

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra ochrany rostlin



**Možnosti ochrany rostlin pomocí azadirachtinu
aplikovaného přes kořenový systém rostlin**

Bakalářská práce

Autor práce: Michael Švorc

Vedoucí práce: doc. ing. Evženie Prokinová CSc.

Konzultant: ing. Roman Pavela

2012

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma **Možnosti ochrany rostlin pomocí azadirachtinu aplikovaného přes kořenový systém rostlin** vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne:

podpis autora práce

Poděkování

Děkuji vedoucí bakalářské práce doc. ing. Evženie Prokinové, CSc. za její odborné vedení. Dále bych chtěl poděkovat ing. Romanu Pavelovi za jeho ochotu, trpělivost, řadu přínosných rad a za veškerý čas, který mi věnoval v průběhu řešení dané problematiky ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby v Praze.

SOUHRN

Přípravky obsahující azadirachtin jsou sice na trhu již několik let, avšak jsou poměrně drahé a tím pádem nedostupné pro širší použití. Používané přípravky se aplikují především foliárně, při čemž se účinné látky poměrně rychle rozkládají. Proto bylo cílem této práce zjistit možnost využití odpadních produktů stromu *Azadirachta indica* a zjištění účinnosti biologicky aktivních látek v rostlinném materiálu – listy, kůra, zbytky vyextrahovaných semen a olej ze semen – aplikovaném přes kořenový systém rostlin. Účinnost se prokazovala na vybraných modelových škůdcích – kyjatka hrachová (*Acyrtosiphon pisum* Harr.), sviluška chmelová (*Tetranychus urticae* (Koch)) a krytonosec řepkový (*Ceutorhynchus napi* Gyll.). Po vybrání nejúčinnějšího přípravku byla zjištěna účinnost jednotlivých dávek a případný negativní vliv na růst rostlin.

Klíčová slova: azadirachtin, *Azadirachta indica*, kořenový systém, *Acyrtosiphon pisum* Harr., *Tetranychus urticae* (Koch), *Ceutorhynchus napi* Gyll.

SUMMARY

Formulations with azadirachtin are selling for a few years, but they are quite expensive and in that case not available for wide use. Used formulations are applicated on the leaf and biologically active substances are degraded relatively quickly. Therefore, this study is to determine the possibility of using waste products of tree *Azadirachta indica* and determine the effectiveness of biologically active substances in plant material – leaves, bark, residues molassed seeds and seed oil – applicated through the root system of plants. Efficiency was studied in model pests - *Acyrtosiphon pisum* Harr., *Tetranychus urticae* (Koch), *Ceutorhynchus napi* Gyll. After selection of the most effective formulation, efficiency of each dose and phytotoxicity were studied.

Keywords: azadirachtin, *Azadirachta indica*, root system, *Acyrtosiphon pisum* Harr., *Tetranychus urticae* (Koch), *Ceutorhynchus napi* Gyll.

Obsah

1. ÚVOD	8
2. HYPOTÉZA	9
3. CÍL PRÁCE	9
4.1 Ochranné mechanismy rostlin	10
4.2 Rostlinné metabolity	10
4.3 Historie botanických pesticidů	11
4.4 Botanické pesticidy	11
4.5 Používané biologicky aktivní látky a jejich insekticidní účinky.....	12
4.6 Popis rostlinného materiálu použitého pro pokus.....	14
4.6.1 <i>Azadirachta indica</i>	14
4.6.2 Biologicky aktivní látky z <i>Azadirachta indica</i> a jejich účinky na hmyz.....	14
5. MODELOVÉ DRUHY ŠKŮDCŮ	16
5.1 Krytonosec řepkový - <i>Ceutorhynchus napi</i> Gyll.....	16
5.2 Kyjatka hrachová - <i>Acyrtosiphon pisum</i> Harr.....	16
5.3 Sviluška chmelová - <i>Tetranychus urticae</i> (Koch).....	17
6. MATERIÁL A METODIKA	18
6.1 Pokusné prostředí	18
6.2 Použité přípravky obsahující azadirachtin	18
6.3 Substrát	19
6.4 Rostlinný materiál	19
6.5 Živočišný materiál	20
6.5.1 Kyjatka hrachová	20
6.5.2 Sviluška chmelová	20
6.5.3 Krytonosec řepkový.....	20
6.6 Harmonogram experimentu	20
6.7 Vlastní experiment	20
6.7.1 Zjištění biologické účinnosti testovaných materiálů.....	21

6.7.1.1	Zjištění biologické účinnosti na kyjátku hrachovou	21
6.7.1.2	Zjištění biologické účinnosti na svilušku chmelovou.....	21
6.7.2	Účinnost přípravku Neem Cake.....	22
6.7.2.1	Zjištění účinností jednotlivých dávek přípravku Neem Cake na kyjátku hrachovou při výsevu rostliny do neošetřeného substrátu.....	22
6.7.2.2	Zjištění účinností jednotlivých dávek přípravku Neem Cake na kyjátku hrachovou při výsevu rostliny do ošetřeného substrátu.....	22
6.7.2.3	Zjištění účinností jednotlivých dávek přípravku Neem Cake na krytonosce řepkového	23
6.8	Statistické metody.....	23
7.	VÝSLEDKY.....	25
7.1	Zjištění biologické účinnosti testovaných materiálů.....	25
7.2	Účinnost přípravku Neem Cake.....	29
8.	DISKUZE	34
9.	ZÁVĚR	37
10.	POUŽITÁ LITERATURA.....	38
11.	ZDROJE OBRÁZKŮ.....	40

1. ÚVOD

Zemědělství je nejdůležitějším zdrojem potravin pro lidstvo, a proto si společnost v dnešní moderní době klade stále větší nároky na kvalitu a nezávadnost dostupných potravin, ale zároveň na co nejnižší zatížení životního prostředí při vlastní produkci. Po celém světě od mírného přes subtropické až po tropické pásmo, se pěstuje obrovské množství plodin, které jsou v neustálém ohrožení ze strany škůdců a houbových patogenů (Dubey, 2011). Výsledkem toho je vysoká spotřeba syntetických pesticidů a následně obsah reziduí ve výsledných produktech. Současné syntetické prostředky na ochranu rostlin se špatně rozkládají a přetrvávají tak v ekosystému poměrně dlouho. Jejich velká výhoda oproti přírodním pesticidům je nízká cena, jednoduchá aplikace a razantní účinek na hmyz (Isman, 2001). Výsledkem používání velkého množství syntetických pesticidů jsou problémy se sníženou půdní úrodností, zničení biodiverzity v ekosystémech díky plošnému hubení hmyzu, v některých případech i užitečného (parazitoid, predátor), a hlavně vznik rezistence u cílového organismu. Zbytky rozložených pesticidů mohou působit toxicky, mutagenně, teratogenně, a také mohou způsobovat hormonální potíže v lidském organismu. Proto se dříve používané prostředky na ochranu rostlin stávají zastaralými a začínají se vyvíjet prostředky šetrné k životnímu prostředí, které nezanechávají nebezpečná rezidua, ale zároveň jsou účinné na škůdce a patogeny znehodnocující zemědělské produkty (Dubey, 2011). Současné biologické prostředky na ochranu rostlin se rychle rozkládají, což má za následek zkrácenou dobu účinnosti na škůdce či patogen, a tím pádem je nutné ošetření opakovat. U přípravků obsahujících azadirachtin je však možnost využití kořenového sání rostlin k rozvedení a následné uložení biologicky aktivních látek ve vakuolách rostlinných buněk (Pavela, 2009).

2. HYPOTÉZA

Přípravky na bázi azadirachtinu mají insekticidní účinek. Při aplikaci do půdy jsou přijímány kořenovým systémem rostlin, rozváděny po rostlinných orgánech a ukládány v rostlinných pletivech.

3. CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo zjistit insekticidní účinnost vybraných přípravků na bázi azadirachtinu, aplikovaných pomocí kořenového systému rostlin, na vybrané charakteristiky modelových druhů škůdců v závislosti na dávce a způsobu aplikace.

4. LITERÁRNÍ PŘEHLED

4.1 Ochranné mechanismy rostlin

Mezi primární obranný mechanismus mnoha rostlin patří různé pokožkové a podpokožkové výrůstky – chlupy, žahavé trichomy, žlaznaté trichomy, trny. V mnoha případech vznikají pouze z buněk epidermis jednoduchým vychlípáním a jsou jednobuněčné, nebo pomocí vícenásobného dělení buněk mohou vznikat mnohobuněčné trichomy (Novák a Skalický, 2009). Dalším případem jsou tzv. emergence, neboli složitější vícebuněčné útvary na povrchu pokožky, které jsou utvářeny pokožkovými i podpokožkovými buňkami. Některé trichomy obsahují sekret, který se při porušení blány trichomu vylíje. Tak tomu je i u kopřivy, která má ze spodní strany listů žahavé trichomy podobné jehlám. Při zlomení této „jehly“ se obsah vylíje a potřísněné místo začne pálit. Úloha těchto útvarů spočívá v ochraně rostliny nejen před škůdci, ale také před abiotickými faktory např. proti přehřátí. Sekundární obranou rostlin jsou tzv. rostlinné metabolity, neboli látky, které rostliny samy syntetizují, buď z vlastní potřeby, nebo to jsou odpadní látky metabolismu uložené ve vakuolách (Novák a Skalický, 2009).

4.2 Rostlinné metabolity

Produkty hlavního neboli primárního metabolismu rostlin jsou tzv. primární metabolity. Jejich přítomnost v rostlinném těle je přímo nezbytná pro správný vývoj a růst organismu. Jsou to například glykoproteiny, nukleové kyseliny, aminokyseliny.

Sekundární metabolity jsou látky, které se nepodílejí na růstu a vývoji buňky, ale vznikají jako odpadní produkty primárního metabolismu (Novák a Skalický, 2009). Každý rostlinný druh má své specifické produkty sekundárního metabolismu, které jsou ukládány ve vakuolách. Tyto látky pro rostlinu představují zásobárnu minerálů a jiných látek, a také biochemickou obranu proti škůdcům či chorobám. Do skupiny sekundárních metabolitů řadíme hořčiny, alkaloidy, třísloviny, saponiny, různé bílkoviny, silice a pryskyřice (Novák a Skalický, 2009).

4.3 Historie botanických pesticidů

Od chvíle, kdy člověk začal pěstovat rostliny jako zdroj potravy, bylo zapotřebí uchránit rostoucí rostliny a uskladněné zásoby proti škůdcům a chorobám. První ochranný zákrok byl ruční sběr škodlivého hmyzu. Avšak se zvyšující se intenzitou a plochou obdělávané půdy bylo nutné přistoupit na jiný, účinnější způsob ochrany rostlin. Zemědělci začali zkoušet první výluhy z různých bylin, které znali z lidového léčitelství. Nejstarší zmínka o používání extraktů z rostlin pochází z Číny před 5000 lety (Pavela, 2011). Jedním z velmi starých botanických pesticidů používaných už v 5st. př.n.l. v oblasti blízkého východu byl prach z řimbab, který se nejčastěji využíval k hubení vši a blech až do doby napoleonských válek (Pavela, 2006). Dalším příkladem může být extrakt z čemeřice, který sloužil k hubení myší, potkanů ale i hmyzu. Z dochovaných písemných záznamů datovaných okolo roku 30 př.n.l. až 70 n.l. víme o zemědělských postupech, které využívaly rostlinných olejů, mulčování nebo vykuřování k ochraně rostlin a potravinových zásob (Pavela, 2011). Ve středověku byly také běžně využívány esenciální oleje neboli silice. Za jejich pomoci se chránily zásoby potravin, ale zároveň díky antibakteriálním, antimikrobiálním a fungicidním účinkům byly tyto silice nápomocné při léčení lidí (Dubey, 2011). V 18. a 19. století byla zemědělská výroba poměrně intenzivní, a tak se hojně rozšířilo právě používání prášků z řimbaby a extraktů z tabáku.

4.4 Botanické pesticidy

Botanické pesticidy můžeme třídit podle účinku na škodlivé organismy, případně podle jejich neškodnosti k necílovým organismům. Nejstarší pesticidy jsou neselektivní, a proto je řadíme do skupiny botanických pesticidů první generace. Kvůli tomu že jsou vysoce toxické pro všechny hmyz, a tím pádem i pro necílové organismy, jsou dnes tyto látky používány hlavně v domácnosti, na zahradách a ve skleníkových kulturách. Patří sem extrakty z květů řimbab, listů tabáku, kořenů kožnatců či ze dřeva stromu qaussia.

Do skupiny botanických pesticidů druhé generace řadíme látky, které se vyvíjely od poloviny 20.st. Přípravky z této skupiny působí preventivně i kurativně, jsou neškodné k necílovým organismům i člověku, díky směsi synergicky působících látek zabraňují vzniku rezistentních populací škůdce a vykazují vysokou univerzálnost použití – mají insekticidní, fungicidní a baktericidní účinky. Do této skupiny patří přípravky z azadirachty indické (*Azadirachta indica*

Juss.), dále pak z *Pongamia pinnata* (L.) Pierre, kalceolárie (*Calceolaria andina* L.), křídlatky (*Reynoutria* sp.), jerlínu (*Sophora flavescens* Ait.), mýdelníku (*Sapindus* sp.), a patří sem také přípravky z aromatických rostlin česneku (*Allium sativum* L.) a citronové trávy (*Cymbopogon* sp.).

Poslední skupinou přírodních látek používaných v ochraně rostlin jsou botanické pesticidy třetí generace. Jsou to zpravidla pomocné přípravky mající především preventivní charakter účinku. O této skupině látek toho není zatím moc známo, ale díky jejich snadnější registraci oproti klasickým pesticidům se dá očekávat nárůst přípravků na našem trhu. Látky v této skupině můžeme dělit na „Přípravky zvyšující vitalitu“ a „Přípravky podporující produkci obranných látek“. V první zmíněné skupině přípravků jsou obsaženy sloučeniny podobné rostlinným hormonům, nebo které povzbuzují tvorbu vlastních hormonů. Patří sem například kopřivový výluh, či extrakt z vrby (*Salix* sp.) obsahující kyselinu salicylovou, která napomáhá tvorbě kořenů. Ve druhé skupině jsou sloučeniny vyvolávající v rostlinách stres, čímž je nutí k tvorbě vlastních protilátek. Takovýmto případem je extrakt z křídlatek, který se může použít pro zvýšení obranyschopnosti brambor proti mandelince (Pavela, 2011).

4.5 Používané biologicky aktivní látky a jejich insekticidní účinky

Jednou z neznámějších a po dlouhou dobu používaných látek s insekticidními účinky je nikotin. Tato látka je obsažena v listech (*Nicotiana tabacum* L.). Pro hmyz ale i pro savce je nikotin vysoce toxický, působí jako nervový jed. Účinek na hmyz je velmi rychlý už při nízkých koncentracích, je poměrně stabilní a v prostředí tak vydrží dlouho (Dhaliwal and Arora, 2001). Funkce tohoto alkaloidu spočívá v jeho podobnosti k acetylcholinu, který pomáhá přenášet vzruchy při svalové činnosti. Výsledkem působení nikotinu jsou křeče a následně smrt (Pavela, 2011).

Další dnes hojně využívané biologicky aktivní látky jsou pyretriny. Tyto látky jsou obsaženy v rostlinách *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Vys. a *Chrysanthemum coccineum* Willd., neboli řimbaba stračkolistá a řimbaba šarlatová (Dhaliwa and Arora, 2001). První zmíněná pochází ze Středozeří a druhá z horských luk Kavkazu. Ze všech obsažených účinných látek co se týče insekticidního účinku, jsou nejdůležitější Pyrethrin-I a Pyrethrin-II.

Pyrethriny účinkují na hmyz téměř okamžitě a to jak požerově, tak kontaktně. Mechanismus působení na hmyzí organismus je přes sodíkové kanály, které jsou zablokovány a vzniká tak špatná vodivost sodíkových iontů a následná nerovnováha nábojů uvnitř a vně buňky (Pavela, 2011). Hmyz je paralyzován nadměrným drážděním nervů a při dostatečné koncentraci umírá. Velmi důležité je při aplikaci pyretroidů, aby byl škůdce co nejvíce zasažen postřikovým roztokem, protože pyrethrin působí jako kontaktní jed, zároveň je v prostředí poměrně nestabilní a rychle se rozkládá (Dhaliwal and Arora, 2001). Dokonce se tvrdí, že přírodní pyretriny jsou nejbezpečnější insekticid a smí se proto používat u potravin (Pavela, 2006). Velkou nevýhodou těchto látek je fakt, že jsou vysoce toxické pro všechny druhy hmyzu, včely nevyjímaje (Dubey, 2011).

Mezi další používané biologicky aktivní látky patří rotenone. Tato látka obsažená v kořenech rostlin z čeledi bobovitých (*Fabaceae*) např. v *Tephrosia virginiana* (L.), ale především ve všech druzích *Derris* sp. (Dhaliwal and Arora, 2001). Avšak tato látka se nevyskytuje pouze v této čeledi, ale například i v divizně velkokvěté z čeledi krtičníkovité (*Scrophulariaceae*). Nicméně se pro výrobu extraktů používá kožnatec vejčitý (*Derris eliptica* (Wall.) Benth.), kožnatec Fordův (*Derris fordii*) a kožnatec velký (*Derris robusta* Benth.). Spektrum použití rotenonů je univerzální, avšak záleží na kvalitě drogy (stáří, původ, rostlinná část) a množství obsahované látky. Běžně se používá proti savému a žravému hmyzu. Rotenon je řazen do středně nebezpečných látek. Pro člověka a jiné savce je mírně toxický, avšak pro vodní organismy včetně ryb je vysoce toxický (Pavela, 2011). Toxicity pro vodní organismy dříve využívali domorodci pro lov ryb, dnes se dá použít k likvidaci komářích larev ve stojatých vodách (Dubey, 2011). Vysoká toxicita k vodním organismům je způsobena tím, že rotenon snadno prostupuje žábrami a průdušnicemi, ne však pokožkou. V životním prostředí se rozkládá 3 až 6 dní. Účinek rotenonu spočívá v inhibici elektronového řetězce v mitochondriích. Výsledkem je zabránění dýchání hmyzu a celková paralýza, a proto se také řadí do nervových jedů (Pavela, 2011).

4.6 Popis rostlinného materiálu použitého pro pokus

4.6.1 *Azadirachta indica*

Tento strom z čeledi *Meliaceae* s přesným názvem *Azadirachta indica* A. Juss, také známý pod jménem Neem, dorůstá až 30 m a s průměrem kmene do 2,5 m, je původem z jihovýchodní Asie, Indonésie, Thajska, Pakistánu a Srí Lanky. Listy jsou lesklé, sytě zelené, lichozpeřené s dlouhým stonkem. Dnes se tento strom hojně pěstuje pro své insekticidní účinky mimo svůj původní region i ve střední a jižní Americe. Není náročný na vláhu, snáší i velmi vysoké teploty a nevadí mu ani kyselá či zásaditá půda. Přibližně po 10 letech růstu se ze stromu sklízí okolo 50 kg plodů za rok. Ve své domovině byl používán už po tisíciletí v lidovém léčitelství, jak dokládají sanskrtské spisy staré přes 4000 let (Pavela, 2006). Látky



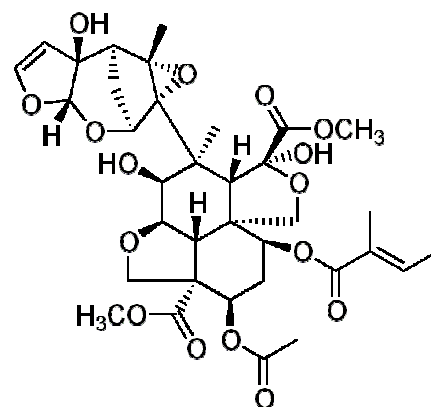
Obrázek č. 1

obsažené v kůře, listech a plodech mají antimikrobiální, antivirové, antibakteriální, antipyretické, analgetické a imunitu povzbuzující účinky na lidský organismus (Pavela, 2006). Již v dávných dobách byla tato rostlina využívána pro ochranu proti skladištním škůdcům, a pálení listů azadirachty bylo používáno pro odpuzování komárů (Dubey, 2011). Farmáři z rozvojových zemí, ve kterých tento strom roste, s úspěchem používají podomácku vyrobené přípravky ze semen už po mnoho let (Jacobson, 1988). Obsah azadirachtinu závisí na klimatickopedologických podmínkách oblasti kde roste a v semenech je v rozmezí 2 až 4 mg na 1g semen. Olej vylisovaný ze semen obsahuje 50 až 1200 ppm v závislosti na metodě získávání a původu rostlinného materiálu (Pavela, 2011).

4.6.2 Biologicky aktivní látky z *Azadirachta indica* a jejich účinky na hmyz

Insekticidní účinky látek obsažených v semenech tohoto stromu jsou známy od roku 1960, (Pavela, 2006) kdy byla poprvé izolována látka nazvaná azadirachtin. Účinek této látky byl pozorován na sarančeti stěhovavém. Biologicky aktivní látky s insekticidními vlastnostmi jsou obsažené v celé rostlině, avšak nejvyšší koncentrace je v semenech plodů. Tyto látky patří do

skupiny limonoidů, kam řadíme již zmíněný azadirachtin, dále pak nimbin, nimbilin, meliantriol a salannin (Pavela 2006). Tetranortriterpenoid azadirachtin je zatím nejvíce prozkoumán a vykazuje ze všech limonoidů obsažených v plodech nejlepší insekticidní účinnost, proto je hlavní uváděnou složkou v komerčních přípravcích. V rostlině je přítomen hned v několika isomerech. Azadirachtin funguje už při nepatrném množství jako regulátor růstu hmyzu (Rembold, 1988) a při vyšších koncentracích působí jako repelent, antifidant, toxicant a sterilant. Mezi výhody azadirachtinu patří jeho velmi nízká toxicita vůči savcům a jiným necílovým organismům (Jacobson, 1988). Účinek tohoto limonoidu spočívá v podobnosti jeho molekuly se svlékacím hormonem hmyzu (ekdison). Azadirachtin tak narušuje rovnováhu hmyzích hormonů a zabraňuje vylučování neurosekretních látek, což má za následek nezvratné poruchy ve vývoji hmyzu.



Obrázek č. 2

V mnoha pokusech bylo zjištěno, že u již vyvinutých dospělců způsobuje neschopnost rozmnožovat se a zároveň působí repelentně a antifidantně (Morgan, 2009). Insekticidní účinnost látek obsažených v *A. indica* byla prokázána i u třásněnky západní (*Frankliniella occidentalis* Pergande) (Thoeming et al. 2006). Pavela (2009) uvádí, že při aplikaci přípravku obsahujícího azadirachtin přes kořenový systém rostlin byla zjištěna delší účinnost na molici skleníkovou než při foliární aplikaci. Azadirachtin lze také do jisté míry použít pro ozdravení půdy (Gopal et al. 2007).

5. MODELOVÉ DRUHY ŠKŮDCŮ

5.1 Krytonosec řepkový - *Ceutorhynchus napi* Gyll.

Tento asi 3 – 4 mm velký brouk je jedním z hlavních škůdců řepky. Má zavalité tělo, na hlavě lomená tykadla a dlouhý nosec. Zbarvení je do šeda, tělo pokrývají husté jemné chloupky. Larva tohoto brouka je apodní eucephální, s tělem válcovitým rohlíčkovitě prohnutým, o velikosti až 5 mm. Zbarvení těla larvy je bílé, hlava je hnědožlutá. Tento škůdce se objevuje v porostu řepky brzy na jaře. Jeho potravou jsou listy, které ožírání. Vajíčka klade do stonků, kde se následně vylíhnou larvy vyžírající stonkovou dřev. Před završením vývoje larvy



Obrázek č. 3



opouštějí stonky a kuklí se v půdě.

Následně se v průběhu léta líhnou nové generace dospělých krytonosců. Tito dospělci přezimují v půdě a na jaře se cyklus opakuje. Rostliny napadené larvami krytonosců vykazují deformovaný růst, nesou málo květů, praskají jim stonky a jsou snadno napadány houbovými chorobami (Kazda a kol. 2010).

Obrázek č. 4

5.2 Kyjatka hrachová - *Acyrtosiphon pisum* Harr.

Kyjatka je asi 3 – 5 mm dlouhá mšice. Bezkrídla živoroďa samička je zelené barvy, okřídlená živoroďa samička má hlavu a hrud' světle hnědou, zadeček zelený. Tato mšice přezimuje pomocí vajíček umístěných na porostu víceletých vikvovitých rostlin. V průběhu roku se narodí okolo 15 až 20 generací v závislosti na klimatických podmínkách. Od května do konce září způsobují dospělci i nymfy poškození rostlinných vrcholků, mladých plodů a listů, které po sání žloutnou a opadávají. Zároveň také představují velké riziko z důvodu přenosu virových chorob. Tyto mšice sají především na semenných rostlinách. V průběhu vegetace se rozmnožují především živoroďe a na podzim kladou drobná černá oplozená vajíčka na víceleté vikvovité porosty vojtěšky či jetele (Kazda a kol., 2011).



Obrázek č. 5

5.3 Sviluška chmelová - *Tetranychus urticae* (Koch)

Tento roztoč o velikosti 0,4 - 0,6 mm, s vejčítým tělem zelené barvy a dvěma tmavými skvrnami na zadečku patří mezi nejvýznamnější škůdce skleníkových, zahradních ale i pokojových rostlin. Líhnoucí se larvy svilušek mají tři páry nohou. Následující nymfální stádium už má čtyři páry nohou a po dvou instarech se mění v dospělé. Sviluška přezimuje pomocí oplodněné samičky, která bývá oranžově až červeně zbarvená, schovaná ve skleníkových konstrukcích či pod kůrou stromů. Na jaře samička naklade vajíčka na spodní stranu listů, kde také nymfy i dospělci po většinu života žijí. Při větších počtech si vytvářejí pavučinku, díky které se pomocí větru šíří na jiné rostliny. Na posátých listech se objevují malé šedo-bílé skvrny, listy jsou pokryté pavučinkou a postupně odumírají. Sviluška má ráda sucho a teplo. Za ideální teploty okolo 26 °C trvá vývoj 8 až 10 dní, při 21 °C už jen 15 až 18 dní. Za jedno vegetační období se může ve venkovních podmínkách narodit 9 generací, a ve skleníkových podmínkách až 20 generací (Kazda a kol., 2011).



Obrázek č. 6

6. MATERIÁL A METODIKA

6.1 Pokusné prostředí

Pokusy byly provedeny ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Praze - Ruzyni (VÚRV), a byly realizovány v laboratorních i venkovních podmínkách. V klimatizované laboratoři byla stálá teplota 25 +/- 1°C, relativní vzdušná vlhkost 60 - 70 % a fotoperioda 16 : 8 (světlo 16 hodin, tma 8 hodin). Pokus ve venkovních podmínkách byl proveden na pozemku VÚRV, v.v.i., oddělení rostlinolékařství, odboru entomologie.

6.2 Použité přípravky obsahující azadirachtin

V experimentu byl použit přípravek NeemAzal T/S a rostlinný materiál z různých částí stromu *A. indica*.

AzaZ – přípravek NeemAzal T/S (1 % azadirachtinu) smíchaný se zeolitem (10 g přípravku + 170 g zeolitu – připraveno ve VÚRV), přípravek NeemAzal T/S byl zakoupen u firmy TRIFOLIO.M

AzaF – přípravek NeemAzal T/S (1 % azadirachtinu) smíchaný s fulvokyselinami získanými z rašeliny (10 g přípravku + 170 g fulvokyselin - připraveno ve VÚRV), přípravek NeemAzal T/S byl zakoupen u firmy TRIFOLIO.M

NC - zbytky vylisovaných semen, rostlinný materiál byl zakoupen u firmy PARKER INDIA GROUP COMPANY (Indie)

B - kůra azadirachty indické, rostlinný materiál byl zakoupen u firmy PARKER INDIA GROUP COMPANY (Indie)

L - listy azadirachty indické, rostlinný materiál byl zakoupen u firmy PARKER INDIA GROUP COMPANY (Indie)

6.3 Substrát

Jako pěstební médium byl použit zahradní substrát „Zemina pro zelené koření a bylinky“ od společnosti Rašelina a.s. Tento substrát se skládá z drcené a míchané rašeliny substrátové, zahradnické, kompostové a rašeliny bílé. Obsahuje minerální kombinovaná hnojiva se stopovými prvky a dolomitickým vápencem.

Chemické a fyzikální vlastnosti substrátu:

Vlhkost	max. 65 %
Spalitelné látky	60 %
pH	5 – 6,5
částice nad 20 mm	max. 5 %

obsah rizikových prvků splňuje zákonem stanovené limity v mg/kg (Cd 2, Pb 100, Hg 1, As 10, Cr 100, Mo 5, Ni 50, Cu 100, Zn 300)

6.4 Rostlinný materiál

V pokusu byly použity rostliny hrachu (*Pisum sativum* var. *sativum*) odrůdy Oskar, velmi raná s dlouhými lusky a nízkou poléhavostí. Použity byly také rostliny fazolu keříčkového (*Phaseolus vulgaris*) odrůdy Petra, vyznačující se svou poloraností a středním vzrůstem (SEMO). Semena byla zakoupena ve firmě Semo a.s. Pro pokus s krytonoscem řepkovým byla použita řepka olejka ozimá (*Brassica napus* var. *napus*). Jednalo se o odrůdu MICKEY, vyznačující se dobrým růstem na lehkých půdách a srážkově chudších lokalitách (Saatbau Linz). Semena této odrůdy byla zakoupena u firmy Saatbau Linz Česká republika spol. s r.o.

6.5 Živočišný materiál

6.5.1 Kyjatka hrachová

Byl použit chov kyjatyky hrachové (*Acyrtosiphon pisum* Harr.). Jedinci po posledním svlečení byli získáni z VÚRV v.v.i., odboru rostlinolékařství, oddělení entomologie. Chov kyjatyky byl udržován na rostlinách hrachu setého při teplotě 25 °C a fotoperiodě 16 : 8.

6.5.2 Sviluška chmelová

Dále byl použit chov svilušky chmelové (*Tetranychus urticae* (Koch)), který byl taktéž získán z VÚRV, v.v.i., odboru rostlinolékařství, oddělení entomologie. Chov svilušek byl udržován na rostlinách fazolu obecného při teplotě 25 °C a fotoperiodě 16 : 8.

6.5.3 Krytonosec řepkový

Jako poslední modelový škůdce byli použiti dospělci krytonosce řepkového (*Ceutorhynchus napi* Gyll.), kteří byli nachytáni v porostu řepky na pokusných pozemcích VÚRV. Škůdci byli pozorováni v období páření a následně po párech odchyceni.

6.6 Harmonogram experimentu

Jednotlivé pokusy byly provedeny v období 4. 4. – 21. 6. 2011. Pokus pro zjištění nejúčinnějšího přípravku byl založen 4. 4. 2011 a doba trvání byla 14 dní. Pokus na zjištění toxicity u mšic byl založen 18. 4. 2011 a trval 14 dní. Pokus na zjištění toxicity u svilušek byl založen 9. 5. 2011 a trval 14 dní. Pokus s krytonoscem řepkovým byl založen 12. 4. 2011 a ukončen 25. 5. 2011.

6.7 Vlastní experiment

Experiment se skládal ze dvou částí. V první části byl vybrán nejúčinnější přípravek a v druhé části byla ověřována účinnost přípravku v závislosti na dávce.

6.7.1 Zjištění biologické účinnosti testovaných materiálů

Cílem těchto pokusů bylo zjistit účinnost a vybrat nejúčinnější formulace přípravku. Nejúčinnější varianta byla použita pro formulaci nového přípravku. Tento pokus byl proveden se dvěma modelovými druhy škůdců.

6.7.1.1 Zjištění biologické účinnosti na kyjatku hrachovou

Do zahradního substrátu byly rovnoměrně vmíchány přípravky - **AzaZ, AzaF, NC, B a L** - o dávkách 0,5, 1, 5 a 10 g/l. Před založením experimentu byla semena hrachu setého zaseta po dvou do sadbových plat. Po vyklíčení se nechaly rostliny vyrůst do fáze BBCH 13. Poté byly mladé rostlinky přesazeny do květináčů s ošetřeným substrátem. Následně byly rostliny zaizolovány a na každou rostlinu hrachu bylo introdukováno 20 dospělců kyjatky hrachové. Jako izolátor byla použita jemná síťovina. Pokus byl umístěn v klimatizovaných kójích oddělení entomologie a byl realizován ve 20 variantách po 4 opakováních. Po 14 dnech od introdukce dospělých jedinců kyjatky byly rostliny odizolovány, těsně u zeminy odstřiženy, a následně byly spočítány počty nymf a dospělců. U rostlin byla změřena výška kvůli případné fytotoxicitě aplikovaného přípravku.

6.7.1.2 Zjištění biologické účinnosti na svilušku chmelovou

Do zahradního substrátu byly rovnoměrně vmíchány přípravky - **AzaZ, AzaF, NC, B a L** - o dávkách 0,5, 1, 5 a 10 g/l. Před založením experimentu byla semena fazolu obecného zaseta po dvou do sadbových plat. Po vyklíčení se nechaly rostliny vyrůst do fáze BBCH 13. Poté byly mladé rostlinky přesazeny do květináčů s ošetřeným substrátem. Následně byly rostliny zaizolovány a na každou rostlinu hrachu byli introdukováni jedinci svilušky chmelové. Jako izolátor byla použita jemná síťovina. Pokus byl umístěn v klimatizovaných kójích oddělení entomologie a byl realizován ve 20 variantách po 4 opakováních. Po 14 dnech od introdukce byly rostliny odizolovány, těsně u zeminy odstřiženy, a následně byly spočítány počty vajíček, nymf a dospělců. U rostlin byla změřena výška kvůli případné fytotoxicitě aplikovaného přípravku.

6.7.2 Účinnost přípravku Neem Cake

Tímto experimentem byly zjištěny účinnosti vybraného přípravku **NC** na škůdce při různých dávkách a odlišné době aplikace. Tento pokus byl proveden se dvěma modelovými druhy škůdců.

6.7.2.1 Zjištění účinností jednotlivých dávek přípravku Neem Cake na kyjatku hrachovou při výsevu rostliny do neošetřeného substrátu

Do zahradního substrátu byla rovnoměrně vmíchána nejvyšší dávka (10 g/l) přípravku **NC**. Tato dávka byla následně ředěna půlením s neošetřeným substrátem, čímž byly získány nižší koncentrace (5, 2.5, 1.25, 0.65 a 0.3 g/l). Před založením experimentu byla semena hrachu setého zaseta po dvou do sadbových plat. Po vyklíčení se nechaly rostliny vyrůst do fáze BBCH 13. Poté byly mladé rostlinky přesazeny do květináčů s ošetřeným substrátem. Následně byly rostliny zaizolovány a na každou rostlinu hrachu byli introdukováni dospělci kyjatky hrachové. Jako izolátor byla použita jemná síťovina. Pokus byl umístěn v klimatizovaných kójiích oddělení entomologie a byl realizován v 6 variantách po 10 opakováních. Po 14 dnech od introdukce dospělých jedinců kyjatky byly rostliny odizolovány, těsně u zeminy odštíženy, a následně byly spočítány počty nymf a dospělců. U rostlin byla změřena výška kvůli případné fyto toxicitě aplikovaného přípravku.

6.7.2.2 Zjištění účinností jednotlivých dávek přípravku Neem Cake na kyjatku hrachovou při výsevu rostliny do ošetřeného substrátu

Do zahradního substrátu byla rovnoměrně vmíchána nejvyšší dávka (20 g/l) přípravku **NC**. Tato dávka byla následně ředěna půlením s neošetřeným substrátem, čímž byly získány nižší koncentrace (10, 5, 2.5, 1.25, 0.65 a 0.3 g/l). Před založením experimentu byla semena hrachu setého zaseta po dvou do květináčů s ošetřeným substrátem. Po vyklíčení se nechaly rostliny vyrůst do fáze BBCH 13. Následně byly rostliny zaizolovány a na každou rostlinu hrachu byli introdukováni dospělci kyjatky hrachové. Jako izolátor byla použita jemná síťovina. Pokus byl umístěn v klimatizovaných kójiích oddělení entomologie a byl realizován v 7 variantách po 10 opakováních. Po 14 dnech od introdukce dospělých jedinců kyjatky byly

rostliny odizolovány, těsně u zeminy odstřiženy, a následně byly spočítány počty nymf a dospělců. U rostlin byla změřena výška kvůli případné fyto toxicitě aplikovaného přípravku.

6.7.2.3 Zjištění účinností jednotlivých dávek přípravku Neem Cake na krytonosce řepkového

Do zahradního substrátu byla rovnoměrně vmíchána nejvyšší dávka (20 g/l) přípravku **NC**. Tato dávka byla následně ředěna půlením s neošetřeným substrátem, čímž byly získány nižší koncentrace (10, 5 a 2.5 g/l). Poté byly do nádob obsahujících namíchaný substrát s přípravkem zasazeny rostliny řepky ozimé a zaizolovány. Jako izolátor byla použita jemná síťovina. Ke každé rostlině byly 12. 4. 2011 introdukovány 3 pářící se dvojice krytonosce získané z pole VÚRV. Pokus byl proveden ve venkovním prostředí v areálu VÚRV. 10. 5. 2011 byly odstraněny izolátory a 25. 5. 2011 byl pokus vyhodnocen. Rostliny byly těsně nad zeminou uříznuty a změřeny. Následně byly rozříznuty stonky, spočítány larvy krytonosce a změřena délka poškození stonku žírem. Poté byly spočítány květy a šešule na rostlinách. Z těchto dat bylo následně vypočítáno poškození rostlin (%) a potenciál plodnosti rostliny (%).

6.8 Statistické metody

Získané výsledky pokusů byly zaznamenány do protokolů a zpracovány do tabulek v programu Microsoft Office Excel 2003. Ze získaných hodnot byly vypočítány aritmetické průměry, směrodatné odchytky, účinnost, mortalita, přírůstek rostlin a výnosový potenciál. Získané hodnoty byly vyhodnoceny v programu STATGRAPHICS Plus 4.0 jednofaktorovou analýzou Tukey HSD $P < 0.01$

Vzorec pro vypočítání mortality (%):

$$((P - K)/P) * 100$$

P – počáteční počet jedinců

K – konečný počet jedinců

Vzorec pro vypočítání účinnosti (%):

$$100 - ((T / C) * 100)$$

T – počet jedinců na ošetřené variantě

C – počet jedinců na kontrole

Vzorec pro vypočítání poškození (%):

$$100 - ((T / C) * 100)$$

T – délka poškození na ošetřené rostlině

C – délka poškození na kontrole

Vzorec pro vypočítání potenciálu plodnosti (%):

$$100 - ((T / C) * 100)$$

T – počet květů a šesulí na ošetřené rostlině

C – počet květů a šesulí na kontrole

7. VÝSLEDKY

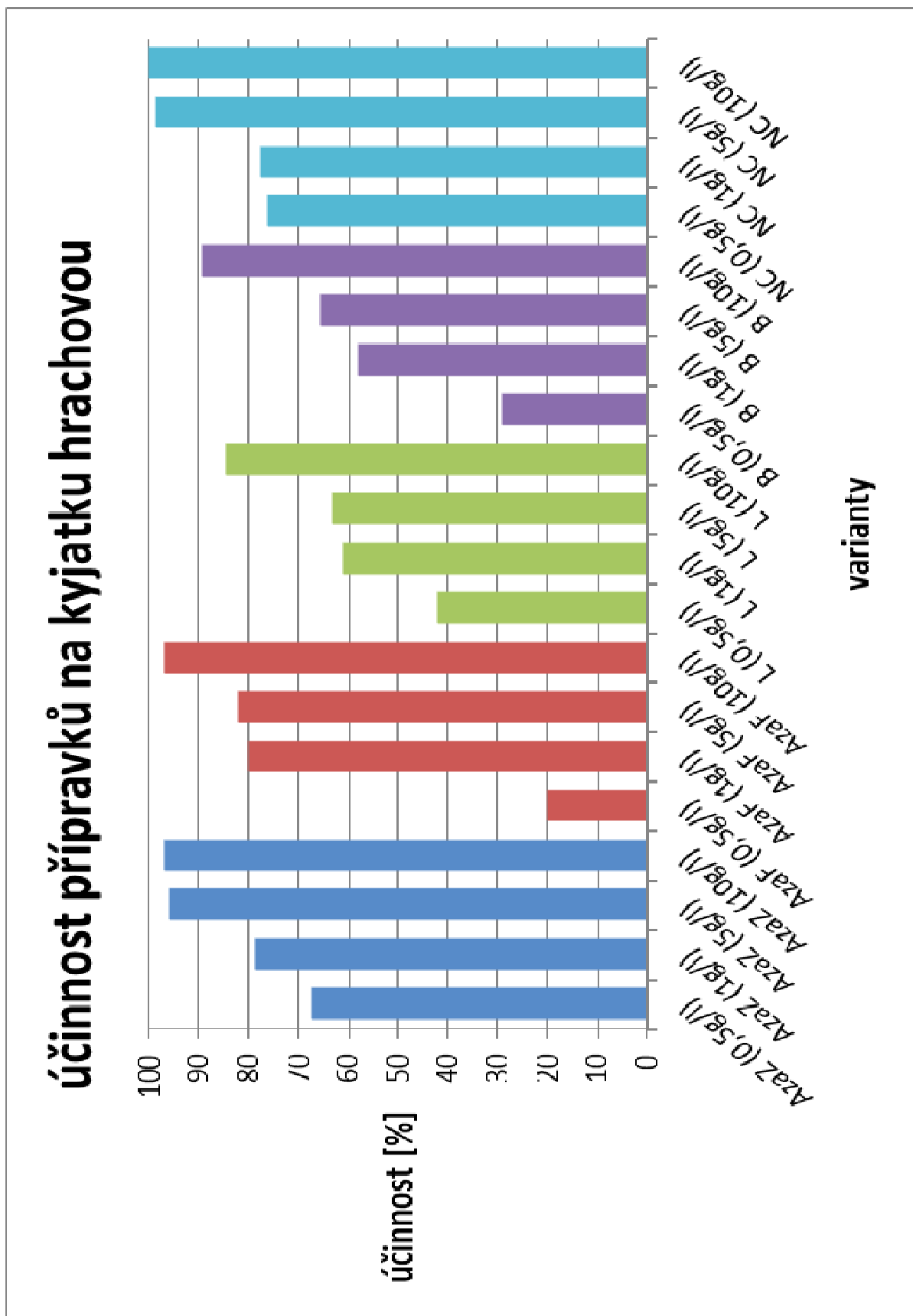
7.1 Zjištění biologické účinnosti testovaných materiálů

A) Zjištění biologické účinnosti na kyjátku hrachovou

Všechny použité přípravky z *A. indica* vykazaly výrazné snížení počtu mšic (viz. Tabulka 1). Zjištěná účinnost se měnila v závislosti na dávce a formulaci přípravku. U nejvyšších dávek (5 a 10 g/l) se účinnost pohybovala v rozmezí od 63 do 100 %, avšak rozdíl mezi těmito dávkami nebyl významný (viz. Tabulka 1). Významné rozdíly byly zjištěny až při nižších dávkách, kde byla u přípravku **NC** (Neem Cake - zbytky vyextrahovaných semen) při dávce 0,5 g/l zjištěna účinnost 76,4 % a u přípravku **AzaZ** (NeemAzal + zeolit) 67,4 % (viz. Graf 1). V ostatních variantách při dávce 0,5 g/l byla účinnost významně nižší.

Tabulka 1. Biologická účinnost přípravků na kyjátku hrachovou

var.	nymfy	dospělci	celkem	účinnost dospělci	účinnost celkem
AzaZ (0,5 g/l)	11,33±8,44abc	1,33±1,63a	12,67±10,06ab	90,23±11,67	67,37±21,61abcd
AzaZ (1 g/l)	7,33±5,49abc	0±0a	7,33±5,49ab	100±0	78,86±14,37cd
AzaZ (5 g/l)	0,67±0,82a	0,67±0,82a	1,33±1,63a	94,8±6,28	95,67±5,24d
AzaZ (10 g/l)	1±1,22a	0±0a	1±1,22a	100±0	96,71±3,99d
AzaF (0,5 g/l)	45±30,26d	2,67±3,27a	47,67±33,5cd	82,5±20,46	20,06±32,38a
AzaF (1 g/l)	7,33±7,79abc	0±0a	7,33±7,79ab	100±0	79,99±19,68cd
AzaF (5 g/l)	5,67±3,89abc	0,33±0,41a	6±4,24ab	97,32±3,27	82,14±12,09cd
AzaF (10 g/l)	0,67±0,82a	0,33±0,41a	1±0,71a	97,32±3,27	96,66±2,34d
L (0,5 g/l)	23,67±7,08abcd	0,67±0,82a	24,33±6,87abcd	94,8±6,28	42,08±11,44abc
L (1 g/l)	13,67±3,89abcd	0,67±0,82a	14,33±4,6abc	94,8±6,28	61,19±10,2abcd
L (5 g/l)	13,33±6,57abc	0,33±0,41a	13,67±6,42abc	97,32±3,27	63,26±13,75abcd
L (10 g/l)	5±1,87abc	0±0a	5±1,87ab	100±0	84,37±5,34cd
B (0,5 g/l)	35±21,44cd	1,67±1,47a	36,67±22,87bcd	87,61±10,43	29,17±26,71ab
B (1 g/l)	14,67±5,12abcd	1,33±0,41a	16±5,52abc	89,52±3,01	57,77±11,1abcd
B (5 g/l)	12±9,25abc	1,67±1,47a	13,67±10,71abc	87,61±10,43	65,36±22,43abcd
B (10 g/l)	3,33±0,41ab	0±0a	3,33±0,41ab	100±0	89,2±1,25cd
NC (0,5 g/l)	8,67±7,76abc	0±0a	8,67±7,76ab	100±0	76,35±19,26bcd
NC (1 g/l)	7,67±4,08abc	0±0a	7,67±4,08ab	100±0	77,48±11,59bcd
NC (5 g/l)	0,33±0,41a	0±0a	0,33±0,41a	100±0	98,87±1,38d
NC (10 g/l)	0±0a	0±0a	0±0a	100±0	100±0d
K	34,33±11,86bcd	24±1,41b	58,33±12,03d		



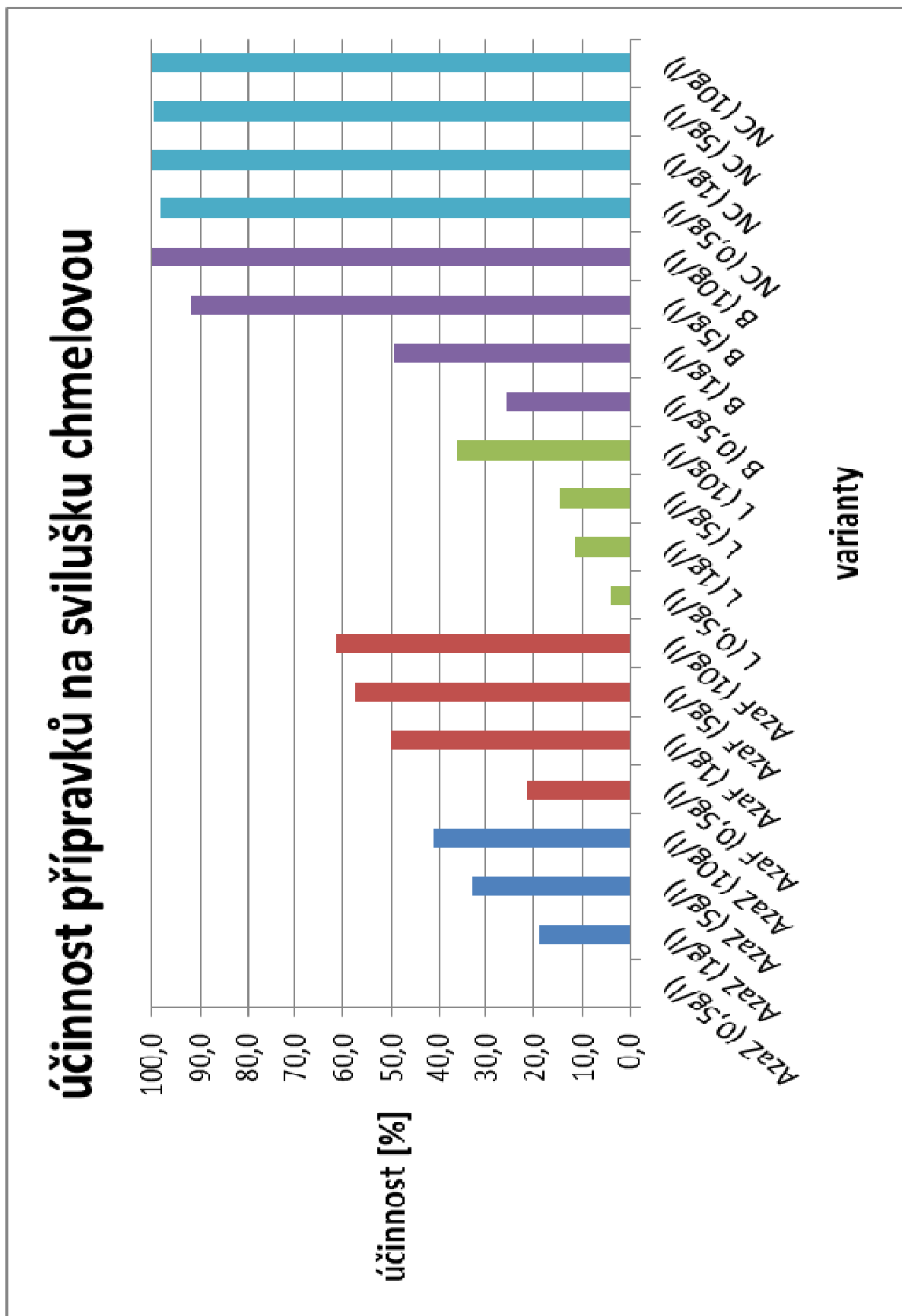
Graf 1. Účinnost přípravků na kyjátku hrachovou

B) Zjištění biologické účinnosti na svilušku chmelovou

Téměř všechny použité přípravky způsobily snížení výskytu svilušek na rostlinách (viz. Tabulka 2). Účinnost se měnila v závislosti na dávce a formulaci přípravku. U nejvyšších dávek (5 a 10 g/l) došlo k významnému snížení počtu jedinců v rozmezí od 91 do 100% (viz. Tabulka 2). Při nejnižší použité dávce 0.5 g/l vykázal přípravek **NC** významně vyšší účinnost oproti ostatním přípravkům (viz. Graf 2).

Tabulka 2. Biologická účinnost přípravků na svilušku chmelovou

var.	vajíčka	nymfy	dospělci	celkem	účinnost celkem
AzaZ (0,5g/l)	142,33±32,91e	4,33±0,82abc	11,33±1,08bc	158±31,85h	-17,13±9,06a
AzaZ (1g/l)	69,5±6,72cd	3±0abc	2,5±1,06ab	75±5,66cdefg	18,74±3,65abcd
AzaZ (5g/l)	39±15,31abcd	5,33±3,63abc	3±0,71ab	47,33±15,66abcde	41,11±15,35bcd
AzaZ (10g/l)	51,33±23,93bcd	4,67±0,41abc	3,67±1,63ab	59,67±25,2cdefg	32,66±22,1bcd
AzaF (0,5g/l)	21±16,02ab	10,67±9,63c	1,33±0,82a	33±20,36abcd	57,28±25,6cdef
AzaF (1g/l)	63±21,53bcd	8,67±2,94bc	1,33±0,82a	73±21,25cdefg	21,63±14,7abcd
AzaF (5g/l)	26,33±16,28abc	11,33±2,27c	1±0,71a	38,67±18,87abcde	50,14±18,89bcde
AzaF (10g/l)	22,67±12,75abc	4±1,41abc	0,67±0,41a	27,33±13,97abc	61,77±17,44def
L (0,5g/l)	40,67±9,55abcd	1±0,71ab	11±5,79bc	52,67±14,84abcdef	36,2±13,36bcd
L (1g/l)	66±4,64bcd	1,67±1,08ab	19,67±2,94c	87,33±8,2efg	11,39±4,8abc
L (5g/l)	84,33±18,99d	1±1,22ab	18,33±5,93c	103,67±24,18fg	3,89±10,9ab
L (10g/l)	65,33±19,3bcd	0,33±0,41a	18±1,87c	83,67±21,22defg	14,77±13,44abc
B (0,5g/l)	49±20,87bcd	0±0a	11,33±6,01bc	60,33±30,88bcdefg	49,58±34,51bcde
B (1g/l)	47,67±10,59bcd	0±0a	18±3,08c	65,67±13,16cdefg	25,68±9,72abcd
B (5g/l)	0±0a	4,67±1,08abc	0±0a	4,67±1,08ab	91,83±1,83ef
B (10g/l)	0±0a	0±0a	0±0a	0±0a	100±0f
NC (0,5g/l)	0±0a	1±1,22ab	0±0a	1±1,22a	98,21±2,18f
NC (1g/l)	0±0a	0±0a	0±0a	0±0a	100±0f
NC (5g/l)	0±0a	0,33±0,41a	0±0a	0,33±0,41a	99,39±0,74f
NC (10g/l)	0±0a	0±0a	0±0a	0±0a	100±0f
K	82,67±5,72d	9±3,74bc	17,67±4,55c	109,33±9,93gh	



Graf 2. Účinnost jednotlivých přípravků na svilušku chmelovou

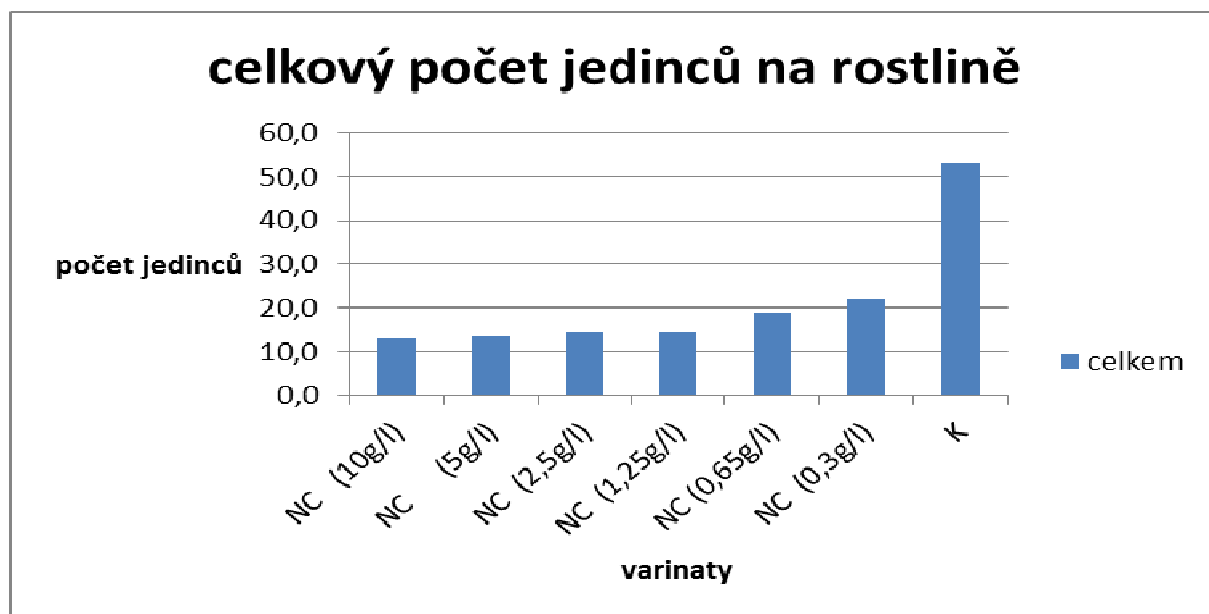
7.2 Účinnost přípravku Neem Cake

A) Zjištění účinnosti jednotlivých dávek přípravku Neem Cake na kyjatku hrachovou při výsevu rostliny do neošetřeného substrátu

Na rostlinách rostoucích v substrátu s NC bylo zjištěno významně méně jedinců kyjatky oproti kontrole (viz. Graf 3). Nejvyšší vliv na snížení počtu jedinců byla zjištěna u dávky 10 g/l, nicméně tato účinnost se významně nelišila od dávek 5, 2.5, 1.25 a 0.65 g/l (viz. Tabulka 3). Nejnižší účinnost byla zjištěna u dávky 0.3 g/l.

Tabulka 3. Účinnosti jednotlivých dávek přípravku NC na kyjatku hrachovou

	nymfy	dospělci	celkem	účinnost celkem
NC (10g/l)	12,1±9,98a	0,9±0,83a	13±10,49a	64,67±25,39
NC (5g/l)	12,2±9,63a	1,3±1,27a	13,5±10,74a	63,11±22,94
NC (2,5g/l)	12,8±11,51a	1,9±1,97a	14,7±13,16a	61,55±25,66
NC (1,25g/l)	13,2±9,64a	1,3±1,19a	14,5±10,1a	60,25±21,43
NC (0,65g/l)	15±18,47a	3,9±4,53ab	18,9±22,81a	58,8±36,6
NC (0,3g/l)	20,1±17,72a	2±1,41a	22,1±18,89a	50,03±35,69
K	45,3±18,42b	7,8±6,63b	53,1±21,71b	



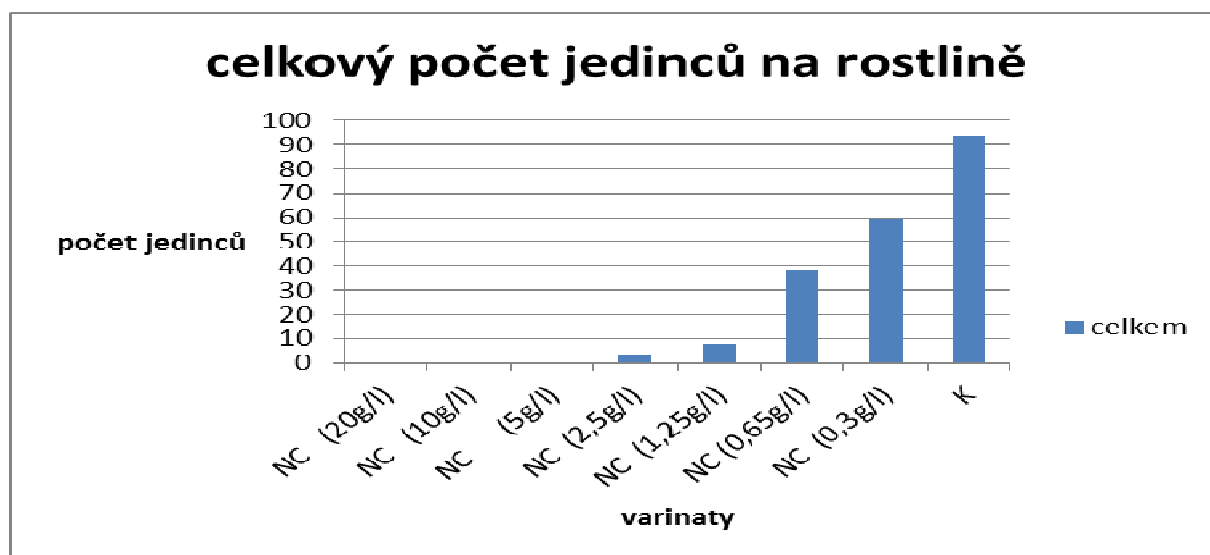
Graf 3. Celkový počet jedinců kyjatky hrachové na rostlinách

B) Zjištění účinnosti jednotlivých dávek přípravku Neem Cake na kyjatku hrachovou při výsevu rostliny do ošetřeného substrátu

Na rostlinách rostoucích v substrátu s NC bylo zjištěno významně méně jedinců kyjatky oproti kontrole (viz. Graf 4). Nejvyšší vliv na snížení počtu mšic byl zjištěn u dávek 20, 10 a 5 g/l, kde došlo k 100 % snížení počtu jedinců (viz. Tabulka 4). U dávek 2.5 a 1.25 g/l byla účinnost 94,8 a 84,9 % (viz. Graf 5). Nejnižší vliv na snížení počtu jedinců mšic byl zjištěn u dávek 0.65 a 0.3 g/l (viz. Graf 4). Pozitivní vliv na růst rostlin byl zjištěn u dávek 5 a 2.5 g/l (viz. Graf 6).

Tabulka 4. Účinnosti jednotlivých dávek přípravku NC na kyjatku hrachovou

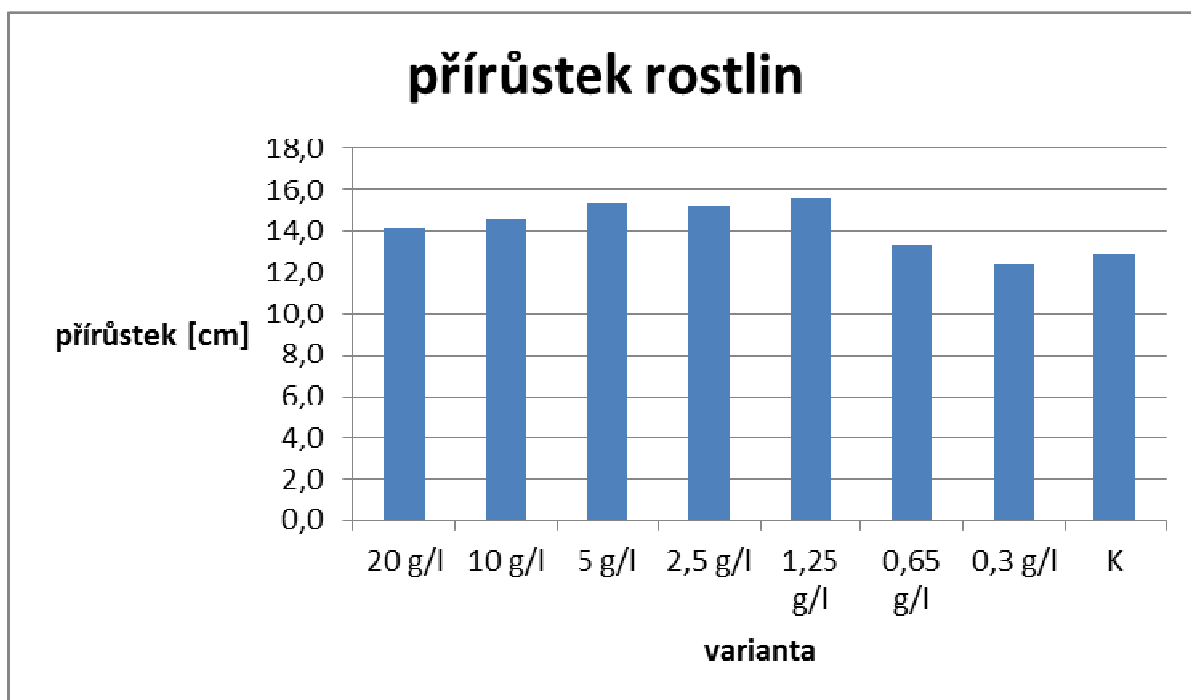
var.	nymfy	dospělci	celkem	účinnost celkem	přírůstek
NC (20g/l)	0±0a	0±0a	0±0a	100±0b	14,18±0,94ab
NC (10g/l)	0±0a	0±0a	0±0a	100±0b	14,61±2,17ab
NC (5g/l)	0±0a	0±0a	0±0a	100±0b	15,39±1b
NC (2,5g/l)	2,6±7,8a	0,5±1,5a	3,1±9,3a	94,79±15,64b	15,21±1,5b
NC (1,25g/l)	5,7±5,57a	2±1,95ab	7,7±7,25a	84,88±13,09b	15,55±0,98b
NC (0,65g/l)	35,3±54,24ab	2,8±4,45ab	38,1±56,87ab	62,7±51,93ab	13,31±2,54ab
NC (0,3g/l)	56,3±82,42ab	3±4,24ab	59,3±86,48ab	47,62±52,66ab	12,42±1,66a
K	87,9±57,13b	5,8±3,76b	93,7±60,7b		12,92±1,09ab



Graf 4. Celkový počet jedinců kyjatky hrachové na rostlinách



Graf 5. Účinnost přípravku NC na kyjatku hrachovou



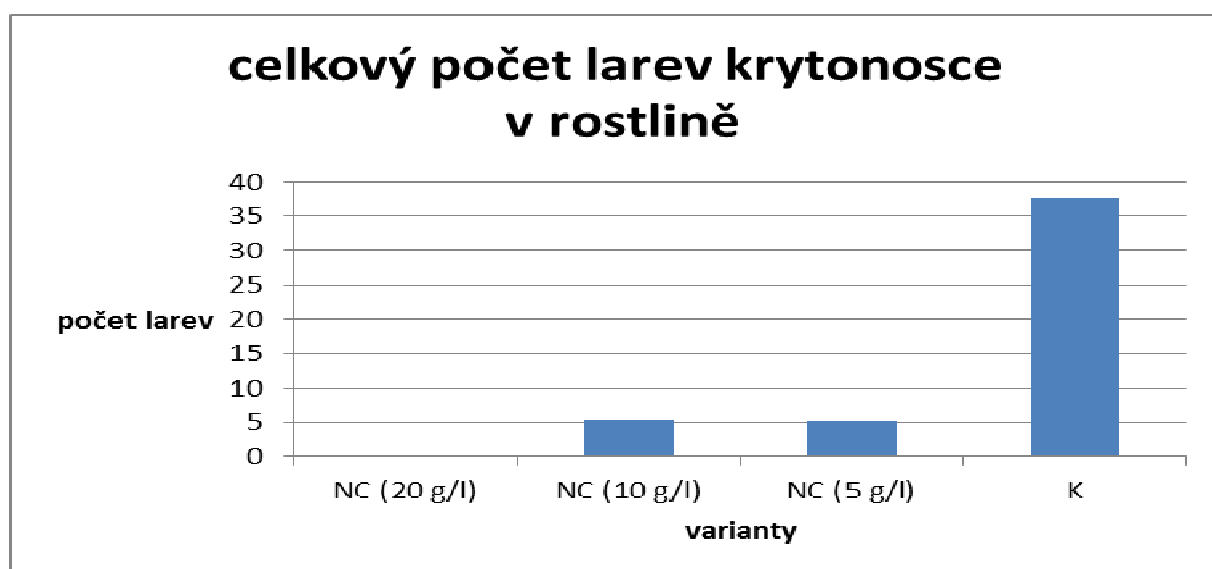
Graf 6. Přírůstek rostlin

C) Zjištění účinnosti jednotlivých dávek přípravku Neem Cake na krytonosce řepkového

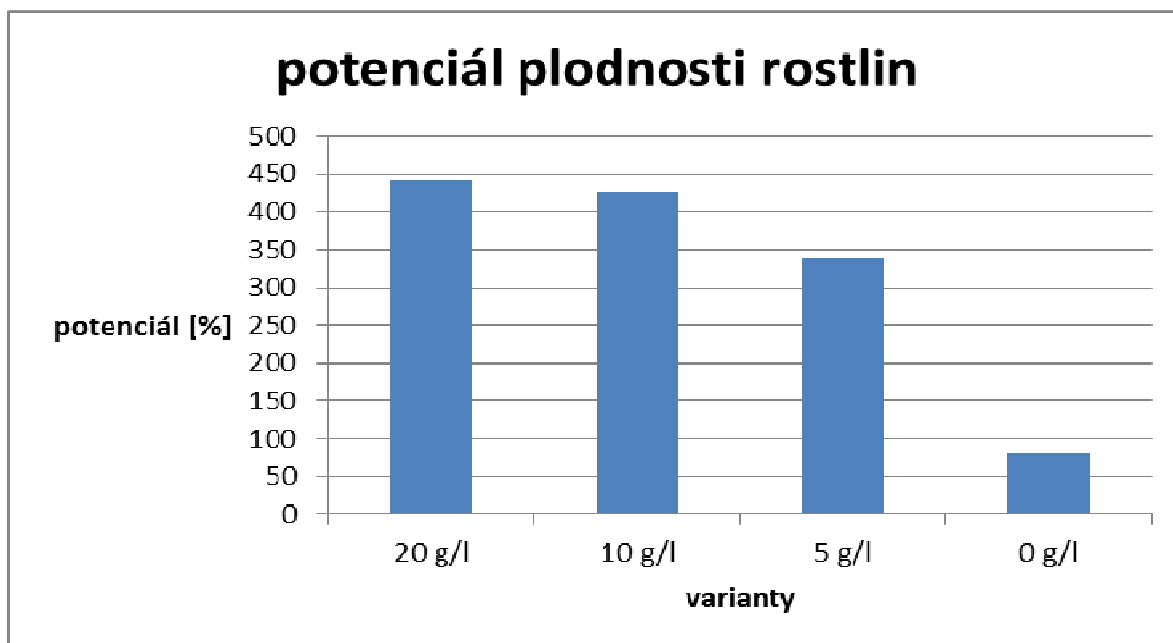
Na rostlinách rostoucích v substrátu s NC bylo zjištěno významně menší poškození u všech dávek oproti kontrole. Hodnoty poškození se pohybovaly od 2.1 do 12.7 % (viz. Tabulka 5). Nejvyšší účinnost na snížení počtu larev byla zjištěna u dávky 20 g/l, kde došlo k 100 % snížení oproti kontrole (viz. Graf 7). U ošetřených rostlin byl ve všech dávkách oproti kontrole zjištěn významně vyšší počet květů a šešulí (viz. Tabulka 5). Z počtu květů a šešulí byl vypočítán výnosový potenciál uvedený v grafu 8. Pozitivní vliv na růst rostlin byl zjištěn u dávek 10 a 5 g/l (viz. Graf 9).

Tabulka 5. Účinnost přípravku NC na krytonosce řepkového

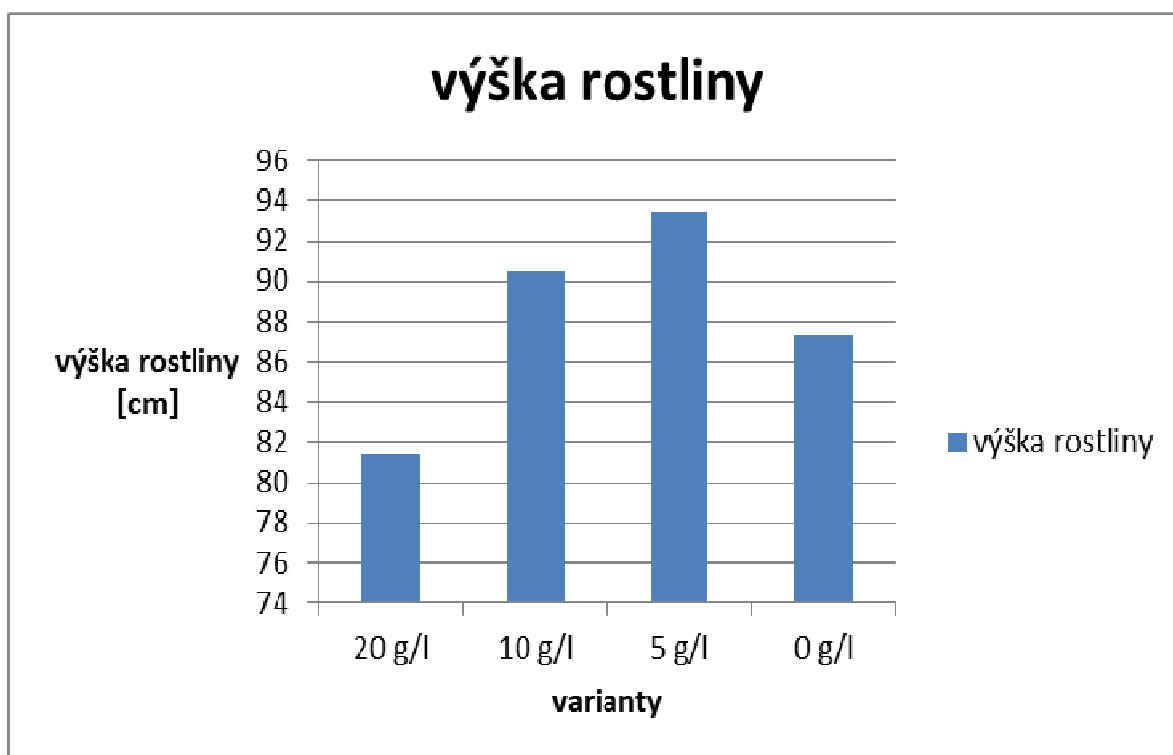
koncentrace	počet larev	délka poškození	výška rostliny	% poškození	počet šešulí	počet květů	výnosový potenciál
NC (20 g/l)	0 ± 0a	1,4 ± 2a	81,4 ± 12,5	2,1 ± 3,3a	155 ± 28,3ab	286 ± 56,4c	441 ± 78,5b
NC (10 g/l)	5,4 ± 6,1a	10,6 ± 6,7a	90,4 ± 6,3	12 ± 8,2a	217,2 ± 37,9b	208 ± 57,8bc	425,2 ± 66,2b
NC (5 g/l)	5,2 ± 5,5a	11,2 ± 8a	93,4 ± 7,9	12,7 ± 9,3a	216,2 ± 59,2b	122 ± 49,3b	338,2 ± 50b
K	37,5 ± 14,3b	46,8 ± 12,6b	87,3 ± 17,3	53,4 ± 7,8b	79,5 ± 22,1a	0 ± 0a	79,5 ± 22,1a



Graf 7. Celkový počet larev krytonosce řepkového na rostlinách



Graf 8. Potenciál plodnosti napadených rostlin řepky ozimé



Graf 9. Výška rostlin ošetřených přípravkem NC

8. DISKUZE

V našich experimentech bylo zjištěno, že rostlinný materiál z *A. indica* aplikovaný do půdy významně snižuje poškození rostlin škůdci a zároveň může pozitivně ovlivnit růst rostlin.

Na základě pokusů zjišťujících biologickou aktivitu jednotlivých přípravků a rostlinných materiálů obsahujících azadirachtin jsme vybrali přípravek NC (Neem Cake), u kterého bylo zjištěno významné snížení počtu jedinců škůdce. Toto snížení bylo u kyjatky hrachové o 76.4 % při dávce 0.5 g/l a u svlušky chmelové o 98 % při dávce 0.5 g/l. Přípravek NC byl postoupen k dalším pokusům, jejichž výsledkem bylo zjištění účinností jednotlivých dávek přípravku na vybrané druhy modelových škůdců. Z těchto pokusů byl zjištěn významný vliv na vývoj jedinců kyjatky hrachové a také byl zjištěn významný vliv na snížení poškození řepky ozimé larvami krytonosce řepkového. U přípravku NC byl také zjištěn vliv na počet květů a šešulí, které tvoří výnosový potenciál rostlin. Dále byl zjištěn významný rozdíl v účinnostech přípravku při setí do ošetřeného a neošetřeného substrátu, kdy při setí do ošetřeného substrátu byla účinnost přípravku významně vyšší.

Přípravek NC - Neem Cake (zbytky vyextrahovaných semen) je účinný díky tomu, že i po vyextrahování oleje zůstává ve zbytcích semen dostatek biologicky aktivních látek. Podle analýz firmy Parker je v materiálu Neem Cake obsaženo min. 1000 ppm azadirachtinu, 850 ppm nimbinu, 1500 ppm salaninu, a mimo jiné i živiny v podobě 4 % dusíku, 1.5 % fosforu a 1.5 % draslíku (PARKER INDIA GROUP COMPANY). Příjem azadirachtinu kořeny rostlin zjistil Pavela et al. (2004) v experimentu se mšicí zelnou na rostlinách řepky olejky umístěných ve zkumavkách s roztokem azadirachtinu A o dávkách 0.25, 0.05, 0.005, 0.0005 a 0.00005 mg/ml. V experimentu byly hodnoceny počty jedinců škůdce a mortalita. U dávek 0.25 a 0.05 mg/ml byla zjištěna 100% mortalita mezi 5. a 7. dnem od introdukce.

V experimentu na rostlinách rajčete jedlého pěstovaných v hydroponických nádobách, do jejichž hydroponického roztoku byl přidáván přípravek obsahující azadirachtin, Pavela (2009) prokázal vliv na molici skleníkovou. Použity byly varianty o koncentracích azadirachtinu 85, 20, 5 a 0.5 ppm. Po prvním ošetření byly u koncentrací 80 a 20 ppm počty nymf a dospělců nižší o více než 90 %. U koncentrací 5 a 0.5 ppm se nesnížily počty dospělců, avšak počty nymf a vajíček byly významně nižší. Po opakovaném ošetření byly počty nymf i dospělců významně nižší ve všech koncentracích oproti kontrole.

Při půdní aplikaci přípravku obsahujícího azadirachtin je významně zpomalena degradace biologicky aktivních látek a tím prodloužena doba účinnosti, jak dokazují Kumar and Poehling (2006) v experimentu s molicí skleníkovou na rostlinách rajčete jedlého, které byly ošetřeny přípravkem obsahujícím azadirachtin na list i do půdy. Po ošetření rostlin a introdukci škůdce byla sledována mortalita jedinců v průběhu 7 dní. Z experimentu zjistili, že přípravky s azadirachtinem aplikované foliárně způsobují první den po aplikaci 100 % mortalitu, avšak s postupem času tato hodnota klesá až na 7% v sedmý den od ošetření. Oproti tomu u aplikace přípravku do půdy byla první den zjištěna mortalita 88 – 90 % a následně tato hodnota poklesla na 45 – 64 % v sedmý den od aplikace.

Vyšší účinnost při výsevu do ošetřeného substrátu je způsobena dobou potřebnou pro rozvedení azadirachtinu po rostlinných orgánech a jeho uložení do vakuol buněk, což potvrzuje pokus provedený na stromu *Litchi chinensis* Sonn., na který byl introdukován brouk *Tessarotoma papillosa* Drury. Následně byl do kmene stromu injektován přípravek obsahující azadirachtin. Poté byla hodnocena mortalita a počty jedinců škůdce. Účinnost přípravku se projevila až týden po aplikaci přípravku snížením počtu nymf i dospělců, a vliv na snížení jedinců škůdce trval přes 3 týdny (Schulte et al. 2006). Z tohoto pokusu vyplývá, že doba potřebná pro rozvedení azadirachtinu po rostlinných pletivech je závislá na příjmové kapacitě kořenů a celkové ploše pletiv.

Vliv azadirachtinu na snížení poškození řepky ozimé larvami krytonosce řepkového zatím nebylo publikováno. Přípravky s azadirachtinem použité pro ošetření porostu řepky olejky mají také významný účinek proti bejlmorce kapustové (Pavela a kol., 2009).

Pozitivní vliv přípravku NC na růst rostlin je způsoben obsaženými živinami (4 % dusíku, 1.5 % fosforu a 1.5 % draslíku) a zvýšením obsahu organického uhlíku v substrátu. Murugan et al. (2011) zjistili, že při použití zbytků vylisovaných semen (Neem Cake) rostliny fazolí utvářely více větví a lusky obsahovaly více semen.

Neem Cake je do budoucna velmi zajímavý pro ochranu rostlin při produkci potravin, protože obsažený azadirachtin se v produktech vyskytuje pouze v nepatrném množství. Tento fakt zjistili Sarais et al. (2009) při otestování listů a plodů broskvoně po ošetření přípravkem obsahujícím azadirachtin A. V experimentu zjistili, že při doporučeném dávkování nebyl přítomen žádný azadirachtin A. Při 5x vyšším dávkování než je doporučené výrobcem zjistili,

že 22 % azadirachtinoidů bylo na voskové vrstvě plodu a zbývajících 78 % na pokožce. V dužnině plodu nebyla zjištěna žádná rezidua. Schulte et al. (2006) zjistili, že po injektáži přípravku obsahujícího azadirachtin do kmene stromu *Litchi chinensis* Sonn., byla koncentrace azadirachtinu ve slupce plodu nižší než 5 mg/kg.

9. ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo zjištění účinnosti biologicky aktivních látek obsažených v přípravcích z *A. indica* aplikovaných přes kořenový systém rostlin na vybrané druhy modelových škůdců, následné vybrání nejúčinnějšího přípravku a zjištění účinnosti u jednotlivých dávek.

Významný vliv na snížení počtu jedinců kyjatky hrachové a svilušky chmelové měl přípravek NC (Neem Cake) v dávkách 0.5 a 1 g/l, kde se účinnost pohybovala od 63 do 100 %. Při zjišťování účinností jednotlivých dávek přípravku NC, byl zjištěn významný vliv na počet jedinců kyjatky hrachové v dávkách 20, 10, 5, 2.5, 1.25 g/l, kde se účinnost pohybovala od 100 do 85 %, a larev krytonosce řepkového v dávkách 20, 10 a 5 g/l, kde byl žír larev menší o 88 až 98 %. Zároveň byl zjištěn pozitivní vliv na růst rostlin v dávkách 10 a 5 g/l.

Výsledky experimentů potvrdily možnost aplikace azadirachtinu obsaženého v rostlinném materiálu z *A. indica* přes kořenový systém rostlin, a zároveň potvrdily významný vliv na vybrané druhy modelových škůdců. Zbytky vyextrahovaných semen (Neem Cake) jsou do budoucna velmi perspektivní prostředek na ochranu rostlin nezanechávající rezidua s hnojivým účinkem.

10. POUŽITÁ LITERATURA

1. Dhaliwal, G.S.; Arora, R. ROLE OF PHYTOCHEMICALS IN INTEGRATED PEST MANAGEMENT. In *Phytochemical Biopesticides*. Opendar Koul and G.S. Dhaliwal. UK: Taylor & Francis, 2001. 97 – 114.
2. Dubey, N.K. Shukla, R. Kumar, A. Singh, P. Prakash, B. Global Scenario on the Application of Natural Products in Integrated Pest Management Programmes. *Natural Products in Plant Pest Management*. Nawal K. Dubey. UK: CAB International, 2011. 1 – 20.
3. Gopal, M. Gupta, A. Arunachalam, V. Magu, S.P. Impact of azadirachtin, an insecticidal allelochemical from neem on soil microflora, enzyme and respiratory activities. *Bioresource Technology*. 2007. 98:3154 – 3158.
4. Isman, M. B. BIOPESTICIDES BASED ON PHYTOCHEMICALS. In *Phytochemical Biopesticides*. Opendar Koul and G.S. Dhaliwal. UK: Taylor & Francis, 2001. 1 – 11.
5. Jacobson, M. Botanical Pesticides: Past, Present, and Future. In *Insecticides of Plant Origin*. Edited by J.T. Arnason, B.J. Philogene and Peter Morand. Canada: Oxford University Press, 1988. 1 – 6.
6. Kazda, J. Prokinová, E. Choroby a škodcovia pól'ných plodín, ovocia a zeleniny. 3. vydání. Nitra: Profi Press, 2011. 184 s. ISBN 978-80-970572-1-3.
7. Kazda, J. Mikulka, J. Prokinová, E. Encyklopedie ochrany rostlin: Polní plodiny. 1. Vydání. Praha: Profi Press, 2010. 399 s. ISBN 978-80-86726-34-2.
8. Kumar, P. Poehling, H. M. Persistence of soil and foliar azadirachtin treatments to control sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) on tomatoes under controlled (laboratory) and field (netted greenhouse) conditions in the humid tropics. *Journal of environmental science and health. Part B. Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*. 2006. 79:189 – 199.
9. Morgan, E. D. Azadirachtin, a gold mine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2009. 17:4096 – 4105.

10. Murugan, R. Chitraputhirapillai, S. Fragstein Und Niemsdorff, P. Nanjappan, K. Effects of Combined Application of Biofertilisers with Neem Cake on Soil Fertility, Grain Yield and Protein Content of Black Gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper). *World Journal of Agricultural Sciences*. 2011. 7(5): 583 – 590.
11. Novák, J. Skalický, M. Botanika: Cytologie, histologie, organologie a systematika. Druhé vydání. Praha: Powerprint, 2009. 336 s. ISBN 978-80-904011-5-0.
12. PARKER INDIA GROUP COMPANY. Neem Cake – Specification. [online].[cit. 2012-03-27]. Dostupné z www: http://organicneem.com/neem_cake_specification.php
13. Pavela, R. Rostlinné insekticidy: Hubíme hmyz bez chemie. První vydání. Praha: Grada Publishing, 2006. 75 s. ISBN 80-247-1019-6.
14. Pavela, R. Botanické pesticidy. Vydání první. České Budějovice: Kurent, 2011. 128 s. ISBN 978-80-87111-26-0.
15. Pavela, R. Effect of Azadirachtin applied systemically through roots of plants on the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). In Strang, R. & Kleeberg, H. (eds.). *Biological control of plant, medical and veterinary pests*. Germany, Trifolio-M GmbH, 2009. pp. 183-193.
16. Pavela, R. Bárnet, M. Kocourek, F. Effect of Azadirachtin Applied systematically through Roots of Plants on the Mortality, Development and Fecundity of the Cabbage Aphid (*Brevicoryne brassicae*). *Phytoparasitica*. 2004. 32(3):286 – 294.
17. Pavela, R. Kazda, J. Herda, G. Effectiveness of Neem (*Azadirachta indica*) insecticides against Brassica pod midge (*Dasineura brassicae* Winn.). *Journal of environmental science and health. Part B. Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*. 2009. 82:235 – 240.
18. Rembold, H. Azadirachtins: Their structure and Mode of Action. In *Insecticides of Plant Origin*. Edited by J.T. Arnason, B.J. Philogene and Peter Morand. Canada: Oxford University Press, 1988. 151 – 162.

19. Saatbau Linz. Řepka olejka, MICKEY. [online]. [cit. 2012-03-27]. Dostupné z www: <http://www.saatbaulinz.cz/cz/nabidka-osiv/prodej-ozimu/repka-ozima/mickey/?cat=3&sub=6&idz=24>
20. Sarais, G. Angioni, A. Lai, F. Cabras, P. Caboni, P. Persistence of two neem formulations on peach leaves and fruit: effect of the distribution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009. 57 (6): 2457 – 2461.
21. SEMO. Fazol keříčkový, Petra. [online]. [cit. 2012-03-27]. Dostupné z www: <http://www.semo.cz/proficz/index.php?s=&druhId=2422&Fazol-kerickovy-%96-na-sucha-semena->
22. SEMO. Hrách setý, Oskar. [online]. [cit. 2012-03-27]. Dostupné z www: <http://www.semo.cz/proficz/index.php?s=&druhId=9&Hrach-sety-drenovy->
23. Schulte, M. J. Martin, K. Sauerborn, J. Effects of azadirachtin injection in litchi trees (*Litchi chinensis* Sonn.) on litchi stink bug (*Tessarotoma papillosa* Drury) in northern Thailand. *Journal of environmental science and health. Part B. Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*. 2006. 79:241 – 250.
24. Thoeming, G. Draeger, G. Poehling, H. M. Soil application of azadirachtin and 3-tigloyl-azadirachtol to control western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae): translocation and persistence in bean plants. *Pest Management Science*. 2006. 62:759 – 767.

11. ZDROJE OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1 : <http://www.plantoftheweek.org/week310.shtml>

Obrázek č. 2 : <http://wikipedia.infostar.cz/a/az/azadirachtin.html>

Obrázek č. 3 a č. 4 : <http://www.syngenta.com/country/cz/cz/reseni-syngenta/skudci/Pages/krytonosec-repkovy.aspx>

Obrázek č. 5 : http://www.rozhlas.cz/leonardo/priroda/_zprava/701817

Obrázek č. 6 : http://cs.wikipedia.org/wiki/Svilu%C5%A1ka_chmelov%C3%A1