

# Metodika pro hodnocení rezistence škůdců k zoocidům pomocí biologických metod a antirezistentní strategie pro zabránění výskytu rezistence

---

CERTIFIKOVANÁ METODIKA

**František Kocourek a kol.**



# Metodika pro hodnocení rezistence škůdců k zoocidům pomocí biologických metod a antirezistentní strategie pro zabránění výskytu rezistence

---

Certifikovaná metodika

**Prof. RNDr. ing. František Kocourek, CSc.**  
**ing. Jitka Stará, PhD.**  
**Ing. Tereza Zichová, PhD.**  
**Mgr. Jan Hubert, PhD.**  
**Ing. Marta Nesvorná**

Dedikace:

Výsledek řešení projektu QJ1230167 „Metody diagnostiky rezistence živočišných škůdců k pesticidům a antirezistentní strategie pro minimalizaci vlivu pesticidů na životní prostředí“ v rámci programu QJ Podpora politiky agrárního sektoru NAZV ČR.

Oponentní posudky vypracovali:

RNDr. Jan Kabíček, CSc.  
Ing. Jakub Beránek, PhD.

Publikaci bylo ÚKZÚZ uděleno Osvědčení č. 128875/2015 o uznání uplatněné certifikované metodiky v souladu s podmínkami „Metodiky hodnocení výsledků výzkumu a vývoje“

Vydal:

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2015

**ISBN: 978-80-7427-190-8**

## Obsah

Anotace .....	3
Annotation .....	4
I. Úvod .....	4
II. Cíl metodiky .....	5
III. Vlastní popis metodiky .....	5
III.1. Mechanismy rezistence škůdců k zoocidům .....	5
III.2. Biologické metody hodnocení rezistence .....	7
III. 2.1. Metoda hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k pyretroidům (IRAC č. 011) .....	8
III. 2.2. Metoda hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k neonikotinoidům (IRAC č. 021) .....	9
III. 2.3. Metoda hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k organofosfátům (IRAC č. 025) .....	12
III. 2.4. Metoda hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k oxadiazinům (IRAC č. 027) .....	14
III. 2.5. Metoda hodnocení rezistence obaleče jablečného k insekticidům (IRAC č. 017) .....	16
III. 2.5. Metoda hodnocení rezistence mandelinky bramborové k insekticidům (modifikace metody FAO) .....	18
III. 3. Ověření biologických metod hodnocení rezistence na případových studiích .....	19
III.3.1. Blýskáček řepkový .....	19
III.3.2. Dřepčík olejkový .....	21
III.3.3. Krytonosec šešulový .....	25
III.3.4. Obaleč jablečný .....	26
III.3.5. Mandelinka bramborová .....	28
III.4. Řízení hmyzí rezistence .....	30
III.4.1. Řízení hmyzí rezistence jako součást systému integrované ochrany (IOR) .....	31
III.4.2. Různé strategie řízení hmyzí rezistence podle stupně integrity .....	32
III.4.3. Výběr expeditivních cílů a jejich časový horizont plnění .....	32
III.4.4. Koordinace systému řízení hmyzí rezistence ve větším regionu pro delší časové období .....	32
III.4.5. Hodnocení ekonomiky strategie řízení hmyzí rezistence a používané metody monitorování .....	33
III.4.6. Předpověď rizik a potřeba implementace preventivních systémů řízení hmyzí rezistence .....	34
III.5. Antirezistentní strategie .....	35
III.5.1. Antirezistentní strategie pro ochranu proti blýskáčku řepkovému a krytonosci šešulovému .....	35

III.5.2. Antirezistentní strategie pro ochranu proti dřepčíku olejkovému .....	38
III.5.3. Antirezistentní strategie pro ochranu proti obaleči jablečnému .....	38
III.5.4 Antirezistentní strategie pro ochranu proti mandelince bramborové .....	41
IV. Srovnání novosti postupů .....	43
V. Popis uplatnění certifikované metodiky .....	43
VI. Ekonomické aspekty spojené s uplatněním metodiky .....	44
VII. Seznam použité související literatury .....	44
VIII. Seznam publikací, které předcházely metodice .....	47

## **Anotace**

Předkládaná metodika obsahuje popis biologických metod pro hodnocení rezistence škůdců k zoocidům zpracované podle světových standardů. Metodiky jsou ověřeny na případových studiích škůdců, u kterých je rezistence k insekticidům prokázána nebo je vysoké riziko selekce rezistence na území ČR, kterými jsou blýskáček řepkový, mandelinka bramborová, krytonosec šesulový, dřepčík olejkový a obaleč jablečný. Metodika dále obsahuje přehled obecných zásad řízení hmyzí rezistence a návrhy na antirezistentní strategie pro druhy škůdců, pro něž byly provedeny případové studie. Metody hodnocení rezistence jsou využitelné pro monitoring rezistence jak orgány státní správy, tak dalšími organizacemi. Doporučení uváděná v antirezistentních strategiích jsou využitelná pro řízení ochrany proti škůdcům u pěstitelů řepky, brambor a jablek.

## **Annotation**

The methodology contains description of biological methods for evaluation of pest resistance to zoocides arranged according to world standards. The methods are verified on case studies on pests with proved resistance to insecticides or with high risk of selection of resistance in Czechia, as pollen beetle, Colorado potato beetle, cabbage seedpod weevil, cabbage stem flea beetle and codling moth. The methodology contains survey of basic principles of insect resistance management and proposals of antiresistant strategies for pest mentioned in the case studies. The methods for evaluation of resistance are utilized for resistance monitoring performed by state administration or other organisations. Recommendations given in antiresistant strategies are utilized for pest management in winter rape, potatoes and apples.

## **I. Úvod**

## II. Cíl metodiky

Cílem metodiky je poskytnout popisy biologických metod hodnocení rezistence škůdců k insekticidům, které je možné využívat pro detekci a monitoring rezistence vybraných škůdců. Dalším cílem je formulovat obecné zásady řízení hmyzí rezistence a antirezistentních strategií. Pro vybrané druhy škůdců, u kterých se v ČR rezistence k zoocidům vyskytla nebo existuje vysoké riziko výskytu rezistence ověřit biologické metody hodnocení rezistence na případových studiích a navrhnout antirezistentní strategie.

## III. Vlastní popis metodiky

### III.1. Mechanismy rezistence škůdců k zoocidům

U hmyzích škůdců je známo 5 hlavních mechanismů rezistence k insekticidům: (1) zvýšení metabolismu biologicky aktivních látek, tj. degradace pesticidu specifickými detoxikačními enzymy (tzv. metabolická rezistence), (2) omezená účinnost penetrace účinných látek pesticidu přes kutikulu hmyzu, (3) zvýšené vylučování účinné látky pesticidu, (4) redukce citlivosti nervového systému na místě působení insekticidu vlivem mutace genů (např. *kdr* rezistence), (5) rezistence podmíněná změnou chování, tj. vyhnutí se místu, kde byl insekticid aplikován (Onstad, 2008). Projevem rezistence škůdců k insekticidům je neúčinnost insekticidu. Je-li populace škůdce po několik generací vystavena opakovanému působení jedné účinné látky některého insekticidu, zvyšuje se v populaci podíl rezistentních jedinců, dochází ke ztrátám na produkci a zvýšeným nákladům na ochranu při opakovaných aplikacích přípravku. U jednoho druhu hmyzu se může vyskytovat současně několik mechanismů rezistence. Např. u řady evropských populací blýskáčka řepkového rezistentních k účinným látkám deltamethrin, lambda-cyhalothrin a cypermethrin bylo prokázáno, že se jedná o metabolicky podmíněnou rezistenci (Zimmer a Nauen, 2011b). Ve Švédsku a Dánsku, kde byla rezistence blýskáčka řepkového k pyretroidům také zaznamenána však byla prokázána nejen metabolická rezistence, ale v roce 2010 byl u některých populací prokázán

mechanismus rezistence založený na bodové mutaci v sodném kanálu, v tomto případě tzv. rezistence typu *kdr* (Nauen a kol., 2012).

Rezistence k více účinným látkám se stejným mechanismem účinku je označována jako křížová rezistence (cross-rezistence). Příkladem křížové rezistence může být rezistence populace mandelinky bramborové k organofosfátům typu *kdr*. Přestože lokální populace mohla být vystavena selekčnímu tlaku jen jedné z mnoha účinných látek organofosfátů, vykazuje populace rezistenci ke všem účinným látkám organofosfátů, tedy i k těm, se kterými se populace škůdce nesetkala. Střídání přípravků ze skupiny organofosfátů na takovou rezistentní populaci tak nezajistí požadovanou účinnost. V případě rezistence blýskáčka řepkového k pyretroidům je situace složitější. Populace blýskáčka řepkového vystavená opakovanému ošetření například cypermethrinem bude rezistentní nejen k cypermethrinu, ale ke všem účinným látkám ze skupiny pyretroidů s obdobnou chemickou strukturou. Některé účinné látky ze skupiny pyretroidů, například etofenprox (Trebon 10 F) a bifenthrin (Talstar 10 EC) však vykazují ještě jiné mechanismy působení než pyretroidy ze skupiny cypermethrinů. V tomto případě tak nemusí nastat případ křížové rezistence populace blýskáčka ke všem účinným látkám ze skupiny pyretroidů. Nejzávažnějším případem rezistence škůdců k zoocidům je vznik mnohočetné rezistence (multiple rezistence), tj. rezistence současně ke dvěma a více skupinám účinných látek s různým mechanismem účinku. Příkladem mnohočetné rezistence může být rezistence mandelinky bramborové současně k organofosfátům, pyretroidům a jejich směsným přípravkům, nebo rezistence obaleče jablečného k organofosfátům, juvenoidům a inhibitorům tvorby chitinu.

Pro některé druhy škůdců je možné v rámci antirezistentních strategií využívat princip negativní křížové rezistence anebo modely fenologie škůdců zahrnující simulaci podílu rezistentních jedinců v populaci. Negativní křížová rezistence (NCR) je označení efektu, kdy rezistence k účinné látce s jedním mechanismem účinku se projevuje zvýšenou citlivostí k účinné látce s jiným mechanismem účinku. Produkty zmutované alely zodpovědné za rezistenci k jedné toxické látce způsobují hypercitlivost k jiné účinné látce. Příkladem mohou být rezistentní populace blýskáčka řepkového k pyretroidům, která vykazuje zvýšenou citlivost k organofosfátům (Seidelglanz et al., 2014). V tomto případě je znám i mechanismus zvýšené citlivosti blýskáčka k organofosfátům. Metabolicky podmíněná rezistence k pyretroidům je založena na zvýšené aktivitě izoenzymů zodpovědných za

degradaci molekul pyretroidů. Stejně izoenzymy štěpí účinnou látku organofostátu na dvě složky, z nichž jedna vykazuje mnohem větší toxicitu, než měla původní molekula účinné látky insekticidu. Jiným příkladem negativní křížové rezistence jsou populace obaleče jablečného rezistentní k organofosfátu s účinnou látkou azinphosmethyl, které vykazují zvýšenou citlivost k jiným skupinám účinných látek insekticidů (Dunley a Welter, 2000).

Pro některé druhy škůdců lze v rámci antirezistentních strategií využívat sofistikované modely jejich fenologie. Princip takového modelu fenologie je založen na pleiotrofním efektu a je popsán u obaleče jablečného (v kapitole III.5.3). Podle výsledků modelu se doporučuje cílená ochrana pesticidy s dosud nejvyšší účinností na část populace škůdce s maximem výskytu rezistentních jedinců.

Vzhledem k tomu, že poznatky o mechanismech působení účinných látek pesticidů jsou významné pro upřesnění antirezistentních strategií, je krátký přehled o mechanismech působení insekticidů uveden pro druhy škůdců, pro které byly biologické metody hodnocení ověřovány na případových studiích.

Pro odhalení mechanismů rezistence se využívají metody molekulární biologie nebo biochemické metody, zejména metody založené na analýze proteinů (proteomika). Tyto metody hodnocení rezistence budou autorským týmem této metodiky zpracovány v navazující samostatné metodice jako další výstup dedikovaného projektu.

## **III.2. Biologické metody hodnocení rezistence**

V následujícím přehledu jsou uvedeny příklady metod, které jsou vhodné pro hodnocení rezistence škůdců, u kterých v ČR existuje riziko výskytu rezistence nebo u kterých již byla rezistence v minulosti zjištěna. Jedná se převážně o metody schválené a doporučované organizací Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). V jenom případě jde o metodu FAO, která byla vyvinuta pro hodnocení rezistence mandelinky bramborové k insekticidům. Všechny metody uvedené v metodice jsou vhodné pro monitoring rezistence i ke stanovení tzv. baseline (tj. citlivosti populace před vystavením selekčnímu tlaku insekticidu). Pro monitoring rezistence obvykle postačuje použít 2 diskriminační dávky insekticidu, zatímco pro stanovení baseline je třeba použít minimálně 5 koncentrací tak, aby bylo možné vypočítat  $LC_{50}$  a  $LC_{90}$  nebo  $LC_{95}$ .

### III. 2.1. Metoda hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k pyretroidům (IRAC č. 011)

Materiál: nádoby na hmyz (např. monofilové izolátory nebo 0,5L sklenice překryté monofilem), jemný malířský štěteček, kádinky na ředění pesticidů, pipety a špičky pro ředění tekutých pesticidů nebo laboratorní váhy pro vážení práškových pesticidů, 20ml skleněné lahvičky, zařízení pro rotování lahviček (např. ohříváč párků), nálevka pro přemístění brouků do lahviček, filtrační papíry, klimabox pro zajištění kontrolovaných podmínek v průběhu pokusu.

#### Popis metody:

- 1) Nasbírejte (smýkáním) přibližně 100-200 dospělců blýskáčka řepkového na různých místech pole. Uchovejte brouky v dobře větrané nádobě (např. monofilovém izolátoru nebo zavařovací sklenici překryté monofilem). Na dno nádoby umístěte suchý filtrační papír a do nádoby umístěte několik kvetoucích rostlin řepky jako zdroj potravy. Brouci nesmí být před hodnocením rezistence vystaveni stresu (vysoké teploty, vlhkost nebo hladovění). Manipulace s brouky před pokusem by měla být omezena na minimum.
- 2) Přemístěte nasbírané brouky co nejrychleji do laboratoře, kde bude prováděno hodnocení rezistence. Způsob transportu by měl zamezit vysokým teplotám, vlhkosti a stresu hladověním.
- 3) Doporučuje se brouky po přemístění do laboratoře vypustit do dobře větrané nádoby (klíčky) a hodnocení rezistence provádět až další den.
- 4) Jako standard pro hodnocení rezistence k pyretroidům je používán lambda-cyhalothrin (technický produkt dostupný např. od Sigma-Aldrich). Je možné použít i jiné pyretroidy, ale v takovém případě IRAC doporučuje použít lambda-cyhalothrin pro srovnání.
- 5) Pro hodnocení rezistence použijte skleněné lahvičky s vnitřním povrchem 20-80 cm<sup>2</sup>. Nové lahvičky je třeba před použitím vypláchnout v mýdlové vodě, v acetonu a nechat sušit alespoň 4 hodiny před použitím.
- 6) Vypočtete povrch lahviček podle vzorce:  $S = \pi r^2 + (2 \pi r) * h$
- 7) Připravte roztoky lambda-cyhalothrinu v acetonu:

- a. Pro monitoring rezistence byly IRAC stanoveny 2 doporučené koncentrace lambda-cyhalothrinu a naše výsledky tento výběr potvrzují (viz kap. III.5.):
- i. 0,075 µg/cm<sup>2</sup> (100% doporučené polní dávky 7,5 g úč. látky/ha)
  - ii. 0,015 µg/cm<sup>2</sup> (20% doporučené polní dávky)
  - iii. aceton jako kontrola
- 8) Skleněné lahvičky naplňte 500-1500 µL roztoku (v závislosti na velikosti lahviček je třeba, aby stěny lahviček byly kompletně pokryty roztokem. Lahvičky nechte rotovat při pokojové teplotě, až dojde k odpaření acetonu.
- 9) Použijte tři opakování od každé koncentrace a kontrolní varianty (v návodu IRAC uvádí 2 opakování).
- 10) Do každé lahvičky umístěte 10-20 brouků (pro přemístění brouků do lahviček je vhodné použít malířský štěteček a plastový trychtýř), uzavřete lahvičky a ve svislé poloze nechte inkubovat při teplotě 20 +/- 2 °C a vlhkosti 60% (IRAC vlhkost neuvádí).
- 11) Mortalitu brouků vyhodnoťte po 24h. Hodnocení mortality brouků se provádí po vysypání brouků z lahvičky doprostřed kruhové výseče z filtračního papíru o průměru 8 cm. Spočítání jsou mrtví brouci a také brouci vážně postižení. Za vážně postižené považujte brouky, kteří nejsou schopni kruhovou výseč během 1 min opustit.
- 12) Výsledek hodnocení vyjádřete jako procento mortality a proveďte korekci na mortalitu v kontrolní neošetřené variantě podle Abbotta (1925), tj.  $A = [(P-C)/(100-C)] * 100$ , kde A je výsledná mortalita v ošetřené variantě po korekci, P je mortalita v ošetřené variantě před korekcí a C je mortalita v kontrolní neošetřené variantě. Mortalitu počítáme jako podíl součtu mrtvých a postižených brouků z celkového počtu hodnocených brouků. Pokud je mortalita v kontrolní variantě vyšší než 20%, je třeba pokus zopakovat.

### **III. 2.2. Metoda hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k neonikotinoidům (IRAC č. 021)**

Materiál: nádoby na hmyz (např. monofilové izolátory nebo 0,5L sklenice překryté monofilem), jemný malířský štěteček, kádinky na ředění pesticidů, pipety a špičky pro

ředění tekutých pesticidů nebo laboratorní váhy pro vážení práškových pesticidů, 20ml skleněné lahvičky, zařízení pro rotování lahviček (např. ohřívač párků), nálevka pro přemístění brouků do lahviček, filtrační papíry, teploměr, klimabox pro zajištění kontrolovaných podmínek v průběhu pokusu.

#### Popis metody:

- 1) Nasbírejte (smýkáním) přibližně 200 dospělců blýskáčka řepkového na různých místech pole. Uchovejte brouky v dobře větrané nádobě (např. monofilovém izolátoru nebo zavařovací sklenici překryté monofilem). Na dno nádoby umístěte suchý filtrační papír a do nádoby umístěte několik kvetoucích rostlin řepky jako zdroj potravy. Brouci nesmí být před hodnocením rezistence vystaveni stresu (vysoké teploty, vlhkost nebo hladovění). Manipulace s brouky před pokusem by měla být omezena na minimum. Přemístěte nasbírané brouky co nejrychleji do laboratoře, kde bude prováděno hodnocení rezistence. Způsob transportu by měl zamezit vysokým teplotám, vlhkosti a stresu hladověním.
- 2) Doporučuje se brouky po přemístění do laboratoře vypustit do dobře větrané nádoby (klícky) a hodnocení rezistence provádět až další den.
- 3) Jako standard pro hodnocení rezistence k neonikotinoidům je používán thiacloprid ve formulaci komerčně dostupného přípravku Biscaya 240 OD.
- 4) Pro hodnocení rezistence použijte skleněné lahvičky s vnitřním povrchem 20-80 cm<sup>2</sup>. Nové lahvičky je třeba před použitím vypláchnout v mýdlové vodě, v acetonu a nechat sušit alespoň 4 hodiny před použitím.
- 5) Vypočtete povrch lahviček podle vzorce:  $S = \pi r^2 + (2 \pi r) * h$
- 6) Připravte roztoky přípravku Biscaya 240 OD:
  - a. Připravte zásobní roztok rozpuštěním přípravku Biscaya 240 OD v destilované vodě (2% celkového objemu rozpouštědla) a přidejte aceton do 100% objemu rozpouštědla.
  - b. Pro monitoring rezistence byly IRAC stanoveny 3 doporučené koncentrace thiaclopridu a naše výsledky tento výběr potvrzují (viz kap. III.5.):
    - i. 1,44 µg/cm<sup>2</sup> (200% doporučené polní dávky 72 g úč. látky/ha)
    - ii. 0,72 µg/cm<sup>2</sup> (100% doporučené polní dávky)
    - iii. 0,144 µg/cm<sup>2</sup> (20% doporučené polní dávky)

iv. aceton jako kontrola

c. V případě potřeby je pro vytvoření křivky závislosti mortality na koncentraci možné použít koncentrace 4% a 0,8% doporučené dávky. Koncentrace vyšší než 200% doporučené dávky není možné použít z důvodu olejové formulace přípravku.

- 7) Skleněné lahvičky naplňte 500-1500  $\mu$ L roztoku (v závislosti na velikosti lahviček je třeba, aby stěny lahviček byly kompletně pokryty roztokem. Lahvičky nechte rotovat při pokojové teplotě, až dojde k odpaření acetonu. Z důvodu obsahu oleje ve formulaci přípravku a malého objemu vody v roztoku je třeba lahvičky nechat rotovat alespoň 2h a další 2h nechat odpařovat bez rotování (např. přes noc) a teprve poté lahvičky uzavřít a uskladnit před použitím. Připravené lahvičky je možné skladovat při pokojové teplotě ve tmě minimálně 8 týdnů, aniž by došlo k významné degradaci účinné látky.
- 8) Použijte tři opakování od každé koncentrace a kontrolní varianty (v návodu IRAC uvádí 2 opakování).
- 9) Do každé lahvičky umístěte 10 brouků (pro přemístění brouků do lahviček je vhodné použít malířský štěteček a plastový trychtýř), uzavřete lahvičky a ve svislé poloze nechte inkubovat při teplotě  $20 \pm 2$  °C a vlhkosti 60% (IRAC vlhkost neuvádí).
- 10) Mortalitu brouků vyhodnoťte po 24h. Hodnocení mortality brouků se provádí po vysypání brouků z lahvičky doprostřed papíru s nakreslenou kružnicí o průměru 15 cm. Spočítání jsou mrtví brouci a také brouci vážně postižení. Za vážně postižené považujte brouky, kteří nejsou schopni kruhovou výseč během 1 min opustit.
- 11) Výsledek hodnocení vyjádřete jako procento mortality a proveďte korekci na mortalitu v kontrolní neošetřené variantě podle Abbotta (1925), tj.  $A = [(P - C) / (100 - C)] * 100$ , kde A je výsledná mortalita v ošetřené variantě po korekci, P je mortalita v ošetřené variantě před korekcí a C je mortalita v kontrolní neošetřené variantě. Mortalitu počítáme jako podíl součtu mrtvých a postižených brouků z celkového počtu hodnocených brouků. Pokud je mortalita v kontrolní variantě vyšší než 20%, je třeba pokus zopakovat.

### III. 2.3. Metoda hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k organofosfátům (IRAC č. 025)

Materiál: nádoby na hmyz (např. monofilové izolátory nebo 0,5L sklenice překryté monofilem), jemný malířský štěteček, kádinky na ředění pesticidů, pipety a špičky pro ředění tekutých pesticidů nebo laboratorní váhy pro vážení práškových pesticidů, 20ml skleněné lahvičky, zařízení pro rotování lahviček (např. ohříváč párků), nálevka pro přemístění brouků do lahviček, filtrační papíry, klimabox pro zajištění kontrolovaných podmínek v průběhu pokusu.

#### Popis metody:

- 1) Nasbírejte (smýkáním) přibližně 200 dospělců blýskáčka řepkového na různých místech pole. Uchovejte brouky v dobře větrané nádobě (např. monofilovém izolátoru nebo zavařovací sklenici překryté monofilem). Na dno nádoby umístěte suchý filtrační papír a do nádoby umístěte několik kvetoucích rostlin řepky jako zdroj potravy. Brouci nesmí být před hodnocením rezistence vystaveni stresu (vysoké teploty, vlhkost nebo hladovění). Manipulace s brouky před pokusem by měla být omezena na minimum.
- 2) Přemístěte nasbírané brouky co nejrychleji do laboratoře, kde bude prováděno hodnocení rezistence. Způsob transportu by měl zamezit vysokým teplotám, vlhkosti a stresu hladověním.
- 3) Doporučuje se brouky po přemístění do laboratoře vypustit do dobře větrané nádoby (klíčky) a teploty 13 – 15 °C a hodnocení rezistence provádět až další den.
- 4) Jako standard pro hodnocení rezistence k organofosfátům je používán chlorpyrifos (ethyl) (technický produkt).
- 5) Pro hodnocení rezistence použijte skleněné lahvičky s vnitřním povrchem 20-80 cm<sup>2</sup>. Nové lahvičky je třeba před použitím vypláchnout v mýdlové vodě, v acetonu a nechat sušit alespoň 4 hodiny před použitím.
- 6) Vypočtete povrch lahviček podle vzorce:  $S = \pi r^2 + (2 \pi r) * h$
- 7) Připravte roztoky chlorpyrifosu v acetonu:
  - a. Vzhledem k tomu, že dosud nebyla u žádné populace v Evropě prokázána rezistence k organofosfátům, IRAC doporučuje použít pro

testy pouze jednu koncentraci  $0,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (16% obvyklé polní dávky  $187,5 \text{ g}$  úč. látky/ha) a v kontrolní variantě aceton.

b. Podle našich výsledků doporučujeme pro monitoring rezistence použít 3 koncentrace, a to:

- i.  $1,875 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (100% doporučené polní dávky  $187,5 \text{ g}$  úč. látky/ha)
- ii.  $0,375 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (20% doporučené polní dávky  $187,5 \text{ g}$  úč. látky/ha)
- iii.  $0,018 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (1% doporučené polní dávky  $187,5 \text{ g}$  úč. látky/ha)

8) Skleněné lahvičky naplňte 500-1500  $\mu\text{L}$  roztoku (v závislosti na velikosti lahviček je třeba, aby stěny lahviček byly kompletně pokryty roztokem. Lahvičky nechte rotovat při pokojové teplotě, až dojde k odpaření acetonu. Připravené lahvičky je možné skladovat při teplotě  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  maximálně 1 měsíc.

9) Použijte tři opakování od každé koncentrace a kontrolní varianty (IRAC uvádí 2 opakování).

10) Do každé lahvičky umístěte 10-20 brouků (pro přemístění brouků do lahviček je vhodné použít malířský štěteček a plastový trychtýř), uzavřete lahvičky a ve svislé poloze nechte inkubovat při teplotě  $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  a vlhkosti 60% (IRAC vlhkost neuvádí).

11) Mortalitu brouků vyhodnoťte po 24h. Před hodnocením je vhodné s lahvičkami krátce zatřást, aby bylo snadnější vyhodnotit živé od mrtvých a postižených brouků (brouci, kteří nejsou schopni koordinovaného pohybu). Hodnocení mortality brouků se provádí po vysypání brouků z lahvičky doprostřed papíru s nakreslenou kružnicí o průměru 15 cm. Spočítání jsou mrtví brouci a také brouci vážně postižení. Za vážně postižené považujeme brouky, kteří nejsou schopni kruhovou výseč během 1 min opustit.

12) Výsledek hodnocení vyjádřete jako procento mortality a proveďte korekci na mortalitu v kontrolní neošetřené variantě podle Abbotta (1925), tj.  $A = [(P-C)/(100-C)] \cdot 100$ , kde A je výsledná mortalita v ošetřené variantě po korekci, P je mortalita v ošetřené variantě před korekcí a C je mortalita v kontrolní neošetřené variantě. Mortalitu počítáme jako podíl součtu mrtvých a postižených brouků z celkového počtu hodnocených brouků. Pokud je mortalita v kontrolní variantě vyšší než 20%, je třeba pokus zopakovat.

### III. 2.4. Metoda hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k oxadiazinům (IRAC č. 027)

Materiál: nádoby na hmyz (např. monofilové izolátory nebo 0,5L sklenice překryté monofilem), jemný malířský štěteček, kádinky na ředění pesticidů, pipety a špičky pro ředění tekutých pesticidů nebo laboratorní váhy pro vážení práškových pesticidů, 20ml skleněné lahvičky, zařízení pro rotování lahviček (např. ohřívač párků), nálevka pro přemístění brouků do lahviček, filtrační papíry, klimabox pro zajištění kontrolovaných podmínek v průběhu pokusu.

#### Popis metody:

- 1) Nasbírejte (smýkáním) přibližně 300 dospělců blýskáčka řepkového na různých místech pole. Uchovejte brouky v dobře větrané nádobě (např. monofilovém izolátoru nebo zavařovací sklenici překryté monofilem). Na dno nádoby umístěte suchý filtrační papír a do nádoby umístěte několik kvetoucích rostlin řepky jako zdroj potravy. Brouci nesmí být před hodnocením rezistence vystaveni stresu (vysoké teploty, vlhkost nebo hladovění). Manipulace s brouky před pokusem by měla být omezena na minimum.
- 2) Přemístěte nasbírané brouky co nejrychleji do laboratoře, kde bude prováděno hodnocení rezistence. Způsob transportu by měl zamezit vysokým teplotám, vlhkosti a stresu hladověním.
- 3) Doporučuje se brouky po přemístění do laboratoře vypustit do dobře větrané nádoby (klícky) a hodnocení rezistence provádět až další den.
- 4) Jako standard pro hodnocení rezistence k oxadiazinům je používán indoxacarb (technický produkt).
- 5) Pro hodnocení rezistence použijte skleněné lahvičky s vnitřním povrchem 20-40 cm<sup>2</sup>. Nové lahvičky je třeba před použitím vypláchnout v mýdlové vodě, v acetonu a nechat sušit alespoň 4 hodiny před použitím.
- 6) Vypočítejte povrch lahviček podle vzorce:  $S = \pi r^2 + (2 \pi r) * h$
- 7) Připravte roztoky indoxacarb (technical grade) v roztoku vody a acetonu (5% vody + 95% acetonu):
  - a. Pro získání spolehlivých výsledků je dle IRAC třeba pro hodnocení rezistence použít 5-6 koncentrací indoxacarb:

- i. 255 ng/cm<sup>2</sup> (100% doporučené polní dávky 25,5 g úč. látky/ha)
    - ii. 90,5 ng/cm<sup>2</sup>
    - iii. 63,75 ng/cm<sup>2</sup> (25% doporučené polní dávky 25,5 g úč. látky/ha)
    - iv. 31,88 ng/cm<sup>2</sup>
    - v. 9,4 ng/cm<sup>2</sup>
    - vi. 1,99 ng/cm<sup>2</sup>
    - vii. voda + aceton jako kontrola
  - b. Pokud není možné použít celé spektrum doporučených koncentrací, je možné použít 2 koncentrace 255 ng/cm<sup>2</sup> a 63,75 ng/cm<sup>2</sup> a kontrolní variantu
  - c. Podle našich výsledků doporučujeme pro monitoring rezistence použít 3 koncentrace, a to:
    - i. 255 ng/cm<sup>2</sup> (100% doporučené polní dávky 25,5 g úč. látky/ha)
    - ii. 51 ng/cm<sup>2</sup> (20% doporučené polní dávky 25,5 g úč. látky/ha)
    - iii. 2,55 ng/cm<sup>2</sup> (1% doporučené polní dávky 25,5 g úč. látky/ha)
- 8) Skleněné lahvičky naplňte 500-1500 µL roztoku (v závislosti na velikosti lahviček je třeba, aby stěny lahviček byly kompletně pokryty roztokem. Lahvičky nechte rotovat při pokojové teplotě, až dojde k odpaření acetonu. Připravené lahvičky je možné skladovat 7 dnů v chladničce, ale doporučuje se použít nově ošetřené lahvičky.
- 9) Použijte tři opakování od každé koncentrace a kontrolní varianty.
- 10) Do každé lahvičky umístěte minimálně 10 brouků (pro přemístění brouků do lahviček je vhodné použít malířský štěteček a plastový trychtýř), uzavřete lahvičky a ve svislé poloze nechte inkubovat při teplotě 20 +/- 2 °C a vlhkosti 60% (IRAC vlhkost neuvádí).
- 11) Mortalitu brouků vyhodnoťte po 24h. Hodnocení mortality brouků se provádí po vysypání brouků z lahvičky doprostřed papíru s nakreslenou kružnicí o průměru 15 cm. Spočítání jsou mrtví brouci a také brouci vážně postižení. Za vážně postižené považujeme brouky, kteří nejsou schopni kruhovou výseč během 1 min opustit.
- 12) Výsledek hodnocení vyjádřete jako procento mortality a proveďte korekci na mortalitu v kontrolní neošetřené variantě podle Abbotta (1925), tj.  $A = [(P-C)/(100-C)] * 100$ , kde A je výsledná mortalita v ošetřené variantě po korekci, P je mortalita v ošetřené variantě před korekcí a C je mortalita v kontrolní

neošetřené variantě. Mortalitu počítáme jako podíl součtu mrtvých a postižených brouků z celkového počtu hodnocených brouků. Pokud je mortalita v kontrolní variantě mortalita vyšší než 20%, je třeba pokus zopakovat.

### **III. 2.5. Metoda hodnocení rezistence obaleče jablečného k insekticidům (IRAC č. 017)**

Materiál: destilovaná voda, miska na míchání umělé diety, váhy (s přesností 0,001g), pipety, špičky a kádinky na ředění pesticidů, umělá dieta (Stonefly Heliothis Premix Diet Formula)\*, uzavíratelné destičky pro chov hmyzu o průměru jamek 10-20 mm\*\*, chirurgické rukavice, jemný malířský štěteček, měkká pinzeta, binokulární lupa, klimabox pro zajištění kontrolovaných podmínek v průběhu pokusu.

\*dostupné na [www.wardsci.com](http://www.wardsci.com)

\*\*dostupné na [www.insectrearing.com](http://www.insectrearing.com) nebo na [www.neolab.de](http://www.neolab.de) (odkládací box na zkumavky 2-1535)

#### Popis metody:

Metoda je vhodná pro hodnocení rezistence obaleče jablečného k organofosfátům, pyretroidům, neonikotinoidům, spinosinům, avermectinům, juvenilním hormonům, fenoxycarbu, benzyl urei, diacylhydrazinům, indoxacarbu, metaflumizonu, pyridalylu. Podle autorů této metodiky je metoda IRAC č.17 využitelná také pro hodnocení rezistence obaleče jablečného k biopreparátům na bázi CpGV (viz případová studie – kapitola III.3.4) a na bázi *Bacillus thuringiensis*.

- 1) Nasbírejte dostatečné množství vzorků hmyzu (alespoň 100 kukel nebo housenek) z polních podmínek pro založení F1 generace pro testy. Dle našich zkušeností je nejvhodnější umístit do sadů pásy z vlnité lepenky a nasbírat housenky přezimující generace obaleče jablečného, případně z dostatečně napadených ploch je možné nasbírat napadená jablka a přezimující housenky získat z jablek. V laboratoři umístěte housenky do krabiček s vlnitou lepenkou a nechte housenky přezimovat v klimatizovaném boxu při teplotě 5 °C do jara následujícího roku. Nasbírané vzorky hmyzu by neměly být vystaveny teplotnímu ani vlhkostnímu stresu.

- 2) Připravte roztoky hodnoceného insekticidu z komerčně dostupného přípravku. IRAC doporučuje pro hodnocení rezistence 6 koncentrací. Podle našich výsledků pro přípravky s larvicidním účinkem postačuje použít pro monitoring rezistence 2 koncentrace, a to 100% a 20% doporučené dávky.. Pro hodnocení rezistence k biopreparátům na bázi CpGV doporučujeme použít diskriminační koncentraci  $3 \times 10^5$  OB/ml.
- 3) Navažte 20g umělé diety Stonefly Heliiothis Premix Diet Formula a v misce důkladně ručně promíchejte s 0,5 ml naředěného insekticidu o definované koncentraci. Pro míchání použijte chirurgické rukavice pro zabránění styku s insekticidem. Před mícháním jednotlivých variant (koncentrací) vyměňte rukavice.
- 4) Do každé jamky testovací destičky umístěte 0,5g namíchané diety s roztokem insekticidu tak, aby bylo důkladně pokryto dno každé jamky o průměru 10-20mm. Pro každou koncentraci insekticidu je třeba naplnit 40 jamek.
- 5) V kontrolní variantě použijte místo roztoku insekticidu destilovanou vodu.
- 6) Pomocí jemného malířského štětečku umístěte do každé jamky jednu čerstvě vylíhnutou housenku (staří méně než 24h) obaleče jablečného. Po naplnění všech jamek destičku důkladně uzavřete.
- 7) Destičky inkubujte při teplotě  $22 \pm 2$  °C, relativní vlhkosti 60% a světelném režimu 16h světlo:8h tma. Pokud není k dispozici klimabox, umístěte destičky tak, aby bylo zabráněno působení přímého slunečního záření a zaznamenávejte max. a min. teploty.
- 8) Vyhodnoťte mortalitu housenek v testu. Mortalitu počítejte jako podíl součtu mrtvých a vážně postižených housenek z celkového počtu hodnocených housenek. Proveďte korekci na mortalitu v kontrolní neošetřené variantě podle Abbotta (1925), tj.  $A = [(P-C)/(100-C)] \times 100$ , kde A je výsledná mortalita v ošetřené variantě po korekci, P je mortalita v ošetřené variantě před korekcí a C je mortalita v kontrolní neošetřené variantě. Za vážně postižené považujeme všechny housenky, které nejsou schopny koordinovaného pohybu a nejsou schopny se při obrácení na záda obrátit zpět na břicho. Pro hodnocení rezistence k diamidovým insekticidům doporučuje IRAC hodnocení po 96h, pro ostatní insekticidy doporučuje 96-120h podle typu insekticidu. Podle našich výsledků je spolehlivé hodnotit test po 120h. Pro hodnocení rezistence k biopreparátům na bázi CpGV doporučujeme hodnotit mortalitu po 14 dnech

od aplikace. U citlivých jedinců je očekávaná mortalita v obou termínech hodnocení 100%.

### **III. 2.5. Metoda hodnocení rezistence mandelinky bramborové k insekticidům (modifikace metody FAO)**

#### Popis metody:

Metoda je vhodná pro testování rezistence mandelinky bramborové k organofosfátům, pyretroidům, neonikotinoidům, spinosinům, thiamethoxamu, chlorantraniliprolu, azadirachtinu.

Materiál: monofilové izolátory, měkká pinzeta, kádinky na ředění pesticidů, pipety a špičky pro ředění tekutých pesticidů nebo laboratorní váhy pro vážení práškových pesticidů, plastové kelímky o objemu cca 100ml s víčky, filtrační papíry, neošetřené listy brambor, klimabox pro zajištění kontrolovaných podmínek v průběhu pokusu.

- 1) Nasbírejte přibližně 200 larev mandelinky bramborové 2.-3. vývojového stádia. Larvy umístěte do monofilového izolátoru a přidejte dostatečné množství potravy (listy brambor). Larvy sbírejte na různých místech pole. Nasbírané larvy by neměly být vystaveny teplotnímu ani vlhkostnímu stresu a neměly by strádat z nedostatku potravy.
- 2) Připravte roztoky hodnoceného insekticidu z komerčně dostupného přípravku. Pro monitoring rezistence doporučujeme použít 2 koncentrace, odpovídající 100% a 20% doporučené polní dávky přípravku.
- 3) Připravte 3 kelímky (opakování) pro každou koncentraci přípravku a na dno každého kelímku umístěte filtrační papír. Do víček kelímků udělejte malé otvory pro zajištění přístupu vzduchu.
- 4) Do každého kelímku umístěte 10 larev mandelinky bramborové. Pro přemístění larev do kelímku použijte měkkou pinzetu.
- 5) Na dorsální stranu každé larvy dávkovačem nakapejte 1 kapku roztoku insekticidu o objemu 1 $\mu$ l. Po zaschnutí kapek do každého kelímku přidejte 1-2 listy bramboru a kelímky uzavřete víčkem. Kelímky s larvami nechte inkubovat při teplotě 20 +/- 2 °C a vlhkosti 60%.

- 6) Mortalitu larev mandelinky vyhodnoťte po 24h. Spočítány jsou mrtvé larvy a také larvy vážně postižené. Za vážně postižené považujeme larvy, které nejsou schopny koordinovaného pohybu.
- 7) Výsledek hodnocení vyjádřete jako procento mortality a proveďte korekci na mortalitu v kontrolní neošetřené variantě podle Abbotta (1925), tj.  $A = [(P-C)/(100-C)]*100$ , kde A je výsledná mortalita v ošetřené variantě po korekci, P je mortalita v ošetřené variantě před korekcí a C je mortalita v kontrolní neošetřené variantě. Mortalitu počítáme jako podíl součtu mrtvých a postižených larev z celkového počtu hodnocených larev. Pokud je mortalita v kontrolní variantě mortalita vyšší než 20%, je třeba pokus zopakovat.

### **III. 3. Ověření biologických metod hodnocení rezistence na případových studiích**

#### **III.3.1. Blýskáček řepkový**

Rezistence blýskáčka řepkového byla v roce 2013 hodnocena pomocí metod IRAC č. 11 (pyretroidy), č. 21 (neonikotinoidy) a č. 27 (oxadiaziny). Hodnoceno bylo šest populací blýskáčka řepkového (Netvořice, Karlštejn, Petrašovice, Roudnice nad Labem, Praha-Ruzyně a Žehuň. Celkem byly hodnoceny čtyři účinné látky pyretroidů (deltamethrin, lambda-cyhalothrin, etofenprox a tau-fluvalinate, jeden neonikotinoid (acetamiprid) a jeden oxadiazin (indoxacarb). Pro všechny účinné látky byly testovány koncentrace odpovídající nejvyšší povolené dávce přípravku na blýskáčka řepkového, a to v dávce 1000, 100, 20 a 10 % polní dávky v přepočtu na 400 l vody na ha. Hodnocení mortality brouků bylo prováděno po 24h.

#### **Účinnost pyretroidů**

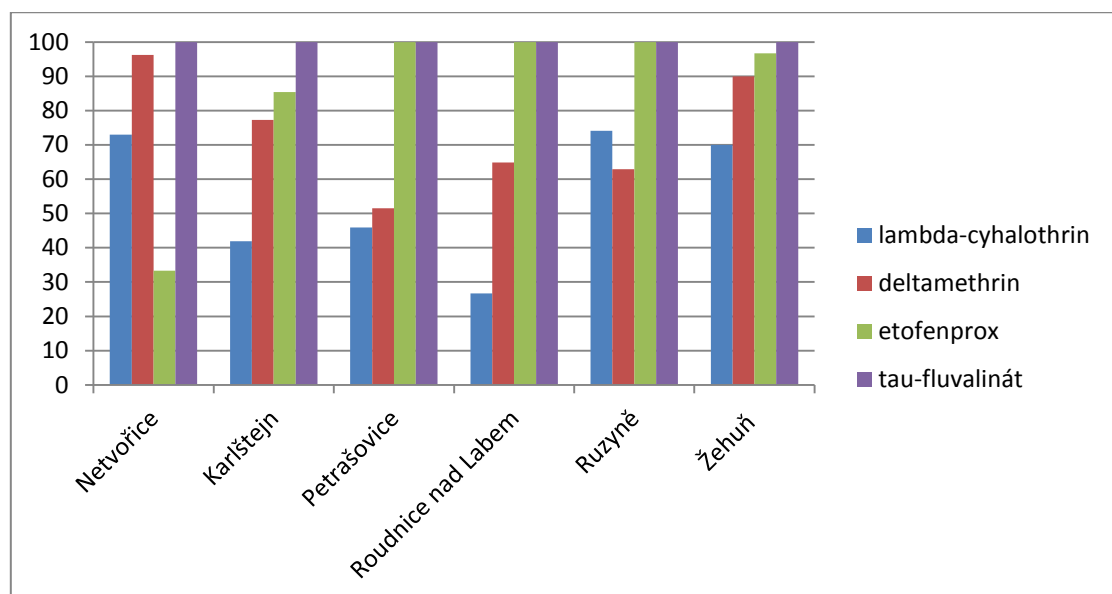
Účinnost hodnocených pyretroidů se lišila mezi populacemi a byly také zjištěny rozdíly v účinnosti jednotlivých pyretroidů (Graf č. 1). Nejúčinnější byl tau-fluvalinate a u většiny populací byla zjištěna také vysoká účinnost etofenproxu. Mortalita po aplikaci tau-fluvalinatu v koncentraci odpovídající 100% polní dávce byla u všech

populací 100%, zatímco mortalita po aplikaci etofenproxu byla u populace Karlštejn pod 90% a u populace Netvořice dokonce pod 40%.

Mortalita brouků po aplikaci deltamethrinu v koncentraci odpovídající 100% dávce se pohybovala od 27% do 74%, mortalita po aplikaci lambda-cyhalothrinu se pohybovala od 52% do 96%. U většiny hodnocených populací byla účinnost lambda-cyhalothrinu vyšší než účinnost deltamethrinu.

U většiny populací byl prokázán nejvyšší stupeň rezistence k deltamethrinu. Z výsledků je zřejmé, že na populace blýskáčka řepkového rezistentní k pyretroidům deltamethrin a lambda-cyhalothrin jsou dosud účinné pyretroidy tau-fluvalinát a etofenprox, ale u některých populací se již objevuje rezistence i k etofenproxu.

**Graf č. 1** – Mortalita dospělců blýskáčka řepkového (v %) po aplikaci účinných látek pyretroidů v koncentraci odpovídající 100% povolené polní dávky stanovená metodou IRAC č. 11



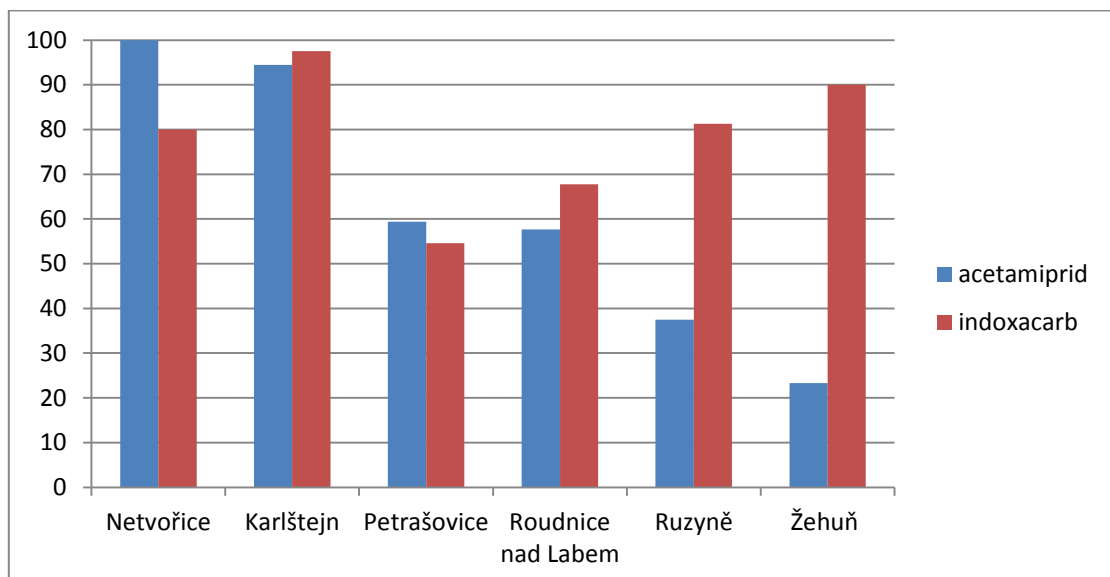
### Účinnost acetamidridu a indoxacarbů

Účinnost acetamidridu i indoxacarbů se lišila mezi populacemi (Graf č. 2). Mortalita po aplikaci acetamidridu se pohybovala od 23 do 100%, mortalita po aplikaci indoxacarbů se pohybovala od 55 do 98%. U populace z lokality Karlštejn byla zjištěna vysoká účinnost obou hodnocených insekticidů. U populace z lokality Žehuň byla zjištěna nízká účinnost acetamidridu, zatímco účinnost indoxacarbů byla

dosud dostatečná. U populací z lokalit Petrašovice a Roudnice nad Labem byla zjištěna nízká účinnost obou hodnocených insekticidů.

Z výsledků je zřejmé, že není korelace mezi účinností pyretroidů, neonikotinoidů a oxadiazinů a na každé lokalitě je třeba při zjištění rezistence pro ochranu proti blýskáčkům volit látky, které jsou dosud účinné, a to nejen z různých skupin účinných látek, ale i v rámci stejné skupiny účinných látek (pyretroidy).

**Graf č. 2** – Mortalita dospělců blýskáčka řepkového (v %) po aplikaci acetamipridu a indoxacaru v koncentraci odpovídající 100% povolené polní dávky stanovená metodami IRAC č. 21 a 27



### III.3.2. Dřepčík olejkový

Rezistence dřepčíka olejkového byla v roce 2015 hodnocena pomocí metod IRAC č. 11 (pyretroidy), č. 21 (neonikotinoidy), č. 25 (organofosfáty) a č. 27 (oxadiaziny) doporučených IRAC pro hodnocení rezistence blýskáčka řepkového. Hodnoceny byly dvě populace dřepčíka olejkového, z Potěch u Čáslavi (odběr brouků 26. 6. 2015) a z Prahy-Ruzyně (odběr brouků 24. 6. až 30. 6.) na broucích ve stáří od několika dnů po dva týdny po vylíhnutí. Celkem bylo hodnoceno šest účinných látek pyretroidů, dva neonikotinoidy, jeden organofostát a jeden oxadiazin. Pro všechny účinné látky byly testovány koncentrace odpovídající nejvyšší povolené dávce přípravku do řepky (nebo do jiné plodiny pokud nebyla do řepky povolena), a

to v dávce 100, 20, 10, 0 a 0,1 % polní dávky v přepočtu na 400 l vody na ha. Hodnocení mortality brouků bylo prováděno po 24 a 48 hodinách. Výpočty  $LC_{50}$  a  $LC_{95}$  byly provedeny pomocí probitové analýzy v programu XLSTAT z dat mortality brouků po 48 hodinách po působení účinných látek.

### **Účinnost pyretroidů**

Výsledky hodnocení vyjádřené pomocí  $LC_{50}$  a  $LC_{95}$  dřepčíka olejkového pro obě testované populace a deset účinných látek insekticidů jsou uvedeny v tabulce. Hodnoty  $LC_{50}$  a  $LC_{95}$  prokazují, že obě testované populace dřepčíka olejkového jsou velmi citlivé na účinné látky klasických pyretroidů (lambda-cyhalothrin, deltamethrin a cypermethrin), taufluvalinate a esfenvalerate), pouze etofenprox nebyl dostatečně účinný (viz tabulka č. 2, graf č. 3a). Data v tabulce pro lokalitu Ruzyně lze považovat za citlivost lokálních populací dřepčíka olejkového k pyretroidům z území ČR dříve než se mohl projevit selekční tlak na rezistenci (tzv. base line). Taková data lze použít pro monitoring citlivosti populací dřepčíka olejkového z území ČR.

Mortalita brouků po diskriminačních dávkách pyretroidů byla 100 % pro obě populace. To znamená, že účinné látky pyretroidů, mimo etofenprox, lze doporučit k ochraně dřepčíka olejkového, dokud nedojde ke snížení účinnosti vlivem selekce rezistentních populací dřepčíka olejkového k pyretroidům.

### **Účinnost organofosfátů**

Byla prokázána dostatečná účinnost chlorpyrifosu (základ účinné látky přípravků Nurelle) při koncentraci odpovídající 100 % polní dávce. Hodnoty  $LC_{50}$  a  $LC_{95}$  byly pro populace z obou lokalit odlišné, pro populaci z Potěh nebylo pro variabilitu dat možné stanovit konfidenční interval (tabulka č. 2). Pro diskriminační dávku 20 % polní dávky poklesla účinnost chlorpyrifosu v populaci na lokalitě Ruzyně na 40 % (graf č. 3b). Pro diskriminační dávku 10 % polní dávky poklesla účinnost chlorpyrifosu na populaci z této lokality téměř k nule. Naměřená data indikují rizika výskytu rezistence dřepčíka olejkového k organofosfátům a potřebu monitorování citlivosti dřepčíka olejkového k organofosfátům.

### **Účinnost neonikotinoidů a indoxacaru**

Byla zjištěna nedostatečná účinnost neonikotinoidů, zejména thiaclopridu využívaných v současnosti v ochraně řepky. Hodnoty LC<sub>50</sub> a LC<sub>95</sub> pro thiacloprid (tabulka) ukazují na rezistenci dřepčíka olejkového u obou testovaných populací. Účinnost thiaclopridu byla pro 100% i pro 20% povolenou koncentraci pouze do 50 % (graf č. 3b). Hodnoty LC<sub>50</sub> a LC<sub>95</sub> po aplikaci acetamipridu (tabulka č. 2) byly významně nižší než po aplikaci thiaclopridu. Po diskriminační dávce 20 % byla mortalita jedné z populací 76 % a po 10% dávce poklesala téměř k nule. Ukazuje se, že účinnosti různých neonikotinoidů na dřepčíka olejkového jsou velmi rozdílné a účinnost thiaclopridu i acetamipridu není srovnatelná s účinností tří látek využívaných dříve k moření osiva řepky. Lze předpokládat, že příčinou snížené účinnosti testovaných neonikotinoidů byla selekce v předchozím období vyvolaná neonikotinoidy používanými jako mořidla. Podle dosažených výsledků nelze testované neonikotinoidy doporučit pro ochranu proti dřepčíkovi olejkovému přímým postřikem.

Ze spektra testovaných účinných látek vykazoval dostatečnou účinnost na brouky dřepčíka olejkového indoxacarb. Hodnoty LC<sub>50</sub> a LC<sub>95</sub> pro obě testované populace odpovídají vysoké citlivosti dřepčíka olejkového k této účinné látce (tabulka č. 2). Přípravky na bázi indoxacardu jsou vhodným kandidátem na povolení do řepky pro zajištění antirezistentní strategie ochrany na dřepčíka olejkového.

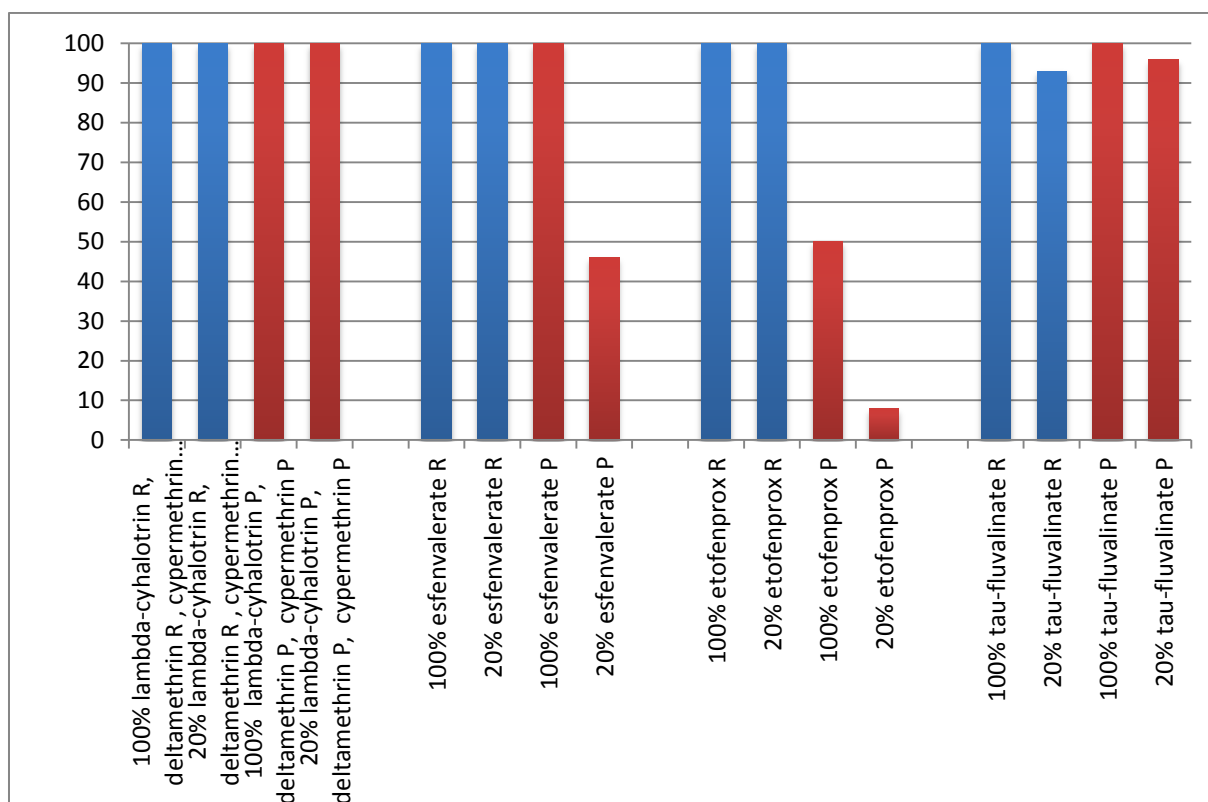
**Tabulka č. 2** – Maximální povolená dávka (ppm), letální koncentrace (LC<sub>50</sub> a LC<sub>95</sub> v ppm) účinných látek insekticidů a konfidenční intervaly (CI) dospělců dřepčíka olejkového pro populace z Prahy-Ruzyně a z Potěch z roku 2015 stanovené metodami IRAC č. 11, 21, 25 a 27

Účinná látka/lokalita	Max. dávka (ppm)	Ruzyně				Potěhy			
		LC <sub>50</sub>	(CI)	LC <sub>95</sub>	(CI)	LC <sub>50</sub>	(CI)	LC <sub>95</sub>	(CI)
Lambda-cyhalotrin	6,3	0,126	(0,081–0,188)	0,588	(0,351–1,542)	0,704	(0,476–1,012)	2,715	(1,779–5,154)
Deltamethrin	4,7	0,151	(0,092–0,240)	1,223	(0,629–3,443)	0,58	(0,378–0,857)	3,829	(2,342–7,991)
Cypermethrin	6	0,071	(0,035–0,125)	1,339	(0,651–4,354)	0,543	(0,353–0,830)	3,258	(1,931–7,137)
Esfenvalerate	4,5	1,252	x	2,795	X	3,934	(3,308–5,614)	8,134	(5,672–26,144)
Etofenprox	25	17,839	(14,056–23,947)	56,345	(36,376–166,770)	13,777	(11,061–)	32,874	(23,744–83,973)

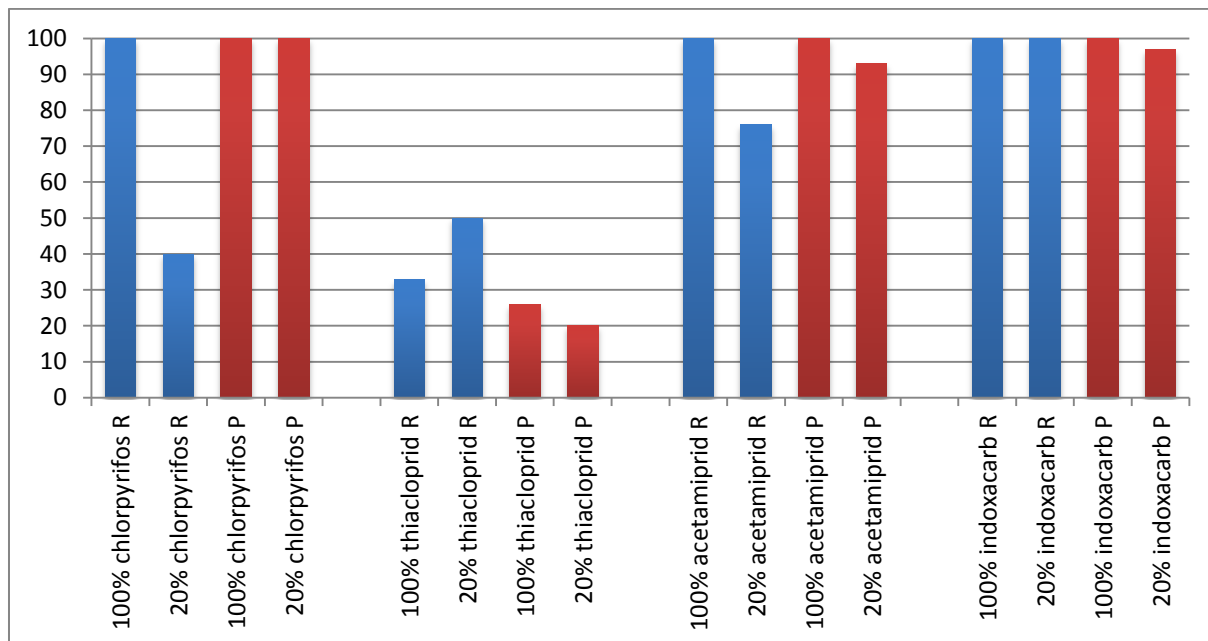
							16,915)		
Tau-fluvalinate	25	2,958	(2,040–4,896)	8,269	(4,976–22,258)	5,017	(3,401–7,083)	26,781	(17,333–52,021)
Chlorpyrifos	187	175,561	(141,165–247,327)	463,411	(305,581–1222,580)	112,2	x	141,25	X
Thiacloprid	40	374,372	(149,094–1960,065)	23466,04	(16507,631–x)	2036,77	(645,840–41034,729)	821948,12	(40876,686–x)
Acetamiprid	15	8,463	(7,228–9,432)	12,413	(10,859–16,942)	6,266	(5,541–7,163)	9,815	(8,301–13,642)
Indoxacarb	16	7,365	(6,620–8,658)	10,508	(8,867–15,718)	8,487	(6,063–11,065)	33,347	(22,274–77,720)

*x – charakter dat neumožnil výpočet v použitém statistickém programu*  
*červeně označené hodnoty- odhad z grafického vyjádření, charakter dat neumožnil výpočet v použitém statistickém programu*

**Graf č. 3a** – Mortalita dospělců dřepčíka olejkového (v %) pro diskriminační dávky účinných látek insekticidů odpovídajícím 100% a 20% povolené polní dávky stanovená metodami IRAC č. 11, 21, 25 a 27



**Graf č. 3b** – Mortalita dospělců dřepčíka olejkového (v %) pro diskriminační dávky účinných látek insekticidů odpovídajícím 100% a 20% povolené polní dávky stanovená metodami IRAC č. 11, 21, 25 a 27



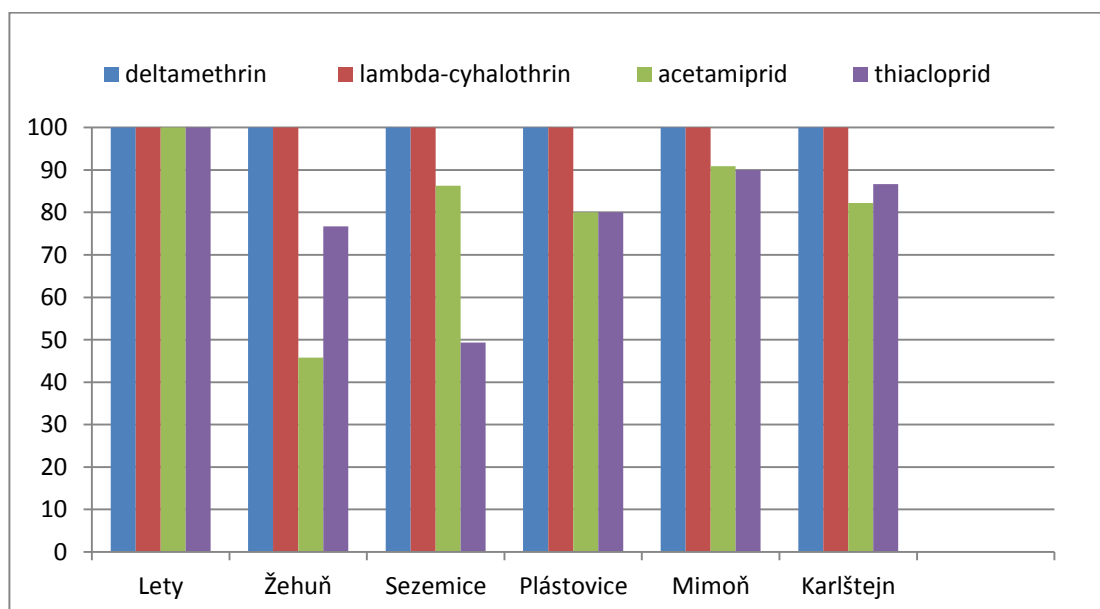
### III.3.3. Krytonosec šešulový

Rezistence krytonosce šešulového byla v roce 2015 hodnocena pomocí metod IRAC č. 11 (pyretroidy) a č. 21 (neonikotinoidy) doporučených IRAC pro hodnocení rezistence blýskáčka řepkového. Hodnoceno bylo šest populací krytonosce šešulového (Žehuň, Sezemice, Plástovice, Lety, Mimoň a Karlštejn). Celkem byla hodnocena citlivost brouků ke čtyřem účinným látkám, dvěma neonikotinoidům (acetamiprid, thiacloprid) a dvěma pyretroidům (deltamethrin, lambda-cyhalothrin). Pro všechny účinné látky byly testovány koncentrace odpovídající 10, 20, 100 a 1000 % polní dávky v přepočtu na 400 l vody na ha. Hodnocení mortality brouků bylo prováděno po 24 hodinách.

Byla prokázána vysoká citlivost všech hodnocených vzorků populací krytonosce šešulového k pyretroidům (Graf č. 4). Mortalita po aplikaci deltamethrinu i lambda-cyhalothrinu dosáhla vždy 100%, a to při použití koncentrace odpovídající 1000%, 100% i 20% polní dávky. Naproti tomu citlivost k neonikotinoidům se velmi lišila mezi populacemi (graf č. 4). Pouze populace krytonosce z lokality Lety u Písku

byla 100% citlivá k oběma hodnoceným neonikotinoidům. Dostatečně vysoká citlivost (mortalita nad 90% byla zjištěna i u populace z lokality Mimoň. Rozdíly byly u některých populací zaznamenány v citlivosti k jednotlivým neonikotinoidům, u populace Žehuň byla zjištěna vyšší citlivost k thiaclopridu než k acetamipridu, zatímco u populace Sezemice byla zjištěna vyšší citlivost k acetamipridu. Nejvyšší stupeň rezistence k acetamipridu byl zjištěn u populace Žehuň, nejvyšší stupeň rezistence k thiaclopridu byl zjištěn u populace Sezemice.

**Graf č. 4** – Mortalita dospělců krytonosce šešulového (v %) pro koncentraci účinných látek insekticidů odpovídající 100% povolené polní dávky stanovená metodami IRAC č. 11 a 21



### III.3.4. Obaleč jablečný

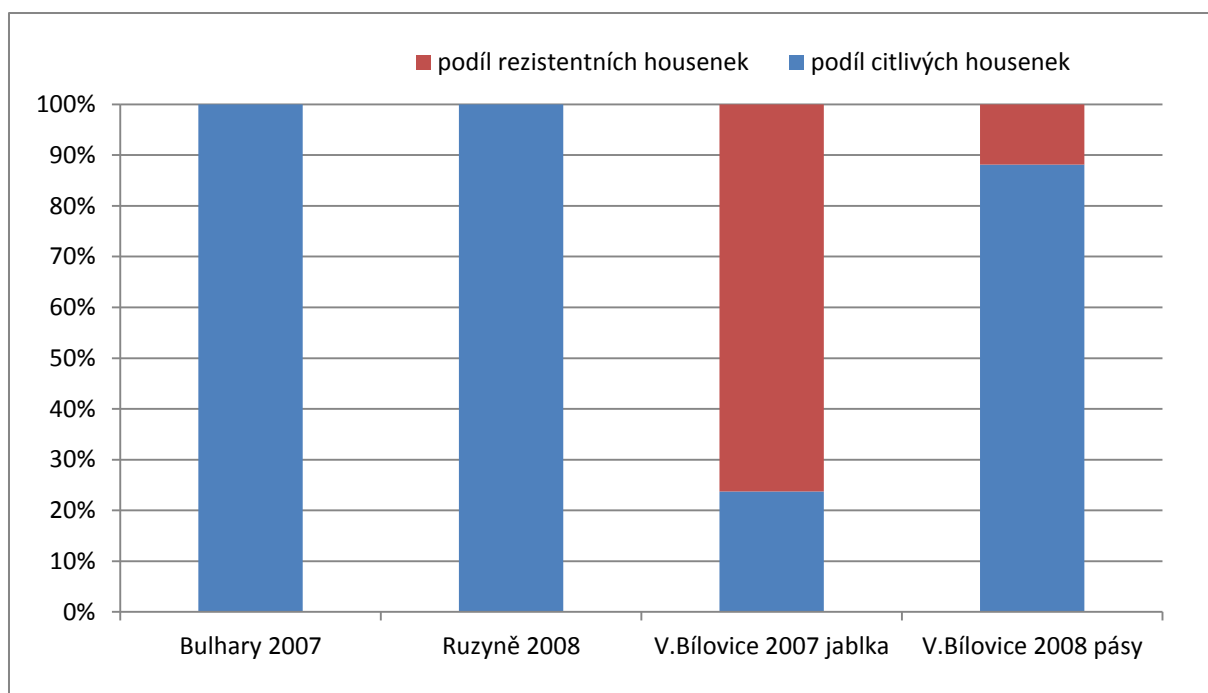
Rezistence obaleče jablečného k CpGV byla hodnocena v letech 2008 a 2009 pomocí metody IRAC č. 17. Pro testování citlivosti F1 generace přírodních populací obaleče jablečného byly sbírány housenky přezimující rodičovské generace. Na lokalitách Bulhary (neošetřovaná alej) a Praha-Ruzyně (experimentální sad ošetřovaný v letech 1998-2000 a 2006-2008 biopreparátem na bázi CpGV) byly na podzim 2007 (Bulhary) a 2008 (Praha – Ruzyně) odebírány housenky z pásů z vlnité

lepenky. Na lokalitě Velké Bílovice (část sadu ošetřovaná více než deset let preparáty na bázi CpGV) byly housenky odebírány v roce 2007 v létě z napadených jablek a také na podzim 2008 z pásů z vlnité lepenky.

Čerstvě vylíhnuté housenky F1 generace byly jednotlivě umístěny na povrch instantní umělé diety smíchané s roztokem purifikovaného a kvantifikovaného izolátu CpGV-M (DLR Rheinpfalz, Německo) v diskriminační koncentraci  $3 \times 10^5$  OB/ml. V kontrolní variantě byly housenky umístěny na dietu bez viru. Mortalita byla hodnocena symptomaticky po 14 dnech biologického testu.

Vzorky populací odebrané na lokalitách Bulhary a Praha – Ruzyně byly 100% citlivé k CpGV, zatímco u části vzorků populace z lokality Velké Bílovice byl zjištěn podíl rezistentních jedinců k CpGV (Graf č. 5). Ze vzorku populace odebrané z napadených jablek bylo 72,50% housenek F1 generace rezistentních k CpGV a ze vzorku populace odebrané z pásů z vlnité lepenky bylo 11,84 % housenek rezistentních k CpGV. Z výsledků vyplývá, že populace obaleče jablečného z lokality Velké Bílovice, která pochází z plochy více než 10 let ošetřované biopreparáty na bázi CpGV, je částečně rezistentní. Rozdílný podíl rezistentních jedinců testovaných v letech 2008 (72,50 %) a 2009 (11,84 %), byl pravděpodobně způsoben tím, že potomstvo testované v roce 2008 pocházelo od několika jedinců sbíraných v létě 2007 přímo z jablek v centru ošetřovaného sadu, zatímco sběr housenek z pásů lepenky probíhal na podzim 2008 z celé plochy sadu. Ve stejné části sadu byla v předchozích letech zjištěna rezistence k chemickým insekticidům a byla potvrzena křížová rezistence ke třem účinným látkám (fenoxycarb, teflubenzuron, phosalone) (Stará a Kocourek, 2007). Křížová rezistence mezi insekticidy a CpGV nebyla dosud hodnocena, avšak Schmitt a kol. (2008) nenalezli souvislost mezi rezistencí k CpGV a osmi testovanými insekticidy. Vzhledem k tomu, že biopesticidy na bázi CpGV jsou v ČR používány teprve několik let, lze předpokládat, že jejich účinnost proti housenkám obaleče jablečného bude vysoká.

**Graf č. 5** – Podíl citlivých (uhynulých) a rezistentních (živých) housenek obaleče jablečného u jednotlivých přírodních populací po 14 dnech biologického testu dle IRAC č. 17

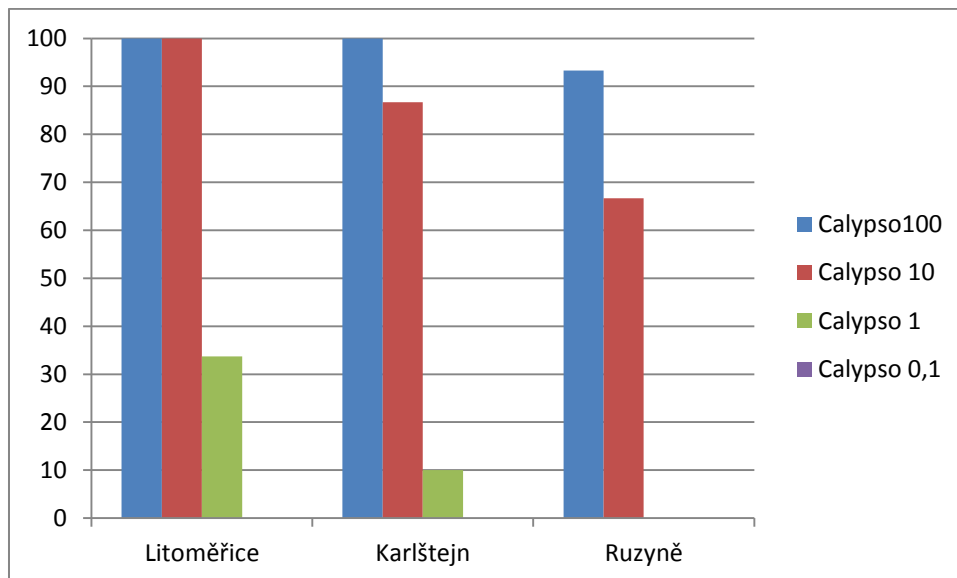


### III.3.5. Mandelinka bramborová

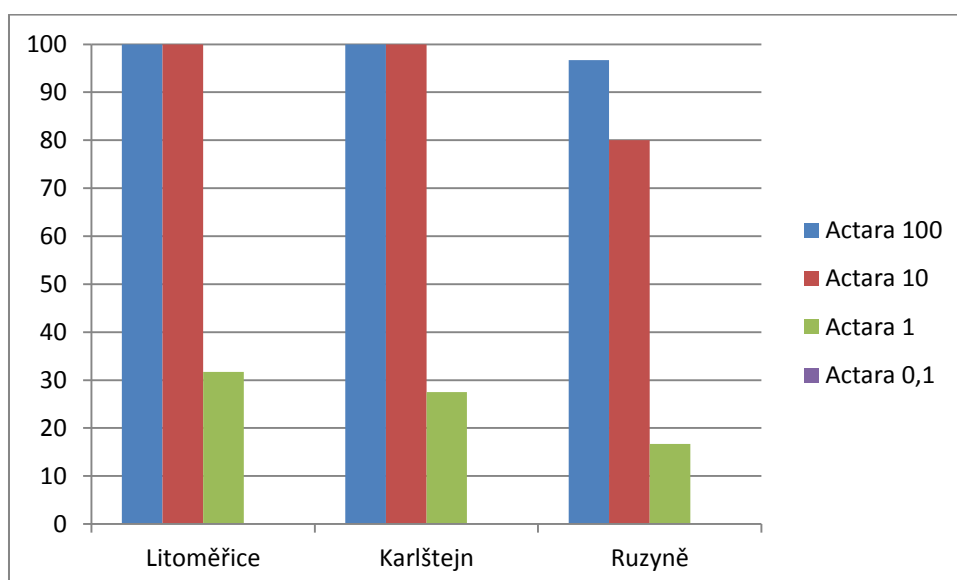
Rezistence mandelinky bramborové byla v roce 2012 hodnocena pomocí metody topikálních aplikací (viz kap. III.2.5.). Hodnoceny byly tři populace mandelinky bramborové (Karlštejn, Litoměřice, Praha-Ruzyně). Byla hodnocena citlivost larev 2. instaru (L2) ke třem neonikotinoidům (Mospilan 20 SP, Calypso 480 SC a Actara 25 WG). Pro všechny insekticidy byly testovány koncentrace odpovídající 100, 10, 1 a 0,1 % polní dávky v přepočtu na 400 l vody na ha. Hodnocení mortality larev bylo prováděno po 24 hodinách.

Byla prokázána vysoká citlivost všech tří hodnocených vzorků populací mandelinky bramborové k přípravkům Calypso 480 SC a Actara 25 WG. Mortalita po aplikaci těchto přípravků v doporučené dávce se pohybovala od 93,3% do 100%. Rozdílná citlivost populací mandelinky k přípravkům Calypso 480 SC a Actara 25 WG bylo patrné při použití nižších koncentrací (graf č. 6 a 7). Riziko rozvoje rezistence k přípravkům Calypso 480 SC a Actara 25 WG je zřejmé zejména u populace z lokality Ruzyně, kde mortalita larev při použití snížené koncentrace odpovídající 10% povolené dávky klesla pod 80%.

**Graf č. 6** – Mortalita larev L2 mandelinky bramborové po topikální aplikaci přípravku Calypso 480 SC v koncentracích odpovídajících 100%, 10%, 1% a 0,1% povolené polní dávky



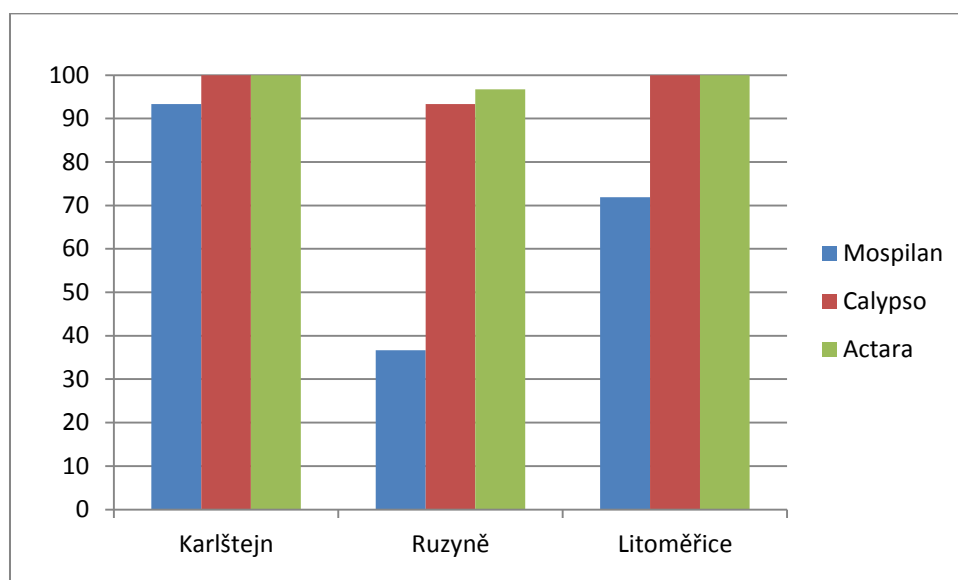
**Graf č. 7** – Mortalita larev L2 mandelinky bramborové po topikální aplikaci přípravku Actara 25 WG v koncentracích odpovídajících 100%, 10%, 1% a 0,1% povolené polní dávky



U přípravku Mospilan 20 SP byly zjištěny významné rozdíly v citlivosti mezi populacemi (Graf č. 8). Mortalita po aplikaci přípravku Mospilan 20 SP se pohybovala od 36,7% (Ruzyně) do 93,3% (Karlštejn).

Nejvyšší stupeň rezistence k testovaným neonikotinoidům byl zjištěn u populace z lokality Ruzyně, kde mortalita larev nedosáhla 100% u žádného z hodnocených insekticidů. Naproti tomu účinnost všech tří hodnocených insekticidů na larvy z populace Karlštejn byla dosud dostatečná.

**Graf č. 8** – Mortalita larev L2 mandelinky bramborové po topikální aplikaci neonikotinoidů v koncentraci odpovídající 100% povolené polní dávky



### III.4. Řízení hmyzí rezistence

Řízení hmyzí rezistence – insect resistance management (IRM) je označení pro soubor opatření, která se využívají pro zabránění, prevenci nebo oddálení nástupu nebo vývoje rezistence živočišných škůdců k zocidům. Obsah tohoto pojmu je vnímám širěji, než je samotná antirezistentní strategie, která je však jeho základem. Základem pro systém řízení hmyzí rezistence jsou znalosti z ekologie, populační genetiky a molekulární biologie. Potenciál pro zdokonalování systému řízení hmyzí rezistence má například negativní křížová rezistence nebo modely fenologie škůdce umožňující předpověď vyššího podílu rezistentních jedinců v populaci.

System řízení hmyzí rezistence je velmi proměnlivý u různých druhů škůdců a podléhá dynamickým změnám v čase. Mění se vlivem změn v pěstitelských technologiích, tak s pokrokem světové vědy a výzkumu. Pro účely praktické ochrany rostlin musí mít řízení hmyzí rezistence schopnost adaptace a rychlejší reakce k potřebám praxe a výsledkům monitoringu rezistence k insekticidům. Pro tyto účely je nezbytná trvalá podpora výzkumu pro řešení problematiky rezistence k zoocidům. Ekonomický význam potřeby výzkumu v této oblasti je srovnatelný s významem výzkumu v oblasti rezistence mikrobiálních patogenů člověka. V oblasti rezistence škůdců k zoocidům se techniky diagnostiky, monitoringu, ale také hypotézy a strategie mění tak rychle, že nelze předpovídat, jaká bude situace za 10 let. Pro konkrétní druhy škůdců jsou předpovědi vývoje rezistence možné pouze na několik let, ale ne na desetiletí.

Řízení hmyzí rezistence se vytváří operativně pro každý druh škůdce v určitém regionu. Pro jejich tvorbu je možné využívat soubor základních obecných pravidel (rámcové směrnice). V následující části této kapitoly jsou uvedena poprvé v českém jazyce vybraná základní pravidla využitelná pro tvorbu systému řízení hmyzí rezistence pro konkrétní druhy škůdců. Pravidla byla zpracována podle Onstad (2008).

### **III.4.1. Řízení hmyzí rezistence jako součást systému integrované ochrany (IOR)**

Řízení hmyzí rezistence je efektivnější a má více přínosů, pokud je zapracováno do systému IOR. Systém řízení hmyzí rezistence i systém IOR jsou závislé na biologii, fenologii a chování konkrétního druhu škůdce. Řízení hmyzí rezistence může působit komplikace pro dodržování IOR. Například v případě požadavků na refugia pro citlivé jedince nebo pro taktiky zahrnující negativní křížovou rezistenci. Takové komplikace by však měly mít menší dopady, než problémy spojené s evolucí rezistence k insekticidům. Opatření v rámci systému řízení hmyzí rezistence by měla být harmonizována s opatřeními v rámci systému IOR. Jestliže bude účinnější systém IOR, pak bude účinněji přispívat k naplňování systému řízení hmyzí rezistence. Například využívání preventivních metod ochrany jako je agrotechnika, osevní postupy anebo rezistentní odrůdy rostlin vůči škůdcům a

biologickým prostředkům ochrany, přispějí k vyšší účinnosti systému řízení hmyzí rezistence.

### **III.4.2. Různé strategie řízení hmyzí rezistence podle stupně integrity**

Strategie řízení hmyzí rezistence může být: (1) pro jednoho škůdce, (2) pro jednoho škůdce na jedné plodině, (3) pro více škůdců na jedné plodině, (3) pro více škůdců na více plodinách, (4) pro škůdce nebo více škůdců při zahrnutí ekosystémových služeb (viz bod 5). Například efektivní strategie řízení hmyzí rezistence pro škůdce řepky musí být založena na antirezistentní strategii pro všechny škůdce škodící na ozimé i jarní řepce. Důvodem je, že k selekci rezistence nedochází pouze při ošetření na jedno vývojové stadium, například u blýskáčka řepkového na dospělce, ale k selekci dochází u i ostatních vývojových stadií. V případě blýskáčka řepkového nastává selekce rezistence u larev při ošetření v době květu cílené na šešulové škůdce.

### **III.4.3. Výběr expeditivních cílů a jejich časový horizont plnění**

Cíle ovlivňují politické a ekonomické faktory. Cíle mohou být podobné nebo odlišné pro farmáře, pesticidní korporace anebo státní dozorové orgány. Cíle a plány managementu mohou mít mnoho různých forem. Příkladem cíle může být zpomalení vývoje rezistence pro konkrétní druh škůdce pro následujících 20 generací oproti předchozímu období v jedné zemi. Konkrétní příkladem může být zpomalení vývoje rezistence blýskáčka řepkového k pyretroidům v ČR po zavedení antirezistentní strategie ve srovnání s vývojem rezistence v severním Německu a Skandinávských zemích. Příkladem cílů systému řízení hmyzí rezistence pro farmáře je minimalizovat náklady na ochranná opatření a současně omezit způsobené škody. Pro každý cíl by měl být stanoven časový horizont plnění, obvykle rok plnění po zavedení opatření. K časovému horizontu je třeba provést vyhodnocení plnění cíle. Například vyhodnotit ekonomické náklady a přínosy opatření, jako je bilance nákladů a zisků u farmářů, u pesticidních korporací, nebo dozorových orgánů.

### **III.4.4. Koordinace systému řízení hmyzí rezistence ve větším regionu pro delší časové období**

Zahrnuje také přizpůsobení plánů systému řízení hmyzí rezistence místním sociálním a environmentálním podmínkám. Na jedné straně je nutná koordinace prováděných opatření u všech farmářů v regionu. Na druhé straně koordinace aktivit státního dozoru za podpory výzkumu podporovaného z veřejných zdrojů a aktivit distributorů pesticidů. Například v Čechách i na Moravě vykazoval výskyt rezistence blýskáčka řepkového k pyretroidům v prvním desetiletí tohoto století významný gradient od severu, kdy směrem na jih frekvence rezistentních jedinců v populacích významně klesala. Zatímco v severních regionech bylo použití klasických pyretroidů neekonomické, v jižních regionech bylo ještě použití pyretroidů dostatečně účinné. Jedná se o příklad regionálně odlišného uplatňování systému řízení hmyzí rezistence. Zavedení řízení hmyzí rezistence by mělo být včas, dříve, než rezistence začne působit ekonomické škody. Zemědělská praxe by neměla čekat na výsledky výzkumu, až budou zjištěny mechanismy rezistence.

### **III.4.5. Hodnocení ekonomiky strategie řízení hmyzí rezistence a používané metody monitorování**

Hodnocení ekonomiky musí být přizpůsobeno použité strategii řízení hmyzí rezistence (viz bod 2). Základní problém ekonomického hodnocení strategie řízení hmyzí rezistence a také využívaného systému IOR je, že do hodnocení nejsou obvykle zahrnovány ekonomické ekvivalenty záporných externalit pesticidů, jejich environmentální zátěže na přírodní zdroje a biodiverzitu (označované jako ekosystémové služby). Záporné externality je možné stanovovat na úrovních strategií řízení hmyzí rezistence. Při jejich zahrnutí do ekonomického hodnocení významně ve většině případů vzrostou ekonomické přínosy uplatňované strategie řízení hmyzí rezistence anebo celého systému IOR, než když se nebere na záporné externality ohled. Monitorovací programy mohou být velmi nákladné, pokud je výskyt rezistence velmi nízký. S rostoucí frekvencí výskytu rezistence se náklady na monitoring rezistence snižují. Ale po překročení kritické hodnoty výskytu rezistence v regionu, je další monitoring méně efektivní, zejména v případech, že používaná strategie řízení hmyzí rezistence je neúčinná a dochází v důsledku výskytu rezistence k ekonomicky závažným škodám. Monitorovací program se vyplatí v případech, když užitek překročí náklady na jeho provozování. Ekonomické hodnocení takové bilance je však velmi obtížné.

### III.4.6. Předpověď rizik a potřeba implementace preventivních systémů řízení hmyzí rezistence

Strategie řízení hmyzí rezistence je možné členit také podle předpovědi rizik na strategie: (1) preventivní, (2) kurativní, (3) reaktivní. Nejúčinnější z pohledu praktické ochrany jsou preventivní strategie, nejméně účinné jsou strategie reaktivní. Základem pro preventivní strategie jsou předpovědi podle modelů. Příkladem takových modelů jsou simulační modely pro předpověď rychlosti mikroevoluce ve výskytu rezistence k insekticidům. Takový simulační model předpovídal, že evoluce rezistence je pro monogeneticky podmíněnou dědičnost 2 krát rychlejší, než evoluce pro polygeneticky podmíněnou evoluci. Ale platnost takových modelů je omezená. Takový model už nepředpovídá, který z těchto typů dědičnosti se selektuje dříve. Například selekce rezistence blýskáčka řepkového k pyretroidům podmíněná metabolicky (předpokládá se, že je děděná polygenně) se selektovala napříč západní a střední Evropou přes 20 let intenzivního používání pyretroidů. Naproti tomu k rezistenci blýskáčka řepkového k pyretroidům typu *kdr* došlo nejprve v zemích severní Evropy během méně než 10 let, u populací blýskáčka řepkového, u kterých se již metabolicky podmíněná rezistence vyskytovala. V posledním období je stále více poznatků, že dva nebo více mechanismů rezistence se mohou vyvíjet v jedné populaci simultánně. Příkladem je současný výskyt metabolické rezistence a rezistence typu *kdr* k pyretroidům u severských populací blýskáčka řepkového. Také poznatky z Velké Británie ukazují, že v jedné populaci dřepčíka olejkového se mohou vyskytovat jak metabolicky podmíněná rezistence, tak rezistence typu *kdr* k pyretroidům.

Rozdíl mezi preventivními a kurativními strategiemi řízení hmyzí rezistence lze osvětlit na rezistenci obaleče jablečného k viru CpGV. Selektce rezistence obaleče jablečného k viru granulózy (CpGV) probíhala v regionech Německa a Francie při pěstování ovoce v ekologickém zemědělství při víceletém opakovaném ošetření převážně přípravky na bázi CpGV. Výskyt rezistentních populací obaleče jablečného k CpGV způsobil ekonomicky závažné škody a místně ohrozil pěstování jablek v ekologickém režimu. V postižených regionech byl pro kurativní strategii, v tomto případě ekonomicky účinnou použit pro ochranná opatření odlišný kmen viru CpGV, který byl účinný na rezistentní jedince obaleče jablečného k původně používanému

kmenu CpGV. Naproti tomu v ČR mohla být pro obaleče jablečného použita preventivní strategie řízení hmyzí rezistence. Dříve než došlo k výskytu významné části populace obaleče jablečného rezistentní k používanému kmenu CpGV, byla navržena strategie střídání obou kmenů viru CpGV k oddálení nástupu rezistence.

### **III.5. Antirezistentní strategie**

Antirezistentní strategie je soubor opatření, vedoucí ke snížení rizika vzniku rezistence u škůdců. Základním principem je střídání přípravků s různým mechanismem účinku. Maximální počet aplikací téže účinné látky nebo látek ze stejné skupiny účinných látek je 2x za sezónu nebo pouze 1x za sezónu. Dále je třeba ošetřovat v optimálním termínu, stanoveném podle výskytu vývojového stadia škůdce a fenologie plodiny a při potvrzení stupně výskytu škůdce, který překročil práh škodlivosti. Snížení frekvence aplikace zoocidů lze na základě pravidelného monitoringu škůdců anebo spojováním aplikací proti více škůdcům, podporou výskytu přirozených nepřátel a používáním selektivních přípravků. Důležité je rovněž dodržení teplotních podmínek pro aplikaci zoocidů, neaplikovat bezprostředně po dešti nebo před deštěm, při větru, velké termice atd.

Povinnost uplatňovat antirezistentní strategie vychází jako jedna z 8 zásad integrované ochrany rostlin ze zákona o rostlinolékařské péči (zákon č. 326/,,) a je formulována ve vyhlášce 205/2009 Sb. „Pokud je známé riziko rezistence vůči určitému opatření a pokud početnost škodlivých organismů vyžaduje opakované ošetření plodin pesticidy, pak je nutné uplatňovat systémy pro zabránění nebo oddálení vzniku rezistence škodlivého organismu vůči pesticidu.“ Využívání antirezistentních strategií se doporučuje u všech škodlivých organismů, pro které je rezistence v ČR prokázána nebo pro které je vysoké riziko vzniku rezistence vůči pesticidům.

#### **III.5.1. Antirezistentní strategie pro ochranu proti blýskáčku řepkovému a krytonosci šešulovému**

Rezistence blýskáčka řepkového k insekticidům je v ČR pravidelně monitorována již od roku 2007, kdy byl poprvé pomocí metody topikálních aplikací zjištěn prakticky významný stupeň rezistence vůči pyretroidu deltamethrinu u populací blýskáčka ze

středních a severních Čech (Stará a Kocourek, 2009). V dalších letech byl potvrzen vysoký stupeň rezistence vůči deltamethrinu, lambda-cyhalothrinu a cypermethrinu u řady populací blýskáčka z různých oblastí Čech (Stará a kol., 2010, Stará a Kocourek, 2011a, Stará a Kocourek, 2011b, Stará a Kocourek, 2012) a také v Olomouckém a Moravskoslezském kraji (Hrudová a kol., 2010). V roce 2012 byla na některých lokalitách pomocí metody IRAC č. 11 zaznamenána také rezistence blýskáčka vůči pyretroidu tau-fluvalinátu (Kocourek a kol., 2013). Pomocí metody IRAC č. 21 (viz kap. III.2.2.) byla v roce 2012 ojediněle zjištěna rezistence blýskáčka vůči neonikotinoidu acetamipridu. Na žádné lokalitě nebyla dosud zjištěna rezistence k organofosfátům.

Výsledky monitoringu rezistence blýskáčka k pyretroidům v ČR i výsledky publikované jinými autory z Evropy ukazují, že rezistence nastupuje postupně, takže při prvním zjištění rezistence k jedné účinné látce není třeba vyřadit z ochrany všechny ostatní účinné látky pyretroidů. V počáteční fázi vývoje rezistence postupně klesá účinnost pyretroidů, které byly v ochraně používány nejvíce. Ve většině zemí Evropy to byly zejména přípravky s účinnými látkami lambda-cyhalothrin, deltamethrin a cypermethrin, případně izomery těchto látek (Slater a kol., 2011, Zimmer a Nauen, 2011a). V ČR i ve většině zemí Evropy v současné době účinkují na populace blýskáčka rezistentní k deltamethrinu, lambda-cyhalothrinu nebo cypermethrinu účinné látky etofenprox nebo tau-fluvalinate. U blýskáčka řepkového nebyla prokázána cross-rezistence mezi pyretroidy a neonikotinoidy, konkrétně mezi účinnými látkami lambda-cyhalothrin a acetamiprid. Rovněž nebyla zjištěna cross-rezistence mezi pyretroidy a organofosfáty.

K selekci rezistence blýskáčka k pyretroidům přispívá kromě opakovaného používání pyretroidů proti blýskáčkům také rozšíření ochrany na šešulové škůdce, krytonosce šešulového a bejlomorku kapustovou. K ochraně proti blýskáčkům a krytonoscům je tedy třeba přistupovat komplexně a volbu přípravků pro ošetření přizpůsobit výskytu konkrétních škůdců v porostu a účinnosti přípravků proti nim. Následující doporučená antirezistentní strategie proti blýskáčku řepkovému platí zároveň pro ochranu proti krytonosci šešulovému.

Ochranu řepky v jarním období lze rozdělit na (1) období před květem, kdy je prováděno ošetření proti blýskáčkům a stonkovým krytonoscům, (2) období počátku květu, kdy je prováděno opakované ošetření proti blýskáčkům (pokud je nezbytné) a (3) období plného květu, kdy je prováděno ošetření proti šešulovým škůdcům

s vedlejším účinkem na blýskáčky. V každém období je třeba volbu přípravků přizpůsobit výskytu rezistentních populací blýskáčka řepkového nebo krytonosce šešulového na dané lokalitě. Pro zabránění výskytu rezistence je třeba dodržovat následující antirezistentní strategii: 1) střídat přípravky z různých skupin účinných látek a s různým mechanismem účinku, tj. nepoužívat přípravky z jedné skupiny účinných látek bezprostředně po sobě, 2) přizpůsobit aplikaci přípravků teplotním podmínkám, tj. ošetřovat u pyretroidů při teplotách pod 20 °C, u organofosfátů nad 15 °C, 3) nesnižovat doporučenou dávku přípravku, 4) používat pesticidy pouze v případě překročení prahu škodlivosti (selektivní ošetření, okrajové ošetření), 5) nepoužívat tank-mix přípravků se stejným mechanismem účinku, 6) tank-mix přípravků používat pouze v případě, že je takový způsob použití povolen výrobcem. Seznam skupin účinných látek, ze kterých je možné přípravky pro ošetření volit s ohledem na výskyt rezistence je uveden v tabulce č. 1.

**Tabulka č. 1:** Seznam skupin účinných látek insekticidům pro ošetření proti blýskáčku řepkovému a krytonosci šešulovému na lokalitách s rozdílnou úrovní rezistence:

A = lokality s populacemi blýskáček a krytonosců citlivých k insekticidům

B = lokality s populacemi blýskáček rezistentních k pyretroidům a krytonosců citlivých k insekticidům

C = lokality s populacemi blýskáček rezistentních k pyretroidům a krytonosců rezistentních k neonikotinoidům

x = účinná látka nebo skupina účinných látek, kterou je možné pro ošetření použít

		A	B	C
období před květem	organofosfáty	x	x	X
	všechny pyretroidy	x		
	pyretroidy etofenprox a tau-fluvalinate		x	X
	pymetrozine	x	x	X
	indoxacarb	x	x	X
	neonikotinoidy	x	x	X
období počátku květu	neonikotinoidy	x	x	X
	pyretroid tau-fluvalinate	x	x	X
období plného květu	neonikotinoidy	x	x	
	pyretroid tau-fluvalinate	x	x	X

### **III.5.2. Antirezistentní strategie pro ochranu proti dřepčíku olejkovému**

Rezistence dřepčíka olejkového byla v ČR poprvé orientačně hodnocena u dvou populací pomocí metod IRAC č. 11, 21, 25 a 27 v roce 2015 a byla prokázána rezistence k neonikotinoidům. Klasické pyretroidy, organofosfáty a indoxacarb byly na hodnocené populaci účinné.

Na ošetření proti dospělcům dřepčíka olejkového lze doporučit přípravky povolené do řepky s účinnými látkami lambda-cyhalothrin, deltamethrin a cypermethrin, které vykazaly v testech vysokou účinnost, ostatní účinné látky, jež mají obdobnou strukturu molekuly jako je beta-cyhalothrin, zeta-cypermethin, alfa-cypermethrin a dále přípravky s účinnými látkami pyretroidů tau-fluvalinate a esfenvalerate, pokud budou povoleny do řepky. V případě dřepčíka olejkového (na rozdíl od blýskáčka) není možné střídat mezi sebou všechny výše uvedené účinné látky za účelem antirezistentní strategie. Maximální počet aplikací pyretroidů na podzim do řepky by měl být dvě, výjimečně tři při aplikaci na výdrol. Pro dodržení antirezistentní strategie se v současnosti doporučuje využít vedlejšího účinku přípravku Nurelle D pro druhý nebo poslední ze sledu postřiků na podzim, mimo jiné také pro jeho vyšší vedlejší účinnost na již vylíhlé larvy.

Pro zajištění antirezistentní strategie v ochraně proti dřepčíkovi olejkovému bude nutné urychleně doplnit do sortimentu povolených insekticidů do řepky další účinné látky s odlišným mechanismem účinku, například indoxacarb. Dále se pro ochranu proti dřepčíkovi olejkovému nedoporučuje používat vedlejších účinků neonikotinoidů s účinnými látkami thiacloprid a acetamiprid, včetně přípravku Proteus 110 OD, dále přípravků Coragen 20 SC a Plenum a přípravků s účinnou látkou dimethoate (jako je Danadim Progress, Bi 58 EC nové).

### **III.5.3. Antirezistentní strategie pro ochranu proti obaleči jablečnému**

Selekce rezistence k insekticidům u obaleče jablečného začala plošným používáním DDT v sadech. Rezistence obaleče jablečného k DDT je podmíněna stejným mechanismem působení jako rezistence k pyretroidům. Je to rezistence typu

*kdr*, podmíněna bodovou mutací způsobující záměnu aminokyseliny leucin za fenylalanin (Brun-Barale et al., 2005). Dále byla osvětlena podstata rezistence obaleče jablečného k organofosfátům a karbamátům. U rezistentních jedinců obaleče jablečného dochází k degradaci neurotransmiteru acetylcholinu na synapsích (Cassanelli et al. 2006).

V podmínkách střední Evropy byla prokázána rezistence obaleče jablečného v jedné populaci k účinným látkám ze třech různých skupin s různým mechanismem účinku, k organofosfátům (phosalonu), regulátorům růstu (diflubenzuron) a regulátorům vývoje (fenoxycarb) (Stará a Kocourek, 2007). U populace obaleče jablečného ze středních Čech byla zjištěna rezistence k diacylhydrazinům (indoxacarb) a to již v následujícím roce, kdy byl poprvé přípravek na bázi indoxacardu v ČR povolen a začal být používán (nepublikované výsledky autorů metodiky). V tak krátké době nemohlo k selekci rezistence k indoxacardu dojít. Je důvodné podezření, že rezistentní populace obaleče jablečného k indoxacardu byla na území Čech zavlečena s dovozem jablek ze zemí západní Evropy. Obaleč jablečný je jedním z mála druhů škůdců, u kterého byla prokázána rezistence k biologickým prostředkům typu bakulovirů. Snížená účinnost bakulovirů (CpGV) byla zjištěna také u jedné populace obaleče jablečného z jižní Moravy (Zichová a kol., 2011, Kocourek a kol., 2015). Ve světě byla rezistence obaleče jablečného zjištěna k účinným látkám ze skupin s různým mechanismem účinku jako je metoxyfenozid, spinosad a endotoxin z *Bacillus thuringiensis*.

Pro obaleče jablečného lze v rámci antirezistentních strategií využívat model jeho fenologie. Princip modelu je založen na simulacích interakcí mezi fenologií a přítomností genů zodpovědných za rezistenci k insekticidům. Poznatky byly získány vyhodnocením stupně rezistence obaleče jablečného ve feromonových lapácích v závislosti na průběhu a intenzitě letové aktivity v průběhu roku v časové periodě 8 let (Bovin et al., 2005). Výsledky prokázaly, že se jedná se o mikroevoluční změny v dosahování dospělosti jedinců v populacích obaleče, které se projevují v důsledku změn v podílu rezistentních jedinců v populaci. U rezistentních jedinců a v odpovídající části populace s rezistencí k insekticidům se projevil pleiotropní efekt. To znamená, že u rezistentních jedinců došlo jako vedlejší efekt rezistence ke změnám některých biologických charakteristik, jako je doba vývoje a tendence k indukci diapauzy. Rezistentní homogygoti obaleče jablečného měli významně kratší dobu vývoje a větší tendenci k indukci diapauzy než k insekticidům citliví

homozygoti (Bovin et al., 2003). Geneticky podmíněná proměnlivost ve fenologii obaleče jablečného vyvolaná selekcí rezistence k insekticidům může být zdrojem divergence ve fotoperiodickém časování diapauzy vlivem pleiotropního efektu. Rezistentní homozygoti obaleče jablečného měli kritickou hodnotu pro vstup do diapauzy dříve (při kratší světelné části dne), než jedinci citliví k insekticidům (Bovin et al., 2004). Model fenologie obaleče jablečného sestavený z víceletých polních dat prokázal, že u přezimující generace dochází k významnému zpoždění v líhnutí rezistentních jedinců oproti jedincům citlivým (Bovin et al., 2005). Znamená to, že při líhnutí dospělců přezimující generace obaleče jablečného nejprve převažují citliví jedinci k insekticidům a od druhé poloviny líhnutí (letové aktivity dospělců této generace), postupně přibývá podíl rezistentních jedinců v populaci. Vzhledem ke zpoždění ve vývoji rezistentních jedinců obaleče jablečného a současně ke zpoždění v indukci diapauzy u jejich potomků tak v našich podmínkách zakládají druhou generaci převážně jedinci citliví k insekticidům. Předností používání nových typů účinných látek insekticidů, ke kterým dosud nedošlo k selekci rezistence je nutno v období druhé poloviny letu přezimující generace. Fenologický model pro předpověď líhnutí rezistentních jedinců obaleče jablečného je využitelný v rámci antirezistentní strategie pro cílené ošetření na rezistentní část populace. Rozdílnému podílu výskytu rezistentních jedinců obaleče jablečného v průběhu jeho fenologie je nutné přizpůsobit termíny odběru vzorků pro monitoring rezistence. Při nevhodném termínu odběru vzorků populace pro biologické testy nemusí být rezistence prokázána, i když v jiném období může být podíl výskytu rezistentních jedinců v populaci vysoký a může být příčinou závažných ekonomických ztrát.

Pro systém ekologické produkce ovoce je navržena následující antirezistentní strategie: 1) střídání přípravků/preparátů/pomocných prostředků/metod ochrany s různým mechanismem účinku, 2) střídání přípravků na bázi CpGV, dvou odlišných izolátů, pro které není dosud známý výskyt cross-rezistence, přípravků Madex (izolát CpGV-M) s přípravkem Madex Top (izolát CpGV-V15) po sobě v následujících letech, nebo po sobě v následujících generacích, 3) střídání přípravků na bázi CpGV s přípravky na bázi *Bacillus thuringiensis*, 4) střídání přípravků s přípravky na bázi účinné látky spinosad, 5) maximální možné využívání metody dezorientace, zejména tam, kde rezistence k CPGV byla prokázána, nebo kde je riziko selekce rezistence vysoké vlivem dlouholetého ošetřování přípravky na bázi CpGV-M.

Navržená antirezistentní strategie bude obdobná v systému integrované produkce s tím rozdílem, že pro střídání přípravků s různým mechanismem účinku lze využít další účinné látky, například methoxyfenozid (Integro), indoxacarb (Steward), avšak v případech, kdy místní populace není k některé z těchto účinných látek rezistentní. V současné době lze pro ochranu proti populacím obaleče jablečného rezistentním k přípravku Insegar 25 WG podle našich výsledků doporučit použití přípravků Mospilan 20 SP, Calypso 480 SC, Integro, Steward, Carpovirusine, Madex, Madex Top, Biobit XL, Spintor a Coragen 20 SC. V systémech integrované ochrany je třeba co nejvíce omezit méně selektivní přípravky, zejména neonikotinoidy. Pokud bude na některé lokální populaci obaleče jablečného prokázána rezistence k některému typu uvedených účinných látek, je třeba je v režimu ochrany vypustit. Při prokázání rezistence obaleče jablečného k více skupinám účinných látek je vhodnou strategií využívání feromonů (Isomate C plus, Isomate CLR), případně v kombinaci s co nejvíce selektivními přípravky.

Pro ochranu sadů proti obaleči jablečnému je v ČR v současné době povoleno 19 přípravků z 12 skupin účinných látek (uvedeny registrované přípravky a do spotřebování zásob, velkobalení): 1) pyretroidy (Alfametrin, Decis Mega, Decis 15 EW, Karate se Zeon technologií 5 CS, Trebon 10 F), 2) organofosfáty (Reldan 22), 3) neonikotinoidy (Calypso 480 SC, Mospilan 25 WP), 4) regulátory růstu (Dimilin 48 SC), 5) juvenoidy (Insegar 25 WG), 6) diacylhydraziny (Integro), 7) indeno-oxadiaziny (Steward), 8) spinosady (Spintor), 9) bakuloviry (Carpovirusine, Madex, Madex TOP), 10) entomopatogenní bakterie (Biobit XL), 11) feromony (Isomate C plus, Isomate CLR) a nejnověji 12) atranildiamidy (Coragen 20 SC). Z uvedených 12 skupin účinných látek nejsou pro systém integrované ochrany sadů vhodné pyretroidy (pro systémy integrované produkce jsou zakázány) ani organofosfáty.

#### **III.5.4 Antirezistentní strategie pro ochranu proti mandelince bramborové**

Mandelinka bramborová je druh škůdce, který velmi rychle selektuje rezistenci k širokému spektru účinných látek insekticidů. Má predispozici k selekci rezistence v důsledku řady mechanismů, které umožňují detoxikovat široké spektrum metabolitů rostlin a také mnoho různých účinných látek insekticidů. Rezistence k insekticidům byla u mandelinky bramborové zjištěna k 48 různým účinným látkám do roku 2006,

což je mezi druhy živočišných škůdců kulturních rostlin čtvrté místo v pořadí. První místo zaujímá sviluška chmelová s evidovanou rezistencí k 79 různým účinným látkám, druhý v pořadí je zápředníček polní k 76 a třetí v pořadí mšice broskvoňová s rezistencí k 68 různým účinným látkám (Whalon et al., 2006).

Mandelinka bramborová rychle selektovala rezistenci k chlorovaným uhlovodíkům (DDT). Později se ukázalo, že tato rezistence typu *kdr*, je podmíněná bodovou mutací způsobující záměnu aminokyseliny leucin za fenylalanin. Bylo prokázáno, že shodný mechanismus podmiňuje křížovou rezistenci k pyretroidům (Lee et al. 1999). Mandelinka bramborová dále rychle selektovala rezistenci k organofosfátům a karbamátům, která je také typu *kdr* (Zhu a Clark, 1997). Již několik let po zavedení neonikotinoidů do ochrany proti mandelince byla zjištěna rezistence k některým neonikotinoidům. U mandelinky bramborové byla zjištěna nejdříve rezistence k imidaclopridu. U různých druhů hmyzu byly zjištěny různé, mnohočetné mechanismy rezistence k neonikotinoidům (Alyolchin et al., 2007). U mandelinky bramborové se jedná o metabolicky podmíněnou rezistenci k neonikotinoidům podmíněnou detoxikačními enzymy cytochromu P450. U jiných druhů škůdců, například u křísa *N. lugens* bylo zjištěno, že rezistence k neonikotinoidům je podmíněna bodovou mutací v alfa podjednotce acetylcholinového receptoru pro nikotin (AChR) (Liu et al., 2005).

V ČR byla prokázána rezistence některých polních populací mandelinky bramborové vůči organofosfátům, pyretroidům (Zichová a kol., 2010) a neonikotinoidům (Stará a Kocourek, 2013), zejména vůči přípravkům s účinnou látkou acetamiprid. Naproti tomu přípravky bázi thiaclopridu byly dosud účinné. Výsledky z ČR prokázaly nízkou úroveň cross-rezistence k acetamipridu a thiaclopridu, ačkoliv tyto látky mají obdobnou chemickou strukturu a patří do stejné skupiny pyridylmethylamine neonikotinoidů. Podle zahraničních autorů byla nízká úroveň cross-rezistence zjištěna i mezi dalšími neonikotinoidy, například mezi acetamipridem a imidaclopridem. Naproti tomu vysoká úroveň rezistence byla prokázána mezi neonikotinoidy imidacloprid a thiamethoxam. Účinná látka imidacloprid je obsažena v přípravku Mido 20 SL a Monceren G. Podle výsledků autorů příspěvku z ČR nebyl dosud zjištěn pokles účinnosti thiamethoxamu (Actara 25 WG), který podle chemického složení patří mezi nitroguanidinové neonikotinoidy. Lze tedy předpokládat, že i krátkodobé střídání látek thiamethoxamu (Actara 25 WG) a thiaclopridu (Calypso 480 SC) ze skupiny neonikotinoidů může v ochraně proti

populacím mandelinky rezistentním k acetamipridu přinést požadovaný efekt. Pro antirezistentní strategie se nedoporučuje využívat pyretridy a organofosfáty a z neonikotinoidů přípravky na bázi acetamipridu. Proti populacím rezistentním k acetamipridu (Mospilan 20 SP) lze v ČR doporučit střídat zejména přípravky Coragen 20 SC, Spintor a NeemAzal.

Antirezistentní strategie je založena na rotaci účinných látek insekticidů s různým mechanismem účinku pro každou následující generaci. Prakticky to znamená, že by měl být použit na druhou generaci mandelinky bramborové insekticid s jiným mechanismem účinku, než byl použit proti první generaci. U mandelinky je velmi významné provádět ošetření na nejcitlivější stadium (larvy L1 a L2). U starších larev a u dospělců rychle roste tolerance k pesticidům, což přispívá k rychlejší selekci rezistence.

#### **IV. Srovnání novosti postupů**

V metodice jsou poprvé v česky psaném návodu popsány biologické metody hodnocení rezistence vybraných škůdců k zoocidům zpracované podle světových standardů, podle metodik doporučených mezinárodní organizací IRAC a podle metodik doporučených FAO. Metodiky jsou ověřeny na případových studiích škůdců, u kterých je rezistence k insekticidům prokázána nebo je vysoké riziko selekce rezistence na území ČR. V případových studiích jsou uvedeny poznatky o rezistenci blýskáčka řepkového, mandelinky bramborové, krytonosce šešulového, dřepčíka olejového a obaleče jablečného a odkazy na odborné práce, ve kterých byly tyto poznatky zveřejněny. Pro podmínky ČR se převážně jedná o poznatky nové, které nebyly dosud ve formě metodiky zpracovány. Obdobná metodika týkající se rezistence škůdců byla autory publikována v roce 2009 (Stará a kol., 2009) pouze pro rezistenci blýskáčka řepkového k pyretridům a poznatky v ní uvedené jsou v současnosti významně rozšířeny. V předkládané metodice jsou zcela nové části týkající se zásad řízení hmyzí rezistence, zpracované poprvé v českém jazyce. Nové nebo významně inovované jsou také návrhy na antirezistentní strategie pro 5 škůdců, u nichž rezistence působí nebo by mohla působit hospodářsky významné ztráty.

#### **V. Popis uplatnění certifikované metodiky**

Metodika je primárně určena orgánům státní správy (ÚKZÚZ) a organizace pověřené k výkonu odborných činností pro provádění monitoringu rezistentních populací škůdců k zoocidům i pro účely postregistrační kontroly vyplývající ze zákona o rostlinolékařské péči č. 326/2004 Sb. Metodiku budou využívat také výzkumné a poradenské organizace, případně distributoři pesticidů při účasti na monitoringu rezistence nebo při upřesňování antirezistentních strategií. Informace uváděné v metodice jsou využitelné také pro pěstitele řepky, brambor a jablek při využívání antirezistentních strategií a naplňování příslušné zásady integrované ochrany rostlin.

Smlouva o uplatnění metodiky byla uzavřena s Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským v Brně. Metodika bude dostupná na internetových stránkách VÚRV, v.v.i. a dalším uživatelům mimo ÚKZÚZ bude v tištěné podobě předávána na seminářích pro pěstitele.

## **VI. Ekonomické aspekty spojené s uplatněním metodiky**

Metodika je určena pro orgány státní správy, zejména pro ÚKZÚZ a jím pověřené organizace k výkonu odborných činností a výzkumné a poradenské organizace. Pro tyto organizace pokud budou realizovat metodiky pro detekci a monitorování rezistence, bude realizace těchto částí metodik spojena s vícenáklady. Tyto vícenáklady budou záviset na rozsahu prováděného monitoringu. Naproti tomu se očekávají ekonomické přínosy pro pěstitele řepky, jablek a brambor v důsledku detekce rezistence a využívání antirezistentních strategií. Celkový roční ekonomický přínos lze odhadnout na 23000 tis. Kč v navýšení tržeb u pěstitelů řepky. Roční přínos ze zvýšení tržní hodnoty řepky a úspore nákladů za málo účinné pesticidy v důsledku uplatňování doporučených antirezistentních strategií nastane omezením ztrát na výnosech a kvalitě produktů působením klíčových škůdců v průměru o 2,5 % na 10 % ploch. Při ploše pěstování řepky na cca 370 tis. ha a tržní ceně řepky 7,2 tis. Kč/t a průměrném výnosu 3,5 t/ha to činí roční nárůst tržeb za rok 23310 tis. Kč. Další ekonomické přínosy, které lze jen obtížně odhadovat, lze očekávat z uplatňování antirezistentních strategií pro mandelinku bramborovou a obaleče jablečného.

## **VII. Seznam použité související literatury**

- Alyokhin A., Dively G., Patterson M., Castaldo C., Rogers D., Mahoney M., Wollam J. 2007: Resistance and cross-resistance to imidacloprid and thiamethoxam in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest Management Science* 63: 32-41.
- Boivin T., Bouvier J.C., Beslay D. Sauphanor B. 2003: Phenological segregation of insecticide resistance alleles in the codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). A case study of ecological divergences associated with adaptive changes in populations. *Genetical-Research* 81: 169-177.
- Boivin T., Bouvier J.C., Beslay D. Sauphanor B. 2004: Variability in diapause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism. *Biological Journal of the Linnean Society* 83: 341-351.
- Boivin T., Chadoeuf J., Bouvier J.C., Beslay D., Sauphanor B. 2005: Modeling the interactions between phenology and insecticide resistance genes in the codling moth *Cydia pomonella*. *Pest Management Science* 61: 53-67.
- Brun-Barale, A., Bouvier, J.C., Pauron, D., Berge, J.b., Sauphanor, B. 2005: Involvement of a sodium channel mutation in pyrethroid resistance in *Cydia pomonella* L., and development of a diagnostic test. *Pest Management Science* 61: 549-554.
- Cassanelli S., Reyes, M., Rault, M., Carlo Munardi, G., Sauphanor, B. 2006: Acetylcholinesterase mutation in an insecticide-resistant population of the codling moth *Cydia pomonella* (L.). *Insect Biochem. Mol., Biol.* 36: 642-653.
- Dunley J.E., Welter S.C. 2000: Correlated insecticide cross-resistance in azinphosmethyl resistant codling moth (Lepidoptera : Tortricidae), *Journal of Economic Entomology*, 93(3), 955-962
- Heimbach U., Müller A. 2011. Pyrethroid resistance of oilseed rape pest insects from 2005 to 2010 and German insecticide resistance management strategy, Abstract book of the 13th International Rapeseed Congress, Prague 5 – 9 June 2011, CD-ROM.
- Hrudová E., Seidenglanz M., Rotrekl J., Kolařík P., Havel J., Poslušná J. 2010. Rezistence blýskáčka řepkového vůči pyretroidům - zbytečné nebo oprávněné obavy?, *Agromanuál* 4: 60-63
- Kocourek, F., Stará, J., Falta, V. & Zichová-Horská, T. 2015: Ochrana proti obaleči jablečnému v ekologické produkci ovoce. *Zahradnictví*, 14(5): 63-66.

Lee S.H., Dunn J.B., Clark J.M., Soderlund D.M. 1999: Molecular analysis of kdr-like resistance in a permethrin-resistant strain of Colorado potato beetle. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 63: 63-75.

Liu N., Xu Q., Zhang L., Liu N. 2005: Chlorpyrifos resistance in mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Medical Entomology* 42:815-820.

Nauen, R., Ch.T. Zimmer, M. Andrews, R. Slater, Ch. Bass, B. Ekbohm, G. Gustafsson, L.M. Hansen, M. Kristensen, C.P.W. Zebitz, and M.S. Williamson. 2012. Target-site resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus* F. *Pestic. Biochem. Physiol.* 103: 173-180.

Onstad D. W. (ed.) 2008: *Insect Resistance Management: Biology, Economics and Prediction*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 305 pp.

Slater R., Ellis S., Genay J.P., Heimbach U., Huart G., Sarazin M., Longhurst Ch., Müller A., Nauen R., Rison J.L., Robin F. 2011. Pyrethroid resistance monitoring in European populations of pollen beetle (*Meligethes* spp.): a coordinated approach through the Insecticide Resistance Action committee (IRAC), *Pest Manag Sci* 67: 633-638.

Stará J., Kocourek F.: Insecticidal Resistance and Cross-Resistance in Populations of *Cydia pomonella* (Lep.: Tortricidae) in Central Europe, *Journal of Economic Entomology*, 2007, 100: 1587-1595.

Stará J., Zichová T., Kocourek F., Ouředníčková J., Falta V. (2009): Virus obaleče jablečného v integrované a organické produkci. Certifikovaná metodika pro praxi, Praha VÚRV, v.v.i.: 30.

Stará, J., Holý, K. & Kocourek, F. 2011. Rozdíly v rezistenci mandelinky bramborové k neonikotinoidům. *Úroda*, 59(3): 75-78.

Whalon M.E., Mota-Sanchez D., Hollingworth R.M., Duynslager L. 2006: Michigan State University Arthropod Resistance Database: <http://www.cips.msu.edu/resistance/rmdb/index.html>.

Zamojska J., Mrówczyński M., Węgorek P. 2011. Current status of resistance level in pollen beetle (*Meligethes aeneus* F.) and cabbage seed weevil (*Ceutorhynchus assimilis* Payk) to selected active substance of insecticides in Poland, Abstract book of the 13th International Rapeseed Congress, Prague 5 – 9 June 2011, CD-ROM.

Zhu K.Y., Clark J.M. 1997: Validation of a point mutation of acetylcholinesterase in Colorado potato beetle by polymerase chain reaction coupled to enzyme inhibition assay. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 57: 28-35.

Zichová T., Kocourek F., Salava J., Nadřová K., Stará J. 2010: Detection of organophosphate and pyrethroid resistance alleles in Czech *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) populations by molecular methods, *Pest Management Science* 66(8): 853-860.

Zichová, T., Falta, V., Kocourek, F. & Stará, J. 2011. Differences in the susceptibility of codling moth populations to *Cydia pomonella* granulovirus in the Czech Republic. *Horticultural Science (Prague)*, 38(1): 21-26.

Zimmer Ch.T., Nauen R. 2011a. Pyrethroid resistance and thiacloprid baseline susceptibility of European populations of *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae) collected in winter oilseed rape, *Pest Manag Sci* 67: 599-608.

Zimmer Ch.T., Nauen R. 2011b. Cytochrome P450 mediated pyrethroid resistance in European populations of *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae), *Pestic Biochem Physiol* 100: 264-272.

## **VIII. Seznam publikací, které předcházely metodice**

Kocourek F., Stará J. 2014: Antirezistentní strategie jako součást integrované ochrany rostlin proti škůdcům, *Agromanuál* 4, 78-81

Kocourek F., Stará J., Hubert J., Nesvorná M. 2013: Ochrana proti rezistentním populacím škůdců v řepce, *Úroda* 3, 36-40

Stará J., Kocourek F. 2013: Účinnost přípravků na rezistentní populace škůdců, *Úroda* 11, 35-37

Stará J., Kocourek F. 2014: První výskyty rezistentních populací krytonosce šešulového v ČR, *Úroda* 10, 22-24

Stará, J. & Kocourek, F. 2009. Rizika výskytu rezistentních populací blýskáčka řepkového v ČR. *Farmář*, 15(4): 16-18.

Stará, J. & Kocourek, F. 2011a. Rezistence blýskáčka řepkového vůči některým pyrethroidům prokázána. *Agromanuál*, 6(3): 55-57

Stará, J. & Kocourek, F. 2011b. Variabilita v rezistenci lokálních populací blýskáčka řepkového k pyrethroidům. *Rostlinolékař*, 22(6): 19-22.

Stará, J. & Kocourek, F. 2012. Změny v ochraně proti rezistentním populacím blýskáčka řepkového. *Úroda*, 60(1): 32-36.

Stará, J., Falta, V. & Kocourek, F. 2009. Metodika hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k insekticidům, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, 16 pp.

Stará, J., Lencová, E. & Kocourek, F. 2010. Rozdíly v rezistenci populací blýskáčka řepkového k pyretroidům. Úroda, 58(12): 21-25.

Název publikace: **Metodika pro hodnocení rezistence škůdců k zoocidům pomocí biologických metod a antirezistentní strategie pro zabránění výskytu rezistence. Certifikovaná metodika**

Autoři: **František Kocourek, Jitka Stará, Jan Hubert, Tereza Zichová, Marta Nesvorná**

Výsledek vznikl v rámci řešení projektu výzkumného projektu TA ČR č. QJ1230167

Grafická úprava obálky: Vladan Falta

Vydal: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.  
Drnovská 507, 16106 Praha 6 - Ruzyně

Tisk: Power print s.r.o.  
Počet stran: 49

Vydání: první

Rok vydání: 2015

ISBN: 978-80-7427-190-8

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2015

František Kocourek a kol.

Metodika pro hodnocení rezistence škůdců k zoocidům  
pomocí biologických metod a antirezistentní strategie pro  
zabránění výskytu rezistence

ISBN: 978-80-7427-190-8

