

KORELACE MEZI CITLIVOSTÍ ČESKÝCH A SLOVENSKÝCH POPULACÍ BLÝSKÁČKŮ NA PYRETHROID LAMBDA-CYHALOTHRIN A NEONIKOTINOID THIACTOPRID (BISCAYA 240 OD)

Correlation between susceptibility to pyrethroid lambda-cyhalothrin and neonicotinoid thiacloprid (BISCAYA 240 OD) in pollen beetle populations from the Czech Republic and Slovakia

Marek SEIDENGLANZ¹, Jana POSLUŠNÁ¹, Jiří ROTREKL², Pavel KOLAŘÍK², Eva HRUDOVÁ³, Pavel TÓTH³, Jiří HAVEL⁴, Tomáš SPITZER⁵, Milena BERNARDOVÁ⁶

¹Agritec Šumperk; ²Zemědělský výzkum Troubsko; ³Mendelu v Brně; ⁴OSEVA Zubří; ⁵Agrotest fyto Kroměříž; ⁶Zkušební stanice Kluky

Summary: Susceptibilities of 86 *Meligethes aeneus* samples in 2011, 68 samples in 2012 and 60 samples in 2013 from the Czech Republic (and partly from Slovakia, too) were simultaneously tested with lambda-cyhalothrin and thiacloprid through the use of adult vial tests. Significant differences ($p < 0.05$) in estimated $LC_{50,90}$ values for lambda-cyhalothrin and even thiacloprid were recorded in many cases. No correlations between untransformed LC values for the two insecticides were recorded in the *Meligethes* collections (2011 - 2013). Contrary to that, in one season (2012) the linear correlations showed as significant ($p < 0.05$) between Log10 transformed LC_{90} values ($r = 0.38291$).

Key words: adult vial tests; Insecticide Resistance Action Committee IRAC; pollen beetles; pyrethroid resistance; neonicotinoids, thiacloprid

Souhrn: V letech 2011 - 2013 byla testována citlivost českých a částečně i slovenských populací blýskáčků (2011: 86 populací, 2012: 68 populací, 2013: 60 populací) současně na pyrethroid lambda-cyhalothrin a neonicotinoid thiacloprid. V mnoha případech byly mezi jednotlivými populacemi zaznamenány signifikantní rozdíly ($p < 0,05$) v hodnotách LD_{50} a LD_{90} pro lambda-cyhalothrin i thiacloprid. Mezi netransformovanými hodnotami LD_{50} a LD_{90} odhadnutými pro obě účinné látky nebyla zaznamenána žádná korelace. U transformovaných hodnot byla zaznamenána slabá avšak signifikantní korelace ($r = 0.38291$) mezi Log10 hodnotami LD_{90} odhadnutými pro obě látky jen v roce 2012. České populace blýskáčků vykazují velmi nízkou citlivost na lambda-cyhalothrin a vysokou variabilitu v kontaktní citlivosti na thiacloprid

Klíčová slova: lahvičkový test; Insecticide Resistance Action Committee IRAC; blýskáčci; rezistence proti pyrethroidům; neonicotinoidy, thiacloprid.

Úvod

Mezi esterické pyrethroidy v ČR registrované na blýskáčky patří: lambda-cyhalothrin, deltamethrin, cypermethrin, alfa-cypermethrin, zeta cypermethrin, gamma-cyhalothrin. Populace evropských a českých blýskáčků vykazují vysokou úroveň rezistence proti těmto látkám již několik let (Zimmer & Nauen 2011, Seidenglanz et al. 2014, Heimbach & Müller 2013, a mnoho dalších). Na většině lokalit v ČR vykazují postřiky esterickými pyrethroidy na blýskáčky nedostatečnou účinnost. Po vyřazení extrémně necitlivých populací (jejich hodnoty LD jdou do tisícových hodnot a velmi zkreslují průměr, viz tab. 1) z jednotlivých ročníkových kolekcí se průměrná hodnota LD_{90} (dávka potřebná na zničení 90 % jedinců v populaci) odhadnutá pro lambda-cyhalothrin v roce 2013 pohybovala kolem 45 g ú.l.ha⁻¹, v roce 2014 již kolem 99 g ú.l.ha⁻¹ (registrovaná dávka je přitom 7,5 g ú.l.ha⁻¹). Stav v ČR je v současnosti již plně srovnatelný se situací v Německu. Zde měl ale vývoj rezistence rychlejší průběh. Poslední citlivé populace na lambda-cyhalothrin byly ve středním Německu zaznamenány v roce 2009. U nás jsme je zaznamenali naposled, a to již jen ve velmi nízkém podílu, v roce 2012 v jižních Čechách (monitorujeme situaci od roku 2009). Srovnáme-li hodnoty LD_{50} odhadované pro lambda-cyhalothrin pro jednotlivé ročníkové kolekce populací blýskáčků (2009 - 2014), zjistíme, že nejcitlivější populace zaznamenaná za celou dobu monitoringu měla LD_{50} 0,05 g ú.l.ha⁻¹. Nejcitlivější populace v kolekci

z roku 2014 měla tuto hodnotu již 1,02 g ú.l.ha⁻¹. To znamená, že nejcitlivější populace v souboru z roku 2014 je 20-krát méně citlivá než nejcitlivější populace zaznamenaná za celou dobu monitoringu (nejcitlivější populace byla zaznamenaná v roce 2010 na jižní Moravě). Z uvedeného vyplývá, že situace se stále horší, i když byly v poslední době registrovány na blýskáčky dva nové insekticidy se zcela odlišným mechanismem účinku (pymetrozine, indoxacarb).

Testování citlivosti blýskáčků na neonicotinoid thiacloprid (testuje se přímo přípravek BISCAYA 240 OD) probíhá v ČR v rámci projektu QH81218 a QJ1230077 od roku 2011. *Insecticide Resistance Action Committee* (IRAC) doporučuje laboratorní metodu IRAC 021. Je třeba říci, že tato metoda má řadu nevýhod. Postihuje pouze kontaktní efekt a nikoliv požerový, který je u neonicotinoidů velmi důležitý. Z výsledků tak nelze odhadovat, jak se testovaný neonicotinoid chová na poli. Na druhou stranu používání této metody není bezcenné. Lze totiž indikovat změny v citlivosti populací, a pokud se testuje větší množství vzorků více let, je možné vysledovat určité trendy. V současné době existují dvě respektované studie publikované v časopise *Pest Management Science* (Zimmer & Nauen 2011, Zimmer et al. 2014), ze kterých vyplývá, že během let 2009 - 2013 nedošlo v Evropě k posunům citlivosti blýskáčků proti tomuto insekticidu. Nám se to jeví poněkud jinak, i když používáme stejnou metodu. Vychází nám, že mezi testovanými

českými populacemi jsou mnohdy statisticky významné rozdíly v citlivosti na kontaktní efekt thiaclopridu. Některé populace jsou převážně tvořené jedinci, kteří hynou po vystavení velmi nízkým dávkám, jiné obsahují určitý podíl jedinců schopných bez viditelné újmy přežít i vysoké dávky. To je pak příčinou vysoké variability v souborech populací, což se projevuje velkými rozdíly mezi hodnotami LD₅₀ a LD₉₀ stanovenými pro jednotlivé populace v daném roce testování. Navíc, jak se zdá, rok od roku roste podíl populací velmi necitlivých na kontaktní působení thiaclopridu. V roce 2012 a 2013 byly zaznamenány populace i více jak 500 x méně citlivé v porovnání s populací nejcitlivější. Vy-

soká variabilita v citlivostech jednotlivých českých populací k této látce je přinejmenším zdrojem nejistoty do budoucna.

Cílem tohoto příspěvku je ukázat, zda jsou mezi citlivostí českých a slovenských populací blýskáčků k pyretroidu lambda-cyhalothrin a neonikotinoidu thiacloprid nějaké asociace - pozitivní korelace. Pozitivní vysoké hodnoty koeficientů korelace (r; signifikantní pro p<0,05) by naznačovaly možnost existence resp. možnost selekce násobné rezistence k oběma látkám (resp. oběma skupinám látek, které tyto vybrané insekticidy představují).

Materiál a metody

V letech 2011 - 2013 byly z různých lokalit v ČR (v roce 2012 také na Slovensku) odebírány vzorky populací blýskáčků (*Meligethes aeneus*). Sběry byly pořizovány v průběhu dubna - počátku července zejména z porostů řepky ozimé (v několika případech též z řepky jarní, hořčice bílé a máku). Jednotlivé populace pak byly v laboratoři testovány na citlivost jednak vůči pyretroidu lambda-cyhalothrinu jednak vůči neonikotinoidu thiaclopridu. V roce 2011 bylo k oběma látkám současně otestováno 86 populací, v roce 2012 68 populací a v roce 2013 60 populací. U každé z testovaných populací byly tedy zjištěny hodnoty charakterizující jejich citlivost k jedné a druhé účinné látce. Pro každou z testovaných populací byly odhadnuty hodnoty LD₅₀ a LD₉₀ pro lambda-cyhalothrin i pro thiacloprid pomocí softwaru Polo Plus v.2 (LeOra Software, Berkeley, CA). Pro každou ročníkovou kolekci populací tak byl shromážděn dostatek datových dvojic pro provedení korelačních analýz mezi hodnotami LD₅₀ a LD₉₀ odhadnutých pro obě látky. Korelační analýzy byly provedeny jednak z netrans-

formovanými hodnotami LD, jednak s Log10 transformovanými hodnotami. Cílem bylo zjistit, jestli u populací s nižší citlivostí na lambda-cyhalothrin klesá též citlivost na thiacloprid (hodnoty korelačního koeficientu r nad 0,5; p<0,05), či spolu citlivost k oběma látkám nesouvisí (nízké hodnoty r; p>0,05), nebo jestli nižší citlivost k lambda-cyhalothrinu není v korelaci s vyšší citlivostí na thiacloprid (hodnoty r pod - 0,5; p<0,05). Korelační analýzy byly provedeny pomocí Statistica software v.10 (STATSOFT, Inc. 1984-2013). Vlastní laboratorní testování blýskáčků na citlivost k oběma látkám bylo prováděno prostřednictvím lahvičkových testů (*adult vial tests*) doporučených pro tyto účely *Insecticide Resistance Action Committee* (IRAC). Testování citlivosti na lambda-cyhalothrin bylo prováděno metodou IRAC 011 v. 3, testování citlivosti na thiacloprid metodou IRAC 021 (v testech se používá komerční formulace BISCAYA 240 OD). Obě laboratorní metody jsou podrobně popsány a volně přístupné na:

<http://www.irac-online.org/teams/methods/>.

Výsledky a diskuse

Z tabulky 1 je patrné, jak mezi lety 2009 až 2013 postupně rostly minimální hodnoty LD₅₀₋₉₀ odhadované pro lambda-cyhalothrin v jednotlivých sezónních kolekcích českých populací blýskáčků. To jednoznačně signalizuje, že citlivé populace z našeho území jednoduše mizí. Dále je z této tabulky zřejmé, že mezi hodnotami LD₅₀₋₉₀ jsou dost velké rozdíly (min - max / ročník), že zde tedy existuje v tomto smyslu

značná variabilita. Srovnávat průměrné hodnoty LD v podstatě ztrácí smysl, neboť jsou velmi ovlivněny přítomností extrémních hodnot v ročníkových souborech. Z grafu 1 je pak zřejmé, jak rok od roku roste v jednotlivých kolekcích podíl necitlivých až extrémně necitlivých populací k lambda-cyhalothrinu (vysvětleno v legendě ke grafu 1).

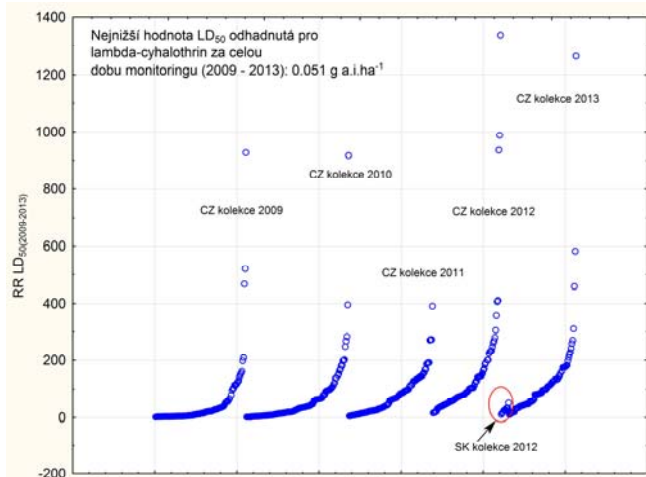
Tabulka 1: Vývoj letálních dávek (LD) odhadovaných pro pyretroid lambda-cyhalothrin u českých populací (v roce 2012 také u slovenských) populací blýskáčků mezi lety 2009 - 2013.

Jedná se o výsledky laboratorního testování (metoda IRAC 011).

kolekce populací blýskáčků	celkový počet populací testovaných na lambda-cyhalothrin	min - max (a průměrné) hodnoty LD pro lambda-cyhalothrin (g ú.l. ha ⁻¹) v určité ročníkové kolekci populací*	
		LD ₅₀	LD ₉₀
2009	111	0.08 - 42.27 (2.52)	0.60 - 16591.44 (185.96)
2010	125	0.05 - 46.78 (3.15)	0.61 - 3481.64 (97.25)
2011	102	0.24 - 19.92 (3.89)	2.08 - 992.52 (62.34)
2012 (CZ)	83	0.80 - 68.31 (7.75)	4.36 - 6249.71 (189.62)
2012 (SK)	10	0.54 - 2.82 (1.36)	4.16 - 11.83 (8.08)
2013	82	0.52 - 64.48 (6.43)	5.38 - 30760.21 (419.02)

*max. registr. dávka lambda-cyhalothrinu do řepky: 7.5 g ú.l.ha⁻¹

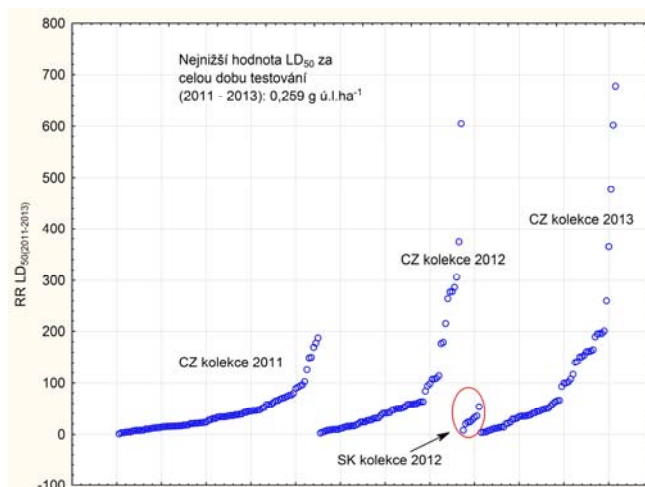
Graf 1: Srovnání jednotlivých ročníkových kolekcí (2009 - 2013) českých (slovenských) populací blýskáčků (jednotlivé populace = malá kolečka) z hlediska postupného růstu podílu necitlivých či extrémně necitlivých populací k lambda-cyhalothrinu v nich. Jedná se o populace s vysokými hodnotami RR LD₅₀ (viz osa y).



Hodnota RR LD₅₀ vyjadřuje, kolikrát je konkrétní populace (= každé jednotlivé malé kolečko) méně citlivá k lambda-cyhalothrinu v porovnání s populací nejcitlivější (= populace s nejnižší hodnotou LD₅₀ za celou dobu monitoringu: 0,051 g ú.l./ha). Dochází-li k růstu podílu populací s hodnotami RR LD₅₀ nad 30, signalizuje to intenzivní selekci rezistentních populací na úkor citlivých na daném území, což je pro ČR již několik let charakteristické.

V tabulce 2 jsou seřazeny výsledky laboratorního tetování kontaktní citlivosti našich populací blýskáčků na neonikotinoid thiacloprid (testována Biscaya 240 OD). Z výsledků je patrné, že i v případě této látky minimální hodnoty LD (LD₅₀ i LD₉₀) v průběhu let 2011 - 2013 rostly. Celkově jsou hodnoty LD v jednotlivých souborech značně rozkolísané (min - max / ročník). To je velmi dobře patrné i ze srovnání hodnot RR LD₅₀ stanovených pro jednotlivé populace v porovnávaných ročníkových kolekcích (stejně tak jako v případě lambda-cyhalothrinu jde o poměr mezi LD₅₀ konkrétní populace ku LD₅₀ nejcitlivější populace za celou dobu monitoringu). Podíl necitlivých či dokonce extrémně necitlivých populací ke kontaktnímu působení thiaclopridu v souborech rok od roku roste (Graf 2).

Graf 2: Srovnání jednotlivých ročníkových kolekcí (2011 - 2013) českých (slovenských) populací blýskáčků (jednotlivé populace = malá kolečka) z hlediska postupného růstu podílu necitlivých či extrémně necitlivých populací ke kontaktnímu efektu thiaclopridu (BISCAYA 240 OD) v nich.



Jedná se o populace s vysokými hodnotami RR LD₅₀ (viz osa y). Způsob výpočtu RR LD₅₀ a jeho smysl vysvětlen v legendě ke Grafu 1.

Jak je patrné z Tabulek 1 i 2 a Grafů 1 a 2 vyžaduje citlivost českých populací k oběma insekticidům značnou variabilitu. Otázkou tedy je, jestli se u populací vykazujících nižší citlivost k lambda-cyhalothrinu projeví také nižší citlivost k (kontaktnímu efektu) thiaclopridu? Jinak řečeno, klesá citlivost vůči lambda-cyhalothrinu v korelaci s citlivostí vůči thiaclopridu? Výsledky korelačních analýz ne-transformovaných i transformovaných (Log 10 transformace) hodnot LD₅₀ a LD₉₀ odhadnutých pro jednotlivé populace simultánně testované na oba insekticidy jsou seřazeny v Tabulce 3. Z výsledků v této tabulce je zřejmé, že mezi netransformovanými hodnotami LD neexistuje žádná asociace. V případě transformovaných dat byla ovšem v jednom případě (šlo o korelaci mezi hodnotami LD₉₀ v roce 2012) zaznamenána signifikantní ($p < 0,05$), i když poměrně slabá korelace ($r = 0,383$).

Tabulka 2: Vývoj letálních dávek (LD) odhadovaných pro neonikotinoid thiacloprid u českých populací (v roce 2012 také u slovenských) populací blýskáčků mezi lety 2011 - 2013.

Jedná se o výsledky laboratorního testování (metoda IRAC 021).

kolekce populací blýskáčků	celkový počet populací testovaných na thiacloprid (BISCAYA 240 OD)	min - max (a průměrné) hodnoty LD pro thiacloprid (g ú.l. ha ⁻¹) v určité ročníkové kolekci populací*	
		LD ₅₀	LD ₉₀
2011	90	0.26 - 48.50 (11.10)	5.78 - 2597.73 (133.94)
2012 (CZ)	64	0.73 - 156.70 (20.88)	6.05 - 23285.12 (619.81)
2012 (SK)	8	2.08 - 13.84 (7.38)	26.51 - 108.65 (55.20)
2013	62	0.95 - 1008.67 (43.49)	7.24 - 71868.46 (1535.53)

*registr. dávka thiaclopridu do řepky je: 72 g ú.l. ha⁻¹

Tabulka 3: Výsledky korelačních analýz (hodnoty Pearsonových koeficientů korelace r) mezi hodnotami LD₅₀ a LD₉₀ odhadnutých pro jednotlivé populace blýskáčků testované současně na lambda-cyhalothrin (LC) a thiacloprid (TH) v letech 2011 - 2013. Korelace jsou vyjádřeny zvláště pro každou ze třech ročníkových kolekcí.

ročník	počet populací testovaných na LC i TH	porovnávané proměnné	koeficient korelace r ^{1,3}	Hladina významnosti (p)	koeficient korelace r ^{2,3}	Hladina významnosti (p)
2011	86	LC LD ₅₀ x TH LD ₅₀	0.10247	0.348	0.15868	0.144
		LC LD ₉₀ x TH LD ₉₀	-0.01700	0.877	0.14848	0.172
2012	68	LC LD ₅₀ x TH LD ₅₀	0.10360	0.401	0.17552	0.152
		LC LD ₉₀ x TH LD ₉₀	-0.01410	0.909	0.38291*	0.001
2013	60	LC LD ₅₀ x TH LD ₅₀	-0.03990	0.762	-0.09720	0.460
		LC LD ₉₀ x TH LD ₉₀	-0.02250	0.865	0.03083	0.815

¹Výpočet vychází z netransformovaných hodnot LD.

²Výpočet vychází z Log10 transformovaných hodnot LD.

³hodnoty r označené * ukazují na případy, kde byla zaznamenána signifikantní lineární korelace ($p < 0.05$) mezi srovnávanými proměnnými

Závěr

- České i slovenské populace blýskáčků vykazují vysokou úroveň rezistence proti esterickému pyretroidu lambda-cyhalothrin. Postřiky založené na této skupině látek (pyretroidy) na většině lokalit ČR proti tomuto škůdci selžou.
- České (i slovenské) populace blýskáčků současně vykazují vysokou variabilitu v citlivosti vůči pyretroidu lambda-cyhalothrin.
- České (ne ovšem slovenské) populace blýskáčků vykazují vysokou variabilitu v citlivosti vůči kontaktnímu působení neonicotinu thiacloprid.
- Rozdíly v citlivosti českých (a slovenských) populací blýskáčků k oběma insekticidům (lambda-cyhalothrin x thiacloprid) nejsou vzájemně asociované. Nic nenasvědčuje na možnost selekce násobné rezistence k oběma insekticidům současně.

Použitá literatura

- Heimbach U, Müller A, 2013. Incidence of pyrethroid-resistant oilseed rape pests in Germany. *Pest Manag Sci.* 69, 209 – 216.
- Seidenglanz M, Poslušná J, Rotrekl J, Kolařík P, Hrudová E, Tóth P, Havel J, Bernardová M, Spitzer, T. 2014. Changes in *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae) susceptibility to lambda-cyhalothrin in the Czech Republic between 2009 and 2011. *Plant Protect. Sci.* (accepted).
- Zimmer CHT, Nauen R 2011. Pyrethroid resistance and thiacloprid baseline susceptibility of European populations of *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae) collected in winter oilseed rape. *Pest. Manag. Sci.* 67, 599 – 608.
- Zimmer CHT, Koehler H, Nauen R 2014. Baseline susceptibility and insecticide resistance monitoring in European populations of *Meligethes aeneus* and *Ceutorhynchus assimilis* collected in winter oilseed rape. *Entomologia Experimentalis Et Applicata.* 150, 279 – 288.

Kontaktní adresa

Marek Seidenglanz, Agritec Plant Research s.r.o., Oddělení ochrany rostlin, Zemědělská 2520/16, Šumperk, 78701; Česká republika; tel.:+420 725 753 180, fax:+420 583 382 999, e-mail:Seidenglanz@agritec.cz

Výsledky prezentované v tomto příspěvku byly získány při řešení projektů NAZV č. QH81218 a QJ1230077

