

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V
PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
KATEDRA EKOLOGIE

DETERMINACE LC50 OBECNĚ
POUŽÍVANÝCH PESTICIDŮ U VYBRANÝCH
PREDÁTORŮ ŠKŮDCŮ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce: doc. RNDr. Pavel Saska, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Milan Řezáč, Ph.D.

Vypracoval: David Mothejl

2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

David Mothejl

Environmentální vědy
Aplikovaná ekologie

Název práce

Determinace LC50 obecně používaných pesticidů u vybraných predátorů škůdců

Název anglicky

Determination of LC50 of commonly used pesticides in selected pest predators

Cíle práce

Vedle účinku na škůdce dopadají aplikace pesticidů také na užitečné organismy, například na přirozené nepřátele škůdců. Student bude mít za úkol určit LC50 vybraného insekticidu, fungicidu a herbicidu, obecně používaných v agroekosystémech České republiky, pro vybrané zástupce predátorů škůdců, konkrétně pro střevlíka *Anchomenus dorsalis* a pavouka *Phylloneta impressa*.

Metodika

Student v jarních měsících nasbírá potřebný počet vydraných druhů bezobratlých predátorů. Ty rozdělí na skupiny, které budou pomocí Poterovy věže postříkány testovanými pesticidy o různé koncentraci. Celkově bude testováno osm koncentrací od každého pesticidu, včetně koncentrace doporučené výrobcem pro aplikaci v agroekosystémech. Objem dávky bude odpovídat dávkám aplikovaným v praxi. Ze získaných hodnot mortality pro různé koncentrace poté student odvodí LC50 pro daný druh.

Doporučený rozsah práce

dle potřeby

Klíčová slova

LC50, pavouci, pesticidy, predátoři, střevláci

Doporučené zdroje informací

- Cheng, Shenhong; Lin, Ronghua; Lin, Tao; et al. (2018): Effects of acetamiprid on life cycle development of predatory mite *Amblyseius cucumeris* (Acari: Phytoseiidae) after contact exposure. *Chemosphere*, 210: 889-895.
- Khan, Muhammad Musa; Nawaz, Muhammad; Hua, Hongxia; et al. (2018): Lethal and sublethal effects of emamectin benzoate on the rove beetle, *Paederus fuscipes*, a non-target predator of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 165: 19-24.
- Kimbaris, Athanasios C.; Papachristos, Dimitrios P.; Michaelakis, Antonios; et al. (2010): Toxicity of plant essential oil vapours to aphid pests and their coccinellid predators. *Biocontrol Science and Technology*, 20: 411-422.
- Miles, Jesse C.; Hua, Jessica; Sepulveda, Maria S.; et al. (2017): Effects of clothianidin on aquatic communities: Evaluating the impacts of lethal and sublethal exposure to neonicotinoids. *PLoS ONE*, 12: e0174171.
- Vitelli Queiroz, Maria Cristina; Sato, Mario Eidi (2016): Pyrethroid resistance in *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae): cross-resistance, stability and effect of synergists. *Experimental and Applied Acarology*, 68: 71-82.
-

Předběžný termín obhajoby

2019/20 LS – FŽP

Vedoucí práce

doc. RNDr. Pavel Saska, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Konzultant

RNDr. Milan Řezáč, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 30. 4. 2019

doc. Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 24. 6. 2019

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 06. 04. 2020

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením doc. RNDr. Pavla Sasky, Ph.D., další informace mi poskytl RNDr. Milan Řezáč, Ph.D., a že jsem uvedl všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpal.

Prohlašuji, že tištěná verze se shoduje s verzí odevzdanou přes Univerzitní informační systém.

V Praze dne

Poděkování

Děkuji svému vedoucímu práce doc. RNDr. Pavlu Saskovi, Ph.D. za odborné vedení a přínosné rady při psaní bakalářské práce. Dále děkuji svému konzultantovi RNDr. Milanu Řezáčovi, PhD. (VÚRV Praha) za vedení při pokusu, a za konzultace během psaní práce. Za pomoc v laboratoři, při vyhodnocování pokusu a za konzultaci při interpretaci výsledků děkuji kolegyni Nele Gloríkové (VÚRV Praha).

Děkuji své rodině za podporu a umožnění studia.

Abstrakt

Předložená bakalářská práce představuje průřez současnými znalostmi o pesticidech a jejich efektech na necílové organismy, zejména pak přirozené predátory škůdců, pavouky, a opylovače. Součástí práce je také test toxicity tří běžně používaných přípravků, po jednom insekticidu, herbicidu a fungicidu, jehož cílem byla determinace LC50 pro mlád'ata pavouka *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881), běžného predátora evropských agroekosystémů. Z výsledků je patrné, že dostatečné množství pesticidu, nehledě na jeho cílovou skupinu, způsobí úhyn podstatné části populace pavouka.

Klíčová slova: pavouk, necílové organismy, užitečné organismy, LC50, pesticidy, insekticidy, herbicidy, fungicidy, neonikotinoidy, glyfosát, subletální efekty, opylovači, přirození predátoři, snovačka *Phylloneta*, Roundup, Biscaya, Tilmor

Abstract

This research presents an overview of general knowledge about pesticides and their effects on non-target beneficial organisms, namely natural predators, such as spiders, and pollinators. An experiment on the juvenile spiders *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881), a common predator of european agroecosystems, with a goal to determine the LC50 of three commonly used pesticides, an insecticide, herbicide and fungicide, was also conducted as a part of this research. The results show, that the use of a sufficient amount of a pesticide, regardless of its target organism, will cause substantial mortality among the spider population.

Key words: spider, non-target organisms, beneficial organisms, LC50, pesticides, insecticides, herbicides, fungicides, neonicotinoids, glyphosate, sublethal effects, natural predators, pollinators, *Phylloneta*, Roundup, Biscaya, Tilmor

Obsah

1.0 Úvod	1
2.0 Cíle	3
3.0 Pesticidy	4
3.1 Historie	4
3.2 Klasifikace	6
3.2.1 Dle způsobu působení	6
3.2.2 Dle cílového organismu	6
3.2.3 Dle chemického složení	7
3.2.3.1 Organochlorované pesticidy	7
3.2.3.2 Organofosforované pesticidy	8
3.2.3.3 Karbamáty	9
3.2.3.4 Pyrethroidy	10
3.2.3.5 Neonikotinoidy	11
4.0 Efekty na necílové bezobratlé živočichy	13
4.1 Přímé efekty	14
4.1.1 Pavouci	14
4.1.1.1 Mortalita	15
4.1.1.2 Subletální efekty	16
4.1.2 Opylovači	18
4.1.2.1 Mortalita	19
4.1.2.2 Subletální efekty	19
5.0 Pokus	22
5.1 Úvod	22
5.1.1 Biscaya	22

5.1.2 Roundup	24
5.1.3 Tilmor	26
5.2 Metodika	27
5.2.1 Analýza dat	28
5.3 Výsledky	29
5.4 Diskuse	30
6.0 Závěr	32
7.0 Seznam literatury	33
8.0 Přílohy	43
8.1 Příloha 1- Data z pokusu	43

1.0 Úvod

Pesticidy jsou nedílnou součástí hospodaření v dnešním světě, používají se v zemědělství, k údržbě kulturní zeleně a soukromých zahrad, nebo ke kontrole vektorů přenášejících nemoci. Označení *pesticidy* zaštiťuje širokou škálu přípravků a směsí, které se liší cílovou skupinou organismů, jako například insekticidy, herbicidy, fungicidy, rodenticidy, molluscicidy, nematocidy, akaricidy a další (Aktar et al., 2009).

Pesticidy jsou bezpochyby velmi užitečné, přispívají k vyšším výnosům zemědělských plodin díky snižování ztrát způsobených škůdci (v roce 2005 dle serveru ourworldindata.org ochrana plodin pesticidy zamezila v agro průmyslu ztrátám 415 miliard amerických dolarů), nebo k nižší úmrtnosti na hmyzem přenosné nemoci tropických oblastí (Knippling v roce 1953 odhadoval, že během prvních deseti let používání DDT zachránilo 5 milionů životů a zamezilo 100 milionům případů vážných onemocnění; Edwards, 1973). Avšak jejich velkoplošné a intenzivní používání s sebou nese také vážná rizika.

Rizika použití pesticidů představují zejména kontaminace půdy a vodních těles, persistence některých chemických látek v životním prostředí, či jejich absorpce půdními organismy a vstup do potravního řetězce, a to i dlouho po samotné aplikaci. Zřejmě nejzávažnějšími a hojně diskutovanými riziky jsou pak vlivy na necílové organismy.

Mimo cílené škůdce totiž pesticidy působí i na tisíce necílových organismů (Müller, 2018), velmi často bohužel i na zcela odlišné taxony, než jsou organismy cílové. Tyto ostatní, tj. necílové organismy, jsou v zahraniční literatuře označovány jako *beneficial organisms*, doslova přeloženo tedy užitečné organismy. Tento termín zahrnuje jakékoliv organismy, které přispívají k růstu plodiny, zajišťují opylování, regulují predátory, nebo udržují zdraví a úrodnost půdy. Patří mezi ně například hmyz, pavouci, rostliny, bakterie, houby a další.

V závislosti na mnoha faktorech čelí užitečné organismy pesticidům v letálních, ale i subletálních koncentracích, které mohou způsobovat řadu takzvaných subletálních efektů, ovlivňujících vlastnosti jedince, jako je chování, komunikace, fyziologie, schopnost reprodukce, vývoj nebo jeho rychlost, či genetická konstituce budoucích generací.

Tato práce se věnuje vlivům pesticidů na hmyz, zejména opylovače a pavouky. Hmyz je příhodným bioindikátorem kontaminace agroekosystémů, ale může poukazovat i na související důsledky mimo ně, neboť zhruba 60% ptactva je závislých na hmyzu jako primárním zdroji potravy a více než 80% planě rostoucích rostlin je závislých na opylovačích (Hallman et al., 2009; Ollerton et al., 2011).

Pavouci patří k nejhojnějším a nejvíce diverzifikovaným predátorům škůdců a žijí v téměř všech terestrických habitatech (Pekár, 2012). V agroekosystémech se jich po celém světě vyskytuje několik set druhů (Pekár, 2012) a jsou perspektivními kandidáty na činitele biologické regulace škůdců. Význam opylovačů jako poskytovatelů ekosystémových služeb, klíčových pro přírodní systémy, modelů pro teoretické studie a vážnost aktuálních úbytků

opylovačů (Ollerton, 2017), je evidentní nejen vědecké a zemědělské komunitě, ale i veřejnosti.

Pro tuto práci byl proveden pokus na mláďatech pavouka *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881), v 1. a 2. instaru, jehož cílem bylo stanovit LC50 tří běžně, i v domácnostech, používaných pesticidů, jednoho insekticidu - *Biscaya*, jednoho herbicidu - *Roundup*, a jednoho fungicidu - *Tilmor*, v osmi koncentracích pro každý přípravek. Sledovaná mortalita po 1 a po 24 hodinách od aplikace vykazovala vzestupný trend s rostoucí koncentrací přípravku, avšak přeživší jedinci trpěli na pohled jasně sníženým fitness a proto by bylo zajímavé sledovat i dlouhodobé subletální efekty, o kterých bude v práci dále pojednáno, a případně schopnost se z nich zotavit.

2.0 Cíle

Cílem práce je na základě literatury představit průřez současnými znalostmi o pesticidech, jejich působení a vlivech na necílové organismy, a dále vyhodnocení pokusu na mládětech pavouka *Phylloneta impressa*, potenciálního činitele přirozené biologické ochrany, jehož cílem bylo stanovení LC50 tří běžně používaných pesticidů, insekticidu *Biscaya*, herbicidu *Roundup* a fungicidu *Tilmor*.

Práce se odchýlila od původního zadání, které počítalo se sledováním mortality zmíněných pesticidů také u střevlíka *Anchomenus dorsalis*, bohužel se jich však nepodařilo nasbírat dostatečné množství. Místo toho se práce v teoretické části více zaměřila na pavouky, samotné pesticidy a jejich charakteristiky, a v neposlední řadě také na opylovače, kteří představují významnou skupinu necílových organismů zasažených pesticidy.

3.0 Pesticidy

Podle FAO (1989) je pesticidem jakákoliv látka, nebo směs látek, určená k prevenci, destrukci, nebo kontrole jakýchkoliv škůdců, včetně vektorů lidských i zvířecích chorob, nežádoucích druhů živočichů a rostlin způsobujících škodu, nebo jinak zasahujících do produkce, zpracovávání, skladování, nebo marketingu jídla, zemědělských komodit, dřeva a dřevních produktů, nebo zvířecího krmiva (Zacharia, 2011). Termín zahrnuje látky používané jako regulátory růstu, defolianty, desikanty, látky zabraňující padání ovoce, nebo nástroje chemické probírky a látky aplikované na plodiny před, nebo po sklizni k prevenci kažení během transportu, či uskladnění (Zacharia, 2011). Termín pesticidy je také definován FAO a UNEP (1990) jako chemikálie určené k boji s útoky různých škůdců a vektorů na zemědělské plodiny, domácí zvířata a lidské bytosti (Zacharia, 2011).

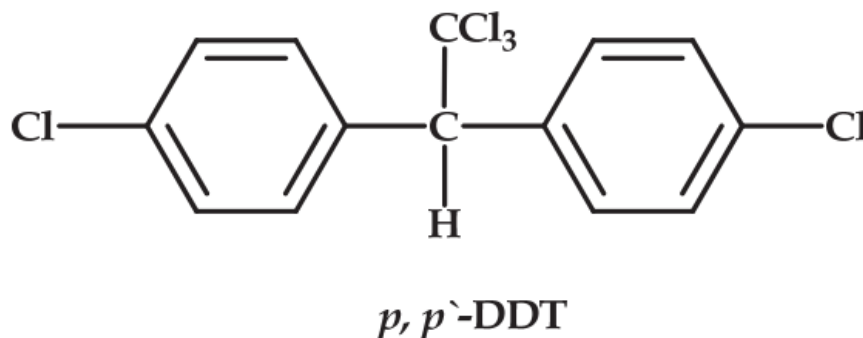
Tyto definice implikují, že pesticidy jsou toxickými chemickými látkami, převážně organickými sloučeninami, záměrně vypouštěnými do prostředí pro boj se škůdci a nákazami.

3.1 Historie

Použití chemikálií v zemědělství je starší koncept, než by se na první pohled mohlo zdát. Již kolem roku 70 n.l. Gaius Plinius Secundus naznačil, že arsen by mohl zabít hmyz (Edwards, 1973). V Číně se v pozdním 16. století používal sulfid arsenu a sloučeniny arsenu zaznamenaly svůj rozmach až do téměř poloviny 20. století, na jehož počátku byly aplikovány ve velkých množstvích proti hmyzím škůdcům. První generace pesticidů zahrnovala například vysoce toxické sloučeniny jako Arseničnan vápenatý, nebo přípravek *Paris Green* (octan (tris)arsenitan měďnatý, český název přípravku také *zeleň svinibrodská*; Wikipedia, 2019), či fumigant kyanid vodíku (Edwards, 1973; Zacharia, 2011). Spolu s přípravky na bázi arsenu byly aplikovány jako pesticidy také jiné anorganické sloučeniny používané jako insekticidy a fungicidy obsahující například antimon, bor, měď, fluor, mangan, rtuť, selen, síru, thallium nebo zinek jako aktivní látky (Edwards, 1973).

O osudech pesticidů v životním prostředí však tehdy nebyl dostatek znalostí a teprve později vyšlo najevo, že mnoho přípravků na bázi arsenu je v prostředí velmi persistentních a mohou v půdě zůstat až 40 let (Edwards, 1973), což s sebou nese jasná rizika pro rostliny, zvířata i člověka. Od používání těchto sloučenin se kvůli jejich toxicitě, neefektivitě a persistenci upustilo a kolem roku 1940 započala éra organických pesticidů.

Prvním důležitým přípravkem druhé generace bylo DDT, *dichlordifenyiltrichlorethan*, poprvé syntetizovaný v roce 1873 německým vědcem Othmarem Ziedlerem (Othmer, 1996), jeho insekticidální efekty byly objeveny švýcarským chemikem Paulem Mullerem roku 1939 a následně velebeny jako zázrak pro svou širokospektrou aktivitu, persistenci, nerozpustnost a jednoduchou a levnou aplikaci (Keneth, 1992).



Obrázek 1: Molekula DDT

Tato molekula byla tak efektivní, že došlo k jejímu rapidnímu celosvětovému rozšíření (Zacharia, 2011; Edwards, 1973). DDT bylo používáno i na nezemědělské účely, jako například k odlišování vojáků za druhé světové války, nebo kontrole malárii přenášejících komárů. Jeho rozšíření bylo takové, že Gunther v roce 1966 prohlásil, že kvalifikovaný analytik reziduí pesticidů je se správným vybavením schopný najít měřitelné stopy DDT v jakémkoliv nefosilním vzorku, který odebere kdekoli na světě (Edwards, 1973). Po úspěchu DDT byly syntetizovány nové přípravky, mezi kterými převládaly organochlorované a organofosforové pesticidy; Rachel Carsonová (1962) tuto éru ve své knize *Tiché jaro* nazvala “rain of chemicals”.

V devadesátých letech 20. století se začaly objevovat nové pesticidy, které měly být pro člověka bezpečnější alternativou organických syntetických pesticidů a zároveň se vypořádat s postupně sílící resistencí škůdců k předchozím typům přípravků; neonikotinoidy. Snížené riziko pro člověka pracujícího s neonikotinoidy spočívá převážně ve způsobu aplikace, narozdíl od organických syntetických pesticidů totiž nemusejí být stříkány, ale například aplikovány na semena, ze kterých se poté rozšíří do celého habitusu rostliny jako takzvané systémové pesticidy (Van der Sluijs et al., 2013).

Riziko používání systémových pesticidů spočívá zejména v nebezpečí, které představují pro opylovače, díky své přítomnosti v pylu a nektaru (Goulson, 2013). Ohrožují tak nejen samotné dělnice při sběru, ale i mladušky a královny v úlu, které jsou krmeny mateří kašičkou, a to buď akutně, nebo různými subletálními efekty.

Mezi nejznámější herbicidy patří přípravky jako Roundup, Atrazin, nebo Triclopyr, mezi nejznámější insekticidy patří například organochlorované DDT, Aldrin, Dieldrin, Endosulfan, Heptachlor a Lindan, Chlorpyrifos, karbamát Aldicarb, pyrethroidy

Cypermethrin a Deltamethrin, nebo neonikotinoidy Imidacloprid, Thiamethoxam a Biscaya, mezi běžné fungicidy pak Tilmor, Hexachlorbenzen, Trichoderma.

3.2 Klasifikace

Jelikož termín pesticidy zastřešuje širokou paletu různých přípravků lišících se chemickými i fyzikálními vlastnostmi, je logické je klasifikovat a jejich charakteristiky studovat v rámci příslušné skupiny. Existují tři způsoby jak pesticidy rozlišovat; na základě způsobu působení, cílových skupin a na základě chemického složení molekuly aktivní látky (Drum, 1980).

3.2.1 Dle způsobu působení

Tato klasifikace rozděluje pesticidy na základě způsobu, kterým dochází k očekávanému efektu. Tímto způsobem je můžeme rozdělit na kontaktní, nebo nesystémové, a systémové pesticidy. Nesystémové pesticidy nepronikají do těla rostliny a nešíří se jejím cévním systémem, jako takové jsou účinné pouze při kontaktu se škůdcem (proto kontaktní) například na povrchu rostliny, nebo na zemi. Systémové pesticidy, na druhou stranu, pronikají do cévních systémů rostliny a šíří se do všech jejích částí, což je umožněno často dostatečnou rozpustností ve vodě (Finlayson a MacCarthy, 1973; Goulson, 2013). Jelikož k jejich aplikaci není nutně třeba postřiku, šance na zasažení člověka je velmi nízká (Grossman, 2013).

3.2.2 Dle cílového organismu

Tímto způsobem můžeme rozlišit pesticidy do skupin na základě cílového organismu.

Type of pesticide	Target organism/pest
Insecticides	Insects
Herbicides	Weeds
Rodenticides	Rodents
Fungicides	Fungi
Acaricides and Miticides	Arachnids of the order Acarina such as ticks and Mites
Molluscicides	Mollusks
Bactericides	Bacteria
Avicides	Bird pests
Virucides	Virus
Algicides	Algae

Tabulka 1: Klasifikace na základě cílového organismu (Zacharia, 2011)

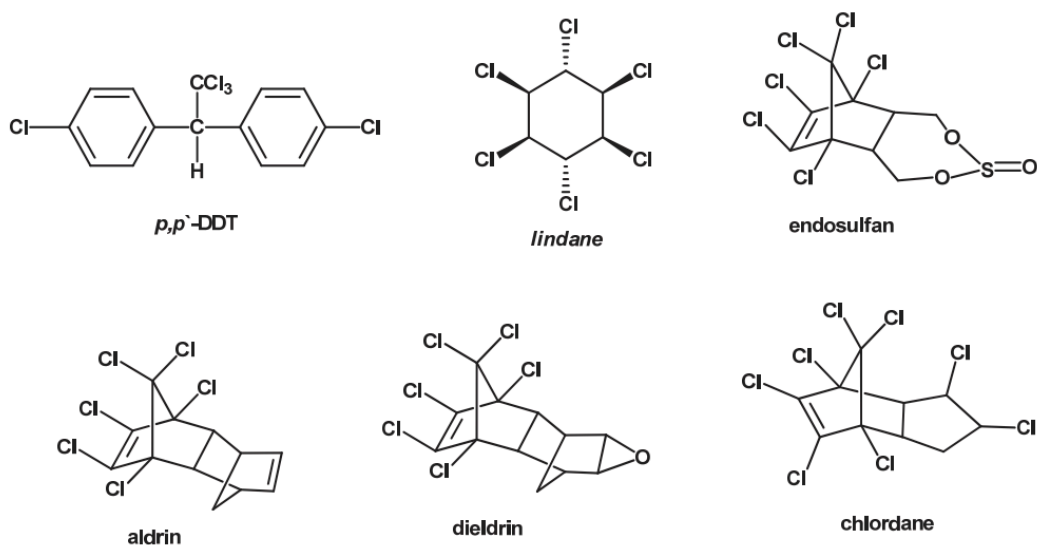
3.2.3 Dle chemického složení

Tento způsob rozděluje pesticidy podle chemické povahy aktivní látky daného přípravku a je rozhodně tím nejužitečnějším pro vědce a pro ty, kteří se problematice chtějí věnovat více do hloubky. Dle chemické povahy tedy pesticidy rozdělujeme na několik hlavních skupin, jimiž jsou organochlorované a organofosforované pesticidy, karbamáty, pyrethroidy a neonikotinoidy (Zacharia, 2011).

3.2.3.1 Organochlorované pesticidy

Organochlorované pesticidy jsou sloučeniny s pěti a více atomy chloru a prvními syntetickými organickými pesticidy používanými v zemědělství, většina z nich byla používána jako insekticidy pro svou širokospektrou aktivitu a jejich persistenci v prostředí.

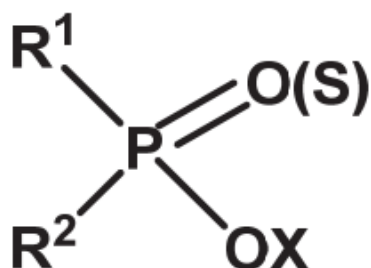
Organochloriny působí jako disruptory nervového systému hmyzu způsobující křeče, paralýzu a eventuálně smrt. Nejznámější organochloriny jsou pak již zmíněné DDT, lindan, endosulfan, aldrin, dieldrin a chlordan (Zacharia, 2011):



Obrázek 2: Nejznámější organochloriny

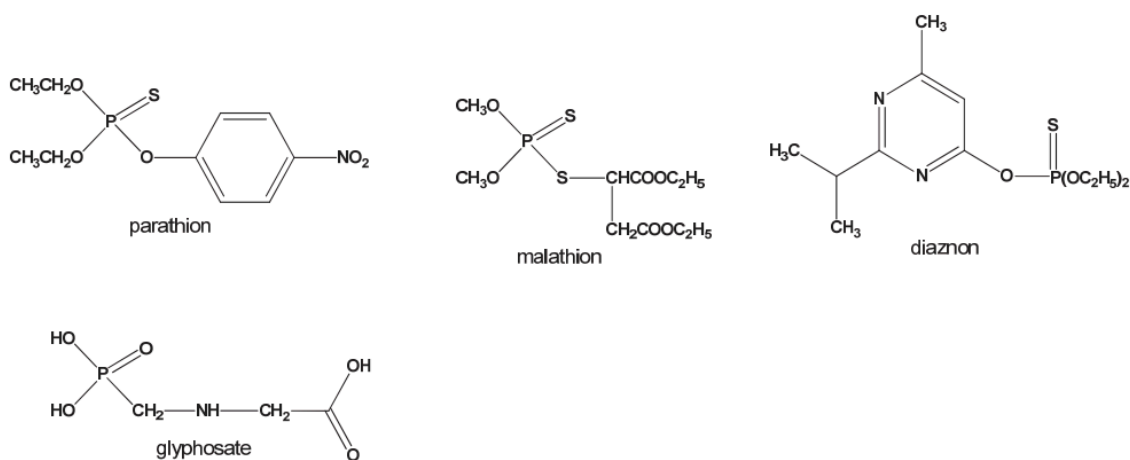
3.2.3.2 Organofosforované pesticidy

Organofosforované pesticidy obsahují fosfátovou skupinu jako základní strukturu podle Schraderova vzorce:



Obrázek 3: Schraderův vzorec organofosforovaných pesticidů

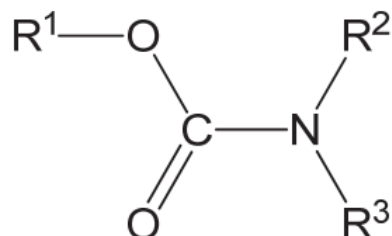
R¹ a R² jsou většinou methylové nebo ethylové skupiny, O v OX skupině může být nahrazeno S v některých sloučeninách, zatímco X může mít různé podoby. Organofosforované pesticidy jsou většinou více toxické pro obratlé i bezobratlé jako inhibitory cholinesterázy (enzymy nutné pro funkci nervového systému) způsobující paralýzu v důsledku narušení průběhu nervových synapsí (Zacharia, 2011). Narozdíl od organochlorinů nejsou persistentní a jsou v životním prostředí jednoduše a rychle degradovány (Martin, 1968). Známé organofosforované pesticidy jsou například parathion, malathion, diaznon a herbicid glyfosát:



Obrázek 4: Známé organofosforované pesticidy

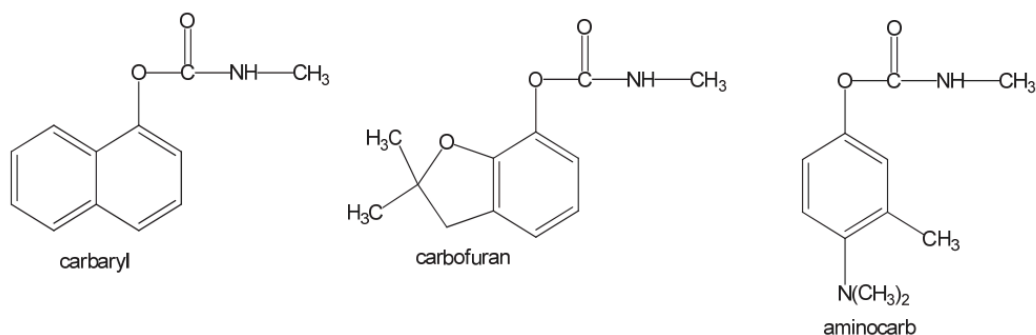
3.2.3.3 Karbamáty

Karbamáty jsou organické sloučeniny derivované z kyseliny karbamové s obecným vzorcem:



Obrázek 5: Obecný vzorec karbamátů

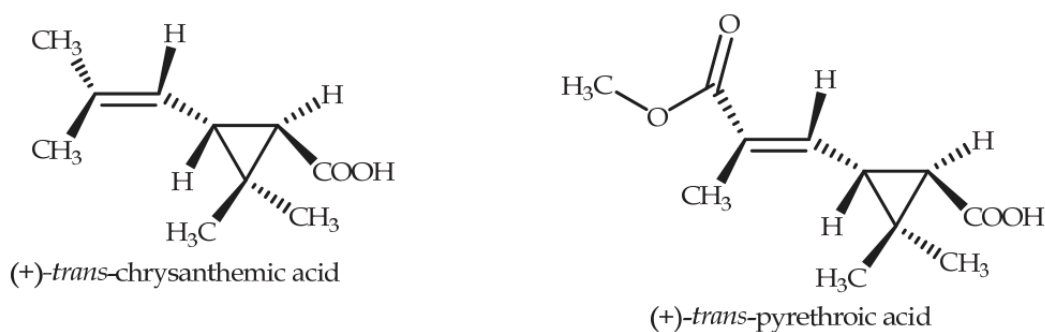
R1 je alkoholová skupina, R2 methylová skupina a R3 obvykle vodík. Karbamáty mají poměrně vysokou toxicitu pro hmyz i savce jako cholinesterázové inhibitory, avšak na rozdíl od organofosforovaných pesticidů jsou druhově specifické a jejich efekty jsou vratné (Drum, 1980). Často používané jsou například carbaryl, carbofuran a aminocarb:



Obrázek 6: Známé karbamáty

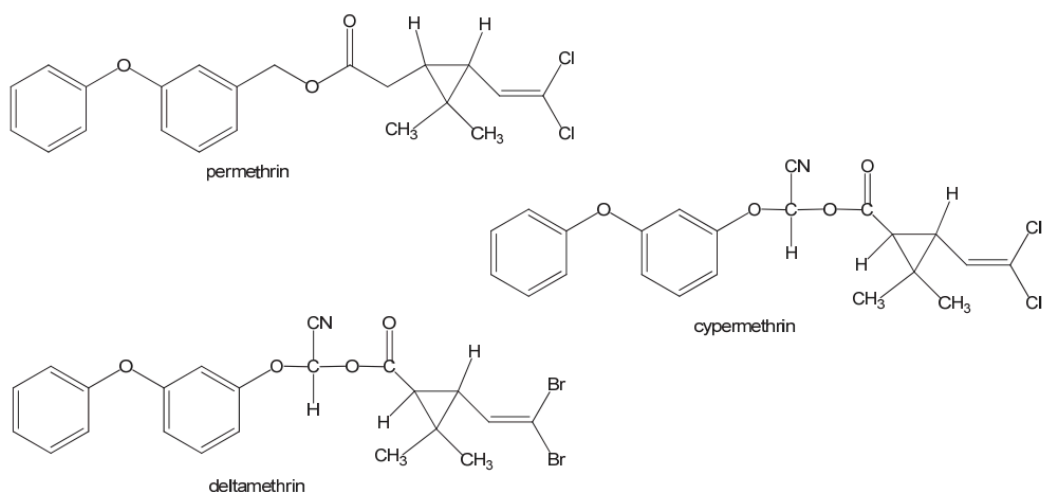
3.2.3.4 Pyrethroidy

Pyrethroidy jsou syntetickými analogy přírodně se vyskytujících pyrethrinů, asimilátů z květů *Chrysanthemum cinerariaefolium*, jejichž aktivní látky jsou opticky aktivní estery derivované z kyseliny (+)-trans-chrysanthemové nebo (+)-trans-pyrethroové (Zacharia, 2011):



Obrázek 7: Kyseliny, ze kterých jsou odvozeny pyrethroidy

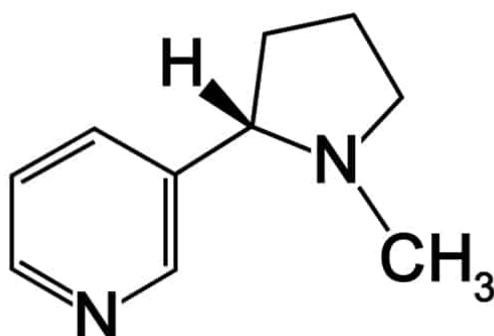
Pyrethroidy jsou známy pro svůj “knock-down” efekt na hmyzí škůdce, nízkou toxicitu pro savce a snadnou biodegradaci. Ačkoliv jsou přírodní pyrethryny efektivními insekticidy, jejich molekuly příliš rychle podléhají fotochemické degradaci, a proto jsou v praktickém zemědělství nepoužitelné. Syntetické analogy jsou vytvářeny modifikací pyrethrinových molekul zaručující vyšší stabilitu. Nejpoužívanějšími pyrethroidy jsou permethrin, cypermethrin a deltamethrin, či fenvalerát (Zacharia, 2011):



Obrázek 8: Známé pyrethroidy

3.2.3.5 Neonikotinoidy

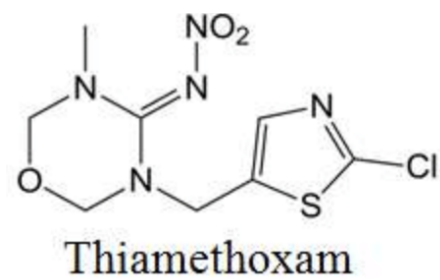
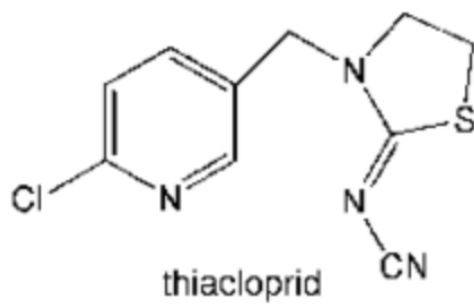
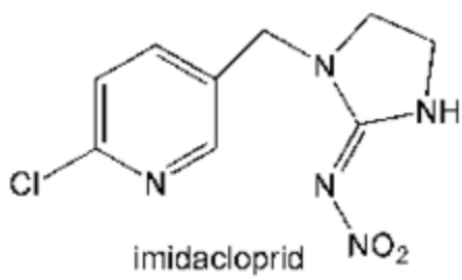
Neonikotinoidy jsou syntetické analogy nikotinu:



Obrázek 9: Molekula nikotinu

Neonikotinoidy jsou systémové pesticidy, jež je možné aplikovat přímo do půdy, na povrch rostliny postříkem, nebo mořením semen (Bonmartin et al., 2015; Van der Sluijs, 2013; Goulson, 2013). Veterinární produkty zahrnují orální tablety, topikální spreje, či namožené obojky. Tyto látky jsou charakteristické vysokou rozpustností ve vodě, která umožňuje jejich translokaci skrz pletiva rostliny do všech jejích částí, dále svojí persistencí v půdě a rostlinných pletivech, což v důsledku snižuje počet potřebných aplikací za vegetační sezónu (Bonmartin et al., 2015; Soumis, 2018), a v neposlední řadě také svým mechanismem působení, který ovlivňuje nikotinové acetylcholinové receptory (nAChRy) napodobováním neurotransmiteru acetylcholinu, stejně pak působí některé jejich metabolity. Navázání na nAChR a blokování synapse vyvolává neuronovou hyperexcitaci, která může vést ke smrti hmyzu během minut. NACHRy nervové soustavy obratlovců jsou odlišné od těch hmyzích a mají menší množství nikotinových receptorů s vysokou afinitou pro neonikotinoidy, což znamená vyšší toxicitu pro hmyz, než pro obratlovce (Van der Sluijs, 2013; Goulson, 2013), proto jsou neonikotinoidy obecně považovány za bezpečnější pro necílové organismy a člověka, než jejich předchůdci, avšak narůstající množství studií toto přesvědčení vyvrací (Soumis, 2018), například American Bird Conservancy Agency zaznamenala, že zpěvní ptáci mohou být usmrceni i jediným zrnkem kukuřice ošetřeným neonikotinoidy, stejný výzkum ukázal, že neonikotinoidy vykazují u ptáků vysokou reprodukční toxicitu a mohou ovlivnit dýchání a chování u krys (Zeng et al., 2013).

Nejnámějšími neonikotinoidy jsou imidacloprid, thiakloprid a thiametoxam.



Obrázek 10: Běžné neonikotinoidy

4.0 Efekty na necílové bezobratlé živočichy

V posledním čtvrtstoletí jsou efekty pesticidů na necílové bezobratlé živočichy předmětem narůstajícího množství studií, z nichž se jich nejvíce věnuje přirozeným predátorům a opylovačům (Aktar et al., 2009). V roce 2017 německá studie ukázala, že biomasa létajícího hmyzu v chráněných oblastech klesla o více než 75% za posledních 25 let (Hallman et al., 2017). Tento pokles pravděpodobně bude ještě drastičtější v nechráněných, hlavně zemědělských, oblastech, kde jsou aplikovány pesticidy (Rader, 2014; Uchida, 2016). Celosvětově je za rok použito zhruba 590 000 tun pesticidů (De et al., 2014), avšak krátkodobé a dlouhodobé následky jejich použití stále nejsou zcela pochopeny.

V konvenčním zemědělství i v zahrádkářství jsou cílem pesticidů škůdci a vážnost jejich letálních efektů nelze přehlížet. Avšak jedním z největších dilemat použití pesticidů je fakt, že tyto chemikálie nezabíjejí a neovlivňují pouze škůdce, ale i mnohé další organismy, které mohou v ošetřené oblasti a blízkém okolí přijít s pesticidy do styku, a to buď v letální nebo subletální dávce (Guedes et al., 2016), neboť pesticidy sice bývají zpravidla aplikovány v koncentracích způsobující rychlou smrt, ale postupem času dochází k jejich degradaci, či metabolizaci a jsou tak v životním prostředí reálně k dispozici v různých toxických formách a různých fázích svého životního cyklu (Guedes et al., 2016; Finlayson a MacCarthy, 1973).

Subletální efekty mohou vyvolat například nežádoucí resistenci k pesticidům u škůdců, nebo změnu struktury společenstva, fyziologické změny, či změny chování a komunikace, nebo sníženou schopnost reprodukce (Guedes et al., 2017; Tappert et al., 2017). Nehledě na to, že mohou ovlivnit i genetickou konstituci budoucích generací a skrze potravní řetězce mít dalekosáhlé dopady na mezidruhové interakce, populační dynamiky a celé ekosystémy (Guo et al., 2013; Guedes et al., 2016).

Jak již bylo zmíněno v úvodu, tato práce se bude z velkého množství užitečných organismů věnovat především pavoukům a opylovačům. Efekty na užitečné organismy mohou být buď přímé, nebo nepřímé. Přímými efekty rozumíme mortalitu a subletální efekty a nepřímými například snížení celkové abundance hmyzu, tedy zhoršení dostupnosti potravy pro pavouky, nebo změnu struktury porostu vlivem herbicidů, což může znamenat méně míst kde pavouci mohou umístit své sítě, nebo zhoršení orientace u včel (Pekár, 2012). Nepřímé efekty mohou mít vliv na fitness, velikost těla, fekunditu, nebo diverzitu a přítomnost užitečných organismů na daném stanovišti, avšak tematika je to příliš rozsáhlá a obecná na to, abychom se jí věnovali v rámci bakalářské práce.

4.1 Přímé efekty

4.1.1 Pavouci

Pavouci patří k nejpočetnějším a nejdiverzifikovanějším přirozeným predátorům nacházejícím se téměř všude na světě, se stovkami druhů přítomných v agroekosystémech (Nyffeler a Sunderland, 2003) a jsou považováni za důležité přirozené predátory přispívající k redukci populačních nárůstů škůdců, hlavně na začátku vegetační sezóny, kdy ještě nejsou přítomni specializovaní predátoři (Pekár, 2012; Birkhofer et al., 2008).

Jeich efektivita je však drasticky snížena po použití pesticidů. Většina syntetických insekticidů a akaricidů je neurotoxických: organofosfáty, karbamáty, neonikotinoidy a spinosad ovlivňují neuronové synapse v CNS, pyrethroidy ovlivňují periferní nervovou soustavu; pyrethroidy I. typu mají rychlý “knock-down” efekt díky hyperexcitaci, pyrethroidy II. typu způsobují hypersensitivitu a mortalitu po excesivních ztrátách vody. Dalšími sloučeninami nebezpečnými pro pavouky jsou také tzv. IGR (Insect Growth Regulators, tedy regulátory růstu hmyzu), které napodobují juvenilní a svlékací hormony, nebo i různé fungicidy a herbicidy (Haynes, 1988).

Efekty na populacích pavouků mohou být různé a závisí především na typu použitého přípravku, druhu pavouka, struktuře společenstva, frekvenci a načasování aplikace a v neposlední řadě také velikosti ošetřované oblasti (Pekár, 2012). Různé druhy pavouků mají různé ekologické niky a primární stanoviště, je zjevné, že pavouci žijící na listech rostlin jsou v kontaktu s jinou koncentrací a dávkou pesticidů v porovnání s pavouky žijícími na půdě.

Načasování aplikace je důležité, protože společenstva pavouků procházejí změnou skrze vegetační období. Většina aplikací pesticidů se provádí na jaře, když pavouci imigrují do ekosystému, a během ranného léta, kdy se rozmnožují. Studie zabývající se načasováním aplikace ukázala, že čím dříve v sezoně dojde k aplikaci, tím silnější je negativní dopad na populace pavouků (Volkmar et al., 2008).

Velikost plochy ošetřené pesticidy a vzdálenost od zdroje imigrujících druhů ovlivňuje hlavně schopnost regenerace populace. Postřik ozimé pšenice pyrethroidy snížil densitu pavouků o 80-90%, regenerace trvala 1-6 týdnů na stanovištích poblíž okraje ošetřené lokality, ale až 15 týdnů na stanovištích dále od okraje (Thomas et al., 1990; Thacker a Jepson, 1995). Regenerace populace závisí také na persistenci aplikovaného pesticidu, disperzní schopnosti pavouků, nebo na dostupnosti potravy (Jepson a Thacker, 1990).

4.1.1.1 Mortalita

Mortalitě obvykle předcházejí jasně pozorovatelné symptomy intoxikace, například pyrethroidy I. typu způsobují ataxii, křeče, hyperaktivitu a nakonec paralýzu, pyrethroidy II. typu narušují vodní bilanci organismu způsobováním neurosekrece, což společně s pasivní ztrátou vody kvůli nemožnosti pohybu a lokalizace vodního zdroje může být fatální (Jagers et al., 1997).

Ekotoxikologická studie Pekára (2012) zjistila, že nejvyšší mortalitu pavouků způsobují akaricidy a insekticidy s tím, že samci jsou náchylnější než samice a z hlediska chemické skupiny byly nejsilnější cyclodieny, organofosforované pesticidy, pyrethroidy a karbamáty. Efekty jsou však druhově specifické a závislé na mnoha faktorech, jako způsob absorpce látky, koncentrace a dávka, délka expozice, abiotické podmínky atd.

V polních podmínkách se užitečné organismy mohou dostat do kontaktu s pesticidy buď při postřiku s kapičkami, ponorem do roztoku, nebo požitím kontaminované kořisti, či s residuí (Pekár, 2012). Mullié a Everts (1991) při pokusu s deltamethrinem na *Oedothorax apicatus* (Blackwall, 1850) zjistili, že nejškodlivější cestou absorpce je kontakt s residuí, při kterém bylo absorbováno 56 % aplikovaného pesticidu, zatímco topikální, či orální cestou byly absorbováno pouze 2-3 %. Po požití kontaminované kořisti *Oedothorax apicatus* vykazoval nejméně škodlivé efekty, topikální aplikace způsobila přechodný efekt, avšak kontakt s residuí způsobil vysokou mortalitu (Everts et al., 1991).

Toxicita residuí, ať už pro letální, či subletální efekty, je silně determinována jejich biologickou dostupností, ta je ovlivněna koncentrací, adsorbčním a desorbčním potenciálem půdy, persistencí, vyluhovatelností a těkavostí pesticidu, pokud je přípravek aplikován na listy, pak hraje roli i viskozita, vosková vrstva na listech a velikost kapiček (Pekár, 2012). Wehling a Heimbach (1994) porovnávali různé povrchy, se kterými pavouci mohou interagovat, jako listy, písek, písčitohlinitá, nebo hlinitopísčítá půda a jílu. Nejsilnější efekty vykazoval písek.

Zpravidla nejdéle vydrží pesticidy v těžkých půdách a v půdách s vysokým obsahem organické hmoty a zároveň jsou v takových půdách méně toxické pro hmyz (Edwards, 1973). Typ půdy silně ovlivňuje adsorpci přípravku. Edwards (1973) ukázal, že aldrin a lindan byl nejméně adsorbován v písku, adsorbované množství se zvyšovalo s obsahem jílu, bahna a ornice, či humusu, přičemž obsah organické hmoty v půdě je pravděpodobně nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím persistenci pesticidů v půdě. Množství organické hmoty se velmi liší v různých půdách, od 1 % v písku po více než 50 % v hlinitých půdách a rašelinách.

Abiotické faktory jako teplota nebo humidita v čase aplikace také ovlivňují biologickou dostupnost. Mezi imobilizací pavouků vlivem intoxikace a humiditou existuje pozitivní korelace, zatímco s teplotou je korelace negativní (Jagers et al., 1997).

4.1.1.2 Subletální efekty

Vedle různých typů letálních efektů mohou mít různé typy pesticidů i různé subletální efekty, ty jsou definovány jako fyziologické, anebo behaviorální změny jedince, který přežije expozici (Haynes, 1988). Subletální efekty jsou nejčastěji pozorovány, pokud jsou pesticidy aplikovány v koncentracích nižších než LC50, zároveň se očekává, že za polních podmínek, vlivem degradace, s takovými koncentracemi užitečné organismy přicházejí do styku častěji, než se smrtelnými (Pekár, 2012).

Narozdíl od opylovačů se pavouci často dokáží ze subletálních efektů zotavit.

Oedothorax apicatus se po ošetření deltamethrinem zotavil za pouhý den a *Pardosa amentata* (Clerck, 1757) za 3-4 dny po aplikaci cypermethrinu (Ewerts et al., 1991; Baatrup a Bayley, 1993).

Nejpatrnějším subletálním efektem je změna pohyblivosti. Topikální aplikace cypermethrinu na *Pardosa amentata* způsobila okamžité křeče, paralýzu čtvrtých nohou a znehybnění (Shaw et al., 2006). Další pavouci rodu *Pardosa* se pohybovali méně na povrchu ošetřeném chlorpyrifosem dohromady s cypermethrinem, nebo samotným deltamethrinem, než na kontrolním povrchu (Pekár a Beneš, 2008).

Na druhou stranu, pohyblivost může být podpořena repelent efektem, pokud pavouci dokáží rozeznat residua, mohou se jim aktivně vyhýbat. Aktivní látka pyrethroidů je silným repelentem, toho je využíváno například v lesnictví (Pekár, 2012). V ostatních pesticidech je repelent efekt vytvářen aditivou (Desneux et al., 2007). *Pardosa milvina* (Hentz, 1844) se vyhýbal povrchu ošetřenému glyfosátem a další pavouci rodu *Pardosa* se vyhýbali povrchu ošetřenému chlorpyrifosem, cypermethrinem a deltamethrinem (Evans et al., 2010; Pekár a Beneš, 2008). Pavouci *Clubiona pallidula* (Clerck, 1757), *Dictyna uncinata* (Thorell, 1856), *Pardosa palustris* (Linné, 1758), *Philodromus cespitum* (Walckenaer, 1802), *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) a *Xysticus cristatus* (Clerck, 1757) se v experimentu vyhýbali čerstvým residuům permethrinu a phosalonu, nicméně starším, konkrétně jednodenním residuům, se nevyhýbali, přestože mortalita z čerstvých a jednodenních residuů byla podobná (Pekár a Haddad, 2005).

Pesticidy ovlivňují také strukturu a produkci pavučiny. Topikální aplikace cypermethrinu snížila frekvenci budování a velikost pavučin u *Araneus diadematus* (Clerck, 1757), deltamethrin snížil velikost pavučin o 72 % u mládřat *Larinioides sclopetarius* (Clerck, 1757; Samu a Vollrath, 1992). Podobně snižoval velikost pavučin cypermethrin u *Tenuiphantes tenuis* (Blackwall, 1852). Spinosad a endosulfan snížil frekvenci budování pavučin u *Neoscona pratensis* (Hentz, 1847) a orální aplikace glyfosátu ovlivnila strukturu sítě u mládřat *Alpaida veniliae* (Keyserling, 1865; Shaw et al., 2005; Benamú et al., 2010; Benamú et al., 2007).

Reprodukce může být ovlivněna neurotoxiny v několika fázích; hledání partnera, námluvy, komunikace, kopulace, produkce kokonů, nebo spermatu-/oogeneze. Fenvalerát, dimethoát a jejich směs snižovala produkci kokonů u *Erigone atra* (Blackwall, 1833) a *O.*

apicatus (Peng et al., 2010). Glyfosát aplikovaný skrz kořist snížil fekunditu a fertilitu u *A. veniliae*, pravděpodobně kvůli sníženému příjmu potravy (Benamú et al., 2010).

Pesticidy, zejména IGR a neurotoxiny ovlivňují také vývoj pavouků. Azadirachtin snižoval růst a způsoboval deformace v ontogenetickém vývoji *Schizocosa humilis* (Banks, 1892; Punzo, 1997). Spinosad a endosulfan způsobovaly produkci abnormálních kokonů a dehydrovaných vajíček u *N. pratensis* a glyfosát způsoboval produkci abnormálních vajíček a prodlouženou vývojovou dobu instaru u *A. veniliae* (Benamú et al., 2010; Benamú et al., 2007). Vývojové důsledky mohou být přenášeny i na další generace; u *Hylyphantes graminicola* (Sundevall, 1830) se mláďata matek zasažených fenvalerátem vyvíjela déle a celková hmotnost první generace byla menší (Peng et al., 2010).

V neposlední řadě může být ovlivněna fyziologie pavouků, například pyrethroidy upravují srdeční rytmus, exkreci, nebo enzymatické aktivity, což může vést k obecným narušením ve všech fyziologických systémech (Haynes, 1988). Organofosforované pesticidy a karbamáty tlumily aktivitu cholinesteráz u *Anoteropsis hilaris* (L. Koch, 1877) po kontaktu s chlorpyrifosem a diazinonem a u *H. graminicola* po kontaktu s dimethoátem a fenvalerátem (Van Erp et al., 2002; Peng et al., 2010). Vysoká dávka methamidophu na *Pardosa pseudoannulata* (Bösenberg & Strand, 1906) vedla k inhibici aktivity proteázy ve střevech pavouka. Fyziologické efekty se také mohou přenášet i na mláďata (Wang et al., 2006).

Očekává se, že pavouci si, stejně jako škůdci, nebo mšice, mohou vybudovat resistenci (Pekár, 2010). Mansour (1984) zjistil, že populace *Cheiracanthium mildei* (L. Koch, 1864) pocházející z citrusového sadu častěji ošetřovaném malathionem byla k přípravku tolerantnější, než populace stejného druhu z hedvábných polí.

Insekticidy mohou také snižovat imunitu pavouků, nebo zvyšovat zranitelnost vůči určitým chorobám. U *Scotinotylus Humilis* (Millidge, 1981) výrazně klesl počet hemocytů po orální aplikaci azadirachtinu, indikuje tak snížení imunity a zvýšení náchylnosti na parazity (Punzo, 1997).

Na druhou stranu bylo u pavouků pozorováno, i když velmi vzácně, že nízké koncentrace nebo dávky mohou vést ne ke zhoršení, ale naopak stimulaci chování organismů, neboli k hormezi. Důkazů je však zatím málo a celkově je tato tématica u pavouků neprozkoumaná a pozitivní efekt na určitý aspekt života organismu nemusí automaticky znamenat pozitivní efekt pro organismus celkově. Například rychlost růstu byla podpořena u *Pirata piratoides* (Bösenberg & Strand, 1906) po aplikaci IGR buprofezinu v relativně vysokých dávkách a organofosforovaný methamidophos zvýšil proteázovou aktivitu u *P. pseudoannulata* (Deng et al., 2008; Wang et al., 2006).

4.1.2 Opylovači

Opylovači zprostředkovávají výměnu pylu mezi květinami, umožňující vytváření ovoce a semen u zhruba 88 % všech rostlin (Ollerton et al., 2011). Opylovači může být široká řada taxonů, avšak včely jsou unikátně specializované pro transport pylu a zodpovídají za většinu opylovacích služeb ve volné přírodě i v agroekosystémech.

Všudypřítomnost a jejich všeobecná potřeba nevyhnutelně vede k častým interakcím s antropogenními chemikáliemi. Případy vymírání včel asociované s pesticidy jsou dokumentovány od konce 19. století, nicméně fakt, že efekty pesticidů na opylovače jsou více než pouze epizodické, se stal zjevným až v nedávné historii (Sponsler, 2019). V roce 2006 popsal Biesmeijer paralelní úbytek divokých opylovačů spolu s rostlinami na nich závislými a v roce 2010 Neumann a Carreck přidali studii o rozsáhlých úhynech uměle chovaných včel.

Opylovači přicházejí do styku s pesticidy nejen v agroekosystémech, ale i v urbanizovaných oblastech. Průzkumy v Kalifornii a Minnesotě ukázaly, že běžně používané pesticidy jsou skladovány téměř ve všech místních residencích (Flint, 2003; Guha et al., 2013) a sběr dat o residuích v povrchové vodě naznačuje, že intenzita použití pesticidů v urbanizovaných oblastech může překračovat intenzitu v oblastech zemědělských (Edwards).

Interakce pesticidů a opylovačů jsou časově i místně dynamické, determinované vzorci aplikace, abiotickými podmínkami, chemickými charakteristikami, biologickou dostupností aplikovaných pesticidů a druhem opylovače, neboť přestože nejznámějšími opylovači jsou vysoce sociální včely a vosy, většina ostatních opylovačů jsou solitérní organismy (Sponsler, 2019). U solitérních opylovačů expozice závisí pouze na chování jedince, avšak například u včel, které sdílejí potravu a její zdroje, je pesticidy zasažena celá kolonie (Sponsler, 2019).

V posledních dekádách narůstá množství včelích poruch, chorob a následných kolapsů kolonií. Po začlenění neonikotinoidů do běžné praxe začali včelaři hlásit neobvyklé jevy, jako dezorientované včely a včely neschopné návratu do úlu, včely shluklé do těsné skupiny na zemi, abnormální sběr potravy, masivní ztráty včel na jaře, ztráty královen a zvýšenou náchylnost k chorobám (Maxim, 2013; Suryanarayanan a Kleinman, 2013). Označit neonikotinoidy jako jedinou příčinu těchto jevů je však nemožné a zdá se, že kolapsy kolonií jsou důsledkem více faktorů dohromady (všechny viry a patogeny spojené s kolapsy byly identifikovány celoročně i ve zdravých koloniích, které však navzdory tomu zůstanou zdravé; Runckel et al., 2011).

V souvislosti s opylovači se tato práce bude věnovat hlavně letálním a subletálním efektům neonikotinoidů, které díky své podstatě systémového pesticidu pro opylovače představují mnohem větší nebezpečí než jejich předchůdci, jelikož v rostlinách dochází k translokaci do pylu, nektaru, či kapek gutace (Bonmatin et al., 2005; Girolami et al., 2009). Jejich persistence, potenciální kontaminace planých rostlin a stromů v okolí ošetřené plodiny

a schopnost migrovat i na větší vzdálenosti znamená, že opylovači mohou neonikotinoidům být vystaveni po celý rok (Van der Sluijs et al., 2013).

Expozice může nastat skrze požití potravy, kontakt s residui nebo kontaminovanými rostlinami, inhalací aerosolu, nebo sběr hnízdního materiálu (vosk, pryskyřice) a u opylovačů žijících v zemi pak přes kontaminovanou zeminu. Pro zajímavost, v roce 2002 byl nalezen imidacloprid a jeho metabolity v 69 % vzorků pylu sbíraných včelami (Chauzat et al., 2006).

4.1.2.1 Mortalita

Letální i subletální efekty mohou být důsledky buď chronické, nebo akutní toxicity. Akutní toxicita je definována jako LC50 po 48 hodinách. Neonikotinoidy jsou vysoce toxické v řádech ng na včelu (Laurino et al., 2011) orálně i kontaktně. Masové úhyny včel na jaře v období výsevu semen kukuřice namořených neonikotinoidy jsou prokazatelně spojeny s akutní intoxikací skrze kontakt s oblaky prachu produkovanými secími stroji. Tento jev byl popsán v Itálii, Německu, Rakousku, či Slovinsku (Tapparo et al., 2012).

Chronická toxicita je popsána třemi způsoby: LC50 po 10 dnech, NOEC (No Observed Effect Concentration, tedy nejvyšší koncentrace přípravku, která ještě nemá žádný pozorovaný efekt) a LOEC (Lowest Observed Effect Concentration, tedy nejnižší koncentrace přípravku, která již produkuje pozorovaný efekt) (Van der Sluijs et al., 2013). U neonikotinoidů a jejich metabolitů se letální toxicita dramaticky zvyšuje s délkou expozice (Suchail et al., 2001). Tento fenomén byl prokázán například u mikrokolonií čmeláků; desetkrát menší koncentrace, než byla přítomná v potravě, způsobila 100% mortalitu po dvojnásobně dlouhé expozici a u stokrát menší koncentrace 100% mortalita nastala po čtyřnásobně dlouhé expozici (Mommaerts et al., 2010).

4.1.2.2 Subletální efekty

Při nižších koncentracích se mohou objevit subletální efekty, ty zahrnují fyziologické, či behaviorální modifikace, které nemusí způsobovat okamžitou smrt jedince, či kolaps kolonie, ale mohou se časem stát letálními, nebo způsobit zvýšenou citlivost kolonie k vnějším faktorům, jako choroby, či parazité, které eventuelně kolaps mohou způsobit (Van der Sluijs et al., 2013).

Subletální efekty také rozdělujeme na akutní a chronické, kdy za akutní považujeme efekty způsobené jednou expozicí organismu danému přípravku (například kontakt s oblakem prachu obsahujícím pesticidy na cestě za potravou), a za chronické efekty, které jsou způsobeny opakovanou expozicí organismu pesticidu (například při opakovaném sběru nektaru na ošetřeném poli).

V rozsáhlém review Desneux et. al. (2007) popsal subletální efekty neonikotinoidů na hmyz, z nichž následující byly potvrzeny i u opylovačů; ovlivnění neurofyziologie, larválního vývoje, dlouhověkosti, imunity, fekundy, poměru pohlaví, pohyblivosti, schopnosti navigace a orientace, příjmu potravy a schopnosti učit se.

Jedním z největších nebezpečí pro kolonie opylovačů jsou poruchy vývoje larev. IGR mohou narušit vývoj včel především pokud dojde k expozici během larválního stadia, například skrze kontaminovanou mateří kašičku, ze kterého se v důsledku nemusí vyvinout do dalšího instaru (Desneux et al., 2007). Fenoxycarb způsoboval malformace u larev, nebo zakuklených jedinců, kteří pak byli eventuelně nalezeni usmrcení před úlem (DeRuijter a VanderSteen, 1987).

IGR mohou mít také fyziologické dopady na dospělé, jako například inhibice formování orgánů imága. Nově vylíhnutí dospělci *Apis mellifera* (včela medonosná; Linnaeus, 1758) a *Apis cerana* (včela východní; Fabricius, 1793) kontaminovaní diflubenzuronem vykazovali menší přírůstky na váze, nebo u nich docházelo k degeneraci tkání hypofaryngeální žlázy (Gupta et al., 1995; Škerl a Gregorc, 2010) sloužící k tvorbě mateří kašičky, která je hlavním zdrojem potravy pro první instary dělnic a všechny instary královen, a tudíž její nedostatek může negativně ovlivnit početnost včelstva (Desneux et al., 2007). Podobně pak pyriproxyfen narušuje syntézu bílkoviny vitellogeninu v hemolymfu, potřebnou pro tvorbu mateří kašičky (Pinto et al., 2000). Fyziologické efekty mohou také způsobovat poruchy dlouhověkosti, imunity a reprodukce, pro které je lipoprotein vitellogenin fundamentálně důležitý (Amdam et al., 2003).

Efekty na pohyblivost mohou být důsledkem přímé intoxikace pesticidem, což vede k tzv. “knock-down” efektu, nekoordinovaným pohybům, třesu, nebo klopýtání, nebo nepřímé sekundární expozice, způsobující například narušení schopnosti detekovat kairomon (prostředek chemické komunikace), či repelent efekt, a iritaci (Desneux et al., 2007).

Opylovači spoléhají při orientaci na smyslové podněty, vizuální i chemické, které si pamatují a u včel slouží nejen k navigaci, ale i ke sdílení přesné polohy a vzdálenosti zdroje potravy (Simson a von Frisch, 1969). Expozice včely při letu může způsobit nejen nesprávnou integraci vizuálních vjemů, ale i přesnost předávané informace, k jejímuž sdílení dochází tzv. včelími tanci (Desneux et al., 2007). Při pokusu, ve kterém byly nejdříve včely vytrénovány ke sběru nektaru z umělého krmiče naplněného roztokem sacharózy a byly barevně označeny a očíslovány, byl prokázán negativní vliv deltamethrinu na schopnost orientace. V uzavřeném tunelu byl krmič umístěn 8 metrů od úlu a včely, na které byl topikálně aplikován deltamethrin v subletálních dávkách se nevracely do úlu, nýbrž létaly za sluncem (Vandame et al., 1995).

Pesticidy mohou ovlivnit příjem potravy, a to třemi obecnými způsoby; mohou vyvolat repelent efekt, mohou obsahovat sloučeniny způsobující poruchy příjmy potravy (tzv. “antifeedants”), nebo mohou zamezit schopnosti lokalizovat potravu ovlivněním některého ze smyslů (Desneux et al., 2007). U včel může mít porucha příjmu potravy v jakékoliv podobě drastický dopad na zdraví kolonie, zejména v intenzivně obdělávaných oblastech, kde jsou zdroje potravy limitovány téměř výhradně na kultivované rostliny, může repelent efekt způsobit zásadní nedostatek pylu a nektaru.

Pesticidy mohou stimulovat příjem potravy pozitivně i negativně, patrně záleží na způsobu expozice a koncentraci. Příkladem může být studie vlivu deltamethrinu na *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758). Topikální aplikace deltamethrinu v koncentracích od 0.08 po 0.16 ppm (parts per milion) zvýšila příjem nektaru, zatímco podobné koncentrace aplikované orálně příjem nektaru snížily (Tasei et al., 2000).

5.0 Pokus

5.1 Úvod

Agroekosystémy jsou charakteristické pravidelnými disturbancemi v podobě orby, výsevu, sklizně, nebo aplikace pesticidů, a proto poskytují habitat relativně malému množství organismů, které jsou buď schopné efektivní rekolonizace nebo disperze (Řezáč et al., 2019). Pavouci patří v agroekosystémech mezi nejpočetnější predátory, a tudíž mezi necílové organismy běžně zasažené postřikem.

V předchozích kapitolách již bylo zmíněno, že pesticidy mohou mít různé druhy efektů na různé organismy, jinými slovy tedy žádný z přípravků není 100% selektivní a může na organismus působit přímo i nepřímo. Na základě dostupné literatury jsme tedy usoudili, že většina pesticidů by měla v dostatečné koncentraci způsobit úhyn testovaných jedinců. Jako subjekt, na kterém byla mortalita pozorována, jsme zvolili 1. a 2. instar snovačky pečující (*Phylloneta impressa*), a rozhodli jsme se otestovat účinky tří pesticidů v simulaci okamžitého zasažení při postřiku: Biscaya, Roundup a Tilmor.

Phylloneta impressa je běžný predátor agroekosystémů střední Evropy, primárně sadů, obdělávaných polí a travních porostů (Pekár et al., 2015). Dospělí samci *P. impressa* se objevují v období od května do srpna a dospělé samice od června do října (Wikipedia: *Phylloneta impressa*), tyto časové intervaly se často překrývají s časem aplikace různých pesticidů.

5.1.1 Biscaya

Biscaya je insekticidní přípravek proti škůdcům bramboru, hořčice, hrachu setého, kukuřice, máku setého, řepky olejky a v semenných porostech slunečnice rolní, vojtěšky, jetele lučního a ředkve olejné. Účinnou látkou je neonicotinoid thiakloprid, který působí systémově jako kontaktní a požerový jed, způsob účinku spočívá v blokaci receptorů uvnitř nervového systému hmyzu, a je pomaleji inaktivován, než u jiných neonicotinoidů. Jeho působení vede k celkové dysfunkci nervového systému a následnému úmrtí zasaženého organismu (Bayer s.r.o, 2008)

Aplikace se provádí běžnými postřikovači a neměla by být provedena víckrát za sebou bez přerušení jiným než neonicotinoidovým přípravkem, jinak u škůdců hrozí budování rezistence (Bayer s.r.o., 2008).

Neonicotinoidové pesticidy mohou snížit antivirální obrany u opylovačů, zejména u larev, což způsobuje jejich zvýšenou náchylnost na virové infekce, kterým může následně podlehnout celá kolonie (Di Prisco et al., 2013). Chronické vystavení thiaklopridu u včel má negativní dopad také na hledání potravy, schopnost navigace a návratu do úlu, nebo sociální komunikace a může docházet k akumulaci přípravku v tělech jednotlivých včel, ale i celého společenství (Tison et al., 2016).

U pavouků způsobuje thiakloprid při krátkodobé expozici sníženou predaci, při celodenní expozici dorsálně aplikovanému přípravku pak paralýzu a smrt (Řezáč et al., 2019).

Návod k použití - rozšířené použití povolené dle § 37 zákona č. 326/2004 Sb., v platném znění a menšinové použití povolené dle čl. 51 odst. 2 nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č.1107/2009 (Bayer s.r.o., 2008):

Plodina	Škodlivý organismus	Dávkování, míšitelnost	OL	Poznámka
vojtěška-semenné porosty	klopušky	0,3 l/ha	AT	začátek květu až dokvétání; max. 2x
brambor-množitelské porosty	mšice jako přenašeči viróz	0,3 l/ha	14	ve fázi BBCH 35-71 podle signalizace; max. 3x
brambor	dřepčící rodu <i>Epitrix</i>	0,2 l/ha	14	podle signalizace; max. 3x
slunečnice roční-semenné porosty	mšice	0,3 l/ha	30	BBCH 51-67, od začátku výskytu; max. 2x
kukuřice	bázlivec kukuřičný	0,3 l/ha	30	do BBCH 65; podle signalizace, max. 1x
mák setý	bejlomorka maková	0,3 l/ha	35	podle signalizace; max. 2x
jetel luční-semenné porosty	nosatčící rodu <i>Apion</i>	0,3 l/ha	AT	podle signalizace; max. 1x
ředkev olejná-semenné porosty	krytonosec šešulový, bejlomorka kapustová	0,3 l/ha	AT	max. 1x

OL (ochranná lhůta) – je dána počtem dnů, které je nutné dodržet mezi termínem poslední aplikace a sklizní;
AT – způsob použití nebo určení, které stanovení ochranné lhůty nevyžadují

Bayer, Biscaya etiketa (2008)

5.1.2 Roundup

Roundup je neselektivní systémový herbicid vstupující do rostlin zejména zelenými částmi a asimilačním prouděním dochází k translokaci do všech částí rostliny, včetně kořenového systému (Monsanto, 2010) a semen (Li et al., 2005). Roundup způsobuje zničení nadzemních i podzemních částí rostlin postupným odumíráním kvůli blokaci enzymu na šikimátových drahách, zodpovědných za syntézu aminokyselin a dalších látek (Wikipedia: glyfosát).

Předpokladem úspěšné aplikace je dostatečná plocha listů, které tvoří primární způsob asimilace přípravku do rostliny, nejúčinnější je tedy v době mezi nasazením poupatek až do odkvětu. Příznaky zahrnují vadnutí, žloutnutí, zasychání a hnědnutí zasažených rostlin během 10-14 dnů od aplikace

Glyfosátové produkty se užívají primárně před setím tradičních plodin, nebo po vysetí geneticky modifikovaných resistantních plodin (Duke a Powles, 2009), ale také jako desikanty obilnin, mezi stromy v sadech, nebo ke kontrole plevelů v urbanizovaných oblastech (Van Bruggen, 2018). Glyfosát je jedním z nejrozšířenějších herbicidů na světě, v roce 2012 bylo celosvětově aplikováno více než 700 000 tun glyfosátových přípravků (Swanson et al., 2014).

Glyfosát je poměrně persistentní, je degradován v odumřelém rostlinném materiálu a v půdě několika mikroorganismy. Prvním a hlavním metabolitem je kyselina aminomethylfosfonová, AMPA (Van Bruggen, 2018). V půdě můžeme nalézt residua obojího.

Na základě rozšíření přípravku a jeho akumulace v prostředí a potravě se v poslední době objevuje znepokojení z možných důsledků glyfosátu na kvalitu vody, půdy a zdraví zvířat, rostlin i člověka, jež se v minulosti považovaly za zanedbatelné. V roce 2015 označila WHO na základě výzkumu potenciálních chronických vedlejších efektů glyfosát za “pravděpodobně karcinogenní pro člověka” (Van Bruggen, 2018).

Herbicide obsahující glyfosát jako aktivní látku mohou kontaminovat půdy v ošetřených lokalitách a okolo nich. Glyfosát je adsorbován jílem a organickou hmotou, což snižuje míru jeho degradace mikroorganismy a způsobuje jeho akumulaci v půdě (Banks et al., 2014), naopak z písčitéch půd je velmi rychle vyluhován (Bergström et al., 2011).

Glyfosát je toxický jak pro rostliny, u nichž způsobuje fyziologickou dysfunkci a poškození buněk, inhibici fotosyntézy degradací chlorofylu (glyfosát), či narušením produkce chlorofylu (AMPA) a blokací syntézy aminokyselin a dalších látek esenciálních pro imunitu, v důsledku čehož rostliny často umírají na infekci kořenů všudypřítomnými půdními patogeny (Gomes et al., 2016; Saska et al., 2016), tak pro živočichy, u nichž je ale akutní toxicita nižší díky absenci šikimátových drah (McComb et al., 2008). Spekuluje se o korelaci mezi zvýšenou intenzitou používání glyfosátu a řadou nemocí u člověka, jako například různé formy rakoviny, poškození ledvin a mentálních poruch jako ADHD, autismus, Alzheimerova nebo Parkinsonova choroba (Fluegge a Fluegge, 2016). Samovolné potraty,

dermatologické a respirační poruchy byly pozorovány po expozici vzdušným aplikacím glyfosátu s cílem zlikvidovat farmy produkující koku v Kolumbii (Camacho a Mejía, 2017). Nízké koncentrace mohou ovlivnit funkci enzymu acetylcholinesterázy způsobující tak neurologické poruchy (Van Bruggen, 2018). Nicméně o průkaznosti uvedených účinků na zdraví člověka se stále vede debata.

Doporučení k aplikaci z etikety (Monsanto, 2010):

Plodina, oblast použití	škodlivý organismus, jiný účel použití	Dávkování, mísitelnost	Ochranná lhůta (dny)	Poznámky
brambor, kukuřice, sója a jiné plodiny, cukrovka, slunečnice	plevele jednoleté	40-60 ml / 2 l vody /100 m ²	AT	před setím, max.1x
	plevele vytrvalé	60-100 ml / 2 l vody /100 m ²	AT	před setím, max.1x
nezemědělská půda	nežádoucí vegetace, nežádoucí dřeviny	60-120 ml / 2 l vody /100 m ²	AT	opakovaná aplikace max.160 ml/100 m ²
orná půda	plevele jednoleté	40-60 ml / 2 l vody /100 m ²	AT	po sklizni, max.1x
	plevele vytrvalé	60-100 ml / 2 l vody /100 m ²	AT	po sklizni, max.1x
réva vinná	plevele jednoleté, turanka kanadská	40-60 ml / 2 l vody /100 m ²	14	opakovaná aplikace max.160 ml/100 m ²
	pýr plazivý, pcháč, mléč	60-100 ml / 2 l vody /100 m ²		
	svlačec rolní	120-160 ml / 2 l vody /100 m ²		
sady ovocné (mimo broskvoň)	pýr plazivý, pcháč, mléč	60-100 ml / 2 l vody /100 m ²	AT	opakovaná aplikace max.160 ml/100 m ²
trávník (z různých druhů trav)	Obnova TTP	60-120 ml / 2 l vody /100 m ²	21	opakovaná aplikace max.160 ml/100 m ²

Aplikační poznámky:

Ochranná lhůta (OL) znamená minimální dobu ve dnech od ošetření, po kterou je zakázána konzumace či zkrmení.

AT - ochranná lhůta je dána odstupem mezi termínem aplikace (poslední aplikace) a sklizni nebo jde o způsob použití nebo určení, které stanovení ochranné lhůty nevyžadují.

Monsanto, Roundup etiketa (2010)

5.1.3 Tilmor

Tilmor je postřikový fungicid regulující růst ve formě emulgovatelného koncentrátu a používá se k ochraně řepky olejky, hořčice, máku setého a ředkve olejné proti houbovým chorobám. Tilmor je systémový a po aplikaci je transportován do všech částí rostliny a zajišťuje ochranu i jejích nově narůstajících částí (Bayer, 2011).

Přípravek obsahuje dvě účinné látky; prothiokonazol a tebukonazol (Bayer, 2011). Obě účinné látky způsobují blokaci ergosterolu, čímž zabraňují tvorbě buněčných membrán houbového patogenního organismu (Bayer, 2011). Nástup účinku je velmi rychlý a zejména prothiokonazol zůstává aktivní velmi dlouho.

V roce 2014 Bozdogan zkoumal rizika fungidů pro člověka a necílové organismy. Tebukonazol v experimentu spadl do kategorie s nízkým rizikem pro člověka a efekty na reprodukci, které mohou vést ke snížení fertilitě a potenciálně ohrozit nenarozené potomky, co se týče užitečných organismů a životního prostředí spadl tebukonazol do kategorie s nízkým rizikem použití. Prothiokonazol vykazoval u člověka středně vysoké riziko použití s efekty převážně ovlivňujícími reprodukci, jeho vlivy na užitečné organismy a životní prostředí podle studie představují nízké riziko. Celkově byly rizika tohoto fungicidu vyhodnoceny jako mnohem vyšší pro člověka, než pro životní prostředí a necílové organismy (Bozdogan, 2014).

Reprodukční toxicita byla pozorována i u krys. Tebukonazol virilizoval plody samic a feminizoval plody samců, pravděpodobně díky redukcí testosteronu. Endokrinní efekty azolových pesticidů patrně způsobují narušení enzymů zapojených do syntézy steroidových hormonů (Taxvig et al., 2007).

Muñoz-Leoz et al. (2011) také usoudil, že tebukonazol snižuje biomasu a aktivitu půdních mikroorganismů na ošetřeném stanovišti a Altehnhofen et al. (2017) zjistil vliv tebukonazolu na pohyblivost u sladkovodní ryby *Danio rerio*.

Doporučení k aplikaci (Bayer s.r.o., 2011):

Plodina	Škodlivý organismus	Dávkování	OL (dny)	Poznámka k 1) plodině 2) ŠO 3) OL
řepka olejka ozimá	fomová hniloba	1 l/ha	56	1) BBCH 15-30 na podzim (max. 1x), BBCH 33-51 na jaře (max. 1x) 2) preventivně
řepka olejka jarní, hořčice	fomová hniloba	1 l/ha	56	1) BBCH 33-51
řepka olejka, hořčice	hlízenka obecná	1 l/ha	56	1) BBCH 60-65

OL (ochranná lhůta) - je dána počtem dnů, které je nutné dodržet mezi termínem poslední aplikace a sklizní

Plodina, oblast použití	Dávka vody	Způsob aplikace	Max. počet aplikací v plodině	Interval mezi aplikacemi
hořčice	200-400 l/ha	postřik	1x	
řepka olejka	200-400 l/ha	postřik	2x v řepce ozimé (max. 1x na podzim, max. 1x na jaře), 1x v řepce jarní	120 dnů

5.2 Metodika

Hnízda, ze kterých byla vybrána mláďata *P. impressa*, byla sesbírána na přelomu srpna a září 2019 kolem Hostivice u Prahy do mikrozkušavek Eppendorf s dírou ve víčku, která zajišťovala cirkulaci vzduchu. Hnízda obsahovala obvykle dospělého jedince a 1-10 mláďat, ta byla z hnízd šetrně odebrána a ve skupinách po pěti umístěna do nových mikrozkušavek Eppendorf s ventilačním otvorem, dále tvořících po jednom testovaném vzorku. Do zkumavek byl také vložen ústřížek filtračního papíru namočený do vody zajišťující hydrataci mláďat. Mláďata před provedením pokusu nebyla krmena po dobu cca jednoho týdne.

Každý pesticid byl namíchan v osmi různých koncentracích (Tabulka 2), přičemž nejvyšší byla vždy výrobcem doporučená koncentrace pro běžné použití a pro každý přípravek byla ještě provedena kontrolní aplikace čisté destilované vody. Každá koncentrace byla připravena v objemu 50 ml.

Tabulka 2- schéma ředění pesticidů

Koncentrace [% z doporučené dávky]	Biscaya [ml/50ml]	Roundup [ml/50ml]	Tilmor [ml/50ml]
0,0	0	0	0
12,5	0,009	1	0,03
25,0	0,019	2	0,06
37,5	0,028	3	0,09
50,0	0,037	4	0,13
62,5	0,046	5	0,16
75,0	0,056	6	0,19
87,5	0,065	7	0,22
100,0	0,074	8	0,25

Postřik byl proveden 10.9.2019 za pomoci Potterovy věže ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby v Praze. Pětice mláďat byly vyňaty z mikrozkušavek Eppendorf a přemístěny do Petriho misky, jejíž dno bylo pokryto filtračním papírem, který měl zajistit kontakt s pesticidem i díky sešlapu. Petriho miska pak byla umístěna na dno Potterovy věže, do jejíž nádržky bylo automatickou pipetou přepipetováno 3,5 ml pesticidu, ten byl poté díky kompresoru připojenému na věž nastříkán na mláďata pod tlakem 8-9 Pa. Petriho miska s ošetřenými mláďaty byla následně vyňata z věže, přikryta víkem a uskladněna za pokojové teploty. Každá koncentrace byla replikována vždy na čtyřech pětících pavouků pro zajištění statistické výpovědní hodnoty, celkově bylo tedy použito 480 mláďat *P. impressa*.

Mortalita každé pětice byla vyhodnocována vždy po 1 a po 24 hodinách, viz příloha číslo 1. Někteří pavouci však byli usmrceni jinak než pesticidem, a to filtračním papírem pod tlakem postřiku, když se mládě dostalo pod něho, tato mortalita byla od celkové odečtena.

5.2.1 Analýza dat

Analýza dat byla zpracována ve statistickém programu R. K vyhodnocení pokusu jsme použili analýzu typu “dose-response”, která popisuje vztah mezi dávkou pesticidu a odpovědí organismu (Pekár a Brabec, 2009). Bylo uvažováno, že data mají binomické rozdělení. Jelikož s rostoucí koncentrací pesticidu byla očekávána zvyšující se mortalita, byla aplikována logit-link transformační funkce.

V datovém souboru (Příloha 1- Data z pokusu) jsou dvě vysvětlující proměnné: kategorická **treatment**, která představuje druh přípravku, a spojitá **concent**, která představuje aplikované koncentrace, proměnná **var**, která označuje jednotlivé opakování pro každou koncentraci, je pro analýzu zanedbatelná. Závislých proměnných popisujících mortalitu je celkem 6, po 1 a po 24 hodinách jsme měřili mortalitu způsobenou pesticidy, mechanicky tlakem potterovy věže a celkovou mortalitu. Pro analýzu je však relevantní pouze mortalita způsobená pesticidy.

Testovanými nulovými hypotézami byly:

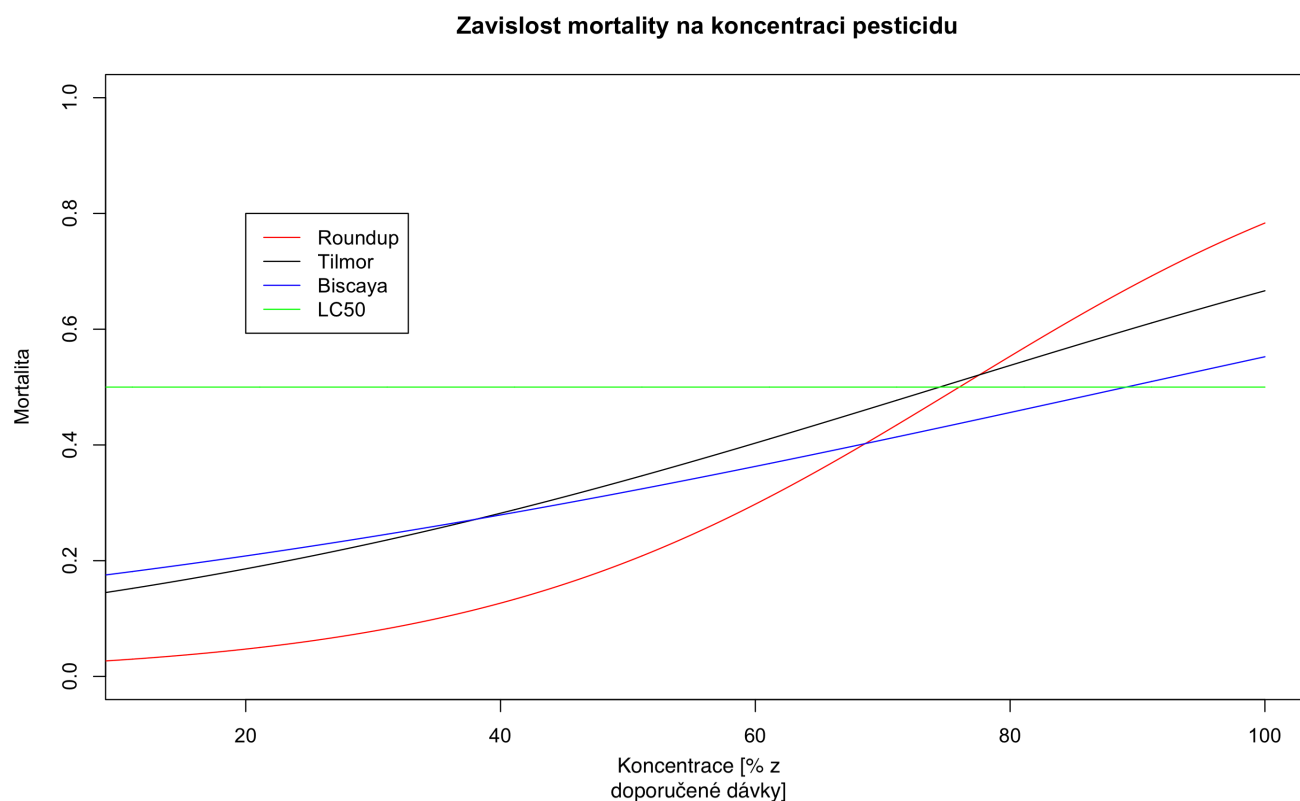
1. Druh přípravku **treatment** nemá vliv na mortalitu **C24_pest**.
2. Koncentrace přípravku **concent** nemá vliv na mortalitu **C24_pest**.
3. Interakce mezi **treatment** a **concent** není statisticky významná.

Použili jsme zobecněný lineární model, který popisuje závislost proměnné **C24_pest** na koncentraci **concent**, typu přípravku **treatment** a jejich interakci.

Pro vyhodnocení modelu jsme použili funkci **anova()** a letální koncentrace LC jednotlivých přípravků jsme stanovili použitím funkce **dose.p()** z knihovny **MASS**.

5.3 Výsledky

Úmrtnost u všech tří testovaných přípravků vykazuje jasný, vzestupný, trend se zvyšující se koncentrací pesticidu, jak můžeme vidět na následujícím grafu:



Graf 1

Podstatná část mlád'at zemřela v důsledku tlaku při postřiku, což indikovalo viditelné fyzické poškození na těle pavouka. Po 1 hodině byla celková mortalita 246 jedinců, z čehož 95 zemřelo vlivem pesticidů a 151 vlivem tlaku Potterovy věže, po 24 hodinách pak celková mortalita vzrostla na 337 usmrcených jedinců, z nichž 173 podlehl pesticidům a 164 tlaku věže. Okamžitá mortalita byla nejvyšší u Roundupu, který po 1 hodině v nejvyšší koncentraci způsobil smrt 14 jedinců, nejvyšší koncentrace Tilmoru po 1 hodině způsobila smrt 8 jedinců a nejvyšší koncentrace Biscayi po 1 hodině usmrtila pouze 2 jedince. Po 24 hodinách vzrostla mortalita nejvyšších koncentrací u Roundupu na 15 jedinců, u Tilmoru také na 15 jedinců a u Biscayi na 13 jedinců.

Na základě výsledků funkce anova jsme zamítli 2. a 3. nulovou hypotézu, avšak 1. jsme na základě hladiny významnosti zamítnout nemohli. To znamená, že mortalita způsobená pesticidy po 24 hodinách je závislá na koncentraci a mezi koncentrací a druhem přípravku existuje statisticky významná interakce, naopak samotný druh přípravku je

statisticky nevýznamný, což prakticky znamená, že pro výslednou mortalitu pavouků nehraje roli zda byl použit insekticidní, herbicidní nebo fungicidní přípravek.

Toxicita Roundupu odpovídala LC78, toxicita Tilmoru LC66 a toxicita Biscayi pak LC55. LC50 jednotlivých přípravků pak vycházela 76% doporučené koncentrace pro Roundup, 74% doporučené koncentrace pro Tilmor a 89% doporučené koncentrace pro Biscayu.

5.4 Diskuse

Mortalita byla u všech přípravků závislá na koncentraci. Výrobce doporučená koncentrace k běžnému užití (nejvyšší testovaná, v grafu tedy 100 %) byla u všech přípravků vyšší než jejich LC50 pro mláďata pavouka *P. impressa*.

Toxicita přípravků je však druhově závislá a závisí také na složení a způsobu absorpce; koncentrace, která u jednoho druhu způsobuje vysokou mortalitu může jiný druh ovlivnit subletálními efekty, nebo také minimálně a naopak. Díky aditivům jsou také některé komerční směsi více toxické, než samotné aktivní látky (Saska et al., 2016). Ekotoxikologické experimenty byly doposud prováděny na několika málo rodech pavouků, které se běžně nacházejí v agroekosystémech. Je pravděpodobné, že pesticidy by měly podobné dopady i na ostatní rody pavouků, avšak kvůli vysoké variabilitě specifických reakcí a odezvy je téměř nemožné odhadnout na kolik a do jaké míry (Pekár, 2012).

Doporučená koncentrace glyfosátu, která představuje LC78 u *P. impressa*, je u zástupce býložravého hmyzu, mšice *Metopolophium dirhodum*, téměř totožná s LC50 (Saska et al., 2016). Herbicid Buccaneer plus obsahující glyfosát po topikální aplikaci na pavouka *Pardosa milvina* způsoboval snížení pohyblivosti a uražené vzdálenosti, naopak při pohybu na substrátu ošetřeném stejnou koncentrací přípravku se lokomoce i uražená vzdálenost zvyšovala. V průběhu 60 dnů se také snížilo množství přežívajících pavouků (Evans et al., 2010).

Biscaya v koncentraci 24,4 µg/l aplikovaná na kořist pavouka *Pardosa agrestis* způsobovala nadměrné zabíjení kořisti, neboť pavouk zpravidla nekonzumoval kontaminovanou kořist (Korenko et al., 2019). Diplomová práce Příbáňové z PřF UK (2020) u Biscayi potvrdila výrazné snížení pohyblivosti pavouka *Pardosa lugubris* při běžně používané koncentraci, nebo snížení produkce hedvábných vláken, či negativní vliv na pasivní šíření (tzv. ballooning) u pavouka *Oedothorax apicatus*. Biscaya vykazovala také negativní vliv na ballooning u pavouka *Phylloneta impressa*, či na schopnost predace u pavouka *Philodromus cespitum*. Příbáňová (2020) ve své práci testovala několik subletálních efektů způsobovaných běžnými koncentracemi neonikotinoidových pesticidů, avšak v průběhu práce způsobovaly přípravky také vysokou mortalitu. Biscaya způsobovala nejvyšší mortalitu u pavouka *O. apicatus* a následně u *P. lugubris* a *P. impressa*.

V našem experimentu bohužel téměř polovina z celkového počtu usmrcených jedinců *P. impressa* zemřela vlivem tlaku Potterovy věže, bylo by tedy zajímavé pokus zopakovat a

pozorovat, o kolik by se mortalita způsobená pesticidy zvýšila, pokud by byla mechanická mortalita eliminována, a zároveň také sledovat subletální efekty, neboť většina přeživších jedinců při finální kontrole vykazovala sníženou mobilitu, třes, či jiné příznaky, a porovnat je s prací Příbáňové (2020) a dalších. Zajímavý je také fakt, že nejvyšší celkovou mortalitu způsobil herbicid, následovaný fungicidem, navzdory tomu, že byla očekávána u insekticidu.

Sledovat subletální efekty je důležité především z toho důvodu, že z ekologického hlediska mohou mít na ekosystém stejný dopad jako mortalita, neboť i nepatrná poškození mohou organismus naprosto zneschopnit ve vykonávání své ekologické služby (ať už predace, nebo opylování). Nehledě na to, že dlouhodobé efekty pesticidů na fenotyp pavouků, ale i dalšího hmyzu, jsou téměř neznámé (Pekár, 2012). Přirozená selekce, která vzniká opakovaným používáním pesticidů, může favorizovat rezistentní jedince, nebo jedince, kteří na pesticidy reagují minimalizováním kontaktu s nimi (Haynes, 1988). To by mohlo vést ke změnám habitatových preferencí a tedy snížení početnosti pavouků v daném agroekosystému. Takové změny zatím nebyly prokázány, avšak bylo by zajímavé je hledat, především v rozsáhlých zemědělských oblastech, do kterých je přisun jedinců z neovlivněných oblastí limitovaný (Pekár, 2012). Dále by bylo zajímavé sledovat působení hnojiv a regulátorů růstu rostlin, či jiných agrochemikálií, které prokazatelně ovlivňují pavouky, nicméně jejich efekty zatím nebyly dostatečně studovány (Pekár, 2012).

6.0 Závěr

Tato práce předkládá průřez problematikou pesticidů a jejich vlivů na necílové organismy, jež se podařilo ilustrovat stanovením LC50 tří přípravků na vybraném subjektu, mládřatech *P. impressa*, představujícím zástupce přirozených nepřátel škůdců a širší skupiny užitečných členovců. LC50 byla u všech tří přípravků výrazně nižší, než jejich doporučená dávka pro běžné užití. Roundup, Biscaya a Tilmor představují výrazné nebezpečí nejen pro členovce, ale i hlodavce a jiné organismy v agroekosystémech a v případě Roundupu často i na zahradách a ve veřejné zeleni. Nejnižší toxicitu mezi přípravky vykazoval insekticid na bázi thiaklopridu, u něhož byla předpokládána toxicita nejvyšší, což potvrzuje, že pesticidy mohou nepříznivě ovlivňovat všechny možné druhy organismů, nejen ty, na které jsou specificky zacíleny, a to buď subletálními efekty, nebo usmrcením.

Na základě zpracované literatury a pokusu můžeme předpokládat, že dostatečné množství jakéhokoliv pesticidu může způsobit plošný úhyn podstatné části populace různých zasažených organismů a tím pádem přímo i nepřímo ovlivňovat nejen příslušné, ale i okolní ekosystémy a ohrozit jejich vitální funkce jako opylování, predace, dekompozice, nebo schopnost regenerace po disturbanci. Nejvíce ohrožený je pak hmyz žijící v půdě a na jejím povrchu, bentický a vodní hmyz, členovci, obratlovci živící se zrním a opylovači (Goulson, 2013). Mohou však ovlivnit i taxony postavené v potravní pyramidě výše, než bezobratlí a malí obratlovci přítomní v agroekosystémech, jako například ptáky, kteří se živí semeny (Goulson, 2013), nebo dravce lovící kontaminovanou kořist. Těmto vyšším taxonům zatím bylo věnováno málo pozornosti, přesto máme k dispozici důkazy, že subletální dávky pesticidů u ptáků způsobují ataxi, průjmy, opistotonus, ztrátu mobility, ztenčování skořápek vajec, nebo snížené líhnutí, a u savců pak sníženou fertilitu a deformaci plodu (Lopez-Antia et al. 2013).

Pesticidy nelze pokládat za jedinou příčinu úbytku biodiverzity, avšak ruku v ruce se zánikem a degradací na druhy bohatých habitatů je nelze ani opomíjet a je třeba v rámci udržitelného managementu najít rovnováhu v jejich užívání, jinak bude ztráta biodiverzity ohrožovat ekosystémové služby, na kterých zemědělská produkce a veškeré ekosystémy přímo závisí (Goulson, 2013), a v důsledku i člověka samotného.

7.0 Seznam literatury

Agrios (2005), Loss of food production due to diseases, insects and weeds [cit.10.3.2020] dostupné z <https://ourworldindata.org/pesticides>

Aktar, W., Sengupta, D., Chowdhury, A. Impact of pesticides use in agriculture: Their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology* **2**, 1–12 (2009).

Altenhofen, S. et al. Tebuconazole alters morphological, behavioral and neurochemical parameters in larvae and adult zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere* 180, 483–490 (2017).

Amdam, G. V., Norberg, K., Hagen, A., Omholt S. W. Social exploitation of vitellogenin (2003). In: Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology* **52**, 81–106 (2007).

Baatrup, E., Bayley, M. Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on the locomotor activity of the wolf spider *Pardosa amentata*: Quantitative analysis employing computer-automated video tracking (1993). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Banks, M.L., Kennedy, A.C., Kremer, R.J., Eivazi, F., Soil microbial community response to surfactants and herbicides in two soils (2014). In: Van Bruggen, A. H. C. et al. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).

Bayer s.r.o., 2018: Základní info o společnosti [cit.10.3.2020] dostupné z <https://www.bayer.cz/cs/o-spolecnosti/zakladni-informace/>

Bayer s.r.o., 2008: Biscaya etiketa [cti.10.3.2020] dostupné z <https://www.cropscience.bayer.cz/static/documents/etikety/Biscaya.pdf>

Bayer s.r.o., 2011: Tilmor etiketa [cit.10.3.2020] dostupné z <https://www.cropscience.bayer.cz/static/documents/etikety/Tilmor.pdf>

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

Benamú, M. A., Schneider, M. I., Pineda, S., Sanchez, N. E., Gonzalez, A. Sublethal effects of two neurotoxic insecticides on *Araneus pratensis* (Araneae: Araneidae) (2007). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* 68, 1438–1446 (2012).

Bergström, L., Börjesson, E., Stenström, J., Laboratory and lysimeter studies of glyphosate and aminomethyl phosphonic acid in a sand and a clay soil (2011). In: Van Bruggen, A. H. C. *et al.* Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).

Biesmeijer, J. C. *et al.* Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands (2006). In: Sponsler, D. B. *et al.* Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis. *Science of the Total Environment* **662**, 1012–1027 (2019).

Birkhofer, K., Gavish-Regev, E., Endlweber, K., Lubin, Y.D., von Berg, K., Wise, D.H., *et al.*, Cursorial spiders retard initial aphid population growth at low densities in winter wheat (2008). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Bonmatin, J. M. *et al.* Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environmental Science and Pollution Research* **22**, 35–67 (2015).

Bonmatin, J. M., Moineau, I., Charvet, R., Colin, M. E., Fleche, C., Bengsch, E.R. Behaviour of imidacloprid in fields. Toxicity for honey bees (2005). In: Van der Sluijs, J. P. *et al.* Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

Bozdogan, A. M. Assessment of total risk on non-target organisms in fungicide application for agricultural sustainability. *Sustainability (Switzerland)* **6**, 1046–1058 (2014).

Camacho, A., Mejía, D., The health consequences of aerial spraying illicit crops: the case of Colombia (2017). In: Van Bruggen, A. H. C. *et al.* Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).

Carson, R. L. Silent Spring, *The Riverside Press Cambridge* (1962), 400 s.

Chauzat, M. P. *et al.* A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France (2006). In: Van der Sluijs, J. P. *et al.* Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

De, A., Bose, R., Kumar, A., Mozumdar, S. Worldwide Pesticide Use (2013). In: Müller, C. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* **30**, 1–10 (2018).

Deng, L., Xu, M., Cao, H., Dai, J. Ecotoxicological effects of buprofezin on fecundity, growth, development, and predation of the wolf spider *Pirata piratoides* (Schenkel) (2008). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

DeRuijter A, VanderSteen J. A field study on the effect on honeybee brood of insegar (fenoxycarb) applied on blooming apple orchards (1987). In: Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology* **52**, 81–106 (2007).

Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology* **52**, 81–106 (2007).

Di Prisco, G. *et al.* Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees (2013). In: Doublet, V., Labarussias, M., de Miranda, J. R., Moritz, R. F. A. & Paxton, R. J. Bees under stress: Sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. *Environmental Microbiology* **17**, 969–983 (2015).

Drum, C. Soil Chemistry of Pesticides, *PPG Industries, USA* (1980). In: Zacharia, J. T. Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides (2011). In: Stoytcheva, M. Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis, *In Tech* (2011), 514 s.

Duke, S.O., Powles, S.B., Glyphosate-resistant crops and weeds: now and in the future (2009). In: Van Bruggen, A. H. C. *et al.* Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).

Edwards, C. A., Environmental pollution by pesticides, *Plenum press* (1973), 542 s.

Edwards, C. A., Pesticide residues in soil and water (1973). In: Edwards, C. A., Environmental pollution by pesticides, *Plenum press* (1973), 542 s.

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

Ewets, J., Aukema, B., Mullié, W. Exposure of the ground dwelling spider *Oedothorax apicatus* (Blackwall) (Erigonidae) to spray and residues of deltamethrin (1991). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Finlayson, D. G., MacCarthy, H. R., Pesticide residues in plants (1973). In: Edwards, C. A., Environmental pollution by pesticides, *Plenum press* (1973), 542 s.

Flint, M. L. Residential pesticide use in California: a report of surveys taken in the Sacramento (Arcade Creek). Stockton (Five-Mile Slough) and San Francisco Bay Areas with Comparisons to the San Diego Creek Watershed of Orange County California (2003). In: Sponsler, D. B. *et al.* Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis. *Science of the Total Environment* **662**, 1012–1027 (2019).

Fluegge, K., Fluegge, K., Glyphosate use predicts healthcare utilization for ADHD in the healthcare cost and utilization project net (HCUPnet): a two-way fixed-effects analysis (2016). In: Van Bruggen, A. H. C. *et al.* Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).

Girolami, V. *et al.* Translocation of Neonicotinoid Insecticides From Coated Seeds to Seedling Guttation Drops: A Novel Way of Intoxication for Bees. *Journal of Economic Entomology* **102**, 1808–1815 (2009).

Gomes, M.P., Gingras Le Manac'h, S., Maccario, S., Labrecque, M., Lucotte, M., Juneau, P., Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants (2016). In: Van Bruggen, A. H. C. *et al.* Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).

Goulson, D. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology* **50**, 977–987 (2013).

Grossman E. Declining bee populations pose a threat to global agriculture, *Yale360* (2013)

Guedes, R. N. C., Smagghe, G., Stark, J. D., Desneux, N. Pesticide-Induced Stress in Arthropod Pests for Optimized Integrated Pest Management Programs. *Annual Review of Entomology* **61**, 43–62 (2016).

Guedes, R. N. C., Walse, S. S., Throne, J. E. Sublethal exposure, insecticide resistance, and community stress (2017). In: Müller, C. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* **30**, 1–10 (2018).

Guha, N., Ward, M.H., Gunier, R., et al. Characterization of residential pesticide use and chemical formulations through self-report and household inventory: the northern California childhood leukemia study (2013). In: Sponsler, D. B. *et al.* Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis. *Science of the Total Environment* **662**, 1012–1027 (2019).

Guo, L. et al. Sublethal and transgenerational effects of chlorantraniliprole on biological traits of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (2013). In: Müller, C. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* **30**, 1–10 (2018).

Gupta, P. R., Chandel, R. S. Effects of diflubenzuron and penfluron on workers of *Apis cerana indica* F and *Apis mellifera* L. *Apidologie* **26**, 3–10 (1995).

Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., von Tiedemann, A. Phytomedizin (2009). In: Müller, C. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* **30**, 1–10 (2018).

- Haynes, K. F. Sublethal effects of neurotic insecticides on insect behavior (1988). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).
- Jagers Op Akkerhuis, G. A. J. M., Rossing, W. A. H., Piet, G. J., Everts, J. W. Water depletion, an important cause of mortality in females of the spider *Oedothorax apicatus* after treatment with deltamethrin: A simulation study (1997). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).
- Jepson, P. C., Thacker, J. R. M. Analysis of the Spatial Component of Pesticide Side-Effects on Non-Target Invertebrate Populations and Its Relevance to Hazard Analysis (1990). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).
- Keneth, M. The DDT Story (1992). In: Zacharia, J. T. Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides (2011). In: Stoytcheva, M. Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis, *In Tech* (2011), 514 s.
- Korenko, S., Saska, P., Kysilková, K., Řezáč, M., Heneberg, P. Prey contaminated with neonicotinoids induces feeding deterrent behavior of a common farmland spider. *Scientific Reports* **9**, (2019).
- Laurino, D., Porporato, M., Patetta, A., Manino, A. Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: Laboratory tests (2011). In: Van der Sluijs, J. P. et al. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).
- Li, J., Smeda, R. J., Sellers, B. A., Johnson, W. G. Influence of formulation and glyphosate salt on absorption and translocation in three annual weeds (2005). In: Van Bruggen, A. H. C. et al. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).
- Lopez-Antia, A., Ortiz-Santaliestra, M. E., Mougeot, F., Mateo, R. Experimental exposure of red-legged partridges (*Alectoris rufa*) to seeds coated with imidacloprid, thiram and difenoconazole (2013). In: Goulson, D. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology* **50**, 977–987 (2013).
- Mansour, F. A malathion-tolerant strain of the spider *Chiracanthium mildei* and its response to chlorpyrifos (1984). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).
- Martin, H. Pesticides Manual, *British Crop Protection Council, London* (1968). In: Zacharia, J. T. Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides (2011). In: Stoytcheva, M. Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis, *In Tech* (2011), 514 s.
- Maxim L. and Van der Sluijs J.P. Seed-dressing systemic insecticides and honeybees (2013). In: Van der Sluijs, J. P. et al. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

McComb, B.C., Curtis, L., Chambers, C.L., Newton, M., Bentson, K., Acute toxic hazard evaluations of glyphosate herbicide on terrestrial vertebrates of the Oregon coast range (2008). In: Van Bruggen, A. H. C. *et al.* Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).

Mommaerts, V. *et al.* Risk assessment for side-effects of neonicotinoids against bumblebees with and without impairing foraging behavior (2010). In: Van der Sluijs, J. P. *et al.* Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

Monsanto, 2010: Roundup Rapid etiketa [cit.10.3.2020] dostupné z http://eagri.cz/public/app/srs_pub/seaside-files/etikety/MON/Roundup%20Rapid.pdf

Monsanto, 2018: Bayer: Conditions for beginning Monsanto integration fulfilled [cit.10.3.2020] dostupné z <https://monsanto.com/news-releases/bayer-conditions-beginning-monsanto-integration-fulfilled/>

Müller, C. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* **30**, 1–10 (2018).

Mullié, W. C., Everts, J. W. Uptake and elimination of [14C]deltamethrin by *Oedothorax apicatus* (Arachnida; Erigonidae) with respect to bioavailability (1991). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Muñoz-Leoz, B., Ruiz-Romera, E., Antigüedad, I., Garbisu, C. Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity. *Soil Biology and Biochemistry* **43**, 2176–2183 (2011).

Neumann, P., Carreck, N. L. Honey bee colony losses (2010). In: Sponsler, D. B. *et al.* Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis. *Science of the Total Environment* **662**, 1012–1027 (2019).

Nyffeler, M., Sunderland, K. D. Composition, abundance and pest control potential of spider communities in agroecosystems: A comparison of European and US studies (2003). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Ollerton, J. Pollinator Diversity: Distribution, Ecological Function, and Conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* (2017). In: Sponsler, D. B. *et al.* Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis. *Science of the Total Environment* **662**, 1012–1027 (2019).

Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* **120**, 321–326 (2011).

Othmer, K. Encyclopedia of Chemical Technology, *John Wiley and Sons Inc. New York* (1996). 1100 s.

Pekár, S., Beneš, J. Aged pesticide residues are detrimental to agrobiont spiders (Araneae) (2008). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Pekár, S., Haddad, C. R. Can agrobiont spiders (Araneae) avoid a surface with pesticide residues? (2005). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Pekár, S., Brabec, M. Moderní analýza biologických dat: zobecněné lineární modely v prostředí R, 1. díl. *Scientia* (2009). 225 s.

Pekár, S., Michalko, R., Loverre, P., Líznarová, E., Černecká, L. Biological control in winter: novel evidence for the importance of generalist predators (2015). In: Řezáč, M., Řezáčová, V. & Heneberg, P. Neonicotinoid insecticides limit the potential of spiders to re-colonize disturbed agroecosystems when using silk-mediated dispersal. *Scientific Reports* **9**, (2019).

Peng, Y., Shao, X. L., Hose, G. C., Liu, F. X., Chen, J. Dimethoate, fenvalerate and their mixture affects *Hylyphantes graminicola* (Araneae: Linyphiidae) adults and their unexposed offspring (2010). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Pinto, L. Z., Bitondi, M. M. G., Simões, Z. L. P. Inhibition of vitellogenin synthesis in *Apis mellifera* workers by a juvenile hormone analogue, pyriproxyfen (2000). In: Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology* **52**, 81–106 (2007).

Příbáňová, G. Subletální efekty insekticidů neonicotinoidů na migrační a predační potenciál pavouků (2020). Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha. 94 s. (Diplomová práce). “nepublikováno”. Digitální repozitář UK.

Punzo, F. Effects of azadirachtin on mortality, growth, and immunological function in the wolf spider, *Schizocosa episina* (Araneae: Lycosidae) (1997). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Rader, R., Bartomeus, I., Tylianakis, J. M., Laliberté, E. The winners and losers of land use intensification: Pollinator community disassembly is non-random and alters functional diversity (2014). In: Müller, C. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* **30**, 1–10 (2018).

Řezáč, M., Řezáčová, V., Heneberg, P. Contact application of neonicotinoids suppresses the predation rate in different densities of prey and induces paralysis of common farmland spiders. *Scientific Reports* **9**, (2019).

Řezáč, M., Řezáčová, V., Heneberg, P. Neonicotinoid insecticides limit the potential of spiders to re-colonize disturbed agroecosystems when using silk-mediated dispersal. *Scientific Reports* **9**, (2019).

Runckel, C. *et al.* Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema*, and *Crithidia* (2011). In: Van der Sluijs, J. P. *et al.* Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

Samu, F., Vollrath, F. Spider orb web as bioassay for pesticide side effects (1992). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Saska, P. *et al.* Treatment by glyphosate-based herbicide alters life history parameters of the rose-grain aphid *Metopolophium dirhodum*. *Scientific Reports* **6**, (2016).

Shaw, E. M., Waddicor, M., Langan, A. M. Impact of cypermethrin on feeding behaviour and mortality of the spider *Pardosa amentata* in arenas with artificial “vegetation.” (2006). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Shaw, E. M., Wheeler, C. P., Langan, A. M. The effects of cypermethrin on *Tenuiphantes tenuis* (Blackwall, 1852): development of a technique for assessing the impact of pesticides on web building in spiders (Araneae: Linyphiidae) (2005). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Simpson, J., von Frisch, K. The Dance Language and Orientation of Bees (1969). In: Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology* **52**, 81–106 (2007).

Škerl, M. I. S., Gregorc, A. Heat shock proteins and cell death in situ localisation in hypopharyngeal glands of honeybee (*Apis mellifera carnica*) workers after imidacloprid or coumaphos treatment (2010). In: Van der Sluijs, J. P. *et al.* Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

Soumis, N. Neonicotinoids a threat to food security, *Équiterre, Backgrounder* (2018) dostupné z https://equiterre.org/sites/fichiers/docinfo-neonicotinoides_2018.pdf

Sponsler, D. B. *et al.* Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis. *Science of the Total Environment* **662**, 1012–1027 (2019).

Suchail, S., Guez, D., Belzunces, L. P. Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (2001). In: Van der Sluijs, J. P. *et al.* Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

Suryanarayanan, S., Kleinman, D. L. Be(e)coming experts: The controversy over insecticides in the honey bee colony collapse disorder (2013). In: Van der Sluijs, J. P. et al. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

Swanson, N.L., Leu, A., Abrahamson, J., Wallet, B., Genetically engineered crops, glyphosate and the deterioration of health in the United States of America (2014). In: Van Bruggen, A. H. C. et al. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).

Tapparo, A. et al. Assessment of the environmental exposure of honeybees to particulate matter containing neonicotinoid insecticides coming from corn coated seed (2012). In: Van der Sluijs, J. P. et al. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

Tappert, L., Pokorny, T., Hofferberth, J., Ruther, J. Sublethal doses of imidacloprid disrupt sexual communication and host finding in a parasitoid wasp (2017). In: Müller, C. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* **30**, 1–10 (2018).

Tasei, J. N. et al. Effects of sublethal doses of deltamethrin (Decis Ce) on *Bombus terrestris* (2000). In: Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology* **52**, 81–106 (2007).

Taxvig, C. et al. Endocrine-disrupting activities In Vivo of the fungicides tebuconazole and epoxiconazole. *Toxicological Sciences* **100**, 464–473 (2007).

Thacker, J. R. M., Jepson, P. C. Pesticide risk assessment and non-target invertebrates: Integrating population depletion, population recovery, and experimental design (1995). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Thomas, C. F. G., Hol, E. H. A., Everts, J. W. Modelling the Diffusion Component of Dispersal During Recovery of a Population of linyphiid Spiders from Exposure to an Insecticide (1990). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Tison, L. et al. Honey Bees' Behavior is Impaired by Chronic Exposure to the Neonicotinoid Thiacloprid in the Field. *Environmental Science and Technology* **50**, 7218–7227 (2016).

Uchida, K., Hiraiwa, M. K., Ushimaru, A. Plant and herbivorous insect diversity loss are greater than null model expectations due to land-use changes in agro-ecosystems. (2016). In: Müller, C. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* **30**, 1–10 (2018).

Van Bruggen, A. H. C. et al. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* **616–617**, 255–268 (2018).

Van Dame, R., Meled, M., Colin, M. E., Belzunces, L. P. Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. Exposed to sublethal dose of deltamethrin (1995). In: Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology* **52**, 81–106 (2007).

Van der Sluijs, J. P. et al. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **5**, 293–305 (2013).

Van Erp, S., Booth, L., Gooneratne, R., O'Halloran, K. Sublethal responses of wolf spiders (Lycosidae) to organophosphorous insecticides (2002). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Volkmar, C., Schumacher, K., Freier, B. Araneae as indicators in low- input strategies in crop protection (2008). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Wang, Z., Song, D. X., Fu, X. Q., Li, Y. L. Effect of methamidophos on midgut proteinase activity in the wolf spider, *Pardosa pseudoannulata* (Araneae: Lycosidae), assayed with piezoelectric bulk acoustic wave impedance analysis method (2006). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Wehling, A., Heimbach, U. Effects of two insecticides (λ -cyhalothrin and endosulfan) on spiders in laboratory, semi-field and field tests (1994). In: Pekár, S. Spiders (Araneae) in the pesticide world: An ecotoxicological review. *Pest Management Science* **68**, 1438–1446 (2012).

Wikipedia, 2018: *Phylloneta impressa* [cit.10.3.2020] dostupné z https://en.wikipedia.org/wiki/Phylloneta_impressa

Wikipedia, 2019: Zelená svinibrodská [cit.10.3.2020] dostupné z https://cs.wikipedia.org/wiki/Zele%C5%88_svinibrodsk%C3%A1

Wikipedia, 2020: Glyfosát [cit.10.3.2020] dostupné z <https://cs.wikipedia.org/wiki/Glyfos%C3%A1t>

Zacharia, J. T. Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides (2011). In: Stoytcheva, M. Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis, *In Tech* (2011), 514 s.

Zeng, G., Chen, M., Zeng, Z. Risks of neonicotinoid pesticides, *Science* **340**, 1403 (2013).

8.0 Přílohy

8.1 Příloha 1- Data z pokusu

Následuje tabulka s výsledky pokusu měření mortality, kde sloupec **treatment** představuje typ přípravku, **content** jeho koncentraci, přičemž 100% znamená doporučenou dávku výrobcem, **var** číslo pětice pavouků, **C1_pest** úmrtnost způsobenou pesticidy po 1 hodině, **C1_pres** úmrtnost vlivem tlaku postřiku po 1 hodině, **C1_all** úmrtnost po 1 hodině celkově, **C24_pest** úmrtnost vlivem pesticidů po 24 hodinách, **C24_pres** úmrtnost vlivem tlaku po 24 hodinách, **C24_all** úmrtnost celkem po 24 hodinách a **n** počet jedinců celkem.

treatment	content [%]	var	C1_pest	C1_pres	C1_all	C24_pest	C24_pres	C24_all	n
B	100.0	1	0	0	0	3	0	3	5
B	100.0	2	2	1	3	2	1	3	5
B	100.0	3	0	0	0	3	0	3	5
B	100.0	4	0	0	0	5	0	5	5
B	87.5	1	0	2	2	2	0	2	5
B	87.5	2	1	3	4	5	0	5	5
B	87.5	3	1	2	3	1	2	3	5
B	87.5	4	1	2	3	2	2	4	5
B	75.0	1	0	3	3	0	3	3	5
B	75.0	2	2	1	3	2	1	3	5
B	75.0	3	1	2	3	2	2	4	5
B	75.0	4	1	0	1	2	0	2	5
B	62.5	1	2	0	2	3	0	3	5
B	62.5	2	2	2	4	2	2	4	5
B	62.5	3	1	3	4	1	3	4	5
B	62.5	4	2	1	3	2	1	3	5
B	50.0	1	0	3	3	1	3	4	5
B	50.0	2	2	0	2	2	0	2	5
B	50.0	3	1	2	3	1	2	3	5
B	50.0	4	0	0	0	2	0	2	5

B	37.5	1	1	4	5	1	4	5	5
B	37.5	2	1	3	4	1	3	4	5
B	37.5	3	1	0	1	1	0	1	5
B	37.5	4	1	3	4	1	3	4	5
B	25.0	1	0	2	2	0	2	2	5
B	25.0	2	1	2	3	1	3	4	5
B	25.0	3	1	2	3	2	2	4	5
B	25.0	4	2	0	2	2	0	2	5
B	12.5	1	0	3	3	0	3	3	5
B	12.5	2	0	2	2	1	2	3	5
B	12.5	3	1	0	1	2	0	2	5
B	12.5	4	1	0	1	2	0	2	5
T	100.0	1	2	0	2	5	5	5	5
T	100.0	2	0	2	2	0	2	2	5
T	100.0	3	1	2	3	5	0	5	5
T	100.0	4	5	0	5	5	0	5	5
T	87.5	1	2	3	5	5	0	5	5
T	87.5	2	2	2	4	3	2	5	5
T	87.5	3	2	3	5	3	2	5	5
T	87.5	4	1	3	4	1	3	4	5
T	75.0	1	3	0	3	3	0	3	5
T	75.0	2	3	0	3	1	3	4	5
T	75.0	3	0	3	3	4	0	4	5
T	75.0	4	2	3	5	2	3	5	5
T	62.5	1	0	3	3	1	4	5	5
T	62.5	2	0	3	3	0	5	5	5
T	62.5	3	2	0	2	3	0	3	5
T	62.5	4	1	1	2	2	2	4	5
T	50.0	1	0	3	3	1	3	4	5
T	50.0	2	0	2	2	2	2	4	5
T	50.0	3	1	2	3	2	3	5	5

T	50.0	4	2	3	5	2	3	5	5
T	37.5	1	0	0	0	0	0	0	5
T	37.5	2	1	2	3	1	2	3	5
T	37.5	3	0	2	2	2	3	5	5
T	37.5	4	0	4	4	0	5	5	5
T	25.0	1	1	0	1	2	1	3	5
T	25.0	2	0	3	3	1	3	4	5
T	25.0	3	0	0	0	1	2	3	5
T	25.0	4	1	0	1	1	1	2	5
T	12.5	1	0	1	1	1	1	2	5
T	12.5	2	1	2	3	2	3	5	5
T	12.5	3	0	1	1	2	3	5	5
T	12.5	4	0	0	0	0	0	0	5
R	100.0	1	4	0	4	4	0	4	5
R	100.0	2	4	1	5	4	1	5	5
R	100.0	3	3	0	3	4	0	4	5
R	100.0	4	3	1	4	3	1	4	5
R	87.5	1	3	2	5	3	2	5	5
R	87.5	2	2	0	2	3	2	5	5
R	87.5	3	1	0	1	4	0	4	5
R	87.5	4	0	0	0	3	0	3	5
R	75.0	1	2	1	3	4	1	5	5
R	75.0	2	2	0	2	4	0	4	5
R	75.0	3	1	2	3	1	2	3	5
R	75.0	4	2	2	4	2	2	4	5
R	62.5	1	1	2	3	2	2	4	5
R	62.5	2	0	1	1	3	1	4	5
R	62.5	3	0	1	1	1	1	2	5
R	62.5	4	1	0	1	1	0	1	5
R	50.0	1	1	0	1	1	2	3	5
R	50.0	2	0	2	2	0	2	2	5

R	50.0	3	0	1	1	0	2	2 5
R	50.0	4	2	0	2	2	1	3 5
R	37.5	1	0	3	3	0	3	3 5
R	37.5	2	0	3	3	0	3	3 5
R	37.5	3	1	2	3	1	2	3 5
R	37.5	4	0	1	1	1	3	4 5
R	25.0	1	0	4	4	0	4	4 5
R	25.0	2	0	2	2	0	2	2 5
R	25.0	3	0	3	3	0	3	3 5
R	25.0	4	0	1	1	1	2	3 5
R	12.5	1	0	5	5	0	5	5 5
R	12.5	2	0	3	3	0	3	3 5
R	12.5	3	0	4	4	0	4	4 5
R	12.5	4	0	3	3	1	3	4 5