

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta životního prostředí

**Diferenciace semiochemikálií mezi liniemi
štěnice domácí (*Cimex lectularius*)**

Diplomová práce

Autor: **Bc. Kateřina Pilařová**

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

2016



Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Autorka práce:	Kateřina Pilařová
Studijní program:	Environmentální vědy
Obor:	Aplikovaná ekologie
Vedoucí práce:	Mgr. Ondřej Balvín, Ph.D.
Garantující pracoviště:	Katedra ekologie
Název práce:	Diferenciace semiochemikálií mezi liniemi štěnice domácí (<i>Cimex lectularius</i>)
Název anglicky:	Differentiation of semiochemicals among lineages of the bed bug (<i>Cimex lectularius</i>)
Cíle práce:	Cílem práce je testovat diferenciaci agregčních semiochemikálií štěnice domácí a určit její roli v kontextu možných reprodukčních bariér. Štěnice v současné době tvoří dvě dlouhodobě nezávislé, ale ve střední Evropě sympatrické hostitelské linie: původní linie na netopýrech, nyní žijící v lidských stavbách hlavně na netopýru velkém (<i>Myotis myotis</i>), a odvozená linie na člověku. Navíc byly pozorovány náznaky, že štěnice z nezávislých infestací bytů v rámci jednoho domu se spolu nepáří, pokud se dostanou do kontaktu. Diferenciace pachů bude testována prostřednictvím odpovědí štěnic na refugia označená pachem cizí populace stejné hostitelské linie (člověk a netopýr) a populace z druhé hostitelské linie.
Metodika:	Metodika práce vychází z metodiky již publikovaných behaviorálních testů (Olson et al. 2008 <i>J. Insect Phys.</i> 55: 580-587). Skupina deseti samců nebo samic je po nakrmení držena v Petriho misce vybavené papírovým úkrytem. Takto značený úkryt je pak spolu s úkrytem značeným štěnicemi druhé hostitelské linie nabídnut jednotlivě štěnic z jedné z linií. Během skotofáze jsou štěnice aktivní a arénu prozkoumávají. Na začátku fotofáze, poté, co se štěnice ukryje, je vyhodnocena preference pro úkryty značené vlastním či cizím pachem.
Doporučený rozsah práce:	35 stran
Klíčová slova:	štěnice domácí, semiochemikálie
Doporučené zdroje informací:	nežadáno
Předběžný termín obhajoby:	2015/16 LS - FŽP

Elektronicky schváleno: 16. 3. 2016
prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.
Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno: 16. 3. 2016
prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.
Děkan

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Ondřeje Balvína, Ph.D., a že jsem uvedla všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpala.

V Praze 18. 4. 2016

.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu práce Mgr. Ondřeji Balvínovi, Ph.D. za odborné vedení práce a veškerou pomoc s jejím zpracováním a také Ing. Janě Svobodové, Ph.D. za veškerou její ochotu a pomoc.

V Praze 18. 4. 2016

.....

Diferenciace semiochemikálií mezi liniemi štěnice domácí (*Cimex lectularius*)

Abstrakt

Linie štěnice domácí *Cimex lectularius* asociované s netopýry a lidmi se od sebe oddělily před několika desítkami až stovkami tisíc let. V současné době jsou geneticky izolované a existuje mezi nimi určitá míra postkopulační reprodukční bariéry. Tato práce testuje možné mechanismy prekopulační izolace. Pomocí pokusů s arénami (čtyři úkryty, dva neoznačené, jeden označený pachem specifické linie a druhý označený pachem nespecifické linie štěnice; do arény byl vždy vpuštěn jeden samec) byla zkoumána odlišnost semiochemikálií. Pro pokus bylo použito šest chovů (tři z netopýří linie a tři z lidské linie), jež měly původ v různých místech v rámci České republiky.

Differentiation of semiochemicals among lineages of the bed bug (*Cimex lectularius*)

Abstract

Lineages of the common bedbug *Cimex lectularius* associated with bats and humans separated from each other tens or hundreds of thousands years ago. Currently, they are genetically isolated and some degree of postcopulatory reproduction barrier has been shown. This thesis aims to test the possible mechanisms of precopulatory isolation. Possible differences of semiochemicals between the host lineages were examined by experiments in arenas (four shelters, two unconditioned, one conditioned by scent of specific lineage and one by scent of non-specific lineage, put together in one arena, to which one bedbug male was introduced every time). For the experiment, six breeds (three from bat lineage and three from human lineage) which originated from different parts of Czech Republic were used.

Klíčová slova

Štěnice domácí, semiochemikálie, feromony.

Key words

Common bedbug, semiochemicals, pheromone.

Obsah

1	Úvod.....	7
1.1	Štěnice domácí a její příbuzenstvo	7
1.2	Biologie <i>C. lectularius</i>	7
1.3	<i>C. lectularius</i> a člověk.....	9
1.4	<i>C. lectularius</i> a netopýři	11
1.5	Alternativní hostitelé	11
1.6	Vztah mezi lidskou a netopýří linií	12
1.7	Pachová komunikace <i>C. lectularius</i>	14
2	Cíle.....	17
3	Metodika	18
4	Výsledky	21
5	Diskuze	25
6	Závěr	29
7	Zdroje:.....	30
7.1	Použité programy	41

1 Úvod

1.1 Štěnice domácí a její příbuzenstvo

Štěnice domácí (*Cimex lectularius* Linnaeus, 1758) patří do čeledi *Cimicidae* (Usinger 1966), která čítá 110 popsaných druhů řazených do 24 rodů (Henry 2009). Druhy z čeledi *Cimicidae* patří mezi ektoparazity (Usinger 1966), živí se krví netopýrů, kteří jsou pravděpodobně jejich původními hostiteli (Horváth 1913), dále pak krví člověka (na lidech se běžně krmí pouze specializované populace tří netopýřích druhů: *Cimex lectularius*, *Cimex hemipterus* (Fabricius, 1803) a *Leptocimex bouetti* (Brumpt, 1910) (Mellanby 1935)) a ptáků (Usinger 1966).

Druhy z čeledi *Cimicidae* mají poměrně úzký výběr hostitelů (Ryckman et al. 1981). Využívají pouze takové živočichy, kteří mají předvídatelný časový a prostorový výskyt, což je důležité vzhledem k tomu, že se do kontaktu s tělem hostitele dostávají pouze v době krmení. Krev sají především v době, kdy hostitel spí, čímž se snaží předcházet odhalení. Štěnice žijí skrytě ve štěrbinách s nízkou intenzitou světla, zde také kálejí a kladou vajíčka. V těchto úkrytech žijí štěnice obou pohlaví a všech vývojových stádií (Usinger 1966), jen samice bývají často nalézány odděleně (Pinto et al. 2007). Samice se takto vyhýbají nadměrné frekvenci páření, které probíhá traumaticky a je proto pro samice zraňující (Stutt a Siva-Jothy 2001). Při absenci hlavního hostitele jsou některé druhy štěnic schopny přejít na náhradního (Ryckman et al. 1981; Overal a Wingate 1976; Southwood 1954; Hase 1938).

U člověka se štěnice při krmení soustřeďují na odhalená místa, tedy především na nohy, ruce a záda (Boase 2001; Huntley 1999), u netopýrů na neochlupená místa, jako jsou křídla, nohy a penis (Walter 2004; Overal a Wingate 1976) a u ptáků na okolí očí a neopeřené části nohou (Ueshima 1968).

1.2 Biologie *C. lectularius*

C. lectularius je bezkřídlá, červenohnědá (mladí jedinci nažloutlí, lehce průhlední), s tělem oválného tvaru, v dospělosti dorůstá velikosti 4 až 7 mm, samice bývá o něco větší než samec (Goddard a deShazo 2009; Pritchard a Hwang 2009; Usinger 1966).

Krev může přijímat díky bodavě savému ústní ústrojí tvořenému styletovitým párem maxil a mandibul (Schuh a Slater 1995). Má paurometabolní vývoj s pěti larválními instary (Reinhardt a Siva-Jothy 2007), přičemž v každém stádiu se potřebuje minimálně jednou nakrmit, aby se mohla vyvinout v další. Životní cyklus od vajíčka k dospělci trvá přibližně 5 až 8 týdnů, důležitá je přitom teplota a vlhkost (Kolb et al. 2009; Krinsky 2002; Usinger 1966).

Hostitele štěnice detekují na vzdálenost kolem 1,5 metru (Marx 1955) podle teploty a produkce CO₂. Ze svého úkrytu při hledání hostitele někdy putují až 6 metrů (Kolb et al. 2009). Aktivují převážně v noci (Krinsky 2002; Usinger 1966). Krmí se jednou za 3 až 5 dní. Než se štěnice nasají, trvá to přibližně 4 – 20 minut (Kolb et al. 2009; Usinger 1966), přičemž zvětší svoji váhu dvakrát až třikrát (Goddard a deShazo 2009; Johnson 1941). Bez dalšího přísunu krve mohou vydržet několik měsíců až rok (Usinger 1966). Životaschopné jsou při teplotách do 45 °C (Kolb et al. 2009; Krinsky 2002), při vystavení vyšším teplotám po dobu delší než 1 hodinu hynou všechna vývojová stadia štěnic (Johnson 1941), stejně tak je zahubí expozice chladu o - 17 °C po dobu 2 hodin (Naylor a Boase 2010).

Do 36 hodin po nakrmení je možno zaznamenat zvýšenou aktivitu páření. To u štěnice probíhá v podobě traumatické inseminace, kdy samci prorazí vnější část paragenitálního systému (sekundární genitální systém štěnic) a injikují sperma do nasáté samice (Stutt a Siva-Jothy 2001; Schuh a Slater 1995; Usinger 1966). Jedna samice se po nakrmení spáří přibližně s pěti samečky, první samec použije více ejakulátu, ale dosahuje nižší paternity, neboť priorita je dávána poslednímu přijatému spermatu (Stutt a Siva-Jothy 2001). Traumatické páření je pro samici zraňující a způsobuje zkrácení života (Wattal a Kalra 1961), někdy i smrt (Mellanby 1939). Při páření tedy dochází ke konfliktu mezi zájmy samic a samců (Stutt a Siva-Jothy 2001). Sperma vydrží v samici 35 až 60 dní, poté samice přestanou klást plodná vajíčka (Usinger 1966; Khalifa 1952; Mellanby 1939). Produkce vajíček se také zastaví, pokud se štěnice nenakrmí (Davis 1956). Samice běžně klade 2-4 vajíčka denně (Kolb et al. 2009), ta jsou bílé barvy asi 1mm dlouhá (Usinger 1966). Larvy se líhnou přibližně po 6 až 10 dnech (Kolb et al. 2009).

Štěnice tráví většinu času ve stavu nehybnosti ve svém úkrytu, což je spojováno s tigmotaxí, tedy pokud jsou v kontaktu s nějakým přilehlým povrchem, jako je stěna

domu, tělo jiné štěnice, a kontaktní receptory jsou dostatečně stimulovány, pak zůstanou štěnice v klidu, dokud se neobjeví jiný podmět, který přiměje štěnice k pohybu. Někdy mohou zůstat nehnuté v úkrytu až několik týdnů. Aktivita štěnic se odvíjí v závislosti na vlhkosti, teplotě, pohybu vzduchu a světelných podmínkách (Johnson 1941).

1.3 *C. lectularius* a člověk

Druh *C. lectularius* začal své soužití s lidmi již v dobách, kdy lidé obývali společné jeskyně s netopýry a následně se vyvíjel paralelně s evolucí člověka (Usinger 1966). Jsou známy fosilní záznamy starší 3500 let (Panagiotakopulu a Buckland 1999). Soužití štěnice s lidmi je známo napříč historií ve spisech starověkého Řecka (400 př. n. l.), Říma (77 n. l.), v židovských a křesťanských dokumentech, dále z Číny (600 n. l.), Německa (1000 n. l.), Francie (1200 n. l.) a dále pak roku 1583 z Anglie (Kolb et al. 2009; Usinger 1966; Kemper 1936), odkud štěnici kolonizátoři pravděpodobně rozšířili do Ameriky (Potter 2008).

C. lectularius se v některých městech Evropy a Ameriky začala hojně šířit do dalších domácností počátkem 20. století například díky zavedení centrálního topení a v roce 1930 se stala v chudších a přelidněných místech zcela běžnou (Usinger 1966). Pro jejich hubení se začaly používat různé syntetické insekticidy, nejvýznamnější bylo kolem roku 1940 zavedení DDT, díky jemuž plošnému nasazení štěnice domácí v rozvinutých zemích prakticky vymizela (Krueger 2000). Ovšem v posledních 15 letech se začala opět vyskytovat napříč Evropou (Francie (Delaunay et al. 2009), Německo (Liebold et al. 2003), Itálie (Masetti a Bruschi 2007)), Severní Amerikou (Kanada (Hwang et al. 2005), USA (Krueger 2000)), Austrálií (Doggett et al. 2004), v některých částech Afriky (Boase 2001) a Asie (Korea (Lee et al. 2008)). Štěnice se objevují se na různých místech, ať už to jsou jednotlivé domy, byty, nebo hotely, ubytovny, zdravotní střediska, dopravní prostředky, prádelny a divadla (Hwang et al. 2005). *C. lectularius* se vyskytuje mezi všemi sociálními třídami (Pinto et al. 2007). Šíření štěnice domácí světlem má mnoho příčin, jako jsou: a) současná generace tohoto škůdce nerozpozná, díky čemuž ho včas neodhalí a dává mu tak příležitost se šířit (Reinhardt et al. 2008), b) neustálé předávání použitých věcí, na nichž mohou být dospělí jedinci, larvy nebo vajíčka (Pinto et al. 2007; Reinhardt a Siva-Jothy

2007), c) změna používání insekticidů, především zákaz DDT a také vývin resistance štěnic na některé z látek běžně užívaných k jejich hubení (Pinto et al. 2007; Romero et al. 2007). V současné době je jejich rozšiřování spojováno i s vyšší mírou cestování lidí, kdy si člověk z cesty ve svém kufru nebo na oblečení přiveze také štěnice (Harlan 2006), které byly původně schované například v hotelu v rámu obrazu, dírách ve zdi, za plakátem či v nábytku (Kolb et al. 2009). Přestože se většinou stěhují spíše pasivně (s hostitelem), mohou se rozšiřovat mezi pokoji či byty i aktivně (Wang et al. 2010).

Štěnice sají krev především v noci, kdy hostitel spí. Štěnice probodnou kůži a vpustí do těla hostitele antikoagulanty (Reinhardt a Siva-Jothy 2007), tedy látky snižující srážlivost krve (Ecker a Gross 1929). Sliny štěnic obsahují anestetikum, díky čemuž je kousnutí bezbolestné (Reinhardt a Siva-Jothy 2007). Vlivem látek, které pronikají do rány při kousnutí, může nastat hostiteli kožní reakce (Thomas et al. 2004; Ryckman et al. 1981), tedy tvoří se kožní léze (svědivé červené makulopapuly), ty se často objevují v přímkách (Thomas et al. 2004). Tato reakce nenastává u všech hostitelů a u některých se při opakovaném kousnutí snižuje její intenzita (Usinger 1966).

Štěnice, jakožto běžní ektoparazitě člověka, se staly předmětem zájmu vědců, kteří zkoumali jejich možné následky na lidské zdraví. Štěnice mohou například způsobovat spánkový deficit, nedostatek železa (Benoit et al. 2007) a v jejich slinách, výkalech, trávicím traktu a na povrchu těla bylo zjištěno více než 40 patogenů, tedy bakterií, plísní a virů (Delaunay et al. 2011).

Žloutenka typu B byla detekována ve štěnici až 6 týdnů po kousnutí nakaženého hostitele, avšak její přenos na dalšího hostitele nebyl při pokusech na šimpanzích prokázán (Jupp a McElligott 1979; Jupp et al. 1978). Detekován byl také virus HIV avšak pouze hodinu po nakrmení a jeho přenos na hostitele (Lyons et al. 1986), ani přítomnost ve výkalech nebyla prokázána (Goddard a deShazo 2009). Salazar et al. (2014) publikoval článek, ve kterém zkoumá přenos prvoků *Trypanosoma cruzi*, kteří způsobují onemocnění zvané americká trypanosomóza, nebo také chagasova choroba (Rassi et al. 2012), z myši na štěnice a naopak. Salazar et al. (2014) ujistil, že přenos je možný v obou směrech a uvádí, že štěnice mají velký potenciál přenášet chorobu přes výkaly. Zda se štěnice stanou epidemiologicky významným faktorem,

ještě není jasné, avšak mají větší teoretický potenciál přenosu *T. cruzi* (založeno na době, za kterou kálí po nakrmení a na defekačním indexu) než *Rhodnius prolixus* ale menší potenciál než *Triatoma infestans*. Přenos byl ovšem zjištěný, stejně jako u některých jiných nemocí, pouze v laboratorních podmínkách. (Salazar et al. 2014). Reálný přenos mezi lidmi nebyl dosud prokázán u žádné nemoci, nicméně zda štěnice přenášejí některé další, zatím nezkoumané patogeny, nelze vyloučit (Adelman 2013).

1.4 *C. lectularius* a netopýři

Cimicidae jsou významným ektoparazitem netopýřů i díky své schopnosti přežít po dlouhou dobu bez přítomnosti hostitele (Usinger 1966). Přibližně dvě třetiny druhů z čeledi Cimicidae využívají právě netopýry jako své hlavní hostitele (Ryckman et al. 1981). Schopnosti dlouho přežít bez potravy pomáhá štěnicím v mírném klimatickém pásmu přečkávat dlouhá zimní období, kdy jsou jejich hostitelé (netopýři) ve svých zimovištích (Povolný 1957). Po návratu netopýřů do letních kolonií se štěnice, díky svému rychlému vývoji a množství kladených vajíček, opět rychle množí a zvyšují své počty (Davis 1965). Hustota obsazení netopýřích úkrytů ektoparazity může ovlivnit reprodukční cyklus netopýřů (Christe et al. 2000). Netopýři někdy mění své úkryty, aby se vyhnuli zvyšující invazi ektoparazitů (Bartonička a Gaisler 2007). Střídání úkrytů může probíhat několikrát za sezónu, nebo i každých pár dnů (Rancourt 2005). Některé oplodněné samice opouštějí úkryt před porodem a vracejí se až s mládětem (Bartonička a Gaisler 2007). Štěnice mohou snížit hnízdní úspěšnost svého hostitele (Richner et al. 1993). *C. lectularius* byla nalezena na 10 druzích netopýřů, ale za jejího hlavního hostitele, minimálně ve střední Evropě, se považuje netopýr velký - *Myotis myotis* (Povolný 1957).

1.5 Alternativní hostitelé

Přestože *C. lectularius* parazituje především na člověku a netopýrech, jsou v době nedostupnosti jejich hlavního hostitele schopné využít i alternativní teplokrevné hostitele, kteří se vyskytují v dostupné vzdálenosti od jejich úkrytu. Těmito alternativními hostiteli mohou být především myši, domácí drůbež, morčata, králíci,

vlaštovky a vrabci (Elton 1943; Johnson 1937; Kemper 1936).

V laboratorních podmínkách se štěnice poměrně dobře vyvíjejí na domácích zvířatech, avšak je jen málo záznamů, které by ukazovaly na vytváření větších populací štěnic na těchto zvířatech v přirozeném prostředí (Johnson 1941). Výběr náhradního hostitele může záviset na: a) nutriční hodnotě krve, b) vztahu mezi hostitelem a parazitem v přirozeném prostředí (Johnson 1937). V laboratorních podmínkách, kdy Johnson (1941) testoval rozdíly podle hostitele (štěnice byly krmeny na živých hostitelích: lidé, myši, domácí drůbež), bylo zjištěno, že nejatraktivnější je pro štěnici krev z myši (štěnice z nich pily častěji a větší množství), po krvi z myši také rostly rychleji, lépe přežívaly a mírně se zvyšovala plodnost oproti štěnicím krmeným na krvi drůbeží nebo lidské. Štěnice krmené lidskou krví dokázaly přežít déle hladové (Johnson 1941). Johnson (1941) považuje, pro úspěšný vývoj populací štěnic v přirozeném prostředí, za důležitější jejich chování v přítomnosti hostitele, než nutriční hodnotu krve. Při pokusech s krmením na myších bylo mnoho štěnic svými hostiteli snědno, zvláště pokud byla v chovu pouze jedna dospělá myš (při použití prvních larválních instarů se žádná štěnice nedožila dospělosti). Pokud byl v chovu myší pár, nebo pouze několik dnů staré mládě, přežilo do dospělosti více jedinců štěnice, pravděpodobně proto, že jich bylo méně snědno (Johnson 1941).

1.6 Vztah mezi lidskou a netopyří linií

Případy, kdy různé populace jednoho druhu parazita preferují různé hostitele, jsou velmi často spojovány se sympatrickou speciací (Via 2001). Potřeba adaptace na jednotlivé hostitele vede ke vzniku hostitelských ras, které jsou definovány rozdílnou a stabilní hostitelskou preferencí, specifickou preferencí reprodukčního partnera a v důsledku omezeným vzájemným tokem genů (Dres a Mallet 2002). Přestože určitá míra toku genů může přispět k vývoji a udržení lokálních adaptací (Gandon a Michalakis 2002), může dojít až k úplné reprodukční izolaci a vzniku nového druhu (Bush 1969).

C. lectularius pravděpodobně přešla na člověka, když sdílel jeskyně společně s netopyří (Horváth 1913), což se podle předpokladů, založených na studiu

mitochondriální DNA, stalo před několika desítkami až stovkami tisíc let (Balvín et al. 2012). Existuje také teorie, že *C. lectularius*, využívající lidské hostitele, pochází z *C. columbarius* parazitujících na holubech a až z člověka přešla na netopýra (Weidner 1958). Balvín et al. (2012) to ale považuje za méně pravděpodobné.

V Evropě se štěnice často nacházejí v netopýřích koloniích sídlících v budovách (Simov et al. 2006), kde se mohou vyskytovat zároveň s těmi živíci se na člověku, avšak většinou zůstávají věrni svému hostiteli (Booth et al. 2015). Pokud jsou štěnice krmeny na svém nepůvodním hostiteli, tak mají vyšší mortalitu (Wawrocka a Bartonička 2013). Nejenže populace žijící na člověku a na netopýrech využívají různé hostitele, ale byly mezi nimi zjištěny morfologické rozdíly (Balvín et al. 2012). Zatím se ale nedá hovořit o samostatných druzích, neboť jsou schopny produkovat životaschopné hybridy (Usinger 1966), i když zřejmě ne za všech podmínek a mezi všemi populacemi (Wawrocka et al. 2015).

Štěnice žijící na netopýrech jsou větší, s delším ochlupením. Oproti tomu ty, které žijí na lidech, mají relativně k tělu delší a užší stehna a holeně (Balvín et al. 2012). Dlouhé nohy mohou pomoci při útěku v případě, že je štěnice člověkem detekována (Usinger 1966). Naopak krátké silné nohy by mohly pomoci k udržení se na netopýřím těle, pokud se nechávají přenášet z jednoho hnízdiště na druhé. Takovou sílu v nohách ale štěnice lidská, která se stěhuje v zavazadlech či oblečení, nepotřebuje (Balvín et al. 2012).

Při testování genetiky štěnice domácí byly zjištěny rozdíly mezi liniemi podle hostitele (Booth et al. 2015). Balvín et al. (2012) zjistil 20 různých mitochondriálních haplotypů pro *C. lectularius*, přičemž 14 jich bylo u linie na netopýrech a 7 u linie na lidech a pouze 1 (h2) měly společný. Pozdější studie Booth et al. (2015) ukázala pro štěnici na netopýrech 15 haplotypů a pro lidskou linii 11 a zároveň také objevila další společný haplotyp mimo h2, haplotyp h25, který je od h2 rozdílný jen o jeden nukleotid. Vliv geografické izolace na genetickou diferenciaci linií byl vyloučen, neboť sběr vzorků obou linií se geograficky překrýval. Rozdíly v genetické diversitě jsou asociovány se specializací na rozdílného hostitele (Balvín et al. 2012). Výsledky na základě mtDNA v práci Balvín et al. (2012) ukazují, že linie se diferenciovaly před několika desítkami až stovkami tisíc let, ale teprve na základě mikrosatelitů (Booth et al. 2015) bylo možné říct, že recentně nejsou v kontaktu.

Obě linie *C. lectularius*, stejně jako ostatní druhy štěnic, žijí pouze v prostorech více či méně izolovaných od venkovního prostředí a jsou závislé na hostiteli nejen při krmení, ale také při svém rozšiřování. Netopýři často hnízdí v lidských obydlích a tak mají obě linie štěnic k sobě i k oběma hostitelům poměrně blízko. Avšak lidé a netopýři mají opačný model denního a nočního chování a tak střídání mezi hostiteli by mohlo ovlivnit schopnost štěnic se nepozorovaně krmit (Booth et al. 2015). Balvín et al. (2012) během odebrání vzorků zaznamenali několik případů, kdy netopýři přinášeli štěnice do lidských obydlí, avšak genetická diferenciaci nespovídá o tom, že by spolu obě linie *C. lectularius* interagovaly, což může být specifickým způsobem výběru partnera, odlišným hostitelem, nebo nižší fitness hybridů (Balvín et al. 2012).

Reprodukční bariéry těchto dvou linií *C. lectularius* jsou v současné době předmětem intenzivního studia. Cílem této diplomové práce je zjistit existenci diferenciaci pachu mezi těmito liniemi.

1.7 Pachová komunikace *C. lectularius*

Agregační vnitrodruhové chemikálie (feromony, semiochemikálie) jsou využívány nejen štěnicemi, ale i dalšími druhy gregariózního hmyzu, jako například šváby. Hmyz může získat shromažďováním různé výhody, zahrnujícím překonání resistance hostitele (kůrovci), usnadnění dostupnosti partnera pro páření, ochrana před predátory a zmírnění dopadu nepříznivých přírodních podmínek (Wertheim et al. 2005).

Feromony štěnic jsou produkovány metasternálními žlázami (Usinger 1966). Olson et al. (2009) zjistil, že nejdůležitějším smyslovým orgánem pro detekci feromonů jsou u štěnic tykadla, což testoval odstraněním konců tykadel u některých jedinců a štěnice pak vystavil kontaktnímu agregačnímu feromonu, avšak agregace byla pozorována pouze u jedinců, kterým zásah (odstranění tykadel) nebyl proveden.

Jak kontaktní tak vzduchem se šířící agregační feromon působí na *C. lectularius* a způsobuje jejich shromažďování (Siljander et al. 2007), což pozoroval již Marx (1955), který uvedl, že samci i samice *C. lectularius* se shromažďují pod papírovým

diskem, který byl dříve vystaven působení dospělců svého druhu a domníval se, že je to způsobeno působením feromonové komunikace. Jaké výhody agregace štěnicím přináší, není ještě zcela zřejmé, avšak jednou z výhod pro ně může být zvyšování vlhkosti v jejich úkrytu, čímž předcházejí stresu z vysušování, na který jsou citlivé především první nymfální instary (Benoit et al. 2007). Dále je usnadněno vícenásobné páření, což podporuje genetickou variabilitu (Stutt a Siva-Jothy 2001).

Složení agregačních feromonů, šířících se vzduchem, bylo několikrát testováno. Siljander et al. (2008) testoval 14 možných složek a z nich určil 10 esenciálních komponentů, z nichž se agregační feromon skládá: nonanal, decanal, (E)-2-hexenal, (E)-2-octenal, (2E,4E)-octadienal, benzaldehyde, (+)-limonene, (-)-limonene, sulcatone a benzyl alcohol. Pozdější studie Gries et al. (2015) uvádí již jen směs 5 esenciálních těkavých látek: dimethyldisulfide, dimethyltrisulfide, (E)-2-hexenal, (E)-2-octenal a 2-hexanone. Látky (E)-2-octenal a 2-hexanone, které mají v agregačním feromonu štěnice domácí největší zastoupení (Levinson et al. 1974), mohou fungovat nejen jako agregační feromon, ale v případě ohrožení jsou vypouštěny ve větším množství jako varovný signál chránící před nebezpečím (Benoit et al. 2009; Blum 1996; Levinson et al. 1974; Usinger 1966).

Štěnice používá alarmní feromon při výskytu nebezpečí ze strany predátora (Levinson et al. 1974). Feromony štěnicím slouží také jako ochrana před nechtěným spářením, kterou využívají samci a nymfy (Harraca et al. 2010), neboť traumatická inseminace ohrožuje imunitu (Reinhardt et al. 2005) a vede ke zkracování života (Wattal a Kalra 1961). Samci nasedají na nakrmeného jedince *C. lectularius* bez ohledu na pohlaví a stádium (Ryne 2009). Samci nasedají na jiné samce, samice a podobně velké nymfy stejně často, ale nymfy a samci produkují feromon, který slouží jako identifikační signál, že nejsou vhodným partnerem (samicí). Samec, který hledal samici, reaguje slezením z jedince vypouštějícího feromon a tak k páření nedojde (Harraca et al. 2010; Siva-Jothy 2006). Pokud ale je vypouštění tohoto feromonu zamezeno, pak se spáří samci s nymfou, nebo samcem stejně často jako se samicí (Harraca et al. 2010). Harraca et al. (2010) zjistil, že k odvrácení páření fungují látky: (E)-2-hexenal, (E)-2-octenal v poměru 2:5 a 4-oxo-(E)-2-hexenal. Potřeba přímého kontaktu samce s druhým jedincem na zjištění pohlaví a vývojového stádia štěnice zřejmě znamená, že štěnicím chybí identifikační signál,

díky němuž by se byly schopny rozpoznávat na větší vzdálenost (Ryne 2009).

Samci reagují na vystavení feromonům lépe než samice a tak ve středu agregované skupiny mohou být samice v menšině oproti samcům, kteří se snaží být co nejbližší zdroji agregáčního feromonu (Ulrich 2016). Siljander et al. (2007) testoval agregaci samců, spářených samic, panenských samic a larev, přičemž pouze spářené samice na agregáční feromon nereagovaly. Tento fenomén může být způsoben tím, že samice, které jsou již spářené, se vyhýbají refugiu se samci, kvůli možnosti vzniku dalších zranění vznikajících při traumatickém páření (Siljander et al. 2007), neboť samice mají v přítomnosti samců jen malou až žádnou kontrolu nad četností páření (Stutt a Siva-Jothy 2001).

Siljander et al. (2007) testoval rozdíly mezi agregáčním feromonem larev, samců a samic. Při svém pokusu pouštěl buď nymfy, spářené samce nebo spářené samice po 10 jedincích do arény, kde byl kontrolní papírový disk a papírový disk se specifickým feromonem. Štěnice vykazovaly preference pro disk, který byl označen feromonem stejného vývojového stádia. Nymfy dávaly přednost disku s jejich specifickým feromonem před kontrolním diskem, kdežto samci ani samice ne. Samci a samice dávali přednost disku se samčím specifickým feromonem před kontrolním diskem. Avšak poměrně překvapivě žádná skupina nepreferovala před kontrolním diskem disk původně označený samicemi. Siljander et al. (2007) dále navrhuje, že důvodem, proč samci i samice reagují na samčí feromon, je způsobeno původní funkcí feromonu, který fungoval jako sexuální feromon, avšak sekundárně byl využíván také samci při hledání partnerek a tak se z něho vyvinul feromon agregáční.

Jelikož právě kontaktní agregáční feromony jsou pro shlukování štěnic a jejich následné páření důležité, zabývá se tato diplomová práce její diferenciací mezi liniemi *C. lectularius* (linie na člověku a na netopýrech). Hlavním cílem je odhalit, zda na sebe, respektive na kontaktní agregáční feromon opačné linie, štěnice reagují a zda je jejich reakce na jejich vlastní feromon rozdílná oproti reakci na feromon opačné linie. Odlišení agregáčního feromonu by mohlo být prvním krokem k vytvoření reprodukční izolace mezi liniemi.

2 Cíle

Cílem práce je testovat diferenciaci agregačních semiochemikálií štěnice domácí (*Cimex lectularius*) a určit její roli v kontextu možných reprodukčních bariér. Štěnice v současné době tvoří dvě dlouhodobě nezávislé, ale ve střední Evropě sympatrické hostitelské linie: původní linii na netopýrech, nyní žijící v lidských stavbách hlavně na netopýru velkém (*Myotis myotis*), a odvozenou linii na člověku. Navíc byly pozorovány náznaky, že štěnice z nezávislých infestací bytů v rámci jednoho domu se spolu nepáří, pokud se dostanou do kontaktu. Diferenciace pachu bude testována prostřednictvím odpovědí štěnic na refugia označená pachem cizí populace stejné hostitelské linie (člověk nebo netopýr) a populace z druhé hostitelské linie.

3 Metodika

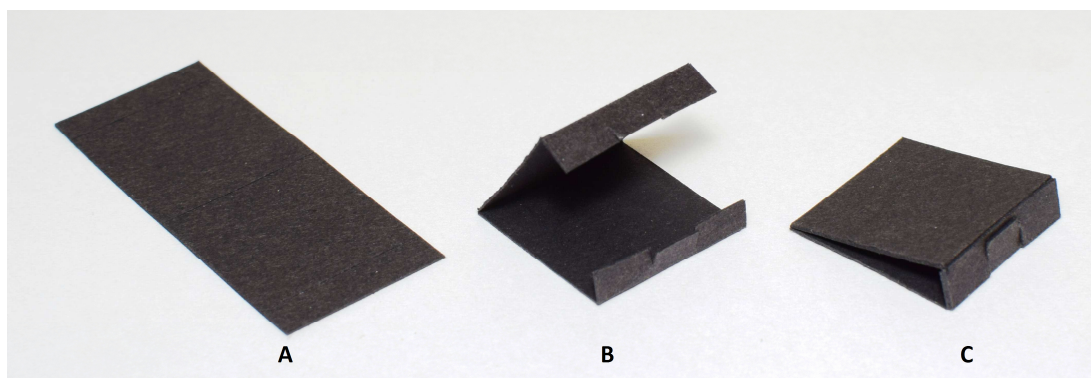
Metodika práce vychází z metodiky již publikovaných behaviorálních testů (Olson, et al. 2009). Skupina deseti samců nebo samic je po nakrmení držena v Petriho misce vybavené papírovým úkrytem. Takto značený úkryt je pak spolu s úkrytem značeným štěnicemi druhé hostitelské linie nabídnut jednotlivé štěnici jedné z linií. Během skotofáze jsou štěnice aktivní a arénu prozkoumávají. Na začátku fotofáze, poté, co se štěnice ukryje, je vyhodnocena preference pro úkryty značené vlastním či cizím pachem.

Chovy štěnic byly drženy v plastových nádobách o objemu 50 ml se síťovaným dnem, v klima boxu při teplotě 27 °C, vlhkosti 50% a při fotoperiodě 12/12, s fotofází od 17:00 do 5:00. Lidskou linii představovaly štěnice z lokalit Beroun a Praha – Čestmírova (dále označována jako Čestmírova), štěnice z netopýrů byly původem z kolonií Prudké (okres Brno – Venkov, *Myotis emarginatus*) a Úštěku (*M. myotis*). Krmení probíhalo 1x týdně na umělém systému dle metodiky Aak a Rukke (2014). Chovy byly krmeny lidskou krví odebíranou z dobrovolníků do 9ml zkumavek Vacuette s CPDA a uchovávanou v lednici. Pro krmení byla tato krev sterilně přenášena do pytlíčků připravených z parafilmu M jeho zatavením a natažením. Krev se nahřívala ve vodní lázni. Každý chov byl krmen 2-3 krát po dobu 30 minut, aby všichni hladoví jedinci měli možnost se dostatečně nasát. Krmení probíhalo během skotofáze, jak je pro štěnice přirozené.

Nakrmené štěnice byly vybírány do malé petriho misky po 10 buď samců, nebo samic. Do misky byl poté vložen úkryt z černého papíru (obrázek 1). Po týdnu byly štěnice z úkrytů vyjmuty a úkryty byly použity v arénách. Do arény byly kromě dvou označených úkrytů, vždy značených jedním z pohlaví a různými liniemi, vloženy dva čisté úkryty, které sloužili jako kontrola preference značeného úkrytu. Do arény byl vpuštěn samec jiného původu, než byly skupinky, jež označovaly úkryt, aby byla odlišena preference hostitelské linie od preference vlastní rodiny. Do každé arény byl ve 13:00 vpuštěn samec nakrmený 7 dní předem. Byl zaznamenán úkryt, do kterého se po vpuštění schoval, což se ve všech případech stalo během jedné minuty. Každou hodinu byla kontrolována jeho aktivita a v 19:00 byla vyhodnocena jeho finální poloha. Pokusy, kdy byl samec nalezen ve stejném úkrytu, do kterého se

schoval na začátku, a nebyla v průběhu zaznamenána jeho aktivita, byly vyřazeny z analýz, neboť se předpokládalo, že samec arénu neprozkoumal. Pokusní samci byli v arénách použiti vždy jednou. V klima-boxu, kde probíhal pokus, byla nastavena stejná fotoperioda jako v klima-boxu s chovy.

Obrázek 1: Tvar úkrytu. A – úkryt v rozloženém stavu. B – otevřený úkryt. C – úkryt ve složeném stavu, takto byl používán do arén i při označování.



Celkem bylo vyhodnoceno 185 pokusů, při kterých byl samec aktivní a prozkoumal arénu. V 91 případech byl vpuštěn do arény samec z lidské linie (z toho ve 43 případech byly úkryty označeny samci a v 48 případech byly označeny samicemi) a v 94 případech se jednalo o samce z linie netopyří (z toho v 45 případech byly úkryty označeny samci a v 49 případech byly označeny samicemi).

V rámci zjišťování, zda linie štěnic na sebe reagují, byl také proveden pokus s agregací skupin těchto dvou linií, tedy skupinové výběry. Jednalo se o chovy z netopyří linie: Úštěk, Prudká a Dubá (*M. myotis*) a z lidské linie: Beroun, Čestmírova a Ostrava. Pokus probíhal ve 20 centimetrových petriho miskách (arénách) za stejných světelných a klimatických podmínek, jako v klima-boxech s chovy. Skupinky po 10 nakrmených štěnicích, buď samic, nebo samců, se označily barevnou tečkou, aby bylo v arénách možné skupinky od sebe rozeznat. Pro označování byla použita barva na značení včelích matek. Skupinky byly umístěny do úkrytů ve 4 centimetrových petriho miskách, kde zůstaly po dobu jednoho týdne, shodně jako u předchozího pokusu. Dva úkryty obsahující skupinky z rozdílných hostitelských linií byly umístěny do arén. Za další týden, kdy měly štěnice dostatek času na prozkoumání arény, bylo zaznamenáno množství, které se nacházelo uvnitř každého úkrytu, popřípadě mimo úkryt.

Statistika:

Bylo stanoveno několik hypotéz a pro účely statistického vyhodnocení byly k těmto hypotézám stanoveny také hypotézy nulové, ty nejsou pro přehlednost uváděny.

H1) Samci z netopýří linie (H1A) nebo lidské linie (H1B) preferují úkryty značené samicemi oproti úkrytům neznačeným.

H2) Samci z netopýří linie (H2A) nebo lidské linie (H2B) preferují úkryty značené samci oproti úkrytům neznačeným.

H3) Samci z netopýří linie (H3A) nebo lidské linie (H3B) preferují úkryty značené samicemi specifické linie oproti úkrytům značeným samicemi nespecifické linie.

H4) Samci z netopýří linie (H4A) nebo lidské linie (H4B) preferují úkryty značené samci specifické linie oproti úkrytům značeným samci nespecifické linie.

Hypotézy byly otestovány pomocí chí-kvadrát testu (χ^2) – testu dobré shody v programu R (R Core Team 2015). Pro všechny testy byla použita hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Pro účely statistického vyhodnocení byly vynechány ty pokusy, kdy samec zůstal po celou dobu pozorování neaktivní (tedy při vpuštění do arény se schoval pod úkryt, pod kterým byl pak nalezen při finální kontrole a během průběžných kontrol nebyla ani jednou zaznamenána jeho poloha mimo úkryt), dále byly vynechány pokusy, kdy se samec při finální kontrole nacházel mimo úkryt.

4 Výsledky

Rozhodnutí samců, pouštěných do arén, je shrnuto v tabulce 1. Tato data byla dále použita pro testování pomocí chí-kvadrát testu v programu R (R Core Team 2015). V tabulce není zahrnuto 23 jedinců, z toho 16 jich bylo vyřazeno pro neaktivitu a zbylých 7 se neschovalo do žádného z úkrytů.

Tabulka 1: Výběr samců

Vpouštěný samec (linie)	Úkryty označené samicemi			Samčí a samičí úkryty celkem
	lidská	netopyří	Součet	
Preference liniově specifických úkrytů	23	16	39	
Preference liniově nespecifických úkrytů	18	8	26	
Preference neoznačených úkrytů	7	25	32	
Součet	48	49	97	
Vpouštěný samec (linie)	Úkryty označené samci			Samčí a samičí úkryty celkem
	lidská	netopyří	Součet	
Preference liniově specifických úkrytů	22	19	41	80
Preference liniově nespecifických úkrytů	15	18	33	59
Preference neoznačených úkrytů	6	8	14	46
Součet	43	45	88	185

Při testování nulové hypotézy pro hypotézu H1A, tedy hypotézy H_{01A} : Netopyří štěnice nepreferují úkryty označené samicemi oproti neoznačeným úkrytům, vyšel $\chi^2 = 0.020408$ a $p = 0.8864$. Hypotézu H_{01A} tedy není možné zamítnout na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ¹. Není zde signifikantní rozdíl mezi preferencí úkrytů označených samicemi a neoznačených úkrytů u samců štěnic netopyří hostitelské linie.

Při testování nulové hypotézy pro hypotézu H1B, tedy hypotézy H_{01B} : Lidské štěnice nepreferují úkryty označené samicemi oproti neoznačeným, vyšel $\chi^2 = 24.083$ a $p = 9.226e-07$. Hypotéza H_{01B} se zamítá a je možné se přiklonit k hypotéze H1B. Je zde signifikantní rozdíl v preferencích samců štěnice z lidské linie mezi úkryty označenými a neoznačenými, kdy dávají přednost úkrytům označeným.

Dále byla testována nulová hypotéza pro hypotézu H2A, tedy hypotéza H_{02A} :

¹ Hladina významnosti $\alpha = 0,05$ je použita shodně pro všechny testované hypotézy, dále nebude uváděno.

Netopýří štěnice nepreferují úkryty označené samci, oproti úkrytům neoznačeným. Zde vyšel $\chi^2 = 18,689$ a $p = 1.539e-05$. Hypotézu H_{02A} tedy je možné zamítnout a přiklonit se k hypotéze H_{2A} . Je zde signifikantní rozdíl mezi preferencí neoznačených a samci označených úkrytů, kdy štěnice preferují úkryty označené.

Dále byla testována nulová hypotéza pro hypotézu H_{2B} , tedy hypotéza H_{02B} : Lidské štěnice nepreferují úkryty označené samci, oproti úkrytům neoznačeným. Zde vyšel $\chi^2 = 22.349$ a $p = 2.274e-06$, tedy hypotézu H_{02B} je možné zamítnout a přiklonit se k hypotéze H_{2B} . Samci lidské linie štěnic signifikantně více preferují úkryty samci označené úkryty oproti úkrytům neoznačeným.

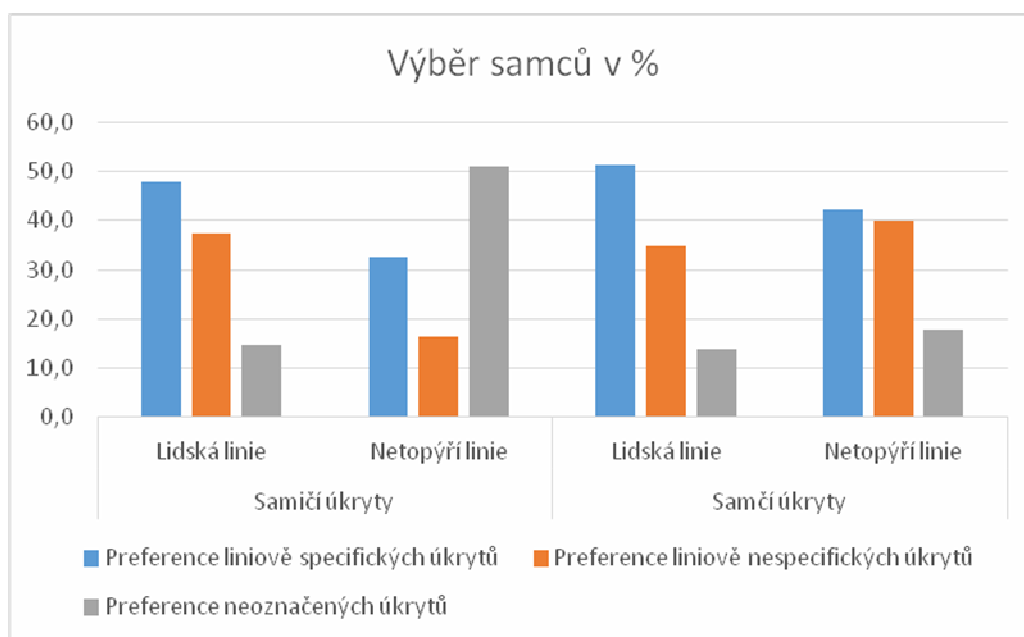
Dále byla testována nulová hypotéza k hypotéze H_{3A} tedy hypotéza H_{03A} : Netopýří štěnice nepreferují úkryty označené samicemi z lidské linie oproti úkrytům označeným samicemi netopýří linie. Zde bylo dosaženo výsledku pro $\chi^2 = 2.6667$ a $p = 0.1025$, takže hypotéza H_{03A} nemohla být zamítnuta. Samci netopýří linie tedy nejen, že nepreferují úkryty označené oproti úkrytům neoznačeným, ale ani nebyla prokázána preference mezi označenými úkryty.

Dále byla testována nulová hypotéza k hypotéze H_{3B} , tedy hypotéza H_{03B} : Lidské štěnice nepreferují úkryty označené samicemi z lidské linie oproti úkrytům označeným samicemi netopýří linie. Pro tuto hypotézu vyšel $\chi^2 = 0.60976$ a $p = 0.4349$. Hypotézu H_{03B} není možné zamítnout. Nebylo tedy prokázáno, že by samci štěnice z lidské linie signifikantně více preferovali úkryty označené samicemi ze své linie oproti úkrytům označeným samicemi z linie netopýří, avšak preferují úkryty samicemi označené, oproti úkrytům neoznačeným.

Dále byla testována nulová hypotéza k hypotéze H_{4A} , tedy hypotéza H_{04A} : Netopýří štěnice nepreferují úkryty označené samci z lidské linie oproti úkrytům označeným samci netopýří linie, vyšel $\chi^2 = 0.027027$ a $p = 0.8694$. Hypotézu H_{04A} tedy není možné zamítnout. Rozdíl mezi preferencí samců z netopýří linie mezi úkryty označenými specifickými (ze stejné, tedy netopýří linie) a nespecifickými (z odlišné, tedy lidské linie) samci není signifikantní. Samci netopýří linie tedy preferují úkryty označené samci oproti úkrytům neoznačeným, ale nebylo prokázáno, že by dávali přednost netopýří linii oproti linii lidské.

Dále byla testována nulová hypotéza k hypotéze H4B, tedy hypotéza H_{04B}: Lidské štěnice nepreferují úkryty označené samci z lidské linie oproti úkrytům označeným samci netopýří linie. Zde vyšel $\chi^2 = 1.3243$ a $p = 0.2498$. Ani v tomto případě není možné zamítnout hypotézu H_{04B}, že štěnice preferují specifický pach své linie (lidské), oproti nesespecifickému pachu druhé linie (netopýří). Přestože samci štěnice domácí z lidské linie preferují samci označené úkryty oproti neoznačeným, tak se nepodařilo prokázat, že by preferovali úkryty označené svojí linií, i když by tomu na první pohled mohla data z tabulky 1 napovídat.

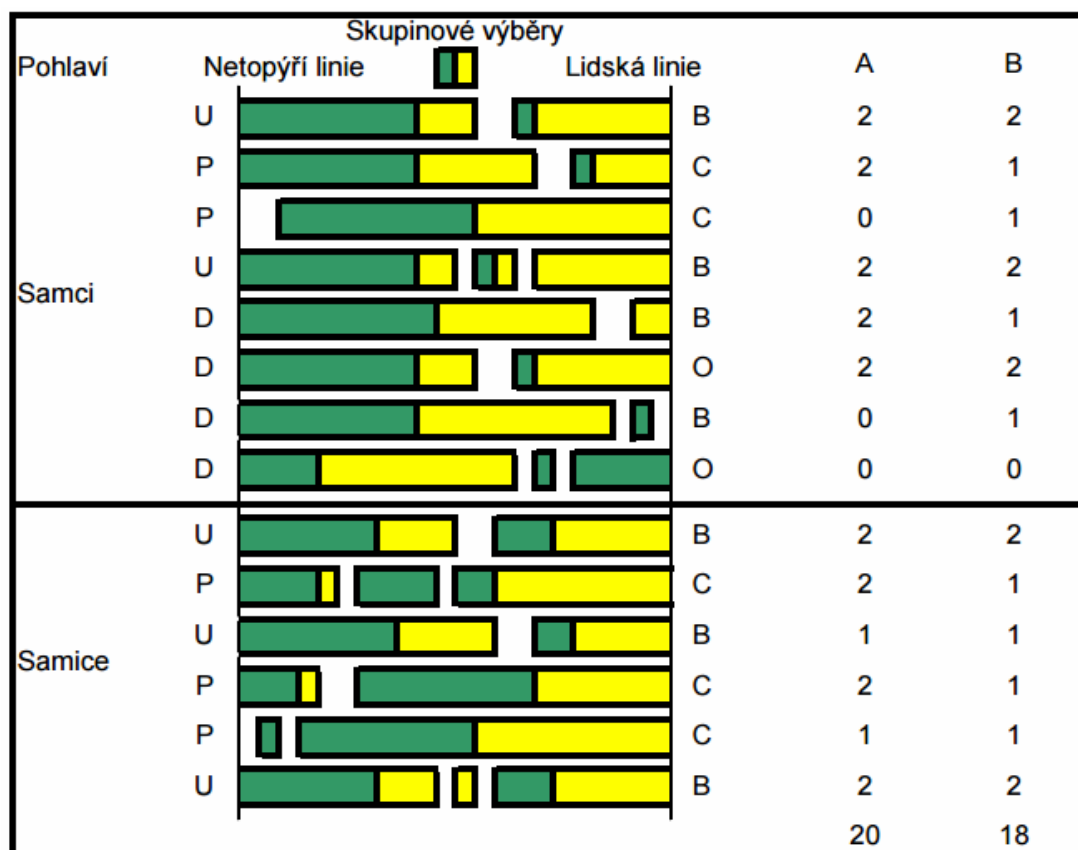
Graf na obrázku 2 ukazuje procentuální rozhodnutí samců. Přestože jsou vidět rozdíly mezi rozhodnutím samců pro jednotlivé úkryty, nepodařilo se rozdíl, mezi výběrem úkrytů označených specifickou linií a nesespecifickou linií statisticky prokázat.



Obrázek 2: Znáznorněno množství samců, podle jejich preferencí k danému typu úkrytu. Hodnoty jsou uvedené v procentech.

Pokus se skupinovými výběry, kdy mohlo docházet k meziliniové agregaci štěnic, jak je vidět z obrázku 3, neukazuje na první pohled tendenci se jednoznačně separovat dle liniové příslušnosti. V jednom případě bylo nalezeno všech 20 štěnic pod jedním úkrytem. Nebyl zaznamenán žádný případ, kdy by zůstaly štěnice

z rozdílných linií od sebe zcela separovány. Pokus byl uskutečněn jen na malém souboru dat (28 úkrytů, tedy 14 arén). Z těchto 28 úkrytů však ve 20 případech převažovala v úkrytu původní linie a v 18 případech se schovala více než polovina skupiny ve svém původním úkrytu, což může ukazovat na jistou věrnost svému úkrytu.



Obrázek 3: Skupinové výběry štěnic: ukazuje, jak se štěnice míchají mezi liniemi.

Zelenou barvou je značena linie netopýří a žlutou barvou pak linie lidská. Písmena U, P D značí chovy dle místa původu z netopýří linie (U – Úštěk, P- Prudká, D – Dubá) a B, C, O značí chovy dle místa původu z lidské linie (B – Beroun, C – Čestmírova, O – Ostrava).

Pruh vlevo představuje skupinu, jež se schovala pod úkryt původně náležící liniím netopýřích štěnic, vpravo je skupina, jež se schovala pod úkryt původně náležící štěnicím z lidské linie. Objevuje-li se třetí pruh, jedná se o štěnice neschované v době kontroly, stejně tak se jedná o neschované jedince, pokud se barevný pruh nedotýká pravého či levého okraje.

A – hodnota ve sloupci A značí množství úkrytů, kde převažovala skupina, která daný úkryt označovala.

B – hodnota ve sloupci B značí množství úkrytů, kde se schovala více než polovina z původní (té co daný úkryt označovala) skupiny.

5 Diskuze

Feromony (semiochemikálie) štěnic již zkoumalo množství autorů, někteří z pohledu jejich složení (Gries et al. 2015; Siljander et al. 2008; Levinson et al. 1974), nebo s ohledem na smyslový orgán, pomocí něhož štěnice pachy detekují (Olson et al. 2009). Jiní na vypouštění semiochemikálií nahlíželi jakožto na obranný mechanismus proti nechtěnému spáření, kdy se pomocí specifického poměru (E)-2-hexanalu a (E)-2-octenalu brání pouze samci a nymfy (Harraca et al. 2010; Ryne 2009; Siva-Jothy 2006), kdežto spárené samice se brání disperzí (Siljander et al. 2007), tedy mají menší tendenci se agregovat (Pfiester et al. 2009). Při pokusech reakcí štěnice domácí na vlastní pachy bylo prokázáno, že samci, nymfy a panenské samice si ve většině případů vyberou označený úkryt, kdežto u spárených samic tomu tak není (Siljander et al. 2008). To se připisuje, jak bylo uvedeno výše, jejich tendenci neagregovat, pokud se chtějí vyhnout dalšímu traumatickému páření (Siljander et al. 2007), neboť nad jeho četností mají v přítomnosti samců jen malou až žádnou kontrolu (Stutt a Siva-Jothy 2001). Avšak přibližně jednou za měsíc se samice potřebují opět spářit, aby mohly pokračovat v produkci vajíček (Usinger 1966).

Weeks et al. (2011) uvádí, že je lepší při pokusu použít pouze jednotlivé štěnice, nežli skupinky, neboť výsledek tak je důsledkem reakce jedince na testované vlivy, nikoliv reakce na interakce ve skupině.

U úkrytů označených samci, kdy byl do arény vpuštěn buď samec netopýří, nebo lidské linie, se podařilo statisticky prokázat, že samci preferují úkryty označené oproti úkrytům neoznačeným, což se shoduje s dříve publikovanými studiemi, které zkoumaly agregační feromony štěnic (Gries et al. 2015; Weeks et al. 2013; Weeks et al. 2011; Siljander et al. 2008; Siljander et al. 2007). U úkrytů označených samicemi, kdy byl do arény vpuštěn samec lidské linie, se podařilo statisticky prokázat preferenci označených úkrytů, což je v rozporu s pokusy Siljandera et al. (2007), kterému se nepodařilo zjistit preferenci samičích úkrytů. Pouze u arén, kdy byly úkryty označené samicemi, a vpouštění samci pocházeli z netopýří linie, se nepodařilo prokázat preferenci k označeným úkrytům oproti neoznačeným. Toto možná náhodné rozdělení samců v rámci samicemi označených a neoznačených

úkrytech by mohlo být způsobeno například tím, jak Siljander et al. (2008) uvádí, že izolované skupiny samců vypouštějí až pětkrát více (E)-2-hexanal a (E)-2-octenal než skupiny samic. Dalším důvodem by mohla být skutečnost, kdy nejvíce semiochemikálií je vylučováno při pokusech o páření, avšak samice se samicemi se pářit nepokoušejí. Oproti tomu ve skupinách samců je často zaznamenáván pokus o homosexuální páření (Kilpinen et al. 2012), tudíž tyto samčí úkryty mohou být výrazněji „cítil“ a tedy samce více lákat. Siljander et al. (2007) ve svém článku zabývajícím se rozdílem mezi feromony samců, samic a nymf zjistil, že samci, samice ani nymfy neupřednostňují samicemi označený papír. Pro označování použil spárené samice a domnívá se, že by výsledky mohly být odlišné při použití panenských. Xu et al. (2014) při svých pokusech na motýlech *Cotesia glomerata* a *C. marginiventris* také zjistil, že panenské samice samce silně vábí, ale spárené již ne a v případě *C. glomerata* samce dokonce několik hodin po spáření odpuzují. Samice těchto druhů se však oproti samicím štěnic páří pouze jednou (Kimani a Overholt 1995) a sekret produkovaný při ejakulaci samce může inhibovat tvorbu samičho feromonu (Delisle a Simard 2002). Podobně je tomu u motýla druhu *Heliconius erato*, kdy samec při kopulaci přenáší na samici antiafrodisiakum (Gilbert 1976). U štěnic tomu tak ale pravděpodobně není, neboť nejsou monogamní a fenomén neupřednostňování označených oproti neoznačeným úkrytům byl zaznamenán pouze u samců netopyří linie, nikoliv však u linie lidské. Samci lidské linie vykazovali srovnatelné výsledky mezi arénami s úkryty označenými samci a samicemi (viz obrázek 2). Je možné, že samci netopyří linie nereagovali na pach samic, protože byly spárené, nebo že existuje mechanismus, kterým by pach spárených samic, popřípadě samic pouze z lidské linie odpuzoval samce netopyří linie, avšak tato myšlenka nemůže být na těchto datech potvrzena. Pro zjištění, zda existuje nějaká bariéra mezi samicí lidské linie a samcem netopyří linie, by bylo potřeba další testování.

Při pohledu na sumární data (obrázek 2) je patrné, že samci štěnice domácí mírně upřednostňovali úkryty označené specifickou (tedy svojí) linií, oproti úkrytům označeným nespécifickou linií, avšak tuto tendenci se nepodařilo statisticky prokázat.

Skupinové pokusy s meziliniovou agregací štěnic, stejně jako ty s individuálními

výběry samců, poukazují na to, že reprodukční bariéra prostřednictvím diference pachu zřejmě neexistuje. Linie štěnic z lidí a z netopýrů spolu v pokusech ve skupinách běžně komunikovaly. Tento pokus nebyl statisticky vyhodnocen, neboť to v případě skupinového výběru nebylo možné, jednalo se tak jen o doplňkový pokus, který měl poskytnout orientační pohled na jejich chování ve skupině, které je pro štěnice přirozenější. Z pohledu na data (obrázek 3) je možné říci, že jistá věrnost úkrytu původnímu se projevila (v 18 případech z 28 byla více než polovina štěnic ve svém původním úkrytu), ale velké množství štěnic se přemístilo do úkrytu druhé hostitelské linie.

Jedním z možných důvodů, proč se diference pachů neprojevila, může být ovlivnění stravou, kdy obě linie, jak lidská, tak netopýří, byly krmeny na lidské krvi a strava mohla ovlivnit složení feromonů. Jak uvádí Law a Regnier (1971), pachy jsou závislé na genetice, stravě a podmínkách prostředí. Byla zjištěna závislost množství uhlovodíků a tím i sexuální atraktivnosti na stravě u druhů rodu *Drosophila*² (Etges a Oliveira 2014; Fedina et al. 2012), naopak ale u *Archips semiferanus* nebyla zaznamenána výrazná změna s potravou (Miller et al. 1976). Změna hostitele může také vést k vytvoření nových taktik a preferencí při hledání a výběru partnera (Cocroft et al. 2008). U druhu *Enchenopa binotata* byly zjištěny rozdíly nejen mezi populacemi, které využívali různé hostitele, ale také mezi těmi, které využívali stejného hostitele, což je přisuzováno geografické variabilitě (Cocroft et al. 2010). U široce rozšířených druhů se někdy lokálně objevují tyto rozdíly v prekopulačních signálech (Förschler a Kalko 2007), což může vést, při výběru partnera, k diskriminaci jedinců z jiných populací (Nosil et al. 2007). Tyto lokální variace se mohly projevit i v této práci při pokusech se štěnicemi. Aby byla odlišena preference hostitelské linie od preference vlastní rodiny, samec v pokusech náležel k jiné populaci, než zdroj testovaného specifického pachu. Mezi těmito populacemi však mohla být vytvořena lokální diference v semiochemikáliích a tak je možné, že samci v pokusu nemuseli rozeznat příslušníky vlastní hostitelské linie, jak by se stalo, kdyby byly použiti jedinci z jedné populace.

Přestože jsou linie štěnic od sebe rozdílné morfologicky (Usinger 1966) i

² Jedná se o fytofágní rod, stejně tak se jedná o fytofágy u následujících dvou zmiňovaných druhů: *Archips semiferanus* a *Enchenopa binotata*.

geneticky (Booth et al. 2015; Balvín et al. 2012) nepodařilo se prokázat odlišnost jejich semiochemikálií. Potvrzení preference úkrytů označených, oproti úkrytům neoznačeným, se shoduje s autory dříve publikovaných prací (Gries et al. 2015; Weeks et al. 2013; Weeks et al. 2011; Siljander et al. 2008; Siljander et al. 2007) a také se snahou o vývoj nejrůznějších pastí založených na pachové komunikaci štěnic (Singh a Cooper 2013; Singh et al. 2012; Anderson et al. 2009; Changlu et al. 2009).

Práce ukazuje, že pokud u štěnic existuje prekopulační bariéra, pravděpodobně jí nepředstavuje rozdílné složení feromonů. Podle Wawrocka et al. (2015) se ale štěnice z lidí a netopýrů navzájem pářily méně ochotně, než v rámci linií. Prekopulační bariéra tedy zřejmě existuje, ale její mechanismus zůstává neznámý. Hlavní roli zde zřejmě hraje především postkopulační bariéra, jak uvádí Wawrocka et al. (2015). Přestože při pokusech o křížení štěnic z lidské a netopýří linie až v 52% došlo ke spáření a přenosu spermií, nedošlo k produkci vajíček a to ani sterilních (Wawrocka et al. 2015).

6 Závěr

Cílem práce bylo zjistit diferenciaci semiochemikálií mezi liniemi štěnice domácí (*C. lectularius*). Hypotézy o rozdílnosti semiochemikálií štěnice domácí mezi liniemi z netopýrů a lidí a následkem toho ani předpoklad, že pachová komunikace byla jedním z vlivů, jež mohl mít za důsledek současnou odlišnost těchto linií, se nepodařilo potvrdit.

Přestože stanovené hypotézy nebyly prokázány, studie měla význam, neboť poukazuje na to, že pachy nejsou, v případě štěnic, významnou prekopulační bariérou, která způsobila dnešní rozdílnost mezi netopýří a lidskou linií štěnic a tyto bariéry, pokud existují, je potřeba hledat jinde.

Výsledky mohly být ovlivněny stravou štěnic, kdy obě linie byly krmeny shodně lidskou krví, místo jejich přirozenou stravou lidskou a netopýří krví. Dalším faktorem, jež mohl testy ovlivnit, je rozdílný původ populací (štěnice pocházeli z různých (viz metodika) míst v rámci České republiky). Pro zjištění, zda byl pokus tímto negativně ovlivněn, by bylo potřeba provést další výzkum zabývající se reakcí štěnic na pachy v závislosti na druhu konzumované krve (hostiteli) a dále zjistit, zda existuje pachová diferenciaci mezi populacemi jedné linie v závislosti na původu.

V práci byla zjištěna značně odlišná reakce samců z netopýří hostitelské linie oproti samcům z lidské hostitelské linie na úkryty označené samicemi. Nakolik je tento fenomén podstatný a prokazatelný musí ukázat až studie v budoucnu.

7 Zdroje:

- Aak, A., Rukke, B. A., 2014: „Bed Bugs, Their Blood Sources and Life History Parameters: A Comparison of Artificial and Natural Feeding: Artificial Feeding of Bed Bugs". *Medical and Veterinary Entomology* 28 (1): 50–59.
- Adelman, Z. N., Miller D. M., Myles K. M., 2013: „Bed Bugs and Infectious Disease: A Case for the Arboviruses". *PLoS pathogens* 9 (8): e1003462. Dostupné online: <http://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1003462>.
- 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*". *Medical and Veterinary Entomology* 23 (2): 99–105.
- Balvín, O., Munclinger, P., Kratochvil L., Vilimova J., 2012: „Mitochondrial DNA and morphology show independent evolutionary histories of bedbug *Cimex lectularius* (Heteroptera: Cimicidae) on bats and humans". *Parasitology Research* 111 (1): 457–69.
- Bartonička, T., Gaisler, J., 2007: „Seasonal Dynamics in the Numbers of Parasitic Bugs (Heteroptera, Cimicidae): A Possible Cause of Roost Switching in Bats (Chiroptera, Vespertilionidae)". *Parasitology Research* 100 (6): 1323–30.
- Benoit, J. B., Del Grosso, N. A, Yoder, J. A., Denlinger, D. L., 2007: „Resistance to dehydration between bouts of blood feeding in the bed bug, *Cimex lectularius*, is enhanced by water conservation, aggregation, and quiescence". *The American journal of tropical medicine and hygiene* 76 (5): 987–93.
- Benoit, J. B., Phillips, S. A., Croxall, T. J., Christensen, B. S., Yoder, J. A., Denlinger, D. L., 2009: „Addition of alarm pheromone components improves the effectiveness of desiccant dusts against *Cimex lectularius*". *Journal of medical entomology* 46 (3): 572–79.
- Blum, M. S., 1996: „Semiochemical Parsimony in the Arthropoda". *Annual Review of Entomology* 41: 353–74.

- Boase, C., 2001: „Bedbugs - Back from the Brink". *Pesticide Outlook* 12 (4): 159–62.
- Booth, W., Balvín, O., Vargo, E. L., Vilímová, J., Schal, C., 2015: „Host Association Drives Genetic Divergence in the Bed Bug, *Cimex Lectularius*". *Molecular Ecology* 24 (5): 980–92.
- Bush, G. L., 1969: „Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus *Rhagoletis* (Diptera, Tephritidae)". *Evolution*, 237–51.
- Cocroft, R. B., Rodríguez, R. L., Hunt, R. E., 2008: „Host shifts, the evolution of communication, and speciation in the *Enchenopa binotata* species complex of treehoppers". *Specialization, speciation, and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects*, 88–100.
- Cocroft, R. B., Rodríguez, R. L., Hunt, R. E., 2010: „Host Shifts and Signal Divergence: Mating Signals Covary with Host Use in a Complex of Specialized Plant-Feeding Insects". *Biological Journal of the Linnean Society* 99 (1): 60–72.
- Davis, N. T., 1956: „The Morphology and Functional Anatomy of the Male and Female Reproductive Systems of *Cimex Lectularius* L. (Heteroptera, Cimicidae)". *Annals of the Entomological Society of America* 49 (5): 466–93.
- Davis, N. T., 1965: „Studies of the reproductive physiology of Cimicidae (Hemiptera). II. Artificial insemination and function of the seminal fluid". *Journal of Insect Physiology* 11: 355–66.
- Delaunay, P., Blanc, V., Dandine M., Giudice, P. D., Franc, M., Pomares-Estran, Ch., Marty, P., Chosidow, O., 2009: „Bedbugs and Healthcare-associated Dermatitis, France". *Emerging Infectious Diseases* 15 (6): 989–90.
- Delaunay, P., Blanc, V., Giudice, P. D., Levy-Bencheton, A., Chosidow, O., Marty, P., Brouqui P., 2011: „Bedbugs and Infectious Diseases". *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 52 (2): 200–210.

- Delisle, J., Simard, J., 2002: „Factors involved in the post-copulatory neural inhibition of pheromone production in *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana* females". *Journal of Insect Physiology* 48 (2): 181–88.
- Doggett, S. L., Geary, M. J., Russell, R.C., 2004: „The Resurgence of Bed Bugs in Australia: With Notes on Their Ecology and Control". *Environmental Health* 4 (2): 30–38.
- Dres, M., a Mallet J.. 2002: „Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation". *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 357 (1420): 471–92.
- Ecker, E. E., Gross P., 1929: „Anticomplementary Power of Heparin". *The Journal of Infectious Diseases* 44 (3): 250–53.
- Elton, C., 1943: „Review: The Bed-Bug's World". *The Journal of Animal Ecology* 12 (1): 60–61.
- Etges, W. J., a de Oliveira C. C., 2014: „Premating Isolation Is Determined by Larval Rearing Substrates in Cactophilic *Drosophila Mojavensis*. X. Age-Specific Dynamics of Adult Epicuticular Hydrocarbon Expression in Response to Different Host Plants". *Ecology and Evolution* 4 (11): 2033–45.
- Fedina, T. Y., Kuo, T. H., Dreisewerd, K., Dierick, H. A., Yew, J. Y., Pletcher, S. D., 2012: „Dietary Effects on Cuticular Hydrocarbons and Sexual Attractiveness in *Drosophila*". *PLOS ONE* 7 (12): e49799. Dostupné online: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0049799>.
- Förschler, M. I., a Kalko, E. K. V., 2007: „Geographical Differentiation, Acoustic Adaptation and Species Boundaries in Mainland Citril Finches and Insular Corsican Finches, Superspecies *Carduelis [citrinella]*". *Journal of Biogeography* 34 (9): 1591–1600.
- Gandon, S., Michalakis, Y., 2002: „Local adaptation, evolutionary potential and host-parasite coevolution: interactions between migration, mutation, population size and generation time". *Journal of Evolutionary Biology* 15: 451–62.

- Gilbert, L. E. 1976: „Postmating Female Odor in Heliconius Butterflies: A Male-Contributed Antiaphrodisiac?" *Science (New York, N.Y.)* 193 (4251): 419–20.
- Goddard, J., deShazo, R., 2009: „Bed Bugs (*Cimex Lectularius*) and Clinical Consequences of Their Bites". *JAMA* 301 (13): 1358–66.
- Gries, R., Britton, R., Holmes, M., Zhai, H., Draper, J., Gries G., 2015: „Bed Bug Aggregation Pheromone Finally Identified". *Angewandte Chemie International Edition* 54 (4): 1135–38.
- Harlan, H. J., 2006: „Bed Bugs 101: The Basics of *Cimex Lectularius*." *American Entomologist* 52 (2): 99–101.
- Harraca, V., Ryne, C., Ignell R., 2010: „Nymphs of the common bed bug (*Cimex lectularius*) produce anti-aphrodisiac defence against conspecific males". *BMC biology* 8 (1): 121.
- Hase, A., 1938: „Zur hygienischen Bedeutung der parasitären Haus- und Vogelwanzen sowie über Wanzenpopulationen und Wanzenkreuzungen". *Zeitschrift für die Parasitenkunde* 10 (1): 1–30.
- Henry, T.J. 2009: „Biodiversity of Heteroptera". In *Insect biodiversity: science and society*, eds.: R.G. Foottit a P.H. Adler, 223–63. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- Horváth, G., 1913: „La distribution géographique des cimicides et l'origine des punaises des lits". *Extrait du IXe Congrès International de Zoologie Tenu a Monaco*, 294–99.
- Huntley, A. C., 1999: „*Cimex lectularius*. What is this insect and how does it affect man?" *Dermatology online journal* 5 (1): 6.
- Hwang, S. W., Svoboda, T. J., De Yong, I. J., Kabasele, K. J., Gogosis E., 2005: „Bed bug infestation in an urban environment". *Emerging Infectious Diseases* 11 (4): 533–38.
- Christe, P., Arlettaz, R., Vogel P., 2000: „Variation in intensity of a parasitic mite

- (*Spinturnix myoti*) in relation to the reproductive cycle and immunocompetence of its bat host (*Myotis myotis*)". *Ecology letters* 3: 207–12.
- Johnson, C. G., 1937: „The relative values of man, mouse, and domestic fowl as experimental hosts for the bed-bug, *Cimex lectularius* L." *Proceedings of the Zoological Society in London (A)* 107: 107–26.
- Johnson, C. G., 1941: „The ecology of the bed-bug, *Cimex lectularius* L., in Britain". *Journal of Hygiene* 41 (4): 345–61.
- Jupp, P. G., McElligott, S. E., 1979: „Transmission Experiments with Hepatitis B Surface Antigen and the Common Bedbug (*Cimex Lectularius* L)". *South African Medical Journal = Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Geneeskunde* 56 (2): 54–57.
- Jupp, P. G., Prozesky, O. W., McElligott, S. E., Van Wyk, L. A., 1978: „Infection of the Common Bedbug (*Cimex Lectularius* L) with Hepatitis B Virus in South Africa". *South African Medical Journal = Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Geneeskunde* 53 (15): 598–600.
- Kemper, H., 1936: Die Bettwanze und ihre Bekämpfung. *Zeitschrift für Kleintierkunde und Pelztierkunde 'Kleintier und Pelztier*, Leipzig. 107 s.
- Kevin R. U., Kramer, M., 2016: „Ability of bed bug (Hemiptera: Cimicidae) defensive secretions (E)-2-hexenal and (E)-2-octenal to attract adults of the common bed bug *Cimex lectularius*". *Physiological Entomology*. doi: 10.1111/phen.12129.
- Khalifa, A., 1952: „A contribution to the study of reproduction in the bed-bug (*Cimex lectularius* L.)". *Bulletin de la Société Fouad Ier Entomologie* 36: 311–36.
- Kilpinen, O., Liu, D., Adamsen, A. P. S., 2012: „Real-Time Measurement of Volatile Chemicals Released by Bed Bugs during Mating Activities". *PLOS ONE* 7 (12) e50981. Dostupné online: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0050981>.

- Kimani, S. W., Overholt, W. A., 1995: „Biosystematics of the *Cotesia flavipes* complex (Hymenoptera: Braconidae): interspecific hybridization, sex pheromone and mating behaviour studies". *Bulletin of Entomological Research* 85 (03): 379–86.
- Kolb, A., Needham, G. R., Neyman, K. M., High, W. A., 2009: „Bedbugs". *Dermatologic Therapy* 22: 347–52.
- Krinsky, W. L., 2002: „True Bugs (Hemiptera)". In *Medical and Veterinary Entomology*, editoval G. Mullen a L. Durden. San Diego: Elsevier.
- Krueger, L., 2000: „Don't get bitten by the resurgence of bed bugs". *Pest Control* 68: 58–64.
- Law, J. H., Regnier, F. E., 1971: „Pheromones". *Annual Review of Biochemistry* 40: 533–48.
- Lee, I. Y., Ree, H. I., Linton, J. A., Yong, T. S., 2008: „Reemergence of the bedbug *Cimex lectularius* in Seoul, Korea". *Korean Journal of Parasitology* 46 (4): 269–71.
- Levinson, H. Z., Levinson, A. R., Müller, R., Steinbrecht, R. A., 1974: „Structure of sensilla, olfactory perception, and behaviour of the bedbug",. *Journal of Insect Physiology* 20: 1231–48.
- Liebold, K., Schliemann-Willers, S., Wollina U., 2003: „Disseminated Bullous Eruption with Systemic Reaction Caused by *Cimex lectularius*". *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV* 17 (4): 461–63.
- Lyons, S. F., Jupp, P. G, Schoub B. D., 1986: „Survival of HIV in the Common Bedbug". *Lancet (London, England)* 2 (8497): 45.
- Marx, R., 1955: „Über die Wirtsfindung und die Bedeutung des artspezifischen Duftstoffes bei *Cimex lectularius* Linné". *Zeitschrift für Parasitenkunde* 17 (1): 41–72.

- Masetti, M., Bruschi F., 2007: „Bedbug Infestations Recorded in Central Italy". *Parasitology International* 56 (1): 81–83.
- Mellanby, K., 1935: „A comparison of the physiology of the two species of bed-bug which attack man". *Parasitology* 31: 111–22.
- Mellanby, K., 1939: „Fertilization and egg production in the bed-bug, *Cimex lectularius* L". *Parasitology* 31 (02): 193–99.
- Miller, J. R., Baker, T. C., Carde, R. T., Roelofs, W. L., 1976: „Reinvestigation of Oak Leaf Roller Sex Pheromone Components and the Hypothesis That They Vary with Diet". *Science (New York, N.Y.)* 192 (4235): 140–43.
- Naylor, R., Boase, C. J., 2010: „Practical Solutions for Treating Laundry Infested With *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae)". *Journal of Economic Entomology* 103 (1): 136–39.
- Nosil, P., Crespi, B. J., Gries, R., Gries, G., 2007: „Natural Selection and Divergence in Mate Preference during Speciation". *Genetica* 129 (3): 309–27.
- Olson, J. F., Moon, R. D., Kells, S. A., 2009: „Off-Host Aggregation Behavior and Sensory Basis of Arrestment by *Cimex Lectularius* (Heteroptera: Cimicidae)". *Journal of Insect Physiology* 55 (6): 580–87.
- Overall, W. L., Wingate L. R., 1976: „The biology of the batbug *Stricticimex antennatus* (Hemiptera: Cimicidae)". *Annals of the Natal Museum* 22: 821–28.
- Panagiotakopulu, E., Buckland P. C., 1999: „*Cimex lectularius* L., the common bed bug from Pharaonic Egypt". *Antiquity* 73: 908–11.
- Pfiester, M., Pereira, M. H., Koehler, P. G., 2009: „Effect of population structure and size on aggregation behavior of the bed bug *Cimex lectularius* L." *Journal of Medical Entomology* 46: 1015–20.
- Pinto, L. J, Cooper, R., Kraft S. K., 2007: *Bed Bug Handbook: The Complete Guide to Bed Bugs and Their Control*. Mechanicsville, Md.: Pinto & Associates,

Inc.. 266 s.

- Potter, M. F., 2008: „The history of bed bug management. Bed bug supplement: lessons from the past". *Pest Control Technol.* 36: 12 s.
- Povolný, D., 1957: „Kritická studie o štěnicovitých (Het. Cimicidae) v Československu. [Review study on cimicids (Het. Cimicidae) in Czechoslovakia] (in Czech)". *Zoologické listy, Folia Zoologica* 6 (10) (1): 59–80.
- Pritchard, M. J., Hwang, S. W., 2009: „Severe anemia from bedbugs". *CMAJ: Canadian Medical Association Journal* 181 (5): 287–88.
- Rancourt, S. J., Rule, M. I., 2005: „Maternity roost site selection of long-eared myotis, *Myotis evotis*". *Journal of Mammalogy - J MAMMAL* 86 (1): 77–84.
- Rassi, A., Jr., Rassi, A., de Rezende, J. M., 2012: „American Trypanosomiasis (Chagas Disease)". *Infectious Disease Clinics of North America* 26 (2): 275–91.
- Reinhardt, K., Harder, A., Holland, S., Hooper, J., Leake-Lyall, C., 2008: „Who knows the bed bug? Knowledge of adult bed bug appearance increases with people age in three counties of Great Britain". *Journal of Medical Entomology* 45 (5): 956–58.
- Reinhardt, K., Naylor, R. A., Siva-Jothy, M. T., 2005: „Potential Sexual Transmission of Environmental Microbes in a Traumatically Inseminating Insect". *Ecological Entomology* 30 (5): 607–11.
- Reinhardt, K., Siva-Jothy, M. T., 2007: „Biology of the Bed Bugs (Cimicidae)". *Annual Review of Entomology* 52: 351–74.
- Richner, H., Oppliger, A., Christe P., 1993: „Effect of an Ectoparasite on Reproduction in Great Tits". *Journal of Animal Ecology* 62 (4): 703–10.
- Romero, A., Potter, M. F., Potter, D. A., Haynes K. F., 2007: „Insecticide resistance in the bed bug: a factor in the pest's sudden resurgence?" *Journal of medical*

entomology 44 (2): 175–78.

- Ryckman, R. E., Bentley, D. G., Archbold, E. F., 1981: „The Cimicidae of the Americas and Oceanic islands, a checklist and bibliography". *Bulletin of the Society of Vector Ecology* 6: 93–142.
- Ryne, C., 2009: „Homosexual Interactions in Bed Bugs: Alarm Pheromones as Male Recognition Signals". *Animal Behaviour* 78 (6): 1471–75.
- Salazar, R., Castillo-Neyra, R., Tustin, A. W., Borrini-Mayorí, K., Náquira, C., Levy, M. Z., 2014: „Bed Bugs (*Cimex Lectularius*) as Vectors of *Trypanosoma Cruzi*". *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, listopad, 14–0483.
- Schuh, R. T., Slater, J. A., 1995: *True Bugs of the World (Hemiptera:Heteroptera): Classification and Natural History*. Cornell University Press. Ithaca, New York. xii + 336 s.
- Siljander, E., Penman, D., Harlan, H., Gries, G., 2007: „Evidence for male- and juvenile-specific contact pheromones of the common bed bug *Cimex lectularius*". *Entomologia Experimentalis et Applicata* 125: 215–19.
- Siljander, E., Gries, R., Khaskin, G., Gries, G., 2008: „Identification of the Airborne Aggregation Pheromone of the Common Bed Bug, *Cimex Lectularius*". *Journal of Chemical Ecology* 34 (6): 708–18.
- Simov, N., Ivanova, T., Schunger I., 2006: „Bat-parasitic *Cimex* species (Hemiptera: Cimicidae) on the Balkan Peninsula, with zoogeographical remarks on *Cimex lectularius*, Linnaeus". *Zootaxa* 2006 (1190): 59–68.
- Singh, N., Wang, Ch., Cooper R., 2013: „Effect of Trap Design, Chemical Lure, Carbon Dioxide Release Rate, and Source of Carbon Dioxide on Efficacy of Bed Bug Monitors". *Journal of Economic Entomology* 106 (4): 1802–11.
- Singh, N., Wang, Ch., Cooper R., Liu, Ch., 2012. „Interactions among Carbon Dioxide, Heat, and Chemical Lures in Attracting the Bed Bug, *Cimex Lectularius* L. (Hemiptera: Cimicidae)". *Psyche: A Journal of Entomology*,

2012. 9 s. Dostupné online: <http://www.hindawi.com/journals/psyche/2012/273613/>.

- Siva-Jothy, M. T., 2006: „Trauma, Disease and Collateral Damage: Conflict in Cimicids". *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 361 (1466): 269–75.
- Southwood, T. R. E., 1954: „The production of fertile eggs by *Cimex pipistrelli* Jenyns (Hem., Cimicidae) when fed on human blood". *The Entomologist's Monthly Magazine* 40: 35.
- Stutt, A. D., Siva-Jothy, M. T., 2001: „Traumatic insemination and sexual conflict in the bed bug *Cimex lectularius*". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (10): 5683–87.
- Thomas, I., Kihiczak, G. G., Schwartz, R. A., 2004: „Bedbug Bites: A Review". *International Journal of Dermatology* 43 (6): 430–33.
- Ueshima, N., 1968: „Cytology and bionomics of *Primicimex cavernis* Barber (Cimicidae: Hemiptera)". *The Pan-Pacific Entomologist* 44 (2): 145–52.
- Usinger, R. L., 1966: Monograph of Cimicidae. Washington, D.C., United States: Entomological Society of America. 601 s.
- Via, S., 2001: „Sympatric Speciation in Animals: The Ugly Duckling Grows up". *Trends in Ecology & Evolution* 16 (7): 381–90.
- Walter, G., 2004: „Überblick zum Vorkommen und zur Biologie von Ektoparasiten (Siphonaptera; Cimicidae; Nycteribiidae; Calliphoridae) bei Fledermäusen in Deutschland". *Nyctalus* 9 (5): 460–76.
- Wang, Ch., Saltzmann, K., Chin, E., Bennett, G. W., Gibb, T., 2010: „Characteristics of *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae), Infestation and Dispersal in a High-Rise Apartment Building". *Medical Entomology* 103 (1): 172–77.
- Wang, Ch, Gibb, T., Bennett, G. W., McKnight S., 2009: „Bed bug (Heteroptera: Cimicidae) attraction to pitfall traps baited with carbon dioxide, heat, and

- chemical lure". *Journal of economic entomology* 102 (4): 1580–85.
- Wattal, B. L., Kalra, N. L., 1961: „New method for the maintenance of a laboratory colony of bed-bug, *Cimex hemipterus* Fabricius, with observations on its biology". *Indian Journal of Malariology* 15 (2): 157–71.
- Wawrocka, K., Balvín, O., Bartonička T., 2015: „Reproduction Barrier between Two Lineages of Bed Bug (*Cimex Lectularius*) (Heteroptera: Cimicidae)". *Parasitology Research* 114 (8): 3019–25.
- Wawrocka, K., Bartonička, T., 2013: „Two different lineages of bedbug (*Cimex lectularius*) reflected in host specificity". *Parasitology Research* 112 (11): 3897–3904.
- Weeks, E. N. I., Logan, J. G., Gezan, S. A., Woodcock, C. M., Birkett, M. A., Pickett, J. A., Cameron, M. M., 2011: „A Bioassay for Studying Behavioural Responses of the Common Bed Bug, *Cimex Lectularius* (Hemiptera: Cimicidae) to Bed Bug-Derived Volatiles". *Bulletin of Entomological Research* 101 (1): 1–8.
- Weeks, E. N., Logan, J. G., Birkett, M. A., Pickett, J. A., Cameron M. M., 2013: „Tracking bed bugs (*Cimex lectularius*): a study of the effect of physiological and extrinsic factors on the response to bed bug-derived volatiles". *Journal of Experimental Biology* 216 (3): 460–69.
- Weidner, H., 1958: „Die Entstehung der Hausinsekten". *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 42: 429–47.
- Wertheim, B., van Baalen, E. A., Dicke, M., Vet, L. E. M., 2005: „Pheromone-Mediated Aggregation in Nonsocial Arthropods: An Evolutionary Ecological Perspective". *Annual Review of Entomology* 50: 321–46.
- Xu, H., Veyrat, N., Degen, T., Turlings. T., C., J., 2014: „Exceptional Use of Sex Pheromones by Parasitoids of the Genus *Cotesia*: Males Are Strongly Attracted to Virgin Females, but Are No Longer Attracted to or Even Repelled by Mated Females". *Insects* 5 (3): 499–512.

7.1 Použité programy

R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>