

VÝZKUMNÝ ÚSTAV ROSTLINNÉ VÝROBY v.v.i. PRAHA, ODBOR  
OCHRANY PLODIN A ZDRAVÍ ROSTLIN  
ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE, FAKULTA AGROBIOLOGIE,  
POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH ZDROJŮ  
KATEDRA OCHRANY ROSTLIN

Rostlinné esence jako prostředek ochrany  
rostlin vůči kohoutkům (*Oulema* spp.) –  
významným škůdcům obilovin  
(Certifikovaná metodika)

2017

Ondřej Doua, Jiří Skuhrovec, Miloslav Zouhar, Marie Maňasová, Pavel Nový,  
Matěj Božik, Roman Pavela a Pavel Klouček



**Rostlinné esence jako prostředek ochrany rostlin vůči kohoutkům  
(*Oulema spp.*) – významným škůdcům obilovin** (Certifikovaná metodika)

Ondřej Douša<sup>1</sup>, Jiří Skuhrovec<sup>1</sup>, Miloslav Zouhar<sup>2</sup>, Marie Maňasová<sup>2</sup>, Pavel Nový<sup>2</sup>, Matěj  
Božik<sup>2</sup>, Roman Pavela<sup>1</sup> a Pavel Klouček<sup>2</sup>



2017

<sup>1</sup>Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

<sup>2</sup>Česká zemědělská univerzita v Praze

© Ondřej Douša, Jiří Skuhrovec, Miloslav Zouhar, Marie Maňasová, Pavel Nový, Matěj Božik,  
Roman Pavela a Pavel Klouček

ISBN: 978-80-213-2795-5

## Obsah

<b>1. CÍL METODIKY</b>	<b>5</b>
<b>2. VLASTNÍ POPIS METODIKY</b>	<b>5</b>
2.1 Úvod	5
2.2 Testování biocidní aktivity rostlinných esenciálních olejů	7
2.2.1 Hmyz	7
2.2.2 Testované esenciální oleje	7
2.2.3 Příprava biopolymeru	7
2.2.4 Příprava enkapsulátu	7
2.2.5 Tarzální testy	8
2.2.6 Testy líhnutí larev	8
2.2.7 Chemická analýza testovaných esenciálních olejů	8
2.2.8 Statistické vyhodnocení	9
2.2.9 Účinky testovaných esenciálních olejů na mortalitu kohoutků	9
2.2.10 Praktické využití získaných výsledků	11
<b>3. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“</b>	<b>11</b>
<b>4. EKONOMICKÉ ASPEKTY</b>	<b>11</b>
<b>5. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY</b>	<b>12</b>
<b>6. SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY</b>	<b>13</b>
<b>7. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE</b>	<b>14</b>
<b>8. PŘÍLOHY</b>	<b>16</b>

## 1. Cíl metodiky

Cílem této metodiky je umožnit používání vyvinutých alternativních postupů ochrany obilnin proti škůdcům rodu *Oulema*.

## 2. Vlastní popis metodiky

### 2.1 Úvod

Kohoutek černohlavý (*Oulema melanopus* (L.)) patří v celém areálu výskytu ke známým a významným škůdcům zejména obilnin (Bezděk & Baselga 2015). Tento škůdce je původní v Evropě a Asii (Kostov 2001). V roce 1962 byl popsán rovněž ve východní části USA (Dysart et al. 1973). V novém areálu druh rychle expandoval do většiny obilnářských oblastí Spojených států a rovněž Kanady (Ihrig et al. 2001; Dossall et al. 2011). Kohoutek černohlavý má jednu generaci za rok, nejvyšší aktivitu spojenou s kladením vajíček vykazuje v období od konce května do poloviny června (Miller 1956; Kher et al. 2011). Samice klade vajíčka jednotlivě nebo ve shlucích na horní stranu listů v počtu 50 – 275 vajíček (Miller 1956; Schmitt 1988; Piesik & Piesik 1998). Larvy mají charakteristický fekální štít, živí se listy obilnin (Miller 1956; Smith a kol. 1971) a po čtyřech vývojových stádiích se kuklí v půdě (Dysart a kol. 1973). Nová generace se objevuje cca po 3 týdnech a před přezimováním se živí na různých jednoděložných rostlinách (Grant & Patrick 1993; Kher et al. 2011).

Dospělci i larvy kohoutka černohlavého napadají mnoho druhů nekulturních a zejména kulturních rostlin čeledi lipnicovité (Gutierrez et al. 1974). Venturi (1942) považuje druh za polyfágní v rámci čeledi lipnicovitých, zatímco Wilson & Shade (1966) uvádějí, že hostitelské preference tohoto kohoutka kolísají; v rámci čeledi lipnicovitých rozlišují dvě skupiny, (1) nejvíce preferované druhy zahrnující pšenici, ječmen a oves a (2) akceptovatelné hostitele, ke kterým patří kukuřice, čirok či bér. Potravní preference druhu se ale samozřejmě v různých regionech liší (Hodson 1929; Wilson & Shade 1966; Philips et al. 2011).

Listy požírají dospělci i larvy, většina ekonomicky významných škod je ovšem způsobena výhradně larvami (Buntin, et al. 2004; Grant & Patrick 1993). Za významné škody (až 75 % celkového poškození způsobeného larvami) jsou zodpovědné zejména larvy posledního vývojového stádia (Zárubová et al. 2015). Výskyt 22 – 26 larev na 100 stébel pšenice ozimé může způsobit ztráty ve výši 4 % celkového výnosu, přítomnost 1 larvy na jedno stéblo vede ke ztrátám na výnosu ve výši 12,65 % (Rouang et al. 2012). Práh ekonomické škodlivosti činí 0,4 larvy na jedno stéblo (Buntin et al. 2004).

Kohoutek černohlavý patří do taxonomicky obtížné skupiny (*O. melanopus* group) společně s dalšími čtyřmi druhy; *O. duftschmidi* (Redtenbacher, 1874), *O. rufocyanea* (Suffrian, 1847), *O. mauroi* Bezděk and Baselga, 2015 a *O. verae* Bezděk and Baselga, 2015. Druhy patřící do této skupiny mají oranžově nebo červeně zbarvený štít a nohy (s výjimkou chodidel, která jsou černá). Kohoutci *O. melanopus* a *O. duftschmidi* jsou nepatrně větší než zbývající tři druhy, měří vždy více jak 4,7 mm. Rozlišení těchto dvou příbuzných druhů je extrémně složité a jediným spolehlivým znakem je tvar samčích nebo samičích pohlavních orgánů (Bezděk & Baselga 2015). Biologie všech kohoutků rodu *Oulema* je velmi podobná, ne-li téměř identická (Bechini et al. 2013). Druhy *O. melanopus* a *O. duftschmidi* se vyskytují na většině míst v ČR pospolu (Bezděk & Baselga 2015). Obecně se kvůli vyšší ovipozici a nižší mortalitě považuje za škodlivější druh *O. melanopus*, nicméně se málokterá studie zabývala *O. melanopus* a *O. duftschmidi* odděleně, obvykle se tyto druhy nerozlišují (Bechini et al. 2013).

Výzkum nových metod ochrany rostlin se v současnosti zaměřuje zejména na stanovení potenciálu biopesticidů zastoupených v první řadě esenciálními oleji rostlinného původu (Regnault-Roger et al. 2012). Některé z rostlinných esenciálních olejů vykazují určitý stupeň fytoxicity, přičemž většinou inhibují klíčení semen či růst kořenů, což ukazuje na jejich možné využití v ochraně proti plevelům. Na druhé straně mnoho esenciálních olejů nevykazuje žádné nebo pouze velmi nízké fytotoxické účinky a bylo by je tudíž možné využít pro přímou ochranu rostlin proti chorobám a škůdcům (Singh & Upadhyay 1993). Z nedávné doby pochází pouze jedna informace o použití rostlinného esenciálního oleje proti kohoutku druhu *O. melanopus*. Zárubová et al. (2015) detekovala pozitivní účinek esenciálního oleje z citrusu druhu *Citrus sinensis* na mortalitu larev tohoto kohoutka.

V rámci vypracování této metodiky byly provedeny testy účinků esenciálních olejů z rostlin druhů *Rosmarinus officinalis* a *Cymbopogon citratus* na dospělce a olejů z *Pelargonium graveolens* a *Thymus vulgaris* na larvy kohoutků druhů *O. melanopus* a *O. duftschmidi*, které vzhledem ke své morfologické podobnosti, stejnému areálu výskytu i obdobné míře škodlivosti, nebyly od sebe odlišovány. Díky blízké příbuznosti druhů rodu *Oulema*, jejich bionomii i biologii, lze zobecnit popsané agrotechnické zásahy na všechny druhy tohoto rodu vyskytující se v České republice. Byla testována jak konvenční formulace esenciálních olejů, tak inovativní formulace využívající enkapsulaci olejů do bio-polymerového obalu.



## 2.2 Testování biocidní aktivity rostlinných esenciálních olejů

### 2.2.1 Hmyz

Dospělci a larvy kohoutka černohlavého (*O. melanopus*) nebo příbuzného druhu *O. duftschmidi* použítí pro experimenty, byli získáni smýkáním metajícího porostu pšenice ozimé v Praze – Ruzyni (N 50.0878500, E 14.2946111). Pro experimenty s vajíčky byli získáni dospělci smýkáním metajícího porostu pšenice ozimé na Suchdole (N 50.131355, E 14.361502). Nasmýkaní jedinci byli chováni v textilních izolátorech (60 x 60 x 60 cm, dodavatel Entosphinx) spolu s rostlinami ozimé pšenice. Izolátory byly umístěny ve skleníku při teplotě  $21 \pm 5$  °C, relativní vlhkosti 40–60 % a 16 h osvětlení, živné rostliny byly pravidelně zalévány. Dospělci, larvy a vajíčka pro testy byli postupně odebíráni z izolátorů.

### 2.2.2 Testované esenciální oleje

Pro testy byly použity dvě kombinace esenciálních olejů; první obsahovala esenciální oleje z rozmarýnu lékařského (*Rosmarinus officinalis*) a voňatky citronové (*Cymbopogon citratus*), druhá z muškátu vonného (*Pelargonium graveolens*) a tymiánu obecného (*Thymus vulgaris*). Výběr esenciálních olejů se řídil předchozími výsledky autorů.

Konvenční formulace esenciálních olejů byla připravena následujícím způsobem: esenciální oleje (dodavatel Saloos) byly naředěny komerčně dostupným řepkovým olejem v poměru 1:1, pro ředění na finální koncentraci byl použit 40 % vodný roztok Tweenu 20 (Sigma Aldrich). Tímto způsobem bylo připraveno pět testovaných koncentrací 0,12; 0,204; 0,36; 0,58 a 1 %. Nejvyšší koncentrace byla odvozena na základě znalostí o fytotoxických účincích vyšších koncentrací těchto rostlinných esenciálních olejů.

### 2.2.3 Příprava biopolymeru

8g želatiny (Sigma Aldrich) bylo rozpuštěno ve 200 ml destilované vody a 2 g chitosanu v 60 ml 0,15 M kyselině octové (Lachner). Vzniklé roztoky byly smíchány. Následně bylo přidáno 1,2 g D-sorbitolu (Sigma Aldrich) a 1,2 ml glycerolu, výsledný roztok byl kompletně promíchán. Všechna ředění probíhala při 45 °C a roztoky byly během procesu stále míchány.

### 2.2.4 Příprava enkapsulátu

15 ml 10 % rostlinného esenciálního oleje (Saloos) ředěného řepkovým olejem bylo nalito do 500 ml kádinky. Následně bylo připipetováno 300  $\mu$ l Tweenu 80 (Sigma Aldrich), výsledná směs byla emulzifikována pomocí homogenizéru IKA DI 25 basic při 9500 otáčkách/min. Potom bylo přidáno 20 ml biopolymeru a roztok byl opět homogenizován při

9500 otáčkách/min. 114,7 ml 0,5 % roztoku tripolyfosfátu (Sigma Aldrich) bylo připraveno do další kádinky a obsah první kádinky byl do této pomalu nalit, směs byla při lití homogenizována mícháním (9500 otáček/min). Při následných pokusech byly použity stejné koncentrace jako v případě konvenční formulace, enkapsulát byl na výsledné koncentrace ředěn destilovanou vodou.

### 2.2.5 Tarzální testy

Testování probíhalo v průhledných plastových nádobách (11 x 9 x 5 cm). Na dno každé nádoby byl umístěn vlhký filtrační papír (9 x 11 cm) a 2,5 ml testované kombinace esenciálního oleje bylo na papír nastříkáno pomocí kompresorové stříkací pistole. Následně bylo do nádoby přeneseno 10 jedinců kohoutků a nádoba byla uzavřena nylonovou textilií. Experimenty byly prováděny v laboratoři při teplotě  $21 \pm 1$  °C, relativní vlhkosti 40–60 % a 16 h osvětlení. Každá koncentrace byla testována v pěti opakováních. Mortalita hmyzu byla vyhodnocena 24 h po založení experimentu.

### 2.2.6 Testy líhnutí larev

Testování probíhalo ve skleněných nádobách o objemu 3 l. Do každé nádoby byl umístěn květináč s rostlinami ozimé pšenice, na které byla nakladena vajíčka kohoutků. Na rostliny bylo nastříkáno pomocí kompresorové stříkací pistole 10 ml formulovaných esenciálních olejů do enkapsulátu a nádoba byla uzavřena nylonovou textilií. Experimenty byly prováděny v laboratoři při teplotě  $21 \pm 1$  °C, relativní vlhkosti 40–60 % a 16 h osvětlení. Každá koncentrace byla testována v pěti opakováních. Líhnutí vajíček bylo vyhodnoceno po 14 dnech po založení experimentu.

### 2.2.7 Chemická analýza testovaných esenciálních olejů

Jednotlivé složky testovaných rostlinných olejů byly identifikovány pomocí plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie. Pro analýzu byl použit plynový chromatogram Agilent 7890A a hmotnostní spektrometr Agilent 5975C. Obsah zjištěných složek byl kvantifikován chromatografem Agilent 7890A s detekcí ionizací plamenem. Vzorky byly pro analýzu rozpouštěny v hexanu, identifikace jednotlivých složek byla provedena dle databáze National Institute of Standards and Technology Library (USA). Identifikace 17 složek byla dále potvrzena porovnáním s autentickými standardy (Sigma Aldrich).



## 2.2.8 Statistické vyhodnocení

Získaná data o mortalitě byla korigována podle mortality v neošetřené kontrolní variantě transformací dle Abbota a hodnoty LC<sub>50</sub> a LC<sub>90</sub> byly stanoveny pomocí probitové analýzy (Skuhrovec et al. 2017).

## 2.2.9 Účinky testovaných esenciálních olejů na mortalitu kohoutků

V případě dospělých jedinců byla lehce vyšší mortalita pozorována ve variantě ošetřené esenciálními oleji formulovanými konvenčně pomocí Tweenu 20 a řepkového oleje, nicméně výsledky dosažené s pomocí enkapsulátu byly téměř identické (Tabulka 1). Nízká mortalita v kontrolní variantě umožnila výpočet koncentrací LC<sub>50</sub> a LC<sub>90</sub> pro obě testované formulace; tyto hodnoty činily 5105 ppm a 11220 ppm pro konvenční formulaci a 4570 a 11482 ppm pro enkapsulát.

**Tabulka 1** Mortalita dospělců kohoutka „*O. melanopus*“ - výsledky tarsálního testu se směsí es. olejů z rostlin druhů *Rosmarinus officinalis* a *Cymbopogon citratus*.

Aplikovaná koncentrace [%]	Průměrná mortalita (po 24 h) [%] konvenční formulace	Průměrná mortalita (po 24 h) [%] enkapsulát
0,12	0	0
0,204	8	14
0,36	30	32
0,58	46	66
1	90	86
Neošetřená kontrola	0,1	

Testy účinků esenciálních olejů na mortalitu larev „*O. melanopus*“ byly v první fázi negativně ovlivněny vysokou mortalitou v kontrolní variantě, která se pohybovala od 50 do 60 %. I přes tento negativní výsledek byla v pokusných variantách o koncentracích 0,36–1 % pozorována mortalita 90 až 100 % (Tabulka 2). Tarsální test s larvami byl pro potvrzení získaných výsledků zopakován v pěti opakováních pouze s koncentrací 0,12 %. V tomto případě byla pozorována v kontrolní variantě podstatně nižší mortalita 28 % (Tabulka 3) nicméně tato hodnota je stále příliš vysoká pro výpočet koncentrací LC<sub>50</sub> a LC<sub>90</sub>.

Tabulka 2 Mortalita larev kohoutka „*O. melanopus*“ - výsledky tarsálního testu se směsí es. olejů z rostlin druhů *Pelargonium graveolens* a *Thymus vulgaris*.

Aplikovaná koncentrace [%]	Průměrná mortalita (po 24 h) [%] konvenční formulace	Průměrná mortalita (po 24 h) [%] enkapsulát
0,12	50	70
0,204	90	80
0,36	100	80
0,58	100	90
1	100	90
Neošetřená kontrola	60	

Tabulka 3 Mortalita larev kohoutka „*O. melanopus*“ - výsledky tarsálního testu se směsí es. olejů z rostlin druhů *Pelargonium graveolens* a *Thymus vulgaris* – opakování koncentrace 0,12 %.

Aplikovaná koncentrace [%]	Průměrná mortalita (po 24 h) [%] konvenční formulace	Průměrná mortalita (po 24 h) [%] enkapsulát
0,12	48	46
kontrola (voda)		28
kontrola (řepkový olej a Tween 20)		52

Tabulka 4: Vliv aplikace esenciálních olejů formulovaných do enkapsulátu na líhnutí larev „*O. melanopus*“.

Aplikovaná koncentrace [%]	Vajíčka	Larvy
0,12	55	15
0,12	23	12
0,12	14	7
0,204	40	29
0,204	15	8
0,204	24	10
0,36	9	7
0,36	19	5
0,36	94	13
0,58	23	9
0,58	32	7
0,58	15	7

1	9	5
1	16	0
1	133	8
Neošetřená kontrola	11	11
Neošetřená kontrola	109	42
Neošetřená kontrola	22	18

Pozitivní vliv aplikace rostlinných esenciálních olejů na mortalitu kohoutků druhu „*O. melanopus*“ byl v průběhu testů prokázán. Testy byly poněkud ovlivněny vyšší mortalitou v kontrolní variantě u larev. Tento výsledek může být způsoben použitím řepkového oleje pro formulaci; řepkový olej může u larev způsobovat ucívání tracheálního systému. Tato skutečnost však není na závadu použití vypracovaného postupu pro ochranu rostlin v praxi.

### 2.2.10 Praktické využití získaných výsledků

Praktické využití otestovaných esenciálních olejů se řídí výsledky prvotního monitoringu pro stanovení intenzity napadení porostu kohoutky rodu *Oulema*. Doporučujeme tedy v období od dubna provádět průzkum porostů obilnin (ozimá pšenice, ale i třeba jarní ječmen) smýkáním smýkací sítě s kruhovým rámem o průměru 45 cm. V případě dosažení prahu škodlivosti (0,3–1 vajíčko či larva/odnož – liší se dle očekávaného výnosu, WWW1) je možné využít postřiku experimentálním přípravkem v koncentraci (0,58 %) v postřikové jíše. Postřik je nutné opakovat, pokud jsou po opětovném provedení průzkumu v porostu opět zjištěny larvy či vajíčka kohoutků v počtu překračujícím práh škodlivosti.

## 3. Srovnání „novosti postupů“

Postupy uvedené v metodice nebyly v tomto rozsahu, formě a kontextu v České republice dosud nikdy zveřejněny, v současné době je k dispozici funkční vzorek přípravku, připravený pro změnu statutu na prototyp pod názvem Meol - L.

## 4. Ekonomické aspekty

Konvenční ochrana proti kohoutkům je v současnosti nejčastěji prováděna postřikem porostů insekticidy obsahujícími směs pyretroidů (Deltamethrin) a neonicotinoidů (Thiakloprid). V roce 2013 bylo Evropskou komisí přijato tříleté zkušební (European Commission 2013) období omezující používání insekticidů z této skupiny z důvodů jejich

škodlivosti pro opylovače r. *Apis* a *Bombus* a v současnosti (2017) je velmi pravděpodobný úplný zákaz všech neonikotinoidů na území EU, je proto nezbytné provádět výzkum alternativních metod ochrany rostlin využívající např. esenciální oleje, které se již dlouhodobě uplatňují v kosmetickém či potravinářském průmyslu. V tomto směru spatřují autoři budoucí možné využití této certifikované metodiky.

Finančně lze její přínos vyjádřit následujícím způsobem: při průměrné rentabilitě pšenice ozimé bez dotací cca 50 % činí zisk pěstitelů této plodiny v ČR cca 8 mld. Kč ročně. Při zákazu insekticidů ze skupiny neonikotinoidů a ztrátám způsobeným kohoutky r. *Oulema* v důsledku tohoto opatření ve výši 1 % by došlo aplikací výsledků popsanych v této certifikované metodice k úspoře cca 80 mil. Kč. Po započítání nákladů na ošetření ve výši 50 % úspory můžeme předpokládat navýšení zisku pěstitelů o cca 40 mil Kč/rok.

## 5. Popis uplatnění certifikované metodiky

Tato metodika je určena pro privátní organizace činné v oboru vývoje alternativních prostředků ochrany zemědělských plodin před škodlivými organismy. Uplatnění postupů navržených v metodice lze předpokládat jak při výzkumu, tak pro přímou ochranu rostlin v zemědělské prvovýrobě, pokud to bude dle platné legislativy možné. Nařízení Evropské komise 1107/2009 platné od 1. 1. 2014 dává při věrohodném doložení bezpečnosti těchto látek pro člověka a životní prostředí možnost jejich zjednodušené registrace jako “basic substances”, což dává předpoklad pro využití této certifikované metodiky v praxi.

## 6. Seznam použité související literatury

- Bechini L, Morlacchi P, Baumgärtner J. 2013. Coinciding development of winter wheat and leaf beetles along an Alpine transect. *Acta Oecol* 47:95–104.
- Bezděk J, Baselga A. 2015. Revision of western Palaearctic species of the *Oulema melanopus* group, with description of two new species from Europe (Coleoptera: Chrysomelidae: Criocerinae). *Acta Entomol Mus Natl Pragae*. 55(1):273–304.
- Buntin GD, Flanders KL, Slaughter RW, DeLamar ZD. 2004. Damage loss assessment and control of the cereal leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in winter wheat. *J Econ Entomol*. 97:374–382.
- Dosdall LM, Cárcamo H, Olfert O, Meers S, Hartley S, Gavloski J. 2011. Insect invasions of agroecosystems in the western Canadian prairies: case histories, patterns, and implications for ecosystem function. *Biol Invasions*. 13:1135–1149.
- Dysart RJ, Maltby HL, Brunson MH. 1973. Larval parasites of *Oulema melanopus* in Europe and their colonization in the United States. *Entomophaga* 18:133–167.
- European Commission, 2013 Commission implementing regulation (EU) No 485/2013 of 24 May 2013 amending Implementing Regulation (EU) No 540/2011, as regards the conditions of approval of the active substances clothianidin, thiamethoxam and imidacloprid, and prohibiting the use and sale of seeds treated with plant protection products containing those active substances. *Off J Eur Union* 139:12–26.
- Grant JF, Patrick CR. 1993. Distribution and seasonal phenology of cereal leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on wheat in Tennessee. *J Entomol Sci*. 28:363–369.
- Gutierrez AP, Denton WH, Shade R, Maltby H, Burger T, Moorehead G. 1974. The within-field dynamics of the cereal leaf beetle (*Oulema melanopus* (L.)) in wheat and oats. *J Anim Ecol*. 43:627–640.
- Hodson WEH. 1929. The bionomics of *Lema melanopa* L. (Criocerinae), in Great Britain. *Bull Entomol Res* 20:5–14.
- Ihrig RA, Herbert DAJ, Van Duyn JW, Bradley JRJ. 2001. Relationship between cereal leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) egg and fourth-instar populations and impact of fourth instar defoliation of winter wheat yields in North Carolina and Virginia. *J Econ Entomol* 94:634–639.
- Kher SV, Dosdall LM, Cárcamo HA. 2011. The cereal leaf beetle: biology, distribution and prospects for control. *Prairie Soils Crops*. 4:32–41.

- Kostov K. 2001 Breeding wheat lines for host-plant resistance to cereal leaf beetle by using the cross-mutation method. *Bulg J Agric. Sci.* 7:7–14.
- Miller F. 1956. *Zemědělská entomologie*. Praha: ČSAV (in Czech).
- Philips CR, Herbert DA, Kuhar TP, Reising DD, Thomason WE, Malone S. 2011. Fifty years of cereal leaf beetle in the U.S.: an update on its biology, management, and current research. *JIPM* 2:1–5.
- Piesik WA, Piesik D. 1998. The spring cereals food preferences of *Oulema* spp. in pure and mixed crops. *Electron J Polish Agric Univ Agron.* 1:1–8.
- Regnault-Roger C, Vincent C, Arnason JT. 2012. Essential oils in insect control: Low-risk products in a highstakes world. *Ann Rev Entomol.* 57:405–424.
- Rouag N, Mekhlouf A, Makhlouf M. 2012. Evaluation of infestation by cereal leaf beetles (*Oulema* spp.) on six varieties of durum wheat (*Triticum durum*, Desf.) seedlings in arid conditions of Setif, Algeria. *Agric Biol J N Am.* 3:525–528.
- Schmitt M. 1988. The Criocerinae: biology, phylogeny and evolution. In: Jolivet P, Petitpierre E, Hsiao TH, editors. *Biology of Chrysomelidae*. Dordrecht: Kluwer; p 475–495.
- Singh G, Upadhyay RK. 1993. Essential oils - a potent source of natural pesticides. *J Sci Ind Res India.* 52:676–683.
- Smith DH, Thamby N, Rathke E, Cress EE. 1971. Weight gain of cereal leaf beetle larvae on normal and induced leaf pubescence. *Crop Sci.* 11:639–641.
- Venturi F. 1942. *La Lema melanopa* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Redia* 28: 11–88.
- Wilson MC, Shade RE. 1966. Survival and development of larvae of the cereal leaf beetle, *Oulema melanopa* (Coleoptera: Chrysomelidae), on various species of Gramineae. *Ann Entomol Soc Am.* 59:170–173.
- WWW1 <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/sledovani-hmyzich-skudcu-polnich-plodin-a-jejich-prahy-skodlivosti>

## 7. Seznam publikací, které předcházely metodice

- Skuhrovec J, Douda O, Pavela R, Klouček P, Božik M, Zouhar M. 2017. The effects of *Pimpinella anisum* essential oils on young larvae *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *Am J Potato Res.* 94(1):64–69.



Skuhrovec J, Douda O, Pavela R, Zouhar M. 2015. Výzkum vlivu aplikace rostlinných esencí na mortalitu mandelinky bramborové (*Plant essences as tool for management of Colorado potato beetle*). Úroda. 63(5): 89–91.

Zarubová L, Kouřimská L, Zouhar M, Nový P, Douda O, Skuhrovec J. 2015. Botanical pesticides and their human health safety on the example of *Citrus sinensis* essential oil and *Oulema melanopus* under laboratory conditions. Acta Agric Scand Sect B Soil Plant Sci. 65(1):89–93.

## Dedikace

Metodika vznikla jako výstup řešení projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum QJ1310226 „Vývoj nových metod ochrany obilnin a zeleniny proti významným patogenům a škůdcům pomocí botanických pesticidů využitelných v ekologickém i integrovaném zemědělství“.

## 8. Přílohy

Složení esenciálních olejů použitých pro testování; hodnoty pod názvy rostlin udávají % zastoupení, <sup>C</sup> = identifikace potvrzena autentickým standardem, <sup>T</sup> = předběžná identifikace

Retenční index	Složka	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Pelargonium graveolens</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Thymus vulgaris</i>
926	<b>Tricyclene</b>	0,16	-	-	-
931	<b><math>\alpha</math>-Thujene</b>	-	-	0,37	0,35
939	<b><math>\alpha</math>-Pinene<sup>C</sup></b>	0,35	0,66	10,27	1,27
953	<b>Camphene</b>	0,74	-	4,53	1,51
978	<b>1-Octen-3-ol</b>	-	-	-	0,88
980	<b><math>\beta</math>-Pinene<sup>C</sup></b>	-	-	7,03	-
987	<b>6-methyl-5-Hepten-2-one</b>	1,49	-	-	-
991	<b>Myrcene<sup>C</sup></b>	-	-	0,92	1,34
1011	<b>3-Carene</b>	-	-	0,29	-
1018	<b><math>\alpha</math>-Terpinene<sup>C</sup></b>	-	-	-	1,09
1026	<b>p-Cymene<sup>C</sup></b>	-	-	2,81	16,40
1031	<b>Limonene<sup>C</sup></b>	3,87	-	-	0,33
1033	<b>Eucalyptol<sup>C</sup></b>	-	-	43,35	1,29
1040	<b>cis-<math>\beta</math>-Ocimene</b>	0,55	-	-	-
1050	<b>trans-<math>\beta</math>-Ocimene</b>	0,40	-	-	-
1062	<b><math>\gamma</math>-Terpinene<sup>C</sup></b>	-	-	-	5,74
1098	<b>Linalool<sup>C</sup></b>	0,72	5,22	0,77	4,68
1111	<b>cis-Rose oxide</b>	-	1,57	-	-
1127	<b>trans-Rose oxide</b>	-	0,60	-	-
1143	<b>Camphor<sup>C</sup></b>	-	-	14,01	1,87
1151	<b>Menthone<sup>C</sup></b>	-	2,35	-	-
1153	<b><math>\beta</math>-Citronellal</b>	0,85	-	-	-
1164	<b>Isomenthone</b>	-	6,34	-	-
1165	<b>Borneol<sup>C</sup></b>	1,13	-	4,88	1,76
1177	<b>Terpinen-4-ol</b>	-	-	0,94	1,78
1177	<b>Verbenol<sup>T</sup></b>	0,89	-	-	-
1189	<b><math>\alpha</math>-Terpineol</b>	0,30	-	2,20	0,23
1204	<b>Decanal</b>	0,37	-	-	-
1228	<b>Citronellol<sup>C</sup></b>	-	32,56	-	-

1235	<b>Thymol methyl ether</b>	-	-	-	0,58
1240	<b>Neral</b>	29,59	-	-	
1244	<b>Carvacrol methyl ether</b>	-	-	-	0,92
1255	<b>Geraniol<sup>C</sup></b>	3,94	14,92	-	-
1270	<b>Geranial<sup>C</sup></b>	39,68	0,78	-	-
1279	<b>Citronellyl formate</b>	-	8,86	-	-
1285	<b>Bornyl acetate</b>	0,33	-	1,94	
1290	<b>Thymol<sup>C</sup></b>	-	-	-	48,07
1298	<b>Carvacrol<sup>C</sup></b>	-	-	-	2,75
1300	<b>Geranyl formate</b>	-	3,59	-	-
1356	<b>Eugenol</b>	0,31	-	-	0,23
1376	<b><math>\alpha</math>-Copaene</b>	0,24	0,79	0,29	-
1384	<b><math>\beta</math>-Bourbonene</b>	-	2,26	-	-
1385	<b>Geranyl acetate</b>	5,41	-	-	-
1391	<b><math>\beta</math>-Elemene</b>	0,27	-	-	-
1404	<b>Methyleugenol</b>	0,30	-	-	-
1418	<b><math>\beta</math>-Caryophyllene<sup>C</sup></b>	2,88	1,81	3,85	5,91
1444	<b>Citronellyl propionate<sup>C</sup></b>	-	0,58	-	-
1447	<b>trans-Isoeugenol</b>	0,34	-	-	-
1454	<b><math>\alpha</math>-Caryophyllene</b>	0,31	-	0,47	-
1475	<b>Geranyl propionate</b>	-	1,06	-	-
1480	<b>Germacrene D</b>	-	1,47	-	-
1524	<b><math>\delta</math>-Cadinene</b>	0,46	2,18	-	0,26
1529	<b>Citronellyl butyrate</b>	-	0,64	-	-
1549	<b>Elemol</b>	0,30	-	-	-
1564	<b>Geraniol butyrate</b>	-	1,36	-	-
1581	<b>Caryophyllene oxide</b>	0,85	-	1,07	0,33
1584	<b>Phenethyl tiglate</b>	-	1,24	-	-
1630	<b><math>\gamma</math>-Eudesmol</b>	-	6,87	-	-
1700	<b>Geranyl tiglate</b>	-	1,65	-	-
	<b>Total identified compounds</b>	97,06	99,37	100,00	99,59

Požerky způsobované larvou kohoutka na listu pšenice ozimé



**Poznámky:**

Přílohy k certifikované metodice:

Uzavřená smlouva s firmou: Ing. Jan Procházka

Nezávislé oponentní posudky:

1 posudek odborníka z daného oboru, zpracoval: doc. Ing. Jan Bezděk, Ph.D. (Mendelova Univerzita v Brně, agronomická fakulta, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Oddělení Zoologie)

2 posudek ze státní správy, zpracovala: Ing. Jana Pekárková, Ph.D. (ÚKZÚZ)

Název: Rostlinné esence jako prostředek ochrany rostlin vůči kohoutkům (*Oulema* spp.) – významným škůdcům obilovin (certifikovaná metodika)

Autoři: Ondřej Douda, Jiří Skuhrovec, Miloslav Zouhar, Marie Maňasová, Pavel Nový, Matěj Božik, Roman Pavela, Pavel Klouček

Vydavatel: Česká zemědělská univerzita v Praze

Povoleno: Děkanátem AF

Počet stran: 20

Vydání: první

Rok vydání: 2017

ISBN: 978-80-213-2795-5