

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta životního prostředí**

**Katedra agroekologie a rostlinné produkce**



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta životního  
prostředí**

**Vliv pesticidů na bázi neonicotinoidů na mortalitu a  
ontogenezi snovačky pečující *Phylloneta impressa* (L.  
Koch, 1881)  
Diplomová práce**

**Bc. Jakub Sýkora**  
**Aplikovaná ekologie**

**Mgr. Stanislav Korenko, Ph.D.**

© 2019 ČZU v Praze

# ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Jakub Sýkora

Aplikovaná ekologie

Název práce

**Vliv pesticidů na bázi neonicotinoidů na mortalitu a ontogenezi snovačky pečující *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881)**

Název anglicky

**Effect of neonicotinoid pesticides on mortality and ontogeny of tangle web weaving spider *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881)**

---

### Cíle práce

Cílem práce je zjistit vliv vybraného pesticidu na bázi neonicotinoidů na mortalitu a růst snovačky pečující *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) v laboratorních podmínkách.

### Metodika

Juvenilní jedinci pavouka *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) budou sbíráni koncem letního období v otevřené krajině, kde se líhnou z kokonů v období srpen-září. Jedinci budou chováni ve standardizovaných podmínkách v laboratoři až do dospělosti, kde budou ošetřeni pesticidem (tarsálním kontaktem, přímým postřikem a pozřením ošetřené potravy) a bude sledována úroveň jejich mortality a každotýdenního hmotnostního přírůstku.

**Doporučený rozsah práce**

30-70 str.

**Klíčová slova**

insekticid, letální efekt, subletální efekt, pavoučí síť, chování

---

**Doporučené zdroje informací**

- Foelix, R. 1996. Biology of Spiders. Oxford University Press, USA, p. 336.
- Meissle, M., Romeis, J. 2009. The web – building spider *Theridion impressum* (Araneae: Theridiidae) is not adversely affected by Bt maize resistant to corn rootworms. *Plant Biotechnology Journal*, 7, 645-656.
- Nentwig, W. 1987. Ecophysiology of Spiders. Springer-Verlag, p. 448.
- Nyffeler, M., Benz, G. 1987. Spiders in natural pest control: a review. *Journal of Applied Entomology*, 103, 321-339.
- Pekár, S. 2000. Webs, diet, and fecundity of *Theridion impressum* (Araneae: Theridiidae). *European Journal of Entomology*, 97, 47-50.
- Pekár, S. 2002. Susceptibility of the spider *Theridion Impressum* to 17 pesticides. Blackwell Verlag. Berlin. *Journal of Pest Science*, 75, 51-55.
- Pekár, S. 2005. Horizontal and vertical distribution of spiders (Araneae) in sunflowers. *Journal of arachnology*, 33, 197-204.
- 

**Předběžný termín obhajoby**

2018/19 LS – FŽP

**Vedoucí práce**

Mgr. Stanislav Korenko, Ph.D.

**Garantující pracoviště**

Katedra agroekologie a rostlinné produkce

**Konzultant**

RNDr. Milan Řezáč, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 13. 11. 2018

**prof. Ing. Josef Soukup, CSc.**

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 13. 11. 2018

**prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.**

Děkan

V Praze dne 12. 04. 2019

---

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv pesticidů na bázi neonikotinoidů na mortalitu a ontogenezi snovačky pečující *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881)" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval Mgr. Stanislavu Korenkovi, Ph.D. za rady při vypracování práce a pomoc při stanovení metodiky práce. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Kristýně Kysilkové a Ing. Pavlíně Košnarové za pomoc při provedení postřiků, jež byly součástí výzkumu a RNDr. Milanu Řezáčovi, Ph.D. za poskytnuté insekticidy pro provedení experimentu. Rovněž bych chtěl poděkovat Valentinu Attanasimu za spolupráci při provádění monitoringu, Bc. Světlaně Rayové za občasnou výpomoc při monitoringu a přípravě pomůcek pro výzkum, a Bc. Anně Šebkové za zájem přečíst si výslednou práci.

# Vliv pesticidů na bázi neonikotinoidů na mortalitu a ontogenezi snovačky pečující *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881)

## Souhrn

Tato diplomová práce zkoumá vliv čtyř běžně dostupných neonikotinoidů v zemědělství (actemapirid, imidacloprid, thiacloprid a thiamethoxam) na mortalitu a ontogenezi snovačky pečující *Phylloneta impressa*, hojně se vyskytujícího druhu v České republice, zejména na polích řepky *Brassica napus*, který je potenciálním predátorem širokého spektra organismů známých jako zemědělský škůdce

První část experimentu byla realizována monitorováním pole v Praze – Lysolajích. V této části byla studována fenologie snovačky *P. impressa* dvaceti místech v poli řepky olejky.

Ve druhé části byl studován vliv neonikotinoidů na snovačky *P. impressa* v laboratoři. Tento experiment byl rozdělen do dvou oddělených fází. První z nich zkoumala vliv postřiku na mortalitu a ontogenezi *P. impressa*. Druhá část podrobně testovala insekticid actemapirid ve dvou verzích ošetření. Tarsálním kontaktem a požitím ošetřené kořisti.

Nasbíraná data byla posléze vyhodnocena v programu GraphPad InStat 3 pomocí několika testovacích metod, vybraných na základě typu dat. Po provedení statistické analýzy bylo zjištěno, že ošetření postřikem a tarsálním kontaktem nevykazuje signifikantní rozdíl mezi ošetřenou a kontrolní skupinou ani v případě mortality, ani u hmotnostních přírůstků. Avšak signifikantní rozdíl hmotnostních přírůstků byl zaznamenán mezi thiamethoxamem a thiaclopridem, respektive imidaclopridem. Signifikantní byl rovněž zaznamenán u hmotnostních přírůstků v případě podání mospilanu pomocí potravy a to u ošetřené skupiny oproti kontrolní skupině, která zaznamenala významně menší přírůstky. Mortalita v tomto případě nebyla signifikantně odlišná.

**Klíčová slova:** insekticid, letální efekt, subletální efekt, pavoučí síť, chování

# **Effect of neonicotinoid pesticides on mortality and ontogeny of tangle web weaving spider *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881)**

## **Summary**

This thesis examines the effect of four commonly available neonicotinoids in agriculture (actemapirid, imidacloprid, thiacloprid and thiamethoxam) on the mortality and the ontogenesis of tangle web weaving spider *Phylloneta impressa*, which is the abundant in rapeseed *Brassica napus* fields in Czech Republic. This spider has high potential in suppression of pest populations in studied agroecosystem.

At the first, the phenology of *P. impressa* was studied in twenty plots in the rapeseed fields in locality Prague – Lysolaje during the three months. Further, the influence of neonicotinoids on *P. impressa* studied in laboratory and semi-field conditions. This experiment was divided in two separate parts. The first one examined influence of spraying treatment on mortality and ontogenesis of *P. impressa*. The second one tested the effect of actemapirid insecticide in two versions of treatment (tarsal contact and ingestion of treated prey).

Collected data was statistically evaluate after that in GraphPad InStat 3 by several testing methods, chosen selected according to the data type. After statistical analysis, it was found that spray and tarsal treatment showed no significant difference between the treated and control groups in both mortality and weight gain. However, a significant weight gain difference was recorded between thiamethoxam and thiacloprid, respectively imidacloprid. Significant increases were also observed in weight gain in the case of ingestion of mospilan in the treated group compared to the control group, which showed significantly smaller increases. The mortality in this case was not significantly different.

**Keywords:** insecticide, lethal effect, sublethal effect, spider web, behavior

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1</b>	<b>Pesticidy</b> .....	<b>9</b>
3.1.1	Dělení pesticidů .....	9
<b>3.2</b>	<b>Neonikotinoidy</b> .....	<b>12</b>
3.2.1	Vznik.....	12
3.2.2	Druhy neonikotinoidních pesticidů.....	13
3.2.3	Toxikologie .....	19
3.2.4	Rezistence vůči neonikotinoidům.....	37
<b>3.3</b>	<b>Vliv neonikotinoidů na pavouky</b> .....	<b>38</b>
3.3.1	Dopad na nejvýznamnější čeledi .....	39
3.3.2	Ekologie modelové skupiny .....	45
<b>4</b>	<b>Metodika</b> .....	<b>50</b>
<b>4.1</b>	<b>Fenologie</b> .....	<b>50</b>
<b>4.2</b>	<b>Vliv neonikotinoidů na ontogenezi a přežívání</b> .....	<b>53</b>
4.2.1	Odchyt.....	53
4.2.2	Chovy .....	55
4.2.3	Ošetření .....	59
4.2.4	Statistické metody .....	64
<b>5</b>	<b>Výsledky</b> .....	<b>67</b>
<b>5.1</b>	<b>Fenologie</b> .....	<b>67</b>
<b>5.2</b>	<b>Vliv neonikotinoidů na ontogenezi a přežívání</b> .....	<b>70</b>
5.2.1	Vliv postřiku na ontogenezi a hmotnostní přírůstek .....	70
5.2.2	Mospilan – detailní analýza .....	73
<b>6</b>	<b>Diskuze</b> .....	<b>81</b>
<b>6.1</b>	<b>Fenologie</b> .....	<b>81</b>
<b>6.2</b>	<b>Vliv neonikotinoidů na ontogenezi a přežívání</b> .....	<b>83</b>
6.2.1	Vliv postřiku na ontogenezi a hmotnostní přírůstek .....	83
6.2.2	Mospilan – detailní analýza .....	85
<b>7</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>90</b>
<b>8</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>91</b>



# 1 Úvod

Neonikotinoidy představují významnou skupinu látek, která se dá považovat za potenciálně rizikovou pro životní prostředí a lidské zdraví. Rovněž mají i významný dopad na faunu, obývající biotopy v okolí zemědělské půdy, ať už vodní nebo suchozemskou (Tomizawa et Cassida, 2005; Kumar et Kumar, 2013). V souvislosti s tím v roce 2013 Evropská komise, pod nátlakem veřejnosti, navrhla jejich zákaz, který tehdy ještě hlasováním EU neprošel. Bylo však omezeno jejich používání. Nátlak na jejich úplný zákaz nicméně nadále rostl, což vyústilo v nové hlasování v roce 2018, kdy už bylo jejich užívání, navzdory postoji České republiky, zakázáno (Butler, 2018).

Insekticidy ač jsou primárně cíleny na zemědělské škůdce, mohou rovněž mít dopad i na jejich potenciální predátory, což znesnadňuje možnost pro přírodu šetrnějšího biologického boje proti škůdcům. Z tohoto důvodu je užitečné zjistit, jaký je reálný dopad neonikotinoidů na běžně se vyskytující predátory na zemědělských plodinách.

Jako modelový organismus pro tento experiment byl vybrán druh snovačky *Phylloneta impressa* vyskytující se hojně na loukách a zemědělských plodinách v České republice. Cílem následně bylo zjistit dopady čtyř neonikotinoidů (actara, biscaya, confidor a mospilan) na jeho ontogenezi a mortalitu.

## 2 Cíl práce

Cílem práce je zjistit vliv vybraného pesticidu na bázi neonikotinoidů na mortalitu a růst snovačky pečující *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) v laboratorních podmínkách.

Nulová hypotéza: Neonikotinoidy způsobují zvýšenou mortalitu a snížení přírůstků u snovačky pečující *Phylloneta impressa*.

Alternativní hypotéza: Neonikotinoidy nezpůsobují zvýšenou mortalitu a snížení přírůstků u snovačky pečující *Phylloneta impressa*.

### 3 Literární rešerše

Literární rešerše je rozdělena do tří kapitol. V té první jsou uvedeny informace o pesticidech obecně a jejich základním rozdělení na základě chemické struktury. Na tuto kapitolu dále navazuje detailní popis neonikotinoidů od samotného vzniku této skupiny pesticidů přes jednotlivé druhy až po nežádoucí dopady na jednotlivé skupiny. V poslední části jsem se zaměřil na samotný dopad neonikotinoidů na pavouky, a to v rámci několika čeledí s podrobnějším zaměřením na ekologii a dopad insekticidů na skupinu, do níž druh *Phylloneta impressa* patří.

#### 3.1 Pesticidy

Pesticidy by se daly nejlépe charakterizovat, jako chemické sloučeniny, které jsou určeny k usmrcení živočišných a rostlinných škůdců. Podle cílové skupiny, vůči níž jsou primárně určeny, rozeznáváme: insekticidy (mezi něž mohou patřit organofosfáty, organochloriny, nebo karbamáty) sloužící k hubení hmyzu *Insecta* Linnaeus, 1758; rodenticidy (antikoagulancia) cílené na hlodavce *Rodentia* Bowditch, 1821; herbicidy, jejichž cílem jsou rostliny *Plantae* Haeckel; fungicidy (například dithiokarbamáty) určené proti houbám *Fungi* Whittaker, 1959; a fumiganty, což jsou látky jedovaté zejména pro hmyz a hlístice *Nematoda* Rudolphi, 1808, ale i pro ostatní zvířata, člověka a rostliny (Abdollahi et al., 2004).

Jejich celosvětové rozšíření a hojné využívání v oblasti veřejného zdraví a zemědělských programech s sebou ovšem nese i řadu rizik spojených zejména s vážným znečištěním životního prostředí a ohrožením zdraví různých necílových organismů, včetně těžkých akutních i chronických otrav člověka (Abdollahi et al., 2004).

##### 3.1.1 Dělení pesticidů

Termín „pesticid“ je obecným pojmenováním zahrnujícím široké spektrum chemických látek. Ty můžeme dělit podle různých kritérií, jako je způsob užití, původ látek samotných, mechanismus působení, a tak dále. Níže je uveden seznam a stručný popis hlavních chemických skupin, které se mohou pod termínem pesticid skrývat.

##### Podle chemické struktury

Na základě chemické struktury rozdělujeme pesticidy do následujících skupin:

Aniliny

- Anilin, bezbarvá olejovitá kapalina, je významná látka z hlediska znečištění životního prostředí. Může být vytvářen synteticky, nebo získáván z přírodního zdroje z černouhelného dehtu. Životní prostředí pak aniliny ohrožují zejména, jako průmyslové odpady a metabolity transformace běžně používaných pesticidů (Wall et Rassi, 2001).

#### Azoly

- Azoly představují primární skupinu fungicidů. Rovněž jsou využívány ve zdravotnictví při léčbě onemocnění způsobených plísněmi rodu *Aspergillus*, jakožto jediná skupina látek působících proti plísním, již je možno využívat perorálně (van der Linden et al., 2011).

#### Fenoly

- Fenoly jsou látky běžně se vyskytující v přírodě, jakožto látky ochraňující rostliny před býložravci, mohou však být i produktem umělé syntézy. Obecně se jedná o organické sloučeniny blízké alkoholům, mají stejnou hydroxylovou skupinu „-OH“, avšak je vázána přímo na benzenové aromatické jádro (March, 1992).

#### Chloroorganické sloučeniny

- Organochlorinové insekticidy byly užívány hlavně v minulosti. Mnohé z nich, jako například nechvalně známé DDT, byly z trhu odstraněny v důsledku negativních dopadů na lidské zdraví a životní prostředí, ještě umocněných perzistencí těchto látek, některé (kupříkladu dicofol, endosulfan, nebo lindan) však jsou dodnes v omezeném množství využívány například v USA (<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/pyrethrins-and-pyrethroids>).

#### Karbamáty

- Jako karbamáty můžeme označit organické sloučeniny odvozené od kyseliny karbamové. Mohou však vznikat taktéž, jako meziprodukt při výrobě močoviny z amoniaku a oxidu uhličitého. Mezi karbamátové insekticidy patří aldikarb, karbofuran, fenoxycarb, karbaryl, ethionokarb a fenobukarb. Hmyz usmrcují tyto insekticidy reverzibilní inaktivací enzymu acetylcholinesterázy (Robert, 2002).

#### Morfoliny

- Morfoliny jsou bezbarvé látky, mající slabý zápach podobný amoniaku, či rybině. Do těla se mohou dostávat inhalací, ingescí, přes pokožku a oči, přičemž u lidí způsobují

podráždění sliznic a kašel, zatímco v případě zvířat byly zaznamenány i případy poškození jater a ledvin (<https://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0437.html>).

#### Organofosfáty

- Organofosfáty jsou insekticidy, které se využívají v zemědělství, domácnostech, na zahradách, ale i ve veterinárních přípravcích. Jejich mechanismus účinku spočívá v ovlivňování nervové soustavy hmyzu, toxické účinky těchto látek však působí na široké spektrum organismů, člověka nevyjímaje (některé druhy jsou dokonce hodnoceny jako vysoce toxické pro lidi). Z tohoto důvodu dochází v posledních letech k poklesu jejich užívání (<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/pyrethrins-and-pyrethroids>).

#### Sloučeniny arsenu

- Arsen se často vyskytuje v půdě a povrchových vodách, přičemž bylo prokázáno, že má nepříznivé účinky na lidské zdraví (Košutić et al., 2005). V 70. letech došlo k zákazu užívání pesticidů a herbicidů založených na anorganických sloučeninách arsenu, avšak organické sloučeniny byly ještě v roce 2010 široce využívány, a to zejména při pěstování bavlny a citrusů (Stolz et al., 2010).

#### Sloučeniny na bázi nikotinamidu

- Nikotinamid je ve vodě rozpustná forma vitamínu B3, která se do těla dostává dvěma způsoby. Tím prvním je potrava (zejména vejce, maso, ryby a houby). Druhým pak je metabolismus endogenního tryptofanu. Nikotinamid je klíčovou složkou metabolické dráhy podílející se na tvorbě NAD<sup>+</sup>, která se, v malém množství, běžně ukládá v játrech. Většina je buď vyloučena, nebo katabolizována, aby poskytla další klíčové metabolické produkty. Při předávkování, jehož je složité dosáhnout i při farmakologicky vysokých dávkách, však může působit hepatotoxicky (Fricker et al., 2018). Sledované neonicotinoidy spadají právě do této skupiny.

#### Syntetické pyrethroidy

- Pyrethryny a pyrethroidy jsou insekticidy, zahrnující více než 3 500 registrovaných produktů. Můžeme se s nimi setkat v přípravcích proti komárům, veterinárních přípravcích pro domácí mazlíčky, na ošetřených oděvech, nebo v zemědělství. Jejich užití se v posledních letech zvýšilo v souvislosti s poklesem užívání organofosfátů, neboť vykazují nižší akutní toxicitu pro savce a ptáky

(<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/pyrethrins-and-pyrethroids>).

## 3.2 Neonikotinoidy

Neonikotinoidy jsou jedinou velkou skupinou insekticidů, k jejímuž vývoji došlo v období uplynulých čtyřiceti let. V roce 2005 se celosvětová cena za jejich roční prodej pohybovala okolo jedné miliardy dolarů, což představovalo přibližně 11-15% celkového prodeje všech dostupných insekticidů. Jsou snadno vstřebatelné na rostlinách a vykazují rychlý účinek vůči hmyzům škůdcům a to i při malých dávkách. Aplikují se na semena, půdu nebo listy a následně se přes rostlinné systémy přesouvají do rostoucí špičky rostliny, kde poskytují dlouhodobou ochranu vůči bodavě savému hmyzu. Na rozdíl od ostatních insekticidů se rovněž využívají i v různých veterinárních prostředcích proti ektoparazitům, třebaže jejich hlavním využitím je a vždy bude ochrana plodin proti škůdcům (Tomizawa et Cassida, 2005).

### 3.2.1 Vznik

Současné organické insekticidy produkované synteticky, byly vytvořeny pomocí modifikací látek běžně se vyskytujících v prostředí, například pyretroidy byly syntetizovány z pyretrinu (přírodní organické sloučeniny se silným insekticidním účinkem vyskytující například v obalech semen), popřípadě prozkoumáním stovek tisíc strukturně různorodých sloučenin s cílem najít nové využití. V Číně se stále ve snížené míře využívá nikotin, jakožto okrajový insekticid, avšak snahy o vylepšení jeho insekticidních vlastností se neseťkaly s úspěchem (Tomizawa et Cassida, 2005).

V roce 1970 kalifornská společnost Shell Development Company objevila účinky sloučeniny 2-(dibromonitromethyl)-3-methylpyridin na mouchy domácí *Musca domestica* Linnaeus, 1758, a mšici kyjatku hrachovou *Acyrtosiphon pisum* (Harris, 1776), čímž započala vedoucí úloha neonikotinoidů a jejich postupný vývoj. V následujících letech se prováděly molekulární modifikace s cílem dosáhnout optimálního účinku vůči housenkám můry *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850), které vyústily ve vytvoření látky zvané nithiazin, kterážto ovšem nikdy nebyla komerčně vyráběna pro ochranu rostlin z důvodu fotoinstability (Tomizawa et Cassida, 2005).

K dalšímu průlomů ve vývoji došlo díky japonské společnosti Nihon Tokushu Noyaku Seizo, která připojila ke stávající látce chloropyridinylmethylovou skupinu, čímž došlo k vytvoření nitromethylenového prototypu, jenž vykazoval vynikající potenciál v boji proti

křískům *Nephotettix* Matsumura, 1902, avšak i v tomto případě fotoinstabilita zabránila komerčnímu využití v zemědělství (Tomizawa et Cassida, 2005).

Následující strukturální změny vedly ke zjištění, že dobrých výsledků je možné dosáhnout záměnou některých látek v rámci sloučeniny, kupříkladu nahrazením imidazolidinu thiazolidinem, oxadiazininem, případně acylovými protějšky, a chloropyridinylmethylu chlorothiazolylmethylem nebo tetrahydrofuranmethylem. Změna nitromethylenu na nitroguanidin nebo kyanoamidin následně poskytla fotostabilitu, což umožnilo produkci vysoce účinných sloučenin i v polních podmínkách (Tomizawa et Cassida, 2005).

Celý tento vývoj vedl k vytvoření a patentování současných neonikotinoidů. Ty následně lze rozdělit na heterocyklické: nithiazine (patentován: 1977), imidacloprid (patentován: 1985), thiacloprid (patentován: 1985) a thiamethoxam (patentován: 1992), a acyklické nithenpyram (patentován: 1988), actemapirid (patentován: 1989), clothianidin (patentován: 1989) a dinotefuran (patentován: 1994) (Tomizawa et Cassida, 2005).

### 3.2.2 Druhy neonikotinoidních pesticidů

Na základě složení, výrobců a cílové skupiny rozeznáváme obdobně, jako je tomu třeba u léků i různé druhy neonikotinoidních pesticidů s rozličnými obchodními názvy a využívané v odlišných částech světa. Níže je uveden seznam hlavních aktivních látek, na nichž jsou různé přípravky ze skupiny neonikotinoidů založeny (Elbert et al., 2008).

#### **Actemapirid**

Actemapirid je systémový insekticid určený pro aplikace do půdy i na rostlinný pokryv. Používá se zejména, jako ochrana plodin vůči skupinám Hemiptera Linnaeus, 1758, zvláště pak čeledi mšicovití Aphididae Latreille, 1802, třásnokřídlym Thysanoptera Haliday, 1836, a motýlům Lepidoptera Linnaeus, 1758, a to na širokém spektru zemědělsky využívaných rostlin, zvláště pak čajích, ovoci a zelenině. Účinkuje na centrální nervovou soustavu, kde způsobuje nevratnou blokadu postsynaptických nikotinergních acetylcholinových receptorů (Mateu-Sanchez et al., 2003).

#### **Clothianidin**

Clothianidin je pesticid, který se hojně využívá na polích brukve řepky *Brassica napus* a kukuřice seté *Zea mays*, a to ve formě přípravku ošetřujícího semena, nikoliv postřiku na vzrostlé rostliny. Zmíněná látka se používá na milionech hektarů polí pokrytých právě výše zmíněnými plodinami, kde slouží, jako ochrana hlavně proti časným „škůdcům“, jako jsou dřepčící *Phyllotreta* Stephens, 1836, naopak u včely medonosné *Apis mellifera* Linnaeus,

1758 či čalounice vojtěškové *Megachile rotundata* (Fabricius, 1784), jakožto významných opylovačů, nevykazuje žádné letální ani subletální účinky (Abbott et al., 2008; Cutler et al., 2014).

### **Cycloxaprid**

Cycloxaprid je poměrně nový typ neonikotinoиду vyvinutý v Číně, který je syntetizován reakcemi sukcinálddehydu a nitromethylenových analogů imidaclopridu. Efektivně kontroluje široké spektrum savého a kousavého hmyzu, jako jsou druhy mšice vojtěšková *Aphis craccivora* Koch, 1854, ostruhovník *Nilaparvata lugens* (Stål, 1854), nebo kupřikladu křísek *Nephotettix virescens* (Distant, 1908). Cycloxaprid je významný zejména svým účinkem vůči rezistentním druhům. Na základě bioanalýz bylo zjištěno, že například vůči druhu *N. lugens*, který vykazuje zvýšenou odolnost proti imidaclopridu, má cycloxaprid až 50 krát vyšší účinnost, než právě zmíněný imidacloprid (Cui et al., 2012).

### **Dinotefuran**

Dinotefuran je insekticid registrovaný a schválený v roce 2004, jakožto prostředek efektivní proti celé řadě druhů hmyzu. Je hojně využíván na pěstovaných plodinách zejména v Japonsku, odkud pochází, a kde se také jedná o nejvíce rozšířený pesticid (Uchigashima, 2012). Jedná se o rychle působící nitroguanidinový neonikotinoíd třetí generace, který působí na unikátní hmyzí acetylcholinový receptor účastnící se synapse hmyzího nervu a napodobující funkci neurotransmiteru. Využívá se rovněž i jako součást některých přípravků proti blechám Aphaniptera Kirby & Spence 1815, pro psy ve formě spot-on, kde ve spolupráci s permethrinem (syntetický pyretrin, který se váže na sodíkové kanálky na nervech a ponechává je trvale otevřené), způsobuje rychlou mortalitu dospělců a zabraňuje vajíčkům v líhnutí (Bouhsira et al., 2012).

### **Imidacloprid**

Imidacloprid byl vůbec první chlornikotynilový insekticid. Využívá se ve formě postřiků na vzrostlé rostliny i při ošetřování semen. Na trhu byl představen poprvé na počátku devadesátých let minulého století a nyní je široce využíván po celém světě k ochraně před škůdci na nepřeberném množství plodin. Slouží, jako všestranná, širokospektrální, systémová sloučenina, cílená proti sajícímu hmyzu, jako jsou například mšicovití Aphididae, molicovití Aleyrodidae Westwood, 1840, nebo křískovití Cicadellidae Latreille, 1802, a některým druhům brouků Coleoptera Linnaeus, 1758, dvoukřídlých Diptera Linnaeus, 1758, či motýlů Lepidoptera. Při běžně užívaných hodnotách však nemá žádný účinek pro fytofágní roztoče. Rovněž by měl vykazovat pouze nízkou toxicitu pro přirozené predátory cílových organismů, jako jsou pavouci Araneae, draví brouci (střevlíkovití Carabidae Latreille, 1802 a drabčikovití



Staphylinidae Latreille, 1802) a někteří predatorní polokřídli Hemiptera (hladěnkovití Anthocoridae Fieber, 1837, ploštickovití Lygaeidae Schilling, 1829, kněžicovití Pentatomidae Leach, 1815, a zákeřnicovití Reduviidae Latreille, 1807), avšak ukázalo se, že vůči dalším zástupcům těchto skupin naopak imidacloprid vykazuje velmi vysokou toxicitu. Podobně to platí i pro dravé roztoče z čeledi Phytoseiidae Berlese, 1916, mezi nimiž najdeme druhy vůči tomuto insekticidu tolerantní, jakožto druhy vnímavé. Pokud jde o jeho subletální účinek na přirozené nepřátele škůdců, bylo zaznamenáno snížené množství příjmu potravy (a tedy i pokles množství lovené kořisti) a změny pohybu (James et Price, 2002).

### **Nitenpyram**

Nitenpyram je dalším insekticidem, který se využívá i veterinárním lékařství, podobně, jako dinotefuran. Jeho princip účinku spočívá v tom, že se váže na nikotinové, acetylcholinové receptory a narušuje normální nervový přenos. V jeho případě se uvádí, že má nízkou toxicitu vůči savcům, ale naopak výrazně vysokou toxicitu vůči hmyzím škůdcům, včetně blech, proti nimž se využívá právě ve veterinární medicíně. Nitenpyram se snadno vstřebává do gastrointestinálního traktu a vrcholných plazmatických hladin dosahuje už za třicet minut (Rust et al., 2003). V zemědělství se nitenpyram využívá zejména na polích rýže seté *Oryza sativa*, kukuřice seté *Zea mays*, slunečnice *Helianthus*, brukve řepky *Brassica napus*, zeleniny a ovoce, a dosáhl zde uspokojivého účinku (Dong et al., 2014).

### **Nithiazine**

Nithiazine byl objeven společností Shell v roce 1978. Elektrofyziologické testy vazby radioligandu ukázaly, že nithiazine a příbuzné nitromethyleny cílí na nAChR hmyzu, přičemž v porovnání s imidaclopridem, vykazoval výrazně vyšší účinek vůči mouchám domácím a můrám *Helicoverpa zea* a naopak nižší toxicitu pro savce. Nithiazine však nebyl nikdy komerčně vyráběn pro užití při ošetřování polí, neboť vykazoval rychlý rozklad při hydrolytických a fotolytických podmínkách (Tian et al., 2014).

### **Thiacloprid**

Thiacloprid je druhým chlornikotynilovým insekticidem, který se nevyužívá pouze k boji proti škůdcům z řad savého hmyzu, jako jsou mšice, molice, nebo křísci, ale rovněž i proti broukům z nadčeledi Curculionoidea Latreille, 1802, a takzvanému „leaf-mining“ hmyzu, mezi který patří různé můry z řádu Lepidoptera, někteří širopasí blanokřídli Symphyta Gerstäcker, 1867, a mouchy z řádu Diptera (Yu et al., 2007). Thiacloprid je akutní jed působící, jak kontaktem, tak přijetím s potravou. Po vniku do organismu způsobuje systémové poruchy. Má příznivé vlastnosti ve vztahu k životnímu prostředí, jako krátký poločas rozpadu v půdě, a zároveň není tolik rizikový pro ptáky, ryby a užitečné bezobratlé. Zároveň umožňuje

aplikaci v období květu i pro rostliny atraktivní pro včely, protože vůči nim jsou v případě tohoto neonikotinoиду vytvořeny bezpečnostní pojistky. Obvykle se aplikuje pomocí postřiků na vzrostlé rostliny (Elbert et al., 2000).

### **Thiamethoxam**

Thiamethoxam je neonikotinoid druhé generace, který byl uveden na trh v roce 1998. Užívá se jak ve formě postřiků na rostliny, tak aplikací do půdy, popřípadě k ošetření semen před zasetím (Maienfisch et al., 2001). Je možné i použití aplikací přímo do stonku rostliny (Rancan et al., 2006). Jedná se o druhý nejprodávanější neonikotinoid na trhu, který by v roce 2009 využíván na 115 druzích kulturních plodin v rámci nejméně 65 zemí (Stoner et Eitzer, 2012). Využívá se proti hmyzu se sacím i kousacím ústním ústrojím, tedy zejména proti mšicím, molicím, třásnokřídlym, polokřídlym, broukům a tak podobně, který napadá široké spektrum plodin, jako jsou rýže, kukuřice, bavlník *Gossypium*, ovoce, mangovník *Mangifera* Linnaeus, a tak dále (Gupta et al., 2008). Obdobně, jako ostatní neonikotinoidy i thiamethoxam působí systémově na nikotinové acetylcholinové receptory, čímž způsobuje blokaci acetylcholinu a jeho nahromadění, což vede k paralyzaci hmyzu a případně i jeho smrti. Thiamethoxam je silně toxický vůči hmyzu, avšak vykazuje nízkou toxicitu vůči teplokrevným organismům, což je způsobeno právě mechanismem jeho účinku. Jeho vysoká toxicita se však nevyhýbá ani včelám, které jsou na některé neonikotinoidy zvláště citlivé, třebaže nejsou cíleným druhem. V jejich případě byla zaznamenána vysoká toxicita a s ní spojená mortalita při pozření a přímém kontaktu, avšak bylo pozorováno, že u včel nevzrůstá mortalita a nedochází ke změnám chování, intenzity létání, nebo zásobování úlu, pokud včely opylují rostliny vyrostlé z ošetřených semen (Rancan et al., 2006).

## Katalog dostupných neonikotinoidů v ČR

V následující tabulce je uveden seznam insekticidů, které se dají v České republice koupit k provedení postřiků (<https://www.agromanual.cz/cz/pripravky/insekticidy>).

Tabulka 1 – katalog neonikotinoidních insekticidů prodáváných v ČR

Katalog přípravků						
Přípravek	Formulace	Účinná látka (g)	Omezení	Ochranná pásma	Hořlavost	Hlavní plodiny
ACCEPTIR 200 SE	SE	Actemapirid (200)	Ryby (H410)	OP II.st.b	x	Jabloň, řepka olejka
ACTARA 25 WG	WG	Thiamethoxam (250)	Včely (SPe8.)	OP II.st.	x	Brambor, chmel, rajče
APIS 200 SE	SE	Actemapirid (200)	Ryby (H410)	OP II.st.b	x	Jabloň, řepka olejka
BISCAYA 240 OD	OD	Thiacloprid (240)	Člověk (Xn), ptáci a zvěř (NK)	x	III	Brambor, hořčice, řepka olejka
CALYPSO 480 SC	SC	Thiacloprid (480)	Člověk (Xn), ryby (Vo1c), ptáci a zvěř (PR)	x	IV	Jádroviny, peckoviny, brambor, řepka olejka
CAREO Combi Granulát	x	Actemapirid (40)	Včely (NK)	x	x	Okrasné rostliny
CAREO Combi Tyčinky	x	Actemapirid (40)	x	x	x	Okrasné rostliny
CAREO Postřik	x	Actemapirid (0.05)	x	x	x	Okrasné rostliny
COFENO	FS	Imidacloprid (375), Clothianidin (150)	Ryby (H410), ptáci (SPe5), zvěř (SPe6)	x	x	Cukrovka, řepa krmná
CONFIDOR 200 OD	OD	Imidacloprid (200)	Včely (SPe8.)	x	x	Okrasné rostliny, réva školky, podnožové vinice
CRUISER 350 FS	FS	Thiamethoxam (350)	Včely (SPe8.), ptáci (ZNP), zvěř (ZNO)	OP II.st.b	x	Ječmen, okurka, pšenice
CRUISER 70 WS	WS	Thiamethoxam (700)	Včely (SPe8.), ptáci (NK), zvěř (ZNO)	OP II.st.b	x	Cukrovka
DETER	x	Clothianidin (250)	Člověk (Xn), včely (SPe8.), ptáci (SPe6), zvěř (SPe5)	x	x	Ječmen, pšenice, tritikale, žito
GAUCHO 70 WS	WS	Imidacloprid (700)	Člověk (Xn), včely (SPe8.), ptáci a zvěř (NK)	x	x	Cukrovka, řepa krmná, salát
JANUS FORTE	FS	Beta-cyfluthrin (80), Imidacloprid (100), Clothianidin (100)	Ryby (H410), ptáci (SPe5), zvěř (SPe5)	x	x	Cukrovka, řepa krmná
JANUS FS 180	FS	Beta-cyfluthrin (80), Clothianidin (100)	Člověk (Xn), včely (NK), zvěř (ZNO)	x	x	Cukrovka, řepa krmná
MIDO 20 SL	SL	Imidacloprid (200)	Včely (SPe8.), ptáci a zvěř (NK)	OP II.st.a	x	Brambor, jabloň
MONCEREN G	x	Imidacloprid (120), Pencycuron (250)	Ptáci a zvěř (NK)	x	x	Brambor
MOSPILAN 20 SP	SP	Actemapirid - 20%	Člověk (Xn), ptáci a zvěř (NK)	x	x	Řepka olejka, maliník, ostužník, jádroviny,

						peckoviny, obiloviny
NUPRID 600 FS (red)	FS	Imidacloprid (600)	Člověk (Xn), ptáci (SPe5), zvěř (SPe5)	x	x	Ječmen, pšenice
NUPRID 600 FS (white)	FS	Imidacloprid (600)	Člověk (Xn), ptáci (SPe5), zvěř (SPe5)	x	x	Cukrovka
PONCHO BETA FS 453,3	FS	Clothianidin (400), Beta-cyfluthrin (53,3)	Člověk (Xn), včely (NK), zvěř (No)	x	x	Cukrovka, řepa krmná
PONCHO EXPERT FS 525	FS	Imidacloprid (375), Clothianidin (150)	Ryby (H410), ptáci (SPe5), zvěř (SPe6)	OP II.st.b	x	Cukrovka, řepa krmná
PROTEUS 110 OD	OD	Thiacloprid (100), Deltamethrin (10)	Člověk (Xn), ptáci a zvěř (NK)	x	x	Brambor, hrách, hořčice, řepka olejka, oves, pšenice, mák
SONIDO	FS	Thiacloprid (400)	Ryby (H410), ptáci (SPe5), zvěř (SPe5)	x	x	Kukuřice
SUBSTRAL CAREO ULTRA	AL	Actemapirid (0.05)	Ptáci a zvěř (NK)	x	x	Jablň, hrušeň, okrasné rostliny, paprika, baklažán, rajče, salát, slivoň, třešeň
WARRANT 700 WG	WG	Imidacloprid - 70%	Člověk (Xn), včely a ryby (J), ptáci a zvěř (NH)	OP II.st.a	x	Chmel, jablň, vinná réva, okrasné rostliny

**Formulace:** **AL** - Kapalina k aplikaci bez ředění, **FS** - Kapalný suspenzní koncentrát pro moření osiva, **OD** - Olejová disperze, **SC** - Suspenzní koncentrát, **SE** - Suspo emulze, **SL** - Rozpustný koncentrát, **SP** - Ve vodě rozpustný prášek, **WG** - Ve vodě dispergovatelné granule, **WS** - Ve vodě dispergovatelný prášek pro polosuché moření osiva

**Omezení:** **Člověk: Xn** - Zdraví škodlivý; **Ptáci: NH** – Nehodnoceno, **NK** - Nevyžaduje klasifikaci, **PR** - Riziko vzplývající z použití přípravku je při dodržení návodu na použití a správné aplikaci pro ptáky přijatelné. Označení účinku na ptáky uvedené do souladu s § 42 odst. 4 zákona č. 326/2004 Sb., který nabyl účinnosti dne 31. 05. 2004, **SPe5** - Za účelem ochrany ptáků přípravek zcela zapravte do půdy; zajistěte, aby přípravek byl na koncích výsevních nebo výsadbových řádků zcela zapraven do půdy, **SPe6** - Za účelem ochrany ptáků rozsypaný přípravek odstraňte, **ZNP** - Přípravek je zvláště nebezpečný pro ptáky; **Ryby: H410** - Vysoce toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky, **J** - Jedovatý pro ryby a ostatní vodní organismy, **Vo1c** - Přípravek je pro ryby škodlivý; **Včely: J** - Pro včely jedovatý, **NK** - Nevyžaduje klasifikaci, **SPe8** - Zvláště nebezpečný pro včely. Za účelem ochrany včel a jiných hmyzích opylovačů, neaplikovat na kvetoucí rostliny. Neaplikovat, jestliže se na pozemku vyskytují kvetoucí plevel. Použití se řídí vyhláškou 327/2004 Sb; **Zvěř: NH** – Nehodnoceno, **NK** - Nevyžaduje klasifikaci, **No** - Přípravek je pro zvěř nebezpečný, **PR** - Riziko vzplývající z použití přípravku je při dodržení návodu na použití a správné aplikaci pro zvěř přijatelné. Označení účinku na zvěř uvedené do souladu s § 42 odst. 4 zákona č. 326/2004 Sb., který nabyl účinnosti dne 31. 05. 2004, **SPe5** - Za účelem ochrany suchozemských obratlovců přípravek zcela zapravte do půdy; zajistěte, aby přípravek byl na koncích výsevních nebo výsadbových řádků zcela zapraven do půdy, **SPe6** - Za účelem ochrany suchozemských obratlovců rozsypaný přípravek odstraňte, **ZNO** - Přípravek je pro zvěř zvláště nebezpečný.

**Ochranná pásma:** **OP II.st.** - Přípravek je vyloučen z použití v ochranném pásmu II. stupně zdrojů podzemní a povrchové vody, **OP II.st.a** - Přípravek je vyloučen z použití v ochranném pásmu II. stupně zdrojů povrchové vody, **OP II.st.b** - Přípravek je vyloučen z použití v ochranném pásmu II. stupně zdrojů podzemní vody.

**Hořlavost:** **III** - Hořlavina 3. třídy nebezpečnosti, **IV** - Hořlavina 4. třídy nebezpečnosti

### 3.2.3 Toxikologie

Neonikotinoidy mají ve srovnání se staršími typy organických insekticidů unikátní fyzikální a toxikologické vlastnosti. Běžně mají nejnižší hodnotu log P (rozdělovací koeficient, který je jedním z klíčových parametrů při studování vztahů mezi chemickou strukturou látky a její biologickou aktivitou), což je v souladu s jejich obstojným vlivem na systémy rostlin společně s organofosfáty a methylkarbamáty, bez zvýšeného množství lipofilních organochlorinů a pyrethroidů. Neonikotinoidy a pyrethroidy mají vyšší selektivní vlastnosti zaměřené na hmyz a nejsou tak účinné na savce, alespoň v porovnání s organofosfáty, methylkarbamáty a organochloriny (Tomizawa et Cassida, 2005).

Toxicita neonikotinoidů u savců se považuje za zprostředkovanou centrálně, protože symptomy intoxikace jsou podobné otravě nikotinem. Schopnost otravy koreluje s agonistickým účinkem a vazebnou afinitou u obratlovců, přičemž primárním terčem je právě mozek. Chronické vystavení neonikotinoidním insekticidům a určitým metabolitům, stejně jako vystavení nikotinům, zvyšuje hladiny  $\alpha 4\beta 2$  nAChR bez změny citlivosti vazebného místa. Toto zvýšení je v buňkách iniciované interakcí insekticid-receptor. Neonikotinoidy a metabolity rovněž vyvolávají akutní intracelulární reakce a to zejména ve vztahu k integraci signálů v savčích buňkách. Kupříkladu u myši v neuroblastomových buňkách, může i nízká dávka těchto látek aktivovat kaskádu extracelulárně regulované proteinové kinázy a mobilizaci intracelulárního vápníku, což vede ke snížení neuronálních funkcí (Tomizawa et Cassida, 2005).

Pokud jde o ostatní skupiny organismů, komerčně vyráběné neonikotinoidy, bývají obzvlášť toxické pro ptáky *Aves* Linnaeus, 1758, a ryby *Osteichthyes* Huxley, 1880. Některé druhy pak bývají nebezpečné pro včely *Apis* Linnaeus, 1758, a to jak přímým pozřením insekticidu, tak pouhým kontaktem. Potenciální nežádoucí účinky však mohou být sníženy, či úplně potlačeny, ošetřováním pouze semen a neprováděním postřiků na dospělých rostlinách na polích (Tomizawa et Cassida, 2005).

Otrava neonikotinoidy se dá poznat podle typických symptomů. Kupříkladu u včel můžeme pozorovat třas a chvění, nekoordinované a nekontrolované pohyby, neschopnost správného držení těla a prodloužený frenetický pohyb a rotaci u včel ležících na zádech. V případě pozření vysokých dávek insekticidu následně může docházet i k extenzivnímu zvracení (Laurino, 2011). Otrava u člověka je doprovázena mimo jiné i pokusy o sebevraždu. Obecné příznaky otravy neonikotinoidy pak zahrnují ospalost, závratě, zvracení, dezorientaci

a horečky. Specifičtější symptomy následně souvisí se vstupní bránou, jíž se pesticidy do těla dostali (Kumar et Kumar, 2013).

V souvislosti s otravou člověka je známo několik případů, kdy došlo k intoxikaci látkou obsahující neonikotinoid imidacloprid. Následující dva poukazují na rozdíl mezi symptomy způsobenými různým způsobem průniku látky do organismu. První případ se týkal 69leté ženy, která pozřela produkt obsahující 9.6% imidacloprid, což u ní vedlo k vážnému poškození srdce. Žena si dále stěžovala na nadměrné pocení, zvracení a zrychlené dýchání a srdeční tep. Dvanáct hodin po expozici látky došlo k jejímu úmrtí. Druhý případ se týkal 24letého muže, který nešťastnou náhodou vdechl pesticid obsahující 17.8% imidacloprid při práci na farmě. Po expozici se u něho dostavila dezorientace, rozrušení, pocení, inkoherece a neschopnost dýchat (Kumar et Kumar, 2013).

### **Průběh intoxikace**

Intoxikace samotná, jak uvádí Kumar et Kumar, 2013, probíhá v těle ve čtyřech po sobě jdoucích krocích. Absorpce, distribuce, metabolismu a managementu. Průběh otravy byl studován v rámci experimentálního výzkumu na laboratorních potkaních a lidských buňkách, takže si můžeme udělat představu, jak taková otrava tělem postupuje a co způsobuje.

1. Absorpce: Po podání neonikotinoиду byla zaznamenána rychlá absorpce. Maximální plazmatické koncentrace bylo dosaženo už po 2,5 hodinách a následně docházelo k rychlému uvolňování látky do organismu. Zde je třeba zdůraznit, že při dermální expozici byla zaznamenána nízká absorpce v organismu, zatímco při kontaktu se střevními buňkami (testováno na lidských střevních buňkách) dochází k velmi rychlé absorpci a to s vysokým stupněm vstřebaných látek.
2. Distribuce: Pouhou hodinu po podání, při jediné orální dávce, byla testovaná látka detekována po celém těle pouze s výjimkou tukových buněk a centrálního nervového systému.
3. Metabolismus: Metabolismus probíhá rychle a rozsáhle s primárním centrem v játrech, která jsou schopna vyloučit pouze 10-16% procent absorbovaného množství. U savců dochází k metabolismu dvěma cestami. V první cestě se rozpadá oxidačním štěpením na kyselinu 6-chlornikotinovou a imidazolidin. Imidazolidin se posléze vylučuje močí, zatímco kyselina 6-chlornikotinová se podrobuje dalšímu metabolismu konjugací s glutathionem za vzniku kyseliny merkaptopnikotinové a kyseliny hippurové. Při druhé cestě se metabolizuje hydroxylací imidazolidinového prstence a produkuje 5-hydroxy a olefinové

deriváty. Díky patnácti potenciálním variacím v izoenzimech cytochromu P450 podílejících se na oxidativním imidaklopridovém metabolismu, může rovněž následně docházet i k variabilní toxicitě.

Management: Proti otravě neonikotinoidy u savců neexistují žádné léky. Na základě klinických zkušeností a dostupných studií je tedy prováděna pouze symptomatická a podpůrná péče nezbytná pro léčbu pacientů s akutní otravou imidaklopridem. Léčba oximy, jako je pralidoxim, by měla být podle předpokladu buď neúčinná, nebo kontraindikovaná.

## **Nežádoucí účinky**

Neonikotinoidní pesticidy se úspěšně používají ke kontrole škůdců na celé řadě nejrůznějších plodin využívaných v agrokultuře, nicméně mohou ovlivňovat i organismy, které ve skutečnosti jejich cílem být neměli. Obecně se pak takové vedlejší účinky dají rozdělit do dvou skupin, a sice účinky letální a účinky subletální (Blacquiere et al., 2012).

### **Letální účinky**

Letální účinky, tedy takové, které způsobují přímou mortalitu, se dále dají rozdělit na akutní a chronické. V případě akutních letálních účinků je určujícím údajem takzvaná LD50 („Lethal dose“ – smrtelná dávka), případně LC50 („Lethal concentration“ – smrtelná koncentrace), která bývá odlišná pro každý druh a udává množství či koncentraci, při níž uhynie 50% testovaných jedinců. Pro chronické letální účinky pak bývá, mimo množství či koncentrace, podstatným údajem délka a způsob expozice (Blacquiere et al., 2012).

### **Subletální účinky**

Přímé úmrtí však není jediným způsobem, jakým mohou pesticidy nežádoucím způsobem ovlivňovat organismy. Existuje i celá řada dopadů na organismus, které jedince sice nezabijí, avšak vedou k zásadním změnám jeho životních projevů a vlastností. Takzvané subletální efekty se mohou týkat reprodukčních schopností zasaženého organismu, kde může docházet ke snížení fekundity, fertility, změnám poměru pohlaví, nebo poruchám vývoje juvenilních jedinců (Desneux et al., 2007; Boina et al., 2009; Blacquiere et al., 2012). Dále mohou ovlivňovat schopnosti zasažených jedinců související se získáváním a příjmem potravy, jako je kupříkladu množství ulovené kořisti v případě predátorů, nebo zásobování kolonií u včel (Desneux et al., 2007; Řezáč et al., 2010; Tan et al., 2014). Ovlivněna může být i paměť a schopnost učit se (Desneux et al., 2007; El Hassani et al., 2008). Rovněž na pohyb jedinců mohou mít pesticidy zásadní vliv. Ať už se jedná o mobilitu samotnou, nebo schopnost

navigace a orientace v prostoru (Desneux et al., 2007). Obecně tak můžeme říct, že insekticidy mohou ovlivnit, jak fyzický stav daného jedince, tak i jeho chování.

### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na obratlovce**

Třebaže jsou neonikotinoidy primárně určeny pro boj s hmyzem, bylo zaznamenáno, že mohou negativně ovlivnit i celou řadu obratlovců Vertebrata Cuvier, 1812 (rybami počínaje a člověkem konče). V případě obratlovců se však nedá v žádném případě mluvit o žádoucím účinku a je tedy třeba dopad neonikotinoidů na tyto „vyšší“ skupiny živočichů bedlivě sledovat.

### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na vodní obratlovce**

Bylo prokázáno, že ve vodních ekosystémech může určité množství neonikotinoidů zůstat. V případě imidaclopridu se průměrná hodnota nasycení pohybuje okolo 0.016 µg/L, přičemž obvyklé maximum bývá 0.27 µg/L, což je hodnota, která je překročena jenom vzácně. Vyšších hodnot je dosaženo na rýžových polích, kde byla těsně po aplikaci zaznamenána koncentrace 240 µg/L, kterážto ovšem v rámci jednoho týdne poklesla na hodnotu 5 µg/L. Hodnoty clothianidinu se pohybují ve stojatých vodách od 0.5 do 3 µg/L. Ve vodách přilehlých k polím řepky pak byla naměřena průměrná koncentrace 0.14 µg/L a maximální zjištěná hodnota dosahovala úrovně 3.1 µg/L (Gibbons et al., 2015).

Když se tedy podíváme na hodnoty LC50 pro dva výše zmíněné neonikotinoidy u ryb Osteichthyes a obojživelníky Amphibia Linnaeus, 1758, pohybuje se tento ukazatel od 1,200 po 366,000 µg/L pro imidacloprid a od 94,000 do 117,000 µg/L v případě clothianidinu. Platí tak, že i v extrémních případech jsou koncentrace neonikotinoidů ve vodě o dva až sedm řádů nižší, než je hodnota LC50, z čehož vyplývá, že pro akutní toxicitu jsou hodnoty koncentrací příliš nízké a nemělo by tedy docházet k přímé mortalitě (Gibbons et al., 2015).

Pokud jde o subletální účinky, ryby vykazují vůči neonikotinoidům poměrně vysokou míru rezistence, přesto u nich byly zaznamenány změny při genové transkripci, poškození erytrocytů, rozpad gonadálních tkání, snížená schopnost plavání, degenerace notochordů a poruchy lokomoce u embryí a larev. V případě medaky japonské *Oryzias latipes* (Temminck & Schlegel, 1846), ryby žijící na tamních rýžových polích pak byla zaznamenána zvýšená míra stresu vedoucí k náchylnosti vůči ektoparazitům (Gibbons et al., 2015).



U obojživelníků byly pozorovány jisté změny chování při provádění experimentů. Kupříkladu při testování látky Parastar 40WP, což je insekticid obsahující imidacloprid, byly pozorovány abnormální reakce pulců ropuchy levhartí *Sclerophrys regularis* (Reuss, 1833) stupňující se při zvyšující se koncentraci pesticidu. Pulci byly prokazatelně aktivnější při plavání, než kontrolní skupina. Rovněž vyskakovali a všemožně se snažili uniknout z testovacích nádob (Nkontcheu et al., 2017).

Je však třeba uvést, že při cílených testech u žab nebyla prokázána toxicita způsobující poškození na úrovni DNA nebo erytrocytů, třebaže kvůli potenciálnímu letálnímu efektu, mohou být neonikotinoidy označeny, jako škodlivé látky pro vodní organismy, a to na základě direktiv Evropské Unie i klasifikace Spojených Národů (De Arcaute et al., 2014).

### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na suchozemské obratlovce**

V případě suchozemských obratlovců je expozice neonikotinoidů komplexnější, než tomu je u vodních živočichů. Možných způsobů expozice je totiž hned několik. Ke kontaktu s neonikotinoidy může docházet pozřením ošetřených semen; přes residua v plodinách a půdě; z kontaminované vody; z nedaleké vegetace, či bezobratlých; dermálním kontaktem způsobeným přímým postříkem, nebo střetem s ošetřeným terénem, inhalací, nebo i v případě ptáku z čištění peří. Koncentrace se následně liší, jak v rámci, tak i mezi jednotlivými typy těchto cest, a to na základě požadavků na stanoviště a pohybu mezi kontaminovanými a nekontaminovanými lokacemi (Gibbons et al., 2015).

Ze suchozemských druhů jsou neonikotinoidy ovlivňováni zejména zástupci ptáků a savců, včetně člověka, u nichž se můžeme krom akutní a chronické toxicity setkat i s různými subletálními efekty, jako je pokles růstu, vývoje, nebo různých reprodukčních parametrů. Na savcích, zejména pak myších a potkanech, však byly pozorovány i subletální účinky na genotoxické a cytotoxické úrovni, poruchy nervového systému u potomků zasažených jedinců, léze štítné žlázy, retinální atrofie, pokles pohybu, nebo zvýšená úzkost a strach. U ptáků pro změnu studie zaznamenaly neschopnost a nekoordinovanost letu způsobenou neonikotinoidy, poškození DNA a oslabení imunitní odpovědi (Gibbons et al., 2015).

V případě laboratorních potkanů *Rattus norvegicus* var. *Alba* platí, že pouhá jedna orální dávka 425-475 mg/kg imidaclopridu, případně 5000 mg/kg clothianidinu, způsobuje smrt. Nižší dávky 0.21-100 mg/kg či 18-66 mg/kg/den pak způsobují celou řadu subletálních efektů. Pro pokles růstu mladých potkanů byla naměřena jako dostačující dávka 10-19 mg/kg/den imidaclopridu, respektive 31 mg/kg/den clothianidinu. I opravdu nízké dávky však mohou způsobovat subletální účinky, jak dokládá pokles spermií a imunotoxický efekt,

k čemuž docházelo už při hodnotách 0.21 mg/kg/den imidaclopridu a 2 mg/kg/den clothianidinu (Gibbons et al., 2015).

Ptáci jsou vůči neonikotinoidům odolní méně, jak dokazuje fakt, že ke smrti vrabce domácího *Passer domesticus* (Linnaeus, 1758) dochází už při dávce 41 mg/kg imidaclopridu podané orálně, přičemž už dávka pouhých 6 mg/kg může způsobovat nekoordinovanost a neschopnost létat. Ještě toxičtější pak je imidacloprid pro křepelku japonskou *Coturnix japonica* Temminck & Schlegel, 1849, u níž byla LD50 stanovena na hodnotu 31 mg/kg a už při chronické expozici množství 1 mg/kg dochází k testikulárním anomáliím, poškození DNA samců a redukci velikosti embryí, pokud se tito samci spáří se samicemi z kontrolní skupiny (Gibbons et al., 2015).

### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na bezobratlé**

Bezobratlí Invertebrata jsou původně zamýšlenou cílovou skupinou pro pesticidy, je tak logické, že dopad na ně bude mnohem významnější než v případě obratlovců. I v rámci této skupiny se však mohou vyskytnout neplánované a nežádoucí dopady.

### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na pavoukovce**

V této části jsou uvedeny pouze dopady na pavoukovce (Arachnida) nespádající do řádu pavouků (Araneae). Pro bližší informace o pavoucích se odkazují na následující kapitulu, která se už věnuje pouze pavoukům.

Jak dokládají studie zaměřené na vliv neonikotinoidů na roztoče (Acari), mohou pesticidy v tomto případě působit přesně opačně, než by se očekávalo a naopak zvyšovat početnost populace, což problematické i v tom ohledu, že se neonikotiny hojně používají nejenom v zemědělství, ale i veterinární medicíně, jakožto součást přípravků ve formě spot-onů majících zajišťovat ochranu vůči parazitům (Pisa et al., 2015).

Kupříkladu bylo zjištěno, že subletální dávky imidaclopridu výrazně zvyšují množství vylíhnutých vajíček a životaschopnost svlušky chmelové *Tetranychus urticae* C. L. Koch, 1836 (Zeng et Wang, 2010; Pisa et al., 2015). V případě úroveň líhnutí pak činil maximální vypořádaný nárůst 95.23% při expozici 1.42 mg/L. Rovněž bylo zjištěno, že imidacloprid u tohoto druhu zvyšuje i délku života a fekunditu (nejvyššího nárůstu fekundity bylo dosaženo při dávkách 0.5778 mg/L imidaclopridu), což znamená, že krom zvýšeného množství vylíhnutých juvenilních jedinců z vajíček se zvyšuje i počet vajíček samotných. Pokud jde o letální toxicitu neonikotinoidu, nebyla zaznamenána žádná hodnota, při níž by k akutní toxicitě docházelo (Zeng et Wang, 2010).

Není to však pouze přímé působení na fekunditu svilušky chmelové, neonikotinoidy totiž potlačují funkci obranných genů rostlin (pozorováno u bavlny a rajčat) pomocí změn úrovně fytohormonů, čímž dochází k poklesu rezistence vůči sviluškám. Na ošetřených rostlinách ve skleníku došlo po přidání svilušek k nárůstu jejich populace od 30% po 100%, přičemž v polních podmínkách byl nárůst ještě větší a bylo zaznamenáno maximální navýšení populace až o 200% (Szczepaniec et al., 2011, Pisa et al., 2015).

### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na brouky**

Nežádoucí účinky neonikotinoidů na různé čeledi v rámci řádu brouků (Coleoptera) zaznamenala celá řada studií. Příkladem takových čeledí jsou zejména mršníkovití Histeridae Gyllenhal, 1808, střevlíkovití Carabidae a slunéčkovití Coccinellidae Latreille, 1807. Sledovat vliv neonikotinoidů právě na brouky je důležité z jednoho prostého důvodu. Celou řadu brouků, zejména pak střevlíků Carabidae a drabčků Staphylinidae, můžeme prohlásit za nenasytné predátory a tedy i živoucí prvek managementu ochrany proti škůdcům (Pisa et al., 2015).

Příkladem takového predatorního druhu, který je považován za potenciální ochranu řady plodin vůči škůdcům, je *Eriopis connexa* (Germar, 1824), příslušník čeledi Coccinellidae vyskytující se v neotropické oblasti. U tohoto druhu byl zaznamenán letální i subletální účinek insekticidů na bázi actemapiridu. Actemapirid v maximální doporučené polní koncentraci způsobuje u tohoto druhu 100% mortalitu vajíček, která po kontaktu s neonikotinoidem zčernají v rámci 48 hodin a na některých je patrná dehydratace. Rovněž při 50% koncentraci dochází k výrazně nižšímu líhnutí, oproti neošetřeným vajíčkům. Insekticidy však působí i na další vývojová stádia a při vyšších koncentracích pesticidu působícího na larvy, tak dochází k výraznému snížení počtu přeživších larev, které dosáhnou dospělosti. Při vyšších koncentracích dokonce dochází k akutní otravě, která vyúsťuje v mortalitu larev už do druhého dne. Actemapirid u tohoto druhu způsobují i poruchy reprodukce. Ty se týkají jedinců zasažených neonikotinoidem v období dospělosti, popřípadě larvy čtvrtého instaru, mladší larvy totiž kontakt obvykle nepřežívají. Zaznamenán byl pokles hodnot fekundity i fertility, a to i při velmi nízkých dávkách actemapiridu (Fogel et al., 2013).

U druhu úzkohrdlec přizpůsobený *Limodromus assimilis* (Paykull, 1790), což je přirozený nepřítel mnoha druhů škůdců kulturních plodin patřící do čeledi Carabidae, kterému byla experimentálně podávána potrava ošetřená thiamethoxamem, byl pro změnu zaznamenán pokles pohybových schopností. LD50 v jeho případě činila 0.1145 mg/kg, zde

je však třeba zmínit, že v rámci druhu existuje velká variabilita v odolnosti vůči pesticidům, protože už při množství 0.0011 mg/kg došlo k úhynu dvou jedinců ze 46 testovaných, zatímco pět jedinců dokázalo přežít dávku 1.0811 mg/kg. Pokud jde o již zmíněnou pohyblivost, tak ta byla u neošetřených jedinců naměřena do 0.1 do 0.3 m/min. Po podání 0.0108 mg/kg thiamethoxamu však došlo po 24 hodinách ke vzniku hypoaktivity. Brouci se začali pohybovat nefrekventovaně a ve velmi krátkých úsecích. Ve většině případů pak byla naměřena vzdálenost pohybující se od 0.01 do 0.05 m/min. Po ošetření neonikotinoidy byl u tohoto druhu zaznamenán i statisticky neprůkazný dlouhodobý pokles příjmu potravy, který by potenciálně mohl snížit fitness brouků, kupříkladu poklesem fekundity a délky života (Tooming et al., 2017).

U brouků je rovněž třeba mít na paměti, že jim může škodit i ošetření osiva, protože larvy řady druhů procházejí svým vývojem právě v půdě, přičemž účinek samotného ošetřování osiva je diskutabilní, neboť jak se ukázalo u výzkumu efektu pesticidů na vrubouna *Heteronychus arator* (Fabricius, 1775), považovaného za škůdce, k jeho odpuzování dochází až poté, co mu ošetřená rostlina poslouží, jako potrava a v každém případě tedy dojde k jejímu poškození (Drinkwater, 2003).

#### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na polokřídly hmyz**

Třebaže řada zástupců řádu polokřídlych (Hemiptera) je považována za problematické škůdce v zemědělství, nezanedbatelné množství příslušníků tohoto řádu zastává i roli důležitých predátorů právě těchto škůdců. Těm taktéž čas od času slouží některé rostlinné tkáně, v nichž mohou být obsaženy neonikotinoidy, jako součást potravy a tudíž pro ně pesticidy představují potenciální nebezpečí (Pisa et al., 2015).

Příkladem takového druhu je hladěnka *Orius laevigatus* (Fieber, 1860), u které byla stanovena LC50 imidaclopridu na hodnotu 0.04 mg AI/l v případě nymf a 0.3 mg AI/l u dospělců. Na druhu *Hyaliodes vitripennis* (Say, 1832) byl pro změnu pozorován účinek thiaclopridu a thiamethoxamu. LC50 thiaclopridu činila 1.5 mg AI/l u nymf a 0.3 mg AI/l u dospělců. Thiamethoxam pak vykazoval LC50 1.43 mg AI/l u nymf a 0.5 mg AI/l u dospělců. Dalším druhem je hlavěnka *Geocoris punctipes* (Say, 1832), který prokázal citlivost vůči imidaclopridu, u něhož LC50 představovala 5.18 mg AI/l a thiamethoxamu, kde LC50 byla rovna 2.17 mg AI/l. Stejně neonikotinoidy pak působily i na další druh hladěnky *Orius* Wolff, 1811, a sice druh *Orius insidiosus* (Say, 1832). LC50 u tohoto druhu činila v případě imidaclopridu 2.78 mg AI/l, zatímco u thiamethoxamu 1.67 mg AI/l (Pisa et al., 2015).

## Nežádoucí účinky neonikotinoidů na včely

Asi nejlépe zdokumentovaným příkladem druhu, který je neonikotinoidy ovlivněn třebaže není cílovým organismem, je včela medonosná *Apis mellifera*, avšak níže uvedené symptomy se stahují i na další blanokřídlé označované anglickým termínem „bee“. První studie na toto téma se objevila už v roce 1992 a k roku 2012 bylo zpracováno sto dalších prací a přibližně 1500 citací (Blacquiere et al., 2012). Nežádoucí účinky na včely prokazatelně mají insekticidy založené na aktivních látkách clothianidin, imidacloprid a thiacloprid, u kterého se uvádí, že by měl být šetrný vůči životnímu prostředí a mít bezpečnostní pojistky proti nežádoucímu vlivu právě na včely (Fischer et al., 2014).

Při ošetření imidaclopridem byla zjištěna podstatně kratší vzdálenost doletu při zásobování úlu, zatímco při použití thiaclopridu jejich dolet naopak vzrostl, pokud však jde o orientaci a schopnost vrátit se do úlu stejnou cestou, jako kontrolní skupina, tak včely ošetřené těmito látkami byly méně úspěšné v hledání a dosažení úlu. Skupina ošetřená clothianidinem pak nevykazovala žádné signifikantní rozdíly v letu, ani schopnosti návratu do úlu ve srovnání s kontrolní skupinou (Fischer et al., 2014).

Neonikotinoidy mohou rovněž navyšovat mortalitu včel a to jak dospělců, tak juvenilních jedinců ve vztahu k infekcím. Bylo prokázáno, že thiacloprid, pokud je včelou pozřen v běžně subletální dávce, způsobuje vysokou mortalitu, jsou-li larvy včel oslabeny infekcí BQCV („Black queen cell virus“ – virus černání matečnicků), vůči níž jsou v nižších dávkách rezistentní. Se zvyšujícím množstvím viru se pak zvyšuje i efekt synergicky působícího pesticidu. Zvýšená mortalita se rovněž vyskytovala u dospělých včel infikovaných hmyzomokou *Nosema ceranae* Fries et al., 1996, pokud byly vystaveny působení subletální dávky thiaclopridu. Rovněž bylo prokázáno, že imidacloprid a clothianidin způsobují sníženou funkci regulačního faktoru NF- $\kappa$ B, který kontroluje antivirovou obranu včel (Doublet et al., 2015).

K mortalitě však může docházet i přímo akutní toxicitou. To je však něco, co se velmi obtížně testuje kvůli závislosti na sloučenině, vysoké variabilitě včel, různým účinkům v závislosti na typu expozice, a tak dále. Kupříkladu LD50 imidaclopridu při kontaktu se pohybuje od 7.8 ng/včela do více než 242 ng/včela. Při přímém pozření se pak LD50 pohybuje v intervalu od 3.8 ng/včela po více než 81 ng/včela. Na akutní toxicitě se rovněž může podepsat věk včely, poddruh, roční období, výživa, nebo fyziologický stav. Platí tedy, že pesticidy mohou způsobit mortalitu včel přímou otravou, nedá se však přesně určit, jaká dávka pesticidu, obecně vzato, je ještě bezpečná a jaká už smrtící (Fairbrother et al., 2014).

Neonikotinoidy rovněž ovlivňují rozmnožování včel. Při studii, která porovnávala ošetřené úly o různých počtech (1500, 3000 a 7000) s neošetřenou kontrolou, byl kupříkladu zaznamenán pokles nakladených vajíček včelí královnou (druhu *Apis mellifera*). V ošetřených úlech, na které byl použit insekticid obsahující neonikotinoid imidacloprid, byl zaznamenán pokles nakladených vajíček za dobu 15 minut o 35-65% (Wu-Smart et Spivak, 2016). U samotářské včely zednice rezavé *Osmia bicornis* (Linnaeus, 1758), vystavené nízkým, ale dlouhodobým dávkám clothianidinu a thiamethoxamu (méně než 3,5 µg/kg), nebyly zaznamenány žádné efekty na exponované včely, avšak ukázalo se, že pesticidy negativně ovlivňují fitness F1 generace. Včely pocházející z takových hnízd, byly po dosažení dospělosti schopny vytvořit méně vlastních hnízd a v rámci každého z nich i méně buněk určených pro naklazení vajíčka. Jejich produkce následně poklesla zhruba o 50%. Docházelo rovněž ke změně poměru pohlaví. V běžných „zdravých“ podmínkách by se mělo líhnout více než 50% samic, po vystavení pesticidů však došlo k nárůstu počtu samců, což vedlo k celkovému snížení reprodukčního potenciálu (Sandrock et al., 2014).

#### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na ostatní blanokřídlé**

V rámci řádu Hymenoptera mohou neonikotinoidy ovlivňovat i jiné druhy než včely, samotářské včely a čmeláky. Několik studií se proto zaměřilo na výzkum vlivu neonikotinoidních pesticidů na „parazitické vosy“, které jsou vnímány, jako organismy biologické kontroly a tedy i významní predátoři řady druhů považovaných za škůdce (Pisa et al., 2015).

Příkladem takové studie je testování vlivů imidaclopridu na druhu *Microplitis croceipes* (Cresson, 1872), příslušníku čeledi lumčíkovití Braconidae Latreille, 1829 (Alyokhin et al., 2010), který se specializuje na lov housenek můry *Helicoverpa* Hardwick, 1965 (Wackers et Lewis, 1994). Tato studie prokázala, že testovaná látka (vstřeba ná inhalováním) může významně ovlivnit chování související s vyhledáváním potravy a to u 35±3% testovaných jedinců. Ovlivněn byl i samotný příjem potravy, kdy se prokázalo, že v přítomnosti vyšších koncentrací neonikotinoidu odmítají testovaní lumčici přijímat předkládaný med (Alyokhin et al., 2010).

Dalším takovým druhem je *Anagyrus pseudococci* (Girault, 1915), zástupce čeledi poskočilkovití Encyrtidae Walker, 1837, na němž byl rovněž testován imidacloprid. V jeho případě ošetření proběhlo pomocí aplikace do půdy, v níž se pěstovala živná rostlina pohanka obecná *Fagopyrum esculentum* Moench. Pozření nektaru z takto ošetřených rostlin následně způsobovalo u zasažených jedinců třas a mortalitu. První den po ošetření přežilo pouhých

38% testovaných jedinců, přičemž v neošetřené skupině přežilo 98%. Experiment byl ukončen po sedmi dnech, kdy mortalita v ošetřené skupině dosáhla 100%, zatímco v neošetřené stále bylo 57% přeživších jedinců (Krishik et al., 2007; Pisa et al., 2015).

Neonikotinoidy mohou ovlivňovat i mravence Formicidae Latreille, 1809, spadající do téhož řádu. V jejich případě se sice většinou jedná o cílené užití v řadě přípravků proti hmyzu v domácnostech, nicméně používání méně koncentrovaných agrochemických dávek, může představovat riziko i pro necílové mravence, jako je kupříkladu druh *Acromyrmex subterraneus* (Forel, 1893), na němž byl při kontaktu s imidaclopridem zaznamenán pokles očištěného chování, které je v jeho případě nezbytné, jakožto ochrana proti patogenním houbám, jako jsou kupříkladu zástupci rodu *Beauveria* Vuill (1912). Rovněž se ukázalo, že subletální dávky neonikotinoidů mohu ovlivnit i mezidruhové interakce mravenců, jak dokládá výzkum druhu *Monomorium antarcticum* (Smith, 1858), u něhož v oblastech jeho původního výskytu docházelo k poklesu agrese vůči invazivním mravencům argentinským *Linepithema humile* (Mayr, 1868), což vedlo ke snížení schopnosti přežití původního druhu (Pisa et al., 2015).

#### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na motýly**

V porovnání se včelami je stanovení vlivu neonikotinoidů, či pesticidů obecně, na motýly (Lepidopter) poněkud složitější, a to zejména proto, že motýly zemědělství ovlivňuje celou řadou dalších činností, jako je například aplikace hnojiv, nebo jednotvárnost krajiny způsobená tvorbou širokých lánů kulturních plodin. Přesto existují zmínky o mortalitě způsobené pesticidy, jako kupříkladu incident z roku 1980, kdy byly prováděny postřiky vinic v Německu (Mosel Valley) pomocí helikoptéry, což téměř vedlo k vyhubení izolovaných populací jasoně červenookého *Parnassius apollo* (Linnaeus, 1758), nebo příklad ze severní Itálie, kde došlo, v důsledku intenzivních postřiků v tamních ovocných sadech, k decimaci motýlích populací, která vedla k vymizení všech druhů s výjimkou největších generalistů. Rovněž se ukázalo, že residua pesticidů, která zůstávají v půdě po provedení postřiků, negativně ovlivňují larvy a kukly mūr, které se během jara nacházejí v horních vrstvách půdy (Pisa et al., 2015).

Neonikotinoidy mohou mít vliv kupříkladu na délku stádia kukly, jak dokládá studie provedená na housenkách bělásky zelného *Pieris brassicae* (Linnaeus, 1758), u něhož došlo po podání imidaclopridu ke zkrácení délky tohoto vývojového stádia, což vedlo i ke zmenšení velikosti dospělých motýlů, zejména pokud se jedná o přední křídla, která byla citelně menší. Takovéto poruchy vývoje jsou u motýlů významné zejména z toho důvodu, že jejich velikost

přímo koreluje s fitness. Platí, že větší jedinci mají obvykle větší reprodukční úspěch (Whitehorn et al., 2018).

Bělásek zelný dozajista není druhem motýla, kterého by zemědělci toužili ochraňovat, protože je považován za škůdce, trochu odlišný příklad však představuje další druh, na nějž mají neonikotinoidy prokazatelně negativní vliv, a sice danaus stěhovavý *Danaus plexippus* (Linnaeus, 1758), mezi laickou veřejností známý spíše, jako monarcha stěhovavý. Motýl proslulý svou migrací napříč severní Amerikou, jehož hnízdiště v Mexiku patří od roku 2008 ke světovému dědictví UNESCO (<http://whc.unesco.org/en/list/1290>). Nežádoucí účinky neonikotinoidů na tento druh byly pozorovány převážně u mladých housenek při kontaktu s látkou clothianidin, která vyvolávala letální i subletální účinky už v množství s jakým se běžně můžeme setkat na polích. Housenky se s clothianidinem nejčastěji střetávají na rostlinách klejichy *Asclepias* sousedících s kukuřičnými poli, klejicha je totiž jejich typická živná rostlina. U zasažených jedinců dochází ke snížení velikosti (menší jedinci jsou náchylnější k predaci a mohou snadněji podléhat vlivu dalších stresorů) a vysokým stupňům mortality. Kupříkladu v Brookings County byla zaznamenána mortalita mladých jedinců před líhnutím, či krátce po něm, 50-80%. U mladých danaů je sice vyšší mortalita běžná, avšak kontakt s neonikotinoidy ji ještě zvyšuje. Pokud jde o letální dávku LD50, která se běžně pohybuje u necílového hmyzu v rozmezí od 0.0037 mg/kg po 0.081 mg/kg, tak ta u těchto motýlů dosahuje hodnoty 0.025 mg/kg, nicméně snížení velikosti housenek bylo zaznamenáno už při hodnotě 0.004 mg/kg (Pecenka et Lundgren, 2015).

#### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na síťokřídle**

Síťokřídle (Neuroptera) jsou považováni za skupinu hmyzu, kterážto je prospěšná v zemědělství, jsou dalším řádem, kterému mohou neonikotinoidy škodit. V jejich případě se však nejedná pouze o produkty používané na polích, jak dokazuje studie, při níž se testoval účinek přípravku Marathon 1% G, což je pesticid využívány pro ochranu amatérsky pěstovaných květin, jehož účinnou látkou je imidacloprid. Jeho účinky byly zkoušeny na zlatoočkách *Chrysopa* Leach, 1815, u nichž bylo po 10 dnech testu zjištěno, že na neošetřených rostlinách přežívá 79% dospělých zlatooček, zatímco v případě ošetřených rostlin se podařilo přežít pouhým 14% zlatooček (Pisa et al., 2015).

S výjimkou rodu *Chrysopa* z tohoto řádu mohou neonikotinoidy působit i na zástupce dalších rodů. Kupříkladu z rodu *Chrysoperla* Steinmann, 1964, můžeme jmenovat zlatoočko obecné *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836). Tento druh je široce rozšířeným biokontrolním organismem v agroekosystémech i sklenících, který se v dospělosti živí nektarem, zatímco



jeho larvy jsou považovány za nenasytné predátory živící se motýlími vajíčky, roztoči, cikádami Cicadellidae, nebo mšicemi. Pro zlatoočko obecné představují vážný problém neonikotinoidy imidacloprid a thiamethoxam, neboť o obou můžeme prohlásit, že jsou pro ně vysoce toxické. Kupříkladu stádium vajíčka je, v případě tohoto druhu, vůči pesticidům nejvíce tolerantní, přesto thiamethoxam může způsobit vysokou mortalitu. U vajíček byla LC50 thiamethoxamu stanovena na hodnotu 1.9 µg AI/L, v případě pozdějších vývojových stádií je však odolnost podstatně menší. Imidacloprid je pro změnu vysoce toxický pro larvální stádium. Aplikace 120-250 g AI/ha způsobuje 40% mortalitu larev. Při polních aplikacích bylo rovněž zjištěno, že LC50 thiamethoxamu a imidacloprid má podstatně nižší hodnotu, než jaká je doporučena pro užití na rostliny, což je 0.3 kg/l/ha (Ayubi et al., 2013).

### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na žížaly**

Když se oprostíme od hmyzu, nalezneme mezi bezobratlými i další skupiny živočichů, na něž mohou mít neonikotinoidy neblahý vliv. Příkladem takových organismů budiž kroužkovci z čeledi žížalovití (Lumbricidae) (Pisa et al., 2015).

Žížaly jsou životně důležitými členy půdní fauny a to zejména na zemědělských půdách, kde mohou představovat až 80% celkové biomasy organismů. Hrají zásadní roli v rozvoji a udržování fyzikálních, chemických a biologických vlastností půdy. Jejich aktivity zlepšují strukturu půdy tím, že zvyšují pórovitost a provzdušňování, usnadňují tvorbu agregátů a snižují zhutnění. Žížaly rovněž obohacují plodnost půdy působením na biogeochemický cyklus, modifikací mikrobiální biomasy, rozkladem opadaných částí rostlin a mícháním „opadanky“ s půdou samotnou. Jsou tedy velmi významnou a ve své podstatě nenahraditelnou složkou edafonu, nezbytnou pro úrodnost zemědělské půdy (Pisa et al., 2015).

Žížala hnojní *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) představuje významný modelový organismus při studiu ekologických rizik způsobených toxickými látkami uniknuvšími do půdního ekosystému, proto byla vybraná i jako testovací organismus při studiu neonikotinoidů, konkrétně: acetamipridu, clothianidinu, imidaclopridu, nitenpyramu a thiaclopridu. Ukázalo se, že neonikotinoidy ovlivňují žížaly na letální i subletální úrovni. V případě clothianidinu můžeme dokonce říct, že je pro žížaly vysoce toxický, jak naznačuje letální koncentrace LC50, která činila hodnotu 0.93 mg/kg. Pořadí akutní toxicity na základě LC50 jednotlivých neonikotinoidů, pak vypadalo následovně: clothianidin (0.93 mg/kg) > thiacloprid (2.68 mg/kg) > acetamiprid (2.69 mg/kg) > imidacloprid (3.05 mg/kg) > nitenpyram (4.34 mg/kg); (Wang et al., 2015).

Na úrovni subletálních účinků se pak můžeme setkat se změnami v oblasti chování, růstu, reprodukce a organizační struktury žížal, přičemž nejcitlivější se jeví být vlastnosti týkající se rozmnožování (Wang et al., 2015). Při kontaktu s imidaclopridem a thiaclopridem už při nízkých dávkách (0.5 mg/kg) bylo zaznamenáno poškození spermií, pokles tvorby kokonů a jejich líhnutí. Při vyšších dávkách imidaclopridu (0.5-1.0 mg/kg) byl následně zaznamenán pokles váhy jednotlivých žížal a snížení jejich aktivity v oblasti hrabání chodbiček (Wang et al., 2015). Redukce populační velikosti a biomasy, tedy pokles váhy a tvorby a líhnutí kokonů, však není doménou pouze pěti výše uvedených neonikotinoidů, byla rovněž zaznamenána u přípravku Actara 25WG, jehož hlavní aktivní látkou je thiamethoxam (Garczyńska et al., 2018).

### **Nežádoucí účinky na vodní bezobratlé**

#### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na sladkovodní bezobratlé**

Vodní bezobratlí jsou extrémně důležitým prvkem vodních ekosystémů, v nichž zastávají úlohu dekompozitorů, spásáčů, odstraňovačů sedimentů, parazitů a predátorů. Rovněž představují významnou složku potravy pro obratlovce asociované s vodou. Vůči pesticidům jsou vodní organismy poměrně citlivé. Do kontaktu s neonikotinoidy a dalšími pesticidy se mohou dostat různými cestami, ale hlavní příčinou je zanášení větrem po aplikaci různými postřikovači z přilehlých polí, povrchovým odtokem a průsakem kontaminovaných podzemních vod. Hlavním problémem pro ně je, že na rozdíl od suchozemských bezobratlých se nemohou tak snadno přesunout do nekontaminovaného prostředí a tedy předejít vystavování se toxické látce, obzvlášť když jsou pesticidy rozpustné ve vodě. K průniku pesticidů do jejich organismu dochází obvykle inhalací (přes žábry či průdušnici), požitím, skrz epidermis (Pisa et al., 2015).

Jednou z hlavních skupin vodních organismů, na nichž byl vliv neonikotinoidů zaznamenán jsou korýši Crustacea Brünnich, 1772 (Beketov et Liess, 2008; Barbee et Stout, 2009; Pisa et al., 2015). Zde mohou být ovlivněni menší druhy, jako jsou zástupci řádů různonožci Amphipoda Latreille, 1816, a stejnonožci Isopoda Latreille, 1817, jehož zástupci povětšinou slouží, jako testovací organismy pro studium různých ekologických znečištění (Beketov et Liess, 2008; Pisa et al., 2015), ale i větší druhy spadající do řádu desetinožců Decapoda Latreille, 1802 (Barbee et Stout, 2009).

Příkladem zástupce řádu Amphipoda je blešivec obecný *Gammarus pulex* (Linnaeus, 1758), což je vodní detritovor, který hraje klíčovou roli při rozkladu nečistot ve vodním

prostředí (Agatz et al., 2014). *G. pulex* obecně patří mezi odolnější organismy vůči toxickým vlivům, jeho LC50 při vystavení thiaclopridu představovala 50.1 µg/L, že v rámci stejného experimentu byl testován i chrostík *Notidobia ciliaris* (Linnaeus, 1761), v jehož případě LC50 představovala hodnota 1.1 µg/L (Beketov et Liess, 2008). Zajímavý u tohoto druhu je zejména fakt, že s rostoucím znečištěním vody se zvyšuje i hodnota LC50 v rámci různých populací téhož druhu (Shahid et al., 2018). I přesto však mohou neonikotinoidy v jeho případě způsobovat kromě přímé mortality při vysokých dávkách i subletální efekty, jako je kupříkladu snížení množství přijímané potravy, což prokázal experiment, během něhož byli blešivci po čtrnáct dní vystavováni imidaclopridu (Nyman et al., 2013).

V rámci skupiny Isopoda byly prováděny testy na vliv imidaclopridu na berušce vodní *Asellus aquaticus* (Linnaeus, 1758) (Lukančič et al., 2010). Jedná se o živočicha, který se ve vysokých počtech vyskytuje v silněji organicky znečištěných vodách. Jsou taktéž běžné v poměrně čistých vodách v místech s vysokou úrovní přirozeně se vyskytujících organických látek. Co je ale důležité, vykazují relativní toleranci k epizodám sníženého množství kyslíku a nízkého pH. Rovněž vykazují střední citlivost vůči různým látkám, včetně kovů jsou tak vhodným druhem pro studium toxicity (Moldovan et al., 2001). Při testech na vliv neonikotinoidů vykazoval druh *A. aquaticus* u thiaclopridu podobnou míru odolnosti, jako výše zmíněný druh *G. pulex* (Beketov et Liess, 2008), u imidaclopridu pak LC50 činila 10.4 mg/L (Lukančič et al., 2010), v případě thiamethoxamu byla naměřena hodnota 2.3 mg/L (Finnegan et al., 2017). Thiacloprid rovněž snižuje míru přijímání potravy u berušky vodní, nicméně nebyl zaznamenán vliv tohoto poklesu na přežívání nebo růst zasažených jedinců (Barmantlo et al., 2018).

Menší odolnost vůči neonikotinoidům pak vykazuje výrazně větší zástupce korýšů rak červený *Procambarus clarkii* (Girard, 1852). V Louisianě, kde byl výzkum prováděn, jsou právě tyto raci součástí dvouletého rotačního systému, ve kterém se na rýžových polích v prvním roce pěstuje rýže setá *Oryza sativa* a během následujícího jara se zde chovají právě tyto raci. Problém tohoto systému ovšem spočívá v tom, že rýže je ošetřena pesticidy, které následně zasáhnou jako necílový organismus i raky mající některé podobné vlastnosti s hmyzem, proti němuž tato ochrana slouží. V této souvislosti byla tedy testována odolnost raků červených vůči třem neonikotinoidům, a sice clothianidinu, dinotefuranu a thiamethoxamu, které byly zvažovány jako alternativy do té doby používaných pyretroidů, s ohledem na vyšší odolnost korýšů vůči neonikotinoidům (uvedenou v předchozích dvou odstavcích). Ukázalo se však, že co platí pro ostatní korýše, nemusí nutně platit pro raky. Clothianidin byl na základě výsledků označen jako velmi vysoce toxický, třebaže jeho akutní

toxicita (LC50: 50 µg/L) byla o dva řády nižší, než v případě pyretroidů. Thiamethoxam byl ještě o řád níže (LC50: 967 µg/L) a tedy označen, jako vysoce toxický a dinotefuran o další řád níže (LC50: 2032 µg/L) a označen za středně toxický. U raků však dochází i k výraznějšímu dopadu na úrovni subletálních účinků, jako jsou různé behaviorální abnormality. Kupříkladu při koncentraci 500-700 µg/L thiamethoxamu dochází u raků červených ke zvýšení agresivity, která následně vede k úbytku populace až o 80% v důsledku střetů a následného kanibalismu (podobná zvýšená agrese byla zaznamenána i u včel vystavených subletálními dávkami thiamethoxamu) (Barbee et Stout, 2009).

Neonikotinoidy mohou znamenat problém i pro, pro řadu druhů nezbytný, zooplankton. Negativní účinky byly při testech zaznamenány kupříkladu na vířnících Rotifera Cuvier, 1817, perloočkách Cladocera Latreille, 1829, a klanonožcích Copepoda Milne-Edwards, 1840 (Sumon et al., 2018). Dobře zdokumentované jsou účinky na zástupce podřádu perlooček hrotnatku velkou *Daphnia magna* Straus, 1820. V případě actemapiridu byl při dávkách 100 mg/l pozorován pokles pohybových schopností, jako je kupříkladu rychlost plavání, kde byl v porovnání s kontrolní skupinou zaznamenán poměrně vysoký rozdíl, kdy kontrolní skupina vykazovala rychlost  $4.98 \pm 0.5$  cm/s, zatímco u ošetřené skupiny bylo naměřeno  $1.06 \pm 0.6$  cm/s, a to už pouhé dvě hodiny po expozici. Při stejné dávce neonikotinoidy po dvou hodinách docházelo i k poklesu aktivity hrudních končetin na hodnotu  $204 \pm 46$  bpm, přičemž kontrolní skupina vykazovala hodnotu  $357 \pm 25$  bpm. Zde je však třeba mít na paměti, že LC50 při expozici o délce 48 hodin činí 49.8 mg/l (Bownik et al.). Na zooplankton rovněž působí i další neonikotinoidy, jako například imidacloprid (Hayasaka et al., 2012; Hayasaka et al., 2013), clothianidin (Hayasaka et al., 2013), nebo thiacloprid (Beketov et Liess, 2008). Actemapirid samotný je pro něj pak hodnocen, jako středně toxický (Bownik et al.).

Ohrožení mohou být taktéž sladkovodní měkkýši. Mortalita způsobená neonikotinoidy byla zaznamenána kupříkladu u okružáka *Planorbella pilsbryi* F. C. Baker, 1926, a velevruba *Lampsilis fasciola* C. S. Rafinesque, 1820. V případě *P. pilsbryi* bylo zaznamenáno, že dávky vyšší nebo rovné hodnotě 4000 µg/L clothianidinu, imidaclopridu a thiamethoxamu v rámci sedmi dní způsobují 50% mortalitu juvenilních jedinců, přičemž clothianidin a imidacloprid jsou agresivnější a jejich LC50 činí 4000.3 µg/L, respektive 3984.5 µg/L, zatímco thiamethoxam vykazuje LC50 při hodnotě 6195 µg/L. U *L. fasciola* byl poté pozorován pokles životaschopnosti glochidií. Testován byl vliv 1000 µg/L imidaclopridu a thiamethoxamu a 500 µg/L actemapiridu, clothianidinu, dinotefuranu a thiaclopridu. Při těchto koncentracích následně byly zaznamenány tyto hodnoty: imidacloprid – pokles

životaschopnosti o 6.4%, thiamethoxam – pokles životaschopnosti o 2.7%, actemapirid – pokles životaschopnosti o 4.3%, clothianidin pokles životaschopnosti o 5.6%, dinotefuran – pokles životaschopnosti o 0.03% a thiacloprid – pokles životaschopnosti o 2.9%. Mimo přímou mortalitu byly zaznamenány i rozdíly v produkci biomasy a růstu zasažených jedinců, u nichž docházelo k poklesu hodnot těchto dvou významných ukazatelů a to po kontaktu s imidaclopridem (EC50 biomasa: 22,7 µg/L; EC50 růst: 29 µg/L), clothianidinem (EC50 biomasa: 41,5 µg/L; EC50 růst: 42 µg/L) a thiamethoxamem (EC50 biomasa: 14,1 µg/L; EC50 růst: 145.8 µg/L) (Prosser et al., 2016).

Také v rámci hmyzu se můžeme setkat s řadou druhů asociovaných s vodou, které se mohou stát obětí neonikotinoidů, třebaže nejsou organismem, proti němuž bylo užití pesticidů zamýšleno. Mezi takové můžeme řadit například jepice Ephemeroptera Hyatt & Arms, 1891 (Alexander et al., 2007; Roessink et al., 2013), u kterých dochází k přímé mortalitě i subletální efektům, při nižších dávkách neonikotinoidů. Přímá mortalita v kontaktu s imidaclopridem byla pozorována u raných i pozdních instarů larev, kde LC50 při 24 hodinové expozici činilo  $2.1 \pm 0.8$  µg/L u raných instarů a  $2.1 \pm 0.5$  µg/L v případě pozdních instarů. Subletálně se vliv imidaclopridu projevoval ve formě snížení množství přijímané potravy a to, v některých případech, i při hodnotách 0.1 µg/L, kdy sice nedocházelo k okamžitému účinku, ale po třech až čtyřech dnech expozice byl pokles úrovně množství potravy zaznamenán, obecně však platí, že spodní hranice poklesu příjmu potravy je po 96 hodinách při hodnotě 0.5 µg/L. S ohledem na to, že jepice přijímají potravu pouze ve stádiu larvy, znamená pro ně pokles příjmu potravy vážný problém, jež může v lepším případě vyústit v redukci velikosti v dospělosti a v horších případech šanci na přežití nebo rozmnožení zasažených jedinců (Alexander et al., 2007).

Dalším skupinu hmyzu, která alespoň část svého života prožívá ve vodě a je ohrožena vlivem neonikotinoidních pesticidů představují vážky Odonata Fabricius, 1793. Příkladem druhů z tohoto řádu pak mohou být vážka žíhaná *Sympetrum striolatum* (Charpentier, 1840), u které bylo zaznamenána LC50 47.57 µg/L při 96 hodinové expozici thiaclopridu (Beketov et Liess, 2008), nebo šidélko *Ischnura senegalensis* (Rambur, 1842), které patří obecně k odolnějším druhům, pro které větší riziko představují karbamáty, i přesto u něho byl zaznamenán vliv thiamethoxamu (nejméně toxický), nitenpyramu, dinotefuranu, acetamipridu, thiaclopridu, clothianidinu, a imidaclopridu (Sugita et al., 2018).

Necílovými zasaženými organismy mohou být i zástupci řádu dvoukřídlých Diptera, jako je například muchnička *Simulium vittatum* Zetterstedt, 1838, u níž bylo zaznamenáno LC50 imidaclopridu pohybující se v intervalu od 6.74 µg/L do 9.45 µg/L (Overmyer, 2005).

Ze stejného řádu můžeme jmenovat i pakomára *Chironomus riparius* Meigen, 1804, jehož LC50 vykazuje hodnotu 12.94 µg/L. V *C. riparius* se rovněž vyskytují subletální účinky imidaclopridu ve formě snížené schopnosti pohybu, popřípadě poklesu růstu, a to už při hodnotě 2.15 µg/L, což následně vede ke zhoršení fitness jednotlivců a poklesu početnosti populace, jako takové (Azevedo-Pereira, 2011). Taktéž u koretry *Chaoborus obscuripes* (van der Wulp, 1859) může docházet k mortalitě vlivem imidaclopridu, přičemž LC50 chronické expozice (28 dní) představuje 12.6 µg/L (Roessink et al., 2013).

### **Nežádoucí účinky neonikotinoidů na mořské bezobratlé**

Pokud jde o mořské a pobřežní druhy bezobratlých, existují pouze omezené zdroje informací a standardizovaná environmentální toxikologie se zaměřuje pouze na několik málo druhů, které jako modely představují klíčovou složku organismů obývajících tyto ekosystémy. Přesto nelze tuto skupinu úplně vynechat, protože i na její zástupce neonikotinoidy působí a nedostatek podkladů na tomto téma může být důsledkem neexistence monitorování a sledování neonikotinoidního znečištění v mořských a pobřežních stanovištích a nikoliv toho, že by k takovému znečištění nedocházelo (Pisa et al., 2015).

Jedna z prvních studií na toto téma, byla prováděna na krevetách *Americamysis bahia* (Molenock, 1969), které jsou rozšířeny v pobřežních pásmech mořských vod USA a Mexického zálivu. Na tomto druhu bylo při užití imidaclopridu stanoveno LC50 po 96 hodinové expozici na hodnotě 0.0341 mg/kg, přičemž mortalita prvních jedinců byla zaznamenána už při koncentraci 0.0133 mg/kg. Maximální přijatelná koncentrace toxické látky pro efekty na růst představovala 0.000000023 mg/kg a pro efekt na reprodukční vlastnosti nabývala hodnoty 0.000000643 mg/kg (Pisa et al., 2015).

V rámci kmene členovců Arthropoda Latreille, 1829, byl účinek neonikotinoidů sledován ještě na žábbronožkách *Artemia* Leach, 1819, komárech *Aedes taeniohynchus* Wiedemann, 1821, a na krabech modrých *Callinectes sapidus* Rathbun, 1896. LC50 při 48 hodinové expozici představovalo v případě žábbronožek 361 mg/l, zatímco v případě komárů při stejné délce expozice se hodnota LC50 zastavila na hodnotě 0.013 mg/kg a při délce expozice 72 hodin na hodnotě 0.021 mg/kg (v případě komára byl výzkum prováděn na raných larválních stádiích). Poslední testovaný druh, krab modrý, vykazoval dva rozdílné výsledky na základě vývojového stádia, přičemž se ukázalo, že jeho postlarvální stádium („megalopae“) je více odolné vůči toxicitě neonikotinoidů, než jsou juvenilní jedinci. Hodnota LC50 pro „megalopae“ dosáhla při 24 hodinové expozici hodnoty 0.01 mg/kg, zatímco u juvenilních jedinců LC50 činila 0.0011 mg/kg při stejně dlouhé expozici (Pisa et al., 2015).

Pokud jde o ostatní mořské bezobratlé, tedy ty nespádající do kmene Arthropoda, jsou informace ještě víc omezené než v předchozích případech. Přesto existují studie prováděné na několika druzích mořských měkkýšů, které mohou poskytnout alespoň rámcový pohled na problematiku neonikotinoidů na úrovni jejich taxonomické skupiny. Jako příklad takového druhu si můžeme uvést slávku středomořskou *Mytilus galloprovincialis* J. B. Lamarck, 1819 (Dondero et al., 2010; Pisa et al., 2015).

### **3.2.4 Rezistence vůči neonikotinoidům**

První zaznamenaný příklad rezistence vůči neonikotinoidním pesticidům byl publikován v roce 1996 a popisoval nízkou efektivitu pesticidů založených na látce imidacloprid vůči molici bavlníkové *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889). Od té doby už se objevilo více než 500 dalších prací upozorňujících na možné problémy s vznikající rezistencí vůči těmto pesticidům (Bass et al., 2015).

Rezistence se však nevždy týká striktně celého druhu. Může být založena na regionálních vlivech a v takovém případě jí disponují pouze určité kmeny v rámci druhu. Vysokou míru rezistence vůči neonikotinoidům vykazují štěnice domácí *Cimex lectularius* Linnaeus, 1758, v jejichž případě byla rezistence vůči insekticidům založeným na aktivních látkách acetamiprid, imidacloprid a thiomethoxam, zaznamenána v roce 2016. Ve Spojených státech amerických, kde byla prováděna studie týkající se rezistence, vykazovaly štěnice odolnost vůči řadě produktů založených na kombinaci pyretroid-neonikotinoid, jejichž základem jsou právě tyto aktivní látky. Byla rovněž zaznamenána rezistence vůči diontefuranu v kombinaci s křemelinou (sypká hornina většinou tvořená opálovými schránkami rozsivek). Odolnost vůči neonikotinoidům se však lišila v závislosti na regionu. V Jersey City byly štěnice vnímavé k imidaclopridu a thiamethoxamu, zatímco vykazovaly středně silnou rezistenci vůči acetamipridu a dinotefuranu. Naproti tomu dvě populace v Cincinnati a Michiganu byly rezistentní vůči všem těmto látkám, třebaže na různých úrovních. Variace odolnosti vůči neonikotinoidům by mohla vycházet z pozadí detoxikačních enzymů, které si daný kmen štěnic vytvořil na základě kontaktu s předchozími použitými insekticidy, různými metabolickými dráhami, jimiž každý neonikotinoid podléhá, typu rezistenčního mechanismu jednotlivých kmenů, a intenzivní selekcí spojenou s neonikotinoidy (Romero et Anderson, 2016).

### **Druhy rezistentní vůči neonikotinoidům**

Krom již výše zmíněných druhů *Bemisia tabaci* a *Cimex lectularius* se můžeme s rezistencí setkat u celé řady dalších druhů z nejrůznějších končin našeho světa, u nichž rovněž můžeme pozorovat i regionální variabilitu v rezistenci.

Příkladem rezistentního druhu může být třásněnka *Frankliniella fusca* (Hinds, 1902), která napadá bavlníkové plantáže, kde způsobuje škody na sazenicích. V roce 2012 se v deltě Mississippi prováděly postřiky sazenic bavlny na ochranu právě proti tomuto druhu třásněnky pomocí thiamethoxamu, avšak v zimě mezi roky 2012 a 2013 se ukázalo, že výsledek takového ošetření jsou velmi slabé. Na základě toho byl proveden výzkum, který zaznamenal výskyt hned několika polních populací v rámci regionu označovaného, jako „Mid-South“ (západní Tennessee, severní Mississippi, jižní Missouri, západní Kentucky, střední, severovýchodní a severozápadní Arkansas a severozápadní Alabama), které vykazovaly zvýšenou odolnost vůči thiamethoxamu a imidaclopridu. Celkově se snížená vnímavost vyskytovala u 65% sesbíraných vzorků, přičemž sběr byl prováděn na 86 různých lokalitách v rámci deseti států spadajících do regionu „Mid-South“ a východního Texasu (Huseth et al., 2016).

### **3.3 Vliv neonikotinoidů na pavouky**

Jak bylo uvedeno v předchozí kapitole, pavouci jsou klíčovým druhem v regulaci populací nejrůznějšího hmyzu, který je z hlediska zemědělství hodnocen, jako škůdce. Proto je potenciálně významný i vliv neonikotinoidů na ně a to jak v rovině přímé toxicity, tak subletálních efektů, protože pavouci se v minulosti ukázali být vnímaví, na řadu rozličných pesticidů, zejména pak pyretroidů, organofosfátů a karbamátů (Tahir et al., 2016).

#### **Obecné informace o pavoucích**

Pavouci Araneae, představují jedny z nejvýznamnějších a nejzajímavějších, přesto však málokdy pochopených, živočichů na naší planetě. Jak uvádí Kůrka et al., 2015, pavouci patří do kmene Arthropoda Latreille, 1829, a podkmene Chelicerata Heymons, 1901, kde jsou řazeni do třídy Arachnida. V rámci této třídy v současnosti rozeznáváme šestnáct řádů, z nichž čtyři vyhynuly na konci paleozoika. Řád Araneae se od ostatních příbuzných liší přítomností snovacích bradavek, na nichž ústí snovací žlázy, jedovou žlázou ústící na chelicerách a faktem, že opistosoma a prosoma je spojeno pouze štíhlou stopkou.

V současnosti je známo a popsáno více než 47 000 druhů (na základě World Spider Catalog (2018) k datu 1. 8. 2018 činil počet 47 648) pavouků řazených do zhruba 4 095 rodů



a 117 čeledí, z toho 875 druhů a 39 čeledí bylo zaznamenáno i na našem území. Velikost těla se u nich pohybuje v rozmezí 0,4 do 100 mm, přičemž naše druhy se pohybují v intervalu od 1 do 35 mm (Kůrka et al., 2015).

Naprostá většina pavouků je označována za predátory. Výjimku tvoří druh skákavka *Bagheera kiplingi* Peckham & Peckham, 1896, v jehož případě byl prozkoumán obsah jeho trávicí soustavy a bylo zjištěno, že jeho potrava je tvořena výhradně rostlinnou složkou (Herbstein, 2011; Ruiz a Edwards, 2013). S tímto faktem souvisí i tvorba sítí, které většina pavouků využívá k lovu, úkrytu a uložení získané potravy.

### 3.3.1 Dopad na nejvýznamnější čeledi

V rámci řádu pavouků bylo v průběhu let na vliv různých druhů neonikotinoidů testováno hned několik čeledí. Dopad ne jednotlivé skupiny se následně projevoval, jak na úrovni přímé mortality, tak i subletálních efektů.

#### Čeď pokoutníkovi Agelenidae

Čeď pokoutníkovi zahrnuje vzácně malé, většinou však středně velké až velké druhy pavouků (obvykle v intervalu od 10 do 18 mm). Ve volné přírodě na ně můžeme narazit od nížin po horské oblasti, kde obývají zastíněná i otevřená stanoviště s různými úrovněmi vlhkosti. Rovněž bývají běžným druhem v lidských obydlích, kde si dělají síť v prostorech mezi nábytkem a stěnou, a na různých umělých stanovištích. V přírodě preferují úkryty pod kůrou, ve štěrbinách skal, pod kameny a tak dále. Jejich horizontální plachtovitá síť je typická nálevkovitým úkrytem ve tvaru rourky, v níž se pavouk zdržuje, a která povětšinou bývá situována ve středu sítě a slouží pavoukům, jako úniková cesta do bezpečí. Některé druhy v rámci čeledi pak vytvářejí pouze pavučiny, které umísťují pod kůru či kameny, nebo obývají nory, kterou jsou pavučinou pouze zpevněné, obdobně, jako tomu je u některých druhů zemních sklípkanů Mygalomorphae Pocock, 1892. Poněkud odlišnější pak jsou punčoškáři - rody *Coelotes* Blackwall, 1841, a *Inermocoelotes* Ovtchinnikov, 1999, kteří mají kratší nohy v poměru k tělu, než ostatní pokoutníci a odlišnosti ve způsobu života, jako je krmení mláďat, nebo tvorba úkrytů ve tvaru rourky v zemi (Kůrka et al., 2015). Na světě rozeznáváme v současné době 80 rodů, které zahrnují 1288 druhů (World Spider Catalog (2018) k datu 20. 9. 2018), z toho 13 druhů spadajících do osmi rodů, bylo zaznamenáno do roku 2015 i na území České republiky (Kůrka et al., 2015).

Z čeledi Agelenidae byl na vliv imidaclopridu na mortalitu testován druh pokoutník stepní *Eratigena agrestis* (Walckenaer, 1802) (Gaver et Hansen, 2005), což je jeden z druhů

pokoutníka známých i z našeho území, třebaže v rámci ČR není příliš hojným druhem (Kůrka et al., 2015). V této studii byly testovány rozdíly v senzitivitě na pesticidy cyfluthrin (syntetický pyretroid), fipronil (fenylpyrazol běžně používaný v přípravcích proti parazitům) a imidacloprid. Jak naznačují výsledky, jsou pokoutníci poměrně odolní vůči neonikotinoidům, neboť v případě imidaclopridu byl zaznamenán nejnižší nárůst mortality. Ošetření bylo prováděno postřikem půdy, sítě a přímým postřikem pavouka, přičemž v případě samic vzrostla mortalita jen v případě postřiku půdy a to o pouhých 33% a teprve po třech dnech expozice. Naproti tomu u samců se prokázala výrazně větší náchylnost. Při postřiku půdy byla zaznamenána 33% mortalita po jednom, respektive dvou dnech. Třetí den již bylo dosaženo 100% úmrtnosti. V případě postřiku sítě, pak docházelo k mortalitě ještě rychleji, 33% bylo dosaženo už po jedné hodině, po třech hodinách činila mortalita 66% a 100% dosáhla už po dvou dnech. Ještě agresivnější imidacloprid byl při přímém kontaktu, kdy byla po hodině zaznamenána 33% mortalita, ale už po šesti hodinách se vyšplhala na 100% (Gaver et Hansen, 2005).

### **Čeď křiřákovití Araneidae**

Křiřákovití Araneidae Simon, 1895 jsou čeledí, která zahrnuje malé až středně velké druhy pavouků, přičemž samci obvykle dosahují menší velikosti, než samice. Obvykle osidlují otevřená a zastíněná stanoviště od nížin až po horské oblasti. Řada druhů se rovněž příležitostně stahuje do lidských obydlí. Pokud jde o stupeň vlhkosti, křiřáci obývají jak vlhké, tak suché biotopy, kde staví sítě na bylinách, keřích, stromech i na skalách. Podmínkou je vhodná struktura stanoviště, která musí zajistit, že pavouk může napnout síť. Typické pro tuto čeď jsou kruhové, které u většiny druhů bývají vertikálně asymetrické s centrální částí nad geometrickým středem. Síť má však v rámci čeledi řadu modifikací. Jejich kořistí obvykle bývají dvoukřídle, blanokřídle a motýli, mohou však ulovit i rovnokřídle Orthoptera Latreille, 1793, a další létající hmyz. Síť k lovu obvykle využívají samice a mláďata, protože dospělí samci síť opouštějí a vydávají se hledat samice (Kůrka et al., 2015). V rámci čeledi rozeznáváme v současnosti 174 rodů, které zahrnují přibližně 3130 druhů (World Spider Catalog (2018) k datu 22. 9. 2018), z toho 44 druhů, zahrnutých v 18 rodech, bylo zaznamenáno do roku 2015 na našem území (Kůrka et al., 2015).

Na křiřácích, konkrétně na druhu *Parawixia audax* (Blackwall, 1863), byl zkoumán účinek insekticidu nazývaného Geonex, což je pesticid vytvářený z kombinace neonikotinoиду thiamethoxamu a syntetického pyretroиду lambda-cyhalothrinu. Cílem studie bylo posoudit, jaký má tento insekticid vliv na schopnost tvorby sítě. První rozdíl byl zaznamenán už

v samotném trvání tvorby sítě, kdy pavouci z kontrolní skupiny vytvořili síť už za 24 hodin, zatímco jedincům vystaveným insekticidu tato činnost trvala přibližně o 48 hodin déle. Prodloužení délky však nebylo jediným nedostatkem, odlišný byl i tvar výsledného díla. Síť pavouků exponovaných insekticidu měla nepravidelnou strukturu a postrádala typická spirálovitá vlákna (Benamú et al., 2017).

### **Čeľad' plachetnatkovití Linyphiidae**

Čeľad' Linyphiidae Blackwall, 1859 zahrnuje převážně malé až drobné druhy pavouků, kteří se vyskytují od nížin až vysoko do hor. Obývají otevřené i zastíněné biotopy s různou úrovní vlhkosti od xerothermních až po mokřadní. Výjimečně se s nimi můžeme setkat i na narušených a umělých lokalitách. Vytvářejí si většinou vodorovné sítě, které mají tvar husté plachetky, nad níž jsou natažena lepkavá vlákna plnící úlohu opory sítě (slouží jako trámy). Pavouci se obvykle drží pod plachetkou, zavěšení hřbetní stranou dolů, čas od času se však mohou zdržovat i v úkrytu poblíž sítě. Drobné druhy povětšinou obývají detrit a spadané listí, zatímco ty větší si sprádají síť na bylinách, keřích a stromech (Kůrka et al., 2015). Na světě rozeznáváme 608 rodů těchto pavouků, do nichž se řadí 4568 druhů (World Spider Catalog (2018) k datu 29. 9. 2018), přičemž do roku 2015 bylo 309 druhů zaznamenáno i v České republice, což z této čeledi činí druhově nejbohatší skupinu pavouků na našem území (Kůrka et al., 2015).

Vliv neonikotinoidů na plachetnatky byl zkoumán víceméně okrajově při studii cílené na účinek imidaclopridu a clothianidinu na mšici zhoubnou *Diuraphis noxia* (Kurdjumov, 1913). Při tomto experimentu byl sledován i vliv neonikotinoidů na predátory právě těchto mšic, mezi něž patřil i druh pavučenka plachetnatková *Hylyphantes graminicola* (Sundevall, 1830). Výzkum samotný probíhal porovnáváním ošetřených a neošetřených lokalit a bylo zjištěno, že při dávce 3.6 g AI/kg insekticidů vpravených na semena, zůstává celkové množství pavouků neměnné (nedochází tedy k přímé mortalitě), avšak srovnání sledovaných a kontrolních stanovišť ukázalo signifikantní rozdíl v množství ulovené kořisti a tedy příjmu potravy (Zhang et al., 2016).

### **Čeľad' slíd'ákovití Lycosidae**

Slíd'ákovití Lycosidae Sundevall, 1833 představují čeľad' malých až výrazně velkých pavouků (od 4 po 35 mm), kteří se vyskytují ve volné krajině od nížin po horské oblasti, kde obývají otevřené i zastíněné biotopy s různými úrovněmi vlhkosti. Mohou obývat suchá stanoviště, jakož i extrémně vlhká, přičemž některé druhy se pohybují i po vodní hladině. Loví převážně

na půdním povrchu, kde na svou kořist číhají. Většinou jsou aktivní přes den, i když některé druhy se v denních hodinách skrývají v norách nebo pod kameny a vylézají až za soumraku. Síť jim slouží k budování hnízd, tvorbě kokonů, nebo zpevnění nory, lapací sítě sloužící k lovu si příslušníci této čeledi netkají. Typická je pro ně i péče o potomstvo (Kůrka et al., 2015). Celosvětově se slíďák dělí do 2419 druhů rozřazených do 124 rodů (World Spider Catalog (2018) k datu 18. 9. 2018), přičemž 64 druhů v rámci 11 druhů bylo do roku 2015 zaznamenáno i na našem území (Kůrka et al., 2015).

Vliv neonikotinoidů na slíďáky byl testován kupříkladu na druhu *Pardosa sumatrana* (Thorell, 1890), který obývá široké spektrum stanovišť od pouští po lesy a od nížin po horské oblasti. Zároveň byl v testované oblasti (pákistánská část Paňdžábu) považován za nejběžnější druh. Testována pak v tomto případě byla potenciální rezistence vůči imidaclopridu, vycházející z výskytu detoxifikačních enzymů. Pavouci byli vystaveni expozici doporučené polní koncentrace imidaclopridu po dobu jedné hodiny a následně se studovala jejich mortalita. Úmrtí pavouků bylo kontrolováno každé čtyři hodiny, přičemž LT50 (doba potřebná pro úhyn 50% jedinců) se rovnala 14.98 hodinám, LT95 pak bylo dosaženo po 29.05 hodinách, přičemž po sledovaných 24 hodinách dosáhla mortalita pavouk 93%, zatímco v neošetřené skupině k žádné mortalitě nedošlo. Pokud jde o samotný vliv detoxifikačních enzymů, respektive sledované glutathion-S-transferázy, ukázalo se, že se podílí na rozkladu pesticidů, avšak nezapojují se do degradace pyretroidů a neonikotinoidů (Tahir et al., 2016).

### **Čeľad' paslíďákovití Oxyopidae**

Čeľad' paslíďákovití Oxyopidae Thorell, 1870 zahrnuje malé až středně velké pavouky, jejichž délka těla se obvykle pohybuje od 4 po 14 mm, přičemž samci obvykle dosahují menších rozměrů, než samice. Většina druhů obývá tropické oblasti, přičemž jeden jediný druh, paslíďák keřový *Oxyopes ramosus* (Martini & Goeze, 1778), se vyskytuje i na našem území. K lovu nepoužívají síť. Svou kořist loví aktivně na bylinách, keřích a stromech, kde na ni nejprve číhají a posléze se k ní připlíží a zmocní se jí krátkým skokem. Kokony zaplétají mezi byliny, nebo větvičky stromů či keřů a samice je následně střeží (Kůrka et al., 2015). V rámci světa rozeznáváme 9 rodů, do nichž se řadí 457 druhů (World Spider Catalog (2018) k datu 26. 9. 2018).

Vliv neonikotinoidů byl zkoumán na druhu *Oxyopes javanus* Thorell, 1887, a to konkrétně přípravkem confidor, jehož hlavní účinnou látkou je imidacloprid. Při této studii se ukázalo, že výše zmíněný druh je vůči imidaclopridu relativně rezistentní, protože při 24 hodinové expozici doporučenou polní dávkou insekticidu došlo „pouze“ k 65% mortalitě. Pro

ilustraci druh slíďáka *Lycosa terrestris* Butt, Anwar & Tahir, 2006, při též experimentu a též dávce dosáhl úrovně mortality 75%. Po 2.17 dnech, kdy byl druh *O. javanus* nadále vystavován residuální toxicitě stále množství přeživších pavouků přesahovalo 50%. Přesto při studii v přírodě na ošetřovaném a kontrolním poli byl zaznamenán prokazatelný rozdíl v celkovém množství pavouků. Z vyznačených lokalit kontrolního pole bylo sesbíráno 425 jedinců, zatímco z pole ošetřeného bylo, při stejné ploše, získáno pouze 212 jedinců. Tedy zhruba polovina (Sherawat et al., 2015).

### **Čeled' listovníkovití Philodromidae**

Čeled' Philodromidae Thorell, 1870 zahrnuje středně velké pavouky, přičemž samci v jejich případech bývají o trochu menší. Obvykle žijí na vegetaci, a to jak na bylinách, tak na keřích a stromech, nicméně několik druhů preferuje život přímo na povrchu půdy. Pokud jde o biotopy, obývají pestrou škálu areálů, avšak primární pro ně bývají biotopy se zastoupením dřevin, kde ve stromovém a keřovém patře představují dominantní druh pavouka. Nestaví si lapací sítě. Na svou kořist číhají na vegetaci, popřípadě ji mohou pronásledovat na krátkou vzdálenost, přičemž k uchopení kořisti, již představuje široké spektrum drobných členovců, především pak hmyzu, jim slouží dva přední páry nohou, které jsou nápadně prodloužené (Kůrka et al., 2015). V současné době se po světě vyskytuje 539 druhů rozčleněných do 30 rodů (World Spider Catalog (2018) k datu 23. 9. 2018). Do roku 2015 pak byl v rámci České republiky zaznamenán výskyt 24 druhů spadajících do třech rodů (Kůrka et al., 2015).

Pokud jde o studie na vliv neonikotinoidů, můžeme jmenovat kupříkladu experiment na druhu listovník obecný *Philodromus cespitum* (Walckenaer, 1802), prováděný v České republice v Praze - Ruzyni. Při této studii se zjišťoval vliv několika pesticidů na mortalitu výše zmíněného listovníka, mezi nimiž byl i neonikotinoid acetamipirid (v rámci testovaného insekticidu „Mospilan 20 SP“ činil podíl acetamipiridu 20%). Při koncentraci 0,013% insekticidu se ukázal acetamipirid vůči listovníkům, jako téměř neškodný. Mortalita totiž dosáhla úrovně pouhých 7.4%, což v porovnání s kontrolou, kde mortalita činila 0% a testovaným pyretroidem deltamethrinem, u něhož byla ve stejném časovém úseku naměřena 80% mortalita, napovídá, že listovníci jsou vůči acetamipiridu rezistentní. Při této studii byl rovněž zaznamenán mírný pokles efektivity při hledání potravy, který však nebyl při srovnání s kontrolou statisticky signifikantní (Řezáč et al., 2010).

### **Čeled' snovačkovití Theridiidae**

Čeľad Theridiidae je na základě počtu rodů společně s čeledí Lycosidae sedmou největší skupinou v rámci řádu pavouků. Celkově zahrnuje 124 rodů, v rámci nichž rozeznáváme 2503 druhů (World Spider Catalog (2018) k datu 1. 8. 2018). Z tohoto počtu se v rámci České republiky v roce 2015 vyskytovalo přibližně 69 druhů rozdělených do 28 rodů (Kůrka et al., 2015). Podrobnější informace uvedeny v následující kapitole.

Obdobně jako jiné čeledi pavouků mohou i snovačky být ohroženy účinky neonikotinoidních insekticidů, ať už záměrně, nebo jako vedlejší účinek při snaze zlikvidovat zcela jiné druhy bezobratlých.

Snovačka hnědá *Latrodectus geometricus* C.L. Koch, 1841, známá též pod anglickým označením „brown widow spider“, je považována za pantropický invazivní druh pavouka. Byla zaznamenána na řadě ostrovů v Karibiku, tichomoří, a obecně na všech kontinentech s výjimkou Antarktidy. Samice tohoto druhu jsou považovány za mimořádně plodné, protože za dobu svého života jsou schopny v průměru vytvořit 22 kokonů, což přibližně znamená jeden kokon na každé čtyři dny reprodukčního období, přičemž v každém kokonu bylo vypořazováno obvykle 135 vajíček s rozptylem 23-282. Právě fakt, že se dokáže velmi rychle množit, vedl ke snaze nalézt účinnou ochranu a tedy i testování různých pesticidů (Vetter et al., 2015). Na snovačce hnědé v souvislosti s likvidací kokonů byla testována celá řada pesticidů, mezi nimiž byl i přípravek s názvem „Temprid Ready Spray“, jehož hlavní účinnou látkou je 0,05% imidacloprid. Při této studii se sledovala mortalita kokonů po dobu 30 dní, přičemž obvyklá doba inkubace činí  $20.5 \pm 0.3$  dne. Při použití imidaclopridu byl zaznamenán první úhyn už po prvním dni, kdy došlo ke zničení 6 kokonů. Další čtyři úhyny byly zaznamenány u 12 dní starých kokonů a po 17 dnech už bylo uhynulých kokonů dohromady 14. Za celý interval pozorování byla zaznamenaná mortalita na úrovni 78%, což značí poměrně vysokou účinnost, přesto až pátou nejvyšší z deseti testovaných přípravků. Účinnější byly aerosoly cyfluthrin 0.1%, deltamethrin 0.06% a chlorfenapyr 0.5%, které všechny vykazovaly 100% mortalitu a aerosol (S)-hydropren 0.36%, u něhož byla zaznamenaná 94% mortalita (Vetter et al., 2015).

Snovačka kalifornská *Latrodectus hesperus* Chamberlin & Ivie, 1935, v anglickém jazyce známá pod jménem „western black widow“, je druhem vyskytujícím se původně v Severní Americe, který byl v nedávné době introdukován do Izraele (World Spider Catalog (2018)). Ve vědeckých kruzích je pak tento druh znám zejména v souvislosti s výzkumem pavoučích sítí (Casem et al., 1999; Blackledge et al., 2005; Blasingame et al., 2009). Na snovačce kalifornské se prováděl obdobný výzkum, jako na pokoutníkově *Eratigena agrestis*,

tedy testování senzitivity vůči cyfluthrinu, fipronilu a imidaclopridu. Pavouci byli i v tomto případě ošetřováni pesticidy ve třech podobách: postřikem půdy, sítě a přímým postřikem pavouka. Rozdíl však představuje fakt, že v případě snovaček byla studie prováděna pouze na samicích. Výsledky se pak oproti pokoutníkům lišily. Při postřiku imidaclopridu na půdu nebyl v průběhu pěti sledovaných dnů zaznamenán jediný úhyn, stejně tak tomu bylo i v případě postřiku sítě. Naproti tomu při přímém postřiku pavouka byla mortalita zaznamenána, nicméně poměrně mírná (33%) a to po jednom dni, bez dalšího růstu úrovně mortality. Pro ilustraci v případě fipronilu byla po stejném časovém úseku zaznamenána mortalita 100%, při všech třech alternativách ošetření, zatímco cyfluthrin způsoboval 100% mortalitu už po jedné hodině, byl-li nanesen přímo na pavouka, nebo povrch. V případě ošetření sítě byla zaznamenána 33% mortalita po jedné hodině a nárůst na 100% po jednom dni. V souladu s těmito výsledky tedy můžeme prohlásit, že snovačka kalifornská patří k druhům vůči neonikotinoidům relativně rezistentním (Gaver et Hansen, 2005).

### 3.3.2 Ekologie modelové skupiny

#### **Rod *Phylloneta***

Rod *Phylloneta* je na světě zastoupen celkem pěti druhy obývajícími severní polokouli, z čehož dva druhy se vyskytují i na našem území (World Spider Catalog (2018) k datu 5.8.2018; Kůrka et al., 2015). Konkrétně se jedná o druhy snovačka pečující *Phylloneta impressa* jejíž areál výskytu se rozkládá od Severní Ameriky přes celou Evropu a Asii až do Číny; *Phylloneta pictipes* (Keyserling, 1884) známá ze Spojených států amerických; snovačka smrčková *Phylloneta sisyphia* (Clerck, 1757) zaznamenaná v Evropě, Turecku, na Kavkaze, v Rusku, střední Asii a Číně; *Phylloneta sisyphia foliifera* (Thorell, 1875), jejíž výskyt byl doposud zaznamenán pouze na území Španělska a *Phylloneta sisyphia torandae* (Strand, 1917) známá z Číny a Mongolska (World Spider Catalog (2018)).

Jedná se pavouky menších rozměrů s charakteristickou dlaždicovitou kresbou na zadečku, utvářející si trojdimenzionální síť se zvonkovitým úkrytem, který slouží nejenom k ochraně samice obývající síť, ale později i kokonu maskovaného modrozelenými vlákny. Snovačky tohoto rodu jsou zajímavé především tím, že mláďata po vylíhnutí zůstávají v síti matky, která je krmí natrávenou kořistí vylučovanou z úst (Pekár, 2000; Kůrka et al., 2015).

#### ***Phylloneta impressa***

Jak vyplývá z výše uvedeného výskytu, můžeme snovačku pečující označit za areálově nejrozšířenějšího zástupce rodu *Phylloneta* (Nentwig, W., Blick, T., Gloor, D., Hänggi, A., Kropf, C.: Spiders of Europe. [www.araneae.nmbe.ch](http://www.araneae.nmbe.ch). Version 05.2018.). Jedná se menšího pavouka v rámci řádu, avšak většího v rámci rodu, samice dorůstá 3,5-5,5 mm, což je zhruba stejně, jako samec, který může dosáhnout stejné maximální velikosti 5,5 mm, nicméně interval jeho velikosti je větší a pohybuje se od 2,5 do 5,5 mm (Kůrka et al., 2015).

Jak už jsem uvedl, jedná se o druh vyskytující se po celé severní polokouli, obzvláště hojně rozšířený v rámci území Evropy. U nás se jedná o velice hojný druh obývajících pestrou škálu otevřených biotopů, jako jsou pole, sady, meze, úhory, louky a okraje lesů, kde si budují své sítě na keřících a statnějších bylinách (například třezalce *Hypericum*, pelyňku *Artemisia*, nebo řebříčku *Achillea*), obzvláště hojné jsou na polích řepky olejky *Brassica napus* subsp. *napus*, kde se v sezóně vyskytují stovky až tisíce jedinců (World Spider Catalog (2018); Kůrka et al., 2015).

Pavouci tohoto druhu se dají bezpečně poznat podle bledě žluté hlavohrudí s úzkým černým okrajem a širokým středním pruhem. Bledě žluté jsou krom hlavohrudí i nohy, v okolí kloubů se pak nacházejí hnědé kroužky. Důležitým rozpoznávacím znakem je kresba na zadečku, který je na hřbetě světlý s párem širokých černých nebo tmavohnědých podélných pruhů, které jsou přerušeny třemi až čtyřmi páry příčných, šikmých proužků (Kůrka et al., 2015).

Samci po dosažení subadultního stádia opouštějí své sítě a přesouvají se do blízkosti nedospělých samic, v jejichž blízkosti vyčkávají, dokud samice nedosáhnou adultního stádia, aby byli prvními, kdo se s nimi spáří. Samice následně vytvářejí zelenomodrý kokon, který hlídají uvnitř svého zvonkovitého úkrytu. První kokony by se měly objevovat v srpnu a září a k jejich líhnutí dochází poměrně brzy, už v rámci dvou, popřípadě tří týdnů, přičemž samice vytváří kokonů za sezónu víc než jeden (Kůrka et al., 2015). Po líhnutí juvenilních jedinců se dospělé samice o mláďata ještě starají tak, že je z vlastních úst krmí natrávenou kořistí chycenou ve společné síti (Pekár, 2000; Kůrka et al., 2015).

## Sítě

Pavouci z čeledi Theridiidae patří mezi pavouky, kteří k lovu využívají lapací sítě, v rámci jejich čeledi je pak typická takzvaná trojdimenzionální síť, tedy síť strukturovaná v rozměrech délka, šířka a výška, která vyplňuje prostory. V případě snovaček je však ještě modifikována tím, že z ní vybíhají napnutá vlákna, slabě ukotvená k zemi, s řadou poměrně velkých kapek lepu, která se při kontaktu s kořistí snadno odtrhnou od podkladu a kořist vyzdvihnou do



vzduchu. Síť samotná mívá obvykle nepravidelný tvar a její součástí je zvonkovitý úkryt, který poměrně často bývá zamaskovaný kousky detritu (Kůrka et al., 2015). Stavba takto složité sítě jim trvá několik dní, na druhou stranu svému majiteli následně poskytuje vyšší obranu vůči predátorům, pro které je mnohem složitější dostat se do takové sítě a ulovit jejího majitele (Blackledge et al., 2003).

## **Kořist**

Snovačky mají poměrně širokou paletu lovené kořisti. Převážnou část jejich potravního spektra tvoří zástupci hmyzu Insecta, z nichž se může jednat o druhy řadící se mezi šváby Blattodea, brouky, škvory Dermaptera, dvoukřídle Diptera, polokřídle, blanokřídle, motýly, síťokřídle, vážky Odonata, či rovnokřídle Orthoptera. Mohou však ulovit i jiné zástupce vlastního řádu, či příslušníky jiných skupin, jako například podkmene korýšů Crustacea, z řádu stejnonožců Isopoda, roztoče Acari, nebo sekáče Opiliones Sundevall, 1833. Obecně se tedy dají považovat za polyfágní skupinu a to jak na úrovni řádu, tak i na úrovni druhové (Nentwig, 1985; Nentwig, 1987; Pekár, 2000; Salomon, 2011).

Kupříkladu u pozorování sítí druhu *Phylloneta impressa*, byla zaznamenána velmi široká paleta kořisti zahrnující zástupce hned osmi řádů hmyzu a jednoho příslušníka vlastního druhu. Preferovanou kořist pak představovali zástupci čeledi mšicovití Aphididae Latreille, 1802, kteří tvořili přibližně 73% zastoupených druhů. Mimo ně se však v jejich sítích vyskytovali a poměrně velké organismy (s ohledem na velikost zmíněného pavouka, který v dospělém stádiu dosahuje velikosti přibližně 5 mm), jako kupříkladu škvor obecný *Forficula auricularia* Linnaeus, 1758, nebo včela medonosná *Apis mellifera* (Pekár, 2000).

Výběr kořisti obvykle souvisí nejenom s oblastí výskytu daného druhu a tedy i typu potravní nabídky, ale i s jeho velikostí. Do tohoto faktu se však může promítnout i faktor sociálního chování, při porovnání kořisti tropického druhu *Anelosimus eximius*, žijícího ve skupinách čítajících desítky až stovky jedinců, a evropských zástupců téže čeledi i srovnatelně velkých zástupců jiných čeledí, se ukázalo, že koloniální způsob života pavoukům umožňuje ulovit výrazně větší kořist, než kdyby lovíli samostatně. Rovněž snovačky *P. impressa* se mohou uchýlit ke skupinovému lovu, k podobným jevům však dochází převážně u juvenilních jedinců (Nentwig, 1985; Kullmann, 1972, Vollrath, 1986; Avilés et Tufino, 1998).

## **Nepřátelé**

Pavouci, ač je evoluce postavila do role predátorů, se rovněž musí vyrovnat i s nátlakem vlastních nepřátel, ať už v rovině predatorní, parazitické, nebo kompetiční. Čeleď Theridiidae

v tomto ohledu není žádnou výjimkou a i ona se musí potýkat s útoky zejména ze strany řádu Hymenoptera, který zahrnuje jedny z nejvýznamnějších pavoučích predátorů a parazitoidů. V rámci tohoto řádu se můžeme kupříkladu setkat s čeledi Crabronidae Latreille, 1802, Ichneumonidae Haliday, 1838, Pompilidae, nebo Sphecidae, Latreille, 1802, které ve větší či menší míře loví pavouky (Coville in Nentwig, 1987).

Zejména čeledi kutilek Sphecidae a Crabronidae mohou představovat potenciálně důležitý faktor v úmrtnosti týkající se pavoučí populace v rámci čeledi Theridiidae, třebaže se obvykle specializují spíše na pavouky s dvojdimenzionálními sítěmi z čeledi Araneidae. Zvláště nebezpečné jsou pro mladé a nedospělé pavouky. Vosičky jsou schopné téměř okamžité reakce na zvýšení pavoučí populace v období, kdy se objevují pavoučí mláďata, což jim umožňuje zmocnit se většího množství kořisti, než by jinak bylo možné (Coville in Nentwig, 1987).

Z těch, napadajících snovačky, můžeme jmenovat kupříkladu rod *Chalybion* Dahlbom, 1843 který se na lov snovaček vyloženě specializuje, mimo něj se však mohou tyto pavouci stát kořistí i jiných rodů, jako je například rod *Trypoxylon* Latreille, 1796, v jehož hnízdech byly nalezeny kupříkladu snovačky rodu *Euryopis* Menge, 1868, *Latrodectus* a *Theridion* Walckenaer, 1805, k němuž se dříve řadili i současní zástupci rodu *Phylloneta* (Domínguez et Jiménez, 2008), vzácněji pak představují snovačky kořist i pro rod *Sceliphron* Klug, 1801, kterýžto se však soustředí spíše na jiné pavoučí čeledi a snovačky jsou pro něho spíše okrajovou kořistí (Eberhard, 1970).

Hrabalky jsou celosvětově rozšířené parazitoidní vosičky, které jsou svou ekologií velmi podobné kutilkám. Obdobně, jako „spheciformní vosičky“ i hrabalky obvykle využívají ke hnízdění přirozené dutiny, popřípadě si mohou vytvářet vlastní hnízdní komůrky v načebraném terénu písčin. Na rozdíl od kutilek se mezi nimi však vyskytují i ektoparazitické druhy, které si neodnáší kořist do svých hnízd, nýbrž ji napadají v otevřeném terénu, kde ji ochromí žihadlem a posléze vajíčko nakladou přímo na ni a dále už se nestarají (Wasbauer et Kimsey, 1985; Coville in Nentwig, 1987; Bogush in Macek et al., 2010; Krogmann et Austin, 2012; da Silva et al., 2015; Poinar Jr et al, 2016).

V souvislosti s vosičkami se v současné době vedou dohady ohledně dalšího možného důvodu evoluce pavoučích sítí, a sice tvorby takzvaných trojdimenzionálních (dimenze šířka, délka a výška), za účelem ochrany proti dravým vosičkám. Doposud se vedou spory o tom, jestli je právě toto důvodem vzniku těchto sítí. Pravdou však zůstává, že při pozorování vosičky mnohem více lovily pavouky stavějící původní dvojdimenzionální síť situované v

otevřeném prostoru mezi rostlinami a větvemi, než pavouky tvořící vývojově novější trojdimenzionální síť (Blackledge et al., 2003).

Není sporu, že trojdimenzionální síť ovlivňuje mnoho aspektů pavoučí biologie. Nicméně tato teorie vychází z hypotézy, že tento typ sítí poskytuje defenzivní výhodu 42 vůči vosičkám v porovnání se staršími dvojdimenzionálními typy, což doposud nebylo dostatečně prokázáno. Mimo to se jeví jako nepravděpodobné, že by vývoj trojdimenzionálních sítí u více než šesti tisíc druhů pavouků, byl ovlivněn pouze vosičkami. Jako pravděpodobnější varianta se jeví představa, že je to pouze jeden z působících faktorů, které ovlivnily evoluční úpravu sítí (Blackledge et al., 2003).

Další skupinou hmyzu, kterou můžeme označit za přirozeného nepřítel pavouků a tedy i snovaček, představují takzvaní zelenuškovití Chloropidae, což je čeleď mušek spadajících do řádu Diptera. Zelenušky jsou známé, jako predátoři i jako parazitoidi napadající převážně kokony pavouků. Mušky parazitují na pavoucích tím způsobem, že na povrch pavoučích kokonů nakladou vlastní vajíčka, z nichž se posléze vylíhne larvička, kterážto pronikne dovnitř do kokonu a začne požírat vajíčka obsažená uvnitř (Gillung et Borkent, 2017).

Dalším čeledí spadající do řádu Diptera, která může představovat riziko pro snovačky je čeleď hrbilkovití Phoridae Curtis, 1833. Pro hrbilky platí, že většina druhů asociovaných s pavouky je téměř saprofágní, avšak některé z nich vyhledávají raději živé, nežli mrtvé pavouky. Většinu z těchto druhů pak můžeme označit za predátory pavoučích vajíček (Gillung et Borkent, 2017).

## 4 Metodika

Celá metodika je rozdělena do tří podkapitol. V té první je postup výzkumu fenologie snovačky pečující a to jak monitoring v přírodě, tak následný odchov juvenilních jedinců v laboratorních podmínkách. Druhá podkapitola se zaměřuje na detailní rozbor postupu při provádění postřiků a následný chov a vážení sledovaných jedinců. Poslední část je pak věnována statistice, již byly dílčí experimenty vyhodnoceny.

### 4.1 Fenologie

Výzkum fenologie samotný probíhal ve dvou fázích. V té první byly snovačky *P. impressa* sledovány na vybrané lokalitě v přírodních podmínkách, zatímco v té druhé pokračovalo pozorování v laboratorních podmínkách, z důvodu sklizení pole.

#### Fenologie – monitoring v terénu

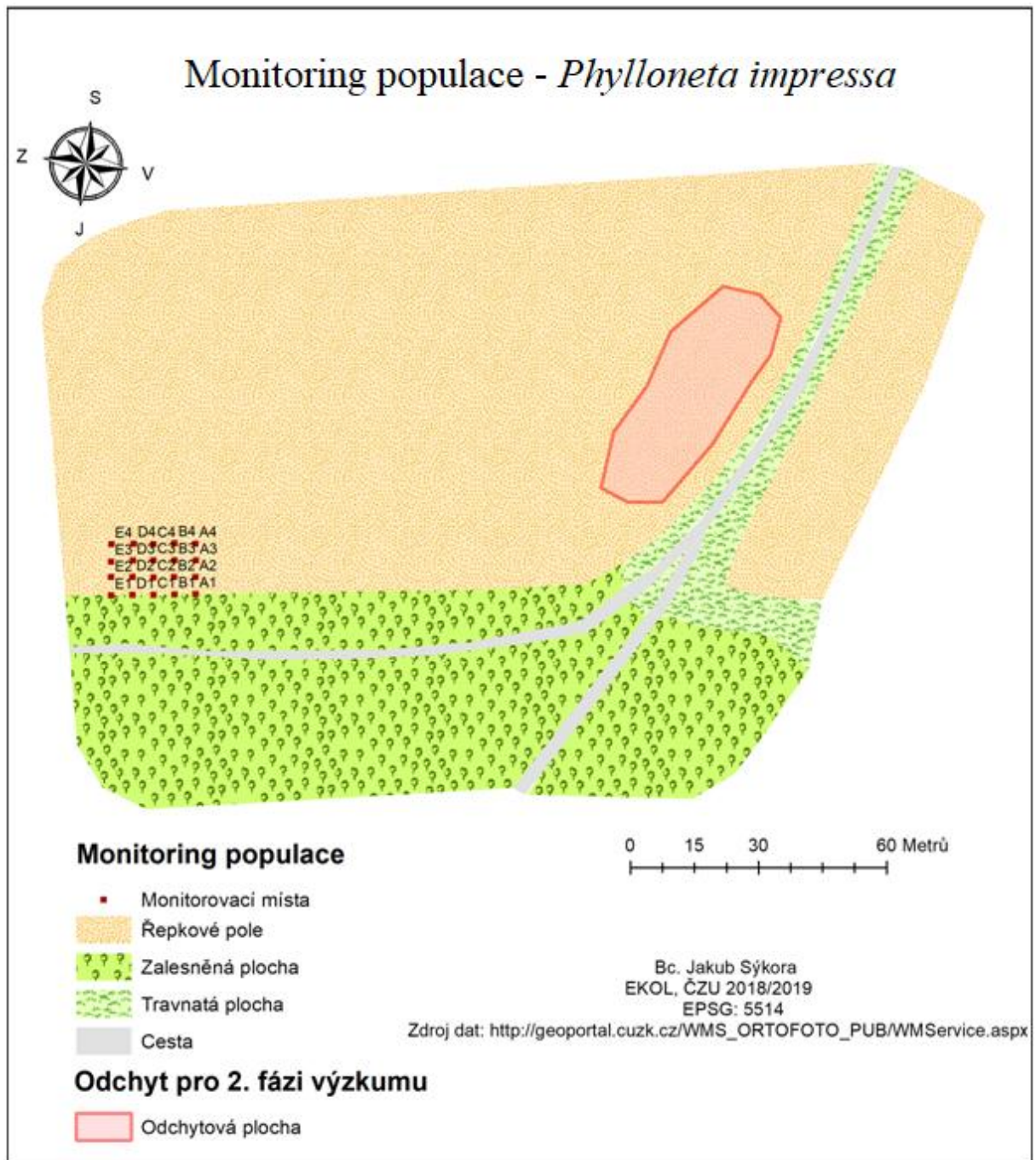
Pro účely sledování v přírodě bylo vybráno řepkové pole v oblasti Praha – Lysolaje, na němž bylo vytyčeno 20 stanovišť, jež sloužila pro monitoring populace a postupného vývoje snovaček od juvenilních stádií po dospělost.

Jednotlivá stanoviště byla rozdělena do pěti pásů táhnoucích se od okraje pole směrem do jeho středu, kde byla pomocí pásky vyznačena čtveřice sledovaných míst, o rozměrech 1 m x 1 m (mapa 1), vzdálených od sebe tři metry (první: nula metrů od okraje, druhé: čtyři metry, třetí: osm metrů a čtvrté: 12 metrů), čímž bylo možné sledovat i vliv odlišné skladby vegetace. Ta se totiž směrem od okraje měnila. Pásky samotné pak od sebe byly vzdáleny pět metrů.

Tabulka 2 – rostlinný pokryv od okraje pole směrem k jeho středu

Vzdálenost od okraje	Zastoupení řepky (%)	Zastoupení plevelů (%)	Zastoupené druhy ostatních rostlin
0	50	35	<i>Thlaspi arvense</i> , <i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Papaver rhoeas</i> , <i>Lamium amplexicaule</i> , <i>Descurainia sophia</i> , <i>Veronica persica</i>
10	50	45	<i>Thlaspi arvense</i> , <i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Descurainia sophia</i>
20	95	3	<i>Capsella bursa-pastoris</i>
30	95	3	<i>Veronica polita</i> , <i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Descurainia sophia</i> , <i>Veronica persica</i>

Populace byla následně sledována v období od 20.4.2018 do 3.7.2018 (sezóna terénního pozorování byla ukončena sklizením pole v týdnu mezi 3.7.2018 a 10.7.2018). Jednotlivá stanoviště byla monitorována v týdenních intervalech, za účelem získání záznamů o velikosti populace a o rozměrech jednotlivých nalezených jedinců, přičemž hlavním cílem bylo zaznamenat jejich postupnou ontogenezi od vytvoření prvních sítí až po první líhnutí kokonů.



Obrázek 1 – mapa monitorovacích míst a odchytové lokality pro druhou fázi výzkumu

## Fenologie – parametry ontogeneze

Druhá fáze studia fenologie už probíhala v laboratorních podmínkách a byla zahájena 26.6.2018. Jejím cílem bylo sledovat dospělé samice ze dvou skupin během jejich péče o kokony a zaznamenávat délku od vytvoření k vylíhnutí, početnost vylíhnuvších se jedinců a následnou péči o potomstvo.

Pro tyto účely bylo na sledovaném poli při výše zmíněném datu odchyceno 30 dospělých samic, konkrétně dvacet s již vytvořenými kokony a deset bez kokonu. Samotný odlov spočíval v nalezení samice v síti vytvořené na řepce, následném odstrižení, umístění do zkumavky a uložení do batohu, aby pavouk nebyl na přímém slunci, což by mohlo vést k jeho úhynu.

Po odchycení pavouků byl založen jejich chov v laboratoři. Jako chovné nádoby posloužily průsvitné plastové kelímky, běžně používané k podávání chlazených nápojů, jako je například pivo. Do těchto nádob byly pomocí hrotové pájky vytvořeny dýchací otvory o velikosti přibližně jednoho milimetru. Tyto kelímky byly následně umístěny dnem vzhůru na plastovou podložku a upevněny pomocí modelíny. Uvnitř této nádoby pak byla připevněna ustřižená část řepky, která byla taktéž uchycena k plastové podložce pomocí modelíny.



Obrázek 2 – Chovné nádoby pro snovačky *P. impressa*

Snovačky byly následně jednou týdně krmeny a vlhčeny. Voda jim byla podávána pomocí rozprašovače sloužícího k zalévání klíčících rostlin a to na dno chovné nádoby. Jako

potrava jim sloužily, po dobu prvních čtyřech týdnů, octomilky *Drosophila melanogaster* Fallén, 1823, konkrétně jejich bezkřídlá forma Vestigal (v množství jedné týdně). Následně z důvodu líhnutí kokonů byla potrava změněna na juvenilní stádia švába turkistánského *Shelfordella tartara* (Walker F., 1868), kterého taktéž dostávali jednoho týdně.

## 4.2 Vliv neonikotinoidů na ontogenezi a přežívání

Samotným těžištěm práce však byl efekt neonikotinoidních insekticidů, jehož výzkum byl zahájen na konci září. V tomto případě bylo cílem otestovat čtyři, v České republice dostupné a běžně užívané, insekticidy a jejich účinek na mortalitu a vývoj snovaček. Konkrétně se jednalo o přípravky actara, biscaya, confidor a mospilan. Rovněž i tento experiment byl rozdělen do dvou částí. Tou první bylo testování všech čtyř insekticidů ve formě postřiku, zatímco druhá část byla zaměřena na detailnější analýzu jednoho vybraného přípravku, jehož vliv byl následně testován i v podobě ošetřené potravy a tarsálního kontaktu s insekticidem.

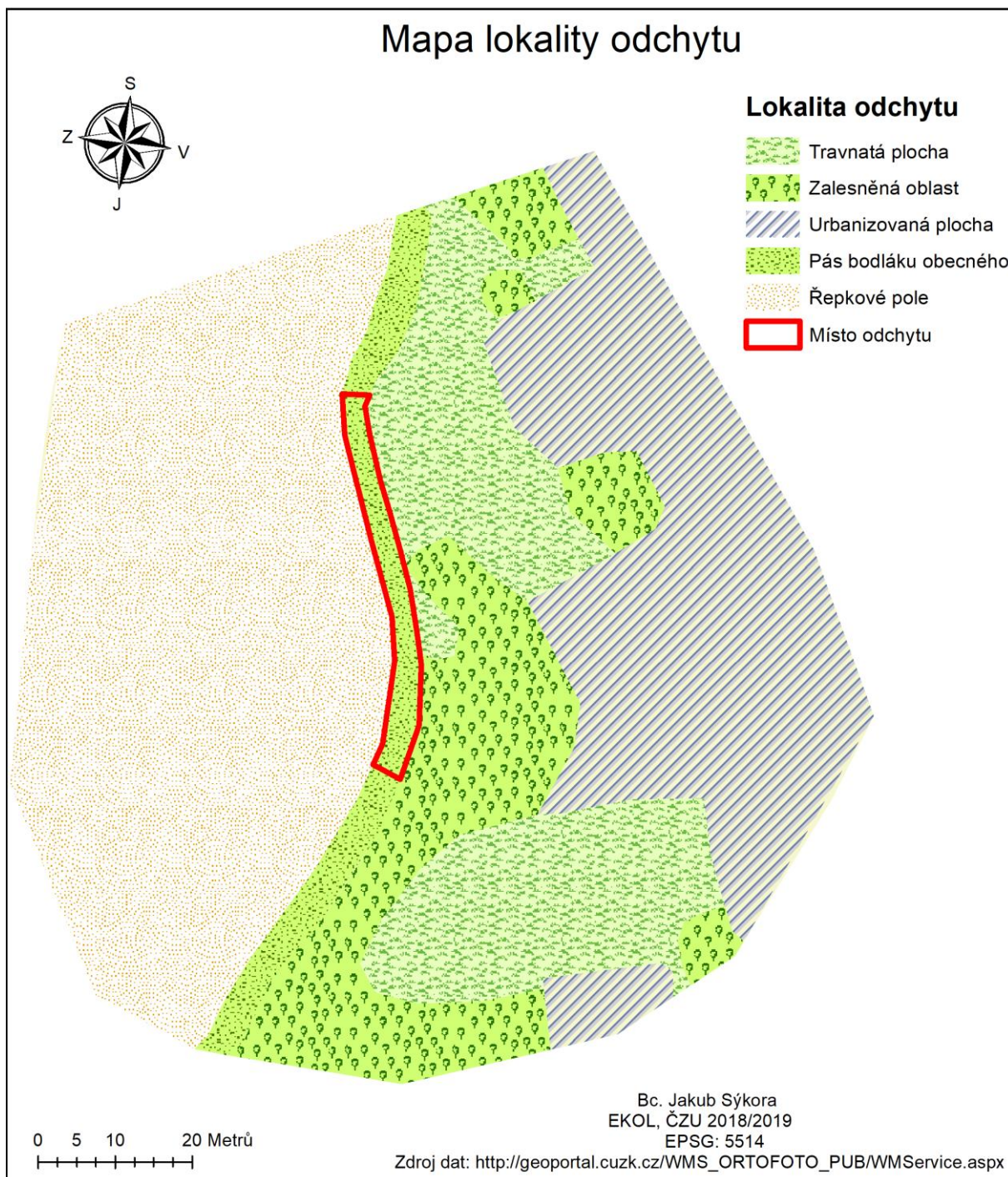
Pavouci pro tyto experimenty pak pocházeli ze dvou skupin. Postřiky byly prováděny na jedincích odchycených v přírodě po dosažení dostatečné velikosti (váha přibližně 0.001 g), zatímco pro účely druhé analýzy byly použity snovačky, odchované z kokonů od tří různých samic a měli tak unifikované podmínky.

### 4.2.1 Odchyt

Odchyt pavouků byl proveden na neudržovaném placu na okraji vesnice Černíky nedaleko Českého Brodu (obrázek 3; obrázek 4 & obr. 5), který přímo sousedí s polem, na němž byla na jaře pěstována řepka, a jehož skladba rostlin byla tvořena druhy vyhovujícími pro tvorbu sítí těchto pavouků. Zejména pak velkým množstvím bodláku obecného *Carduus acanthoides* Linnaeus a byla tak slušná pravděpodobnost, že zde juvenilní *Phyllonety* budou.



Obrázek 3 & Obrázek 4 – Lokalita odchytu pavouků



Obrázek 5 - Mapa využití území v odchytové lokalitě

První odchyt byl proveden 20. 8. 2018, kdy byly na tamních bodlácích nasbírány čtyři dospělé samice s kokony pro účely odchovu juvenilních jedinců posléze použitých pro analýzu účinku insekticidu při tarsálním kontaktu a pozření ošetřené potravy. Tyto samice



byly odebrány i s částí bodláku, která byla odštířena, aby nedošlo k poškození kokonu, a následně byla samice i s bodlákem umístěna do chovné nádoby.

Druhý odchyt byl proveden 27. 9. 2018 a 28. 9. 2018 a to na témže místě. V tomto případě byli sbíráni dospívající juvenilní jedinci, kteří si zakládali sítě na spodní straně výše zmíněných bodláků (obrázek 6). Ti byli nasáti pomocí exhaustoru a umístěni do zkumavky o výšce 5,8 cm a průměru 1,8 cm se dnem vyplněným sádrou. První den byl sběr prováděn po dobu tří hodin a odchyceno bylo 56 jedinců, druhý den sběr trval dvě hodiny a nachytáno bylo 44 jedinců, ti byli posléze rozděleni do pěti skupin, pomocí hodu kostkou, aby bylo dosaženo zcela náhodného rozdělení do skupin (1 – actara, 2 – biscaya, 3 – confidor, 4 – mospilan, 5 – kontrolní skupina, 6 – nový hod).



Obrázek 6 – *Phylloneta impressa* na bodláku

#### 4.2.2 Chovy

##### Odchov juvenilních jedinců z kokonů

Odchycené dospělé samice byly umístěny i s bodlákem do akvária o rozměrech 50 cm x 25 cm x 35 cm, kde byla na dně vytvořena zhruba pět cm vysoká vrstva zahradní hlíny. Do té byly kromě ustřížených bodláků umístěny i části ostříhané řepky a spadlé větvičky, aby měly snovačky vhodné prostředí pro tvorbu sítí. Ke každému bodláku s pavoukem byl posléze umístěn i kámen a vata, sloužící k vlhčení. Vrchní strana akvária byla následně zakryta plínou a upevněna pomocí gumy, aby nedocházelo k únikům, ale zároveň byl umožněn přístup

vzduchu. Celé akvárium následně bylo umístěno na zastíněné místo v místnosti s teplotou pohybující se mezi 20-25 °C.



Obrázek 7 – chovná nádoba pro odchov juvenilních jedinců; Obrázek 8 – rozprašovač na vlhčení

První dva týdny byly snovačky krmeny mravenci *Formica sp.* Linnaeus, 1758, a to v počtu čtyř pro každou samici, následně byla provedena změna krmení na juvenilní stádia švába turkistánského *Shelfordella tartara*, přičemž krmná dávka představovala dva šváby pro snovačku na týden.

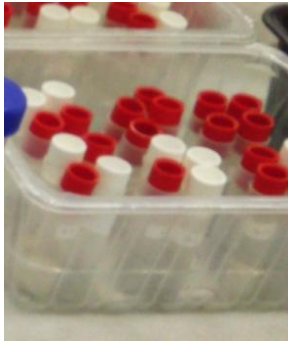
Po úhynu dospělých samic byly mladé snovačky pochyťány exhaustorem a rozděleny po pěti jedincích do 50 ml zkumavek, v nichž přebývaly až do počátku experimentu zahájeného 17. 10. 2018. V této době byly krmeny jedním juvenilním švábem týdně, kterého byly schopny ve skupině ulovit.



Obrázek 9 – Exhaustor; Obrázek 10 – 50 ml zkumavky

### **Chov juvenilních jedinců odchycených na poli**

Odchycené snovačky určené pro ošetření postřikem byly chovány poněkud odlišným způsobem. Tito pavouci byli už při odchyty o něco větší než odchovaní jedinci, takže byli rovnou umístěni, do zkumavek vybavených sádrou, samostatně, kde byli jednou týdně krmeni jednou octomilkou a vlhčení pomocí namočení sádry, která vodu vstřebala a nějaký čas udržela.



Obrázek 11 – zkumavky pro chovy odchycených jedinců

### **Chov krmných octomilek**

Pro účely udržení chovu bylo rovněž nutné zajistit potravu, k čemuž sloužily bezkřídle octomilky Vestigal. Jako nádoba pro jejich následný chov posloužila zavařovací sklenice o objemu 1 l, která byla vrchu přikryta prodyšnou látkou a upevněna pomocí gumy. Do nádoby byla následně umístěna připravená směs sloužící jako živná půda, která sestávala z ovesných vloček, kuchyňského droždí a multivitaminu Hello, který sloužil, jako konzervační látka, jejímž úkolem bylo udržet směs konzervovanou.

Do takovéto nádoby bylo následně umístěno deset octomilek odebraných z nádoby ze školní laboratoře (obrázek 10) a nádoba byla umístěna do místnosti s průměrnou denní teplotou pohybující se mezi 25-26°C (při nižších teplotách docházelo k poklesu rozmnožování). Takovýto chov, při vlhčení dvakrát týdně dokáže vyprodukovat 200-300 octomilek, proto byly založeny tři chovné nádoby.



Obr. 12 – chovná nádoba pro octomilky

Z důvodu vzniku plísní byla testována různá složení živné půdy, respektive tedy konzervantů. Postupně byl bez úspěchu vyzkoušen multivitamin, levný pomerančový džus, kyselina citrónová a pivo. Všechny tyto pokusy vedly ke vzniku jedné generace octomilek a

následné likvidaci chovné nádoby. Výjimku v tomto případě tvořila kyselina citrónová, která zplesnivěla dřív, než se první generace vůbec stačila vylíhnout. Nakonec se podařilo nalézt optimální složení a postup, při kterém byla nejprve nádoba „vyvařena“ ve vroucí vodě a následně jako konzervant použita limonáda značky Mirinda.

### **Chov krmných švábů**

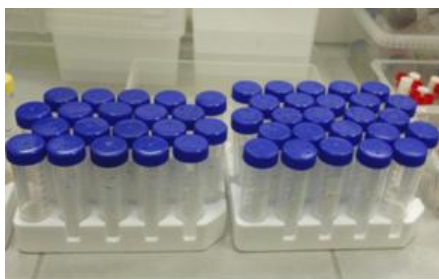
Snovačky byly taktéž přikrmovány pomocí juvenilních stádií švábů *S. tartara*, což je druh, který neleze po skle a rychle se množí při poměrně jednoduchém způsobu chovu. Švábi byli chováni ve velkých plastových nádobách o rozměrech 50 cm x 39 cm x 28 cm. Do takovéto nádoby byly umístěny čtyři proložky původně určené pro prodej a skladování vajec. Dále se do nádoby umísťuje Petriho miska určená pro následné krmení, které představuje ovoce, nejčastěji jablko. Při teplotě přibližně 25°C se tímto způsobem dají odchovat stovky švábů.



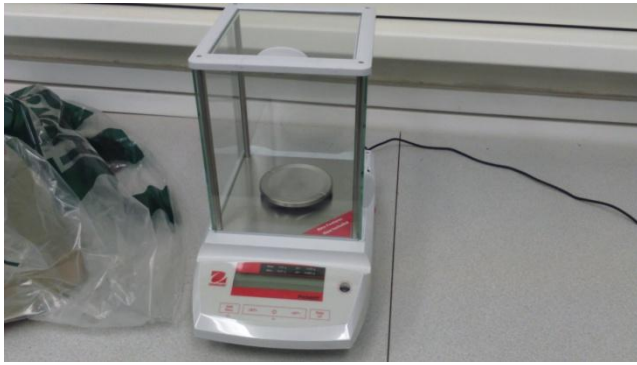
Obrázek 13 a Obrázek 14 – chovné nádoby švábů

### **Chov pavouků po provedení ošetření**

Po provedení ošetření bylo všech 140 snovaček chovaných pro účely experimentu přesunuto do 50 ml zkumavek, tentokrát už každý zvlášť. Následně byli jednou týdně krmeni octomilkami (zpočátku tři pro každého pavouka na týden), vlhčeni a váženi, aby byla zaznamenána jejich postupná ontogeneze. K tomuto účelu byla využita detailní chemická váha zaznamenávající hmotnost do úrovně 0,0001 g.



Obr. 15 – Chovné nádoby pro pavouky

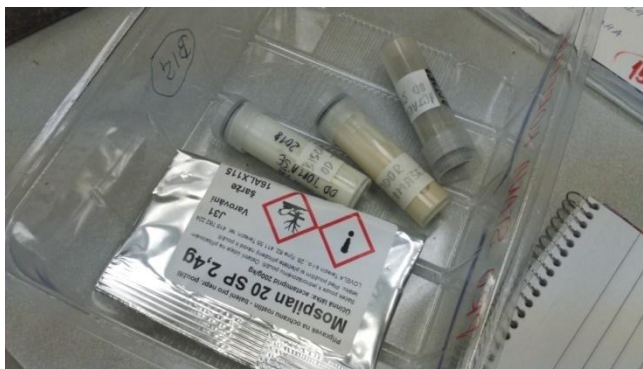


Obrázek 16 & Obrázek 17 – váha (zdroj: vlastní tvorba)

### 4.2.3 Ošetření

#### Příprava insekticidů

Před samotným ošetřením bylo třeba připravit insekticidy, respektive naředit je destilovanou vodou na sledovanou koncentraci, která vycházela z návodu k použití dostupného na webové stránce: [agromanual.cz](http://agromanual.cz). Tento experiment sledoval efekt čtyř přípravků na bázi neonikotinoidů, konkrétně se jednalo o přípravky: ACTARA 25 WG, BISCAYA 240 OD, CONFIDOR 200 OD a MOSPILAN 25 SP, které byly získány z Výzkumného ústavu rostlinné výroby od RNDr. Milana Řezáče, PhD.



Obrázek 18 – Insekticidy před ředěním; Obrázek 19 – pipety

Koncentrace byla vypočtena na základě návodu k použití určeného pro užití na zemědělské škůdce, přičemž byla používána přibližně střední hodnota množství vody udávaná pro ředění. Pro přípravek ACTARA 25 WG uvádí návod k použití dávku 80 g insekticidu na 200-500 l vody v případě užití na rostlině lilek brambor *Solanum tuberosum* Linné, 1753.

Výpočet tedy vypadal následovně:  $80/300 = 0.266 \text{ g/l}$ , jelikož bylo ale ředění prováděno v 0.5 l destilované vody, dělil se výsledek ještě dvěma a výsledná koncentrace tak činila  $0.133\text{g}/0.5\text{l}$ . Navážené množství prášku, v němž jsou tyto insekticidy převážně dodávány, bylo následně nasypáno do vody a rozmícháno.

Obdobným postupem probíhalo ředění i ostatních tří neonikotinoidů. BISCAYA má doporučené dávkování u téže rostliny 0.3 l na 200 – 600 l. V jejím případě tedy výpočet byl  $0.3/400 = 0.00075$ ;  $0.00075/2 = 0.000375 \text{ g}/0.5\text{l}$ . CONFIDOR byl poněkud složitější. Jeho návod k použití totiž udává dávku 0.6 l na 1500-2000 l vody v případě chmele *Humulus* Linné, 1753, zatímco při užití na okrasné rostliny je udáváno 0.6 l na 500-1000 l. Proto byla vybrána střední hodnota z intervalu 500-2000. Výpočet tedy vypadal takto:  $0.6/1250 = 0.00048$ ;  $0.00048/2 = 0.00024 \text{ g}/0.5\text{l}$ . Posledním přípravkem byl MOSPILAN u něhož se dávkování udává na hodnotu 0.25 kg na 200-1000 l pro různé druhy ovocných stromů a ostružiníky *Rubus*. Insekticid byl ředěn 400 l a výsledek činil  $0.0625 \text{ g}/0.5 \text{ l}$ .



Obrázek 20 – Naředěné insekticidy

### Nádoby na provedení postřiků

Pro provedení postřiků bylo ještě nutné připravit nádoby, do kterých byli pavouci v postřikovači umístěni. K tomuto účelu byly použity plastové nádoby o průměru: 5,5 cm a výšce: 2,5 cm, které byly z jedné třetiny naplněny jemným pískem a na vrchní části byl vytvořen, pomocí bílé vazelíny (Vaselinum album 80g), proužek zabraňující snovačkám v úniku. Takovýchto nádobek, bylo připraveno 80, aby každá snovačka byla umístěna samostatně.



Obrázek 21 – nádoby na provedení postřiků

### Provedení postřiků

Postřiky samotné byly prováděny 17.10.2018 na Demonstračním a pokusném pozemku České zemědělské univerzity pomocí postřikovače. Do tohoto přístroje byl umístěn naředěný pesticid společně s předepsaným množstvím vody, což v tomto případě bylo: actara – 300 l, biscaya – 400 l, mospilan 1000 l a confidor 1250 l. Předtím však byl ještě proveden jeden postřik čistou vodou, aby bylo zajištěno, že v postřikovači nezůstane zbytkové množství pesticidů od předchozího použití.



Obrázek 22 - Postřikovač; Obrázek 23 - kompresor postřikovače a váha

Posléze byli pavouci ze zkumavek přemístěni do jednotlivých nádobek a na podložce umístěni do postřikovače, kde byli přímo nastříkáni stanoveným množstvím daného insekticidu. Po provedení postřiku jedné skupiny byli pavouci umístěni do 50 ml zkumavek, předem připravených pro jejich chov, označeni a uloženi do stínu, aby nedocházelo k nežádoucím úhynům. Teprve poté byla do dalších nádobek umístěna nová skupina a proveden další postřik. Celkový počet v jednotlivých skupinách byl následující: actara – 19 (jeden jedinec by ztracen při provádění postřiku), biscaya – 18 (jeden jedinec byl ztracen při přesunu z nádoby do zkumavky a jeden uhynul ještě před provedením postřiku), confidor –

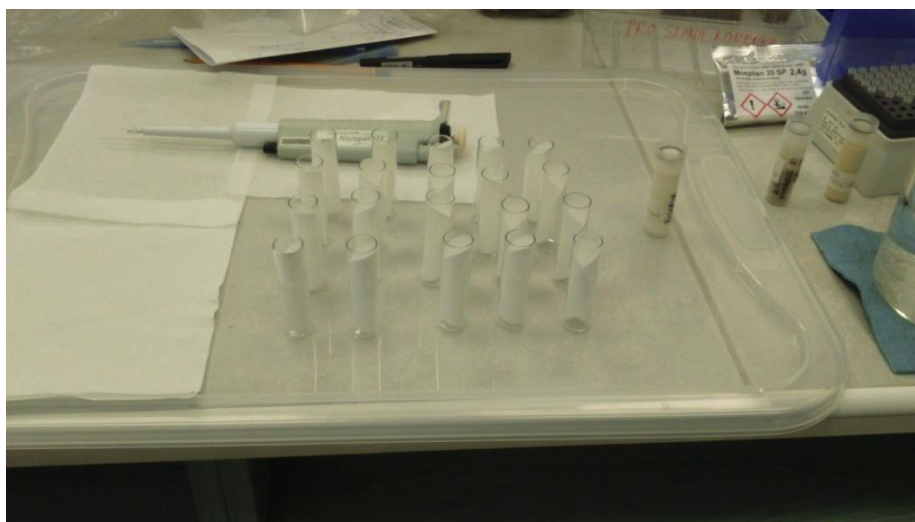
20 a mospilan – 20. Kontrolní skupina měla rovněž 20 jedinců a byla symbolicky postříkána vodou.

### **Detailnější analýza**

Kromě postřiků byla prováděna detailnější analýza jednoho z pesticidů, a to v podobě testování vlivu při tarsálním kontaktu a vlivu při pozření ošetřené potravy. Pro tuto analýzu byl z několika důvodů nakonec vybrán mospilan (ředění probíhalo stejně, jako v případě postřiků a dávka tedy činila 0.0625 g/0.5 l). Do užšího výběru, na základě šetrnosti, se dostala biscaya a mospilan, a to proto, že actara při předchozích výzkumech u jiných druhů pavouků způsobovala vysokou mortalitu, zatímco confidor pro změnu způsoboval vysokou mortalitu u octomilek, takže byl nevhodný pro užití na pokus s ošetřenou potravou. Mospilan byl nakonec vybrán v podstatě na základě „preference pavouků“, protože při předchozím experimentu s biscayou se ukázalo, že pavouci potravu ošetřenou tímto insekticidem odmítají přijímat.

### **Tarsální kontakt**

Prvním z těchto pokusů byl vliv insekticidu při tarsálním kontaktu. Pro účely tohoto experimentu bylo použito 20 odchovaných juvenilních pavouků od dvou různých samic. Samotné ošetření probíhalo ve skleněných zkumavkách o rozměrech 5x2 cm, do nichž byl vložen srolovaný filtrační papír o průměru 5,5 cm. Pomocí pipety byl následně nastříkán rovnoměrně po stěnách zkumavky 220  $\mu$ l naředěného mospilanu (0,125 g/l), tak aby byl navlhčen pouze filtrační papír a kapalina nestekla na dno.



Obrázek 24 – skleněné zkumavky připravené pro ošetření tarsálním kontaktem

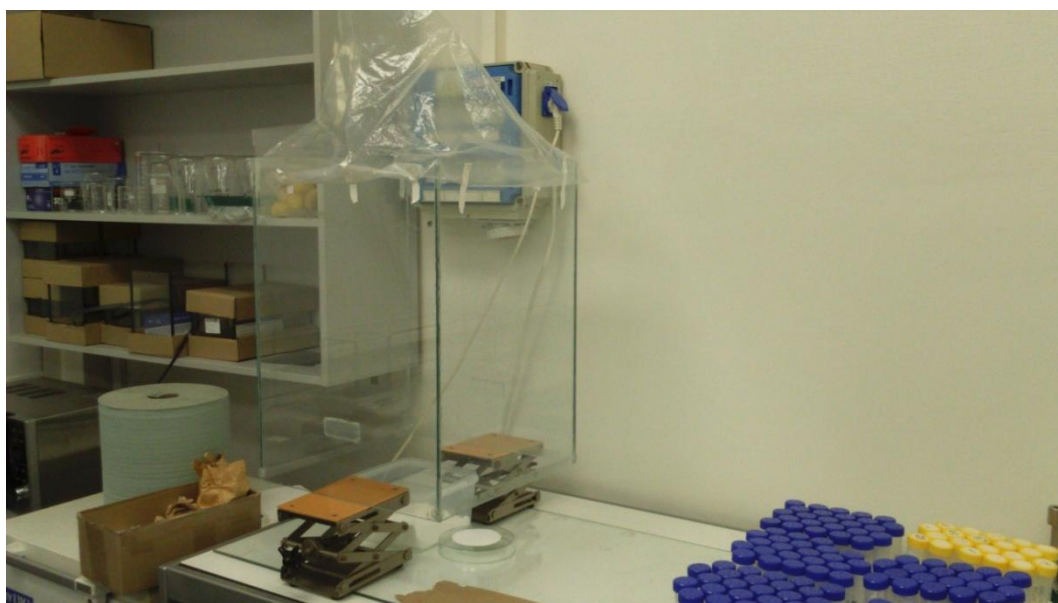


Před provedením tohoto postupu byly ještě snovačky ponechány po dobu 30 minut ve vodou navlhčených zkumavkách, aby neměly tendenci insekticid pít. Poté byly přesunuty do připravených ošetřených zkumavek, kde byly uzavřeny zátkou s dýchacími otvory a ponechány po dobu 60 minut, než byly vyjmuty umístěny do chovných 50 ml zkumavek.

### Ošetřená potrava

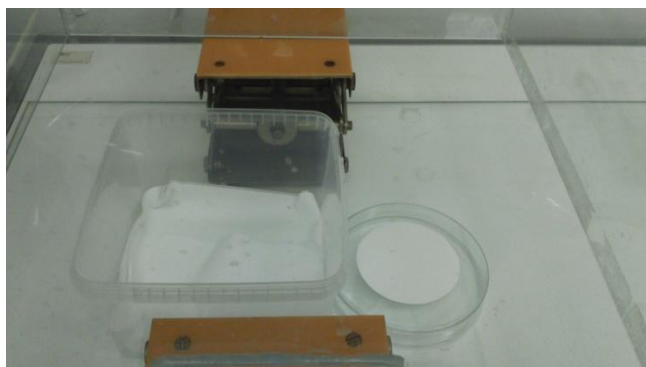
Druhým pokusem byl vliv ošetřené potravy. K tomuto účelu byly rovněž použity odchované juvenilní snovačky od stejných dvou samic, jako v předchozím případě, taktéž v počtu 20 jedinců. Ošetřenou potravu pak představovaly octomilky v počtu čtyř pro každého pavouka, které byly po nastříkání ponechány dvě hodiny v nádobě s odpařujícím se insekticidem, než byly umístěny do zkumavek se snovačkami.

Postřík byl prováděn pomocí rozprašovače na zalévání rostlin, v němž byl naředěný mospilan (0,125 g/l). Nejprve byla však sestavena konstrukce sloužící pro tyto účely. Ta sestávala ze čtyř slepených skleněných desek o rozměrech 41x41x57 cm, na které byla z vrchní strany připevněna igelitová plachta s otvorem sloužícím k provedení postříku. Druhá strana této „nádoby“ zůstala otevřená. Celá skleněná konstrukce (obrázek 25) byla následně umístěna na podstavce, a pod ní byla položena Petriho miska otočená dnem vzhůru, na níž byl uložen zvážený filtrační papír (o průměru 5,5 cm) a vedle ní nádoba s octomilkami. Tou byla plastová nádoba o rozměrech 16x16x18 cm vystlaná dvěma vrstvami buničité vaty, která měla zabránit tomu, aby se octomilky utopily v kapkách insekticidu, a pod okrajem potřená bílou vazelínou, aby nedocházelo k jejich úniku.



Obrázek 25 – „Postřikovací tunel“

Před samotným postřikem byl filtrační papír zvážen, poté bylo otvorem v plachtě zhruba sedmkrát až desetkrát provedeno stříknutí insekticidu na protější stranu napnuté plachty. Odtud odkapával do nádoby s octomilkami a na filtrační papír, který sloužil, jako kontrola množství nastříkaného insekticidu (aplikace byla ukončena v momentě, kdy byl filtrační papír vlhký). Po tomto procesu byl filtrační papír opět zvážen a zaznamenán rozdíl mezi váhami.



Obrázek 26 – nádoba s buničitou vatou a Petriho miska s filtračním papírem před provedením postřiku

#### 4.2.4 Statistické metody

##### Fenologie

V souvislosti s monitoringem byl rovněž vyhodnocen vliv vzdálenosti od okraje pole na početnost jedinců. Tato závislost byla zhodnocena jednofaktorovou analýzou variance pomocí programu GraphPad InStat 3. Rozdíly mezi jednotlivými vzdálenostmi byly testovány za období sedmi týdnů za použití Bartlettova testu.

Zhodnocen byl rovněž i příchod snovaček na sledovanou lokalitu. V tomto případě bylo sledováno, zda se snovačky od okraje přesouvají postupně, či obsadí celou plochu pomocí takzvaného „ballooningu“. Plocha byla pro tyto účely rozdělena na dvě části (0 – 4 m od okraje a 8 – 12 m od okraje) a následně sledována ve dvou intervalech (1 – 3 týden a 4 – 6 týden). Efekt byl následně vyhodnocen pomocí programu GraphPad InStat 3, konkrétně Chi-square testem.

##### Parametry ontogeneze

Součástí hodnocení fenologie byl i experiment týkající se kokonů v laboratorních podmínkách, do něhož byly zapojeny dvě skupiny. První skupina s kokony vytvořenými v přírodních podmínkách čítala 20 jedinců, druhá skupina pak kokony vytvářela v laboratorních podmínkách a zařazeno do ní bylo 10 jedinců. V tomto případě byl nejprve vyhodnocen rozdíl v rámci líhnutí a to pomocí programu GraphPad InStat 3, použitím Chi-square testu.

Ve druhé části pak byla vyhodnocena fertilita v obou skupinách. Rovněž v tomto případě byl využit program GraphPad InStat 3, rozdíl samotný byl následně testován pomocí neparametrického Mann-Whitneyho testu.

### **Ontogeneze a přežívání**

Experiment vlivu neonikotinoidů byl vyhodnocen ve dvou rovinách. Nejprve na úrovni přežívání a následně byl sledován dopad ošetření na průměrné přírůstky. V obou těchto případech byly využity experimentální skupiny a kontrolní skupina o počtu 20 jedinců.

#### **Přežívání**

Efekt byl vyhodnocen pomocí programu GraphPad InStat 3. Rozdíly v přežívání byly testovány ve 4. týdnu a 16. týdnu pomocí Chi-square testu.

#### **Přírůstky**

Efekt byl vyhodnocen pomocí programu GraphPad InStat 3. Před samotným vyhodnocením však byly údaje z měření převedeny z reálných čísel na procenta a pro účely grafu přírůstků v čase došlo ještě k úpravě přičteným číslem jedna a následnou logaritmickou transformací. Rozdíly v přírůstcích byly testovány rovněž ve 4. týdnu a 16. týdnu.

Vyhodnocení vlivu postřiků (actara, biscaya, confidor a mospilan) bylo provedeno pomocí neparametrického Kruskal-Wallisova testu, a to z důvodu, že získaná data neprošla testem normality. Obdobně i ošetření tarsálním kontaktem (mospilan) a opakovaně ošetřenou potravou (mospilan), bylo vyhodnoceno, z téže důvodu, pomocí neparametrických metod, v tomto případě však pomocí Mann-Whitneyho testu.

V souvislosti s přírůstky byla provedena ještě analýza základních a finálních vah, aby bylo zhodnoceno, zda nebyl signifikantní rozdíl mezi skupinami už zpočátku experimentu. V tomto případě byly postřiky vyhodnoceny parametrickou jednofaktorovou analýzou variance pomocí Bartlettova testu. Počáteční váhy u skupin ošetřených tarsálním kontaktem a

ošetřenou potravou byly následně vyhodnoceny parametrickou jednofaktorovou analýzou variance avšak pomocí nepárového t-testu.

### **Hormeze**

Možný hormetický efekt byl vyhodnocen pomocí programu GraphPad InStat 3. Nejprve byly porovnány základní a finální váha parametrickou jednofaktorovou analýzou variance avšak pomocí nepárového t-testu. Následně byla do testování zahrnuta i data ze čtvrtého týdne a porovnána s finální a základní váhou pomocí neparametrického Kruskal-Wallisova testu.

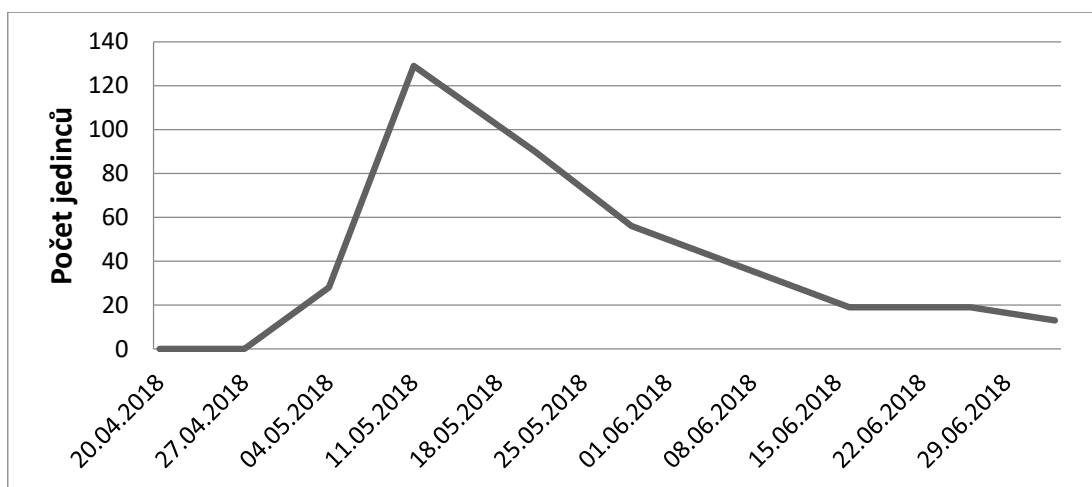
V případě detailnější analýzy mospilanu byl vyhodnocen vliv při tarsálním kontaktu a zkrmování ošetřené potravy parametrickou jednofaktorovou analýzou variance pomocí Bartlettova testu.

## 5 Výsledky

### 5.1 Fenologie

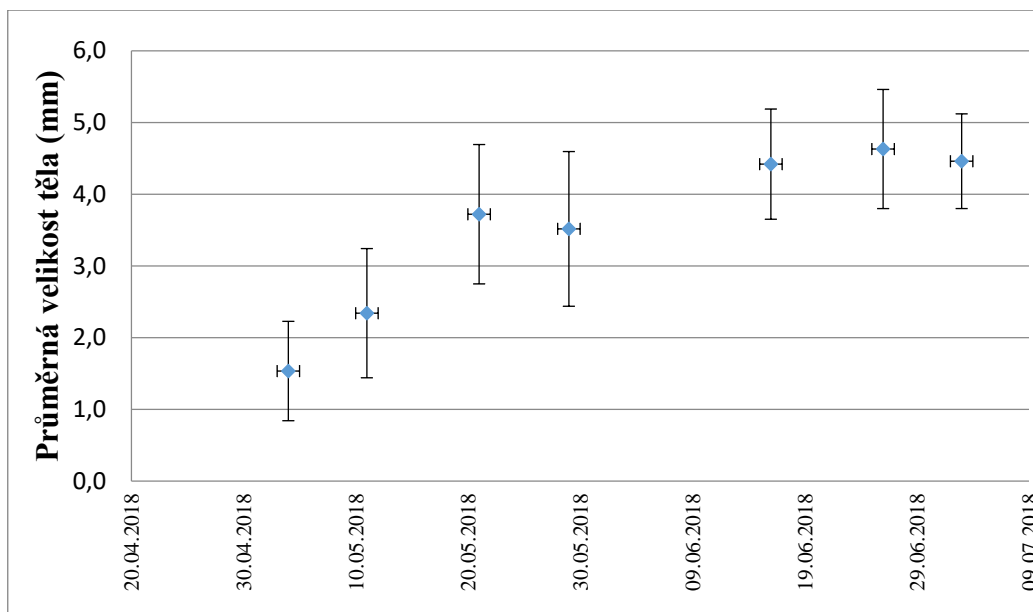
#### Monitoring

První výskyt *P. impressa* na sledovaném poli byl zaznamenán k datu 27.4.2018, kdy jsme vytyčili monitorovací místa. Samotný monitoring populace následně probíhal od 4.5.2018 do 10.7.2018, kdy bylo pole sklizeno.



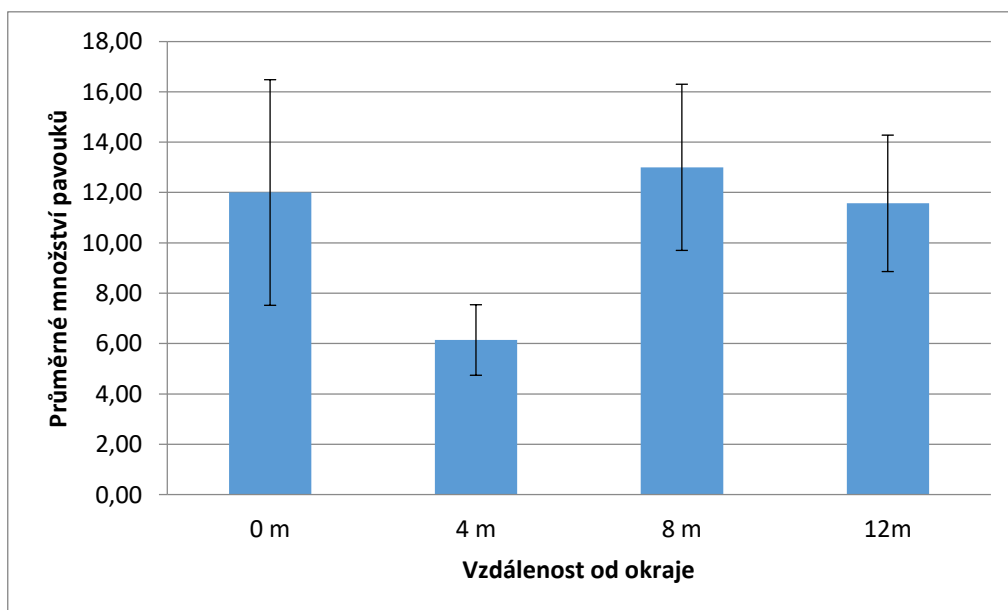
Obrázek 27 – Graf početnosti jedinců na monitorovacích místech v čase

Populace *P. impressa* narůstala na počátku sezóny velmi rychle, na sledované ploše dosáhla peak hodnoty 11.5.2018, kdy bylo zaznamenáno 129 jedinců. Od tohoto data docházelo ke stabilnímu poklesu až na úroveň 13 jedinců nalezených 3.7.2018, kdy skončilo monitorovací období.



Obrázek 28 – Graf průměrné velikosti těla jedinců na monitorovací ploše v čase

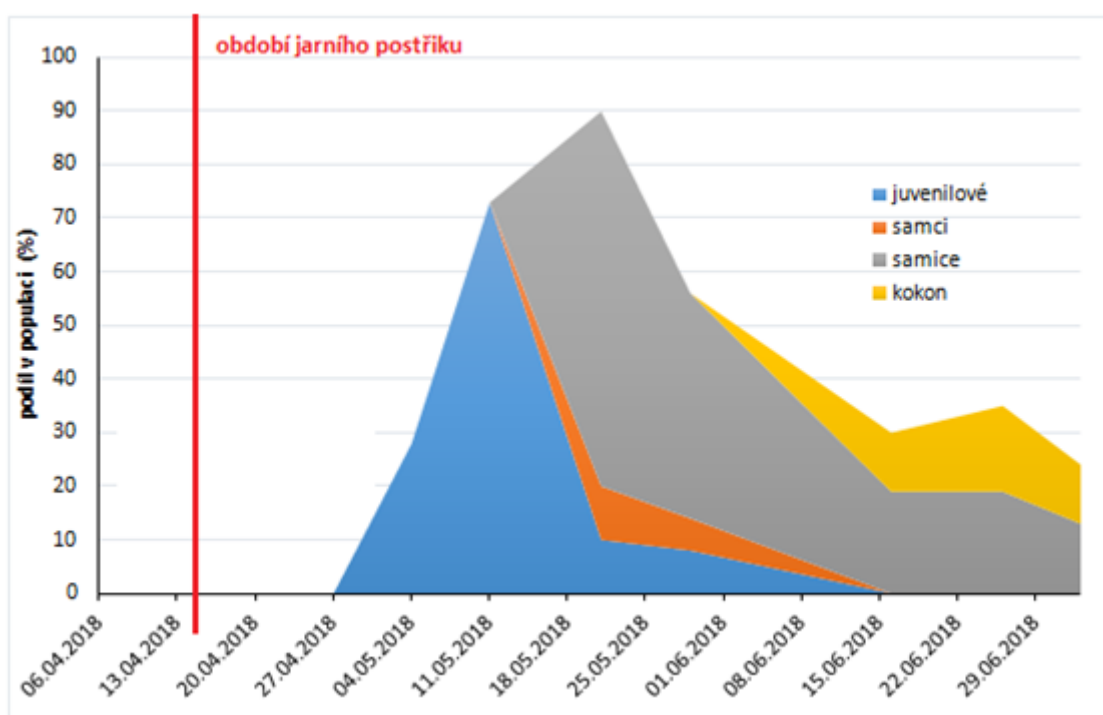
Velikost těla pavouků se pohybovala od hodnoty jednoho po pět milimetrů. K nejprudšímu růstu došlo v prvním měsíci, tedy z kraje sezóny, kdy průměr velikosti narostl od 1,5 mm na úroveň 3,7 mm. Největší zastoupení plně vzrostlých jedinců bylo zaznamenáno na přelomu června a července, kdy se průměrná velikost pohybovala okolo hodnoty 4,5 mm (rozmezí hodnot 4,4 mm – 4,6 mm). Maximální hodnota byla zaznamenána k datu 26.6.2018, kdy se na sledované ploše objevil pavouk o velikosti těla šest milimetrů.



Obrázek 29 – Graf průměrného počtu jedinců v prostoru za celé období

Nejvyšší abundance snovaček v celém časovém úseku se vyskytovala ve vzdálenosti osm metrů od okraje pole. Maximální počet na jednom pásu činil 27 jedinců, což byl počet zaznamenaný u okraje i ve vzdálenosti osm metrů, naproti tomu nejnižší maximum (14 jedinců) bylo vyzorováno ve vzdálenosti čtyř metrů. Rozdíl mezi jednotlivými vzdálenostmi za celé období nebyl signifikantně rozdílný ( $N = 7$ ; ANOVA = 6,60;  $p = 0,43$ ).

Při porovnání zastoupení snovaček v čase a prostoru, nebyl shledán signifikantní rozdíl, mezi vnější a vnitřní polovinou sledované oblasti po třech a šesti týdnech ( $\chi^2 = 1,26$ ,  $p = 0,26$ ).



Obrázek 30 – Graf fenologie *P. impressa* v průběhu sezóny

Juvenilní jedinci se na poli prvně objevili okolo data 27.4.2018. V populaci převažovalo jejich zastoupení v první polovině května. 11.5.2018 byl zaznamenán první subadultní samec, přičemž od data 21.5.2018 docházelo k dospívání celé populace a zastoupení juvenilních jedinců začalo prudce klesat. Následně na monitorované ploše výrazně převažoval počet samic oproti samcům. 16.6.2018 se objevily první kokony, jejichž množství v následujících dnech výrazně stouplalo, a 26.6.2018 byl zaznamenán i první otevřený kokon s novou generací juvenilních jedinců.

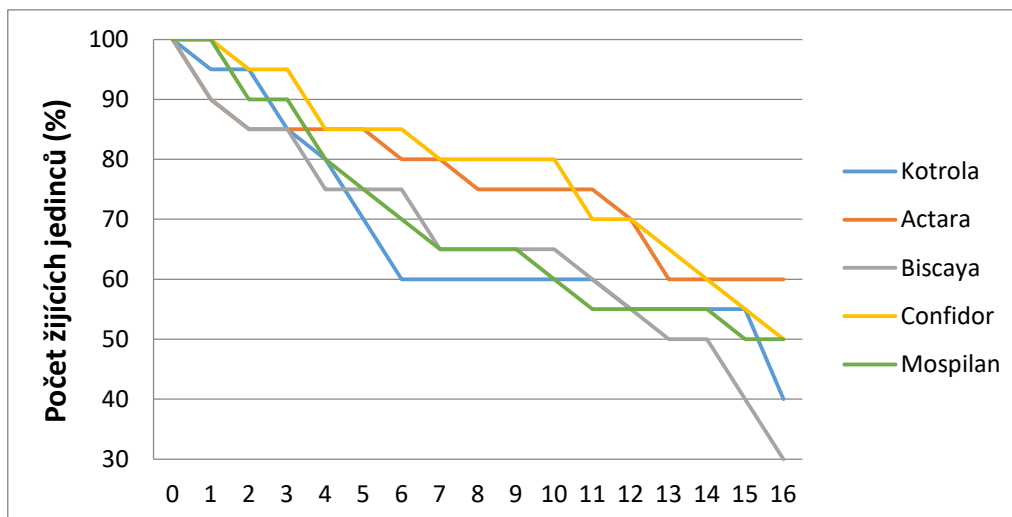
## Parametry ontogeneze

V laboratorních podmínkách došlo ve skupině samic odebraných v přírodě s kokony (N = 20) k líhnutí u 85%, přičemž bylo vytvořeno 100% kokonů, zatímco u skupiny vytvářející kokony v laboratorních podmínkách (N = 10) bylo zaznamenáno líhnutí pouze u 60%, přičemž bylo vytvořeno 90% kokonů. Tento rozdíl nebyl vyhodnocen, jako signifikantní ( $\chi^2 = 0,006$ ,  $p = 0,93$ ). Fertilita v obou skupinách byla naproti tomu vyhodnocena jako velmi signifikantní ( $U' = 91,50$ ;  $p = 0,005$ ).

## 5.2 Vliv neonikotinoidů na ontogenezi a přežívání

### 5.2.1 Vliv postřiku na ontogenezi a hmotnostní přírůstek

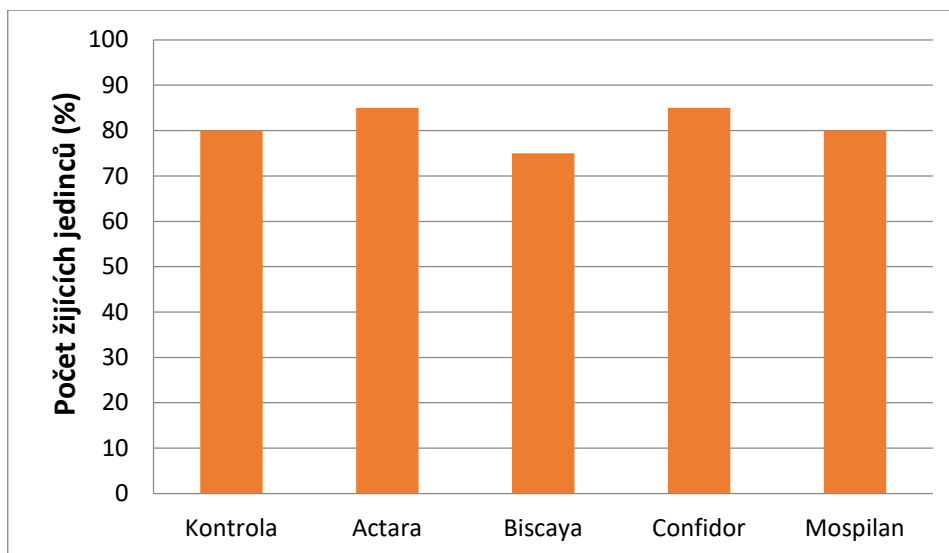
#### Přežívání



Obrázek 31 – Graf počtu žijících jedinců v průběhu sledovaného období u snovaček ošetřených postřikem

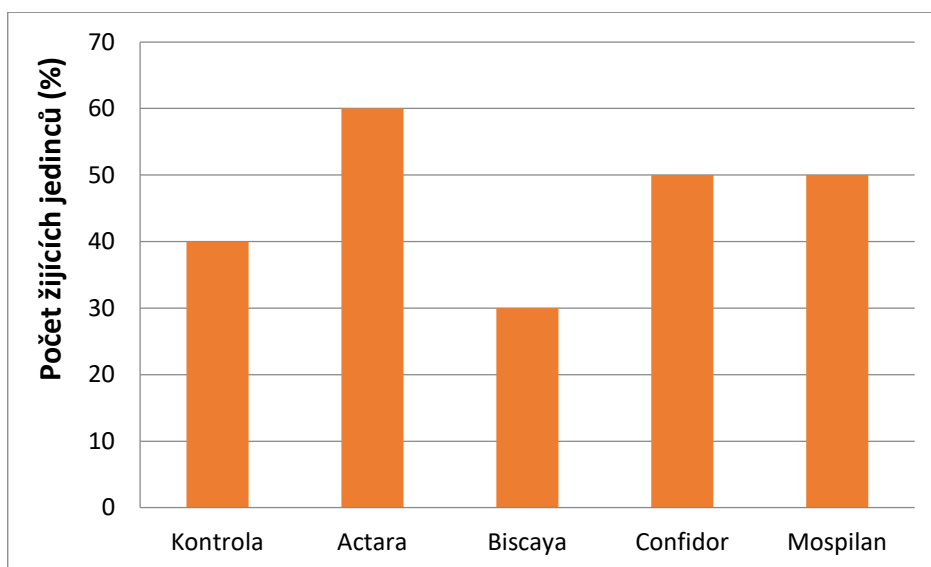
K přímému ovlivnění přežívání v důsledku působení neonikotinoidů nedošlo. Mortalita se za celé období držela na úrovni kontrolní skupiny v přirozeném trendu bez výraznějších vln úhynů.





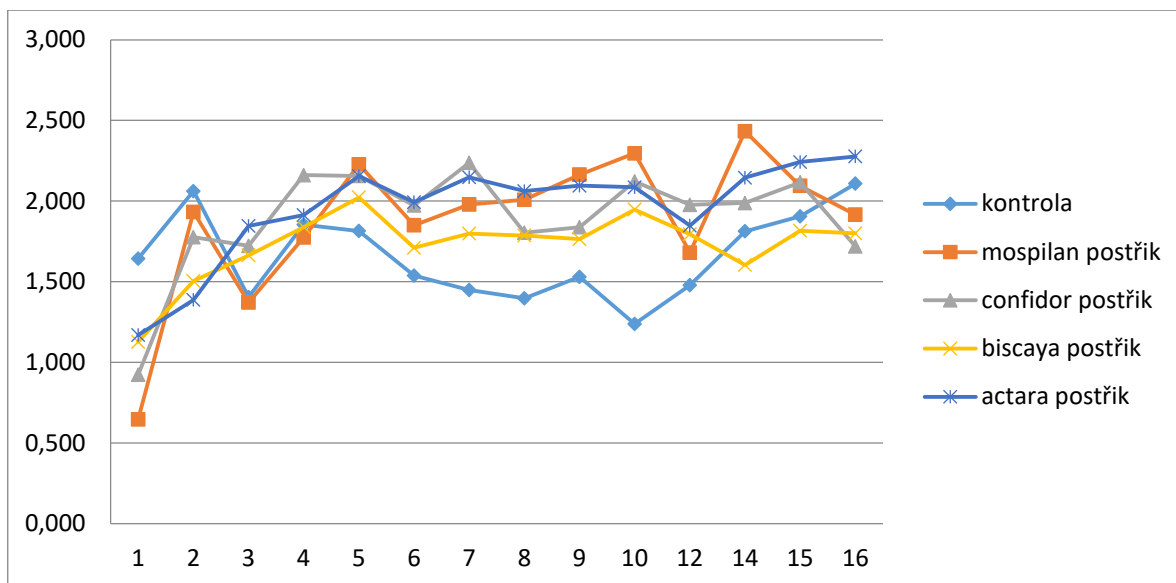
Obrázek 32 – Graf přežívání ve 4. týdnu u snovaček ošetřených postříkem

Průměrné přežívání po čtyřech týdnech činilo v kontrolní skupině 80% (N = 20) a signifikantně se nelišilo od skupin ošetřených neonikotinoidy: actara a confidor ( $\chi^2 = 0,17$ ,  $p = 0,67$ ); biscaya ( $\chi^2 = 0,14$ ,  $p = 0,70$ ); mospilan byl shodný s kontrolní skupinou (Obrázek 39).



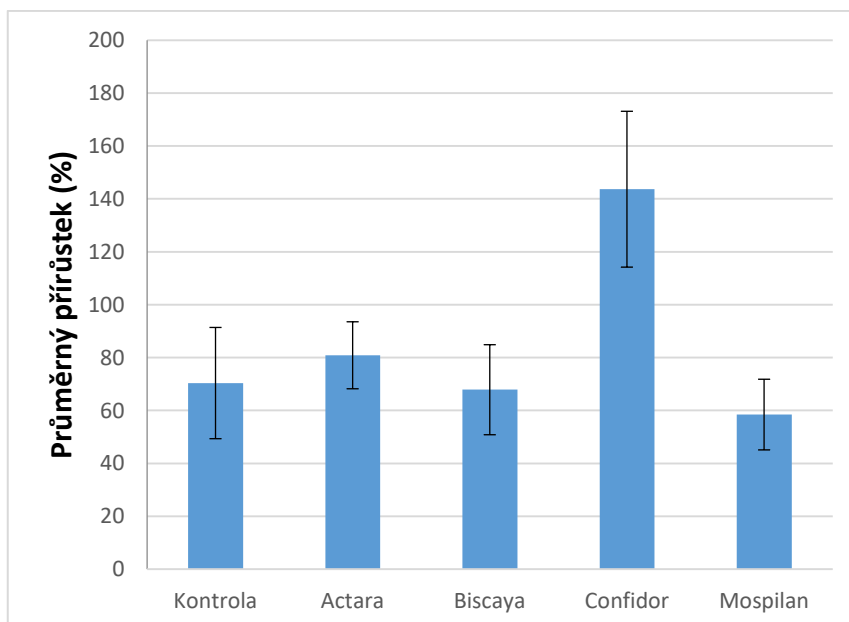
Obrázek 33 – Graf přežívání v 16. týdnu u snovaček ošetřených postříkem

Po 16 týdnech činilo přežívání v kontrolní skupině 40% (N = 20) a signifikantně se nelišilo od skupin ošetřených neonikotinoidy: actara ( $\chi^2 = 0,90$ ,  $p = 0,34$ ); biscaya ( $\chi^2 = 0,10$ ,  $p = 0,74$ ); confidor a mospilan ( $\chi^2 = 0,10$ ,  $p = 0,75$ ), obrázek 33).



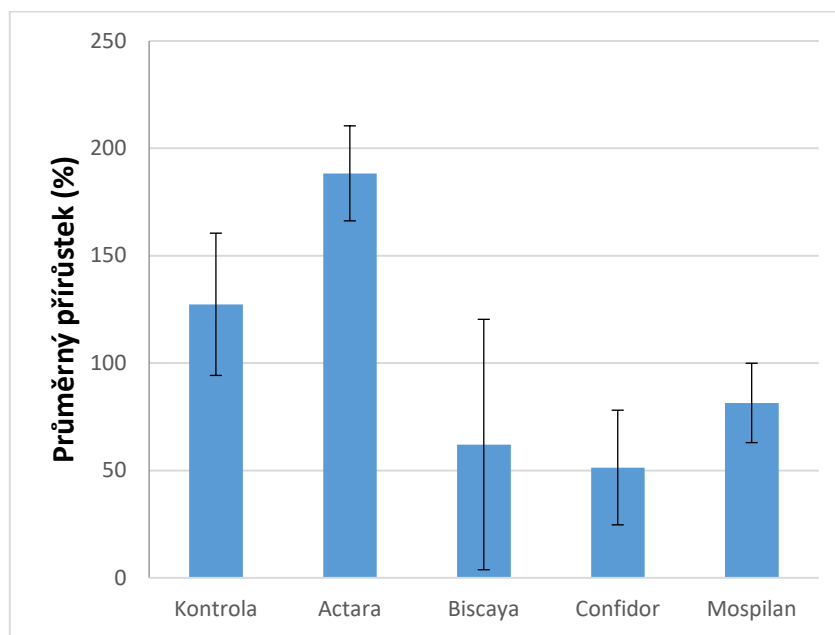
Obrázek 34 – Graf průměrných hmotnostních přírůstků u snovaček ošetřených postřikem v rámci sledovaného období

Změny hmotnosti se obecně pohybovaly ve vlnách, kdy jeden týden došlo k nárůstu a následující naopak zase k poklesu a výraznější trend byl zaznamenán až v posledních šesti týdnech. Na konci období nejvyšší průměrné přírůstky vykazovala skupina ošetřená Actarou a naopak nejnižší skupina ošetřená Confidorem, avšak při hodnocení celého období platilo, že nejnižší průměrné přírůstky vykazovala kontrolní skupina.



Obrázek 35 – Graf průměrných hmotnostních přírůstků ve čtvrtém týdnu u snovaček ošetřených postřikem

Ve čtvrtém týdnu byl nejvýraznější nárůst zaznamenán u skupiny ošetřené Confidorem, kde dosáhl dvojnásobné hodnoty v porovnání s kontrolou. Naopak nejnižší v případě Mospilanu. Obecně se v této době průměrné procentuelní přírůstky u ošetřených skupin držely na hodnotách blízkých kontrolní skupině, při statistickém vyhodnocení platilo, že rozdíly mezi jednotlivými skupinami nejsou signifikantní ( $N = 20$ ;  $KW = 6,46$ ;  $p = 0,16$ ).



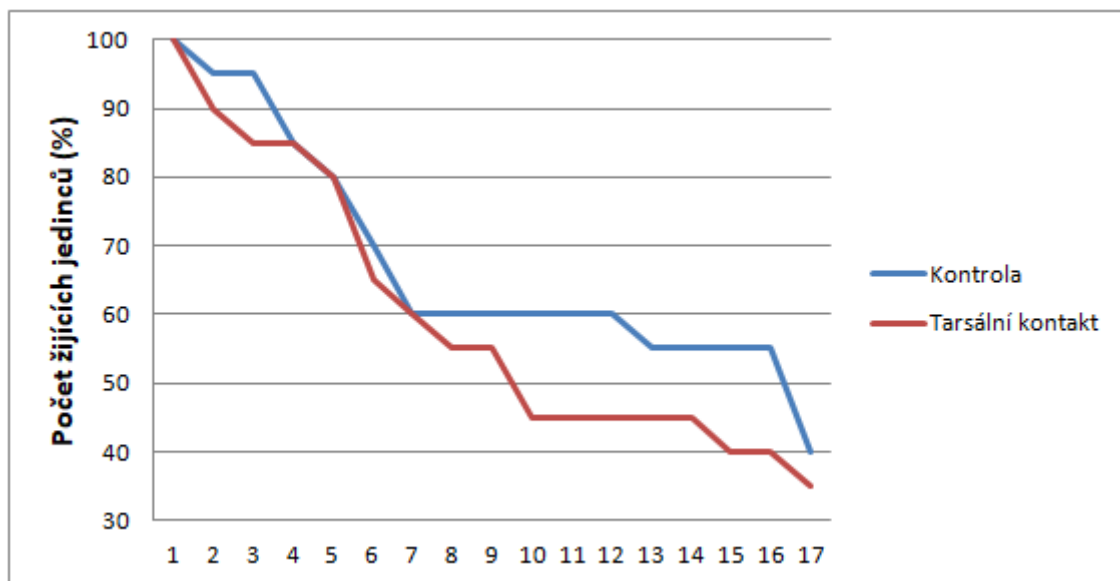
Obrázek 36 – Graf průměrných hmotnostních přírůstků ve čtvrtém týdnu u snovaček ošetřených postřikem

V šestnáctém týdnu už byla nicméně situace odlišná. Nejvyšších procentuelních přírůstků dosáhla skupina ošetřená Actarou, která dosáhla trojnásobku hodnot v porovnání s Biscayou a Confidorem a dvojnásobku v porovnání s Mospilanem. Rovněž kontrola výrazně předčila tyto skupiny, když dosáhla dvojnásobných hodnot oproti Biscaye a Confidoru. V tomto případě byl prokázán velmi signifikantní rozdíl mezi Actarou a Biscayou s Confidorem ( $N = 20$ ;  $KW = 14,93$ ;  $p = 0,004$ ).

### 5.2.2 Mospilan – detailní analýza

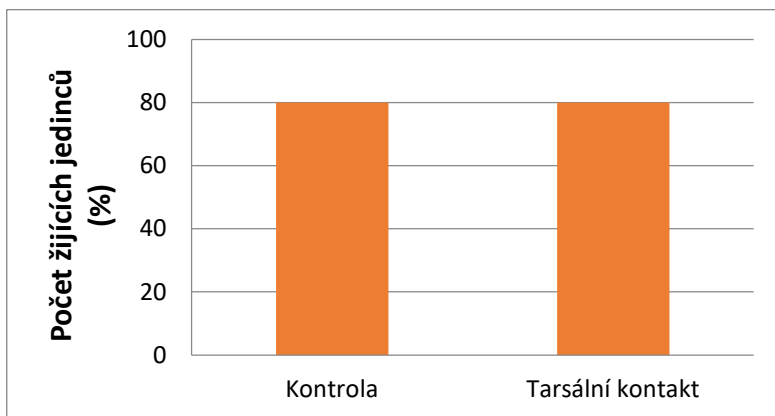
Vliv mospilanu ve formě postřiku byl součástí analýz v předchozí podkapitole, níže jsou z tohoto důvodu uvedeny pouze výsledky ošetření tarsálním kontaktem a krmením ošetřené potravy.

#### Mospilan – tarsální kontakt



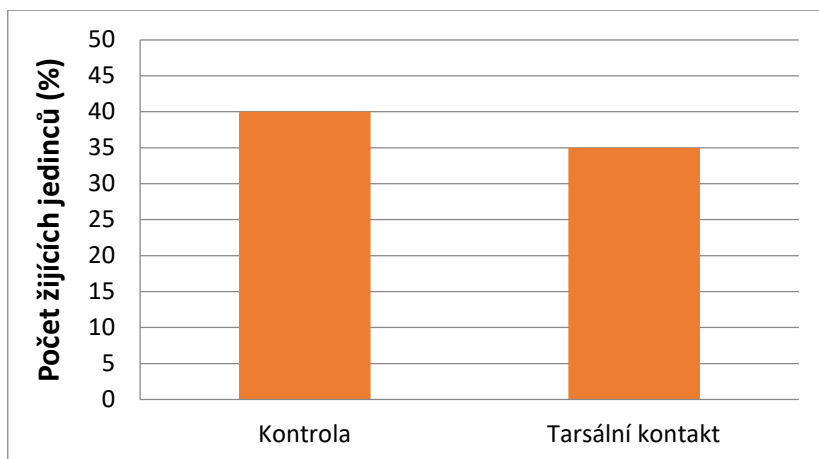
Obrázek 37 – Graf přežívání snovaček v průběhu času u mospilanu podaného tarsálním kontaktem

K přímému ovlivnění přežívání v důsledku působení neonikotinoidů nedošlo při tarsálním kontaktu. I v tomto případě, obdobně jako u postřiků platilo, že mortalita je přibližně shodná s kontrolou a víceméně plynulá.



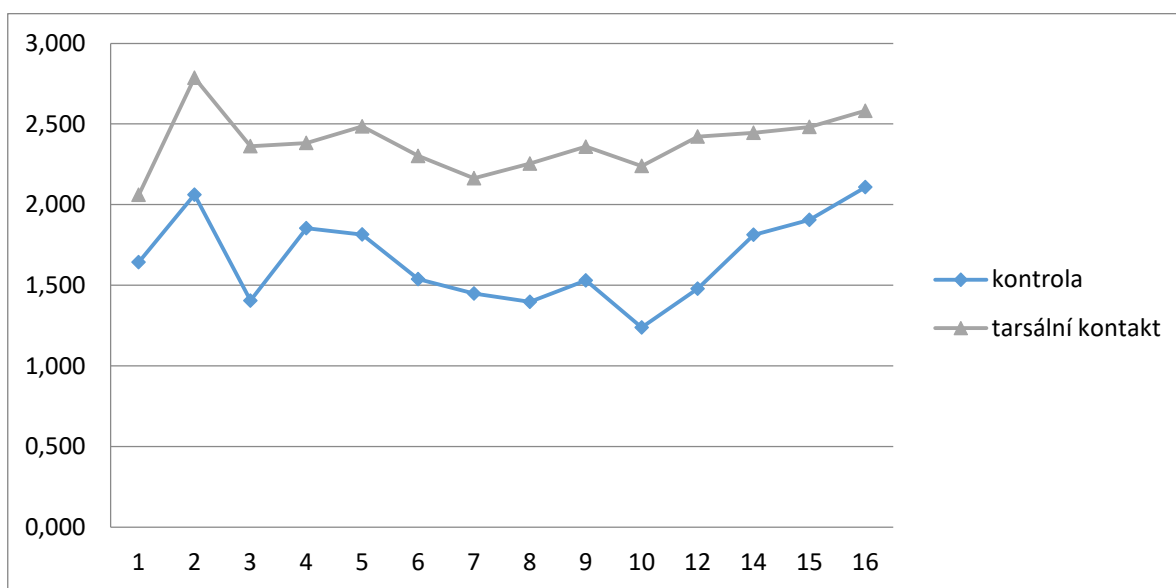
Obrázek 38 – Graf přežívání ve 4. týdnu u snovaček ošetřených tarsálním kontaktem

Ve čtvrtém týdnu bylo přežívání ošetřované skupiny (mospilan – tarsální kontakt) zcela shodné s kontrolní skupinou, a sice 80% (N = 20). Platí tak, že mezi oběma skupinami není žádný signifikantní rozdíl.



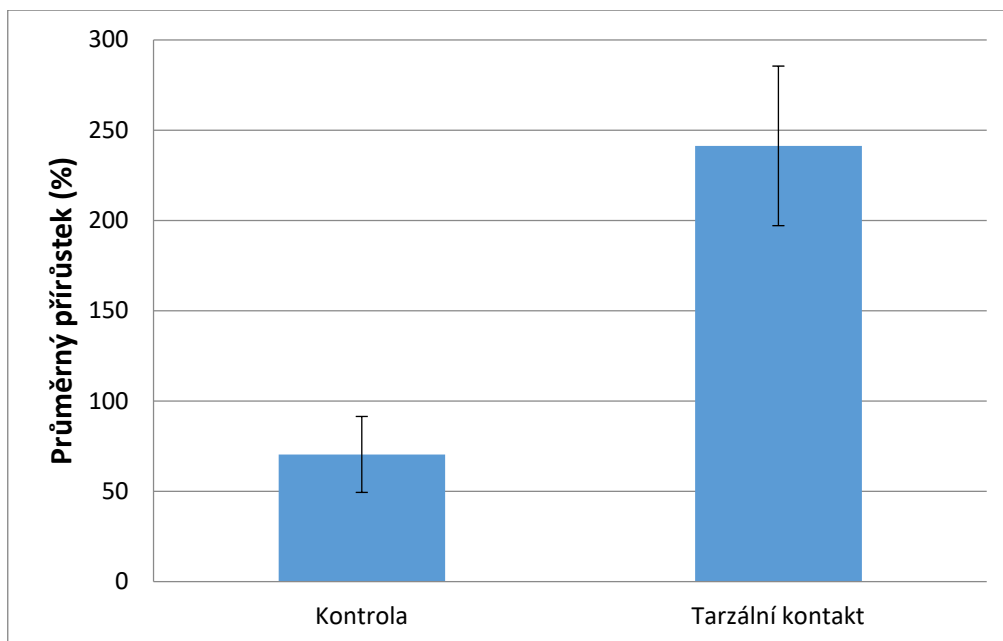
Obrázek 39 – Graf přežívání v 16. týdnu u snovaček ošetřených tarsálním kontaktem

V šestnáctém týdnu přežívalo v kontrolní skupině 40% (N = 20), zatímco v ošetřené skupině 35% (N = 20), ani v tomto případě tak mezi oběma skupinami nebyl sginifikantní rozdíl ( $\chi^2 = 0,10$ ,  $p = 0,74$ ).



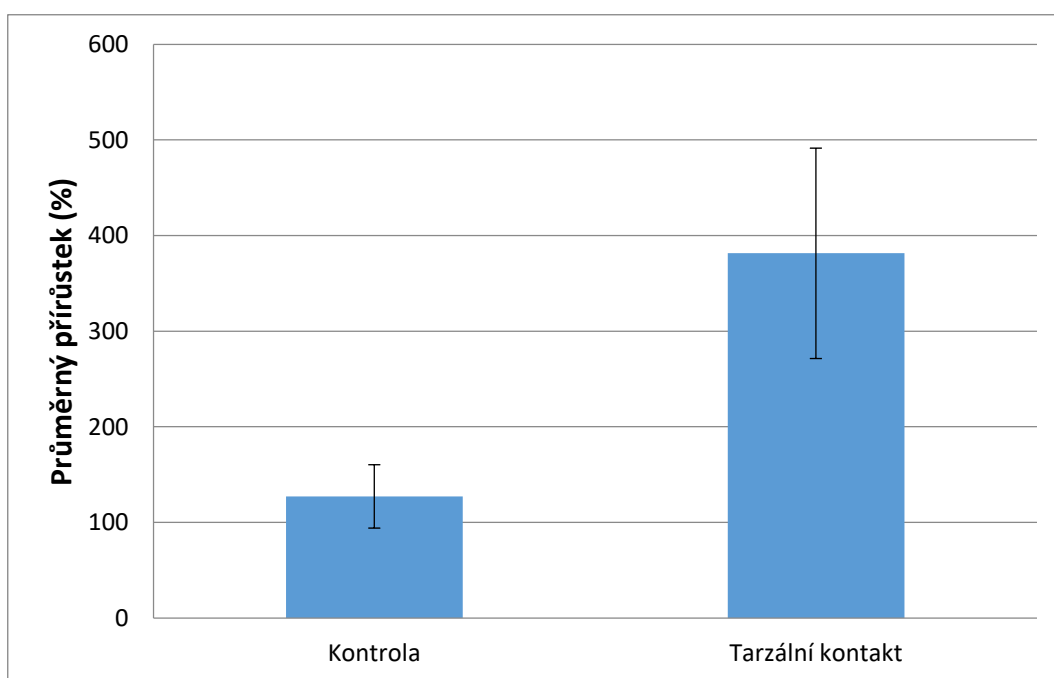
Obrázek 40 – Graf průměrných hmotnostních přírůstků v čase u snovaček ošetřených tarsálním kontaktem

Nárůst u ošetřené skupiny byl obecně vzato větší než u kontrolní skupiny. Od desátého týdne však dochází k výraznějšímu růstu kontroly, zatímco ošetřená skupina zůstává relativně stejná, respektive je možné vidět mírný nárůst.



Obrázek 41 – Graf průměrných hmotnostních přírůstků ve čtvrtém týdnu u snovaček ošetřených tarsálním kontaktem

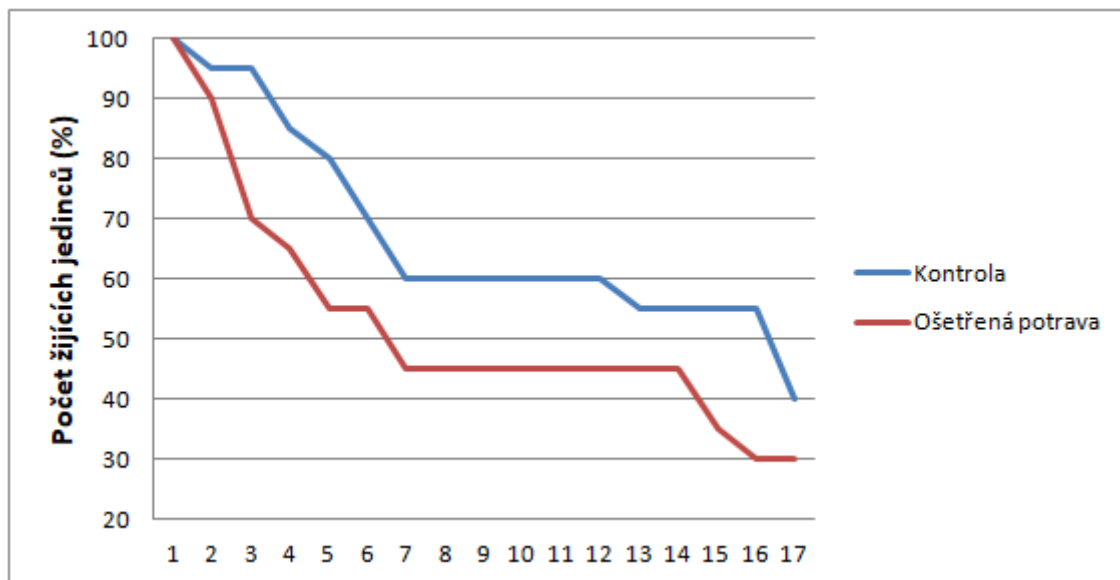
U ošetřené skupiny byl po měsíci výrazně vyšší nárůst než v případě kontrolní skupiny, a to více než trojnásobně. Rozdíl ošetřené skupiny ( $N = 20$ ) oproti kontrolní skupině ( $N = 20$ ) byl vyhodnocen jako extrémně signifikantní ( $U' = 220,50$ ;  $p = 0,0005$ ).



Obrázek 42 – Průměrné hmotnostní přírůstky v šestnáctém týdnu u snovaček ošetřených tarsálním kontaktem

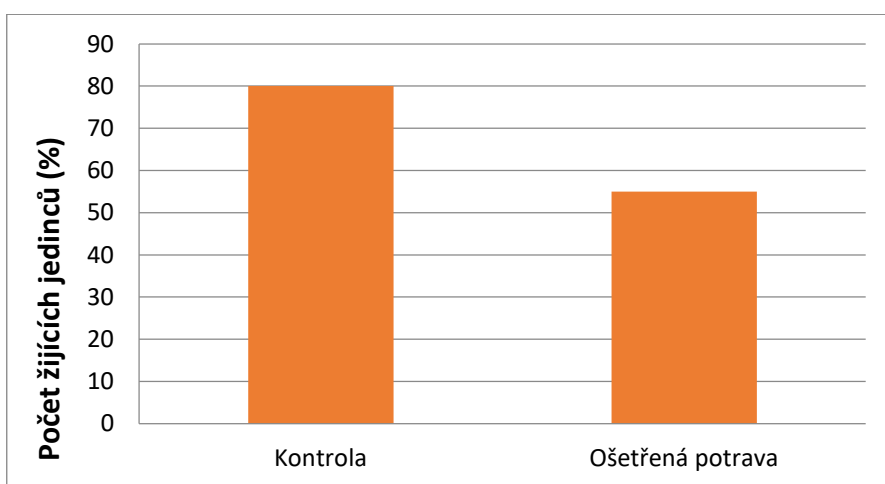
Taktéž v šestnáctém týdnu přetrvával signifikantní rozdíl mezi ošetřenou skupinou a kontrolní skupinou, třebaže došlo ke snížení poměru ( $U' = 46,00$ ;  $p = 0,04$ ).

### Mospilan – opakovaně ošetřená potrava



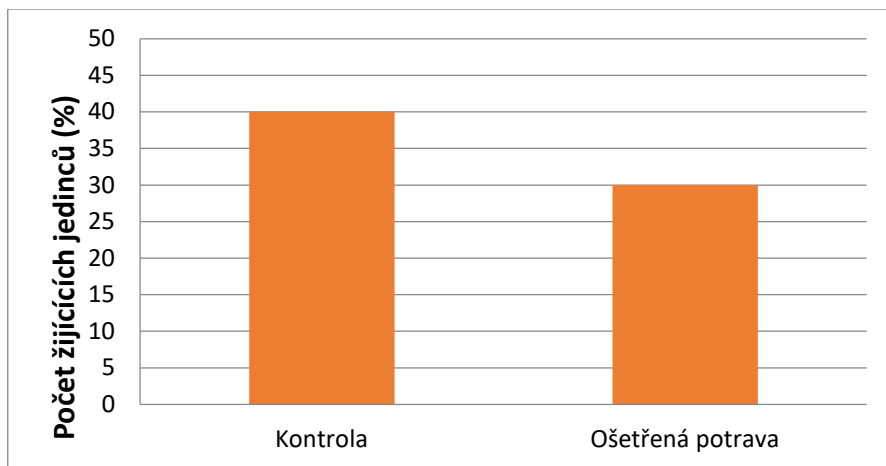
Obrázek 43 – Graf počtu žijících jedinců v čase u snovaček ošetřených opakovaně ošetřenou potravou

Pro opakovaně ošetřenou potravu platí, že došlo k prudké mortalitě v prvních čtyřech týdnech a následně se mortalita ustálila a v průběhu několika týdnů nedošlo k dalším úhynům. Obecně však platí, že se trend mortality shodoval s úhyny u kontrolní skupiny.



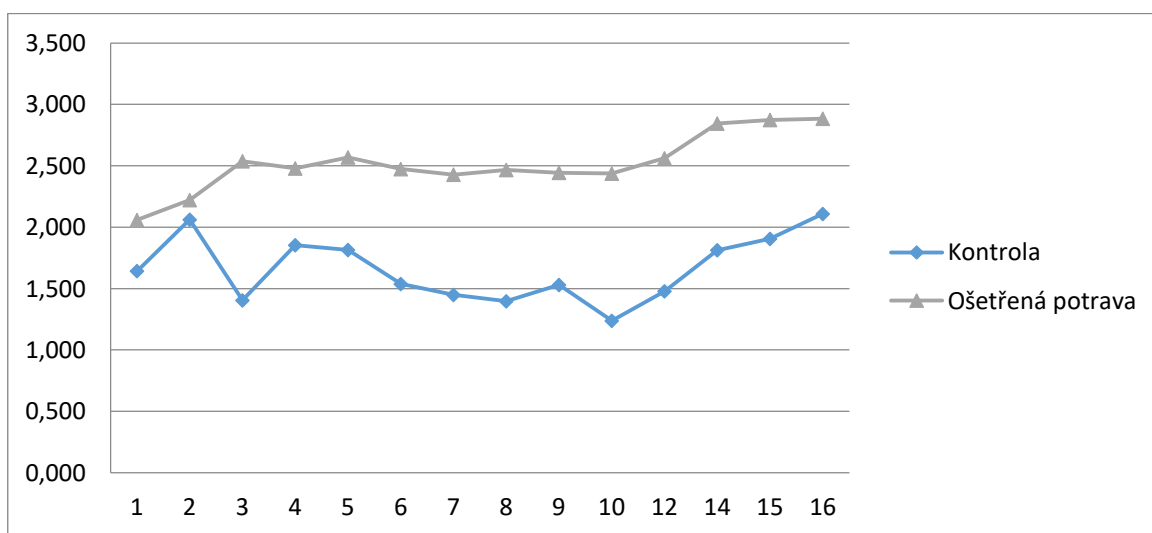
Obrázek 44 – Graf přežívání ve 4. týdnu u snovaček ošetřených opakovaně ošetřenou potravou

Ve čtvrtém týdnu přeživalo v kontrolní skupině 80% (N = 20), zatímco u ošetřené skupiny, již byla opakovaně podávána ošetřená potrava, žilo 55% (N = 20). Ani v tomto případě oběma skupinami nebyl shledán signifikantní rozdíl ( $\chi^2 = 1,82$ ,  $p = 0,17$ ).



Obrázek 45 – Graf přežívání v šestnáctém týdnu u snovaček ošetřených opakovaně ošetřenou potravou

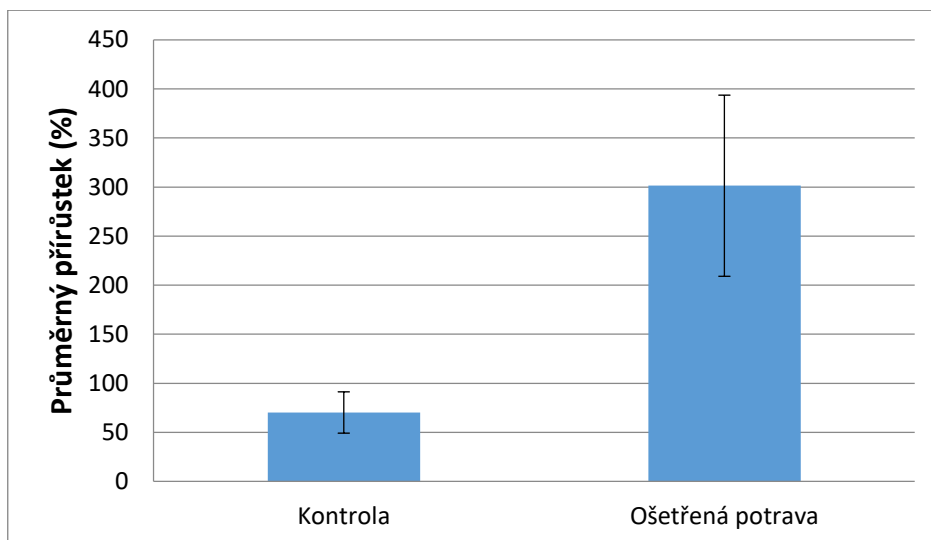
V šestnáctém týdnu přeživalo v kontrolní skupině 40% (N = 20), zatímco v ošetřené skupině 30% (N = 20), ani v tomto případě tak mezi oběma skupinami nebyl signifikantní rozdíl ( $\chi^2 = 0,10$ ,  $p = 0,74$ ).



Obrázek 46 – Graf hmotnostních přírůstků v čase u snovaček ošetřených opakovaně ošetřenou potravou

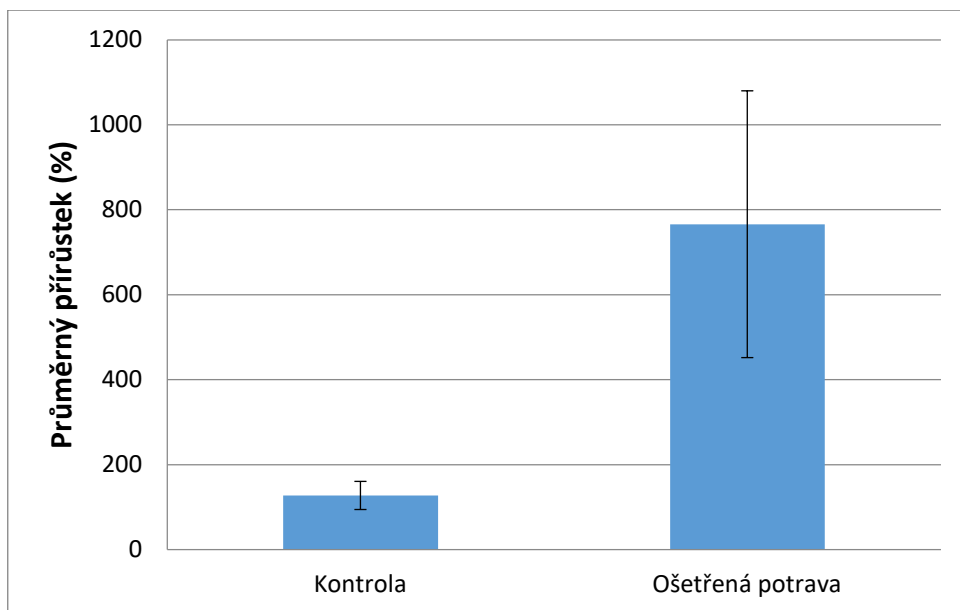


V případě opakovaného ošetření potravy byl trend u ošetřené skupiny relativně stálý. Průměrná zlogaritmovaná hodnota se pohybovala na takřka neměnné úrovni se stabilně mírně stoupajícím trendem. V porovnání s kontrolou pak platilo, že ošetřená skupina obecně vykazovala větší přírůstky.



Obrázek 47 – Graf průměrných hmotnostních přírůstků ve čtvrtém týdnu u snovaček ošetřených opakovaně ošetřenou potravou

Ve čtvrtém týdnu u opakovaně ošetřené potravy platilo, že průměrný přírůstek u ošetřené skupiny ( $N = 20$ ) dosahoval přibližně čtyřnásobné hodnoty, oproti kontrolní skupině ( $N = 20$ ). Rozdíl mezi ošetřenou skupinou a kontrolní skupinou byl vyhodnocen jako velmi signifikantní ( $U' = 144,00$ ;  $p = 0,004$ ).



Obrázek 48 – Graf průměrných hmotnostních přírůstků v šestnáctém týdnu u snovaček ošetřených opakovaně ošetřenou potravou

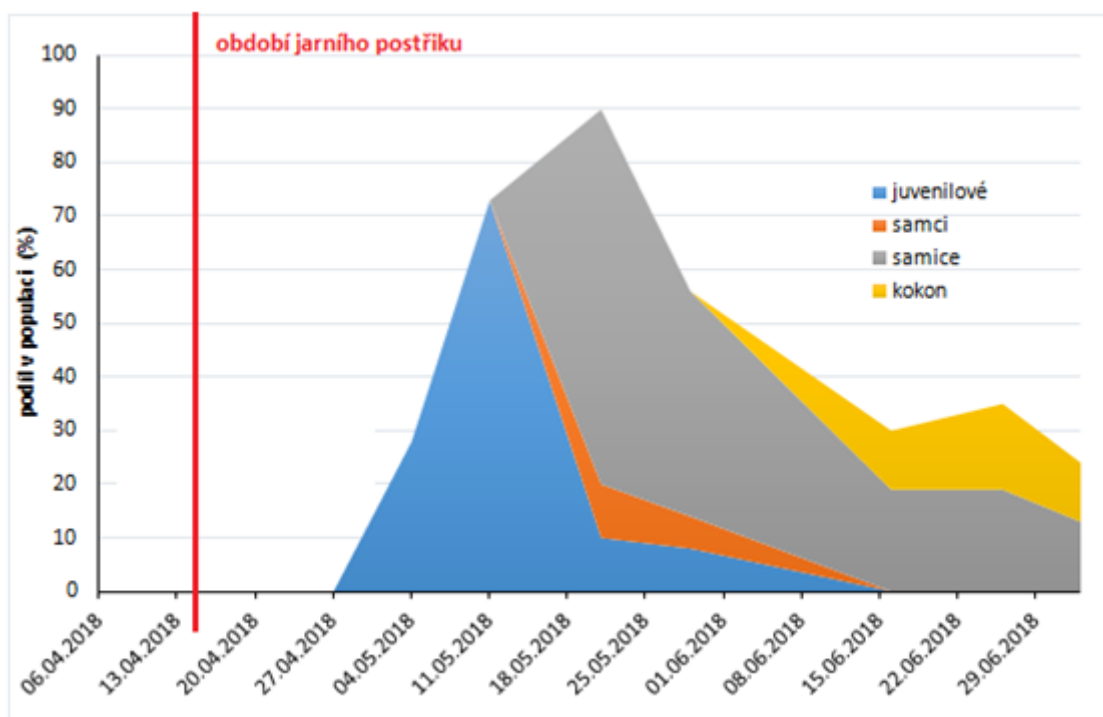
V závěrečném týdnu u kontroly došlo sice k nárůstu, ovšem ošetřená skupina i tak dosáhla zhruba šestinásobku průměrného přírůstku oproti kontrole. I v tomto případě byl rozdíl vyhodnocen jako signifikantní ( $U' = 43,00$ ;  $p = 0,01$ ).

## 6 Diskuze

### 6.1 Fenologie

#### Monitoring

Snovačky se na sledované lokalitě ve sledované sezóně poprvé objevily v posledním týdnu měsíce duben, což je zhruba dva týdny po termínu, kdy návod k použití udává datum provedení postřiku insekticidy na rostlinách řepky (*Agromanual.cz* [online]) (obrázek 49). Na lokalitu se dostaly pomocí takzvaného ballooningu, přičemž statistické analýzy nasvědčují tomu, že se snovačky tímto způsobem dostávají na celou plochu pole. Nelze tak prohlásit, že by zpočátku sezóny osídlily okraj pole a přesouvali se do jeho středu v následujících dnech.



Obrázek 49 – Graf fenologie *P. impressa* v průběhu sezóny

Jak je v souladu s Kůrka et al. (2015), samci dospívali dříve než samice a to přibližně okolo 11.5.2018, přibližně tedy týden před samicemi. Poté přicházel pokles početnosti populace, což bylo způsobeno jak úhyny (samci obecně přežívají kratší dobu), tak i faktem, že samci po dosažení dospělosti opouštějí síť a přesouvají se k rostlinám, na nichž se nacházejí samice.

První kokony se posléze objevovaly 16.6.2018, což je v rozporu s daty, která uvádí Kůrka et al. (2015), kde je uvedeno, že by se kokony měly začít objevovat až v rozmezí srpna

a září. Dřívější výskyt však mohl být způsoben odlišnou nadmořskou výškou a abnormálně suchým a teplým počasím v roce 2018. Rovněž je třeba pamatovat na to, že snovačky mohou za sezónu vytvářet víc než jeden kokon. K líhnutí kokonů následně docházelo relativně rychle, když byl první vylíhnutý kokon zaznamenán už 26.6.2018, tedy deset dní po zjištění prvních výskytů kokonů na lokalitě, v tuto dobu však bylo líhnutí ještě ojedinělé, a je tudíž možné, že se jednalo o dříve založený kokon.

### **Parametry ontogeneze**

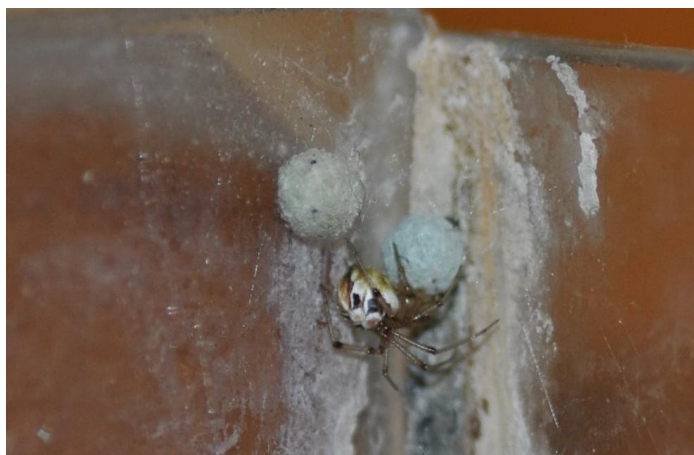
Na monitoring bezprostředně navázal laboratorní chov samic snovaček, kde byla studována fertilita jednotlivých kokonů a porovnání vlivu laboratorního chovu na líhnutí a počet juvenilních jedinců. Ve skupině s kokony odebranými v přírodě došlo k líhnutí 85% kokonů, nevylíhnutí kokonů u zbývajících samic mohlo být způsobeno jednak prodělaným stresem samic při odchytu, popřípadě poškozením kokonu při sběru v terénu. Faktem však zůstává, že dvě ze tří samic si kokonů od umístění do laboratorních podmínek nevšímaly. Ve druhé skupině byla situace odlišná, k líhnutí nedošlo téměř u poloviny samic (nevylíhlo se 40% kokonů), přičemž jedna kokon vůbec nevytvořila, z důvodu úhynu, k němuž došlo necelé tři týdny od odchytu. Snížené líhnutí u této skupiny mohlo být způsobeno sníženým příjmem potravy a vody, případně nepříznivým počasím, ostatně k úhynům docházelo i v chovech octomilek a dalších krmných organismů.

Stejně důvody mohly ovlivnit i následnou fertilitu projevující se počtem vylíhnutých juvenilních jedinců, kde byl na základě statistických testů signifikantní rozdíl mezi oběma skupinami. Nižší líhnutí u samic vytvářejících kokony mohlo nicméně být ovlivněno i stresem z odchytu.

Obecně samice v laboratoři byly schopné vytvořit pouze jeden kokon (všechny byly odchyceny v kulturním stádiu). Jedinou výjimku v tomto tvořila jedna samice ze skupiny „bez kokonu“, která jako jediná ze všech 30 vytvořila kokony dva v rozptylu 69 dnů, přičemž u obou bylo zaznamenáno líhnutí. Tvorba dvou kokonů však mohla být způsobena nízkým počtem juvenilních jedinců v obou případech, při prvním zaznamenaném líhnutí se totiž vylíhlo pouze 20 jedinců a při druhém jenom 10 jedinců (průměrné množství v obou skupinách společně se přitom pohybovalo mezi 45-55 juvenilů, přičemž nejvyšší zaznamenaný počet činil 65).

V průběhu odchovu jedinců bylo rovněž zaznamenáno několik poměrně zajímavých jevů. Jedním z nich byla situace, kdy jedna z chovaných samic sebrala kokon jiné uhynulé samice a nadále na něj dohlížela a střežila jej po dobu několika dní (Obrázek 50). Nepodařilo

se však zjistit, jestli se jednalo o altruismus, nebo měl kokon posloužit, jako potrava pro vlastní potomky, protože samice cizí kokon nakonec opustila, úřesto se o něj starala po dobu jednoho týdne. Altruistické sklony se patrně prokázaly ve vztahu samic k juvenilním jedincům, respektive juvenilům mezi sebou, v průběhu chovu jsem totiž zaznamenal, že mladé snovačky putují bez jakkoliv agresivní reakce mezi sítěmi různých samic a živí se tamní nachytanou potravou.



Obrázek 50 – Samice střežící dva kokony

Dalším zajímavým jevem, jenž byl v průběhu chovu snovaček *P. impressa* pozorován, byla tvorba kokonů u samic, které dospěly bez jediného kontaktu se samcem. K tomuto jevu došlo u obou samic, které v průběhu experimentu dosáhly dospělosti (jedna byla ošetřena confidorem, druhá mospilanem). Ani jeden z kokonů však nepřežil (první po čtyřech týdnech zanikl, druhý samice sama zničila po dvou týdnech), takže se nepodařilo zjistit, jestli se u tohoto druhu vyskytuje, doposud nezaznamenané, partenogenetické rozmnožování, či nikoliv.

## 6.2 Vliv neonicotinoidů na ontogenezi a přežívání

### 6.2.1 Vliv postřiku na ontogenezi a hmotnostní přírůstek

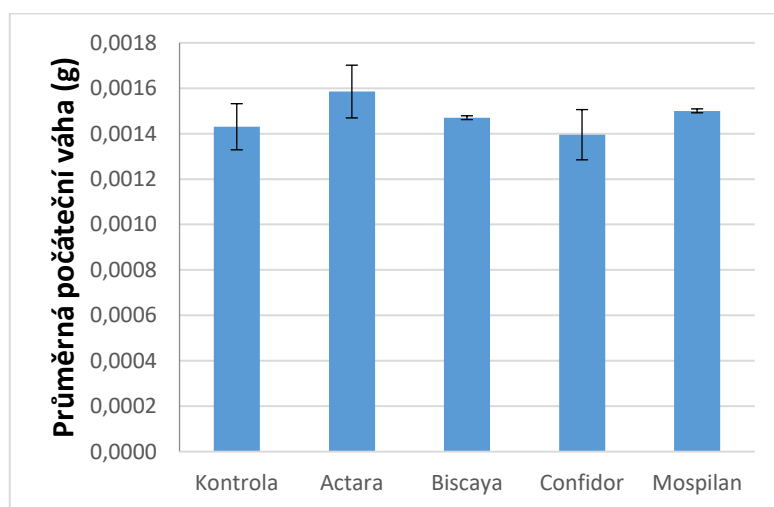
#### Přežívání

Nejprve byl sledován vliv neonicotinoidů na přežívání, respektive mortalitu, u skupiny ošetřené postřikem. V tomto případě platilo, že se ošetřené skupiny oproti kontrole v průběhu celé sezóny, jakož i v rámci čtvrtého a 16. týdne, signifikantně nelišily. Při porovnání se snovačkou *Latrodectus hesperus*, tedy zástupcem téže čeledi, avšak jiného rodu, ošetřované imidaclopridem, se mortalita při přímém postřiku držela na úrovni 33% po 24 hodinách (Gaver et Hansen, 2005). U snovaček rodu *Phylloneta* se tedy ukázala vyšší resistance vůči

neonikotinoïdům, což ovšem může být způsobeno nízkou dávkou neonikotinoïdu, alespoň tedy v případě imidaclopridu a mospilanu, kteréžto byly dávkovány ve množství určeném pro ovocné stromy a okrasné květiny, kde bývají insekticidy, jak uvádí agromanuál.cz, více ředěny (v poměru k zemědělským plodinám).

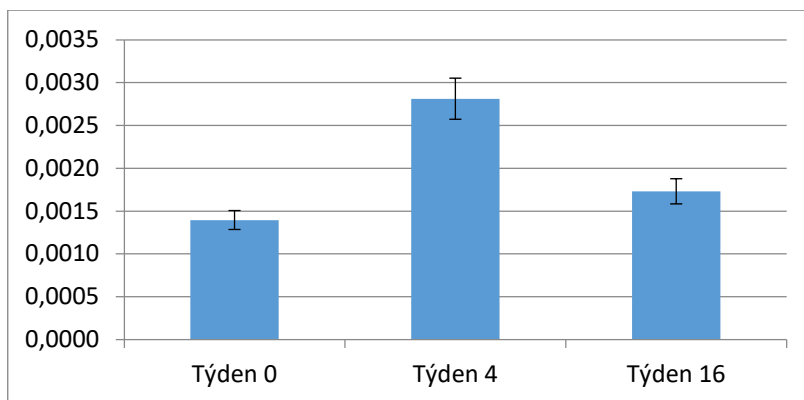
### Ontogeneze a hmotnostní přírůstek

Při zhodnocení ontogeneze a hmotnostního přírůstku už byla situace poněkud odlišná. Po čtyřech týdnech platilo, že rozdíl v růstu mezi skupinami (jednotlivými skupinami vzájemně a mezi ošetřenými skupinami a kontrolní skupinou) není signifikantní. Na konci sledovaného období, tedy po šestnácti týdnech, se však situace změnila a byl zaznamenán velmi signifikantní rozdíl mezi skupinou, která byla ošetřena actarou a skupinami ošetřenými biscayou a confidorem. To by mohlo svědčit o subletálním efektu v případě těchto dvou skupin. Zároveň by však rozdíl mohl být způsoben nižším množstvím přeživších jedinců v případě insekticidu biscaya, kterých v porovnání s actarou přežila pouze polovina. V případě confidoru mohl rozdíl být způsoben obecně menší hmotností jedinců na počátku experimentu.



Obrázek 51 – Graf porovnání počátečních vah u snovaček ošetřených postřikem

Z důvodu možného ovlivnění počáteční vahou byla ještě provedena analýza průměrných počátečních vah (obrázek 51). Ta ovšem v tomto případě nebyla signifikantně odlišná ( $N = 20$ ; ANOVA = 3,13;  $p = 0,71$ ), což by mohlo potvrdit subletální efekt, nicméně u kontrolní skupiny nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl oproti kterémukoliv z testovaných pesticidů.



Obrázek 52 – Graf porovnání vah na počátku, ve čtvrtém týdnu a šestnáctém týdnu u confidoru

Rozpětí přírůstků u postřiku confidor a jejich změny v průběhu času by mohly nasvědčovat výskytu takzvané hormeze, tedy hypotetického jevu, při kterém dochází k pozitivní reakci organismu na stopové množství látek, jež by byly ve vyšším množství pro organismus toxické (Mattson, 2008). Při srovnání počáteční a finální váhy nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl ( $N = 20$ ;  $t = 1,78$ ;  $p = 0,08$ ; obrázek 52), nicméně při srovnání vah ze čtvrtého týdne s počátečními a finálními váhami, už byl zaznamenán extrémně signifikantní rozdíl ( $N = 20$ ;  $KW = 24,34$ ;  $p = 0,0001$ ). Hormetický efekt je tedy u imidaclopridu a snovaček *P. impressa* možný.

## 6.2.2 Mospilan – detailní analýza

### Tarsální kontakt

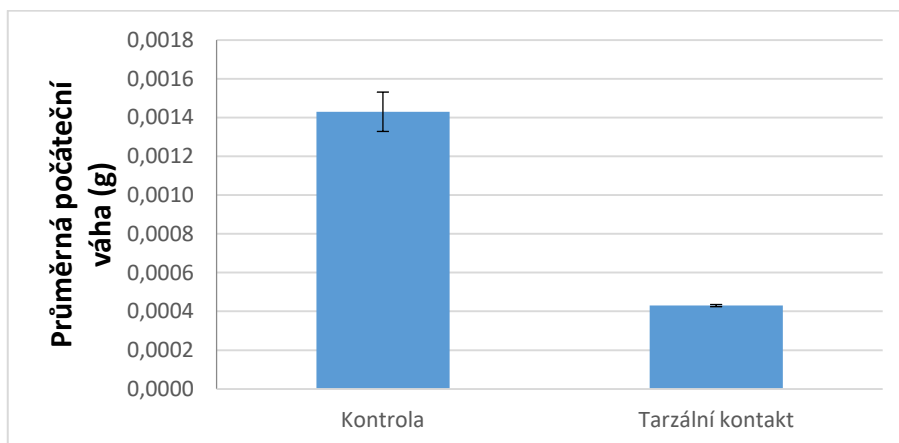
#### Přežívání

Obdobně, jako v případě postřiků, ani u ošetření mospilanem metodou tarsálního kontaktu nebyl mezi ošetřenou a kontrolní skupinou žádný signifikantní rozdíl. Ve čtvrtém týdnu byl počet přeživších jedinců zcela shodný a v šestnáctém týdnu v ošetřené skupině přežívalo pouze o jednu snovačku méně, než v kontrolní skupině. Platí tedy, že tarsální kontakt s mospilanem patrně nezpůsobuje přímou mortalitu, nicméně obdobně, jako u postřiků může být nesignifikantní dopad způsoben výrazněji zředěným množstvím.

#### Ontogeneze a hmotnostní přírůstek

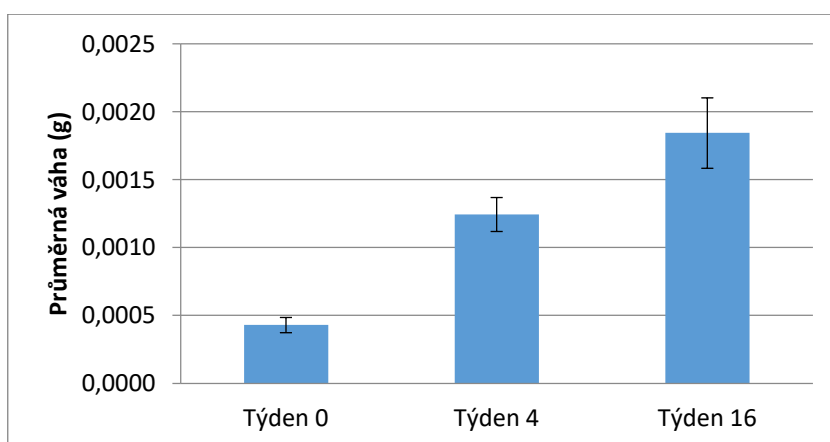
Při vyhodnocení vlivu na ontogenezi pak platilo, že je zde signifikantní rozdíl a to už po čtyřech týdnech, kdy rozdíl vyšel dokonce extrémně signifikantní, přičemž ošetřená skupina vykazovala výrazně větší nárůst, než kontrolní skupina. To však může být způsobeno faktem,

že v ošetřené skupině byly snovačky znatelně menší. Pokud jde o šestnáctý týden, ten už byl vyhodnocen pouze jako signifikantní. Pokles rozdílu v průběhu času by mohl opět nasvědčovat možný výskyt hormoneze, avšak může se jednat i o přirozený růstový trend, kdy dochází k prudšímu nárůstu v počátečních fázích vývoje.



Obrázek 53 – Graf porovnání počátečních vah u snovaček ošetřených mospilanem podaným tarsálním kontaktem

Statistické vyhodnocení prokázalo, že už na počátku experimentu byl mezi oběma skupinami extrémně signifikantní rozdíl ( $N = 20$ ;  $t = 8,59$ ;  $p = 0,0001$ ; obrázek 53), což mohlo do značné míry ovlivnit výsledky, avšak ani v pozdějších fázích nedošlo k vyrovnání finálních vah, třebaže k němu trend patrně směřoval, takže není možné úplně vyloučit subletální účinky.



Obrázek 54 – Graf porovnání vah na počátku, ve čtvrtém týdnu a šestnáctém týdnu u mospilanu podávaného tarsálním kontaktem



Při porovnání potenciálního hormetického efektu u tohoto typu ošetření ve stejném časovém intervalu, vyšel výsledek, jako extrémně signifikantní ( $N = 20$ ; ANOVA = 11,60;  $p = 0,0001$ ; obrázek 54), nicméně mezi čtvrtým a šestnáctým týnem došlo k výraznému poklesu, což by mohlo nasvědčovat existenci tohoto efekt, avšak rovněž by se mohlo jednat o již dříve zmíněnou přirozenou růstovou dynamiku.

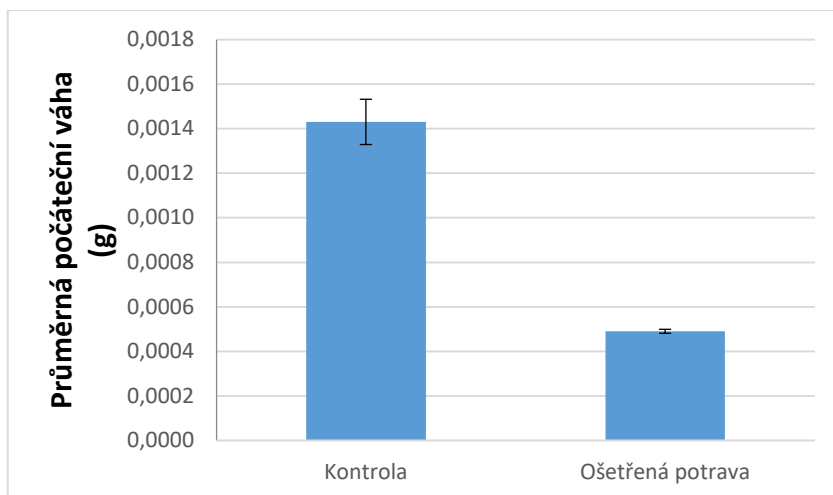
## **Ošetřená potrava**

### **Přežívání**

Ani v případě opakovaně ošetřené potravy nebylo přežívání ošetřené skupiny sledováno signifikantně odlišným od kontrolní skupiny, a to i přes poměrně výraznou úmrtnost v ošetřené skupině v prvních týdnech, kterážto mohla být způsobena nižší odolností menších jedinců. Signifikantní rozdíl nebyl zaznamenán ani v šestnáctém týdnu, kdy se přežívání dokonce přiblížilo kontrolní skupině, což by nasvědčovalo tomu, že zpočátku opravdu došlo k úhynu slabších jedinců, protože úhyny se až na pár výjimek týkaly snovaček s nejnižší váhou.

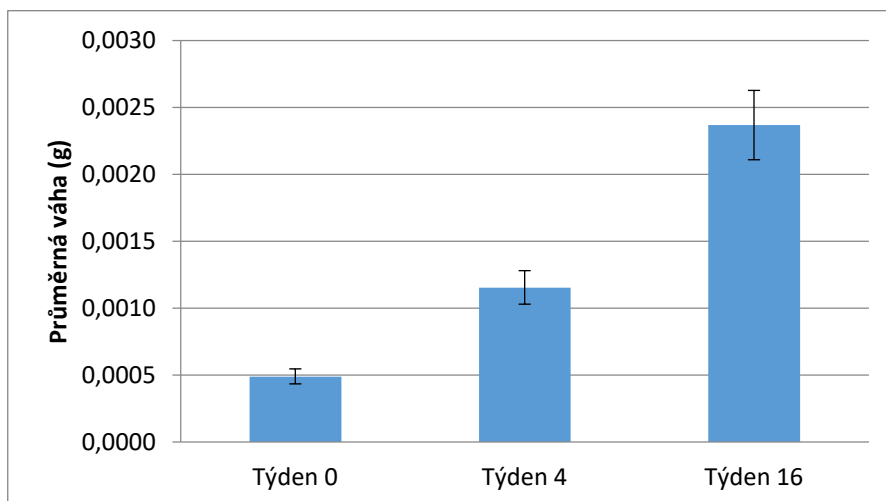
### **Ontogeneze a hmotnostní přírůstek**

Obdobně, jako v případě tarsálního kontaktu i u ošetřené potravy byl zaznamenán v přírůstcích ošetřené skupiny signifikantní rozdíl oproti kontrolní skupině. V tomto případě platilo, že rozdíl ve čtvrtém týdnu byl vyhodnocen, jako velmi signifikantní, zatímco v šestnáctém, jako signifikantní. Opět tedy došlo ke snížení rozdílu, což může nasvědčovat hormezi.



Obrázek 55 – Graf porovnání počátečních vah u snovaček ošetřených mospilanem podávaném v podobě potravy

Rovněž v tomto případě platilo, že už na počátku experimentu byl mezi oběma skupinami extrémně signifikantní rozdíl ( $N = 20$ ;  $t = 6,93$ ;  $p = 0,0001$ ; obrázek 55). Výsledky tak i v tomto případě mohly být do určité míry ovlivněny tímto faktem, na druhou stranu na rozdíl od tarsálního kontaktu, v tomto případě se finální váhy kontrolní skupiny a ošetřené skupiny ani nepřiblížily, takže to nepůsobí příliš pravděpodobně.



Obrázek 56 – Graf porovnání vah na počátku, ve čtvrtém týdnu a šestnáctém týdnu u mospilanu podávaného v podobě ošetřené potravy

V tomto případě se nezdá, že by se projevila hormeze, rozdíl vychází signifikatně v přibližně stejné míře po celé období měření ( $N = 20$ ; ANOVA = 1,131;  $p = 0,0001$ ; obrázek 56). Výraznější přírůstky tak mohou být ovlivněny spíše růstovou dynamikou a obecně nižším počtem jedinců oproti kontrole a tudíž faktem, že v ošetřené skupině vydrželi pouze ti nejodolnější jedinci.

## 7 Závěr

Na základě výsledků bylo zjištěno, že se snovačky pečující *Phylloneta impressa* objevují v polích řepky olejky na přelomu měsíců: duben – květen, a to pomocí „ballooningu“, kterým se dostávají už na počátku na celou plochu porostu řepky. Zpočátku období jejich populace rychle narůstá a v druhé polovině května dochází k postupnému dospívání jedinců. První kokony (samice jich za sezónu mohou vytvořit více) začínají samice vytvářet zhruba v polovině června, přičemž z každého se líhne průměrně 50 juvenilních jedinců a to v období od konce června až do počátku září.

Sledovaný dopad neonikotinoidů na mortalitu, respektive přežívání, byl, při podání přímým postříkem na tělo snovačky, shledán nesignifikantní a to u všech čtyř testovaných látek (actemapirid, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam). V případě actemapiridu nedochází k přímé mortalitě ani při ošetření tarsálním kontaktem, popřípadě ingescí. Na základě toho byla nulová hypotéza dopadu neonikotinoidů na mortalitu zamítnuta.

V případě přírůstků nebyl u ošetření postříkem zaznamenán signifikantní rozdíl mezi ošetřenými snovačkami a snovačkami z kontrolní skupiny. Byl však pozorován signifikantní rozdíl mezi thiamethoxamem a thiaclopridem, respektive imidaclopridem, kde platilo, že thiamethoxam vykazoval výrazně vyšší přírůstky než druhé dvě zmíněné skupiny. Při detailní analýze actemapiridu, tedy při ošetření tarsálním kontaktem a opakovaně ošetřenou potravou, byl shledán signifikantní s kontrolou v obou případech, kde došlo k výrazně nižšímu růstu kontrolní skupiny oproti ošetřeným skupinám. Rovněž v případě přírůstků byla tedy nulová hypotéza zamítnuta.

## 8 Literatura

### Odborné články

- Abbott, V. A., Nadeau, J. L., Higo, H. A., & Winston, M. L. (2008). Lethal and sublethal effects of imidacloprid on *Osmia lignaria* and clothianidin on *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Economic Entomology*, 101(3), 784-796.
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., & Rezaiee, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10(6), RA141-RA147.
- Agatz, A., Ashauer, R., & Brown, C. D. (2014). Imidacloprid perturbs feeding of *Gammarus pulex* at environmentally relevant concentrations. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(3), 648-653.
- Alexander, A. C., Culp, J. M., Liber, K., & Cessna, A. J. (2007). Effects of insecticide exposure on feeding inhibition in mayflies and oligochaetes. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 26(8), 1726-1732.
- Alyokhin, A., Makatiani, J., & Takasu, K. (2010). Insecticide odour interference with food-searching behaviour of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) in a laboratory arena. *Biocontrol science and technology*, 20(3), 317-329.
- Avilés, L., & Tufino, P. (1998). Colony size and individual fitness in the social spider *Anelosimus eximius*. *The American Naturalist*, 152(3), 403-418.
- Ayubi, A., Moravvej, G., Karimi, J., & Jooyandeh, A. (2013). Lethal effects of four insecticides on immature stages of *Chrysoperla carnea* (Stephens)(Neuroptera: Chrysopidae) in laboratory conditions. *Turkish Journal of Entomology*, 37(4), 399-407.
- Azevedo-Pereira, H. M., Lemos, M. F., & Soares, A. M. (2011). Behaviour and growth of *Chironomus riparius* Meigen (Diptera: Chironomidae) under imidacloprid pulse and constant exposure scenarios. *Water, Air, & Soil Pollution*, 219(1-4), 215-224.
- Barbee, G. C., & Stout, M. J. (2009). Comparative acute toxicity of neonicotinoid and pyrethroid insecticides to non-target crayfish (*Procambarus clarkii*) associated with rice–crayfish crop rotations. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(11), 1250-1256.
- Barmantlo, S. H., Parmentier, E. M., de Snoo, G. R., & Vijver, M. G. (2018). Thiacloprid-induced toxicity influenced by nutrients: Evidence from in situ bioassays in experimental ditches. *Environmental toxicology and chemistry*.

- Bass, C., Denholm, I., Williamson, M. S., & Nauen, R. (2015). The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 78-87.
- Beketov, M. A., & Liess, M. (2008). Acute and delayed effects of the neonicotinoid insecticide thiacloprid on seven freshwater arthropods. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(2), 461-470.
- Benamú, M., Lacava, M., García, L. F., Santana, M., Fang, J., Wang, X., & Blamires, S. J. (2017). Nanostructural and mechanical property changes to spider silk as a consequence of insecticide exposure. *Chemosphere*, 181, 241-249.
- Boina, D. R., Onagbola, E. O., Salyani, M., & Stelinski, L. L. (2009). Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(8), 870-877.
- Bouhsira, E., Lienard, E., Jacquet, P., Warin, S., Kaltsatos, V., Baduel, L., & Franc, M. (2012). Efficacy of permethrin, dinotefuran and pyriproxyfen on adult fleas, flea eggs collection, and flea egg development following transplantation of mature female fleas (*Ctenocephalides felis felis*) from cats to dogs. *Veterinary parasitology*, 190(3-4), 541-546.
- Bownik, A., Pawłocik, M., & Sokołowska, N. EFFECTS OF NEONICOTINOID INSECTICIDE ACETAMIPRID ON SWIMMING VELOCITY, HEART RATE AND THORACIC LIMB MOVEMENT OF DAPHNIA MAGNA.
- Blackledge, T. A., Coddington, J. A., & Gillespie, R. G. (2003). Are three-dimensional spider webs defensive adaptations?. *Ecology Letters*, 6(1), 13-18.
- Blackledge, T. A., Swindeman, J. E., & Hayashi, C. Y. (2005). Quasistatic and continuous dynamic characterization of the mechanical properties of silk from the cobweb of the black widow spider *Latrodectus hesperus*. *Journal of Experimental Biology*, 208(10), 1937-1949.
- Blacquiere, T., Smagghe, G., Van Gestel, C. A., & Mommaerts, V. (2012). Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4), 973-992.
- Blasingame, E., Tuton-Blasingame, T., Larkin, L., Falick, A. M., Zhao, L., Fong, J., ... & La Mattina, C. (2009). Pyriform spidroin 1, a novel member of the silk gene family that anchors dragline silk fibers in attachment discs of the black widow spider, *Latrodectus hesperus*. *Journal of Biological Chemistry*, jbc-M109.

- Butler, D. (2018). EU expected to vote on pesticide ban after major scientific review. *Nature*, 555(7695).
- Casem, M. L., Turner, D., & Houchin, K. (1999). Protein and amino acid composition of silks from the cob weaver, *Latrodectus hesperus* (black widow). *International journal of biological macromolecules*, 24(2-3), 103-108.
- Cui, L., Sun, L., Yang, D., Yan, X., & Yuan, H. (2012). Effects of cycloxaprid, a novel cis-nitromethylene neonicotinoid insecticide, on the feeding behaviour of *Sitobion avenae*. *Pest management science*, 68(11), 1484-1491.
- Cutler, G. C., Scott-Dupree, C. D., Sultan, M., McFarlane, A. D., & Brewer, L. (2014). A large-scale field study examining effects of exposure to clothianidin seed-treated canola on honey bee colony health, development, and overwintering success. *PeerJ*, 2, e652.
- da Silva, H., Fanchini, Y., & Fernando, E. (2015). *Paracyphononyx scapulatus* (Hymenoptera, Pompilidae), a koinobiont ectoparasitoid of *Trochosa* sp (Araneae, Lycosidae). *Journal of Hymenoptera Research*.
- De Arcaute, C. R., Pérez-Iglesias, J. M., Nikoloff, N., Natale, G. S., Soloneski, S., & Larramendy, M. L. (2014). Genotoxicity evaluation of the insecticide imidacloprid on circulating blood cells of Montevideo tree frog *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae) by comet and micronucleus bioassays. *Ecological indicators*, 45, 632-639.
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 52, 81-106.
- Dippenaar-Schoeman, G. J. (1992). A new species of *Steatoda* (Araneae: Theridiidae) from South Africa. *Phytophylactica*, 24(1), 9-14.
- Domínguez, K., & Jiménez, M. L. (2008). Composition of spider prey captured by the wasp *Trypoxylon* (*Trypargilum*) *tridentatum tridentatum* in two habitats in an oasis in Baja California Sur, México. *The Canadian Entomologist*, 140(3), 388-392.
- Dondero, F., Negri, A., Boatti, L., Marsano, F., Mignone, F., & Viarengo, A. (2010). Transcriptomic and proteomic effects of a neonicotinoid insecticide mixture in the marine mussel (*Mytilus galloprovincialis*, Lam.). *Science of the total environment*, 408(18), 3775-3786.
- Dong, X., Jiang, D., Liu, Q., Han, E., Zhang, X., Guan, X., ... & Qiu, B. (2014). Enhanced amperometric sensing for direct detection of nitenpyram via synergistic effect of copper nanoparticles and nitrogen-doped graphene. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 734, 25-30.

- Doublet, V., Labarussias, M., de Miranda, J. R., Moritz, R. F., & Paxton, R. J. (2015). Bees under stress: sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. *Environmental microbiology*, 17(4), 969-983.
- Drinkwater, T. W. (2003). Bioassays to compare the systemic activity of three neonicotinoids for control of *Heteronychus arator* Fabricius (Coleoptera: Scarabaeidae) in maize. *Crop Protection*, 22(7), 989-993.
- Eberhard, W. (1970). The predatory behavior of two wasps, *Agonoideus humilis* (Pompilidae) and *Sceliphron caementarium* (Sphecidae), on the orb weaving spider *Araneus cornutus* (Araneidae). *Psyche: A Journal of Entomology*, 77(2), 243-251.
- El Hassani, A. K., Dacher, M., Gary, V., Lambin, M., Gauthier, M., & Armengaud, C. (2008). Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Archives of environmental contamination and toxicology*, 54(4), 653-661.
- Elbert, A., Erdelen, C., Kuhnhold, J., Nauen, R., Schmidt, H. W., & Hattori, Y. (2000). Thiacloprid, a novel neonicotinoid insecticide for foliar application. In *The BCPC Conference: Pests and diseases, Volume 1. Proceedings of an international conference held at the Brighton Hilton Metropole Hotel, Brighton, UK, 13-16 November 2000* (pp. 21-26). British Crop Protection Council.
- Elbert, A., Haas, M., Springer, B., Thielert, W., & Nauen, R. (2008). Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest management science*, 64(11), 1099-1105.
- Fairbrother, A., Purdy, J., Anderson, T., & Fell, R. (2014). Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(4), 719-731.
- Finnegan, M. C., Baxter, L. R., Maul, J. D., Hanson, M. L., & Hoekstra, P. F. (2017). Comprehensive characterization of the acute and chronic toxicity of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam to a suite of aquatic primary producers, invertebrates, and fish. *Environmental toxicology and chemistry*, 36(10), 2838-2848.
- Fischer, J., Mueller, T., Spatz, A. K., Greggers, U., Gruenewald, B., & Menzel, R. (2014). Neonicotinoids interfere with specific components of navigation in honeybees. *PloS one*, 9(3), e91364.
- Fogel, M. N., Schneider, M. I., Desneux, N., González, B., & Ronco, A. E. (2013). Impact of the neonicotinoid acetamiprid on immature stages of the predator *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ecotoxicology*, 22(6), 1063-1071.



- Fricker, R. A., Green, E. L., Jenkins, S. I., & Griffin, S. M. (2018). The influence of nicotinamide on health and disease in the central nervous system. *International Journal of Tryptophan Research*, 11, 1178646918776658.
- Garczyńska, M., Pączka, G., Mazur-Pączka, A., & Kostecka, J. (2018). Earthworms in Short-Term Contact with a Low Dose of Neonicotinoid Actara 25WG. *Journal of Ecological Engineering Vol*, 19, 3.
- Gaver, M. M., & Hansen, L. D. (2005, July). Efficacy of insecticides to control *Tegenaria agrestis* and *Latrodectus hesperus* (Araneae: Agelenidae and Theridiidae). In *Proceedings, 5th International Conference on Urban Pests* (pp. 10-13).
- Gibbons, D., Morrissey, C., & Mineau, P. (2015). A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 103-118.
- Gillung, J. P., & Borkent, C. J. (2017). Death comes on two wings: a review of dipteran natural enemies of arachnids. *The Journal of Arachnology*, 45(1), 1-19.
- Gupta, S., Gajbhiye, V. T., & Gupta, R. K. (2008). Soil dissipation and leaching behavior of a neonicotinoid insecticide thiamethoxam. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 80(5), 431-437.
- Hayasaka, D., Korenaga, T., Suzuki, K., Sánchez-Bayo, F., & Goka, K. (2012). Differences in susceptibility of five cladoceran species to two systemic insecticides, imidacloprid and fipronil. *Ecotoxicology*, 21(2), 421-427.
- Hayasaka, D., Suzuki, K., Nomura, T., Nishiyama, M., Nagai, T., Sánchez-Bayo, F., & Goka, K. (2013). Comparison of acute toxicity of two neonicotinoid insecticides, imidacloprid and clothianidin, to five cladoceran species. *Journal of Pesticide Science*, 38(1), 44-47.
- Herbstein, M. E.: *Spider Behaviour: Flexibility and Versatility*; 2011; 416 stran, Macquarie University, Sydney
- Huseth, A. S., Chappell, T. M., Langdon, K., Morsello, S. C., Martin, S., Greene, J. K., ... & Reisig, D. D. (2016). *Frankliniella fusca* resistance to neonicotinoid insecticides: an emerging challenge for cotton pest management in the eastern United States. *Pest management science*, 72(10), 1934-1945.
- James, D. G., & Price, T. S. (2002). Fecundity in twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) is increased by direct and systemic exposure to imidacloprid. *Journal of Economic Entomology*, 95(4), 729-732.

- Košutić, K., Furač, L., Sipos, L., & Kunst, B. (2005). Removal of arsenic and pesticides from drinking water by nanofiltration membranes. *Separation and Purification Technology*, 42(2), 137-144.
- Krischik, V. A., Landmark, A. L., & Heimpel, G. E. (2007). Soil-applied imidacloprid is translocated to nectar and kills nectar-feeding *Anagyrus pseudococci* (Girault)(Hymenoptera: Encyrtidae). *Environmental Entomology*, 36(5), 1238-1245.
- Krogmann, L., & Austin, A. D. (2012). Systematics of Australian *Agenioideus* Ashmead (Hymenoptera: Pompilidae) with the first record of a spider wasp parasitizing *Latrodectus hasselti* Thorell (redback spider). *Australian Journal of Entomology*, 51(3), 166-174.
- Kullmann, E. J. (1972). Evolution of social behavior in spiders (Araneae; Eresidae and Theridiidae). *American Zoologist*, 12(3), 419-426.
- Kumar, A., Verma, A., & Kumar, A. (2013). Accidental human poisoning with a neonicotinoid insecticide, imidacloprid: A rare case report from rural India with a brief review of literature. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 3(4), 123-126.
- Laurino, D., Porporato, M., Patetta, A., & Manino, A. (2011). Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: laboratory tests. *Bull Insectol*, 64(1), 107-113.
- Lukančič, S., Žibrat, U., Mezek, T., Jerebic, A., Simčič, T., & Brancelj, A. (2010). A new method for early assessment of effects of exposing two non-target crustacean species, *Asellus aquaticus* and *Gammarus fossarum*, to pesticides, a laboratory study. *Toxicology and industrial health*, 26(4), 217-228.
- Maienfisch, P., Angst, M., Brandl, F., Fischer, W., Hofer, D., Kayser, H., ... & Widmer, H. (2001). Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. *Pest management science*, 57(10), 906-913.
- Mateu-Sanchez, M., Moreno, M., Arrebola, F. J., & Vidal, J. L. M. (2003). Analysis of acetamiprid in vegetables using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Sciences*, 19(5), 701-704.
- Mattson, M. P. (2008). Hormesis defined. *Ageing research reviews*, 7(1), 1-7.
- Moldovan, M., Rauch, S., Gómez, M., Palacios, M. A., & Morrison, G. M. (2001). Bioaccumulation of palladium, platinum and rhodium from urban particulates and sediments by the freshwater isopod *Asellus aquaticus*. *Water Research*, 35(17), 4175-4183
- Nentwig, W. (1985). Social spiders catch larger prey: a study of *Anelosimus eximius* (Araneae: Theridiidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 17(1), 79-85.

- Nentwig, W. (1987). The prey of spiders. In *Ecophysiology of spiders* (pp. 249-263). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Nkontcheu, D. B. K., Tchamadeu, N. N., Ngealekeleoh, F., & Nchase, S. (2017). Ecotoxicological Effects of Imidacloprid and Lambda-Cyhalothrin (Insecticide) on Tadpoles of the African Common Toad, *Amietophrynus Regularis* (Reuss, 1833)(Amphibia: Bufonidae). *Emerging Science Journal*, 1(2).
- Nyman, A. M., Hintermeister, A., Schirmer, K., & Ashauer, R. (2013). The insecticide imidacloprid causes mortality of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* by interfering with feeding behavior. *PloS one*, 8(5), e62472.
- Overmyer, J. P., Mason, B. N., & Armbrust, K. L. (2005). Acute toxicity of imidacloprid and fipronil to a nontarget aquatic insect, *Simulium vittatum* Zetterstedt cytospecies IS-7. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 74(5), 872-879.
- Pecenka, J. R., & Lundgren, J. G. (2015). Non-target effects of clothianidin on monarch butterflies. *The Science of Nature*, 102(3-4), 19.
- PEKAR, S. (2000). Webs, diet, and fecundity of *Theridion impressum* (Araneae: Theridiidae). *European Journal of Entomology*, 97(1), 47-50.
- Pisa, L. W., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Downs, C. A., Goulson, D., ... & Morrissey, C. A. (2015). Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 68-102.
- Poinar Jr, G., Pitts, J. P., Von Dohlen, C. D., Rodriguez, J., & Waichert, C. (2016). Eocene and not Cretaceous origin of spider wasps: Fossil evidence from amber.
- Prosser, R. S., De Solla, S. R., Holman, E. A. M., Osborne, R., Robinson, S. A., Bartlett, A. J., ... & Gillis, P. L. (2016). Sensitivity of the early-life stages of freshwater mollusks to neonicotinoid and butenolide insecticides. *Environmental pollution*, 218, 428-435.
- Rancan, M., Rossi, S., & Sabatini, A. G. (2006). Determination of Thiamethoxam residues in honeybees by high performance liquid chromatography with an electrochemical detector and post-column photochemical reactor. *Journal of Chromatography a*, 1123(1), 60-65.
- Roessink, I., Merga, L. B., Zweers, H. J., & Van den Brink, P. J. (2013). The neonicotinoid imidacloprid shows high chronic toxicity to mayfly nymphs. *Environmental toxicology and chemistry*, 32(5), 1096-1100.
- Romero, A., & Anderson, T. D. (2016). High levels of resistance in the common bed bug, *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae), to neonicotinoid insecticides. *Journal of medical entomology*, 53(3), 727-731.

- Ruiz, G. R., & Edwards, G. B. (2013). Revision of *Bagheera* (Araneae: Salticidae: Dendryphantinae). *The Journal of Arachnology*, 41(1), 18-24.
- Rust, M. K., Waggoner, M. M., Hinkle, N. C., Stansfield, D., & Barnett, S. (2003). Efficacy and longevity of nitenpyram against adult cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of medical entomology*, 40(5), 678-681.
- Řezáč, M., Pekár, S., & Stará, J. (2010). The negative effect of some selective insecticides on the functional response of a potential biological control agent, the spider *Philodromus cespitum*. *BioControl*, 55(4), 503-510.
- Sandrock, C., Tanadini, L. G., Pettis, J. S., Biesmeijer, J. C., Potts, S. G., & Neumann, P. (2014). Sublethal neonicotinoid insecticide exposure reduces solitary bee reproductive success. *Agricultural and Forest Entomology*, 16(2), 119-128.
- Shahid, N., Becker, J. M., Krauss, M., Brack, W., & Liess, M. (2018). Adaptation of *Gammarus pulex* to agricultural insecticide contamination in streams. *Science of the Total Environment*, 621, 479-485.
- Sherawat, S. M., Butt, A., & Tahir, H. M. (2015). Effects of Pesticides on Agrobiont Spiders in Laboratory and Field. *Pakistan Journal of Zoology*, 47(4).
- Stolz, J. F., Basu, P., & Oremland, R. S. (2010). Microbial arsenic metabolism: new twists on an old poison. *Microbe*, 5(2), 53-59.
- Stoner, K. A., & Eitzer, B. D. (2012). Movement of soil-applied imidacloprid and thiamethoxam into nectar and pollen of squash (*Cucurbita pepo*). *PloS one*, 7(6), e39114.
- Sugita, N., Agemori, H., & Goka, K. (2018). Acute toxicity of neonicotinoids and some insecticides to first instar nymphs of a non-target damselfly, *Ischnura senegalensis* (Odonata: Coenagrionidae), in Japanese paddy fields. *Applied Entomology and Zoology*, 1-6.
- Sumon, K. A., Ritika, A. K., Peeters, E. T., Rashid, H., Bosma, R. H., Rahman, M. S., ... & Van den Brink, P. J. (2018). Effects of imidacloprid on the ecology of sub-tropical freshwater microcosms. *Environmental Pollution*, 236, 432-441.
- Szczepaniec, A., Creary, S. F., Laskowski, K. L., Nyrop, J. P., & Raupp, M. J. (2011). Neonicotinoid insecticide imidacloprid causes outbreaks of spider mites on elm trees in urban landscapes. *PLoS One*, 6(5), e20018.
- Tahir, H. M., Khizar, F., Naseem, S., Yaqoob, R., & Samiullah, K. (2016). INSECTICIDE RESISTANCE IN THE GROUND SPIDER, *Pardosa sumatrana* (THORELL, 1890;

- ARANEAE: LYCOSIDAE). *Archives of insect biochemistry and physiology*, 93(1), 55-64.
- Tan, K., Chen, W., Dong, S., Liu, X., Wang, Y., & Nieh, J. C. (2014). Imidacloprid alters foraging and decreases bee avoidance of predators. *PLoS One*, 9(7), e102725.
- Tian, Z., Cui, S., & Xu, Z. (2014). Synthesis of novel nithiazine analogues containing the 1, 4-dihydropyridine structure, and their bioactivity as insecticides. *Research on Chemical Intermediates*, 40(3), 1053-1059.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45, 247-268.
- Tooming, E., Merivee, E., Must, A., Merivee, M. I., Sibul, I., Nurme, K., & Williams, I. H. (2017). Behavioural effects of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam on the predatory insect *Platynus assimilis*. *Ecotoxicology*, 26(7), 902-913.
- Uchigashima, M., Watanabe, E., Ito, S., Iwasa, S., & Miyake, S. (2012). Development of immunoassay based on monoclonal antibody reacted with the neonicotinoid insecticides clothianidin and dinotefuran. *Sensors*, 12(11), 15858-15872.
- van der Linden, J. W., Snelders, E., Kampinga, G. A., Rijnders, B. J., Mattsson, E., & Debets-Ossenkopp, Y. J. (2011). Clinical implications of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*, The Netherlands, 2007–2009. *Emerging infectious diseases*, 17(10), 1846.
- Vetter, R. S., Tarango, J., Campbell, K. A., Tham, C., Hayashi, C. Y., & Choe, D. H. (2015). Efficacy of several pesticide products on Brown Widow spider (Araneae: Theridiidae) egg sacs and their penetration through the egg sac silk. *Journal of economic entomology*, 109(1), 267-272.
- Vollrath, F. (1986). Eusociality and extraordinary sex ratios in the spider *Anelosimus eximius* (Araneae: Theridiidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 18(4), 283-287.
- Wackers, F. L., & Lewis, W. J. (1994). Olfactory and visual learning and their combined influence on host site location by the parasitoid *Microplitis croceipes* (Cresson). *Biological Control*, 4(2), 105-112.
- Wall, W., & Rassi, Z. E. (2001). Electrically driven microseparation methods for pesticides and metabolites: V. Micellar electrokinetic capillary chromatography of aniline pesticidic metabolites derivatized with fluorescein isothiocyanate and their detection in real water at low levels by laser-induced fluorescence. *Electrophoresis*, 22(11), 2312-2319

- Wang, K., Pang, S., Mu, X., Qi, S., Li, D., Cui, F., & Wang, C. (2015). Biological response of earthworm, *Eisenia fetida*, to five neonicotinoid insecticides. *Chemosphere*, 132, 120-126.
- Wasbauer, M. S., & Kimsey, L. S. (1985). California spider wasps of the subfamily Pompilinae (Hymenoptera, Pompilidae) (Vol. 26). Univ of California Press.
- Whitehorn, P. R., Norville, G., Gilburn, A., & Goulson, D. (2018). Larval exposure to the neonicotinoid imidacloprid impacts adult size in the farmland butterfly *Pieris brassicae*. *PeerJ*, 6, e4772.
- Wu-Smart, J., & Spivak, M. (2016). Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development. *Scientific reports*, 6, 32108.
- Yu, Y. L., Wu, J. L., Stahler, M., & Pestemer, W. (2007). Residual dynamics of thiacloprid in medical herbs marjoram, thyme, and camomile in soil. *Journal of Environmental Sciences*, 19(2), 205-209.
- Zeng, C. X., & Wang, J. J. (2010). Influence of exposure to imidacloprid on survivorship, reproduction and vitellin content of the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Journal of insect Science*, 10(1).
- Zhang, P., Zhang, X., Zhao, Y., Wei, Y., Mu, W., & Liu, F. (2016). Effects of imidacloprid and clothianidin seed treatments on wheat aphids and their natural enemies on winter wheat. *Pest management science*, 72(6), 1141-1149.

### **Knihy**

- Kůrka, A.; Řezáč, M.; Macek, R.; Dolanský, J. *Pavouci České republiky*, 1st ed.; ACADEMIA: Praha, 2015.
- Macek, J.; Straka, J.; Bogusch, P.; Dvořák, L.; Bezděčka, P.; Tyrner, P. *Blanokřídli České republiky I.*, 1st ed.; ACADEMIA: Praha, 2010.
- Robert, L. (2002). Metcalf "Insect Control". *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim.
- March, J. (1992). *Advanced organic chemistry: reactions, mechanisms, and structure*. John Wiley & Sons,.

### **Webové stránky**

- CDC - NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards -Morpholine. *Centers for Disease Control and Prevention* [online]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0437.html>
- Chemically-related Groups of Active Ingredients | Ingredients Used in Pesticide Products | US EPA. *United States Environmental Protection Agency / US EPA* [online]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/chemically-related-groups-active-ingredients>
- Insekticidy - Přípravky. *Profesionální informace pro agronomy - Agromanual.cz* [online]. Copyright © 2018 [cit. 07.02.2019]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/pripravky/insekticidy>
- Monarch Butterfly Biosphere Reserve - UNESCO World Heritage Centre. *UNESCO World Heritage Centre* [online]. Copyright © Carlos Gottfried [cit. 07.02.2019]. Dostupné z: <http://whc.unesco.org/en/list/1290>
- Nentwig W., Blick T., Gloor D., Hänggi A. & Kropf C., 2018: Araneae. Spiders of Europe. Version 05.2018. <https://www.araneae.nmbe.ch>. Accesed 07.08.2018.
- World Spider Catalog (2018). World Spider Catalog. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, version 19.5, accessed on {1.8.2018}