilmaghani et al. 2009). Toto onemocnění patří k velmi významným chorobám řepky a v některých letech způsobuje největší škody z houbových chorob (Kazda et al. 2008a). První příznaky se objevují na rostlinách na podzim. Jedná se o tmavohnědé až černé skvrny na kořenovém krčku řepky, které následně vedou až k odumření rostlin. Na listech jsou skvrny nažloutlé, uprostřed šedobílé s černými tečkami (Kazda et al. 2008b). V předjaří dochází k plnému rozvoji choroby díky vyšší vlhkosti půdy a teple (Prokinová 2010). Kulturní metody, jako je odstranění strniště se střídáním plodin, mohou být velmi účinné. Odstraněním strniště nedochází k masivnímu rozšíření přezimujících pseudothécií a mycelia, což znamená menší riziko infekce (Marcroft et al. 2012). Přenášet se může i infikovaným osivem. V půdě může přežívat 2–3 roky. Dalším možným zdrojem jsou konidie vyvíjející se v pyknidách. Infekce proniká do rostlin přes průduchy a poranění (Kazda et al. 2008b).

Ochranou je dostatečný odstup řepky v osevním postupu, který je alespoň 3 roky se střídáním plodin, jež nejsou hostitelem, jako např. obiloviny (Eckert et al. 2010), dále rostliny nepoškozené škůdci, mořené osivo (Kazda et al. 2008b), nehuště porosty, lehké, sušší půdy s dostatkem kyslíku, zapravení posklizňových zbytků, odrůdy s vyšší odolností k fómové

hnilobě, biologická ochrana a použití chemické ochrany fungicidy (prozachlor, triazoly, benzimidazoly a strobiluriny) (Baranyk et al. 2005) ve fázi 4–6 pravých listů (Kazda et al. 2008b). Jestliže byla řepka infikována již na podzim, chemická ochrana pouze zpomalí průběh infekce (Bittner 2006). Chemické metody sníží výskyt onemocnění (Eckert et al. 2010).

- **Plíseň brukvovitých** (*Peronospora parasitica*)

Na mladších listech se objevují žlutozelené skvrny, které pak nekrotizují a odumírají. Plíseň přežívá na posklizňových zbytcích. Projevuje se zejména při teplém a vlhkém podzimu a je šířena především za deštivého počasí (Kazda et al. 2008a). Vybírá si křehká pletiva přehnojená dusíkem (Kazda et al. 2008b). Odumírání pletiv se může objevit i na mladých šešulích (Kazda et al. 2008a). Prevencí je likvidace posklizňových zbytků, nepřehnojování dusíkem a výsev nejlépe fungicidně mořeného zdravého osiva, neboť se jím přenos též nevylučuje. Chemická ochrana se neprovádí, jelikož výskyty nedosáhly ekonomické škodlivosti, navíc byly zjištěny vedlejší účinky při použití přípravků na oomycety (Kazda et al. 2008b).

3.3.4. Škůdci ozimé řepky v období podzimu

- **Pilatka řepková** (*Athalia rosae*)

Dospělci mají černou hlavu, červenožlutou hrud' a jsou velcí 6–10 mm. Larvy mají velikost před kuklením cca 18 mm a jedná se o polypódní housenice. Jsou našedivělé, později tmavnou a na bocích mají žluté proužky (Kocourek et al. 2017). Dospělci létají na začátku května. Samička klade 200–300 vajíček na listy rostlin a za rok může mít 3–4 generace. Žírem housenic jsou poškozovány listy a lodyhy, kdy při silném výskytu může být způsoben holožír (Baranyk et al. 2005). U ozimé řepky se provádí chemická ochrana pyretroidy obvykle jen v ohniscích výskytu (Kocourek et al. 2017).

- **Dřepčík olejkový** (*Psylliodes chrysocephala*)

Tento škůdce ozimé řepky je řazen mezi nejdůležitější v Evropě (Gunstone et al. 2004), je ale rozšířen i v Asii, severní Africe a Kanadě. Jedná se o kovově lesklého modrého brouka velkého 3–4 mm. Škodí hlavně jeho larvy, které jsou špinavě bílé a 7–8 mm velké. Brouci vykusují v průběhu září a října v listech okrouhlé díry, ale škodí minimálně. Poškozené rostliny buď vymrzají nebo na jaře odumírají, případně jsou náchylnější k napadení jinými patogeny. Je zde také možnost záměny poškození s larvami krytonosce řepkového (Kocourek et al. 2017). Samičky kladou vajíčka jednotlivě do půdy k patám rostlin od konce září až do teploty 5 °C.

Mírné podzimní počasí podporuje napadení. Larvy následně pronikají do řapíků, v nichž vykusují chodby a pokračují až do kořenového krčku a báze lodyhy. Pokud je mírná zima, mohou během ní nebo brzy na jaře způsobit zánik vegetačního vrcholu (Kazda et al. 2008). U dřepčíka olejkového je vhodné použít ošetření pyretroidy, nesmí se však střídat pyretroidy s různými účinnými látkami. Antirezistentní strategie není v tomto případě účinná. V Německu bylo zjištěno, že dřepčík olejkový je rezistentní k pyretroidům KDR (Heimbach 2005; Kocourek et al. 2017). V případě antirezistentní strategie byl doporučován přípravek Nurelle D pro jeho vyšší účinnost na již vylíhlé larvy (Kocourek et al. 2017), tomu ovšem k 16. 4. 2020 vypršel povolení k použití (EAGRI 2020). Na ochranu proti dřepčíkovi je nutné povolit používání přípravků s odlišným mechanismem účinku. Jedná se například o indoxacarb, který je používán na blýskáčka řepkového. Nedoporučené byly neonikotinoidy s účinnými látkami thiaklopid a acetamiprid, neboť u nás byla prokázána rezistence dřepčíka k thiaklopidu (Kocourek et al. 2017).

- **Květilka zelná** (*Delia radicum*)

Dospělci jsou 6–7 mm velcí, popelavě šiví s tmavším páskem na konci břicha. Larvy jsou 7–10 mm velké a bělavé, směrem k hlavové části se zužují (Kocourek et al. 2017). Samička klade vajíčka do půdy na podzim, dospělci první generace se vyskytují v dubnu a v květnu. Apodní a acephální larvy povrchově ožirají jemné kořínky, později si tvoří v kořenech chodbičky. V českých podmínkách má 3 generace, přičemž se druhá a třetí může překrývat (Kazda et al. 2008a). Silně poškozené rostliny lze lehce vytrhnout a nejsou schopny přezimovat (Kazda et al. 2008b). Poškozené kořeny jsou za teplého a vlhkého počasí snadno napadány půdními houbami, zvláště pak *Verticillium longisporum* či bakteriálními chorobami (Kazda et al. 2008). Stemann a Bernhard (2008) uvádějí, že obzvláště jsou ohroženy porosty s výsevem do poloviny srpna. Tyto časné výsevy je vhodné chránit insekticidním mořidlem.

Ochrana spočívá v mírném zvýšení výsevku porostu, neboť takto hustě založený porost má menší průměr kořenového krčku a stává se tak méně atraktivním pro naklazení vajíček (Kazda et al. 2008a). Dalšími regulačními opatřeními je dodržení správných agrotechnických postupů, jako je příprava kvality půdy, hnojení atd. Existuje zde však i přirozená biologická ochrana. Vajíčka jsou potravou pro druhy na půdu vázaných brouků, jako jsou střevlíkovití či drabčíkovití. Larvy jsou zase potravou pro parazitující vosičky druhu *Trybliographa rapae* a drabčíky druhu *Aleochara bilineata*. Insekticidní opatření by vzhledem k této možnosti ochrany

mělo být velmi pečlivě zváženo, případně ji spojit s ochranou na dalšího škůdce, neboť přímý insekticidní přípravek proti tomuto škůdci u nás neexistuje (Kocourek et al. 2017).

- **Krytonosec zelný** (*Ceutorhynchus pleurostigma*)

Krytonosec je 2–3 mm velký brouk šedočerné barvy. Apodní larva v dospělosti měří 4 – 5 mm a je krémově bílé barvy s hnědou hlavu (Kazda et al. 2008a). Tento druh krytonosce vytváří pouze jednu generaci do roka. Vyskytuje se však ve dvou odlišných kmenech, jarním a podzimním. Podzimní kmen poškozuje svými larvami přezimujícími na kořenech ozimou řepku. Dospělec pak uhynie. Jarní kmen klade vajíčka v dubnu a květnu na kořenový krček. Dospělec již v tomto roce nedospívá a přezimuje. Háčky, které jsou larvami utvářeny, mohou pak následně splývat v jeden velký útvar, čímž mohou být zaměněny s nádorovitostí košťálovin, která je vyvolávána *Plasmodiophora brassicae* (Kocourek et al. 2017).

Cílená ochrana se v současnosti neprovádí. Doporučené je použití pyretroidů. Na krytonosce zelného jsou u nás registrovány přípravky Nexide a Rapid a účinnou látku gamma-cyhalothrin (Kocourek et al. 2017), případně lze použít Decis Mega s deltamethrinem používaným na pilatku a dřepčíky (Agromanuál 2018). Částečně účinná jsou i insekticidní mořidla s účinnými látkami clothianidin, beta-cyfluthrin (Kazda 2010).

- **Hraboš polní** (*Microtus arvalis*)

Drobný hlodavec s krátkým ocasem se periodicky opakovaně přemnožuje nejčastěji jedenkrát za 3–5 let. Přispívají k tomu zvláště mírné zimy a suchá léta. Je to býložravec, který se živí žírem nadzemních i podzemních částí rostlin. Nejvíce škodí na nepromrzlé půdě, na které se udržuje déle vyšší souvislá sněhová pokrývka (Kazda et al. 2008b).

K ochraně patří řádná agrotechnická opatření prováděná již na podzim před příchodem sněhu. Biologická ochrana není příliš účinná. Povoleny jsou přípravky s účinnými látkami fosfidu hlinitého, vápenatého a zinku, dále antikoagulantu bromadiolon (Kazda et al. 2010).

3.3.5. Choroby ozimé řepky v období časného jara

- **Fómová hniloba brukvovitých** (*Leptosphaeria maculans*, anam. *Phoma lingam*)

Viz kapitolu 3.3.3.1.

- **Plíseň šedá** (*Botryotinia fuckeliana*, anam. *Botrytis cinerea*)

Nejrozšířenější choroba napadající více jak 200 dvouděložných druhů rostlin v oblastech mírného a subtropického pásu. Způsobuje měkké hniloby všech částí rostlin. Patogen produkuje řadu enzymů degradujících buněčnou stěnu, toxiny a další sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností (Williamson et al. 2007). Touto houbou jsou napadeny nadzemní části rostlin, na nichž se tvoří šedobílé skvrny na listech a podlouhlé šedé skvrny na stoncích. Podobné skvrny se mohou tvořit ale na jakékoliv části rostliny. Rozvoj choroby podporuje vyšší vlhkost vzduchu a teploty mezi 10–15 °C. Odklizení posklizňových zbytků zabraňuje tvorbě sklerocií na stoncích a v půdě (Kazda et al. 2008a).

Prevenčí je vzdušný a nezaplevelený porost. Přímá chemická ochrana se provádí pouze v nutnosti ve fázi dlouhivého růstu, jelikož na plíseň šedou má vedlejší účinek ošetření proti hlízence v době květu, především v BBCH 65 (Kazda et al. 2008b). Jako biologickou ochranu uvádí Yu & Sutton (1997) houbového parazita *Clonostachys roseum*.

3.3.6. Škůdci ozimé řepky v období jara

- **Krytonosec řepkový** (*Ceutorhynchus napi*)

Dospělci jsou šedí a dlouzí 3–4 mm. Larva je bělavá, apodní a před kuklením má velikost cca 5 mm (Kocourek et al. 2018). Dospělci přezimují v půdě a na jaře nalétává do porostů řepky, kde po úživném žíru klade samička vajíčka. Larvy před kuklením opouští rostlinu a kuklí se v půdě (Kazda et al. 2008a). Poškození se projevuje deformací a praskáním stonků, ty jsou zevnitř prožrané s hromadou trusu a larev. Takto poškozené stonky jsou vstupní bránou pro napadení houbovými chorobami (Kocourek et al. 2018), zejména *Phoma lignam* a *Verticillium dahliae* (Kazda et al. 2008a). Významným opatřením je kvalitní výživa, dodržení osevního postupu a větší plochy (Kocourek et al. 2018). Důležité je chránit přirozené nepřátele tohoto škůdce, kam patří převážně parazitoidi rodu blanokřídlých (Kazda et al. 2008a) či lumčici rodu *Tersilochus* (Tóth & Hudec 2007). Chemická ochrana se provádí od poloviny března, tedy než jsou nakladena vajíčka. Klazení vajíček je poměrně dlouhé období, proto je nutné používat přípravky s delším reziduálním účinkem. Nejčastěji využívanou ochranou je aplikace pyretroidů (Kocourek et al. 2018) a dříve i neonikotinioidů.

- **Krytonosec čtyřzubý** (*Ceutorhynchus pallidactylus*)

Je velmi podobný krytonosci řepkovému. Dospělci jsou menší velikosti, cca 2,5 -3,5 mm, světle šedé barvy s chodidly a tykadly zrzavě žlutými. Na krovkách za štítkem mají zřetelnou bílou skvrnu. Larva je apodní, bělavá o velikosti 5 mm (Kazda et al. 2008a). Do porostu přilétávají o něco později než krytonosec řepkový. Larvy poškozují řapíky, později pronikají do stonku. Škody nejsou tak výrazné. Charakteristické je žloutnutí a opad spodních listů (Kazda et al. 2008b). Samice při kladení vajíček dává přednost poškozeným rostlinám krytonosem řepkovým. Tento škůdce má dvě generace. Druhá způsobuje úživný žír (Vašák et al. 2000). Ochrana přímá i nepřímá je stejná jako u krytonosece řepkového (Kocourek et al. 2018).

3.3.7. Choroby ozimé řepky v období květu a tvorby šešulí

- **Bílá hniloba** (*Sclerotinia sclerotiorum*)

Tato půdní houba je původcem houbového onemocnění ozimé řepky v Kanadě, Číně a celé Evropě (Gunstone et al. 2004) a napadá asi 408 druhů rostlin (Bennet et al. 2014).

Charakteristickými příznaky tohoto patogenu jsou černé klidové struktury známé jako sklerocia a bílý růst mycelia na rostlině, kterou infikuje. Na sklerociích na jaře vznikají plodničky, jež produkují askospory (Agrios 2005). Ty jsou větrem roznášeny na vzdálenost několika kilometrů. Při velmi vhodných podmínkách se sklerocia mohou tvořit během vlhkého a teplého počasí i na povrchu rostliny. Patogen se též přenáší dotykem zdravé rostliny s infikovanou. Schopnost přežití v půdě je až 10 let (Kazda et al. 2008a). Na listech odumírají čepele od okraje do tvaru V, odumírají nervy listů a rychle zasychají. Stonky vodnatí a hnědnou, vytváří se na nich i v nich vatovitý povlak mycelia. Kořeny odumírají a rostliny nouzově dozrávají (Kocourek et al. 2018).

Možností ochrany je dodržení osevního postupu, správný výběr dusíkatého hnojiva, dodržení správné hustoty porostu, ale i výběr odrůdy (Heffer & Johnson 2007). Chemická ochrana zahrnuje přípravky s nejběžnější účinnou látkou azoxystrobina provádí se v době květu řepky a je účinná i proti jiným houbovým patogenům (Kocourek et al. 2018). Existuje též možnost biologické ochrany přípravkem Contans WG, kdy se jedná o houbu *Coniothyrium minitans*, která přerušuje životní cyklus hlízenky (Kazda et al. 2008b).

- **Verticiliové vadnutí** (*Verticilium dahliae* var. *longisporum*)

Dlouhodobé šíření tohoto patogenu spočívá v infikovaném osivu a sadbě. Hlavním zdrojem nákazy je mycelium vytvářené nad krčky kořenů či pod pokožkou stonků. Mikrosklerocia přežívají v půdě a jsou podporována vlhkými půdami a teplotami 21–27 °C (Berlanger & Powelson 2000). Na podzim jeho hyfy infikují rostliny. Houba proniká kořenem rostliny v oblasti prodloužení a kůra je kolonizována. Z kortexu proniknou hyfy do endodermis a napadají xylém, kde tvoří konidie. Cévní kolonizace nastává, pokud se konidie vnesou do rostliny spolu s vodou (Johansson 2006). V dolní části stonku se tvoří oválné, šedé a nahnědlé skvrny. Napadení se šíří směrem nahoru a přechází tak i na postranní větve. Takto silněji napadené rostliny předčasně dozrávají a poléhají. Charakteristické je černé zbarvení kořene (Kazda et al. 2008b). Dispozičními faktory jsou půdy málo zásobené živinami, dále častý sled brukvovitých v osevním postupu. Dále se objevují škody za vlhkého počasí a na těžkých půdách za nedostatku přísunu vzduchu. Kořeny pak následkem toho trouchniví a uhnívají (Kazda et al. 2008b). Poškození škůdci, zejména krytonosem zelným (*Ceutorhynchus pleurostigma*) a květilkou zelnou (*Delia radicum*) je pravděpodobně vstupní branou vniku houby do rostliny (Bittner 2006). Gómez (2001) také uvádí závažnější škody *V. dahliae* na polích zamořených hád'átkem *Pratylenchus penetrans*.

Preventivní ochranou je odstranění posklizňových zbytků nemocné plodiny a širší osevní postup. Chemická ochrana není registrována, lze však akceptovat biologickou ochranu pomocným přípravkem Gliorex (Kocourek et al. 2018). Další z možností je podle staršího zdroje též použití přípravků proti hlízence obecné, které mají na tento patogen vedlejší účinek (Prokinová 2010).

- **Padlí brukvovitých** (*Erysiphe cruciferarum*)

Symptomy jsou charakteristické bílé povlaky mycelia, které se objevují na povrchu listů a stonků. Pokročilá infekce způsobuje husté bílé práškové pokrytí listů, stonků i plodů rostlin s následkem předčasného žloutnutí a odumírání. Sporám se daří v teplých a suchých letech za vlhkého a deštivého počasí s teplotami 15–25 °C (Koike et al. 2007). Prevencí proti padlí je vzdušná lokalita, nepřehnojení dusíkem a vyrovnaná výživa (Kazda et al. 2008a). Přímá chemická ochrana v současné době neexistuje, patogen je však citlivý na většinu používaných fungicidů (Kocourek et al. 2018), zejména pak na přípravky proti fómové hnilobě (Kazda et al. 2008a). Biologická ochrana je možná použitím AQ10, což je hyperparazitická houba,

Ampelomyces quisqualis, která by měla být používána preventivně. Další možností ochrany jsou odolné odrůdy a odstranění jiné hostitelské rostliny v okolí, včetně likvidace infikovaných zbytků. Jako chemickou ochranu lze použít také esenciální oleje jako jojoba, které se stříkají na povrch rostliny, aby pomohly při mírných infekcích. Fungicidy, jako je azoxystrobin a síra, mohou být použity k prevenci infekce nebo k odstranění stávající infekce (Schwartz et al. 2004).

- **Čerň řepková** (*Alternaria* ssp., *Alternaria brassicae*, *Alternaria tenuis*, *Alternaria brassiciola*)

Onemocnění zasahuje své hostitelské rostliny ve všech stádiích růstu, včetně semen. Už u semenáčků se projevuje tmavými lézemi bezprostředně po klíčení. Dále dochází k tvorbě šedých až černých čárkovitých skvrn zejména na starších listech, neboť jsou blíže k půdě a jsou rychleji infikovány deštěm. Při silném napadení může docházet i k odumírání malých rostlinek (Ferreira & Boley 1991). Největší škody jsou patogenem způsobeny napadením šešulí, které jsou deformované, předčasně pukají a semena v nich jsou nedozrálá a malá. Rozvoj nákazy podporuje teplé (17–25 °C) a vlhké počasí, dále polehlý porost a pozdní sklizeň v důsledku deštivého počasí (Kazda et al. 2008b). Zdrojem infekce jsou nezapravené posklizňové zbytky a infikované osivo (Ferreira & Boley 1991).

Preventivní ochranou je zdravé fungicidně ošetřené osivo, zaorání posklizňových zbytků a zabránění poškození rostlinných pletiv (Kazda et al. 2008a). Cílená chemická ochrana se neprovádí, dostačující je ochrana proti hlízence a fómě. Další možností je i biologická ochrana přípravku Serenada, který obsahuje houbu *Bacillus subtilis* (Kocourek et al. 2018).

- **Cylindrosporióza řepky** (*Pyrenopeziza brassicae*, anam. *Cylindrosporium concentricum*)

Na listech se od podzimu objevují okrouhlé skvrnitosti s bělavým myceliem, které zasychají v nepravidelné pergamenovité skvrny podobné poškození mrazem. Na stoncích a větvích se vytváří podélné ploché praskání a korkovatění. Po napadení květů může dojít k deformaci šešulí, jejich zkrucování a následně v nich mohou semena odumírat. Díky změně klimatu se tato choroba postupně rozšiřuje (Kocourek et al. 2018). Prevencí je střídání plodin, odstranění posklizňových zbytků, výsev mořeného osiva a výběr odolnější odrůdy (Kazda et al. 2008b). Cílené chemické prostředky proti cylindrosporióze neexistují. Je zde možnost použití fungicidního postřiku s účinnými látkami metkonazol a tebukonazol (Kocourek et al. 2018).

- **Nádorovitost košťálovin** (*Plasmodiophora brassicae*)

Tato nemoc začíná na podzim, ale viditelně se začíná projevovat na jaře, kdy v půdě klíčí spory, jež produkují zoospory. Nádory vznikají už na podzim a v zimě rostliny mohou vymrznout. V půdě přežívají trvalé spory, z nichž se při klíčení uvolňují zoospory, které se vlhkou půdou dostávají přes rány či kořenové vlášení do hostitelské rostliny. Rostliny začnou nespecificky žloutnout, vykazují příznaky chlorózy zejména na spodních listech (Agrios 2005). Rostliny jsou zakrslé a nevětví se. Na kořenech se vytváří nádory, které mají za následek jejich rozpad a omezení funkce (Kocourek et al. 2018). Výskyt je především na kyselých, těžkých a zamokřených půdách. Problémem může být ale také infikované osivo (Kazda et al. 2008a). Chemická ochrana je možná pouze za použití dusíkatého vápna. Účinná je pouze při spojení s použitím rezistentních odrůd (Kocourek et al. 2018).

3.3.8. Škůdci ozimé řepky v období květu a tvorby šešulí

- **Blýskáček řepkový** (*Meligethes aeneus*)

Dospělci tohoto škůdce jsou délky 1,9 mm dlouzí a šířky 1,3 až 1,5 mm (Williams 2010). Larvy jsou až 3 mm velké a bílé. Samice brouka klade vajíčka do pupat hostitelské rostliny, kde se pak vyvíjejí larvy. Ty poškozují pupeny a mohou způsobit jejich usychání a opadávání. Jak larvy, tak dospělci se živí pylem a nektarem rostlin (Free & Williams 1979). Díky tomu se na rostlině vyskytuje nepravidelný počet šešulí, může však být zaměněno s poškozením mrazem nebo suchem (Kazda et al. 2008a). Zpracování půdy výskyt blýskáčka prakticky neovlivňuje. Škůdce se do porostů šíří z nezemědělské půdy. Minimalizačními technologiemi podpoříme přežití většího množství přirozených nepřátel blýskáčka (Kazda et al. 2008a). Další ochranou je dodržení osevního postupu, použití časně zakvétajících odrůd a likvidace brukvovitých plevelů. Chemické ošetření je nutné provádět před květem nebo na počátku květu řepky. Nutné je dbát také na ochranu včel při jeho aplikaci (Kocourek et al. 2018). Přirozenou biologickou ochranou proti blýskáčkovi řepkovému mohou být i jeho nepřátelé, mezi nimiž jsou *Phradis morionellus* a *Diospilus capito*. Ve vědecké praxi se účinně osvědčila houba *Beauveria bassiana* a bakterie *Bacillus thuringiensis* (Cagán 2006). Pilz & Keller (2006) přidávají ještě *Beauveriana brongniartii* jako budoucí biologickou ochranu, neboť oba tyto druhy houby lze kultivovat jednoduchým způsobem na živném médiu. Při laboratorních pokusech bylo během dvou dnů usmrceno 50–60 % jedinců. V praxi efekt bohužel výrazně

poklesl. Přínos k regulaci v ekologickém zemědělství bude i nadále testován a formulace houby bude optimalizována (Schweiz 2012).

- **Krytonosec šešulový** (*Ceutorhynchus obstrictus*)

Dospělci mají velikost 2,5–3 mm a jsou šedé barvy. Larva je bělavá a beznohá s výraznou hlavou před kuklením o velikosti 3–4,5 mm (Kocourek et al. 2018). Dospělci se objevují v porostech od začátku květu, kdy jejich výskyt podporuje teplé počasí. Samička klade po jednom vajíčku do šešule, které označí feromonem. Larvy deformují šešule, ale neotvírají je. Po 4–6 týdnech larvy opouští šešuli, v zemi se kuklí a koncem července a v srpnu se líhnou brouci, kteří následně přezimují (Kazda et al. 2008a). Preventivní metodou ochrany je použití časně kvetoucích odrůd, dodržení osevních postupů, ochrana přirozených nepřátel (blanokřídli rodu *Trichomalus*, *Mesopolobus*, *Microctonus*, *Stenomalia* a lumčici rodu *Bracon*) (Kazda et al. 2008a; Kocourek et al. 2018;) a důsledná regulace brukvovitých plevelů (Kazda et al. 2010). Přímá chemická ochrana se zpravidla neprovádí. Na začátku postačí k hubení pyretroidy (neonikotinoidy) proti blýskáčkovi, následně pak aplikace insekticidů proti bejlmorce kapustové (Kazda et al. 2008a).

- **Bejlmorka kapustová** (*Dasineura brassicae*, syn. *Dasineura napi*)

Je významný škůdce řepky olejky. Během roku se vyvíjí dvě generace. Přezimuje v larválním stadiu jako zámotek v půdě. První generace se objevuje od dubna do konce května (Graora et al. 2015). Průhledné, později mléčné larvy o velikosti 1,5 mm (Vašák et al. 2000) se pak následně v šešulích vyvíjí od poloviny dubna do poloviny června a způsobují deformaci šešulí, což má za následek předčasné vypadávání semen a snížení výnosu (Graora et al. 2015). Ztráta semen způsobená útoky tohoto druhu dosahuje až 82 % (Williams 2010). Dospělí jedinci mají velikost cca do 1,5 mm a jsou černohnědě zbarvení (Tóth & Hudec 2007). Objevují se především na pozemcích, kde byla řepka pěstována i v předešlém roce. Vašák et al. (2000) uvádějí, že samička bejlmorky klade vajíčka do poškozených šešulí, zatímco Graora et al. (2015) po pokusech říkají, že je klade i do šešulích zdravých.

V klimatických podmínkách Česka se objevuje až 6 generací bejlmorky, které se později vyvíjí na brukvovitých plevelích. Druhá generace bejlmorky je ve většině případů několika násobně horší než generace první (Málek et al. 2010). S tímto výrokem se shoduje i Kazda et al. (2008), zatímco Vašák et al. (2000) tvrdí, že je tomu naopak. Prevencí po agrotechnické stránce je hluboká orba. Minimalizační technologie tudíž nejsou na místě. Důležitá je též izolace ploch a časový odstup od nově založených porostů. V zemích, kde se řepka pěstuje s

odstupem 8–11 let a používá se orba, se poškození tímto škůdcem v podstatě nevyskytuje (Kazda et al. 2008a). Chemická ochrana byla na území Česka na bázi aplikace nitrofenolátů na začátku květu řepky. Po pokusech s neonikotinoidy bylo možné používat i přípravky s těmito účinnými látkami (Málek et al. 2010), dnes jsou však tyto přípravky zakázané a místo nich se používají pyretroidy (Agromanuál 2019). Kazda et al. (2008b) uvádějí jako přirozené nepřátele rod *Platygaster*, druh *Aphanogmus abdomanalis* a stěvlíky, kteří v půdě likvidují larvy dokončující svůj vývoj. Velmi dobré výsledky měla i ochrana účinnou látkou azadirachtin, výtažkem ze stromu *Azadirachta indica*, kdy byla prokázána podoba s insekticidy na bázi neonikotinoidů, jako je acetamiprid a thiakloprid nebo s pyretroidem lambda-cyhalothrinem (Pavela et al. 2009).

- **Mšice zelná** (*Brevicoryne brassicae*)

Je škůdce o velikosti 1,6–2,8 mm, šedého zbarvení a silným voskovým popraškem. Její životní cyklus závisí na klimatických podmínkách během zimy, v koloniích se tak objevují jak okřídlení, tak i neokřídlení jedinci (Capinera 2008), kteří se za teplého a vlhkého počasí rychle rozmnožují. Mšice škodí sáním na rostlinách, zejména pak šešulích, které žloutnou a dále se nevyvíjí. Rostliny jsou pokryty šedým voskovým výpotkem a medovicí (Kocourek et al. 2018). Velké škody však způsobují zejména přenosem virových patogenů, jako je virus žloutenky řepy (BWYV), virus žloutenky vodnice (TuYV) a dalších virů (Kazda et al. 2008a). Chemická ochrana je v porostech obtížná a provádí se jen ve výjimečně. K ochraně jsou povoleny účinné látky lambda-cyhalothrin a pirimicarb (Kocourek et al. 2018).

3.4. Ochrana řepky

Dnešní zemědělství zahrnuje použití spousty chemických látek pro hubení škůdců, patogenů a plevelů ničících nejen zemědělské plodiny. Chemické látky mohou různými způsoby interagovat s okolními faktory a zůstávají tak hlavně nejen v půdě, ale i v pěstovaných plodinách. V tomto důsledku je třeba zvážit alternativní a integrované systémy řízení škůdců, chorob i plevelů, aby snížili vstupy a dopady životní prostředí (Rifai et al. 2000).

3.4.1. Monitoring škůdců řepky

Pro monitoring škůdců nejen řepky se využívají různé typy lapačů či lapáků:

- optické lapače zahrnující žluté misky a lepové desky

- emergenční pasti, padací pasti, lapáky typu okenních pastí
- světelné lapače
- sací pasti
- feromonové lapáky
- lapáky s potravními atraktanty, pasti s návnadou

Pro monitoring drátovců se využívají půdní výkopky. K metodám monitoringu můžeme přidat i metody monitorování poškození rostlin a metody hodnocení ztrát na výnosech a kvalitě produktů. Vývoj škůdců řepky lze odhadnout pomocí teplotních modelů vývoje za použití sum efektivních teplot na základě, které lze předpovídat podle průběhu teplot prostředí výskytu kritického stadia škůdce, nebo termíny výskytu jednotlivých generací škůdce v roce (Kocourek et al. 2017).

3.4.2. Management řepky olejky

Řepce nejlépe vyhovují chladné a vlhčí polohy. Teplé oblasti více podporují rozvoj chorob a výskyt škůdců (Kazda & Škeřík 2008). Pokud se podaří dobře zkombinovat vhodné stanoviště a odrůdy odolné vůči škůdcům a mrazu, může být zajištěno úspěšné pěstování. Dodržení základních agrotechnických doporučení mají velký význam při ochraně před škůdci a jsou tak základním pilířem funkčního programu řepky. Fytosanitární hledisko nedoporučuje pěstovat řepku o témže poli dříve jak po čtyřech letech (Mrówczyński et al. 2006) a izolace podobných či stejných porostů v jednotlivých letech, protože u organismů šířících se půdou jde o velmi důležité opatření (Kazda & Škeřík 2008). Tato opatření však v praxi nejsou dodržována a řepka se pěstuje na stejném pozemku i dva roky po sobě (Kazda et al. 2011).

3.4.2.1. Šlechtitelské metody ochrany řepky

Genetická modifikace je využívána u řepky k získání tolerance k neselektivním herbicidům (Bečka & Fábry 2007). První geneticky upravená odrůda řepky byla zavedena v roce 1995 a měla toleranci vůči herbicidům na bázi glufosinát-amonný (fosfínotricin). Od té doby byly pro čtyři účinné složky (tj. glyfosát, glufosinát-amonium, bromoxynil, imidazolin) vyvinuty vlastnosti pro toleranci vůči herbicidům. Tolerance na glyfosát, glufosinát-amonium a bromoxynil byla získána zavedením genů z jiných organismů do genomu *B. napus* pomocí rekombinantních DNA technologií, zatímco tolerance k imidazolinům byla získána mutagenezí (Simard et al. 2002; Johnson et al. 2004). V roce 2010 bylo v Kanadě 47 % řepkového oleje glyfosatolerantní, 46 % glufosinát-amonium tolerantní a 6 % imidazolinonetolerantní (Canola

Council of Canada 2014). Existují také odrůdy řepky s upraveným složením mastných kyselin v oleji (Bečka & Fábry 2005). Na území Evropské unie není povoleno tuto transagenní řepku z legislativních důvodů pěstovat (Baranyk et al. 2005). Pěstování je povoleno v Americe a některých asijských zemích (Kazda et al. 2003). Zdá se, že použití více herbicidů zpomalilo šíření rezistence na glyfosát. Od roku 2005 do roku 2010 vědci objevili 13 různých druhů plevelů, které vyvinuly rezistenci na glyfosát. V letech 2010–2014 byly objeveny pouze dva další (Robert 2013). Mezi odrůdy s odolností vůči určitému herbicidu patří: Roundup Ready a Svoboda-tolerantní odrůdy, které byly geneticky upraveny a odrůdy Clearfield, které jsou rezistentní na herbicid Beyond. Odrůdy odolné vůči triazinům byly vyvinuty na počátku 80. let 20. století, ale nejsou používány. Odrůdy Clearfield a odrůdy vůči triazinu tolerantní byly vyvinuty za použití tradičních šlechtitelských technik (Kandel & Knodel 2011).

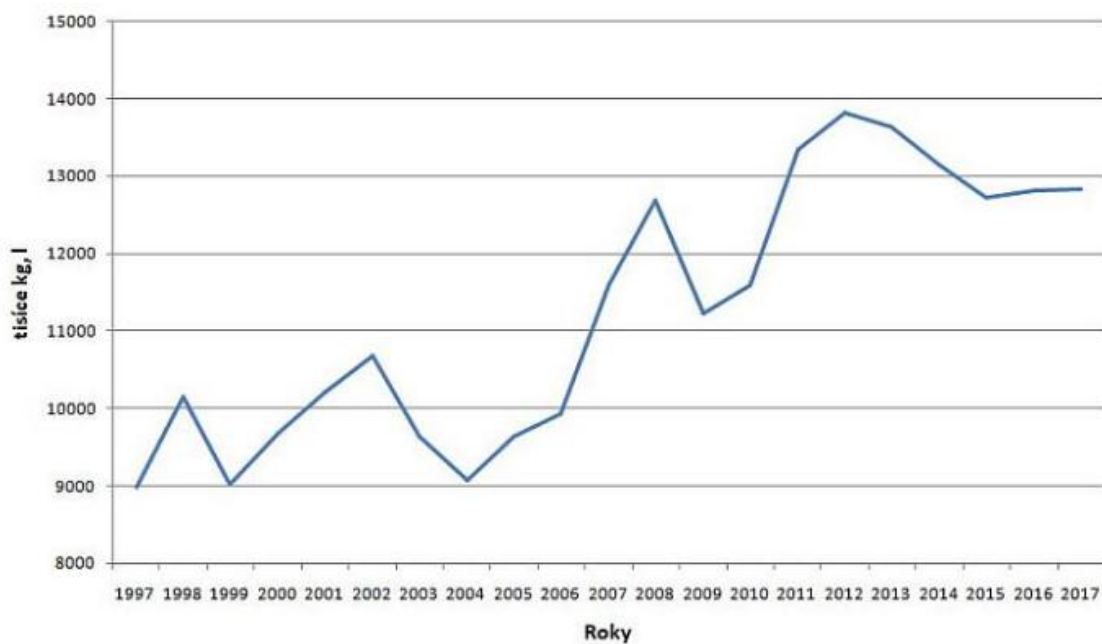
Šlechtění k odolnosti proti škůdcům nebylo zatím realizováno. V minulosti proběhl výzkum na účinnost glukosinolátů v zelené hmotě vůči pilatce řepkové a krytonosci čtyřzubému. Nejpravděpodobnější účinnost byla na pilatku řepkovou, kdy konzumace glucobrassicinu a gluconasturtinu na ni měla negativní účinek synergického působení (Koprna 2008).

3.4.2.2. Chemické metody

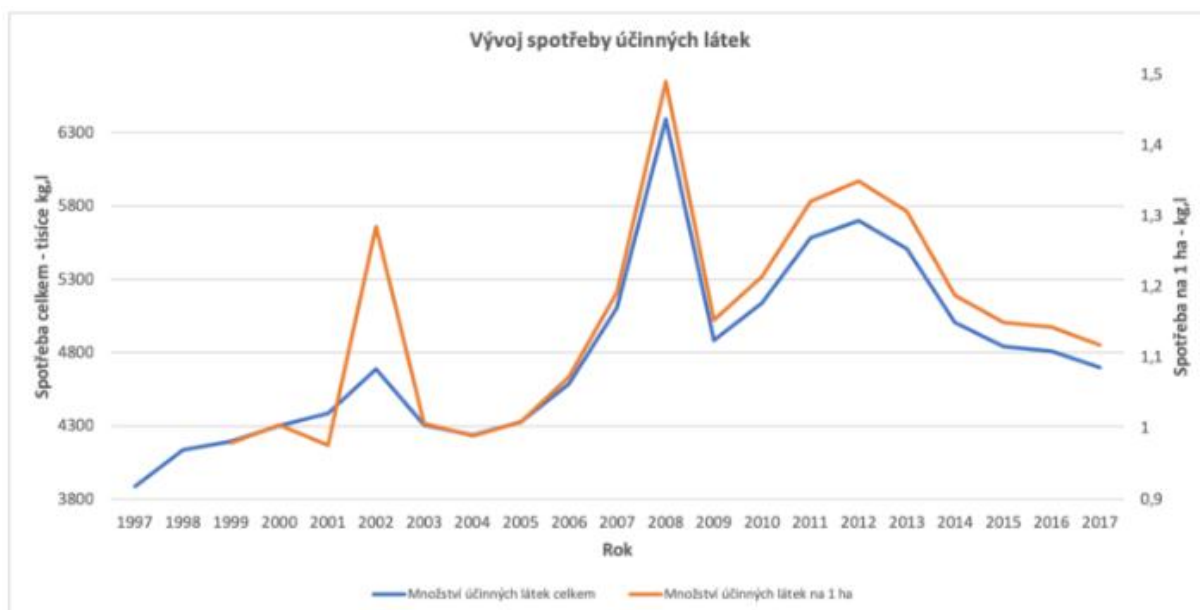
Když před více jak padesáti lety vstoupily na trh syntetické pesticidy, mnoho lidí si myslelo, že je ochrana škůdců kompletně eliminována (Metcalf 1989). Zejména právě řepka ozimá vyžaduje po dobu své vegetace velmi mnoho pesticidů (Zaller et al. 2008).

3.4.2.2.1. Používání pesticidů v posledních letech

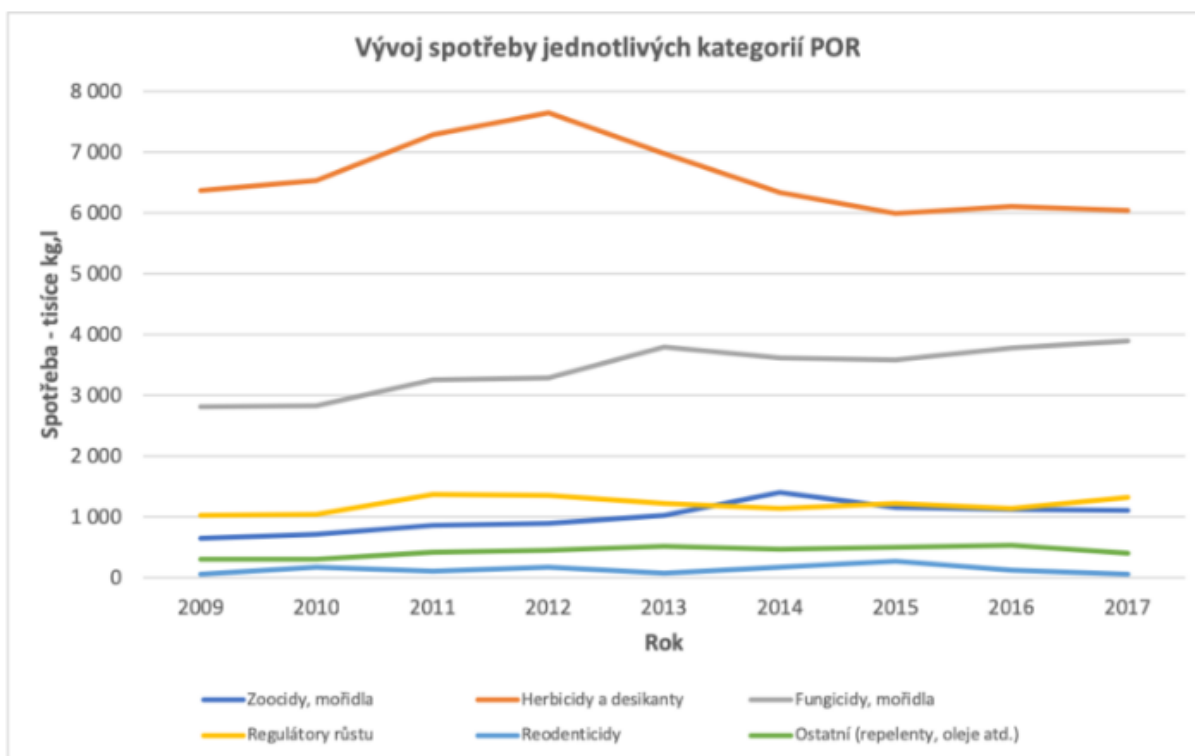
Tisková zpráva Ministerstva zemědělství ČR uvádí data o spotřebě POR v Česku, kdy měla jejich spotřeba klesnout až o 7 % (MZe 2018). Ovšem v celkovém měřítku je na tom Česko o cca 30 % hůře než před 20 lety. O něco lépe jsme na tom s použitím účinných látek, kde je jejich pokles viditelný, ale i tak jim používáme o cca 23 % více, než jako tomu bylo v roce 1997. Toto srovnání spotřeby nemusí být úplně směrodatné, jelikož POR obsahují přídatné látky a plnidla, lišící se i svou koncentrací (Dlouhá & Ivanský 2018).



Obr. č. 2: Graf srovnání používání POR v letech 1997–2017 (Dlouhá & Ivanský 2018)



Obr. č. 3: Graf vývoje spotřeby účinných látek v letech 1997–2017 (Dlouhá & Ivanský 2018)



Obr. č. 4: Graf vývoje spotřeby jednotlivých kategorií POR v letech 1997–2017
(Dlouhá & Ivanský 2018)

3.4.2.2.2. Spotřeba účinných látek do porostů řepky v roce 2018/2019

V následující tabulce je uvedena největší spotřeba účinných látek do porostů řepky olejky ozimé v roce 2018/2019 (EAGRI 2019).

Pořadí	Účinná látka	Typ pesticidu	Spotřeba úč. l. (t)
1.	Glyfosát	herbicid	148,7
2.	metazachlor	herbicid	147,9
3.	pethoxamid	herbicid	100,6
4.	chlorpyrifos	insekticid	92,7
5.	tebukonazol	fungicid	56,6
6.	thiofanát-methyl	fungicid	37,8
7.	chinmerak	herbicid	23,1
8.	thiakloprid	insekticid	25,9
9.	chlormekvát	regulátor růstu	19
10.	mepikvátchlorid	regulátor růstu	18,2

Tabulka č. 1: Spotřeba účinných látek v porostech řepky olejky 2018/2019

3.4.2.3. Fungicidní ochrana

Během podzimu se nejčastěji provádí postřik proti fómové hnilobě (Baranyk et al. 2005). Padlí brukvovitých, cylindrosporiová skvrnitost či verticiliové vadnutí se vyskytují pouze ojediněle. Proti chorobám řepky se používají účinné látky tebukonazol, metkonazol, nebo jejich kombinace a mají tak i morforegulační účinek. Nově existují další registrované fungicidy, jež jsou kombinace s účinnými látkami azoxystrobin, boscalid, dimoxystrobin, difenokonazol, chlorothalonil, paclobustrazol, prochloraz, prothiokonazol, propikonazol a thiophanate-methyl (Fiala & Bernardová 2015). Tento efekt přináší i fungicidy s účinnou látkou ze skupiny triazolů, jako například cyprokonazol a flusilazol (Baranyk et al. 2005).

3.4.2.4. Herbicidní ochrana

K ochraně proti plevelům v řepce se používají herbicidy s účinnými látkami jako je metazachlor, dimthenamid, clomazone a quinmerac. Pro postemergentní ochranu se využívají zejména picloram a aminopyralid. V zahraničí jsou pro zvláštní případy zaplevelení používány pendimethalin a bifenox (Jursík et al. 2019). Proti jednoděložným plevelům se provádí zejména ochrana proti výdrolu obilovin a trávovitým plevelům pomocí graminicidů (Baranyk et al. 2007). Například v Kanadě je opomenutí herbicidní ochrany u olejin proti plevelům uváděno jako nejdůležitější limitující faktor (Gunstone et al. 2004). Ačkoli je ozimá řepka velmi pěstovanou plodinou, nedochází za poslední roky k zásadním změnám v použití účinných látek (Vaculík 2018a).

3.4.2.5. Insekticidní ochrana

V roce 2013 bylo EU zakázáno insekticidní moření neonikotinoidními účinnými látkami – imidaklopridem, klothianidinem a thiamethoxamem. Toto moření bylo používáno především na dřepčíky, kteří ohrožují porost řepky na podzim během jejího vzcházení. Moření těmito látkami bylo ale také velmi úspěšné v počátečním boji proti larvám pilatky řepkové, osenice polní, květilky zelné, krytonosci zelnému a mšicím. O 5 let později, tedy v roce 2018, byl zákaz kvůli ochraně včel znovu potvrzen. Moření nahradily jeden až dva postemergentní insekticidní postřiky. Na podzim 2018 bylo představeno mořidlo s účinnou látkou cyantraniliprol z nové chemické skupiny antranildiamidů, jehož polní pokusy vykazují velmi dobré výsledky, a to nejen na dřepčíky, ale i na květilku a pilatku (Spitzler 2019). Během podzimu rozhodla Evropská komise o zákazu používání thiaklopridu, a to s platností od konce dubna 2020 (EC 2020b)

Od roku 2010 byl povolen proti osenici polní (*Agrostis segetum*) přípravek Nurelle D s účinnými látkami chlorpyrifos a cypermethrin. Do této doby nebyl řepky žádný insekticid povolen (Málek et al. 2010). Proti blýskáčkoví bylo povolené ve fázi zelených pupat vhodné použití přípravků na bázi chlorpyrifosu v kombinaci s pyretroidem cypermethrinem, nebo pyretroid beta-cyfluthrin či karbamát pirimiphosmethyl. V boji proti němu existují i další registrované účinné látky jako jsou indoxacarb a pymetrozin. Pyretroidy jeví menší známky toxicity vůči včelám a dalším opylovačům. Aplikaci těchto přípravků proti šešulovým škůdcům je doporučeno kombinovat v jarním období s DAM, listovými hnojivy nebo stimulatory růstu. Nesmí se zapomínat, že použití tank mixů zvyšuje riziko nebezpečí pro včely. Důležitá je také teplota, při které se přípravky aplikují. U pyretroidů nesmí být vyšší než 25 °C. Pyretroidy taktéž zajišťují rychlý a levný zásah (Kocourek et al. 2018). Nyní je od dubna 2020 již zakázán v rámci celé EU společně s účinnou látkou chlorpyrifos - methyl. Dospělo se k závěru, že existují obavy z toxicity na lidské zdraví, zejména pak genotoxicity a vývojové neurotoxicity (EC 2020a). Při teplém počasí je potřeba v některých letech ochrana proti slimáčkům, dřepčíkům, housenicím pilatek, housenkám osenic a hrabošům (Kazda et al. 2011). Maximální účinek přípravků se projevuje za jiných vnějších podmínek (teplota, perzistence přípravku v prostředí atd.) (Kazda et al. 2010).

3.4.3. Rezistence na přípravky v řepce

V Česku byla potvrzena mnohočetná rezistence vůči pyretroidům a organofosfátům u blýskáčka řepkového (Stará & Kocourek 2012b). První zmínka o rezistenci na pyretroidy byla již v roce 1999 v severovýchodní Francii (Ballanger et al. 2007; Seidenglanz et al. 2017). Díky monitoringu byla pak v následujících letech zjištěna rezistence i v jiných státech Evropy (Seidenglanz et al. 2017) – Dánsko v roce 2000–2001 (Hansen 2003), Německo od roku 2002 (Heimbach 2005), Švýcarsko a Švédsko též od roku 2000 (Derron et al. 2004; Djurberk & Gustafsson 2007), ve Finsku v roce 2003 (Tiilikainen & Hokkanen 2008), od roku 2004 v Polsku (Wegorek 2005), roce 2007 v Lucembursku (Eickermann et al. 2008) a následně v tom samém roce i v Česku (Kocourek et al. 2007; Seidenglanz et al. 2017). Mechanismus rezistence blýskáčka řepkového vůči pyretroidům není dosud znám, ale z dosažených výsledků, jak uvádí Stará & Kocourek (2012a) vyplývá, že rezistence středoevropských populací blýskáčka je podmíněna metabolicky. Stejného názoru jsou i Slater & Nauen (2007). Mezi další méně citlivé škůdce vůči insekticidům patří krytonosci. V jejich případě se jedná o účinnou látku indoxacarb,

avšak rezistence u nich na tuto látku není získaná a jde pouze o nižší úroveň citlivosti. V porovnání s ostatními škůdci byli méně citliví dřepčící rodu *Phyllotreta* vůči neonikotinoиду thiaklopridu (Seidenglanz et al. 2017).

V roce 2016 byly provedeny pokusy na rezistenci houbových patogenů (*Sclerotinia sclerotiorum*, *Leptosphaeria maculans* a *L. biglobosa*) vůči fungicidům. Zaznamenána byla zatím pouze zvýšená citlivost na použité přípravky, která byla ale velmi variabilní. Na tomto základě rozdílných výsledků nelze však hovořit o rezistenci. Je nutné tyto pokusy ovšem nepodceňovat (Plachká et al. 2016; Kocourek et al. 2018).

3.4.4. Ochrana řepky přípravky v tank mixu

Použití tank mixů je zemědělci propagováno zejména z ekonomických důvodů. Minimalizace vjezdů do polí omezuje zhutnění půdy, šetří palivo a pracovní dobu (Shaw & Arnold 2002). Do tank mixu se dávají nejen různé skupiny pesticidů, ale také jednotlivé účinné látky v rámci jedné skupiny. Mezi takto nejvíce používané skupiny se řadí herbicidy. Často se tak využívá kombinace účinných látek clomazon a metazachlor či dimethachlor. Další možností je použití přípravku, obsahující účinné látky aminopyralid, clopyralid a picloram, který lze kombinovat bez problémů v tank mixu s graminicidy, insekticidy a fungicidy. Není zcela jasně potvrzeno, že aplikace tank mixů graminicidů s ostatními pesticidy jsou vždy naprosto selektivní. Přesto nedochází k významnějším fytotoxickým projevům na rostlinách řepky ozimé. V případě tank mixu graminicidů s herbicidy určenými na regulaci dvouděložných plevelů musí být kvůli smáčedlům v nich obsažených provedena konzultace s držitelem povolení přípravku o vhodnosti takové směsi. U některých herbicidů lze bez problémů mísit do tank mixů fungicidy, graminicidy, insekticidy a regulátory růstu (Vaculík 2018a). V jarním období je pak možno kombinovat jisté herbicidy nejen s výše uvedenými pesticidy, ale také s hnojivem (např. přípravek Galera – účinné látky clopyralid a picloram s hnojivem DAM 390). Ovšem ne všechny kombinace tohoto přípravku s jinými látkami je možno považovat za zcela selektivní a na řepce se mohou projevit fytotoxická poškození. Během předchozích pokusů byla prokázána selektivita tank mixu běžně používaného herbicidu Galera s jinými pesticidy (Nurelle D, Garland Forte, Caramba). Tyto kombinace je nutno provádět s využitím vody jako nosné kapaliny. V případě, kdy by bylo nosnou kapalinou hnojivo DAM 390, je nutno dodržovat jistá pravidla pro zamezení fytotoxického poškození rostlin (Vaculík 2018b).

3.5. Výživa rostlin a látky pomocné

3.5.1. Význam výživy rostlin

Ke správnému vývoji a růstu potřebuje jakákoliv rostlina živiny ve správném poměru, které čerpá ze svého okolí. Většinu těchto živin přijímá z půdního roztoku kořeny. Kyslík a uhlík přijímá ze vzduchu listy. Za pomoci sluneční energie a chlorofylu vytváří rostliny organické látky, jako jsou bílkoviny, cukry atd. Zemědělskou produkcí odchází z půdy živiny, jež jsou čerpány rostlinami. Je tedy nutné tyto živiny do půdy navrátit hnojením zpět (Forchsam & Prchal 1960). Výživa rostlin hraje velkou roli právě i v ochraně rostlin. Díky harmonické výživě je rostlina celkově v lepší kondici odolnější vůči stresu (např. v období sucha), ale hlavně i chorobám a škůdcům, čímž se snižuje používání pesticidů (Pragoflora 2017). Snižit náklady i zatížení životního prostředí lze používáním GPS navigačních systémů, které jsou propojeny s aplikačním řízením, jež dává dávku hnojiva dle aktuální zásobenosti půdy a přistupuje tak na pozemku individuálně k jednotlivým místům (ÚKZÚZ 2016).

3.5.1.1. Hnojení řepky

Předpokladem dobrého výnosu je dostatečné hnojení. Nutností pro výnos semene 3 t/ha je zapotřebí dodat řepce mezi 150–210 kg N/ha (Gustone et al. 2004). Její produkce vyžaduje intenzivní dusíkaté hnojení a její dusíková stopa přesahuje většinu ostatních celosvětově významných plodin (Stahl et al. 2019). Ve velkém množství pak odebírá i fosfor, kdy se jedná o zhruba 60 kg, více jak 200 kg draslíku a 20–50 kg síry (Gunstone et al. 2004). Ve spotřebě živin je řepka pomalu nejnáročnější plodina. Její požadavky na výživu jsou 2–3× vyšší než u jiných plodin. Ačkoliv má dispozici si velmi snadno získat z půdy živiny, což je způsobeno jejím křovitým kořenem a velmi jich během svého růstu a vývoje odčerpává, vytváří velké množství biomasy a značná část je tak vracena do půdy zpět posklizňovými zbytky. Základní hnojení před setím je však opravdu velmi nutné, během podzimu je řepka schopna odebrat z půdy až 120 kg N (Baranyk et al. 2005). Na jaře je pak dobré hnojení dusíkatými hnojivy ve 3 dávkách (min. 190 kg N/ha) (Urban & Vašák 2016). Všechny formy řepky olejky (zimní, jarní a polo-zimní typy) vyžadují na počátku vegetace vysoké hnojení N, ale plodina často trpí nadbytkem N rovnováhy v době dozrávání semen (Aufhammer et al. 1994, Rathke et al. 2006; Sieling & Kage 2006; Bouchet et al. 2016). Pozitivní vliv na půdní strukturu, vodní režim rostliny či zvýšení přístupnosti živin má vápník. Řepka ho spotřebuje kolem 120-180 kg/ha. Prokázán byl i jeho fytosanitární účinek. Vápnění je potřeba provádět před setím řepky nejlépe

mletým vápencem (případně také dolomitický vápencem či dolomitem). Hnojení draslíkem je téměř srovnatelné jako hnojení dusíkem, ne-li vyšší (Černý et al. 2015, 2018).

3.5.2. Regulátory růstu

Růstové regulátory jsou rostlinné hormony (fytohormony) ovlivňující expresi genů a transkripci, buněčné dělení a růst. Jedná se o látky přirozeně produkované v rostlinách, které jsou velmi podobné látkám produkovaným houbami a baktériemi, které taktéž mohou ovlivnit růst rostliny (Srivastava 2002). Rostlinné hormony nemůžeme považovat za živiny rostlin, ale za chemické látky, které v malých množstvích podporují a ovlivňují růst, vývoj a diferenciaci buněk a tkání (Öpik et al. 2005). Tyto hormony můžeme rozdělit i podle účinku na stimulační a inhibující (Hejnák et al. 2005).

- **Kyselina abscisová (ABA)**

Kyselina abscisová je jedním z hlavních a nejdůležitějších regulátorů růstu rostlin (Feurtado et al. 2004). Má velmi důležitou roli při reakcích rostliny na stres a rostlinné patogeny (Seo & Koshiba, 2002). Vysoké koncentrace tohoto hormonu byly objeveny při procesech během opadu listů, plodů a dormanci pupenů stromů (Hejnák et al. 2005). ABA působí jako inhibiční chemická sloučenina, ovlivňující nejen růst pupenů, ale též semennou a buňkovou latenci. Zprostředkovává změny uvnitř apikálního meristému, což způsobuje nečinnost buňky a změnu posledního souboru listů do ochranných obalů (Fertuado et al. 2004). Rostliny začínají život jako semeno s vysokými hladinami ABA, následným množením a klíčením její hodnota klesá (Procházka et al. 1997). Bez ABA by se pupeny a semena začala rozvíjet v teplých obdobích během zimy, či že poskytuje určitou ochranu před předčasným růstem. Akumuluje se v semenech během dozrávání plodů, brání klíčení semen v ovoci nebo klíčení semen před zimou. Účinky kyseliny abscisové jsou degradovány během chladných teplot nebo jejich odstraněním promýváním vody z tkání, uvolněním semen a předčasným rozvíjením pupenů ze spánku (Fertuado et al. 2004). V rostlinách, které jsou pod vodním stresem, má ABA úlohu při uzavírání stomat. Jakmile kořeny mají nedostatek vody, uvolňují ABA, který je přeposlán cévním systémem do listů (Ren et al. 2007). To ovlivňuje příjem draslíku a sodíku v ochranných buňkách, ztrácí svou turgiditu a uzavírají stomata (Yan et al. 2007). Degradace ABA ovlivňuje metabolické reakce, buněčný růst a produkci dalších hormonů (Kermode 2005).

- **Auxin**

Tento regulátor růstu je jedním z prvních objevených (Procházka & Šebánek 1997). Pozitivně ovlivňuje zvětšení buněk, tvorbu pupenů, iniciaci kořenů, podporuje produkci dalších hormonů a ve spojení s cytokininy řídí růst stonků, kořenů, plodů a přeměňují stonky na květy (Osbourne & McManus 2005). Zabraňuje růstu pupenů dolů a podporuje růst kořenů. Auxiny v semenech regulují specifickou syntézu bílkovin (Walz et al. 2002). Ve velkých koncentracích jsou pro rostliny toxické, a tak díky nim byly vyvinuty syntetické auxinové herbicidy, včetně NAA (kyseliny α -naftyloctové), 2,4-D (2,4-dichlorfenoxyoctové) a 2,4,5 – T (2,4,5 trichlorfenoxyoctová) a MCPA (2-methyl-4-chlorfenoxyoctová). Mezi nativní auxiny patří kyselina 1-naftalenoctová (IAA), kyselina indol-3-butyrová (IBA), kyselina fenyloctová (PAA). Nejběžnějším auxinem nacházejícím se u rostlin je kyselina indol-3-octová (Hejnák et al. 2005).

- **Brassinosteroidy**

Brassinosteroidy jsou jediné rostlinné hormony na bázi steroidů řazené do polyhydroxysteroidů, objevené v roce 1979 izolováním z pylu řepky (Bishop & Yokota 2001). Vyskytují se ve všech částech rostliny. Brassinosteroidy zajišťují prodloužení a rozdělení buněk, gravitropismus, podílí se na fotosyntéze, diferenciaci xylému, zrání plodů, opadu listů a inhibici kořenů (Grove et al. 1979). Poskytují rostlině vyšší teplotní toleranci, obranu proti suchu, zamokření, zasolení a těžkým kovům či indukují rezistenci vůči patogenům (Mazorra et al. 2002).

- **Etylen**

Etylen se vytváří rozpadem methioninu. Má velmi omezenou rozpustnost ve vodě a uniká z rostliny (Wang et al. 2007). Stimuluje nebo reguluje dozrávání ovoce, otevírání květů, či abscisi listů. Etylen je známý pro regulaci růstu a vývoje rostlin a je přizpůsoben stresovým podmínkám, zejména během zasolení (Lei et al. 2011). Environmentální podněty jako jsou záplavy, sucho, chlad, zranění či napadení patogenem, mohou vyvolat zvýšenou tvorbu etylenu v rostlinách. Během záplav kořeny trpí nedostatkem kyslíku, což vede k syntéze 1-aminocyklopropane-1-karboxylová kyselina (ACC). ACC je v rostlině přepravován vzhůru a potom oxidován v listech. Produkovaný ethylen způsobuje pohyby listů, pomáhá rostlině ztratit vodu (Neto et al. 2004).

- **Gibereliny**

Gibereliny (GA) byly poprvé objeveny v Japonsku jako chemikálie, které vylučuje houba *Gibberella fujikuroi*, která způsobovala abnormální růst rýže. Později bylo zjištěno, že je vyrábí samotné rostliny a řídí několik aspektů vývoje v celém životním cyklu. Syntéza GA je u semen při klíčení nutná. Gibereliny podporují prodloužení, přechod mezi vegetativním a reprodukčním růstem a jsou také požadovány pro funkci pylu během oplodnění (Tsai et al. 1997). Existují rostliny, ve kterých po poklesu hladiny ABA začne následně zvedat hladina giberelinů (Hejtnák et al. 2005).

- **Cytokininy**

Cytokininy jsou skupinou, jež ovlivňují buněčné dělení, růst výhonků a kořenů. Pomáhají také zpomalit stárnutí tkání, jsou odpovědné za zprostředkování transportu auxinu v celé rostlině a ovlivňují délku a růst listů (Sipes & Einset 1983). Velmi často spolupracují s auxiny a poměr těchto dvou rostlinných hormonů ovlivňuje většinu životního cyklu rostliny (Campbell et al. 2008). Auxin obecně reguluje biosyntézu cytokininu (Nordström et al. 2004). Cytokininy vylučují apikální dominanci indukovanou auxiny a ve spojení s etylenem podporují opadávání listů, květů a plodů (Sipes & Einset 1983). Cytokininy využívají především zemědělci při pěstování plodin, například ke zvýšení výnosu i během sucha (Yao 2010). Též hrají roli v patogenezi rostlin, indukují rezistenci proti *Pseudomonas syringae* u *Arabidopsis thaliana* (Choi et al. 2010) a *Nicotiana tabacum* (Großkinsky et al. 2011). V souvislosti s biologickou kontrolou chorob rostlin mají cytokininy potenciální funkce. Produkce cytokininů *Pseudomonas fluorescens* G20-18 byla identifikována jako klíčový faktor pro účinnou kontrolu infekce *A. thaliana* (Großkinsky et al. 2016).

- **Jasmonáty**

Jasmonáty jsou hormony na bázi lipidů původně izolované z jasmínového oleje (Demole et al. 1962). Ovlivňují procesy od růstu, přes fotosyntézu, až po reprodukci. Jsou důležité během reakcí rostlin na poškození býložravců, napadení nekrotrofními patogeny či působení nepříznivých biotických i abiotických podmínek (Farmer & Ryan 1990). Jejich úloha je hlavně v reakci na poškození. Po mechanickém zranění nebo poškození herbivory se jejich biosyntéza velice rychle aktivuje a exprimují se vhodné geny. Signalizace jasmonáty indukuje i blízké rostliny, aby se mohly připravit na svou obranu (Farmer & Ryan 1990). Neaktivnější jasmonát v rostlinách je kyselina jasmonová. Vedle své role v obraně se také předpokládá, že hrají roli v

klíčivosti semen, ukládání bílkovin v semenech a růst kořenů (Browse 2005). V návaznosti na svou roli v obraně se podílejí také na buněčné smrti a stárnutí listů. Jasmonáty mohou interagovat s mnoha kinázami a transkripčními faktory spojenými se stárnutím, taktéž mohou indukovat mitochondriální úmrtí vyvoláním akumulace reaktivních druhů kyslíku. Tyto sloučeniny narušují mitochondriální membrány a ohrožují buňky tím, že způsobují apoptózu nebo programovanou smrt buněk. Úlohy jasmonátů v těchto procesech naznačují způsoby, kterými se rostlina brání proti biotickým problémům a omezuje šíření infekcí (Reinbothe et al. 2009).

- **Kyselina salicylová**

Tato kyselina je hormon s příbuznou strukturou fenolu, izolovaným původně z výtažku bílé kůry z vrby bílé (*Salix alba*) (Rivas-San & Plasencia 2011) s využitím v lidské medicíně. V rostlinách hraje velmi důležitou roli při růstu a vývoji rostlin, fotosyntéze, transpiraci, absorpci iontů, transportu (Vlot et al. 2009) a podílí se na endogenní signalizaci, která zprostředkovává obranu proti biotrofním patogenům (Hayat & Ahmad 2007). Hraje roli v rezistenci vůči patogenům indukcí produkce proteinů souvisejících s patogenezi (Van Huijsdujinen et al. 1986). Podobně jako JA, SA může také být methylována. Stejně jako methyl-jasmonát je methyl-salicylát těkavý a může působit jako signál k blízkým rostlinám, aby varoval před napadením patogenem (Taiz & Zeiger 2002). Vedle své role v obraně se SA také podílí na reakci rostlin na abiotický stres (zejména na sucho, teplotu, těžké kovy a osmotický stres (Rivas-San & Plasencia 2011).

3.5.3. PR proteiny

Když rezistentní rostliny rozpoznávají příbuzné nebo odpovídající elicitory, aktivují se intracelulární signální transdukční cesty, jež vyústí k obranným reakcím. Geny obranných reakcí kódují produkci různých toxických proteinů souvisejících s patogenezi (PR), jako jsou chitinázy, glukonázy, proteiny aktivující lysozomy nebo buňky zesilující proteiny, jako glykoproteiny bohaté na hydroxyprolin. Odpovídajícími proteiny mohou být také enzymy biosyntetické cesty pro lignifikaci buněčných stěn nebo produkci fytoalexinů, toxických s nízkou molekulovou hmotností chemikálie, které antagonizují patogeny (Ebrahim et al. 2011). Vyšší rostliny mají širokou škálu mechanismů, kterými se mohou chránit před různými hrozbami, včetně fyzických, chemických a biologických stresů, jako jsou poranění, zasolení, sucho, nachlazení, těžké kovy, znečišťující látky a ultrafialové paprsky, dále patogenní

organismy, jako jsou houby, bakterie a viry (Agrios 1997). Reakce rostlin na tyto faktory jsou velmi složité a zahrnují aktivaci souboru genů kódujících různé proteiny. Tyto stresy mohou indukovat biochemické a fyziologické změny v rostlinách, jako je fyzické zpevnění buněčné stěny pomocí lignifikace, suberizace a depozice kalózy. Produkují fenolové sloučeniny, fytoalexiny a proteiny související s patogenezí (PR), které následně zabraňují invazi různých patogenů (Bowles 1990). Mezi nimi je velmi důležitá produkce a akumulace proteinů souvisejících s patogenezí v rostlinách v reakci na napadení patogenem nebo stresovou situací. Fytoalexiny jsou produkovány hlavně zdravými buňkami sousedícími s lokalizovanými poškozenými a nekrotickými buňkami, ale PR proteiny se hromadí lokálně v infikovaných a okolních pletivech a také ve vzdálených neinfikovaných pletivech. Produkce PR proteinů v neinfikovaných částech rostlin může zabránit dalším infekcím postižené rostliny (Ryals et al. 1996; Delaney 1997). PR proteiny v rostlinách byly poprvé objeveny a uvedeny v rostlinách tabáku infikovaných virem mozaiky tabáku (Van Loon & Van Kammen 1970). Později byly tyto proteiny nalezeny v mnoha rostlinách. Většina PR proteinů v rostlinných druzích jsou proteiny rezistentní vůči kyselinám, nízkomolekulární a proteázově rezistentní (Leubner-Metzger & Meins 1990; Neuhaus 1999). PR proteiny mohou být v závislosti na jejich izoelektrických bodech buď kyselé nebo bazické, mají však podobné funkce. Většina kyselých PR proteinů se nachází v mezibuněčných prostorech, zatímco bazické PR proteiny jsou převážně umístěny ve vakuolách (Niki 1998). PR proteiny byly klasicky rozděleny zpočátku do 5 skupin na základě molekulové hmotnosti, izoelektrického bodu, lokalizace a biologické aktivity (van Loon 1985). V současné době byly PR-proteiny zařazeny do 17 skupin podle jejich vlastností a funkcí, včetně β -1,3-glukanáz, chitináz, proteinů podobných thaumatinům, peroxidázám, proteinům inaktivujících ribosomy, obranám, thioninům, proteiny, oxalát oxidasy a proteiny podobné oxalátové oxidase (Van Loon & Van Strien 1999). Mezi těmito PR proteiny jsou chitinasy a β -1,3-glukanasy dva důležité hydrolytické enzymy, které jsou po infekci různými typy patogenů hojné u mnoha druhů rostlin. Množství těchto látek významně vzrůstá a hraje hlavní roli obranné reakce proti fungálním patogenům tím, že degraduje buněčnou stěnu, protože chitin a β -1,3-glukan je také hlavní strukturální složkou buněčných stěn mnoha patogenních hub. Zdá se, že β -1,3-glukanázy jsou koordinovaně exprimovány spolu s chitinázami po houbové infekci. Tato koindukce dvou hydrolytických enzymů byla popsána v mnoha rostlinných druzích, včetně hrachu, fazole, rajčat, tabáku, kukuřice, sóji, bramboru a pšenice (Ebrahim et al. 2011).

3.5.4. Syntetické regulátory růstu

Výzkum syntetických regulátorů růstů, zejména auxinu a cytokininu prokázal, že mají velké množství biologicky aktivních látek podobných přírodním auxinům a cytokininům. Tyto regulátory se ovšem v zemědělství nepoužívají (Procházka et al. 1998). Dle Šebánka et al. (1983) byly používány syntetické auxiny jako herbicidy. Dnes se používají nejčastěji retardanty, které potlačují prodlužovací růst rostlin (Taiz & Zeiger 2002).

- **Regulátory blokující syntézu kaurenu**

V současné době se na území Česka používá pouze chlormequat-chlorid (CCC). Ten je řazen do skupiny inhibitorů biosyntézy giberelinů (Kutina 1988). Nepřímo v interakci s gibereliny ovlivňuje aktivitu IAA-oxidázy. Přípravek slouží ke snížení apikální dominance, brzdí klíčení semen a mění závislost mezi lodyžním a kořenovým systémem. CCC zvyšuje tvorbu chlorofylu a karotenu. Fytotoxicita z předávkování se projevuje chlorózami a nekrózami na listech. Při nízké koncentraci může dojít k opačnému účinku, tj. prodlužovacímu růstu stébla (Šebánek et al. 1983). Hebblethwaite (1987) referoval o průkazném zvýšení výnosu obilek jílku vytrvalého po aplikaci CCC v důsledku snížení mortality plodných odnoží. Heide (1994) uvádí, že aplikace inhibitorů biosyntézy giberelinů (např. chlormequat-chlorid), které významně redukuje růst stébel, zároveň zvyšuje indukci kvetení, zvláště za hraničních podmínek pro indukci. Hebblethwaite a Burbidge (1975) sledovali vliv retardantů Maleic hydrazidu (MH) a CCC na poléhání a výnos obilek jílku vytrvalého. Retardant MH statisticky průkazně snižoval délku stébel a omezil poléhání jílku, ale rovněž snížil výnos obilek a měl negativní vliv na výnosotvorné prvky a klíčivost obilek. Chlormequat-chlorid měl nižší vliv na zkrácení délky stébel a poléhání, ale ve dvou ze tří pokusných let zvýšil výnos obilek, převážně v důsledku zvýšení počtu fertálních stébel (nižší mortality) a vyššího počtu obilek v kláscích. Chlormequat-chlorid neovlivnil klíčivost obilek. Kutina (1988) referuje o možnostech použití retardantů na bázi maleic hydrazidu (Malzid a MH 30) pro retardaci růstu trav v okrasných trávnících a na silničních náspech. Přípravky doporučuje aplikovat v dávce 10 l.ha⁻¹ v kombinaci s 12,5 l.ha⁻¹ přípravku CF 125 (chlorflurenolmethyl).

- **Regulátory blokující oxidaci kaurenu**

Mezi tyto regulátory je řazen paclobutrazol a flurprimidol (Hampton a Hebblethwaite 1985). Tyto regulátory byly testovány na různé druhy travin, jako např. jílek vytrvalý, srha laločnatá, kostřava červená a jiné. Paclobutrazol viditelně zvyšuje výnos obilek, způsobuje nižší růst a oddaluje stárnutí listů. Obě látky snižují délku stébla a redukují poléhání (Hampton et al. 1987). Vliv paclobutrazolu ovlivňuje průběh počasí. Sucho a vysoké teploty přípravku neprospívají (Sicard 1987). Wiltshire et al. (1987) uvedli, že testovali přípravek RSW0411, který je strukturálně podobný paclobutrazolu, ovšem má nižší perzistenci v půdě. Testován byl taktéž regulátor ancymidol, který zvyšoval počet obilek na jednotku plochy, avšak jeho účinek byl krátkodobý, a tak byla potřeba opakovaná aplikace (Hebblethwaite 1987). Paclobutrazol v kombinaci s mefuididem se projevil jako účinný retardant růstu u různých druhů kostřav (Johnston et Faulkner 1985). Nicméně v experimentech, které zdokumentovali Chaney et Bai (2004), vyšlo, že nízké dávky těchto regulátorů růstu mohou naopak stimulovat dlouhivý růst rostlin.

- **Regulátory inhibující transformaci neaktivních forem GA na aktivní formy**

V posledních letech se studie věnovaly použití retardantů růstu ze skupiny cyclohexandionů, především trinexapac-ethylu (TE) a prohexadione-calcia. Trinexapac-ethyl je schopen v ošetřených rostlinách inhibovat činnost enzymu 3- β hydroxyláza, čímž došlo k omezení prodlužovacího růstu a zesílila se stěna stébla (Rademacher 2000). Dále bylo zjištěno, že zkracuje délku internodií, výšku rostliny a zvyšuje růst kořenů (Vokřál 2006). Dle Heckmana et al. (2002) napomáhá překonávat stres způsobený vysokými teplotami.

3.6. Necílové organismy

Lidé běžně používají chemikálie pro řízení agroekosystémů. Pokud tyto chemikálie ovlivňují chování nebo přežití necílových členovců, potravinový pás může být změněn nezamýšleným způsobem (Evans et al. 2010). Posouzení ekologických rizik pesticidů vyžaduje údaje o jejich toxicitě pro vodní a suchozemské necílové druhy (Pereira et al. 2009).

V téměř polovině 20. století došlo k enormnímu zvýšení užívání chemických herbicidů díky nákladnosti agrotechnických prací a nedostatku pracovní síly. Využívaly se především herbicidy na bázi arsenu, jež byly díky své toxicitě od roku 1961 zakázány. Dlouhodobé užívání

arsenových sloučenin způsobilo nahromadění jejich reziduí v půdě (Nikonorow et al. 1983). Rozsáhlé a nevhodné používání pesticidů pro zvýšené výnosy plodin nese neblahé následky díky snadné dostupnosti a je tak významné pro znečištění povrchových i podzemních vod, ovzduší a půdy. Pesticidy se postřikem dostanou do půdy, pokud nejsou zachyceny listy (Rasul et al. 2001).

3.6.1. Necílové vodní organismy

Pesticidy znečišťují vody a vodní toky průsakem z půdy, spadem z ovzduší, průmyslových odpadů a odpadních vod, úložných prostor pesticidů nebo přímou aplikací do vody (Nikonorow et al. 1983). Pokud se pesticidy vyberou moudře, používají se v kombinaci s jinými opatřeními na hubení škůdců a bezpečně se používají, lze zabránit znečištění povrchových vod a kontaminaci vodního života (Helfrich et al. 2009). Pesticidy se z vodního prostředí odbourávají cestou chemickou, fyzikální i biologickou. Podle toxikologických testů lze říci, že se pesticidy těžko a velmi těžko rozpustné ve vodě vyskytují více a jsou méně odbouratelné v tvrdé vodě, což je dáno vyšším obsahem hořčíku a vápníku, kdy nedochází k vzájemné reakci, detoxikaci a odbourání (Nikonorow et al. 1983).

Postřik herbicidy může také snížit reprodukční úspěch ryb a vodních živočichů. Mělká a bahnitá místa pro mnoho druhů ryb poskytují hojnou potravu a úkryt pro mladé ryby. Postřik herbicidů v blízkosti vodních toků, kvůli plevelům může snížit množství krytu a přístřeší, které mladé ryby potřebují, aby se schovávaly před dravci a krmily se. Většina mladých ryb je ve svých školkách závislá na vodních rostlinách (Helfrich et al. 2009).

Pyretroidy, zejména syntetické, jsou nejtoxičtější skupinou insekticidů pro ryby a vodní bezobratlé. Měly by být používány s maximální opatrností v blízkosti vodních toků. Mnoho insekticidů z řad organofosfátů a karbamátů je pro ryby a volně žijící zvířata velmi nebezpečné. Organofosfáty mohou být toxické pro ryby, žáby, pulce a ropuchy na úrovni, která představuje nebezpečí pro jejich predátory. Jsou rozpustné ve vodě a rychle metabolizovány. Obecně mají krátkou perzistenci (poločasy dnů až měsíců) a jejich rezidua nepředstavují pro vodní živočichy dlouhodobé problémy. Na rozdíl od toho se ekosystémové dopady starších organochloridových pesticidů, jako je DDT, staly zřejmými a vedly k zákazu těchto sloučenin v mnoha částech světa pro zemědělské účely (FAO 1996). Insekticid karbofuran je extrémně toxický pro volně žijící zvířata a ryby. Některé biologické insekticidy jsou méně nebezpečné pro ryby a ostatní vodní živočichy, protože mnoho cílí na specifický hmyz (úzké spektrum). Zahrnují mikrobiální látky a regulátory růstu hmyzu, jako například bakterie *Bacillus thuringiensis*, která způsobuje

onemocnění u některých druhů hmyzu, ale nepoškozují jiná zvířata nebo rostliny (Helfrich et al. 2009).

Fungicidy, stejně jako jsou herbicidy, nejsou obecně pro ryby a vodní živočichy tak toxické jako insekticidy. Některé v současnosti registrované fungicidy jsou však extrémně toxické pro vodní organismy, jiné zase jedovaté pro prospěšné bezobratlé půdy. Jejich použití by se mělo zabránit nebo je třeba pečlivě řídit v blízkosti vodních systémů (Helfrich et al. 2009). Ochrana vodních organismů spočívá v ochranné vzdálenosti od vodního toku, na svažitém pozemku nad 3° je použití pesticidů vyloučeno nebo je možné jen při dodržení ochranné vzdálenosti, která je předem předepsána, stejně tak jako při možné kontaminaci úletem. Pokud se používají mořidla a granule, je třeba též dodržet neoseté či neošetřené pásmo od povrchové vody (Klašková 2012).

3.6.2. Rostliny jako necílové organismy

Rostlinné druhy, které jsou neúmyslně vystaveny pesticidům, se považují za necílové rostliny. Necílové účinky jsou jakékoli přímé nebo nepřímé účinky, které způsobují významnou změnu v přežití, zdraví nebo rozmnožování necílových druhů rostlin nebo způsobují změnu rostlin (druhovú bohatost). Necílové rostlinné účinky zahrnují řadu příznaků, včetně vegetativních změn růstu, odumírání rostlin, změněná rozmnožovací schopnost, které obecně mohou mít za následek sníženou kondici a škodlivé ekonomické nebo ekologické dopady. Změněná náchylnost k nemoci cílové nebo necílové rostliny může být také jedním z nezamýšlených účinků herbicidů (Altman 1993). Zemědělské plodiny mohou být vystaveny necílovým účinkům různými neúmyslnými expozičními mechanismy, včetně nehod, lokálních driftů ze sousedních polí, vzdušným driftem, povrchovou či podzemní vodou, větrem, půdou a přenosem z předchozích plodin. Páry získané odpařováním pesticidu z postřiku kombinované s deštěm mohou také přispět k necílovému působení (Marrs et al. 1989, 1991, 1993; Obrigawitch et al. 1998). Voda a vítr mohou přenášet pesticidy na velké vzdálenosti. Během tohoto přenosu mohou být pesticidy měněny fyzicky, chemicky i biologicky. Pesticidy unášené větrem mohou být přeneseny na jinou suchozemskou nebo vodní vegetaci. Díky slunečnímu záření, mikrobiálním účinkům nebo rostlinným enzymům mohou být dále transformovány a degradovány. Přes vodu pak do rostlin vstupují do rostlin a během transpirace proudí rostlinou. Těkavé pesticidy se pak z listů a stonků mohou dostat do atmosféry (Karthikeyan et al. 2004). Wullf et al. (2019) uvedli, že byly provedeny testy, které prokázaly, že vliv neonikotinoidů má

vliv na transkriptom sóji, kdy geny, jež slouží k obraně před patogeny a škůdci, byly potlačeny a také došlo k pozměnění hormonů růstu rostliny.

3.6.3. Ptáci, obratlovci a další necíloví živočichové

Vědci od poloviny dvacátých let 20. století zaznamenali vážný pokles počtu opylovacích druhů po celém světě (Walker & Wu 2017). Jako opylující ptáci jsou známi kolibříci, kystráčekovití a strdimilovití ptáci s dlouhými zobáky, kteří opylují řadu hlubokých květů (Klein et al. 2007). Rachel Carson psala již v roce 1962 o *Tichém jaru*, které bylo prvním pokusem varovat svět, že pesticidy přispívají k „náhlému umlčení písni ptáků“. Ruud Foppen, ornitolog v Sovon a spoluautor časopisu *Nature* řekl, že zatímco Rachel Carson bojovala proti organochloridům jako je DDT a organofosfátům, účinky dalších látek, které vidí v terénu, jsou téměř stejné. Nizozemští vědci tvrdí, že neonikotinoidy negativně ovlivňují populace ptáků a poškozují biologickou rozmanitost (Bittel 2014). V roce 2014 Casper A. Hallmann z Radboud University v Nizozemí zjistil, že v oblastech, kde byla vyšší hladina neonikotinoidů ve vodě, bylo méně hmyzožravých ptáků (Le Page 2019).

Podle Cox (1991) jsou pro ptáky nejškodlivější organochloridy, z řad organofosfátů diazinony, isofenfos a chlorpyrifos, parathion, DDT; z karbamátů pak karbaryl a granulární přípravky s účinnými látkami aldicarb, karbofuran a bendiocarb; z herbicidních přípravků dinitrofenolový herbicid, paraquat, DNOC (dinitro-o-kresol), který je také používán jako insekticid, fungicid a defoliant a je pro ptáky mírně toxický.

Pesticidy se širokým spektrem mohou také ptákům ubližovat nebo je zabíjet tím, že je připraví o obvyklý zdroj potravy. Například syntetické pyretridy (skupina s relativně nízkou akutní toxicitou pro ptáky) mohou zničit jejich zásoby potravy. Obzvláště zranitelní jsou vodní ptáci, kteří se živí vodním hmyzem (Henny et al. 1985). Jediným způsobem, jak eliminovat účinky pesticidů na ptáky, je použití nechemických technik (Cox 1991). V případě mořeného osiva či sadby je potřeba úplné zapravení do půdy (Klašková 2012).

Mezi opylovače řadíme nejen včely (včely medonosné a samotářky, čmeláky), ale i vosy, mravence, mouchy, pestřenky, komáry, motýly a brouky. Z obratlovců pak zejména netopýry a ptáky, ale i opice, lemury, hlodavce a některé ještěrky (Klein et al. 2007). Rizika a vliv pesticidů na opylovače závisí na toxicitě účinné látky a úrovni expozice (Evropská komise 2018). Moderní zemědělské metody značně zhoršily problémy s otravou a opylením včel (Johansen 1977). Právě z těchto důvodů bylo omezeno používání neonikotinoidů kvůli zdraví

včel (Kubátová-Hiršová 2014). U účinné látky tau-fluvalinát ze skupiny pyretroidů používaná k ochraně včel před roztočem *Varroa*, na kterou včely vykazovaly větší odolnost než samotný roztoč, vznikla časem rezistence, a proto musejí být u rezistentních populací nahrazeny jinými přípravky (Kamler et al. 2016; Stará et al. 2019).

3.6.4. Necílové půdní organismy

Pesticid má širokou škálu dopadů na člověka a jiné živé bytosti. Přímé dopady jsou na půdní mikroorganismy, na které působí v různých výživových cyklech (Jan et al. 2001; Cycon et al. 2006). Kromě toho má většina pesticidů, zejména organochlorových pesticidů, bioakumulační kapacitu (Ebadí & Shokrzadeh 2006). V půdě se nachází řada mikroorganismů a bezobratlých, kteří se podílejí na procesu rozkladu a cyklu živin (Swift et al. 1979). Například žížaly jsou vystaveny výrazným dlouhodobým účinkům fungicidů a insekticidů, ale herbicidy (včetně glyfosátu) na ně mají omezené nebo žádné účinky (FAO & ITPS 2017).

Podle Ruska (2000) dělíme půdní edafon na dvě základní složky:

- fytoedafon zahrnující bakterie, aktinomycety, houby, řasy
- zooedafon zahrnující prvoky, bezobratlé a obratlovce

Podle velikosti pak tyto složky dělíme dle následujících zdrojů na:

- mikroedafon - prvoci, vířníci, drobné ploštěnky, hlístice, želvušky (Schlaghamerský 2013)
- mezoedafon - roupice, drobní kroužkovci, roztoči, stonožky, drobnušky, plazivky, chvostoskoci, hmyzenky, vidličnatky, chvostnatky, rybenky, stejnonožci (Menta 2012)
- makroedafon – žížaly, ploštěnci, stonožky, mnohonožky (Schlaghamerský 2013), pavouci, plži (Rejšek et al. 2006)
- megaedafon – bezobratlí, půdní obratlovci (Schlaghamerský 2013)

3.6.4.1. Členovci

Členovci jsou důležitou skupinou makroorganismů, kteří pracují na udržování půdní biomasy, trofických řetězců a druhové rozmanitosti (Schoonhoven et al. 2005). Insekticidy mohou ovlivňovat prospěšné členovce, což by mohlo mít za následek vážné environmentální

problémy, jako je sekundární ohnisko škůdců a rezistence (Siqueira et al. 2000; Frago et al. 2002). Kromě toho, protože postřik insekticidy zasahuje do půdy a ovlivňuje prospěšné členovce, mohou mít negativní účinky na úrodnost půdy (Badji et al. 2007).

De Barros et al. (2015) uvádějí, že negativní účinky insekticidů na necílové skupiny členovců byly hlášeny v relativně malém počtu studií a bylo zjištěno, že insekticidy mají obecně nepříznivé účinky na frekvence členovců. Ve své studii pak publikuje, že celkově insekticidy měly zjevné dopady na četnost druhů členovců, bohatost, rozmanitost a relativní hojnost. Insekticidy zasáhly populace vysoké i nízké hustoty. Tyto účinky byly dostatečně drastické k tomu, aby z ošetřovaných ploch byly odstraněny celé taxony.

3.6.4.2. Chvostokoci

V literatuře byl široce diskutován xenobiotický účinek na detritovorovou skupinu členovců, včetně chvostokoků. Několik autorů uvedlo škodlivé účinky těchto insekticidů na tuto skupinu (Stark 1992; Frampton 1999; Araújo et al. 2004; Badji et al. 2007). Tato pozorování naznačují, že chvostokoci jsou vysoce citliví na účinky těchto insekticidů (de Barros et al. 2015).

Chvostokoci jsou drobní kosmopolitní členovci o velikosti cca 1-3 mm, jejichž taxonomické zařazení je uvedeno níže. Na světě existuje cca 9000 popsanych druhů. Již z období devonu jsou známé záznamy o fosiliích tohoto řádu (Bellinger et al. 2018). V mírném klimatickém pásu žijí chvostokoci v půdě nebo na jejím povrchu, v opadaném listí, humusu a aktivně se podílejí na komplexních humifikačních procesech (Zettel & Zettelová 1997). Jsou tak velmi významnými půdotvornými činiteli (Delsuc et al. 2003). O chvostokocích je známo, že se živí houbami (Ponge 1991), bakteriemi, pylem, rostlinnými zbytky, řasami (Scheu 2002) a kořeny rostlin (Gunn & Cherrett 1993). V půdách nenarušovaných antropogenní činností dosahují až 200 000 jedinců/m². Mají vliv na půdní mikroorganismy, zejména houby a udržují jejich diverzitu (Nardi et al. 2003). Chvostokoky lze rozdělit do čtyř základních skupin a to:

- *Poduromorpha* (mákovky)
- *Entomobryomorpha* (volnočlenky)
- *Symphyleona* (srostločlenky)
- *Neelipneona* (zrněnky)

Morfologie se na základě těchto skupin liší, ovšem mezi jejich společné znaky patří hydrofobní pokožka, ústní ústrojí uložené uvnitř hlavy, čtyřčlanková tykadla, tři páry nohou připojené ke třem hrudním a šesti břišním článkům. Na zadečku se pak u skákacích forem nachází skákací aparát tvořený skákací vidlicí – furkou a záchytkou (Bellinger et al. 2018).

Chvostoskoci (zejména *Folsomia candida*) (Domene et al. 2007) a roztoči se využívají též jako modelové organismy při ekotoxikologických testech k registraci pesticidů (Evropská komise 2011) a znečišťujících látek na necílové bezobratlé půdní živočichy (Hopkin 1997).

3.6.4.2.1. *Folsomia candida*

Taxonomické zařazení (*F. candida* Willem, 1902):

Kmen: *Arthropoda* (členovci)

Podkmen: *Hexapoda* (šestinozi)

Třída: *Entognatha* (skrytočelistní)

Řád: *Collembola* (chvostoskoci)

Podřád: *Entomobryomorpha*

Nadčeleď: *Isotomidea*

Čeleď: *Isotomidae* (poskokovití)

Podčeleď: *Proisotominae*

Rod: *Folsomia*

Druh *F. candida* má nepigmentované, bílé až jemně žluté štíhlé tělo, dorůstající do 3 mm. Tělo je složeno ze tří částí. Hlava nese pár čtyřčlankových tykadel, ale bez očí (Fountain & Hopkin 2005). K detekci světla slouží podle Foxe et al. (2007) interní fotoreceptory nebo jiné fotosenzitivní struktury. Dorsální část prvního hrudního článku se skládá ze zadních tří článků, které nesou páry končetin. Na ventrální straně zadečku se nachází furka, která se používá při skákání. Podle počtu štětin na tomto orgánu se rozlišují od sebe jednotlivé druhy tohoto rodu (Fountain & Hopkin 2005). Chvostoskoci jsou všežravci a žijí se převážně půdními bakteriemi, mrtvými rostlinnými pletivy nebo kuklami či larvami hmyzu (Kočí & Mocová 2009).

Populace *F. candida* obsahují výlučně samičí pohlaví a reprodukuje se partenogeneticky (Environment Canada 2007). Krogh (2009) však potvrdil objev Frati et al. (2004), že samci

skutečně existují, jen jsou menšího vzrůstu (do 1,25 mm) a objevují se teprve když je samice v osmém až desátém instaru a naklade 10 000 vajíček. Jestliže je samice ještě staršího instaru, objevuje se samec po naklazení 1000 vajíček.

Mezinárodní organizace pro normy navrhla soubor pokynů pro použití tohoto druhu jako „standardního organismu“ k hodnocení kvality znečištění půd (ISO 1999). Byl také navržen jako bioindikátor kvality půdy v lesích (Kaneda & Kaneko 2002) a zemědělské půdy (Nelson et al. 2011).

3.6.4.3. Mikroorganismy jako symbionti

Mikroorganismy žijící v symbióze se zvířaty jsou důvěrně spojené s prakticky všemi aspekty života jejich hostitelů, od raného vývoje po dlouhodobé přizpůsobení a vývoj (Zilber-Rosenberg & Rosenberg 2008; McFall-Ngai et al. 2013). Mikrobiální symbionti jsou zásadní pro blaho mnoha lidí i hmyzu a přispívají tak k jejich výživě (Warnecke et al. 2007; Engel & Moran 2012), ochraně proti patogenům (Behar, Yuval a Jurkevitch 2008; Teixeira et al. 2008) a jiným důležitým funkcím (Moran & Jarvik 2010).

Členovci, do jejichž skupiny patří chvostoskoci, se nacházejí v oblastech s vysokou vlhkostí po celém světě a jsou velmi hojné v půdách a smetí, kde se živí zbytky a mikroorganismy (Thimm et al. 1998). *F. candida* je specifickou bakteriální komunitou, která se liší od ostatních chvostoskoků selektivními faktory, jako jsou potravinové preference a přítomnost specifických střevních metabolitů (Czarnetzki & Tebbe 2004b). Střevo *F. candida* bylo popsáno jako selektivní stanoviště pro mikroby (Thimm et al. 1998).

3.6.4.3.1. *Wolbachia* spp.

Tento rod poprvé identifikovali v roce 1924 Marshall Hertig a Simeon Burt Wolbach u komára. Hertig formálně popsal druh v roce 1936 jako *Wolbachia pipientis* (Hertig & Wolbach 1924). *Wolbachia* spp. jsou cytoplazmatické alfa-proteobakterie (Werren et al. 1995). Patří mezi nejrozšířenější obligátní endosymbiotické gramnegativní bakterie (McGraw & O'Neill 2004; Taylor et al. 2018). Výzkum *Wolbachia* ukázal, že infekce touto bakterií jsou extrémně rozšířené mezi členovci (Bourtzis & O'Neill 1998). Tyto bakterie jsou spojeny s reprodukčními změnami v jejich hostitelích, včetně partenogeneze, reprodukční nekompatibility a feminizace (Werren et al. 1995; Lom 1995). *Wolbachia* byla rozdělena do šesti superskupin (A až F), z nichž *Wolbachia* z *F. candida* (*w* Can) byla definována jako člen superskupiny E na základě sekvencí *16S rDNA* a *ftsZ* genů (Li a Fallon, 2015). Další výzkumy ale ukázaly, že nyní je

známo 16 divergentních linií A-Q, přičemž superskupina G byla vyřazena, neboť byla rekombinantní (Taylor et al. 2018). Jedna studie dospěla k závěru, že více než 16 % neotropických druhů hmyzu nese bakterie tohoto rodu (Werren et al. 1995) a odhaduje se, že 25 až 70 % všech druhů hmyzu jsou potenciálními hostiteli (Kozek & Rao 2007).

3.6.4.3.2. *Folsomia candida* a symbiotismus s *Wolbachia* spp.

Většina populací *F. candida* je infikována bakteriálním endosymbiontem *Wolbachia pipientis*. Endosymbionti jsou spojeni hlavně s mozgovými a vaječnickovými tkáněmi (Czarnetzki & Tebbe 2004a). *F. candida* se obvykle rozmnožuje partenogenezí, která je obecně považována za důsledek infekce právě touto bakterií *Wolbachia* (Li & Fallon 2015).

3.6.4.4. Mikroorganismy a syntéza vitamínů B2 a B7

Biotin (vitamin H) je jedním z nejvíce fascinujících kofaktorů podílejících se na centrálních drahách metabolismu prokaryotických a eukaryotických buněk. Od svého původního objevu v roce 1901 vedl výzkum k objevu úplných biosyntetických biotinových cest v mnoha různých mikrobech a bylo provedeno mnoho práce na vysoce zajímavé a komplexní biochemii biosyntézy biotinu. Zatímco lidé a zvířata vyžadují několik stovek mikrogramů biotinu denně, zdá se, že většina mikrobů, rostlin a hub je schopna syntetizovat samotný kofaktor (Streit & Entcheva 2003).

Biochemický význam riboflavinu (vitamín G) spočívá v navázání na kyselinu fosforečnou či jinou látku, společně tak vytváří koenzym a podílí se na dýchacích pochodech v buňce. Existují mikroorganismy, které jej nedokáží syntetizovat, ale musí ho přijímat v potravě (především bakterie mléčného kvašení). Větší skupinou jsou mikroorganismy, které si riboflavin umí vyrobit samy z jednoduchých látek. Bylo ovšem zjištěno, že produkce riboflavinu ovlivňuje růst mikroorganismu, teda že čím vyšší je jeho produkce, tím více je potlačen růst, a že optimální podmínky jeho tvorby se neshodují s optimálními podmínkami růstu a vývoje (Kaprálek 1954).

3.6.4.4.1. *Wolbachia* spp. a syntéza vitamínů

Endosymbiotismus hmyzu a bakterií je znám po celém světě. Členové rodu *Wolbachia* jsou dobře známí jako fakultativní bakteriální endosymbionti, kteří jsou všudypřítomně spojeni s různými druhy hmyzu. Ukázalo se, že roztoč *Cimex lectularius*, označovaný jako wCle, je nezbytný pro normální růst a reprodukci svého hostitele (Hosokawa 2010). Biotin zajišťovaný

touto bakterií významně přispívá ke kondici roztoče a odkrývá evoluční přechod od fakultativní symbiózy k závazku vzájemného vztahu, jenž je usnadněn laterálním přenosem genů v endosymbiotické linii (Nikoh et al. 2014). Jedním z jeho hlavních příkladů jsou právě tyto symbiotické bakterie, které jsou vzájemně propojeny se svými mnohobuněčnými hostiteli (Moran & Baumann 2000). Stupeň asociace a typ vzájemného ovlivňování se však může lišit mezi páry bakterií a hostiteli a závisí na celkovém prostředí a komunitě (Mushegian & Ebert 2016).

Bakterie *Wolbachia* jsou významným příkladem převážně vertikálně přenášených intracelulárních endosymbiontů. V různých hostitelích se podílejí na cestě syntézy hemu (Strübing et al. 2010), v poskytování ATP (Darby et al. 2012) či jsou klíčové pro metabolismus železa hostitele (Brown et al. 2016) a poskytování riboflavinu (Foster et al. 2005). Autoři Nikoh et al. (2014) došli k závěru, že při výrobě biotinu v *Cimex japonicus* je přítomnost *Wolbachia* dysfunkční, ale navrhli, že jeho původ leží ve společném předku dvou druhů *Cimex*. Na rozdíl od laterálně získaných biotinových genů je cesta pro riboflavin poskytovaná společnému roztoči zachována a je homologní napříč všemi dosud studovanými hostiteli. Běžní roztoči jsou však jedinými členovci, o kterých je známo, že jim je poskytován riboflavin produkovaným *Wolbachia* (Moriyama et al. 2015). Endosymbiotické bakterie rodu *Wolbachia* představují nejúspěšnější symbiotické bakterie v suchozemském ekosystému. Úspěch *Wolbachia* byl připisován jeho pozoruhodným fenotypovým účinkům na reprodukci hostitele, jako je cytoplazmatická nekompatibilita, kdy se mateřské dědičné bakterie mohou šířit v hostitelské populaci na úkor jejich zdraví (Balvín et al. 2018).

Při pokusech s chovem roztočů (*Cimex lectularius*), při nichž se manipulovalo s obsahem vitamínu B, bylo prokázáno, že zásobování *Wolbachia* riboflavinem významně přispívá k růstu, přežití a reprodukci svých hostitelů. Tyto výsledky poskytují fyziologický základ, na kterém se projevují pozitivní kondiční důsledky zprostředkované *Wolbachia* a vrhají nové světlo na ekologický a evoluční význam infekcí *Wolbachia*. Některé teorie předpokládají, že *Wolbachia* může současně pozitivně ovlivnit tělesnou zdatnost hostitele (Moriyama et al. 2015).

3.6.4.4.2. Pesticidy a mikrobiom

Střevní mikrobiom je nezamýšleným příjemcem pesticidů (Liang et al. 2019; Yuan et al. 2019). Pozměněné střevní mikrobiomy jsou spojeny s dalšími nemocemi (Zhang et al. 2019; EHS 2020). Ku příkladu glyfosát může ovlivňovat bakteriální symbionty zvířat žijících

v blízkosti zemědělských lokalit, včetně včel. Ve střevní mikroflóře včely dominuje osm bakteriálních druhů, které podporují přírůstek hmotnosti a redukují citlivost patogenu. Hojnost dominantní střevní mikroflóry je u druhů včel vystavených glyfosátu snížena. Členové střevní mikroflóry včel se liší ve vnímavosti na glyfosát a do značné míry odpovídá tomu, zda vlastní enzym EPSPS třídy I (citliví na glyfosát) nebo třídy II (necitliví na glyfosát). Vystavení včel glyfosátu může potenciálně narušit jejich prospěšnou střevní mikroflóru, jež ovlivňuje zdraví včel. Vystavení včel glyfosátu mění bakteriální mikroflóru střev včel a zvyšuje náchylnost k infekci jinými patogeny (Motta et al. 2018). Dalším pesticidem, u něhož byl prokázán negativní účinek, je chlorpyrifos. V biotestech, které byly provedeny na myších, se ukázalo, že jeho příjem může podporovat obezitu a inzulínovou rezistenci prostřednictvím jeho vlivu na střeva a střevní mikrobiotu (Liang et al. 2019).

Protože bylo prokázáno, že imidakloprid mění fyziologii střev hmyzu (Stygar et al. 2013), mění mikrobiotu larev much (Daisley et al. 2017) a mění složení mikrobiálních komunit v půdě (Cycón et al. 2013), byl předpoklad, že expozice imidaklopridu by změnila střevní mikrobiotu včel. Ukázalo se, že imidakloprid ovlivňuje chování včel a jeho expozice vede ke zvýšené úmrtnosti včel medonosných a zvýšení náchylnosti k infekci oportunními patogeny. Raymann et al. (2018) ve svém výzkumu však nenašli důkazy, že imidakloprid ovlivňuje střevní mikrobiom včel medonosných. Předložili důkazy o tom, že imidakloprid může být metabolizován v prostředí včelích střev in vitro, ale protože je rychle vyloučen z včely, je nepravděpodobné, že by se to samé mohlo vyskytovat ve volné přírodě. Imidakloprid tedy způsobuje zvýšenou mortalitu včel, ale nezdá se, že by byl spojen s mikrobiomem, neboť žádné významné změny ve velikosti střevní bakteriální komunity nebo složení nebyly zjištěny.

3.7. Synergické účinky pesticidů

Schopnost chemických kombinací vyvolat koktejlový efekt byla potvrzena (University of Copenhagen 2017). Pokud se čelí obtížnému či složitému problému se škůdci, může být smícháno několik pesticidů společně v rámci jedné práce šetřící a nákladově efektivní léčby. Důvody těchto řešení zahrnují:

- poskytování lepší kontroly než kterýkoli ze samotných produktů
- zvětšení délky a spektra kontroly
- úspora peněz snížením práce a opotřebení zařízení (kvůli menšímu počtu aplikací).

Kombinace pesticidů obvykle mění absorpci a translokaci jednotlivých látek u rostlin (u herbicidů), metabolismus a toxicitu v místě aktivity jednoho nebo více smíchaných látek. V mnoha případech tyto směsi mohou zlepšit svůj účinek, ovšem ne všechny takové změny jsou k lepšímu. Proto nejsou žádoucí všechny kombinace pesticidů. Mohou se vyskytnout negativní účinky, jako je omezená ochrana proti škůdcům, zvýšené poškození (fytotoxicita) a problémy s nekompatibilitou (Grounds-mag 2019). EPA by měla zakázat tankové směsi na štítcích, pokud neexistují dostatečné informace prokazující, že nenastanou synergické účinky. Některé z nejčastějších kombinací složek způsobují synergické účinky a většina štítků s pesticidními produkty neomezuje smysluplně jejich koaplikaci (Housenger 2016). Interakce mezi chemikáliemi mohou v zásadě ovlivnit šest procesů, které jsou důležité pro výslednou toxicitu chemikálie vůči organismu. Jedná se o biologickou dostupnost, absorpci, vnitřní transport, metabolizaci, vazbu v cílovém místě a vylučování (Cedergreen 2014).

3.7.1. Synergické účinky pesticidů s kovy

Kombinace interakcí mezi xenobiotiky jsou velmi důležité (Oesch et al. 2014). Vzájemné působení těžkých kovů s pesticidy může mít vážnější dopad na lidské zdraví ve srovnání s jejich individuální účinky. Kombinace pesticidů s pesticidy, pesticidu s těžkým kovem a těžký kov s těžkým kovem působí synergicky a vykazují více toxicity než jediná molekula. Tyto kombinace mohou také změnit nebo ovlivnit detekci expozice. Několik studií v minulosti prokázalo synergické toxické účinky těžkých kovů a pesticidů a odhalilo synergické interakce různých těžkých kovů a pesticidů u zvířat stejně jako u lidí (Singh et al. 2017). Mezi nejtoxičtější prvky jsou zařazovány arzen (As), kadmium (Cd), rtuť (Hg) a olovo (Pb) (Csavina et al. 2012; Sharma et al. 2014; Gupta et al. 2015). Dále se mezi ně řadí chrom, kobalt, nikl, měď, zinek, selen, stříbro, antimon a thalium (Sengupta 2002). Mohou způsobit vážné poškození životně důležitých orgánů, zejména reprodukčních systémů, nervového systému, gastrointestinálního traktu a slizniční tkáně (Sharma et al. 2014; Gupta et al. 2016). Mezi pesticidem a těžkým kovem může docházet k interakci, čímž může být ovlivněn účinek pesticidu anebo kovu pesticidem a může být odpovědná za kumulativní účinek obou xenobiotik. Dosud nebyla provedena žádná studie, která by toto objasňovala. Ukazuje se, jaké biologické riziko představuje kontaminace insekticidů s těžkými kovy pro člověka a environmentální prostředí (Chen et al., 2013; He et al. 2015). Například kombinované expozice chlorpyrifosem a kadmii snižují mitochondriální potenciál a indukované reaktivní druhy kyslíku (Xu et al. 2017).

Tabulka č. 2: Synergický efekt účinných látek s kovy dle Singh et al. 2017

	Synergická expozice	Efekt
1	kadmium a ethanol	zvýšení nrepinephirin v hypotalamu a středním mozku
2	kadmium a dimethoát	vliv na relativní přírůstek tělesné hmotnosti a relativní hmotnost jater
3	olovo a dimethoát	vliv na relativní přírůstek tělesné hmotnosti, relativní hmotnost jater, relativní hmotnost brzlíku a hodnotu MCV (střední objemový objem)
4	kadmium a dropoxur	změny imuno - a neurotoxikologických funkcí
5	kadmium a diazion	výrazná ztráta spermatogenního prvku, dezorganizace, semenný epitel chybějící zrání zárodečných buněk
6	rtuť a dimethoát	změna přírůstku tělesné hmotnosti, relativní hmotnosti jater a ledvin PFC
7	arzen a dimethoát	změna relativní hmotnosti jater MCV a PFC ve slezině
8	nikl a chlorpyrifos	změna molekulárních otisků prstů
9	arzen a olovo	změny v centrálním monoaminergním systému neurotoxicita a cytotoxicita
10	rtuť a olovo	-

4. Materiál a metody

4.1. Chov modelového druhu chvostoskoka *F. candida*

Pro zhodnocení vlivu pesticidů byl modelovým druhem zvolen modelový druh chvostoskoka *F. candida*. V roce 2016 byl tento druh získán do chovů ve VÚRV. Tento druh pocházel z chovů a sbírek z Českých Budějovic od RNDr. Vladimíra Šustru, CSc.

F. candida je chován v plastových nádobách na černém dřevěném uhlí a vodě. Jako potrava slouží sušené kvasnice, které se přidávají podle potřeby po jednom až dvou týdnech. Tyto chovy jsou umístěny v klimaboxech bez světla při teplotě 18 °C ($\pm 0,1$ °C) a každý týden jsou kontrolovány.

4.1.1. Biotesty s chvostoskoky a metodika OECD

Metodika OECD popisuje postup testů chemických látek na chvostoskocích v půdě a je používána při registraci pesticidů v Evropské unii (Úřední věstník Evropské unie 2013). Podle metodiky má být k pokusům připravena modifikovaná půda s konkrétním obsahem rašeliny, kaolinu, písku, uhličitanu vápenatého a dalšími přesně definovanými složkami. Pokud je půda připravena, má být naváženo 30 g suché půdy do nádob ze skla nebo plastu (záleží na chemickém složení pesticidu). Příprava chemické látky se ve většině případů připravuje ve dvanácti koncentracích (minimálně dvě opakování) společně s kontrolou (minimálně šest opakování). Používají se čtyři metody aplikace chemické látky do půdy:

- smíchání s vodou
- smíchání s organickým rozpouštědlem
- smíchání s pískem
- aplikace chemické látky na povrch půdy.

Podle metodiky se během pokusu:

- udržuje teplota v rozmezí 20 ± 1 °C
- používá biosubstrát
- nastavuje poměr světla a tmy v poměru 16:8 hod
- do každé nádoby přidává 10 samic *F. candida* gestačního stáří 9 až 12 dní

Potrava ve formě kvasnic o gramáži 2 – 10 mg se přidává na počátku pokusu a během druhého týdne. Při ukončování pokusu jsou chvostoskoci vyplaveni z půdy a spočítáni. Pomocí

počítačových programů a zjištěných výsledků se pak určují hodnoty NOEC/LOEC, LC₅₀ a EC₅₀ (OECD 2009).

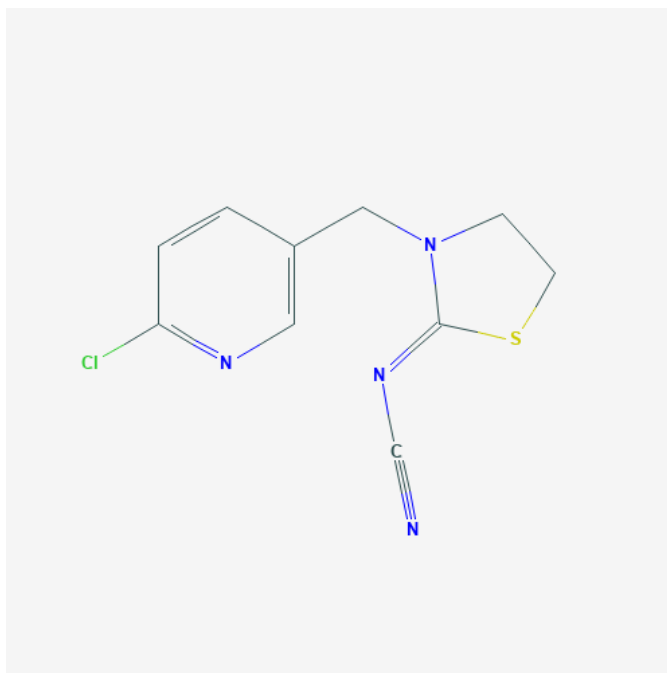
Během předchozích pokusů ve VÚRV v Ruzyni byly však tyto testy na chvostoskocích optimalizovány. Jednalo se hlavně o optimalizaci podmínek, ve kterých byly chvostoskoci testováni. Mikulová (2019) uvádí, že vyhodnocené vhodnější podmínky pro testy byly následující:

- teplota 18 °C (± 0,1 °C)
- minimální přístup světla
- použití zeminy ze starého sadu Výzkumného ústavu rostlinné výroby
- stáří chvostoskoků v posledním stádiu vývoje (mají stejnou velikost)

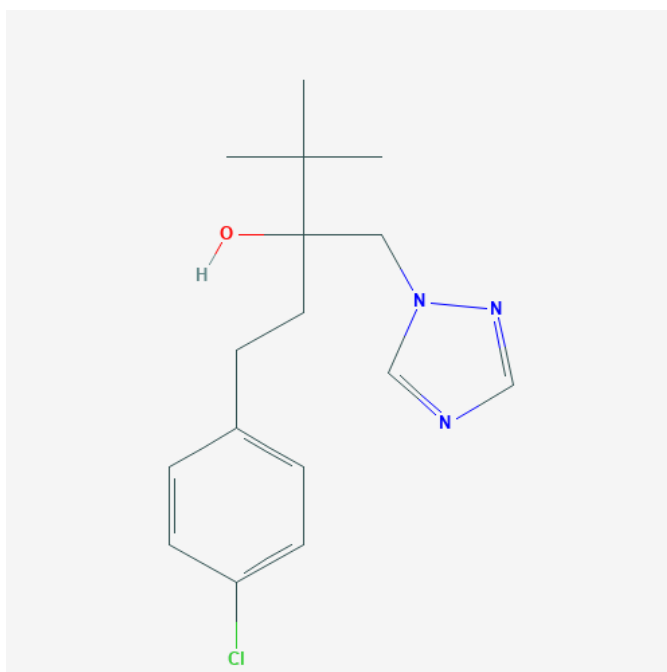
4.1.2. Přípravky používané v experimentech s chvostoskoky

Během pokusů byly používány tyto přípravky:

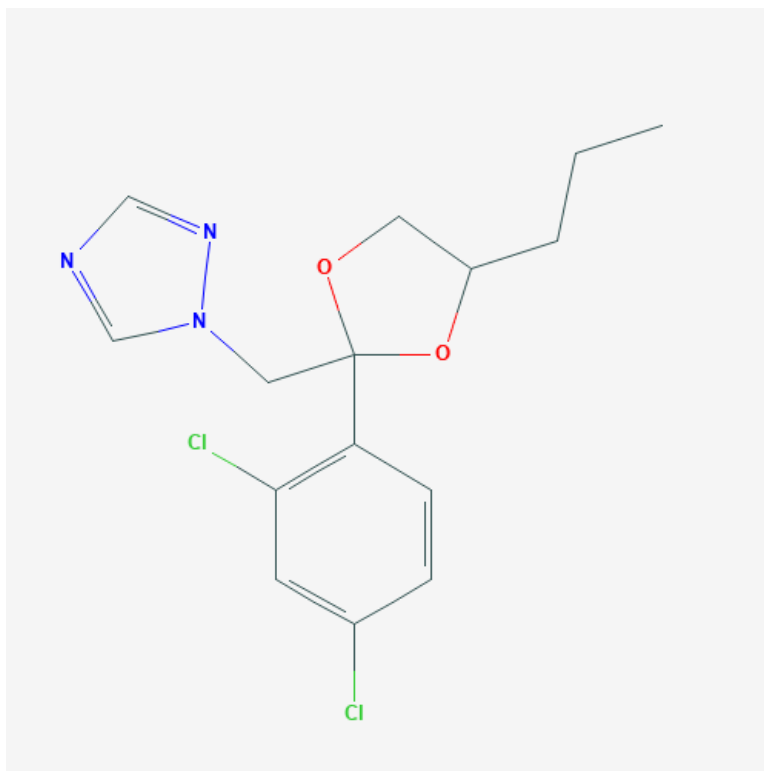
- Biscaya 240 OD (účinná látka thiaklopid; Bayer CropScience)
- Tilmor (účinná látka propikonazol, tebukonazol; Bayer CropScience)
- Atonik (účinná látka natrium-5-nitroguajakolát, natrium-2-nitrofenolát, natrium-4-nitrofenolát; Asahi Chemical Co.Ltd.)
- Vitamín B2 (Riboflavin; Sigma-Aldrich, katalogové číslo: PHR1054; čistota ≥98%)
- Vitamín B7 (Biotin; Sigma-Aldrich, katalogové číslo: B4501; čistota ≥99%)



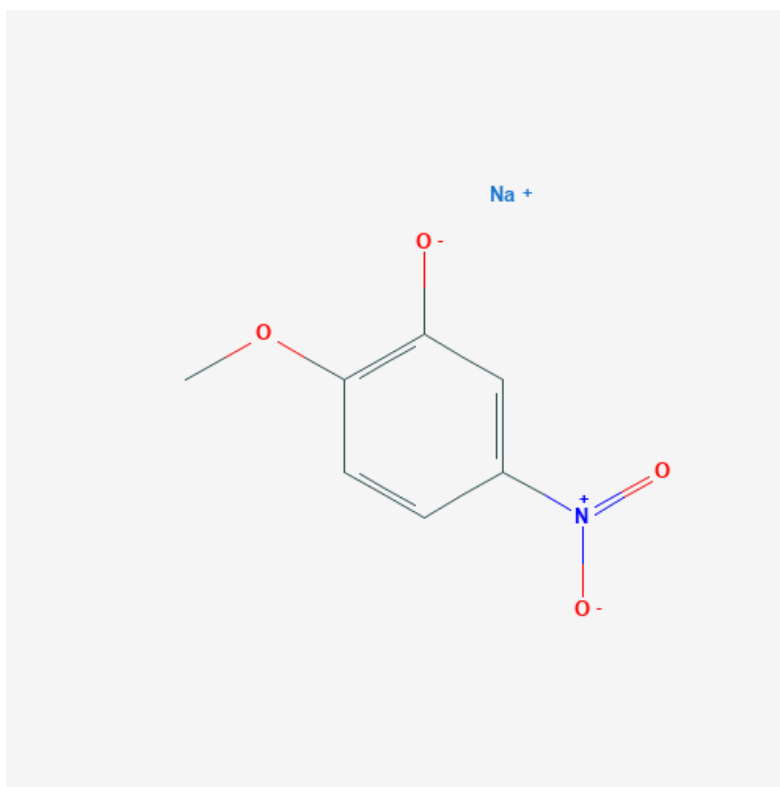
Obr. č. 5: Strukturní vzorec thiaklopridu (Pubchem 2020)



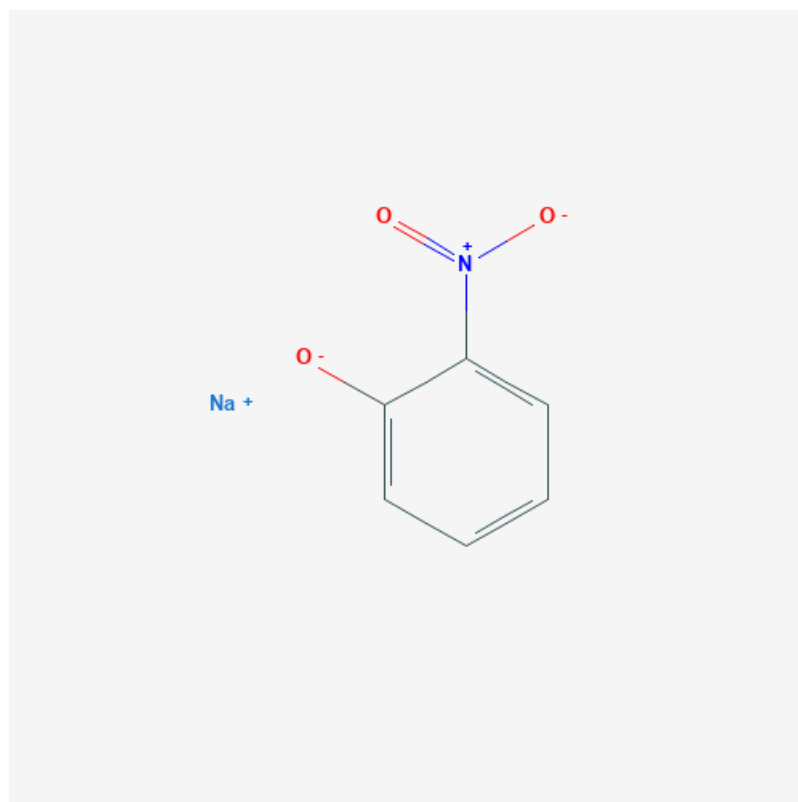
Obr. č. 6: Strukturní vzorec tebukonazolu (Pubchem 2020)



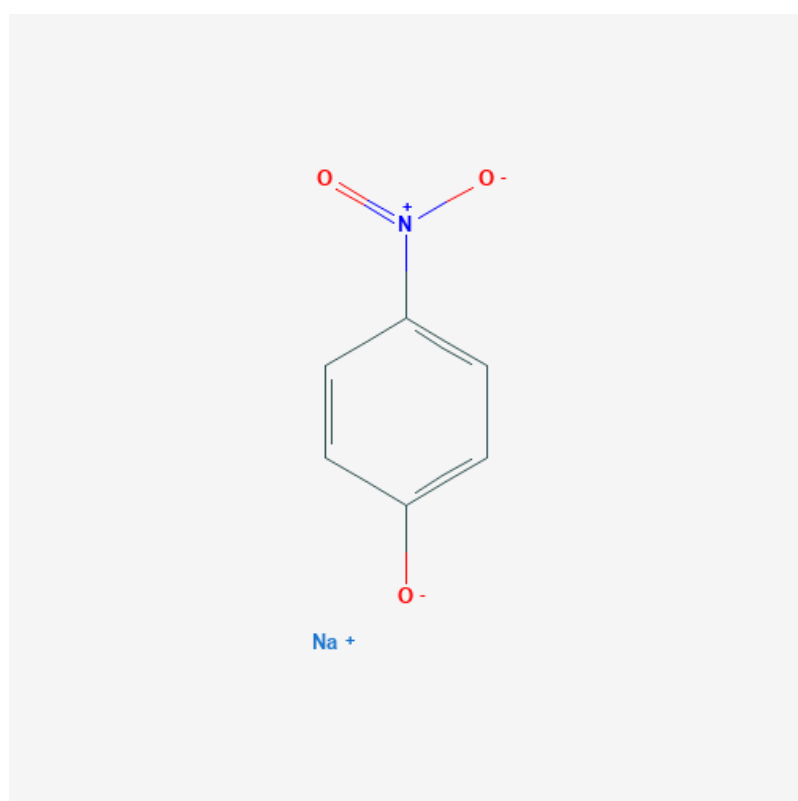
Obr. č. 7: Strukturní vzorec propikonazolu (Pubchem 2020)



Obr. č. 8: Strukturní vzorec natrium-5-nitroguajakolátu (Pubchem 2020)



Obr. č. 9: Strukturní vzorec 2-nitro-fenolátu (Pubchem 2020)



Obr. č. 10: Strukturní vzorec 4-nitro-fenolátu (Pubchem 2020)

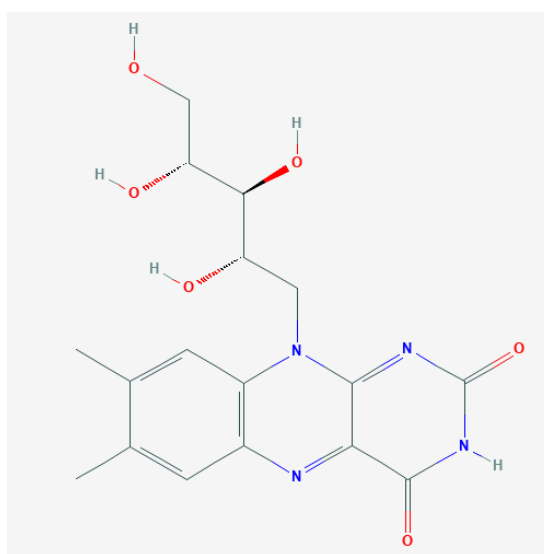
4.1.3. Použité nádoby a substrát

- skleněné kádinky 100 ml
- skleněné kádinky 500 ml
- zemina ze starého sadu, Praha 6- Ruzyně, Výzkumný ústav rostlinné výroby

Zemina použitá ze starého sadu ve VÚRV nebyla ošetřována řadu let pesticidními látkami. Pro kontrolu byla zemina verifikována na obsah reziduí v laboratořích v ALS Czech Republic. Analýza vzorků prokázala nepřítomnost nevhodných pesticidních látek a jejich následných metabolitů (viz tabulku č. 19).

4.1.4. Rozpustnost vitamínů

- **Riboflavin**

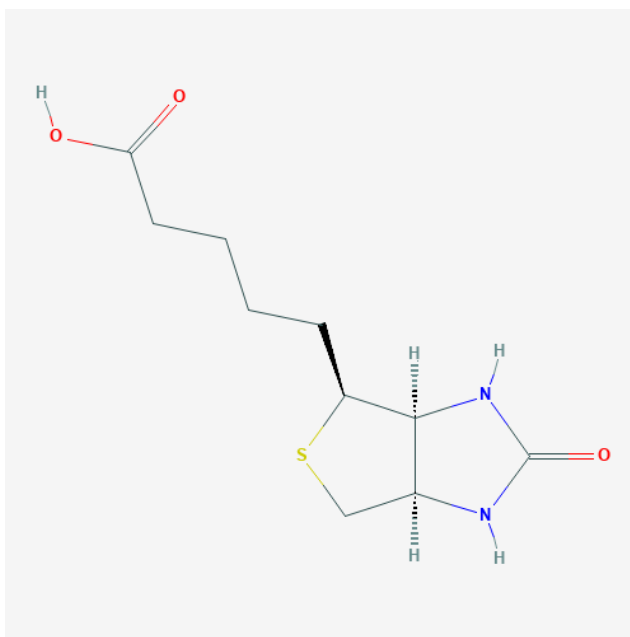


Obr. č. 11: Strukturní vzorec riboflavinu – vitamínu B2 (Pubchem 2020)

Tabulka č. 3: Chemické vlastnosti riboflavinu

molární množství	376,4 g/mol
rozpustnost a teplota	10 mg/100 ml v 25 °C

- **Biotin**



Obr. č. 12: Strukturní vzorec biotinu – vitamínu B7 (Pubchem 2020)

Tabulka č.4: Chemické vlastnosti biotinu

molární množství	244,31 g/mol
rozpustnost	220 mg/100 ml v 25 °C

Vycházelo se z předpokladu, že koncentrace obou vitamínů v roztoku musí být stejná. K vyjádření koncentrace bylo využito vzorce

$$n = m/M,$$

kdy $n=c$, tedy

$$c = n/V = m/M.$$

Po dosazení do vzorce vyšlo látkové množství a koncentrace $n = c = 0,02657$ mol/l. Do 1 litru nano vody se pak následně přidalo 10 mg riboflavinu a 6,49 g biotinu, které bylo řádně rozmícháno.

4.2. Experimenty účinku přípravků na ochranu rostlin

4.2.1. Pokus č. 1: Testování vlivu přípravků na ochranu rostlin (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich tank mixu) v půdě po dobu 4 týdnů

Cílem tohoto pokusu bylo zjistit vliv insekticidního přípravku Biscaya 240 OD (účinná látka thiaklopid; olejová disperze), fungicidu Tilmor (účinné látky tebukonazol a propikonazol; emulze), růstového regulátoru Atonik (účinné látky natrium-5-nitroguajakolát, natrium-2-nitrofenolát, natrium-4-nitrofenolát; rozpustný koncentrát) a jejich tank mixu na úmrtnost chvostoskoků. Koncentrace přípravků byla stanovena v nejnižší možné koncentraci, která je na polích prováděna. Koncentrace přípravků byla připravena v deseti opakováních. K pokusu byla současně založena kontrola, která byla provedena v devíti opakováních. Pokus trval po dobu čtyř týdnů ve třech různých časových úsecích (červenec, srpen a září 2019). K pokusu byla použita zemina ze starého sadu v areálu VÚRV v Ruzyni, v níž nebyly nalezena žádná rezidua ani jiné nevhodné látky. Před použitím byla zemina proseta a lyofilizována.

Tabulka č. 5: Ředění POR

Přípravek	Množství (l/ha)	Postřiková kapalina (l/ha)
Biscaya 240 OD	0,3	200–600
Tilmor	1	200–400
Atonik	0,6	300

Tabulka č. 6: Ředící řady použitých POR

l/ha									
ml/cm ²	200	250	300	350	400	450	500	550	600
Biscaya	0,0020	0,0025	0,0030	0,0035	0,0040	0,0045	0,0050	0,0055	0,0060
Tilmor	0,0020	0,0025	0,0033	0,0035	0,0040				
Atonik			0,0030						

Tučně zvýrazněné hodnoty byly použity pro testování

4.2.1.1. Pokusy založené v červenci, srpnu a září 2019

Do 100 ml skleněných kádinek byl navážen lyofilizovaný substrát o hmotnosti 20,6 g (± 10 mg). Zásobní roztoky byly připraveny rozpuštěním 250 μ l přípravku Biscaya v 0,5 l nano vody, dále 1,25 ml přípravku Tilmor v 0,5 l nano vody a 1 ml přípravku Atonik v 0,5 l nano vody důkladným promícháním. Tank mix těchto přípravků vznikl napipetováním předchozího

množství přípravků a následným promícháním. Tímto způsobem byly připraveny čtyři zásobní roztoky (tvořící suspenzi nebo emulzi) pro jednotlivé přípravky v dané koncentraci.

Tabulka č. 7: Zásobní roztoky použití přípravků

Zásobní roztok	Původní zásobní roztok (μl)	Množství zásobního roztoku (μl)
Biscaya 240OD	250	79,2
Tilmor	1250	52,8
Atonik	1000	36,9

Z důvodu nevytváření pravých roztoků byly vždy před použitím tyto roztoky znovu promíchány. Následně bylo do deseti kádinek napipetováno 79,2 μl připraveného zásobního roztoku Biscaya OD 240, do dalších deseti kádinek bylo napipetováno 52,8 μl připraveného zásobního roztoku přípravku Tilmor a stejně tak do deseti kádinek bylo napipetováno 39,6 μl připraveného zásobního roztoku Atonik podle dané koncentrace. Do deseti kádinek s tank-mixem bylo napipetováno 171,6 μl připraveného zásobního roztoku. Do všech kádinek bylo poté napipetováno 9,4 ml nano vody pro dosažení 50% vlhkosti půdy. Po 24 hodinách bylo do každé z kádinek pomocí štětečku přeneseno deset chvostoskoků druhu *F. candida* stejné velikosti, posledního stádia. Kádinky byly přikryty víčkem z alobalu a umístěny do klimaboxu o teplotě 18 °C (± 0,1 °C) s minimálním přístupem světla. Po čtyřech týdnech byli chvostoskoci pomocí flotace spočítáni.

4.2.2. Pokus č. 2: Testování vlivu vitamínů B2 a B7 na eliminaci synergického účinku přípravků na ochranu rostlin v tank mixu (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik) po dobu 4 týdnů

Ředící řady Biscaya 240 OD, Tilmor a Atonik: viz tabulku č. 6

Cílem pokusu bylo zjistit, zda vitamíny přidané do tank-mixu eliminují synergické účinky aplikovaných pesticidů. Jako vitamín byl použit vitamín B2 – riboflavin. Koncentrace tohoto vitamínu byla stanovena podle látkového množství vitamínu a jeho dávce aplikované rozpuštěním v 1 l. Bylo naváženo 10 mg riboflavinu, které následně bylo rozpuštěno v 1 l nano vody a koncentrace byla 0,02657 mol/l.

Cílem pokusu bylo zjistit, zda vitamíny přidané do tank-mixu eliminují synergické účinky aplikovaných pesticidů. Jako vitamín byl použit vitamín B7. Koncentrace tohoto

vitamínu byla stanovena podle látkového množství vitamínu a jeho dávce aplikované rozpuštěním v 1 l. Bylo naváženo 6,9 mg biotinu, které následně bylo rozpuštěno v 1 l nano vody a koncentrace byla 0,02657 mol/l. Koncentrace přípravků byla stejná jako v předcházejícím pokusu a vycházela z ředící řady nejnižší možné koncentrace. Přípravky byly ale místo nano vody ředěny zásobním roztokem riboflavinu. Pokus trval po dobu čtyř týdnů ve třech různých časových úsecích (listopad a prosinec 2019, leden 2020). K pokusu byla použita zemina ze starého sadu v areálu VÚRV v Ruzyni, v níž nebyla nalezena žádná rezidua ani jiné nevhodné látky. Před použitím byla zemina proseta a lyofilizována.

Do 100 ml skleněných kádinek byl navážen lyofilizovaný substrát o hmotnosti 20,6 g (\pm 10 mg). Do každé kádinky bylo napipetováno 9,4 ml zásobního roztoku riboflavinu a 171,6 μ l připraveného zásobního roztoku přípravků s riboflavinem a biotinem.

5. Výsledky

5.1. Biotesty s chvostoskoky

5.1.1. Pokus č. 1: Testování vlivu POR (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik) a jejich mixu po dobu 4 týdnů – založeno červenec 2019

Tabulka č. 8: Počet chvostoskoků po aplikaci přípravků Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich tank-mixu do půdy po dobu čtyř týdnů (červenec 2019)

Kádinka	Počet před pokusem	Kontrola	Biscaya	Tilmor	Atonik	Mix
1	10	7	2	3	3	2
2	10	4	3	1	6	2
3	10	5	1	0	7	2
4	10	4	1	1	2	3
5	10	6	1	4	3	0
6	10	4	1	5	4	2
7	10	8	2	4	6	3
8	10	6	4	3	5	3
9	10	5	6	4	6	1
10	10	x	4	5	5	1
AV (±)	10	5,40	2,50	3,00	4,67	1,90
SD (±)	10	4,50	3,74	3,67	3,38	3,14

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa; x - nebylo testováno

Tabulka č. 9: Počet chvostoskoků po aplikaci přípravků Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich tank-mixu do půdy po dobu čtyř týdnů (srpen 2019)

Kádinka	Počet před pokusem	Kontrola	Biscaya	Tilmor	Atonik	Mix
1	10	6	6	8	4	3
2	10	9	4	2	4	3
3	10	5	4	1	2	6
4	10	7	6	3	1	4
5	10	6	2	5	5	3
6	10	5	6	5	2	4
7	10	6	7	5	2	6
8	10	7	5	2	7	4
9	10	5	5	9	4	3
10	10	x	8	5	4	3
AV (±)	10	6,20	5,30	4,50	3,44	3,60
SD (±)	10	4,50	3,68	3,19	2,99	2,85

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa, x - nebylo testováno

Tabulka č. 10: Počet chvostoskoků po aplikaci přípravků Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich tank-mixu do půdy po dobu čtyř týdnů (září 2019)

Kádinka	Počet před pokusem	Kontrola	Biscaya	Tilmor	Atonik	Mix
1	10	7	6	2	2	2
2	10	10	7	6	7	6
3	10	8	6	4	5	2
4	10	7	7	6	7	3
5	10	8	2	6	6	5
6	10	9	5	3	9	0
7	10	10	3	1	5	1
8	10	10	2	3	8	3
9	10	5	3	6	3	2
10	10	-	5	5	2	4
AV (±)	10	8,2	4,6	4,2	5,78	2,00
SD (±)	10	4,50	3,74	3,24	3,31	3,25

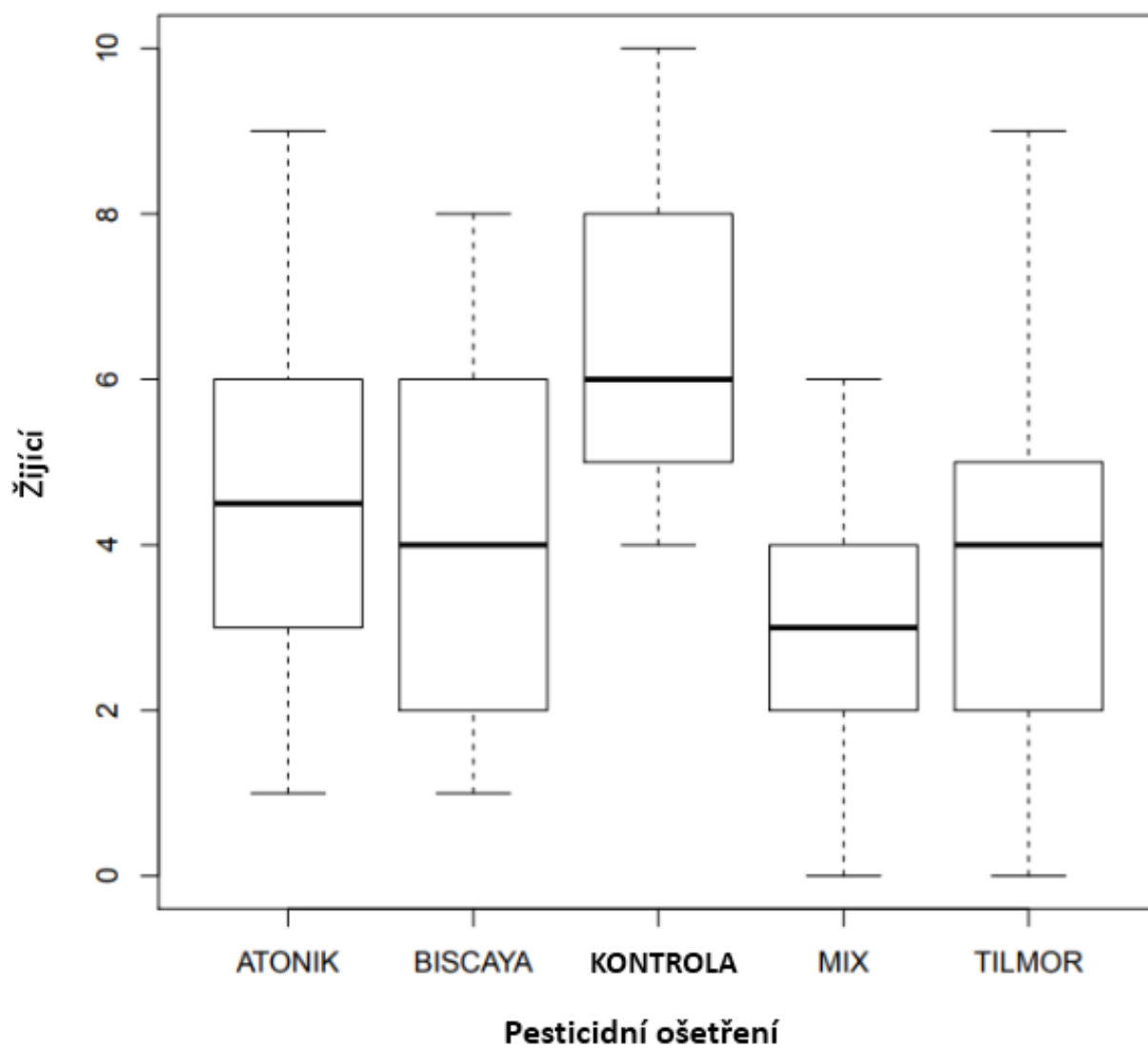
N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa; x - nebylo testováno

Tabulka č. 11: Statistické porovnání vlivu jednotlivých POR a jejich tank-mixu (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik) v půdě po dobu čtyř týdnů – červenec, srpen, září 2019

	Rozdíl	Horní hranice	Spodní hranice	F hodnota	Pr(>F)
ošetření	4	214,8	53,69	16,922	$3,19 \cdot 10^{-11}$
datum	2	61,9	30,94	9,751	$1,12 \cdot 10^{-4}$
ošetření/datum	8	68,7	8,59	2,706	$8,63 \cdot 10^{-3}$
rezidua	132	418,8	3,17		

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

Graf č. 1: Boxplot vlivu jednotlivých POR (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a Mix) na mortalitu *F. candida* (červenec, srpen, září 2019)



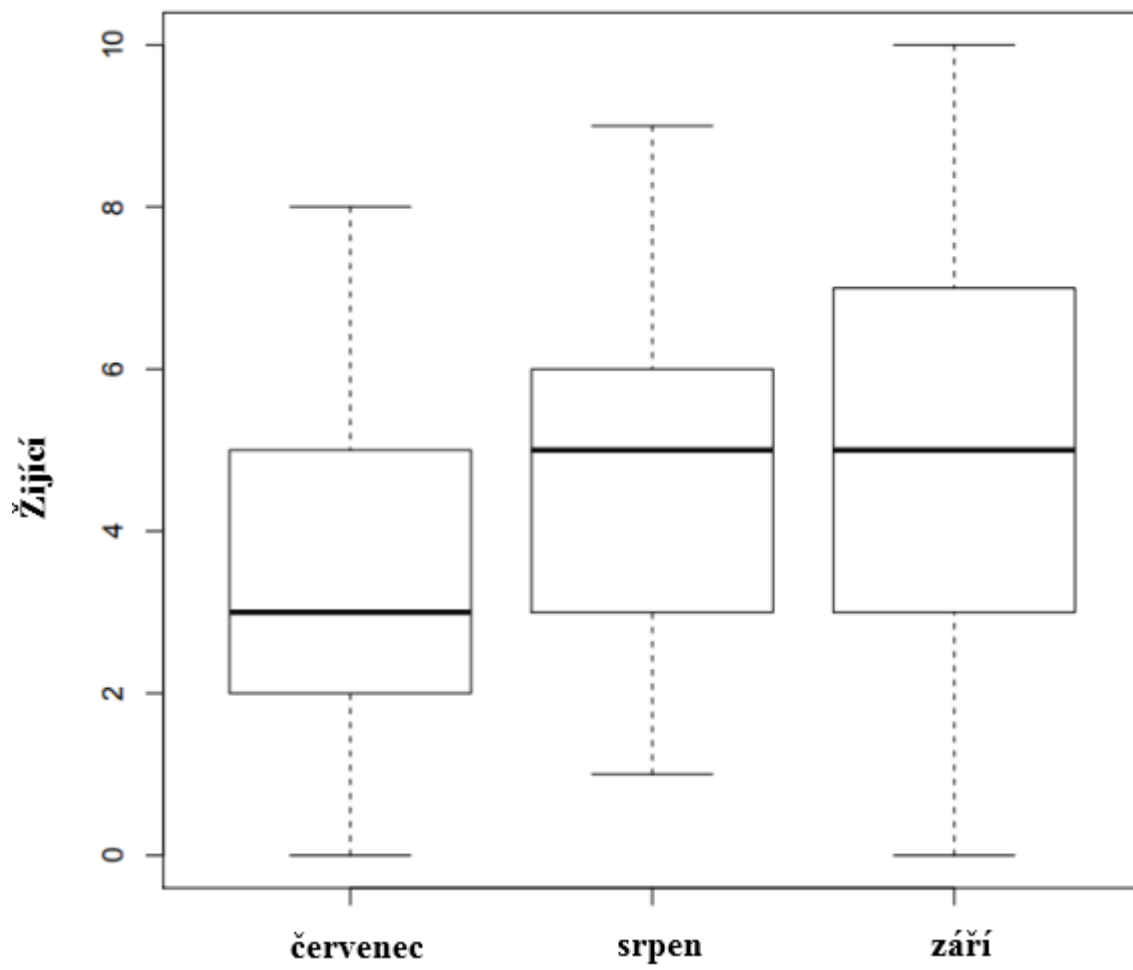
Tabulka č. 12: Statistické porovnání vlivu jednotlivých expozičních pesticidů (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich mix) a kontroly mezi sebou po dobu 4 týdnů aplikací do půdy (červenec, srpen, září 2019)

Dvojice expozičních	Rozdíl	Horní hranice	Spodní hranice	p adj
Biscaya-Atonik	-0,4000000	-1,8033194	1,0033194	0,9338502
kontrola-Atonik	2,0962963	0,6545226	3,5380699	0,0008913
mix-Atonik	-1,6666667	-3,0699861	-0,2633472	0,0111985
Tilmor-Atonik	-0,6333333	-2,0366528	0,7699861	0,7237925
kontrola-Biscaya	2,4962963	1,0545226	3,9380699	0,0000415
mix-Biscaya	-1,2666667	-2,6699861	0,1366528	0,0977353
Tilmor-Biscaya	-0,2333333	-1,6366528	1,1699861	0,9907412
mix-kontrola	-3,7629630	-5,2047366	-2,3211893	0,0000000
Tilmor-kontrola	-2,7296296	-4,1714033	-1,2878560	0,0000058
Tilmor-mix	1,0333333	-0,3699861	2,4366528	0,2549670

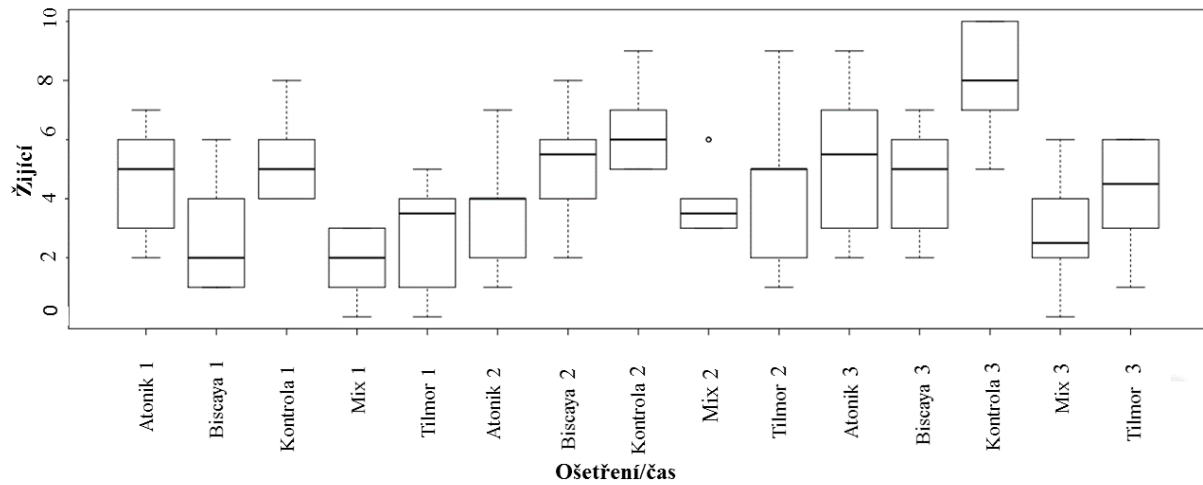
Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

Podle statistického vyhodnocení dat (viz tabulku č. 11) lze vyvodit, že aplikace nejen jednotlivých POR, ale i v jejich mixu po 28 dnech expozice má signifikantní vliv ($p \leq 0,05$) na úmrtnost chvostoskoků ve srovnání s kontrolou. Z grafu č. 1 vyplývá, že největší vliv na úmrtnost má tank-mix třech testovaných POR. Signifikantní efekt byl také pozorován u přípravků Biscaya a Tilmor. Atonik vykazoval oproti ostatním přípravkům nejmenší vliv na úmrtnost chvostoskoků. Signifikantní rozdíl ($p \leq 0,05$) můžeme pozorovat mezi kontrolou a mixem, kontrolou a Biscayou, kontrolou a Tilmorem a mezi mixem a Atonikem (viz tabulku č. 12).

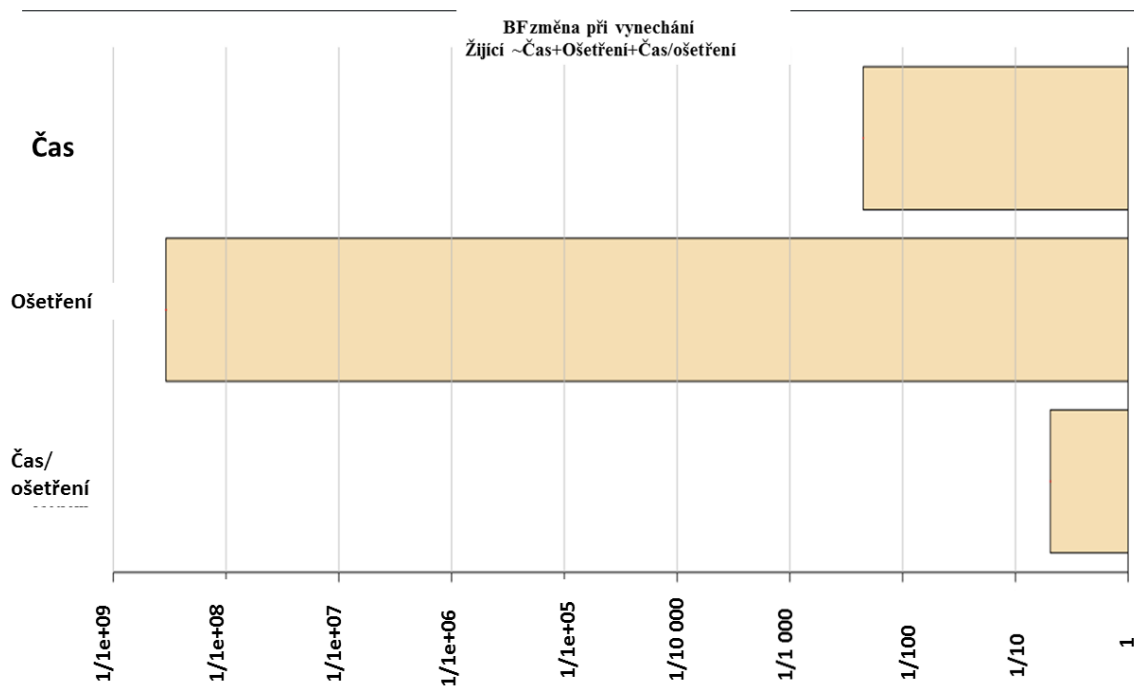
Graf č. 2: Boxplot – průměrného vlivu pesticidů v čase (červenec, srpen, září 2019)



Graf č.3: Boxplot – vliv jednotlivých POR a jejich mixu v čase

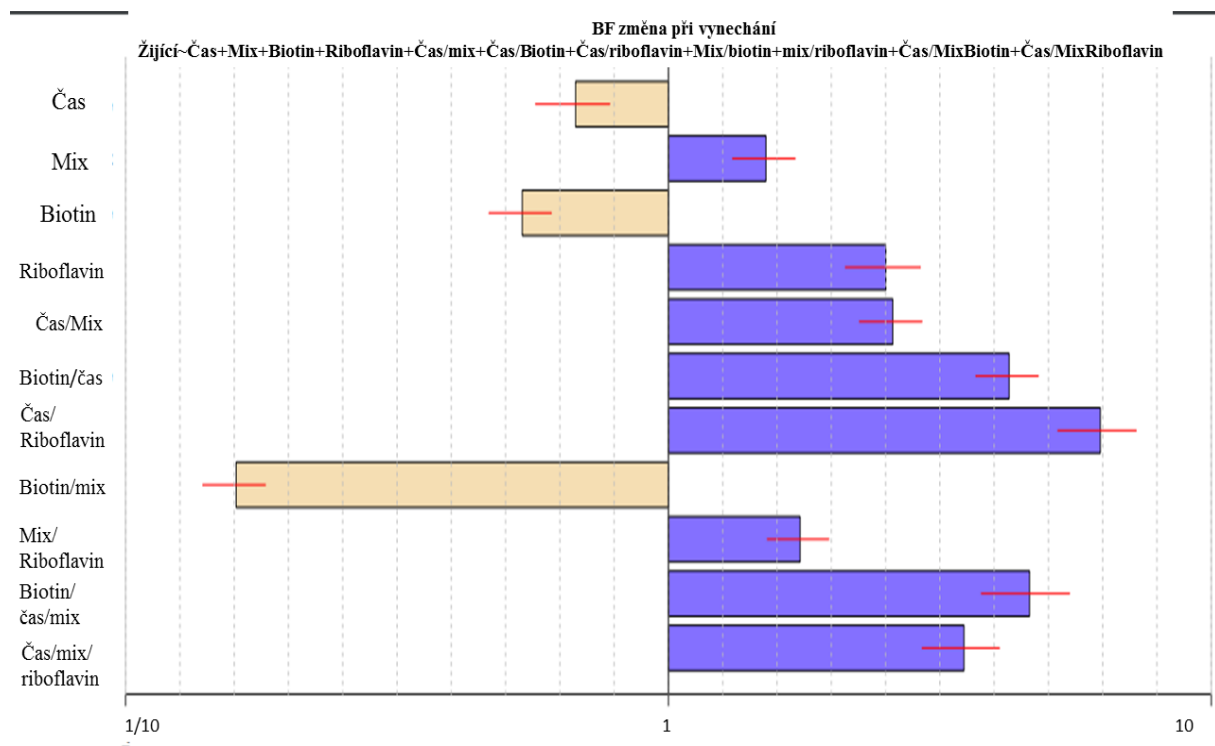


Graf č.4: Baysova metoda relativní pravděpodobnosti vlivu ošetření a času



Statistickým porovnáním aplikací jednotlivých pesticidů i jejich mixu v čase (viz tabulku č. 13) můžeme zjistit, že zde není významný signifikantní vliv ($p > 0,05$). Zejména při aplikace tank-mixu můžeme pozorovat poměrně velké rozdíly v úmrtnosti chvostoskoků (viz tabulku č. 8, 9 a č. 10). Signifikantní rozdíl ($p \leq 0,05$) lze pozorovat i mezi aplikací jednotlivých POR do půdy v porovnání s kontrolou.

Graf č. 5: Bayesova metoda relativní pravděpodobnosti vlivu pesticidů a vitamínů vs. čas



5.1.2. Pokus č. 2: Testování vlivu vitamínů B2 a B7 na eliminaci synergického účinku přípravků na ochranu rostlin v tank-mixu (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik) po dobu 4 týdnů (listopad, prosinec 2019, leden 2020)

Tabulka č. 13: Počet chvostoskoků po aplikaci POR v tank mixu do půdy s přidáním vitamínů B2 a B7 po dobu čtyř týdnů (listopad 2019)

Kádinka	Počet před pokusem	Kontrola	RIB	BIO	MIX	MIXR	MIXB
1	10	10	4	9	7	6	5
2	10	5	3	6	5	1	6
3	10	9	5	8	3	6	5
4	10	7	5	5	2	9	6
5	10	9	18	3	4	7	4
6	10	3	6	5	6	5	4
7	10	7	8	8	4	2	9
8	10	8	6	4	1	5	5
9	10	5	10	10	5	3	7
10	10	4	8	6	2	7	5
AV (±)	10	6,70	7,20	6,40	4,10	4,89	5,60
SD (±)	10	2,78	3,38	3,67	4,24	3,34	3,10

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 14: Počet chvostoskoků po aplikaci POR v tank mixu do půdy s přidáním vitamínů B2 a B7 po dobu čtyř týdnů (prosinec 2019)

Kádinka	Počet před pokusem	Kontrola	RIB	BIO	MIX	MIXR	MIXB
1	10	6	6	7	7	5	6
2	10	7	5	6	6	5	6
3	10	10	5	6	3	6	8
4	10	10	2	7	6	4	5
5	10	6	2	6	8	3	7
6	10	7	4	9	6	5	5
7	10	7	7	8	9	8	8
8	10	7	1	6	8	7	5
9	10	6	1	8	9	22	1
10	10	5	5	9	4	6	6
AV (±)	10	7,10	3,67	7,00	6,89	7,20	6,00
SD (±)	10	4,50	3,68	3,19	2,89	2,67	2,51

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 15: Počet chvostoskoků po aplikaci POR v tank-mixu do půdy s přidáním vitamínů B2 a B7 po dobu čtyř týdnů (leden 2020)

Kádinka	Počet před pokusem	Kontrola	RIB	BIO	MIX	MIXR	MIXB
1	10	5	4	5	12	8	6
2	10	5	4	6	1	5	3
3	10	1	4	7	3	7	3
4	10	4	1	2	3	5	1
5	10	6	7	8	9	3	5
6	10	8	3	2	7	12	2
7	10	5	7	6	4	4	10
8	10	6	4	1	4	7	2
9	10	6	2	6	5	6	5
10	10	6	4	5	5	6	6
AV (±)	10	5,2	4	4,78	5,33	6,33	6
SD (±)	10	4,5	3,68	3,27	2,99	2,49	2,89

N – počet jedinců na konci experimentu; AP – aritmetický průměr; SD – směrodatná odchylka; ± - hodnoty AV a SD zaokrouhleny na 2 desetinná místa

Tabulka č. 16: Statistické porovnání vlivu POR (Biscaya, Tilmor, Atonik) v tank-mixu a vitamínů (B2 a B7) po dobu čtyř týdnů v půdě

	Rozdíl	Horní hranice	Dolní hranice	F hodnota	Pr(>F)
mix	1	64,8	64,80	9,265	0,0027
Biotin	1	19,1	19,14	2,736	0,0999
Riboflavin	1	14,0	14,01	2,003	0,1588
mix + Biotin	1	34,2	34,22	4,893	0,0283
mix + Riboflavin	1	11,4	11,41	1,631	0,2033
rezidua	174	1217,0	6,99		

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

Tabulka č. 17: Statistické porovnání vlivu POR (Biscaya, Tilmor, Atonik) v tank-mixu, biotinu (B7) a mixu s biotinem po dobu čtyř týdnů v půdě

	Rozdíl	Horní hranice	Dolní hranice	F hodnota	Pr(>F)
mix	1	-1,81666667	- 3,06918834	- 0,564145	0,0013038
Biotin	1	-0,23333333	-1,76735282	1,300686	1,300686
mix + Biotin	1	-0,20000000	-1,73401949	1,334019	0,9866390
Biotin – mix	1	1,58333333	0,04931384	3,117353	0,0401995
mix+Bio – mix	1	1,61666667	0,08264718	3,150686	0,0345524
mix+Bio - Biotin	1	0,03333333	-1,73799980	1,804666	0,9999581

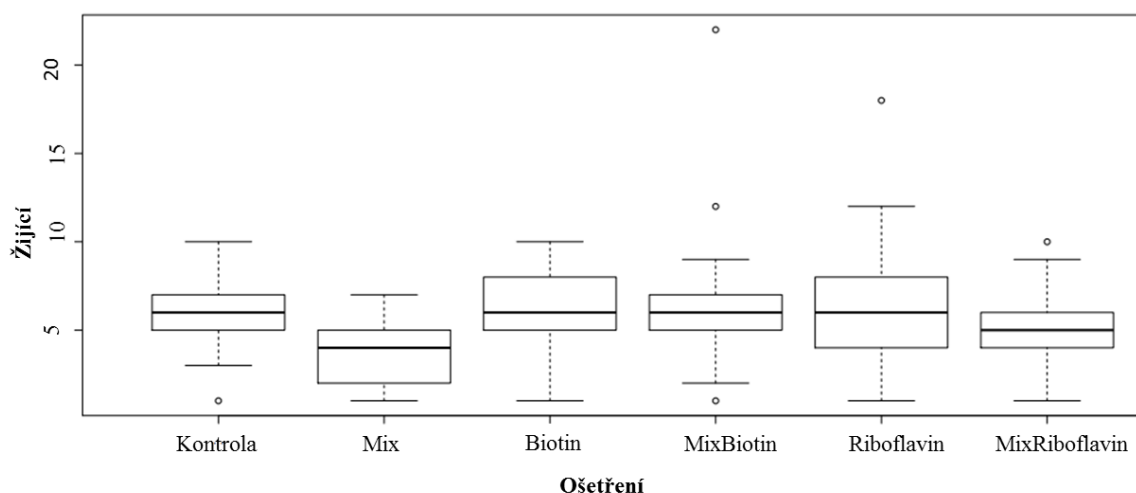
Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

Tabulka č. 18: Statistické porovnání vlivu mixu pesticidů (Biscaya, Tilmor, Atonik), riboflavinu (B2) a mixu s biotinem po dobu čtyř týdnů v půdě

	Rozdíl	Horní hranice	Dolní hranice	F hodnota	Pr(>F)
mix	1	-1,5083333	2,76085500	-0,2558117	0,0111499
Riboflavin	1	0,0500000	-1,48401949	1,5840195	0,9997826
mix + Rib	1	-0,5333333	-2,06735282	1,0006862	0,8038467
Riboflavin – mix	1	1,5583333	0,02431384	3,0923528	0,0449398
mix+Rib – mix	1	0,9750000	-0,55901949	2,5090195	0,3542167
mix+Rib – Rib	1	-0,5833333	-2,35466647	1,1879998	0,8282609

Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; Data vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA); signifikantní hodnoty zvýrazněné tučně

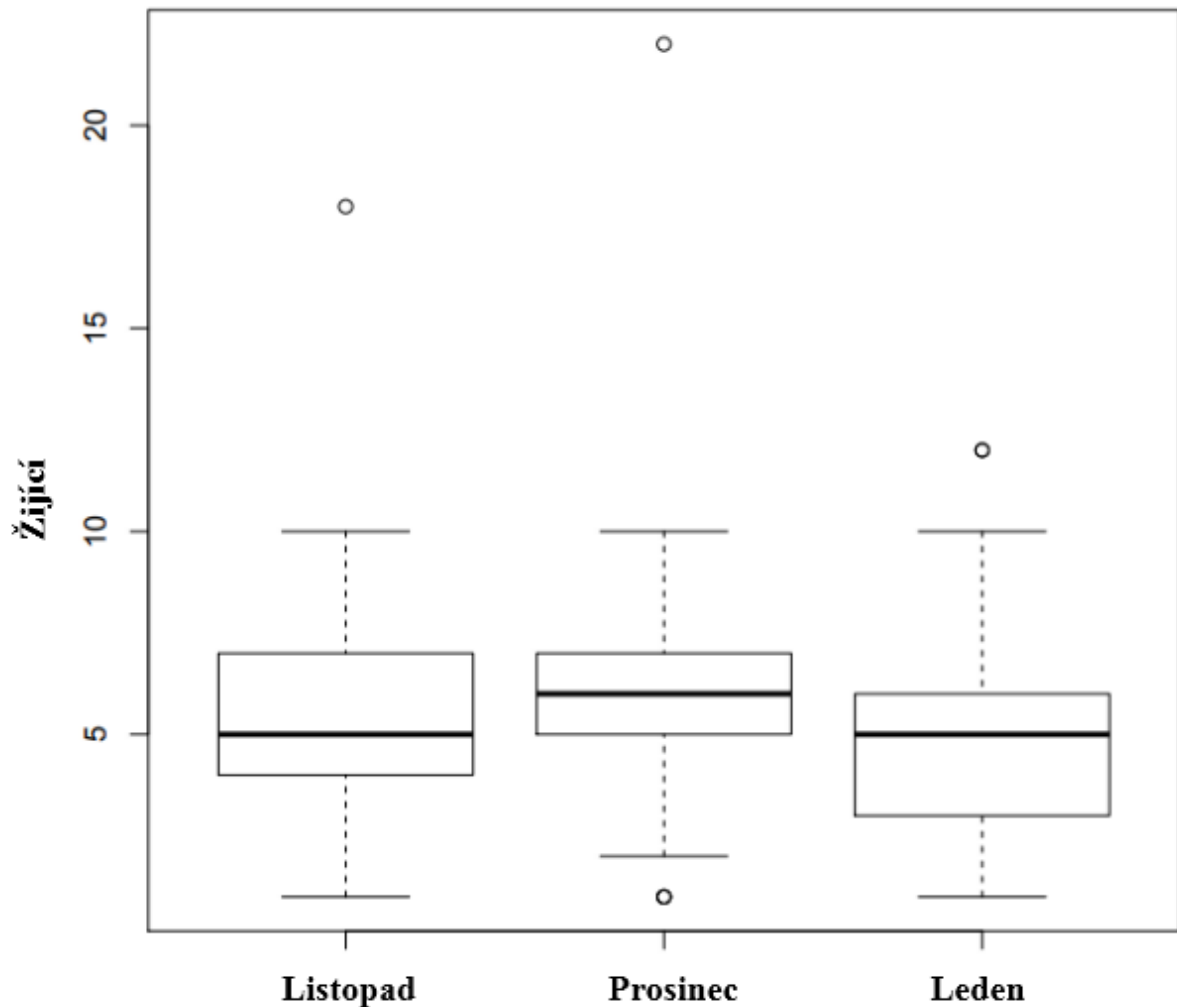
Graf č. 6: Boxplot vlivu tank-mixu pesticidů a vitamínů na mortalitu *F. candida*



Ze statistického hodnocení lze vyvodit, že aplikace vitamínů s pesticidy do půdy má po čtyřtýdenní expozici eliminační vliv na úmrtnost chvostoskoků a je téměř srovnatelná s kontrolou oproti aplikaci samotného mixu pesticidů do půdy. V průměru lze sledovat větší eliminační vliv v kombinaci tank-mixu POR s biotinem než v kombinaci tank-mixu POR s riboflavinem. Při porovnání tank-mixu POR a samotného biotinu (viz tabulku č. 16 a 17) a tank-mixu POR a samotného riboflavinu (viz tabulku č. 18) je vidět signifikantní rozdíl ($p \leq 0,05$). Signifikantní rozdíl ($p \leq 0,05$) je pozorovatelný taktéž i mezi tank-mixem POR s biotinem oproti samotnému mixu POR. Z grafu č. 6 vyplývá, že největší vliv na úmrtnost má

skutečně tank-mix třech POR. Rozdíly jsou patrné i u testů samotného biotinu a riboflavinu nejen vůči mixu, ale i kontrole, kdy v průměru za 3 měsíce testování samotný riboflavin vykazoval o téměř 4,5 % lepší výsledky příživších chvostoků než kontrola.

Graf č. 7: Boxplot – průměrné porovnání žijících *F. candida* po eliminaci POR vitamíny v čase



Statistickým porovnáním eliminace pesticidů vitamíny v čase je viditelné, že i zde je jistý vliv času, kdy byl proveden experiment během tříměsíčního období expozice od listopadu do ledna. Po společné aplikaci biotinu v roztoku do roztoku s tank-mixem je zjevný eliminační vliv tohoto vitamínu na úmrtnost chvostoků. Signifikantní rozdíly ($p \leq 0,05$) vykazuje mix POR vůči všem ostatním testům, tedy testům se samotným biotinem, samotným riboflavinem, mixu POR s biotinem, mixu POR s riboflavinem a v neposlední řadě vůči kontrole.

6. Diskuse

Nejvyšší akumulace pesticidů se nacházejí v půdě (Baćmaga et al. 2019) a jejich nadměrná hladina, která je nad limit povolených hodnot a u každého přípravku se liší, může mít negativní účinky na život organismů snížením jejich biologické aktivity a následně nižší kvalitu půdy (Álvarez et al. 2016; Wyszowska et al. 2016). Nejvíce ohroženy POR jsou organismy obývající horních 10 cm půdy (Rusek 2000). Sur et al. (2003) uvedli, že příjem neonicotinoidů rostlinou je omezen mezi 1,6–20 % aplikované dávky v cílové plodině, přičemž v půdě tedy může zůstat až 98 % sloučeniny. To naznačuje, že dojde k expozici půdních bezobratlých, kteří jsou funkčně nezbytní při cyklu živin v půdě a jsou užitečnými bioindikátory (van Gestel 2012). Jak uvádí Al Abboud (2014), vedlejší účinky pesticidů na půdní mikroflóru sledovalo již více autorů, jako například Perucci et al. (2000), Dave et al. (2005), Ahmed & Ahmad (2006) či Munees & Mohammad (2011). Půdní živočich, chvostoskok *F. candida*, citlivý na chemické látky (Fountain & Hopkin 2005), je využíván v EU při laboratorních experimentech s POR (Úřední věstník Evropské unie 2013). Během experimentů Ing. Mikulové v letech 2018–2019, které předcházely testům v této práci, a hodnotily vliv vybraných pesticidů na necílové organismy, došlo k modifikaci stávající doporučené metodiky nejen pro chov, ale i testy s *F. candida*. Chov chvostoskoků za vhodnějších podmínek, při kterých byl pozorován lepší fyziologický stav jedinců, by bylo dobré dále sledovat a následující práce by se mohly zabývat životním cyklem a rozmnožováním v průběhu roku za simulace reálných podmínek v přírodním prostředí.

Výsledky sledování chvostoskoků během pokusů naznačují, že thiaklopid ve formulaci přípravku Biscaya 240 OD se projevuje zpožděnou a kumulativní toxicitou, neboť největší úmrtnost byla pozorována mezi 3.–4. týdnem. Stejným způsobem se projevoval v dřívějších experimentech Rondeau et al. (2015) u včel, mravenců a termitů i imidaklopid, kde však byla použita čistá účinná látka. Je tedy možné, že tuto toxicitu jsou schopny v našem případě vyvolávat ostatní složky formulace POR, a ne samotný thiaklopid. Pro důkladnější vyhodnocení by byla třeba znát problematika rozmnožování a životního cyklu *F. candida*, přizpůsobená reálným polním podmínkám, týkajících se jak proměnlivé teploty půdy během roku, ale i přístupu světla. Do budoucna by taktéž bylo vhodné provést další experimenty i na proteinové úrovni jako tomu bylo již v testech se včelami (Erban et al. 2016) či je sledovat za pomoci speciálních kamer, jako v experimentech se čmeláky (Crall et al. 2018). Během testů prováděných u žížal za použití thiaklopidu byla stanovena mezi EC₅₀ 1,5–3,3 mg/kg s. p. (Reynolds 2008; van Gestel et al. 2017). Podle Mabubu (2017) vykazoval thiaklopid

nepříznivý účinek na reprodukci *F. candida*, takže může ovlivnit celou populaci a vést k jejímu kolapsu. Dále Tison et al. (2016) ve své studii na včelách prokázali, že thiaklopid přijímaný s roztokem sacharózy narušoval v polních podmínkách chování při hledání potravy, navigaci a komunikaci včel. V testech Silva et al. (2017) zaměřených na přežití, reprodukci a růst po 3.–5. týdnech expozice v přirozené LUFA 2.2 standardní půdě se ukázalo, že imidaklopid byl toxičtější než thiaklopid pro všechny testované druhy. Testovanými druhy byly *Eisenia andrei*, *Enchytraeus crypticus*, *F. candida*, *Oppia nitens* a *Porcellio scaber*, přičemž nejcitlivějšími druhy z nich byly *F. candida* a *E. andrei* s LC_{50} 2,7–3,9 a 7,1 mg/kg suché půdy pro thiaklopid. EC_{50} pro účinky na reprodukci *F. candida* a *E. andrei* byly a 1,7–2,4 a 0,44 mg/kg suché půdy pro thiaklopid. V našich testech docházelo k 59% úmrtnosti při použití přípravku Biscaya obsahující účinnou látku thiaklopid. V kombinaci s fungicidem a růstovým regulátorem se průměrná úmrtnost zvýšila o dalších 16 %. Zajímavým zjištěním ale je, že úmrtnost testovaných chvostoskoků v tank mixu v období od listopadu do ledna byla pouze 48 %, oproti období červenec až září, kdy úmrtnost dosahovala přes 71 %. To může naznačovat jistou proměnlivost fyziologického stavu *F. candida* v průběhu roku a od toho se odvíjející i jistou odolnost druhu vůči POR.

Toxické účinky fungicidů nejsou u chvostoskoků zatím známy, avšak v případě včel vykazují obecně nízkou akutní toxicitu. Pokud se ovšem aplikují v tankové směsi s insekticidy, může se zvýšit toxicita nejen pro cílové, ale i necílové organismy (Johnson 2015). Aplikace insekticidů během květu mandloní má potenciál poškodit včely a tento účinek může být v určitých případech škodlivější, pokud se insekticidy aplikují v kombinaci s fungicidy. Kombinace fungicidu propikonazolu s insekticidem chlorantraniliprole se ukázala jako vysoce toxická nejen pro včelí larvy, ale i dospělé jedince (Wade et al. 2019). Tebukonazol vykazoval v testech Herrero-Hernández et al. (2011) degradaci půdy a v testech Muñoz-Leoz et al. (2011) snižoval půdní mikrobiální biomasu a aktivitu, což naznačuje, že pokud byla touto látkou negativním směrem postižena půda, mohl by mít nežádoucí vliv i na úmrtnost půdních necílových organismů. Dalším důležitým faktem je, že v experimentech Herrero-Hernández et al. (2011) se jednalo o čistý analytický standart, zatímco v této práci se jednalo o formulaci přípravku Tilmor, kde další negativní vliv mohou vykazovat přídavné adjuvanty. Nepříznivě působil tebukonazol také v laboratorních testech vůči změnám mikrobiologických vlastností písčitohlinité půdy, kde klesla koncentrace bakterií vázajících dusík a přirozených půdních hub (Cycon et al. 2006). Experiment v této práci prokázal, že přípravek Tilmor, obsahující účinné látky propikonazol a tebukonazol způsoboval 61% úmrtnost námi testovaných členovců, a že

tato hodnota je téměř srovnatelná s výsledky insekticidu Biscaya 240 OD obsahující účinnou látku thiaklopid, ač více signifikantní rozdíl vykazovala právě Biscaya. Z toho tedy vyplývá a je třeba brát v úvahu, že kombinace těchto dvou účinných látek ve formulaci POR může být ještě nebezpečnější i pro další pro necílové půdní organismy než přípravek Biscaya obsahující neonikotinoid thiaklopid.

Jak předkládá ve svém výzkumu Al Abboud (2014), přidání růstového hormonu rostlin (kyselina gibberelová) k fungicidům nebo insekticidům zvýšilo růst přirozených půdních hub a zvýšila se odolnost přirozených půdních bakterií vůči insekticidům. Během výzkumu Wang et al. (2011) pěti různých rostlinných regulátorů růstu (Atonik, cytokinin, ethephon, kyselina gibberelová, paklobutrazol) na teratogenní účinky u embryí hrotnatky velké se ukázalo, že všech pět přípravků indukovalo malformace druhé antény, rostrum, malpighické trubice, smyslové štětiny a ocasní páteř, následovaly ztráty životních funkcí a poté i smrt. Přímo přípravek Atonik byl dle EFSA (2008) zkoumán v Řecku pro účely EU. U testů, které byly prováděny na včelách bylo při orální expozici indikováno, že Na p-NP (LD₅₀ 61,2 ug/včela) je toxicitější než Na 5-NG a Na o-NP (LD₅₀ 57,12 ug/včela), což vykazuje pro včely nízké riziko. Při zkouškách s přípravkem nebyly pozorovány žádné negativní účinky na dýchání půdy a nitrifikaci až do koncentrace 4,0 mg a.s./kg půdy, což naznačuje nízké riziko pro půdní necílové mikroorganismy. Byly provedeny taktéž testy u druhů *Aphidius rhopalosiphi* a *Typhlodromus pyri*. EFSA (2008) dále uvádí, že pro jejich výzkumné účely byly poskytnuty studie ohledně *Amblyseius californicus*, *Aphidius colemani*, *Poecilus cupreus* a *Coccinella septempunctata*. Výsledky nevykazovaly žádné významné účinky Atoniku na úmrtnost a reprodukční výkon. Celkově byl učiněn závěr, že riziko pro necílové členovce bylo nízké. Námi provedené testy ovšem naznačují, že i tento přípravek způsobuje víc jak 53 % úmrtí chvostoskoků *F. candida*. Po čas pozorování chvostoskoků během 28 denní expozice nezpůsobil přípravek Atonik žádné další fyziologické změny, tak jako uvádí studie Wang et al. (2011). Z výsledků a jejich porovnání s předchozími testy vyplývá, že u chvostoskoků Atonik pravděpodobně nemá teratogenní účinky, ovšem úmrtnost je vyšší než v případě testů se včelami a jinými testovanými členovci, jak uvádí EFSA (2009). Způsobeno to může být ostatními složkami formulace přípravku, tudíž by bylo prospěšné ho z hlediska jeho vlivu na půdní členovce dále prozkoumat i na jiné úrovni. Porovnání kontrolních testů s testy Atoniku a testů mixu POR se samotným Atonikem indikovaly signifikantní vliv ($p \leq 0,05$), který prokázal, že úmrtnost chvostoskoků v přípravku Atonik oproti kontrole byla vyšší, avšak oproti účinku mixu POR byla jejich úmrtnost menší.

Přidáním vitamínů B byl prokázán předpoklad, že tyto vitamíny dokáží jistým způsobem ovlivnit fitness testovaných členovců. Ač byla zjištěna jen cesta syntézy pro riboflavin (Moriyama et al. 2015), biotin vykazoval v tomto směru lepší výsledky, alespoň co se týká jeho kombinace v mixu POR. Ve studii Serbus et al. (2017) byla sledována syntéza různých vitamínů u endosymbiotických druhů hmyzu a členovců. Pouze u jednoho případu testu s biotinem byla sledována syntetická schopnost, což svědčí o tom, že i tento vitamín je pro organismy důležitý. Samotný riboflavin působil pouhým pozorováním ve srovnání s kontrolou o něco lépe, ale pouze v prvním týdnu prvního měsíce experimentu. V prvním týdnu po aplikaci riboflavínu do půdy bylo viditelné, že testovaní chvostokoci byli výrazně větší, vykazovali mnohem větší aktivitu a v konečném vyhodnocení bylo zjištěno i jejich namnožení. Následující dva měsíce, tedy v prosinci a v lednu se již výsledky lepšího fitness a velikosti členovců z listopadu nepotvrdily, avšak velikost chvostokoků byla vždy výraznější. Biotin v kombinaci s mixem POR vykazoval ve všech třech testováních průměrně téměř identické výsledky, zatímco po samostatné aplikaci byly již výsledky různorodější. Z našich výsledků plyne, že průměrně lepší hodnoty vykazovaly testy mixu obohacené o vitamíny. Sledováním experimentů v průběhu týdnů bylo možné posoudit, jak se měnil počet chvostokoků v kádinkách. Poměrně zajímavě vycházely výsledky mixu s riboflavínem, kdy v počátku bylo možné sledovat rozmnožení testovaného druhu, následně pak v posledním týdnu (mezi 3.–4.týdnem) došlo k výraznému snížení jejich počtu. Tyto shody se opakovaly po celou dobu studie. Je tedy možné předpokládat, že i přes působení vitamínů na lepší fitness *F. candida*, je zde prokazatelný zpožděný a kumulativní účinek použitých formulací POR v mixu. Nejslabší výsledky fyziologického stavu se projevily v posledním testovaném období v průběhu ledna, kdy obecně velikost i fitness chvostokoků v chovu byla viditelně menší. Na studii může mít tedy taktéž vliv proměnlivost fyziologického rozmnožování a celková fitness chvostokoků měnící se v průběhu roku.

V rámci experimentů této diplomové práce byly pozorovány negativní účinky na životaschopnost a vliv POR na modelového necílového půdního živočicha. Je třeba dokázat správně vyhodnotit, jaké látky, v jakém množství a za jakých podmínek používat (Matthews 2008). V současnosti lze zvolit různé velkokapacitní metody (OMICs), které nám jsou schopny vyhodnotit rizika používaných POR (Erban et al. 2016). Je třeba brát v úvahu, že v této práci byly testovány látky ve formulaci POR, ne analytické standardy, a že na toxických účincích těchto přípravků se mohou podílet přídavné látky, které obsahují. Dále by na tuto práci mohla navazovat studie proměnlivosti životního cyklu druhu *F. candida*, kdy by byla sledována

průměrná teplota půdy v jednotlivých měsících během roku, proměnlivost světla, vlhkost a další vyhodnocení testovaných druhů na proteomické úrovni.

7. Závěr

Výsledky této diplomové práce potvrdily náš předpoklad, že POR používané běžně v tank mixu ovlivňují mortalitu půdních necílových organismů, v tomto případě modelový druh chvostoskoka *F. candida*. Pro posouzení vlivu přípravků byly tyto látky zkoumány i jednotlivě, aby bylo možno lépe posoudit jejich postupný synergický účinek. Největší úmrtnost byla pozorována u insekticidního přípravku Biscaya 240 OD, statisticky významný vliv ($p \leq 0,05$) měl následně i fungicidní přípravek Tilmor. Růstový regulátor Atonik přispěl jistým způsobem ke zvýšení synergického účinku, avšak tento vliv byl vůči ostatním přípravkům nepatrný. Růstové regulátory jsou v současnosti v oblasti ochrany životního prostředí téměř opomíjenou oblastí a bylo by prospěšné, kdyby se staly předmětem dalších prací, které by zkoumaly jejich vliv na okolní prostředí. Tyto růstové regulátory se v zemědělství používají zásadně v tank mixech s dalšími POR a synergismus těchto látek může způsobovat i jisté teratogenní účinky, které ale tato práce neprokázala. Vzhledem k tomu, že byly použity menší koncentrace a úmrtnost byla vyšší než v porovnání s jinými publikovanými experimenty, lze předpokládat, že thiakloprid ve formulaci přípravku Biscaya má zpožděný a kumulativní účinek, stejně tak jako má imidakloprid na čmeláky, včely, mravence a termity. Formulace neaktivních složek přípravků může mít větší vliv na úmrtnost členovců než samotné účinné látky, což je potřeba brát v této studii v úvahu. Dále se práce zabírala vlivem POR v kombinaci s vitamíny B2 a B7. Tyto vitamíny může pro *F. candida* poskytovat symbiotická bakterie *Wolbachia*, která se také podílí na celkovém fitness a ovlivňuje jeho reprodukci. Výsledky testů eliminace vlivu POR vitamíny vykazovaly v jistých měsících odlišná čísla, což ukazuje, že mix POR má na sledované chvostoskoky zásadní vliv. Další práce by se mohly zajímat o změny na proteinové úrovni u jedinců, kde byl zaznamenán nárůst populace někde až o více jak dvojnásobek. Použití biotinu s mixem POR se ve výsledcích osvědčilo a vykazovalo téměř stejné hodnoty jako kontrolní výsledky. Přidání riboflavinu do půdy způsobilo ve výjimečných případech nárůst populace, ovšem v kombinaci s mixem POR nebyl výsledek až o to tolik pozitivní, jako u biotinu. Z výsledků ale i přesto vyplývá, že použití kombinace mixu POR s vitamíny má skutečně pozitivní vliv na životnost *F. candida*.

8. Seznam použité literatury

- Agrios GN. 1997. Plant pathology, 4th ed., Academic Press a division of Harcourt and Company, Sand Diego, 635 str. ISBN 0-12-044564-6.
- Agrios GN. 2005. Plant pathology. 5th edition. Oxford: Academic Press, 922 s. ISBN: 978-0-12-044565-3.
- Ahmed S, Ahmad MS. 2006. Effect of insecticides on the total number of soil bacteria under laboratory and field conditions. Pak. Entomol. 28 (2), 63–68.
- Al Abboud MA. 2014. Bioimpact of application of pesticides with plant growth hormone (gibberellic acid) on target and non-target microorganisms. Journal of Saudi Chemical Society, 18(6), 1005–1010.
- Alford DV, Nilsson C, Ulber B. 2003. Insect pests of oilseed rape crops. Biocontrol of oilseed rape pests, 1.
- Alpmann L, Baranyk P, Feiffer A, Gertz A, Heger M, Humpisch G, Jevič P, Klaassen H, Kurpjuweit H, Maylandt M, Schäfer B, Schneider K, Schöne F, Siemmus K, Stemmann G, Volf M, Weissen J. 2009. Řepka plodina s budoucností. BASF. Praha. 180 s. ISBN: neuvedeno.
- Altman J. 1993. Pesticide Interaction in Crop Production. CRC Press, Boca Raton, FL, 579 pp.
- Álvarez-Martín A, Hilton SL, Bending GD, Rodríguez-Cruz, MS, Sánchez-Martín MJ. 2016. Changes in activity and structure of the soil microbial community after application of azoxystrobin or pirimicarb and an organic amendment to an agricultural soil. Applied Soil Ecology, 106, 47–57.
- Andjelković U, Gavrović-Jankulović M, Martinović T, Josić D. 2017. Omics methods as a tool for investigation of food allergies. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 96, 107-115 pp.
- Araújo RA, Badji CA, Corrêa TJ Ladeira JA Guedes RNC. 2004. Impacto causado por deltametrina de superfólia do sólo associados à Cultura do milho em sistemas plant plant diretoekonvencional. Neotrop. Entomol. 33: 379- 385 pp.

- Arnett RH, Thomas MC, Skelley PE, Frank JH. (Eds.). 2002. American Beetles, Volume II: Polyphaga: *Scarabaeoidea* through *Curculionoidea* (Vol. 2). CRC press
- Attique MNR, Khaliq A, Sayyed AH. 2006. Could resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae) be overcome by insecticide mixtures? *Journal of Applied Entomology*, 130(2), 122–127.
- Aufhammer W, Kubler E, Bury M. 1994. Stickstoffaufnahme und Stickstoffrückstände von Hauptfrucht- und Ausfallrapsbeständen. *Journal of Agronomy and Crop Science* 172, 255–264.
- Babut M, Arts GH, Caracciolo AB, Carluer N, Domange N, Friberg N, Gouy V, Grung M, Lagadic L, Martin-Laurent F, Mazzella N, Pesce S, Real B, Reichenberger S, Roex EWM, Romijn K, Röttele M, Stenrød M, Tournebize J, Vernier F, Vindiman E. 2013. Pesticide risk assessment and management in a globally changing world—report from a European interdisciplinary workshop. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(11), 8298-8312.
- Babůrek I. 2000. Řepka olejná. In: Benda V, Babůrek I, Žďárský J. 2000. *Biologie II*. Praha: VŠCHT. 195 s. s. 110 – 112.
- Baćmaga M, Kucharski J, Wyszowska J. 2019. Microbiological and biochemical properties of soil polluted with a mixture of spiroxamine, tebuconazole, and triadimenol under the cultivation of *Triticum aestivum* L. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(7), 416. DOI: 10.1007/s10661-019-7539-4.
- Badji CA, Guedes RNC, Silva AA, Corrêa AS, Queiroz MELR, Michereff-Filho M. 2007. Non-target impact of deltamethin on soil arthropods of maize fields under conventional and no-tillage cultivation. *Journal of Applied Entomology*, 131(1), 50-58.
- Bai X, Mamidala P, Rajarapu SP, Jones SC, Mittapalli O. 2011. Transcriptomics of the bed bug (*Cimex lectularius*). *PLoS One*, 6 (1), e16336. DOI: 10.1371/journal.pone.0016336
- Baier C, Hurle K, Kirchhoff J. 1985. Datensammlung zur Abschätzung des Gefahrenpotentials von Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffen in Gewässern. Schriftenreihe des deutschen Verbands für Wasserwirtschaft und Kulturbau eV, Heft 74.

- Ballanger Y, Détourné D, Delorme R, Pinochet X. 2007. France, difficulties in managing insect pests of winter oilseed rape (*Brassica napus* var. *oleifera*): resistances to insecticides. In: Proceeding GCIRC: 12th International Rapeseed Congress, Wuhan, China, March 26–30. Vol. 4, 276–279.
- Balvín O, Roth S, Talbot B, Reinhardt K. 2018. Co-speciation in bedbug *Wolbachia* parallel the pattern in nematode hosts. *Scientific reports*, 8(1), 1-9.
- Baranyk P, Kazda J, Škeřík J, Volf M. 2005. Řepka olejka v českém zemědělství. 1. vydání. Praha: Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin, 161 s. ISBN 80-903464-3-X.
- Baranyk P, Fábry A. 2007: Biologická charakteristika. In: Baranyk P, Fábry A. a kol. (eds) Řepka: pěstování, využití, ekonomika. 1. vydání. Praha: Profi Press, s. 31–55.
- Baranyk Petr a kolektiv. 2016. Stanovisko k odrůdové skladbě řepky pro rok 2016/17: seznam doporučených odrůd. Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin. Praha. 37 s. ISBN: 978-80-87065-65-5.
- Bečka D, Vašák J, Zukalová H, Mikšík V. 2007. Řepka ozimá: pěstitelský rádce. 1. vydání. Praha: Pro katedru rostlinné výroby, FAPPZ, ČZU v Praze vydalo vydavatelství Kurent. ISBN 978-80-87111-05-5.
- Behar A, Yuval B, Jurkevitch E. Gut bacterial communities in the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and their impact on host longevity. *J Insect Physiol* 2008; **54**:1377–83.
- Bennett, J. Michael; Rhetoric, Emeritus; Hicks, Dale R.; Naeve, Seth L.; Bennett, Nancy Bush (2014). *The Minnesota Soybean Field Book* (PDF). St Paul, MN: University of Minnesota Extension. p. 81.
- Bittner V. 2006. Škodlivé organismy řepky. Agro tisk. Hradec Králové. 54 s. ISBN: 80-903764-0-1.
- Bishop GJ, Yokota, T. 2001. Plants steroid hormones, brassinosteroids: current highlights of molecular aspects on their synthesis/metabolism, transport, perception and response. *Plant and Cell Physiology*, 42(2), 114-120
- Bouchet A-S, Laperche A, Bissuel-Belaygue C, Snowdon RJ, Nesi N, Stahl A. 2016. Nitrogen use efficiency in rapeseed. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 36, 38. DOI: 10.1007/s13593-016-0371-0

- Bourtzis K, O'Neill S, 1998. *Wolbachia* infections and arthropod reproduction. *BioScience*, 48(4), 287–293.
- Bowles DJ. 1990. Defense-related proteins in higher plants. *Annu. Rev. Biochem.* 59:873-907.
- Brown AM, Wasala SK, Howe DK, Peetz AB, Zasada IA, Denver DR. 2016. Genomic evidence for plant-parasitic nematodes as the earliest *Wolbachia* hosts. *Scientific reports*, 6, 34955. DOI: 10.1038/srep34955
- Browse J. 2005. Jasmonate: an oxylipin signal with many roles in plants. *Vitamins & Hormones*, 72, 431–456.
- Budziński W, Jankowski K. 2008. Řepka jako zaplevelující rostlina – čím dále větší problém. In: Švachula V, Vach M, Bečka D. (eds) *Prosperující olejniný 2008: Sborník referátů z konference katedry rostlinné výroby ČZU v Praze*. Praha: Česká zemědělská univerzita, katedra rostlinné výroby, s. 87–89.
- Cagaň L. 2006. Alternativne možnosti ochrany olejnin proti škodcom a chorobám. In: Zubal P. (ed.). *Olejniný strategické, agronomické a ekonomické trendy pestovania olejnin na Slovensku*. Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu Nitra. Nitra. s. 83-90. ISBN: 80-88790-45-X.
- Callihan B, Brennan J, Miller T, Brown J, Moore M. 2000. *Mustards in mustards: guide to identification of canola, mustard, rapeseed and related weeds*. Moscow, ID: University of Idaho.
- Campbell NA, Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson, Robert B. 2008. *Biology* (8. ed.). San Francisco: Pearson, Benjamin Cummings. str. 827–30.
- Capinera JL. *Encyclopedia of entomology*. 2. vydání. USA. 2008. ISBN 978-1-4020-6359-6.
- Carvalho FP. 2017. Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security*, 6(2), 48–60.
- Cedergreen N. 2014. Quantifying synergy: a systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. *PLoS One*, 9(5), e96580. DOI: 10.1371/journal.pone.0096580.

- Cox C. 1991. Pesticides and birds: from DDT to today's poisons. *Journal of Pesticide Reform*, 11(4), 2–6.
- Crall JD, Switzer CM, Oppenheimer RL, Versypt ANF, Dey B, Brown A, Eyster M, Guérin C, Pierce NE, Combes SA, de Bivort BL. 2018. Neonicotinoid exposure disrupts bumblebee nest behavior, social networks, and thermoregulation. *Science* **362**(6415):683-686.
- Csavina J, Field J, Taylor MP, Gao S, Landázuri A, Betterton EA, Sáez AE. 2012. A review on the importance of metals and metalloids in atmospheric dust and aerosol from mining operations. *Science of The Total Environment*, 433, 58–73.
- Cycoń M, Piotrowska-Seget Z, Kaczyńska A, Kozdrój J. 2006. Microbiological characteristics of a sandy loam soil exposed to tebuconazole and λ -cyhalothrin under laboratory conditions. *Ecotoxicology*, 15(8), 639–646.
- Czarnetzki AB, Tebbe CC. 2004a. Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia* in *Collembola*. *Environmental Microbiology*, 6(1), 35–44.
- Czarnetzki AB, Tebbe CC. 2004b. Diversity of bacteria associated with *Collembola*—a cultivation-independent survey based on PCR-amplified 16S rRNA genes. *FEMS Microbiology Ecology*, 49(2), 217–227.
- Daisley BA, Trinder M, McDowell TW, Welle H, Dube JS, Ali SN, Leong HS, Sumarah MW, Reid G. 2017. Neonicotinoid-induced pathogen susceptibility is mitigated by *Lactobacillus plantarum* immune stimulation in a *Drosophila melanogaster* model. *Scientific Reports*, 7(1), 2703. DOI: 10.1038/s41598-017-02806-w.
- Daly H, Doyen JT, Purcell AH. III. 1998. Introduction to insect biology and diversity. 2nd edition. Oxford/New York, NY: Oxford University Press. pp. 279–300.
- Darby AC, Armstrong SD, Bah GS, Kaur G, Hughes MA, Kay SM, Koldkjær P, Rainbow L, Radford AD, Blaxter ML, Tanya VN, Trees AJ, Cordaux R, Wastling JM, Makepeace BL. 2012. Analysis of gene expression from the *Wolbachia* genome of a filarial nematode supports both metabolic and defensive roles within the symbiosis. *Genome Research*, 22(12), 2467–2477.
- Das SK. 2014. Scope and relevance of using pesticide mixtures in crop protection: a critical review. *International Journal of Environmental Science and Toxicology*, 2(5), 119–123.

- Dave S, Steven DS, Eva MT, Verstraete W. 2005. Combined effect of fertilizer and herbicide applications on the abundance, community structure and performance of the soil methanotrophic community soil. *Biochem.* 37, 187–193.
- Delaney TP. Genetic dissection of acquired resistance to disease. *Plant Physiol.* 1997; 113: 5-12.
- de Barros EC, Ventura HV, Gontijo PC, Pereira RR, Picanço MC. 2015. Ecotoxicological study of insecticide effects on arthropods in common bean. *Journal of Insect Science*, 15(1), 172. DOI: 10.1093/jisesa/ieu172.
- Delsuc F, Phillips MJ, Penny D. 2003. Comment on "Hexapod origins: monophyletic or paraphyletic?" *Science*, 301(5639), 1482–1482.
- Demole E, Lederer E, Mercier D. 1962. Isolement et détermination de la structure du jasmonate de méthyle, constituant odorant caractéristique de l'essence de jasmin [Isolation and determination of the structure of methyl jasmonate, a fragrant constituent characteristic of jasmine oil]. *Helvetica Chimica Acta*, 45(2), 675–685.
- Derron JO, Le Clech E, Bezençon N, Goy G. 2004. Résistance des méligèthes du colza aux pyrèthrinoïdes dans le bassin lémanique. *Revue Suisse d'Agriculture*, 36(6), 237–242.
- Diederichsen E, Frauen M, Linders EGA, Hatakeyama K, Hirai M. 2009. Status and perspectives of clubroot resistance breeding in crucifer crops. *Journal of Plant Growth Regulation*. Volume 28, Issue 3. pp. 265-281
- Diepenbrock W, Grosse F. 1995. Rapeseed (*Brassica napus* L.) – physiology. In: Diepenbrock W, Becker HC. (eds) *Physiological potentials for yield improvement of annual oil and protein crops*. *Advances in Plant Breeding 17: Supplements to the Journal Plant Breeding*. Berlin/Vienna: Blackwell. pp. 21–53.
- Dilmaghani A, Despeghel JP, Phillips D, Moreno-Rico O, Rouxel T, Gout C, Vincenot L, Wu CJP, Balesdent MH, Li Hua, Barbetti MJ, Davey J. 2009. The *Leptosphaeria maculans* – *Leptosphaeria biglobosa* species complex in the American continent. *Plant Pathology*, 58(6), 1044–1058.

- Djurberg A, Gustafsson G. 2007. Pyrethroid resistant pollen beetles in Sweden. In: Ad hoc EPPO workshop on insecticide resistance of *Meligethes* spp. (pollen beetle) on oilseed rape. Sept. 03–05, 2007, Berlin, Germany. pp. 35–39.
- Domene X, Alcaniz JM, Andrés P. 2007. Ecotoxicological assessment of organic wastes using the soil collembolan *Folsomia candida*. *Applied Soil Ecology*, 35(3), 461–472.
- Ebadi AG, Shokrzadeh M. 2006. A survey and measurement of residues of lindane (organochlorine pesticides) in four species of the most consumed fish in the Caspian Sea (Iran). *Toxicology and industrial health*, 22(1), 53-58
- Ebrahim S, Usha K, Singh B. 2011. Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism. In: Méndez-Vilas A. (ed) *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Hackensack, NJ: Formatex Research Center. pp. 1043–1054.
- EC (European Commission). 2002. Review report for the active substance glyphosate. Pages 1-56 in Annex I of Directive 91/414/EEC, European Union.
- Eckert M, Rossal S, Selley A, Fitt BDL. 2010. Effects of fungicides on *in vitro* spore germination and mycelial growth of the phytopathogens *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* (phoma stem canker of oilseed rape). *Pest Management Science*, 66, 396–405
- EFSA (European Food Safety Authority). 2008. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substances sodium 5-nitroguaiacolate, sodium o-nitrophenolate and sodium p-nitrophenolate. *EFSA Journal*, 7(4), 191r. DOI: 10.2903/j.efsa.2009.191r.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2013. Guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA Journal*, 11(7), 3295. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3295.
- Eickermann M, Delfosse P, Hausmann JF, Hoffmann L. 2008. Resistance of pollen beetle (*Meligethes aeneus* F.) to pyrethroids – Results of a national monitoring in Luxembourg. In: *Proceedings of abstracts from IOBC oilseed rape meeting*, Sept 29–Oct 1, 2008. Paris: IOBC. pp. 44–44.
- Eisler R. 2007. *Eisler's encyclopedia of environmentally hazardous priority chemicals*. Amsterdam/Oxford: Elsevier. 950 str. ISBN: 978-0-444-53105-6.

- Engel P, Martinson VG, Moran NA. 2012. Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(27) 11002–11007.
- Environment Canada. 2007. Biological test method: Test for measuring survival and reproduction of springtails expose to contaminants in soil - September 2007. EPS 1/RM/47.
- Erban T, Kamler M, Šulcová K, Titěra D, Seifrtová M, Riddellová K, Hubert J, Hortová B, Halešová T. 2016. Hodnocení vlivu xenobiotik na včely v průběhu ontogeneze metodami proteomické, metabolické a genomické analýzy: certifikovaná metodika. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 36 s. ISBN: 978-80-7427-210-3.
- Evans CE, Butler AC, Evans E. 2010. *Why Do Bees Buzz?: Fascinating Answers to Questions about Bees*. Rutgers University Press. New Jersey. s. 257. ISBN: 978-08-13547-21-3
- Evropská komise. 2011. Nařízení komise (EU) č. 544/2011 ze dne 10. června 2011, kterým se provádí nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1107/2009, pokud jde o požadavky na údaje o účinných látkách. Brusel, Belgie.
- Fábry A, Bechyně M, Blažek M, Derco M, Hannich K, Korda J, Kováčik A, Kratochvíl V, Kurzová E, Kutina J, Liška O, Martínek V, Schreier J, Voškeruša J, Zakopal J, Zúkalová H. 1975. Řepka, hořčice, mák a slunečnice. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 358 s. ISBN: neuvedeno.
- Fábry A. 2000. Historie pěstování řepky (*Brassica napus* subsp. *napus*) a řepice (*Brassica rapa* subsp. *oleifera*) na území ČR a SR. *Rostlinná výroba*, 46(1), 43–48.
- Farmer EE, Ryan CA. 1990. Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(19), 7713–7716.
- Feo ML, Eljarrate E, Barceló D, Barceló D. 2010. Determination of pyrethroid insecticides in environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(7)692–705.
- Fereira SA, Boley RA. 1991. *Alternaria brassicae*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria raphani*. Knowledge Master. University of Hawaii. Department of Plant Pathology. Available from: http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/a_brass1.htm (accessed March 2018).

- Feurtado JA, Ambrose SJ, Cutler AJ, Ross ARS, Abrams SR, Kermode AR. 2004. Dormancy termination of western white pine (*Pinus monticola* Dougl. Ex D. Don) seeds is associated with changes in abscisic acid metabolism. *Planta*, 218(4), 630–639.
- Foster J, Ganatra M, Kamal I, Ware J, Makarova K, Ivanova N, Vincze T, Bhattacharyya A, Kapatral V, Kumar S, Posfai J, Vincze T, Ingram J, Moran L, Lapidus A, Omelchenko M, Kyrpides N, Ghedin E, Wang S, Goltsman E, Joukov V, Ostrovskaya O, Tsukerman K, Mazur M, Comb D, Koonin E, Slatko B. 2005. The *Wolbachia* genome of *Brugia malayi*: endosymbiont evolution within a human pathogenic nematode. *PLoS Biology*, 3(4), e121. DOI: 10.1371/journal.pbio.0030121.
- Fountain M, Hopkin SP. 2005. *Folsomia candida* (Collembola): a “standard” soil arthropod. *Annual Review of Entomology*, 50, 201–222.
- Forchsam V, Prchal J. 1960. *Zemědělská výroba v kostce*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 1144 s.
- Fox GL, Coyle-Thompson CA, Bellinger PF, Cohen RW. 2007. Phototactic responses to ultraviolet and white light in various species of *Collembola*, including the eyeless species, *Folsomia candida*. *Journal of Insect Science* 7(1):1-12.
- Fragoroso DB, Jusselino Filho P, Pallini Filho A, BADJI CA. 2002. Action of organophosphate insecticides used to control *Leucoptera coffeella* (Guérin-Meneville) (*Lepidoptera: Lyonetiidae*) on the predator mite *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (*Acari: Phytoseiidae*). *Neotropical Entomology*, 31(3), 463-467.
- Frampton GK. 1999. Spatial variation in non-target organisms of the insecticides chlorpyrifos, cypermethrin and pirimicarb on *Collembola* in winter wheat. *Pesticide Science*, 55(9), 875-886 pp.
- Fрати F, Negri I, Fanciulli PP, Pellecchia M, De Paola V, Scali V, Dallai R. 2004. High levels of genetic differentiation between *Wolbachia*-infected and non-infected populations of *Folsomia candida* (*Collembola, Isotomidae*). *Pedobiologia* 48: 461-468.
- Free JB, Williams IH. 1979. The distribution of insect pests on crops of oilseed rape (*Brassica napus* L.) and the damage they cause. *Journal of Agricultural Science, UK* 92: 139-149

- Fukuto TR. 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental Health Perspectives*, 87, 245–254.
- Górski M. 2003. Żywotność nasion rzepaku ozimego w długoterminowym przechowywaniu. *Biuletyn IHAR*, 228, 157–160.
- Graora D, Sivčev I, Sivčev L, Bьchs W, Tomić V, Dudić B, Gotlin-Čuljak T. 2015. Biology and harmfulness of *Brassica* pod midge (*Dasineura brassicae* Winn.) in winter oilseed rape. *Pesticidi i fitomedicina*, 30(2), 85-90
- Großkinsky DK, Naseem M, Abdelmohsen UR, Plickert N, Engelke T, Griebel T, Zeier J, Novák O, Strnad M, Pfeifhofer H, van der Graaff E, Simon U, Roitsch T. 2011. Cytokinins mediate resistance against *Pseudomonas syringae* in tobacco through increased antimicrobial phytoalexin synthesis independent of salicylic acid signaling. *Plant Physiology*, 157(2), 815–830.
- Großkinsky DK, Tafner R, Moreno MV, Stenglein SA, García de Salamone IE, Nelson LM, Novák O, Strnad M, van der Graaff E, Roitsch T. 2016. Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. *Scientific Reports*, 6, 23310. DOI: 10.1038/srep23310.
- Grove MD, Spencer GF, Rohwedder WK, Mandava N, Worley JF, Warthen JD Jr., Steffens GL, Flippen-Anderson JL, Cook JC Jr. 1979. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature*, 281(5728), 216–217.
- Gulden RH. 2003. Secondary seed dormancy and the seedbank ecology of *Brassica napus* L. in western Canada: Ph. D dissertation. Saskatoon: University of Saskatchewan, Department of Plant Sciences. 119 p.
- Gulden RH, Shirliffe SJ, Thomas AG. 2003. Secondary seed dormancy prolongs persistence of volunteer canola in western Canada. *Weed Science*, 51(6), 904–913.
- Gunn A, Cherrett J. 1993. The exploitation of food resources by soil meso- and macro invertebrates. *Pedobiologia* 37, 303-320.
- Gunstone FD. 2004. Rapeseed and canola oil: production, processing, properties and uses. Boca Raton, FL: CRC Press. 240 p. ISBN: 978-1-405-14792-7.

- Gupta VK, Singh S, Agrawal A, Siddiqi NJ, Sharma B. 2015. Phytochemicals mediated remediation of neurotoxicity induced by heavy metals. *Biochemistry Research International*, 2015, 534769. DOI: 10.1155/2015/534769.
- Gupta VK, Kumar A, Siddiqi NJ, Sharma B. 2016. Rat brain acetyl cholinesterase as a biomarker of cadmium induced neurotoxicity. *Open Access Journal of Toxicology*, 1(1), 555553. DOI: 10.19080/oajt.2016.01.555553.
- Gustafsson N. 2007. Discussion. *Tellus* 59A.
- Habekotté B. 1996. Winter oilseed rape, analysis of yield formation and crop type desing for higher yield potential: Ph.D. thesis, Wageningen: Wageningen Agricultural University. 156 str.
- Hampton JG, Hebblethwaite PD. 1985. The effect of the growth regulator paclobutrazol (PP333) on the growth, development and yield of *Lolium perenne* grown for seed. *Grass and Forage Science*, 40(1), 93–101.
- Hampton JG, Rolston MP, Hare MD. 1987. Growth regulator effects on seed production of *Bromus willdenowii* Kunth. cv. Grassland Matua.
- Hansen LM. 2003. Insecticide-resistant pollen beetles (*Meligethes aeneus* F) found in Danish oilseed rape (*Brassica napus* L.) fields. *Pest Managment Science*, 59(9), 1057–1059.
- Hawkins NJ, Bass C, Dixon A, Neve P. 2019. The evolutionary origins of pesticide resistance. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 94(1), 135–155.
- Hayat S, Ahmad A. 2007. Salicylic acid – a plant hormone. Dordrecht: Springer. 401 p. ISBN: 978-1-4020-5183-8.
- He W, Guo W, Qian Y, Zhang S, Ren D, Liu S. 2015. Synergistic hepatotoxicity by cadmium and chlorpyrifos: disordered hepatic lipid homeostasis. *Molecular Medicine Reports*, 12(1), 303–308.
- Hebblethwaite PD. 1987. The chemical control of growth, development and yield in *Lolium perenne* grown for seed. In: *Proceedings of International Seed Conference*, 15.–19. 6. 1987. Tune, Denmark. pp. 9–9.
- Hebblethwaite PD, Burbidge A. 1975. The effect of maleic hydrazide and chlorocholine chloride on the growth, seed yield components and seed yield of S.23 ryegrass. *Journal of Agricultural Science*, 86(2), 343–353.

- Heckman NL, Elthon TE, Horst GL, Gaussoin RE. 2002. Influence of trinexapac-ethyl on respiration of isolated wheat mitochondria. *Crop Science*, 42(2), 423–427.
- Heide OM. 1994. Control of flowering and reproduction in temperate grasses. *New Phytologist*, 128(2), 347–362.
- Hejnák V, Zámečnicková B, Zámečník J, Hnilička F. 2005. Fyziologie rostlin. ČZU v Praze. 1. vydání. 159 s.
- Heimbach U. 2005. „Ausschuss für Resistenzfragen – Insektizide und Akarizide“, Bericht über das erste Treffen im Februar 2005 in der BBA in Braunschweig. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 57(8), 172–173.
- Henny CJ, Blus LJ, Kolbe EJ, Fitzner RE. 1985. Organophosphate insecticide (famphur) topically applied to cattle kills magpies and hawks. *Journal of Wildlife Management*, 49(3), 648–658.
- Herrero-Hernández E, Andrades MS, Marín-Benito JM, Sánchez-Martín MJ, Rodríguez-Cruz MS. 2011. Field-scale dissipation of tebuconazole in a vineyard soil amended with spent mushroom substrate and its potential environmental impact. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(6), 1480–1488.
- Hernández AF, Parrón T, Tsatsakis AM, Requena M, Alarcón R., López-Guarnido O. 2013. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. *Toxicology*, 307, 136–145.
- Hertig M, Wolbach SB. 1924. Studies on *Rickettsia*-like micro-organisms in insects. *Journal of Medical Research*, 44(3), 329–374.
- Holec J, Soukup J. 2006. Pěstování transgenních odrůd polních plodin. In: Kolektiv: Geneticky modifikované organismy [sborník GMO 2006]. Praha: Mze a ČZU v Praze, 2006. 45 s. s. 10 – 16.
- Hopkin SP. 1997. *Biology of springtails: Collembola (Insecta)*. Oxford University Press. Oxford.
- Hosokawa T, Koga R, Kikuchi Y, Meng X-Y, Fukatsu T. 2010. *Wolbachia* as a bacteriocyte-associated nutritional mutualist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(2), 769–774.

- ISO. 1999. Soil Quality -- Inhibition of Reproduction of *Collembola (Folsomia candida)* by Soil Pollutants. International Standards Organization, Geneva, Switzerland, pp. 1-16.
- Johansen CA. 1977. Pesticides and pollinators. *Annual Review of Entomology*, 22(1), 177–192.
- Johansson A. 2006. "*Verticillium longisporum*, infection, host range, prevalence and plant defence responses". Licentiate thesis. ISBN: 91-576-7153-2.
- Johnson RM. 2015. Honey bee toxicology. *Annual Review of Entomology*, 60, 415–434.
- Johnston DT, Faulkner JS. 1985. The effect of growth retardants on sward of normal and dwarf cultivars of red fescue. *Journal of Sports Turf Research*, 61, 59–64.
- Jursík M, Kočárek M, Suchanová M, Kolářová M, Šuk J. 2019. Effect of irrigation and adjuvant on residual activity of pendimethalin and metazachlor in kohlrabi and soil. *Plant, Soil and Environment*, 65(8), 387-394.
- Chaney WR, Bai S. 2004. Evidence of growth stimulation by low concentration of gibberellin synthesis inhibitors. In: *Proceeding of the PGRSA meeting 2004*. pp. 44-54.
- Chao SL, Dennehy TJ, Casida JE. 1997. Whitefly (*Hemiptera: Aleyrodidae*) binding site for imidacloprid and related insecticides: a putative nicotinic acetylcholine receptor. *Journal of Economic Entomology*, 90(4), 879–882.
- Chareonviriyaphap T, Bangs MJ, Suwonkerd W, Kongmee M, Corbel V, Ngoen-Klan R. 2013. Review of insecticide resistance and behavioral avoidance of vectors of human diseases in Thailand. *Parasites & Vectors*, 6, 280. DOI: 10.1186/1756-3305-6-280.
- Chen L, Qu G, Sun X, Zhang S, Wang L., Sang N, Du Y, Liu J, Liu S. 2013. Characterization of the interaction between cadmium and chlorpyrifos with integrative techniques in incurring synergistic hepatotoxicity. *PLoS One*, 8(3), e59553. DOI: 10.1371/journal.pone.0059553.
- Kamler M, Nesvorna M, Stara J, Erban T, Hubert J. 2016. Comparison of tau-fluvalinate, acrinathrin, and amitraz effects on susceptible and resistant populations of *Varroa destructor* in a vial test. *Experimental and Applied Acarology*, 69(1), 1–9.
- Kaneda S, Kaneko N. 2002. Influence of soil quality on the growth of *Folsomia candida* (Willem) (*Collembola*). *Pedobiologia* 46, 428-439.
- Kandel H, Knodel JJ. 2011. Canola production field guide. North Dakota State University.

- Kaprálek F. 1954. Biosyntéza riboflavinu pro organismy. *Živa* (5). str.165.
- Katan J. 2000. Physical and cultural methods for the management of soil-borne pathogens. *Crop Protection*, 19(8–10), 725–731.
- Kazda J, Jindra Z, Kabiček J, Prokinová E, Ryšánek P, Stejskal V. 2003. Choroby a škůdci polních plodin, ovoce a zeleniny. 3. vydání. Praha: Martin Sedláček. 158 s. ISBN 80-86726-03-7.
- Kazda J, Škeřík J. 2008. Metodika integrované ochrany řepky. Praha: SPZO, 80 s. ISBN 978-80-87065-08-2.
- Kazda J, Škeřík J, Baranyk P, Herda G, Nerad D, Volf M. 2008a. Metodika integrované ochrany řepky. Praha: SPZO. 80 s. ISBN: 978-80-87065-08-2.
- Kazda J, Plachká E, Spitzer T. 2008b. Řepka, hořčice: metodika ochrany rostlin proti chorobám, škůdcům a plevelům. Kroměříž: Agrotest fyto. 29 s.
- Kazda J, Mikulka J, Prokinová E. 2010. Encyklopedie ochrany rostlin: polní plodiny. Praha: Profi Press. 399 s. ISBN: 978-80-86726-34-2.
- Kermode AR. 2005. "Role of Abscisic Acid in Seed Dormancy". *J Plant Growth Regul.* **24** (4): 319–344. doi:10.1007/s00344-005-0110-2.
- Kocourek F, Stará J. 2014: Antirezistentní strategie jako součást integrované ochrany rostlin proti škůdcům, *Agromanuál* 4, 78-81.
- Kocourek F, Stará J, Herda G. 2007. Rizika výskytu rezistentních populací blýskáčka řepkového v ČR. In: 24. vyhodnocovací seminář Systém výroby řepky systém výroby slunečnice. 21.–22. 11. Hluk, Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin, SPZO s.r.o. a Dolňácko, a.s. Hluk: 106–114.
- Kocourek F, Havel J, Hovorka T, Kazda J, Kolařík P, Kovaříková K, Ripl J, Skuhrovec J, Seidenglanz M, Šafář J. 2017. Ochrana řepky proti živočišným škůdcům na podzim bez mořidel na bázi neonikotinoidů: metodika. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby. 97 s. ISBN: 978-80-7427-251-6.
- Kocourek F, Havel J, Hovorka T, Jursík M, Kazda J, Kolařík P, Plachká E, Skuhrovec J, Seidenglanz M, Šafář J. 2018. Metodika integrované ochrany řepky vůči škodlivým

- organismům vyjma podzimních škůdců: certifikovaná metodika. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby. 114 s. ISBN: 978-80-7427-300-1.
- Kocourek F, Stará J, Herda G. 2007. Rizika výskytu rezistentních populací blýskáčka řepkového v ČR. In: 24. vyhodnocovací seminář Systém výroby řepky, systém výroby slunečnice. 21.–22. 11. Hluk, Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin, Hluk: SPZO a Dolňácko. s. 106–114.
- Kočí V, Mocová K. 2009. Ekotoxikologie pro chemiky. 1. vydání. Praha: Vydavatelství VŠCHT. 199 s. ISBN: 978-80-7080-699-9.
- Koganemaru R, Miller DM, Adelman ZN. 2013. Robust cuticular penetration resistance in the common bed bug (*Cimex lectularius* L.) correlates with increased steady-state transcript levels of CPR-type cuticle protein genes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 106(3), 190–197.
- Koike ST, Gladders P, Paulus AO. 2007. *Vegetable diseases: a color handbook*. Burlington, 07-5. MA: Academic Press. 448 p. ISBN: 978-0-12-373675-8.
- Koprna R. 2008. Reálné možnosti a budoucnost šlechtění ozimé řepky. In: Kolektiv: Řepka, mák, hořčice [sborník referátů Hluk]. 1. vydání. Praha: ČZU, 2008. s. 156 – 166. ISBN 978-80-87065-07-5.
- Kozek WJ, Rao RU. 2007. The discovery of *Wolbachia* in Arthropods and Nematodes – a historical perspective. In: Hoerauf A, Rao RU. (eds) *Wolbachia: a bug's life in another bug*. Issues in infectious diseases, volume 5. Basel: Karger. pp. 1–14.
- Krogh PH. 2009. Toxicity testing with the collembolans *Folsomia fimetaria* and *Folsomia candida* and the results of a ringtest. Danish Environmental Protection Agency, Miljøstyrelsen, Denmark.
- Kubátová-Hiršová H. 2014. Ochrana včel a neonikotinoidy. *Ochrana přírody*, 69(1), 18–20.
- Kutcher HR, Turkington TK, Clayton GW, Harker KN. 2013. Response of herbicide-tolerant canola (*Brassica napus* L.) cultivars to four row spacings and three seeding rates in a no-till production system. *Canadian Journal of Plant Science*, 93(6), 1229–1236.
- Kutina J. 1988. Regulátory růstu a jejich využití v zemědělství a zahradnictví. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: SZN. 414 s.

- Kužma Š. 2009. Evidence použití přípravků na ochranu rostlin. In: Rostlinolékař. 6/2009. s. 35
- Legrand M, Kauffmann S, Geoffroy P, Fritig B. Biological function of pathogenesis-related proteins: Four tobacco pathogenesis-related proteins are chitinases. Proceeding of National Academy of Sciences. 1987; 84: 6750-6754.
- Lei G, Shen, M, Li, Z-G, Zhang B, Duan K-X, Wang N, Cao Y-R, Zhang W-K, Ma B, Ling H-Q, Chen S-Y, Zhang J-S. 2011. EIN2 regulates salt stress response and interacts with a MA3 domain-containing protein ECIP1 in *Arabidopsis*. Plant, Cell & Environment, 34(10), 1678–1692.
- Leubner-Metzger G, Meins FJ. 1999. Functions and regulation of plant β -1,3-glucanases (PR -2). In: Datta, S. K., Muthukrishnan, S. eds. Pathogenesis-Related Proteins in Plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 77-105.
- Li Y, Fallon A. 2015. Phylogenetic analysis of *Wolbachia* from *Folsomia candida* (*Collembola: Isotomidae*) via sequences from *WspB* and ribosomal protein genes. The FASEB Journal, 29(Suppl. 1), LB85.
- Liang Y, Zhan J, Liu D, Luo M, Han J, Liu X, Liu C, Cheng Z, Zhou Z, Wang P. 2019. Organophosphorus pesticide chlorpyrifos intake promotes obesity and insulin resistance through impacting gut and gut microbiota. Microbiome, 7, 19. DOI: 10.1186/s40168-019-0635-4.
- Liu N, Zhu F, Xu Q, Pridgeon JW, Gao X. 2006. Behavioral change, physiological modification, and metabolic detoxification: mechanisms of insecticide resistance. Acta Entomologica Sinica, 49(4), 671–679.
- Lockwood JA, Sparks TC, Sory RN. 1984. Evolution of insect resistance to insecticides: a reevaluation of the roles of physiology and behavior. Bulletin of the Entomological Society of America, 30(4), 41–51.
- Lom J. 1995. *Wolbachia*: o složitosti parazitohostitelských vztahů. Vesmír, 74(12), 667–667.
- Ma Z, Michailides TJ. 2005. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. Crop Protection, 24(10), 853–863.

- Mabubu JI, Nawaz M, Cai W, Zhao J, He Y, Hua H. 2017. Ecotoxicity of the neonicotinoid insecticides imidacloprid and thiacloprid to the soil-dwelling anthropod *Folsomia candida* (Collembola). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 90(4), 323–333.
- Marcroft, S. Van de Wouw, A. Salsibury, P. Potter, T. Howlett, B. 2012. Effect of rotation of canola (*Brassica napus*) cultivars with different compliments of blackleg resistance genes on disease severity. *Plant Pathology*, 61(5), 934–944.
- Marrs RH, Frost AJ, Plant RA. 1991. Effects of herbicide spray drift on selected species of nature conservation interest: The effects of plant age and surrounding vegetation structure. *Environmental Pollution*, 69(2-3), 223-235.
- Marrs RH, Frost AJ, Plant RA, Lunnis P. 1993. Determination of buffer zones to protect seedlings of non-target plants from the effects of glyphosate spray drift. *Agriculture, ecosystems & environment*, 45(3-4), 283-293
- Matthews GA. 2008. Pesticide application methods. 3rd edition. Blackwell Science, London, United Kingdom.
- Mazáková J. 2018. Prezentace Nechemická ochrana rostlin.
- Mazorra, L. M., Nunez, M., Hechavarria, M., Coll, F., & Sánchez-Blanco, M. J. (2002). Influence of brassinosteroids on antioxidant enzymes activity in tomato under different temperatures. *Biologia Plantarum*, 45(4), 593-596.
- McFall-Ngai M, Hadfield MG, Bosch TCG, Carey HV, Diomazet-Lošo T, Douglas AE, Dubilier N, Eberl G, Fukami T, Gilbert SF, Hentschel U, King N, Kjelleberg S, Knoll AH, Kremer N, Mazmanian SK, Metcalf JL, Neelson K, Pierce NE, Rawls JF, Reid A, Ruby EG, Rumpho M, Sanders JG, Tautz D, Wernegreen JJ. 2013. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(9), 3229–3236.
- Mcgraw E, O'Neill S. 2004. *Wolbachia pipientis*: intracellular infection and pathogenesis in *Drosophila*. *Current Opinion in Microbiology*, 7(1), 67–70.
- Menta C. 2012. Soil fauna diversity-function, soil degradation, biological indices, soil restoration. *Biodiversity conservation and utilization in a diverse world*, 49-94

- Metcalf RL. 1989. Insect control. In: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. Weinheim: Wiley-VCH.
- Mikulová A. 2019. Zhodnocení vlivu pesticidů na rostliny a nečlívové organismy: inženýrská diplomová práce. Praha: Katedra ochrany rostlin, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita, Praha. 83 s.
- Monosson E. 2005. Chemical mixtures: considering the evolution of toxicology and chemical assessment. *Environ Health Perspect* 113:383–390.
- Moran NA, Baumann P. 2000. Bacterial endosymbionts in animals. *Current Opinion in Microbiology*; 3(3), 270–275.
- Moran NA, Jarvik T. 2010. Lateral transfer of genes from fungi underlies carotenoid production in aphids. *Science*; 328(5978), 624–627.
- Moriyama M, Nikoh N, Hosokawa T, Fukatsu T. 2015. Riboflavin provisioning underlies *Wolbachia*'s fitness contribution to its insect host. *mBio*, 6(6), e01732-15. DOI: 10.1128/mBio.01732-15.
- Motta EVS, Raymann K, Moran NA. 2018. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(41), 10305–10310.
- Mrówczyński M, Praczyk T, Wachowiak H, Korbas M, Gwiazdowski R. 2006. Integrovaná ochrana řepky před škůdci, chorobami a pleveľy v Polsku. In: Sborník referátů z konference s mezinárodní účastí – „Řepka, mák, hořčice 2006“. Praha 8. 2. 2006, Hrotovice 9. 2. 2006. Praha: ČZU. s. 103–116.
- Munees A, Mohammad SK. 2011. Assessment of plant growthpromoting activities of rhizobacterium *Pseudomonas putia* underinsecticide-stress. *Microbiology Journal*, 1–11, ISSN: 2153-0696.
- Muñoz-Leoz B, Ruiz-Romera E, Antigüedad I, Garbisu C. 2011. Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(10), 2176–2183.
- Mushegian AA, Ebert D. 2016. Rethinking “mutualism” in diverse host-symbiont communities. *BioEssays*, 38(1), 100–108.

- Nardi F, Spinsanti G, Boore JL, Carapelli A, Dallai R, Frati F. 2003. Hexapod origins: monophyletic or paraphyletic? *Science*, 299(5614), 1887-1889.
- Neto A, De André D, Prisco JT, Enéas-Filho J, de Lacerda CF, Silva JV, da Costa PHA, Gomes-Filho E. 2004. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16(1), 31–38.
- Neuhaus JM. Plant chitinases (PR-3, PR-4, PR-8, PR-11). In “Pathogenesis related proteins in plants”, eds. Datta, S.K. and Mathukrishnan, S. CRC Press, Boca Raton, pp. 77-105; 1999.
- Niki T, Mitsuhashi I, Seo S, Ohtsubo N, Ohashi Y. Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. *Plant Cell Physiol.* 1998; 39: 500-507 pp.
- Nikoh, N, Hosokawa T, Moriyama M, Oshima K, Hattori M, Fukatsu T. 2014. Evolutionary origin of insect–*Wolbachia* nutritional mutualism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(28), 10257–10262.
- Nikonorow M, Bańkowska J, Ćwiartniewska E, Urbanek-Karlowska B, Łuczak J. 1983. *Pesticidy a toxicita prostredia*. 1. vydání. Bratislava: Príroda. 202 s.
- Nkya TE, Akhouayri I, Poupardin R, Batengana B, Mosha F, Magesa S, Kisinza W, David J-P. 2014. Insecticide resistance mechanisms associated with different environments in the malaria vector *Anopheles gambiae*: a case study in Tanzania. *Malaria Journal*, 13, 28. DOI: 10.1186/1475-2875-13-28.
- Nordström A, Tarkowski P, Tarkowska D, Norbaek R, Åstot C, Dolezal K, Sandberg G. 2004. Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin–cytokinin-regulated development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(21), 8039-8044
- NRC (National Research Council). 1993. *Pesticides in the Diets of Infants and Children*. Washington, DC: National Academy Press.

- Obrigawitch, T. T., Cook, G., & Wetherington, J. (1998). Assessment of effects on non-target plants from sulfonylurea herbicides using field approaches. *Pesticide science*, 52(3), 199-217.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 2009. Test No. 232: Collembolan Reproduction Test in Soil, OECD Publishing, Paris, France, DOI: 10.1787/9789264076273-en.
- Oesch F, Fabia E, Guth K, Landsiedel R. 2014. Xenobiotic-metabolizing enzymes in the skin of rat, mouse, pig, guinea pig, man, and in human skin models. *Arch. Toxicol.* 88, 2135–2190. doi: 10.1007/s00204-014-1382-8.
- Oliakov IMP, Humakov EMS. Velká sovětská encyklopedie. 3.vydání. 1970-1979.
- Onstad DW. 2008. *Insect Resistance Management: Biology, Economics and Prediction*. Academic Press. Amsterdam. 305 s.
- Osborne DJ, McManus MT. 2005. *Hormones, signals and target cells in plant development*. Cambridge University Press. p. 158. ISBN: 978-0-521-33076-3.
- Patil NS, Lole KS, Deobagkar DN. 1996. Adaptive larval thermotolerance and induced cross-tolerance to propoxur insecticide in mosquitoes *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *Medical and Veterinary Entomology*, 10(3), 277–282.
- Parnell J, Curtis T. 2012. *Webb's an Irish flora*. 8th edition. Cork: Cork University Press. 504 p. ISBN: 978-1-85918-478-3.
- Pastorek J, Podpěra V, Syrový O. 2002. *Technologické systém rostlinné výroby*. 1. vydání. Praha: Výzkumný ústav zemědělské techniky, 2002. 95 s. ISBN 80-238-9956-2.
- Pavela R, Kazda, J, Herda G. 2009. Effectiveness of Neem (*Azadirachta indica*) insecticides against *Brassica* pod midge (*Dasineura brassicae* Winn.). *Journal of Pest Science*, 82(3), 235-240.
- Pereira JL, Antunes SC, Castro BB, Marques CR, Gonçalves AMM, Gonçalves F, Pereira R. 2009. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology*, 18(4), 455–463.
- Perucci P, Dumontet S, Bufo SA, Mazzatura A, Casucci C. 2000. Účinky organických změn a úpravy herbicidů na půdumikrobiální biomasa. *Biol. Fertil. Půdy* 32, 17–2

- Pilz Ch, Keller S. 2006. Pilzkrankheiten bei adulten Rapsglanzkäfern. *Agrarforschung*. 13 (8). 353 – 355 pp.
- Plachká E, Poslušná J, Mazáková J. 2016. Testování citlivosti/rezistence houbových patogenů řepky olejky – *Sclerotinia sclerotiorum*, *Leptosphaeria maculans* a *L. biglobosa* k fungicidům: certifikovaná metodika. 1. vydání. Opava: OSEVA PRO, o. z. Výzkumný ústav olejin Opava. 36. s. ISBN: 978-80-905808-1-7.
- Ponge JF. 1991. Food resources and diets of soil animals in a small area of scots pine litter. *Geoderma* 49, 33-62.
- Price NR. 1991. Insect resistance to insecticides: mechanisms and diagnosis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 100(3), 319–326.
- Procházka S, Šebánek J. 1997. Regulátory rostlinného růstu. Praha: Academia. 395 s. ISBN: 80-200-0597-8.
- Procházka S, Macháčková I, Krekule J, Šebánek J. 1998. Fyziologie rostlin. 1. vydání. Praha: Academia. 484 s. ISBN: 80-200-0586-2.
- Prokinová E. 2010. Pesticid je....*Úroda*. 58 (1). 53 – 55
- Prokinová E, Kazda, J, Mikulka J, Soukup J, Šaroun J, Vaculík A, Vašák J, Volf M. 2006. Ziskové pěstování řepky ozimé. DAS Praha. Praha. 64 s. ISBN: neuvedeno.
- Prokop M. 2010. Vznik a faktory ovlivňující rezistenci hmyzích škůdců vůči insekticidům. *Agromanuál*. 7. (5). 46-47.
- Prokop M. 2011. Obrana hmyzích škůdců před účinky insekticidních přípravků. *Agromanuál*. 8. (6). 34-35.
- Rademacher W. 2000. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 501–531.
- Rasul M, Shah J, Shah ZN, Jasmin, Ishrat S. 2001. Effect of pesticides on soil microorganisms. *American Laboratory*, 33, 24–25.
- Rathke G-W, Behrens T, Diepenbrock W. 2006. Integrated nitrogen management strategies to improve seed yield, oil content and nitrogen efficiency of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). A review. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 117, 80–108.

- Raymann K, Motta EVS, Girard C, Riddington IM, Dinser JA, Moran NA. 2018. Imidacloprid decreases honey bee survival rates but does not affect the gut microbiome. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(13), e00545-18. DOI: 10.1128/AEM.00545-18.
- Regupathy A, Ramasubramanian T, Ayyasamy R. 2004. Rationale behind the use of insecticide mixtures for the management of insecticide resistance in India. *Food, Agriculture and Environment*, 2(2): 278–284.
- Reinbothe C, Springer A, Samol I, Reinbothe S. 2009. Plant oxylipins: role of jasmonic acid during programmed cell death, defence and leaf senescence. *FEBS Journal*, 276(17), 4666–4681.
- Reynolds WN. 2008. Imidacloprid insecticide treatments for Hemlock woolly adelgid, *Adelges tsugae* Annand (*Hemiptera: Adelgidae*), Affect a non-target soil arthropod community surrounding Eastern Hemlock, *Tsuga canadensis* (L.) Carriere [MSc. Thesis]. University of Tennessee, Knoxville, United States of America.
- Rejšek K, Gryndler M, Miko L, Šantrůčková H. 2006. Život v půdě. 1: čtvrtý rozměr bedrušek a škrobáků. *Vesmír*, 85(4), 212–219.
- Ren H, Gao Z, Chen L, Wei K, Liu J, Fan Y, Davies WJ, Jia W, Zhang J. 2007. Dynamic analysis of ABA accumulation in relation to the rate of ABA catabolism in maize tissues under water deficit. *Journal of Experimental Botany*, 58(2), 211–219.
- Rifai HS, Newell CJ, Gonzales JR, Wilson JT. 2000. Modeling natural attenuation of fuels with BIOPLUME III. *Journal of Environmental Engineering*, 126(5), 428-438.
- Rivas-San Vicente M, Plasencia J. June 2011. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3321–3338.
- Robert F. 2013. What happens when weed killers stop killing? *Science*, 341(6152), 1329–1329.
- Roh J, Kumhála F, Heřmánek P. 2003. Stroje používané v rostlinné výrobě. 2. vydání. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. 269 s. ISBN 80-213-0614-9.

- Rondeau G, Sánchez-Bayo F, Tennekes HA, Decourtye A, Ramírez-Romero R, Desneux N. 2015. Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. *Scientific Reports*, 4, 5566. DOI: 10.1038/srep05566.
- Rusek J. 2000. Živá půda (1) Bohatost a rozmanitost života v půdě. *Živa*, 48(1):25–27.
- Ryals JA, Neuenschwander UH, Willits MG, Molina A, Steiner HY, Hunt MD. Systemic acquired resistance. *Plant Cell*. 1996;8: 1809-1819 pp.
- Seifert R. 1985. Pesticidy. Praha: SNTL, 244 s.
- Sengupta AK. 2002. "Principles of Heavy Metals Separation". In Sengupta, AK (ed.). *Environmental Separation of Heavy Metals: Engineering Processes*. Lewis. ISBN: 978-1566768849.
- Seo M, Koshiha T. 2002. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*, 7 (1), 41–48.
- Serbus LR, Rodriguez BG, Sharmin Z, Momtaz AZ, Christensen S. 2017. Predictive genomic analyses inform the basis for vitamin metabolism and provisioning in bacteria-arthropod endosymbioses. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(6), 1887-1898 pp.
- Sharma B, Singh S, Siddiqi NJ. 2014. Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. *BioMed Research International*, 2014, 640754. DOI: 10.1155/2014/640754.
- Shaw DR, Arnold JC. 2002. Weed control from herbicide combinations with glyphosate. *Weed Technology*, 16(1), 1–6.
- Schoonhoven LM, Van Loon B, van Loon JJ, Dicke M. 2005. *Insect-plant biology*. Oxford University Press on Demand.
- Simard M-J, Légère A, Pageau D, Lajeunesse J, Warwick S. 2002. The frequency and persistence of volunteer canola (*Brassica napus*) in Québec cropping systems. *Weed Technol.* 16: 433–439 pp.
- Siqueira HAA, Guedes RNC, Picanço MC. 2000. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelichiidae). *Agric. Forest Entomol.* 2: 147 – 153.
- Singh N, Gupta VK, Kumar A, Sharma B. 2017. Synergistic effects of heavy metals and pesticides in living systems. *Frontiers in chemistry*, 5, 70.

- Sieling K, Kage H. 2006. N balance as an indicator of N leaching in an oilseed rape – winter wheat–winter barley rotation. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 115, 261–269 pp.
- Schweiz F. 2012. Mikrobielle Rapsglanzkäfern-bekämpfung: erte Erfahrungen. *Raps*. 30 (1). 7.
- Schlaghamerský J. 2013. Úvod do půdní biologie. Brno: Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědná fakulta Masarykovy univerzity.
- Scheu S. 2002. The soil food web: Structure and perspectives. *European Journal of Soil Biology* 38, 11-20.
- Sicard G. 1987. The effect of paclobutrazol treatment on seed production of perennial ryegrass and red fescue. In: *Proceedings of international seed conference*, 15.–19. 6. 1987. Tune, Denmark. 5 s.
- Silva CdLE, Brennan N, Brouwer JM, Commandeur D, Verweij RA, van Gestel CAM. 2017. Comparative toxicity of imidacloprid and thiacloprid to different species of soil invertebrates. *Ecotoxicology*, 26(4), 555–564.
- Singh VK, Pandey P. 2012. Physical methods in management of plant diseases. In: Singh VK, Singh Y, Singh A. (eds) *Eco-friendly innovative approaches in plant disease management*. New Delhi: International Book Distributors and Publisher. pp. 21–30.
- Slater R, Nauen R. 2007. The development and nature of pyrethroid resistance in the pollen beetle (*Meligethes aeneus*) in Europe. Presentation Abstract, EPPO Workshop on insecticide resistance of *Meligethes* spp. (pollen beetle) on oilseed rape. Berlin, 3–5 September 2007.
- Smith RF, Apple JL, Bottrell DG. 1976. The origins of integrated pest management concepts for agricultural crops. In: Apple JL, Smith RF. (eds) *Integrated pest management*. Boston, MA: Springer. pp. 1–16.
- Smutný V. 2008. Ozimá řepka. In: Hůla, J. a kol.: *Minimalizace zpracování půdy*. Praha: Vydavatelství Profí Press, s.r.o. 228 s. 132 - 137. ISBN 978-80-86726-28-1.
- Snowdon R, Lühs W, Friedt W. 2006. Oilseed rape. In: Kole C. (ed) *Oilseeds*. Berlin/Heidelberg: Springer. pp. 55–114.

- Sorensen AK, Subbarayalu M, Thangaraj SR. 2016. Physical, mechanical and cultural control of vegetable insects. In: Muniappan R, Heinrichs EA. (eds) Integrated pest management of tropical vegetable crops. Dordrecht: Springer. pp. 131–148.
- Sprague S, Watt M, Kirkegaard JA, Howlett B. 2007. Pathways of infection of *Brassica napus* roots by *Leptosphaeria maculans*. *New Phytologist*, 176(1), 211–222.
- Sparks TC, Nauen R. 2015. IRAC: mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 122–128.
- Srivastava LM. 2002. Plant growth and development: hormones and environment. Amsterdam/Boston, MA: Academic Press. 771 p. ISBN: 978-0-12-660570-9.
- Stahl A, Vollrath P, Samans B, Frisch M, Wittkop B, Snowdon RJ. 2019. Effect of breeding on nitrogen use efficiency-associated traits in oilseed rape. *Journal of Experimental Botany*, 70(6), 1969–1986.
- Stará J, Falta V, Kocourek F. 2009. Metodika hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k insekticidům. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, 1. vyd. 16 str. ISBN: 978-80-7427-020-8
- Stará J, Kocourek F. 2012a. Mechanizmy rezistence škůdců vůči insekticidům a antirezistentní strategie (1.), princip rezistence a metody diagnostiky. *Agromanuál* 3(7), 56–57.
- Stará J, Kocourek F. 2012b. Mechanizmy rezistence škůdců vůči insekticidům a antirezistentní strategie (2.), antirezistentní strategie a příklady rezistence mandelinky bramborové a blýskáčka řepkového vůči insekticidům. *Agromanuál*, 4(7), 60–62
- Stará J, Pekar S, Nesvorna M, Erban T, Vinsova H, Kopecky J, Doskočil I, Kamler M, Hubert J. 2019. Detection of tau-fluvalinate resistance in the mite *Varroa destructor* based on the comparison of vial test and PCR–RFLP of kdr mutation in sodium channel gene. *Experimental and Applied Acarology*, 77(2), 161–171.
- Stark JD. 1992. Comparison of the impact of a neem seed-kernel extract formulation ‘Margosan-O’ and chlorpyrifos on non-target invertebrates inhabiting turf grass. *Pest. Sci.* 36: 293 – 299.

- Stejskal V, Aulický R, Plachý J. 2008. Organofosfáty "ohrožený a vymírající druh" Co nám aktuálně zbývá za postřiky na škůdce? Dezinfekce, Dezinsekce, Deratizace. 17 (2); 55-57 str.
- Stenrød M, Klemsdal SS, Norli HR, Eklo O. 2013. Effects of picoxystrobin and 4-nonylphenol on soil microbial community structure and respiration activity. PLoS One, 8(6), e66989. DOI: 10.1371/journal.pone.0066989.
- Stoll G. 1988. Natural crop protection: based on local farm resources in the tropics and subtropics. 2nd edition. Weikersheim: Josef Margraf Verlag. 188 p. ISBN: 978-3-924333-43-0.
- Streit WR, Entcheva P. 2003. Biotin in microbes, the genes involved in its biosynthesis, its biochemical role and perspectives for biotechnological production. Applied Microbiology and Biotechnology, 61(1), 21–31.
- Strübing U, Lucius R, Hoerauf A, Pfarr KM. 2010. Mitochondrial genes for heme-dependent respiratory chain complexes are up-regulated after depletion of *Wolbachia* from filarial nematodes. International Journal for Parasitology, 40(10), 1193–1202.
- Stygar D, Michalczyk K, Dolezych B, Nakonieczny M, Migula P, Zaak M, Sawczyn T, Karcz-Socha I, Kukla M, Zwirska-Korczala K, Buldak R. 2013. Digestive enzymes activity in subsequent generations of *Cameraria ohridella* larvae harvested from horse chestnut trees after treatment with imidacloprid. Pesticide Biochemistry and Physiology, 105(1), 5–12.
- Sur R, Stork A., Stork PJS. 2003. Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. Bulletin of Insectology 56(1), 35–40.
- Swift, MJ, Heal OW, Anderson JM. 1979. Decomposition in terrestrial ecosystems. Oxford: Blackwell Scientific. 372 p. ISBN: 978-0-632-00378-5.
- Šebánek J. et al. 1983. Fyziologie rostlin. Praha: SZN. 560 s.
- Taiz L, Zeiger E. 2002. Plant physiology. 3rd edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 650 p. ISBN: 978-0-87893-823-0.
- Taylor MJ, Borderstein SR, Slatko B. 2018. Microbe profile: *Wolbachia*: a sex selector, a viral protector and a target to treat filarial nematodes. Microbiology, 164(11), 1345–1347.

- Teixeira L, Ferreira A, Ashburner M. 2008. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biology*, 6(12), 2753–2763.
- Thatheyus AJ, Gnana Selvam AD. 2013. Synthetic pyrethroids: toxicity and biodegradation. *Applied Ecology and Environmental Sciences*, 1(3), 33–36.
- Thimm T, Hoffmann A, Borkott H, Munch JC, Tebbe CC. 1998. The gut of the soil microarthropod *Folsomia candida* (Collembola) is a frequently changeable but selective habitat and a vector for microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(7), 2660–2669.
- Tiilikainen TM, Hokkanen HMT. 2008. Pyrethroid resistance in Finnish pollen beetle (*Meligethes aeneus*) populations – is it around the corner? *EPPA Bulletin*, 38(1), 99–103.
- Tison L, Holtz S, Adeoye A, Kalkan Ö, Irmisch NS, Lehmann N, Menzel R. 2017. Effects of sublethal doses of thiacloprid and its formulation Calypso® on the learning and memory performance of honey bees. *Journal of Experimental Biology*, 220(20), 3695–3705.
- Tomizawa M, Casida JE. 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45, 247–268.
- Tóth P, Hudec K. 2007. Škodcovia a choroby repky olejky – Integrovaná ochrana. Naše pole s.r.o.
- Trunečka K. 1997. Technika a metody v ochraně rostlin I. 1. vydání. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. 120 s. ISBN: 80-7157-196-2.
- Tsai FY, Lin CC, Kao CH (January 1997). "A comparative study of the effects of abscisic acid and methyl jasmonate on seedling growth of rice". *Plant Growth Regulation*. 21 (1): 37–42. doi:10.1023/A:1005761804191.
- Urban J, Vašák J, Pulkrábek J, Pazderů K, Faměra O, Capouchová I, Tomášek J, Adamčík J, Bečka D, Štranc P, Dvořák P, Kuchtová P. 2014. Zemědělské systémy II. (Rostlinná produkce). Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha, Česko.
- van Gestel CAM. 2012. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. *ZooKeys*, 176, 275–296.

- Úřední věstník Evropské unie. 2013. Sdělení Komise v rámci provádění nařízení Komise (EU) č. 284/2013 ze dne 1. března 2013, kterým se stanoví požadavky na údaje o účinných látkách v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1107/2009 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh. 2013/C 95/02.
- Van Huijsduijnen RAMH, Alblas SW, De Rijk RH, Bol JF. 1986. Induction by salicylic acid of pathogenesis-related proteins and resistance to alfalfa mosaic virus infection in various plant species. *Journal of General Virology*, 67(10), 2135–2143.
- van Loon LC. 1985. Pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology* 4(2–3), 111–116.
- Van Loon LC, Van Kammen A. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var ‘Samsun’ and Samsun NN. II. Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology*. 1970; 40: 199-211.
- Van Loon LC, Van Strien EA. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55(2), 85–97.
- Vašák J, Baranyk P, Bartoška J, Bečka D, Bechyně M, Filípek I, Kamler F, Kuchtová P, Matula J, Mikšík V, Nerad D, Novák J, Nozdrovický L, Pawlica R, Prášil I, Prokinová E, Suškevič M, Šedivý J, Tuček P, Vincenc J, Zehnálek P, Zupalová H. 2000. Řepka. Agrospoj. Praha. 321 s. ISBN: 80-239-4236-0.
- Vlot AC, Dempsey DA, Klessig DF. 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology*, 47, 177–206.
- Volf M. 2004. Současná situace v pěstování a odbytu řepky a vliv vstupu ČR do EU. In: Kolektiv: Ziskové pěstování řepky ozimé, Praha: DAS, 40 s. s. 2 – 3.
- Wade A, Lin C-H, Kurkul C, Regan ER, Johnson RM. 2019. Combined toxicity of insecticides and fungicides applied to California almond orchards to honey bee larvae and adults. *Insects*, 10(1), 20. DOI 10.3390/insects10010020.
- Walker L, Wu S. 2017. Pollinators and pesticides. In *International Farm Animal, Wildlife and Food Safety Law* (pp. 495-513). Springer, Cham.

- Walz A, Park S, Slovin JP, Ludwig-Müller J, Momonoki YS, Cohen JD. 2002. "A gene encoding a protein modified by the phytohormone indoleacetic acid". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **99** (3): 1718–23.
- Wang Y, Liu C, Li K, Sun F, Hu H, Li X, Zaho Y, Han C, Zahng W, Duan Y, Liu M, Li X. 2007. *Arabidopsis* EIN2 modulates stress response through abscisic acid response pathway. *Plant Molecular Biology*, 64(6), 633–644.
- Wang K-S, Lu C-Y, Chang S-H. 2011. Evaluation of acute toxicity and teratogenic effects of plant growth regulators by *Daphnia magna* embryo assay. *Journal of Hazardous Materials*, 190(1–3), 520–528.
- Warnecke F, Luginbuhl P, Ivanova N, et al. 2007. Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite. *Nature*. **450**:560–5.
- Wegorek P. 2005. Preliminary data on resistance appearance of pollen beetle PB (*Meligethes aeneus* F.) to selected pyrethroids, organophosphorous and chloronicotynyls insecticides, in 2004 year, in Poland. *Resistant Pest Management Newsletter*, 14(2), 19–21.
- Werren JH, Zhang W, Guo LR. 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 261(1360), 55–63.
- Williams IH. 2010. *Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests*. Dordrecht: Springer Science. 461 p. ISBN: 978-90-481-3982-8.
- Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, Van Kan J, Van Kan L. 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561–580.
- Winter Z. 1906. *Dějiny řemesel a obchodu v Čechách v XIV. a XV. století*. Praha: Česká akademie císaře Františka Josefa pro vědy, slovesnost a umění. 976 s.
- Wiltshire JJJ, Hebblethwaite PD, Esslemont RE, McGilloway DA. 1987. The use of growth regulator RSW0411 in seed crops of *Lolium perenne* L. In: *Proceedings of international seed conference*, 15. –19. 6. 1987. Tune, Denmark. 22 s.
- Wulff JA, Kiani M, Regan K, Eubanks MD, Szczepaniec A. 2019. Neonicotinoid insecticides alter the transcriptome of soybean and decrease plant resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 783. DOI: 10.3390/ijms20030783.

- Wyszowska J, Tomkiel M, Baćmaga M, Borowik A, Kucharski J. 2016. Response of microorganisms and enzymes to soil contamination with a mixture of pethoxamid terbuthylazine. *Environmental Earth Sciences*, 75(18), 1285
- Xu M-Y, Wang P, Sun Y-J, Yang L, Wu Y-J. 2017. Joint toxicity of chlorpyrifos and cadmium on the oxidative stress and mitochondrial damage in neuronal cells. *Food and Chemical Toxicology*, 103, 246–252.
- Yan J, Tsuichihara N, Etoh T, Iwai S. 2007. Reactive oxygen species and nitric oxide are involved in ABA inhibition of stomatal opening. *Plant, Cell & Environment*, 30(10), 1320–1325.
- Yang C, Wang M, Cai W, Li J. 2012. Bensulfuron-methyl biodegradation and microbial parameters in a riparian soil as affected by simulated saltwater incursion. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 40(4), 348–355.
- Yao S. 2010. "Plant Hormone Increases Cotton Yields in Drought Conditions". News & Events. Agricultural Research Service (ARS), U.S. Department of Agriculture.
- Yu H, Sutton JC. 1997. Morphological development and interactions of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in raspberry. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19(3), 237–246.
- Yuan X, Pan Z, Jin C, Ni Y, Fu Z, Jin Y. 2019. Gut microbiota: an underestimated and unintended recipient for pesticide-induced toxicity. *Chemosphere*. 227, 425–434.
- Zaller JG, Moser D, Drapela T, Schmoger C, Frank T. 2008. Insect pests in winter oilseed rape affected by field and landscape characteristics. *Basic and Applied Ecology*, 9(6), 682–690.
- Zettel J, Zettelová U. 1997. Někdo to rád chladné: podivná bionomie chvostoskoka *Ceratophysella sigillata* aktivního v zimě. *Vesmír*, 76(2), 101–104.
- Zhang A, Kaiser H, Maienfisch P, Casida JE. 2000. Insect nicotinic acetylcholine receptor: conserved neonicotinoid specificity of [³H] imidacloprid binding site. *Journal of Neurochemistry*, 75(3), 1294–1303.
- Zhang Z, Tang H, Chen P, Xie H, Tao Y. 2019. Demystifying the manipulation of host immunity, metabolism, and extraintestinal tumors by the gut microbiome. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 4, 41. DOI: 10.1038/s41392-019-0074-5.

- Zhu F, Gujar H, Gordon JR, Haynes KF, Potter MF, Palli SR. 2013. Bed bugs evolved unique adaptive strategy to resist pyrethroid insecticides. *Scientific Reports*, 3, 1456. DOI:
- Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E. 2008. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. *FEMS Microbiol Rev*; **32**: 723–5.
- Zotti M, dos Santos EA, Cagliari D, Christiaens O, Taning CNT, Smaghe G. 2018. RNA interference technology in crop protection against arthropod pests, pathogens and nematodes. *Pest management science*. 74(6), 1239-1250.

Internetové zdroje

- Agromanuál. 2018. Květílka zelná. Available from:
<https://www.agromanual.cz/cz/atlas/skudci/skudce/kvetilka-zelna> (accessed March 2018)
- Bellinger PF, Christiansen KA, Janssens F. 2018. Checklist of the Collembola of the World [1996–2018]. In: Checklist of the Collembola of the World. Available from: <https://www.collembola.org/taxa/collembo.htm> (accessed October 2019).
- Berlanger I, Powelson ML. 2000. Verticillium wilt. Available from:
<https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/VerticilliumWilt.aspx> (accessed July 2019).
- Bittel J. 2014. Second silent spring? Bird declines linked to popular pesticides. *National Geographic*, July 9, 2014. Available from:
<https://www.nationalgeographic.com/news/2014/7/140709-birds-insects-pesticides-insecticides-neonicotinoids-silent-spring/> (accessed August 2019).
- Canola Council of Canada. 2014. Canola encyclopedia. Field characteristics. Tillage. Available from: <https://www.canolacouncil.org/canola-encyclopedia/field-characteristics/tillage/> (accessed January 2019).
- Černý J, Kovařík J, Kulháněk M, Balík J. 2015. Hnojení řepky na podzim. *Agromanuál*, 28. července 2015. Available from: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/vyziva-a-stimulace/hnojeni/hnojeni-repky-na-podzim> (accessed January 2019).

- Černý J, Balík J, Kulhánek M, Sedlář O. 2018. Hnojení ozimé řepky na podzim. Agromanuál, 5. září 2018. Available from: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/vyziva-a-stimulace/hnojeni/hnojeni-ozime-repky-na-podzim> (accessed January 2019).
- ČR (Česká republika). 2014. Vyhláška č. 205/2012 Sb., o obecných zásadách integrované ochrany rostlin. Available from: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-205> (accessed February 2019).
- ČR (Česká republika). 2017a. Zákon č. 147/2002 Sb., o Ústředním kontrolním a zkušebním ústavu zemědělském. Available from: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2002-147> (accessed February 2019).
- ČR (Česká republika). 2017b. Vyhláška č. 327/2012 Sb., o ochraně včel, zvěře, vodních organismů a dalších necílových organismů při použití přípravků na ochranu rostlin. Available from: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-327> (accessed February 2019).
- ČR (Česká republika). 2019a. Zákon č. 252/1997 Sb., o zemědělství. Available from: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-252> (accessed February 2019).
- ČR (Česká republika). 2019b. § 5 zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů. Available from: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-326> (accessed February 2019).
- ČR (Česká republika). 2019c. Vyhláška č. 215/2008 Sb., o opatřeních proti zavlékání a rozšiřování škodlivých organismů rostlin a rostlinných produktů. Available from: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2008-215> (accessed February 2019).
- ČSÚ (Český statistický úřad). 2019. Osevní plochy zemědělských plodin k 31. 05. 2018. Available from: https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystupobjekt&z=T&f=TABULKA&skupId=346&katalog=30840&pvo=ZEM02A&pvo=ZEM02A&evo=v527_!_ZEM02A-2018_1 (accessed September 2019).
- ČSÚ (Český statistický úřad). 2020. Plocha, hektarový výnos a sklizeň vybraných zemědělských plodin: řepka: 2019. Available from: https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystupobjekt&skupId=386&z=T&f=TABULKA&katalog=30840&pvo=ZEM02I&pvo=ZEM02I&str=v889&evo=v1568_!_ZEM02I-2019_1 (accessed February 2020).

- Dlouhá Š, Ivanský T. 2018. Kolik POR spolykají naše pole? Včelaři sobě. Nezávislý informační portál pro včelaře. Available from: <http://www.vcelarisobe.cz/2018/11/kolik-por-spolykaji-nase-pole/> (accessed November 2019).
- EAGRI. 2019. Spotřeba přípravků na ochranu rostlin v roce 2018. Available from: http://eagri.cz/public/web/file/626672/celek_CZ_2018b.pdf (accessed November 2019).
- EAGRI. 2020. Rostlinolékařský portál. Přípravky na OR Available from: http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#rlp|prip|taxonomy|detail:Nurelle%20D (accessed February 2020).
- EC (European Commission). 2011a. Commission Implementing Regulation (EU) No. 540/2011 implementing Regulation (EC) No. 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards the list of approved active substances. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:153:0001:0186:EN:PDF> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2011b. Commission Regulation (EU) No. 544/2011 implementing Regulation (EC) No. 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards the data requirements for active substances. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:155:0001:0066:EN:PDF> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2013. Commission Regulation (EU) No. 545/2011 implementing Regulation (EC) No. 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards the data requirements for plant protection products, OJ L 155, 11. 6. 2011. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32011R0545> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2013b. Commission Regulation (EU) No 547/2011 of 8 June 2011 implementing Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards labelling requirements for plant protection products Text with EEA relevance, OJ L 155, 11. 6. 2011. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32011R0547> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2014a. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the

- field of water policy, OJ L 327, 22. 12. 2000. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32000L0060> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2014b. Directive 2006/118/EC of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on the protection of groundwater against pollution and deterioration, OJ L 372, 27. 12. 2006. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32006L0118> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2015. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption, OJ L 330, 5. 12. 1998. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A31998L0083> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2016. EU Pesticides database – Not approved pesticides. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticidesdatabase/public/?event=activesubstance.selection&language=EN> (accessed February 2019).
- EC (European Commission). 2017. Regulation (EC) No 1185/2009 of the European Parliament and of the Council of 25 November 2009 concerning statistics on pesticides (Text with EEA relevance), OJ L 324, 10. 12. 2009. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32009R1185> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2018. Commission Regulation (EU) No 546/2011 of 10 June 2011 implementing Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards uniform principles for evaluation and authorisation of plant protection products (Text with EEA relevance), OJ L 155, 11. 6. 2011. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32011R0546> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2019a. Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC, OJ L 309, 24. 11. 2009. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32009R1107> (accessed March 2020).

- EC (European Commission). 2019b. Directive 2009/128/EC of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides (Text with EEA relevance), OJ L 309, 24. 11. 2009. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32009L0128> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2019c. Directive 2004/35/CE of the European Parliament and of the Council of 21 April 2004 on environmental liability with regard to the prevention and remedying of environmental damage, OJ L 143, 30. 4. 2004. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32004L0035> (accessed March 2020).
- EC (European Commission). 2018. Sdělení komise Evropskému parlamentu, radě, Evropskému hospodářskému a sociálnímu výboru a výboru regionů. Iniciativa EU týkající se opylovačů. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:52018DC0395&from=EN> (accessed September 2019).
- EC (European Commission). 2020a. Approval active substances. Available from: https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/approval_active_substances/chlorpyrifos_chlorpyrifos-methyl_en (accessed February 2020).
- EC (European Commission). 2020b. Commission Implementing Regulation (EU) 2020/23 of 13 January 2020 concerning the non-renewal of the approval of the active substance thiacloprid, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market, and amending the Annex to Commission Implementing Regulation (EU) No 540/2011 Available from: (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/GA/TXT/?uri=CELEX:32020R0023>) (accessed February 2020).
- ECP (European Crop Protection). 2013. Registering plant protection products in the EU (Report). Available from: http://www.ecpa.eu/sites/default/files/7450_Registration%20brochure_3.pdf or <http://www.ecpa.eu/regulatory-policy-topics/registration-and-placement-pesticides-eumarket> (accessed February 2019).

- EHS (Environmental Health Symposium) 2020. Pesticides and mikrobiom. Available from: <http://environmentalhealthsymposium.com/blog/2019/12/30/pesticides-and-the-microbiome> (accessed March 2020).
- FAO. 1996. Control of water pollution from agriculture - FAO irrigation and drainage paper 55. Available from: <http://www.fao.org/3/w2598e/w2598e00.htm#Contents> (accessed October 2019).
- FAO & ITPS. 2017. Global assessment of the impact of plant protection products on soil functions and soil ecosystems. Rome: FAO. 40 p. Available from: <http://www.fao.org/3/i8168en/I8168EN.pdf> (accessed November 2019).
- Fiala T, Bernardová M. 2015. Podzimní ochrana řepky proti chorobám a regulace růstu. Agromanuál, 24. listopadu 2015. Available from: https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/podzimni_ochrana_repy_proti_chorobam_a_regulace_rustu (accessed November 2019).
- Ground – mag. 2019. Pesticides interaction. Available from: http://grounds-mag.com/mag/grounds_maintenance_pesticide_interactions/ (accessed November 2019).
- Heffer LV, Johnson KB. 2007. White mold. The plant health instructor. Available from: <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/WhiteMold.aspx> (accessed January 2019).
- Helfrich LA, Weigmann DL, Hipkins PA, Stinson ER. 2009. Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts on aquatic systems. Available from: <https://www.pubs.ext.vt.edu/420/420-013/420-013.html> (accessed September 2019).
- Heuzé V, Tran G, Sauvant D, Lessire M, Lebas F. 2017. Rapeseed meal. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. Available from: <https://www.feedipedia.org/node/52> . (accessed January 2019).
- Herbek J. 2012. Canola. Univesity of Kentucky. Available from: <https://www.uky.edu/ccd/sites/www.uky.edu.ccd/files/canola.pdf> (accessed February 2019).

- Herda G. 2008. Rezistence blýskáčka vůči pyrethroidům. In: Listy olejnin: Ochrana proti škodlivým činitelům. Praha. SPZO. Available from: <http://www.spzo.cz/publikace/> (accessed September 2018).
- Housenger J. 2016. Pesticid mixtures and synergistic effects. Available from: https://www.biologicaldiversity.org/campaigns/pesticides_reduction/pdfs/Pesticide_Mixtures_and_Synergistic_Effects.pdf (accessed November 2019).
- Karthikeyan R, Davis LC, Erickson LE, Al-Khatib K, Kulakow P, Barnes PL, Hutchinson SL, Nurzhanova A. 2004. Studies on responses of non-target plants to pesticides: a review. Hazardous Substance Research Center, Kansas State University. Available from: <https://engg.ksu.edu/HSRC/karthipesticide.pdf> (accessed June 2019).
- Johnson EN, Beckie HJ, Warwick S, Shirliffe SJ, Gulden RH, Séguin-Swartz, G, Légère A, Simard MJ, Harker KN, Thomas G. 2004. Ecology and management of volunteer canola. Available from: http://ws373847.websoon.com/uploads/managing_vol_canola.pdf. (accessed November 2018).
- Karağaç, SU. 2012. Insecticide resistance. In: Perveen F. (ed) Insecticides - advances in integrated pest management. IntechOpen. pp. 469–478. Available from: <https://www.intechopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/insecticideresistance> (accessed April 2019).
- Klašková L. 2012. Povinne a doporučující věty s ohledem na rizika pro necílové organismy in: Agro BASF. Agro BASF. Available from: http://www.agro.basf.cz/agroportal/cz/media/migrated/information_material/registrator_n_info/2014_3/Povinne_a_doporucujici_vety_s_ohledem_na_rizika_pro_necilove_organismy.pdf (accessed February 2018).
- Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T (February 2007). "Importance of pollinators in changing landscapes for world crops". *Proceedings. Biological Sciences.* **274** (1608): 303–13. doi:10.1098/rspb.2006.3721
- Křepelka J. 2013. Přednost řepky: mnohostranné využití. *Zemědělec*, 30. května 2013. Available from: <https://www.zemedelec.cz/prednost-repky-mnohostranne-vyuziti-2/> (accessed May 2019).

- Leahy S. 2019. Huge decline in songbirds linked to common insecticide. National Geographic, September 12, 2019. Available from: <https://www.nationalgeographic.com/environment/2019/09/widely-used-pesticide-makes-birds-lose-weight/> (accessed October 2019).
- MZe. 2018. Ministerstvo zemědělství výrazně omezí používání glyfosátu, od ledna zakáže jeho plošnou aplikaci. Ministerstvo zemědělství ČR, 17. září 2018. Available from: http://eagri.cz/public/web/mze/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/x2018_ministerstvo-zemedelstvi-vyrazne-omezi.html (accessed November 2019).
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 2012. CONSENSUS DOCUMENT ON THE BIOLOGY OF THE BRASSICA CROPS (Brassica spp.) Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 54. OECD Paris, France. Available from: <http://www.oecd.org/science/biotrack/27531440.pdf> (accessed April 2018).
- Nelson KL, Boiteau G, Lynch DH, Peters RD, Fillmore S. 2011. Influence of agricultural soils on the growth and reproduction of the bio-indicator *Folsomia candida*. *Pedobiologia*, 54(2), 79-86.
- Plant Protection. 2003. The great Soviet encyclopedia, 3rd edition. (1970–1979). Available from: <https://encyclopedia2.thefreedictionary.com/Plant+Protection> (accessed February 2019).
- Pragoflora. 2017. Ochrana a výživa rostlin. Available from: <https://pragoflora.cz/ochrana-a-vyziva-rostlin/> (accessed June 2019).
- Pubchem. 2020. Strukturní vzorce. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed March 2020).
- Prokop M. 2017. Přípravky na ochranu rostlin. Agromanuál, 13. února 2017. <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/pripravky-na-ochranu-rostlin> (accessed December 2018).
- PV-Agri. 2013. Rostlinná výroba a cross compliance integrovaná ochrana rostlin a praxe. Program rozvoje venkova. Available from: [http://www.pvagri.cz/docs/projekt-2013/Podklad_IOR_fin_A4_\(11-10-2013\).pdf](http://www.pvagri.cz/docs/projekt-2013/Podklad_IOR_fin_A4_(11-10-2013).pdf) (accessed September 2018).

- Seidenglanz M, Šafář J, Poslušný J, Hrudová E, Tóth P, Kolařík P, Rotrekl J, Havel J, Plachká E, Táncik J, Hudec K, Beránek J, Perutka M. 2017. Problémy s rezistencí u řepky. Agromanuál, 18. května 2017. Available from: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/problemy-s-rezistenci-u-skudcu-repky>. (accessed November 2019).
- Schwartz HF, Gent DH. 2004. "Canola & Mustard- Powdery Mildew" (PDF). *Highplains IPM*. Available from: <https://wiki.bugwood.org/uploads/PowderyMildew-CanolaMustard.pdf> (accessed April 2018)
- Sipes DL, Einset JW (August 1983). "Cytokinin stimulation of abscission in lemon pistil explants". *J Plant Growth Regul.* **2** (1–3): 73–80. [doi:10.1007/BF02042235](https://doi.org/10.1007/BF02042235)
- Spitzer T. 2019. Insekticidní moření řepky - Lumiposa se jeví velmi nadějně. Agromanuál, 24. srpna 2019. Available from: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/insekticidni-moreni-repky-lumiposa-se-jevi-velmi-nadejne> (accessed October 2019).
- ÚKZÚZ. 2016. průvodce integrovanou ochranou rostlin. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Available from: http://eagri.cz/public/web/file/562181/Pruvodce_IOR.pdf (accessed February 2019).
- University of Copenhagen. Cocktail effects of pesticides and environmental chemicals. ScienceDaily, 13 December 2017. Available from: <https://www.sciencedaily.com/releases/2017/12/171213104938.htm> (accessed December 2019).
- Vaculík A. 2018a. Možnosti herbicidní ochrany ozimé řepky v podzimním období. Agromanuál, 14. září 2018. Available from: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/plevele/moznosti-herbicidni-ochrany-ozime-repky-v-podzimnim-obdobi> (accessed January 2019).
- Vaculík A. 2018b. Jarní ochrana řepky proti nežádoucímu zaplevelení. Agromanuál, 7. dubna 2018. Available from: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/plevele/jarni-ochrana-repky-ozime-proti-nezadoucimu-zapleveleni> (accessed January 2019).

Vokřál M. 2006. Moddus - regulátor růstu pro jarní aplikaci v řepce olejce. ČZU Praha:
Vystaveno únor 2006. Available from: <http://max.af.czu.cz/svri/sbornik06/> (accessed
March 2020).

Zubkov A. Formation and development of agrobiocenology. Plant protection News 2.
Available from: <http://www.vestnik.iczr.ru/engl/pdf/2005-2e.pdf> (accessed April 2019).

9. Seznam použitých zkratk a symbolů

ABA	kyselina abscisová
ACC	1-aminocyklopropane-1-karboxylová kyselina
APRD	Anthropod Pesticides Resistance Database
CPA	Crop Protection Association (Asociace ochrany rostlin)
ČR	Česká republika
ČSÚ	Český statistický úřad
EC₅₀	koncentrace způsobující jistý efekt u 50 % zvířat
ECP	European crop protection (Evropská ochrana rostlin)
EFSA	European Food Safety Authority (Evropský úřad pro bezpečnost potravin)
EHS	Evropské hospodářské společenství
EP	European Parliament (Evropský parlament)
EPA	Environmental Protection Agency (Agentura pro ochranu životního prostředí USA)
EPSPS	excitační postsynaptický potenciál
EU	Evropská unie
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organizace OSN pro výživu a zemědělství)
GA	gibereliny
IARC	International Agency for Research on Cancer (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny)
IOR	integrovaná ochrana rostlin
IRAC	Insecticide Resistance Action Committee
IRM	insect resitant managment

KDR	ztráta citlivosti cílového místa (knockdown resistance)
KŠO	karanténní škodlivé organismy
LC₅₀	koncentrace pro 50% úmrtnost
LUFA	Landwirtschaftliche Untersuchungs und Forschungsanstalt Spreyer
NRC	Nukleární regulační komise (National Regulation Commission)
OECD	Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (Organisation for Economic Co-operation and Development)
PR proteiny	proteiny spojené s patogenezí (pathogenesis-related proteins)
POR	prostředky na ochranu rostlin
SA	salicid acid (kyselina salicylová)
VÚRV	Výzkumný ústav rostlinné výroby

10. Samostatné přílohy

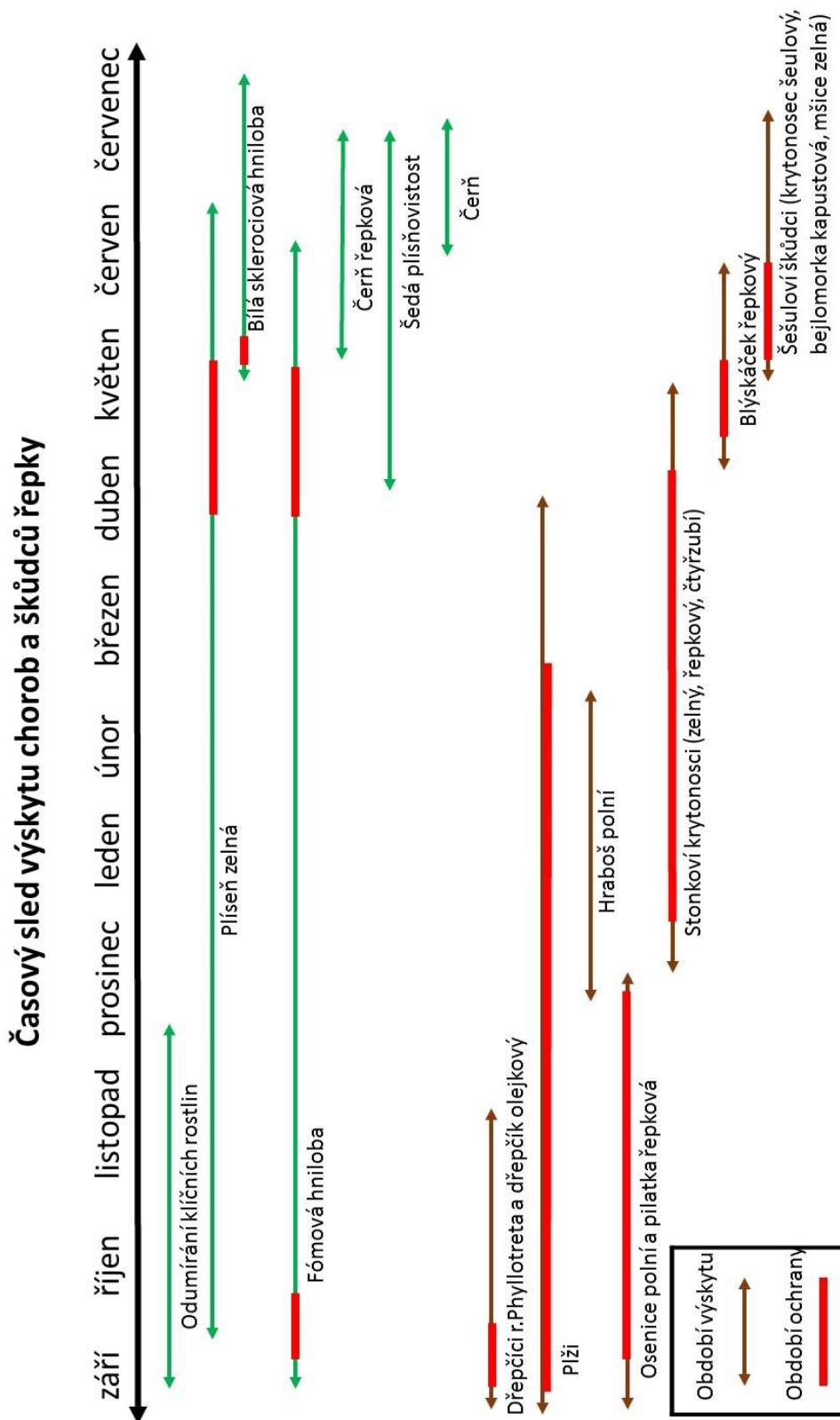
10.1. Zkoumané pesticidní látky a jejich metabolity v půdě

Tabulka č. 19: Zkoumané pesticidní látky a jejich metabolity v půdě

Název látky	Název látky
6-chloronicotinic acid	imidacloprid urea
acetamiprid	indoxacarb
acetochlor	isoproturon
aldicarb	isoproturon-desmethyl
aldicarb sulfone	isoproturon-monodesmethyl
aldicarb sulfoxide	kresoxim-methyl
amitraz	malaoxon
azoxystrobin	malathion
boscalid	metazachlor
cadusafos	metconazole
carbaryl	methidathion
carbofuran	methiocarb
carbofuran-3-hydroxy	methiocarb sulfone
chlorpyrifos	methiocarb sulfoxide
clomazone	methomyl
clothianidin	methomyl oxime
cyproconazole	pethoxamid
diazinon	phosmet
dichlorvos	phosmet oxon
dicrotophos	phosphamidon
dimethoate	pirimicarb
dimoxystrobin	prochloraz
epoxiconazole	propoxur
fenoxy carb	pyrimethanil
fipronil	tebuconazole
fipronil sulfone	thiacloprid
imidacloprid	thiamethoxam
imidacloprid olefin	

10.2. Časová osa výskytu chorob a škůdců řepky

Obr. č. 13: Časová osa výskytu chorob a škůdců řepky dle Kazdy (2011)



10.3. Fotodokumentace



Foto č. 1: Navážka zeminy



Foto č. 2: Kádinka s chvostoskoky



Foto č. 3: Kádinka s chvostoskoky připravená do klimaboxu



Foto č. 4: Založené pokusy – aplikace pesticidů do půdy s použitím vitamínů



Foto č. 5: Klimaboxy

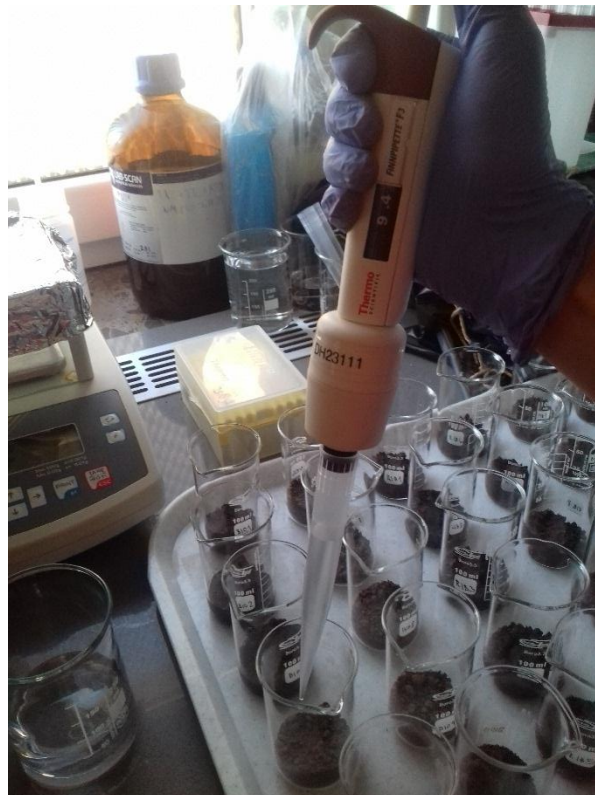


Foto č. 6: Aplikace nano vody do půdy



Foto č. 7: Počet chvostoskoků po 1.týdnu od aplikace, Mix-Riboflavin
(22. 1. 2020)

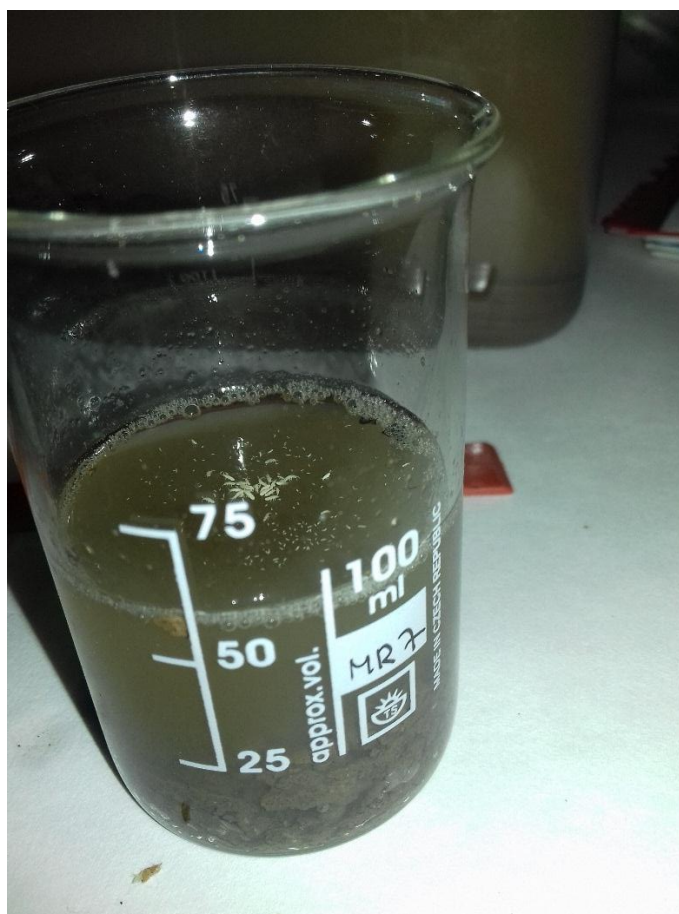


Foto č. 8: Počet chvostoskoků při ukončování pokusu vyplavováním, Mix-Riboflavin
(12. 2. 2020)

10.4. Seznam použitých přístrojů, techniky, chemikálií a programů

Přístroj, technika, chemikálie, program	Výrobce
100 ml kádinky	Simax Czech Republic, Sklářny Kavalier, Sázava, Česko
500 ml kádinky	Simax Czech Republic, Sklářny Kavalier, Sázava, Česko
Atonik	Asahi Chemical Co. Ltd
biotin – vitamín B6	Sigma-Aldrich
Biscaya 240 OD	Bayer CropScience, Monheim am Rhein, Německo
klimabox	Pol-Eko Aparatura, Wodzisław Śląski, Polsko
Excel	Microsoft Office, USA
pipety	Thermo Fisher, Waltham, MA, USA
riboflavin – vitamín B2	Sigma-Aldrich
statistický software R (R version 3.5.2.)	R Foundation for Statistical Computing, Wien, Rakousko
sušené kvasnice – lahůdkové droždí	Country Life, Nenačovice, Česko
Tilmor	Bayer CropScience, Monheim am Rhein, Německo
váha	Kern & Sohn, Balingen, Německo
zemina	Starý sad, VÚRV, Praha 6-Ruzyně, Česko

10.5. Seznam tabulek, fotografií a grafů

Seznam tabulek

Tabulka č. 1: Spotřeba účinných látek v porostech řepky olejky 2018/2019

Tabulka č. 2: Synergický efekt účinných látek s kovy dle Singh et al. (2017)

Tabulka č. 3: Chemické vlastnosti riboflavinu

Tabulka č. 4: Chemické vlastnosti biotinu

Tabulka č. 5: Ředění POR

Tabulka č. 6: Ředící řady použitých POR

Tabulka č. 7: Zásobní roztoky použití přípravků

Tabulka č. 8: Počet chvostoskoků po aplikaci přípravků Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich tank-mixu do půdy po dobu čtyř týdnů (červenec 2019)

Tabulka č. 9: Počet chvostoskoků po aplikaci přípravků Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich tank-mixu do půdy po dobu čtyř týdnů (srpen 2019)

Tabulka č. 10: Počet chvostoskoků po aplikaci přípravků Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich tank-mixu do půdy po dobu čtyř týdnů (září 2019)

Tabulka č. 11: Statistické porovnání vlivu jednotlivých POR a jejich tank-mixu (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik) v půdě po dobu čtyř týdnů – červenec, srpen, září 2019

Tabulka č. 12: Statistické porovnání vlivu jednotlivých pesticidů mezi sebou (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a jejich mix) po dobu 4 týdnů aplikací do půdy (července, srpen, září 2019)

Tabulka č. 13: Počet chvostoskoků po aplikaci POR v tank-mixu do půdy s přidáním vitamínů B2 a B7 po dobu čtyř týdnů (listopad 2019)

Tabulka č. 14: Počet chvostoskoků po aplikaci POR v tank-mixu do půdy s přidáním vitamínů B2 a B7 po dobu čtyř týdnů (prosinec 2019)

Tabulka č. 15: Počet chvostoskoků po aplikaci POR v tank-mixu do půdy s přidáním vitamínů B2 a B7 po dobu čtyř týdnů (leden 2020)

Tabulka č. 16: Statistické porovnání vlivu jednotlivých pesticidů (Biscaya, Tilmor, Atonik) a vitamínů vůči mixu (B2 a B7) po dobu čtyř týdnů v půdě

Tabulka č. 17: Statistické porovnání vlivu mixu pesticidů (Biscaya, Tilmor, Atonik), biotinu (B7) a mixu s biotinem po dobu čtyř týdnů v půdě

Tabulka č. 18: Statistické porovnání vlivu mixu pesticidů (Biscaya, Tilmor, Atonik), riboflavinu (B2) a mixu s biotinem po dobu čtyř týdnů v půdě

Tabulka č. 19: Zkoumané pesticidní látky a jejich metabolity v půdě

Seznam grafů

Graf č. 1: Boxplot vlivu jednotlivých POR (Biscaya 240 OD, Tilmor, Atonik a Mix) na mortalitu *F. candida* (červenec, srpen, září 2019)

- Graf č. 2:** Boxplot – průměrného vlivu pesticidů v čase (červenec, srpen, září 2019)
- Graf č. 3:** Boxplot – vliv jednotlivých pesticidů v čase
- Graf č. 4:** Bayesova metoda relativní pravděpodobnosti vlivu ošetření a času
- Graf č. 5:** Bayesova metoda relativní pravděpodobnosti vlivu pesticidů a vitamínů vs. čas
- Graf č. 6:** Boxplot vlivu tank-mixu pesticidů a vitamínů na mortalitu *F. candida*
- Graf č. 7:** Boxplot – průměrné porovnání žijících *F. candida* po eliminaci pesticidů vitamíny v čase

Seznam obrázků

- Obr. č. 1:** Dělení pesticidů dle Prokop (2017)
- Obr. č. 2:** Graf srovnání používání POR v letech 1997–2017 (Dlouhá & Ivanský 2018)
- Obr. č. 3:** Graf vývoje spotřeby účinných látek v letech 1997–2017 (Dlouhá & Ivanský 2018)
- Obr. č. 4:** Graf vývoje spotřeby jednotlivých kategorií POR v letech 1997–2017 (Dlouhá & Ivanský 2018)
- Obr. č. 5:** Strukturní vzorec thiacloprid ()
- Obr. č. 6:** Strukturní vzorec tebuconazole ()
- Obr. č. 7:** Strukturní vzorec propinoconazole ()
- Obr. č. 8:** Strukturní vzorec natrium – 5 – nitroguajakolát ()
- Obr. č. 9:** Strukturní vzorec 2 – nitro - fenolát ()
- Obr. č. 10:** Strukturní vzorec 4 – nitro – fenolát ()
- Obr. č. 11:** Strukturní vzorec riboflavin – vitamín B2 (Hlúbik & Opltová 2004)
- Obr. č. 12:** Strukturní vzorec biotin – vitamín B7 ()
- Obr. č. 13:** Časová osa výskytu chorob a škůdců řepky dle Kazdy (2011)

Seznam fotografií

- Foto č. 1:** Navážka zeminy
- Foto č. 2:** Kádinka s chvostoskoky
- Foto č. 3:** Kádinka s chvostoskoky připravená do klimaboxu
- Foto č. 4:** Založené pokusy – aplikace pesticidů do půdy s použitím vitamínů
- Foto č. 5:** Klimaboxy
- Foto č. 6:** Aplikace nano vody do půdy
- Foto č. 7:** Počet chvostoskoků po 1.týdnu od aplikace, Mix-Riboflavin (22.1.2020)
- Foto č. 8:** Počet chvostoskoků při ukončování pokusu vyplavováním, Mix-Riboflavin (12. 2. 2020)

