

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta, Katedra rostlinné výroby

Diplomová práce

VLIV VYBRANÝCH PESTICIDŮ NA INVAZNOST ENTOMOPATOGENNÍCH HLÍSTIC



JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Zemědělská fakulta
Katedra rostlinné výroby
Akademický rok: 2005/2006

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Jiří NERMUŤ

Studijní program: M4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Všeobecné zemědělství - sp. rostlinolékařství

Název tématu: Vliv vybraných pesticidů na invaznost entomopatogenních hlístic

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Úvod - diplomová práce je zaměřena na studium úrovně kompatibility entomopatogenních hlístic s různými pesticidy s cílem ověření možnosti společné aplikace.
2. Literární přehled - podrobná kompilace informací z oblastí morfologie, bionomie a praktického využití entomopatogenních hlístic v biologické ochraně rostlin, jejich kompatibility s pesticidy a laboratorních metod používaných při studiu kompatibility.
3. Experimentální část a výsledky - pokusy budou zaměřeny na studium vztahů v interakčním systému " hlístice - pesticid", včetně definice rozdílů mezi základními způsoby vyhledávání hostitelů v půdě (tzv. typ "ambusher, cruiser a intermediate). Významným cílem řešení bude vypracování standardního postupu testování hlístovek a pesticidů v půdním a vodním prostředí v laboratorních podmínkách.
4. Závěry a výstupy - výsledky budou vyhodnoceny pomocí relevantních statistické metod a součástí vyhodnocení výsledků bude i formulace závěrů upřesňujících možnost současného použití vybraných (skupin) pesticidů a entomopatogenních hlístovek při respektování zásad a principů integrované ochrany rostlin.

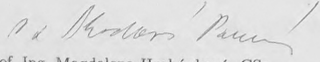
Rozsah práce: 50-60 stran
Rozsah příloh: 15-20 grafů, fotodokumentace
Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

- Gaugler, R., 2001: Entomopathogenic nematology. CABI Publishing, Oxon, UK, 390 s.
Mráček Z., Weiser J., 1988: Parazitické hlístice hmyzu. Academia, Praha, 260 s.
Fuxa J.R., Tanada Y., 1987: Epizootiology of insect diseases. John Wiley and Sons, Inc., 562 s.
Weiser, J., 1977: An atlas of insect diseases. Academia, Praha, 84 s.
Publikace získané pomocí retrospektivních a průběžných rešerší v databázových systémech WoS a CABI, případně v plnotextových databázích (ScienceDirect, Springer)

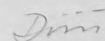
Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc.
Katedra rostlinné výroby
Konzultant diplomové práce: RNDr. Zdeněk Mráček, DrSc.
Datum zadání diplomové práce: 15. února 2006
Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2008

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice


prof. Ing. Magdalena Hrabánková, CSc.
děkanka

L.S.

doc. Ing. Jiří Diviš, CSc.
vedoucí katedry



V Českých Budějovicích dne 15. února 2006

Prohlášení

P r o h l a š u j i, že jsem diplomovou práci na téma „Vliv vybraných pesticidů na invaznost entomopatogenních hlístic“ vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů uvedených v diplomové práci a v seznamu literatury.

.....
Jiří Nermut

V Chrudimi dne 1. února 2008

Abstrakt

Vliv vybraných pesticidů na invaznost entomopatogenních hlístic

Je známo, že entomopatogenní hlístovky se na zemědělské půdě zatížené používáním pesticidů a průmyslových hnojiv vyskytují v omezené míře. Jelikož se jedná o organismy s vysokým potenciálem využití v biologické a integrované ochraně rostlin, pokusila se tato práce zjistit, jaký vliv mají vybrané pesticidy na invaznost a mortalitu testovaných hlístovek *Steinernema feltiae*, *S. arenarium* a *S. kraussei* ve vodném roztoku pesticidu. Z výsledků vyplynulo, že největší negativní vliv na oba sledované znaky mají přípravky Vydate (oxamyl) a Sulka (síra). Při použití těchto přípravků došlo k mortalitě 94,3 až 99,9 % a 93,1 – 99,9 % v závislosti na druhu testované hlístovky. Pokles invaznosti oproti kontrole byl v obou případech vyjádřen stupněm 3 (pokles o 50 – 75 %). Jako přípravky s vyšší schopností snížit invaznost lze označit Starane 250 EC (fluroxypyr), Sumithion super (fenitrothion), a Novozir MN 80 (mancozeb), naproti tomu Treflan 48 EC (trifluralin) se spíše podílí na zvýšení mortality. Dalším významným zjištěním je fakt, že na snížení invaznosti má významný vliv jen koncentrace, nikoliv doba působení pesticidu. Při pokusu o získání populace *S. feltiae* odolnější vůči oxamylu (Vydate) bylo dosaženo sestupného trendu u mortality a vzestupného u invaznosti hlístovky.

The Influence of Pesticides on the Infectivity of Entomopathogenic Nematodes

It is known that entomopathogenic nematodes rarely live in fields where pesticides and fertilizers are used. Because they are organisms with a high potential for biological and integrated pest control the thesis tried to determine the influence of pesticides on the infectivity and mortality of selected nematodes: *Steinernema feltiae*, *S. arenarium* and *S. kraussei* in water solution of some pesticides. The results are that preparations Vydate (a. i. oxamyl) and Sulka (a. i. sulphur) have the highest negative influence on both characteristics. These pesticides cause a mortality of 94.3 - 99.9 % and reduce infectivity by about 50 – 75 % (level 3). The following preparations may be identified as having higher potential for infectivity reduction: above all, Starane 250 EC (fluroxypyr), Sumithion super (fenitrothion), and Novozir MN 80 (mancozeb); on the other hand, Treflan 48 EC (trifluralin) significantly increases mortality. Another important observation is a fact that infectivity is significantly influenced only by concentration of pesticides, not by exposure time. During an experiment with enhancement of resistance to oxamyl (Vydate) I falling mortality and increasing infectivity of entomopathogenic nematodes were observed after five rounds.

Obsah

1. Úvod	8
2. Literární přehled	10
2.1. Taxonomie	10
2.2. Morfologie hlístovek	10
2.3. Symbiotické bakterie	11
2.4. Bionomie hlístovek	12
2.5. Ekologie entomofilních hlístic	13
2.5.1. Abiotické faktory	13
2.5.2. Vliv pesticidů na invaznost a mortalitu hlístovek	15
2.5.3. Biotické faktory	17
2.5.4. Hostitelé hlístovek	18
2.5.5. Rozšíření hlístovek	18
2.6. Šlechtění hlístovek	19
2.7. Produkce invazních larev entomopatogenních hlístic	20
2.8. Charakteristika vybraných druhů entomopatogenních hlístic	21
2.8.1. Steinernematidae	21
2.8.2. Heterorhabditidae	23
2.8.3. Rhabditidae	23
2.9. Přípravky na bázi entomopatogenních hlístic	23
2.9.1. Nemaslug	24
2.9.2. Larvanem	24
2.9.3. Entonem	25
2.9.4. Přípravky registrované v zahraničí	25
3. Metodika	27
3.1. Druhy testovaných hlístovek a pesticidy	27
3.2. Chov hlístovek pro potřeby pokusu a jejich uchování	27
3.3. Toxicita pesticidů pro hlístovky	27
3.4. Vliv pesticidů na invaznost hlístovek	28
3.5. Selekce hlístovky <i>Steinernema feltiae</i> na zvýšení odolnosti	29
3.6. Statistické vyhodnocení	29
3.6.1. Mortalita	29
3.6.2. Invaznost	30
3.6.3. Selekce na zvýšení odolnosti	30
4. Výsledky	32
4.1. Mortalita – parametry modelů	32

4.1.1. Lontrel 300 - ú. l. clopyralid	32
4.1.2. Previcur 607 SL – ú. l. propamocarb	34
4.1.3. Starane 250 EC – ú. l. fluroxypyr	35
4.1.4. Sulka – ú. l. polysulfid vápenatý	37
4.1.5. Sumithion super – ú. l. fenitrothion	38
4.1.6. Treflan 48 EC – ú. l. trifluralin	40
4.1.7. Karate 2,5 EC – ú. l. lambda-cyhalotrin	41
4.1.8. Dursban 10 G – ú. l. chlorpyrifos	43
4.1.9. Atonik Pro – ú. l. nitrofenol	44
4.1.10. Novozir MN 80 – ú. l. mancozeb	46
4.1.11. Merpan 80 WG – ú. l. captan	47
4.1.12. Vydate – ú. l. oxamyl	49
4.1.13. Omite 570 EW – ú. l. propargit	50
4.2. Invaznost – parametry modelů	54
4.2.1. Atonik Pro – ú. l. nitrofenol	54
4.2.2. Dursban 10 G – ú. l. chlorpyrifos	56
4.2.3. Karate 2,5 EC – ú. l. lambda-cyhalotrin	57
4.2.4. Lontrel 300 - ú. l. clopyralid	59
4.2.5. Merpan 80 WG – ú. l. captan	60
4.2.6. Novozir MN 80 – ú. l. mancozeb	62
4.2.7. Omite 570 EW – ú. l. propargit	63
4.2.8. Previcur 607 SL – ú. l. propamocarb	65
4.2.9. Starane 250 EC – ú. l. fluroxypyr	66
4.2.10. Sulka – ú. l. polysulfid vápenatý	68
4.2.11. Sumithion super – ú. l. fenitrothion	69
4.2.12. Treflan 48 EC – ú. l. trifluralin	71
4.2.13. Vydate – ú. l. oxamyl	72
4.3. Selekcce na zvýšení odolnosti	77
4.3.1. Mortalita	77
4.3.2. Invaznost	79
5. Diskuse	81
6. Závěr	87
7. Obrazová příloha	88
8. Literatura	95

1. Úvod

Hlístovky, tedy entomopatogenní hlístice čeledi Steinernematidae a Heterorhabditidae, jsou součástí téměř všech půdních ekosystémů po celém světě. Hlístovka jako komplex hlístice – bakterie velmi účinně, právě pomocí symbiotických bakterií, zabíjí hostitele z velmi široké palety hmyzích řádů a druhů. Kromě hmyzu to mohou být dokonce i pavouci aj. Mimo hlístovek patří k perspektivním háďatům (Rhabditida) také druhy rodu *Phasmarhabditis*, který je využíván k biologickému boji proti měkkýšům.

Tyto organismy je tedy možné efektivně využívat v biologické nebo integrované ochraně rostlin pěstovaných v půdě především proti škůdcům, kteří se alespoň část svého vývoje v půdě vyskytují. Kromě toho je možné, i když s nižším efektem, používat hlístovky pro přímou listovou aplikaci. Bez zajímavosti není fakt, že hlístovky byly použity prvně již ve třicátých letech dvacátého století.

Neboť v současné době v ochraně rostlin stále ještě převládají chemické metody regulace populací škůdců, je nasnadě otázka, zda účinné látky, nebo lépe přípravky, užívané v ochraně rostlin, neovlivňují negativně vitalitu, invaznost, reprodukční schopnosti a pohybovou aktivitu hlístovek, zvláště pokud bychom je chtěli v konkrétním systému využívat společně s pesticidy. Na otázku: „Proč lépe přípravky“, je snadná odpověď. Na hlístovky nemusí mít vliv jen účinná látka, ale může to být i některá z látek přídatných (emulgátory, protipěnicí přísady, smáčedla...).

Touto problematikou se zabývalo již mnoho prací. Většina z nich se však soustředila především na nejsnáze zjištělnou mortalitu, která byla sledována i v této práci. Některé práce se zabývaly i již obtížněji vyjádřitelným vlivem na pohybovou aktivitu nebo reprodukční schopnosti. A tato práce se kromě sledování mortality snaží i o objektivní zhodnocení vlivu několika přípravků na invaznost, tedy schopnost hlístovky proniknout do hostitele a prodělat v něm vývoj.

V rámci mé práce jsem se také pokusil vyselektovat vůči oxamylu odolný kmen druhu *Steinernema feltiae*. Protože jsou entomopatogenní hlístice běžnou součástí biologické nebo integrované ochrany rostlin, mohlo by se zdát, že šlechtění na rezistenci vůči různým účinným látkám je v rozporu s filozofií těchto způsobů ochrany rostlin. Cílem mé práce však není zavádění silně toxických látek do těchto systémů, nýbrž jen naznačení možné cesty, jak entomopatogenní hlístice moci využít i v systémech, které jsou z hlediska užití biologické nebo integrované ochrany rostlin problematičtější, neboť jsou zatíženy značným množstvím různých chemických látek. Příkladem může být běžná polní kultura, jejíž půda je obvykle na entomopatogenní nematody velice chudá.

Výsledkem této práce je tedy nejen získání vůči oxamylu odolnější hlístovky nebo rozdělení použitých pesticidů dle negativního vlivu na invaznost a mortalitu, ale i představení způsobu, jakým je tyto vlastnosti (jevy) možné sledovat, testovat a v neposlední řadě i hodnotit a předvídat, neboť na základě pozorování jsem se pokusil sestavit jednoduché a pro každého srozumitelné modely, pomocí nichž lze predikovat určitý stav za zvolených podmínek v rozsahu a smyslu metody užití v této práci.

2. Literární přehled

2.1. Taxonomie

Druhová determinace je dosud založena především na morfologii spikul a přídatných pohlavních orgánů dospělých samců „obří“ generace. Určitým vodítkem ale může být i velikost a délka invazních larev, stejně jako tvar jejich ocasní části a struktura kutikuly. Důležité pro taxonomii jsou též molekulárně genetické metody: práce s izoenzymy, RFLP analýza nebo sekvenování 18 S DNA (Adams a Nguyen, 2002).

Hlístovky patří do kmene Nematoda (hlístice), řádu Rhabditida (háďata), čeledi Steinernematidae (hlístovkovití) Chitwood a Chitwood (1937), která má dnes dva rody: *Steinernema* Travassos 1927 s více než třiceti popsányými druhy a rod *Neosteinernema* s jediným druhem *N. longicurvicauda* (Kaya a Stock, 1997). Mezi hlístovky patří také čeleď Heterorhabditidae s jediným rodem *Heterorhabditis* (Poinar, 1990).

Mezi entomoparazitické hlístice kromě zástupců čeledi Steinernematidae patří též zástupci dalších 24 čeledí hlístic z celkového počtu 184 čeledí. Obligátně parazitické druhy jsou v čeledích Mermithidae, Tetradonematidae, Steinernematidae, Syrphonematidae, Heterorhabditidae, Carabonematidae, Oxyuridae, Thelastomatidae, Spahaerulariidae, Allantonematidae, Fergusobiidae (Weiser a Mráček, 1988).

2.2. Morfologie hlístovek

Hlístovky mají protáhlý, válcovitý až nit'ovitý tvar těla. Jejich velikost je značně rozdílná u jednotlivých vývojových stádií. Štíhlé invazní larvy mají velikost obvykle 0,5 až 1,5 mm. Velikost dospělců je ovlivněna především pohlavím (samice jsou obvykle mnohem větší než samci) a také generací, o jakou se jedná (dospělci první „obří“ generace jsou větší než dospělci generace druhé). Stavba těla vykazuje poměrně jednoduchou bilaterální symetrii. Vnitřní uspořádání tělních orgánů si však udržuje určitý stupeň radiální symetrie, stejně jako rozmístění papil na hlavě (Weiser a Mráček, 1988). Papily tvoří na hlavě dva kruhy, vnitřní kruh labiální je ze šesti papil a vnější cefalický kruh tvoří papily čtyři. Na hlavě můžeme také pozorovat ústní otvor, ten je u dospělců široce otevřený, trojúhelníkovitého tvaru se zaoblenými rohy. Invazní larvy mají ústní otvor uzavřený (nepřijímají potravu). Další, genitální papily, které mají smyslovou funkci, se nacházejí na ocasní části dospělců. Na ocasní části dospělých samců jsou kopulační orgány, gubernákulum a párové papily. Samice mají vulvu přibližně uprostřed těla. Kutikula dospělců je při větším zvětšení (nad

2000krát) zřetelně kroužkovaná. Kutikula invazních larev je pravidelně kroužkovaná. (Weiser a Mráček, 1988).

Tabulka číslo 1: Druhy rodu *Steinernema* dle Burnell a Stock, 2000

Typový druh: <i>Steinernema kraussei</i> (Steiner, 1923)	<i>S. kari</i> Waturu, Hunt a Reid, 1997
<i>S. abbasi</i> Elawad, Ahmad a Reid, 1997	<i>S. kushidai</i> Mamiya, 1988
<i>S. arenarium</i> (Artykhovskiy, 1967); Wouts, Mráček, Gerdin a Bedding, 1982	<i>S. longicaudum</i> Shen a Wang, 1992
<i>S. affine</i> (Bovien, 1937); Wouts, Mráček, Gerdin a Bedding, 1982	<i>S. monticolum</i> Stock, Choo a Kaya, 1997
<i>S. bicornutum</i> Tallosi, Peters a Ehlers, 1995	<i>S. neocurtillae</i> Nguyen a Smart, 1992
<i>S. carpocapsae</i> (Weiser, 1955); Wouts, Mráček, Gerdin a Bedding, 1982	<i>S. oregonense</i> Liu a Berry, 1996
<i>S. caudatum</i> Xu, Wang a Li, 1991	<i>S. puertoricense</i> Roman a Figueroa, 1994
<i>S. ceratophorum</i> Jian, Reid a Hunt, 1997	<i>S. rarum</i> (Doucet, 1986); Mamiya, 1988
<i>S. cubanum</i> Mráček, Hernandez a Boemare, 1997	<i>S. riobrave</i> Cabanillas, Poinar a Raulston, 1994
<i>S. feltiae</i> (Filipjev, 1934); Wouts, Mráček, Gerdin a Bedding, 1982	<i>S. ritteri</i> de Doucet a Doucet, 1992
<i>S. glaseri</i> (Steiner, 1929) Wouts, Mráček, Gerdin a Bedding, 1982	<i>S. scapterisci</i> Nguyen a Smart, 1992
<i>S. intermedium</i> (Poinar, 1985); Mamiya 1988	<i>S. siamkayai</i> Stock, Somsook a Kaya, 1998

2.3. Symbiotické bakterie

Entomopatogenní hlístovky čeledi Steinernematidae žijí v symbióze s bakteriemi rodu *Xenorhabdus*, které jsou gramnegativními bakteriemi z čeledi Enterobacteriaceae z γ -podtřídy Proteobakterií.

Tyto bakterie jsou schopné přežít ve vnějším prostředí (mimo hostitele) jen uvnitř těla hlístovky, která je uvolňuje právě pouze v těle napadeného hmyzu. Bakterie jsou invazními larvami nesené ve speciálním váčku střeva (Bird a Akhurst 1983). Po dobu, kdy jsou bakterie v těle hlístovky, se nachází ve vegetativním stavu a nepřijímají potravu. Metabolismus bakterií produkuje do prostředí kromě produktů primárního metabolismu také fungistatika, exotoxiny, antibiotika a exoenzymy (proteasy, lecithinasy a lipasy) (Akhurst a Boemare, 1990) a další. Tyto sekundární metabolity potlačují rozvoj bakterií ze

střeva hostitele a brání invazi jiných mikroorganismů do mrtvolky hostitele (Forst a Clarke, 2002). Smrt hostitele tedy nepůsobí hlístovka, nýbrž septikémie vyvolaná množící se symbiotickou bakterií.

V rámci tohoto rodu se v přírodě vyskytuje více kmenů s různou virulencí pro hmyz (Simoes et al., 2000), Forst et al. (1997) uvádí, že za určitých podmínek je pro hostitele letální už počet méně než deseti bakteriálních buněk.

Některé druhy bakterií jako např. *X. bovienni* jsou společné pro větší počet druhů hlístovek (*Steinernema feltiae*, *S. affinae*, *S. kraussei* a *S. intermedium*), jiné druhy bakterií jsou specifické jen pro určitý druh hlístovky. Hlístovky jsou schopné kromě svých symbiotických bakterií přijímat i jiné druhy bakterií, avšak jen krátkodobě a za současného zpomalení růstu a rozvoje.

2.4. Bionomie hlístovek

Hlístovky jsou obligátní patogeny (parazité) hmyzu, které jsou charakteristické svým mutualistickým vztahem s bakteriemi rodu *Xenorhabdus*. Tento komplex bakterie/nematod je patogenní pro mnoho druhů hmyzu (Kaya a Gaugler, 1993). Všechny známé druhy hlístovek mají naprosto shodný vývojový cyklus, při výběru hostitelů jsou nespecifické a napadají tedy mnoho řádů třídy Insecta (např.: Colembola, Odonata, Blatodea, Orthoptera, Heteroptera, Lepidoptera, Neuroptera, Coleoptera, Diptera, Hymenoptera a další.).

Invazní larvy hlístic čeledi Steinernematidae žijí v půdě, kde se buď pohybují a hledají hostitele (cruiser) nebo přisedle očekávají přiblížení hostitele (ambusher), do kterého pronikají nejčastěji ústním nebo řitním otvorem a případně i spirakulami. Po proniknutí ze střeva do tělní dutiny uvolní symbiotické bakterie. Ty následně kolonizují vnitřní prostředí hostitele, který během několika hodin (24 - 48) hyne v důsledku septikémie. Namnoženými bakteriemi se hlístovky živí. Invazní larvy třetího instaru se pak vyvíjí přes larvu čtvrtého instaru do první tzv. obří generace. Samci a samice se páří (amfimiktická generace) a samice následně kladou vajíčka, ze kterých se v mrtvém hostiteli líhnou larvy. Tyto se pak přes čtyři instary vyvíjí v dospělce druhé tzv. normální generace. Její potomstvo se však v hostiteli vyvíjí jen do larvy třetího instaru, která jako invazní larva opouští hostitele a v půdě vyhledává hostitele nového. Invazní larva je schopná v půdě bez příjmu potravy a v nepříznivých podmínkách (teplo, chlad, sucho...) přežít po řadu měsíců. Larvy mají značné energetické zásoby v buňkách střeva a v hypodermálních žlázách (Poinar, 1990). Doba, po jakou jsou larvy schopny přežít s těmito zásobami, je závislá na jejich aktivitě,

tedy především teplotě a vlhkosti. Před nepříznivými podmínkami (entomofágní houby a predátoři) jsou larvy některých druhů též chráněny nesvlečenou kutikulou předchozího instaru.

Lokalizace hmyzího hostitele je závislá na schopnosti invazní larvy včas rozpoznat jeho přítomnost. K tomu jí slouží hlavové papily a amphidy (citlivé smyslové orgány), které mohou zachytit sloučeniny vylučované vhodným hostitelem. Jsou to především některé substance v hmyzím trusu (kyselina močová, amoniak, arginin...) (Schmidt a All, 1979), nebo CO₂ (Gaugler et al., 1980). Pokud hlístice zaznamená přítomnost látek vylučovaných potenciálním hostitelem, začne se pohybovat proti chemickému gradientu takovéto látky, a pokud nalezne hostitele, může dojít k průniku některým z výše popsaných způsobů. Larvy, které jsou ve stavu strnulosti, mohou být přiblížením se potenciálního hostitele aktivovány (Ishibashi a Kondo, 1990).

Ve způsobu vyhledávání a napadení hostitele jsou mezi hlístovkami určité rozdíly. Lewis et al. (1992) rozlišili dva typy chování. Jedná se o tzv. cruiser a ambusher. *Steinernema glaseri* jako typický cruiser se aktivně pohybuje v půdě, zatímco např. *S. carpocapsae* jako typický ambusher čeká na místě na kolem se pohybujícího hostitele. Jak píše Kaya et al. (1993) a Koppenhofer a Kaya (1996) napadají hlístovky s převahou typu ambusher ve svém chování zvláště pohyblivé hostitele blíže povrchu a typ cruiser spíše hostitele sedenterní.

2.5. Ekologie entomofilních hlístic

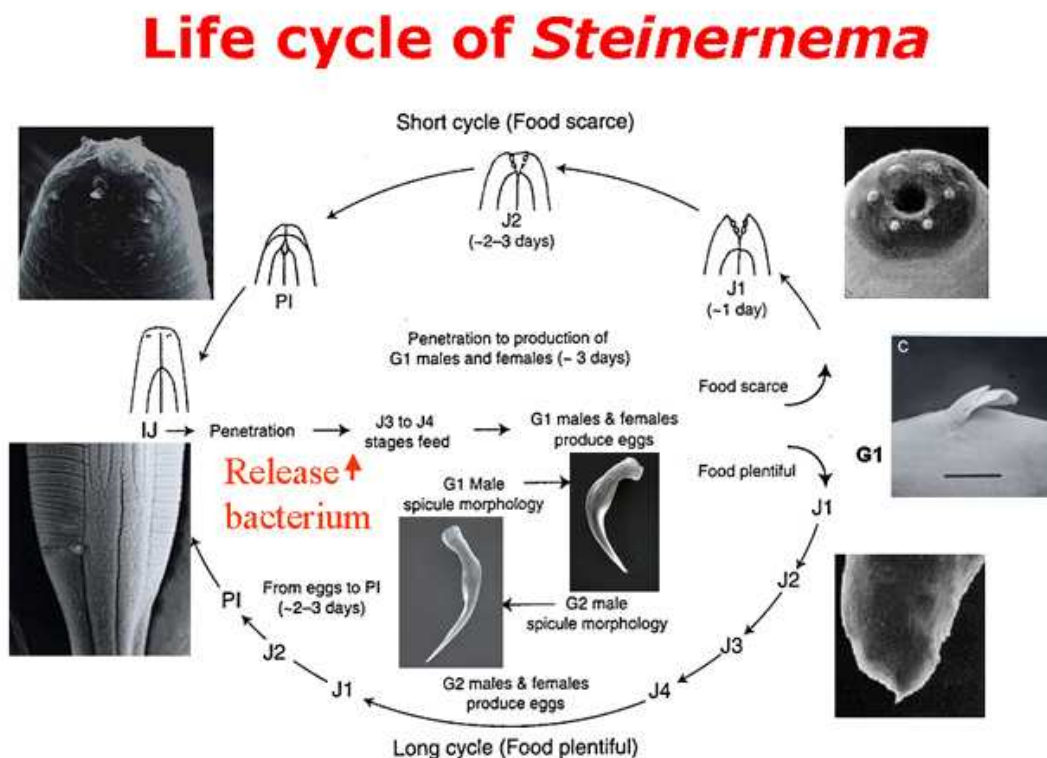
2.5.1. Abiotické faktory

Pro druhy obývající vodní prostředí je nejdůležitější vliv teploty, pro suchozemské navíc přistupuje vlhkost (Weiser a Mráček, 1988). Kromě těchto dvou faktorů, tedy teploty a vlhkosti, mají vliv na život hlístic i faktory jiné, jako jsou např.: intenzita světla, délka světelného dne, UV záření, salinita půdy či její pH a samozřejmě pesticidy. Ty však budou uvedeny v samostatné kapitole.

Vlhkost je některými autory považována za nejdůležitější abiotický faktor ovlivňující život hlístovek (Kaya, 1990; Kung et al., 1990). Většina entomopatogenních hlístic je tak nucena pro svůj život a napadení hostitele vyhledávat prostředí s vyšší a stálejší relativní vlhkostí, jako jsou půda nebo chodbičky ve dřevě apod. Vlhkost prokazatelně zvyšuje aktivitu hlístovek, a jak uvádí Jaworska (1992a), s rostoucí vlhkostí roste i jejich patogenita. Při extrémně vysoké vlhkosti však může docházet k hynutí hlístovek v důsledku nedostatku

vzduchu. Hlístovky jsou ale i schopné přejít na anaerobní mechanismus a krátkodobě tak přežít. Stejně tak jsou hlístovky schopné přežívat delší období sucha (Womersley, 1990) ve stavu nepravé anhydrobiózy. Takovéto snižování vlhkosti však musí probíhat pozvolna.

Obrázek 1: Vývojový cyklus hlístovek.



IJ = infective juvenile, J3, J4 = feeding juvenile stages 3 and 4, G1 = first generation, G2 = second generation, J1, J2 = first and second stages of juvenile, PI = preinfective juvenile

This is the live cycle of *Steinernema scapterisci*, other species have the similar life cycle.

Khuong B. Nguyen
University of Florida

Rychlé vyschnutí nedává hlístovkám šanci připravit se na období sucha a dochází k hynutí (důvod neúspěchů při listových aplikacích).

Dalším významným faktorem v životě hlístic je teplota. Optimální rozmezí teplot pro život hlístic a napadení hostitele je udáváno v rozmezí 10 °C až 30 °C. Optimum je asi kolem 15 – 20 °C (Grewal et al., 1994; Blackshaw a Newell, 1987). Teploty nízké i vysoké zpomalují aktivitu invazních larev i dospělců (Weiser a Mráček, 1988). Rozdíly ve vztahu

k teplotě jsou dány nejen druhovými nebo mezidruhovými rozdíly, ale také oblastí a klimatem ze kterého dané hlístovky pocházejí. Některé druhy i populace hlístovek jsou teplomilnější, jiné chladnomilnější (Mráček et al., 1998). Vysoké teploty 30 – 40 °C hlístovky přežívají stěží (Glaser, 1996), zato ale dokáží přežívat teploty hluboko pod bodem mrazu ve stavu kryptobiózy (Glaser, 1996).

Další abiotické faktory jsou podle Weisera a Mráčka (Weiser a Mráček, 1988) pro entomofilní hlístice méně významné. Jaworska (1992a, b) však tyto faktory uvádí jako významné. Proto se o nich ve stručnosti také zmíním. Jedná se o půdní typ, texturu, pH, aeraci a UV záření.

Pro život hlístovek je příhodnější spíše půda lehčí. Jaworska (1992b) zaznamenala při laboratorních pokusech vyšší patogenitu v písčité půdě než v půdě jílovité. Toto tvrzení podporují i jiní autoři. Např. Kung et al. (1990) uvádí, že přežitelnost hlístic klesá s rostoucím množstvím jílových částic.

Aerace a především nedostatek kyslíku na půdách s vysokým obsahem jílu a přemokřených půdách nebo půdách s vysokým podílem organické hmoty ovlivňuje přežívání hlístovek (Kaya, 1990).

Kyselost půdy na přežívání hlístovek nemá velký vliv, pH našich půd se pohybuje v rozmezí od 4 do 8 a to je pro většinu druhů hlístic vyhovující (Jaworska, 1992a). Nevhodné pro přežívání jsou půdy zasolené s vysokým osmotickým tlakem (Kaya, 1990).

UV záření pro většinu hlístovek žijících v půdě nebo vodě nemá význam. U hlístovek, které jsou ale aplikovány mimo půdu, dochází vlivem UV záření ke snížení invaznosti a značné mortalitě.

2.5.2. Vliv pesticidů na invaznost a mortalitu hlístovek

Přestože jsou entomopatogenní hlístice čeledi Steinernematidae považovány za organismy dosti odolné vůči množství chemikálií, mají pesticidy používané v lesnictví a především v zemědělství na jejich přežívání velký vliv.

Méně studovanou problematikou je vliv herbicidů na entomopatogenní hlístice. Vliv glyphosatu sledovali Gibb a Buhler (1998). Podle výsledků docházelo v půdě ošetřené herbicidem ke snížení infekivity invazních larev *Steinernema carpocapsae*.

Vlivem fungicidů na hlístovky, konkrétně thiophanatmethylu, se zabýval Fujiie et al. (1993). Podle výsledků této práce nemá thiophanatmethyl žádný vliv na patogenitu invazních larev *Steinernema kushidai*. Další účinnou látkou s fungicidním účinkem je např.

azoxystrobin, ten na rozdíl od účinné látky cinnamaldehyd nemá na druh *Steinernema feltiae* velký vliv a je vhodný ke společné aplikaci (Krishnayya a Grewal, 2002).

Většina prací je zaměřena na vliv insekticidů a nematocidů. Například del Pino a Jové (2005) studovali kompatibilitu entomopatogenních nematodů *Steinernema carpocapsae*, *S. arenarium* a *Heterorhabditis bacteriophora* s fipronilem. Z výsledků pokusů vyplynulo, že druh *Steinernema carpocapsae* byl velice odolný vůči fipronilu o koncentraci 2000 ppm – po 72 hodinách byla dosažena mortalita 11,25 %, obdobně skončil pokus u druhu *H. bacteriophora* s mortalitou 17 %, *S. arenarium* však vykazovala vysokou citlivost vůči fipronilu – po 24 hodinách již nastala mortalita 94,6 % a 100 % po 72 hodinách. Vliv na infektivitu (invaznost) u housenek *Galleria mellonella* byl však u všech tří druhů zanedbatelný. Alumai a Grewal (2004) zjistili, že životaschopnost *Steinernema carpocapsae* nebyla ovlivněna žádnou testovanou látkou (halofenozid, imidacloprid, mefonoxam, trichlorfon, chlorpyrifos, thiametoxam, carbaryl), ale trichlorfon redukoval významným způsobem patogenitu. Životaschopnost druhu *Heterorhabditis bacteriophora* snižovaly látky thiametoxam a trichlorfon, zatímco patogenitu snížily tyto: halofenozid, trichlorfon a carbaryl. Zajímavý výsledek pak byl dosažen s účinnou látkou imidacloprid, která v koncentraci 330 – 340 g/ha při aplikaci společně s nematody v 300 a 500 l vody zvyšuje výrazně jejich patogenitu. Vliv na snížení invaznosti invazních larev *Steinernema feltiae* mají také účinné látky abamectin, deltametrin a heptenophos (Head et al., 2000). Podle Gordona et al. (Gordon et al., 1996) vykazují hlístovky rodu *Steinernema feltiae* a *Steinernema carpocapsae* vysokou citlivost vůči testovaným karbamátům (carbofuran a fenoxycarb). Oba vyvolávaly vysokou mortalitu. Vliv karbamátů a dalších pesticidů na entomoparazitické hlístice sledovali také Ishibashi a Takii (1993). Podle jejich výsledků však tyto látky způsobují spíše sníženou pohybovou aktivitu než mortalitu, což má za následek snížení patogenity těchto organismů. Další práci na téma kompatibilita pesticidů s entomopatogenním nematodem *Heterorhabditis bacteriophora* publikoval Rovesti et al. (1988). Tito autoři otestovali celkem 75 pesticidů z různých chemických skupin na vliv na přežívání a invaznost invazních larev. *H. bacteriophora*. Při testování byly použity různé kombinace standardních metod testování entomopatogenních nematodů. Z výsledků vyplývá, že některé účinné látky byly toxické již v koncentracích nižších, než jsou výrobcem doporučované. Byly to například fungicidy na bázi účinné látky dodin a carbendazim, herbicidy na bázi alachloru a paraquatu nebo insekticidy s aktivní látkou parathion, fonofos, carbofuran a další, mezi které patří například i nematocidy na bázi phenamiphosu. U druhů *Steinernema feltiae* a *S. carpocapsae* nebyly zjištěny výrazné

rozdíly v citlivosti na různé pesticidy a z celkového počtu 75 testovaných látek je možné za silně toxické považovat tyto: parathion, aldicarb, methomyl, flubenzimin, metham sodium a pfenamifos. (Rovesti a Deseö, 1990). Phenamifos způsobuje již při koncentraci 0,01 mg/ml neschopnost reprodukce hlístice *Neoaplectana carpocapsae* (Hara a Kaya, 1982). Tito autoři také zjistili, že testované karbamáty a organofosfáty ovlivňují negativně reprodukční schopnost *N. carpocapsae* již při koncentracích větších nebo rovných 0,1 mg/ml. Zhang et al. (1994) ověřili toxicitu 7 karbamátů, 14 organofosfátů, 4 syntetických pyretroidů a účinné látky cartap a imidacloprid na druh *Steinernema carpocapsae*. Nejvyšší toxicitu s mortalitou 83,4%; 57,1% a 47,8% prokázaly účinné látky cartap, prophenofos a pyraclofos (organofosfáty) při dávce 100 µg/ml po 48 hodinách. Invaznost larev pak byla testována po 24 hodinách při koncentraci µg/ml na larvách motýla *Spodoptera litura*. Organofosfáty malathion, temephos, pyretroidy permethrin a ethofenprox a stejně tak cartap očividně negativně ovlivnily infektivitu invazních larev, ale jen cartap a profenofos si škodlivé účinky na invaznost zachovaly i po omytí invazních larev.

Z uvedeného přehledu výsledků prací různých autorů je patrné, že jen některé pesticidy mají vliv na invaznost a mortalitu entomopatogenních hlístic, avšak mnohdy život těchto užitečných organismů ovlivňují natolik v již velmi malých koncentracích, že je záhodno této problematice v zemědělské a lesnické praxi věnovat náležitou pozornost.

2.5.3. Biotické faktory

Vnitrodruhová konkurence působí u hlístic v momentě, kdy do jednoho hostitele vnikne větší než optimální množství invazních larev (Kaya a Koppenhofer, 1996). Pro housenky motýla *Galleria mellonella* je uváděno jako optimum 50 až 100 invazních larev. Vlivem překročení těchto hodnot dochází ke konkurenci o prostor, živiny i sexuálního partnera (Koppenhofer a Kaya, 1995). Takovéto stavy v přírodě nejsou příliš časté a může k nim docházet, např. pokud se hostitel dostane do bezprostřední blízkosti jiného již mrtvého hmyzu, ze kterého se uvolňují invazní larvy. Jak uvádí Selvan et al. (1993): pokud dojde k příliš silnému napadení, nemusí dojít vůbec k vytvoření potomstva.

K mezidruhové konkurenci dochází, pokud do jednoho hostitele vniká více druhů hlístovek s různými symbiotickými bakteriemi. Vyhrává zpravidla ta hlístovka, která má rychleji se množící symbionty (Kaya a Koppenhofer, 1996). Někdy však může dojít k úmrtí nebo k rozmnožení obou druhů (Akhurst, 1983).

Hlístovky jsou ovlivňovány i jinými organismy. Například Kaya a Koppenhofer (1996) uvádí, že vývoj může být negativně ovlivněn v hostitelích napadených viry či bakteriemi. Ale stejně tak, jak je uvedeno výše, mohou hlístovky pomocí svých symbiotických bakterií potlačit vývoj jiných organismů včetně entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*. Mezi další organismy, které ovlivňují hlístovky, patří půdní bakterie, nematofágní houby a draví bezobratlí (chvostoskoci, roztoči a nematodi), ale i prvoci, máloštětinatci, ploštěnky a další. Ačkoliv není o vlivu predátorů na populace hlístovek známo mnoho informací, je dokázáno, že půdy tepelně či chemicky sterilizované jsou pro rozvoj populací hlístovek příznivější (Kaya, 1990).

2.5.4. Hostitelé hlístovek

Hlístovky jsou svým vývojem vázané na půdní prostředí a mohou za přirozených podmínek napadat pouze druhy hmyzu, které se alespoň určitou dobu vyskytují v půdě (Bathon, 1996).

V laboratorních podmínkách jsou prokázány nákazy různých druhů bezobratlých: pavoukoců a sekáčů (Pojar a Thomas, 1985), roztočů (Zhioua et al., 1995), ale i korýšů a stonožek nebo stejnonožců. Za skutečné hostitelské spektrum je však možné považovat jen takové druhy hmyzu, ve kterých se hlístovky přirozeně množí. Mezi nejčastěji napadané druhy hmyzu patří zástupci řádů Diptera, Coleoptera, Hymenoptera a Lepidoptera. Právě larvy tohoto hmyzu mají totiž znaky potenciálně vhodného hostitele: hladké tělo, málo sklerotizovanou kutikulu, kousací ústní ústrojí, absenci chlupů a velikost větší než 3 mm. Jedinci, kteří tyto předpoklady alespoň částečně nesplňují, jsou stejně jako dospělci a kukly napadány méně.

2.5.5. Rozšíření hlístovek

Jak uvádí Weiser a Mráček (1988), hlístovky byly nalézány v rozmanitých biotopech všech světadílů kromě Antarktidy. Mezi hlístovkami se přirozeně vyskytují druhy vázané na určité větší oblasti (mírný pás – *Steinernema feltiae* nebo *S. kraussei*, toridní oblasti – *S. cubanum*) nebo oblasti velice malé a omezené (*H. hawaiiensis*) či jeden kontinent (*S. bicornutum* – Evropa). Ale jsou známy též druhy kosmopolitní (*S. carpocapsae*).

V České republice bylo dosud izolováno sedm druhů rodu *Steinernema* a dva druhy rodu *Heterorhabditis* (Mráček a Bečvář, 2000).

Informace o rozšíření hlístovek z hlediska vazby na určitý biotop jsou protichůdné. Mráček (1980) však uvádí, že hlístice čeledi Steinernematidae dávají přednost lesním biotopům

(60% vzorků s hlísticemi) a částečně jsou nalézány na polních biotopech (20% vzorků s hlísticemi).

Šíření hlístovek v prostředí je aktivní nebo pasivní (Ishibashi a Kondo, 1990). Aktivní šíření se děje vlastní lokomocí a je značně ovlivněno vlhkostí, velikostí půdních pórů (Kung et al., 1990), ale i teplotou a přítomností hostitele. Pasivní přenos je uskutečňován vodou, půdou, větrem, činnostmi člověka nebo v infikovaném hostiteli (Kaya, 1990).

2.6. Šlechtění hlístovek

Rezistencí hlístice *Heterorhabditis bacteriophora* se zabýval Glazer et al., (1997). Autoři se pokusili vyselektovat kmeny nematodů rezistentních vůči přípravkům Nematicure – účinná látka fenamifos (použitá koncentrace 0,05 %), Vydate - oxamyl (koncentrace 0,75 %) a Vertimec – avermectin (koncentrace 0,025 %). Již po pěti generacích vykazoval testovaný nematod mnohonásobně vyšší počet přeživších a rezistentních jedinců než kontrolní nešlechtěná populace. Zatímco u nešlechtěné populace přežívalo 48 hodin trvající vystavení nematocidu jen řádově okolo 10 % jedinců u populace šlechtěné po pěti generacích to bylo již kolem 80 % jedinců. Podobných výsledků bylo dosaženo i u zbývajících dvou látek, avermectinu a fenamifosu. U obou došlo ke zvýšení procenta přežívajících a tedy vůči nematocidu odolných jedinců z cca 10 % až na hodnoty přes 90 % po jedenácti generacích. V práci byl sledován i vliv na rozmnožovací schopnosti, patogenitu a toleranci k vyšším teplotám.

Šlechtěním na vyšší toleranci k vysokým a nízkým teplotám se zabývalo mnoho autorů, např. Ehlers et al. (2005) prokázali heritabilitu pro tepelnou toleranci na úrovni 0,68 a pro aktivitu při nízkých teplotách na úrovni 0,38. Během čtyř generací se práh tolerance k vyšší teplotě zvýšil z původních 38,5 °C na 39,2 °C, zatímco pohybová aktivita po pěti generacích začínala již při teplotě 6,1 °C namísto původních 7,3 °C. Pokusy probíhaly na invazních larvách hlístovky *Heterorhabditis bacteriophora*.

Šlechtit se dá také na vyšší afinitu vůči nějakému cílovému organismu. V této oblasti publikovali např. Shapiro-Ilan et al. (2005). Tito pomocí hybridizace a transferu symbiotických bakterií dosáhli výrazného zvýšení mortality brouka *Curculio caryae* (Curculionidae) oproti původním kmenům hlístovky *Steinernema carpocapsae*, čímž naznačili možnou perspektivní cestu k dalšímu a širšímu využívání hlístovek v ochraně rostlin před škůdci.

2.7. Produkce invazních larev entomopatogenních hlístic

Technologie masových produkcí entomopatogenních hlístic jsou známy již více než 70 let (Friedman, 1990). V zásadě můžeme rozlišit dvě metody produkce. Jsou to metody *in vivo* a metody *in vitro*, nebo produkce v axenických a monoxenických kulturách, v pevných a tekutých médiích.

Metody *in vivo* jsou nepochybně technicky jednodušší. Celá metoda spočívá v kultivaci hlístic na živém hostiteli, kterým může být housenka zavíječe voskového (*Galleria mellonella*), dále je možné pro kultivaci užít larvy potemníka moučného (*Tenebrio molitor*). V laboratorních podmínkách je možné příležitostně pro namnožení některých druhů hlístic používat i jiné hostitele jako např. larvy zlatohlávků nebo housenky motýlů rodu *Spodoptera* apod. Proces získání invazních larev, které jsou komerčním produktem, probíhá tak, že je hmyz inokulován invazními larvami. Ty ho v průběhu vývoje zabijí a vytvoří další generaci invazních larev, které získáme propláchnutím zbytků mrtvých těl hostitelů.

In vitro metody jsou sice investičně náročnější na vybavení, ale celkově je produkce invazních larev levnější než při produkci *in vivo*. V rámci metod *in vitro* je možné využívat axenických nebo monoxenických kultur. První axenické kultury *Steinernema glaseri* a *Steinernema carpocapsae* získal Glaser (1940). Kultura byla vytvořena vytrvalým čištěním a desinfekcí. Tato pak byla přidána do agarového média s 1 g sterilních králíčích ledvin na 1 ml 1% agaru. V tomto médiu byl autor schopný získat až 50 generací. K masové produkci se však využívají především monoxenické kultury v tekutých médiích. Pro množení se používají média pevná nebo tekutá, vyráběná z různých materiálů (homogenizované a sterilizované vnitřnosti: játra, ledviny; glukóza, minerálie, agar) a mohou být přidávána antibiotika, která brání rozvoji konkurenčních mikroorganismů, některé nedostatkové živiny apod. Poté co se v takovémto substrátu dostatečně namnoží inokulum symbiotických bakterií, přidají se invazní larvy hlístovek. Po dokončení celého vývoje až do fáze nových invazních larev se tyto separují a jsou formulovány do komerčního přípravku a distribuovány zákazníkovi.

Látky využívané k finální úpravě hlístovek do komerčního produktu se snaží zajistit nejen snadnou aplikovatelnost, ale i snazší manipulaci, trvanlivost, delší skladovatelnost, a to tak, že hlístovky imobilizují, sníží jejich metabolismus a zvýší odolnost ke stresovým faktorům (UV, teplota a další). Mezi běžně užívané látky patří především různé jíly (montmorillonit), polyuretan, aktivní uhlík, algináty, polyakrylamidové gely a vermikulit. Součástí může být i atraktant pro přilákání cílového organismu. Konečná formulace může

mít podobu aerosolu, pasty, suspenze nebo kapsle. Při aplikaci musí být respektovány požadavky hlístic na přežití – především tlak, teplota, rychlost proudění, velikost otvorů sít a trysek apod. (Georgis, 1990).

Aplikace v terénu se provádí zálivkou nebo postřikem ve večerních či ranních hodinách, lépe za vyšší vzdušné vlhkosti a nepříliš vysoké teploty, v dávce cca 100 000 až 1 milion jedinců na 1 m² (Georgis (1990) uvádí 2,5 mld./ha). Aplikaci ovlivňuje i druh, chování a způsob života cílového organismu, stejně jako druh, morfologie a fenologie rostliny, v jejíž kultuře aplikaci provádíme. V neposlední řadě aplikaci (především dávku) ovlivňuje požadovaná rychlost a efektivita zásahu; čím rychleji a účinněji chceme škůdce omezit, tím vyšší používáme dávku. (Georgis, 1990).

2.8. Charakteristika vybraných druhů entomopatogenních hlístic

V této kapitole jsou charakterizovány ty druhy, které byly použity pro vlastní pokusy (čeled' Steinernematidae), a pak dva zástupci čeledí Heterorhabditidae a Rhabditidae, kteří jsou stejně jako předchozí druhy významné z hlediska biologické ochrany rostlin.

2.8.1. Steinernematidae (Chitwood a Chitwood, 1937)

***Steinernema kraussei* (Steiner, 1923)**

Samice je dlouhá, niťovitá, mléčné barvy. Hlavová část má tupý konec s ústním otvorem ve středu. Ocasní je část variabilní. Hlava nemá zřetelné pysky, nezřetelná je i ústní dutina. Labiálních papil je 6, cephalické papily jsou 4. Jícen tvoří prokorpus a metakorpus, který je před terminálním bulbem zúžen v isthmus. Exkreční porus se nachází ve výši metakorpu. Zbývající část těla je vyplněna střevem a gonádami. Ovaria jsou párová, vajíčka kulovitá, vejčitá, 43 * 35 * 5 µm. Vulva ústí za polovinou těla.

Samec je niťovitý se zahnutou ocasní částí, hlavový konec je zúžený více než u samice. Ocasní část tvoří krátké mukro. Hlavové papily a vnitřní orgány jsou stejné jako u samice. Testis je jedno, přehnuté v distální části. Přítomno je 5 – 7 párů preanálních a 3 – 5 párů postanálních papil (Nguyen et al. (2007) uvádí 11 nebo 12 párů papil) a jedna adanální papila. Spikuly jsou srpkovité se zřetelným manubriem. Gubernákulum je na proximálním konci rozšířené a hákovité, distální část zúžena v hrotovité zakončení.

Invazní larva (L3) má na povrchu těla uvolněnou kutikulu druhého instaru. Tělo je velmi štíhlé, hlavová část s ústním otvorem je tupá, ocasní část vybíhá v ostrou špici. Uspořádání vnitřních orgánů je stejné jako u dospělců. Základy gonád se jeví jako světlolomná skvrna ve středu těla. Ústní otvor je uzavřený. Cefalické papily jsou nezřetelné, labiální chybí.

Amfidy ústí nad cefalickým kruhem. Kutikula je pravidelně kroužkovaná. Hlavová část bez rýhování. Laterální pole tvoří dvě zdvojené podélné linie.

Velikost těla jedinců z axenických kultur v μm je následující: samice obří generace – 2 358, normální generace - 1 474; samec obří generace - 1 306, normální generace – 986; invazní larva – 822.

(Weiser a Mráček, 1988; Nguyen et al. 2007)

***Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934)**

Samice má hladkou kutikulu a hlavu se 6 labiálními papilami a 4 cephalické papily v kruhu. Pysky nezřetelné. Ocasní část krátká s malým mukrem. Přední část jícnu je redukována a terminální bulbus má chlopně. Exkreční porus ústí pod nervovým prstencem. Vnitřní orgány mají stejné uložení jako předchozí druh.

Samci mají ocasní část zakončenou mukronem. Preanální papily jsou umístěné laterálně v počtu 5 – 6 párů. Dále jsou přítomny tři páry papil adanálních a 6 párů postanálních. Gubernakulum je duté a spikuly zakřivené, hnědooranžové.

Invazní larva je velice podobná předchozímu druhu, velikost 750 – 850 μm . Velikost dospělců obří generace je 3 800 – 5 900 μm u samic a 1 300 – 1 400 μm u samců.

(Weiser a Mráček, 1988; Nguyen et al. 2007)

***Steinernema arenarium* (Artjuhovskij, 1967)**

Samec má tělo nažloutlé barvy. Laterální pole a phasmidy nebyly pozorovány. Na hlavovém konci se vyskytuje šest labiálních a čtyři výrazné cephalické papily. Jícen je svalnatý, metakorpus a bazální bulbus jsou zvětšené. Na bulbu se nachází chlopně. Spikuly jsou červenohnědé, krátké. Gubernakulum je trochu kratší než spikuly. Genitálních papil je 11 až 14 párů plus jedna adanální papila.

Samice má uspořádání orgánů podobné samci, je větší. Má žlutavé střevo a ovaria. Na hlavovém konci je 6 labiálních a 4 cephalické papily. Jícen má výrazný metakorpus. Bazální bulbus má chlopně. Vulva má ztlustlé pysky.

Invazní larva třetího instaru je poměrně dlouhá a robustní.

Velikosti jedinců v μm jsou následující: samec obří generace 1 845 μm , samice obří generace 5 807 μm , invazní larva 1 217 μm .

(Weiser a Mráček, 1988; Nguyen et al. 2007)

2.8.2. Heterorhabditidae (Poinar, 1976)

***Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976)**

Hlava je zaokrouhlená se šesti zřetelnými pysky a šesti labiálními papilami, cephalické papily nebyly pozorovány. Amphidy jsou v blízkosti kruhu labiálních papil. Stoma je redukované. Cheilorhabdiony jsou světlé lemy přední části stomatu. Metarhabdiony jsou připojeny k prorhabdionům a mezorhabdionům, které jsou splynuté, telorhabdiony chybí. Jícen má zřetelný terminální bulbus. Nervový prstenec je okolo isthmu před terminálním bulbem. Exkretční porus se nachází pod bází terminálního bulbu. Laterální pole a phasmidy jsou nezřetelné. Parthenogenetické samice mají funkční vulvu, bisexuální generace ji má uzavřenou, nefunkční. Ocasní část je hrotovitá. Samci mají jednoduché, rovné spikukly s okrouhlým manubriem. Gubernákulum má proximální část zakřivenou mezi spikukly. Otevřená bursa má 9 párů papil. Invazní larvy mají ústní i řitní otvor uzavřený, neboť trávicí soustava je nefunkční. Kutikula je rýhovaná a ocasní část je zašpičatělá. Invazní larva uzavřena v kutikule předchozího instaru. Pouzdro ovšem odhazuje po opuštění mrtvého hostitele.

(Weiser a Mráček, 1988; Nguyen a Hunt, 2007)

2.8.3. Rhabditidae (Oerley, 1880)

***Phasmarhabditis* (Andrássy, 1976)**

Druhy velké 0,9 až 3,4 mm. Kutikula je hladká. Je přítomno 6 dobře patrných pysků. Hlavová část krátká, jen 1 až 2krát delší než široká. Cheilostoma je sklerotizované a malé. Metastoma má tři nepatrné výstupky. Zúžení jícnu je přítomné. Corpus je vzadu zvětšený. Samičí gonády jsou párové. Spikukly nejsou přítomné. Bursa je peloderánní, na ventrální straně, tvaru kosočtverce a v předu otevřená. V okolí bursy je přítomno také 9 párů papil. Phasmidy s papilami jsou prodloužené, případně tyčinkovité a vyčnívající z kontury těla. Ocasní část samic je kuželovitá, nebo kulovitá, ostře zašpičatělá. Larvy jsou často stočené. Žijí v půdě ve vlhkých lokalitách.

(Andrássy, 1984)

2.9. Přípravky na bázi entomopatogenních hlístic

Dle Seznamu registrovaných přípravků a evidovaných prostředků na ochranu rostlin 2007 jsou v České republice dva přípravky evidovány a jeden registrován. Jedná se o přípravky Entonem a Larvanem, které jsou označeny jako Evidované biologické přípravky na bázi

makroorganismů (B2), a přípravek Nemaslug uvedený ve skupině A3 Registrované biologické přípravky na bázi makroorganismů. (anonym 1)

2.9.1. Nemaslug

Účinný makroorganismus: *Phasmarhabditis hermaphrodita* (37 %)

Registrant: Biocont Laboratory spol. s r.o.

Biologický přípravek s živými makroorganismy *Phasmarhabditis hermaphrodita* určený proti slimákům a plzákům ve všech kulturách.

Působení přípravku:

Parazitické hlístice napadají slimáky v půdě a pronikají do jejich těla. Hlístice nesou symbiotickou bakterii (*Moraxella osloensis*), kterou vypustí uvnitř hostitele. Bakterie se množí a v kombinaci s nematody zapříčiní smrt hostitele. Po určité době vývoje nová generace hlístic opustí hostitele a vyhledává dalšího. Napadený slimák přestane do 3 až 5 dnů žrát a během 7–21 dnů po aplikaci pod zemí hyne.

Aplikace přípravku:

Přípravek se aplikuje na vlhkou nebo předem provlhčenou půdu. Po ošetření je vhodné zalít porost vodou, aby byly hlístice zaplaveny do půdy. Maximální přípustný tlak při aplikaci je 5 barů a otvory trysek a filtrů minimálně 1 mm. Přípravek je vhodné aplikovat navečer při optimální teplotě půdy 5–20 °C, neaplikuje se za intenzivního slunečního svitu. Přípravek může snížit početnost populací volně žijících měkkýšů (i vodních) v blízkosti vodních ploch. Účinnost má především na menší a málo hmotné slimáky a plzáky.

K dostání je na našem trhu ve dvou baleních, 12 nebo 30 mil. ks/balení, určených na plochu 40 nebo 100 m², to znamená, že dávka na 1 m² je 300 000 jedinců.

(Anonym 3, 2008; Anonym 1, 2007)

2.9.2. Larvanem

Účinný makroorganismus: *Heterorhabditis megidis* (5/50 mil ks/balení)

Registrant: Biocont Laboratory spol. s r.o., Zemědělské družstvo Chelčice

Biologický přípravek s živými makroorganismy *Heterorhabditis megidis* určený proti larvám lalokonosce libečkového a dalších lalokonosců v sadech, sklenících a okrasných rostlinách a pěstitelských substrátech.

Působení přípravku:

Hlístovky v půdě napadají larvy lalokonosců a jiného škodlivého hmyzu. Napadené larvy v průběhu 1 až 2 dnů hynou. Jsou zabity bakterií *Photorhabdus luminescens*. Uvnitř mrtvé

larvy hlístovky dokončí svůj vývoj, rozmnoží se a z mrtvé larvy se do půdy dostanou nové invazní larvy hlístovky, které mohou napadat další hostitele.

Aplikace přípravku:

Přípravek se aplikuje v dávce 0,5 mil. ks/m² formou závlivky nebo postřiku na vlhkou půdu. Po aplikaci se doporučuje závlivka, aby se hlístovky dostaly do půdy. Optimální teplota substrátu je 15 °C až 20 °C. Samozřejmostí je dostatečná vlhkost půdy nebo substrátu po dobu působení. Přípravek je vhodné aplikovat navečer, nikoli za intenzivního slunečního svitu. Přípravek účinkuje nejen na lalokonosce, ale i na jiné larvy škodlivého hmyzu, které se v půdě vyskytují (ponravy, drátovci...).

(Anonym 5, 2008; anonym 1, 2007).

2.9.3. Entonem

Účinný makroorganismus: *Steinernema feltiae* (5/50 mil ks/balení)

Registrant: Biocont Laboratory spol. s r.o., Zemědělské družstvo Chelčice

Biologický přípravek s živými makroorganismy *Steinernema feltiae* určený proti larvám smutnic a tiplic v sadech, sklenících a okrasných rostlinách a pěstitelských substrátech, zahradách, zelenině, okrasných dřevinách a žampionárnách.

Působení přípravku:

Hlístovky v půdě napadají larvy smutnic a tiplic a jiného škodlivého hmyzu. Napadené larvy v průběhu 1 až 2 dnů hynou. Jsou zabity bakterií *Xenorhabdus bovienni*. Uvnitř mrtvé larvy hlístovky dokončí svůj vývoj, rozmnoží se a z mrtvé larvy se do půdy dostanou nové invazní larvy hlístovky, které mohou napadat další hostitele.

Aplikace přípravku:

Aplikace přípravku je stejná jako u předchozího preparátu (Larvanem). Přípravek účinkuje kromě smutnic a tiplic i na další organismy (lalokonosci, ponravy, drátovci, osenice...)

(Anonym 5, 2008; anonym 1, 2007).

2.9.4. Přípravky registrované v zahraničí

Za hranicemi naší země působí mnoho firem zabývajících se produkcí a distribucí přípravků na bázi nematodů určených pro ochranu rostlin. Mezi nejvýznamnější patří bezesporu Becker Underwood, firma, která je držitelem patentu na masové produkce *Phasmarhabditis hermaphrodita*. Tohoto nematoda produkuje a distribuuje prostřednictvím dalších společností jako přípravek Nemaslug, o němž už byla řeč výše.

Další přípravky z celkem bohaté nabídky jsou například: Nemasys – *Steinernema feltiae* (90%) proti třásněnce západní (*Frankliniella occidentalis*), Nemasys L – *Steinernema kraussei* (33%) proti lalokonosci rýhovanému (*Otiorrhynchus sulcatus*), Nemasys H – *Heterorhabditis megidis* (90%) proti lalokonosci rýhovanému (*Otiorrhynchus sulcatus*), Nemasys G – *Heterorhabditis bacteriophora* (90%), Nematac S – *Steinernema scapterisci* (90%) proti krtonožce obecné (*Gryllotalpa gryllotalpa*). (Anonym 4, 2008)

Mezi další významné firmy patří společnost Biobest. Ta distribuuje například přípravek BGreen na bázi *Heterorhabditis bacteriophora* určený proti listokazu zahradnímu (*Phyllopertha horticola*) a lalokonosci rýhovanému (*Otiorrhynchus sulcatus*). Další jsou Carpocapsae systém (*Steinernema carpocapsae*) určený proti housenkám různých druhů motýlů čeledi můrovitých (Noctuidae) a dalším škůdcům (tiplice, krtonožka obecná...), Heterorhabditis systém (*Heterorhabditis megidis*) mající za cíl omezení výskytu larev brouků, Kraussei System (*Steinernema kraussei*) proti lalokonosci rýhovanému (*Otiorrhynchus sulcatus*), Felitiae System (*Steinernema feltiae*) do boje se smutnicemi (Sciaridae) i třásněnkou západní (*Frankliniella occidentalis*) a konečně– Phasmarhabditis systém (*Phasmarhabditis hermaphrodita*) určený pro boj s měkkýši (Anonym 2, 2008).

Třetí v Evropě významnou společností je Koppert, která produkuje již zmiňované přípravky Entonem a Larvanem.

3. Metodika

3.1. Druhy testovaných hlístovek a pesticidy

Všechny testované pesticidy jsou uvedené v tabulce číslo 3. Testovány byly tři druhy entomopatogenních hlístovek; rod *Steinernema arenarium* (slovenský izolát z okolí Malacek), *Steinernema feltiae* (izolát Ustinov, Rusko, topotyp druhu) a *Steinernema kraussei* (bulharský izolát, Vitoša). Označení druhů je následující *S. arenarium* – SLOV, *S. feltiae* – NFUST, *S. kraussei* – VA6.1.

3.2. Chov hlístovek pro potřeby pokusu a jejich uchování

K množení všech tří druhů hlístovek byly použity housenky zavíječe voskového (*Galleria mellonella*) posledního instaru. Pro invazi jsme používali petriho misky, průměr 9 cm, s vlhkým filtračním papírem umístěným na dně. Do takto připravené misky se vloží housenky zavíječe voskového a přidá se dané množství invazních larev hlístic. Uhybnulé parazitované housenky se musí následně omýt destilovanou vodou (je možné i ostříkání 70 % lihem) a vloží se na vodní past. Vodní past je víčko petriho misky, průměr 9 cm, obalené filtračním papírem a postavené dnem vzhůru ve větší petriho misce, která je naplněna nízkou vrstvou destilované vody. Z této se pak invazní larvy slévají, ve zkumavkách se nechají sedimentovat, posléze se odstraní vodní sloupec nad nimi a opět se doplní destilovaná voda. To se provede podle potřeby několikrát, až získáme čistý nezakalený roztok. Invazní larvy pak uchováváme v petriho miskách (průměr 9 cm) v asi 1 – 2 mm vysokém sloupci vody při teplotě 14 – 15°C. Při dlouhodobém skladování se používají pro uchování epruvety s vlhkou molitanovou drtí.

3.3. Toxicita pesticidů pro hlístovky

Vliv pesticidu na úmrtnost a přežívání hlístovek byl zjišťován ve vodném roztoku (10 ml) v petriho miskách (průměr 9 cm). Pokusy byly prováděny vždy ve čtyřech koncentracích (2x, 1x, 0,5x a 0,25x výrobcem doporučená koncentrace) plus kontrola (destilovaná voda). To vše ve dvou opakováních a celkem 4 časech (24, 48, 72 a 96 hodin). Do každé petriho misky bylo napipetováno celkem 10 ml roztoku pesticidu příslušné koncentrace a dále přidáno tisíc invazních larev vybraného druhu hlístovky. Všechny pokusy probíhaly při teplotě 14 °C, která nejlépe odpovídá teplotě životního prostředí hlístovek.

Před odečtem mortality byly hlístovky převedeny z prostředí pesticidu do čisté vody. Tato operace probíhala tak, že se celý obsah petriho misky přelil přes síto z uhelony, na kterém zůstaly pouze živé a mrtvé invazní larvy, roztok pesticidu prošel uhelonem. Potom

následovalo propláchnutí vodou a smytí hlístovek do zkumavky, kde byl obsah doplněn na 5 ml. Z tohoto množství roztoku se po důkladném zamíchání odebíralo vždy 12 kapek o objemu 10 µl. Kapky byly následně prohlédnuty pod mikroskopem a byl zaznamenán počet živých a mrtvých larev. Těchto údajů bylo využito ke stanovení mortality v procentech a pro další statistické vyhodnocení, jakož i rozdělení přípravků dle stupnice toxicity IOBC/WPRS.

Tabulka číslo 2: Mezinárodní stupnice toxicity podle IOBC/WPRS

TŘÍDA	TOXICITA	PROCENTICKÁ MORTALITA
1	Netoxický	< 25 %
2	Mírně toxický	25 % - 50 %
3	Středně toxický	50 % - 75 %
4	Toxický	> 75 %

3.4. Vliv pesticidů na invaznost hlístovek

Pro zjišťování vlivu pesticidů na invaznost hlístovek bylo použito stejné schéma pokusu jako u zjišťování toxicity. Na dno petriho misek (průměr 9 cm) byl však vložen vlhký filtrační papír a byly přidány vždy tři housenky zavíječe voskového spolu se 100 invazních larev. Množství sto živých invazních larev je stanoveno na základě zjištěné procentické mortality jako příslušný podíl objemu 5 ml, ze kterého byly odebírány larvy pro zjištění mortality. Takto připravené petriho misky byly po dobu pěti dnů od vystavení uchovávány v temnu při teplotě 14°C. Po uplynutí doby pěti dnů byly mrtvé housenky pitvány a zaznamenán počet nalezených dospělých jedinců. Na základě těchto údajů a jejich statistického vyhodnocení byly přípravky rozděleny dle jejich vlivu na snížení invaznosti.

Tabulka číslo 3: Hodnocení vlivu pesticidů na invaznost hlístovek

TŘÍDA	INVAZNOST	PROCENTICKÉ SNÍŽENÍ INVAZNOSTI
1	Vysoká	< 25 %
2	Střední	25 % - 50 %
3	Nízká	50 % - 75 %
4	Velmi nízká	> 75 %

3.5. Selekce hlístovky *Steinernema feltiae* na zvýšení odolnosti

Pro rezistentní šlechtění byla vybrána hlístovka *Steinernema feltiae* a přípravek Vydate (nematocid). Pokus probíhal v pěti opakováních a dvou kontrolách (nešlechtěná populace v roztoku přípravku Vydate (koncentrace 0,125 %) a v čisté vodě). Do každé petriho misky o průměru 90 mm bylo vloženo 10 000 invazních larev v 10 ml vody nebo roztoku pesticidu. V tomto prostředí byly larvy ponechány při laboratorní teplotě po dobu 48 hodin. Po uplynutí této doby následuje odečet mortality: larvy jsou propláchnuty vodou na sítku z uhelonu, převedeny do známého objemu vody a spočítány živé a mrtvé zvlášť (10 kapek po 10 μ l). Na základě těchto údajů je stanovena mortalita.

Druhou fází pokusu je zjištění invaznosti larev. Do petriho misky o průměru 90 mm s filtračním papírem na dně je přidáno 1 000 invazních larev a vždy 5 housenek *Galleria mellonella*. Takto jsou petriho misky ponechány v temnu při laboratorní teplotě a přibližně dva dny po úmrtí jsou housenky pitvány a je zaznamenán počet nalezených nematodů.

Poslední fází pokusu je množení přeživších invazních larev. To je prováděno stejně jako zjišťování invaznosti, avšak housenky nejsou pitvány, nýbrž jsou umístěny na vodní pasti za účelem získání nové generace invazních larev, které jsou pravděpodobně odolnější vůči pesticidu. Získané invazní larvy jsou pak ponechány v temnu při teplotě 15°C a v chladícím boxu po dobu 14 dní – pak následuje celý pokus znovu. Pokus byl zopakován celkem 5x.

3.6. Statistické vyhodnocení

Výpočty byly prováděny v programu Statistica 7, některé dílčí výpočty pak v programu MS Excel.

3.6.1. Mortalita

K vyhodnocení dat získaných z pokusu pro zjištění vlivu pesticidů na mortalitu hlístovek byla použita logistická regrese, pomocí které je možné predikovat pravděpodobnost, zda sledovaná vlastnost nastala či nenastala. Při výpočtu regresních koeficientů se uplatňuje metoda maximální věrohodnosti. Logistická funkce je omezená na intervalu 0 a 1. Pozitivní hodnoty koeficientu β indikují vzrůstající funkci a naopak. Samotné řešení je bez použití výpočetní techniky prakticky nemožné (Rost, 2007).

Logistická regrese se používá pro analýzu vztahu jedné nebo více nezávislých proměnných a binární závisle proměnné. Logistický model je možné vyjádřit následujícím způsobem:

$$Z = \frac{e^{(\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2)}}{1 + e^{(\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2)}}$$

Na základě tohoto modelu je pak možno předpovídat, jaká bude mortalita v daném čase a při dané koncentraci pesticidu, případně jaká musí být koncentrace pesticidu nebo délka jeho působení na hlístovky pro dosažení určité mortality.

3.6.2. Invaznost

Pro vyhodnocení vlivu pesticidu na invaznost byla použita mnohonásobná lineární regrese. Mnohonásobná lineární regrese popisuje závislost jedné závisle proměnné na dvou a více nezávisle proměnných. Na základě zjištěných parametrů funkce, která popisuje daný model, je možné predikovat počet nematodů v jedné housence zavíječe voskového za podmínek metodiky.

Model, jehož obrazem je rovina v prostoru, lze zapsat pomocí regresní rovnice:

$$Y = \alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2$$

Procentické vyjádření snížení vaznosti bylo dosaženo tak, že dle získaného modelu byla predikována invaznost v čase 24 hodin při standardní koncentraci a zároveň invaznost při nulové koncentraci pesticidu. Tedy snížení invaznosti (S) je možné vypočítat dle následujícího vzorce, kde A je invaznost v čase 24 hodin a při standardní koncentraci a B je invaznost v čase 24 hodin a při nulové koncentraci (destilovaná voda).

$$S = \left(1 - \frac{A}{B}\right) * 100$$

3.6.3. Selekcce na zvýšení odolnosti

Data charakterizující změnu mortality a invaznosti entomopatogenních hlístic byla podrobena jednoduché lineární regresní analýze s cílem zjistit, zda existuje trend ve snižování mortality a růstu invaznosti hlístovek v průběhu šlechtění. K hodnocení byla použita data jako procentická mortalita a invaznost vyjádřená počtem hlístovek na jednu housenku v podmínkách metodiky.

Tabulka číslo 4: Přehled testovaných pesticidů

Název přípravku	Biologická účinnost	Chemická skupina	Účinná látka	Obsah účinné látky	Koncentrace doporučená výrobcem	Cílový organismus
Lontrel 300	herbucid	pyridin	clopyralid	300 g/l	1 l/ha	dvouděložné plevely, hvězdnicovité
Starane 250 EC	herbucid	pyridin	fluroxypyr	250 g/l	3 l/ha	dvouděložné plevely odolné, svízele
Treflan 48 EC	herbucid	dinitroanilin	trifluralin	480 g/l	4 l/ha	dvouděložné plevely, lipnicovité
Sumithion super	insekticid	organofosfát	fenitrothion	1000 g/l	0,1 %	saví a žraví škůdci
Previcur 607 SL	fungicid	karbamát	propamocarb	607 g/l	0,2 %	houbové choroby
Dursban 10 G	insekticid	organofosfát	chlorpyrifos	10 %	20 kg/ha	žraví škůdci
Merpan 80 WG	fungicid	ftalimid	captan	80 %	0,2 %	houbové choroby
Karate 2,5 EC	insekticid	pyretroid	lambda-cyhalotrin	25 g/l	0,1 %	žraví a saví škůdci
Sulka	fungicid/insekticid	sulfid	polysulfid vápenatý	14 %	4 %	houbové choroby, živočišní škůdci
Novozir MN 80	fungicid	ethylen(bis) dithiocarbamate	mancozeb	80 %	0,2 %	houbové choroby
Atonik PRO	regulátor růstu	nitrofenol	natrium-2-methoxy-5-nitrofenolát, natrium-2-nitrofenolát, natrium-4-nitrofenolát	1 g/l 2 g/l 3 g/l	0,04 %	stimulace výnosu, zakořenění a klíčení
Omite 570 EW	akaricid	ester sulfidu	Propargit	570 g/l	0,1 %	sviluška chmelová, vlnovník rybízový
Vydate	nematocid/insekticid	karbamát	oxamyl	24 %	0,25 %	hmyz, háďátka

4. Výsledky

4.1. Mortalita - parametry modelů

Legenda k tabulkám a modelu:

Parametry funkce	$\beta_0, \beta_1, \beta_2$
X_1	Koncentrace pesticidu v %
X_2	Čas v hodinách
Z	Mortalita

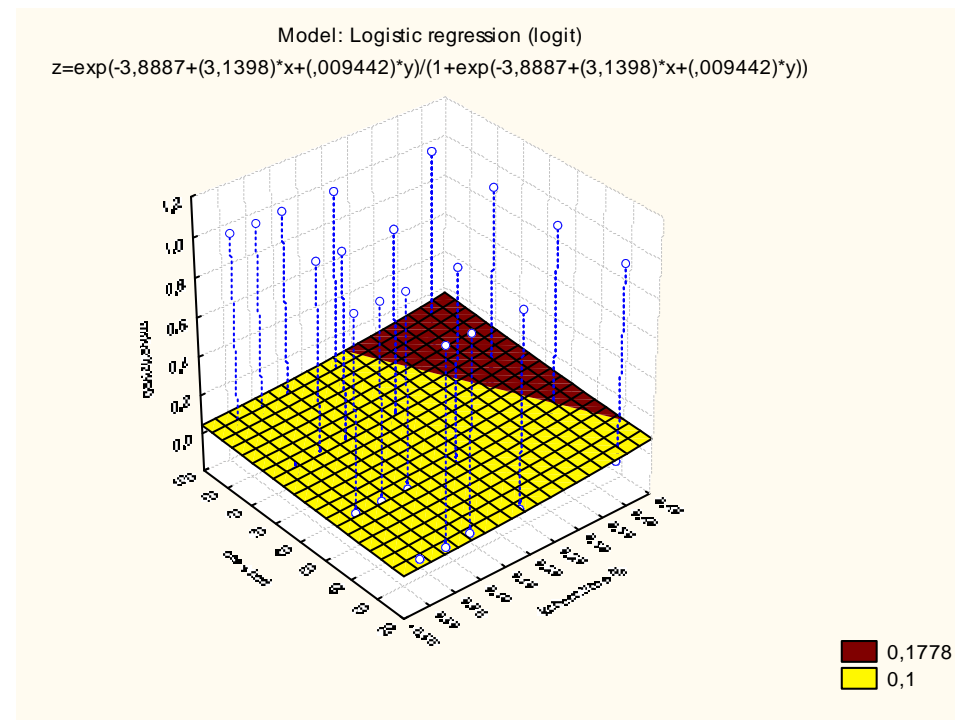
Barevná legenda v grafu regresní roviny značí úroveň mortality v dané kombinaci času vystavení a koncentrace pesticidu. Je uvedena v absolutních číslech. Pokud je počet úrovní mortality větší než 6 (například grafy číslo 10 až 12) je uváděno jen základní barevné schéma (4 úrovně).

4.1.1. Lontrel 300 – ú. I. clopyralid

Graf číslo 1: Mortalita *Steinernema feltiae* – Lontrel 300 (ú.l.clopyralid)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,888	3,139	0,009
N = 606	Final loss: 134,356	Chi2(2)=9,881	p=,007

$$Z = \frac{e^{(-3,88869+3,13980X_1+0,009442X_2)}}{1+e^{(-3,88869+3,13980X_1+0,009442X_2)}}$$



Graf číslo 2: Mortalita *Steinernema arenarium* – Lontrel 300 (ú.l. clopyralid)

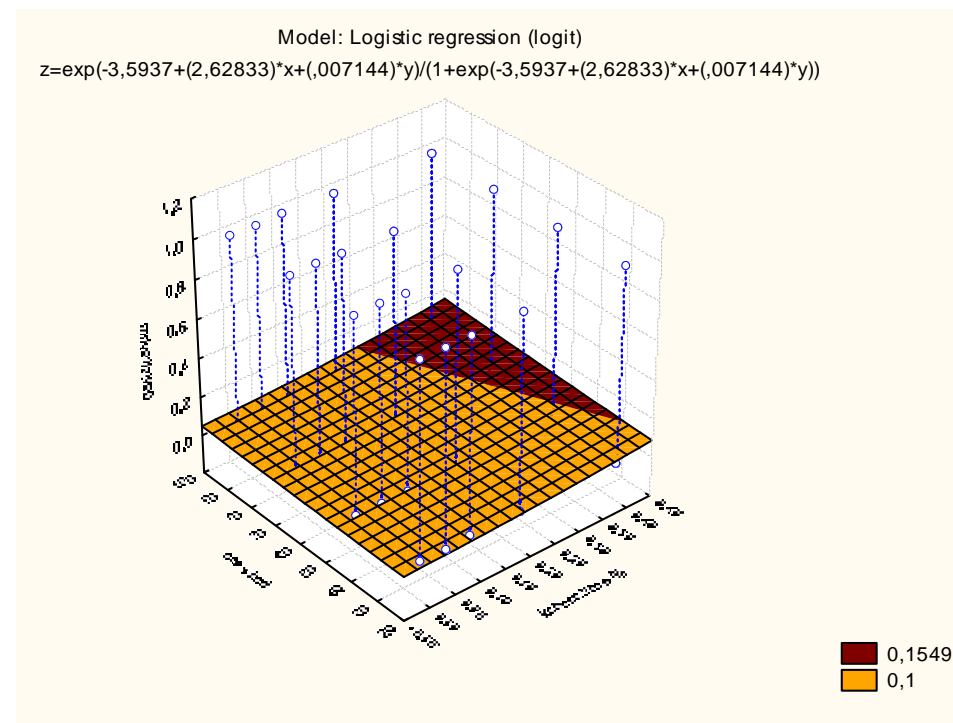
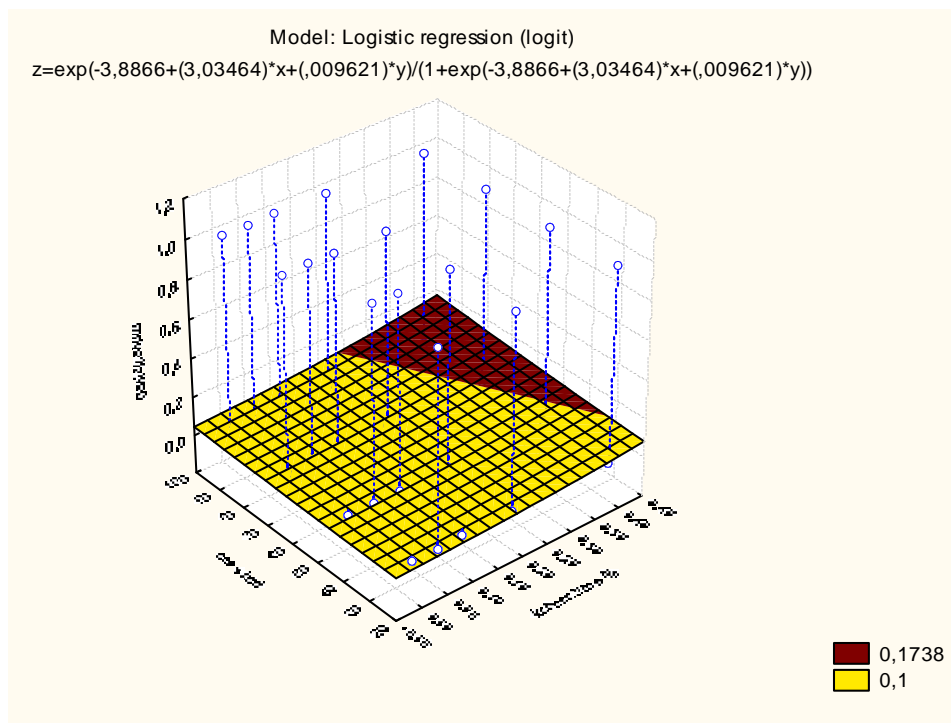
SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,886	3,034	0,009
N = 610	Final loss: 134,872	Chi2(2)=9,352	p=,009

$$Z = \frac{e^{(-3,886643+3,034639X_1+0,009621X_2)}}{1+e^{(-3,886643+3,034639X_1+0,009621X_2)}}$$

Graf číslo 3: Mortalita *Steinernema kraussei* – Lontrel 300 (ú.l. clopyralid)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,593	2,628	0,007
N = 614	Final loss: 141,773	Chi2(2)=6,923	p=,031

$$Z = \frac{e^{(-3,5937+2,62833X_1+0,007144X_2)}}{1+e^{(-3,5937+2,62833X_1+0,007144X_2)}}$$

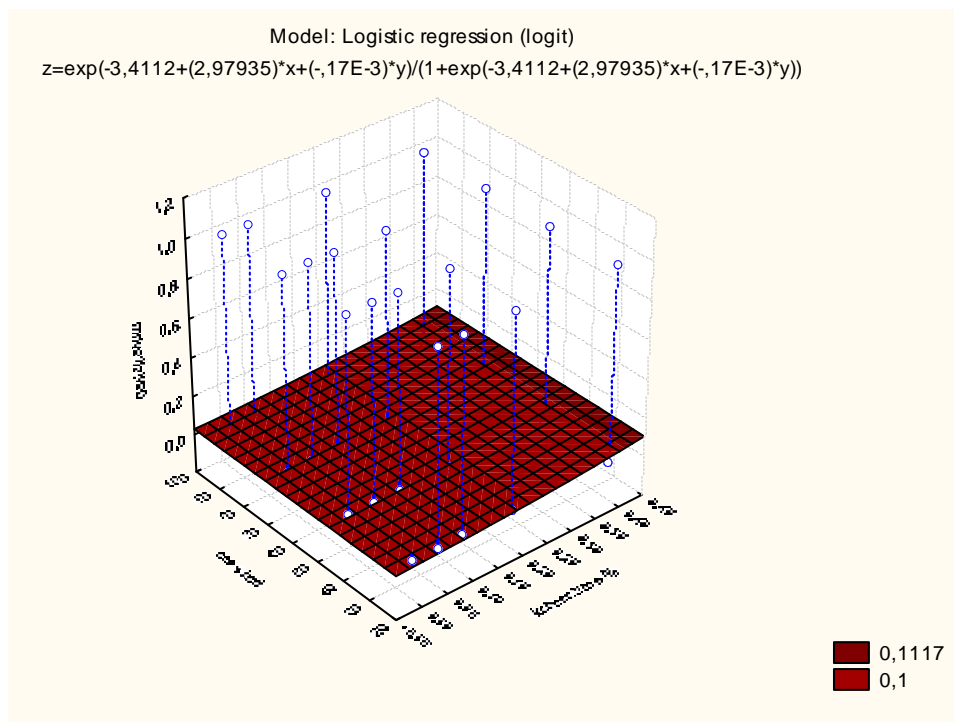


4.1.2. Previcur 607 SL – ú. I. propamocarb

Graf číslo 4: Mortalita *Steinernema feltiae* – Previcur 607 SL (ú.l. propamocarb)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,411	2,979	-0,0001
N = 623	Final loss: 125,855	Chi2(2)=6,420	p=,040

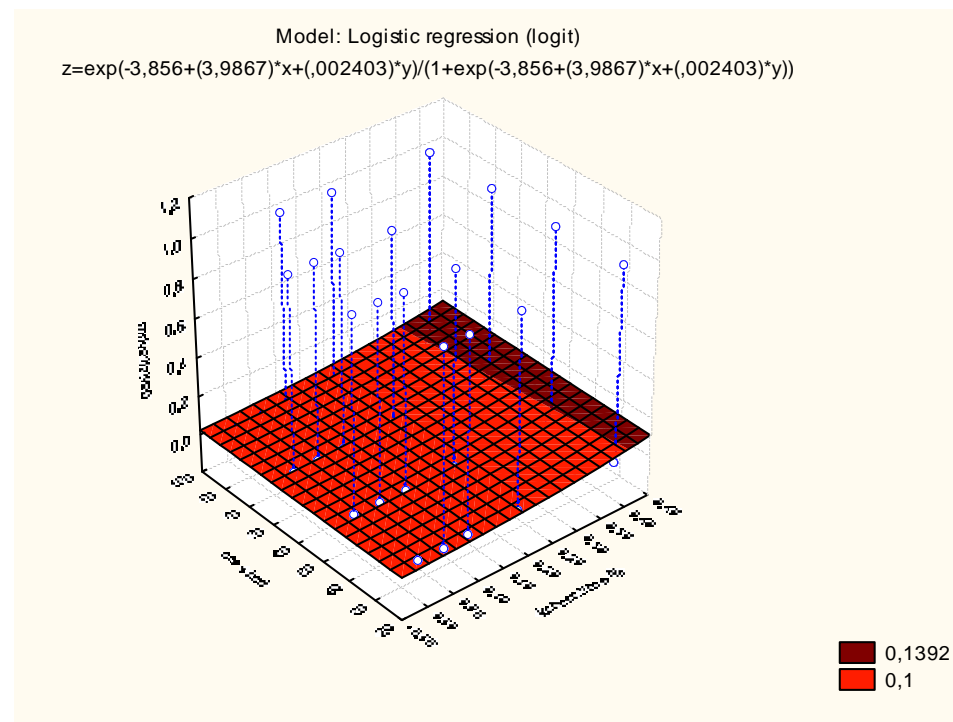
$$Z = \frac{e^{(-3,411216+2,979349X_1-0,000168X_2)}}{1 + e^{(-3,411216+2,979349X_1-0,000168X_2)}}$$



Graf číslo 5: Mortalita *Steinernema arenarium* – Previcur 607 SL (ú.l. propamocarb)

SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,856	3,986	0,002
N = 618	Final loss: 117,424	Chi2(2)=11,104	p=,004

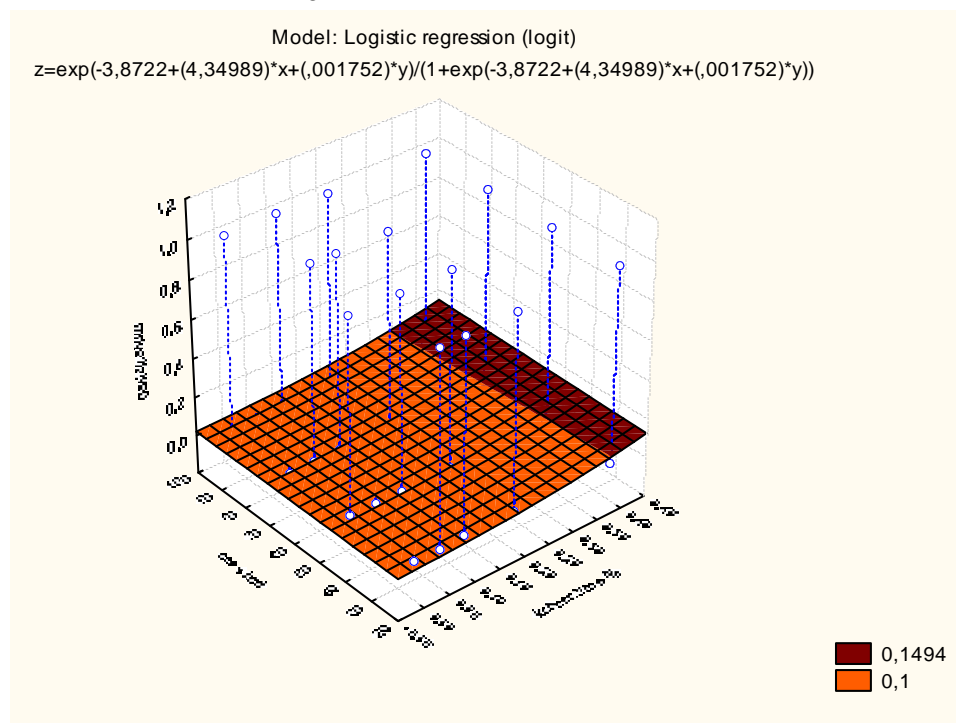
$$Z = \frac{e^{(-3,856032+3,986704X_1+0,002403X_2)}}{1 + e^{(-3,856032+3,986704X_1+0,002403X_2)}}$$



Graf číslo 6: Mortalita *Steinernema kraussei* – Previcur 607 SL (ú.l. propamocarb)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,872	4,349	0,002
N = 632	Final loss: 122,493	Chi2(2)=14,116	p=,0008

$$Z = \frac{e^{(-3,872211+4,349891X_1+0,001752X_2)}}{1 + e^{(-3,872211+4,349891X_1+0,001752X_2)}}$$

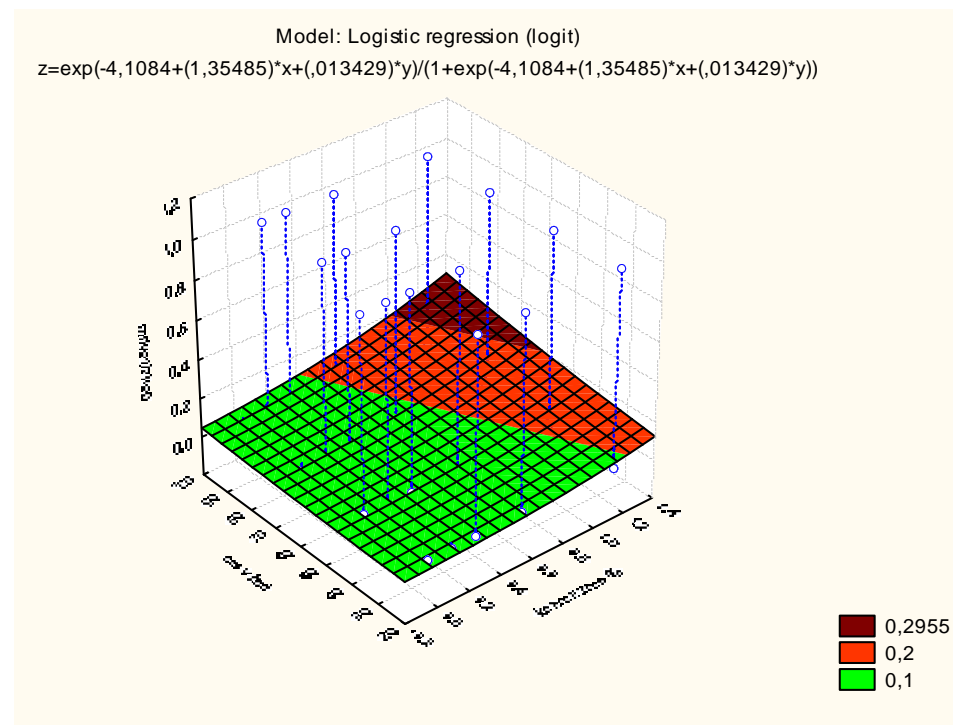


4.1.3. Starane 250 EC – ú. I. fluroxypyr

Graf číslo 7: Mortalita *Steinernema feltiae* – Starane 250 EC (ú.l. fluroxypyr)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-4,108	1,354	0,013
N = 591	Final loss: 147,302	Chi2(2)=18,625	p=,00009

$$Z = \frac{e^{(-4,108416+1,354849X_1+0,013429X_2)}}{1 + e^{(-4,108416+1,354849X_1+0,013429X_2)}}$$



Graf číslo 8: Mortalita *Steinernema arenarium* – Starane 250 EC (ú.l. fluroxypyr)

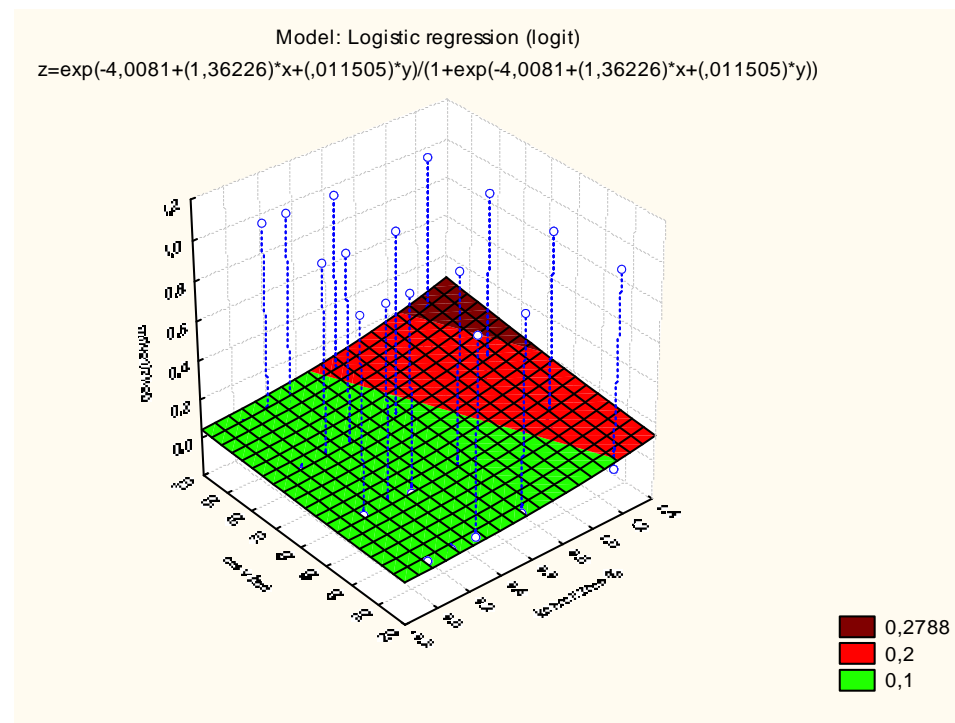
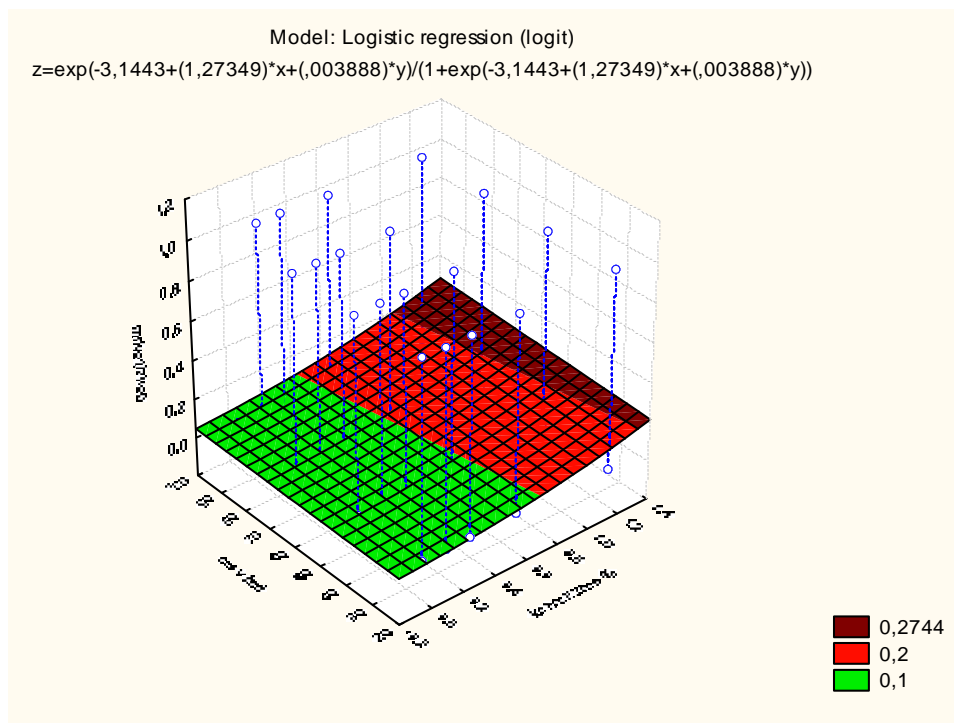
SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,144	1,273	0,003
N = 627	Final loss: 194,504	Chi2(2)=19,961	p=,00005

$$Z = \frac{e^{(-3,144317+1,273486X_1+0,003888X_2)}}{1 + e^{(-3,144317+1,273486X_1+0,003888X_2)}}$$

Graf číslo 9: Mortalita *Steinernema kraussei* – Starane 250 EC (ú.l. fluroxypyr)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-4,008	1,362	0,011
N = 598	Final loss: 148,109	Chi2(2)=18,088	p=,0001

$$Z = \frac{e^{(-4,008089+1,362264X_1+0,011505X_2)}}{1 + e^{(-4,008089+1,362264X_1+0,011505X_2)}}$$

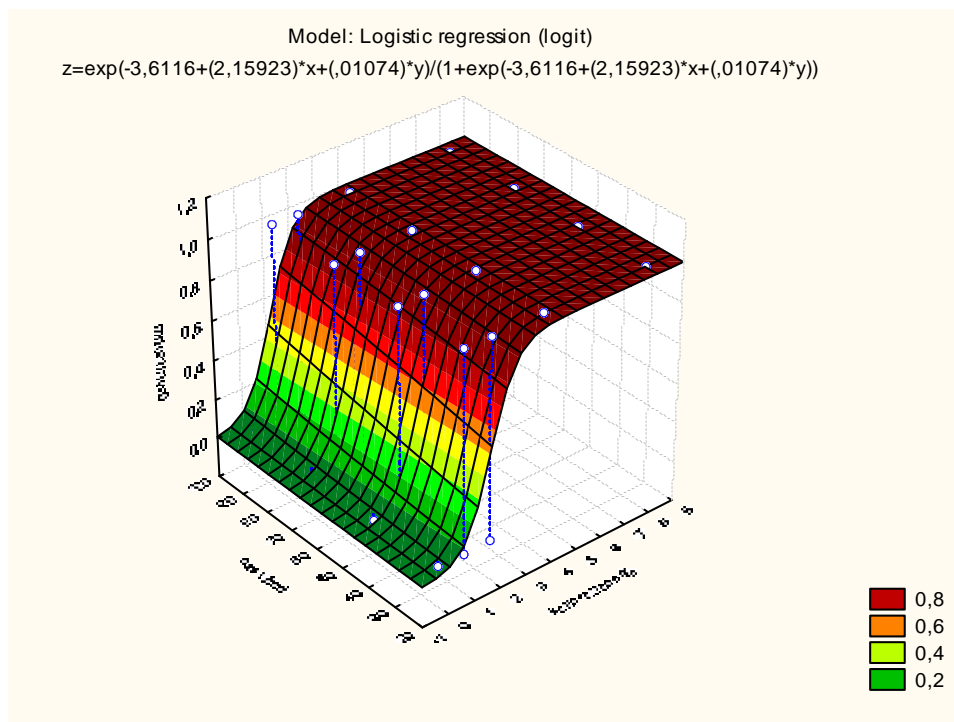


4.1.4. Sulka – ú. I. polysulfid vápenatý

Graf číslo 10: Mortalita *Steinernema feltiae* – Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,611	2,159	0,010
N = 599	Final loss: 164,530	Chi2(2)=459,69	p=0,000

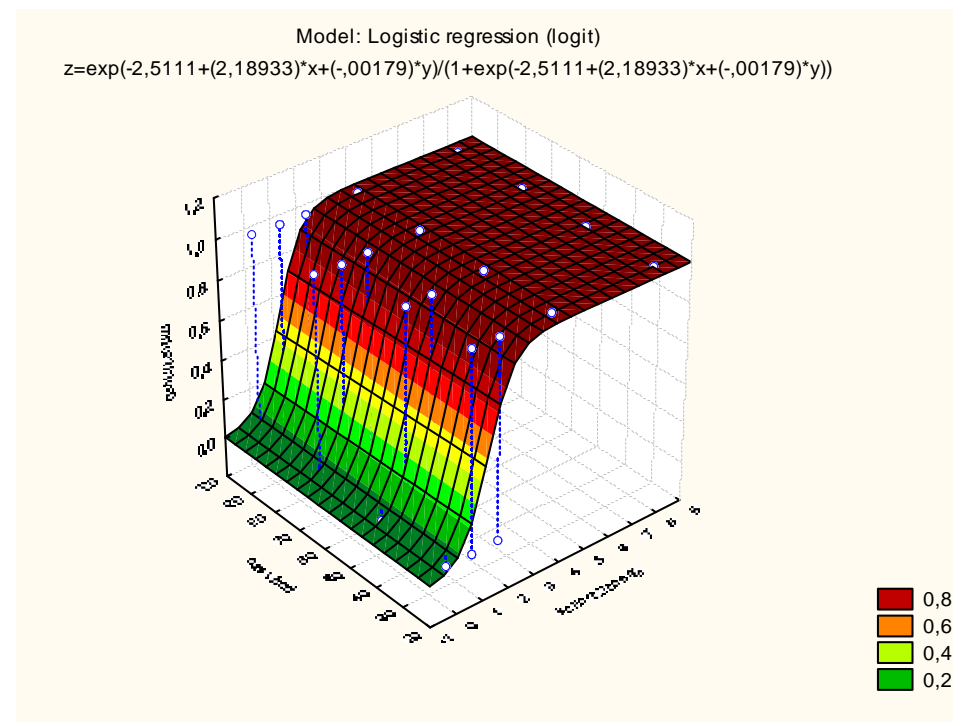
$$Z = \frac{e^{(-3,611639+2,159234X_1+0,01074X_2)}}{1 + e^{(-3,611639+2,159234X_1+0,01074X_2)}}$$



Graf číslo 11: Mortalita *Steinernema arenarium* – Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý)

SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,511	2,189	-0,002
N = 618	Final loss: 167,558	Chi2(2)=448,81	p=0,000

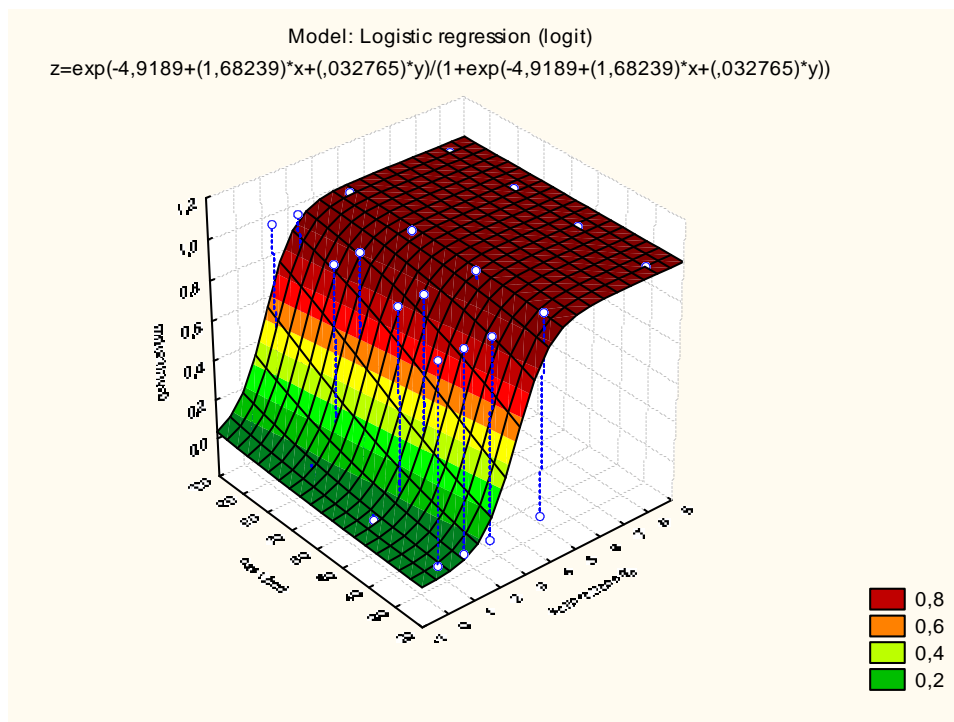
$$Z = \frac{e^{(-2,511095+2,189327X_1-0,001794X_2)}}{1 + e^{(-2,511095+2,189327X_1-0,001794X_2)}}$$



Graf číslo 12: Mortalita *Steinernema kraussei* – Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-4,918	1,682	0,032
N = 617	Final loss: 175,101	Chi2(2)=493,94	p=0,000

$$Z = \frac{e^{(-4,918897+1,682394X_1+0,032765X_2)}}{1 + e^{(-4,918897+1,682394X_1+0,032765X_2)}}$$

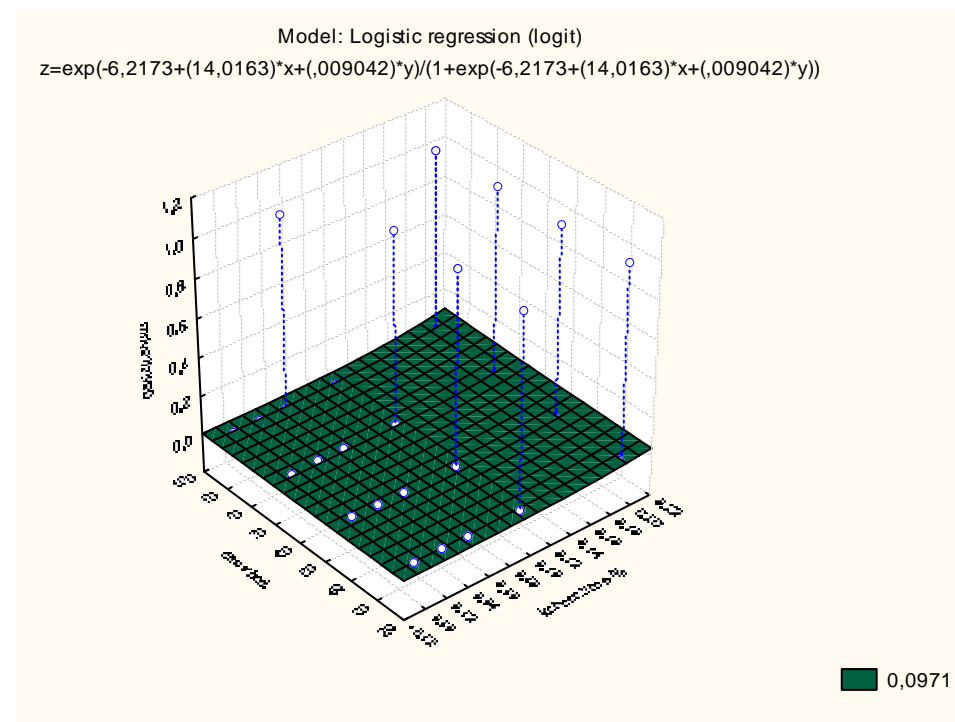


4.1.5. Sumithion super – ú. l. fenitrothion

Graf číslo 13: Mortalita *Steinernema feltiae* – Sumithion super (ú.l. fenitrothion)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-6,217	14,016	0,009
N = 662	Final loss: 49,979	Chi2(2)=11,999	p=,002

$$Z = \frac{e^{(-6,217261+14,01633X_1+0,009042X_2)}}{1 + e^{(-6,217261+14,01633X_1+0,009042X_2)}}$$



Graf číslo 14: Mortalita *Steinernema arenarium* – Sumithion super (ú.l. fenitrothion)

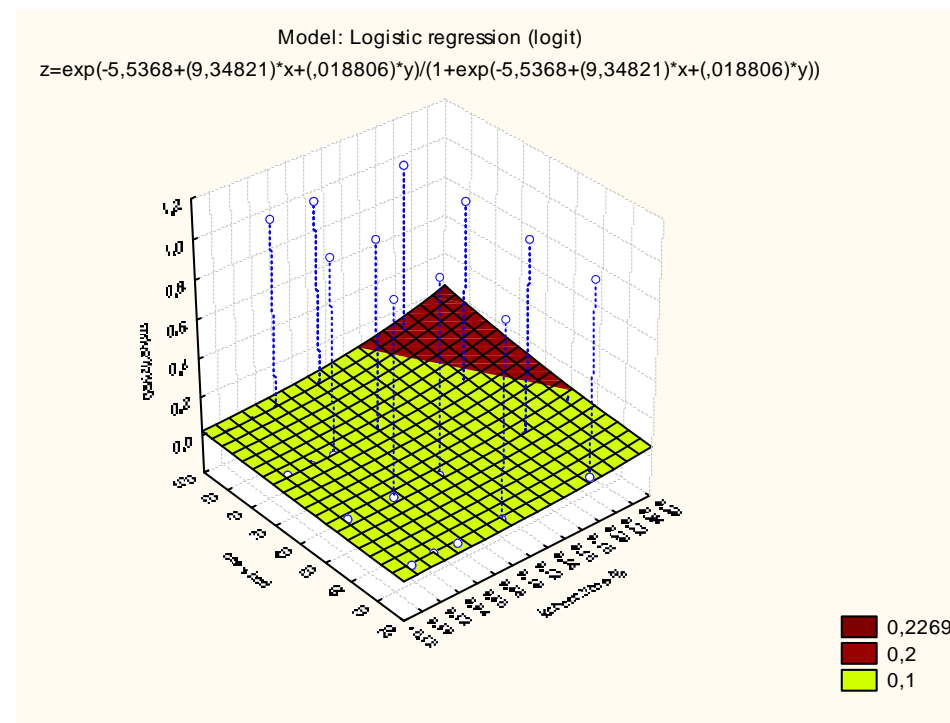
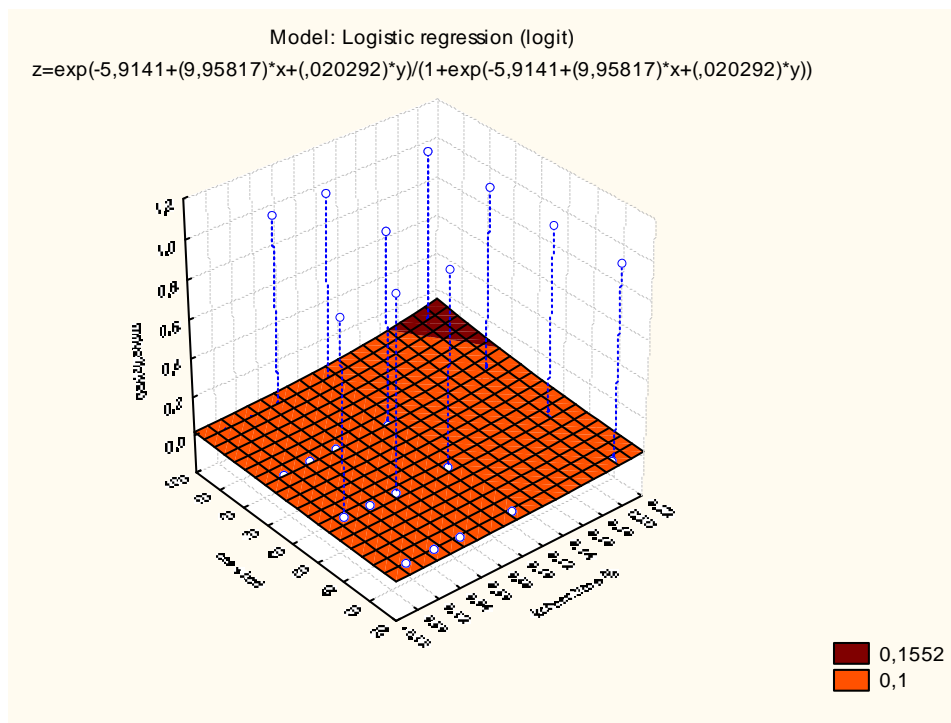
SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-5,914	9,958	0,020
N = 572	Final loss: 66,816	Chi2(2)=12,365	p=,002

$$Z = \frac{e^{(-5,914141+9,958167 X_1+0,020292 X_2)}}{1 + e^{(-5,914141+9,958167 X_1+0,020292 X_2)}}$$

Graf číslo 15: Mortalita *Steinernema kraussei* – Sumithion super (ú.l. fenitrothion)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-5,536	9,348	0,018
N = 592	Final loss: 89,672	Chi2(2)=15,159	p=,0005

$$Z = \frac{e^{(-5,536784+9,348211 X_1+0,018806 X_2)}}{1 + e^{(-5,536784+9,348211 X_1+0,018806 X_2)}}$$

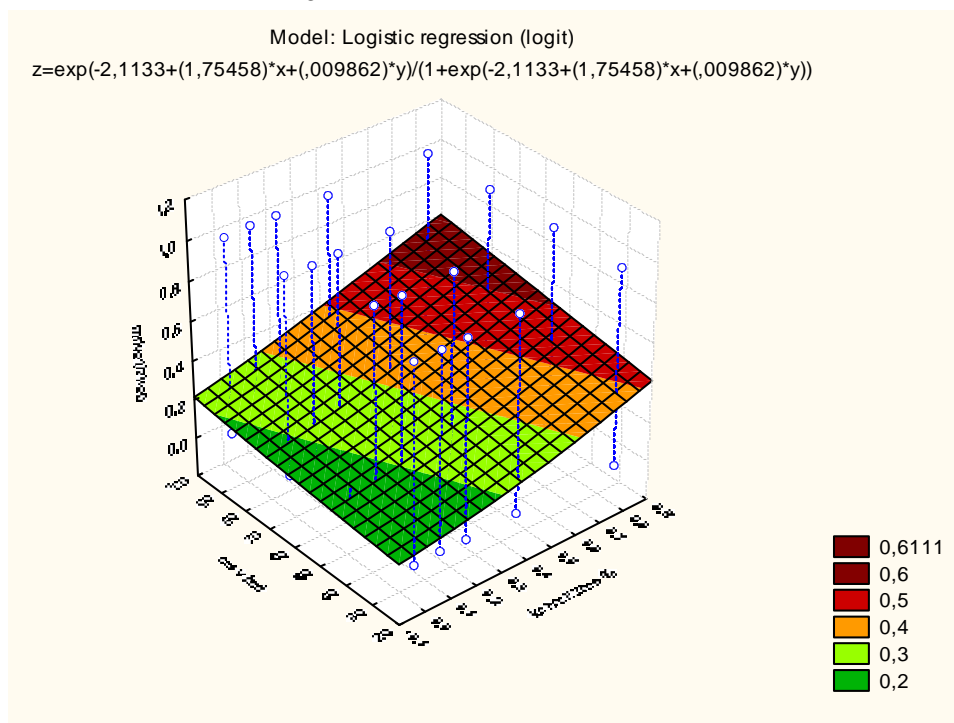


4.1.6. Treflan 48 EC – ú. I. trifluralin

Graf číslo 16: Mortalita *Steinernema feltiae* – Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,113	1,754	0,009
N = 637	Final loss: 361,201	Chi2(2)=41,618	p=,000

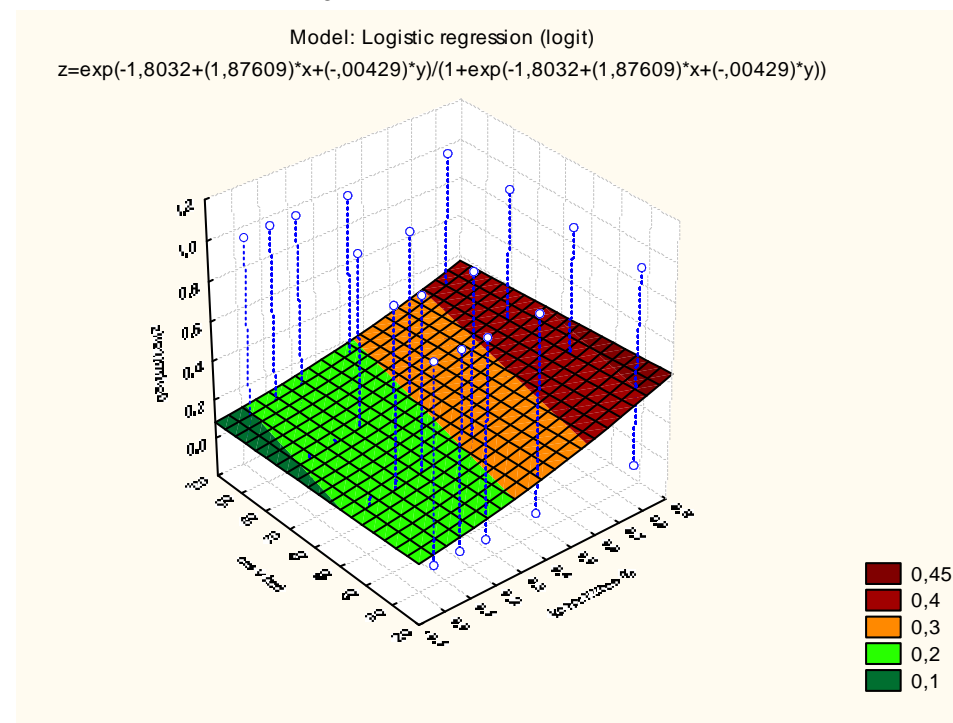
$$Z = \frac{e^{(-2,113343+1,754584X_1+0,009862X_2)}}{1 + e^{(-2,113343+1,754584X_1+0,009862X_2)}}$$



Graf číslo 17: Mortalita *Steinernema arenarium* – Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin)

SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-1,803	1,876	-0,004
N = 658	Final loss: 310,471	Chi2(2)=33,125	p=,000

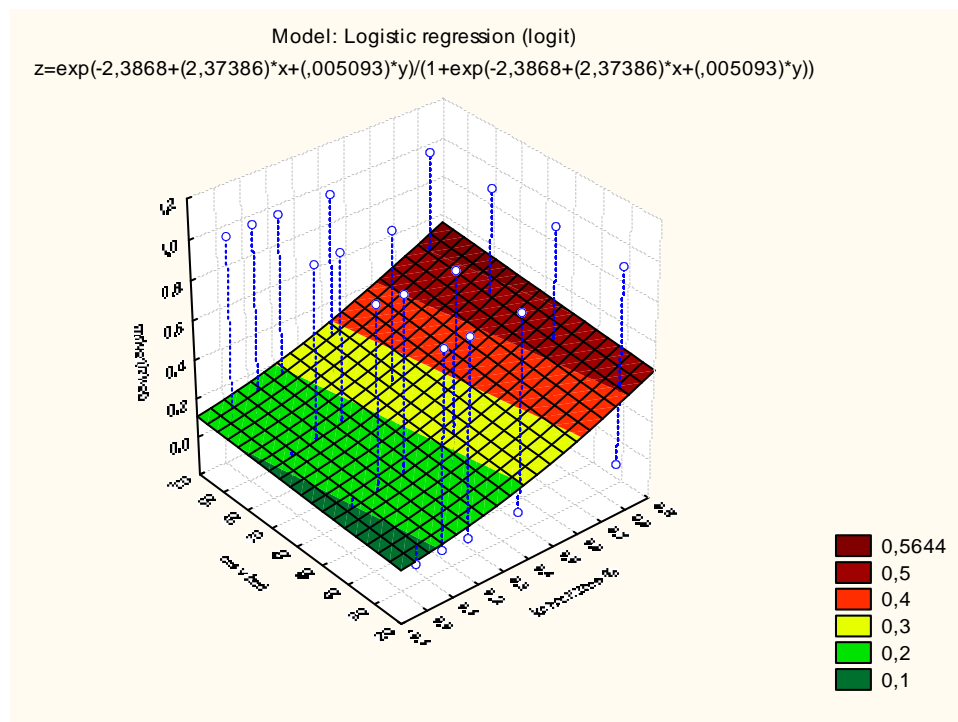
$$Z = \frac{e^{(-1,803235+1,87609X_1-0,004292X_2)}}{1 + e^{(-1,803235+1,87609X_1-0,004292X_2)}}$$



Graf číslo 18: Mortalita *Steinernema kraussei* – Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,386	2,373	0,005
N = 632	Final loss: 309,982	Chi2(2)=53,458	p=,000

$$Z = \frac{e^{(-2,386786+2,373858X_1+0,005093X_2)}}{1 + e^{(-2,386786+2,373858X_1+0,005093X_2)}}$$

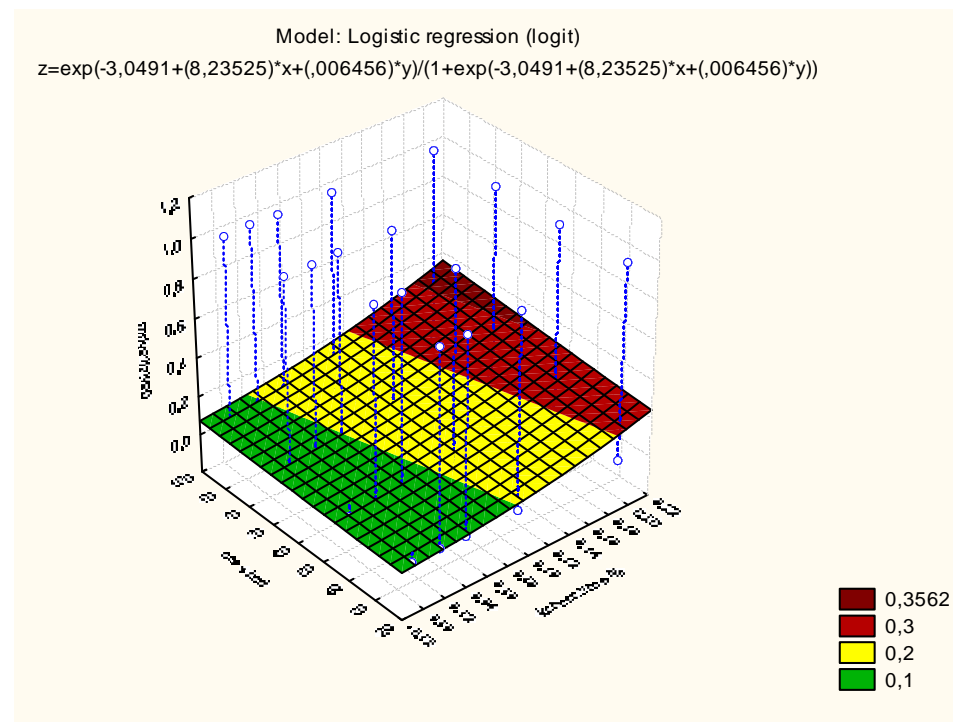


4.1.7. Karate 2,5 EC – ú. I. lambda-cyhalotrin

Graf číslo 19: Mortalita *Steinernema feltiae* – Karate 2,5 EC (ú.l. lambda-cyhalotrin)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,049	8,235	0,006
N = 670	Final loss: 248,206	Chi2(2)=32,261	p=,000

$$Z = \frac{e^{(-3,04907+8,235X_1+0,006456X_2)}}{1 + e^{(-3,04907+8,235X_1+0,006456X_2)}}$$



Graf číslo 20: Mortalita *Steinernema arenarium* – Karate 2,5 EC (ú.l. lambda-cyhalotrin)

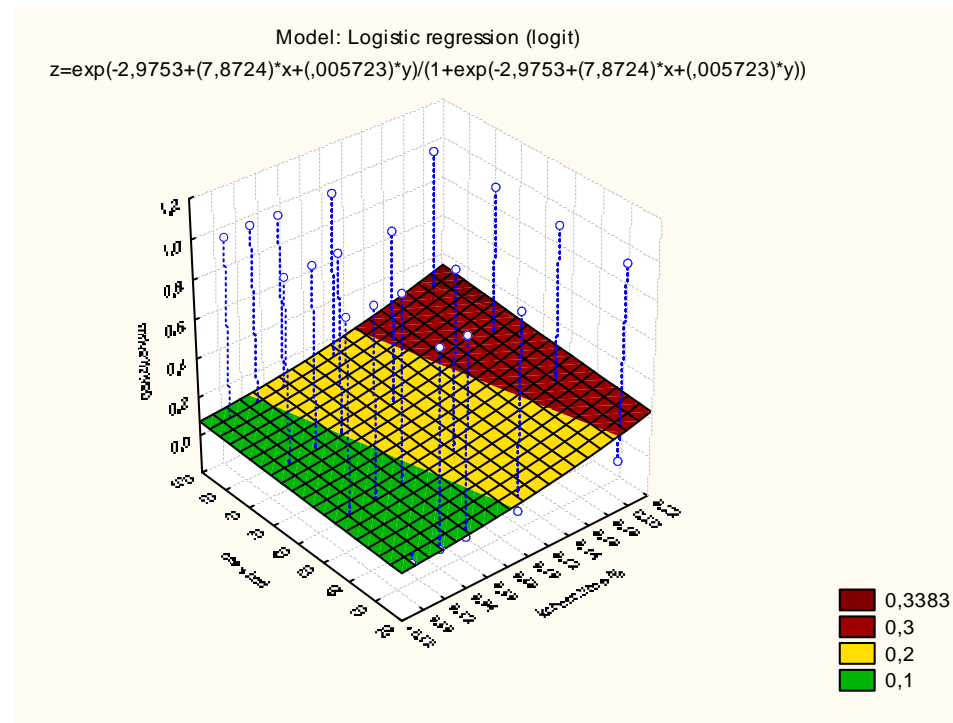
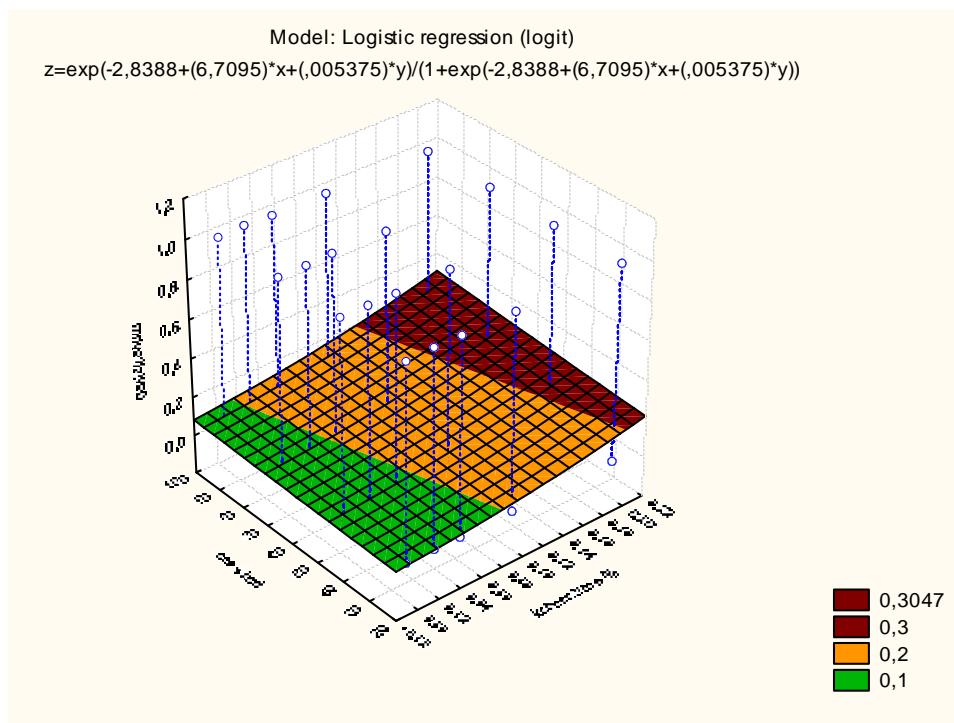
SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,838	6,709	0,005
N = 627	Final loss: 233,563	Chi2(2)=19,261	p=,00007

$$Z = \frac{e^{(-2,838847+6,7095 X_1+0,005375 X_2)}}{1 + e^{(-2,838847+6,7095 X_1+0,005375 X_2)}}$$

Graf číslo 21: Mortalita *Steinernema kraussei* – Karate 2,5 EC (ú.l. lambda-cyhalotrin)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,975	7,8724	0,005
N = 638	Final loss: 236,742	Chi2(2)=27,317	p=,000

$$Z = \frac{e^{(-2,975318+7,8724 X_1+0,005723 X_2)}}{1 + e^{(-2,975318+7,8724 X_1+0,005723 X_2)}}$$

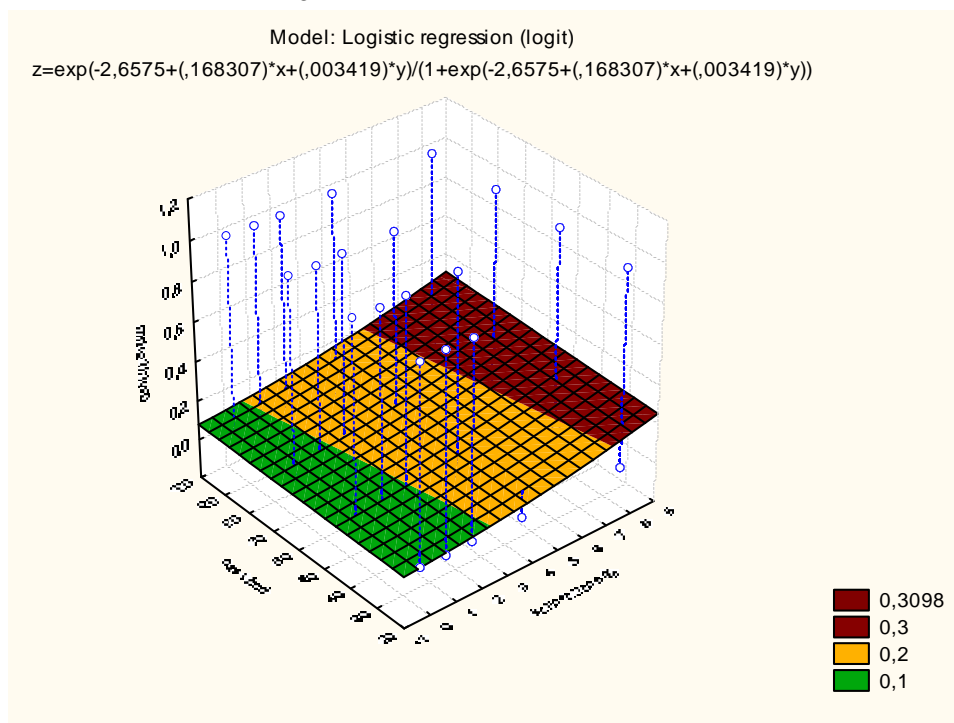


4.1.8. Dursban 10 G – ú. I. chlorpyrifos

Graf číslo 22: Mortalita *Steinernema feltiae* – Dursban 10 G (ú.l. chlorpyrifos)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,657	0,168	0,003
N = 592	Final loss: 227,334	Chi2(2)=17,932	p=,0001

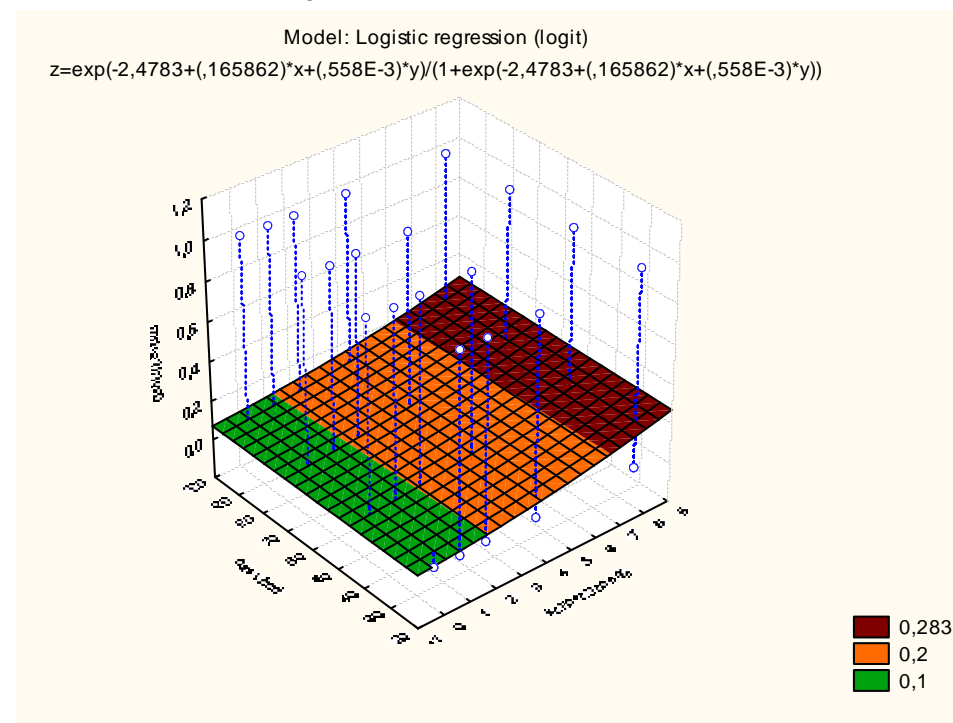
$$Z = \frac{e^{(-2,657492+0,1683073X_1+0,003419X_2)}}{1 + e^{(-2,657492+0,1683073X_1+0,003419X_2)}}$$



Graf číslo 23: Mortalita *Steinernema arenarium* – Dursban 10 G (ú.l. chlorpyrifos)

SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,478	0,165	0,0005
N = 622	Final loss: 237,316	Chi2(2)=17,831	p=,0001

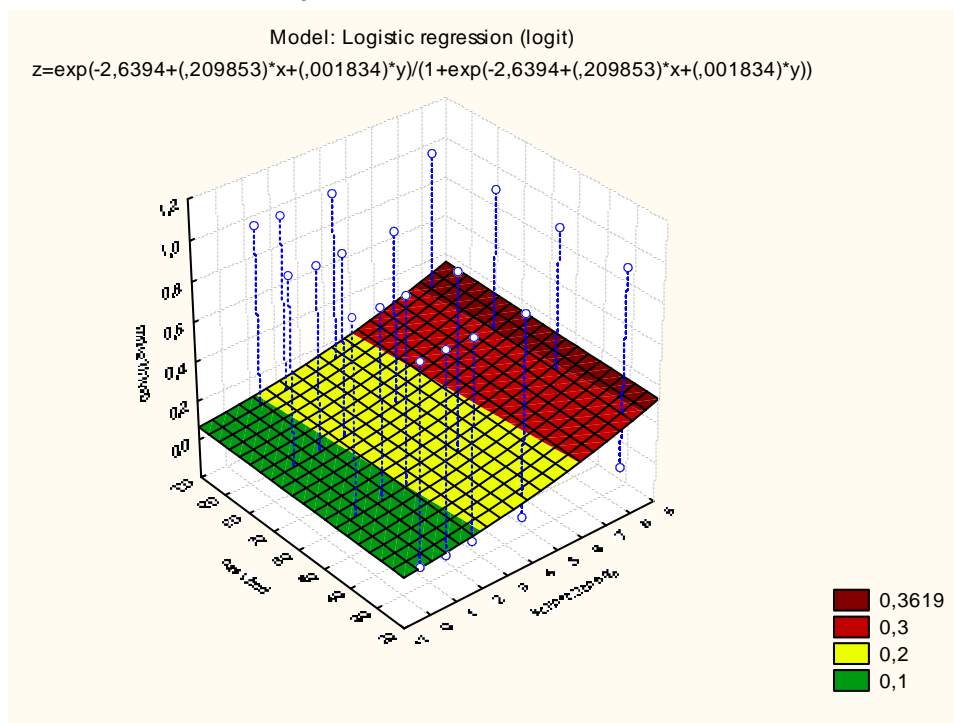
$$Z = \frac{e^{(-2,478266+0,1658617X_1+0,000558X_2)}}{1 + e^{(-2,478266+0,1658617X_1+0,000558X_2)}}$$



Graf číslo 24: Mortalita *Steinernema kraussei* – Dursban 10 G (ú.l. chlorpyrifos)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,639	0,209	0,002
N = 643	Final loss: 251,770	Chi2(2)=31,490	p=,000

$$Z = \frac{e^{(-2,639415+0,2098525X_1+0,001834X_2)}}{1 + e^{(-2,639415+0,2098525X_1+0,001834X_2)}}$$

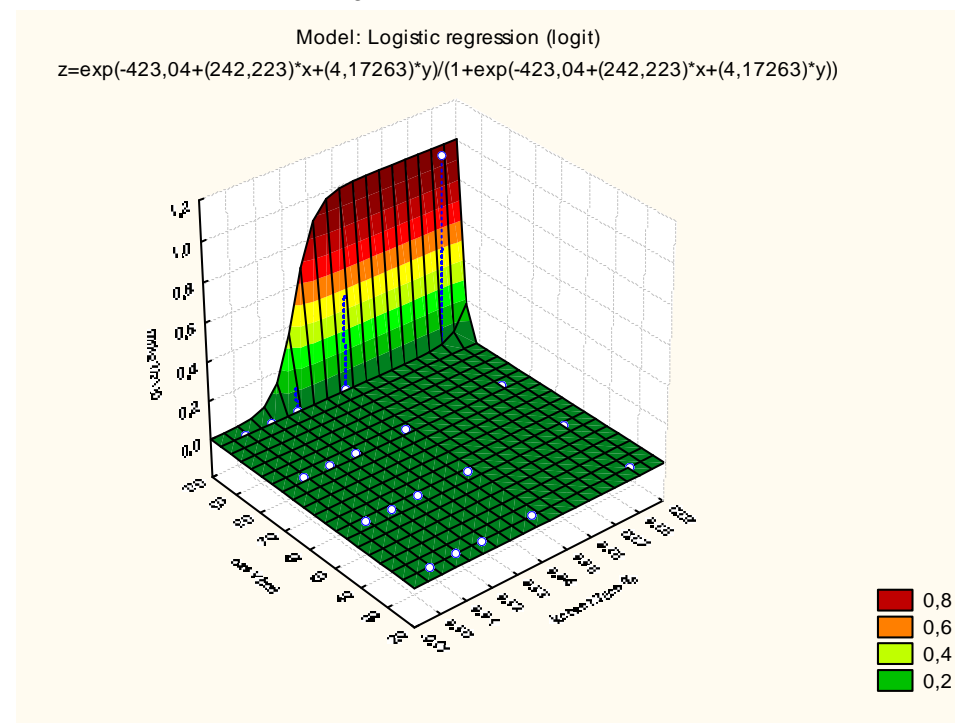


4.1.9. Atonik Pro – ú. I. nitrofenol

Graf číslo 25: Mortalita *Steinernema feltiae* – Atonik Pro (ú.l. nitrofenol)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-423,040	242	4,172
N = 489	Final loss: 4,113	Chi2(2)=6,155	p=,046

$$Z = \frac{e^{(-423,040+242X_1+4,17263X_2)}}{1 + e^{(-423,040+242X_1+4,17263X_2)}}$$



Graf číslo 26: Mortalita *Steinernema arenarium* – Atonik Pro (ú.l. nitrofenol)

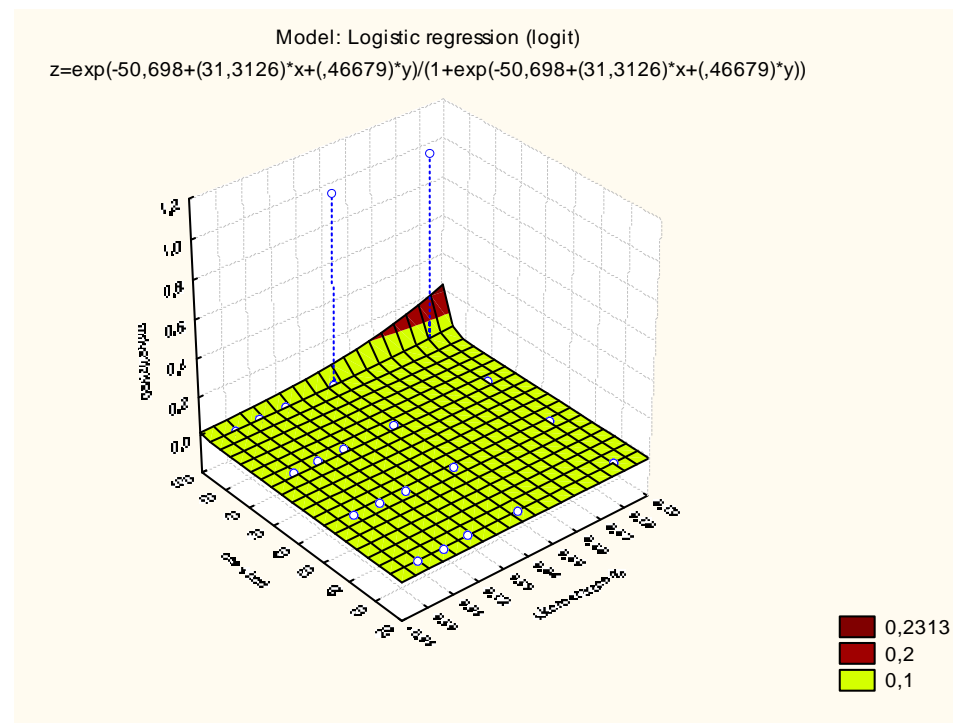
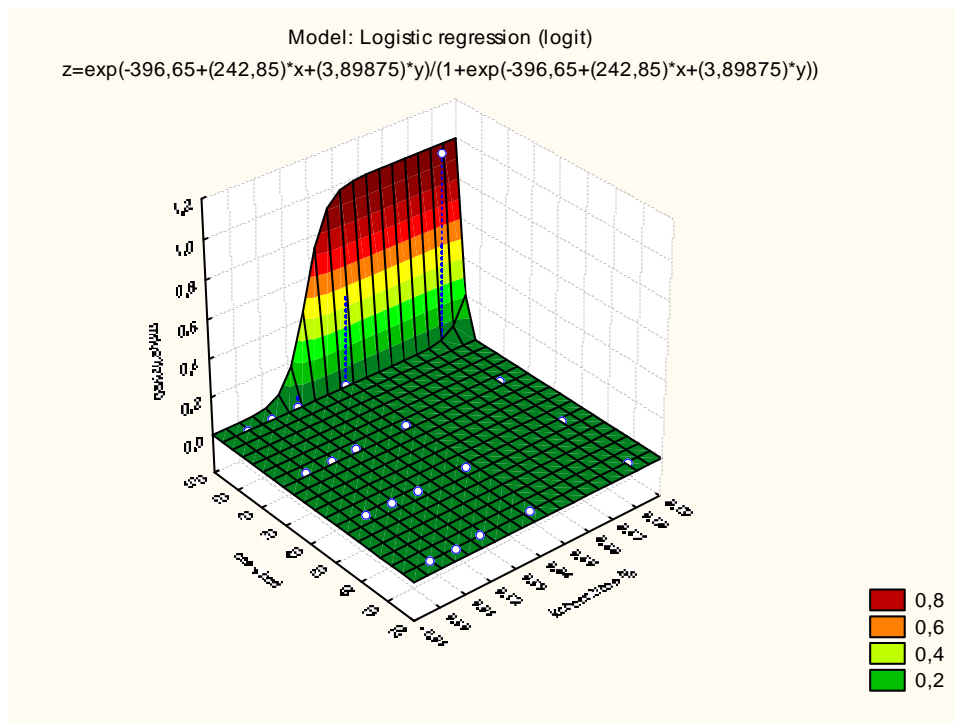
SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-396,654	242,849	3,898
N = 540	Final loss: 3,970	Chi2(2)=6,640	p=,036

$$Z = \frac{e^{(-396,654+242,8496X_1+3,898754X_2)}}{1+e^{(-396,654+242,8496X_1+3,898754X_2)}}$$

Graf číslo 27: Mortalita *Steinernema kraussei* – Atonik Pro (ú.l. nitrofenol)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-50,697	31,312	0,466
N = 601	Final loss: 10,037	Chi2(2)=6,741	p=,034

$$Z = \frac{e^{(-50,69789+31,31262X_1+0,46679X_2)}}{1+e^{(-50,69789+31,31262X_1+0,46679X_2)}}$$

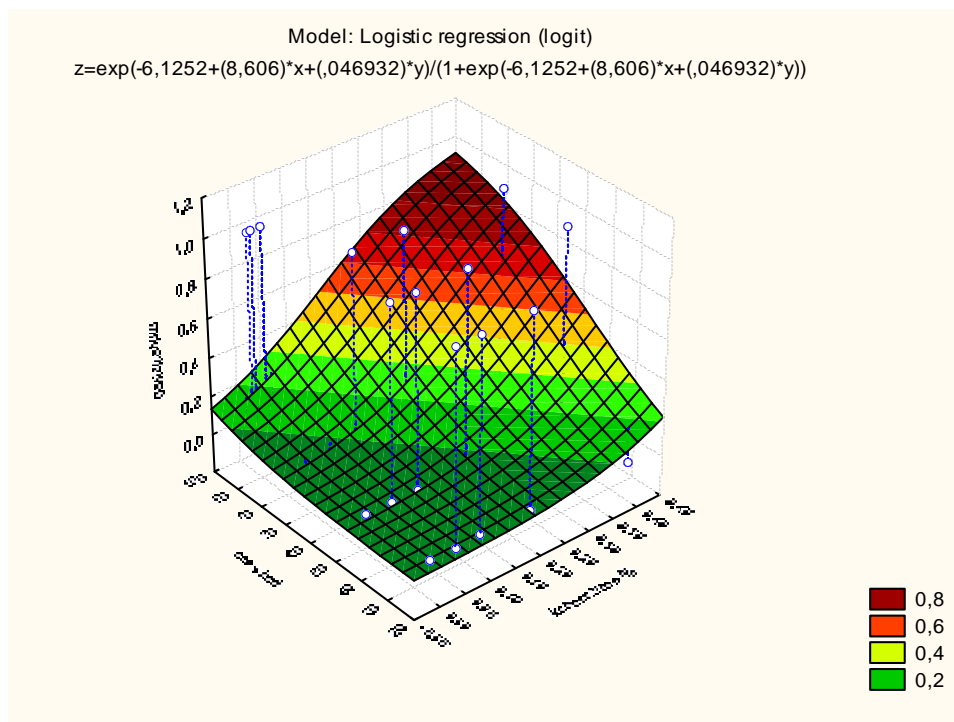


4.1.10. Novozir MN 80 – ú. I. mancozeb

Graf číslo 28: Mortalita *Steinernema feltiae* – Novozir MN 80 (ú.l. mancozeb)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-6,125	8,606	0,046
N = 519	Final loss: 183,562	Chi2(2)=98,944	p=0,000

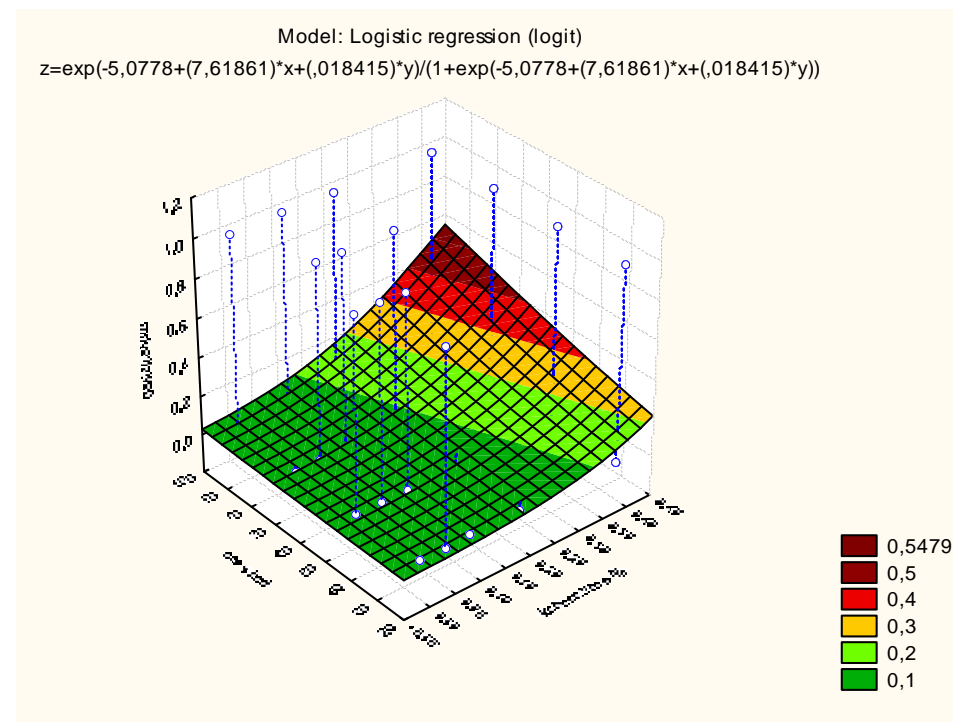
$$Z = \frac{e^{(-6,125182+8,606X_1+0,046932X_2)}}{1 + e^{(-6,125182+8,606X_1+0,046932X_2)}}$$



Graf číslo 29: Mortalita *Steinernema arenarium* – Novozir MN 80 (ú.l. mancozeb)

SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-5,077	7,618	0,018
N = 547	Final loss: 146,852	Chi2(2)=71,938	p=,000

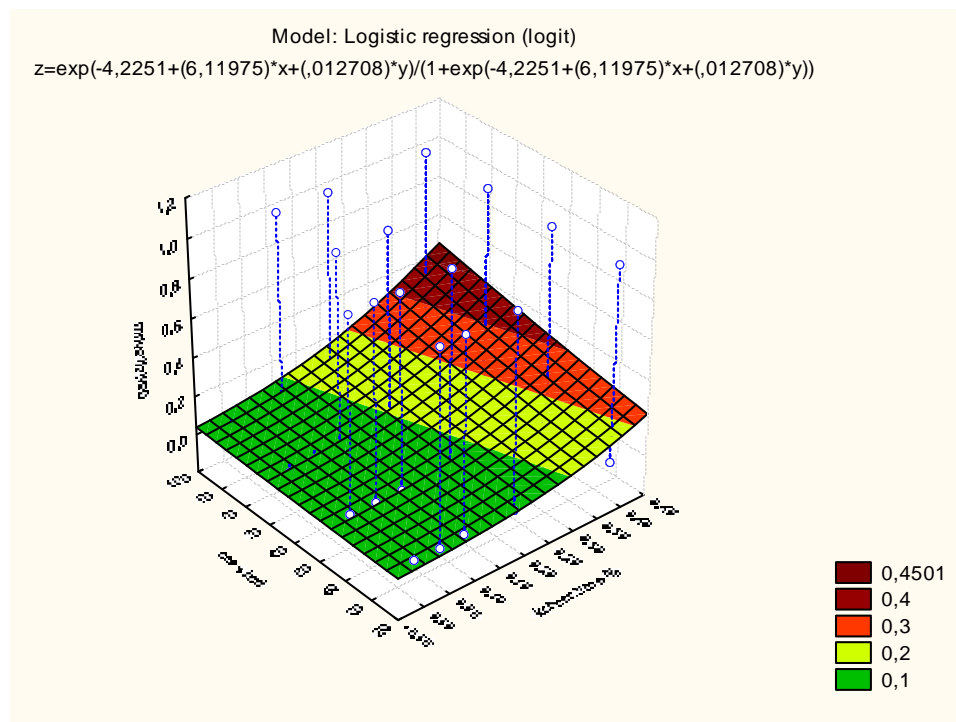
$$Z = \frac{e^{(-5,077805+7,618608X_1+0,018415X_2)}}{1 + e^{(-5,077805+7,618608X_1+0,018415X_2)}}$$



Graf číslo 30: Mortalita *Steinernema kraussei* – Novožir MN 80 (ú.l. mancozeb)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-4,225	6,119	0,012
N = 571	Final loss: 170,266	Chi2(2)=51,790	p=,000

$$Z = \frac{e^{(-4,225096+6,11975X_1+0,012708X_2)}}{1 + e^{(-4,225096+6,11975X_1+0,012708X_2)}}$$

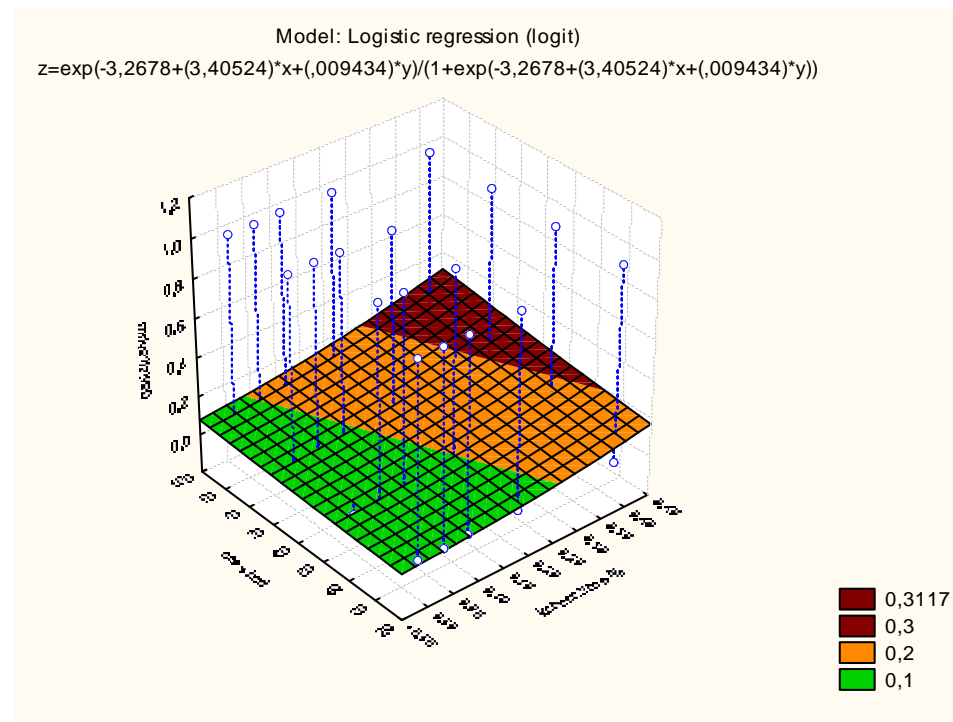


4.1.11. Merpan 80 WG – ú. I. captan

Graf číslo 31: Mortalita *Steinernema feltiae* – Merpan 80 WG (ú.l. captan)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,267	3,405	0,009
N = 630	Final loss: 215,607	Chi2(2)=20,648	p=,00003

$$Z = \frac{e^{(-3,267808+3,405242X_1+0,009434X_2)}}{1 + e^{(-3,267808+3,405242X_1+0,009434X_2)}}$$



Graf číslo 32: Mortalita *Steinernema arenarium* – Merpan 80 WG (ú.l. captan)

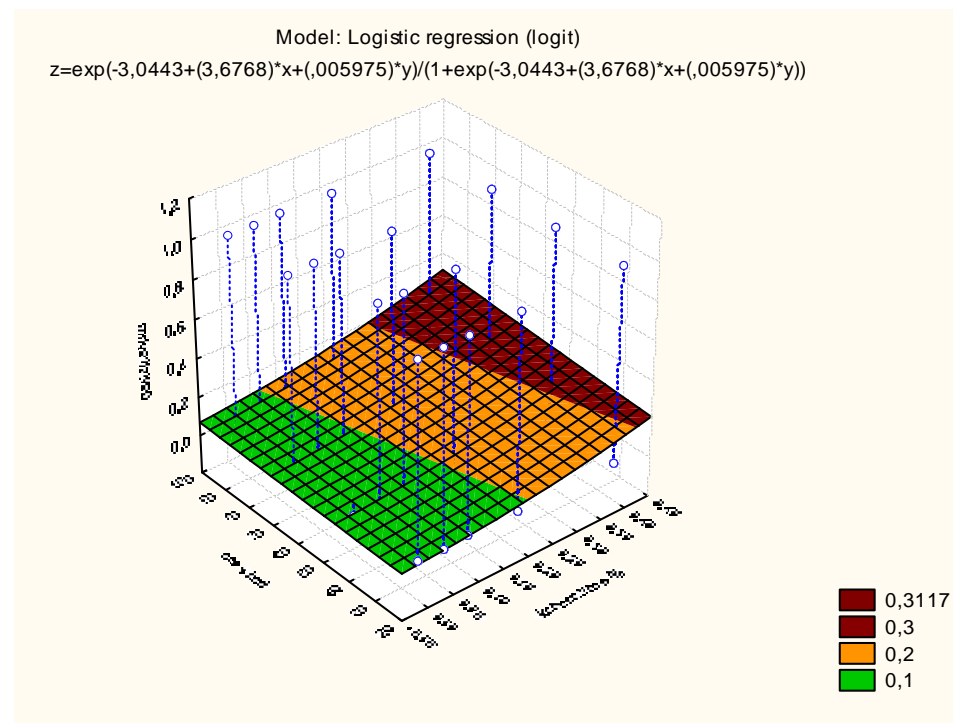
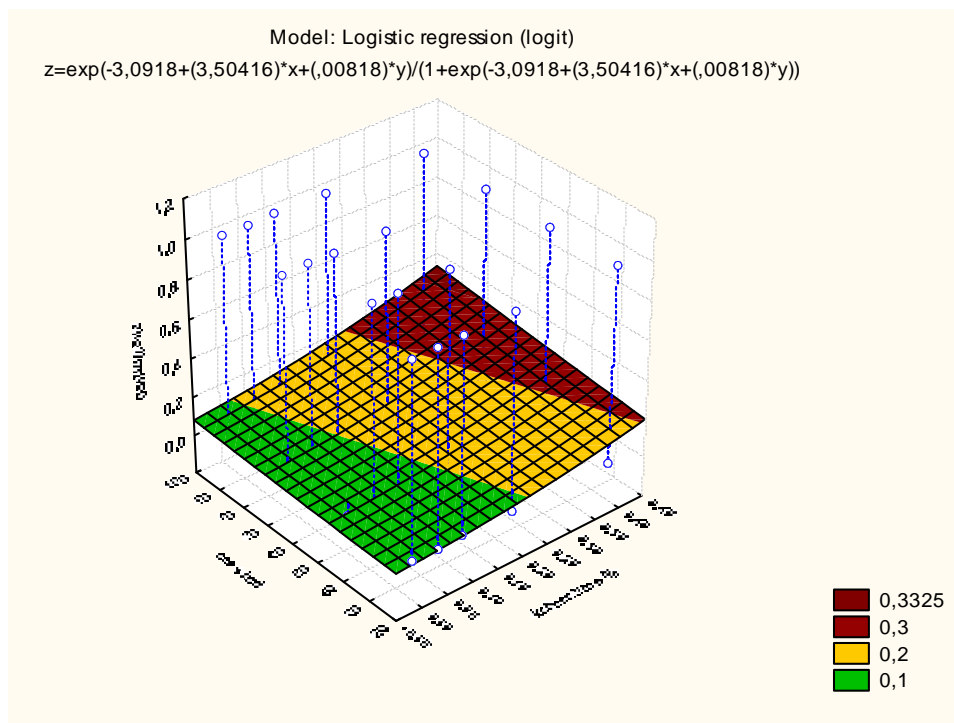
SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,091	3,504	0,008
N = 646	Final loss: 229,305	Chi2(2)=21,322	p=,00002

$$Z = \frac{e^{(-3,091849+3,504163X_1+0,00818X_2)}}{1+e^{(-3,091849+3,504163X_1+0,00818X_2)}}$$

Graf číslo 33: Mortalita *Steinernema kraussei* – Merpan 80 WG (ú.l. captan)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,044	3,676	0,006
N = 637	Final loss: 221,759	Chi2(2)=22,187	p=,00002

$$Z = \frac{e^{(-3,044279+3,676802X_1+0,005975X_2)}}{1+e^{(-3,044279+3,676802X_1+0,005975X_2)}}$$

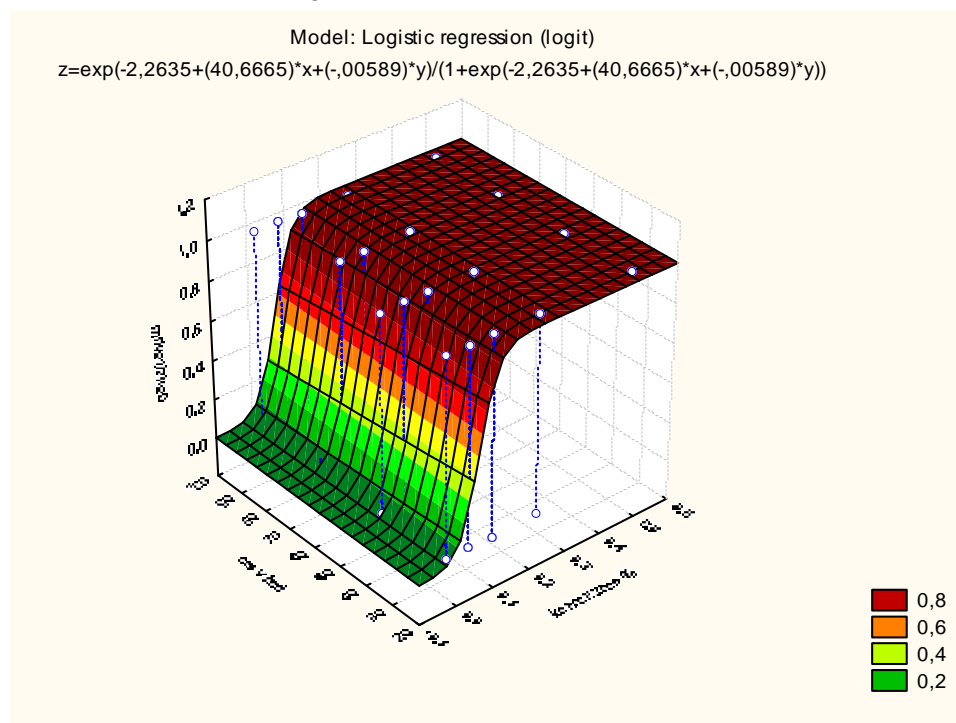


4.1.12. Vydate – ú. I. oxamyl

Graf číslo 34: Mortalita *Steinernema feltiae* – Vydate (ú.l. oxamyl)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,263	40,666	-0,005
N = 561	Final loss: 130,953	Chi2(2)=405,12	p=0,000

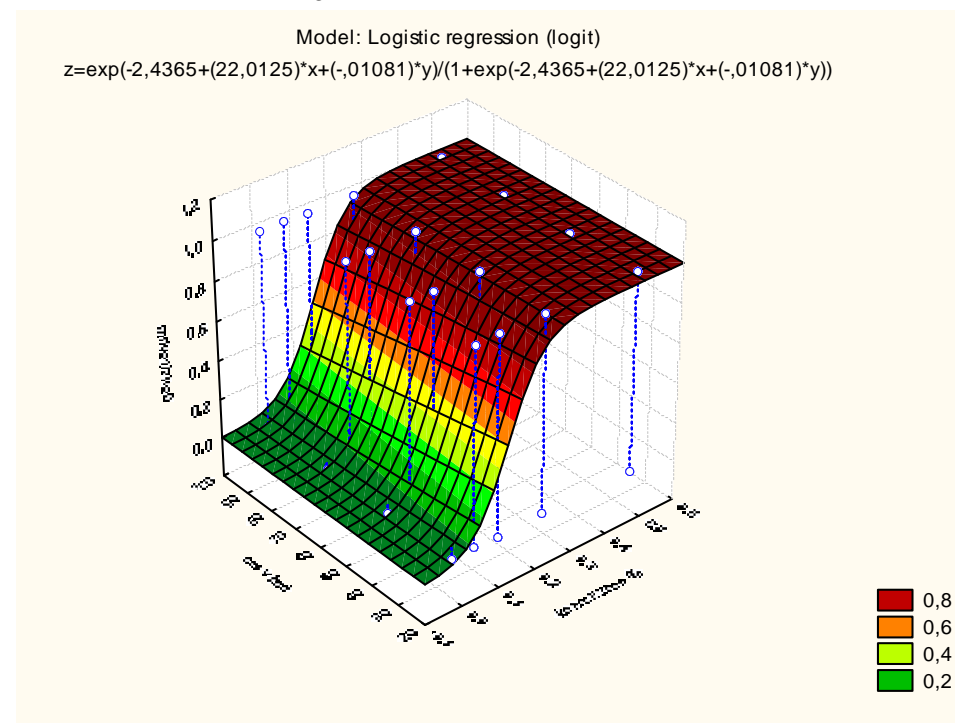
$$Z = \frac{e^{(-2,263489+40,66649X_1-0,005892X_2)}}{1 + e^{(-2,263489+40,66649X_1-0,005892X_2)}}$$



Graf číslo 35: Mortalita *Steinernema arenarium* – Vydate (ú.l. oxamyl)

SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-2,436	22,012	-0,010
N = 600	Final loss: 195,754	Chi2(2)=439,31	p=0,000

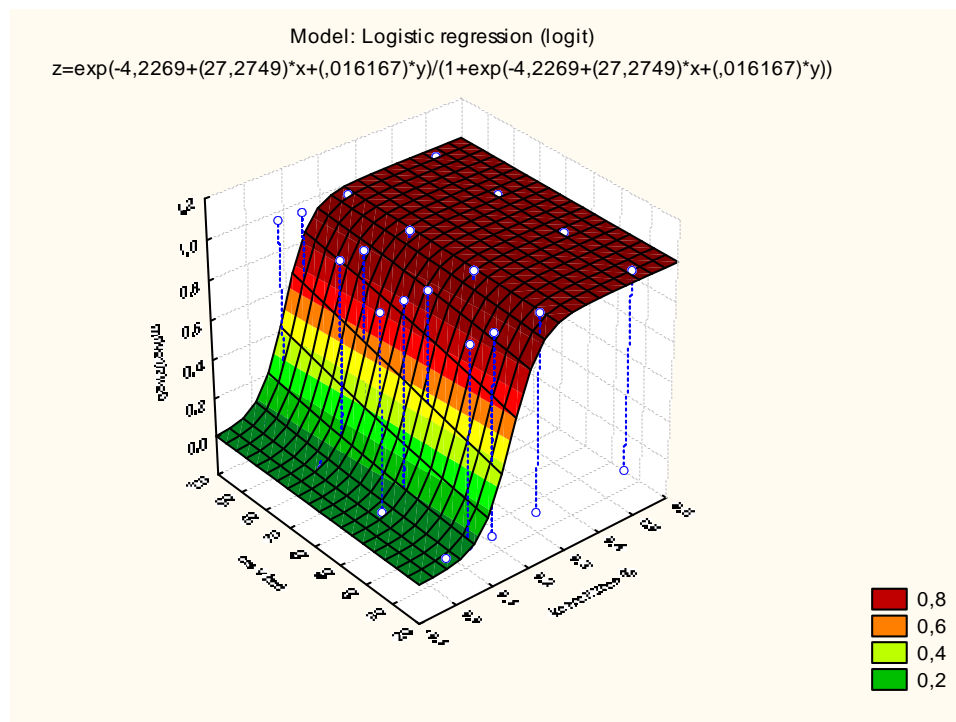
$$Z = \frac{e^{(-2,436452+22,01246X_1-0,010807X_2)}}{1 + e^{(-2,436452+22,01246X_1-0,010807X_2)}}$$



Graf číslo 36: Mortalita *Steinernema kraussei* – Vydate (ú.l. oxamyl)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-4,226	27,274	0,016
N = 596	Final loss: 165,942	Chi2(2)=491,38	p=0,000

$$Z = \frac{e^{(-4,226914+27,27492 X_1+0,016167 X_2)}}{1 + e^{(-4,226914+27,27492 X_1+0,016167 X_2)}}$$

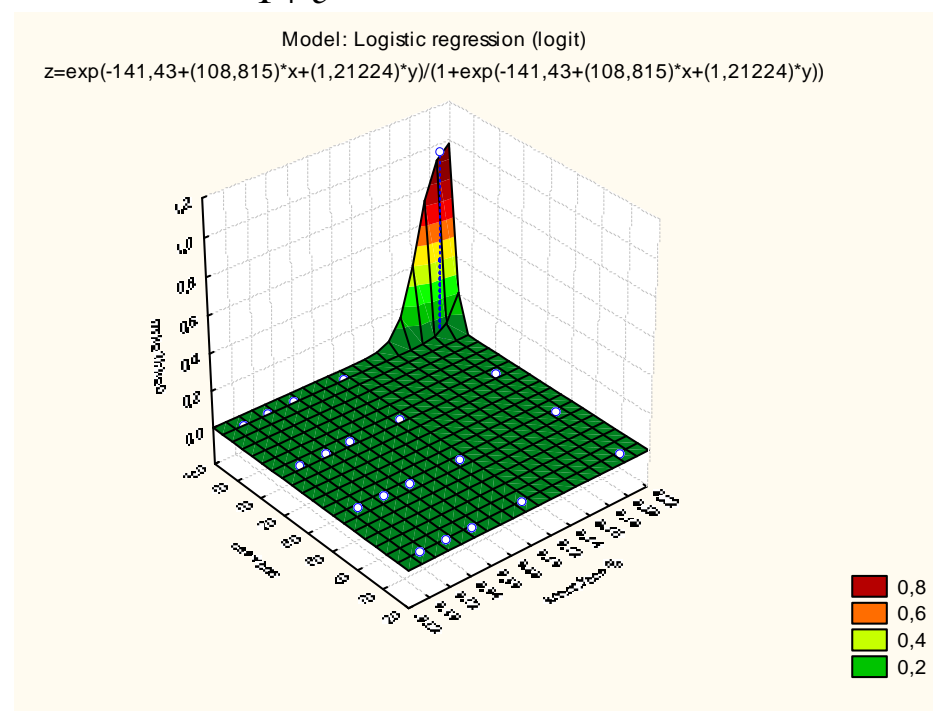


4.1.13. Omite 570 EW – ú. I. propargit

Graf číslo 37: Mortalita *Steinernema feltiae* – Omite 570 EW (ú.l. propargit)

NFUST	β_0	β_1	β_2
Odhad	-141,433	108,815	1,212
N = 461	Final loss: 4,314	Chi2(2)=5,636	p=,060

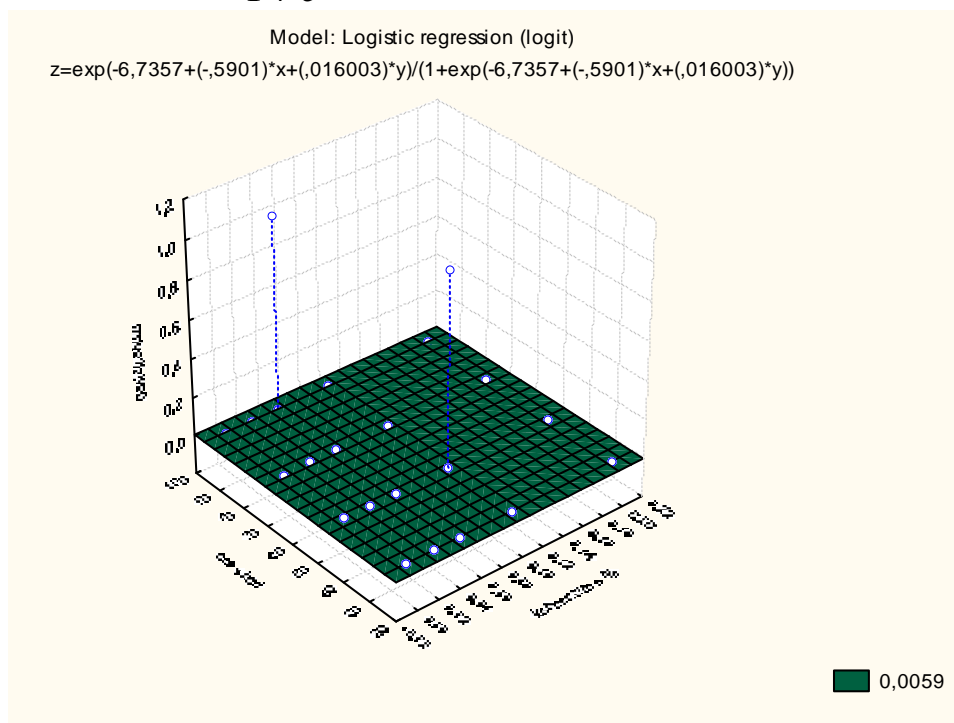
$$Z = \frac{e^{(-141,4339+108,8153 X_1+1,212241 X_2)}}{1 + e^{(-141,4339+108,8153 X_1+1,212241 X_2)}}$$



Graf číslo 38: Mortalita *Steinernema arenarium* – Omite 570 EW (ú.l. propargit)

SLOV	β_0	β_1	β_2
Odhad	-6,735	-0,590	0,016
N = 609	Final loss: 13,259	Chi2(2)=,349	p=,839

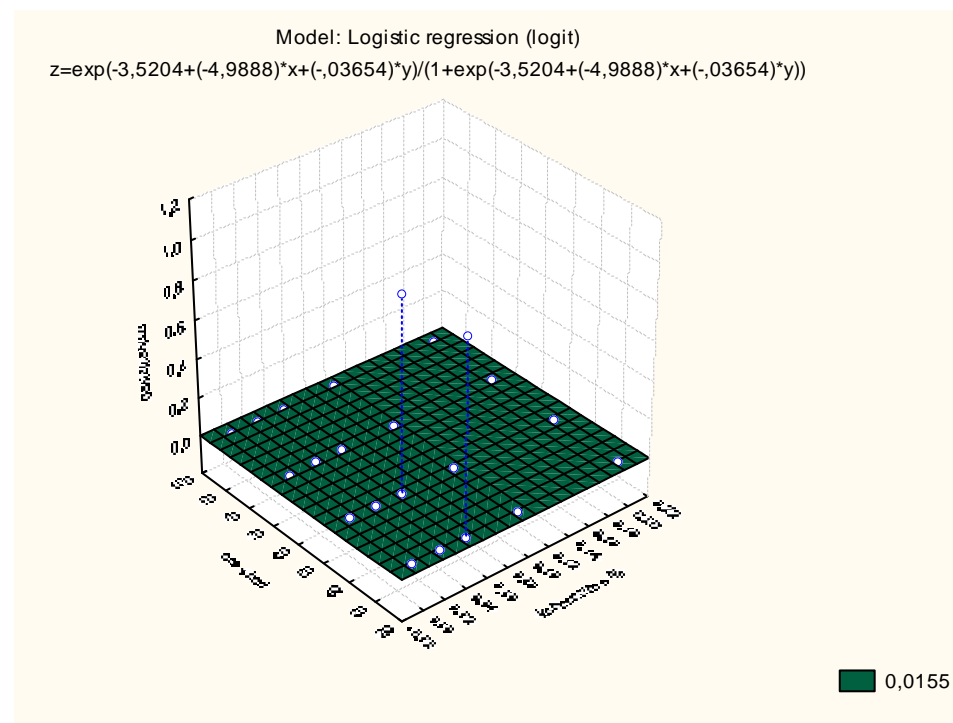
$$Z = \frac{e^{(-6,735694-0,5901041X_1+0,016003X_2)}}{1 + e^{(-6,735694-0,5901041X_1+0,016003X_2)}}$$



Graf číslo 39: Mortalita *Steinernema kraussei* – Omite 570 EW (ú.l. propargit)

VA6.1.	β_0	β_1	β_2
Odhad	-3,520	-4,988	-0,036
N = 492	Final loss: 12,178	Chi2(2)=1,656	p=,436

$$Z = \frac{e^{(-3,520406-4,988845X_1-0,036541X_2)}}{1 + e^{(-3,520406-4,988845X_1-0,036541X_2)}}$$



Na základě výsledků statistického hodnocení dat získaných z pokusů pro zjištění vlivu pesticidů na mortalitu tří druhů entomopatogenních hlístovek druhů *Steinernema feltiae*, *S. arenarium* a *S. kraussei* vyplývá, že mezidruhové rozdíly jsou velice malé, téměř zanedbatelné. Parametry β_1 (koncentrace pesticidu v %) a β_2 (čas v hodinách) nevykazují v rámci jednoho pesticidu výraznější rozdíly mezi jednotlivými druhy (subjektivní hodnocení).

Dalším zjištěním je skutečnost, že pro zvýšení mortality entomopatogenních hlístovek má rozhodující vliv koncentrace použitého přípravku i čas, po který byly hlístovky tomuto pesticidu vystaveny. Toto tvrzení opět nachází oporu v parametrech β_1 a β_2 logistického modelu ($p < 0,05$). Má-li parametr β kladnou hodnotu, značí vzrůstající funkci (rostoucí mortalita), je-li hodnota parametru záporná, funkce je klesající (snížení mortality). Zároveň existuje pozitivní vztah mezi velikostí β a růstem funkce. Se stoupající hodnotou β roste rychleji i příslušná funkce a naopak. Toto je patrné i z grafů.

Pouze v několika výjimečných případech došlo ke snížení mortality působením času: Previcur 607 SL (ú.l. propamocarb) – NFUST, Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý) – SLOV, Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin) – SLOV, Vydate (ú.l. oxamyl) – NFUST + SLOV (5 případů z 39). Model pro přípravek Omite 570 EW (ú.l. propargit) se jeví jako neprůkazný ($p > 0,05$).

Rozdělení přípravků dle mortality, kterou způsobují, je provedeno podle čtyřstupňové mezinárodní stupnice toxicity IOBC/WPRS (viz kapitola 3.3., tabulka číslo 2). Hodnota mortality (v absolutních číslech), podle které jsou přípravky rozděleny, byla získána dosazením času 24 hodin a standardní koncentrace (uvedena v tabulce číslo 4) do rovnice logistického modelu.

Z přehledu v tabulce číslo 5 je jasné, že do skupiny přípravků toxických patří, dle předpokladu, dva přípravky – Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý) a Vydate (ú.l. oxamyl). Všechny ostatní přípravky jsou pro nematody netoxické. Z toho přípravky Karate 2,5 EC (ú.l. lambda-cyhalotrin), Dursban 10 G (ú.l. chlorpyrifos) a Merpan 80 WG (ú.l. captan) a Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin) způsobují v dané koncentraci a čase 24 hodin mortalitu 10 % nebo vyšší. Naproti tomu přípravky Atonik PRO (ú.l. nitrofenol) a Omite 570 EW (ú.l. propargit) ($p > 0,05$) lze z hlediska metody považovat za zcela netoxické.

Tabulka číslo 5: Hodnocení pesticidů dle stupnice IOBC/WPRS

Pesticid – účinná látka (koncentrace pesticidu v %)	Druh hlístovky	Odhadnutá mortalita (čas 24 hodin)	Třída toxicity
Lontrel 300 - clopyralid (0,2 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,046	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,045	
	<i>S. kraussei</i>	0,052	
Previcur 607 SL - propamocarb (0,2 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,056	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,047	
	<i>S. kraussei</i>	0,049	
Starane 250 EC – fluroxypyr (0,6%)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,049	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,092	
	<i>S. kraussei</i>	0,051	
Sulka – polysulfid vápenatý (4 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,994	4 toxický
	<i>S. arenarium</i>	0,999	
	<i>S. kraussei</i>	0,931	
Sumithion super - fenitrothion (0,1 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,010	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,012	
	<i>S. kraussei</i>	0,016	
Treflan 48 EC - trifluralin (0,4 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,236	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,239	
	<i>S. kraussei</i>	0,212	
Karate 2,5 EC – lambda- cyhalotrin (0,1 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,112	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,115	
	<i>S. kraussei</i>	0,114	
Dursban 10 G – chlorpyrifos (4 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,130	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,142	
	<i>S. kraussei</i>	0,147	
Atonik PRO - nitrofenol (0,04 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	-	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	-	
	<i>S. kraussei</i>	-	
Novozir MN 80 – mancozeb (0,2 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,036	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,043	
	<i>S. kraussei</i>	0,063	
Merpan 80 WG - captan (0,2 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,086	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,100	
	<i>S. kraussei</i>	0,103	
Vydate - oxamyl (0,25 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,999	4 toxický
	<i>S. arenarium</i>	0,943	
	<i>S. kraussei</i>	0,952	
Omite 570 EW - propargit (0,1 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	-	1 netoxický
	<i>S. arenarium</i>	0,002	
	<i>S. kraussei</i>	0,007	

4.2. Invaznost – parametry modelů

Legenda k tabulkám a modelu:

Čas v hodinách	X_1
Koncentrace %	X_2
Invaznost	Y
B	parametry funkce α, β_1, β_2
t	t-test (stupně volnosti)
p	hladina významnosti
R	regresní koeficient
R2	index determinace
F	celkový F test

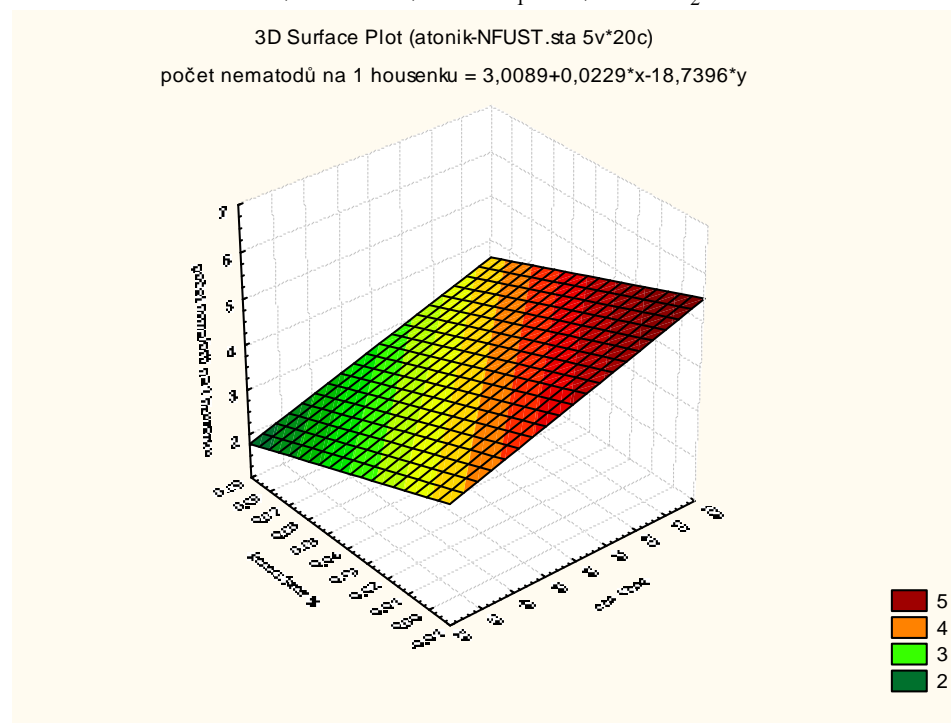
Barevná legenda v grafu regresní roviny značí úroveň invaznosti v dané kombinaci času vystavení a koncentrace pesticidu. Je uvedena v počtech nematodů na jednu housenku *Galleria mellonella*. Pokud v některém grafu regresní roviny není dobře patrné barevné schéma, je to způsobeno sklonem roviny nevhodným pro optimální zobrazení barevných úrovní.

4.2.1. Atonik Pro – ú. I. nitrofenol

Graf číslo 40: Invaznost *Steinernema feltiae* – Atonik Pro (ú.l. nitrofenol)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	3,008	5,825	0,00002
β_1	0,022	3,179	0,005
β_2	-18,739	-2,739	0,013
R= ,713	R2= ,508	F(2,17)=8,806	p<,002

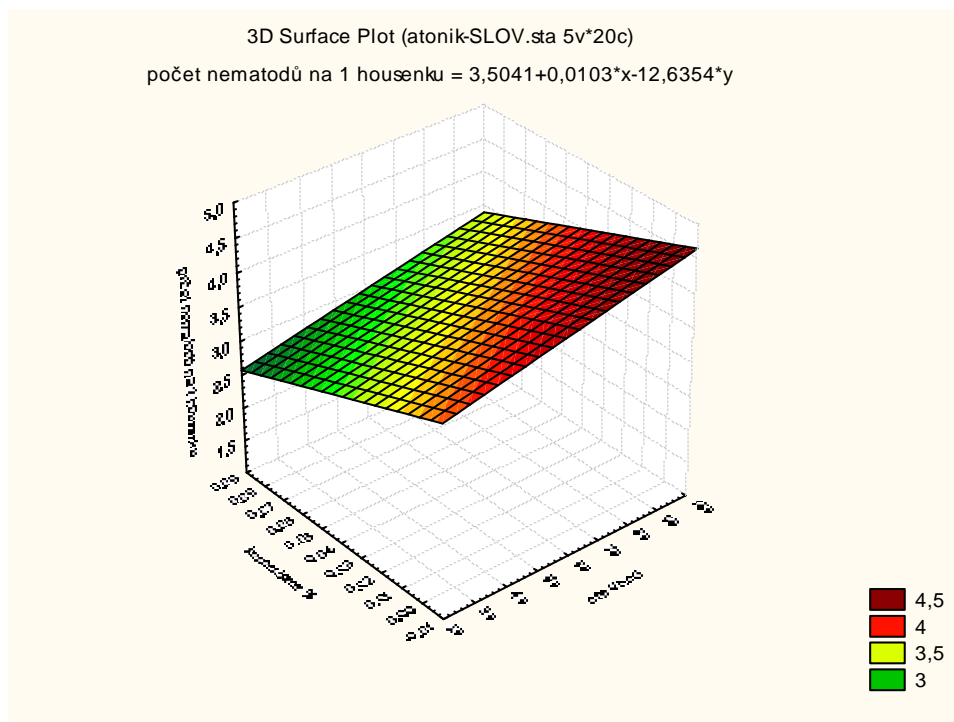
$$Y = 3,0089 + 0,0229 X_1 - 18,7396 X_2$$



Graf číslo 41: Invaznost *Steinernema arenarium* – Atonik Pro (ú.l. nitrofenol)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	3,504	7,888	0,000
β_1	0,010	1,652	0,116
β_2	-12,635	-2,147	0,046
R= ,549	R2= ,301	F(2,17)=3,672	p<,047

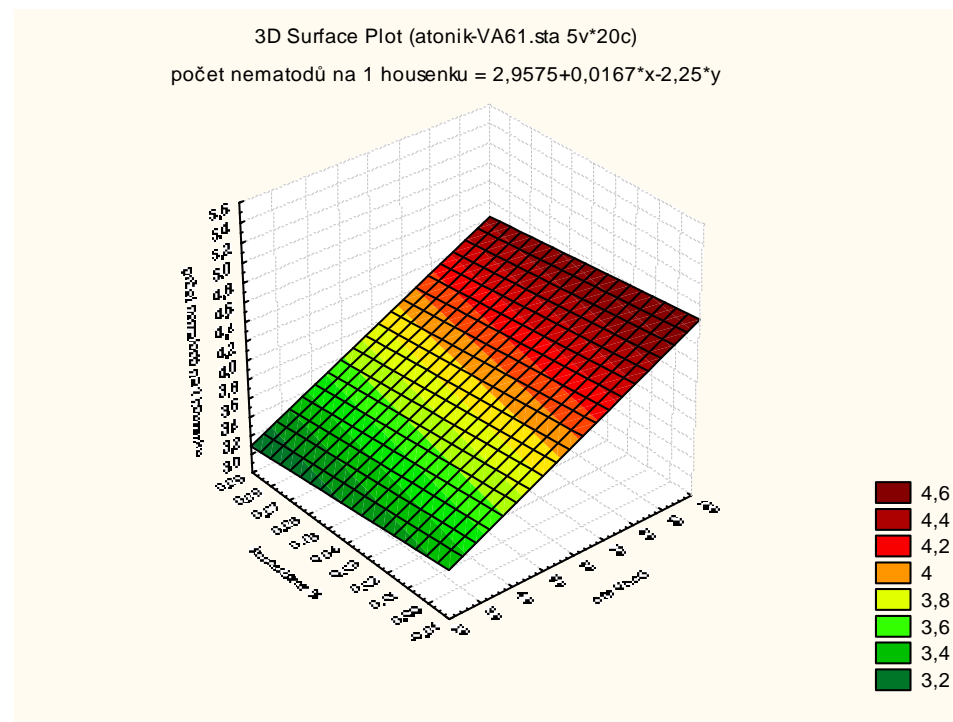
$$Y = 3,5041 + 0,0103X_1 - 12,6354X_2$$



Graf číslo 42: Invaznost *Steinernema kraussei* – Atonik Pro (ú.l. nitrofenol)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	2,957	10,263	0,000
β_1	0,016	4,156	0,001
β_2	-2,250	-0,589	0,563
R= ,713	R2= ,508	F(2,17)=8,811	p<,002

$$Y = 2,9575 + 0,0167X_1 - 2,2500X_2$$



4.2.2. Dursban 10 G – ú. I. chlorpyrifos

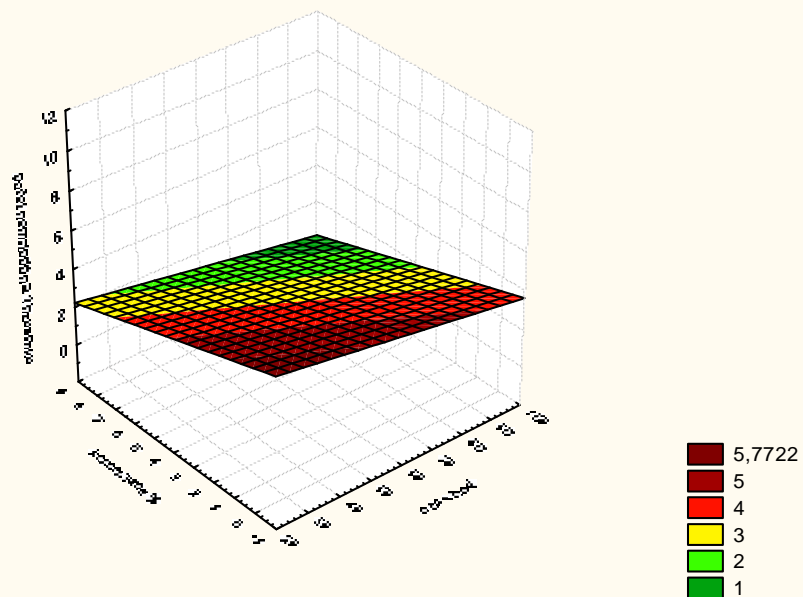
Graf číslo 43: Invaznosť *Steinernema feltiae* – Dursban 10 G (ú.l. chlorpyrifos)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	5,943	6,685	0,000004
β_1	-0,026	-2,116	0,049
β_2	-0,354	-3,006	0,007
R= ,665	R2= ,442	F(2,17)=6,757	p<,006

$$Y = 5,9435 - 0,0263X_1 - 0,3540X_2$$

3D Surface Plot (dursban-NFUST.sta 5v*20c)

počet nematodů na 1 housenku = 5,9435-0,0263*x-0,354*y



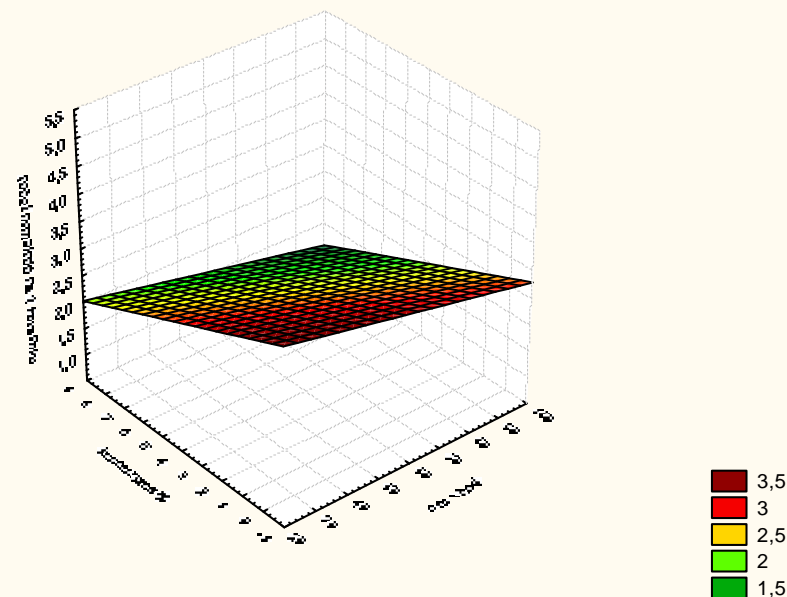
Graf číslo 44: Invaznosť *Steinernema arenarium* – Dursban 10 G (ú.l. chlorpyrifos)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	3,846	6,825	0,000003
β_1	-0,012	-1,557	0,137
β_2	-0,174	-2,341	0,031
R= ,563	R2= ,317	F(2,17)=3,954	p<,038

$$Y = 3,8460 - 0,0123X_1 - 0,1748X_2$$

3D Surface Plot (dursban-SLOV.sta 5v*20c)

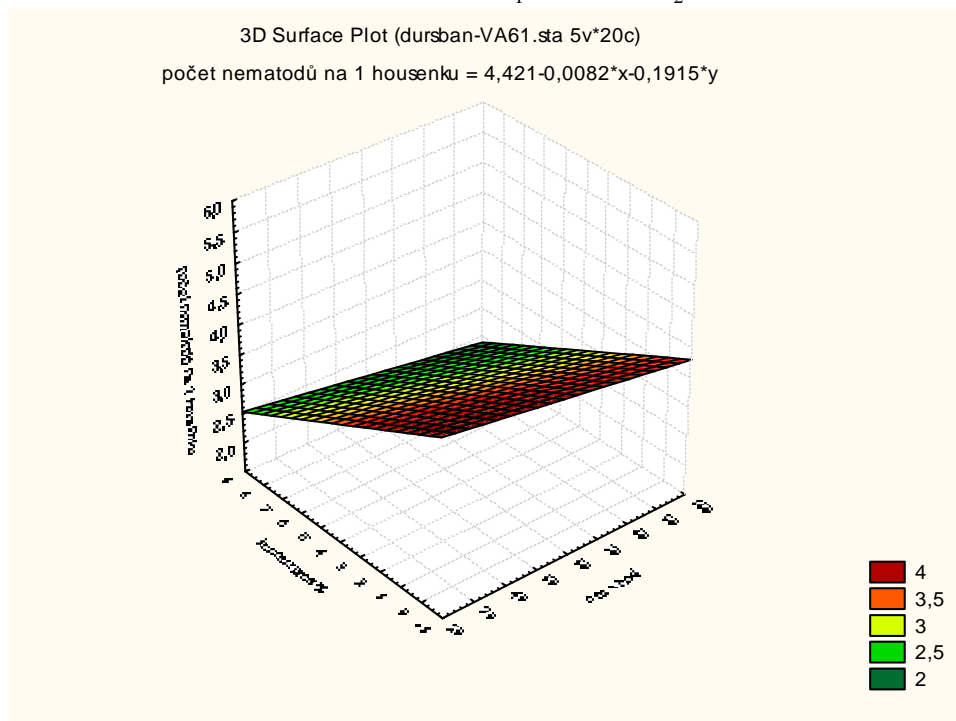
počet nematodů na 1 housenku = 3,846-0,0122*x-0,1748*y



Graf číslo 45: Invaznost *Steinernema kraussei* – Dursban 10 G (ú.l. chlorpyrifos)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	4,421	10,64253	0,000
β_1	-0,008	-1,40807	0,177
β_2	-0,191	-3,47962	0,002
R= ,673	R2= ,453	F(2,17)=7,0452	p<,005

$$Y = 4,4210 - 0,0082X_1 - 0,1915X_2$$

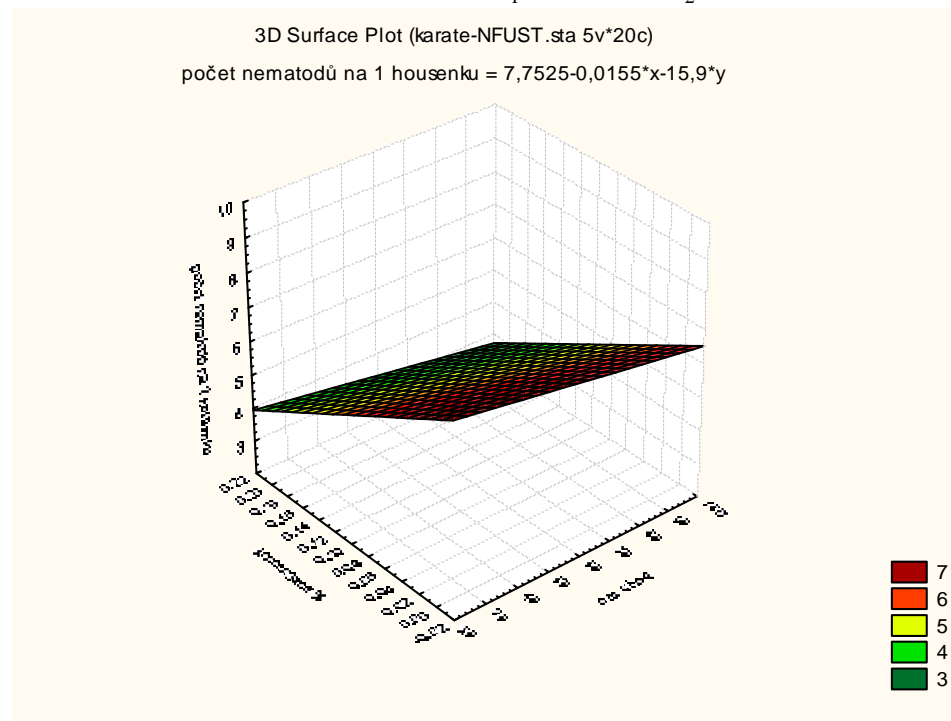


4.2.3. Karate 2,5 EC – ú. I. lambda-cyhalotrin

Graf číslo 46: Invaznost *Steinernema feltiae* – Karate 2,5 EC (ú.l. lambda-cyhalotrin)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	7,752	6,567	0,000005
β_1	-0,015	-0,940	0,360
β_2	-15,900	-2,542	0,021
R= ,549	R2= ,301	F(2,17)=3,673	p<,047

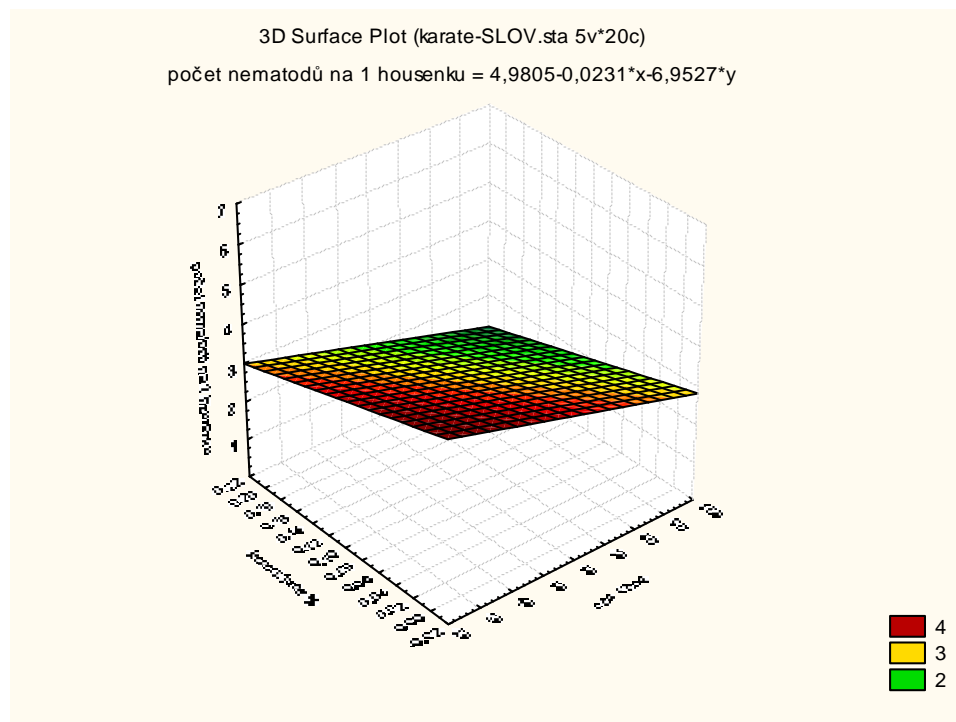
$$Y = 7,7525 - 0,0155X_1 - 15,9000X_2$$



Graf číslo 47: Invaznost *Steinernema arenarium* – Karate 2,5 EC (ú.l. lambda-cyhalotrin)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	4,980	10,16507	0,000
β_1	-0,023	-3,38088	0,003
β_2	-6,952	-2,67833	0,015
R= ,722	R2= ,522	F(2,17)=9,3019	p<,001

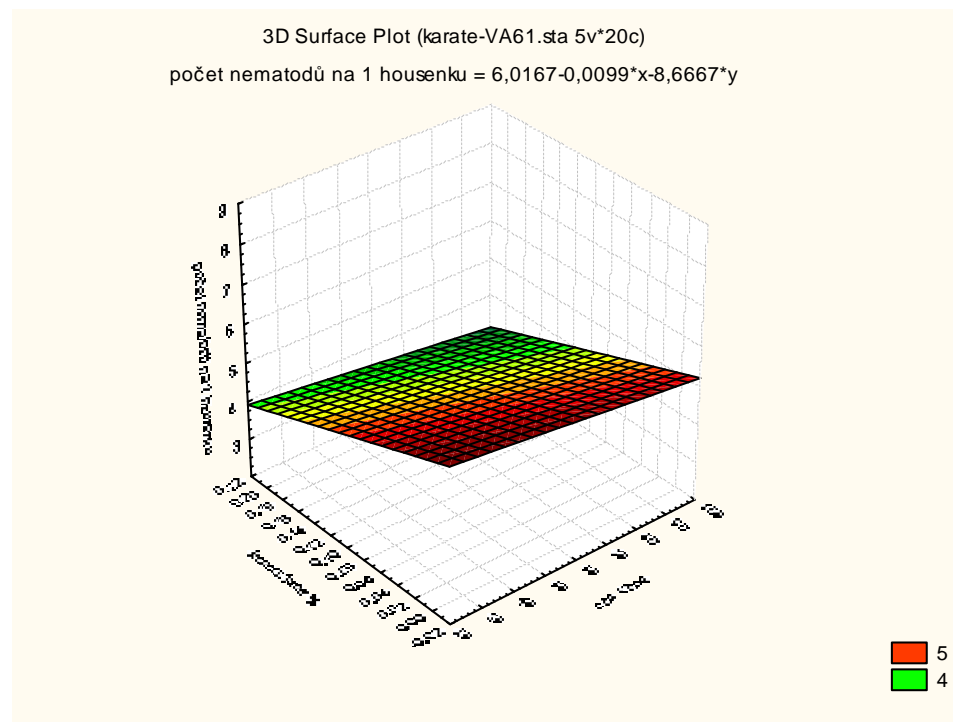
$$Y = 4,9805 - 0,0231X_1 - 6,9527X_2$$



Graf číslo 48: Invaznost *Steinernema kraussei* – Karate 2,5 EC (ú.l. lambda-cyhalotrin)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	6,016	10,251	0,000
β_1	-0,009	-1,203	0,245
β_2	-8,666	-2,787	0,012
R= ,592	R2= ,351	F(2,17)=4,608	p<,02517

$$Y = 6,0167 - 0,0099X_1 - 8,6667X_2$$



4.2.4. Lontrel 300 – ú. I. clopyralid

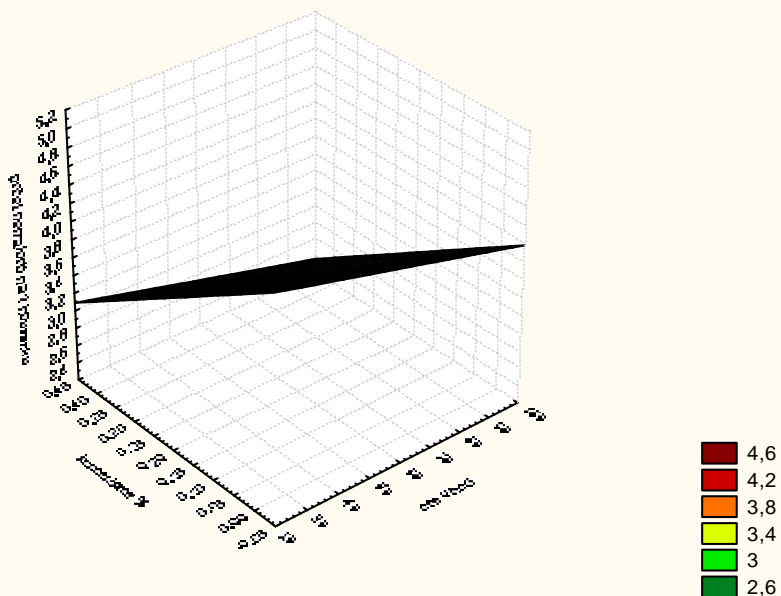
Graf číslo 49: Invaznost *Steinernema feltiae* – Lontrel 300 (ú.l. clopyralid)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	4,737	19,297	0,000
β_1	-0,009	-2,674	0,016
β_2	-3,250	-4,997	0,0001
R= ,808	R2= ,653	F(2,17)=16,062	p<,0001

$$Y = 4,7375 - 0,0092 X_1 - 3,2500 X_2$$

3D Surface Plot (lontrel-NFUST.sta 5v*20c)

počet nematodů na 1 housenku = $4,7375 - 0,0092 \cdot x - 3,25 \cdot y$



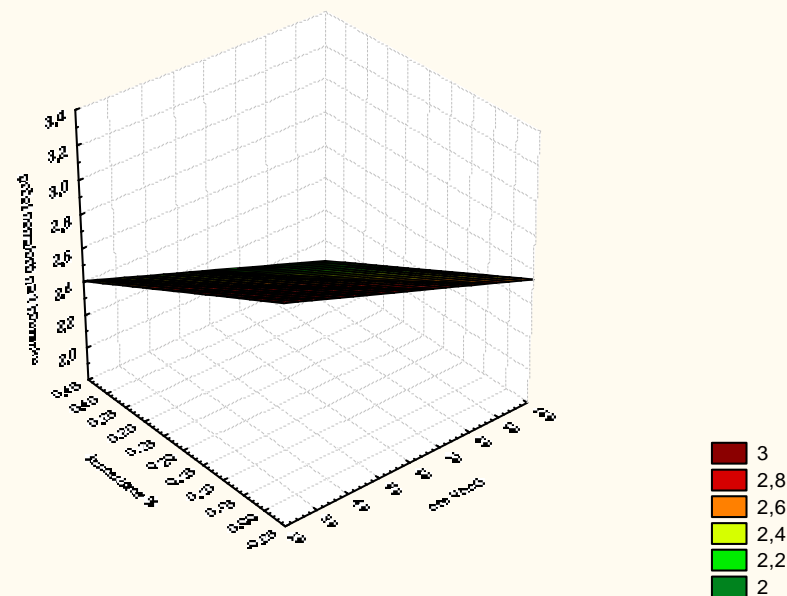
Graf číslo 50: Invaznost *Steinernema arenarium* – Lontrel 300 (ú.l. clopyralid)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	3,152	21,101	0,000
β_1	-0,006	-3,209	0,005
β_2	-1,358	-3,432	0,003
R= ,751	R2= ,565	F(2,17)=11,044	p<,0008

$$Y = 3,1521 - 0,0067 X_1 - 1,3583 X_2$$

3D Surface Plot (lontrel-SLOV.sta 5v*20c)

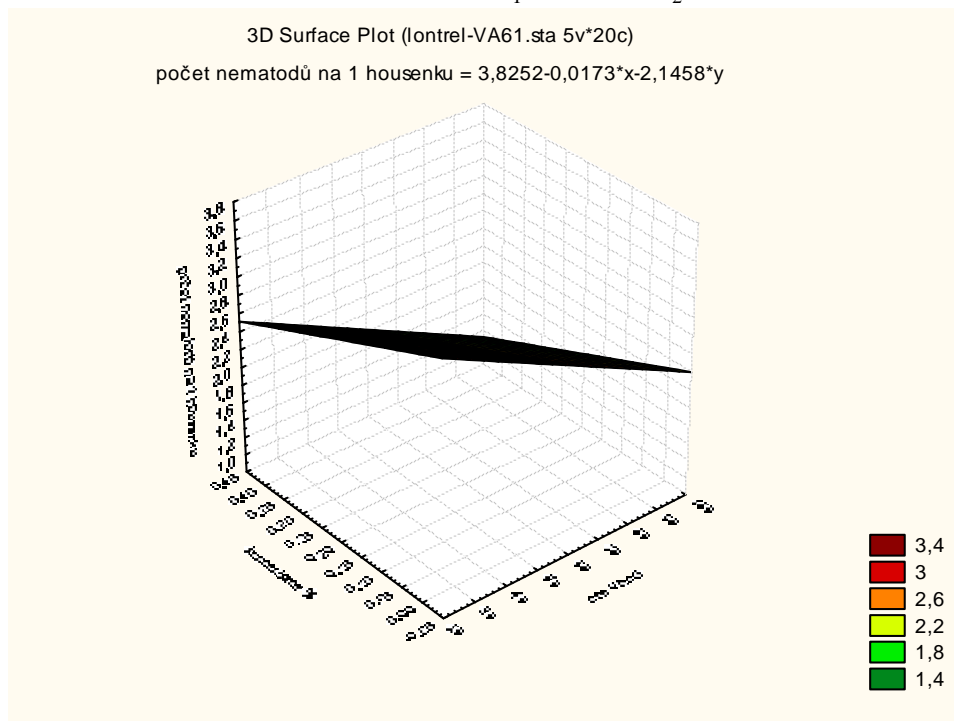
počet nematodů na 1 housenku = $3,1521 - 0,0067 \cdot x - 1,3583 \cdot y$



Graf číslo 51: Invaznost *Steinernema kraussei* – Lontrel 300 (ú.l. clopyralid)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	3,825	15,605	0,000
β_1	-0,017	-5,064	0,00009
β_2	-2,145	-3,304	0,004
R= ,826	R2= ,682	F(2,17)=18,287	p<,00006

$$Y = 3,8252 - 0,0173X_1 - 2,1458X_2$$

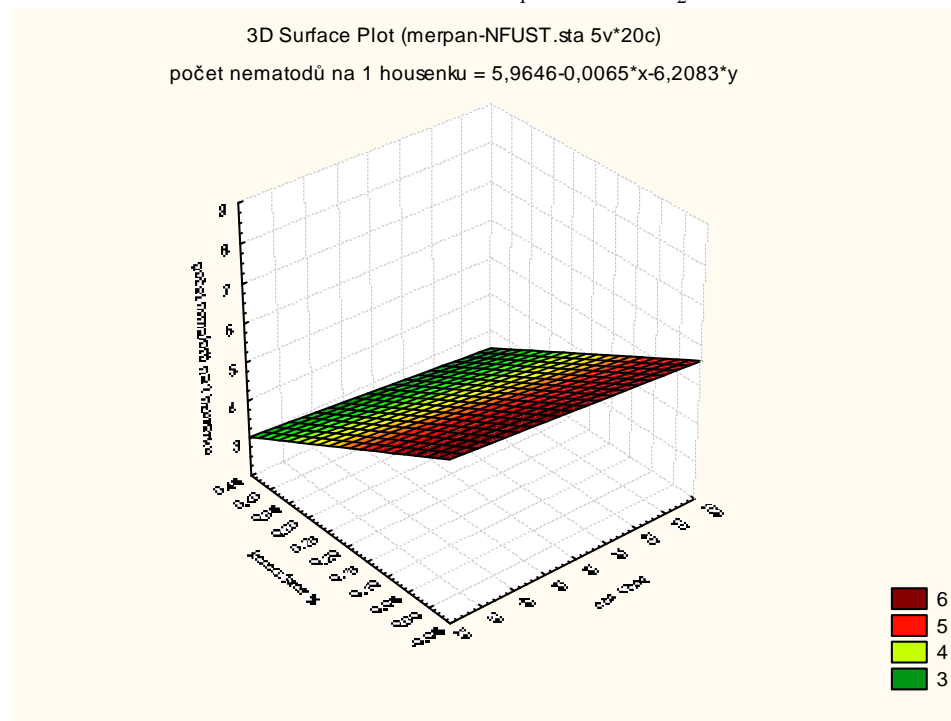


4.2.5. Merpan 80 WG – ú. I. captan

Graf číslo 52: Invaznost *Steinernema feltiae* – Merpan 80 WG (ú.l. captan)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	5,964	9,498	0,000
β_1	-0,006	-0,744	0,466
β_2	-6,208	-3,732	0,001
R= ,678	R2= ,460	F(2,17)=7,241	p<,005

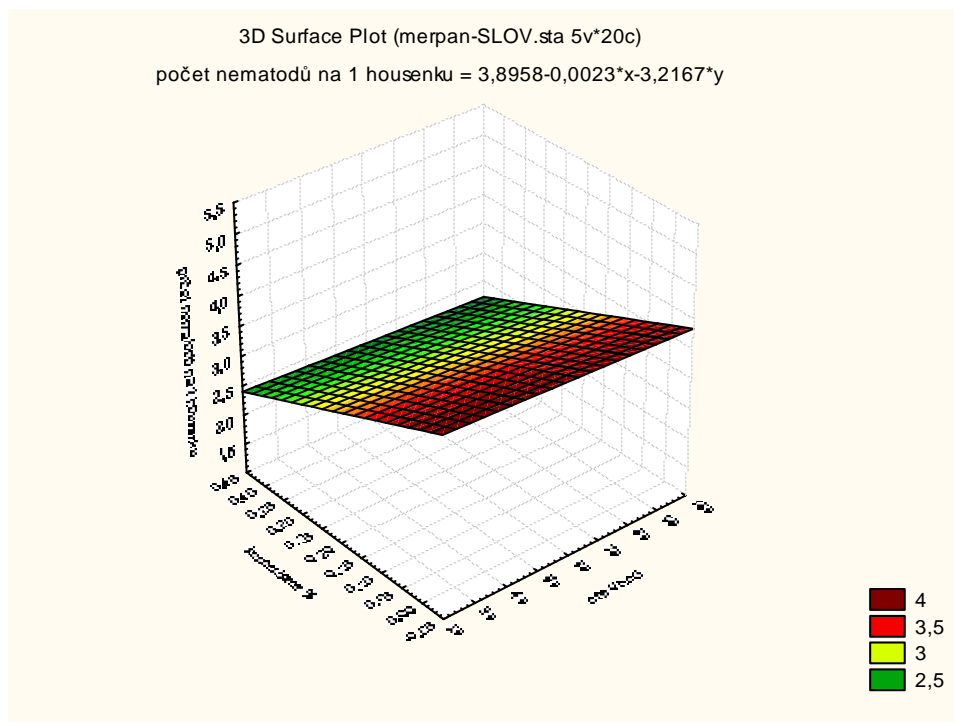
$$Y = 5,9646 - 0,0065X_1 - 6,2083X_2$$



Graf číslo 53: Invaznost *Steinernema arenarium* – Merpan 80 WG (ú.l. captan)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	3,895	6,207	0,00001
β_1	-0,002	-0,263	0,795
β_2	-3,216	-1,934	0,069
R= ,428	R2= ,183	F(2,17)=1,906	p<,179

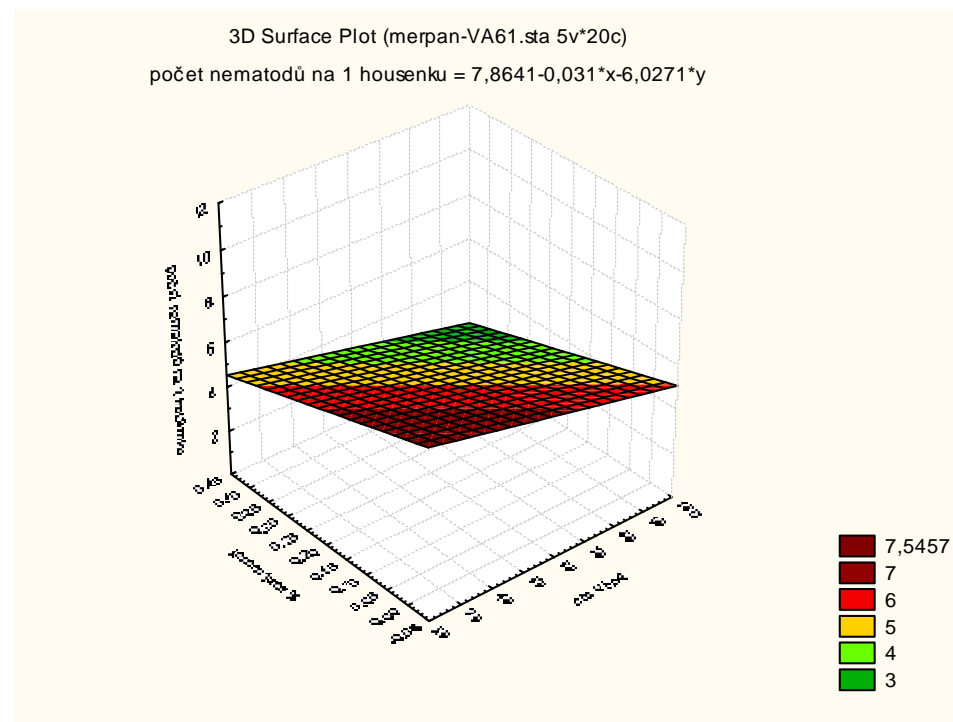
$$Y = 3,8958 - 0,0023X_1 - 3,2167X_2$$



Graf číslo 54: Invaznost *Steinernema kraussei* – Merpan 80 WG (ú.l. captan)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	7,864	5,799	0,00002
β_1	-0,031	-1,636	0,120
β_2	-6,027	-1,677	0,111
R= ,494	R2= ,244	F(2,17)=2,747	p<,092

$$Y = 7,8641 - 0,0310X_1 - 6,0271X_2$$



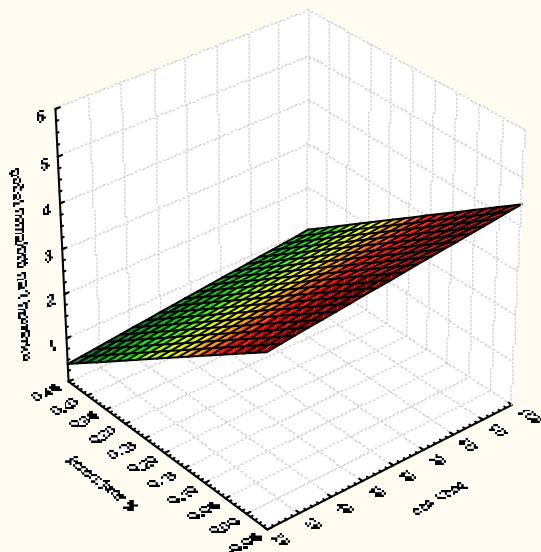
4.2.6. Novozir MN 80 – ú. I. mancozeb

Graf číslo 55: Invaznost *Steinernema feltiae* – Novozir MN 80 (ú.l. mancozeb)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	3,340	6,845	0,000003
β_1	0,007	1,131	0,273
β_2	-6,856	-5,304	0,00005
R= ,796	R2= ,633	F(2,17)=14,709	p<,0002

$$Y = 3,3401 + 0,0077 X_1 - 6,8563 X_2$$

3D Surface Plot (novozir-NFUST.sta 5v*20c)
počet nematodů na 1 housenku = 3,3401+0,0077*x-6,8562*y

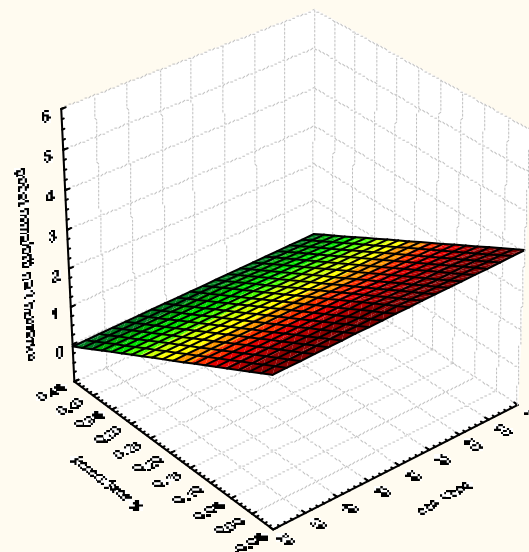


Graf číslo 56: Invaznost *Steinernema arenarium* – Novozir MN 80 (ú.l. mancozeb)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	2,592	3,600	0,002
β_1	0,001	0,158	0,875
β_2	-5,947	-3,118	0,006
R= ,603	R2= ,364	F(2,17)=4,875	p<,021

$$Y = 2,5922 + 0,0016 X_1 - 5,9479 X_2$$

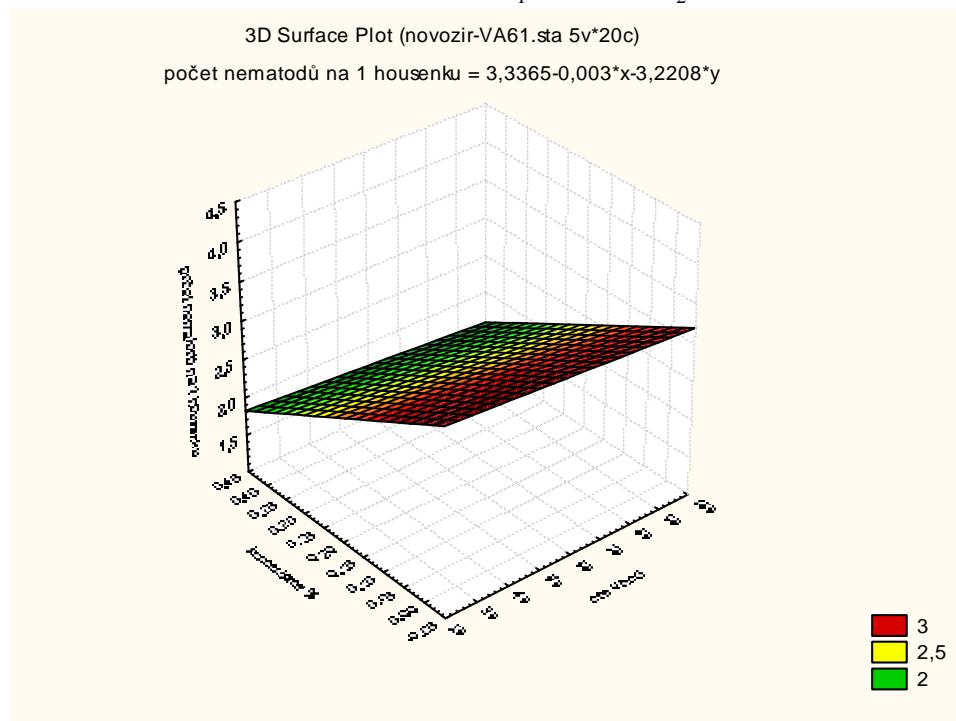
3D Surface Plot (novozir-SLOV.sta 5v*20c)
počet nematodů na 1 housenku = 2,5922+0,0016*x-5,9479*y



Graf číslo 57: Invaznost *Steinernema kraussei* – Novozir MN 80 (ú.l. mancozeb)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	3,336	9,354	0,000
β_1	-0,003	-0,602	0,554
β_2	-3,220	-3,408	0,003
R= ,642	R2= ,413	F(2,17)=5,991	p<,0107

$$Y = 3,3365 - 0,0030X_1 - 3,2208X_2$$

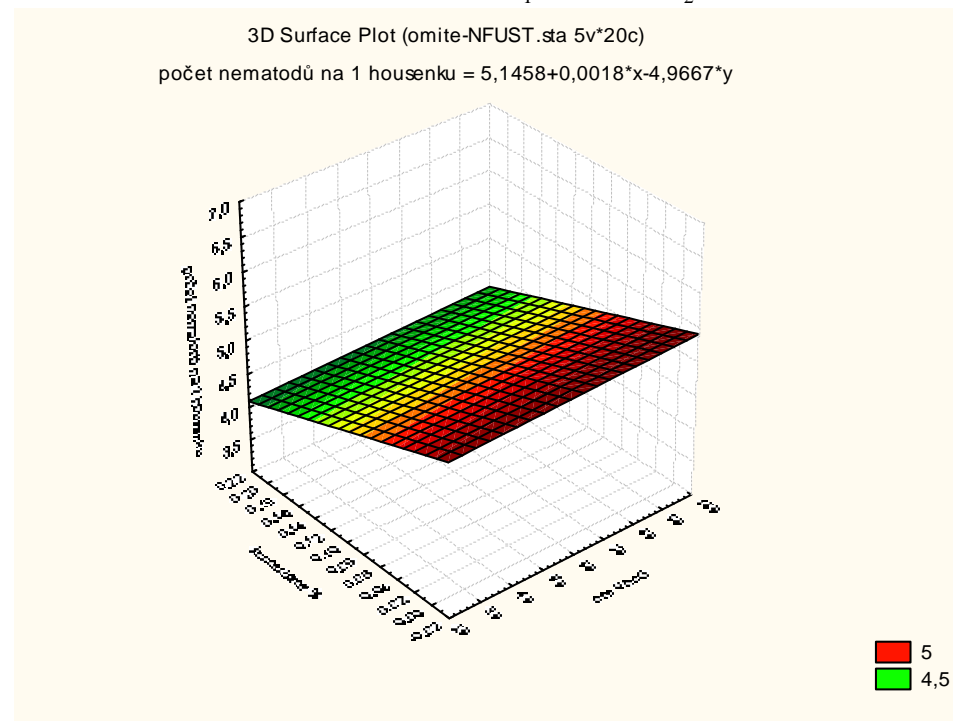


4.2.7. Omite 570 EW – ú. I. propargit

Graf číslo 58: Invaznost *Steinernema feltiae* – Omite 570 EW (ú.l. propargit)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	5,145	10,842	0,000
β_1	0,001	0,268	0,791
β_2	-4,966	-1,975	0,064
R= ,435	R2= ,189	F(2,17)=1,986	p<,167

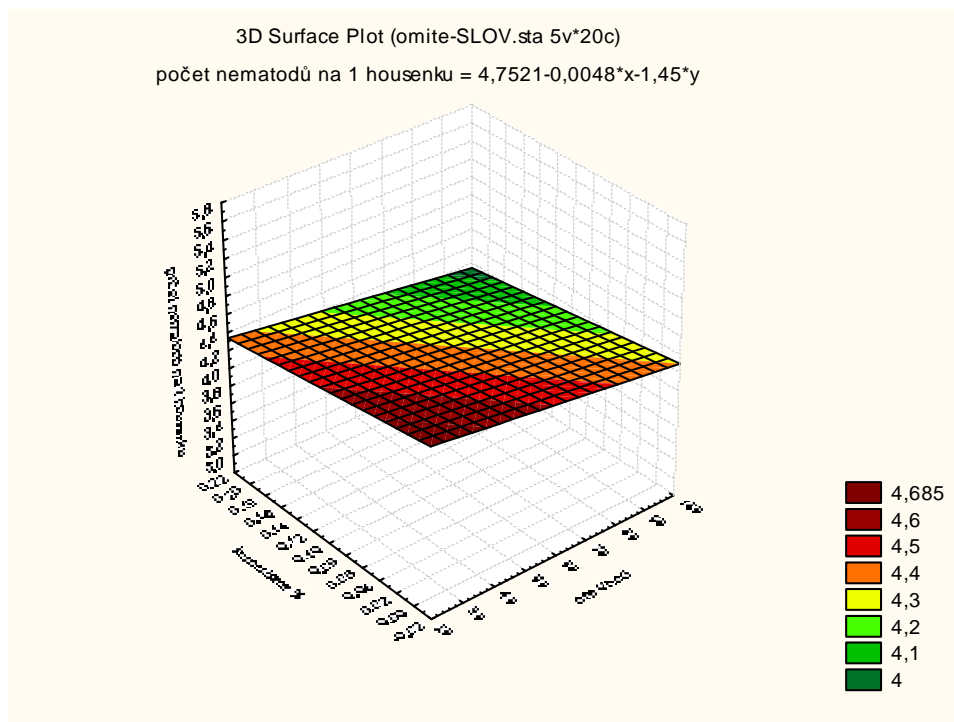
$$Y = 5,1458 + 0,0018X_1 - 4,9667X_2$$



Graf číslo 59: Invaznost *Steinernema arenarium* – Omite 570 EW (ú.l. propargit)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	4,752	10,288	0,000
β_1	-0,004	-0,745	0,466
β_2	-1,450	-0,592	0,561
R= ,224	R2= ,050	F(2,17)=,453	p<,643

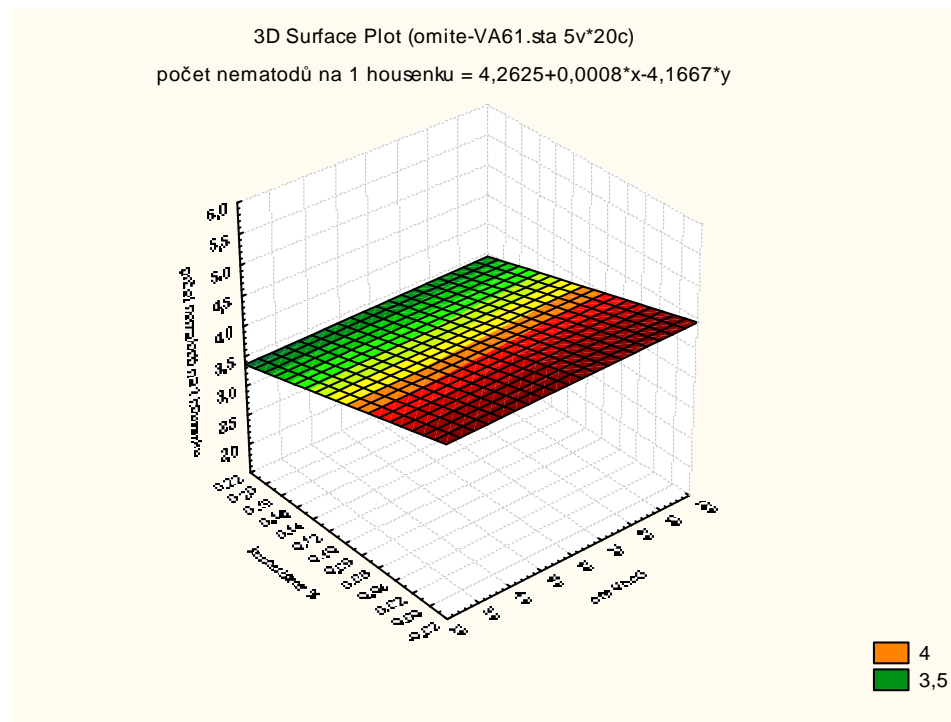
$$Y = 4,7521 - 0,0048X_1 - 1,4500X_2$$



Graf číslo 60: Invaznost *Steinernema kraussei* – Omite 570 EW (ú.l. propargit)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	4,262	8,244	0,000
β_1	0,001	0,115	0,909
β_2	-4,166	-1,521	0,146
R= ,347	R2= ,120	F(2,17)=1,163	p<,336

$$Y = 4,2625 + 0,0008X_1 - 4,1667X_2$$

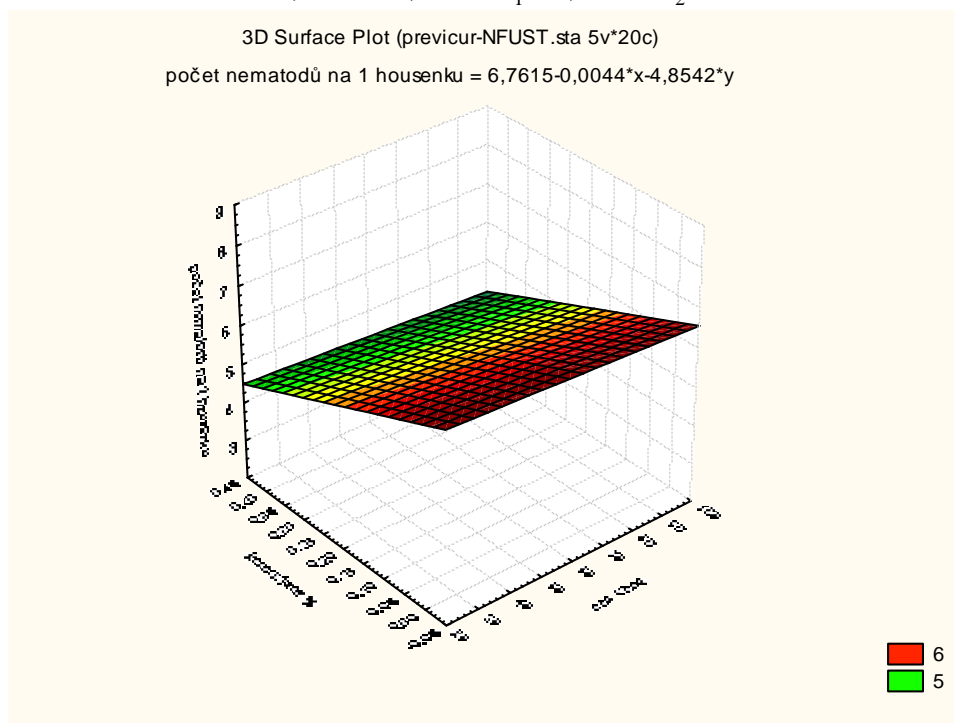


4.2.8. Previcur 607 SL – ú. I. propamacarb

Graf číslo 61: Invaznost *Steinernema feltiae* – Previcur 607 SL (ú.l. propamacarb)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	6,761	9,173	0,000
β_1	-0,004	-0,431	0,671
β_2	-4,854	-2,486	0,023
R= ,522	R2= ,272	F(2,17)=3,183	p<,066

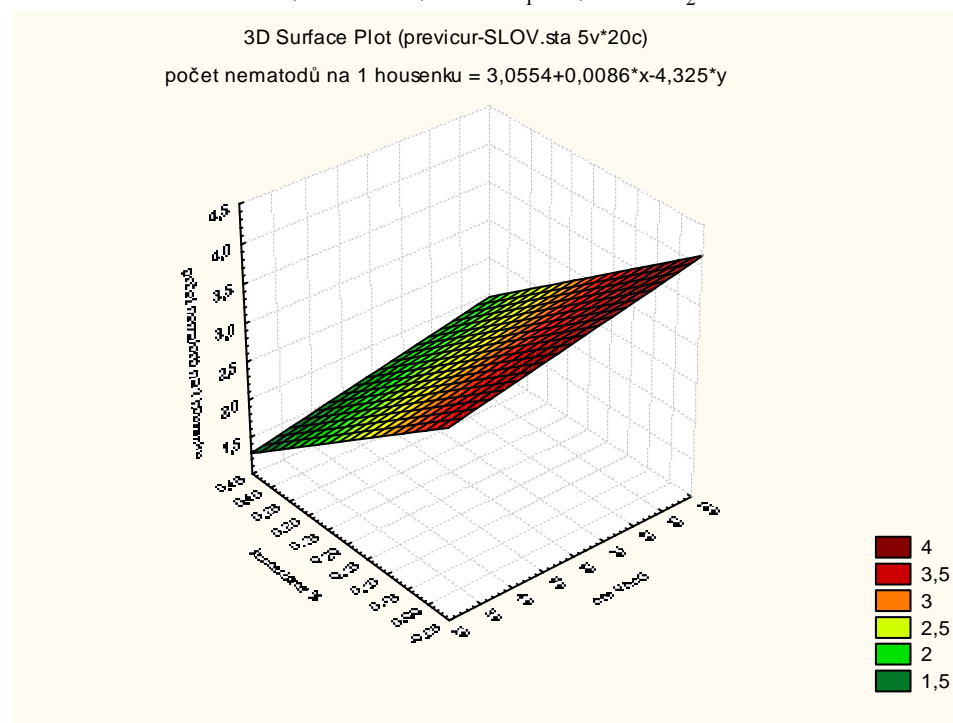
$$Y = 6,7615 - 0,0044X_1 - 4,8542X_2$$



Graf číslo 62: Invaznost *Steinernema arenarium* – Previcur 607 SL (ú.l. propamacarb)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	3,055	11,332	0,000
β_1	0,008	2,272	0,036
β_2	-4,325	-6,055	0,00001
R= ,843	R2= ,711	F(2,17)=20,916	p<,00003

$$Y = 3,0554 + 0,0086X_1 - 4,3250X_2$$

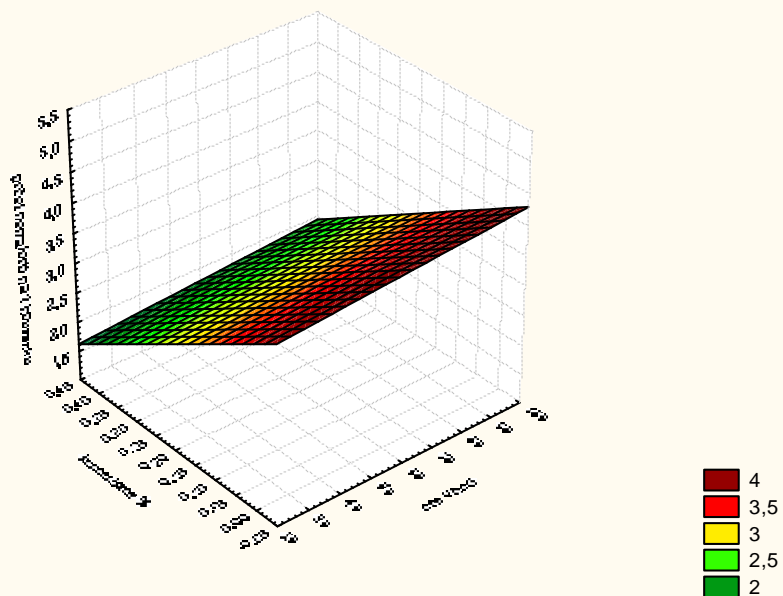


Graf číslo 63: Invaznost *Steinernema kraussei* – Previcur 607 SL (ú.l. prepamocarb)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	3,662	9,180	0,000
β_1	0,004	0,718	0,482
β_2	-4,704	-4,451	0,0003
R= ,737	R2= ,544	F(2,17)=10,167	p<,001

$$Y = 3,6623 + 0,0040 X_1 - 4,7042 X_2$$

3D Surface Plot (previcur-VA61.sta 5v*20c)
počet nematodů na 1 housenku = 3,6623+0,004*x-4,7042*y



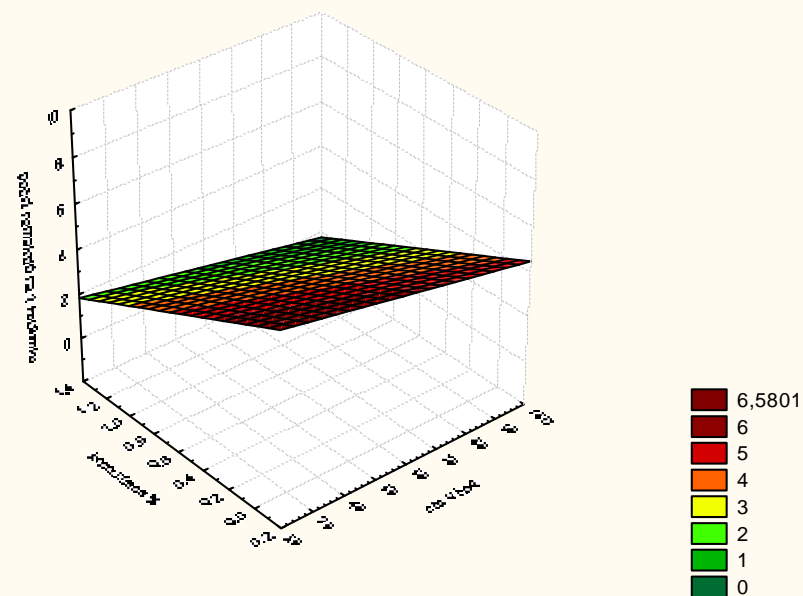
4.2.9. Starane 250 EC – ú. I. fluroxypry

Graf číslo 64: Invaznost *Steinernema feltiae* – Starane 250 EC (ú.l. fluroxypry)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	6,516	8,956	0,000
β_1	-0,026	-2,608	0,018
β_2	-2,969	-4,622	0,0002
R= ,789	R2= ,623	F(2,17)=14,086	p<,0002

$$Y = 6,5163 - 0,0265 X_1 - 2,9694 X_2$$

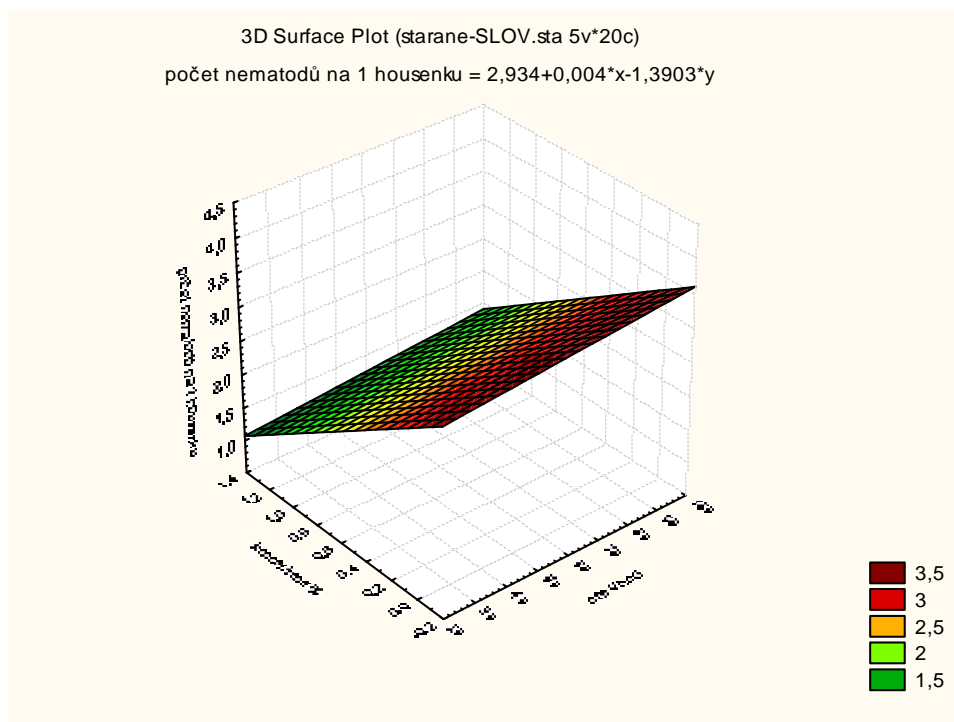
3D Surface Plot (starane-NFUST.sta 5v*20c)
počet nematodů na 1 housenku = 6,5162-0,0265*x-2,9694*y



Graf číslo 65: Invaznost *Steinernema arenarium* – Starane 250 EC (ú.l. fluroxypyr)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	2,934	6,408	0,000006
β_1	0,004	0,632	0,535
β_2	-1,390	-3,439	0,003
R= ,646	R2= ,418	F(2,17)=6,113	p<,009

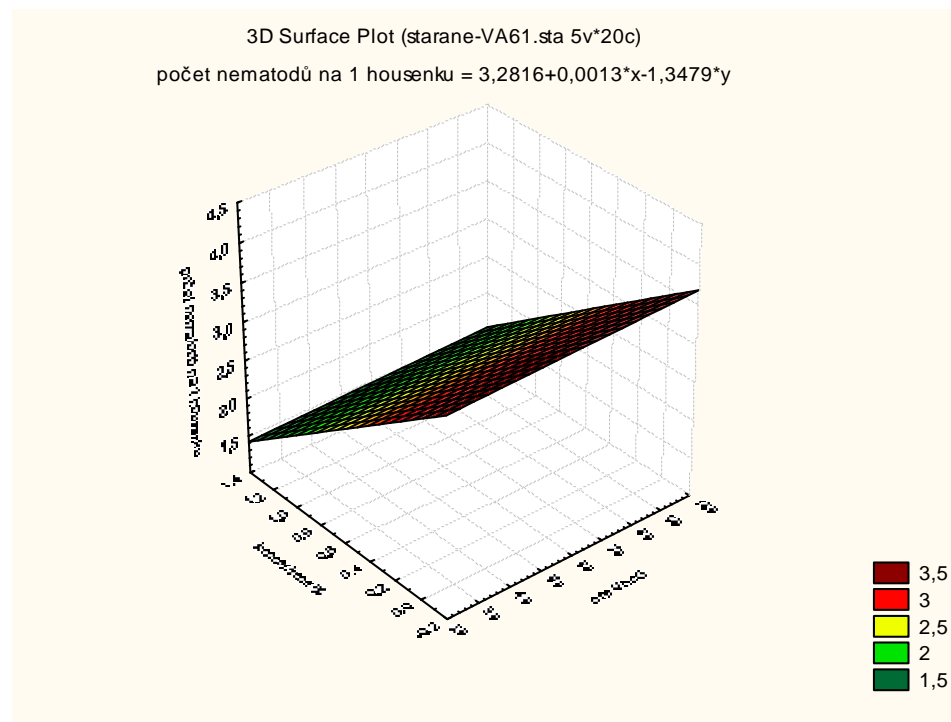
$$Y = 2,9340 + 0,0040X_1 - 1,3903X_2$$



Graf číslo 66: Invaznost *Steinernema kraussei* – Starane 250 EC (ú.l. fluroxypyr)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	3,281	10,640	0,000
β_1	0,001	0,312	0,758
β_2	-1,347	-4,949	0,0001
R= ,768	R2= ,591	F(2,17)=12,298	p<,0005

$$Y = 3,2816 + 0,0013X_1 - 1,3479X_2$$

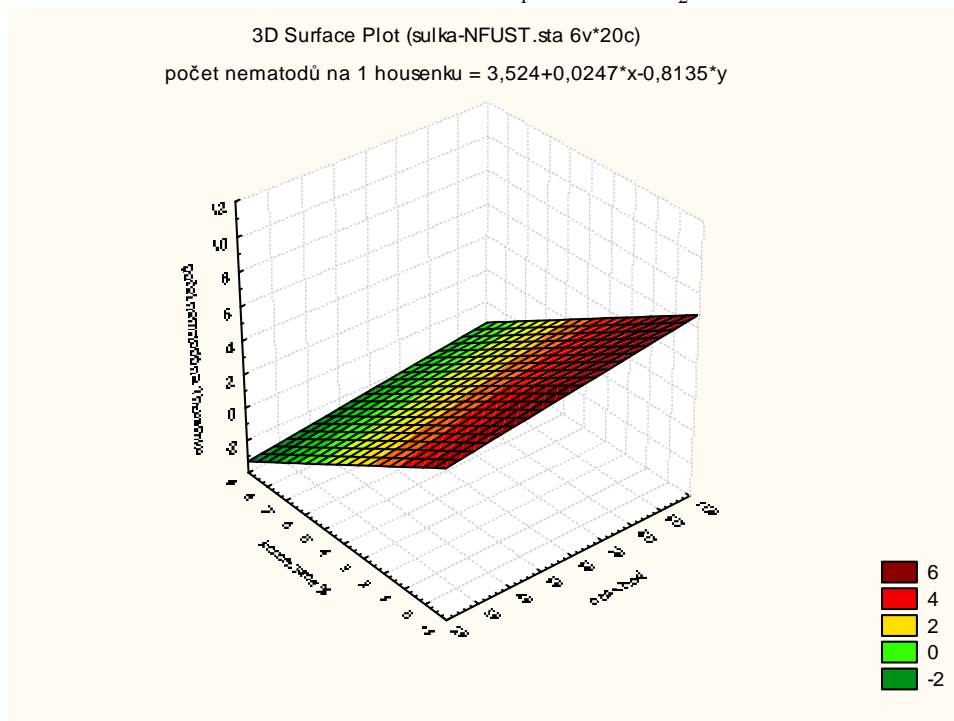


4.2.10. Sulka – polysulfid vápenatý

Graf číslo 67: Invaznost *Steinernema feltiae* – Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	3,524	2,375	0,029
β_1	0,024	1,193	0,248
β_2	-0,813	-4,140	0,001
R= ,722	R2= ,522	F(2,17)=9,285	p<,001

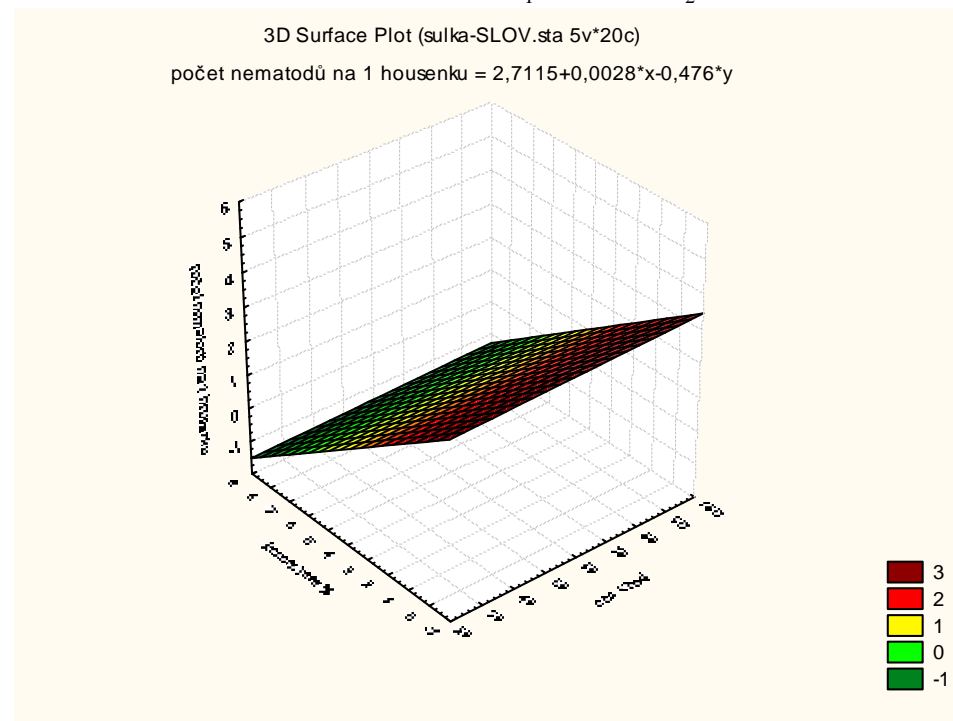
$$Y = 3,5240 + 0,0247 X_1 - 0,8135 X_2$$



Graf číslo 68: Invaznost *Steinernema arenarium* – Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	2,711	3,187	0,005
β_1	0,002	0,233	0,817
β_2	-0,476	-4,225	0,0005
R= ,716	R2= ,513	F(2,17)=8,954	p<,002

$$Y = 2,7115 + 0,0028 X_1 - 0,4760 X_2$$

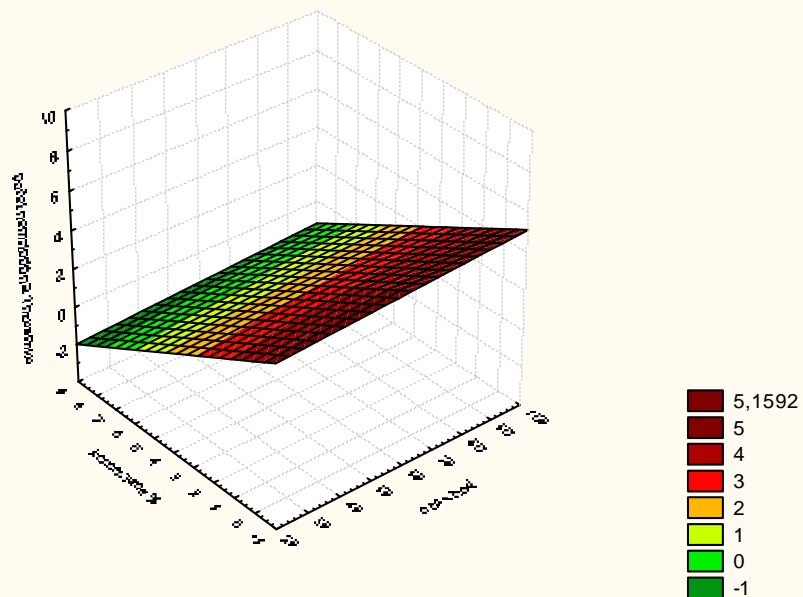


Graf číslo 69: Invaznost *Steinernema kraussei* – Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	3,580	3,838	0,001
β_1	0,009	0,723	0,479
β_2	-0,636	-5,154	0,00007
R= ,783	R2= ,614	F(2,17)=13,547	p<,0003

$$Y = 3,5806 + 0,0094X_1 - 0,6369X_2$$

3D Surface Plot (sulka-VA61.sta 5v*20c)
 počet nematodů na 1 housenku = 3,5806+0,0094*x-0,6369*y



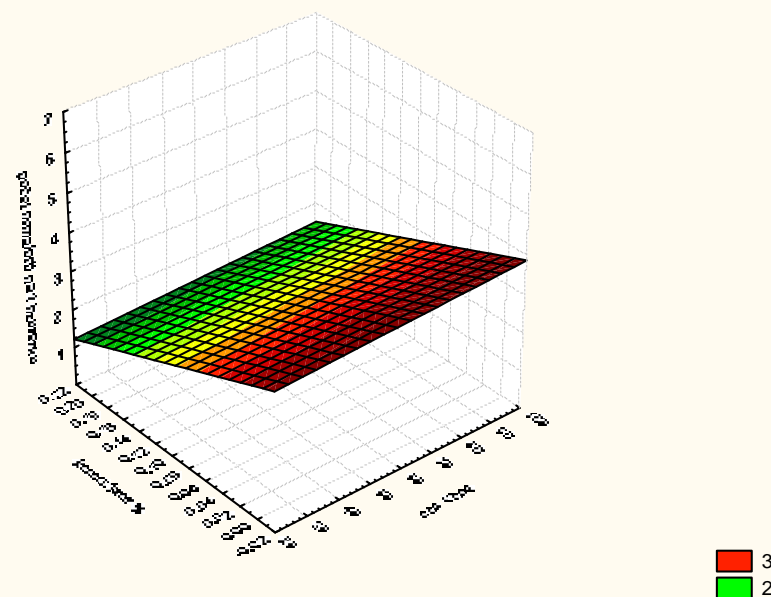
4.2.11. Sumithion super – ú. I. fenitrothion

Graf číslo 70: Invaznost *Steinernema feltiae* – Sumithion super (ú.l. fenitrothion)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	3,319	5,657	0,00002
β_1	0,003	0,420	0,679
β_2	-9,858	-3,171	0,005
R= ,612	R2= ,375	F(2,17)=5,116	p<,018

$$Y = 3,3194 + 0,0034X_1 - 9,8583X_2$$

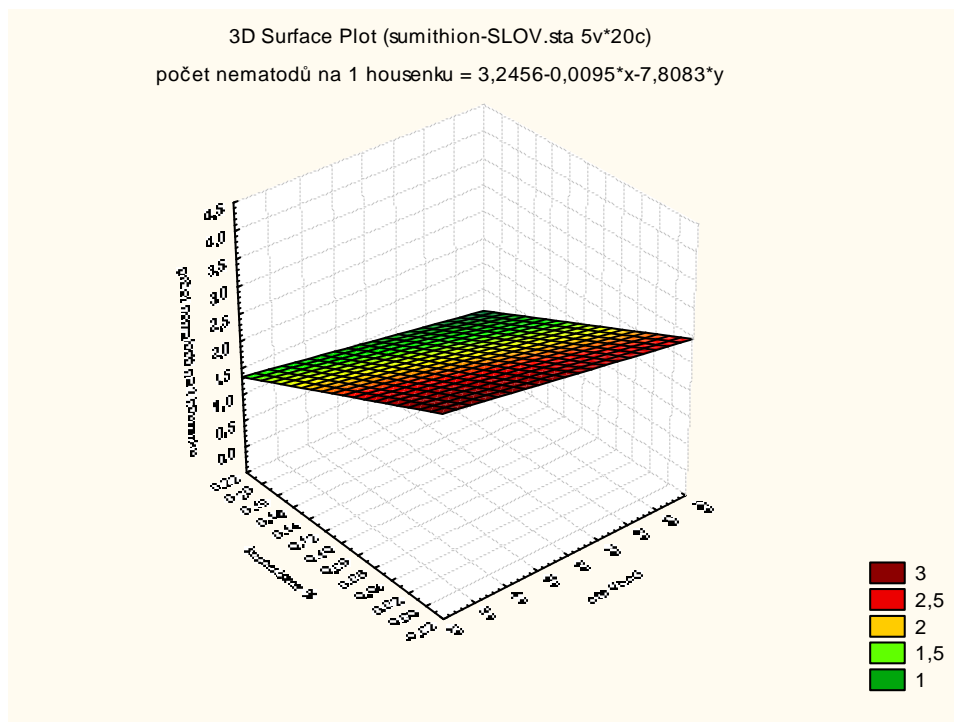
3D Surface Plot (sumithion-NFUST.sta 5v*20c)
 počet nematodů na 1 housenku = 3,3194+0,0034*x-9,8583*y



Graf číslo 71: Invaznost *Steinernema arenarium* – Sumithion super (ú.l. fenitrothion)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	3,245	6,453	0,000006
β_1	-0,009	-1,352	0,193
β_2	-7,808	-2,930	0,009
R= ,616	R2= ,379	F(2,17)=5,208	p<,017

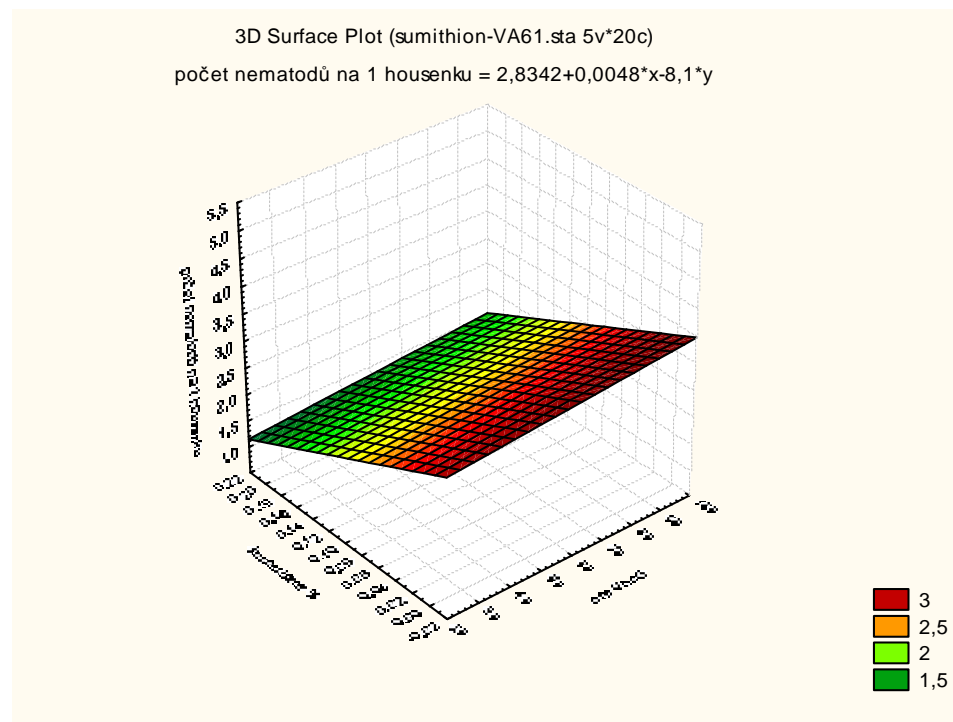
$$Y = 3,2456 - 0,0095X_1 - 7,8083X_2$$



Graf číslo 72: Invaznost *Steinernema kraussei* – Sumithion super (ú.l. fenitrothion)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	2,834	6,096	0,00001
β_1	0,004	0,744	0,466
β_2	-8,100	-3,288	0,004
R= ,633	R2= ,401	F(2,17)=5,684	p<,012

$$Y = 2,8342 + 0,0048X_1 - 8,1000X_2$$



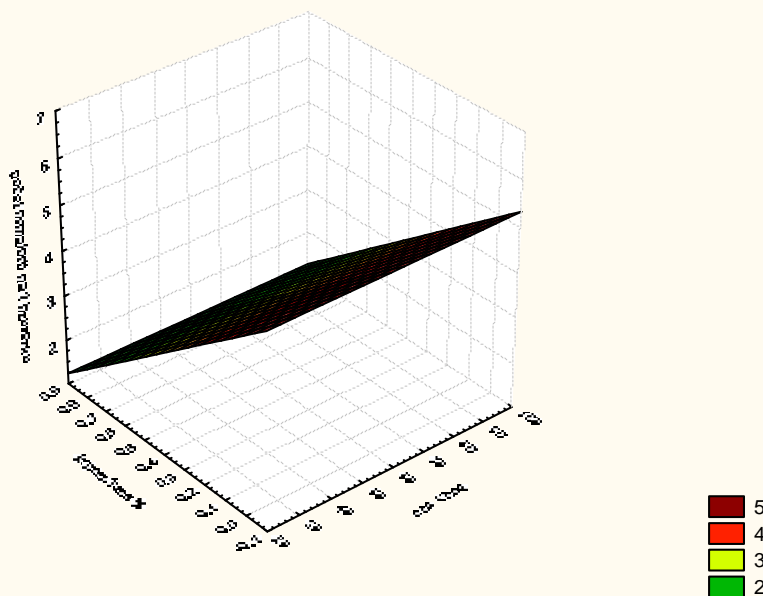
4.2.12. Treflan 48 EC – trifluralin

Graf číslo 73: Invaznost *Steinernema feltiae* – Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	4,902	7,391	0,000001
β_1	0,0003	0,028	0,977
β_2	-4,080	-4,644	0,0002
R= ,747	R2= ,559	F(2,17)=10,785	p<,0009

$$Y = 4,9024 + 0,0003X_1 - 4,0802X_2$$

3D Surface Plot (treflan-NFUST.sta 5v*20c)
počet nematodů na 1 housenku = 4,9024+0,0003*x-4,0802*y

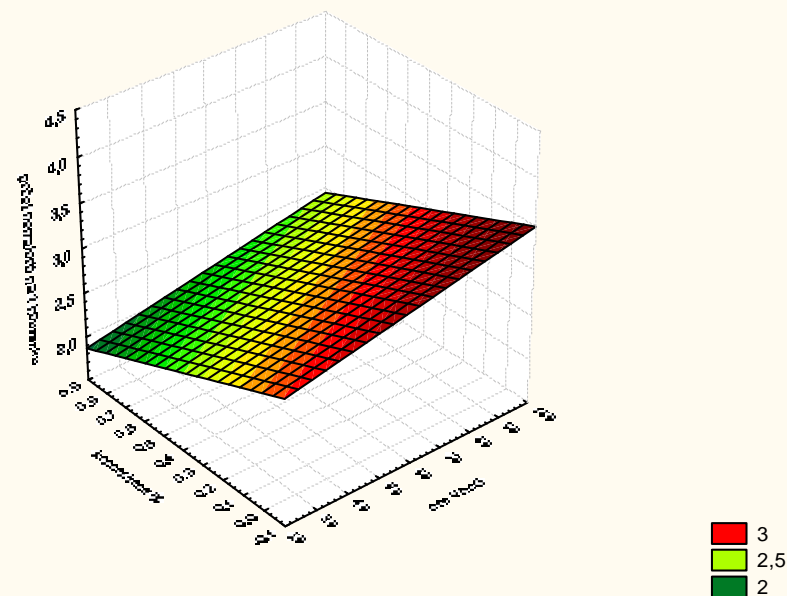


Graf číslo 74: Invaznost *Steinernema arenarium* – Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	2,658	5,822	0,00002
β_1	0,007	1,135	0,272
β_2	-1,038	-1,717	0,104
R= ,446	R2= ,199	F(2,17)=2,119	p<,150

$$Y = 2,6582 + 0,0072X_1 - 1,0385X_2$$

3D Surface Plot (treflan-SLOV.sta 5v*20c)
počet nematodů na 1 housenku = 2,6582+0,0072*x-1,0385*y

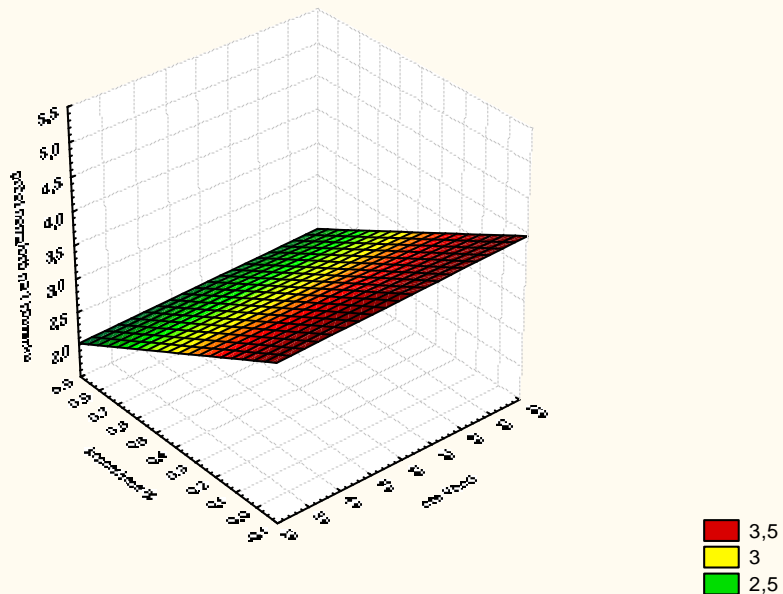


Graf číslo 75: Invaznost *Steinernema kraussei* – Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	3,63	10,277	0,000
β_1	0,001	0,309	0,760
β_2	-1,822	-3,896	0,001
R= ,687	R2= ,473	F(2,17)=7,638	p<,004

$$Y = 3,6302 + 0,0015 X_1 - 1,8229 X_2$$

3D Surface Plot (treflan-VA61.sta 5v*20c)
počet nematodů na 1 housenku = 3,6302+0,0015*x-1,8229*y



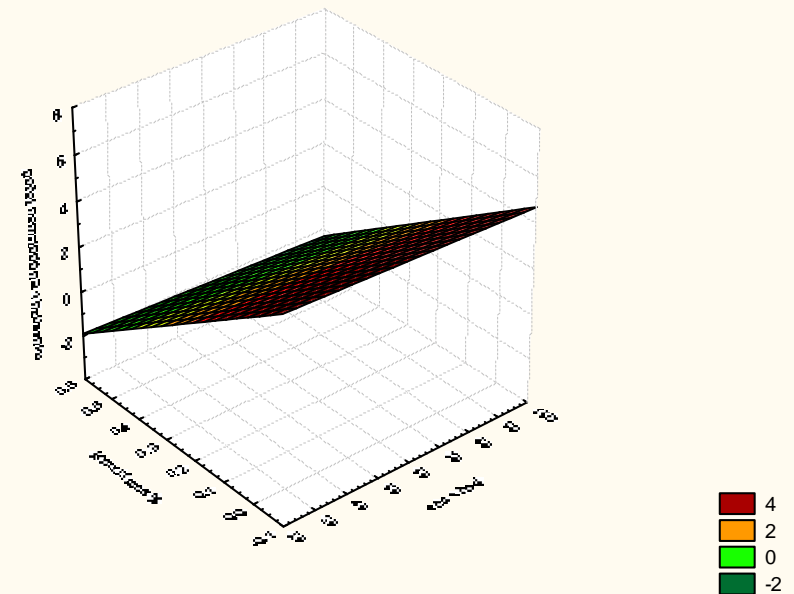
4.2.13. Vydate – ú. l. oxamyl

Graf číslo 76: Invaznost *Steinernema feltiae* – Vydate (ú.l. oxamyl)

NFUST	B	t (17)	p-level
α	4,254	3,826	0,001
β_1	-0,005	-0,357	0,724
β_2	-10,066	-4,272	0,001
R= ,720	R2= ,519	F(2,17)=9,192	p<,002

$$Y = 4,2542 - 0,0056 X_1 - 10,0667 X_2$$

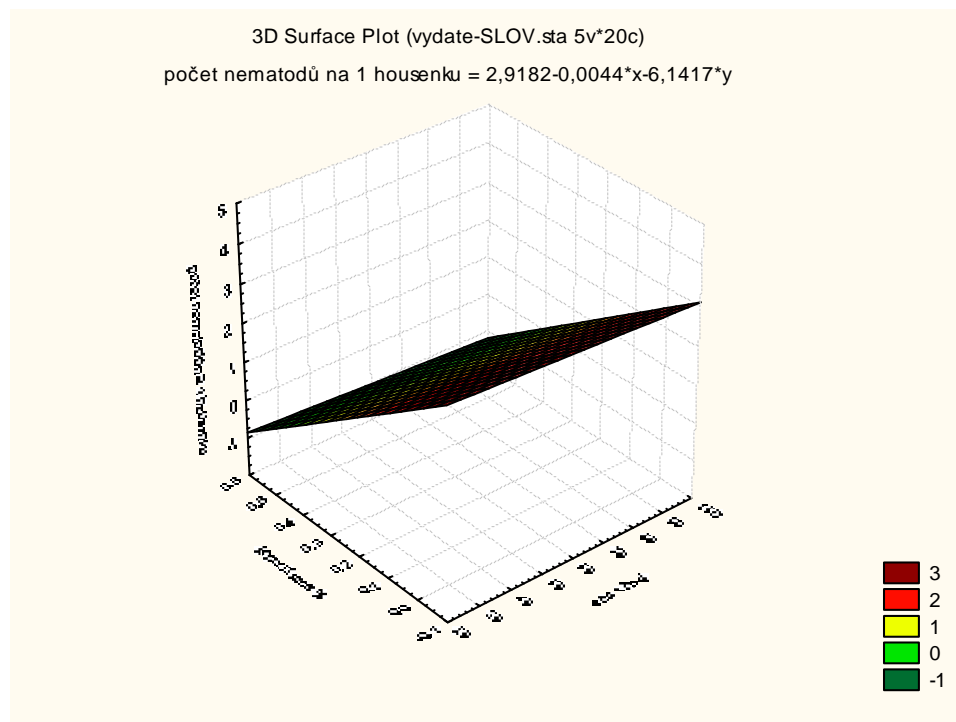
3D Surface Plot (vydate-NFUST.sta 5v*20c)
počet nematodů na 1 housenku = 4,2542-0,0056*x-10,0667*y



Graf číslo 77: Invaznost *Steinernema arenarium* – Vydate (ú.l. oxamyl)

SLOV	B	t (17)	p-level
α	2,918	5,081	0,0001
β_1	-0,004	-0,545	0,592
β_2	-6,141	-5,046	0,0001
R= ,776	R2= ,602	F(2,17)=12,881	p<,0003

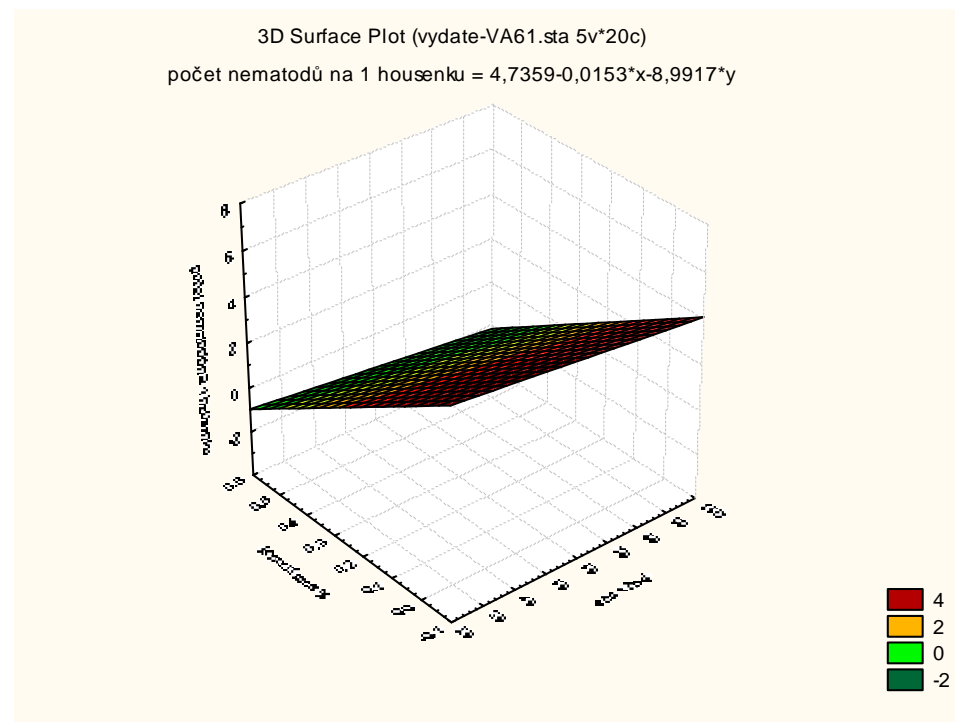
$$Y = 2,9182 - 0,0044X_1 - 6,1417X_2$$



Graf číslo 78: Invaznost *Steinernema kraussei* – Vydate (ú.l. oxamyl)

VA 6.1.	B	t (17)	p-level
α	4,735	5,417	0,00004
β_1	-0,015	-1,257	0,225
β_2	-8,991	-4,853	0,0001
R= ,772	R2= ,596	F(2,17)=12,567	p<,0004

$$Y = 4,7359 - 0,0153X_1 - 8,9917X_2$$



Invaznost je vlastnost velice variabilní. Vyplývá to z mé osobní zkušenosti. Mnohdy se při pitvě počet nematodů v housence za stejných podmínek významně lišil (subjektivní pozorování). Významné mezidruhové rozdíly nebyly zjištěny, možná i v důsledku veliké variability v invaznosti, která může být ovlivněna mnoha faktory (např.: teplota, vlhkost prostředí, hostitel a další).

Zajímavé zjištění vyplývající z tabulek i grafů je, že dle výsledků regresní analýzy se nepodařilo prokázat statisticky významné snížení invaznosti s rostoucí dobou působení pesticidu na nematody. Pouze v případě přípravku Lontrel 300 (ú.l. clopyralid) je snížení invaznosti v důsledku delšího vystavení invazních larev působení pesticidu statisticky významné ($p < 0,05$). Stejného výsledku bylo dosaženo i u nematodů *Steinernema feltiae* (přípravky Dursban 10 G - ú.l. chlorpyrifos a Starane 250 EC - ú.l. fluroxypyr a *Steinernema arenarium* (přípravky Karate 2,5 EC - ú.l. lambda-cyhalotrin a Previcur 607 SL - ú.l. propamocarb) ($p < 0,05$). U přípravků Atonik PRO - ú.l. nitrofenol (NFUST a VA6.1.), Previcur 607 SL – ú.l. propamocarb (SLOV) a Sulka – ú.l. polysulfid vápenatý (VA6.1.) byla dokonce zjištěna statisticky významná rostoucí invaznost s délkou působení pesticidu na invazní larvy. Tyto skutečnosti do jisté míry mohou naznačovat jak velkou variabilitu invaznosti, tak to, že doba působení pesticidu na invazní larvy opravdu statisticky významně neovlivňuje jejich schopnost napadnout hostitele.

Pozitivnějších výsledků bylo dosaženo při sledování vlivu koncentrace pesticidu na invaznost. Ve všech případech se ukázal vliv koncentrace na snížení invaznosti jako významný ($p < 0,05$). Mezidruhové rozdíly opět nebyly zjištěny.

Za neprůkazné lze považovat modely pro přípravky Omite 570 EW (ú.l. propargit) a dále Merpan 80 WG (ú.l. captan) – SLOV, VA6.1., Previcur 607 SL (ú.l. propamocarb) – NFUST a Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin) – SLOV ($p > 0,05$). V případě přípravků Omite 570 EW, Previcur 607 SL a Treflan 48 EC jsou modely neprůkazné jak u invaznosti, tak u mortality.

Z tabulky číslo 5 je patrné, že k nejvyššímu snížení invaznosti o 72 a 56 % došlo u přípravků Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý) a Vydate (ú.l. oxamyl), které také vykázaly nejvyšší mortalitu. Střední snížení invaznosti bylo dosaženo u tří přípravků: Starane 250 EC (ú.l. fluroxypyr) - 27 %, Sumithion super (ú.l. fenitrothion) - 27 % a Novozir MN 80 (ú.l. mancozeb) - 35 %. Ostatní přípravky nesnižují invaznost o více než 25 % oproti kontrole. Nejmenší vliv na invaznost pak mají Atonik PRO (ú.l. nitrofenol) a Lontrel 300 (ú.l. clopyralid) s 12 % a Omite 570 EW (ú.l. propargit) se 7 % (neprůkazný model, $p < 0,05$).

Přípravky byly rozděleny podle vlivu na invaznost podobně jako u mortality. Pro výpočet počtu nematodů v jedné housence byl použit čas 24 hodin a koncentrace pesticidu uvedená v tabulce číslo 6. Ve sloupci invaznost je uvedena na prvním místě predikce počtu nematodů za výše uvedených podmínek a na druhé pozici za lomítkem předpověď počtu nematodů při nulové koncentraci (kontrola ve vodě).

Tabulka číslo 6: Hodnocení přípravků dle vlivu na invaznost hlístovek.

Pesticid – účinná látka (koncentrace pesticidu v %)	Druh hlístovky	Odhadnutá invaznost (ks v čase 24 hodin)	Třída invaznosti
Lontrel 300 - clopyralid (0,2 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	3,87 / 4,52	1 Vysoká
	<i>S. arenarium</i>	2,72 / 2,99	
	<i>S. kraussei</i>	2,98 / 3,41	
Previcur 607 SL - propamocarb (0,2 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	5,68 / 6,65	1 Vysoká
	<i>S. arenarium</i>	2,40 / 3,26	
	<i>S. kraussei</i>	2,82 / 3,76	
Starane 250 EC – fluroxypyr (0,6%)	<i>Steinernema feltiae</i>	4,09 / 5,88	2 Střední
	<i>S. arenarium</i>	2,20 / 3,03	
	<i>S. kraussei</i>	2,51 / 3,32	
Sulka – polysulfid vápenatý (4 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	0,86 / 4,12	3 Nízká
	<i>S. arenarium</i>	0,87 / 2,78	
	<i>S. kraussei</i>	1,26 / 3,81	
Sumithion super - fenitrothion (0,1 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	2,42 / 3,40	2 Střední
	<i>S. arenarium</i>	2,24 / 3,02	
	<i>S. kraussei</i>	2,14 / 2,95	
Treflan 48 EC - trifluralin (0,4 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	3,28 / 4,91	1 Vysoká
	<i>S. arenarium</i>	2,42 / 2,83	
	<i>S. kraussei</i>	2,94 / 3,67	
Karate 2,5 EC – lambda-cyhalotrin (0,1 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	5,79 / 7,38	1 Vysoká
	<i>S. arenarium</i>	3,73 / 4,43	
	<i>S. kraussei</i>	4,91 / 5,78	
Dursban 10 G – chlorpyrifos (4 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	3,90 / 5,31	1 Vysoká
	<i>S. arenarium</i>	2,85 / 3,55	
	<i>S. kraussei</i>	3,46 / 4,23	
Atonik PRO - nitrofenol (0,04 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	2,81 / 3,56	1 Vysoká
	<i>S. arenarium</i>	3,24 / 3,75	
	<i>S. kraussei</i>	3,27 / 3,36	
Novozir MN 80 – mancozeb (0,2 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	2,15 / 3,53	2 Střední
	<i>S. arenarium</i>	1,44 / 2,63	
	<i>S. kraussei</i>	2,62 / 3,26	
Merpan 80 WG - captan (0,2 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	4,57 / 5,81	1 Vysoká
	<i>S. arenarium</i>	3,20 / 3,84	
	<i>S. kraussei</i>	5,91 / 7,12	
Vydate - oxamyl (0,25 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	1,60 / 4,12	3 Nízká
	<i>S. arenarium</i>	1,28 / 2,81	
	<i>S. kraussei</i>	2,12 / 4,37	
Omite 570 EW - propargit (0,1 %)	<i>Steinernema feltiae</i>	4,69 / 5,19	1 Vysoká
	<i>S. arenarium</i>	4,49 / 4,64	
	<i>S. kraussei</i>	3,87 / 4,28	

4.3. Selekce na zvýšení odolnosti

4.3.1. Mortalita

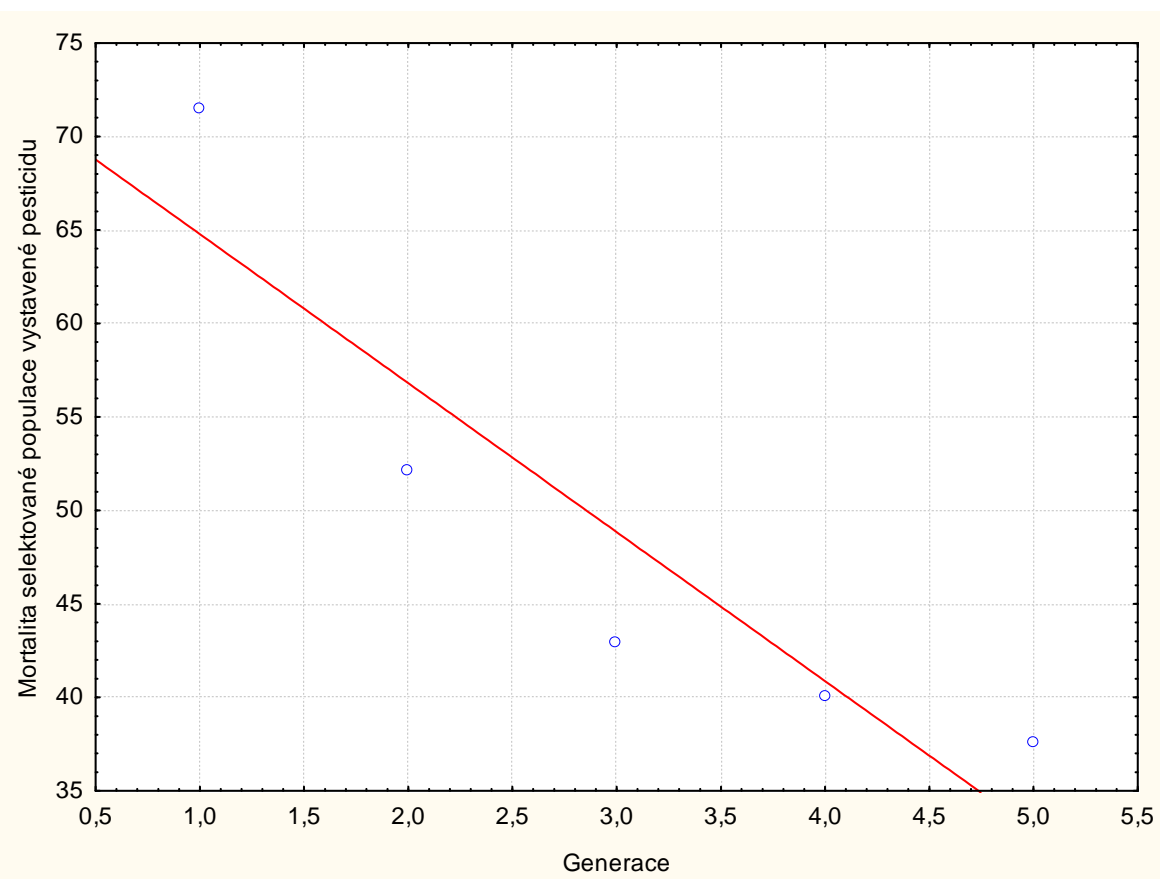
Legenda k tabulkám a regresním rovnicím

Generace	X
Mortalita / Invaznost	Y
B	parametry funkce α, β
t	t-test (stupně volnosti)
p	hladina významnosti
R	regresní koeficient
R ²	index determinace
F	celkový F test

Graf číslo 79: Výsledky regrese – selekce na zvýšení odolnosti k oxamylu – mortalita

	B	t (3)	p-level
α	72,745	10,770	0,002
β	-7,969	-3,913	0,029
R= 0,914	R ² = 0,836	F(1,3)= 15,314	p<0,029

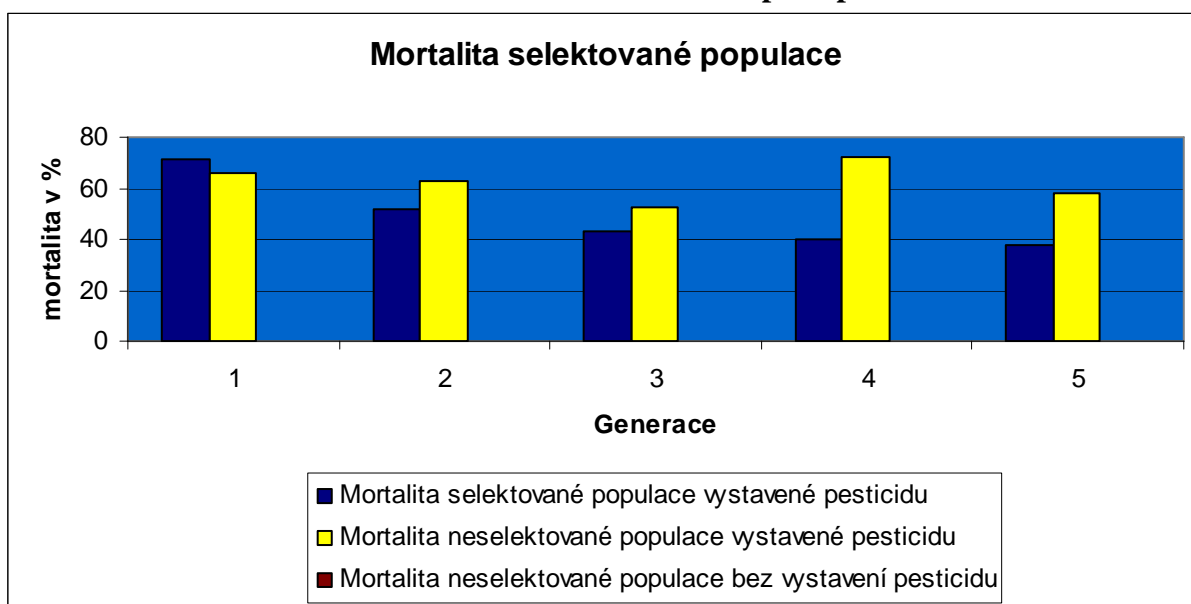
$$Y = 72,745 - 7,969 * X$$



Tabulka číslo 7: Mortalita invazních larev v závislosti na postupu selekce

Generace	Mortalita v %		
	Mortalita selektované populace vystavené pesticidu	Mortalita neselektované populace vystavené pesticidu	Mortalita neselektované populace bez vystavení pesticidu
1	71,45	65,66	0
2	52,11	62,96	0
3	42,93	52,17	0
4	40,08	72,34	0
5	37,62	58,33	0

Graf číslo 80: Mortalita invazních larev v závislosti na postupu selekce



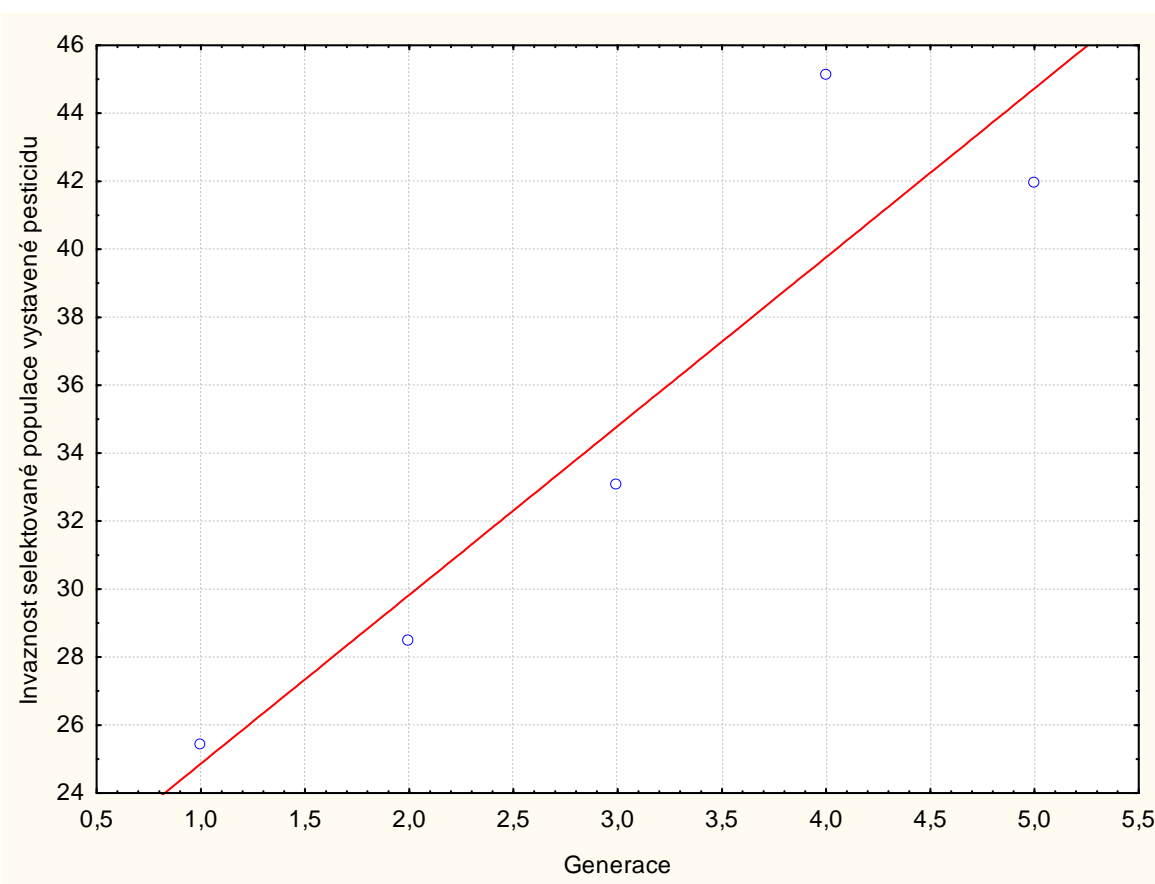
Z výsledků regresní analýzy (jednoduchá lineární regrese) vyplývá, že s postupující generací dochází ke statisticky významnému snížení mortality ($p < 0,05$). Totéž je patrné z grafu regresní přímky. Ve sloupcovém grafu mortality šlechtěné populace je možné porovnat mortalitu šlechtěné a nešlechtěné populace v pesticidu a ve vodě. I z tohoto je trend poklesu mortality zřejmý.

4.3.2. Invaznost

Graf číslo 81: Výsledky regrese – selekce na zvýšení odolnosti k oxamylu – Invaznost

	B	t (3)	p-level
α	19,898	5,105	0,014
β	4,966	4,225	0,024
R= 0,925	R2= 0,856	F(1,3)= 17,856	p<0,024

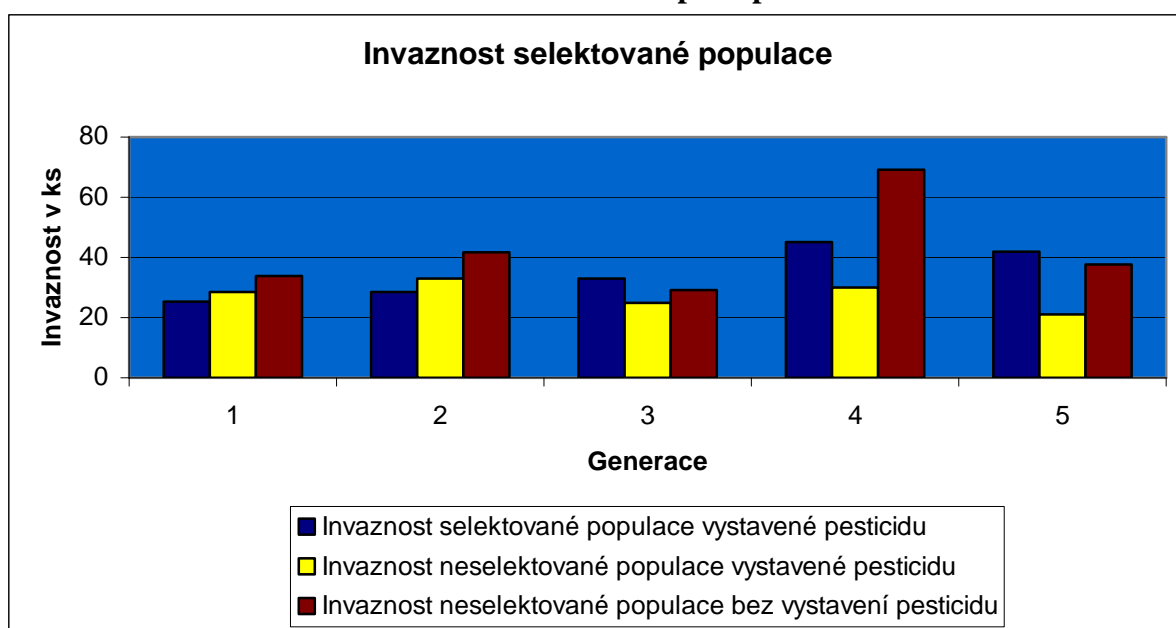
$$Y = 19,898 + 4,966 * X$$



Tabulka číslo 8: Invaznost hlístovky v závislosti na postupu selekce

Generace	Invaznost v ks		
	Invaznost selektované populace vystavené pesticidu	Invaznost neselektované populace vystavené pesticidu	Invaznost neselektované populace bez vystavení pesticidu
1	25,40	28,60	33,80
2	28,48	33	41,80
3	33,08	25	29,20
4	45,10	30	69,20
5	41,92	21	37,60

Graf číslo 82: Invaznost hlístovek v závislosti na postupu selekce



Pro vyhodnocení vlivu šlechtění na invaznost byla použita stejná metoda jako u předchozího vlivu na mortalitu. Výsledek je následující: s postupující generací stoupá statisticky významným způsobem také invaznost. Dokládají to jednotlivé koeficienty regresní rovnice ($p < 0,05$). Tento trend je pak možné vyčíst i z regresní přímky a v porovnání s invazností nešlechtěné populace v pesticidu a ve vodě i ze sloupcového grafu invaznosti šlechtěné populace.

5. Diskuse

Pokroky v masových produkcích a formulačních technologiích entomopatogenních hlístovek, získání mnoha nových izolátů (druhů) a současně snaha o snížení užívání pesticidů má za následek vlnu zájmu o tyto nematody jak ze strany vědecké veřejnosti, tak z řad obchodních společností (Georgis et al., 2006). Hlístovky jsou v současné době používány v mnoha plodinách proti více než 24 škůdcům z třídy Hmyz, některé další rhabditoidní hlístice jsou pak používány i proti měkkýšům. Okruh druhů hmyzu, který může být hostitelem hlístovek, však čítá více než 200 zástupců. I přesto některé hlístovky vykazují značnou specifitu jen k určitým druhům hmyzu. Příkladem může být *Steinernema scapterisci*, která reguluje v podstatě jen populace krtonožek (Nguyen a Smart, 1991). Nejvíce rozšířené je používání hlístic rodů *Steinernema* a *Heterorhabditis*, ale především komerční využití hlístice *Phasmarhabditis hermaphrodita* proti škodlivým měkkýšům je velikým úspěchem poslední doby. Kromě jmenovaných zástupců mají jistý potenciál pro využití v ochraně rostlin (a nejen jich) i další druhy hlístic. Hlavní komplikací je jejich hromadné množení a finanční náklady s tím spojené. Mimo hlavní proud zájmu tak, poněkud neprávem, stojí např. *Romanomermis culicivora* jakožto organismus úspěšně regulující populace larev komárů nebo zástupce čeledi Phaenopsitylenchidae *Deladenus siricidicola*, který spolehlivě omezuje populaci *Sirex noctilio* v oblasti Nového Zélandu a Austrálie (Lacey et al., 2001). Už z tohoto stručného přehledu je patrné, že hlístice mají své pevné místo nejen v ekosystému, ale i v biologické a integrované ochraně rostlin. Dá se očekávat, že boom jejich užívání teprve asi přijde. A proto má svůj význam studovat nejen druhy již dnes běžně užívané, ale také ty, jež svůj potenciál ještě skrývají a které teprve čekají na své (znovu)objevení a využití.

Ke zhodnocení toxicity pesticidů pro entomopatogenní hlístovky neexistuje žádná standardní a závazná metodika a stupnice. Metody používané v praxi i ve výzkumu se však vzájemně liší jen málo. Tedy jsou obdobné metodice použité v této práci. Z tohoto důvodu byla použita mezinárodní čtyřstupňová stupnice toxicity IOBC/WPRS, dle které hodnotí toxicitu i některé společnosti produkující a distribuující různá bioagens (Biobest, Kopert, Becker Underwood). Za zmínku však stojí návrh šestibodové stupnice, kterou publikoval Rovesti et al. (1988). Pro představu tu uvedu zkrácený český překlad.

- : invazní larvy mrtvé
- ++++ : invazní larvy stočené, neodpovídají na mechanické dráždění
- +++ : méně než 50 % invazních larev pohyblivých
- ++ : více než 50 % invazních larev pohyblivých
- + : vitalita oproti kontrole snížena pouze nepatrně
- 0 : vitalita není ve srovnání s kontrolou snížena

Jak je na první pohled patrné, tato stupnice hodnotí vliv pesticidu na vitalitu spíše z pohledu pohybové aktivity. Jako její značný nedostatek pak vidím především nejasné vymezení jednotlivých kategorií. Definovat vliv přípravku na vitalitu slovy: snížena jen nepatrně, případně vytvořit skupinu nad a pod 50 % pohyblivých invazních larev, je z mého pohledu členění pro praxi nedostatečné. Avšak pro účely laboratorní práce dostačující je. Autoři si však zaslouží ocenění za to, že jako jedni z mála navrhli vlastní stupnici pro hodnocení vitality. Z důvodů uvedených výše a také proto, že praxe si vyžaduje jednotné a taxativně vyjádřené hodnocení, jaké představuje stupnice IOBC/WPRS (byť pro nematody není nejvhodnější), se tato neujala.

Mnou testované pesticidy vesměs nevykázaly větší vliv na mortalitu hlístovek. Do kategorie toxických přípravků spadá dle předpokladu jen přípravek Sulka (ú.l. polysulfid vápenatý) a na bázi karbamátů přípravek Vydate (ú.l. oxamyl). Naopak přípravek Previcur 607 SL (ú.l. propamocarb), který náleží do skupiny dithiokarbamátů, vykázal jen velmi nízkou mortalitu na úrovni cca 5 %. Tento výsledek je ve shodě s tvrzením, že jen některé karbamáty mohou být pro hlístovky látkami silně toxickými (Gordon et al., 1996). Další významnou skupinou přípravků jsou pyrethroidy. Testovaným zástupcem této skupiny byl přípravek Karate 2,5 EC (ú.l. lambda-cyhalotrin). Head et al. (2000) uvádí, že pyrethroidy mají větší vliv na invaznost a patogenitu invazních larev, zatímco vliv na mortalitu je menší. S těmito závěry se však výsledky mé práce neshodují. Zvýšení mortality je sice velice malé a však statisticky významné. Vliv na invaznost byl prokázán také jen na velmi nízké úrovni, přípravek je zařazen do kategorie číslo 1. To znamená, že vliv na snížení invaznosti byl prokázán, ale je opět velice malý (invaznost klesá o méně než 25 % ve srovnání s kontrolou). Dle výsledků prací, které publikovali Zhang et al. (1994) a Nishimatsu a Jackson (1998), jsou některé organofosfáty (obecně celá skupina) pro hlístovky vysoce toxické. Z přípravků na bázi organofosfátů (Dursban 10 G – ú.l. chlorpyrifos a Sumithion super – ú.l. fenitrothion) se žádný neukázal jako silně toxický.

Přípravek Sumithion super dokonce vykázal jen velmi zanedbatelnou mortalitu (1 – 1,6 %), naproti tomu přípravek Dursban 10 G již vykazuje mortalitu v rozmezí 13 – 14,7 %, i tak však stále spadá do kategorie netoxických přípravků. Dalšími přípravky, které vykázaly určité zvýšení mortality, jsou například Merpan 80 WG (ú.l. captan) s mortalitou cca 10%, do jisté míry překvapením byl pak přípravek Treflan 48 EC (ú.l. trifluralin). Podle dostupných prací, které se zabývaly hodnocením vlivu herbicidů na přežívání hlístovek, jsou totiž tyto látky vůči nematodům nepříliš toxické (Gibb a Buhler, 1998 a Fujiie et al., 1993). Dle mých výsledků však tento přípravek v čase 24 hodin dosáhl téměř hranice 25% mortality a v delším časovém horizontu se pak dostává až za hranici 60 % (dle modelu). Mortalitu způsobenou přípravkem Treflan 48 EC však pravděpodobně výrazně zvýšilo velmi silné rozpouštědlo na bázi aromatických uhlovodíků (40 – 50 %), případně metanol (1 %). Mortalita způsobená ostatními herbicidy však již odpovídá tvrzení, že herbicidy nejsou pro hlístovky příliš nebezpečné. Do jisté míry pozornost zasluhující je i fungicidní přípravek Novozir MN 80 (ú.l. mancozeb). Tvrzení že negativní vliv tohoto přípravku na necílové organismy je vcelku malý, se neshoduje s mými výsledky, které ukazují, že se stoupající koncentrací a v delším časovém horizontu působení dochází ke značnému nárůstu mortality v populaci testovaných hlístovek (až za hranici 60 %). V pěti případech došlo ke snížení mortality s délkou působení pesticidu. To by mohlo být způsobeno neznámou náhodnou chybou dat, protože převažující trend je opačný a protože se jedná vždy jen o jednu hlístovku ze tří testovaných druhů a také proto, že jde o různé druhy.

Invaznost hlístovek je vlastnost velice úzce související s jejich pohybovou aktivitou. V této práci nebyla sledována přímo pohybová aktivita, ale schopnost hlístovek proniknout do těla hostitele a dokončit v něm vývoj. Tato vlastnost je vyjádřena počtem dospělců první „obří“ generace v hostiteli. Proto je srovnání s jinými pracemi poněkud obtížnější. Nicméně jako přípravky, které se na snížení invaznosti hlístovek podílejí nevíce, lze označit dva preparáty, Vydate (ú.l. oxamyl) a Sulku (ú.l. polysulfid vápenatý). Oba se v navržené stupnici dostaly do kategorie číslo 3 – Nízká invaznost (snížení invaznosti o 50 – 75 % oproti kontrole). Sulka snížila po 24 hodinách invaznost o 72 % a Vydate o 56 %. Tento výsledek je ve shodě například s prací, kterou zveřejnili Ishibashi a Takii (1993). Ti uvádí, že pohybovou aktivitu ovlivňují hlavně pesticidy ze skupiny karbamátů, pyrethroidů a organofosfátů. K podobným závěrům došli i Nishimatsu a Jackson (1998) nebo Head et al. (2000). Podle nich pohybovou aktivitu ovlivňují především pyrethroidy a organofosfáty. To potvrzují i výsledky této práce. Jeden z přípravků na bázi organofosfátů s účinnou látkou fenitrothion (Sumithion super) sice nezpůsobil nikterak velké snížení

invaznosti (pouze 27 %), ale ve srovnání s ostatními přípravky to je pokles výrazný a na první pohled patrný. Podobných a zajímavých výsledků bylo dosaženo u dalších dvou testovaných přípravků. Jsou jimi Starane 250 EC (ú.l. fluroxypyr) a Novozir MN 80 (ú.l. mancozeb). Tyto přípravky snížily po 24 hodinách invaznost o 27 a 35 %. To je zcela jednoznačně v rozporu s často paušalizovaným tvrzením o nízkém negativním vlivu herbicidů a fungicidů na hlístovky. Tento názor je zmíněn i v několika pracích (Gibb a Buhler, 1998; Fujiie et al., 1993 a další). Tito a další autoři (Zhang et al., 1994) však také uvádí, že vliv účinných látek na hlístovky je (může být) značně rozdílný i v rámci jediné skupiny. (Příklad pro podporu této myšlenky můžeme najít i zde. Vydate a Previcur 607 SL (ú.l. oxamyl a propamocarb), oba přípravky jsou karbamáty, přesto Previcur je přípravkem téměř neškodným a Vydate jedním z nejškodlivějších.) Při sledování vlivu přípravků na invaznost byla zjištěna ještě jedna pozoruhodná skutečnost. Až na několik výjimek se nepodařilo prokázat statisticky významný vliv času (doby působení pesticidu na hlístovky) pro snížení invaznosti hlístovek. Del Pino a Jové (2005) sledovali vliv účinné látky fipronil na hlístovky. S jejich tvrzením, že čas vystavení invazních larev pesticidu ovlivňuje invaznost jen nepatrně, se shodují i mé výsledky. Na otázku, proč nemá čas vliv na snížení invaznosti, není lehké odpovědět. Mráček et al. (1981) napsali, že odolnost hlístovky vůči pesticidu je připisována především ochrannému působení silné kutikuly invazní larvy a dále uzavřenému orálnímu a análnímu otvoru. To může znamenat, že pesticid ovlivňuje hlístovky nejen přímou toxicitou, ale spíše dojde k poškození kutikuly v důsledku vyššího osmotického tlaku roztoku (v laboratorních podmínkách) a následně hlístovka hyne nebo je poškozena a má sníženou pohybovou aktivitu. Tyto invazní larvy (mrtvé a se sníženou pohybovou aktivitou) jsou pak vyřazeny z procesu napadení hostitele. A jelikož do hostitele (i v kontrole s čistou vodou) vždy proniká jen určitá část z přidávaných invazních larev, která pravděpodobně odpovídá optimálnímu počtu hlístovek v hostiteli za daných podmínek, můžeme se domnívat, že pokud pesticid nevyřadí z procesu napadení hostitele příliš velké množství invazních larev, je housenka napadena přibližně stejným (za daných podmínek optimálním) počtem hlístovek. A právě proto se neprojeví v poklesu invaznosti čas, ale jen koncentrace roztoku pesticidu, která úzce koreluje s osmotickým tlakem prostředí. Tato teorie může ale platit jen za situace, kdy ke smrti nebo snížení aktivity dojde u náchylných jedinců během prvních 24 hodin (jakási selekce odolnějších fenotypů). Docházelo-li by k poškození invazních larev vlivem pesticidu postupně (např. postupné pomalé pronikání účinné látky skrz kutikulu do těla), musel by se čas projevit ve snížení invaznosti (za předpokladu, že účinná látka negativně ovlivňuje invazní larvu). Pro

hodnocení toho, zda přípravek působí přímo toxicky, nebo ovlivňuje hlístovky prostřednictvím osmotického tlaku, je však třeba jiné detailní práce a nikoli jen úvahy a pokusu o možné vysvětlení zjištěného jevu. Tedy ve výsledku je možné říci, že použitý způsob hodnocení invaznosti není ideální a významu tak nabývá spíše sledování pohybové aktivity s následným hodnocením invaznosti v různých časech kontaktu hostitele a hlístovky. To je také mým návrhem na zdokonalení použité a výše popsané metodiky.

Selekce na vyšší odolnost hlístovek vůči pesticidům má svou logiku v možnosti používat je společně se škodlivějšími přípravky ze skupin karbamátů, pyrethroidů a organofosfátů v systémech, kde se přípravky méně šetrné vůči necílovým organismům využívají více, tj. mimo systémy biologické a integrované ochrany rostlin. Mnoho autorů se zabývalo selekcí na odolnost vůči extrémním teplotám (Ehlers et al., 2005) nebo na vyšší afinitu a patogenitu pro konkrétní hostitele (Shapiro-Ilan et al., 2005). Selekcí za účelem získat pesticidu odolnější kmen hlístovky *Heterorhabditis bacteriophora* se zabývali Glazer et al. (1997). Jejich výsledky jsou poněkud pozitivnější než mé (po 5 generacích se snížila mortalita ze 72,45 % na 37, 62 %). Rozdíl ve výsledku lze spatřovat především v odlišných druzích, čeledích a izolátech použitých k selekci a také v koncentraci účinné látky užití při selekci. Příslušný izolát *Heterorhabditis bacteriophora* musel být nepochybně výrazně odolnější vůči přípravku Vydate (ú.l. oxamyl) než mnou užitý ruský izolát *Steinernema feltiae*. To umožnilo použít vyšší dávku a urychlit tak i vyselektování odolnějšího organismu. Vyšší odolnost rodu *Heterorhabditis* lze vysvětlit tak, že invazní larvy druhů tohoto rodu mají velice silně fixovanou kutikulu druhého larválního instaru na již vytvořené třetí kutikule. Zatímco zástupci rodu *Steinernema* ji vesměs rychle ztrácejí při dotyku se substrátem, u *Heterorhabditis* drží pevně. Tato ochrana může být příčinou nižší mortality invazních larev u pokusů, které prováděl Glazer et al. (1997). Obecně vzato jsou však mé výsledky ve shodě s touto prací. Klesající trend v mortalitě byl naznačen již v pěti generacích. Mimo toho jsem potvrdil i opětovné stoupání invaznosti, která byla u první generace vlivem přípravku Vydate značně snižena oproti kontrole ve vodě. Každopádně není od věci se touto prací inspirovat pro dokončení započatého pokusu. Podle autorů došlo v případě účinné látky oxamyl po pěti generacích ke zvýšení odolnosti asi 5,7krát, poté byla zvýšena dávka pesticidu a po dalších šesti generacích již byla odolnost více než 15krát vyšší než u základní nešlechtěné populace (z této populace tuto dávku žádný nematod nepřežil, u šlechtěné populace přežívalo více než 90 %). To je vcelku zajímavá myšlenka, kterou bych mohl uplatnit ve svém pokusu také. Avšak až poté, co se při současné dávce mortalita ustálí a nebude dále klesat. Obdobných výsledků dosáhli autoři u

látek fenamifos a avermectin. Velmi důležitým zjištěním pro biologickou ochranu je skutečnost, že selekcí získaná vlastnost vyšší odolnosti je stálá (tedy alespoň po tři následující generace její úroveň neklesá). Na první pohled bychom mohli říci, že se o tak významné zjištění nejedná, neboť využíváme nematody jen krátkodobě ve velkém množství (inundativní aplikace) (Gaugler, 1988; v Glazer et al., 1997); tehdy skutečně stálost vlastnosti není důležitá, ale zároveň by takováto neustálenost populace přinášela problémy při produkci odolných nematodů. Neustále bychom museli vytvářet nové odolné populace a to je časově i finančně velice náročné. Proto pokud chceme provádět šlechtění na zlepšení určité vlastnosti nebo schopnosti, musíme toto dělat s cílem aplikace inokulativní, tedy s předpokladem dlouhodobého (či trvalého) vysazení rezistentního nematoda na stanovišti. A to přináší právě nutnost získat trvalou fixaci dané vlastnosti, což umožní nejen inokulativní aplikaci v trvalých kulturách, ale i snazší produkci odolných nematodů pro běžné inundativní aplikace.

Rezistence vůči testovaným látkám (oxamyl a fenamifos) u entomoparazitických nematodů i druhů napadajících rostliny, je známá z polních i laboratorních podmínek. Přesný mechanismus rezistence však dosud známý není. Určitou možnost vzniku rezistence naznačil Glazer et al. (1997), jak uvádím výše, v citaci Mráčka (Mráček et al., 1981). Tedy jsou-li ústa i anální otvor uzavřeny, musí oxamyl penetrovat skrze kutikulu a právě to je místo, jehož modifikací může dojít ke vzniku morfologií podmíněné odolnosti. Jinak řečeno, při selekci na odolnost vůči oxamylu pravděpodobně nešlechtíme nematody na rezistenci vůči účinné látce, nýbrž selekcí vybíráme jedince s kutikulou lépe bránící prostupu oxamylu (silnější?) a v populaci tuto vlastnost fixujeme. To by mohlo vysvětlit i další zjištění Glazera (Glazer et al., 1997), mezi liniemi odolnými oxamylu, fenamifosu a avermectinu existuje cross rezistence. Tedy linie odolné avermectinu a oxamylu mají zároveň zvýšenou odolnost vůči fenamifosu, stejně tak linie odolná látce fenamifos má vyšší odolnost vůči oxamylu, u avermectinu tomu však tak není, stejně tak nevznikla odolnost vůči avermectinu u linií odolných oxamylu. Do jisté míry to naznačuje určitou odlišnost avermectinu, který není ryze syntetickou chemikálií, nýbrž je látkou přírodního původu.

6. Závěr

- ✚ Mezidruhové rozdíly v mortalitě (odolnosti vůči pesticidu) nebyly zjištěny.
- ✚ Pro zvýšení mortality testovaných hlístovek je významná koncentrace i doba působení pesticidu.
- ✚ Z testovaných pesticidů jsou pro hlístovky toxické pouze Vydate a Sulka. Ostatní jsou přípravky netoxické.
- ✚ Invaznost je velice variabilní vlastnost, u které nebyly mezi třemi testovanými druhy hlístic zjištěny mezidruhové rozdíly.
- ✚ Na snížení invaznosti testovaných hlístic má statisticky významný vliv pouze koncentrace a nikoliv doba působení pesticidu.
- ✚ Z testovaných pesticidů způsobují nízkou invaznost (kategorie 3) přípravky Vydate a Sulka.
- ✚ Testované přípravky je možné používat v systémech, kde jsou používány také entomopatogenní hlístice. Pouze přípravky Sulka a Vydate v těchto systémech není možné použít.
- ✚ Pozornost by měla být věnována přípravkům Starane 250 EC, Sumithion super, Novozir MN 80 z hlediska vlivu na invaznost (a dále reprodukceschopnost populace) a přípravku Treflan 48 EC z hlediska zvýšení mortality např. při společné aplikaci.
- ✚ V rámci pokusu o získání hlístovky odolnější vůči pesticidu (účinná látka oxamyl) bylo dosaženo sestupného trendu u mortality a vzestupného u invaznosti hlístovky *Steinernema feltiae*. (Populace je pravděpodobně odolnější.)

7. Obrazová příloha



Obrázek 2: Vodní past (Jiří Nermuť)



Obrázek 3: Vystavení housenek *Galleria mellonella* invazním larvám
hlístic (Jiří Nermuť)



Obrázek 4: Uchování invazních larev, vodních pastí a nakažených housenek v chladicím boxu (Jiří Nermet)



Obrázek 5: Chov housenek motýla *Galleria mellonella* (Jiří Nermet)



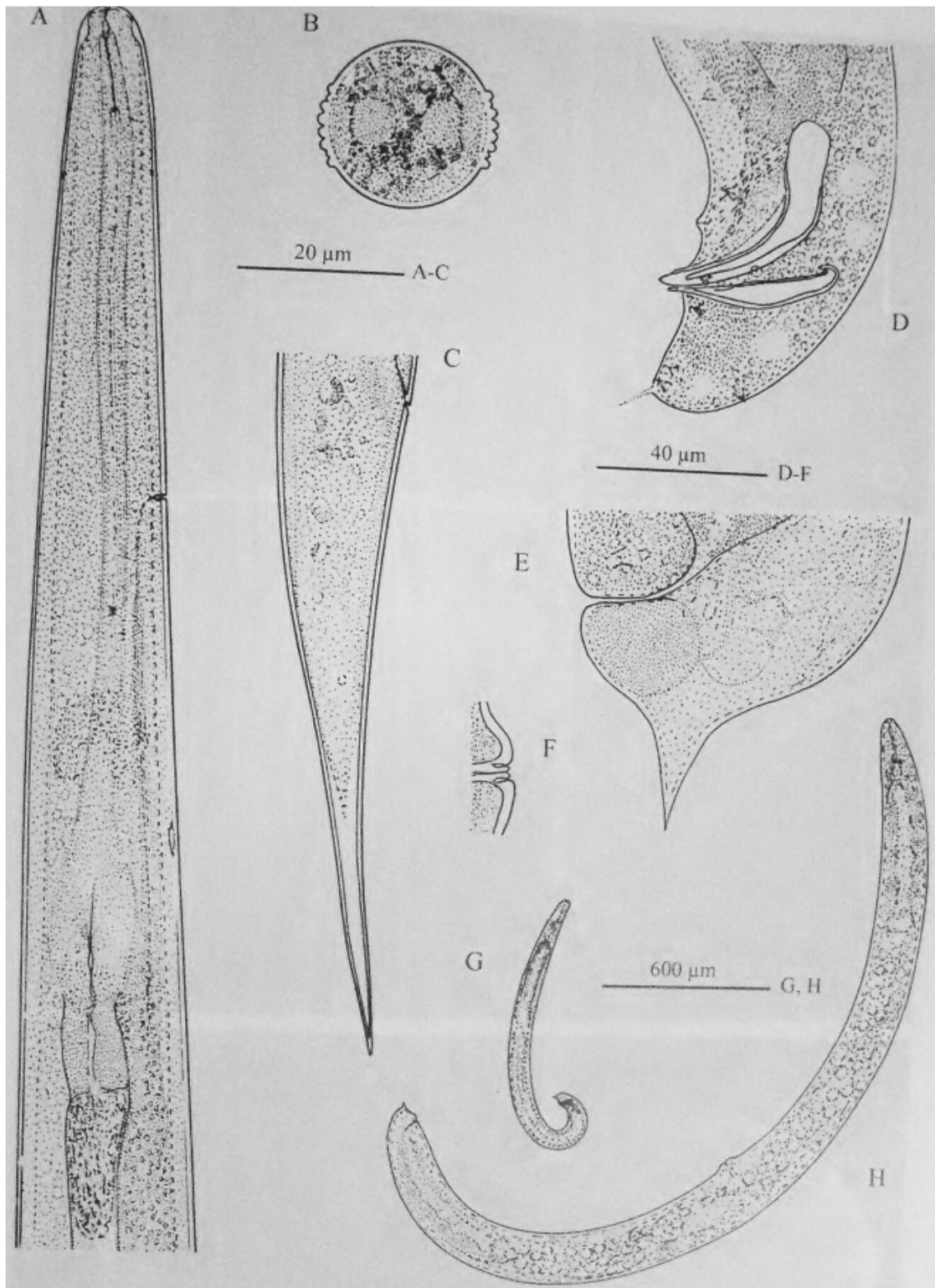
Obrázek 6: Množení motýla *Galleria mellonella* a chov housenek v termoboxu (Jiří Nermuť)



Obrázek 7: Symbiotická bakterie v těle nematoda (Anonym 7, 2008)

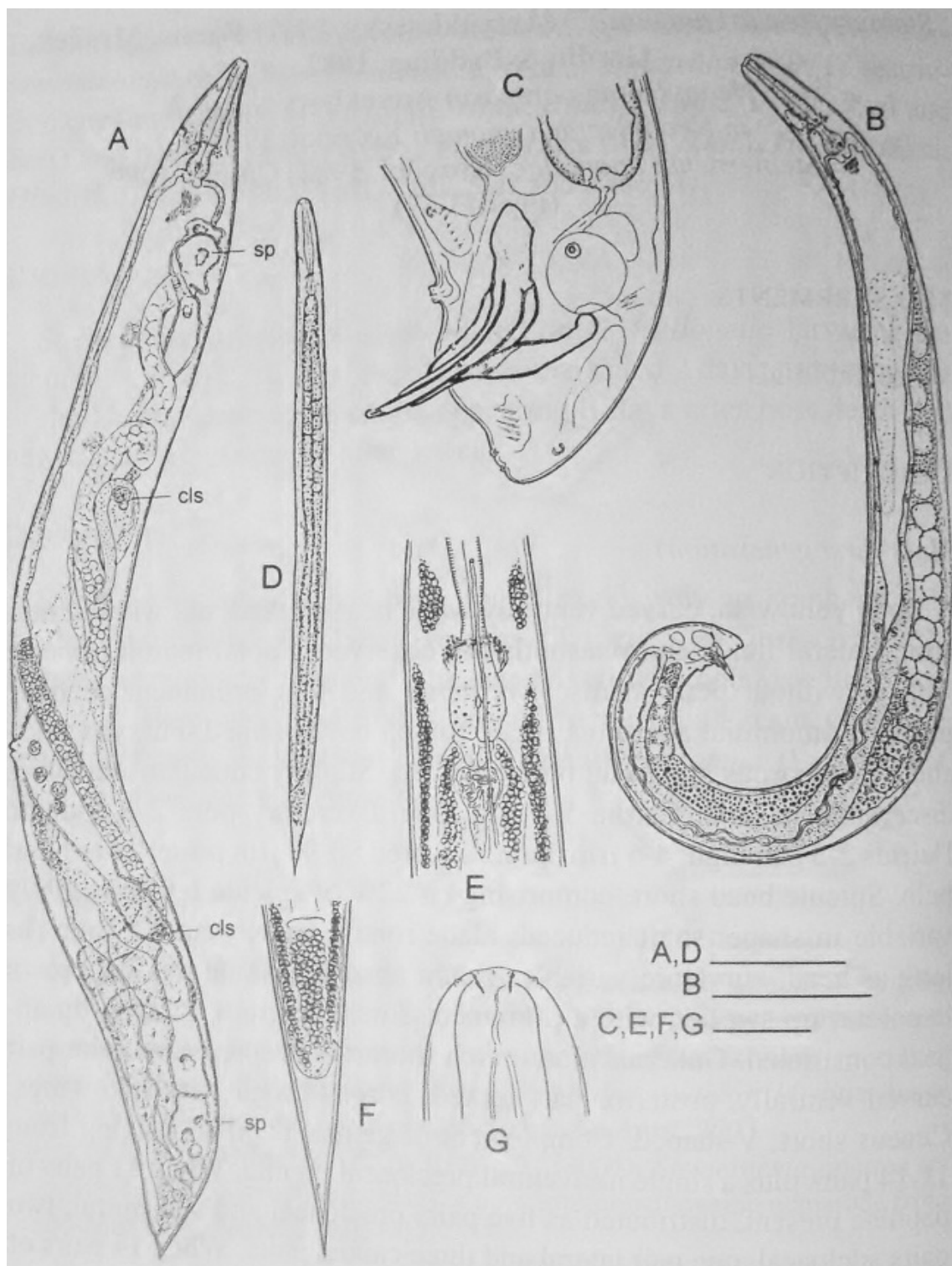


Obrázek 8: Imago zavíječe voskového (*Galleria mellonella*) (Anonym 6, 2008)



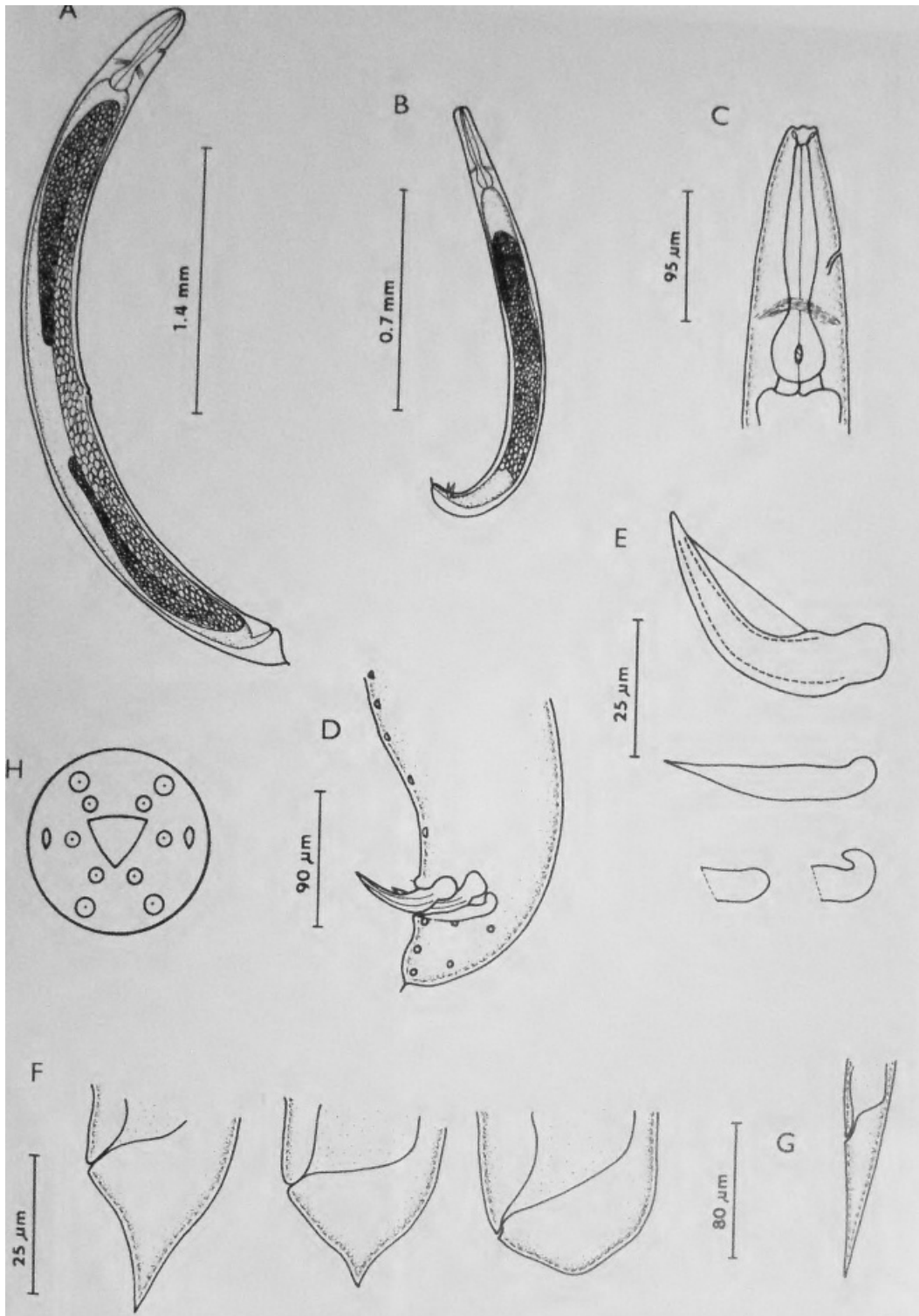
Obrázek 9: *Steinernema feltiae*

A – C: invazní larva, A: hlavová část, B: příčný řez středem těla invazní larvy, C: ocasní část; D: samec první generace – ocasní část, E: samice – ocasní část; F: samice – vulva; G: samec – celé tělo; H: samice – celé tělo.
(převzato z: Nguyen et al. 2007)



Obrázek 10: *Steinernema arenarium*

A: samice; B: samec; C: zadní část těla samice; D: invazní larva; E: jícnová část – bazální bulbus a bakteriální váček; F: ocas invazní larvy s hyalinní částí; G: samec – stoma;
 A,D=250 μm; B=200 μm; C,E,F,G=25 μm.
 (převzato z: Nguyen et al. 2007)



Obrázek 11: *Steinernema kraussei*

A: samice – celé tělo; F: samice – ocasní část (mladá s. vlevo, stará s. vpravo); B: samec – celé tělo; C: samec – jícen a exkreční porus; D: samec – ocas; E: samec – spikuly a gubernákulum; G: invazní larva – ocasní část; H: ústní otvor a uspořádání papil na hlavovém konci dospělého.

(převzato z: Nguyen et al. 2007)

8. Literatura

Andrássy, I. 1984. Klasse Nematoda (Ordnungen Monhysterida, Desmoscolecida, Araeolaimida, Chromadorida, Rhabditida). Akademie – Verlag, Berlin, 290-292.

Anonym 1. 2007. Seznam registrovaných přípravků a evidovaných prostředků na ochranu rostlin 2007. SRS, Brno, 327 s.

Anonym 2. 2008. <<http://www.biobest.be/>>. Dostupný on-line 16.1.2008.

Anonym 3. 2008. <<http://www.biocont.cz/zelenina.html#Slimáci>>. Dostupný on-line 16.1.2008.

Anonym 4. 2008. <<http://www.beckerunderwood.com/products/index.html>>. Dostupný on-line 16.1.2008.

Anonym 5. 2008. <http://www.koppert.com/Products_pests_diseases.14213.0.html>. Dostupný on-line 16.1.2008.

Anonym 6. 2008. <http://nrm.museum/en/svenska_fjarilar/g/galleria_mellonella.html>. Dostupný on-line 16.1.2008.

Anonym 7. 2008. <<http://kbn.ifas.ufl.edu/biology/symbac.htm>>. Dostupný on-line 16.1.2008.

Adams, B. J., and K. B. Nguyen. 2002. Taxonomy and systematic. In: R. Gaugler [ed.], Entomopathogenic nematology. CABI publishing, Wallingford, Oxon, UK, pp. 357 - 372.

Akhurst, J. R. 1983. Neoaplectana species: specificity of association with bacteria of the *Xenorhabdus*. International Journal of Systematic Bacteriology 33: 38 - 45.

Akhurst, J. R., and E. N. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. In: R. Gaugler and K. H. Kaya [eds.], Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 75-90.

Alumai, A., and P. S. Grewal. 2004. Tank-mix compatibility of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. Biocontrol Science and Technology 14: 725-730.

Bathon, H. 1996. Impact of entomopathogenic nematodes on non-target hosts. Biocontrol Science and Technology 6: 421 - 434.

Bird, A. F., and R. J. Akhurst. 1983. The nature of the intestinal vesicle in nematodes of the family Steinernematidae. International Journal of Parasitology 13: 599-606.

Blackshaw, R. P., and C. R. Newell. 1987. Studies on temperature limitations to *Heterorhabditis helioidis* activity. Nematologica 33: 180 - 185.

Burnell, A. M., and S. P. Stock. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts - lethal pathogens of insects. Nematology 2: 31-42.

del Pino, F. G., and M. Jove. 2005. Compatibility of entomopathogenic nematodes with fipronil. Journal of Helminthology 79: 333-337.

- Ehlers, R. U., J. Oestergaard, S. Hollmer, M. Wingen, and O. Strauch. 2005. Genetic selection for heat tolerance and low temperature activity of the entomopathogenic nematode–bacterium complex *Heterorhabditis bacteriophora-Photorhabdus luminescens*. *Biocontrol* 50: 699–716.
- Friedman, M. J. 1990. Commercial production and development. In: R. Gaugler and K. H. Kaya [eds.], *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. pp. 153-172.
- Forst, S., B. Dowds, N. Boemare, and E. Stacke Brandt. 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. *Annual Review of Microbiology* 51: 47-72.
- Forst, S., and D. Clarke. 2002. Bacteria - nematode symbiosis. In: R. Gaugler [ed.], *Entomopathogenic nematology*. CABI publishing, Wallingford, Oxon, UK, pp. 57 - 77.
- Fujiie, A., T. Yokoyama, M. Fujikata, M. Sawada, and M. Hasegawa. 1993. Pathogenicity of an entomogenous nematode, *Steinernema kushidai* mamiya (Nematode, Steinernematidae), on *Anomala cuprea* (Coleoptera, Scarabeidae). *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 37: 53-60.
- Gaugler, R., L. Lebeck, B. Nakagaki, and G. M. Boush. 1980. Orientation of the entomogenous nematode, *Neoplectana carpocapsae*, to carbon dioxide. *Environmental Entomology* 9: 649-652.
- Gaugler, R. 1988. Entomogenous nematodes and their prospects for genetic improvement. In: K. Maramorosch [ed.], *Biotechnological advances in invertebrate pathology and cell culture*. Academic Press, New York, pp. 457-484.
- Gaugler, R., and J. F. Campbell. 1991. Behavioral response of the entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora* to oxamyl. *Annals of Applied Biology* 119: 131-138.
- Georgis, R. 1990. Formulation and application technology. In: R. Gaugler and K. H. Kaya [eds.], *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 173-191.
- Georgis, R., A. M. Koppenhofer, L. A. Lacey, G. Belair, L. W. Duncan, P. S. Grewal, M. Samish, L. Tan, P. Torr, and R. W. H. M. van Tol. 2006. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biological Control* 38: 103-123.
- Gibb, T. J., and W. G. Buhler. 1998. Infectivity of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) in sterilised and herbicide - treated soil. *Journal of Entomological Science* 33: 152-157.
- Glaser, R. W. 1940. The bacteria-free culture of a nematode parasite. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 43: 512.
- Glazer, I. 1996. Survival mechanisms of entomopathogenic nematodes. *Bicontrol Science and Technology* 6: 373 - 378.
- Glazer, I., L. Salame and D. Segal. 1997. Genetic enhancement of nematicide resistance in entomopathogenic nematodes. *Bicontrol Science and Technology* 7: 499-512.

- Gordon, R., J. Chippett, and J. Tilley. 1996. Effects of two carbamates on infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* all strain and *Steinernema feltiae* Umea strain. *Journal of Nematology* 28: 310-317.
- Grewal, P. S., S. Selvan, and R. Gaugler. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection, establishment and reproduction. *Journal of Thermal Biology* 19: 245-253.
- Hara, A. H., and H. K. Kaya. 1982. Effects of selected insecticides and nematicides on the in vitro development of the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae*. *Journal of Nematology* 14: 486-491.
- Head, J., K. F. A. Walters, and S. Langton. 2000. The compatibility of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, and chemical insecticides for the control of the South American leafminer, *Liriomyza huidobrensis*. *Biocontrol* 45: 345-353.
- Ishibashi, N., and E. Kondo. 1990. Behaviour of infective juveniles. In: R. Gaugler and K. H. Kaya [eds.], *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 139-150.
- Ishibashi, N., and S. Takii. 1993. Effects of insecticides on movement, nictation and infectivity of *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Nematology* 25: 204-213.
- Jaworska, M. 1992a. Effect of soil moisture and acidity on the activity of nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora* - parasites of the insect pests. *Entomonematologia* 1(3): 15-21.
- Jaworska, M. 1992b. Effect of soil texture and temperature on the activity of *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*. *Entomonematologia* 1(4): 24-29.
- Kaya, K. H. 1990. Soil ecology. In: R. Gaugler and K. H. Kaya [eds.], *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 93-115.
- Kaya, H. K., and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology* 38: 181-206.
- Kaya, H. K., T. M. Burlando, and G. S. Thurston. 1993. Two entomopathogenic nematode species with different search strategies for insect suppression. *Bicontrol Science and Technology* 22: 859-864.
- Kaya, H. K., and A. M. Koppenhofer. 1996. Effects of microbial and other antagonistic organisms and competition on entomopathogenic nematodes *Bicontrol Science and Technology* 6: 357-371.
- Kaya, H. K., and P. S. Stock. 1997. Techniques in insect nematology. In: L. Lacey [ed.], *Manual of techniques in insect pathology*. Academic press, New York, pp. 281-324.
- Koppenhofer, A. M., and K. H. Kaya. 1995. Density - dependent effects on *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae) within an insect host. *Journal parasitology* 81: 797-799.

- Koppenhofer, A. M., and H. K. Kaya. 1996. Coexistence of entomopathogenic nematode species (Steinernematidae and Heterorhabditidae) with different foraging behaviour. *Fundamentals and Applied Nematology* 19: 175-183.
- Krishnayya, P. V., and P. S. Grewal. 2002. Effect of neem and selected fungicides on viability and virulence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. *Biocontrol Science and Technology* 12: 259-266.
- Kung, S. P., R. Gaugler, and K. H. Kaya. 1990. Soil type and entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Invertebrate Pathology* 55: 401-406.
- Lacey, L. A., R. Frutos, H. K. Kaya, and P. Vail. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future? *Biological Control* 21: 230-248.
- Lepš, J. 1996. *Biostatistika*. Jihočeská univerzita, Biologická fakulta, České Budějovice, 166 s.
- Lewis, E. E., R. Gaugler, and R. Harrison. 1992. Entomopathogenic nematode host finding - response to host contact cues by cruise and ambush foragers. *Parasitology* 105: 309-315.
- Mráček, Z. 1980. The use of "Galleria traps" for obtaining nematode parasites of insect in Czechoslovakia (Lepidoptera: Nematoda, Steinernematidae). *Acta entomologica Bohemoslovaca* 77: 378-382.
- Mráček, Z., S. Cierdin, and J. Weiser. 1981. Head and cuticular structures of some species in the family Steinernematidae (Nematoda). *Nematologica* 27: 443-448.
- Mráček, Z., S. Bečvář, P. Kindlmann, and M. J. Webster. 1998. Infectivity and specificity of canadian and czech isolates of *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923) to some insect pests at low temperatures in the laboratory. *Nematologica* 44: 437-448.
- Mráček, Z., and S. Bečvář. 2000. Insect aggregations and entomopathogenic nematode occurrence. *Nematology* 2: 297-301.
- Nguyen, K. B., G. C. Smart Jr. 1991. Pathogenicity of *Steinernema scapterisci* to selected invertebrates. *Journal of Nematology* 22: 7-11.
- Nguyen, K. B., D. J. Hunt, and Z. Mráček. 2007. Steinernematidae: species descriptions. In: K. B. Nguyen and D. J. Hunt [eds.], *Entomopathogenic nematodes: Systematics, Phylogeny and Bacterial Symbionts*. Brill, Leiden-Boston, pp. 121-609.
- Nguyen, K. B., and D. J. Hunt. 2007. Heterorhabditidae: species descriptions. In: K. B. Nguyen and D. J. Hunt [eds.], *Entomopathogenic nematodes: Systematics, Phylogeny and Bacterial Symbionts*. Brill, Leiden-Boston, pp. 611-692.
- Nishimatsu, T., and J. J. Jackson. 1998. Interaction of insecticides, entomopathogenic nematodes, and larvae of the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 91: 410-418.
- Poinar, G. O., Jr., and G. M. Thomas. 1985. Laboratory infection of spiders and harvestman (Arachnida: Araneae and Opiliones) with *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* nematodes (Rhabditoidea). *Journal of Arachnology* 13: 297-302.

Poinar, G. O. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: R. Gaugler and K. H. Kaya [eds.], Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 23-61.

Rost, M. 2007. <<http://www2.ef.jcu.cz/~rost/courses/state/PREDNES/prednes11.pdf>>. Dostupný on-line 16.1.2008.

Rovesti, L., E. W. Heinzpeter, F. Tagliente, and K. V. Deseo. 1988. Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae). *Nematologica* 34: 462-476.

Rovesti, L., and K. V. Deseo. 1990. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Weiser and *S. feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica* 36: 237-245.

Selvan, S., J. C. Campbell, and R. Gaugler. 1993. Density dependent effects on entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae) within an insect host. *Journal of invertebrate pathology* 62: 278-284.

Schmidt, J., and J. N. All. 1979. Attraction of *Neoaplectana carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae) to common excretory products of insect. *Environmental Entomology* 8: 55-61.

Shapiro-Ilan, D. I., R. J. Stuart, and C. W. McCoy. 2005. Targeted improvement of *Steinernema carpocapsae* for control of the pecan weevil, *Curculio caryae* (Horn) (Coleoptera: Curculionidae) through hybridization and bacterial transfer. *Biological Control* 34: 215-221.

Simoes, N., C. Caldas, J. S. Rosa, E. Bonifassi, and C. Laumond. 2000. Pathogenicity caused by high virulent and low virulent strains of *Steinernema carpocapsae* to *Galleria mellonella*. *Journal of invertebrate pathology* 75: 47-54.

Weiser, J., and Z. Mráček. 1988. Parazitické hlístice hmyzu. Academia, Praha, 260 s.

Womersley, C. Z. 1990. Dehydration survival and anhydrobiotic potential. In: R. Gaugler and H. K. Kaya [eds.], Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 117-135.

Zhang, L., T. Shono, S. Yamanaka, and H. Tanabe. 1994. Effects of insecticides on the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* Weiser. *Applied Entomology and Zoology* 29: 539-547.

Zhioua, E., R. A. Lebrun, G. S. Ginsberg, and A. Aeschliman. 1995. Pathogenicity of *Steinernema carpocapsae* and *S. glaseri* (Nematoda: Steinernematidae) to *Isodex scapularis* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 32: 900-905.