

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Interakce životních parametrů afidofágního parazitoida se
změnami indukovanými herbicidem na bázi glyfosátu**

Diplomová práce

Autor práce: Barbora Novotná

Obor studia: AML

Vedoucí práce: RNDr. Jan Kabíček, CSc.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Interakce životních parametrů afidofágního parazitoida se změnami indukovanými herbicidem na bázi glyfosátu" jsem vypracovala 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 autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala RNDr. Janu Kabíčkovi, CSc., Ing. Janu Lukášovi, Ph.D. a Doc. RNDr. Pavlu Saskovi, Ph.D. za cenné rady, které mi byly poskytnuty. Dále bych ráda poděkovala Marii Koutové za pomoc se zpracováním dat a své rodině a přátelům za podporu.

Interakce životních parametrů afidofágního parazitoida se změnami indukovanými herbicidem na bázi glyfosátu

Souhrn

Glyfosát je širokospektrální herbicid, který je používán v zemědělské praxi, veřejných prostorech i na zahradách, proto je nutné znát jeho toxicitu a vliv na necílové organismy. Práce je zaměřena na vliv glyfosátu na životní parametry parazitoida mšic *Aphidius rhopalosiphii* de Stefani-Perez. Kapitola literární rešerše shrnuje poznatky o mšicích, parazitoidech, glyfosátu a fyziologických interakcích, týkajících se experimentu. V kapitole materiál a metody je zahrnuta příprava a postup experimentu. Pro pokus bylo využito mšic *Metopolophium dirhodum* (Walker), které byly ošetřeny v Potterově postřikovací věži třemi různými koncentracemi herbicidu dle doporučených dávek udávaných výrobcem a destilovanou vodou jako kontrola, přeneseny na rostliny a ponechány 24 hodin s parazitoidy. Poté byly zjišťovány různé životní parametry parazitoidů, kteří se vylíhli z ošetřených mšic. Mezi tyto parametry patří počet mumifikovaných mšic, délka vývoje, doba přežívání a pohlaví vylíhnuvších se parazitoidů. Následně byla data statisticky vyhodnocena. V první fázi pokusu trvala délka vývoje samiček u varianty kontrola 13,09 dnů, u samců 13,23 dnů. Bylo statisticky prokázáno, že čím byla koncentrace herbicidu vyšší, tím se prodlužovala délka vývoje. Vliv na délku vývoje měla jak koncentrace, tak pohlaví parazitoida. V druhé fázi byla délka vývoje samiček u varianty kontrola 15,02 dne, u samců 14,8 dne. S vyšší koncentrací se prodlužovala délka vývoje, která spolu s pohlavím ovlivnila délku vývoje. Doba přežívání byla ovlivněna pouze koncentrací 160 ml, u varianty kontrola trvala 3,63 dnů a s narůstající koncentrací se zkracovala, ale ne příliš významně. Stejně tak poměr samců vůči samičkám nebyl ovlivněn herbicidem. Počet samců vůči samičkám se mírně zvyšoval, u varianty kontrola činil poměr 0,60, u varianty 80 ml 0,71, u varianty 160 ml 0,81. Plodnost samiček ve fázi 1 nebyla ovlivněna herbicidem, počet parazitovaných mšic se s rostoucí koncentrací snižoval, ale ne průkazně. Ve druhé fázi byla plodnost samiček průkazně ovlivněna herbicidem. Druhý experiment byl zaměřen na stanovení hodnoty LC 50. Mortalita poloviny jedinců po aplikaci herbicidu Roundup prostřednictvím tarsálního kontaktu nastala při koncentraci 305,3 mmol na dm³ účinné látky. V kapitole diskuze jsou popsány současné výsledky v rámci ovlivnění necílových druhů pesticidy, srovnatelné výzkumy a komplikace, které nastaly v průběhu experimentu.

Klíčová slova: RoundUp, bionomie, vývoj, přežívání, plodnost, subletální efekt

Interaction of life history parameters of aphidophagous parasitoid to changes induced by the glyphosate herbicide

Summary

Glyphosate is a broad-spectrum herbicide, which is used in agricultural, public spaces and gardens, therefore it is necessary to know its toxicity and effects on non-target organisms. The work is focused on the impact of glyphosate on the life parameters of the aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphi* de Stefani-Perez. Chapter literature review summarizes the knowledge about aphids, parasitoids, glyphosate and physiological interactions concerning experiment. The chapter materials and methods includes preparation and procedure of the experiment. Aphids *Metopolophium dirhodum* (Walker) were sprayed in the Potter spray tower with three different concentrations of herbicide according to the recommended doses by the producer and distilled water as the control, transferred on the plant and left for 24 hours with parasitoids. Then, the various life parameters of the parasitoids, hatched from a sprayed aphids were investigated. These parameters include the number of mummified aphids, length of the development, time of survival and sex of the parasitoids. Subsequently, the data were statistically analyzed. In the first phase of the experiment, the length of the development of the female variant control lasted 13,09 days and of the males 13,23 days. It is conclusive that with the higher concentration of herbicide the length of development was prolonging. The development time was influenced by concentration and sex of the parasitoid. In the second phase, the length of development of female variant control lasted 15,02 days and of the males 14,8 days. With a higher concentration the length of development extended, it is influenced by gender and herbicide Roundup. Survival time was influenced only by the concentration of 160 ml, the life of variant control lasted 3,63 days and with increasing concentration was decreased, but not significantly. Likewise, the sex ratio was not affected by the herbicide. The number of males against females has slightly increased, by the variant control the sex ratio was 0,60, variant 80 ml 0,71 and variant 160 ml 0,81. The fertility of the females in phase 1 was not affected by the herbicide, the number of parasitized aphids with increasing concentrations decreased, but not significantly. In the second phase the female fertility was significantly affected by the herbicide. The aim of the second experiment was to determine the LC 50. Mortality of half of the parasitoids after application of Roundup herbicide through tarsal contact occurred at a concentration of 305,3 mmol per dm³ of the active ingredience. The chapter discussion describes current results about the influence of pesticides on non-target organisms, comparable studies and complications which occurred during the experiment.

Keywords: RoundUp, bionomy, development, survival, fertility, sublethal effect

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíl práce.....	2
3 Literární rešerše	3
3.1 Biologická ochrana	3
3.1.1 Charakteristika	3
3.1.2 Strategie biologické ochrany	3
3.1.2.1 Klasická strategie.....	3
3.1.2.2 Augmentace	4
3.1.2.3 Konzervace	6
3.1.3 Výhody biologické ochrany	6
3.1.4 Nevýhody biologické ochrany	7
3.1.5 Neúspěch biologické ochrany	7
3.1.6 Biologická ochrana proti mšicím.....	8
3.1.6.1 Parazitoidi.....	8
3.1.6.2 Predátoři.....	8
3.2 Mšice	8
3.2.1 Charakteristika	8
3.2.2 Biologie	9
3.2.3 Životní cyklus.....	9
3.2.3.1 Monocyklický životní cyklus	10
3.2.3.2 Dicyklický životní cyklus	10
3.2.4 Ekologie.....	10
3.2.5 Škody.....	11
3.2.5.1 Přímé škody	11
3.2.5.2 Nepřímé škody	11
3.3 Parazitoidi mšic	13
3.3.1 Charakteristika	13
3.3.2 Morfologie Braconidae	13
3.3.3 Biologie parazitoida	14
3.3.4 <i>Aphidius</i> , spp.....	16
3.4 Glyfosát.....	16
3.4.1 Charakteristika	16
3.4.2 Historie.....	17
3.4.3 Vliv na životní prostředí	17

3.4.3.1	Chování glyfosátu v půdě a jeho degradace	17
3.4.3.2	Znečištění vody.....	18
3.4.4	Vliv na necílové organismy	18
3.5	Fyziologické interakce	19
3.5.1	Obranné reakce při poškození rostlin.....	19
3.5.2	Obrana rostlin proti mšicím	20
3.5.3	Interakce mezi parazitoidy.....	22
4	Materiál a metody	22
4.1	Rostlinný materiál	22
4.2	Mšice	23
4.3	Parazitoidi	24
4.4	Aplikovaný herbicid.....	24
4.5	Experiment.....	25
4.6	Statistické vyhodnocení.....	28
5	Výsledky	29
5.1	Experiment 1 – ovlivnění životních parametrů	29
5.1.1	Délka vývoje fáze 1	29
5.1.2	Délka vývoje fáze 2	33
5.1.3	Doba přežívání	38
5.1.4	Poměr pohlaví.....	42
5.1.5	Plodnost samic fáze 1.....	44
5.1.6	Plodnost samic fáze 2.....	45
5.2	Experiment 2 – stanovení LC 50	47
6	Diskuze	58
7	Závěr	63
8	Seznam literatury.....	64

1 Úvod

Herbicide Roundup je jedním z nejvíce používaných pesticidů na světě. Je využíván v polních plodinách, ovocných sadech, vinicích, na zahradách i v lesním hospodářství. Je hlavním neselektivním a postemergentním herbicidem, který je využíván při totální likvidaci vegetace. Ovlivnění parazitoidů a predátorů insekticidy je poměrně dobře prozkoumáno, ale o vlivu herbicidů a fungicidů je známo jen málo. V poslední době se zvýšilo využití hmyzích parazitoidů mšic na polích, ve sklenicích a dokonce i v lesních porostech v rámci programu biologické ochrany. Hmyzí parazitoidi představují rozmanitou a hojnou skupinu členovců v terestrických ekosystémech a jsou tak vyhledávaným biologickým agens proti mšicím. Konkrétní druhy se většinou specializují na určitá vývojová stádia hmyzu. Predátoři představují další významnou skupinu hmyzu, která omezuje populaci mšic. Jejich životní strategie se odlišuje od parazitoidů, predátoři jsou často polyfágní a nerozlišují vývojová stádia. Používání velkého množství neselektivních pesticidů zvyšuje ekotoxikologické riziko pro necílové druhy suchozemských i vodních organismů. Využití parazitoidů a predátorů je vhodnou alternativou v rámci programu biologické ochrany a jako součást integrované ochrany rostlin. Je nutné znát vliv pesticidů na necílové organismy prostřednictvím prozkoumání jejich životních parametrů a zjištění letálních koncentrací. Je třeba pokračovat v pokusech zaměřených na tuto problematiku. Dále je v současné době důležité hledat různé alternativy, které méně zatěžují životní prostředí.

2 Cíl práce

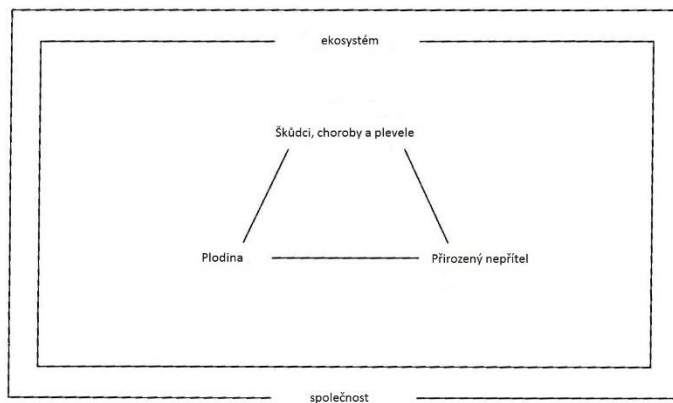
Subletální dávky herbicidu ovlivňují biologii necílových organismů. Cílem diplomové práce je zjistit, jakým způsobem subletální dávky herbicidu na bázi glyfosátu (Roundup®) ovlivňují klíčové životní parametry afidofágního parazitoida *Aphidius* sp. V konvenčním zemědělství rutinně používaný herbicid Roundup je dlouhodobě testován z hlediska potenciálních vedlejších efektů na životní prostředí. Informace o vertikálním ovlivnění živočicha na vrcholu trofické interakce rostlina-mšice-parazitoid (tj. prostřednictvím potravy hostitele) na životní parametry hmyzu je prozatím omezená a nekomplexní.

3 Literární rešerše

3.1 Biologická ochrana

3.1.1 Charakteristika

Termín biologická ochrana (obrázek č. 1) je nejčastěji vysvětlován jako využívání živých organismů k potlačení hustoty populace nebo k potlačení dopadu specifických škůdců, což je činí méně hojnými nebo méně poškozujícími. Biologická ochrana je člověkem používaný způsob ochrany rostlin před určitým škůdcem pomocí speciálně vybraných živých organismů (včetně virů). Mezi tyto vybrané organismy patří predátoři, parazité nebo patogeni, kteří mohou napadnout škodlivé druhy a jsou významnou součástí světové biodiverzity. Tito přirození nepřátelé mají nesmírnou hodnotu v rámci udržitelného zemědělství, kde mohou často eliminovat množství využívaných pesticidů. Jejich vysoká hodnota je spojena s ochranou před



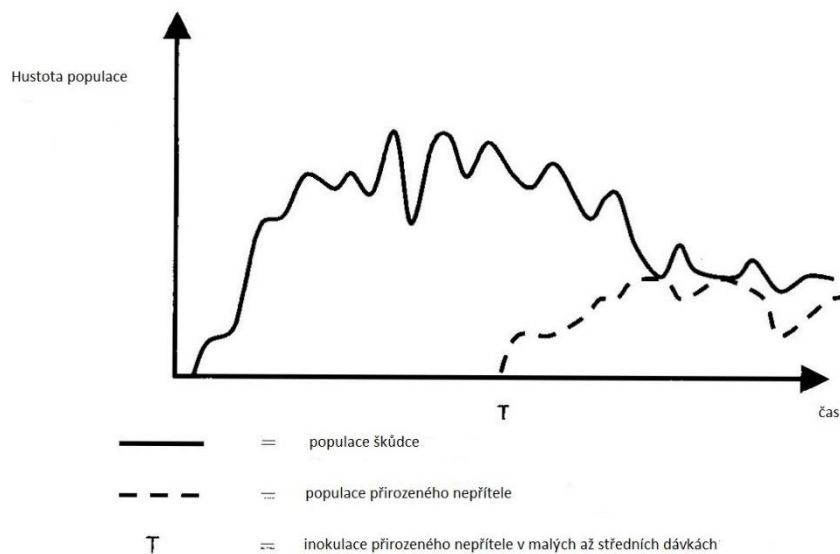
invazními druhy, které ohrožují přirozený ekosystém (Tóth, 2012). Myšlenka biologické ochrany je prostá – překonat škůdce záměrným užitím živého organismu (Vincent a kol., 2007).

Obrázek č. 1 – vztah mezi biologickou ochranou a jejími cíli, plodinou, ekosystémem a společností, zdroj: Eilenberg a Hokkanen (2006)

3.1.2 Strategie biologické ochrany

3.1.2.1 Klasická strategie

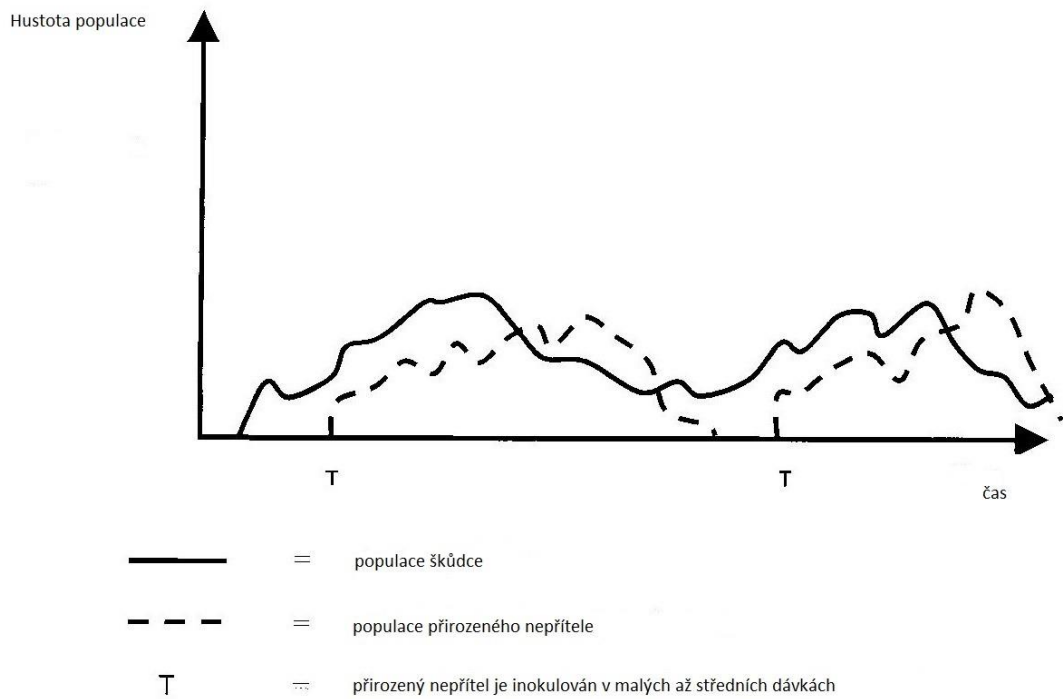
Klasická strategie zahrnuje zavedení přirozených nepřátel do oblastí, kde se předtím nevyskytovali a jejich využívání přímo proti konkrétnímu škůdci (Emden a Harrington, 2007). Záměrem klasické strategie (obrázek č. 2) je zavést prospěšný organismus do nové oblasti a zajistit tím dlouhodobou ochranu proti často nepůvodním druhům škůdců (Vincent a kol., 2007). Klasická strategie biologické ochrany je nejvýhodnější z metod, protože je samoudržitelná a z dlouhodobého hlediska méně finančně náročná (Driesche a Bellows, 1996).



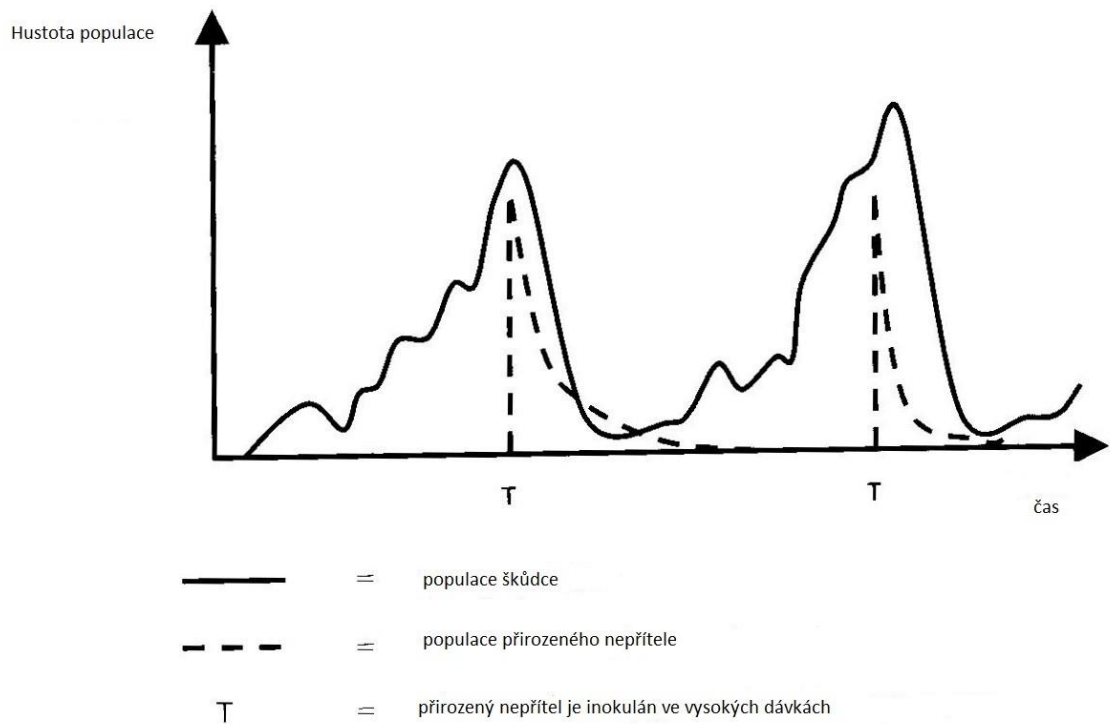
Obrázek č. 2 – znázornění klasické strategie biologické ochrany rostlin, zdroj: Eilenberg a Hokkanen (2006)

3.1.2.2 Augmentace

Strategie augmentace představuje masové namnožení a vypuštění přirozených nepřátel, které se v oblasti již vyskytují, ale ne v dostatečné míře či v optimálním čase (Emden a Harrington, 2007). Helyer (2014) uvádí, že augmentace zahrnuje pravidelné vypouštění prospěšných organismů proti populacím škůdců a tyto prospěšné organismy jsou mnohdy komerčně chovány. Po celém světě je dostupných asi 230 různých druhů prospěšných členovců, které jsou často masově chovány, aby zajistily rychlou ochranu proti škůdcům (Helyer, 2014). Eilenberg a Hokkanen (2006) uvádí místo strategie augmentace strategii inokulace (obrázek č. 3) a inundance (obrázek č. 4). Strategie inokulativní je charakterizována jako záměrné vypouštění živých organismů, které se dále množí a redukují populaci škůdce po delší dobu, nikoli však trvale. Od klasické strategie se odlišuje tím, že je využito přirozených nepřátel, které se v areálu již vyskytují a toto opatření je jen dočasné. Inundace je využití přirozených nepřátel pro redukcii počtu škůdce, které je zajišťováno výhradně vypuštěnými jedinci. Snížení početnosti škůdce je realizováno rychle a hustota populace škůdce i přirozených nepřátel postupem času klesá. Pokud populace škůdce opět vzroste, je nutná opakovaná aplikace přirozených nepřátel (Eilenberg a Hokkanen, 2006).



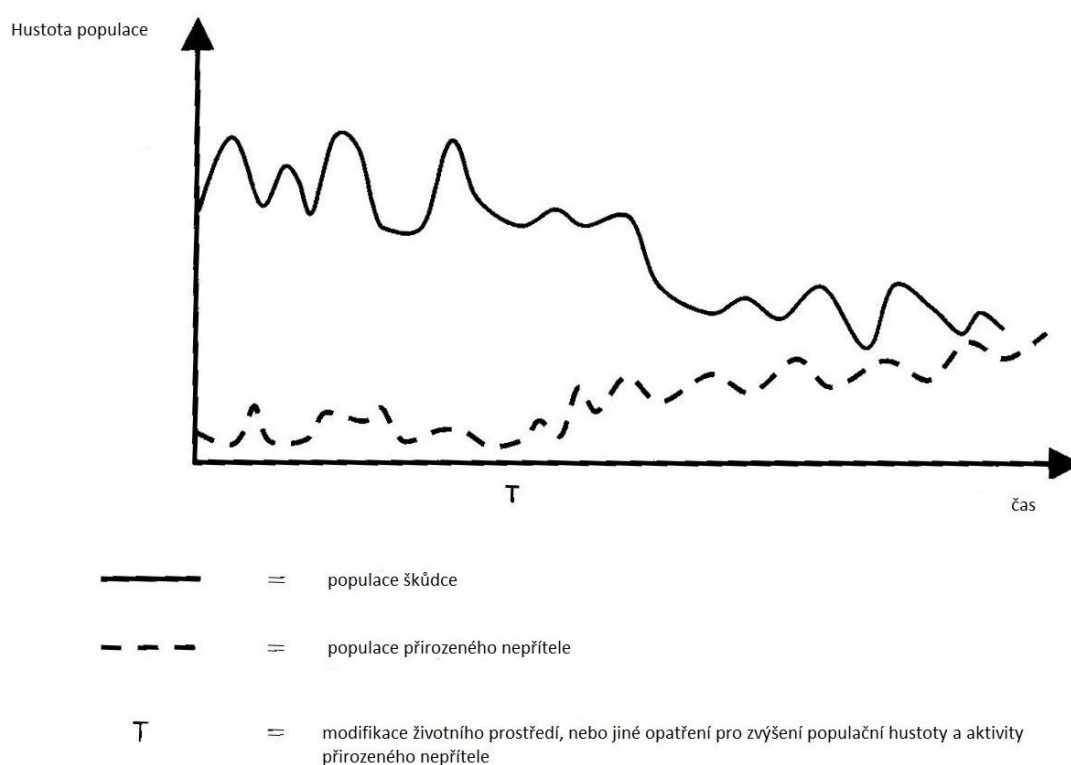
Obrázek č. 3 – znázornění inokulační strategie biologické ochrany rostlin, zdroj: Eilenberg a Hokkanen (2006)



Obrázek č. 4 – znázornění inundanční strategie biologické ochrany rostlin, zdroj: Eilenberg a Hokkanen (2006)

3.1.2.3 Konzervace

Konzervace (obrázek č. 5) je strategie biologické ochrany, která je charakterizovaná posílením běžně se vyskytujících, volně žijících přirozených nepřátel pomocí řízení místa výskytu nebo manipulace v jejich chování (Emden a Harrington, 2007). Helyer (2014) tvrdí, že konzervace je založena na využívání stávajících přirozených nepřátel, dochází k úpravě prostředí tak, aby bylo podpořeno množení a přežití většího počtu jedinců. Předpokladem pro využití konzervace je přítomnost daného druhu přirozeného nepřítele, který je za správných podmínek použitelný pro potlačení populace škůdce (Driesche a Bellows, 1996).



Obrázek č. 5 – znázornění konzervační strategie biologické ochrany rostlin, zdroj: Eilenberg a Hokkanen (2006)

3.1.3 Výhody biologické ochrany

Technika biologické ochrany je selektivní, většinou bez žádných vedlejších účinků. Přirození nepřátelé jsou často vysoce specifictí vůči kořisti a nepředstavují riziko spojené s úhynem hmyzu způsobeným aplikacemi širokospektrálních insekticidů (Emden a Service, 2004). Další výhodou je nezavádění polutantů do ekosystému. Předností této strategie je potenciál přirozených nepřátel rozmnožit se, setrvat v čase a rozšířit se z místa vypuštění do širokého

okolí a zasáhnout tak vzdálené cíle. Vznik rezistence škůdců proti biologické ochraně je méně pravděpodobný (Emden a Service, 2004).

3.1.4 Nevýhody biologické ochrany

Biologická ochrana limituje následující využití pesticidů. Pokud jsou využiti přirození nepřátelé proti jednomu škůdci, je poměrně obtížné využít insekticidy proti jinému významnému škůdci na stejném místě. Využití biologické ochrany je výhodné, pokud je použitelné pro více škůdců. Biologická ochrana může být neúčinná v důsledku pomalého působení. Trvá poměrně dlouho, než se přirození nepřátelé rozmnoží, rozšíří z místa vypuštění do širokého okolí a ovlivní populaci škůdce. Pro systém biologické ochrany je nutná pokračující přítomnost kořisti, i když jen v malé míře, tudíž není možná likvidace všech škůdců na poli a nízké hospodářské škody budou vždy přítomny. Systém biologické ochrany může být nepředvídatelným, zemědělec nemůže plně kontrolovat ochranu a i úspěšný program může selhat (Emden a Service, 2004). V několika posledních dekadách je praktikována klasická strategie – tedy zavedení exotického přirozeného nepřítele pro zredukování výskytu nepůvodního škůdce či plevelu stále častěji, jelikož metoda po celém světě sklízí úspěchy a jejímu užití napomáhá liberalizace trhu. Mnoha vědci je tato metoda považována za reálnou ekologickou hrozbu, protože může přímo i nepřímo ovlivňovat necílové organismy (Wajnberg a kol., 2001). Další nevýhodou biologické ochrany představuje masový chov, udržování, míra přežití, skladování a transport organismů, které jsou využívány v systému biologické ochrany (Emden a Service, 2004). Jsou známy případy, kdy zavedení nepůvodních nepřátel vyvolalo konkurenční boj s původními druhy. Jako příklad lze uvést slunéčko *Harmonia axyridis*, které se živí mšicemi, stejně tak jako jinými druhy slunéček (Hajek, 2004).

3.1.5 Neúspěch biologické ochrany

Úspěch se zavedením biologické ochrany proti škůdcům pomocí přirozených nepřátel z celého světa byl mnohokrát dokumentován, ale přibližně dvě třetiny introdukcí končilo selháním. Navíc jen asi 16 % projektů bylo zcela úspěšných v ochraně proti cílovému organismu. Bylo navrženo několik hypotéz, proč systém biologické ochrany ve výsledku selhal. Mezi tyto hypotézy patří například nedostatečná preadaptace na nové prostředí, nedostatečná genetická variabilita, nepříznivé podmínky v době introdukce, neadekvátní počet zavedených organismů a nízká vhodnost hostitele. Je třeba pokračovat v experimentech s různými druhy potenciálních biologických agens a zvýšit efektivitu biologické ochrany (Hopper, 1996).

3.1.6 Biologická ochrana proti mšicím

Populace mšic způsobují významné škody v rostlinné výrobě, na okrasných rostlinách i v krmných porostech. Proto jsou pro jejich hubení využívány především syntetické insekticidy (Kos a kol., 2012). Mnoho druhů mšic si vytvořilo rezistenci na některé druhy insekticidů a aplikace pesticidů podléhá striktnějším pravidlům než dříve. Využití parazitoidů se jeví jako vhodná alternativa pro ochranu proti mšicím (Boivin a kol., 2012). Ochrana biologickými metodami vyžaduje nejen zavedení přirozených nepřátel, ale také zajištění vhodného prostředí pro přežití, plodnost, dlouhověkost a vhodné chování přirozených nepřátel pro zvýšení účinnosti této metody (Landis a kol., 2000).

3.1.6.1 Parazitoidi

Během posledních desetiletí se zvýšilo využití hmyzích parazitoidů mšic na polích, ve sklenících a dokonce i v lesních porostech v rámci programu biologické ochrany. Hmyzí parazitoidi představují rozmanitou a hojnou skupinu členovců v terestrických ekosystémech a jsou tak vyhledávaným biologickým agens proti mšicím (Kos a kol., 2012). Mezi hospodářsky významné druhy parazitoidů patří především malé druhy z řádu Hymenoptera a Diptera. Konkrétní druhy se většinou specializují na určitá vývojová stádia hmyzu (Bagar a kol., 2003).

3.1.6.2 Predátoři

Predátoři představují další významnou skupinu hmyzu, která omezuje populaci mšic. Jejich životní strategie se odlišuje od parazitoidů. Predátoři jsou často polyfágní a nerozlišují vývojová stádia. Mezi nejvýznamnější predátory mšic patří druhy z čeledí Coccinellidae, Chrysopidae, Syrphidae, a jiné (Bagar a kol., 2003).

3.2 Mšice

3.2.1 Charakteristika

Mšice představují velmi významnou skupinu rostlinných škůdců s vysokým produkčním potenciálem prostřednictvím partenogeneze a viviparie (Kos a kol., 2012). Způsobují přímé poškození sáním a nepřímé poškození přenášením virů a sekrecí medovice na kulturních i planě rostoucích rostlinách. Více než 3000 druhů bylin a dřevin je kolonizováno mšicemi, které poškozují rostliny sáním, ale zároveň jsou vektory přenášejícími přes 200 rostlinných virů (Boivin a kol., 2012). Ačkoli čeleď Aphididae zahrnuje přibližně 4700 druhů, z kterých bylo přibližně 450 druhů zaznamenáno ve spojitosti se zemědělskými plodinami, jen asi 100 druhů

mšic plně proniklo do zemědělského prostředí do té míry, že způsobují významné hospodářské škody (Emden a Harrington, 2007).

3.2.2 Biologie

Biologie mšic je poměrně složitá, jelikož mají dva typy rozmnožování – pohlavní a partenogenetické a dále z důvodu střídání hostitelských rostlin (Minks a Harrewijn, 1987). Mšice vykazují pestrou škálu komplikovaných životních cyklů a každý tento cyklus je rozdělen do několika částí, které jsou charakterizované jedním či více stádii. V typickém životním cyklu mšice je zastoupeno stádium, které se specializuje na reprodukci, rozšiřování a přežívání nepříznivých klimatických nebo výživových podmínek (Emden a Harrington, 2007). Dospělci mšice *Metopolophium dirhodum* (Walker) využívané v experimentu dorůstají 2,2 – 3,6 mm, jsou žlutozelení až světle zelení. Vajíčko je 0,5 mm veliké, černé barvy. Primárním hostitelem kyjatyky travní (obrázek č. 6) je růže a sekundárním hostitelem je pšenice, ječmen, žito, oves a trávy (Hrudová, 2015).



Obrázek č. 6 – fotografie různých instarů kyjatyky travní pořízená mikroskopem Hirox, 5. 4. 2016

3.2.3 Životní cyklus

Polymorfismus je jev, který je společný pro mnoho druhů hmyzu. Zejména klonální polymorfismus u mšic je jedním z nejvíce komplikovaných a objevují se různé formy jak u dospělců, tak u larev (Minks a Harrewijn, 1987).

3.2.3.1 Monocyklický životní cyklus

Tento životní cyklus je nejjednodušším a také nejčastějším na venkovních plodinách. Všechny generace se vyvíjejí na jedné skupině hostitelských rostlin. Z přezimujících vajíček na jaře vznikají partenogeneticky se rozmnožující samičky. Tyto samičky produkují jak bezkřídlé, tak okřídlené mšice během letních měsíců. Na podzim je vyprodukována sexuální generace, která po spáření klade vajíčka, aby přežila zimní období (Helyer a kol., 2014).

3.2.3.2 Dicyklický životní cyklus

Mšice střídá dvě odlišné hostitelské skupiny rostlin za vegetační období. Primárním hostitelem je dřevnatá rostlina, na niž jsou nakladena vajíčka. Na jaře vylíhlé nymfy dospívají v samičku zakladatelku, která se partenogeneticky rozmnožuje. V létě mšice migrují na nepříbuzný bylinný rostlinný druh (sekundární hostitel), na kterém se masově rozmnoží a na podzim opět vzniká sexuální generace, která migruje na primární hostitelský druh. Tam mšice naklade vajíčka pro přezimování (Emden a Harrington, 2007).

3.2.4 Ekologie

Většina druhů mšic se živí mizou, která proudí floémem rostlin a získávají ji pomocí styletu. Tato míza je tvořena cukry, ale je poměrně chudá na obsah aminokyselin, speciálně těch, které jsou nezbytné pro růst rostlin (Dixon, 1998).

Výběr hostitelské rostliny je procesem skládajícím se z několika kroků, jako je například přitažlivost, zkoušení povrchu rostliny, penetrace a zkoušení floému. Molekulární a biochemické mechanismy mezi procesy výběru hostitele a obranou rostliny nejsou zatím zcela objasněny (Forslund, 2000). Těkavé látky hrají velikou roli při volbě hostitele mšice a jejím chování, ale i vizuální podněty jsou zahrnuty do procesu výběru hostitelské rostliny. Těkavé látky jsou využity při orientaci mšice před dosednutím na rostlinu a jejím ochutnáním (Forslund, 2000).

Vyživování je proces, kterým si mšice obstarávají a zpracovávají potravu. Fyziologie vyživování mšic zahrnuje způsob obstarávání rostlinných šťáv, jejich chemickou skladbu a fyziologické procesy, které jsou nezbytné pro přeměnu nasátých šťáv v tělní tkáň a energii. Mšice se živí z floému rostlin, z kterého získávají veškeré potřebné výživové prvky. Před vsunutím styletu do hostitele mšice vyloučí kapku sekretu slinných žláz na povrch rostliny, kterou rozpustí kutikulu. Chemoreceptory na labiu, které jsou ponořeny do sliny, zjistí, zda je pro ni tento substrát vhodný. Pokud substrát vyhovuje, následuje penetrace styletem. Penetrace je nejvíce ovlivněna dvěma svaly připojenými na rozšířenou část styletu. Větší mšice často

penetrují intracelulárně, zatímco většina mšic intercelulárně a jen velmi málo druhů přes stomata. Penetraci také napomáhá enzym polygalaktouronáza, která je obsažena ve slinách. Mnoho mšic dává přednost mladým až středně starým listům a sají raději na spodní straně (Minks a Harrewijn, 1987).

Jelikož má medovice podobnou osmotickou koncentraci jako hemolymfa mšic, umí si mšice podstatně redukovat osmotickou koncentraci přijatých tekutin. Hlavním problémem mšic je potřeba vyrovnání koncentrace potravy. Přeměnou monosacharidů a disacharidů na trisacharidy (např. melezitóza) a oligosacharidy mšice redukuje počet molekul v roztoku a tím vyrovná osmotickou koncentraci. Koncentrace dusíku v přijaté potravě je poměrně velmi nízká, oproti koncentraci cukrů. Poměr esenciálních a neesenciálních aminokyselin je nevyrovnaný ve prospěch neesenciálních, přičemž většina dusíku je obsažena v asparaginu a glutaminu. Mšice musí zpracovat velké množství potravy a využívat přijatý dusík efektivně (Dixon, 1998).

3.2.5 Škody

Existují různé názory na škodlivost mšic v zemědělské výrobě. Tato různorodost je založena na objektivních příčinách, jako je skladba pěstovaných rostlin, výběr kultivarů a agrotechnika, ale podílejí se na ní i sociální příčiny, především politické zájmy ve financování a podpoře jednotlivých odvětví zemědělské výroby. Všechny významné druhy mšic obilovin se objevují na pšenici, ale mohou se vyskytovat i na jiných druzích obilovin (Honěk a kol., 2002).

3.2.5.1 Přímé škody

Přímé škody vznikají sáním mšic ze sítkovic floému, odkud odčerpávají velké množství asimilátů transportovaných do sinků z listů i asimilátů vyprodukovaných v jednom orgánu (např. z plev do zrn). Celkové množství odčerpaných asimilátů nelze přesně uvést (Honěk a kol., 2002).

3.2.5.2 Nepřímé škody

Nepřímé škody jsou dány ztrátou asimilační plochy způsobenou prorůstáním skvrn od medovice mšic myceliem černí. Za určitých okolností mohou být nepřímé škody závažnějšího charakteru než ty přímé. Dalším faktorem podporujícím růst černí je vysoká vzdušná vlhkost, která se může vyskytnout u odrůd s velkou listovou plochou (Honěk a kol., 2002).

Přenos viróz je dalším možným případem vzniku nepřímých škod způsobených mšicemi. Intenzita výskytu je spojená s abundancí mšic, které příslušný virus přenášejí, četností zdrojů infekce, podmínkami při šíření vektorů na rostliny a dalšími faktory. V podmínkách České

republiky představují největší hrozbu virus žluté zakrslosti ječmene (Barley yellow dwarf virus) a virus zakrslosti pšenice (Wheat dwarf virus). Tyto viry způsobují kalamitní poškození především na ozimých obilninách (Honěk a kol., 2002).

Viry vyvolávají rozsáhlé biochemické změny v rostlinách. Tyto změny mohou ovlivnit interakci rostlin s vektory virů a přenos virů z infikovaných rostlin na nové hostitele. Toto platí zvláště pro viry přenášené mšicemi, které jsou převládajícími vektory rostlinných virů. Neperzistentní forma přenosu zprostředkovaná mšicemi je nejčastěji se vyskytující forma, kdy se virové částice váží na receptory přítomné ve styletu. Zatímco se mšice živí na infikované rostlině, připevnění virových částic na tyto receptory trvá jen několik sekund. Virová akvizice nevyžaduje dlouhé sání vodivých pletiv, virové částice se připevní nejúčinněji při testování rostliny na chutnost krátkými zkusnými vpichy do epidermálních buněk a tyto buňky jsou pak primárním inokulem zprostředkované infekce. Nicméně virové partikule se váží slabě na stilet a při slinění je lze snadno uvolnit, pokud trvá sání delší dobu. Z tohoto důvodu je sání po delší dobu pro neperzistentní přenos méně účinné (Westwood a kol., 2013).

Virus žluté zakrslosti ječmene (Barley yellow dwarf virus) je rozšiřován perzistentně mšicí střemchovou, kyjatkou travní a kyjatkou osenní. Na obilninách způsobuje zakrslost, poruchy v metání i předčasné odumírání rostlin. Listy jsou kratší, žloutnou od špiček k okraji listu a tvoří se chlorotické skvrny. Infekce probíhá ve dvou fázích – na podzim na vzcházejících ozimech a na jaře a v létě při migraci mšic pocházejících z přezimující generace (Honěk a kol., 2002). Virus zakrslosti pšenice (Wheat dwarf virus) je jednosložkový Geminivirus, který je přenášen křískem polním a napadá téměř všechny obiloviny (Schalk a kol., 1989). Mšice představují nejvýznamnější přenašeče rostlinných virů. Z tohoto důvodu je důležité znát chování hmyzu a jejich způsob rozšiřování pro pochopení epidemiologie virů (Carmo-Sousa a kol., 2014).

3.3 Parazitoidi mšic

3.3.1 Charakteristika

Parazitoid (obrázek č. 7) se vyznačuje tím, že se jeho larvální stádium vyvíjí na nebo uvnitř hostitelského organismu a nakonec hostitele usmrtí, čímž je prospěšný v rámci biologické ochrany. Parazitoidi jsou klasifikováni jako ektoparazité, kteří žijí a útočí na hostitele zvenku, nebo jako endoparazité, kteří se vyvíjejí z vajíčka nakladeného do hostitele. Dále mohou být parazitoidi rozdělováni na idiobionty a koinobionty. Idiobionti úplně paralyzují svého hostitele a většina z nich patří mezi ektoparazity. Nakladou vajíčko vedle těla kořisti a vysávají živiny z paralyzovaného těla hostitele. Oproti idiobiontům, koinobionti jsou obvykle endoparazité, kteří útočí až v době, kdy hostitel doroste do správné velikosti. Parazitoid i hostitel se společně vyvíjejí až do fáze kuklení (Helyer a kol., 2014).



Obrázek č. 7 – fotografie parazitoida *Aphidius rhopalosiphi* pořízená mikroskopem Hirox, 24. 11. 2016

3.3.2 Morfologie Braconidae

Dospělé tělo je tvořeno třemi tagmaty – hlava, mesosoma a metasoma. Mesosoma je složena ze tří hrudních článků. První abdominální článek v zadní části mesosomatu je nazýván propodeum. Hlava nese tři páry přívěsků, pár kusadel, oči a tři ocelli. Samci mají větší oči než samičky. Mesosoma je složeno ze 4 článků – předohrud', středohrud', zadohrud' a první zadečkový článek propodeum. Nohy jsou tvořeny 5 články – kyčel, malý trochanter, stehno, holeň, chodidlo složené z 5 článků a posledním článkem je telotarsus, který nese pár drápků.

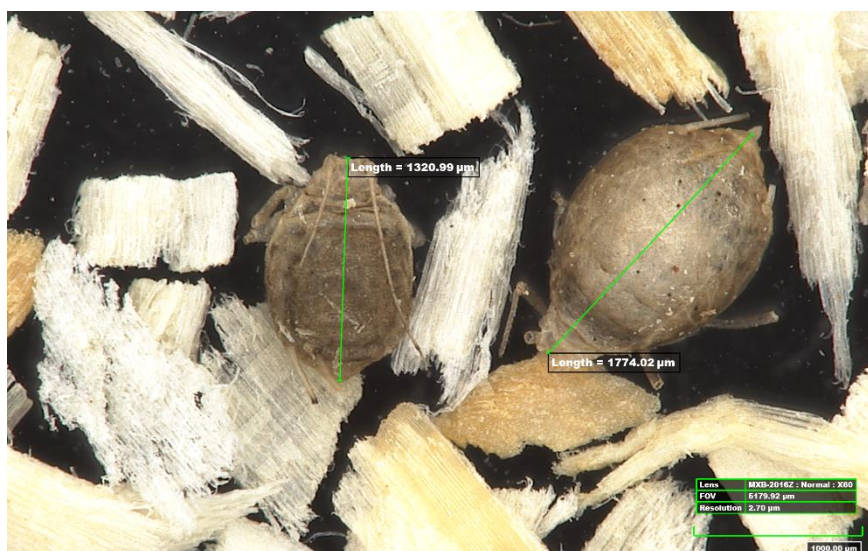
Braconidae patří do řádu blanokřídlí a mají dva páry blanitých křídel (obrázek č. 8). Metasoma je tvořeno 10 články. Samci disponují tmavší hlavou a hrotem na metasomatu. Velikost parazitických vosiček je limitována velikostí hostitele, ale samičky bývají většinou větší než samci (Quicke, 2014).



Obrázek č. 8 – fotografie blanitých křídel parazitoida pořízená mikroskopem Hirox, 24. 11. 2016

3.3.3 Biologie parazitoida

Celý vývoj nedospělých parazitoidů je vázán na hostitelskou mšici. Vajíčko je uloženo samičkou uvnitř mšice a následují tři larvální instary. Zástupci podčeledi Aphidiinae se kuklí uvnitř zbytků hostitele. Během svého posledního larválního instaru parazitoid usmrtí mšici, a zatímco larva spřádá svůj hedvábný kokon, kutikula mšice tvrdne a zasychá před tím, než se parazitoidní larva přemění v kuklu. Tato ztvrdlá kutikula je označována jako mumie (obrázek č. 9).



Obrázek č. 9 – fotografie mumie pořízená mikroskopem Hirox, 5. 11. 2016

Samička parazitoida se páří a začíná hledat hostitelské mšice. Pokud je kolonie mšic stále přítomná, může samička započít útok na stejném místě, stejné rostlině, nebo se přemístit a hledat nové kolonie mšic. Ve většině případů samička vyhledává kolonie mšic do vzdálenosti několika metrů, ale pokud je hostitel vzdálen, je schopna se rozšířit do vzdálenosti až 100 kilometrů za rok (Boivin a kol., 2012). Délka vývoje parazitoida závisí na teplotě a trvá přibližně dva týdny. Dlouhověkost dospělého je závislá na dostupnosti vody a medovice mšic, ale trvá přibližně dva až tři dny, mnohdy i více. Dospělci jsou nejvíce aktivní za teplých, slunečných dní v poledních hodinách a vykazují pozitivní fototaxi. Rozmnožování je pohlavní, ale některé druhy se rozmnožují partenogeneticky. Reprodukční kapacita je různorodá, běžně samička vyprodukuje i několik set vajíček. Na dlouhé vzdálenosti se dospělci rozšiřují především vzdušnými proudy, aktivní let je realizován jen na krátké vzdálenosti. Pasivní pohyb je uskutečňován živou mšicí, na které vosička parazituje. Nejvyšší bohatost druhů mšic a jejich parazitoidů se projevuje v mírných až subtropických oblastech severní polokoule (Starý, 2006).

3.3.4 *Aphidius*, spp.



Zástupci rodu *Aphidius* jsou samotářští koinobionti, kteří jsou silně adaptovaní na svého hostitele a jsou hostitelsky specifictí, tudíž jsou schopni ho využívat ke svému prospěchu a vyvíjí se v něm. Parazitoid *Aphidius* je jedním z nejúčinnějších bioagens biologické ochrany často používaným ve sklenicích. Tato parazitická vosička byla zahrnuta do programu biologické ochrany v 70. letech 20. století a od roku 1991 je masově chována a komerčně prodávána. Například druh *Aphidius colemani* (obrázek č. 10) je v současné době široce využíván po celém světě a je k dispozici od mnoha obchodních dodavatelů (Prado a kol., 2015).

Obrázek č. 10 – mumifikované mšice, ze kterých se vylíhne druh *Aphidius colemani*, jsou dodávána společností Koppert v inertním substrátu pod názvem APHIPAR, 1. 4. 2016

3.4 Glyfosát

3.4.1 Charakteristika

Glyfosát je nejvíce využívanou chemickou látkou na světě a ovlivňuje životní prostředí (Pezeshki a Saunders, 2014). Je hlavním neselektivním a postemergentním herbicidem, který je využíván při totální likvidaci vegetace. Jeho úspěch je dán nízkou reziduální aktivitou v půdě, širokospektrálním použitím, nízkou toxicitou pro necílové organismy a dobrou systémovostí v rostlinách. Ačkoli proběhla komercializace glyfosátu již v roce 1970, princip úhynu rostlin byl identifikována v roce 1980. Bylo zjištěno, že enzym 5-enol-pyruvyl-šikimát-3-fosfát syntáza (EPSP) je sensitivní na látku glyfosát. Tento enzym je zahrnut v procesu biosyntézy aromatických aminokyselin tryptofanu, fenylalaninu a tyrosinu a také vede k syntéze mnoha sekundárních metabolitů rostlin. Přibližně 20 % uhlíku fixovaného zelenými rostlinami je transportováno šikimátovou cestou s několika důležitými konečnými produkty, mezi něž patří vitaminy, ligniny, alkaloidy a celá řada fenolických sloučenin, například flavonoidy (Cobb a Reade, 2010).

3.4.2 Historie

Od objevení jeho herbicidních vlastností v roce 1970 a komercializaci v roce 1974 je glyfosát značně používán jak v zemědělských plodinách, tak mimo ně. Glyfosát je využíván před pěstováním plodin, nebo při posklizňové aplikaci, jelikož je neselektivní. Vlivem uvedení rezistentních plodin vůči glyfosátu na trh v 90. letech minulého století se začal široce využívat. Plodiny rezistentní vůči glyfosátu jsou v současné době pěstovány v několika zemích, například ve Spojených státech amerických, v Kanadě, v Argentině a v Brazílii (Nandula, 2010). Používání výhradně glyfosátu pro ochranu před plevele vedlo k vývoji rezistentních populací. Po téměř 20 let nebyla zaznamenána rezistence na glyfosát, první případ byl nahlášen v roce 1996, kdy byla objevena rezistence jílku tuhého. Od té doby bylo zjištěno 258 případů rezistence na glyfosát u více než 35 plevelných druhů, většinou ve spojitosti s využitím transgenních plodin tolerantních k účinné látce glyfosát (Alcantara-de la Cruz a kol., 2016).

3.4.3 Vliv na životní prostředí

Glyfosát je stabilní vůči hydrolytické a fotolytické degradaci. V rostlinách je metabolizován pouze v malé míře, jediným metabolitem je aminomethylfosfonová kyselina (AMPA). V půdě je glyfosát rychle degradován na AMPA, který je dále degradován/mineralizován na oxid uhličitý. Zvířaty je velmi rychle vylučován močí a výkaly. Rostlinami je přijímán listy a stonky a rozváděn floémem do metabolických sinků – meristémů a kořenů (Roberts a kol., 2007).

3.4.3.1 Chování glyfosátu v půdě a jeho degradace

Při užití herbicidu je nutné znát, jak tato chemikálie působí v půdě. To je důležité pro optimalizaci výkonu herbicidu, aby nedocházelo k poškozování následující plodiny a aby se zabránilo nechtěným vedlejším účinkům uvnitř nebo vně oblasti účinku. Pro glyfosát je charakteristické, že jeho herbicidní aktivita v půdě je nízká. To je přičítáno adsorpci na půdní složky. Při zkoumání adsorpce glyfosátu bylo zjištěno, že je vázán na půdu prostřednictvím části kyseliny fosfonové. Anorganické fosfáty soupeří o místa adsorpce a adsorpce glyfosátu v půdě se projevuje velmi rychle již při první hodině a dále se pomalu zvyšuje. Adsorpci ovlivňuje obsah organické složky a pH půdy jen málo, ale přidávkem fosfátu adsorpci snižuje. Bylo zjištěno, že glyfosát je v půdě jen velmi málo pohyblivý, pohybuje se jen mírně v tenkovrstvých plátech. Rozklad herbicidu probíhá fotochemicky, chemicky nebo biologicky. Glyfosát nepodléhá chemické hydrolýze a výzkumy dokazují, že jeho degradace je způsobena mikroflórou. Těkavost a odtok dešťovou vodou se nevyskytuje (Grossbard a Atkinson, 1985).

3.4.3.2 Znečištění vody

Znečištění životního prostředí pesticidy je považováno za závažný světový problém. Rezidua glyfosátu představují velké nebezpečí, jelikož tyto látky mohou proniknout do vodního prostředí prouděním vzduchu, povrchovým odtokem, kanalizací či prostřednictvím dešťové vody, což zvyšuje riziko pro necílové organismy. Nedávné výzkumy dokazují, že glyfosát ovlivňuje fytoplankton a vodní organismy. V roce 2015 byl glyfosát označen za pravděpodobně karcinogenní pro lidstvo (Reno a kol., 2016).

3.4.4 Vliv na necílové organismy

V porovnání s ostatními pesticidy je glyfosát málo pohyblivý a toxický vůči živočichům. Po dlouhou dobu byl považován za nejméně škodlivý pesticid, ale současné studie (Bai a Ogbourne, 2016; Baier a kol., 2016; Burella a kol., 2017) dokazují, že použití glyfosátu je rizikové. Bylo vyvozeno, že i v nízkých dávkách poškozuje lidské buňky. Některé studie uvádějí, že je hlavním faktorem pro vznik rakoviny a non-Hodgkinův lymfom. Glyfosát je pesticid, který ovlivňuje mnoho krevních parametrů krys, pokud je užit ústy či podkožně. Způsobuje závažné škody v metabolické aktivitě, což lze měřit aktivitou enzymů jako je například aminotransferáza. Experimenty prováděné na krysách dokazují, že glyfosát nezpůsobuje přímo rakovinu kůže, ale podporuje její vývoj (Hasković a kol., 2016). Vytvořením tolerantních druhů plodin ke glyfosátu byla výrazně zvýšena poptávka a použití tohoto herbicidu a rovněž bylo zvýšeno riziko pro necílové druhy organismů. Komerčně dostupné herbicidy na bázi glyfosátu se skládají z několika složek, z nichž každá má jedinečnou úroveň toxicity. Surfaktanty jsou látky, které zvyšují účinnost herbicidu a často jsou tyto chemikálie odpovědné za toxicitu pro necílové druhy. Většina herbicidů na bázi glyfosátu není schválena pro použití ve vodním prostředí, přesto bylo měřitelné množství aktivní složky i surfaktantů v povrchových vodách detekováno. Tím vzniká potenciál pro změnu fyziologie vodních organismů. Akutní toxicita je vysoce druhově závislá napříč všemi taxony, dále závisí na načasování, rozsahu a způsobu expozice. Obojživelníci jsou pravděpodobně citlivější na toxicitu než ostatní obratlovci vzhledem k jejich životnímu cyklu a vazbě jak na vodní, tak terestrické území (Annette a kol., 2014). K dispozici je řada studií (Mensah a kol., 2011; Gomes a Juneau, 2016; Kittle a McDermid, 2016; Roy a kol., 2016), které popisují toxicitu glyfosátu pro vodní organismy. Glyfosát ovlivňuje celou řadu organismů. Bylo prokázáno, že přítomnost glyfosátu ve vodě snižuje růst ocasu u ropuch, dochází k deformaci ocasu a snižuje se diverzita společenstva řas (Baier a kol., 2016).

Hodnoty EC 50 pro glyfosát se pohybují v rozmezí od 2,1 do 189 miligramu na litr. Hodnota NOEC odpovídá nejvyšší konkrétní zkoušené koncentraci vzorku, u které ještě nedošlo k inhibičnímu efektu. Pro nejcitlivější vodní organismus *Selenastrum capricornutum* byla odhadnuta hodnota NOEC na 0,73 miligramu Roundupu na litr. Glyfosát vykazuje široké spektrum toxicity pro vodní mikroorganismy. Životní cyklus vodních mikroorganismů je krátký, tudíž jsou studie zaměřeny především na měření chronického efektu. Chronická referenční hodnota toxicity glyfosátu pro vodní organismy byla odhadnuta na 0,28 miligramu na litr. Pro vodní makroorganismy činí hodnota EC 50 3,9 -15,1 miligramu na litr (Giesy a kol., 2000).

3.5 Fyziologické interakce

3.5.1 Obranné reakce při poškození rostlin

Rostliny jsou přisedlé organismy, proto se stávají snadnou kořistí pro biotický a abiotický stres. Přes jeden milion fytofágních hmyzích škůdců využívá rostliny jako zdroj potravy. Tito škůdci se živí žvýkáním či sáním na nadzemních či podzemních částech rostliny. Během dlouhé koevoluce rostlin a hmyzu se mezi oběma skupinami vyvinuly vzájemné interakce. Hmyz zprostředkovává opylení rostliny a rozšiřuje jejich semena, naproti tomu negativně ovlivňuje rostliny konzumací jejich částí. U rostlin se vyvinuly různé mechanismy, kterými se vypořádávají s těmito negativními interakcemi. Tyto mechanismy mohou představovat vlastní konstitutivní obranu, která zahrnuje fyzické bariéry – buněčnou stěnu, cytoplazmatickou membránu (Dubey a kol., 2013). Kluzký voskový povlak na listech může způsobit problém pro mnoho hmyzích škůdců. Listy mnoha rostlin jsou pokryty trichomy, které mohou odradit především šťávu sající škůdce od napadení rostliny (Walters, 2010). Mezi indukované mechanismy obrany patří aktivace inhibitoru proteinázy, polyfenoloxidáza a chitináza. Rostlina rovněž může vylučovat sekundární metabolity, kterými přiláká parazitoidy škůdců. Bylo prokázáno, že indukovaný obranný mechanismus je zprostředkováván kyselinou salicylovou, jasmonovou a ethylenem. Sající hmyz způsobuje škody na kulturních rostlinách a ve sklenících v mírných i tropických oblastech. Přímé škody vznikají v důsledku odsátí nutričně významných látek z napadeného floému. Toto poškození snižuje vitalitu rostliny a dochází k deformaci listů a stonků. Dalším velkým problémem je velké množství medovice, která je vylučována na listy a plody a je kolonizována černěmi (Dubey a kol., 2013).

Ve svém přirozeném prostředí se rostliny musí neustále bránit proti stresu vyvolaným jak biotickými, tak abiotickými činiteli. To zahrnuje invazi patogenů, vysoké teploty, vystavení

působení těžkých kovů, ultrafialové záření, nízkou teplotu, zasolení a stres způsobený nedostatkem či nadbytkem vody. Během interakce mezi rostlinou a patogenem dochází k zesíťovacím biochemickým reakcím (Camejo a kol., 2016). Počáteční reakce nastane, pokud patogen v kontaktu s rostlinou začne vylučovat některé proteinové a non-proteinové efekторы zvané PAMPs (patogen-associated molecular patterns). Invaze patogena je úspěšná, pokud jsou PAMPs přemístěny k hostiteli, potlačují imunitní systém rostliny a umožňují tak penetraci a zabydlení patogena (Hogenhout, 2009). Za této situace rostlina aktivuje síť signálních drah, která vede k hypersenzitivní reakci (HR) anebo indukci systémově získané rezistence (SAR). Hypersenzitivní reakce v rostlinách zahrnuje změny metabolismu, které jsou často doprovázeny dřevnatěním, suberizací, depozicí kalózy, změnami v toku iontů a peroxidací lipidů. HR zahrnuje i aktivaci programované buněčné smrti často doprovázenou oxidativním vzplanutím, při kterém je produkován superoxidový radikál, peroxid vodíku a hydroxylový radikál. Tato rychlá odpověď organismu vyvolá produkci fytoalexinů a syntézu PR proteinů patogenem (Camejo a kol., 2016). Aktivace SAR je obranným mechanismem celé rostliny na lokální útok patogenem, po kterém se aktivují SAR geny. Tyto geny jsou exprimovány během SAR a vyvolávají odolnost vůči širokospektrálnímu poškození rostliny. Signální molekuly, jako je kyselina salicylová (SA), kyselina jasmonová (JA) a ethylen (ET) jsou produkovány proti patogenu pro obranu signálních drah (Kunkel a Brooks, 2002). Zatímco rostliny často využívají chemické obrany proti býložravcům, existuje mnoho případů, kdy si býložravci vyvinuli způsoby, jak se vyhnout, zmenšit nebo detoxikovat obranné reakce rostlin (Schwartzberg a Tumlinson, 2014).

3.5.2 Obrana rostlin proti mšicím

Obrana rostlin proti mšicím zahrnuje řadu allelochemických účinků, tedy produkování chemických látek živým organismem. Tyto účinky mohou vyvolat tvorbu peroxidu vodíku a dalších reaktivních forem kyslíku (ROS) v býložravci. Mezi tyto látky patří například furanokumariny, β -karbonyl alkaloidy, thiofeny a fenolické sloučeniny. ROS způsobují oxidační poškození buňky střeva, čímž se snižuje vstřebávání živin hmyzích býložravců. ROS reagují s mnoha intracelulárními molekulami - proteiny, lipidy, DNA, což způsobuje smrt buňky. Reaktivní formy kyslíku vyvolávají peroxidaci lipidů, která vede ke zvýšené propustnosti buněčné membrány pro ionty a kapaliny. Peroxidace lipidů je obzvláště škodlivá pro býložravé organismy, jelikož lipidy jsou nejen složkami membrán, ale mají také unikátní fyziologické funkce. Kutikulární uhlovodíky zabraňují vysychání a isoprenoidní juvenilní hormony zasahují do vývoje hmyzu. Mšice a jiné druhy býložravého hmyzu vlastní

antioxidační enzymatický systém, který snižuje hladinu ROS. Tento systém se skládá ze superoxid peroxidázy (SOD), katalázy (CAT), glutathion peroxidázy (GPX), glutathion reductázy (GR) a askorbát peroxidázy (APX). SOD převádí O_2^{-1} na kyslík a peroxid vodíku, který pak CAT a GPX přemění na vodu (Łukasik a Goławska, 2013).

Bylo zjištěno, že hydroxamové kyseliny, indolové alkaloidy, lektiny a některé fenoly obsažené v obilovinách mohou hrát důležitou roli v rezistenci proti mšicím. Indolový alkaloid gramine způsoboval pokles životaschopnosti a reprodukce (Forslund, 2000). Hydroxamové kyseliny jsou rostlinnými sekundárními metabolity, které se nacházejí v planých i kulturních druzích čeledi Poaceae. Tyto sekundární metabolity hrají významnou roli v rezistenci rostlin proti hmyzu (Gianoli, 1998). U mšic převažuje intercelulární penetrace. Stylety zasahující do sítkovic jsou někdy široce rozvětvené, což naznačuje, že délka styletu není limitním faktorem pro dosažení floému rostliny. Především byliny nemají uložen floém velmi hluboko v pletivech. U mladých nymf a starých stonků nastávají potíže s proniknutím do floému z důvodu hloubky floému a vláken pletiv, ale mšice to vyřeší snadno přemístěním se na místo s lepším průnikem. Přístupnost do floému je snadnější z abaxiální strany listu. Volba místa na rostlině, na kterém se mšice bude živit, je dána mnoha dalšími anatomickými a fytochemickými vlastnostmi. Jednou z interakcí, která ovlivňuje penetraci styletem je pektin-pektináza (Gianoli, 1998).

Sekundární metabolity jako jsou například alkaloidy, fenoly, glukosinoláty a hydroxamové kyseliny jsou velmi známými mediátory odezvy chování v mšicích. Bylo prokázáno, že tato široká škála sloučenin působí jako ochranný prvek, nebo dokonce způsobuje antibiotické účinky. Před dosažením floému, mšice a jiný hmyz živící se asimiláty z floému musí čelit těmto allelochemikáliím. Mnoho z těchto sloučenin je uchováváno v buněčné vakuole v redukované toxické formě, například glykosid nebo amid. Mšice nasávají malé vzorky z cytoplazmy a vakuoly během krátkých intracelulárních vpichů. Fenolické sloučeniny se objevují převážně v buněčné stěně a jejich vliv na chování mšic doposud není přesně znám. Z pohledu mšice, ochranná funkce polyfenoloxidázy obsažené ve slinách brání intoxikaci fenolem (Łukasik a Goławska, 2013).

Rostlina jako zdroj potravy pro mšice se neustále mění v čase a prostoru. Během vývoje rostliny kvalita pletiva podstatně kolísá. Mladé listy a výhonky jsou pro mšice atraktivní, obsahují mnoho výživových prvků a volných aminokyselin, které jsou rozváděny do floému. Ve starých listech jsou aminokyseliny mobilizovány rozložením proteinů. Proto mšice dávají přednost mladým a senescentním listům před listy dospělými. U stromů je obsah aminokyselin výrazně

nižší v dospělých listech během léta než na jaře a na podzim, kdy listy rostou nebo stárnou. Sekundární metabolity jsou nejvíce koncentrovány v mladých a rostoucích listech a jejich hladina se s věkem snižuje (Prado, 1997). Jakékoli poškození rostliny vyvolává obranné reakce, které indukují metabolické anebo morfologické změny. Tyto reakce mohou být všeobecné nebo naopak velmi specifické pro určité poškození. V některých případech je důsledek rostlinné obranné reakce mnohem horší než aktuální poškození posátím od mšic. Některé studie dokazují, že rostliny mohou reagovat na poškození mšicemi tvorbou těkavých látek, které ovlivňují aktivitu sání a přitahují afidofágní parazitoidy. Mezi těkavé látky patří například methylsalicylát a metabolické deriváty salicylové kyseliny přítomné v biochemických drahách (Prado, 1997).

3.5.3 Interakce mezi parazitoidy

Mezi parazitoidy existují různé trofické a kompetiční interakce. Při hyperparazitismu je primární parazitoid napadán sekundárním parazitoidem. Tento kompetiční vztah je velmi komplikovaný a vyskytuje se často u parazitoidů řádu Hymenoptera. Ačkoli sekundární parazitoid eliminuje množství primárního parazitoida, což v biologické ochraně není chtěné, zajišťuje přirozené trofické vazby (Holecová, 2012).

4 Materiál a metody

4.1 Rostlinný materiál

Pro experiment byla jako živná rostlina použita ozimá pšenice odrůdy Elixer (obrázek č. 11). Rostliny ozimé pšenice byly vypěstovány v květnících 7x7 cm ve skleníku při teplotě 21 °C a běžném světelném režimu, tedy 16 hodin světlo a 8 hodin tma. Jako substrát byl využit univerzální substrát B firmy Rašelina Soběslav, který obsahuje rašelinu, minerální kombinované hnojivo se stopovými prvky a jemně mletý dolomitický vápenec. Rostliny pšenice byly udržovány v bezplevelném stavu, pravidelně zalévány a průběžně kontrolovány na výskyt padlí. Pokud bylo padlí objeveno, byly napadené rostliny odstraněny. Osivo pšenice bylo namořeno fungicidem s účinnou látkou fludioxonil a difenokonazol.



Obrázek č. 11 – napěstované rostliny pšenice ve skleníku, 27. 7. 2016

4.2 Mšice

Pro experiment bylo využito mšic *Metopolophium dirhodum* (obrázek č. 12), které byly získány ze zavedených chovů Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze Ruzyni. Jedná se o oligofágní druh mšice, který se vyskytuje hojně na listech všech obilovin ve střední Evropě. Jejich chov v laboratorních podmínkách je poměrně jednoduchý. Viviparní okřídlené či bezkřídle samičky jsou přibližně 2-3 mm dlouhé a jejich vývoj probíhá přes čtyři larvální instary. Mšice byly udržovány a chovány ve fytotronu při konstantní teplotě $21\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ na mladých rostlinkách pšenice.



Obrázek č. 12 – fotografie mšice *M. dirhodum* pořízená mikroskopem Hirox, 5. 11. 2016

4.3 Parazitoidi

Parazitoidi byli získány z polních podmínek z neošetřené části pole v areálu Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze Ruzyni. Mumifikované parazitované mšice (obrázek č. 13) byli sbírány na přelomu června a července. Tyto mumie byly umístěny do izolátorů s rostlinami pšenice napadenými mšicemi a potravou - medem. Izolátory byly v místnosti o konstantní teplotě $21\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ a světelném režimu 16 hodin světlo a 8 hodin tma. Při tomto režimu trvala délka vývoje průměrně 13 dní. Rostliny byly pravidelně zalévány. Takto byl dále udržován chov parazitoidů *Aphidius rhopalosiphi* de Stefani-Perez, kteří byli využiti pro experiment. Mumie byly odebírány pinzetou do zkumavek s popiskem obsahujícím datum a počet mumii.



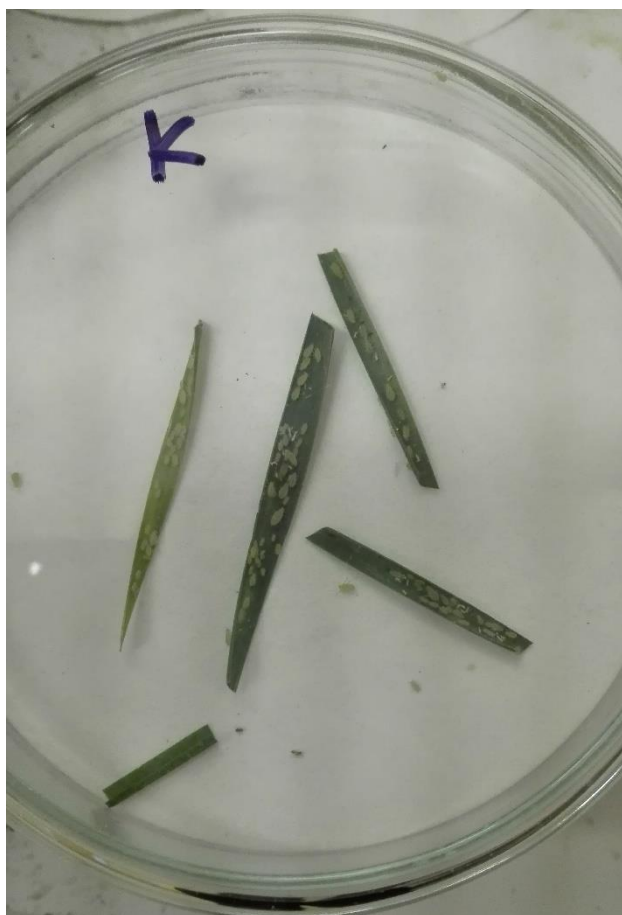
Obrázek č. 13 – mumifikovaná mšice na listu pšenice z neošetřené části pole, 1. 7. 2016

4.4 Aplikovaný herbicid

Pro experiment byl využit herbicid Roundup Activ s aktivní látkou glyfosát. Roundup Activ je v České republice velmi často využívaným herbicidem pro zemědělské i nezemědělské využití. Tento herbicid obsahuje 229 gramů účinné látky - isopropylaminové (IPA) soli glyfosátu (molekulární hmotnost = $228,18\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) na litr emulze. V experimentu bylo využito třech různých koncentrací herbicidu: 33,5 (nízká), 66,9 (střední), 133,8 (vysoká) mmol na dm^{-3} a

destilované vody jako varianta kontrola. Koncentrace byly zvoleny podle doporučených dávek v zemědělských systémech uváděných výrobcem a odpovídají 80, 160 a 320 ml komerčního produktu rozpuštěného ve 2 litrech vody a postříkanou plochou 100 m². Herbicid byl aplikován v Potterově postřikovací věži pod tlakem 3 bary.

4.5 Experiment



Obrázek č. 14 – mšice před postřikem destilovanou vodou jako kontrola na Petriho misce, 11. 8. 2016

Příprava experimentu byla zahájena sběrem mšic larválního stádia L3-L4. Vždy 25 mšic bylo umístěno na filtrační papír do Petriho misky (obrázek č. 14). V experimentu byly mšice ošetřeny třemi koncentracemi herbicidu Round Up Activ a destilovanou vodou jako kontrola. Round Up Activ je totální herbicid, jehož aktivní látkou je glyfosát. V první části bylo 175 mšic postříkáno v Potterově postřikovací věži dávkou 320 ml herbicidu Round Up Activ a 175 mšic postříkáno pouze destilovanou vodou – varianta kontrola. Postřik 2 ml roztoku byl proveden v postřikovací komoře Potterovy postřikovací věže při tlaku 3 barů. V druhé části experimentu byly mšice ošetřeny nízkou a střední koncentrací herbicidu. Následující postup byl stejný jako v první části.

Osm rostlin bylo umístěno do velkého izolátoru a ke každé rostlině bylo umístěno vždy 25 mšic. Izolátor byl označen popiskou s variantou a datem postřiku. Do izolátoru bylo následně vypuštěno 8 párů parazitoidů a ponecháno 24 hodin s rostlinami a mšicemi. Za 24 hodin byli parazitoidi odchyceni. Toto bylo provedeno dvakrát pro vyšší počet použitelných mumií. Přibližně po 11 dnech byl proveden sběr mumií (obrázek č. 15) do zkumavek (obrázek č. 16).

Vylíhlí parazitoidi byli spárováni a umístěni do zkumavek s potravou na 24 hodin. Další den byl pár parazitoidů vypuštěn do malého izolátoru s jednou rostlinou pšenice, na které se živilo 25 mšic, a s potravou – medem.



Obrázek č. 16 – mumie ve zkumavce, 13. 7. 2016

Obrázek č. 15 – detail mumie, 1. 4. 2016

Rostlina byla označena popiskou s variantou pokusu a datem. Po 24 hodinách bylo vyhodnocováno přežití samce či samičky nebo obou pohlaví parazitoidů. Takto byla zaznamenávána data pro 25 izolátorů na jednu variantu. Následně byla rostlina vyjmuta z malého izolátoru a přemístěna do velkého izolátoru i s popiskou (obrázek č. 17).



Obrázek č. 17 – velký izolátor s přemístěnými rostlinami, 27. 7. 2016

Jakmile byly objeveny mumie, došlo k jejich sběru do zkumavky. U vylíhnutých parazitoidů byly zaznamenány následující parametry – pohlaví a počet samic a samců. Délka vývoje a počet mumifikovaných mšic (plodnost samiček) byly zaznamenány dvakrát v průběhu pokusu. Poprvé ve fázi 1 u parazitoidů vylíhnutých z ošetřených mšic a poté ve fázi 2 u parazitoidů z další generace.

Druhý experiment byl založen na stanovení letální koncentrace glyfosátu, při které je mortalita parazitoidů rovna 50 %. Příprava pro tento experiment byla obdobná jako při experimentu prvním, byl udržován chov mšic *Metopolophium dirrhodum* a parazitoidů *Aphidius rhopalosiphi*. Do Petriho misky o průměru 90 mm byl vložen filtrační papír a v Potterově postřikovací věži (obrázek č. 18) byl proveden postřik. Pro experiment bylo využito sedmi různých molárních koncentrací účinné látky glyfosátu: 16,7, 33,5, 66,9, 104,4, 133,8, 267,6, 501,8 mmol na dm³ a destilovaná voda jako kontrola. Tyto koncentrace byly zvoleny pro přesnou identifikaci LC50 parazitoidea *Aphidius rhopalosiphi*. Po korekci postříkané plochy a adhezi aerosolu na stěny komory Potterovy postřikovací věže byla molární koncentrace srovnatelná s 40, 80, 160, 240, 320, 640 a 1280 ml komerčního produktu rozpuštěného ve 2 litrech vody s postříkanou plochou 100 m². Do jedné Petriho misky bylo vloženo 10 parazitoidů a experiment byl založen na tarsálním kontaktu parazitoidů s postříkaným filtračním papírem. Pro objektivnost pokusu bylo provedeno deset opakování a bylo zaznamenáno pohlaví parazitoidů. Po 24 hodinách byla pozorována jejich mortalita. Data úmrtnosti byla vyjádřena jako binární vektor, který obsahuje počet přeživších a mrtvých parazitoidů na Petriho misku. Data byla analyzována prostřednictvím GLM logit v softwaru R, verze 2.15 za předpokladu binomického rozdělení chyb. Molární koncentrace herbicidu byly využity jako vysvětlující proměnné.



Obrázek č. 18 – Potterova postřikovací věž, 11. 8. 2016

4.6 Statistické vyhodnocení

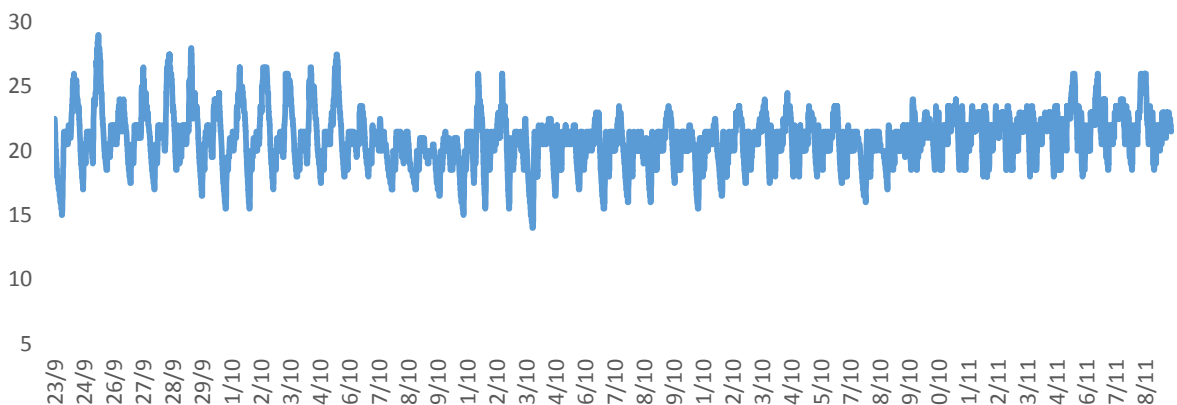
Data týkající se délky vývoje parazitoida, doby přežívání, plodnosti samic a poměru samců vůči samicám byla zpracována v programu Statistica. Pro vyhodnocení vlivu různých koncentrací byl využit obecný lineární model (GLM), konkrétně analýza rozptylu – jednofaktorová ANOVA. Pokud nebyl mezi vyhodnocovanými prvky statisticky významný rozdíl, byla analýza ukončena. Pokud byl mezi vyhodnocovanými prvky statisticky významný rozdíl, následovalo podrobnější vyhodnocení ANOVY pomocí Scheffého testu. Následovalo porovnání závislostí mezi konkrétními koncentracemi a kontrolou. Celkové ovlivnění délky vývoje bylo hodnoceno vícefaktorovou ANOVOU, kde jako závisle proměnná byla označena délka vývoje a jako nezávisle proměnné byly zvoleny koncentrace a pohlaví. Boxploty porovnávající životní parametry a koncentraci byly vytvořeny v programu R. Ve stejném programu byla vyhodnocena analýza přežití a vytvořeny grafy přežití v závislosti na koncentraci a pohlaví. Tabulka hodnot letálních koncentrací a křivka závislosti mortality parazitoidů na koncentraci účinné látky glyfosátu byly vytvořeny rovněž v programu R. Další grafy byly zpracovány v Excelu.

5 Výsledky

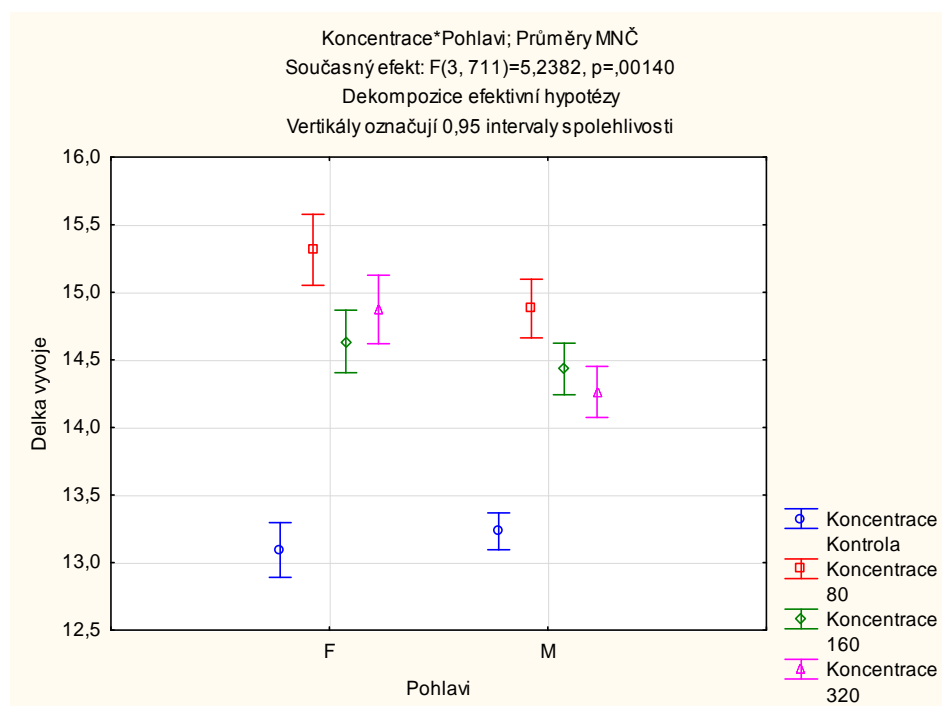
5.1 Experiment 1 – ovlivnění životních parametrů

5.1.1 Délka vývoje fáze 1

Délka vývoje byla poprvé zaznamenávána v první fázi experimentu po vylíhnutí parazitoidů z ošetřených mšic. Délka vývoje může být ovlivněna pohlavím, teplotou a kvalitou rostlin, respektive potravou mšic, které slouží k dokončení pohlavního cyklu parazitoida. Průměrná teplota činila 20,1 °C. Délka vývoje byla negativně ovlivněna herbicidem Roundup.



Graf 1 Průběh teplot v období experimentu

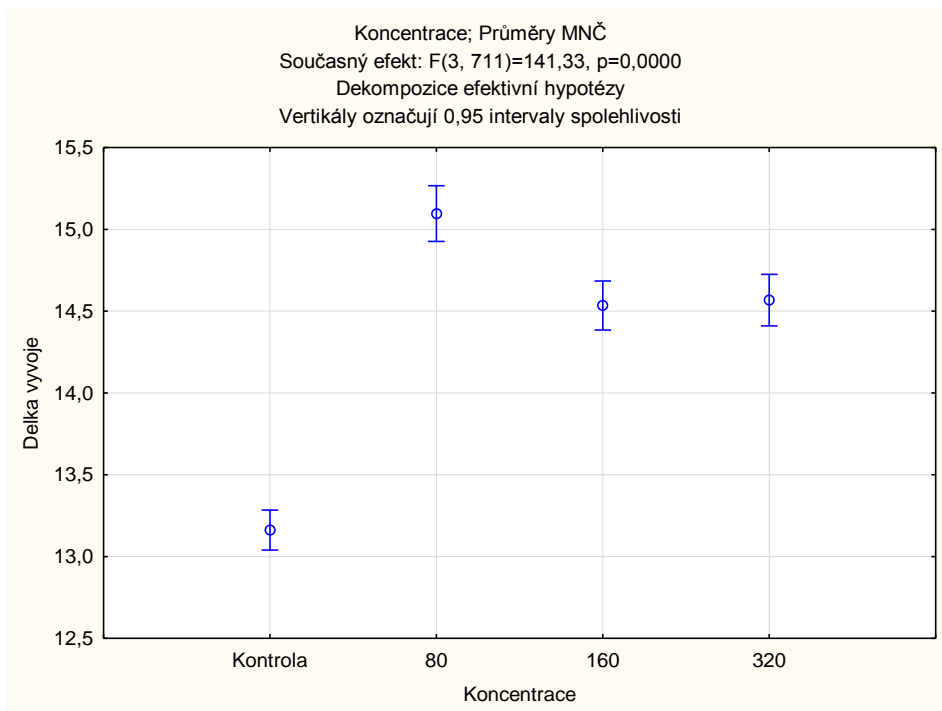


Graf 2 Znázornění vlivu pohlaví a koncentrace herbicidu na délku vývoje parazitoida

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Délka vyvoje faze 1 Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	127069,9	1	127069,9	138923,4	0,000000
Koncentrace	387,8	3	129,3	141,3	0,000000
Pohlaví	11,9	1	11,9	13,0	0,000338
Koncentrace*Pohlaví	14,4	3	4,8	5,2	0,001399
Chyba	650,3	711	0,9		

Tabulka 1 Statistické vyhodnocení závislosti pohlaví parazitoida a koncentrace herbicidu na délku vývoje parazitoida

Nulová hypotéza byla stanovena, že délka vývoje není ovlivněna faktory koncentrace herbicidu a pohlaví parazitoida. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Mezi všemi faktory byla hodnota $p < 0,05$, tudíž je nulová hypotéza zamítnuta. Délka vývoje je statisticky významně ($p < 0,05$) ovlivněna jak různou koncentrací herbicidu, tak pohlavím parazitoida (tabulka 1).



Graf 3 Znárodnění vlivu koncentrace na délku vývoje parazitoida

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Délka vyvoje Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	135454,5	1	135454,5	144129,0	0,00
Koncentrace	394,8	3	131,6	140,0	0,00
Chyba	672,0	715	0,9		

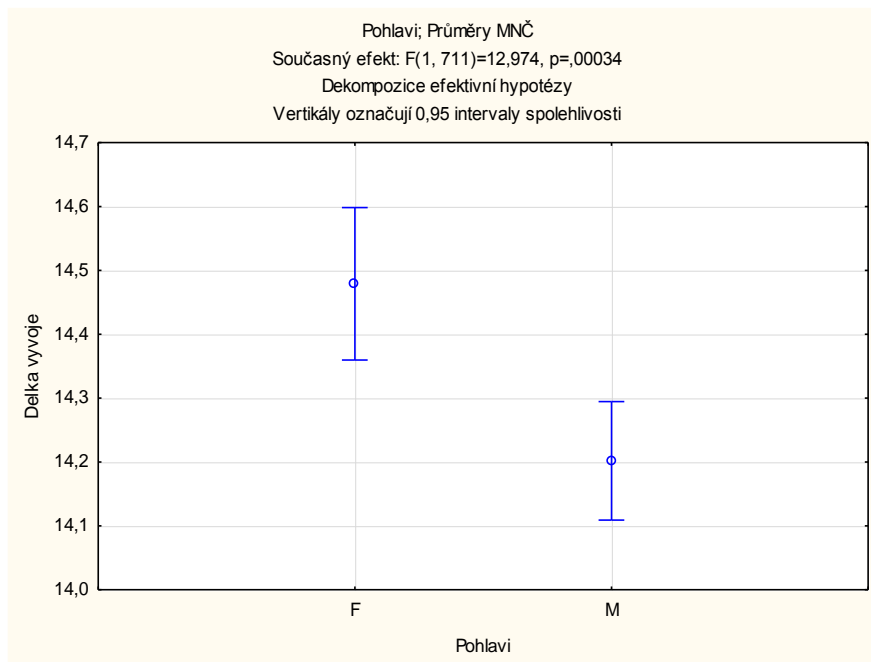
Tabulka 2 Statistické vyhodnocení vlivu koncentrace herbicidu na délku vývoje parazitoida

Nulová hypotéza byla stanovena, že délka vývoje není ovlivněna koncentrací herbicidu. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Hodnota $F_{(3,711)} = 141,33$, hodnota $p(0,00) < 0,05$, tudíž je nulová hypotéza zamítnuta. Je statisticky průkazné, že koncentrace herbicidu ovlivňuje délku vývoje (tabulka 2 a graf 3).

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Delka vyvoje Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,93981, sv = 715,00				
	Koncentrace	1 13,188	2 15,056	3 14,515	4 14,481
1	Kontrola		0,000000	0,000000	0,000000
2	80	0,00		0,000074	0,000025
3	160	0,00	0,000074		0,991571
4	320	0,00	0,000025	0,991571	

Tabulka 3 Výsledky podrobnějšího vyhodnocení ANOVY pomocí Scheffého testu

Mezi kontrolou a různými koncentracemi herbicidu Roundup existuje statisticky významný rozdíl v délce vývoje, hodnota $p < 0,05$. Délka vývoje samce je mezi koncentrací 160 ml a 320 ml srovnatelná ($p > 0,05$) (tabulka 3).



Graf 4 Znárodnění vlivu pohlaví na délku vývoje parazitoida

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Delka vyvoje Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	132298,8	1	132298,8	90470,60	0,000000
Pohlaví	18,3	1	18,3	12,49	0,000436
Chyba	1048,5	717	1,5		

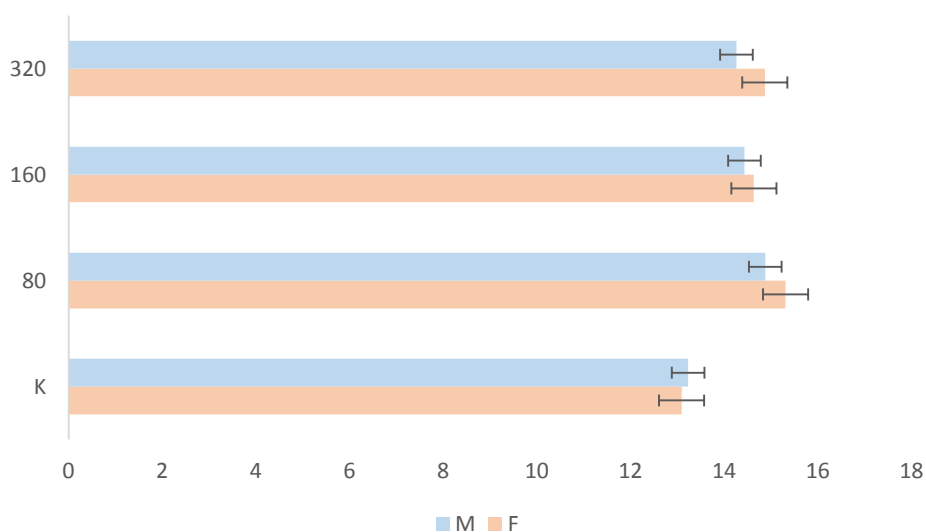
Tabulka 4 Statistické vyhodnocení závislosti pohlaví parazitoida na délku jeho vývoje

Nulová hypotéza byla stanovena, že délka vývoje není ovlivněna pohlavím parazitoida. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Hodnota $F_{(1, 711)} = 12,974$, hodnota $p < 0,05$, tudíž je nulová hypotéza zamítnuta. Je statisticky průkazné, že pohlaví parazitoida ovlivňuje jeho délku vývoje (tabulka 4).

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Delka vyvoje Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1,4623, sv = 717,00		
	Pohlaví	1	2
1	F	14,306	0,000436
2	M	0,000436	

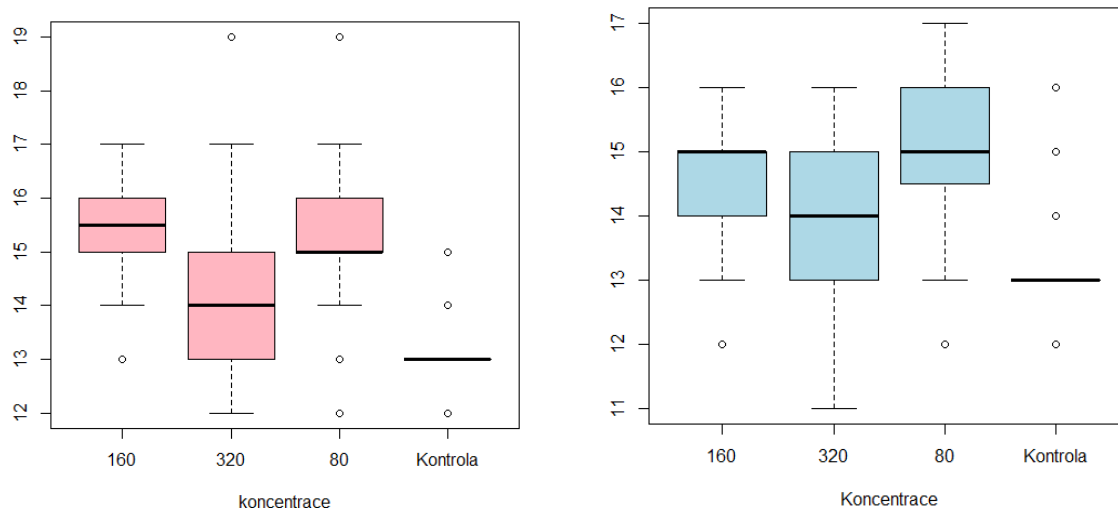
Tabulka 5 Výsledky podrobnějšího vyhodnocení ANOVY pomocí Scheffého testu

Hodnoty $p < 0,05$, tudíž je statisticky průkazné, že pohlaví parazitoida ovlivňuje délku jeho vývoje (tabulka 5).



Graf 5 Porovnání délky vývoje (ve dnech) parazitoidů u různých variant pokusu v 1. fázi, K značí kontrolu, 80, 160 a 320 ml značí koncentraci herbicidu po korekci

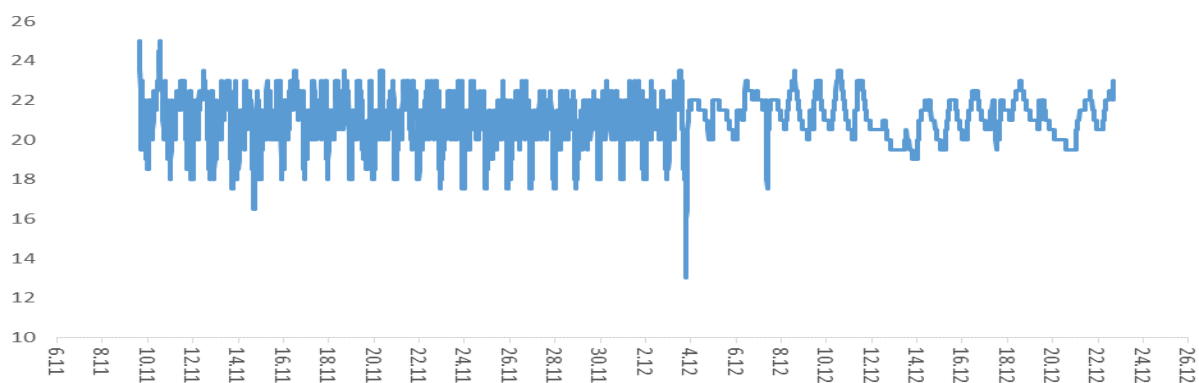
Vývoj samičky u varianty kontrola trval 13,09 dnů, zatímco u samců 13,23 dnů. U varianty 80 ml trval vývoj samiček 15,31 dnů, vývoj samců 14,88 dnů. U varianty 160 ml byla délka vývoje samiček 14,63 dnů a délka vývoje samců 14,43 dnů. U nejvyšší koncentrace 320 ml trvala délka vývoje samiček 14,87 dnů, zatímco u samců 14,26 dnů. S vyšší koncentrací herbicidu se prodlužovala doba vývoje (graf 5 a 6).



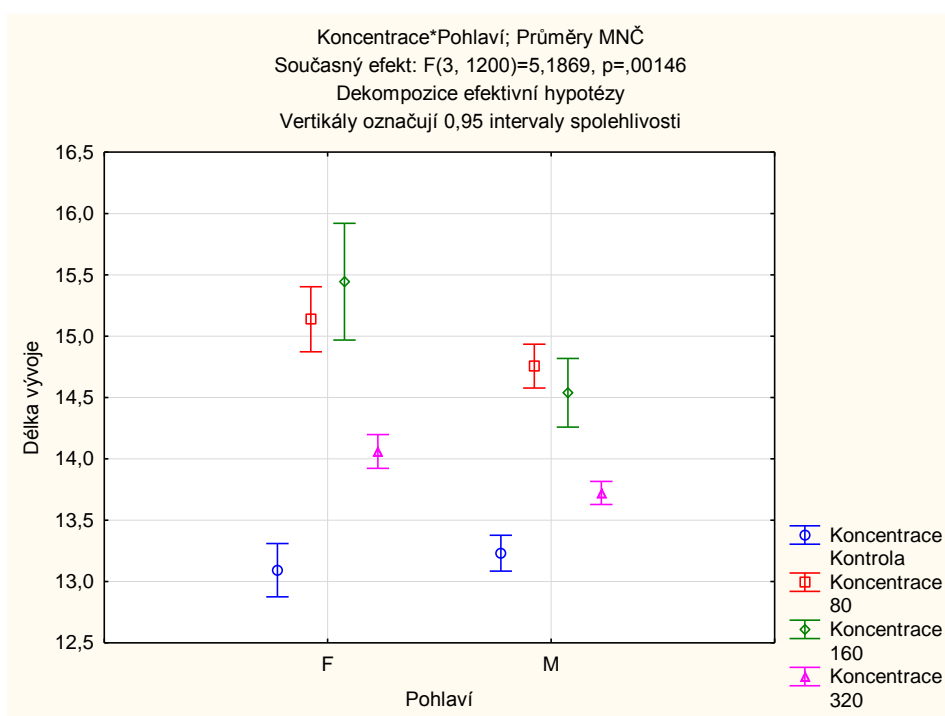
Graf 6 Porovnání délky vývoje (fáze 1) parazitoida po ovlivnění herbicidem Roundup pomocí boxplotů. Růžově jsou označeny samičky, modře samci, 80, 160 a 320 ml značí varianty koncentrací herbicidu

5.1.2 Délka vývoje fáze 2

Délka vývoje byla podruhé zaznamenávána v druhé fázi experimentu, kdy parazitoidi vyvinutí z ošetřovaných mšic nakladli vajíčka do neošetřených mšic a následně se z těchto mumifikovaných mšic vylíhli, tedy druhá generace parazitoidů. Délka vývoje může být ovlivněna pohlavím, teplotou a kvalitou rostlin, respektive potravou mšic, které slouží k dokončení pohlavního cyklu parazitoida. Průměrná teplota činila 20,1 °C. Délka vývoje byla negativně ovlivněna herbicidem Roundup.



Graf 7 Průběh teplot v období experimentu

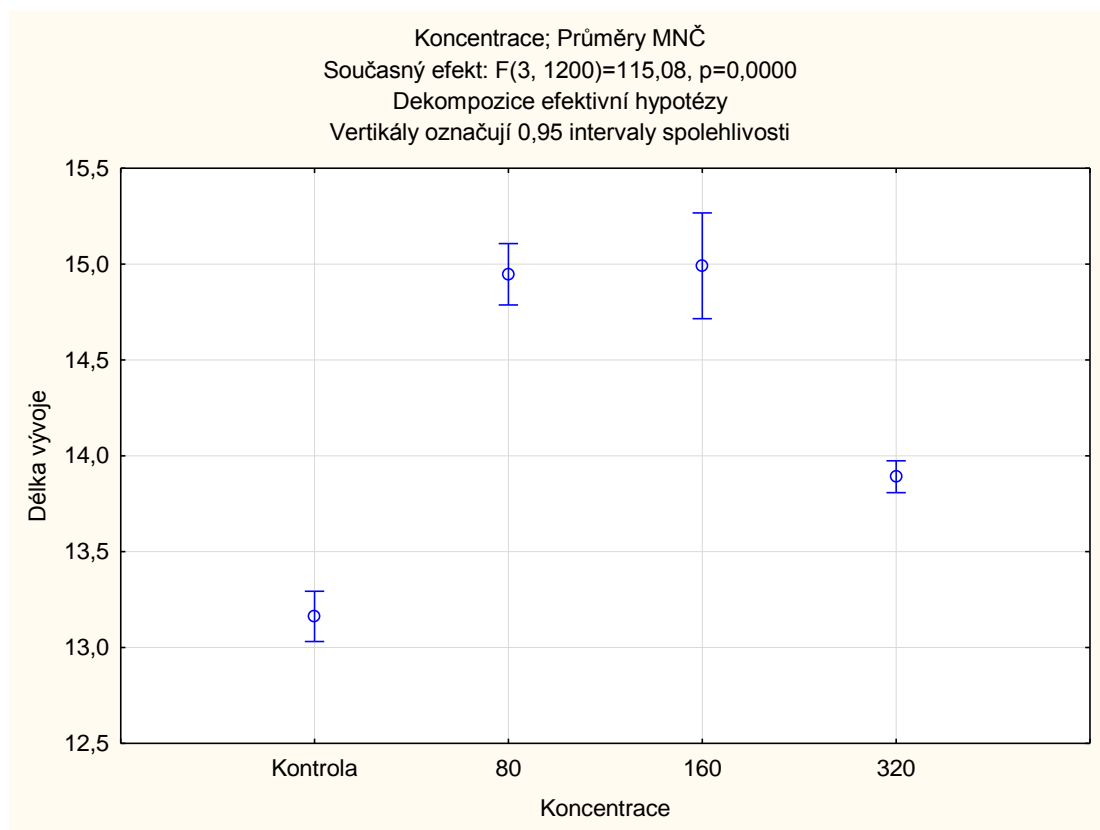


Graf 8 Znárodnění vlivu pohlaví a koncentrace herbicidu na délku vývoje parazitoida

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Délka vývoje Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	105123,0	1	105123,0	99372,58	0,000000
Koncentrace	365,2	3	121,7	115,08	0,000000
Pohlaví	17,9	1	17,9	16,92	0,000042
Koncentrace*Pohlaví	16,5	3	5,5	5,19	0,001458
Chyba	1269,4	1200	1,1		

Tabulka 6 Statistické vyhodnocení vlivu pohlaví parazitoida a koncentrace herbicidu na délku vývoje parazitoida

Nulová hypotéza byla stanovena, že délka vývoje není ovlivněna faktory koncentrace herbicidu a pohlaví parazitoida. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Mezi všemi faktory byla hodnota $p < 0,05$, tudíž zamítám nulovou hypotézu. Délka vývoje je ovlivněna herbicidem i pohlavím parazitoida (tabulka 6 a graf 8).



Graf 9 Znárodnění vlivu koncentrace na délku vývoje parazitoida

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Délka vývoje Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SC	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	129520,5	1	129520,5	119574,0	0,00
Koncentrace	372,3	3	124,1	114,6	0,00
Chyba	1304,2	1204	1,1		

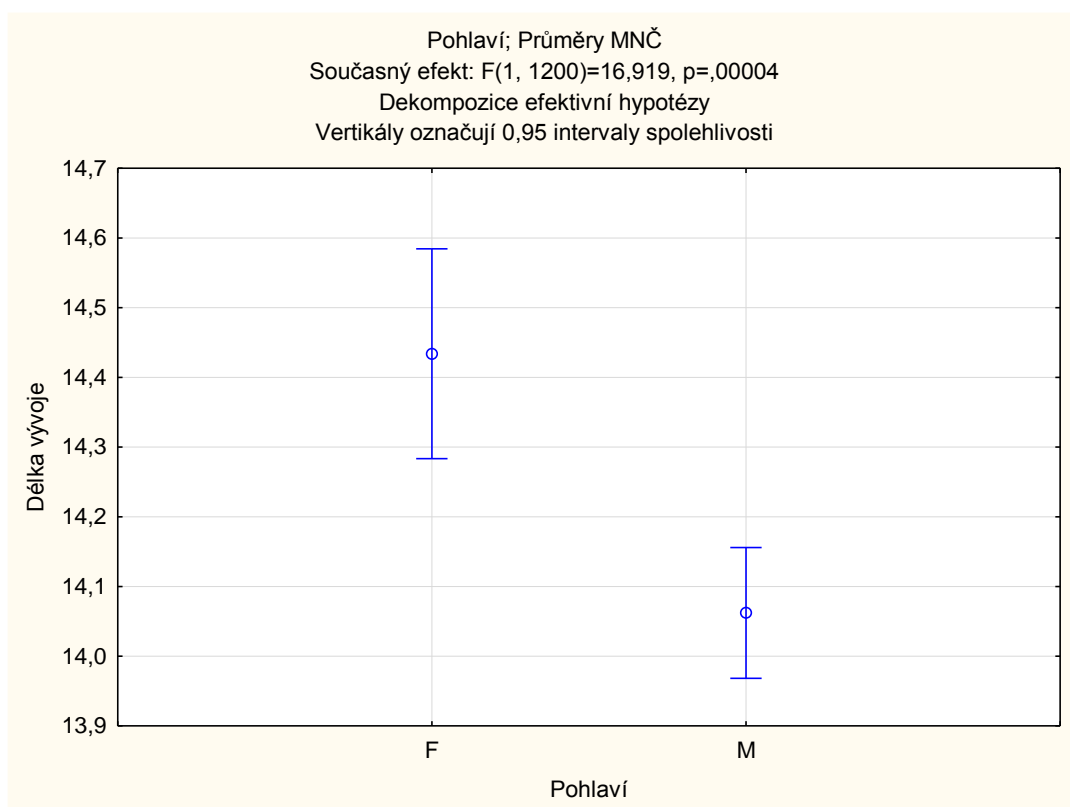
Tabulka 7 Statistické vyhodnocení závislosti koncentrace herbicidu na délku vývoje parazitoida

Nulová hypotéza zní, že mezi délkou vývoje a různými koncentracemi neexistuje statisticky významný rozdíl. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Výsledek testu $F(3, 1200) = 115,08$, hodnota $p < 0,05$, tudíž je nulová hypotéza zamítnuta – alespoň mezi jednou koncentrací a délkou vývoje existuje statisticky významný rozdíl (tabulka 7). Je nutné podrobnější vyhodnocení ANOVY Scheffého metodou (tabulka 8).

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Délka vývoje Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1,0832, sv = 1204,0				
	Koncentrace	1 13,188	2 14,876	3 14,771	4 13,830
1	Kontrola		0,000000	0,000000	0,000000
2	80	0,000000		0,916773	0,000000
3	160	0,000000	0,916773		0,000000
4	320	0,000000	0,000000	0,000000	

Tabulka 8 Výsledky podrobnějšího vyhodnocení ANOVY pomocí Scheffého testu

Mezi kontrolou a různými koncentracemi herbicidu Roundup existuje statisticky významný rozdíl v délce vývoje, hodnota $p < 0,05$. Délka vývoje samce je mezi koncentrací 80 ml a 160 ml srovnatelná ($p > 0,05$) (graf 9).



Graf 10 Znázornění vlivu pohlaví parazitoida na délku jeho vývoje

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Délka vývoje Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně Volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	202032,8	1	202032,8	146781,3	0,000000
Pohlaví	16,5	1	16,5	12,0	0,000552
Chyba	1660,0	1206	1,4		

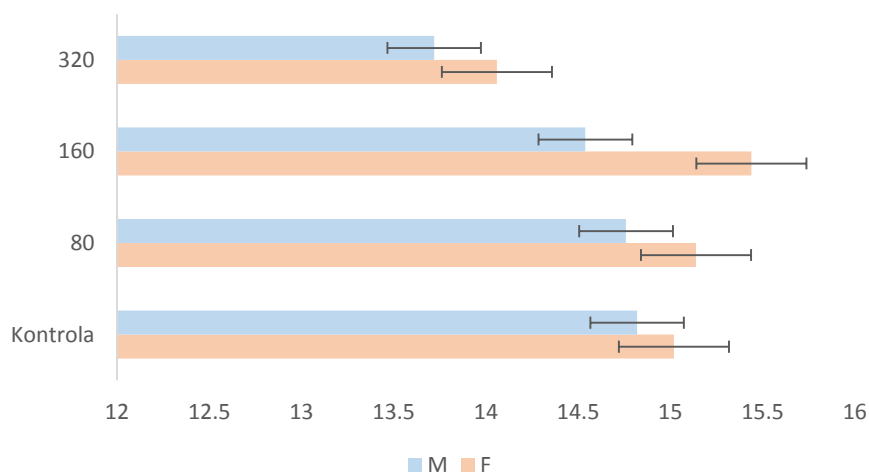
Tabulka 9 Statistické vyhodnocení závislosti pohlaví parazitoida na délce jeho vývoje

Nulová hypotéza byla stanovena, že délka vývoje není ovlivněna pohlavím parazitoida. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Hodnota $F_{(1, 1200)} = 16,919$, hodnota $p < 0,05$, tudíž zamítáme nulovou hypotézu. Je statisticky průkazné, že pohlaví parazitoida ovlivňuje délku jeho vývoje (tabulka 9 a graf 10).

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Délka vývoje Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1,3764, sv = 1206,0		
	Pohlaví	1	2
1	F	14,071	0,000552
2	M	0,000552	

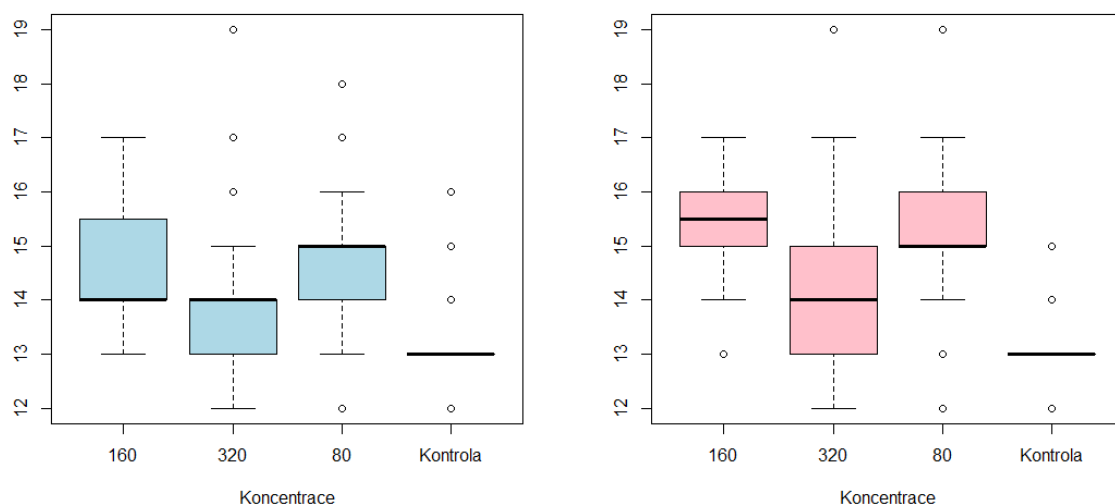
Tabulka 10 Výsledky podrobnějšího vyhodnocení ANOVY pomocí Scheffého testu

Hodnoty $p < 0,05$, tudíž je statisticky průkazné, že pohlaví parazitoida ovlivňuje délku jeho vývoje (tabulka 10).



Graf 11 Porovnání délky vývoje (ve dnech) parazitoidů u různých variant pokusu v 2. fázi, K značí kontrolu, 80, 160 a 320 ml značí koncentraci herbicidu po korekci

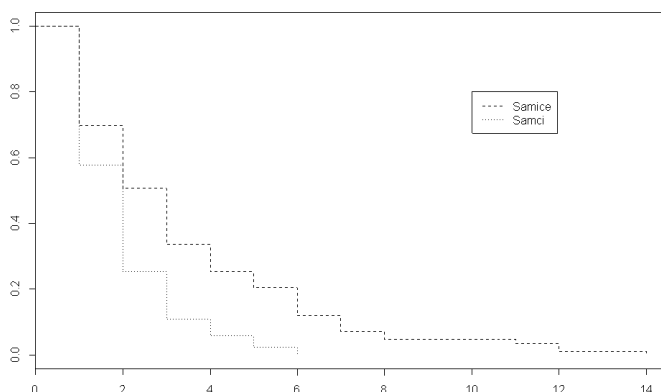
U varianty kontrola trvala délka vývoje u samic přibližně 15,02 dne, u samců 14,8 dne. U nejnižší koncentrace postřiku se délka vývoje prodlužovala, u samic trvala 15,14 dne a u samců 14,76 dne. U střední koncentrace vývoj parazitoidea trval u samic 15,44 dne a u samců 14,54 dne (graf 11 a 12). U nejvyšší koncentrace bylo předpokládáno další prodlužování vývoje, které ovšem nenastalo. Při této koncentraci došlo k ovlivnění délky vývoje jinými faktory.



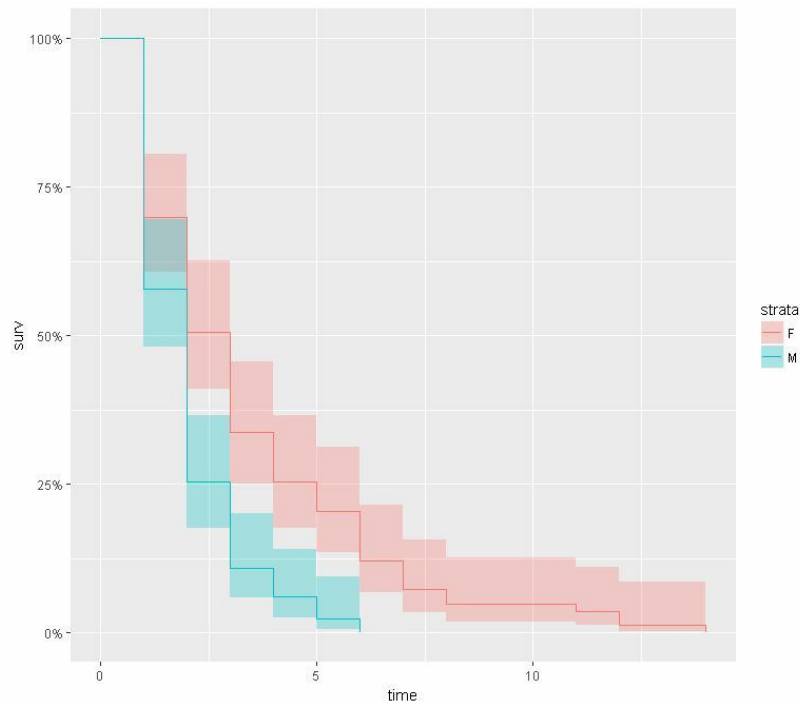
Graf 12 Porovnání délky vývoje fáze 2 parazitoidea po ovlivnění herbicidem Roundup pomocí boxplotů. Růžově jsou označeny samičky, modře samci, 80, 160 a 320 ml značí varianty koncentrací herbicidu

5.1.3 Doba přežívání

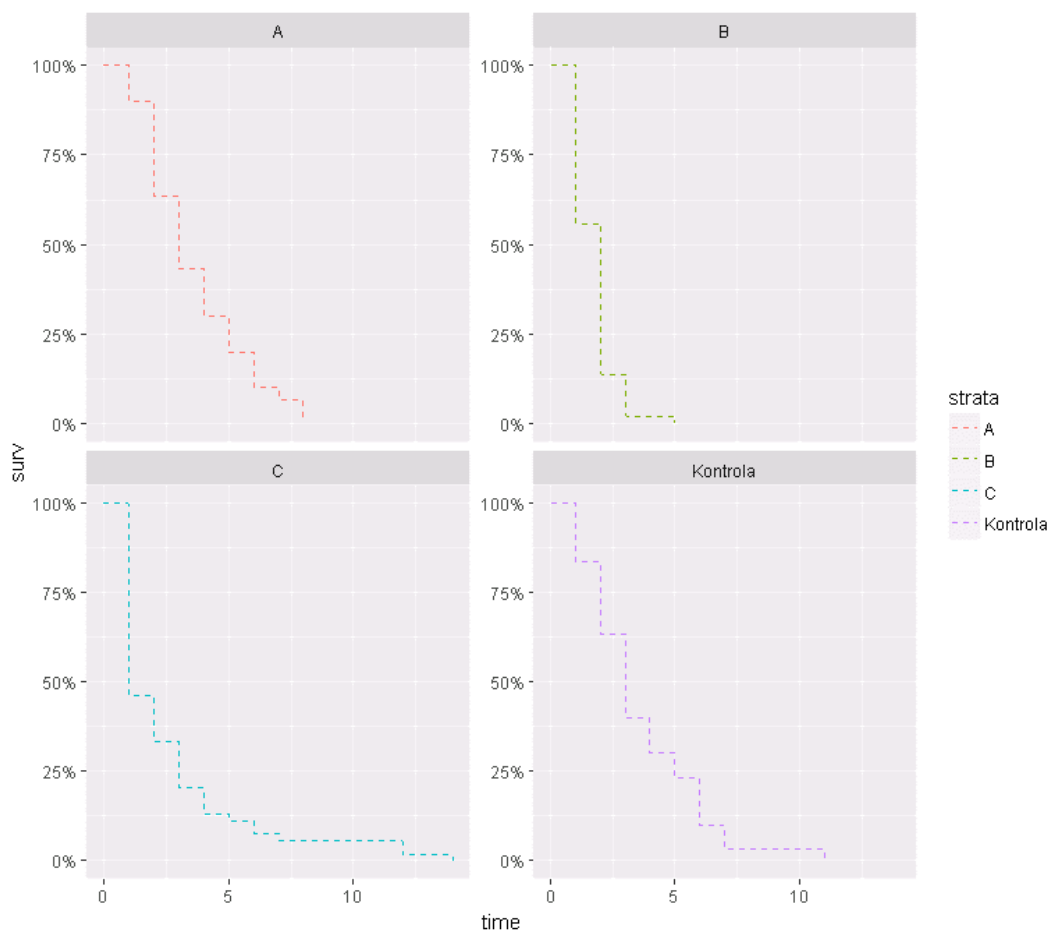
Doba přežívání byla zaznamenávána jen v první fázi pokusu. Vždy po 24 hodinách bylo kontrolováno, zda samička a samec parazitoidea přežili. V konečné části byla vypočítána doba přežívání parazitoidea. Byla porovnávána doba přežití v závislosti na pohlaví (graf 13, 14 a 16) a koncentraci herbicidu (graf 15). Data byla zpracována v programu Statistica (graf 17).



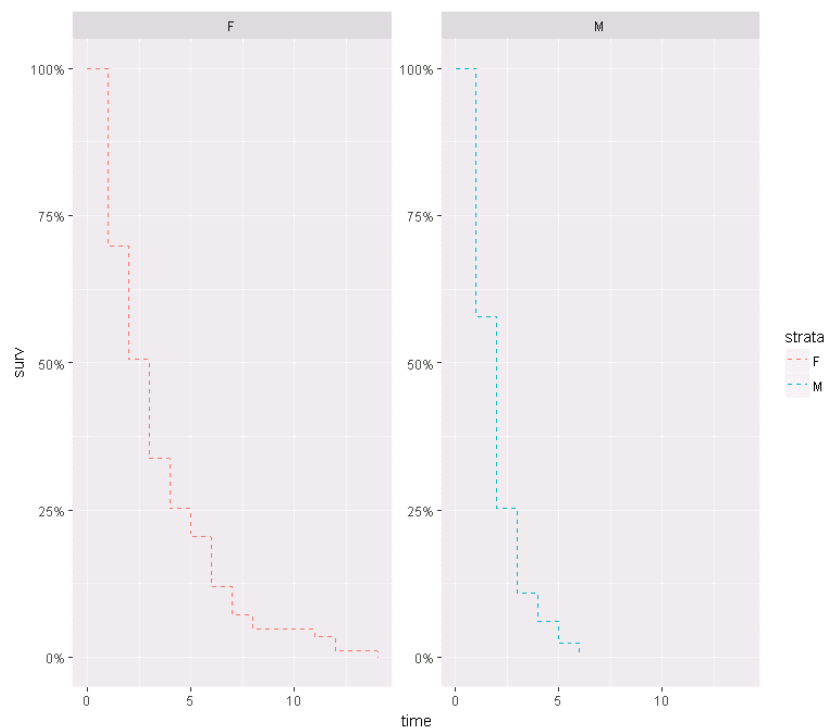
Graf 13 Porovnání doby přežívání (ve dnech) parazitoidů ovlivněných herbicidem Roundup v závislosti na pohlaví



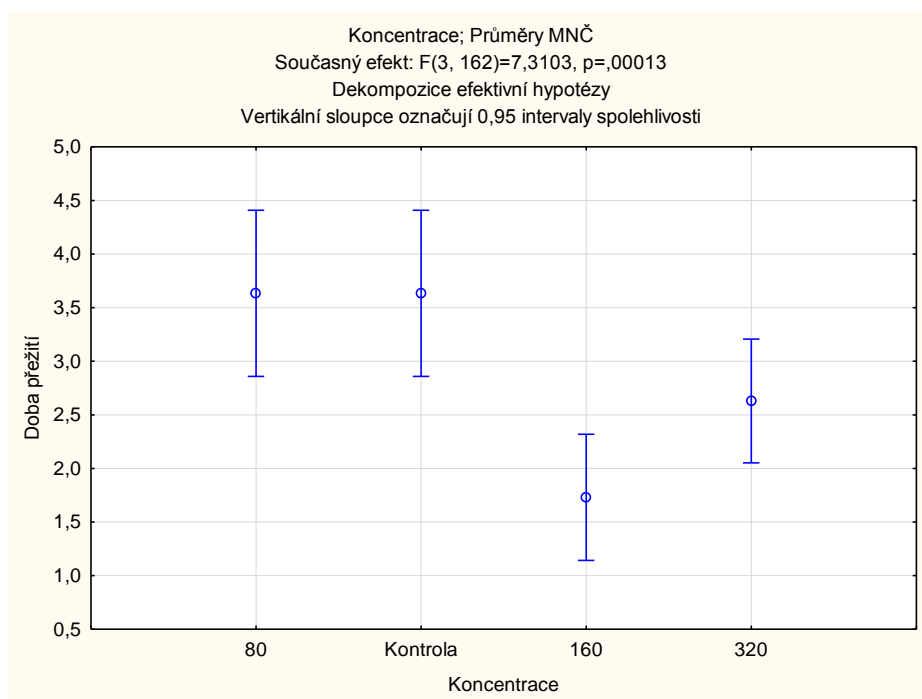
Graf 14 Porovnání doby přežívání parazitoidů, modře jsou označeni samci, červeně samičky



Graf 15 Porovnání doby přežívání parazitoidů ovlivněných herbicidem Roundup v závislosti na koncentraci, A značí nejnižší koncentraci varianty 80 ml, B odpovídá variantě 160 ml a C odpovídá nejvyšší koncentraci - varianta 320 ml



Graf 16 Porovnání doby přežívání parazitoidů ovlivněných herbicidem Roundup v závislosti na pohlaví, F označuje samičky, M samce



Graf 17 Znázornění vlivu koncentrace na dobu přežití parazitoida

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Doba přežití Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	1294,713	1	1294,713	280,1223	0,000000
Koncentrace	101,364	3	33,788	7,3103	0,000126
Chyba	748,757	162	4,622		

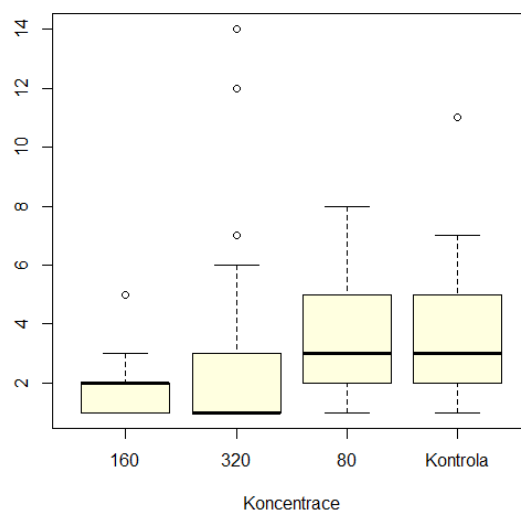
Tabulka 11 Statistické vyhodnocení závislosti koncentrace herbicidu Roundup na době přežívání parazitoida

Nulová hypotéza byla stanovena, že doba přežívání není ovlivněna herbicidem Roundup. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Hodnota $F_{(3, 162)} = 7,3103$, hodnota $p < 0,05$, tudíž zamítáme nulovou hypotézu. Je statisticky průkazné, že herbicid Roundup ovlivňuje dobu přežívání parazitoida (tabulka 11).

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Doba přežití Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 4,6220, sv = 162,00				
	Koncentrace	1 3,6333	2 3,6333	3 1,7308	4 2,6296
1	80		1,000000	0,002528	0,244420
2	Kontrola	1,000000		0,002528	0,244420
3	160	0,002528	0,002528		0,205281
4	320	0,244420	0,244420	0,205281	

Tabulka 12 Výsledky podrobnějšího vyhodnocení ANOVY pomocí Scheffého testu

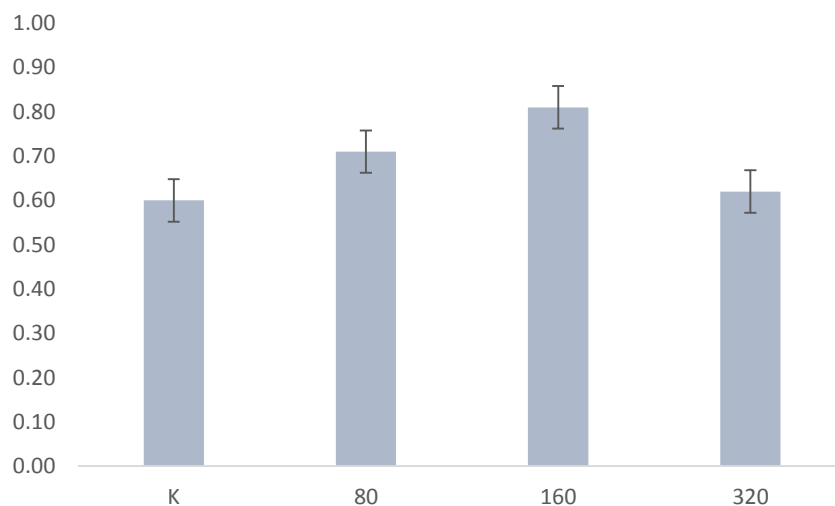
Nulová hypotéza byla stanovena, že doba přežívání není ovlivněna herbicidem Roundup. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Dle Scheffého testu doba přežívání není statisticky významně ovlivněna koncentracemi 80 ml a 320 ml herbicidu Roundup, zatímco koncentrace 160 ml průkazně ovlivňuje dobu přežívání parazitoida (tabulka 12). Doba přežívání u varianty kontrola trvala 3,63 dnů, u varianty 80 ml 3,63 dnů, u varianty 160 ml 1,73 dnů a u varianty 320 ml 2,63 dnů (graf 18). S vyšší koncentrací herbicidu by se měla doba přežívání zkracovat. Varianta 320 ml byla ovlivněna jinými faktory, které měli dopad na dobu přežívání parazitoida.



Graf 18 Porovnání doby přežívání parazitoida po ovlivnění herbicidem Roundup pomocí boxplotů

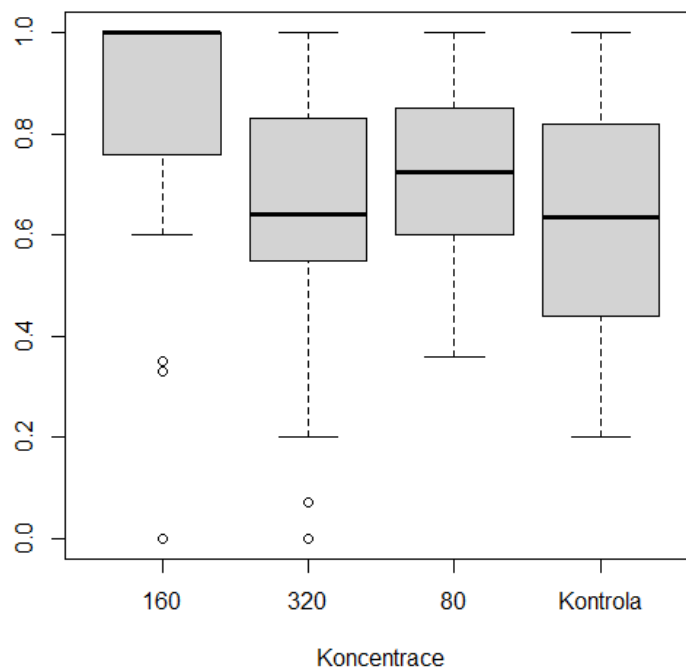
5.1.4 Poměr pohlaví

Poměr pohlaví byl zaznamenáván pouze v první fázi pokusu. U všech koncentrací převažoval počet samiček. U varianty kontrola byl poměr samců vůči samičkám 0,6.



Graf 19 Poměr samců vůči samičkám u různých variant pokusu. K značí kontrolu, 80, 160 a 320 představují koncentraci herbicidu Roundup po korekci.

Z grafu 19 vyplývá, že varianta kontrola vykazuje nejvyšší počet vylíhnuvších se samiček, se vzrůstající koncentrací vzrůstá počet samců. Koncentrace 320 ml je srovnatelná s kontrolou, došlo k ovlivnění jinými faktory.



Graf 20 Porovnání poměru samců vůči samičkám při různých koncentracích herbicidu

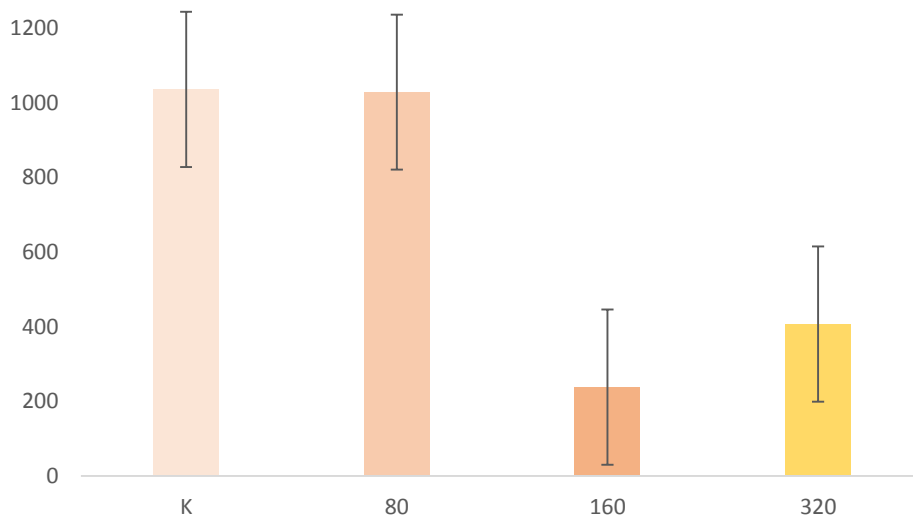
Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Sexratio Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	30,23426	1	30,23426	420,0309	0,000000
Koncentrace	0,46057	3	0,15352	2,1328	0,104746
Chyba	4,60679	64	0,07198		

Tabulka 13 Statistické znázornění závislosti poměru samců vůči samičkám na koncentraci herbicidu

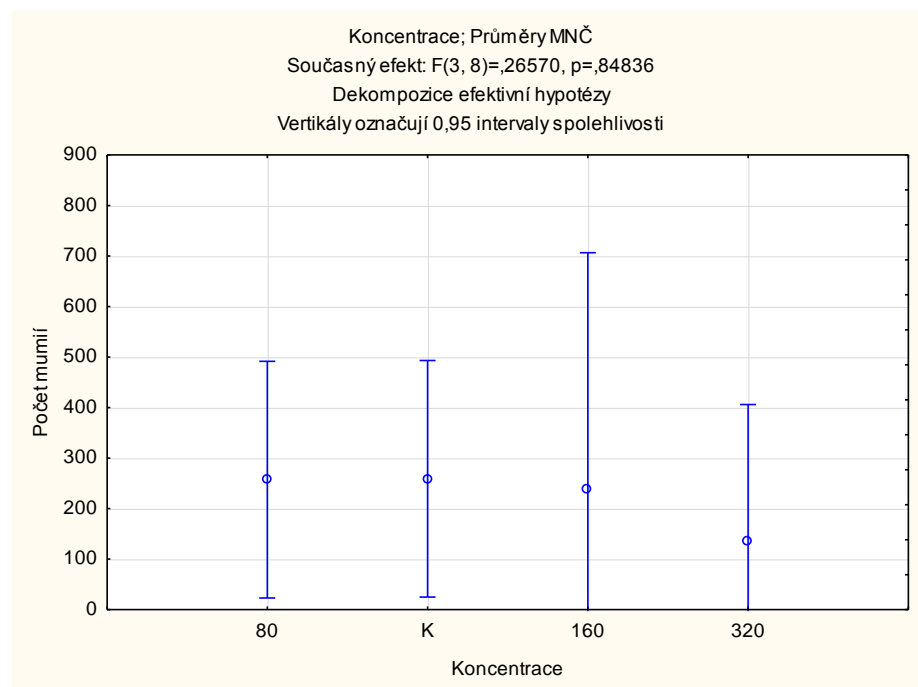
Nulová hypotéza byla stanovena, že poměr samců vůči samičkám není ovlivněn herbicidem Roundup. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Hodnota $F_{(3,64)} = 2,1328$, hodnota $p > 0,05$. Nulová hypotéza je potvrzena, je statisticky průkazné, že poměr samců a samiček není ovlivněn herbicidem Roundup (tabulka 13). U varianty kontrola byl poměr samců vůči samičkám 0,60, u varianty 80 ml 0,71, u varianty 160 ml 0,81 a u varianty 320 ml 0,62. Předpokladem bylo zvyšování se počtu samců vůči samičkám, které ovšem nebylo významné a u varianty 320 ml byl poměr srovnatelný s kontrolou, tudíž došlo k ovlivnění jinými faktory (graf 20).

5.1.5 Plodnost samiček fáze 1

Plodnost samiček byla poprvé zaznamenávána v první fázi pokusu, kdy samičky nakladly vajíčka do ošetřených mšic, ze kterých se poté vylíhla další generace parazitoidů. Srovnání počtu parazitovaných mšic zobrazují grafy 21 a 22.



Graf 21 Počet parazitovaných mšic u různých variant pokusu fáze 1. K značí kontrolu, 80, 160 a 320 ml představuje koncentraci herbicidu Roundup po korekci



Graf 22 Srovnání počtu mumifikovaných mšic v programu Statistica, K značí kontrolu, 80, 160 a 320 ml značí koncentraci herbicidu Roundup po korekci

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Počet mumií Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	431973,6	1	431973,6	10,47014	0,011953
Koncentrace	32886,3	3	10962,1	0,26570	0,848359
Chyba	330061,4	8	41257,7		

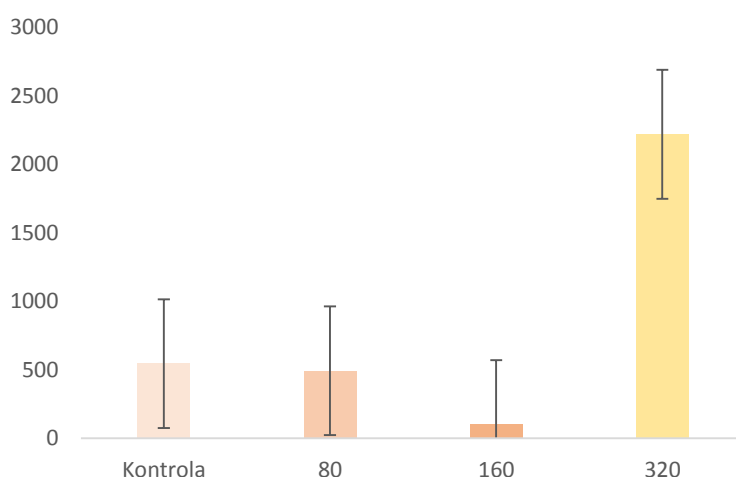
Tabulka 12 Statistické vyhodnocení ovlivnění plodnosti samičky herbicidem Roundup

Nulová hypotéza byla stanovena, že plodnost samiček není ovlivněna herbicidem Roundup. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Hodnota $F_{(3,8)} = 0,2657$, hodnota $p > 0,05$. Nulová hypotéza je potvrzena, je statisticky průkazné, že plodnost samiček není ovlivněna herbicidem Roundup (tabulka 12).

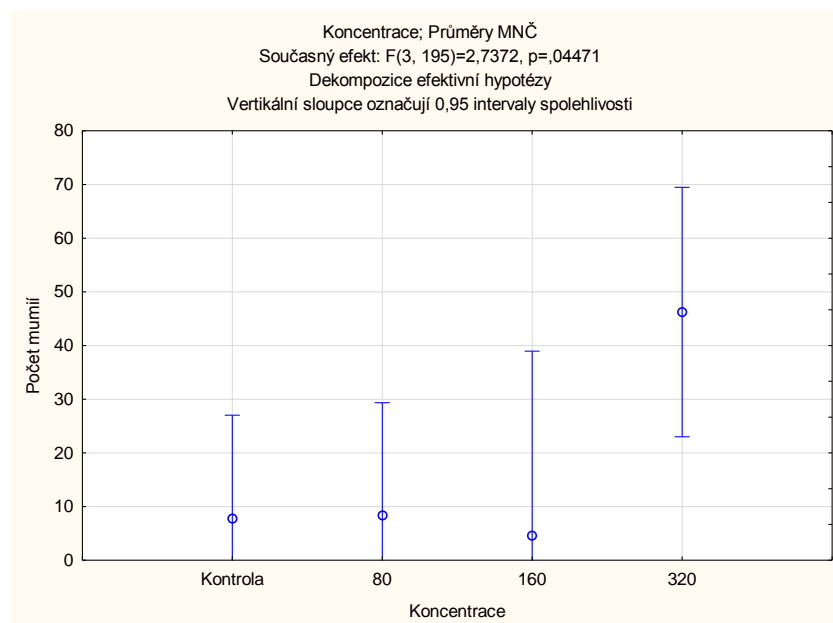
Počet parazitovaných mšic u varianty kontrola činil 1036 kusů, při nízké koncentraci herbicidu se počet snížil na 1029, u střední koncentrace se dále snížil na 238 parazitovaných mšic. Nejvyšší koncentrace vykazovala 407 parazitovaných mšic, což je v rozporu s hypotézou, plodnost samiček by se měla dále snižovat. Varianta 320 ml byla ovlivněna jinými faktory.

5.1.6 Plodnost samiček fáze 2

Plodnost samiček byla podruhé zaznamenávána v druhé fázi pokusu, kdy se sčítal počet parazitovaných mšic, do kterých nakladli vajíčka parazitoidi z druhé generace. Srovnání počtu parazitovaných mšic zobrazují grafy 23 a 24.



Graf 23 Porovnání počtu parazitovaných mšic, K značí kontrolu, 80, 160 a 320 ml jsou koncentrace herbicidu po korekci



Graf 24 Srovnání počtu mumifikovaných mšic v programu Statistica, K značí kontrolu, 80, 160 a 320 ml značí koncentraci herbicidu Roundup po korekci

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Počet mumií Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	46112	1	46111,73	6,916913	0,009220
Koncentrace	54744	3	18247,90	2,737246	0,044706
Chyba	1299971	195	6666,52		

Tabulka 13 Statistické vyhodnocení ovlivnění plodnosti samičky herbicidem Roundup

Nulová hypotéza byla stanovena, že plodnost samiček není ovlivněna herbicidem Roundup. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Hodnota $F_{(3,195)} = 2,7372$, hodnota $p = 0,045$. Nulová hypotéza je zamítnuta, plodnost samiček je ovlivněna herbicidem Roundup (tabulka 13). Je nutné podrobnější vyhodnocení Scheffého metodou (tabulka 14).

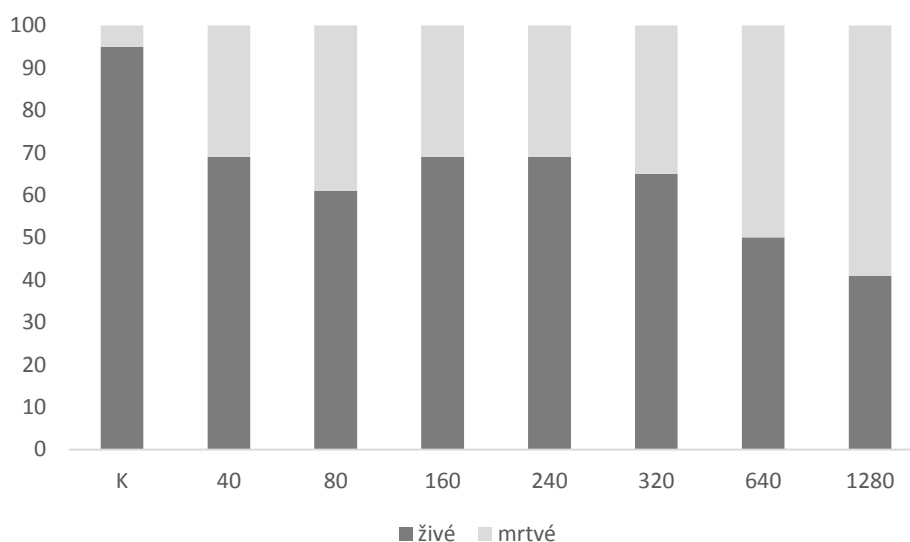
Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Počet mumií Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 6666,5, sv = 195,00				
	Koncentrace	1	2	3	4
		7,8000	8,3729	4,6364	46,250
1	Kontrola		0,999983	0,998944	0,100921
2	80	0,999983		0,998375	0,131143
3	160	0,998944	0,998375		0,273621
4	320	0,100921	0,131143	0,273621	

Tabulka 14 Podrobnější vyhodnocení Scheffého metodou

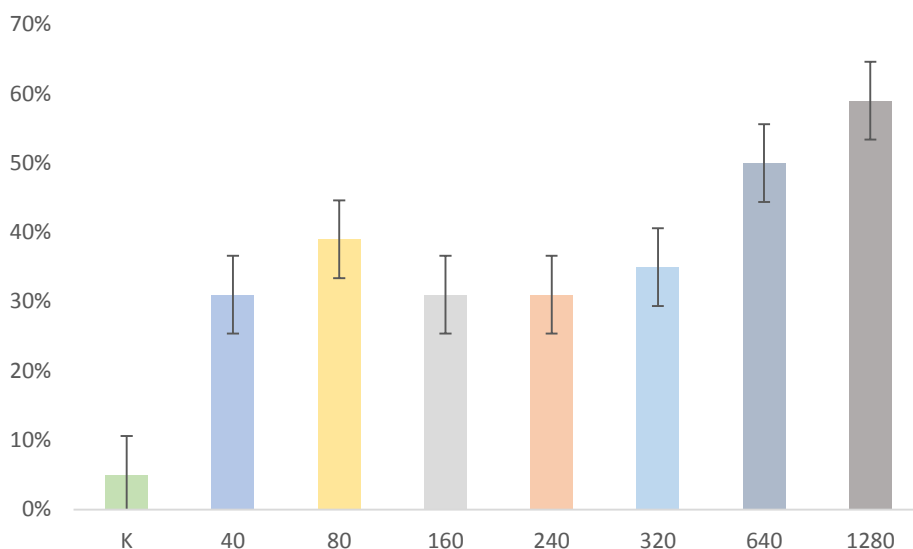
Počet parazitovaných mšic u varianty kontrola činil 275 kusů, při nízké koncentraci se počet snížil na 244, u střední koncentrace se dále snížil na 51 parazitovaných mšic. Nejvyšší koncentrace vykazovala 1128 parazitovaných mšic, což je v rozporu s hypotézou, plodnost samiček by se měla s vyšší koncentrací snižovat. Varianta 320 ml byla ovlivněna jinými faktory.

5.2 Experiment 2 – stanovení LC 50

Pro experiment bylo využito sedmi různých molárních koncentrací účinné látky glyfosátu: 16,7, 33,5, 66,9, 104,4, 133,8, 267,6, 501,8 mmol na dm^3 a destilovaná voda jako kontrola. Tyto koncentrace byly zvoleny pro přesnou identifikaci LC50 parazitoida *A. rhopalosiphi*. Po korekci postříkané plochy a adhezi aerosolu na stěny komory Potterovy postřikovací věže byla molární koncentrace srovnatelná s 40, 80, 160, 240, 320, 640 a 1280 ml komerčního produktu rozpuštěného ve 2 litrech vody s postříkanou plochou 100 m^2 . V grafech jsou použity hodnoty koncentrace po korekci. Procentuální poměr živých a mrtvých parazitoidů je zobrazen v grafu 25 a 27, procentuální mortalita v grafu 26.

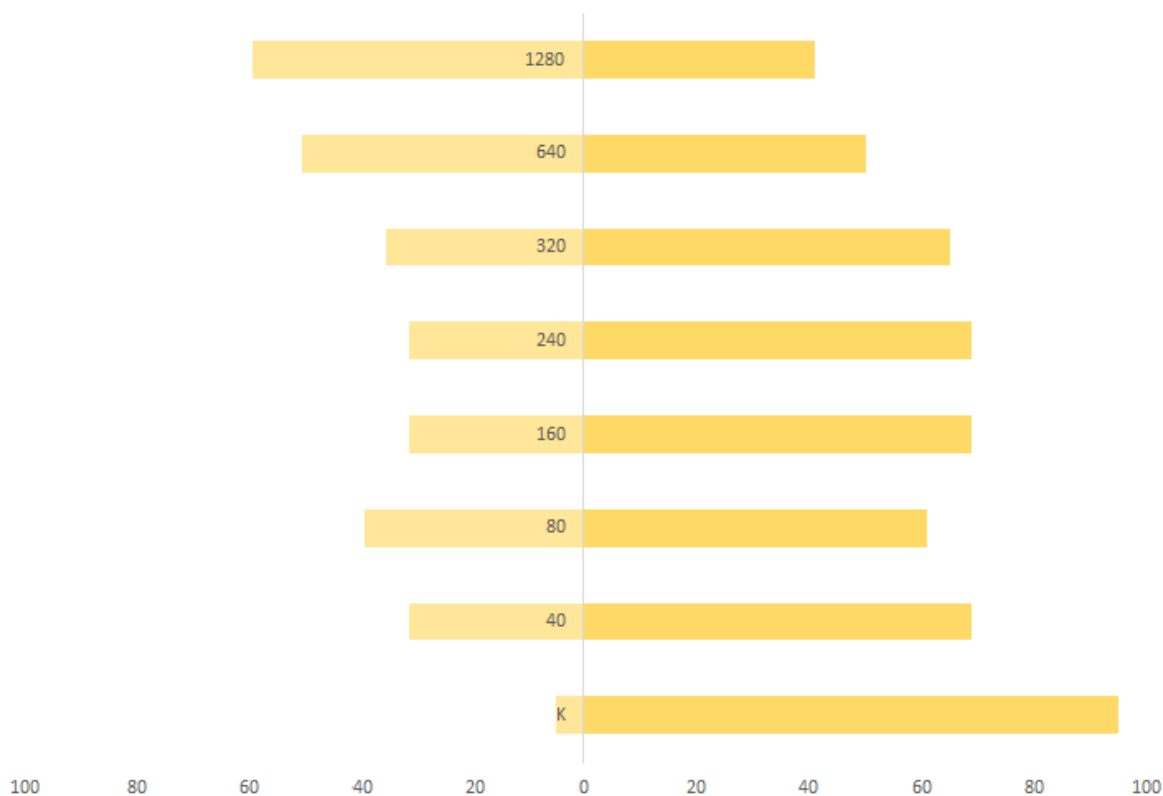


Graf 25 Procentuální poměr živých a mrtvých parazitoidů po 24 hodinách od aplikace herbicidu Roundup, K značí kontrolu, 40, 80, 160, 240, 320, 640 a 1280 ml jsou různé koncentrace herbicidu



Graf 26 Mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup vyjádřená v %. K značí kontrolu, 40, 80, 160, 240, 320, 640 a 1280 ml jsou různé koncentrace herbicidu

Letální koncentrace, při které mortalita jedinců činí 50 %, nastala při koncentraci herbicidu 640ml. Mezi doporučovými dávkami neexistovaly výrazné rozdíly v mortalitě, pohybovala se mezi 31-39 %. Mortalita nemá typický vzrůstající charakter se zvyšující se dávkou.

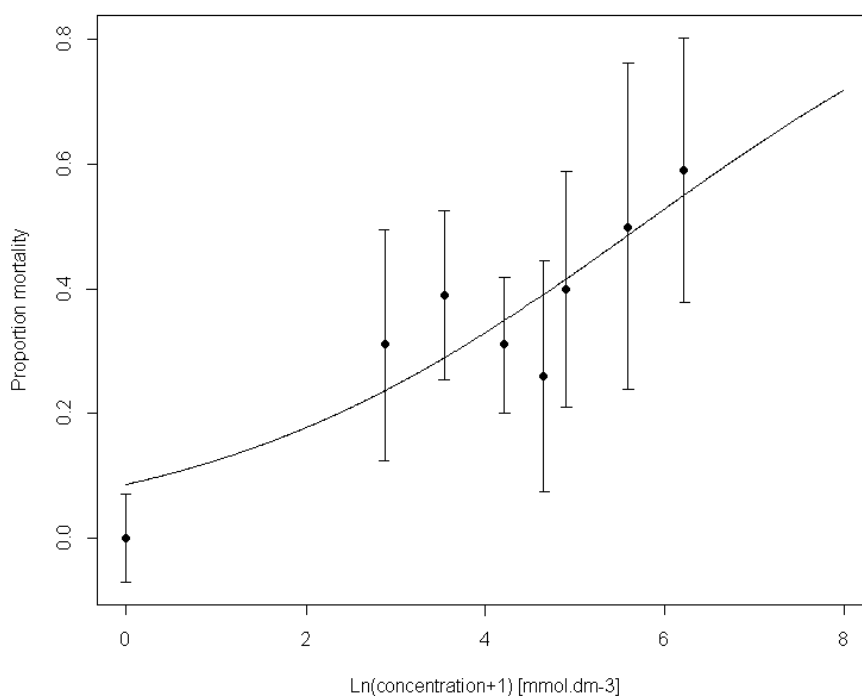


Graf 27 Znázornění procentuálního poměru živých a mrtvých parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup. K představuje kontrolu, 40, 80, 160, 240, 320, 640 a 1280 ml představuje různé koncentrace herbicidu

Letální koncentrace	Koncentrace (mmol/dm ³)	Interval spolehlivosti (95 %)	
		Spodní	Horní
LC 10	1,5	0,5	4,5
LC 25	21,3	12,7	35,7
LC 50	305,3	186,6	499,4
LC75	4376,7	1483,2	12914,7
LC 90	62738,0	10932,0	360046,3
LC 95	383741,3	42157,4	3493042,0
LC 98	3812765,0	232458,8	62536560,0
LC 99	20966410,0	824354,6	533254000,0

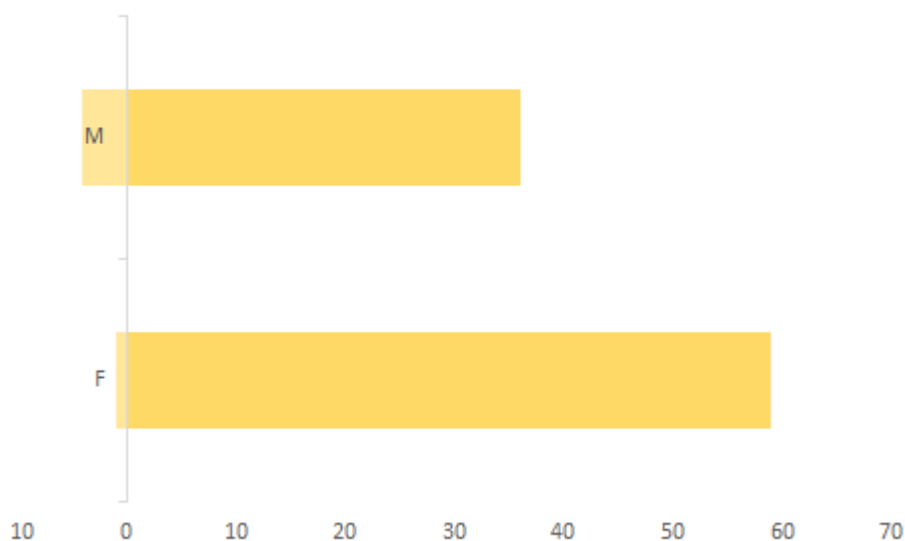
Tabulka 15 Letální koncentrace LC 10 – LC 99 účinné látky glyfosát (přípravek Roundup), aplikace metodou postřiku filtračního papíru přes tarsální kontakt *Aphidius rhopalosiphi* vyhodnocené po 24 hodinách od expozice. Interval spolehlivosti $\alpha = 0,05$.

Letální koncentrace, při které činí mortalita 50 % je $305,3 \pm 1.3$ mmol.dm⁻³ účinné látky (tabulka 15). Kontingenční interval spolehlivosti je [186.7; 499.5], tudíž skutečná hodnota leží s 95 % v tomto intervalu.



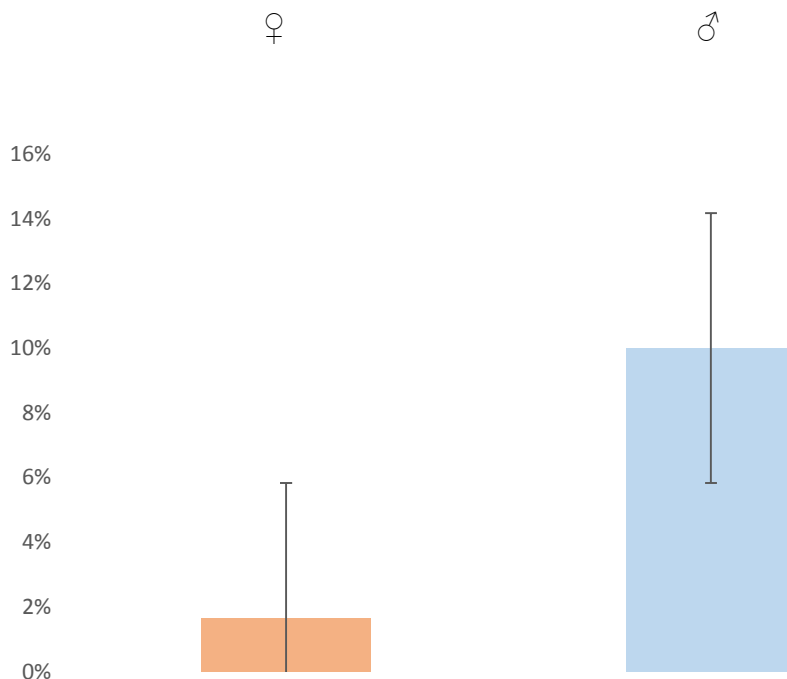
Graf 28 Závislost mortality *Aphidius rhopalosiphi* na koncentraci účinné látky glyfosát (přípravek Roundup) aplikace metodou postřiku filtračního papíru a prostřednictvím tarsálního kontaktu vyhodnocena po 24 hodinách od expozice

Výsledný model křivky má tvar $\ln(\text{Mortalita}) = -2.53611 + 0.38144 \ln(\text{Concentration}+1)$ [mmol.dm⁻³ účinné látky] (graf 28). Vliv glyphosátu na mortalitu parazitoidů během 24h je vysoce průkazný $\chi^2 = 73.324$.



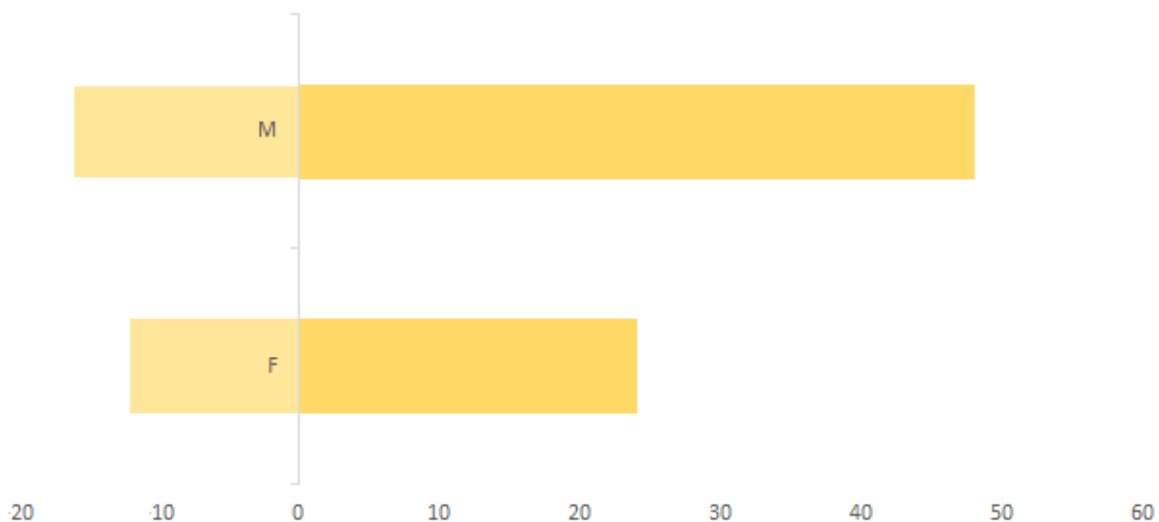
Graf 29 Zastoupení živých a mrtvých parazitoidů po ošetření destilovanou vodou jako kontrola. Mrtví jedinci jsou zobrazeni v levé části grafu, přeživší jedinci v části pravé. Samci jsou označeni M a samičky F

Celkově činila mortalita parazitoidů po postřiku destilovanou vodou jako kontrola přibližně 5 %.



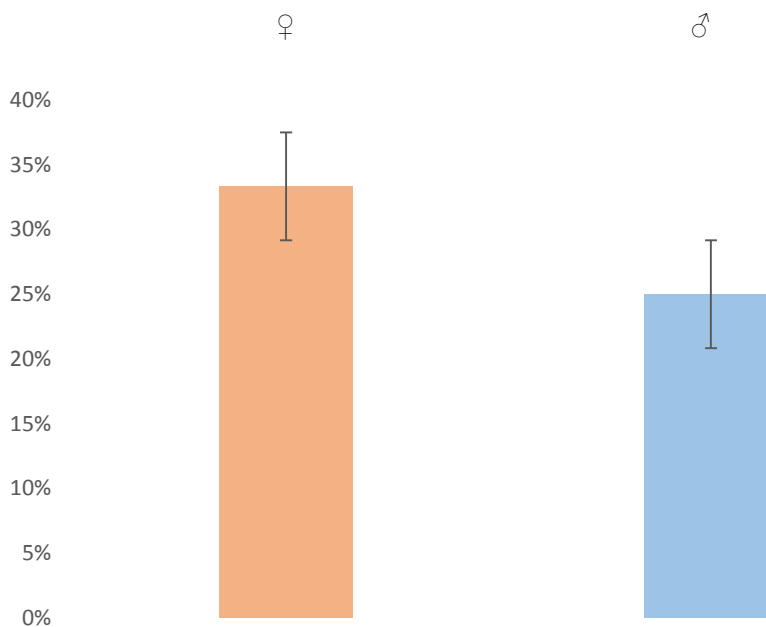
Graf 30 Mortalita parazitoidů po ošetření destilovanou vodou jako kontrola. Samičky jsou zobrazeny červeně, samci modře

Mortalita samiček po ošetření destilovanou vodou činila 1,66 % a mortalita samců 10 % (graf 30). Parazitoidi byli pro pokus náhodně vybráni a počet samců a samiček byl rozdílný.



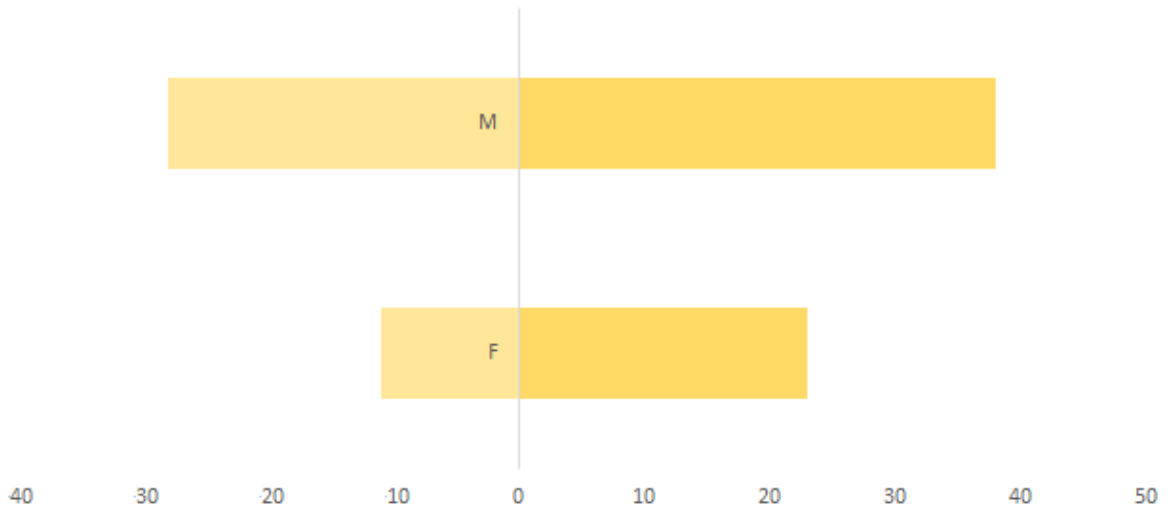
Graf 31 Zastoupení živých a mrtvých parazitoidů po postřiku herbicidem Roundup o koncentraci 40 ml. Mrtví jedinci jsou zobrazeni v levé části grafu, živí jedinci v pravé části grafu. Zvlášť jsou zobrazeni samci (M) a samičky (F)

Celkově činila mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup o koncentraci 40 přibližně 31 %.



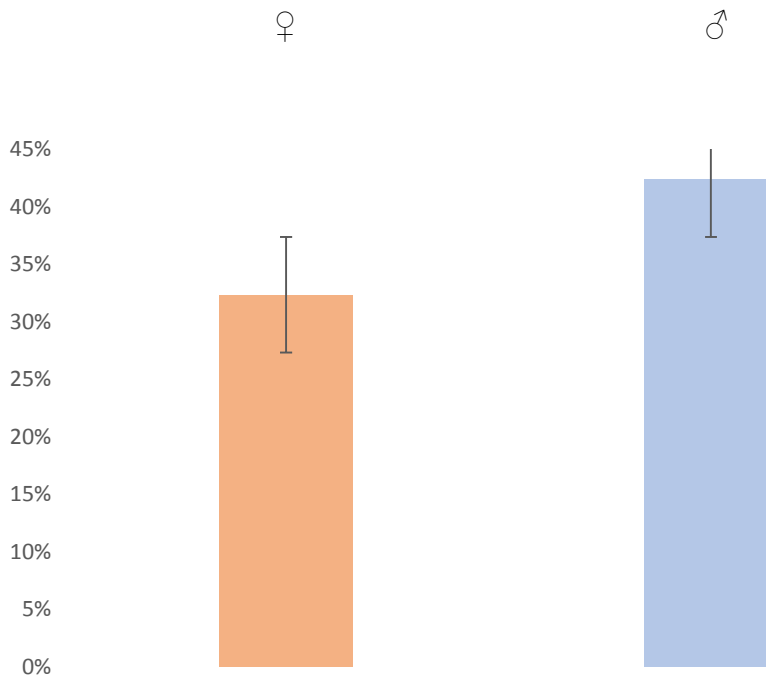
Graf 32 Mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup o koncentraci 40 ml. Samičky jsou zobrazeny červeně, samci modře

Samičky vykazovali mortalitu vyšší – 33,33 %, zatímco samci nižší – 25 % (graf 32). Úmrtnost je vzhledem k nízké koncentraci herbicidu poměrně vysoká.



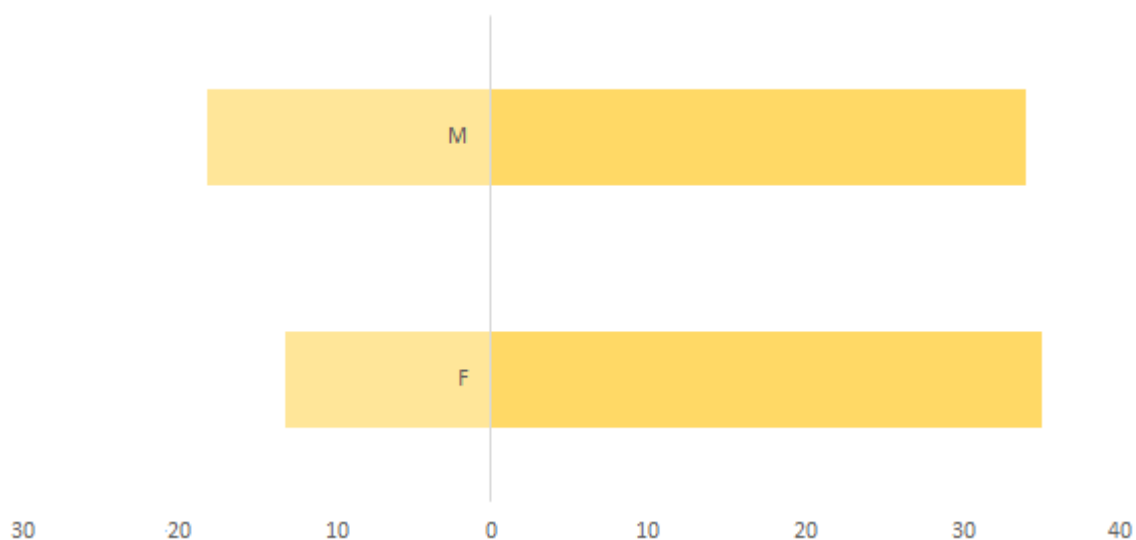
Graf 33 Zastoupení živých a mrtvých parazitoidů po postřiku herbicidem Roundup o koncentraci 80 ml. Mrtví jedinci jsou zobrazeny v levé části, živí jedinci v pravé části grafu. Odděleně jsou zobrazeny samci (M) a samičky (F)

Celkově činila mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu o koncentraci 80 39 %. Úmrtnost byla při této koncentraci nejvyšší v rámci doporučovaných dávek.



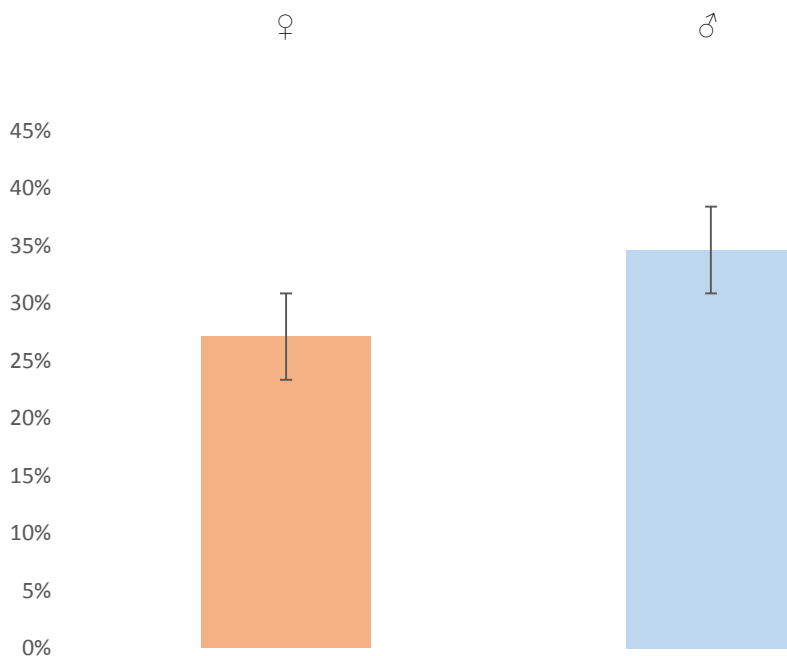
Graf 34 Mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup o koncentraci 80 ml. Samičky jsou zobrazeny červeně, samci modře

Mortalita samiček byla nižší – 32,35 %, zatímco mortalita samců vyšší – 42,42 % (graf 34).



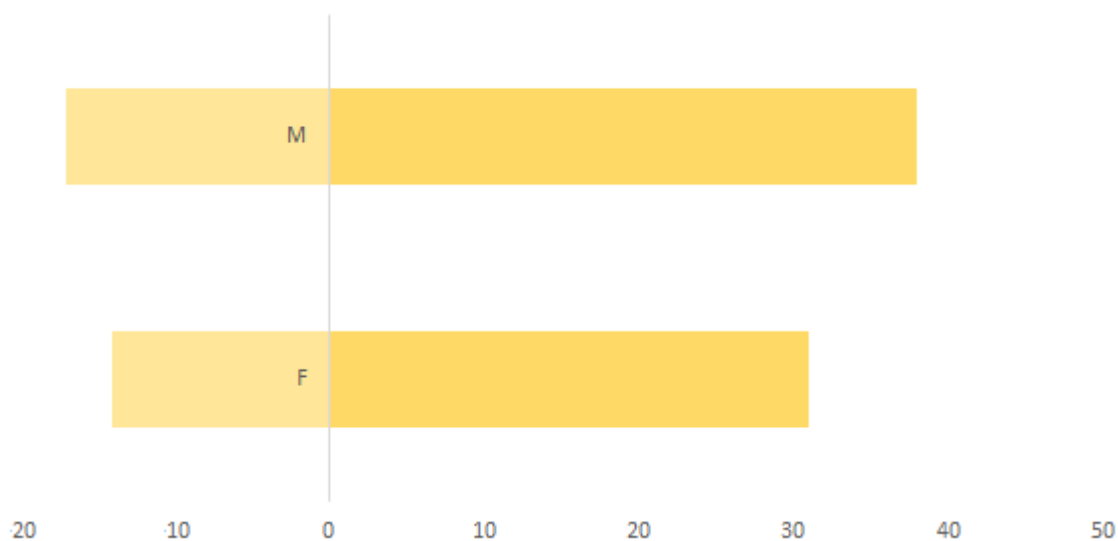
Graf 35 Zastoupení živých a mrtvých parazitoidů po postřiku herbicidem Roundup o koncentraci 160 ml. Mrtví jedinci jsou zobrazeny v levé části grafu, živí jedinci v pravé části grafu. Odděleně jsou zobrazeny samci (M) a samičky (F)

Celkově činila mortalita po aplikaci herbicidu o koncentraci 160 31 %. Úmrtnost je vzhledem k nižší dávce poměrně vysoká.



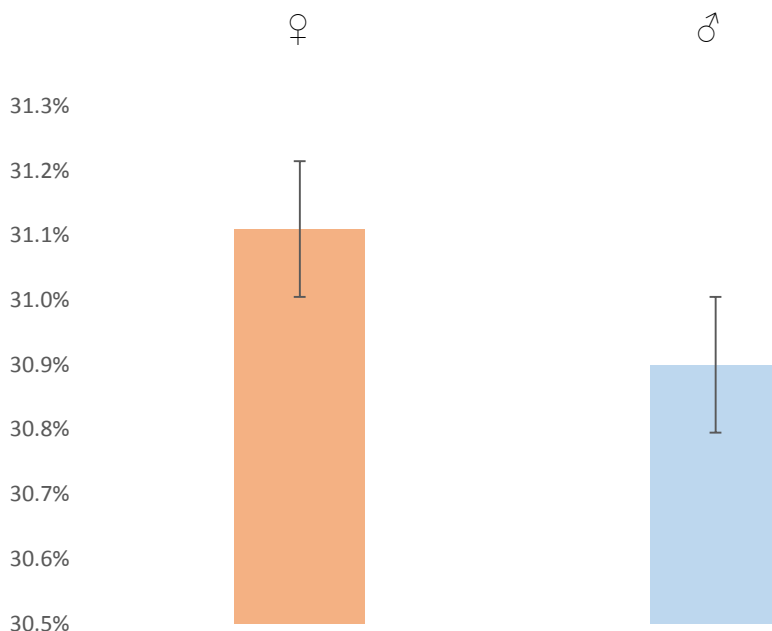
Graf 36 Mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup o koncentraci 160 ml. Samičky jsou zobrazeny červeně, samci modře

Mortalita samiček byla nižší – 27,09 %, zatímco samci vykazovali mortalitu 34,62 % (graf 36).



Graf 37 Zastoupení živých a mrtvých parazitoidů po postřiku herbicidem Roundup o koncentraci 240 ml. Mrtví jedinci jsou zobrazeny v levé části grafu, živí jedinci v pravé části grafu. Odděleně jsou zobrazeny samci (M) a samičky (F)

Celkově činila mortalita po aplikaci herbicidu o koncentraci 240 31 %. Úmrtnost je poměrně vysoká.



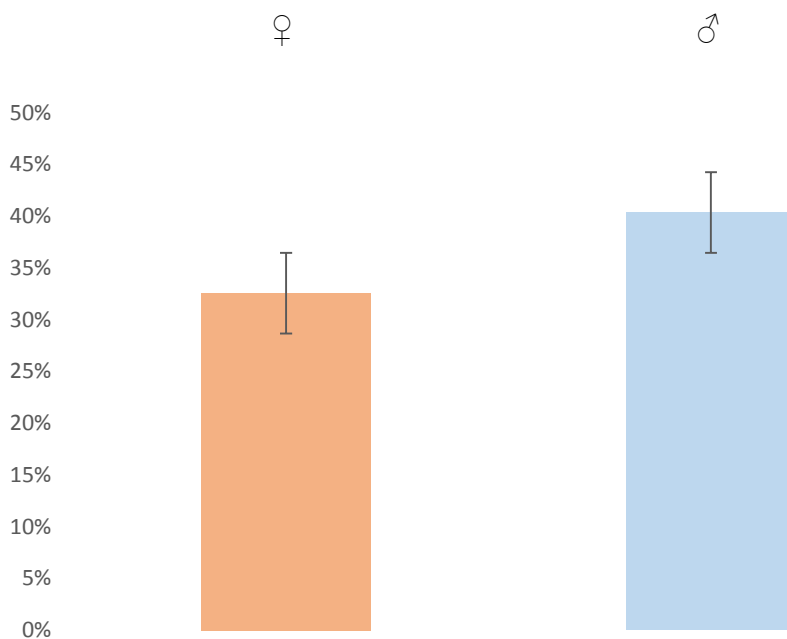
Graf 38 Mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup o koncentraci 240 ml. Samičky jsou zobrazeny červeně, samci modře

Mortalita byla v rámci pohlaví srovnatelná, u samic činila 31,1 % a u samců 30,9 % (graf 38)



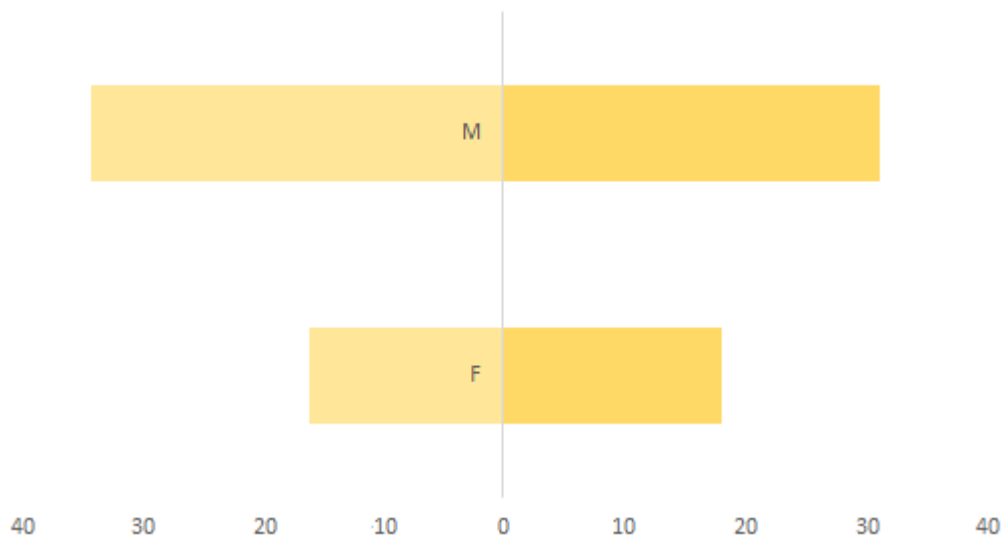
Graf 39 Zastoupení živých a mrtvých parazitoidů po postřiku herbicidem Roundup o koncentraci 320 ml. Mrtví jedinci jsou zobrazeny v levé části grafu, živí jedinci v pravé části grafu. Odděleně jsou zobrazeny samci (M) a samičky (F)

Celkově činila mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu o koncentraci 320 35 %.



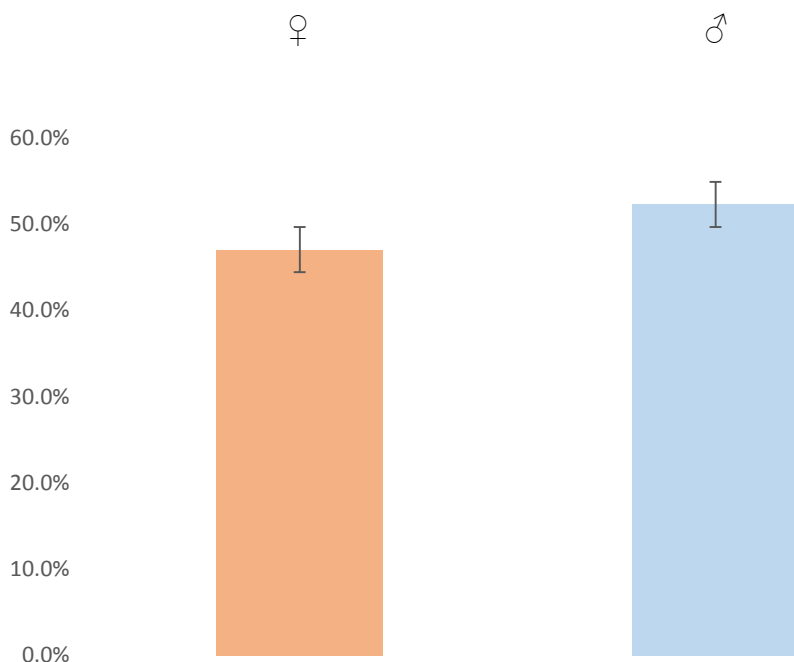
Graf 40 Mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup o koncentraci 320 ml. Samičky jsou zobrazeny červeně, samci modře

Mortalita samců byla vyšší – 40,35 %, mortalita samic nižší – 32,56 % (graf 40).



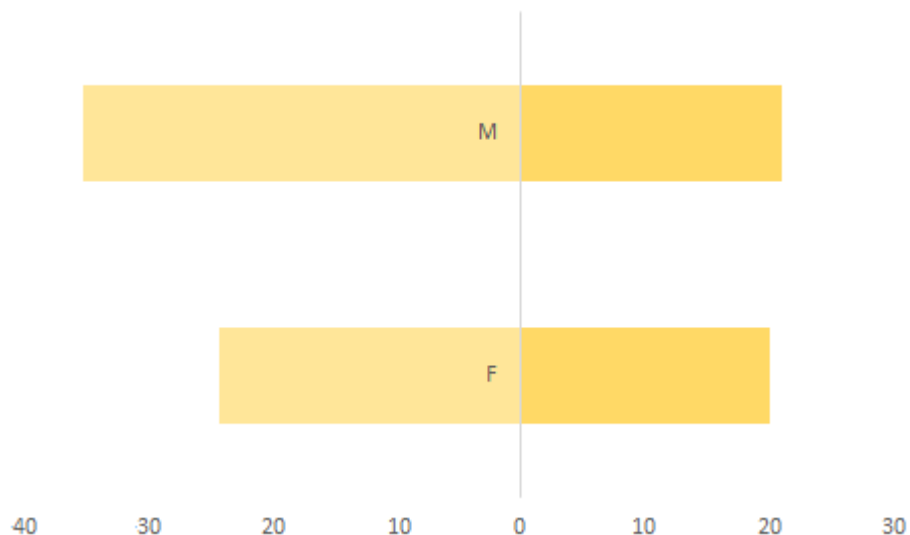
Graf 41 Zastoupení živých a mrtvých parazitoidů po postřiku herbicidem Roundup o koncentraci 640 ml. Mrtví jedinci jsou zobrazeny v levé části grafu, živí jedinci v pravé části grafu. Odděleně jsou zobrazeny samci (M) a samičky (F). Tato koncentrace odpovídá LC 50

Koncentrace 640 odpovídá LC50, čili hodnotě koncentrace, při které mortalita činí 50 %.



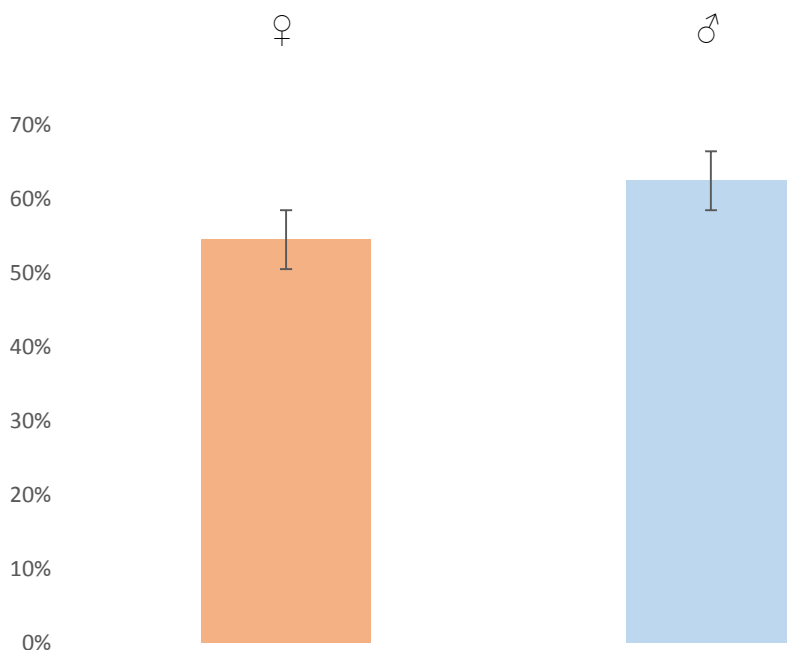
Graf 42 Mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup o koncentraci 640 ml. Samičky jsou zobrazeny červeně, samci modře

Mortalita samic byla nižší – 47,06 %, zatímco mortalita samců byla vyšší – 52,3 % (graf 42).



Graf 43 Zastoupení živých a mrtvých parazitoidů po postřiku herbicidem Roundup o koncentraci 1280 ml. Mrtví jedinci jsou zobrazeni v levé části grafu, živí jedinci v pravé části grafu. Odděleně jsou zobrazeni samci (M) a samičky (F)

Koncentrace 1280 je vysoká, převyšuje doporučené dávkování Roundupu. Mortalita činila celkově 59 %.



Graf 44 Mortalita parazitoidů po aplikaci herbicidu Roundup o koncentraci 1280 ml. Samičky jsou zobrazeny červeně, samci modře

Mortalita samců byla vyšší – 63 %, zatímco mortalita samic nižší – 54,55 % (graf 44).

6 Diskuze

Jen málo ekotoxikologických studií je zaměřeno na analýzu životních pochodů pro vyhodnocení toxicity pesticidů vůči necílovým organismům (Schneider a kol., 2009). Bylo zjištěno, že některé životní parametry byly negativně ovlivněny herbicidem na bázi glyfosátu prostřednictvím ošetřené mšice, ze které se parazitoid vyvinul a parazitoidi *A. rhopalosiphi* jsou citliví vůči této chemické látce. Prokazatelně byla ovlivněna délka vývoje parazitoida, doba přežívání a plodnost samiček ve 2. fázi. Poměr samců vůči samičkám a plodnost samiček v 1. fázi nebyla prokazatelně ovlivněna herbicidem Roundup. Dále byla určena letální koncentrace herbicidu prostřednictvím tarsálního kontaktu parazitoida s herbicidem. LC 50 byla stanovena na $305,3 \pm 1,3$ mmol dm³ účinné látky glyfosát.

Glyfosát je primárně určen pro likvidaci plevelů, ale potlačuje i jiné škodlivé organismy jako jsou mšice nebo rzi, což může být kladně vnímáno. Avšak jeho vliv na necílové druhy hmyzu může představovat potenciální hrozbu pro biodiverzitu na konvenčně využívaných orných plochách a pro veřejnou zeleň, tedy v oblastech, kde se glyfosát nejvíce využívá (Saska a kol., 2016).

Vliv herbicidu na necílové organismy

Ovlivnění životních pochodů herbicidem bylo zkoumáno například na prospěšném organismu – sluněčku *Coleomegilla maculata*. Zjišťoval se letální a subletální efekt 2,4-dichlorfenoxycetové kyseliny (2,4-D) a dicamba jako účinných látek herbicidů. Komerční formulace 2,4-D byla pro larvu sluněčka vysoce letální. Účinná látka dicamba výrazně zvýšila mortalitu sluněčka a snížila jeho tělesnou hmotnost. Komerční formulace obou herbicidů snížila podíl samců v populaci. Nebyl prokázán synergický účinek působení obou herbicidů, toxicita byla stejná, pokud byly použity herbicidy zvlášť i dohromady. Práce ukazuje, že herbicidní prostředky mohou způsobit letální a subletální účinky na necílový, užitečný hmyz, a tyto účinky jsou někdy řízeny neaktivní složkou (Freydier a Lundgren, 2016). Jen málo studií je zaměřeno na ovlivnění necílových druhů užitečného hmyzu glyfosátem. Schneider a kol. (2009) zkoumali vliv glyfosátu na zlatoočku *Chrysoperla externa*. Bylo hodnoceno, jak velký dopad má glyfosát na vývoj a plodnost prostřednictvím úmrtnostních tabulek. Podobně jako v této práci, i v pokusu s organismem *Ch. externa* byla plodnost velmi redukována a vývoj trval déle. Mšice však byly postříkány přípravkem Glyfoglex 48 s tenzidem, nikoli přípravkem Roundup (Schneider a kol., 2009).

Vliv insekticidu na necílové organismy

Používání insekticidů je součástí běžné zemědělské praxe. Používají se pro redukci škůdců, nicméně v některých případech narušují biologickou ochranu, což vede k nechtěnému ovlivnění necílových druhů. Široce využívaným způsobem ochrany před časně se objevujícími škůdci je moření semen neonikotinoidy. Navzdory široké toxicitě neonikotinoidů vůči hmyzu, někteří výzkumníci zjistili, že pokud je neonikotinoid aplikován v relativně malých dávkách cíleně na semena rostlin, vykazuje vysokou selektivitu vůči škůdcům a riziko ovlivnění necílových druhů je minimalizováno. Moření semen neonikotinoidy může potenciálně snížit populaci přirozených nepřátel prostřednictvím dvou mechanismů – nedostatku potravy a vystavení toxinu (Douglas a Tooker, 2016).

Insekticidy mohou být toxické i pro necílové druhy. Anjum a Wright (2016) zjistili, že insekticidy s účinnou látkou spinosad, abamectin a indoxacarb jsou kompatibilní s necílovými parazitoidy z řádu Hymenoptera – *Cotesia vestalis* a *Aphidius colemani*. Naproti tomu insekticid s účinnou látkou lambda-cyhalothrin je pro necílové druhy škodlivý. Všechny testy vykazovaly nižší toxicitu pro necílové druhy než pro druhy cílové – *Plutella xylostella* a *Myzus persicae* (Anjum a Wright, 2016).

Letální a subletální účinky insekticidů na cílové a necílové druhy členovců se týkají programů na ochranu proti škůdcům. *Cycloneda sanguinea*, *Orius insidiosus* a *Chauliognathus flavipes* jsou významnými přirozenými nepřáteli vhodnými pro biologickou ochranu. Všechny tři testované druhy byly podrobeny studiu toxicity s použitím insekticidů acefátu, bifenthrinu, chlorantraniliprolu, chlorpyrifosu, deltamethrinu, imidaklopridu a thiamethoxamu. Z uvedených insekticidů chlorantraniliprol vykazoval nejnižší toxicitu, zatímco chlorpyrifos a acefát byly nejvíce toxické. Testované druhy byly po vystavení filtračnímu papíru ošetřenému pyrethroidy, neonikotinoidy a organofosfáty odpuzovány. Na druhé straně, testované druhy nebyly odpuzovány z povrchů ošetřených chlorantraniliprolem. Chlorantraniliprol je nejméně nebezpečným insekticidem pro tyto tři užitečné druhy testovaných členovců (Fernandes a kol., 2016). Letální a subletální účinky na necílové druhy zkoumali i Abedi a kol. (2014), ale účinnými látkami byly azadirachtin a cypermethrin a necílovým druhem ektoparazitoid *Bracon hebetor*. Bylo vyhodnoceno, že tyto účinné látky mají negativní vliv na fekunditu, plodnost a další životní parametry parazitoidů, přičemž cypermethrin vykazoval vyšší akutní toxicitu pro larvální stádia i dospělé. Ahmad a kol. (2011) zkoumali na stejném druhu mortalitu způsobenou insekticidem. Jako nejvíce toxický insekticid byl vyhodnocen Spinosad, který vykazoval nejvyšší mortalitu (více jak 90 %) parazitoida *Bracon hebetor* při doporučených dávkách, LC50 byla stanovena na 77.97 ppm.

Dalším necílovým druhem, na kterém byl zkoumán vliv insekticidu byla pestřenka *Episyrphus balteatus*, na které se hodnotil vliv insekticidů Karate a Pirimor (Colignon a kol., 2003). Ukázalo se, že oba insekticidy jsou velmi škodlivé, i ve snížených dávkách, určitá selektivita se projevila při 2,5 % doporučené dávky. Dále prokázali, že fungicidy Ronilan a Quintalic způsobují střední akutní toxicitu a vyvolávají negativní vliv na vývoj a reprodukci.

Fonseca a kol. (2015) zkoumali vliv lufenuronu na škůdce *Diatraea flavipennella* a jeho parazitoida *Cotesia flavipes*. Bylo vyhodnoceno, že při dávce 25 mg účinné látky na litr úspěšně redukuje škůdce a zbylé larvy může parazitovat *Cotesia flavipes*, kterou tato dávka neovlivňuje. To je ukáзка, jak lze úspěšně kombinovat různé metody ochrany rostlin. Liu a kol. (2015) také vyhodnocovali vliv insekticidů na škůdce a jeho parazitoida. Škůdcem byl *Adelphocoris lineolatus* a parazitoidem *Peristenus spretus*. Dospělci parazitoida byli nejvíce citliví vůči účinné látce chlorpyriphos s hodnotami LC50 0,03 mg účinné látky na litr, stejně tak přirození nepřátelé *Cycloneda sanguinea*, *Orius insidiosus* a *Chauliognathus flavipes* byli nejvíce citliví vůči této chemické látce dle experimentu Fernandese a kol. (2016). Následovaly účinné látky phoxim, acetamiprid, profenophos, carbosulfan, acefát, deltamethrin, emamectin benzoát, imidacloprid, beta-cypermethrin, a abamectin, s hodnotami LC50 od 0,06 do 3,09 mg účinné látky na litr, zatímco účinná látka hexaflumuron způsobovala nejnižší toxicitu parazitoida s hodnotou LC50 > 500 mg účinné látky na litr (Liu a kol., 2015). Nejvyšší toxicitu způsoboval chlorpyriphos i v experimentu Prabhaker a kol. (2007), kteří zkoumali vliv insekticidů na 4 parazitoidy z čeledi Mymaridae a Aphelinidae. Zjistili, že pro všechny druhy byl nejtoxičtějším pesticidem chlorpyriphos, kde hodnoty LC50 po 24 hodinách od ošetření byly srovnatelné s hodnotami LC50 po 48 hodinách od ošetření neonikotinoidy a pyretroidy. Buprofezin a pyriproxifen byly méně toxické než kontaktní pesticidy. Nejcitlivějším druhem byl parazitoid *Aphytis melinus*.

Ghorbani a kol. (2016) zkoumali subletální a letální vliv diazinonu a fipronilu na parazitickou vosičku *Trichogramma brassicae*. Vylíhnutí parazitoidů byli vystaveni doporučeným dávkám přípravků a dlouhověkost i produkce potomstva byly negativně ovlivněny. Shankarganesh a kol. (2013) vyhodnocovali mortalitu jiných druhů drobněnek - *Trichogramma chilonis* a *Trichogramma brasiliensis* po aplikaci insekticidů. Bylo prokázáno, že lambda-cyhalothrin, bifenthrin a indoxacarb byly toxičtější pro *T. chilonis*. *T. brasiliensis* byla citlivější na karbosulfan a indoxacarb. Dalším zkoumaným parazitoidem byl *Trissolcus grandis*. Saber a kol. (2005) zkoumali vliv insekticidů fenitrothion a deltamethrin na tohoto parazitoida. Dospělci parazitoidů byli vystaveni doporučeným dávkám insekticidů a mortalita byla 100 % po 24 hodinách od expozice.

Sohrabi a kol. (2013) zkoumali subletální a letální účinky imidaclopridu a buprofezinu na parazitoidy *Eretmocerus mundus*. Oba insekticidy výrazně snižovaly počet vylíhnutých dospělců. Hodnota LC50 pro imidacloprid byla 208,9 ppm. Doba přežívání a početnost potomstva byla ovlivněna pouze imidaclopridem. Poměr pohlaví byl výrazně ovlivněn oběma insekticidy.

V současné době převažují práce zaměřené na vliv insekticidů na necílové druhy. Herbicidy mohou rovněž ovlivňovat životní parametry a mortalitu prospěšných druhů hmyzu. Je třeba pokračovat v pokusech zaměřených na tuto problematiku.

Zhodnocení pokusu

Pokus byl náročný z hlediska synchronizace vývojových a pěstebních cyklů chovu. Důležité bylo napěstování dostatečného množství rostlin, udržení jejich bezplevelného stavu, dobrého výživového režimu a nezamoření padlím travním. K pokusu byly využity pouze mladé rostlinky pšenice, které byly využity pro vlastní pokus i jako potrava pro mšice. Dále bylo nutné udržet chov mšic ve fytotronu, které byly použity pro vlastní pokus a zároveň pro udržení zavedeného chovu parazitoidů. Rychlost množení mšic postupem času zpomalovala, na podzim vznikala menší počet mšic a mšice byly menší velikosti, tudíž velikost parazitoidů byla rovněž menší. Největším problémem bylo zamoření napěstovaných rostlin mšicemi, které unikly během manipulace. Neopatrnou manipulací následně unikli parazitoidi, kteří parazitovali na kontaminovaných mšicích. Při opakování pokusu by bylo vhodné prostorově oddělit pěstební fázi od vlastního pokusu pro zamezení rizika vzniku kontaminace rostlin. Přežívání parazitoidů mohlo být ovlivněno velikostí konkrétních jedinců, menší jedinci jsou pravděpodobně citlivější na účinky glyfosátu. Při pokusu s nejvyšší koncentrací 320 došlo k výraznému zlepšení stavu rostlin, rostliny byly mnohem vitálnější, než v pokusech s nižšími koncentracemi a kontrolou. Tato skutečnost mohla mít za následek výsledky v rámci životních parametrů. Tato koncentrace byla srovnatelná s neošetřenou kontrolou a neodpovídá sledu s nižšími koncentracemi herbicidu. Další parametr, který mohl být příčinou zkreslení výsledků, byla přítomnost hyperparazitoida *Aphelinus* sp. Délka vývoje mohla být do jisté míry ovlivněna změnami teploty ve skleníku v průběhu pokusu. Pokud je teplota příliš vysoká, prodlužuje se vývoj parazitoida. Optimální teplota pro pokus byla přibližně 21 °C, zatímco průměrná teplota byla 20,1 °C.

Křivka mortality parazitoidů při aplikaci různých koncentrací glyfosátu nemá typický tvar. Stáří parazitoidů a prostředí bylo stejné, tudíž by nemělo mít vliv na mortalitu. Parazitoidi byli náhodně vybráni, pohlaví bylo určeno až po ošetření herbicidem a mělo vliv na mortalitu

jedinců. Mortalita byla poměrně vysoká – mezi 31-39 % i při nízkých koncentracích herbicidu, vliv na mortalitu mohla mít různá velikost parazitoidů.

Je nutné, aby se problematice ovlivnění prospěšných organismů pesticidy věnovalo více studií. Konkrétně vliv herbicidu a fungicidu na necílové druhy není příliš prozkoumán. Subletální efekt pesticidů má negativní dopad na životní parametry necílových druhů a jen málo studií je zaměřeno na sledování těchto parametrů.

7 Závěr

- Délka vývoje parazitoida *A. rhopalosiphi* je negativně ovlivněna herbicidem Roundup, s vyšší koncentrací se délka vývoje prodlužuje, na délku vývoje má dále vliv pohlaví parazitoida
- Doba přežívání se se zvyšující koncentrací snižuje, ale není statisticky průkazné ovlivnění doby přežívání herbicidem Roundup
- Poměr samců vůči samičkám není statisticky průkazně ovlivněn herbicidem Roundup, ale počet samců se se zvyšující koncentrací zvyšuje a poměr se vyrovnává
- Počet mumifikovaných mšic se se zvyšující koncentrací herbicidu snižuje, ale plodnost samičky není statisticky průkazně ovlivněna herbicidem Roundup
- Hodnota LC 50 pro parazitoida *A. rhopalosiphi* byla určena na $305,3 \pm 1,3$ mmol dm³ účinné látky glyfosát

8 Seznam literatury

- Abedi, Z., Saber, M., Gharekhani, G., Mehrvar, A., Kamita, S. G. 2014. Lethal and Sublethal Effects of Azadirachtin and Cypermethrin on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology*. 107. 638-645.
- Ahmad, S., Ashfaq, M., Khan, R. R., Khan, H. A. A. 2011. Toxicity of some insecticides against *Bracon hebetor* (Say): A potential Lepidopterous parasitoid. *Kuwait Journal of Science & Engineering*. 38. 185-192.
- Alcantara-de la Cruz, R., Fernandez-Moreno, P. T., Ozuna, C. V., Rojano-Delgado, A. M., Cruz-Hipolito, H. E., Dominiguez-Valenzuela, J. A., Barro, F., De Prado, R. 2016. Target and Non-target Site Mechanisms Developed by Glyphosate-Resistant Hairy beggarticks (*Bidens pilosa* L.) populations from Mexico. *Frontiers in Plant Science*. 7. 1492-1504.
- Anjum, F., Wright, D. 2016. Relative toxicity of insecticides to the crucifer pests *Plutella xylostella* and *Myzus persicae* and their natural enemies. *Crop Protection*. 88. 131-136.
- Annette, R., Habibi, H. R., Hontela, A. 2014. Impact of Glyphosate-based Herbicides on the Freshwater Environment. *Journal of Applied Toxicology*. 34. 458-479.
- Bagar, M., Honěk, A., Lukáš, J., Pekár, S., Pultar, O., Stejskal, V., Zacharda, M., Žďárková, E. 2003. Predátoři a parazitoidi v biologické ochraně polních kultur, skleníků a skladovaných komodit. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 60 s. ISBN: 8086555348.
- Bai, S. H., Ogbourne, S. M. 2016. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. *Environmental Sciences and Pollution Research*. 23. 18988-19001.
- Baier, F., Gruber, E., Hein, T., Bondar-Kunze, E., Ivanković, M., Mentler, A., Brühl, C. A., Spangl, B., Zaller, J. G. 2016. Non-target effects of a glyphosate based herbicide on Common toad larvae (*Bufo bufo*, Amphibia) and associated algae are altered by temperature. *Peerj* [online]. Listopad 2016. [cit. 2017-03-01]. Dostupné z <<https://peerj.com/articles/2641/>>.
- Boivin, G., Hance, T., Brodeur, J. 2012. Aphids parasitoid in biological control. *Canadian Journal of Plant Science*. 92. 1-12.
- Burella, P. M., Simoniello, M. F., Polleta, G. L. 2017. Evaluation of Stage-Dependent Genotoxic Effect of Roundup (Glyphosate) on Caiman latirostris Embryos. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 72. 50-57.
- Camejo, D., Guzmán-Cedeño Á., Moreno, A. 2016. Reactive oxygen species, essential molecules, during plant-pathogen interactions. *Plant Physiology and Biochemistry*. 103. 10-23.
- Carmo-Sousa, M., Moreno, A., Garzo, E., Fereres, A. 2014. A non-persistently transmitted-virus induces a pull-push strategy in its aphid vector to optimize transmission and spread. *Virus Research*. 186. 38-46.

- Cobb, A. H., Reade, J. P. H. 2010. *Herbicides and Plant Physiology (2)*. Wiley-Blackwell. New Jersey. p. 298. ISBN: 9781405129350.
- Colignon, P., Haubruge, E., Gaspar, C., Francis, F. 2003. Effects of reducing recommended doses of insecticides and fungicides on the non-target insect *Episyrphus balteatus* Diptera : Syrphidae. *Phytoprotection*. 84. 141-148.
- Dixon, A. F. G. 1998. *Aphid Ecology*. Chapman and Hall. London. p. 300. ISBN: 412741806.
- Douglas, M. R., Tooker, J. F. 2016. Meta-analysis reveals that seed-applied neonicotinoids and pyrethroids have similar negative effects on abundance of arthropod natural enemies. *PeerJ* [online]. Prosinec 2016. [cit. 2017-03-08]. Dostupné z <<https://peerj.com/articles/2776/>>.
- Driesche, R. G. Van, Bellows, T. S. 1996. *Biological Control*. Chapman and Hall. New York. p. 539. ISBN: 412028611.
- Dubey, N. K., Goel, R., Ranjan, A., Idris, A., Singh, S. K., Bag, S. K., Chandrashekar, K., Pandey, K. D., Singh, P. K., Sawant, S. V. 2013. Comparative transcriptome analysis of *Gossypium hirsutum* L. in response to sap sucking insects: aphid and whitefly. *BMC Genomics*. 14. 241-261.
- Eilenberg, J., Hokkanen, H. M. T. (eds.). 2006. *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. Springer. Dordrecht. p. 322. ISBN: 1402043201.
- Emden, H. F. van, Harrington, R. 2007. *Aphids as Crop Pests*. CAB International. Wallingford. p. 761. ISBN: 9780851998190.
- Emden, H. F. van, Service, M. W. 2004. *Pests and Vector Control*. Cambridge University Press. Cambridge. p. 363. ISBN: 9780521811958.
- Fernandes, M. E. S., Alves, F. M., Pereira, R. C., Aquino, L. A., Fernandes, F. L., Zanuncio, J. C. 2016. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. *Chemosphere*. 156. 45-55.
- Fonseca, A. P. P., Marques, E. J., Torres, J. B., Silva, L. M., Siqueira, H. A. A. 2015. Lethal and sublethal effects of lufenuron on sugarcane borer *Diatraea flavipennella* and its parasitoid *Cotesia flavipes*. *Ecotoxicology*. 24. 1869-1879.
- Forslund, K. 2000. *Plant-Aphid Interactions: studies of cyanogenic glucosides and aphid-induced responses in *Hordeum vulgare**. Swedish University of Agriculture Sciences. Uppsala. p. 140. ISBN: 9157657742.
- Freydier, L., Lundgren, J. G. 2016. Unintended effects of the herbicide 2,4-D and dicamba on lady beetles. *Ecotoxicology*. 25. 1270-1277.
- Ghorbani, M., Saber, M., Bagheri, M., Vaez, N. 2016. Effects of Diazinon and Fipronil on Different Developmental Stages of *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hym.; Trichogrammatidae). *Journal of Agricultural Science and Technology*. 18. 1267-1278.

- Gianoli, E. 1998. Induced Responses of Wheat to Aphid Feeding: Consequences for both sides of the insect-plant interaction. Swedish University of Agriculture Sciences. Uppsala. p. 100. ISBN: 9157654557.
- Giesy, J. P., Dobson, S., Solomon, K. R. 2000. Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup® Herbicide. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. 167. 35-120.
- Gomes, M. P., Juneau, P. 2016. Oxidative stress in duckweed (*Lemna minor* L.) induced by glyphosate: Is the mitochondrial electron transport chain a target of this herbicide? Environmental Pollution. 218. 402-409.
- Grossbard, E., Atkinson, D. (eds.). 1985. The Herbicide Glyphosate. Butterworths. London. p. 490. ISBN: 408111534.
- Hajek, A. E. 2004. Natural Enemies: An Introduction to Biological Control. Cambridge University Press. Cambridge. p. 396. ISBN: 9780521652957.
- Hasković, E., Pekić, M., Fočak, M., Suljević, D., Mešalić, L. 2016. Effects of Glyphosate on Enzym Activity and Serum Glucose in Rats *Rattus norvegicus*. Acta Veterinaria. 66. 214-221.
- Helyer, N., Cattlin, N. D., Brown, K. C. 2014. Biological Control in Plant Protection: A color handbook. CRC Press. Boca Raton. p. 262. ISBN: 9781840761177.
- Hogenhout, S. A., Van der Hoorn, R. A., Terauchi, R., Kamoun, S. 2009. Emerging concepts in effector biology of plant-associated organisms. Molecular Plant-Microbe Interactions Journal. 22. 115-122.
- Holecová, M. 2012. Parazitoidy a ich životné stratégie. AQ-BIOS. Bratislava. 47 s. ISBN: 9788097102005.
- Honěk, A., Martínková, Z., Vacke, J., Lukášová, H. 2002. Mšice na obilovinách: biologie, prognóza a ochrana. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha-Ruzyně. 44 s. ISBN: 8086555194.
- Hopper, K. R. 1996. Making biological control introductions more effective. Beneficial insects introduction research unit, USDA. Newark. p. 76.
- Hrudová, E. 2015. The pests of the cereals = škůdci obilnin. Mendel University of Brno. Brno. p. 100. ISBN: 9788075094049.
- Kittle, R. P., McDermid, K. J. 2016. Glyphosate herbicide toxicity to native Hawaiian macroalgal and seagrass species. Journal of Applied Phycology. 28. 2597-2604.
- Kos, K., Petrović-Obradović, O., Žikić, V., Petrović, A., Trdan, S., Tomanović, Ž. 2012. Review of Interactions Between Host Plants, Aphids, Primary Parasitoids and Hyperparasitoids in Vegetable and Cereal Ecosystems in Slovenia. Journal of Entomological Research Society. 14. 67-78.

- Kunkel, B. N., Brooks, D. 2002. Cross talk between signalling pathways in pathogen defence. *Current Opinion in Plant Biology*. 5. 325-331.
- Landis, D. A., Wratten, S. D., Gurr, G. M. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*. 45. 175-201.
- Liu, Y. Q., Liu, B., Ali, A., Luo, S. P., Lu, Y. H., Liang, G. M. 2015. Insecticide Toxicity to *Adelphocoris lineolatus* (Hemiptera: Miridae) and its Nymphal Parasitoid *Peristenus spretus* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology*. 108. 1779-1785.
- Łukasik, I., Goławska S. 2013. Effect of host plant on levels of reactive oxygen species and antioxidants in the cereal aphids *Sitobion avenae* and *Rhopalosiphum padi*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 51. 232-239.
- Mensah, P. K., Muller, W. J., Palmer, C. G. 2011. Acute toxicity of Roundup ® herbicide to three life stages of the freshwater shrimp *Caridina nilotica* (Decapoda: Atyidae). *Physics and Chemistry of the Earth*. 36. 905-909.
- Minks, A. K., Harrewijn, P. (eds.). 1987. Aphids: their biology, natural enemies and control, Volume A. Elsevier. Amsterdam. p. 457.
- Nandula, V. K. 2010. Glyphosate Resistance in Crops and Weeds: History, development, and Management (1). Wiley. New York. p. 341. ISBN: 9780470410318.
- Pezeshki, R., Saunders, L. E. 2014. Sublethal effects of environmentally relevant run-off concentrations of glyphosate in the root zone of *Ludwigia peploides* (creeping water primrose) and *Polygonum hydropiperoides* (smartweed). *Weed Biology and Management*. 14. 242-250.
- Prabhaker, N., Morse, J. G., Castle, S. J., Naranjo, S. E., Henneberry, T. J., Toscano, N. C. 2007. Toxicity of seven foliar insecticides to four insect parasitoids attacking citrus and cotton pests. *Journal of Economic Entomology*. 100. 1053-1061.
- Prado, E. C. 1997. Aphid-plant interactions at phloem level, a behavioural study. Wageningen. Landbouwniversiteit. p. 111. ISBN: 9054857560.
- Prado, S. G., Jandricic, S. E., Frank, S. D. 2015. Ecological Interactions Affecting the Efficacy of *Aphidius colemani* in Greenhouse crops. *Insects*. 6. 538-575.
- Quicke, D. L. J. 2014. Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Systematics, Evolution and Ecology (1). Wiley-Blackwell. Somerset. p. 752. ISBN: 9781118907054.
- Reno, U., Regaldo, L., Vidal, E., Mariani, M., Zalazar, C., Gagnetten, A. M. 2016. Water polluted with glyphosate formulations: effectiveness of a decontamination process using *Chlorella vulgaris* growing as bioindicator. *Journal of Applied Phycology*. 28. 2279-2286.
- Roberts, T. R., Hutson, D. H., Lee, P. W. 2007. Metabolic Pathways of Agrochemicals, Volume 1: Part 1: Herbicides and Plant Growth Regulators (1). Royal Society of Chemistry. London. p. 872. ISBN: 9780854044948.

- Roy, N. M., Ochs, J., Zambrzycka, A., Anderson, A. 2016. Glyphosate induces cardiovascular toxicity in *Danio rerio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 46. 292-300.
- Saber, M., Hejazi, M. J., Kamali, K., Moharramipour, S. 2005. Lethal and sublethal effects of fenitrothion and deltamethrin residues on the egg parasitoid *Trissolcus grandis* (Hymenoptera : Scelionidae). *Journal of Economic Entomology*. 98. 35-40.
- Saska, P., Skuhrovec, J., Lukas, J., Chi, H., Tuan, S. J., Honěk, A. 2016. Treatment by glyphosate-based herbicide alters life history parameters of the rose-grain aphid *Metopolophium dirhodum*. *Scientific Reports*. 6. 27801.
- Shankarganesh, K., Paul, B., Gautam, R. D. 2013. Studies on Ecological Safety of Insecticides to Egg Parasitoids, *Trichogramma chilonis* Ishii and *Trichogramma brasiliensis* (Ashmead). *National Academy Science Letters-India*. 36. 581-585.
- Schalk, H. J., Matzeit, V., Schiller, B., Schell, J., Gronenborn, B. 1989. Wheat dwarf virus, a geminivirus of graminaceous plants needs splicing for replication. *The EMBO Journal*. 8. 359-364.
- Schwartzberg, E. G., Tumlinson, J. H. 2014. Aphid honeydew alters plant defence responses. *Functional Ecology*. 28. 386-394.
- Sohrabi, F., Shishehbor, P., Saber, M., Mosaddegh, M. S. 2013. Lethal and sublethal effects of imidacloprid and buprofezin on the sweetpotato whitefly parasitoid *Eretmocerus mundus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Crop Protection*. 45. 98-103.
- Starý, P. 2006. Aphid Parasitoids of the Czech Republic: Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae. Academia. Praha. p. 430. ISBN: 8020013849.
- Tóth, P. 2012. Biological Control. In: Jakobsson, Ch. (ed.). Sustainable Agriculture. Baltic University Press. Uppsala. p. 206-213. ISBN: 9789186189105.
- Vincent, C., Goettel, M. S., Lazarovits, G. 2007. Biological Control: A Global Perspective. CABI Publishing. Wallingford. p. 466. ISBN: 9781845932657.
- Wajnberg, E., Scott, J. K., Quimby, P. C. (eds.). 2001. Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control. CABI Publishing. Wallingford. p. 261. ISBN: 851994539.
- Walters, D. 2010. Plant Defense: Warding off attack by pathogens, herbivores and parasitic plants (1). Wiley-Blackwell. New Jersey. p. 250. ISBN: 9781405175890.
- Westwood, J. H., Groen, S. C., Du, Z., Murphy, A. M., Anggoro, D. T., Tungadi, T., Luang-In, V., Lewsey, M. G., Rossiter, J. T., Powell, G., Smith, A. G., Carr, J. P. 2013. A trio of viral proteins tunes aphid-plant interactions in *Arabidopsis thaliana*. *PloS one* [online]. Prosinec 2013. [cit. 2017-03-28]. Dostupné z <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0083066>>.