

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA APLIKOVANÉ EKOLOGIE



TRAUMATICKÁ INSEMINACE JAKO MOŽNÝ NÁSTROJ
MEZIDRUHOVÉHO KONKURENČNÍHO BOJE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce: Mgr. Ondřej Balvín, Ph.D.

Bakalant: Sunita Eidi Hakimi

PRAHA 2020

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Sunita Eidi Hakimi

Environmentální vědy
Aplikovaná ekologie

Název práce

Traumatická inseminace jako možný nástroj mezidruhového konkurenčního boje

Název anglicky

Traumatic insemination as potential means of interspecific competition

Cíle práce

Štěnice (Heteroptera: Cimicidae) se páří traumaticky. Pro samici je zraňující samotná kopulace. Předchozí výzkumy kontaktu dvou druhů štěnic spjatých s člověkem, štěnice domácí a tropické, však ukázaly, že sperma cestující tělní dutinou při mezidruhovém páření může samici cizího druhu výrazně poškodit. Oba tyto druhy jsou však na člověku druhotně. Kontakt původních populací žijících u netopýrů, a potažmo adaptivita toxicity cizího spermatu jsou tedy velmi hypotetické. Štěnice domácí, alespoň v podmínkách střední Evropy, se v koloniích netopýrů reálně setkává se štěnicí netopýří. Změna druhu štěnice v koloniích netopýrů byla již několikrát dokumentována. Cíl bakalářské práce je testovat vliv mezidruhové kopulace na plodnost a životaschopnost samic štěnice domácí a netopýří.

Metodika

Panenské samice štěnice domácí a netopýří budou spářeny se samci vlastního druhu, poté s cizími samci, a bude sledována jejich plodnost (počet fertálních a sterálních vajíček). Jako kontrola budou sloužit samice spářené pouze se samci vlastního druhu. Potencionální zkrácení života štěnice bude také sledováno, vzhledem k obvyklé délce života štěnice však není jisté, že se stihne vyhodnotit před termínem odevzdání práce.

Doporučený rozsah práce

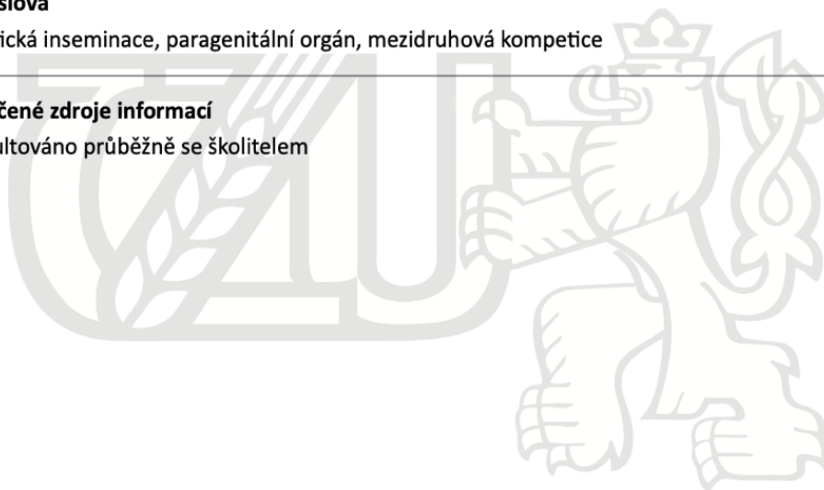
35 stran

Klíčová slova

traumatická inseminace, paragenitální orgán, mezidruhovú kompetice

Doporučené zdroje informací

Je konzultováno průběžně se školitelem



Předběžný termín obhajoby

2019/20 LS – FŽP

Vedoucí práce

Mgr. Ondřej Balvín, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Konzultant

Mgr. Markéta Sasínková

Elektronicky schváleno dne 29. 3. 2020

doc. Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 29. 3. 2020

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 30. 03. 2020

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: traumatická inseminace jako možný nástroj mezidruhového konkurenčního boje vypracovala samostatně a citovala jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použila a které jsem rovněž uvedla na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů.

Jsem si vědoma, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, především ustanovení § 35 odst. 3 tohoto zákona, tj. o užití tohoto díla.

Jsem si vědoma, že odevzdáním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a to i bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Svým podpisem rovněž prohlašuji, že elektronická verze práce je totožná s verzí tištěnou a že s údaji uvedenými v práci bylo nakládáno v souvislosti s GDPR.

V Praze dne 23. 3. 2020

.....

Hakimi Sunita Eidi

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych tímto poděkovat vedoucímu práce, Mgr. Ondřeji Balvínovi Ph.D., za vedení této práce, věcné rady a připomínky, trpělivost a motivující přístup.

Dále patří poděkování mé rodině, partnerovi, přátelům a blízkým, kteří mě během mé práce podporovali a stáli při mně s pevnými nervy.

V Praze dne 23. 3. 2020

.....
Hakimi Sunita Eidi

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá efekty vnitrodruhového a mezidruhového páření dvou druhů štěnic, a to štěnice netopýří (*Cimex pipistrelli*) a štěnice domácí (*Cimex lectularius*). Tyto ektoparazity má smysl zkoumat, neboť představují ekologicky neobvyklou skupinu a mohou tak poskytovat zajímavé a nové poznatky o mezidruhových vztazích, které se odehrávají v přírodě. V tomto výzkumu bylo vycházeno z metod použitých u studií z 20. století při zkoumání mezidruhového páření mezi s lidmi asociovanými populacemi druhů *Cimex lectularius* a *Cimex hemipterus*. V tomto případě byla zjištěna jasná převaha druhu *Cimex hemipterus* a detekována toxicita spermatu samců pro samice *Cimex lectularius*. Druhy *Cimex pipistrelli* a *Cimex lectularius* se v přírodě setkávají v koloniích netopýřů, ale jejich vztah a možná konkurence nebyly doposud popsány. Zajímalo nás, zdali budou výsledky mezidruhového křížení odlišné, co se efektu na plodnost samic a životaschopnosti zvířat týče, od výsledků při páření vnitrodruhovém.

Pro tuto studii byly zkoumány dvě linie *Cimex lectularius* a jedna linie *Cimex pipistrelli*. Oba druhy pocházely z netopýřích kolonií. Následně, po separování panenských samic, bylo provedeno páření, a to nejdříve u všech vnitrodruhově a následně u poloviny jedinců z jichž spárených mezidruhově. Data byla sbírána po dobu šestnácti týdnů od poslední inseminace. Po zhodnocení naměřených dat jsme zjistili, že mezidruhové páření v tomto případě nemá žádný vliv na plodnost samic. Pokud se tedy v přírodě *Cimex pipistrelli* a *Cimex lectularius* setkají, mezidruhové páření nebude mít na fitness jednotlivých druhů efekt tak, jak tomu je u *Cimex lectularius* a *Cimex hemipterus*.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the research of intraspecific and interspecific mating of two species of bugs – the bat bugs (*Cimex pipistrelli*) and the common bed bug (*Cimex lectularius*). The study of these ectoparasites is important, because they are an ecologically unusual group that exists in a very specific environment and their observation may reveal new findings in the field of interspecific relations that take place in nature. Our research uses the methods used in a 20th century research on the intraspecific crossing of the human-associated populations of *Cimex lectularius* and *Cimex hemipterus*. In the before mentioned research a clear supremacy of *Cimex hemipterus* was established and a toxicity of *Cimex hemipterus* sperm for the female individuals of *Cimex lectularius* was detected. *Cimex pipistrelli* and *Cimex lectularius* encounter one another in nature in bat colonies; however, their relationship and possible competition have not yet been described. The main object of our research was to establish whether the results of interspecific crossing regarding the potency of female individuals and the fitness of the females are different from the results of intraspecific crossing.

In our research we examined two lineages of *Cimex lectularius* and one lineage of *Cimex pipistrelli*. Both species came from bat colonies. After the separation of the female individuals, the intraspecific mating was carried out. Following that, half of the previously mated individuals were used for interspecific mating. Data have been collected for a period of sixteen weeks after the last insemination. After the evaluation of the gathered data, we found that in this case interspecific mating has no effect on the fertility of the females. If *Cimex pipistrelli* and *Cimex lectularius* encounter in nature, their interspecific mating will have no effect on the fitness of either species, unlike in the case of *Cimex lectularius* and *Cimex hemipterus*.

OBSAH

1.	<i>ÚVOD</i>	1
2.	<i>TRAUMATICKÁ INSEMINACE V PŘÍRODĚ</i>	2
2.1	<i>Strepsiptera</i>	2
2.2	<i>Turbellaria</i>	3
2.3	<i>Araneae</i>	3
2.4	<i>Siphopteron</i>	4
3.	<i>ŠTĚNICE: OBECNÁ CHARAKTERISTIKA</i>	4
3.1	<i>CIMEX LECTULARIUS</i>	8
3.2	<i>CIMEX PIPISTRELLI</i>	10
4.	<i>TRAUMATICKÁ INSEMINACE U ŠTĚNIC</i>	12
5.	<i>MEZIDRUHOVÉ PÁŘENÍ MEZI CIMEX LECTULARIUS A CIMEX HEMIPTERUS</i>	13
6.	<i>CÍLE PRÁCE</i>	15
7.	<i>METODIKA</i>	16
7.1	Sběr štěnic	16
7.2	Podmínky laboratorního chovu.....	17
7.3	Podmínky krmení.....	17
7.4	Izolace panenských zvířat	17
7.5	Páření	18
7.6	Sledování plodnosti	19
7.7	Vyhodnocení dat.....	19
8.	<i>VÝSLEDKY</i>	20
9.	<i>DISKUSE</i>	25
10.	<i>ZÁVĚR A PŘÍNOS PRÁCE</i>	27
11.	<i>PŘEHLED LITERATURY A POUŽITÝCH ZDROJŮ</i>	27

1. ÚVOD

Tato studie se zabývá mezidruhovou konkurencí u dvou druhů štěnic vyskytujících se v České republice. U štěnic neprobíhá páření jako ve většině zvířecí říše, ale páří se tzv. traumatickou inseminací. Páření štěnic je velmi zajímavý proces, který je zkoumán již od roku 1897 (Usinger 1966). Traumatická inseminace u štěnic probíhá tak, že samec štěnice se přitiskne na pravý bok samice a pomocí levé paramery inseminuje do její břišní dutiny skrze Berleseho orgán (Usinger 1966). Tento způsob páření je pro samice velmi nebezpečný.

Mezidruhové páření u štěnic je zkoumáno v důsledku přirozených střetů různých druhů v přírodě a jejich potenciálním vlivům na fitness samice. Předložená studie se inspirovala již popsanými střety studovanými ve 20. století u dvou netopýřích druhů štěnic – *Cimex hemipterus* (Fabricius, 1803) a *Cimex lectularius* Linnaeus, 1758 (Omori 1939). V Omoriho práci byly ale použity odvozené populace žijící na člověku. Vztah mezi těmito druhy spočívá v tom, že pouze jedním směrem je sperma toxické pro samici, která je pak schopna klást pouze sterilní vajíčka. Tomu tak je v případě samce *Cimex hemipterus* a samice *Cimex lectularius*. Pokud bychom u takového mechanismu předpokládali, že jde o nástroj mezidruhového boje, dá se také počítat s tím, že vznikl přírodním výběrem. Vědci se snažili spářit jedince obou druhů mezidruhově a zkoumali, kolik potomstva *C. lectularius* se vyvine a kolik potomstva se vyvine u *C. hemipterus* (Omori 1939). Výzkum u námi zkoumaných druhů *Cimex lectularius* a *Cimex pipistrelli* Jenys, 1839 není možno provádět dle tohoto postupu, jelikož jsou oba druhy z linie netopýří a *Cimex lectularius* na lidské krvi prospívá mnohem lépe. Druh *Cimex pipistrelli* by tím pádem byl velice znevýhodněn.

Získané výsledky mohou, mimo získání lepších znalostí o konkrétním parazitu, zodpovědět i některé z obecnějších evolučních otázek nebo přiblížit mechanismy, které mohou zesílit reprodukční bariéry (Balvín 2008; Balvín 2013).

2. TRAUMATICKÁ INSEMINACE V PŘÍRODĚ

Traumatická, nebo také hypodermická inseminace, je anomální způsob kopulace, při níž samec proniká stěnou samičího těla pomocí svého kopulačního orgánu a vbodnutím vpraví sperma do těla samice (Carayon 1966).

Traumatická inseminace je tedy oplodnění zraněním samice, což může vést i k uhynutí z důvodu otevřené rány samice náchylné na infekce (Reinhardt, Siva–Jothy 2006). Tento poměrně ojedinělý jev je popsán u mnoha druhů ploštěnců, měkkýšů, pavouků, hlístic, či ploštic. Může se zdát, že se jedná o jev vztahující se pouze k bezobratlým živočichům, avšak případ traumatické inseminace byl popsán i u obojživelníků (Reinhardt et al. 2015). Traumatická inseminace může sice být nebezpečná, ale urychluje oplodnění vajíček a tím pádem i reprodukci (Buckland 1999). Je tedy předpokládáno, že traumatická inseminace je pro všechny její zástupce zraňující, avšak z evolučního hlediska se všechna zvířata, která ji používají, morfologicky přizpůsobila penetraci, i když u každého zástupce jinak. Zástupci mají tendenci redukovat traumatickou inseminaci, ale v dlouhodobém evolučním horizontu vznikají různé styly přizpůsobení (Reinhardt et al. 2015).

2.1 *Strepsiptera*

Traumatická inseminace probíhá u každého druhu rozdílně. Němečtí zoologové blíže specifikovali předání spermatu ze samce do samice tímto způsobem u parazitického hmyzu známého jako řasnici (*Strepsiptera*) podřádu *Stylopidia* u druhu *Stylops melittae*, Kirby, 1802 (Peinert et al. 2016). Řasnici jsou parazitoidi členovců a žijí trvale v těle hostitele. Samci řasníků jsou okřídlení a líhnou se hromadně v jarních dnech. Celý život nepřijímají potravu, pouze se snaží najít samici. Samice řasníků mají redukovaná křídla a končetiny. Jejich hlava je vystrčena mezi zadečkovými články hostitele. Samec samici páří do membrány mezi hlavou a hrudí. Zde bylo identifikováno specializované vchlípení integumentu, které pravděpodobně zmírňuje poranění způsobené touto formou páření stejně tak, jak bylo pozorováno u štěnic (Peinert et al. 2016). U tohoto zástupce se předpokládá, avšak není dokázáno, že se samice spáří jednou a poté přestane produkovat feromony a nemá sílu na další inseminaci samcem (Siljander et al. 2008).

2.2 *Turbellaria*

Další skupinou, u jejíž zástupců probíhá tento proces oplodnění, jsou ploštěnky (*Rhabditomorpha*, dříve *Turbellaria*), které se řadí do řádu trojvětvných (*Tricladida*) (Juříčková 2006). Ploštěnky jsou velmi nenápadně zbarvení živočichové, kteří se vyskytují převážně na spodních stranách kamenů v potocích. Před samotným pářením vychlípí oba dospělci z penisové papily sklerotizovaný stilet. Tímto stiletem se snaží prorazit tělní stěnu druhého dospělého, a to na jakémkoli místě na jeho těle. Ploštěnky jsou simultánní hermafrodité – což znamená, že samčí i samičí pohlavní buňky jim dozrávají najednou. V podstatě spolu tedy zápasí dva jedinci o to, kdo se první zabodne do těla druhého svým penisem a vstříkne mu tam spermie. Evoluce ploštěnek vede ke snaze preferovat předávání spermatu druhému jedinci. Tato snaha je na úkor příjmu spermatu. Každý jedinec se tedy snaží být raději samcem nežli samicí. Snaha o kopulaci může trvat i 24 hodin (Juříčková 2006).

2.3 *Araneae*

Traumatická inseminace je popsána také u šestiočky sadistické (*Harpactea sadistica*) (Řezáč, 2009). *Harpactea* je rod pavouků z čeledi šestiočkovití (*Dysderidae*). Tento pavouk byl objeven, popsán a pojmenován českým zoologem RNDr. Milanem Řezáčem, v Izraeli roku 2009 (Řezáč 2009). Všechny samice šestioček jsou známé svou promiskuitou. Sperma jiných druhů šestioček se ukládá do semenných váčků, samci některých druhů se během evoluce naučili dokonce odstranit sperma samců z předchozích kopulací. Šestiočka sadistická však tyto váčky vůbec nemá, samec vpravuje spermie pohlavním orgánem připomínajícím injekční jehlu vbodnutím přímo do tělní dutiny. Tam dochází k oplodnění. U tohoto druhu není další samec schopný sperma odstranit. Vbodnutí přímo do těla samice urychluje oplodnění vajíček ve srovnání s netraumatickým pářením. Samci mají tedy na konci kopulačního orgánu dutý trn zakončený jako jehla a samice mají kopulační orgán zakrnělý. Tímto se výrazně liší od pavouků stejného rodu (Yong 2009).

2.4 *Siphopteron*

Dosud nepojmenovaný druh zadožábrého mořského plže čeledi *Gastropteridae*, rodu *Siphopteron*, je dalším zástupcem páření traumatické inseminace a s následky pokopulačního zranění. Tito plži používají jako prostředek přenosu sekretů genitální přívěsek zakončený injekčním styletem, který je vbodnut do hlavy samice. Tyto sekrety napomáhají zaručit úspěšné oplození vajíček (Hotzy, Arnqvist 2009). Hned po vstříknutí sekretu do hlavy přejde samec k oplození samice penisem. Plži rodu *Siphopteron* jsou hermafrodité, mají tedy samčí i samičí pohlavní orgány. Různé druhy *Siphopteron* mají rozdílné a druhově specifické místo vpichu po celé hlavě. I přesto, že tyto vpichy před kopulací způsobují povrchové poškození, tak sekret obsahuje mimo jiné i živiny důležité pro potomstvo (Hotzy et al. 2012).

3. ŠTĚNICE: OBECNÁ CHARAKTERISTIKA

Štěnice (*Cimicidae*) které jsou odvozenou skupinou řádu ploštic (*Heteroptera*) představují typickou čeleď hmyzu, která se v průběhu evoluce plně soustředila na jedinou životní strategii, kterou je parazitismus (Hase 1917). Všechny ploštice mají proměnu nedokonalou (jedinec se hned po vylíhnutí podobá dospělci).

Polovina druhů byla objevena v průběhu let 1965–1966 díky bádání Roberta L. Usingera. V čeledi *Cimicidae* je uznáno 110 druhů, uspořádaných ve 22 rodech a 6 podčeledích (Ryckman et al. 1981). Podle Usingera (1966) je 12 z 22 rodů *Cimex* specializováno na netopýry a 9 na ptáky. Povolný (1957) navíc uvádí, že všechny štěnice rodu *Cimex* se mohou vyvíjet na netopýrech.

Nejbližšími příbuznými čeledi *Cimicidae* neboli jejich sesterská skupina (Schuh et al. 2009) jsou *Polycetenidae*, kteří jsou permanentními ektoparazity netopýrů (Usinger 1966). Další blízce příbuzní štěnic jsou *Anthocoridae* (hladěnkovití), kteří se živí hmyzem, nebo roztoči (Usinger 1966). Můžou se příležitostně krmit na teplokrevných zvířatech.

Štěnice jsou takzvaní úkrytoví, dočasní ektoparazité, jelikož jsou ve fyzickém kontaktu s hostitelem jen po dobu sání krve a zbytek času tráví v hostitelově úkrytu, a to v agregacích mnoha jedinců různého pohlaví a stáří (Usinger 1966).

Nejsou dobře přizpůsobené tomu, aby se držely na kůži nebo peří svých hostitelů za letu, ale vzácně nacházíme i takovéto případy. Tímto způsobem se šíří na krátké vzdálenosti např. u rodu netopýra *Myotis*, kde trvale zůstávají každý rok na stejné kolonii. U netopýřích rodů migrujících pravidelně, jako jsou např. *Nyctalus* a *Pipistrellus*, se štěnice na kůži mohou takto šířit až na Balkán (Balvín et al. 2012). Existují tři druhy, které jsou primárně netopýři, ale druhotně tvoří trvalé populace na člověku (Usinger 1966).

První druh se nazývá *Leptocimex boueti* Brumpt, 1910. Ten je možné nalézt na netopýrech, druhotně tedy na člověku. Vyskytuje se převážně v západní Africe.

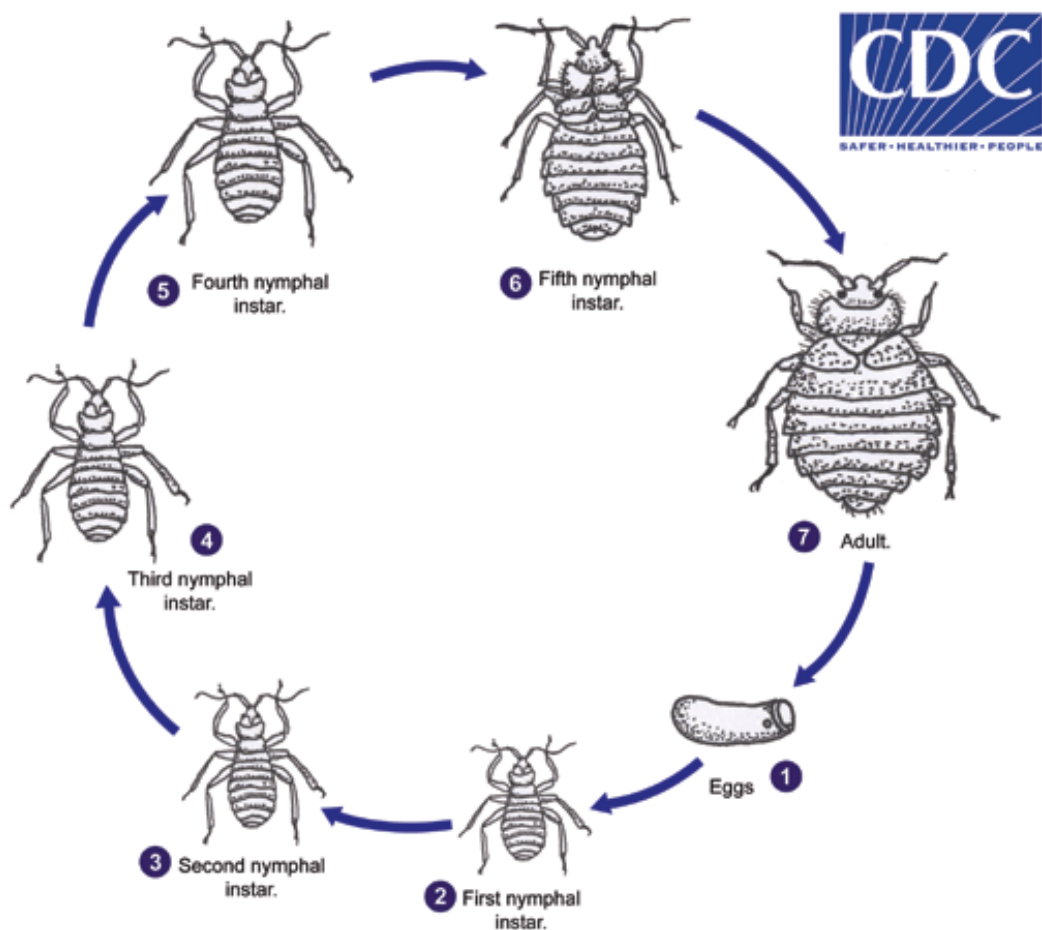
Cimex hemipterus je druhý druh vyskytující se i u člověka, ale také drůbeže. Tento druh se vyskytuje převážně v tropickém pásmu. Jedná se o druh vysoce teplomilný, který je do České republiky občas zavlékán z tropických oblastí a v posledních dekádách zřejmě v Evropě začíná tvořit trvalé populace (Balvín 2013).

Poslední druh spojený i s člověkem je *Cimex lectularius*, který je dále také spojen s kuřaty a občas i jinými domácími zvířaty. Díky vysoké schopnosti přizpůsobení je nejvíce rozšířen (Usinger 1966). Štěnice domácí (*Cimex lectularius*) se přizpůsobily lidskému obydlí a začaly se šířit po celém světě (Usinger 1996).

Další druhy štěnic známé ze střední Evropy jsou: štěnice ptačí *Cimex hirundinis* Lamarck, 1816 a štěnice holubí (*Cimex columbarius* Jenyns, 1839). Štěnice ptačí, která je ektoparazitem v hnízdech jirůček, vlaštovek a rorýsů, je také nejmenší ze všech známých druhů (Usinger 1966). Je to druh u nás nejčastější ale méně v podvědomí, jelikož se u lidí trvale neudrží. Štěnice holubí (*Cimex columbarius*) je druh parazitující zejména na koloniích holubů, avšak můžeme jej potkat i v hnízdech lejsků. Morfologicky je prakticky nerozlišitelný od štěnice domácí. Má však jinou ekologii, jeho výskyt je soustředěn do okolí hnízdišť holubů (Usinger 1966). U lidí se trvale neudrží (Mazánek, Urbancová 2005).

Co se týče fenotypu štěnic rodu *Cimex*, tak jejich tělo je ploché, oválné, krátce ochlupené a dlouhé 5–6 mm. Délka těla závisí na vývojovém stupni jedince. Fertilní i sterilní vajíčko je dlouhé 1,2 mm. První instar je o 0,5 mm větší než samotné vajíčko, druhý instar dosahuje už 2,5 mm. Třetí, čtvrtý a pátý instar se každý zvětší s vývojem pouze o 0,8 mm. Samotný dospělec pak měří asi 5–6 mm. Dospělá samice je zpravidla větší než dospělý samec (Usinger 1966). Zbarvení těla štěnic je hnědé až světle hnědé. Štít je poměrně velký a nejvýrazněji ochlupený, lalokovitě rozšířený do stran

a dopředu. Tvar těla se ale mění v závislosti na nasátí štěnice. Pokud je nasátá, přestává být plochá a prodlužuje si zadeček často až do dvojnásobného rozměru. Barva se v závislosti nasátí také mění, a to do tmavších odstínů. Na spodní straně hlavy je uloženo rostrum, tedy bodavě sací ústrojí. Křídla chybí a jsou redukována na šupiny. Zadeček mění tvar a barvu dle nasátí (Brouqui et al. 2011). Životaschopnost štěnic je ovlivněna různými faktory, z nichž je nejdůležitější teplota, ta ovlivňuje všechny aspekty činností štěnic. Pouze u druhů, které obývají teplé jeskyně, je teplota pravděpodobně tak rovnoměrná, že neovlivní rychlost vývoje nebo životně důležité činnosti, jako je hledání potravy nebo protějšku (Usinger 1966).



Obr. 1: životní cyklus *Insecta: Hemiptera: Cimicidae*
(převzato z <https://www.cdc.gov>)



Obr. 1: *Cimex pipistrelli* dorzálně
(Balvín, 2018)



Obr. 2: *Cimex lectularius* dorzálně
(Balvín, 2018)

Z obr. 1 a obr. 2 jsou vidět morfologické odlišnosti tvaru předních rohů postranních laloků štítu. *Cimex lectularius* je má široké a oválné, zatímco *Cimex pipistrelli* úzké a špičaté (Usinger 1966).

Tabulka 1: Přehled záznamů – dvou zkoumaných druhů štěnic u evropských druhů netopýrů – v literatuře (převzato z Balvín, Bartonička 2014); N – počet kolonií, kde byl zjištěn příslušný druh štěnice v ČR a na Slovensku; reference viz Balvín a Bartonička 2014

bat species	<i>Cimex lectularius</i> reference	N	<i>Cimex pipistrelli</i> reference	N
<i>Eptesicus serotinus</i>	Balvín et al. (2012a)	1/0	Southwood & Leston (1959)	
<i>Myotis bechsteinii</i>	Scheffler (2008)		Morkel (1999)	
<i>Myotis blythii</i>	*Tagil'cev (1971) – <i>Cimex</i> sp.		*Tagil'cev (1971) – <i>Cimex</i> sp.	
<i>Myotis brandtii</i>			Heise (1988)	1/0
<i>Myotis dasycneme</i>			van Rooij et al. (1982)	
<i>Myotis daubentonii</i>	Wagner (1967)		Heise (1988)	2/0
<i>Myotis emarginatus</i>	Usinger & Beaucoumu (1967)	3/2	Usinger (1966)	0/1*
<i>Myotis nattereri</i>				1/0
<i>Myotis myotis</i>	Povolný (1957)	23/5	Lederer (1950)	37/12
<i>Myotis mystacinus</i>	Poppius (1912)		Kerzhner (1989)	
<i>Myotis oxygnathus</i>	Usinger (1966)			
<i>Nyctalus lasiopterus</i>			Balvín et al. (2012b)	
<i>Nyctalus leisleri</i>	Bobkova (2001)		Nelson & Smiddy (1997)	
<i>Nyctalus noctula</i>	Heise (1988)		Povolný (1957)	6/1
<i>Pipistrellus nathusii</i>			Heise (1988)	
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Rybin et al. (1989)		Jenyns (1839)	
<i>Pipistrellus pygmaeus</i>			Bartonička (2007)	3/0
<i>Pipistrellus</i> sp.		2/1*		
<i>Plecotus auritus</i>	Balvín et al. (2012b)			
<i>Vespertilio murinus</i>	Dubinij (1947)		Horváth (1935)	

3.1 *CIMEX LECTULARIUS*

Štěnice domácí neboli *Cimex lectularius* zařazená *Insecta: Hemiptera: Cimicidae* je ektoparazit teplokrevných živočichů a druhotně i člověka. Je to pravděpodobně nejprizpůsobivější druh rodu *Cimex*. Sailer (1952) a jiní předpokládali, že *Cimex lectularius* byl spojen s člověkem a netopýry, kdy všichni žili společně v jeskyních někde na Blízkém východě. Usingerovu domněnku (1966), o štenici domácí (*Cimex lectularius*), která přešla na člověka v jeskyních pravděpodobně na Středním Východě doplňuje nález možné autochtonní populace v jeskyni v Afghánistánu (Usinger 1966). Štěnice domácí se nadále hojně vyskytuje v refugiích netopýrů po celé střední Evropě, kde nejhojněji parazituje na *Myotis myotis* a *Myotis emarginatus*. Co se parazitismu na lidech týče, tak se drží se cca do 5 metrů od zdroje potravy, kde jsou skryté například v nábytku, čalounění, konstrukci postelí, lištách fotografických rámečků nebo pelíšcích domácích mazlíčků (Usinger 1966). Štěnice domácí provázela člověka po několik posledních tisíciletí (Buckland 1999). Písemně doložené spojení je již ze starého Egypta a genetické spojení je 240 000 let staré (Balvín et al. 2012). První velký problém zanesení lidských obydlí byl na počátku 20. století v důsledku rozvoje měst a stěhování obyvatel kvůli první světové válce. Po testování různých nových chemikálií a metod hubení bylo označeno za zásadní pro zkoumání životaschopnosti štěnic použití DDT (dichlordifenyl-trichloretan) ve 40. a 50. letech (Bai et al. 2011). Tento velmi silný pesticid zejména po roce 1945 výskyt štěnic zdánlivě vyřešil a snížil ho na minimum (Negherbon 1959). V 50. letech 20. století však byla zjištěna vysoká rezistence vůči látkám v postřiku. V 90. letech došlo v USA i Evropě k přemnožení druhu *Cimex lectularius*, které z části zapříčinil člověk častějším cestováním napříč kontinenty (Negherbon 1959). *Cimex lectularius* se šíří zavazadly, transportem postelí, nábytku a často migrují mezi sousedními byty (Olson et al. 2017).

Štěnice domácí má náležitou biologii k přenášení infekčních chorob. Patogen lidských nemocí, jako je např. tyfus, mor či Q horečka, se podařilo vědcům izolovat z trávicí trubice štěnic. Teoreticky je tedy přenos nemocí na člověka možný, avšak patogen držící se na sosáku štěnice nepřežije časové rozmezí mezi krmením (Strand 1977).

Napadení člověka tímto druhem může mít za následek imunitní reakce v místech bodnutí jako kožní podráždění, které se projeví svěděním, zarudnutím kůže anebo

zduřeninou. Dále se napadený může potýkat s psychickým stresem, který vede až k problémům s nespavostí (Brouqui et al. 2011).

Dospělec i jejich vajíčka začínají hynout až při velmi nízkých teplotách. Linie zemřou až v teplotách nižších než bod mrazu a z tohoto důvodu přečkávají i v nevytápěných obydlích (Usinger 1966). Zásadním faktem je zastavení reprodukce či embryogeneze při teplotě pod 10 °C anebo nad 37 °C (Benoit 2011).

Cimex lectularius je charakteristická svou noční aktivitou, a to převážně kolem třetí hodiny ranní (Usinger 1966). Vyskytují se pouze v pravidelně obývaných lidských obydlích a po nočním sání krve se vrací do úkrytů blízko postelí (Usinger 1966). Člověka dokáží lokalizovat na vzdálenost cca 1,5 m. Podnětem této schopnosti je teplota kůže, kairomony a CO₂. Kairomony se označují jako mezidruhové, chemické, komunikační prostředky, které štěnice vnímají pomocí tykadel. Pomocí těchto kairomonů najde štěnice svou kořist (AAK 2014).

Délka života činí jeden rok, avšak za laboratorního umělého chovu to můžou být až čtyři roky (Polanco 2011). Dospělí jedinci jsou schopni za svůj život snést 200–500 vajíček která se mohou vylíhnout v průběhu 1–2 týdnů od naklazení (Delaunay et al. 1991). Frekvence příjmu potravy je úzce korelována se snášením vajec. Nasát se jim stačí s frekvencí jednou za 3 až 7 dní (Anderson et al. 2009). Ukázalo se, že druh *Cimex lectularius* je schopen hladovět při teplotě 12 °C a vlhkém vzduchu téměř dva roky díky jejich schopnosti odolat dehydrataci. Při teplotě 18 °C je schopen přežít až 12 měsíců ale v přežívající populaci by s největší pravděpodobností převládaly páte instary, již spáření samci a nespárené samice (Johnson 1942). Jeho optimální teplota pro život je cca 28 °C (Olson 2008). Přes všechny odlišnosti druhů *Cimex lectularius* je tento ektoparazit velmi zkoumání díky ojedinělému způsobu rozmnožování. Byla provedena řada studií, z nichž některé jsou tak rozsáhlé, že se jedná o malé knihy.



Obr. 3: *Cimex lectularius* z netopýří linie dorzálně (Balvín, 2018)

3.2 *CIMEX PIPISTRELLI*

Ve střední Evropě jsou velmi hojně rozšířené štěnice netopýří (*Cimex pipistrelli*). Štěnice netopýří je druh na pohled velmi podobný štěnici domácí. Rozlišení tohoto druhu od jiných příbuzných – *Cimex lectularius* – vyžaduje určitou zkušenost a je možné na základě tvaru štítu (pronotum), případně ochlupení paragenitálií samic. Parazitují a žijí trvale v koloniích netopýřů, odkud mohou jen vzácně pronikat do bytů (Balvín, Bartonička 2014). Obývají letní úkryty netopýřů, jelikož se od jara do podzimu živí sáním krve. Štěnice netopýří tedy většinu svého času tráví v refugii v blízkosti kolonií netopýřů. V tomto období také kladou vajíčka a probíhá zde i vývoj nymf. V zimních obdobích čekají v úkrytech na jarní návrat svých hostitelů (Usinger 1966). Z České republiky jsou známy ojedinělé případy z bytů vyšších pater panelových domů z 80.let, u kterých se v mezipanelovém izolačním prostoru usídlily kolonie netopýřů (Růžičková 2012). Své bodavě sací ústní ústrojí využívají na rozdíl od ostatních býložravých či dravých ploštic výhradně k sání krve teplokrevných hostitelů (Foutain 2014).

Většina popsaných případů průniků štěnice netopýří do domácnosti se týká netopýra rezavého (*Nyctalus noctula*). Další druh studovaný v souvislosti s tímto ektoparazitem je i netopýr velký (*Myotis myotis*). Jedinci parazitující na různých rodech netopýřů se

mohou morfologicky poměrně výrazně lišit (jiná průměrná velikost, ochlupení), ale dle molekulárních studií se jedná jen o vnitrodruhovou variabilitu způsobenou projevem různých fenotypů v závislosti na odlišných podmínkách u odlišných hostitelů (Balvín et al. 2013).

Pokud dojde k přenosu vzdušnými cestami na člověka, tak sice můžou vniknout do bytů, či sekundárního hostitele i pokousat, avšak postrádají schopnost se rozmnožovat. Na člověku saje jen příležitostně a trvale se u lidí neudrží. Skupina *C. pipistrelli* zahrnuje ještě několik dalších druhů popsanych z východních částí palearktické oblasti. V rámci palearktické skupiny druhů žijících na netopýrech *Cimex pipistrelli* byly z Evropy popsány tři druhy (*C. pipistrelli*, *C. dissimilis*, *C. Stadleri*) (Horváth 1935), které ale pravděpodobně představují pouze jeden druh (Balvín et al. 2013).



Obr. 4: *Cimex pipistrelli* ventrálně
(Balvín, 2018)



Obr. 5: *Cimex pipistrelli* dorzálně
(Balvín, 2018)

4. TRAUMATICKÁ INSEMINACE U ŠTĚNIC

Traumatická inseminace u štěnic je zkoumána již od roku 1897. Celý proces byl poprvé popsán vědci W. S. Pattonem a F. W. Craggem (1913). Díky jejich zkoumání máme objasněný tento netradiční způsob páření mezi štěnicemi (Usinger 1966). Jak uvádí Cragg (1933), každá samice má dva pohlavní orgány. Primární pohlavní orgán je na konci zadečku a sekundární pohlavní orgán je umístěn na pravé straně ventrální polohy v oblasti břicha a jeho poloha je zřejmá jako krátká podélná štěrbina v pátém sternitu (Omori 1939). Primární pohlavní orgán tudíž slouží pouze ke kladení vajíček, zatímco přes sekundární na boční straně dochází k inseminaci (Usinger 1966). Samci nikdy nevkládají kopulační orgán do primárního orgánu samice. Samec přejde k pravé boční straně samice, kde jeho břišní část překrývá část těla samice tak, aby byl na vzdálenost cca své končetiny od sekundárního orgánu a pomocí levé paramery neproniká do genitálního otvoru ale do tzv. Berleseho orgánu. Samice má sekundární kopulační kapsu, orgán Ribaga neboli Berleseho orgán, na břišním stěně, kam samec vstříkne sperma. Spermie pak migrují do vaječnicků, kde procházejí přes hemocoel nebo tělesnou dutinou (Dolling 1991). Hemocoel je primární dutina většiny bezobratlých obsahující také cirkulační kapalinu.

Traumatická inseminace je tedy takový proces, během kterého samec propíchně samici břišní stěnu vnějšími genitáliemi a inseminuje do její tělesné dutiny (Carayon 1966). Ránu po inseminaci hojí tzv. zjizvovací látka, která se vyvíjí v epidermis a přesouvá se na ránu (Reinhardt et al. 2009). Jelikož probíhá proces páření pokaždé skrze tělní dutinu samice, je každý pokus o oplození velice nebezpečný z hlediska života samice (Omori 1939).

Berleseho orgán byl takto nazván po svém objevení (Patton, Cragg, 1913) a je to vlastně kompozitní orgán. Berlese byl vědec, který se dlouhá léta na konci 19. století snažil o pochopení tohoto procesu, avšak neuspěl. Pozorování Pattona a Cragga (1913) vyústilo v popsání procesu vstříknutí spermie přes trubici do Berleseho pouzdra, kde můžeme bezprostředně po kopulaci jedinců sperma vidět pouhým okem. Po opuštění Berleseho orgánu, či pouzdra, přechází sperma přes břišní dutinu, kde se usadí a pomalu putuje k vajíčkům. Tato studie byla zpochybněna Murray (1914) avšak potvrzena ve všech následujících vědeckých publikacích od roku 1915 až po 1924

(Usinger 1966). Mezidruhové páření je pro každou samici velmi nebezpečné, cizí tekutina jí putuje skrze tělní dutinu a v mnoha případech křížení byly zaznamenána uhynutí po inseminaci (Usinger 1966).

5. MEZIDRUHOVÉ PÁŘENÍ MEZI *CIMEX LECTULARIUS* A *CIMEX HEMIPTERUS*

Mezidruhové páření mezi *Cimex lectularius* a *Cimex hemipterus* bylo popsáno v několika studiích. Omori (1939) uvedl, že když byly tyto dva druhy kříženy v laboratoři, tak samice *Cimex lectularius* neprodukovala téměř žádná životaschopná vajíčka a po několika dnech byla většina samic usmrcena následkem tohoto křížení. Omori (1939) uvedl, že to může být důsledkem vzácnosti *Cimex lectularius* v oblastech, které obývá *Cimex hemipterus*. V Indii, Taiwanu a Jihovýchodní Asii se *Cimex lectularius* vůbec nevyskytuje, avšak pro *Cimex hemipterus* je to přirozené prostředí. Předpokládal, že faktory jako teplota a vlhkost budou hrát roli v omezeném kladení *Cimex lectularius* (Omori 1939). Tvzení ohledně nízké až žádné produkce samice *Cimex lectularius* spárené se samcem *Cimex hemipterus* bylo následně potvrzeno Usingerem a laboratorními výsledky Davisova hlášení v jeho výzkumu (Usinger 1966).

Laboratorní kolonie *Cimex hemipterus* a *Cimex lectularius*, které byly použity při výzkumu, byly odebrány z chat na ostrově Tchaj–nan v provincii Tchaj–wan. Výzkum byl prováděn na nakrmených samcích i samicích, jejichž páry byly separovány do zkumavek. Štěnice byly drženy v temné místnosti při teplotě 26 °C a okolní vlhkosti 30–40 %. Jednalo se o opakované křížení skupinek obou druhů, na základě odlišných faktorů (teplota, okolní vlhkost). U mezidruhového páření se samcem *Cimex hemipterus* a samicí *Cimex lectularius* byly všechny samice inseminovány do 4 hodin od začátku křížení. V opačném případě byla zaznamenána výrazná neochota páření, v některých případech až 24 hodin (Walpole 1988).

Hybridi v tomto případě nebyly produkováni, jelikož i přesto, že samice vajíčka kladla, tak byla sterilní (Newberry 1985). Omori se snažil najít výsledek páření těchto druhů. První část pokusu spočívala v držení štěnic v inkubátoru při teplotě 27 °C a relativní vlhkosti 75 %. Tato míra vlhkosti se udržovala v každé části pokusu při páření. Samice byly pravidelně zkoumány a kontrolovány, zda byl přenos spermatu úspěšný.

Během prvních pěti dní bylo nakladeno 40 vajíček, z nichž se vylíhlo 34 nymf. Z těchto nymf dospělo 24 jedinců (8 samic a 16 samců) (Omori 1941). Čtyři samci z těch dospělců byli indentifikováni jako samci druhu *Cimex lectularius* zbývající jedinci byli druhu *Cimex hemipterus* a to 8 samic a 12 samců. Celkový počet dospělých jedinců byl menší než zbylých částí pokusu s jinými kriterii. Druhá část pokusu spočívala v naprosto stejném postupu, ale byla zde vychována i jedna samice *Cimex lectularius*. Třetí část pokusu spočívala ve stejném postupu, přičemž byli samci *Cimex hemipterus* zabiti a na základě toho, se pozorovalo chování samic. Doba ovipozice samic *Cimex lectularius* se mnohonásobně prodloužila, zatímco u samic *Cimex hemipterus* byla doba ovipozice v porovnání s předchozími daty zkrácená. Čtvrtá a pátá část pokusu měly stejný charakter a i výsledky, které se vyznačovaly pouze nepatrnými výkyvy. Šestá a sedmá část probíhala za pokojové teploty 20 °C, kdy samice *Cimex lectularius* kladla ze začátku v průměru o polovinu více vajíček, i když postupem času došla ke sterilitě (Newberry 1984).

Výsledky těchto pokusů byly shrnuty do závěrů, že samice *Cimex lectularius* ve velké většině umírají předčasně, krátce po inseminaci cizím samcem. Počet fertilních vajíček, které samice *Cimex lectularius* kladou, je zpočátku značný, ale ve většině případů brzy klesá, až nakonec nekladou vajíčka vůbec.

Zkrácení délky života samic *Cimex lectularius* a snížení počtu fertilních vajíček probíhá mnohem rychleji při vyšší teplotě odchovu než při nižších teplotách. Samice *Cimex hemipterus* nebyly nijak negativně ovlivněny nebo poškozeny kopulací se samcem *Cimex lectularius*. Životaschopnost ani produkce vajíček samic nebyla ovlivněna.

Z výzkumů Omoriho se vycházelo též v oblasti mezidruhového křížení *Cimex hemipterus* a *Cimex lectularius*, kdy Davisův výzkum umělé inseminace v laboratoři ukázal, že semenná tekutina *Cimex hemipterus* byla pro samice *Cimex lectularius* toxická (Usinger 1966). Jako první si také všiml viditelné jizvy po inseminaci na těle samice a z toho důvodu lze poznat za pomoci binokulární lupy, zdali probíhá mezidruhové křížení. Předpokládá se, že tyto jizvy se skládají z bílkovinových látek způsobených změnou kutikuly (Walpole, Newberry 1988).

Na studii Omoriho navázalo badání jihoafrických výzkumníků v okrese Ingwavuma, KwaZulu. Jejich práce byla zaměřena na infekci *Cimex hemipterus* a *Cimex lectularius* v KwaZulu do lidských obydlí (Newberry 1986). Ministerstvo

zdravotnictví v Jihoafrické republice provádělo rozsáhlé kontrolní operace proti komárům kvůli přenosu malárie. Všechny budovy v ohrožených oblastech byly postříkány 5% DDT nanesenými na vnitřní povrchy stěn a střechy. DDT jakožto organochlorid, neboli 1,1,1-trichlor-2,2-bis (4-chlorfenyl) ethan, je znám jako jeden z nejstarších insekticidů. Mezi lety 1980–1990 si vesničané stěžovali, že postřík DDT má za následek přemnožení štěnic a infekci jejich obydlí. Účinek postříku se poněkud míjel jak vedlejšími účinky silných chemikálií, tak působením slunečního záření, které urychlilo jeho rozklad. Výzkum probíhal vysazením experimentálních druhů mezi hranicí Mocambiru s Jihoafrickou republikou a regiony Nkundusi Mfejaji do chatek obsahujících postřík DDT a do chatek neobsahujících postřík. Bylo zjištěno, že čím více vrstev postříku chata má, tím větší procento štěnic se na ní udrží a rozmnoží (Newberry 1986).

6. CÍLE PRÁCE

Cílem výzkumu je zjistit efekt mezidruhového páření mezi *Cimex lectularius* a *Cimex pipistrelli* na fitness samic. Fitness byla měřena pomocí kvality snůšek a také životaschopnosti zvířat. V minulosti byl v tomto kontextu studován pouze vztah *Cimex lectularius* a *Cimex hemipterus* a to u odvozených linií žijících na člověku. Vztah těchto štěnic byl uměle navozenou situací, jelikož se v přírodě nesetkávají. I přes obměnu různých faktorů (teplota, vlhkost vzduchu, osvětlení) bylo vždy zjištěno, že v rámci mezidruhového páření je pro samice *Cimex lectularius* sperma cizího samce toxické. Téměř všechno potomstvo z této strany bylo sterilní. Kontakt původních linií spjatých s netopýry nelze považovat za pravděpodobný. Adaptivní význam zjištěné toxicity spermatu je tedy nezřejmý. Lze důvodně předpokládat, že mechanismus toxicity spermatu jedním směrem nevznikl přírodním výběrem a že se tedy spíše jedná o náhodu.

Tato studie zkoumá vztah dvou druhů, jejichž populace spjaté s netopýry se v přírodě pravidelně setkávají. Pokud u nich existuje vztah podobný vztahu *C. lectularius* a *C. hemipterus*, je pravděpodobné, že tento vztah vznikl přírodním výběrem a má reálný význam v ekologii těchto dvou druhů. Areály těchto dvou druhů se ve střední Evropě překrývají, a proto se mohou v přírodě setkat. Nejčastějšími hostiteli *Cimex lectularius*

i *Cimex pipistrelli* jsou netopýři štěrbínového druhu – *Pipistrellus* – anebo také *Myotis myotis*. V obecné rovině má tedy tato studie za cíl zjistit potenciál traumatické inseminace pro mezidruhové vztahy štěnic.

7. METODIKA

Metodika této studie vycházela z publikace Omoriho (1939). V jeho výzkumech o křížení *Cimex hemipterus* a *Cimex lectularius* dávali jedince dohromady do skupin bez rozřazení a zkoumali, jaký dopad bude mít koexistence těchto druhů na jejich potomstvo (Omori 1939).

Tento postup jsme v našem výzkumu mezi *Cimex lectularius* a *Cimex pipistrelli* provést nemohli, z důvodu krmení našich druhů na lidské krvi. *Cimex lectularius*, ač šlo o populaci z netopýřů, se na lidské krvi vyvíjí mnohem lépe než *Cimex pipistrelli*. Druh *Cimex pipistrelli* by v tomto designu pokusu byl vždy znevýhodněn. Rozhodli jsme se pro jiný postup, který Omori použil, a to snažit se každou samici separovaně zkřížit jak mezidruhově, tak vnitrodruhově. Výzkum trval šestnáct týdnů s dvěma liniemi *Cimex lectularius* a jednou *Cimex pipistrelli*.

7.1 Sběr štěnic

Pro výzkum bylo nutné na počátku získat dostatečný počet adultních jedinců štěnice *Cimex pipistrelli* i *Cimex lectularius*. Jedinci linie *Cimex pipistrelli* byli nalezeni a poté sesbíráni Mgr. Ondřejem Balvínem, Ph.D. v roce 2014 z kolonie netopýra velkého (*Myotis myotis*). Tato linie byla odebrána z obytného domu z města Dubá, kdy půdu obytného domu obývali netopýři. Od roku 2014 byla tato linie udržována a krmena na lidské krvi, stejně jako zbylé dvě linie druhého druhu. „*Cimex lectularius* – linie Hoštejn“ pochází se sběru Ondřeje Balvína v roce 2016 z obce Hoštejn. Poslední zkoumaná linie rodu „*Cimex lectularius* – linie Hanušovice“ byla odebrána Tomášem Bartoničkou v Hanušovicích v roce 2014. Obě pochází z kolonie netopýra velkého (*Myotis myotis*).

7.2 Podmínky laboratorního chovu

V laboratoři byly kolonie skladovány v klimaboxech o teplotě 27 °C. V klimaboxech byly izolovány v plastových krabicích, v nichž byly v 50ml zkumavkách typu Falcon. Dno každé zkumavky bylo nahrazeno sítkou pro lepší přístup zvířat ke krvi. V plastových krabicích se zkumavkami se nacházel nasycený roztok chloridu sodného, který udržoval stálou vlhkost vzduchu 70 %.

7.3 Podmínky krmení

Pro nakrmení všech třech kolonií, bylo nutno vyrobit sáčky z parafilmu a tyto naplnit krví. Veškerá krev použitá při pokusu ke krmení štěnic byla získána z fakultní nemocnice Brno-Bohunice, jednalo se o komerčně dostupnou lidskou krev. Po naplnění sáčků byla připravena vodní lázeň, která byla naplněna vodou o teplotě 40 °C tak, aby krev v sáčcích dosahovala teploty 37 °C. Hliníková destička, která slouží jako podložka ve vodní lázni, byla přikryta papírovým ubrouskem. Hladkou stranou obyčejné zkumavky byla rozetřena voda po celém povrchu ubrousku tak, aby neměl suchá místa. Papírový ubrousek musí být celý mokrý, aby se parafilm s krví nelepil na povrch hliníkové desky. Po dosažení ideální teploty a následném promíchání krve byly parafilmové sáčky položeny na hliníkovou destičku. Zásobní kolonie byla krmena přes sítku ve zkumavce po dobu 30 minut, kdežto krmení samotných samic trvalo 15 minut. Při každé výměně zkumavky musela být krev v sáčku promíchána, aby se neusazovala.

7.4 Izolace panenských zvířat

Po nakrmení byla provedena izolace jedinců ze zásobních kolonií, ze kterých byly vyjmuty larvy 5. instaru. Po vyjmutí byly larvy uloženy do 96jamkové mikrotitrační destičky. Do každé jamky byl vložen kousek papírku vystřižený pomocí děrovačky. Když se larvy svlékly do dospělce, což trvalo cca jeden týden, byly přeloženy opět do 50ml zkumavek. Odděleny ve zkumavkách byli z každé linie zvlášť samci a zvlášť samice.

7.5 Páření

Samci byli před samotným pářením 2x nakrmeni v týdenním rozestupu a pářili se ve chvíli, kdy byli týden hladoví. Samice byly krmeny také 2x, ale o týden později. K páření byly připuštěny tedy čerstvě nakrmené. Proces páření probíhal v uzavřené místnosti pod čistě červeným světlem, aby zvířata nebyla stresována bílým světlem. První týden probíhalo křížení vnitrodruhové, a to umístěním každé panenské samice do jedné Petriho misky. Aby bylo zabráněno jejich úniku, tak každá manipulace se štěnicemi probíhala v Petriho miskách, jelikož končetiny štěnic nejsou uzpůsobeny k lezení po povrchu skla. Každá miska měla dno pokryto kusem papírku, po kterém se mohly pohodlně pohybovat a pářit se zároveň, a tím se zabránilo tendenci štěnic vylézat z misky. Po rozdělení byl ke každé samici vložen samec téhož druhu. Ve chvíli, kdy každá miska obsahovala štěnice obou pohlaví, bylo nutné zachytit impuls skoku samce na samici. Jakmile samec skočil na samici, bylo sledováno, zdali samec opravdu zasunul zadeček pod zadeček samice, což znamenalo spojení paragenitálií. Od této chvíle, po ujištění spojení, byla stopována 1 minuta, poté byly štěnice odděleny.

Druhý týden probíhalo páření mezidruhové. Již spárené samice z prvního týdne byly rozděleny do dvou skupin, z nichž jedna byla znovu spárena se samcem stejného druhu (kontrolní skupina), kdežto druhá skupina byla spárena mezidruhově.

Kontrolní páření proběhlo připuštěním samce stejného druhu k samici a při ujištění začátku kopulace bylo odpočítáno pouze 5 vteřin, nikoliv jedna minuta. Tímto způsobem bylo zajištěno, aby u kontrolní skupiny nedošlo k přenosu spermatu a tato nebyla zvýhodněna větším množstvím konspicifických gamet a zároveň aby obě skupiny byly stejnoměrně ovlivněny negativním efektem traumatické inseminace jako takové (Reinhardt et al 2009).

U *Cimex lectularius* proběhlo kontrolní páření vždy v rámci linií. Druhá polovina byla spárena mezidruhově, a to stejným způsobem jako v týdnu prvním. Po rozdělení samic do Petriho misek byli přidáni samci druhého druhu. Po rozdělení dvojic do Petriho misek bylo po splnutí samce se samicí opět počítáno do přerušení kopulace 60 sekund.

Inseminace tří samic v druhém týdnu nebyla úspěšná. Tato zvířata byla podruhé individuálně připuštěna v třetím týdnu (po dvou týdnech od prvního páření) a s počty jimi kladených vajíček bylo nakládáno s opatrností.

7.6 Sledování plodnosti

Po úspěšné inseminaci všech panenských samic byla sledována životaschopnost a počet kladených vajíček. Každá samice byla samostatně uložena ve zkumavce s pomocným papírkem, který pro samici představoval pohodlný povrch. Samice tedy kladla vajíčka téměř pouze na něj. Cílem bylo sledovat počet vajíček po celou dobu, po kterou samici stačí sperma z jednoho páření. Doba byla měřena počtem nasátí se. Téměř všechny samice přestaly klást po 12 krmných dávkách, a tehdy byl pokus ukončen. Některé samice nesály každý týden, byly tedy sledovány delší dobu, maximálně však 16 týdnů. Každý týden od inseminace byly tedy nejdříve samice nakrmeny lidskou krví za pomoci vodní lázně. Následně byla každá samice vyjmuta ze své zkumavky měkkou entomologickou pinzetou a pod binokulární lupou byla spočítána nakladená vajíčka. Po spočtení vajíček a zanesení dat do tabulky byla každá zkumavka pečlivě vyčištěna, všechna vajíčka byla usmrcena a samice byla vrácena do čisté zkumavky. Každý týden bylo sledováno několik parametrů: zdali je samice nakrmená či nenakrmená, celkový počet nakladených vajíček a počet sterilních vajíček. Do statistických analýz vstupoval i průměr počtu nakladených vajíček za jedno nasátí a to sečtením nakladených fertlních vajíček a vydělením kolikrát se samice nasála. Pokud se samice totiž nenasaje, není schopna klást vajíčka. Z tohoto důvodu byly počty normalizovány tímto způsobem, nikoli počtem týdnů. Počet nasátí je v měřítku relevantnější než počet týdnů, jelikož ne každý týden se samice nasála a kladení vajíček závisí na množství zkonsumované krve, a nikoli na věku samice. Počet sterilních vajíček byl vyhodnocen v součtu za celou dobu sledování za celých 16 týdnů.

7.7 Vyhodnocení dat

Srovnání dat proběhlo zvlášť u *Cimex pipistrelli* a *Cimex lectularius*. Obě linie *C. lectularius* byly analyzovány společně, linie do analýzy vstupovala jako náhodný

faktor Při zhodnocení výsledků byl použit program Statistica 7 RStudio (StatSoft, Inc. 2007). Pro testování vlivu páření nespécifickým samcem na počet kladených vajících byla použita anova se smíšenými efekty. Tento typ testu je definován kategorickými prediktory. Byly srovnány počty fertálních a sterálních vajících za 5 a 8 týdnů, kdy štěnice sály (hodnoty byly tedy normalizovány počtem sání), a celkové počty vajících za celou dobu pozorování. P hodnota, kterou vygeneruje daný test a vyhodnotí naměřená data, byla zde klíčová. Hodnota p značí pravděpodobnost, na základě které se zamítá nulová hypotéza. V rámci pokusu je tato hypotéza definována jako: „interspecifické páření nemělo vliv na počet vajících samice“. Jakmile je hodnota p menší než 0,05, tak jsou data průkazná a není detekována pravděpodobnost, že by mezidruhové páření mělo vliv na intenzitu snůšek. Hodnota F je hodnota testového kritéria, které porovnává dvojici modelů. Grafy byly vygenerovány z programu RStudio a byl použit tzv. boxplot neboli krabicový graf. Tento typ grafu je definován kvartilovým ohraničením. Horní ohraničení značí, že všechna měření pod čarou se nachází v 75 % a dolní ohraničení značí, že všechny hodnoty nad ní se nachází v 25 %. Každý box má vyznačen medián, který ukazuje 50 % z výsledných hodnot vyznačených kurzívou. Boxy jsou doplněny o maximální a minimální rozmezí hodnot, které značí svislý pruh. Jakmile jsou nad vrchním ohraničením svislého pruhu body, tak je uvedené maximum pouze pravděpodobné a tyto body ukazují hodnoty, které jsou vzdálené od zbytku měření. Body jsou nazvány jako odlehlé a jejich poloha udává 1,58x výšku daného boxu. Všechny fotografie v této práci byly pořízeny Mgr. Ondřejem Balvínem, Ph.D. v červenci 2018.

8. VÝSLEDKY

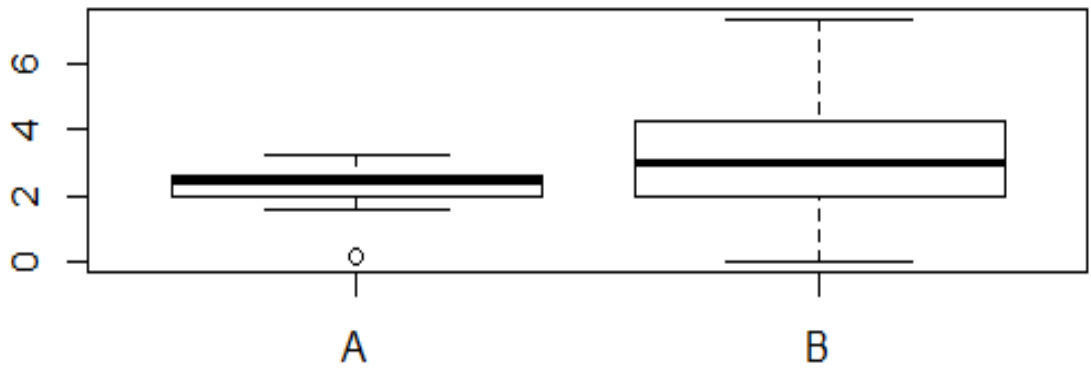
Výsledkem experimentu bylo srovnání počtu fertálních a sterálních vajících mezi samicemi, které byly spáreny pouze vlastním samcem, a samicemi, které se pářily také s cizím samcem.

Srovnání bylo provedeno u průměrů týdenních počtů snesených vajících za 5 týdnů, za 8 týdnů a za celou dobu, po kterou byla samice sledována. Během prvních pěti týdnů kladly spolehlivě téměř všechny samice, dalo se tedy očekávat, že data byla homogenní napříč samicemi. V periodě 8 týdnů již některé samice nekladly, ale dalo

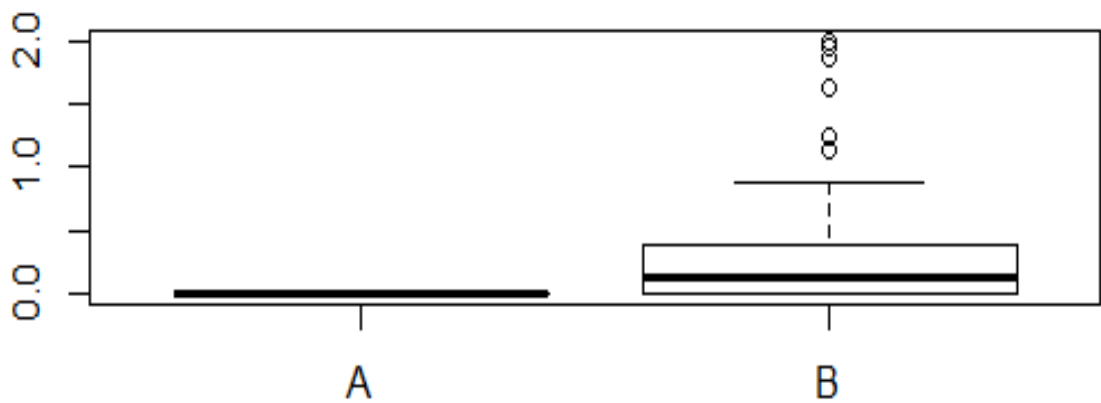
se očekávat, že týdenní průměry počtu vajíček budou přesnější. Poslední srovnání poskytlo informaci, zda interspecifické páření ovlivňuje celkový počet vajíček, který samice naklade po jednom intraspecifickém páření.

Zvolený test pro výsledky z naměřených hodnot byla anova se smíšenými efekty.

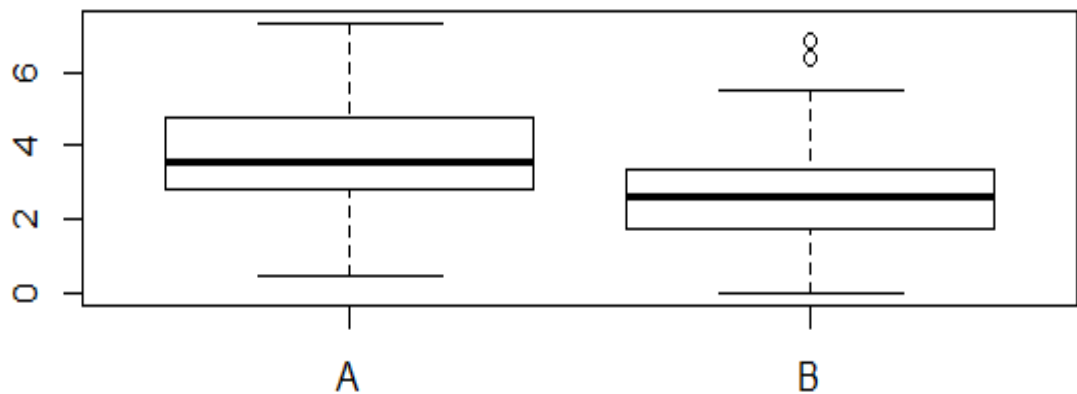
Výsledky všech srovnání počtů vajíček jsou uvedeny v tabulce 2. Vybraná srovnání jsou zpracována také graficky (Obr. 6–9). Přestože lze pozorovat např. menší průměrné počty fertálních vajíček u samic *Cimex lectularius*, případně větší počty sterilních vajíček u samic *Cimex pipistrelli* spářených intraspecificky, žádné z těchto rozdílů nebyly statisticky významné. Tyto testy tedy ukázaly, že jedno páření samice *Cimex pipistrelli* samcem *Cimex lectularius*, respektive páření samice *Cimex lectularius* samcem *Cimex pipistrelli*, nemá na plodnost samic vliv.



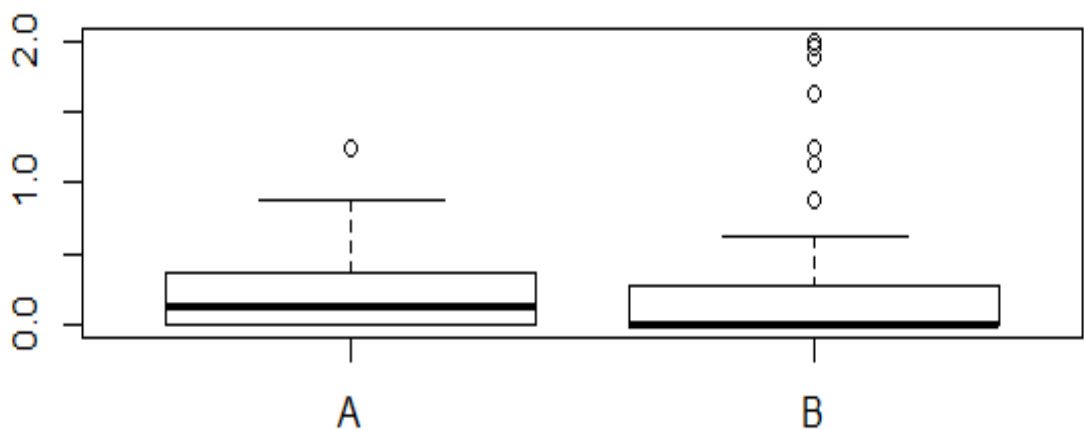
Obr. 6: Srovnání počtů fertálních vajčiek u *Cimex pipistrelli* za osm týdnů, normalizovaných počtem sání. Graf značí samice spárené pouze vlastním samcem (A) a samice, spárené i samcem *C. lectularius* (B). Mezi výslednými hodnotami nebyl statisticky významný rozdíl ($F = 0,000297$; $p = 0,945635$).



Obr. 7: Srovnání sterilních vajčiek u *Cimex pipistrelli* za osm týdnů, normalizovaných počtem sání. Graf značí samice spárené pouze vlastním samcem (A) a samice, spárené i samcem *C. lectularius* (B). Mezi výslednými hodnotami nebyl statisticky významný rozdíl ($F = 2,002584$; $p = 0,166999$).



Obr. 8: Srovnání fertálních vajíček u *Cimex lectularius* za osm týdnů, normalizovaných počtem sání co se týče obou linií – Hanušovice i Hoštejn. Graf značí samice spárené pouze vlastním samcem (A) a samice, spárené i samcem *C. pipistrelli* (B). Mezi výslednými hodnotami nebyl statisticky významný rozdíl ($F = 1,409208$; $p = 0,456154$).



Obr. 9: Srovnání sterilních vajíček u *Cimex lectularius* za osm týdnů, normalizovaných počtem sání, co se týče obou linií – Hanušovice i Hoštejn. Graf značí samice spárené pouze vlastním samcem (A) a samice, spárené i samcem *C. pipistrelli* (B). Mezi výslednými hodnotami nebyl statisticky významný rozdíl ($F = 374,7893$; $p = 0,636344$).

Tabulka 2: Výsledky statistického srovnání (ANOVA s pevnými, resp. smíšenými efekty) v počtu kladených vajíček za a) 5 týdnů, b) 8 týdnů, c) za celou dobu pozorování mezi samicemi *C. lectularius* a *C. pipistrelli* (druhy vyhodnoceny zvlášť) spárenými interspecificky a intraspecificky. (sloupec 4 – faktor „samec“)

Testovaný druh	Vyhodnocená vajíčka	Vyhodnocená doba kladení	Testovaný faktor	F	p
<i>Cimex pipistrelli</i>	fertilní	5 týdnů	samec	0,004726	0,945635
		8 týdnů	samec	0,000297	0,986370
		celkem	samec	0,003323	0,954400
	sterilní	5 týdnů	samec	1,425287	0,241591
		8 týdnů	samec	2,002584	0,166999
		celkem	samec	2,657143	0,113206
<i>Cimex lectularius</i>	fertilní	5 týdnů	samec	3,393208	0,332146
			samičí linie	1,816544	0,406375
			samec*samičí linie	1,012061	0,319068
		8 týdnů	samec	1,409208	0,456154
			samičí linie	0,015677	0,920702
			samec*samičí linie	1,189091	0,280540
		celkem	samec	17,72343	0,531977
			samičí linie	0,38224	0,647482
			samec*samičí linie	0,07635	0,783400
	sterilní	5 týdnů	samec	48,42635	0,159274
			samičí linie	26,00219	0,123282
			samec*samičí linie	0,24547	0,622370
		8 týdnů	samec	374,7893	0,636344
			samičí linie	103,3611	0,062418
			samec*samičí linie	0,0578	0,810917
celkem	samec	61,87934	0,201708		
	samičí linie	44,10322	0,095147		
	samec*samičí linie	0,15666	0,693867		

9. DISKUSE

Již popsané mezidruhové páření v říši ploštic bylo mezi *Cimex lectularius* a *Cimex hemipterus* studované, ale u populací, které jsou odvozené na člověku. Vztah mezi těmito druhy spočívá v tom, že jedním směrem křížení je sperma toxické. To v případě samce *Cimex hemipterus* a samice *Cimex lectularius*. Pokud určité vrozené mechanismy mezi vnímáním druhů navzájem fungují, tak se předpokládá, že byly vyvinuty přírodně evolucí. V již popsané studii však kontakt druhů nevzniklo přirozenou situací, nýbrž nově navozenou, způsobenou člověkem (Usinger 1966). Nedá se předpokládat, že jev, kdy sperma *Cimex hemipterus* bylo pro samici *Cimex lectularius* toxické, byl způsoben přirozeným výběrem. Spíše se jedná o náhodu. Setkání těchto druhů v přírodě je i z důvodu rozdílné ekologie ojedinělé.

V České republice máme dva druhy štěnic spojené s netopýry – *Cimex lectularius* a *Cimex pipistrelli*, které se v koloniích netopýrů reálně setkávají, tudíž je možné, že mezi nimi existuje vztah, který se odráží v přírodě bez zásahu člověka. Pokud by byl vztah mezi našimi štěnicemi stejný, nebo podobný jako u štěnic zkoumaných a popsaných v Africe, tak je možné, že vztah vznikl přírodním výběrem a není to náhoda.

Mezidruhové páření je velmi dlouhý a složitý proces. V již popsaných studiích Omoriho bylo uvedeno, že mnohdy trvalo i 24 hodin, než byli *Cimex hemipterus* a *Cimex lectularius* ochotní se spolu pářit. Během páření pokusných samic *Cimex lectularius* a *Cimex pipistrelli* byla také pozorována značná neochota k mezidruhovému páření. Tato pozorování nebyla vyhodnocena jelikož se pozorovatel především věnoval kontrole doby kopulace. Rozdíly v chování samců i samic mezi vnitrodruhovým a mezidruhovým pářením však byly na první pohled zřejmé. V porovnání s velmi rychlým pářením vnitrodruhově, kde se všechny panenské samice spářily do hodiny, bylo páření mezidruhově několikanásobně delší. Pozorovatel byl nucen samce neustále měnit anebo přidávat více počtů samců na Petriho misku. V případech, kde byla jedna samice anebo více nespářených jedinců ani po hodinách, bylo nutno vytrvat a dokončit práci o týden později. Problém spočíval v neochotě obou pohlaví. Samice si v přítomnosti cizího samce zakrývaly sekundární pohlavní orgán a často se tiskly na kraj misky. Samci nejevili snahu se v přítomnosti samice nijak hýbat.

Tento výzkum je důkazem toho, že pokud se dle výsledků v přírodě tyto dva druhy štěnic setkají, tak to na intenzitu snůšek žádné z nich nebude mít jakýkoliv negativní ani pozitivní dopad. Z naměřených dat grafu (viz Obr. 6) bylo vypočteno, že u druhu *Cimex pipistrelli* není velký výkyv v rámci jejich fertálních vajíček, co se týče vnitrodruhového i mezidruhového páření. Z dat grafu (viz Obr. 7) vyplývá, že samice *Cimex pipistrelli* oplodněny samcem vlastního druhu neprodukovaly téměř žádná sterilní vajíčka po celou dobu výzkumu. Pouze 5 samic z 22 spářených cizím samcem mělo tato vajíčka. Z dat grafu (viz Obr. 9) vyplývá, že samice spářené vlastním samcem produkovaly určitý počet sterilních vajíček, avšak po křížení s druhým druhem neprodukovaly téměř žádná sterilní vajíčka. Na základě těchto výsledků lze říci, že při mezidruhovém páření v přírodě druhu *Cimex lectularius* a *Cimex pipistrelli* nebude nijak ovlivněna intenzita kladení sterilních vajíček. Potenciál traumatické inseminace u mezidruhového páření v rámci těchto dvou štěnic tedy není nijak nebezpečný a neohrožuje plodnost samic. Z neochoty inseminace druhů mezi sebou, která byla upozorována u páření můžeme vyvodit, že i kdyby v přírodě jeden druh převládal, tak frekvence mezidruhového páření bude i tak velice nízká a nebude mít pravděpodobně žádný vliv na plodnost samic. Mohou nastat ale situace, kdy by mezidruhové páření mohlo mít vliv, to například ve stavu, kdy jeden druh v přírodě výrazně převládá a počet samců jednoho je mnohonásobně vyšší než počet samic druhu jiného. Takováto situace by mohla mít za následek to, že jeden druh nepustí do svého teritoria druh druhý.

Z výsledků této studie ve srovnání s výsledky studií Omoriho (1939) mezi *Cimex hemipterus* a *Cimex lectularius* plyne, že při mezidruhovém páření mezi námi zkoumanými druhy není možné pozorovat jakýkoliv efekt. Traumatická inseminace v případě tohoto výzkumu mezi *Cimex lectularius* a *Cimex pipistrelli* nehraje tedy žádnou roli v kompetici. Je možné, že by výsledky výzkumu byly odlišné s jinými ovlivňujícími faktory pokusu (teplota, vlhkost vzduchu a další.) nebo jiným testem pro vyhodnocení dat.

10. ZÁVĚR A PŘÍNOS PRÁCE

Tato studie objasňuje možný vliv střetů druhů *Cimex lectularius* a *Cimex pipistrelli* v přírodě na plodnost samic při mezidruhovém páření. Traumatická inseminace nemá v případě použitých faktorů a metod na druhy žádný negativní ani pozitivní vliv. Při páření nebyla pozorována žádná dominance jednoho druhu nad jiným, ba naopak. Výrazná neochota při mezidruhovém páření značí spíše to, že při střetu v přírodě se druhy tolerují a nijak do sebe nezasahují. Druhy mají tedy tendenci se v přírodě při střetu spíše ignorovat. Jedním z cílů studie bylo zjistit efekt mezidruhového páření i na životaschopnost samic, avšak tento efekt nebylo možné kvůli nečekané délce zkoumání plodnosti pozorovat.

11. PŘEHLED LITERATURY A POUŽITÝCH ZDROJŮ

AAK A., Rukke B.A., Soleng A., Rosnes M.K., 2014: Questing activity in bed bug populations: male and female responses to host signals.

Anderson J.F., Ferrandino F.J., McKnight S., Nolen J., Miller J., 2009: A carbon dioxide, heat and chemical lure trap for the bedbug, *Cimex lectularius*.

Bai X., Praveen M., Swapna P.R., Jones S.C., Mittapalli O., 2011: Transcriptomics of the Bed Bug (*Cimex lectularius*).

Balvín O., Bartonička T., 2014: *Cimicids* and bat hosts in the Czech and Slovak Republics: ecology and distribution. *Vespertilio* 17: 23–36.

Balvín O., Vilímová J., Kratochvíl L., 2013: Batbugs (*Cimex pipistrelli* group, *Heteroptera: Cimicidae*) are morphologically, but not genetically differentiated among

bat hosts. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*: 51 (4): 287–295.

Balvín O., Ševčík M., Jahelková H., Bartonička T., Orlova M., Vilímová J., 2012: Transport of bugs of the genus *Cimex* (Heteroptera: Cimicidae) by bats in western Palearctic. *Vespertilio*, 16, 43–54.

Balvín O., 2013: Fylogeografie a ekologie štěnic rodu *Cimex* (Heteroptera: Cimicidae) v Evropě; evoluce taxonů a hostitelské specializace.

Balvín O., 2008: Štěnice naší fauny – nejen lidskou krví jsou živy. *Živa* 56 (6): 274–276.

Benoit J. B., 2011: Stress Tolerance of Bed Bugs: A review of factors that cause trauma to *Cimex lectularius* and *C. hemipterus*. 2 (2): 151–172

Brouqui P., Delaunay P., Blanc V., Del Giudice P., Levy-Bancheton A., Chosidow O., Marty P., 2011: Bedbugs and infectious diseases. *Clin. Infect.*

Buckland P.C., Panagiotakopulu E., 1999: *Cimex lectularius* L., the common bed bug from Pharaonic Egypt. *Antiquity*, 73, 908–911.

Carayon, J., 1966: Traumatic insemination and the paragenital system. In monograph of Cimicidae (ed, Usinger R., L.)

Delaunay P., Marty P., Michel G., Berenger J., Akhoundi M., Cannet A., 2015: A review of data laboratory colonies of bed bugs (Cimicidae), an insect of emerging medical relevance.

Foutain T., Duvaux L., Horsburgh G., Reinhardt K., Butlin R.G., 2014: Human-facilitated metapopulation dynamics in an emerging pest species, *Cimex lectularius*.

Hotzy C., Arnqvist G., 2009: Sperm competition favors harmful males in seed beetles. *Curr Biol* 19: 404–407.

Hotzy C., Polak M., Ronn J.L., Arnqvist A., 2012: Phenotypic engineering unveils the function of genital morphology. *Curr Biol* 22: 2258–2261.

Johnson C.G., 1941: The ecology of the bed bug, *Cimex lectularius* L., In Britain: Report on Research, 41 (4): 345–361.

Juříčková L., 2006: Zoologické krásy Jadranu Mnohovětevní — příbuzní našich ploštěnek, 121–127.

Lamarck, J.-B. M., 1816: Histoire naturelle des animaux sans vertèbres. Tome second. Paris: Verdière, 568 pp.

Linnaeus, C., 1758: Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis, Editio decima reformata.

Mazánek L., Urbancová J., 2005: Štěnice v České republice. Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie. SZÚ Praha 15: 46–50.

Murray C.H., 1914: Notes on the anatomy of the bed bug (*Acanthia*) *lectularia* L. *Parasitology*. 278–321

Negherbon W.O., 1959: Handbook of toxicology. A Compendium. Volume III: insecticides.

Newberry K. and Jansen E.J., 1985: The common bedbug *Cimex lectularius* in Africa huts.

Newberry K. and Mchunu Z.M., 1984: Changes in the relative frequency of occurrence of infestations of two sympatric species of bedbug in northern Natal and KwaZulu, South Africa.

Newberry K., Jansen E.J. and Thibaud G.R., 1986: The occurrence of the bedbugs *Cimex hemipterus* and *Cimex lectularius* in northern Natal and KwaZulu, South Africa.

Newberry K., 1989: The effects on domestic infestations of *Cimex lectularius* bedbugs of interspecific mating with *Cimex hemipterus*.

Olson J.F., Moon R.D., Kells S.A., 2008: Off-host aggregation behavior and sensory basis of arrestment by *Cimex lectularius* (Heteroptera: Cimicidae).

Olson J.F., Vers L.M., Moon R.D., Kells A.A., 2017: Two compounds in bed bug feces are sufficient to elicit off-host aggregation by bed bugs, *Cimex lectularius*.

Omori N., 1941: Comparative studies on the ecology and aphysiology of common and tropical bedbugs, with special reference to the reactions to temperature and moisture.

Omori N., 1939: Experimental studies on the cohabitation and crossing of two species of bedbugs, *Cimex lectularius* L. and *Cimex hemipterus* (F.), and on the effects of interchanging males of one species for the other, every alternate day, upon the fecundity and longevity of females of each species. Acta Jpn. 1: 127–154.

Patton W.S. and Cragg F.W., 1913: A textbook of medical entomology.

Peinert M., Wipfler B., Jetschke G., Kleinteich T., Gorb S.N., Beutel R.G., Pohl H., 2016: Traumatic insemination and female counter – adaptation in *Strepsiptera* (Insecta).

Polanco A.M., Brewster C.C., Miller D.M., 2011: Population growth potential of the bed bug, *Cimex lectularius* L.: A life table analysis.

Polanco A.M., Miller D.M., Brewster C.C., 2011: Survivorship During Starvation for *Cimex lectularius* L.

Povolný D., 1957: Kritická studie o štěnicovitých (Het. Cimicidae) v Československu. Zoologické listy 6. 59–80.

Reinhardt K., Siva-Jothy M.T., Naylor R.A., 2009: Ejaculate components delay reproductive senescence while elevating female reproductive rate in an insect.

Reinhardt K., Siva-Jothy M.T., 2006: Biology of the Bed Bugs (Cimicidae).

Reinhardt, K., Anthes, N., Lange, R., 2015: Copulatory wounding and traumatic insemination. Cold Spring Harb. Perspect. Biol.

Růžičková L., 2012: Štěnice *Cimex pipistrelli* – její hostitelská specifita a rychlost rekolonizace netopýřích úkrytů. Masarykova univerzita, přírodovědecká fakulta, Brno. 82 s. (diplomová práce). „nepublikováno“. Dep. Masarykova univerzita v Brně.

Ryckman E.R., Bentley G.D., Archbold F.E., 1981: The Cimicidae of the American and oceanic islands. A checklist and bibliography. Society for Vector Ecology, Santa Ana, California. P 142

Řezáč M., 2009: *Harpactea sadistica*: co-evolution of traumatic insemination and complex female genital morphology in spiders.

Siljander E., Penman D., Harlan H., Gries G., 2007: Evidence for male- and juvenile-specific contact pheromones of the common bed bug *Cimex lectularius*.

Siljander E., Gries R., Gries G., Khaskin G., 2008: Identification of the Airborne Aggregation Pheromone of the Common Bed Bug, *Cimex lectularius*. In Journal of Chemical Ecology 34(6): 708–18.

Schuh R.T., Weirauch C., Wheeler W.C., 2009: Phylogenetic relationships within the Cimicomorpha (Hemiptera: Heteroptera): a total-evidence analysis. Systematic Entomology, 34, 15–48

StatSoft, Inc., 2007: Data analysis software system, version 8.0.

Strand M. A., 1977: Pathogens of cimicidae (bedbugs). *Bulletin of the World Health Organization*, 55, ((Suppl. 1)), pp. 313–318.

Usinger R.L., 1966: Monograph of *Cimicidae* (Hemiptera – Heteroptera), Entomological Society of America.

Walpole D.E., 1988: Cross-mating studies between two species of bedbugs (Hemiptera: Cimicidae) with a description of a marker of interspecific mating. South Africa.

Walpole D.E., Newberry K., 1988: A field study mating between two species of bedbug in northern KwaZulu, South Africa.

Yong E., 2009: Traumatic insemination – male spider pierces female’s underside with needle-sharp penis.