

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta životního prostředí

Katedra ekologie



**Vliv chladové aklimatizace na termální parametry
poikilotermních živočichů
Bakalářská práce**

Autorka práce: Anna Zrostlíková

Vedoucí práce: Ing. Pavel Jakubec, Ph. D

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Anna Zrostlíková

Aplikovaná ekologie

Název práce

Vliv chladové aklimatizace na termální parametry poikilothermních živočichů.

Název anglicky

Effect of cold acclimatization on thermal parameters of poikilotherms.

Cíle práce

1. Zpracovat literární rešerši na téma vliv teploty na poikilothermní organismy, se zaměřením především na vliv nízkých teplot na vývoj a fyziologii hmyzu.
2. Provést laboratorní experiment, který umožní zhodnotit přítomnost a případně i změřit velikost vlivu chladové aklimatizace na odolnost vůči nízkým teplotám u druhu *Thanatophilus sinuatus*, případně jiných poikilothermních živočichů.

Metodika

Student zpracuje literární rešerši na téma vliv teploty na poikilothermní organismy, se zaměřením především na vliv nízkých teplot na vývoj a fyziologii hmyzu.

Následně student provede experiment na laboratorní populaci druhu *T. sinuatus*, kdy část jedinců bude nejprve vystavena působení nízkých teplot, zatímco druhá nikoliv. U obou skupin bude následně provedeno měření hodnoty kritického termálního minima. Zjištěné hodnoty budou následně statisticky porovnány.

Doporučený rozsah práce

25

Klíčová slova

termální ekologie, entomologie, životní historie

Doporučené zdroje informací

- Andersen, J. L., Manenti, T., Sørensen, J. G., Macmillan, H. A., Loeschcke, V., & Overgaard, J. (2015). How to assess *Drosophila* cold tolerance : chill coma temperature and lower lethal temperature are the best predictors of cold distribution limits. 55–65.
- MacMillan, H. A., & Sinclair, B. J. (2011). Mechanisms underlying insect chill-coma. *Journal of Insect Physiology*, 57(1), 12–20.
- Ramadan, M. M., Abdel-Hady, A. A. A., Guedes, R. N. C., & Hashem, A. S. (2020). Low temperature shock and chill-coma consequences for the red flour beetle (*Tribolium castaneum*) and the rice weevil (*Sitophilus oryzae*). *Journal of Thermal Biology*, 94(June), 102774.

Předběžný termín obhajoby

2023/24 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Pavel Jakubec, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Konzultant

Santiago Montoya-Molina

Elektronicky schváleno dne 22. 2. 2023**prof. Mgr. Bohumil Mandák, Ph.D.**

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 23. 2. 2023**prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.**

Děkan

V Praze dne 16. 03. 2024

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv chladové aklimatizace na termální parametry poikilotermních živočichů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu použitých zdrojů na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne datum odevzdání

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Pavlu Jakubcovi, Ph.D. za poskytování rad, materiálních podkladů a veškerou ochotu a trpělivost, kterou se mnou měl během celého výzkumu. Dále bych chtěla poděkovat Santiagovi Montoya-Molina za pomoc při práci v laboratoři.

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá mrchožravými brouky. Převážně se zaměřuje na druh *Thanatophilus sinuatus* (Fabricius, 1775) z tribu Silphini. V první části je zpracována literární rešerše, která se věnuje celkovému popisu těchto brouků, jejich rozšíření v České republice a v Evropě, a zároveň také termální ekologii a biologii. Dále se zde zabývám konkurencí s druhem *Thanatophilus rugosus* na konkrétních stanovištích. Praktická část pojímá můj vlastní výzkum, ve kterém se snažím pomocí experimentálního testování zjistit vliv aklimatizace na rezistenci k chladu měřenou jako doba zotavení po vystavení chladovému komatu neboli chill coma recovery time (CCRt).

Podářilo se mi prokázat lepší toleranci na chlad u samců brouka *Thanatophilus sinuatus*. Při pokusu se ukázalo, že věk brouka ovlivňuje jeho tolerance vůči chladu. Mladší brouci se z chladového šoku dokázali zotavit rychleji než starší jedinci.

Klíčová slova: entomologie, životní historie, *Thanatophilus sinuatus*, termální ekologie

Abstract

This bachelor thesis deals with carrion beetles. It mainly focuses on the species *Thanatophiles sinuatus* (Fabricius, 1775) from the subfamily Silphinae. The first part includes a literature review that provides a general description of these beetles, their distribution in the Czech Republic and Europe, as well as their thermal ecology and biology. I also investigate competition with the species *Thanatophilus rugosus* at specific sites. The practical part consists of my own research, in which I attempt to determine the influence of acclimatization on cold resistance measured as the chill coma recovery time (CCRT) through experimental testing.

I was able to demonstrate better cold tolerance in male beetles *Thanatophilus sinuatus*. The experiment revealed that the age of the beetle influences its tolerance to cold. Younger beetles were able to recover from cold shock faster than older individuals.

Keywords: entomology, life history, *Thanatophilus sinuatus*, thermal ecology

Obsah

1. Úvod.....	1
1.1 Cíle bakalářské práce	1
<i>Literární rešerše</i>	2
1.2 Taxonomie.....	2
1.3 Morfologie.....	2
1.3.1 Dospělci	2
1.3.2 Larvy	4
1.4 Chemická komunikace	4
1.5 Rozšíření	5
1.6 Stanoviště	7
1.7 Konkurence <i>Thanatophilus sinuatus</i> a <i>T. rugosus</i>	8
1.8 Potrava.....	8
1.9 Forezní entomologie.....	9
1.10 Rozmnožování a rodičovská péče.....	11
1.11 Vnitrodruhová a mezidruhová konkurence	12
1.12 Termální ekologie hmyzu	12
1.12.1 Vliv okolní teploty na vývoje	12
1.12.2 Modely vývoje hmyzu v závislosti na vnějších faktorech.....	14
1.13 Klimatická otužilost hmyzu	16
1.13.1 Sezonní otužování.....	17
1.13.2 Rychlá chladová aklimatizace (RCH).....	18
<i>Praktická část</i>	20
1.14 Materiál	20
1.15 Metodika	21
1.16 Statistická analýza.....	21
1.17 Výsledky	22
1.18 Diskuse.....	24
<i>Závěr</i>	26
<i>Seznam použitých zdrojů</i>	27
1.19 Internetové zdroje.....	37

1. Úvod

Podčeleď Silphinae je druhově poměrně malá, celosvětově obsahuje 186 dosud popsaných druhů ve dvou tributech Nicrophorini a Silphini, přičemž největší diverzita této skupiny je soustředěna v holarktické oblasti (Sikes 2008; Grebennikov & Newton 2012). Tyto brouky lze najít po celém světě v různých prostředích, jako jsou lesy, louky, pole nebo dokonce lidská obydlí. V České republice se prokazatelně vyskytuje 24 druhů (Růžička 2005a). Podčeleď Silphinae je známá svou schopností recyklace organického materiálu a čištění prostředí. Tito brouci hrají klíčovou roli v ekosystému, kde se živí na mršinách a pomáhají rozkládat organický odpad. Jejich schopnost čistit prostředí zemřelých organismů je nejenom užitečná, ale také nezbytná pro udržení zdravého ekosystému. Některé druhy jsou důležité i v zemědělství, protože pomáhají s kontrolou škůdců opylování rostlin, urychlení koloběhu živin nebo s rozkladem organického materiálu (Kočárek & Benko, 1997).

Ve své bakalářské práci jsem se zaměřila na ekologii nekrofágních druhů, kteří se vyskytují v otevřené krajině. Dále se zabývám tolerancí na nízké teploty a následnou rekonvalescencí z chladového kómatu.

1.1 Cíle bakalářské práce

- 1 Vytvořit literární rešerši na téma vliv teploty na poikilotermní organismy se zaměřením především na vliv nízkých teplot na vývoj a fyziologii hmyzu.
- 2 Provést laboratorní experiment, který umožní zhodnotit přítomnost a případně i změřit velikost vlivu chladové aklimatizace na odolnost vůči nízkým teplotám u druhu *Thanatophilus sinuatus*, případně jiných poikilotermních živočichů.

Literární rešerše

1.2 Taxonomie

Brouci z podčeledi Silphinae jsou řazeni do nadčeledi Staphylinoidea, která je součástí řádu Coleoptera. Do této podčeledi se dříve řadili také zástupci čeledí Colonidae, Agyrtidae a Leiodiea (Šustek, 1981; Švec & Růžička, 1993).

Dříve některé studie (Dobler & Müller, 2000) poukazují na genetické rozdíly v podčeledi Silphinae, a tím je zařazují do samostatné monofyletické čeledi, jiní ji řadí pod čeleď Staphylinidae (Sikes, 2005; Cai et al., 2022).

Nejzásadnější rozdíl mezi podčeledí Silphinae a čeledí Staphylinidae je v jejich blanitých tergitech na jejich tělech. Jedinci z čeledi Staphylinidae mají pouze 2 bazální tergity, ovšem u podčeledi Silphinae jsou přítomny 3-4 (Šustek, 1981).

Podčeleď Silphinae obsahuje 186 druhů, které se člení do dvou tribu: Silphini a Nicrophorini (Sikes, 2008). Tribus Silphini zahrnuje 111 druhů (Peck, 2001) řazených do 12 rodů (*Thanatophilus*, *Diamesus*, *Silpha*, *Heterosilpha*, *Heterotemna*, *Necrodes*, *Necrophila*, *Oiceptoma*, *Oxelytrum*, *Dendroxena*, *Ptomaphila* a *Aclypea*). Sikes (2008) zařazuje rody *Phosphuga* a *Ablattaria* jako podrody v rámci rodu *Silpha*. Zbýlých 72 druhů je řazeno do tribu *Nicrophorini*, která je řazena do tří rodů (*Eonecrophorus*, *Nicrophorus* a *Ptomascopus*) (Sikes, 2008).

Podle původních morfologických popisů zahrnuje rod *Thanatophilus* 24 druhů (*Thanatophilus capensis*, *T. coloradensis*, *T. dispar*, *T. lapponicus*, *T. micans*, *T. rugosus*, *T. sinuatus*, *T. trituberculatus*, *T. dentiger*, *T. ferrugatus*, *T. graniger*, *T. grilati*, *T. latericarinatus*, *T. metallescens*, *T. minutus*, *T. pilosus*, *T. porrectus*, *T. roborowskyj*, *T. ruficornis*, *T. sachalinicus*, *T. truncatus*, *T. sagax*, *T. terminatus*, *T. uralensis*) (Novák et al., 2018).

1.3 Morfologie

1.3.1 Dospělci

Do podčeledi Silphinae patří brouci střední velikosti s velikostí těla mezi 10–25 mm. Zbarvení je většinou černé nebo hnědé a u některých druhů se může jednat až o kovovou barvu. Aposematické zbarvení nebo výrazný vzor mají zástupci rodu *Nicrophorus* nebo

Oiceotoma. To zřejmě odpuzuje potencionální predátory, například ptáky (Ratcliffe, 1996; Šustek, 1981).

Tvar těla je vejčitý až středně protáhlý nebo mírně klenutý. U amerického druhu *Necrophila americana* je tvar těla spíše kruhový. Horní strana těla bývá zpravidla holá, zatímco spodní strana je hustě a dlouze ochlupená (Šustek, 1981).

Mírně protáhlá hlava se vyznačuje velmi silnými, zahnutými kusadly, která jsou někdy zakončena dvěma zuby. Čelistní makadla jsou čtyřčlenná nebo pysková, tříčlenná, u kterých je horní pysk překryt hustou řadou tvrdých brv. Klypeus je oddělen od čela horizontálním švem, což je klíčovým znakem pro rozlišení zástupců tribu *Nicrophorini*. V případě absencí švu se jedná o zástupce podčeledi *Silphinae*. Přední část klypeu je někdy blanitá a světlejší. Tykadla jsou kyjovitá nebo jsou zakončena kulatou paličkou. Skládají se z 11 článků. Oči jsou velké a vystupují do stran (Šustek, 1981; Sikes, 2005).

Štít je příčně oválný, polokruhovitý nebo čtvercovitý. Jeho povrch je většinou holý a neobyčejně různotvarý. Štítek je troj nebo pětiúhlý a na špici bývá zaoblený (Šustek, 1981).

Krovky buďto překrývají celý zadeček nebo jsou vzadu uťaté. Na každé krovce jsou často vyvinuta tři podélná žebra. Druh *Dendroxena quadrimaculata* z podřádu *Silphinae* má na krovkách výrazné černé tečky. (Šustek, 1981).

Kyčle jsou velké, kuželovitého tvaru. Příkyčlí jsou někdy na vnější straně trnovitě prodloužena. U samců mohou být zadní stehna zesílena. Holeně jsou u některých druhů přizpůsobeny k hrabání. Chodila jsou vždy pětičlenná. U samců mohou být přední i střední chodidla rozšířená (Šustek, 1981).

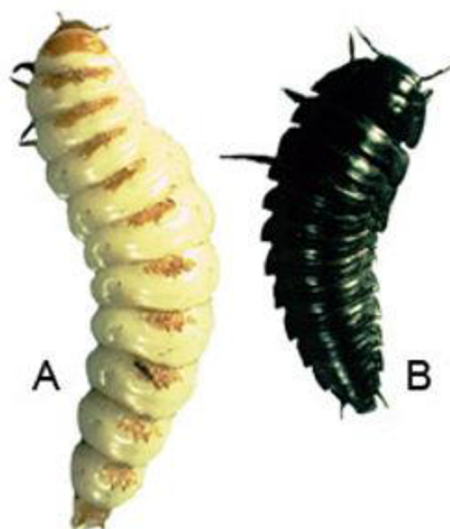
Zadeček se skládá ze šesti vzájemně pohyblivých článků. Na posledním článku se vyskytují krátké štětinky. U *Nicrophorini* je pátý článek obohacen stridulačním orgánem. Ten se při pohybu otírá o spodek krovek a tím vydává nepatrný zvuk (Šustek, 1981; Sikes, 2005).

Rod *Thanatophilus* má rovné vykrojení předního okraje štítu, po stranách ohraničené ostrým trojúhelníkovým zářezem. Zadní okraj štítu je vykrojený pouze po stranách. Štít je nepravidelně světle ochlupený, mezi ochlupením zůstávají holá vyvýšená místa nebo skupiny černých chlupů. Drápky mají zahnutý zoubek. Krovky se třemi žebry a příčnou se boulí v zadní třetině. Krovky jsou vpředu zaoblené. U druhu *T. sinuatus* je rozdílnost zaoblení krovek poznávacím znakem: zda se jedná o samce či samici. Krovky jsou černé barvy s modrým nádechem. Hlava je za očima zaškrncena a špice kusadel je jednoduchá. Velikost těla je v rozmezí 14-16 mm (Šustek, 1981).

1.3.2 Larvy

Larvy Silphini jsou campodeiformní, tmavé a silně sklerotizované a obvykle lesklé (Obr. 1 B). Jejich velikost je 12–40 mm. Na hlavě mají šest pigmentovaných ocell v hloučku u sebe na stranách hlavy. Tergity jsou velké a příčné. Anální laloky mají mnoho jemných zubů. Rodičovská péče u těchto druhů chybí, anebo je velice malá (Ratcliffe, 1996; Růžička 1992).

Larvy Nicrophorini jsou široce eruciformní. Kutikula je bledá a lehce sklerotizovaná, s výjimkou hlavy a nohou, a spodní strana je bílá nebo krémově bílá (Obr. 1 A). Na každé straně hlavy mají pouze jedno nepigmentované složené oko. Abdominální tergity jsou příčné, každý se čtyřmi malými trny a anální laloky postrádají zuby (Duff, 2012).



Obr. 1: Larva *Nicrophorus* sp. (A), Larva *Silpha* sp.(B) (Sikes, 2005)

Larvy druhu *Thanatophilus sinuatus* ve svém vývoji prochází prvním, druhým a třetím instarem. Podrobnější popis larev poskytují níže v kapitole forenzní entomologie. Poslední stádium larvy je kukla, která se mění z černé barvy na bílou. Larvální znaky se mění a jedinec spíše už připomíná imago než larvu (Jakubec et. al, 2019).

1.4 Chemická komunikace

Tykadla patří u hmyzu mezi čichové komunikační orgány, díky kterým brouci přijímají chemické podněty. Chování konkrétního druhu se dá předpovědět díky znalostem reakcí na určitý podnět. Hmyz tedy komunikuje s okolím na základě chemické komunikace. Látky, které slouží k přenosu informací, se nazývají semiochemikálie. Pomocí těchto látek si hmyz vyhledává potravu a také komunikuje mezi pohlavím uvnitř druhu (Hoskovec, 2000).

Podčeleď *Silphinae* má tvar tykadel paličkovitý (Sikes, 2005). Jsou tvořena z 11 různých segmentů. U tribu *Nicrophorini* paličku na konci tykadla tvoří poslední 4 články tykadla, která jsou uspořádána do tykadlového kužele, jenž má smyslovou funkci. Právě díky paličce jsou mrchožrouti schopni ucítit rozkládající se mršinu na velké vzdálenosti.

1.5 Rozšíření

V dnešní době je známo 186 druhů, které se nejvíce vyskytují na severní polokouli (Sikes, 2008). Nevylučují se ovšem další druhy, které nebyly zcela probádány. Podčeleď *Silphinae* pochází ze severní polokoule paleokontinentu Laurasie. Tribus *Nicrophorini*, která zaštiťuje více než šedesát druhů, se vyskytovala na jižní části pevniny Gondway. Předpokládá se, že tyto druhy migrovaly dolů do Jižní Ameriky a přežívají v chladnějším horském klimatu. *Silphini* mají mnohem větší rozšíření než *Nicrophorini*. Pravděpodobně to souvisí s větší druhovou diverzitou a ekologickým věkem (Gabrys et al., 2008).

Sikes (2005) předpokládá, že *Silphinae* jsou pravděpodobně původní druh severních mírných pásem kvůli jejich velké diverzitě převážně v oblasti Asie. Jejich rozšíření sahá do všech kontinentů krom Antarktidy. V teplejších oblastech, jako jsou nížinné deštné lesy, je jejich výskyt velice vzácný. V suchých podnebí je jejich výskyt prakticky nepřítomný. Takovým místem mohou být kupříkladu pouště. Předpokládá se, že tato ekologická omezení mají vliv na jejich expanzi do míst jako je Afrika, Austrálie a Tibet. To dokládají přežívající druhy v severní Africe ve vlhčí horské oblasti. Sahara jim však brání k distribuci na jih (Gabrys et al., 2008). *Silphinae* jsou mnohem tolerantnější k teplejšímu podnebí. Mohlo by to souviset s jejich potravními nároky. Specializují se spíše na větší mršiny, které nemusí bránit před svými konkurenty, jako jsou mouchy a mravenci, kteří se v chladnějším oblastech nevyskytují v takovém počtu (Sikes, 2008).

Podčeleď *Silphinae* je poměrně hojně rozšířena v České republice (Kočárek & Benko, 1997). pro toto území zahrnuje 24 druhů brouků z této čeledi. Devět druhů *Nicrophorini*, 15 *Silphini*. Původem je osm druhů transpalearktického, osm západopalerktivkého, čtyři holoarktického, dva borealpního, dva evropského a dva jsou karpatskými endemity (Švec & Růžička, 1993; Háva & Růžička, 1997). Vědomosti o rozšíření a ekologických nárocích této čeledi jsou poměrně dobře zdokumentovány, což je způsobeno především tím, že se jedná o brouky větších rozměrů. Dále je důležité zmínit, že je snadné je odchytit pomocí padacích pastí, které obsahují návnadu (Farkač et al., 2005). Mrchožroutovití brouci se vyskytují v

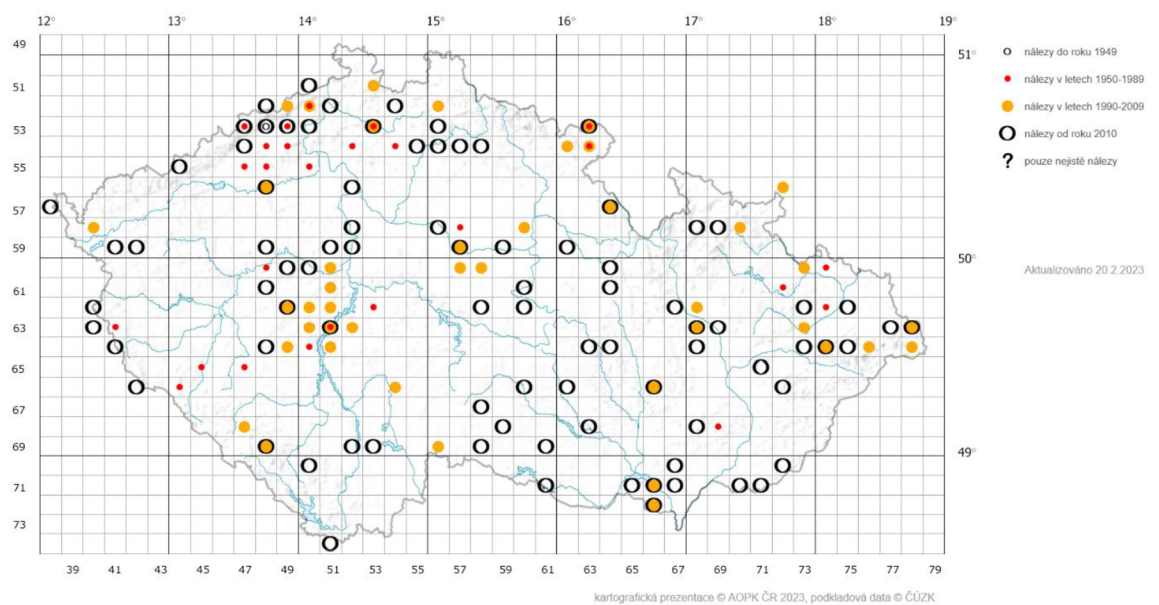
různých typech lesa, ale také na loukách, okrajích polí, mezích a zahradách (Reichholf & Steinbach, 2003).

Rod *Thanatophilus* je široce rozšířený v celé Evropě, Asii, Severní Americe a Jižní Africe (Sikes, 2005; Newton, 2018). Druh *Thanatophilus sinuatus* (Obr. 2) který se vyskytuje od Evropy až po Japonsko, je velmi rozšířený v rámci transpalearktické oblasti (Růžička 2015).



Obr. 2: Mapa zkoumaných lokalit druhu *Thanatophilus sinuatus* (GBIF, 2023)

Na mapce (Obr. 3), která ukazuje rozšíření *T. sinuatus*, můžeme vidět data sbíraná v České republice, která ukazují výskyt po celém území, a to od nížin až do hor.



Obr. 3: Výskyt druhu *Thanatophilus sinuatus* podle záznamů v ND OP (AOPK, 2024)

1.6 Stanoviště

Většina druhů preferuje jen určitý typ biotopu. Mezi druhy, které upřednostňují spíše otevřená stanoviště, patří *Silpha tristis*, *Thanatophilus sinuatus*, *Thanatophilus rugosus*, *Aclypea opaca*, *Aclypea undata*, *Nicrophorus vestigator*, *Nicrophorus vespilo*, *Nicrophorus antennatus*, *Nicrophorus sepultor* a *Nicrophorus germanicus* (Růžička, 1994; Novák, 1962; Šustek, 1981; Kočárek, 2001).

Druhou skupinou jsou druhy lesních porostů (*Nicrophorus investigator*, *Nicrophorus vespilloides*, *Nicrophorus humator*, *Nicrodes littoralis* a *Oiceoptoma thoracicum*) (Šustek, 1981; Růžička, 1994).

Zástupci tribu Nicrophorini vyskytující se na našem území pohřbívají těla malých obratlovců, kde probíhá vývoj nových larev. Z pozorování vyplývá, že hrobařici nejsou příliš úspěšní na písčitých půdách a upřednostňují spíše půdy s výrazným obsahem spráše nebo výjimečně, jako je případ *Nicrophorus vestigator*, na chudých a suchých půdách (Pukowski 1933; Novák 1961, 1965). K tomu se přiklání i studie Jakubce (2015), která poukazuje na sedm mrchožroutů (*Nicrophorus antennatus*, *N. germanicus*, *N. humator*, *N. interruptus*, *N. sepultor*, *Silpha obscura* a *Thanatophilus sinuatus*), jejichž početnost byla výrazně vyšší buď v oblastech s černozemními nebo fluvisolovými půdami. V Severní Americe byl pozorován podobný jev, kde bylo zjištěno, že vyšší hustota hrobařičků je silně spojena s charakteristikami půdy. Na hlubších jílovitých půdách byl nalezen větší počet brouků než na mělkých a kamenitých stanovištích. I zde však bylo zaznamenáno, že některé druhy jsou častější na mělkých a kamenitých půdách, pravděpodobně kvůli nižší konkurenceschopnosti (Looney et al. 2009, Jakubec et. al 2015).

Šustek (1981) tvrdí, že písčité, rychle vysychající půdy a šterkové náplavy jsou pro druhy z rodu *Nicrophorus* nevhodné, a proto se na nich vyskytují jen velmi zřídka (Šustek, 1981). Hlinitější půdy s dostatečnou vlhkostí, které jsou potřebné pro vývoj larev, a nebortícími se stěnami preferují druhy *Nicrophorus germanicus* a *Nicrophorus humator*. *Nicrophorus vestigator* upřednostňuje písčité, lehčí půdy. V takových půdách nejsou přítomny v takové míře rostliny, které by svým prokořeněním ztěžovaly zahrabávání mršiny (Šustek, 1981).

1.7 Konkurence *Thanatophilus sinuatus* a *T. rugosus*

U dvou příbuzných druhů brouků *Thanatophilus sinuatus* a *Thanatophilus rugosus* byly studovány jejich sezónnost, výběr stanoviště, osidlování mršin a jejich preference na velikost mršiny. Vše bylo studováno za přítomnosti larev třetího instaru na tělech prasat vývoji (Fratczak-lagiewska a Matuszewska, 2018).

Larvy brouků *Thanatophilus sinuatus* byly sbírány až do srpna, zatímco výskyt larev *T. rugosus* byl zaznamenán pouze do poloviny června. To by mohlo znamenat, že se tyto dva druhy částečně časově míjejí v jejich vývoji (Fratczak-lagiewska a Matuszewska, 2018). Doba vývoje vykazuje značné rozdíly. *T. rugosus* se vyvíjí rychleji při všech testovaných teplotách ve srovnání s *T. sinuatus*, a také potřebuje mnohem méně času na vývoj ve srovnání s jinými druhy (Montoya-Molina et al., 2021). V kolonizaci uhynulých těl nebyly mezi druhy absolutně žádné rozdíly. *Thanatophilus sinuatus* se rozmnožuje v otevřených a osluněných biotopech zatím co *T. rugosus* preferuje podle studie spíše olšové lesy. Tato studie také ukazuje souvislost s velikostí vyhledávaných mršin u *Thanatophilus sinuatus*. Jedná se o lineární zvýšení v počtu larev. *T. rugosus* takové výsledky nevykazuje (Fratczak-lagiewska a Matuszewska, 2018).

Ze studie vyplívá, že *Thanatophilus sinuatus* a *T. rugosus* odděluje typ stanoviště a jejich sezónnost.

Jiné studie ukazují rozdíly v sezónní aktivitě mezi *T. rugosus* a *T. sinuatus*. Podle této studie se sympatricky příbuzné druhy vyskytují na podobných stanovištích a regulací kompetice je sezónnost (Montoya-Molina et.al., 2021).

1.8 Potrava

Silphinae mají poměrně velikou škálu potravních adaptací. Podle Nováka (1961) se mrchožrouti zpravidla označují za nekrofágy, ovšem ve většině případů se jedná spíše o nekrobionty, jelikož hrobařici jsou draví a přepadávají i jiný hmyz, který hoduje na mršinách, zdechlinách nebo na lesních houbách, a to v podobě jejich larev, a tím odstraňují konkurenty svých budoucích larev. Ikeda (2008) ve své studii uvádí, že některé druhy jsou čistě nekrofágní. King at al. (2015) uvádí, že se krmí červy přednostně před mršinou. Novodobější studie potvrzují, že nekrofágie je hlavním způsobem získávání potravy v dospělosti u druhu *Neicrophila brunnicollis*, ovšem není to jejich jediný způsob obživy. Ve studii se

experimentovalo s potravní preferencí mezi kousky kuřecího masa a larvy bzučivek druhu *Calliphora vomitoria*. Výsledky naznačují, že se nejedná čistě jen o nekrofágy (Jakubec et al., 2020).

Šustek (1981) rozděluje mrchožrouty podle jejich preference potravy do čtyř skupin. U první skupiny je přítomna masožravost a žijí výhradně jako predátoři. Tuto skupinu zaštiťují některé druhy podčeledi Silphinae. *Dendroxena quadrimaculata* jako predátor housenek (Sikes, 2005) a *Phosphuga atrata* a *Ablattaria laevigata*, které se živí převážně měkkýši (Šustek, 1981).

Druhou skupinou jsou zástupci pantofágních druhů, kteří se živí jak lovem, tak mrtvými těly drobných živočichů a někteří dokonce přijímají rostlinou potravu. Patří sem zástupci rodu *Silpha* (Šustek, 1981).

Třetí skupina je tvořena výhradně nebo téměř nekrofágními druhy. U této skupiny se projevila silná mezidruhová a vnitrodruhová potravní kompetice. Sem se řadí zástupci rodů *Thanatophilus*, *Oiceoptoma* a *Necrodes*. Ti jsou po celý svůj život nekrofágní, oproti tomu u rodu *Nicrophorus* jsou nekrofágní jen larvy a dospělci jsou částečně karnivorní.

Čtvrtou skupinu tvoří výhradně fytofágní druhy rodu *Aclypea* (Sikes, 2005). *Aclypea undata*, *Aclypea souverbii* a *Aclypea opaca* jsou druhy, které se vyskytují na území České republiky (Šustek, 1981). *Aclypea souverbii*, který se také vyskytuje na našem území, je zapsaný v Červeném seznamu ohrožených druhů České republiky (Růžička a Jakubec, 2017).

Zástupci rodu *Thanatophilus* (*T. sinuatus* a *T. rugosus*) jsou vázání na mršiny oproti hrobařikům. Mohou se také vyskytovat pod exkrementy a podobnými hnilými organickými látkami, kde hledají potravu (Petruška, 1964). *T. sinuatus* jsou přitahovány jakýmkoli druhem mršín, ale upřednostňují spíše větší.

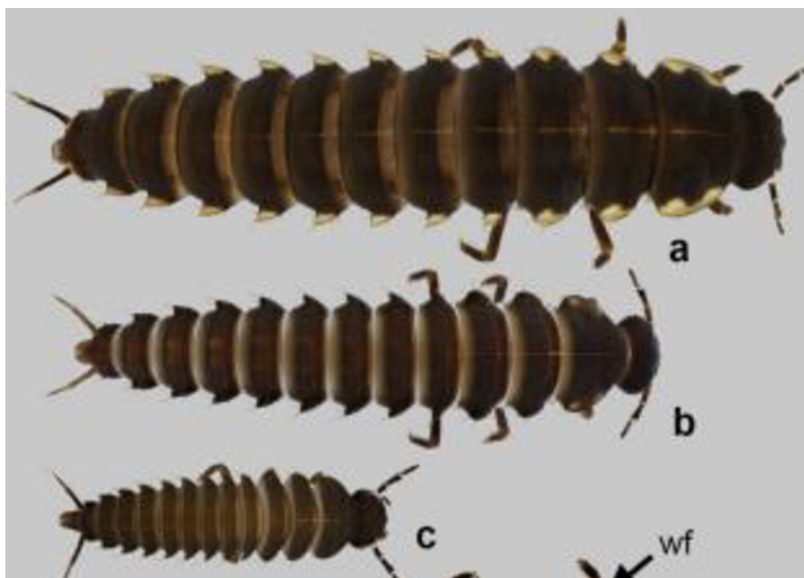
1.9 Forenzní entomologie

Larvy hmyzu jsou jedním z nejdůležitějších důkazů při vyšetřování nejzávažnějších násilných trestných činů, a to z toho důvodu, že nám mohou napovědět dobu smrti oběti (tzv. post-mortem interval (PMI)). Pokud je nalezená mrtvola kolonizována hmyzem, mohou nastat dvě varianty. První varianta je nalezení mrtvoly, která je kolonizována pionýrským druhem (druh, který osidluje nově vzniklá stanoviště). Studie se v posledních letech zabývaly mrchožrouty, a to konkrétně *Thanatophilus micans* (Fabricius, 1794), (Ridgeway et al., 2014), *T. mutilatus* (Castelneau, 1840) (Ridgeway et al., 2014) a *Oxelytrum discicolle* (Brullé, 1840) (Velásquez & Vilorio, 2009). Forenzní entomologie se zabývá zjišťováním minimální doby

od smrti jedince k nálezu těla pomocí přítomnosti a vývojových stupňů hmyzu (Klimešová et al., 2015). Tato doba je známa jako post mortem interval (PMI). Výzkumem posloupnosti hmyzu na těle bylo prokázáno, že se hmyz objevuje na těle v několika vlnách podle dostupnosti atraktivního zdroje pro konkrétního druh (Šuláková, 2014). Druhým případem je, pokud je mrtvola nalezena až ve fázi kolonizace pozdějšími nekrofágy. Ti mršinu kolonizují až potom, co ji opouštějí pionýrské druhy. PMI potom lze odhadnout pomocí analýzy chronologické sukcese (Amendt et al., 2007; Lefebvre et al., 2009).

Vzorky hmyzu jsou ve většině případů odebírány neodborníky, a to zkresluje PMI. Jedním z rodů, který by mohl být jedním ze spolehlivých ukazatelů, je rod *Thanatophilus*, o který se forenzní entomologové začali zajímat poměrně nedávno. Zdá se, že preferují dřívější stadia rozkladu a mohou se začít množit během prvních 24 hodin po smrti (Midgley & Villet 2009, Midgley et al. 2010).

Thanatophilus sinuatus má velice široké rozšíření, a to nejen v Evropě. Jejich larvy se živí rozkládajícími se tkáněmi po celou dobu vývoje. To z něj dělá potenciálně užitečného bioindikátora pro forenzní entomologii (Jakubec et al., 2019). Druh *T. sinuatus* nahrazuje druh *Calliphora vicina* z čeledi *Calliphoridae* v chladnějších částech roku. Jednotlivé instary larev *Thanatophilus sinuatus* mohou být rozlišeny pomocí zbarvení hřbetní strany (Obr. 3). Třetí instar má na okraji těla bílé lemování. Druhý instar má pouze malé bílé znaky uprostřed jednotlivých článků těla, zatímco první instar je jednotně tmavý a velice se podobá instaru rodu *Thanatophilus rugosus* (Jakubec et al., 2019).



Obr. 3: *Thanatophilus sinuatus* a) třetí instar, b) druhý instar, c) první instar larvy (Jakubec, 2019)

1.10 Rozmnožování a rodičovská péče

Rozmnožování mrchožroutů úzce souvisí s vyhledáváním potravy. Silphidae mají na tykadlech specializované chemoreceptory, které jim pomáhají naleznout rozkládající se mršiny na velké vzdálenosti (Scott, 1998). Hledání potravy je prováděno buďto aktivním způsobem, anebo způsobem pasivním. Imago buďto může aktivně létat nad zemí a hledat potravu, nebo může pasivně čekat na zemi a snažit se zachytit pach rozkládající se mrtvoly.

Druhy podčeledi Silphinae si vybírají mršiny, které váží více než 300 gramů (Sikes, 2005). Tyto druhy si vybírají velké mršiny, protože se nestarají o své potomstvo a nemusí mršinu pohřbívat. Dospělí jedinci kladou vajíčka pod mršinu nebo v její blízkosti. Po naklazení se vajíčka líhnou cca za 4-5 dní. Larvy se následně živí samy na mršině, dokud nedokončí svůj vývoj (Johnson, 1974). Silphinae obvykle kolonizují mršinu v ranném nebo středním stádiu rozkladu, což zapříčiňuje konkurenci s mouchami (Diptera) (Andersonc, 1982b).

Tribus Nicrophorinae upřednostňuje malé mršiny menší než 100 gramů. Samci si vybírají vhodnou mršinu, u které mohou potkat samičku, nebo se snaží přilákat samičku pomocí vylučování feromonů. Tyto dvě rozdílné strategie si vybírají podle fáze dne, ve které se nacházejí (Eggert, 1992). Po nalezení mršiny ji zahrabou pod zem. Pokud se u mršiny nacházejí oba partneři, pohřbívání provádějí společně. V případě, že je přítomná jen samice, pohřbívá mršinu sama a klade vajíčka, která si oplodní ze spermatu, které má schované ve spermatece z předchozího páření (Sikes, 2008). Po pohřbení hrobařici mrtvolu zpracovávají do tvaru koule a zbaví ji chlupů nebo peří (Pukowski 1933). Samice vybuduje kuželový otvor do tzv. potravní koule a používá sekret, který vylučuje z úst a zadečku, aby zabránila rozkladu způsobeném mikroorganismy (Sikes 2008). O potomstvo následně pečují oba jedinci. Samci poskytují potomkům převážně ochranu před potencionálními predátory a konkurenty. Také pravidelně čistí vajíčka, než se z nich vylíhnou larvy. Zárodeční vývoj vajíček trvá cca 5 dnů. Po vylíhnutí samice vede larvy pomocí bunování nohou a stridulování k potravní kouli, kterou vytvořila se samicem, než nakladla vajíčka, kde je nakrmí natráveným masem, které je vylučováno ve formě kapiček.. Larvy se zahrabávají do koule po druhém svlékání a přecházejí na samostatný způsob života. Larvální stádium trvá cca 7 dní. Poté se larvy zahrabou do země a zakuklí se. Hloubka kuklení závisí na vlhkosti půdy. Stádium kukly trvá

cca 14 dní (Sikes 2008, Pukowski 1933). Poměr vylíhnutých samic a samců je vyvážený. V populaci je tedy poměr 1:1 (Špicarová, 1982).

1.11 Vnitrodruhová a mezidruhová konkurence

Limitním potravním zdrojem je mršina, která je velice rychle spotřebovávaná. Tím tedy dochází k velice silné mezidruhové a vnitrodruhové potravní konkurenci. Silphinae a Nicrophorinae si na mršinách konkurují jen velmi zřídka. To zapříčiňuje jejich odlišná preference velikosti mršiny (Sikes 2008).

Silphini si vybírají mršiny většího vzrůstu, a to z důvodu, že jejich larvy mají dlouhou dobu vývoje. Zajišťují tím, že na mršině zůstane i nadále velké množství potravy po konkurentech, kteří se vyvíjejí rychleji. Velice častými konkurenty jsou velmi početné mouchy, které mají ovšem rychlejší vývoj. (Anderson, 1982a).

Nicrophorini se částečně vyhýbají konkurenci tím, že mršinu zahrabávají do země. Konkurenci jednotlivých druhů částečně omezuje cirkadiální aktivita, prostorová izolace, ale i specializace na stupeň rozkladu mršiny. I přesto bývá na mršině větší počet brouků různých druhů. Větší jedinci vytlačují z mršin menší jedince a dochází k jejich vzájemnému napadání a požírání. Mezi samicemi je mnohem větší rivalita než mezi samci (Springett 1968, Anderson 1982a, Ratcliffe 1996, Sikes 2008).

Ve vzájemných soubojích hraje hlavní roli velikost jedince, avšak nezáleží na pořadí, ve kterém mršinu obsadili (Scott, 1998). Poražení jedince však nemusí znamenat jeho vyloučení z reprodukce na mršině. Poražené samice se nevzdalují od mršiny a snaží se podstrčit svá vajíčka tak, aby se o ně starala dominantní samice. Pokud si vítězný samec neohlídá samičku, může dojít ke kopulaci s jiným samcem. Potomci z jedné snůžky potom mají více otců. Samice může být oplodněna i mimo mršinu dominantním samcem a ta pak zakládá novou generaci bez jeho přítomnosti (Bartlett a Ashworth, 1988).

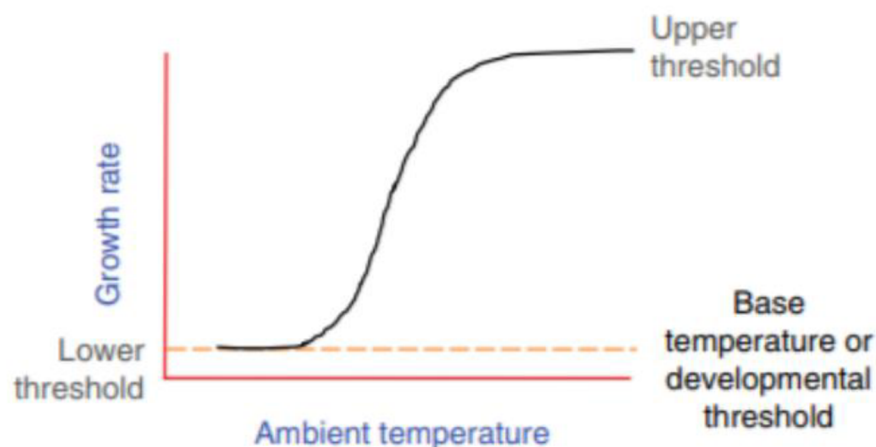
1.12 Termální ekologie hmyzu

1.12.1 Vliv okolní teploty na vývoje

Hmyz je závislý na teplotě okolí, protože je poikilotermní ektoterm. To znamená, že nemá schopnost udržovat stálou vnitřní teplotu pomocí metabolického tepla. Namísto toho se jeho tělesná teplota přizpůsobuje podmínkám v okolním prostředí. Pokud se teplota v prostředí zvýší nebo sníží, odpovídajícím způsobem se mění i vnitřní teplota hmyzu, který je přímo vystaven vnějšímu prostředí (Rivers a Dahlem, 2014).

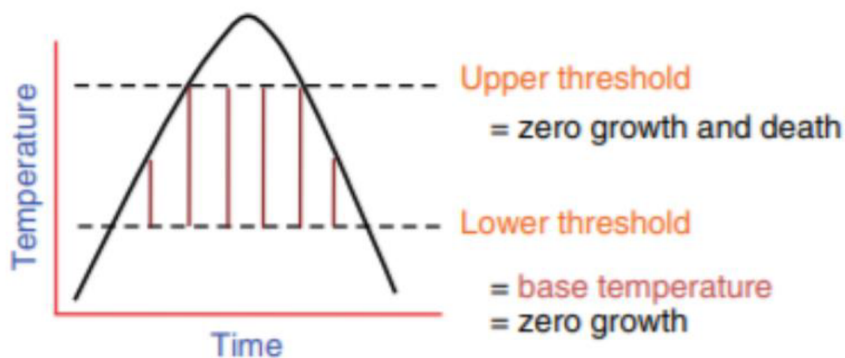
Tepelná tolerance je rozsah teplot, ve kterém hmyz může provádět metabolické procesy a přežít neomezenou dobu. Když teploty stoupnou nad kritickou maximální hodnotu nebo klesnou pod kritickou minimální hodnotu, dochází k inhibici buněčných reakcí, což brzdí růst a vývoj. Pokud neexistuje dostatečně dlouhé období s vhodnými teplotami nebo pokud jsou teploty neočekávaně nebo rychle mimo rozsah tepelné tolerance, může dojít k poškození nebo smrti (Rivers a Dahlem, 2014).

V čase se mohou teploty vzduchu a půdy lišit, a to může ovlivnit rychlost vývoje pro daný druh během specifických fází vývoje (Rivers a Dahlem 2014). Jedna z nejdůležitějších závislostí ektotermických organismů na tepelných podmínkách prostředí je vyjádřena pomocí vztahu mezi teplotou a rychlostí vývoje, který je inverzní hodnotou délky vývoje (Kipyatkov a Lopatina 2010). Tento vztah je znázorněn na sigmoidní křivce na obrázku 4 (Rivers a Dahlem 2014).



Obr. 4: Křivočarý vztah mezi rychlostí vývoje a okolními teplotami znázorněný sigmoidní křivkou (Rivers a Dahlem 2014).

Podle teploty se mění rychlost vývoje – při nižší teplotě se vývoj zpomaluje až zastaví, zatímco při vyšší teplotě se vývoj zrychluje a dosahuje největší rychlosti při optimální teplotě. Mezi těmito extrémními teplotami je rychlost vývoje lineární viz obrázek 5. Po překročení optimální teploty se lineární vztah ztrácí a rychlost vývoje klesá až se zastaví při další nižší teplotě (Rivers a Dahlem 2014).



Obr.5: Model sinusových vln vývoje v závislosti na čase a teplotě. Mezi prahy je růst považován za lineární (Rivers a Dahlem 2014).

1.12.2 Modely vývoje hmyzu v závislosti na vnějších faktorech

1.12.2.1 Lineární modely

Jedním z klíčových faktorů ovlivňujících růst a vývoj ektotermních organismů je teplota prostředí. Existuje několik matematických modelů, které popisují vztah mezi teplotou a rychlostí růstu a časem vývoje. Tyto modely jsou založeny na předpokladu lineárního vztahu mezi teplotou a vývojem v rozsahu teplot ekologicky významných (Kipyatkov a Lopatina 2010). V kvantitativní analýze experimentálních dat týkajících se této závislosti se často používá tzv. zákon o celkové efektivní teplotě, který je vyjádřen pomocí lineárního vzorce 1:

$$k = D(T - t),$$

vzorec 1

kde D vyjadřuje délku vývojového stádia udávána ve dnech nebo v hodinách; T je teplota prostředí vyjádřena ve °C; t odhadovaná nulová teplota vývoje (LDT) a k je konstanta vyjadřující sumu teplot potřebných k vývoji určitého stádia (SET) (Ikemoto a Takai 2000, Kipyatkov a Lopatina 2010).

Důležité jsou dvě tepelní konstanty, LDT a dd nad LDT pro dokončení fáze vývoje. Obě tyto konstanty odrážejí, jak rychlost ontogenetického vývoje závisí na teplotě. Tyto konstanty se zejména hodí pro predikci časování událostí v životních cyklech, jako jsou vajíčka a kukly, kde vývoj závisí především na vnitřních procesech (Honěk a Kocourek 1988).

Pro odhad SET a LDT lze použít model lineární regrese:

$$R = aT + b$$

Vzorec 2

Kde R je rychlost vývoje vyjadřující proměnou část za určitou dobu (hodina, den), a je koeficient sklonu lineární regrese a b je koeficient lineární regrese rychlosti vývoje určující bod, ve kterém sprotne regresivní křivka osu y (Kipyatkov a Lopatina 2010).

1.12.2.1.1 Nahromaděné počty hodin / dnů (ADD / ADH)

Hodnoty ADH reprezentují určitý počet "energetických hodin", které jsou potřebné pro vývoj larev hmyzu. Koncept denního nebo hodinového stupně předpokládá, že vývojová rychlost je úměrná teplotě v daném teplotním rozsahu specifickém pro konkrétní druh. Nicméně, vztah mezi teplotou a vývojovou rychlostí je obvykle zakřivený při velmi vysokých a nízkých teplotách a lineární pouze mezi nimi. Vzorec 5 pro výpočet ADH je definován vztahem:

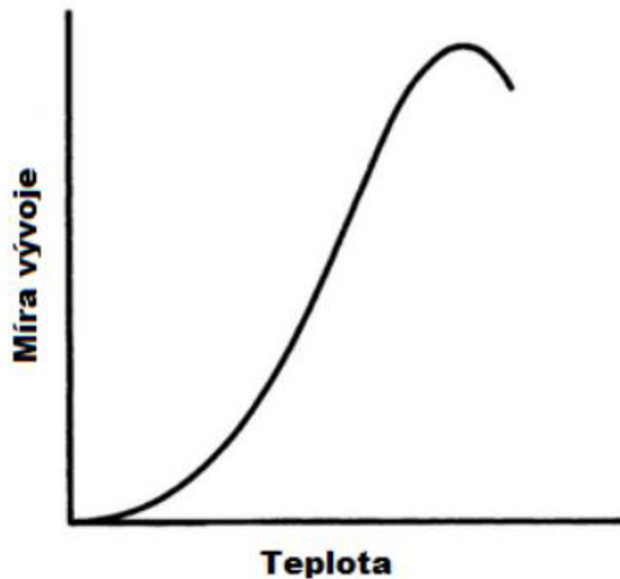
$$ADH = T \cdot (\theta - \theta^{\circ})$$

vzorec 3

Kde T je doba vývoje, θ je teplota okolí a θ° je minimální vývojová prahová teplota, specifická hodnota pro druh (vývojová nula), která je zachycením a je vypočtena metodou lineární aproximace (Sharma et al. 2015).

1.12.2.2 Nelineární modely

Jedním hlavním důvodem pro použití nelineárních modelů je skutečnost, že pro některé druhy může být fatální překročení limitních teplot. Toto překročení může vést k zastavení vývoje nebo dokonce úplné likvidaci daného druhu, zejména pokud jsou teploty okolí stabilně pod minimální nebo nad maximální hodnotou. Základní vlastností nelineárního modelu je zakřivení křivky v bazální (oblast nejnižší teploty) a maximální teplotě, zatímco teplotní rozsah mezi těmito hodnotami zůstává lineární. (Byrd a Castener, 2001) Na následujícím obrázku (Obr. 6) je zobrazen příklad idealizované křivky tohoto nelineárního modelu.



Obr. 6: Křivka závislosti vývoje hmyzu na teplotě v nelineárním modelu (Byrd a Castener, 2001)

Jeden základní nelineární model, který zohledňuje tuto skutečnost, byl vytvořen v roce 1977 a je znám jako model Sharp a DeMichele. Tento model nejenom zahrnuje lineární křivku teplotního vývoje, ale také zohledňuje inhibici způsobenou řízenou enzymatickou inaktivací. Kromě toho bylo také vytvořeno několik dalších rozšířených nelineárních modelů, jako je například teplotně-závislý model Stinnera, který integruje vývoj hmyzu nad určitou maximální hodnotou a využívá sigmoidovou křivku, a Loganův model, který převádí míru vývoje za maximální teplotou na záporné hodnoty. (Byrd a Allen, 2000).

Nelineární modely jsou založeny na provedených měřeních, které zkoumají, jak teplota ovlivňuje vývoj jedince v konkrétním stádiu. K dosažení co nejpřesnějšího popisu vlivu teplotních výkyvů a zahrnutí teplotních odchylek pod minimální nebo maximální teplotou se využívá řada iterativních modelů. (Damos a Savopoulou-Soultani, 2012).

1.13 Klimatická otužilost hmyzu

Chladné počasí představuje pro hmyz v mírných a polárních oblastech jednu z hlavních výzev. Kvůli své malé tělesné velikosti a způsobu regulace teploty je hmyz náchylný k rychlé ztrátě tepla do okolního prostředí. Proto musí být schopen přežít nepříznivé teploty. Hmyz je zřídka přirozeně odolný vůči mrazu a obvykle se spoléhá na různé metody otužování, aby se připravil na extrémně nízké teploty (Salt, 1961).

Nicméně, existuje mnoho druhů hmyzu, které jsou citlivé na nízké teploty a ztrácí svou funkci i při teplotách vyšších než bod mrazu (Bale, 1996; Kalushkov, 2000; Košťál et al., 2004; MacMillan a Sinclair, 2011). Tato ztráta funkce se projevuje zastavením pohybu a hmyz upadá do chladového kómatu při tzv. kritickém tepelném minimu. Tento stav je zpravidla reverzibilní při mírném chladu, ale pokud je vystavení chladu dlouhodobé nebo intenzivní, může hmyz trpět poraněními chladem a nakonec zemřít (Gibert et al., 2001; Košťál et al., 2004; Anderson et al., 2005; Košťál et al., 2006; MacMillan a Sinclair, 2011a).

Většina hmyzu může být rozdělena do dvou skupin – těch, kteří jsou citliví na mráz, a těch, kteří jsou odolní vůči mrazu (Hawes & Bale, 2007). Hmyz citlivý na mráz, také nazývaný mrazuvzdorný nebo mrazem postižený hmyz, musí zůstat v tzv. podchlazeném stavu při teplotách pod bodem mrazu, protože jim vnitřní tvorba ledu škodí. Naopak hmyz odolný vůči mrazu může přežít vnitřní tvorbu ledu, pokud jsou ledové krystaly pouze mimo buňky. Tato skupina hmyzu má obvykle vyšší bod podchlazení, což chrání jejich tělo před poškozením ledem při extrémně nízkých teplotách (Lee, 2010).

1.13.1 Sezonní otužování

Sezonní otužování chladem je proces, při kterém hmyz využívá vnějších podnětů, jako je změna teploty a délky světelného dne, k vyvolání fyziologických změn zvyšujících schopnost přežít v chladu (Denlinger, 1991)

Prvním způsobem, jak hmyz přežívá zimní období, je shromažďování nízkomolekulárních látek ochranných proti mrazu (Salt, 1961; Lee, 2010). Nejčastěji pozorovanými látkami u přezimujícího hmyzu, jsou cukerné alkoholy s nízkou molekulovou hmotností, jako je glycerol, sorbitol a inositol. Tyto látky napomáhají stabilizaci membrán a proteinů, zvyšují schopnost buněk přežít extrémních teplot a chrání je před osmotickým stresem (Yancey, 2005). Kromě cukerných alkoholů existují i další třídy sloučenin, které jsou uznávány jako kryoprotektanty. Trehalóza, která je krevním cukrem hmyzu, působí jako akumulovaná kryoprotekce u mnoha druhů během různých sezón (Thompson, 2003).

Teorie nazývaná homeoviskózní adaptace tvrdí, že organismy by měly upravit své membránové složení při nízkých teplotách, aby si udržely správnou úroveň fluidity membrány (Sinensky, 1974; Košťál, 2010). I když je tento přístup běžným způsobem, jak se organismy přizpůsobují chladu, existuje několik různých biochemických mechanismů, které to mohou uskutečnit. Nejprve lze zvýšit fluiditu membrány přidáním více nenasycených mastných kyselin do buněčné membrány (Bennett & Lee, 1997). Dále, mastné kyseliny s kratším

řetězcem mají nižší bod tání než ty s delším řetězcem, takže různé druhy preferují vyšší podíl 16uhlíkatých mastných kyselin místo 18uhlíkatých (Michaud & Denlinger, 2006; Tomčala et al., 2006). Nakonec, poloha nenasycených mastných kyselin a mastných kyselin s kratším řetězcem ve glycerofosfolipidech také ovlivňuje fluiditu membrány, a nejen samotné zvýšení jejich množství (Overgaard et al., 2008). Konečně membránová fluidita může být zvýšena restrukturalizací polárních hlavních skupin membránových fosfolipidů; glycerofosfoethanolaminy na úkor glycerofosfocholinů podporují poruchu membrány při nízké teplotě (Košťál, 2010).

Důležitá role buněčné membrány během reakcí na chlad během různých období se projevuje v změnách transportních vlastností membrány. Postupná aklimatizace na chlad snižuje nebo odstraňuje nerovnováhu iontů v reakci na nízkou teplotu, což napomáhá rychlejšímu zotavení z chladového stavu (Košťál et al., 2004, 2006).

Na genetické úrovni jsou proteiny tepelného šoku klíčovými složkami diapauzy a aklimatizace na chlad. Tyto proteiny obsahují molekulární chaperony, které pomáhají při skládání denaturovaných proteinů během stresových podmínek (Feder & Hofmann, 1999). Proteiny tepelného šoku jsou aktivovány během diapauzy u různých druhů hmyzu, včetně *Bombyx mori* (Moribe et al., 2010), kukly *Sarcophaga crassipalpis* (Yocum et al., 1998; Rinehart et al., 2000) a *Leptinotarsa decemlineata* (Yocum, 2001). Experimenty prokázaly, že tyto geny nejen spolupracují s chladem, ale jsou též nezbytné pro zajištění chladové tolerance.

1.13.2 Rychlá chladová aklimatizace (RCH)

Hmyz dokáže rychle zvyšovat svou odolnost vůči chladu pomocí procesu nazývaného rychlá chladová aklimatizace (RCH), který probíhá v krátkém časovém úseku (Teets et al. 2013). RCH umožňuje hmyzu rychle zvýšit svou odolnost vůči chladu, což jim pomáhá přežít náhlé mrazy a pravidelné poklesy teploty během několika minut až hodin (Teets et al., 2013).

Dospělci *S. crassipalpis* syntetizují glycerol jako reakci na RCH, což zvyšuje jeho koncentraci na přibližně 80 μm , téměř čtyřikrát více než původně (Chen et al., 1987). I když tato koncentrace glycerolu není v porovnání s některými přezimujícími hmyzem vysoká, pozdější studie naznačují, že i malé množství glycerolu může zvýšit odolnost proti chladu (Yoder et al., 2006).

Nedávné studie pomocí metabolomiky potvrdily, že metabolické změny jsou důležitou součástí regulace RCH. U *S. crassipalpis* byla zaznamenána akumulace glycerolu, alaninu, glutaminu, sorbitolu a glukózy během procesu chladového tvrdnutí (Michaud & Denlinger,

2007). Zvýšená akumulace pyruvátu a dalších metabolitů ukazuje na zvýšenou závislost na glykolýze během tohoto procesu, což by mohlo poskytnout energii a substráty pro další fyziologické funkce (Michaud & Denlinger, 2006).

Stejně jako při sezónní aklimatizaci, i RCH jsou buněčné membrány důležitým cílem. U *S. crassipalpis* dochází k zvýšení obsahu kyseliny olejové, což vede k zvýšení fluidity membrány při nízkých teplotách (Michaud & Denlinger 2007, Lee et al., 2006a). Další chemické úpravy fosfolipidových skupin v reakci na chladové tvrdnutí mohou dále zvyšovat fluiditu membrány (Michaud & Denlinger, 2006).

V další studii byly zkoumány účinky RCH na distribuci draslíku v mozku *D. melanogaster*. Překvapivě mouchy vystavené RCH měly větší poruchy v homeostáze draslíku během chladového kómatu, ale zároveň se zotavovaly rychleji než mouchy vystavené přímo chladovému kómatu (Armstrong et al., 2012).

Izolované tkáně *S. crassipalpis* a *Belgica antarctica* jsou schopné rezistence vůči chladu, jak ukázali Yi & Lee (2004) a Teets et al. (2008). I když je zjištěno, že přítomnost mozku zvyšuje účinnost této rezistence (Yoder et al., 2006), je jasné, že signální dráhy zprostředkované buňkami mohou samy o sobě indukovat RCH, aniž by byl mozek a neurohormony naprosto nezbytné.

Jedním z negativních účinků chladového šoku je spuštění procesu buněčné smrti zvané apoptóza (Yi et al., 2007; Yi & Lee, 2011). Přestože konkrétní mechanismy, které vedou k chladem indukované apoptóze, nejsou zcela známé, zdá se, že může být způsobena nerovnováhou vápníku a poruchou mitochondrií, které jsou známy jako spouštěče apoptózy v různých živočišných organismech (Kroemer et al., 1998). Uvnitř *D. melanogaster* a *S. crassipalpis* RCH potlačuje apoptózu indukovanou chladem (Yi et al., 2007; Yi & Lee, 2011), což umožňuje buňkám přežít za jinak fatálních podmínek. Původně se zdálo, že tyto výsledky jsou paradoxní, protože apoptóza obvykle slouží jako ochranný mechanismus ke zničení poškozených buněk (Kroemer et al., 1998). Nicméně během chladového šoku dochází k nadměrné aktivaci apoptotické dráhy, což způsobuje, že více než 75 % buněk umírá skrze apoptózu (Yi & Lee, 2011). Zde je tedy inhibice apoptózy pomocí RCH prospěšná, protože brání nadměrné apoptotické buněčné smrti.

Praktická část

1.14 Materiál

Chov jsem přebrala od předešlého studenta. Odebraní brouci byli náhodně rozděleni do skupin tak, aby v boxu byli přítomni jak samci, tak samice, a byl tak zajištěn dostatečný přísun nových potomků pro další výzkumy. Brouci byli chováni v plastových boxech s vrstvou zeminy, dostatečným množstvím vody, která byla umístěna ve zkumavce a uzavřena kusem vaty, která poskytovala průsak, a malým kouskem vepřového masa, které sloužilo jako potravní zdroj. Půda byla několikrát týdně lehce postříkána vodou z vodovodu, aby se zajistila dostatečná vlhkost půdy. Voda a maso bylo broukům doplňováno dle potřeby. Boxy byly umístěny v klimatických komorách při teplotě 17–20 °C.

Vajíčka brouků byla velice malá a po naklazení do substrátu byla extrahována do samostatných Petriho misek po jednotlivých snůškách.

Zahájení mého vlastního chovu proběhlo v září roku 2022. Nejprve jsem počkala, až brouci nakladou dostatečné množství vajíček. Vajíčka byla odebrána do Petriho misek s malým množstvím hlíny a kouskem vepřového masa a umístěna do klimatických boxů při teplotě 20 °C. Celá Petriho miska byla zajištěna gumičkou. První přeměny z vajíček na larvy prvního instaru proběhly cca za týden.

Larvy prvního instaru byly rozděleny do Petriho misek po pěti larvách. Potrava se zeminou byla poskytnuta stejným způsobem jako u vajíček. Larvy byly drženy ve stejné misce, dokud nedosáhly třetího instaru.

Larvy třetího instaru byly rozděleny za stejných podmínek do větších (60 × 15 mm) Petriho misek po třech, aby jim byl zajištěn dostatek prostoru pro další vývoj a pro tvorbu kuklí komůrky. Tím byl minimalizován případný kanibalismus. Larvy třetího instaru se přeměnily do kukly. Během 14 dnů dokončovaly svůj vývoj do dospělého jedince.

Dospělí jedinci byli vyjmuti z Petriho misek a vloženi do plastových boxů o velikosti 180 × 110 × 125 mm. Box byl naplněn zeminou, masem a zkumavkou s vodou jako v předchozím chovu. Dospělých jedinců bylo na začátku experimentu 50, z toho 29 samců a 21 samic.

1.15 Metodika

Experiment byl zahájen začátkem listopadu 2022. Běhy byly celkem čtyři. Nejprve jsem si rozdělila brouky na dvě skupiny. První skupina byla připravena na chladový šok pomocí metody cold hardening. Proces, při kterém hmyz zvyšuje svou odolnost vůči chladným teplotám prostřednictvím fyziologických změn a adaptací. Vystavováním se postupně klesajícím teplotám může hmyz spustit mechanismy, které jim umožní přežít v chladných podmínkách (Lee et al., 1987). Druhá skupina brouků sloužila jako kontrolní.

První skupina brouků byla vyjmuta z boxů a rozdělena po jednom do jednotlivých zkumavek na pěnovém podstavci. Zkumavky byly zavřeny kusem vaty. Termální lázeň Lauda TB-L pomalu snížila teplotu na 0 °C. Po dosažení 0 °C byli brouci ponořeni na jednu hodinu do nemrznoucí kapaliny uvnitř lázně. Po jedné hodině byly brouci vyjmuti a ponecháni cca jednu hodinu k regeneraci při pokojové teplotě cca 19 °C. Po jedné hodině byli brouci znovu ponořeni do tekutiny při teplotě - 2,5 °C po dobu jedné hodiny. Teplota -2,5 °C brouky uvedla do chladového kómatu. Vyjmutí brouci byli ponecháni, aby se zotavili při pokojové teplotě a byla zaznamenána doba zotavení z chladového kómatu (CCRt) pomocí stopky. Brouci, kteří v nehybnosti setrvali více než 10 minut jsem označila jako NA (bez odezvy).

Druhá skupina sloužila jako kontrolní skupina. Brouci byli vystaveni teplotě přímo - 2,5 °C po dobu jedné hodiny. Po vyjmutí byli ponecháni, aby se zotavily z chladového šoku a CCRt se zaznamenávala stejným způsobem.

Brouci byli poté zváženi na mikrováze typu HCB 123 a podle vnějších znaků (zářez na konci krovek u samic) se určilo pohlaví.

Při druhém běhu se skupiny testovaných brouků otočily. Z jedinců, na kterých bylo testováno cold hardening, se stala skupina kontrolní a naopak. Třetí běh probíhal jako první a čtvrtý běh probíhal jako druhý.

1.16 Statistická analýza

Vysvětlovaná proměnná v lineárním modelu s normálním rozdělením chyb byla CCRt. Dále jsme měli tři vysvětlující proměnné, váhu jedince, pohlaví a teplotní režim, kterému byl vystaven.

Správa dat a veškeré analýzy byly provedeny pomocí statistického programu R (R Core Team 2020). Hranice pro p hodnotu byla 0,05.

1.17 Výsledky

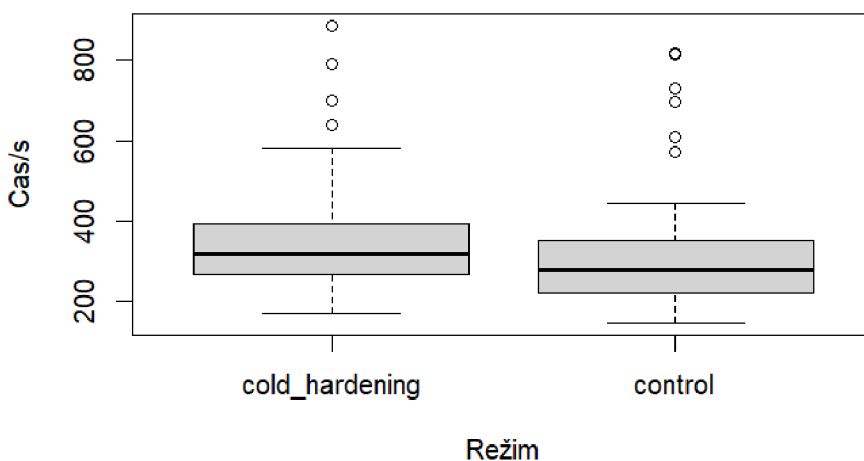
Z našeho modelu vyplývá, že hodnota CCRt byla signifikantně ovlivněna metodou otužování (t hodnota = -2,189, p hodnota > 0,0301). Tento výsledek je rovněž viditelný na grafu (1). Průměrná hodnota režimu cold hardening byla 349,22 se směrodatnou odchylkou (sd) 131,02. Průměrná hodnota pro režim control byla daleko kratší (průměrná hodnota = 311,46; sd = 137,79).

Nenalezl se žádný výrazný dopad chladového kómatu na úmrtnost, protože všichni testovaní hmyzí jedinci se bez problémů zotavili.

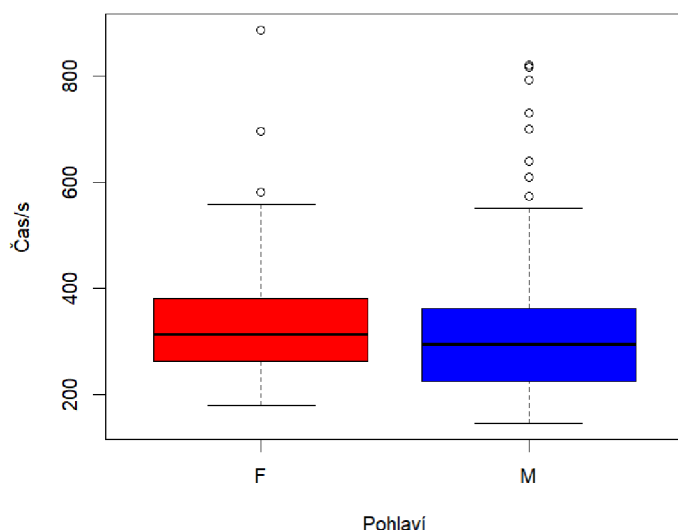
Celkově byl věk významným faktorem zvyšujícím rychlost chladového aklimatizačního zotavení (graf 3), neboť starší jedinci vykazovali nejdelší dobu potřebnou k dosažení optimální teploty (průměrná hodnota = 440,62; sd= 155,4. Oproti tomu nejmladší brouci měli průměrnou hodnotu 272,48 a sd 92,75.

Samci brouků měli kratší CCRt ve srovnání se samicemi. Průměrná hodnota CCRt samců byla 327,05 a sd = 151,21. Průměrná hodnota samic byla 335,44 a sd = 115,90 (Graf 2)

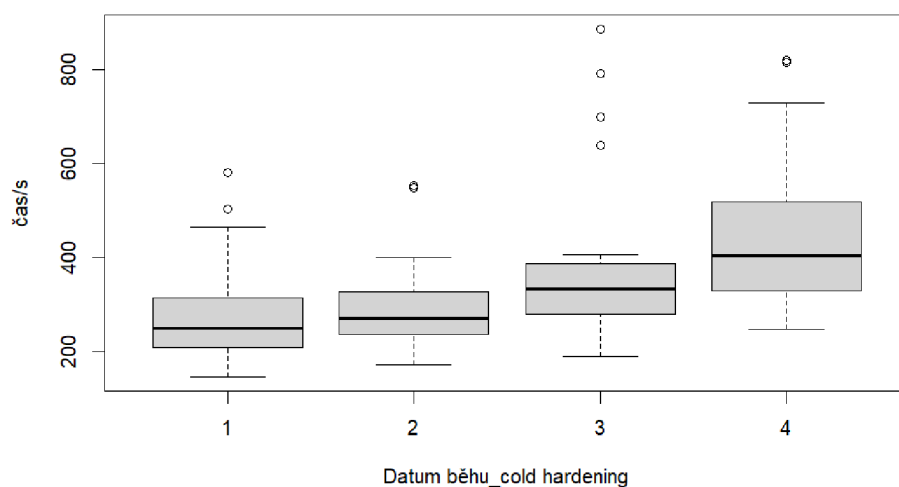
Váha a pohlaví brouků bylo signifikantní na větší hladině než >0,05 a to p hodnota váhy > 0,0888 a p hodnota pohlaví > 0,118.



Graf 1.: Porovnání vlivu cold hardening a control na zotavení z chladového kómatu. Vodorovné čáry v rámečcích označují střední hodnot; Horní a dolní pole označují 75 a 25 percentil. Vousy označují hodnoty v rozmezí 1,5 mezikvartilů. Malé kroužky jsou odlehlé hodnoty.



Graf 2.: Boxploty dob zotavení z chladového kómatu pro různé věkové skupiny dospělých brouků a různá pohlaví samci (M) a samice (F). Vodorovné čáry v rámečcích označují střední hodnoty; Horní a dolní pole označuje 75 a 25 percentil. Vousy označují hodnoty v rozmezí 1,5 mezikvartilů. Malé kroužky jsou odlehlé hodnoty.



Graf 3.: Boxploty dob zotavení z chladového kómatu pro různé věkové skupiny dospělých brouků. Vodorovné čáry v rámečcích označují střední hodnoty; Horní a dolní pole označuje 75 a 25 percentil. Vousy označují hodnoty v rozmezí 1,5 mezikvartilů. Malé kroužky jsou odlehlé hodnoty.

1.18 Diskuse

V této bakalářské práci bylo pozorováno vliv chladové aklimatizace na odolnost vůči nízkým teplotám u druhu brouků *Thanatophilus sinuatus*. Moje hypotéza, cold hardening zvyšuje odolnost poikilotermních živočichů vůči chladu, se podle výsledků nepotvrdila. Tyto výsledky se neshodují s řadou studií. Podle studie (Anders et. al, 2013) se doba zotavení z chladového kómatu sarančat *Lucusta migratoria* významně snížila při metodě cold hardening a to o více než 2 minuty. *Lucusta migratoria* byli podle metody cold-hardening umístěni do plastové trubice a vloženi do ledové lázně při 0 °C po dobu 2 hodin. Kobylky ve skupině kontrolní (CS) byly vloženy do plastové trubice a ponořeny do chlazené glykolové lázně podobu 2 hodin při konstantní teplotě – 4 °C (Anders et. al, 2013). Studie, která byla prováděna na druhu *Drosophila melanogaster*, uvádí že cold hardening snížil mortalitu o 37 % oproti chladovému šoku (Overgaard et. al, 2007).

Důvodem rozdílných výsledků mezi mými a těmito studiemi je pravděpodobně krátká doba rekonvalescence při metodě cold hardening. Anders et. al (2013) a Overgaard et. al (2007) uvádějí dobu rekonvalescence 2 hodiny. V mém výzkumu je doba rekonvalescence hodina. Ke kvalitnějším výsledkům by mohl přispět delší rekonvalescenční čas při otužování.

Zajímavým poznatkem byl, že samci byly tolerantnější na chlad než samice. Stejně výsledky vykazoval výzkum, který se zabýval rychlému podchlazení během ekologicky založených termoperiodických prvků na druhu *Drosophila melanogaster*. Ve studii je uvedeno, že samci byli významně tolerantnější vůči teplotě pod nulou než samice. (Kelty et. al 2001). Přestože existují rozdíly v hmotnosti mezi samci a samicemi druhu *Thanatophilus sinuatus*, pouze pohlaví mělo vliv na rychlost jejich zotavení na CCRt, nikoliv jejich hmotnost.

Naše pozorování potvrzují literaturu, která uvádí, že brouci jsou citliví na teplotu prostředí a mají různou schopnost termoregulace v závislosti na velikosti těla organismu (Ashton a Feldman, 2003; Blanckenhorn a Demont 2004; Mousseau, 1997). V tomto konkrétním případě menší samečci *T. sinuatus* dosahovali rychlejšího zotavení než větší samice tohoto druhu.

Podle výzkumu provedeného Angilletou (2009) a Bowlerem a Terblanche (2008) věk ovlivňuje schopnost ektotermů zotavit se z chladového stresu. Naše studie naznačuje, že starší brouci se zotavují pomaleji než mladší jedinci, přičemž hodnoty CCRt se zvyšují s postupujícím věkem. Tepelná tolerance hmyzu je proměnlivá během jeho životního cyklu, což

vede k věkově specifické náchylnosti nebo odolnosti vůči chladovému stresu v různých fázích života (Bowler a Terblanche, 2008; Marais et al. 2009; Mitchell et al. 2013).

Na závěr lze konstatovat, že vliv chladové aklimatizace na odolnost vůči nízkým teplotám u brouků je komplexní a závisí na řadě faktorů, jako jsou pohlaví jedince, velikost těla, a věk. Potvrzení hypotézy o zvýšení odolnosti metodou cold hardening se ukázalo jako nejednoznačné v tomto konkrétním experimentu. Další studie s rozšířenými parametry by mohly přinést další poznatky o mechanismech termoregulace u brouků a jejich schopnosti zotavit se z chladového stresu.

Závěr

Ve své bakalářské práci jsem se pokusila shrnout obecné informace o podčeledi Silphinae. V části experimentální jsem testovala, jak chladová aklimatizace ovlivňuje odolnost vůči nízkým teplotám u druhu *Thanatophilus sinuatus*. Praktická část byla provedena na základě vypočítaných hodnot CCRT za laboratorních podmínek. Podle mých výsledků výzkumu, který měl ukázat rychlejší zotavení při metodě cold hardening, se ukazuje přesný opak mých předpokladů.

Část rešeršní se zabývala morfologií dospělců a larev podčeledí Silphinae a více jsem přiblížila morfologii rodu *Thanatophilus*. Krátce jsem se zaměřila na rozšíření podčeledi Silphinae a to jak ve světovém měřítku tak na území České republiky.

Větší pozornost jsem věnovala lineárním a nelineárním modelům v termální ekologii hmyzu. V této části také poukazuji na adaptace hmyzu vůči nízkým teplotám.

Na závěr lze konstatovat, že bakalářská práce zaměřená na čeleď Silphinae a konkrétně druh *Thanatophilus sinuatus* přinesl zajímavé poznatky o odolnosti hmyzu vůči nízkým teplotám a ukázal, že chladová aklimatizace nemusí vždy vést k očekávanému zlepšení odolnosti. Tato práce tak přináší nové poznatky a otevírá prostor pro další výzkum v oblasti termální ekologie hmyzu.

Seznam použitých zdrojů

Amendt, J., Campobasso, C. P., Gaudry, E., Reiter, C., Le Blanc, H. N., a Hall, M. J. R., 2007: Best practice in forensic entomology – standards and guidelines. *International Journal of Legal Medicine* 121 (2): 90–104.

Amendt, J., Richards, C. S., Campobasso, C. P., Zehner, R., a Hall, M. J. R., 2011: Forensic Entomology: Applications and Limitations. *Forensic Science, Medicine and Pathology* 7 (4): 379–392.

Anders Findsen, Jonas Lembcke Andersen, Sofia Calderon, Johannes Overgaard, 2013: Rapid cold hardening improves recovery of ion homeostasis and chill coma recovery time in the migratory locust, *Locusta migratoria*. *J Exp Biol*; 216 (9):1630–1637

Anderson R. S., 1982a: Resource partitioning in carrion beetle (Coleoptera: Silphidae) fauna of southern Ontario: ecological and evolutionary considerations. *Canadian Journal of Zoology* 60: 1314–1325.

Anderson R. S., 1982b: Burying beetle larvae: Nearctic *Nicrophorus* and Oriental *Ptomoscopus morio* (Silphidae). *Systematic Entomology* 7: 249–264.

Angilletta, M. J., 2009: Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis. Oxford University Press, Oxford, UK

Armstrong, G.A.B., Rodríguez, E.C. & Robertson, R.M., 2012: Cold hardening modulates K⁺ homeostasis in the brain of *Drosophila melanogaster* during chill coma. *Journal of Insect Physiology*, 58, 1511–1516.

Ashton, K.G. and Feldman, C.R., 2003: Bergmann's rule in nonavian reptiles: turtles follow it, lizards and snakes reverse it. *Evolution*, 57(5), pp.1151-1163

Bale J. S., 1996: Insect cold hardiness: a matter of life and death. *Eur. J. Entomol.* 93, 369-382

Barlett J. a Ashworth C.M., 1988: Brood size and fitness in *Nicrophorus vespilloides* (Coleoptera: Silphidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 22: 429–434

Bedick, Jon C., W. Wyatt Hoback a Marc C. Albrecht, 2006: High water-loss rates and rapid dehydration in the burying beetle, *Nicrophorus marginatus*. *Physiological Entomology*. 31(1), 23-29

Bennett, V.A. & Lee, R.E., 1997: Modeling seasonal changes in intracellular freeze-tolerance of fat body cells of the gall fly *Eurosta solidaginis* (Diptera, Tephritidae). *Journal of Experimental Biology*, 200, 185–192.

Blanckenhorn WU, Demont M., 2004: Bergmann and converse bergmann latitudinal clines in arthropods: two ends of a continuum

Blunck, H. 1923: Zur Kenntnis des "Breitrands" *Dytiscus*. *Zoologischen Anzeiger* 57: 157–168 (in German).

Bowler, K., Terblanche, J.S., 2008: Insect thermal tolerance: what is the role of ontogeny, ageing and senescence? *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 83, 339–355.

Byrd, J. a Allen, J., 2000: Computer Modeling of Insect Growth and Its Application to Forensic Entomology. *Forensic Entomology*, 303-329.

Byrd, J. H a Castner, J. L., 2001: Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations. Boca Raton.

Cai C, et al., 2022: Integrated phylogenomics and fossil data illuminate the evolution of beetles. *Figshare*.

Cossins, A. R., a Bowler, K., 1987: Temperature Biology of Animals. Chapman and Hall, New York, 327 pp.

Czajka M., Lee R. a Gaur J., 1990: A rapid cold-hardening response protecting against cold shock injury in *Drosophila melanogaster*: A review. *Journal of Experimental Biology*. 148(1), 245-254.

Damos, P. T., a Savopoulou-Soultani, M., 2012: Temperature-Driven Models for Insect Development and Vital Thermal Requirements. *Psyche*: 39 1–13.

Denlinger, D.L., 1991: Relationship between cold hardiness and diapause. *Insects at Low Temperature* (ed. by R. E. Lee and D. L. Denlinger), pp. 174–198.

Dixon, A. F. G., Honěk, A., Keli, P., Kotela, M. A. A., Šizling, A. L., a Jarošík, V., 2009: Relationship between the minimum and maximum temperature thresholds for development in insects. *Functional Ecology* 23 (2): 257–264.

Dobler S. & Müller J. K., 2000: Resolving phylogeny at the family level by mitochondrial cytochrome oxidase sequences: phylogeny of carrion beetles (Coleoptera, Silphidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 15: 390–420.

Dreyer, H., a Baumgartner, J., 1996: Temperature Influence on Cohort Parameters and Demographic Characteristics of the Two Cowpea Coreids *Clavigralla tomentosicollis* and *C. shadabi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78: 201–213.

Duff A., 2012: Beetles of Britain and Ireland: Volume 1: Sphaeriusidae to Silphidae. Koblenz.

Eggert A. K., 1992: Alternative male mate-finding tactics in burying beetles. *Behaviour Ecology* 3: 243-254.

Emmy L Engasser, Rachel L Stone, Mary Liz, 2021: Jameson, Habitat Associations of Carrion Beetles (Coleoptera: Silphidae) Across a Full Annual Cycle, *Environmental Entomology*, Volume 50, Issue 3, Pages 605-614.

Engasser EL, Stone RL, Jameson ML., 2021: Habitat Associations of Carrion Beetles (Coleoptera: Silphidae) Across a Full Annual Cycle. *Environ Entomol*, 18;50(3):605-614.

Farkač Jan, David KRÁL a Martin ŠKORPÍK, 2005: Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Praha: Agentura ochrany přírody a krajiny ČR.

Feder, M.E. & Hofmann, G.E., 1999: Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annual Review of Physiology*, 61, 243–282.

Fratczak-lagiewska K. a Matuszewska S., 2018: Resource partitioning between closely related carrion beetles: *Thanatophilus sinuatus* (F.) and *Thanatophilus rugosus* (L.) (Coleoptera). *Entomologia Generalis*. 37, 143-156.

Gabrys, G., Adamski, P., & Lachowska-Cierlik, D., 2008: Carrion beetles (Coleoptera: Silphidae). In: IUCN 2008. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.2.749-758

Gibert, P., Moreteau, B., Pétavy, G., Karan, D., & David, J. R., 2001: Chill-coma tolerance, a major climatic adaptation among *Drosophila* species. *Evolution*, 55(5), 1063-1068.

Grassberger, M., a Reiter, C., 2001: Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen – and isomorphen-diagram. *Forensic Science International* 120 (1–2): 32–36.

Harvey, M. L., Gasz, N. E., a Voss, S. C., 2016: Entomology-based methods for estimation of postmortem interval. *Research and Reports in Forensic Medical Science* 6: 1–9

Háva J. & Růžička J., 1997: Faunistic records from the Czech Republic - 58. Coleoptera: Silphidae. *Klapalekiana* 33: 6.

Hawes, T.C. & Bale, J.S., 2007: Plasticity in arthropod cryotypes. *Journal of Experimental Biology*, 210, 2585–2592.

Hoffman, A.A., Sørensen, J. G., a Loeschcke, V., 2003: Adaptation of *Drosophila* to Temperature Extremes: Bringing Together Quantitative and Molecular Approaches. *Journal of Thermal Biology* 28: 175–216.

Hoňěk A., Kocourek F., 1988: Thermal requirements for development of aphidophagous Coccinellidae (Coleoptera), Chrysopidae, Hemerobiidae (Neuroptera), and Syrphidae (Diptera): some general trends. *Oecologia*, 76, 455-460.

Hoskovec M., 2000: Chemická komunikace hmyzu pohledem organického chemika. *Chemické Listy*, 94: 897-904.

Chen, C.P., Denlinger, D.L. & Lee, R.E., 1987: Cold-shock injury and rapid cold hardening in the flesh fly *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiological Zoology*, 60, 297-304.

Ikeda H., Kagaya T., Kubota K. & Abe T., 2008: Evolutionary relationships among food habit, loss of flight, and reproductive traits: life-history evolution in the Silphinae (Coleoptera: Silphidae). *Evolution* 62: 2065-2079.

Ikemoto, T., & Takai, K., 2000: A New Linearized Formula for the Law of Total Effective Temperature and the Evaluation of Line-Fitting Methods with Both Variables Subject to Error. *Environmental Entomology* 29 (4): 671-682.

Infante, F., 2000: Development and Population Growth Rates of *Prorops nasuta* (Hym., Bethyridae) at Constant Temperatures. *Journal of Applied Entomology* 124: 343-348.

Jakubec P., Novák M., Qubaiová J, Šuláková H, Růžička J., 2019: Description of immature stages of *Thanatophilus sinuatus* (Coleoptera: Silphidae). *Int J Legal Med.* 2019 Sep;133(5):1549-1565.

Jakubec P., Kadlec J a Šípek P., 2020: Standardized Laboratory Methodology for the Evaluation of Foraging Strategies in Necrophilous Beetles: A Case Study of *Necrophila (Calosilpha) brunnicollis* (Coleoptera: Silphidae). *Journal of Medical Entomology.* 58.

Jakubec, P., 2015: Is the type of soil an important factor determining the local abundance of carrion beetles (Coleoptera: Silphidae)? *European Journal of Entomology*, 112, 747-754.

James, S. S., Pereira, R. M., Vail, K. M., a Ownley, B. H., 2002: Survival of imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) species subjected to freezing and near-freezing temperatures. *Environmental Entomology* 31: 127-133

Johannes Overgaard, Anders Malmendal, Jesper G. Sørensen, Jacob G. Bundy, Volker Loeschcke, Niels Chr. Nielsen, Martin Holmstrup, 2007: Metabolomic profiling of rapid cold hardening and cold shock in *Drosophila melanogaster*, *Journal of Insect Physiology*, Volume 53, 12.

Johnson, C. G., 1974: Insect migration: aspects of its physiology. In *The physiology of Insecta* (pp. 279-334).

Kalushkov, P., & Nedvěd, O., 2000: Cold hardiness of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera: Pyrrhocoridae) from central and southern Europe. *European Journal of Endocrinology*, 97, 149-153.

Kelty J. and R. E. Jr. Lee 2001: Rapid cold-hardening of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) during ecologically based thermoperiodic cycles." *The Journal of experimental biology* 204 Pt 9: 1659-66.

King J., Riegler, M., Thomas R. a Spooner-Hart R., 2015: Phylogenetic placement of Australian carrion beetles (Coleoptera: Silphidae): Phylogeny of Australian Silphidae. *Austral Entomology*.

King, E., Markus R., Thomas R. a Spooner R., 2015: Phylogenetic placement of Australian carrion beetles (Coleoptera: Silphidae). *Austral Entomology*. 54(4), 366-375.

Kipyatkov, V. E., a Lopatina, E. B., 2010: Intraspecific variation of thermal reaction norms for development in insects: new approaches and prospects. *Entomological Review* 89 (1): 33–61.

Klimešová V., Barták M., Šuláková H., 2015: Forezní entomologie a její využití v kriminalistické praxi.

Kočárek P. & Benko K, 1997: Výskyt a sezónní aktivita brouků čeledi Silphidae na Hlučínsku (Slezsko, Česká republika). *Časopis Slezského muzea v Opavě, Série A – Vědy Přírodní* 46: 173–179.

Kočárek P., 2001: Diurnal activity rhythms and niche differentiation in a carrion beetle assemblage (Coleoptera: Silphidae) in Opava, the Czech Republic. *Biological Rhythm Research* 32: 431–438.

Košťál, V., 2010: Cell structural modifications in insects at low temperatures. *Low Temperature Biology of Insects*. (ed. by D. L. Denlinger and R. E. Lee), 116–140.

Košťál, V., Vambera, J. & Bastl, J., 2004: On the nature of pre-freeze mortality in insects: water balance, ion homeostasis and energy charge in the adults of *Pyrrhocoris apterus*. *Journal of Experimental Biology*, 207, 1509–1521.

Košťál, V., Yanagimoto, M. & Bastl, J., 2006: Chilling-injury and disturbance of ion homeostasis in the coxal muscle of the tropical cockroach (*Nauphoeta cinerea*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 143, 171–179.

Kroemer, G., Dallaporta, B. & Resche-Rigon, M., 1998: The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. *Annual Review of Physiology*, 60, 619–642.

Lee, R.E. & Denlinger, D.L., 2010: Rapid cold-hardening: ecological significance and underpinning mechanisms. *Low Temperature Biology of Insects* (ed. by D. L. Denlinger and R. E. Lee) pp. 35–58.

Lee, R.E., Damodaran, K., Yi, S.-X. & Lorigan, G.A., 2006a: Rapid cold-hardening increases membrane fluidity and cold tolerance of insect cells. *Cryobiology*, 52, 459–463.

Lee R.E. Jr, Chen C.P., Denlinger D.L., 1987 :A rapid cold-hardening process in insects. *Science*. 1987 Dec 4;238(4832):1415-7

Lefebvre F. a Gaudry E., 2009: Forensic entomology: a new hypothesis for the chronological succession pattern of necrophagous insect on human corpses. *Annales de la Société entomologique de France*, 45: 377-392.

Logan, J., Woolkind, D., Hoyt, S., a Tanigoshi, L., 1976: An Analytic Model for Description of Temperature-Dependent Rate Phenomena in Arthropods. *Environmental Entomology* 5: 1133–1140.

Looney, C., Caldwell, B. T., & Eigenbrode, S. D., 2009: When the prairie varies: the importance of site characteristics for strategising insect conservation. *Insect Conservation and Diversity*, 2(4), 243-250.

MacMillan H.A, Williams C. M, Staples J. F., Sinclair B. J., 2012: Reestablishment of ion homeostasis during chill-coma recovery in the cricket *Gryllus pennsylvanicus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,

MacMillan, H.A. & Sinclair, B.J., 2011: Mechanisms underlying insect chill-coma. *Journal of Insect Physiology*, 57, 12–20.

Madea, B., Grellner, W., & Kondo, T., 2014: Vital Reactions and Wound Age Estimation. Pp. 237–252. In: MADEA, B.: *Handbook of forensic medicine*. Wiley-Blackwell, Hoboken, 1288 pp.

Marais, E., Terblanche, J.S. and Chown, S.L., 2009: Life stage-related differences in hardening and acclimation of thermal tolerance traits in the kelp fly, *Paractora dreuxi* (Diptera, Helcomyzidae). *Journal of Insect Physiology*, 55(4), pp.336-343.

Matuszewski, S., 2021: Post-Mortem Interval Estimation Based on Insect Evidence: Current Challenges. *Insects*. 12(4)

Matuszewski, S., Bajerlein, D., Konwerski, S., a Szpila, K., 2010: Insect Succession and Carrion Decomposition in Selected Forests of Central Europe. Part 2: Composition and Residency Patterns of Carrion Fauna. *Forensic Science International* 195 (1-3): 42–51.

Midgley J. M. & Villet M. H., 2009: Development of *Thanatophilus micans* (Fabricius 1794) (Coleoptera Silphidae) at constant temperatures. *International Journal of Legal Medicine*, 123: 285-292.

Midgley J. M., Richards C. S. & Villet M. H., 2010: The utility of Coleoptera in forensic investigations. In: Amendt J., Goff M. L., Campobasso C.P. & Grassberger M. (eds): *Current concepts in forensic entomology*. Dordrecht: Springer, pp. 57-68.

Michaud, M.R. & Denlinger, D.L., 2006: Oleic acid is elevated in cell membranes during rapid cold-hardening and pupal diapause in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Journal of Insect Physiology*, 52, 1073–1082.

Michaud, M.R. & Denlinger, D.L., 2007: Shifts in the carbohydrate, polyol, and amino acid pools during rapid cold-hardening and diapause-associated cold-hardening in flesh flies (*Sarcophaga crassipalpis*): a metabolomic comparison. *Journal of Comparative Physiology B*, 177, 753–763.

Mitchell, K.A., Sinclair, B.J. and Terblanche, J.S., 2013: Ontogenetic variation in cold tolerance plasticity in *Drosophila*: is the Bogert effect bogus. *Naturwissenschaften*, 100, pp.281-284.

Montoya-Molina, S., Jakubec, P., Qubaiová, J. et al., 2021: Developmental models of the carrion beetle *Thanatophilus rugosus* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Silphidae).

Moribe, Y., Oka, K., Niimi, T. et al., 2010: Expression of heat shock protein 70a mRNA in *Bombyx mori* diapause eggs. *Journal of Insect Physiology*, 56, 1246–1252

Mousseau TA., 1997: Ectotherms follow the converse to Bergmann 's rule. *Evolution* (N Y). 51: 630–632.

Newton A., 2018: Staphyliniformia world catalog database. In: Bánki O., Roskov Y., Vandepitte L., Dewalt R. E., Rensen D., Schalk P., Orrell T., Keping M., Miller J., Aalbu R., Adlard R., 45 Adriaenssens E., Aedo C., Aescht E., Akkari N., Alonsozarazaga M. A., Alvarez B., Alvarez F., Anderson G. et al. (eds): *Catalogue of Life Checklist*.

Novák B., 1961: Sezónní výskyt hrobaříků v polních entomocenózách (Col. Silphidae). *Acta Universitatis Palackiana Olomucensis, Facultas Rerum Naturalium* 6: 45–114.

Novák B., 1962: Příspěvek k faunistice a ekologii hrobaříků (Col. Silphidae). *Acta Universitatis Palackiana Olomucensis, Facultas Rerum Naturalium* 11: 263–300.

Novák B., 1965: Faunisticko-ekologická studie o hrobařících z polních biotopů Hané (Col. Silphidae). *Acta Universitatis Palackiana Olomucensis, Facultas Rerum Naturalium* 19: 121–151.

Novák, M., Jakubec, P., Qubaiová, J. et al., 2018: Revisited larval morphology of *Thanatophilus rugosus* (Coleoptera: Silphidae). *Int J Legal Med* 132, 939–954

Overgaard, J., Malmendal, A., Sørensen, J.G. et al., 2007: Metabolomic profiling of rapid cold hardening and cold shock in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 53, 1218–1232.

Overgaard, J., Tomčala, A., Sørensen, J.G. et al., 2008: Effects of acclimation temperature on thermal tolerance and membrane phospholipid composition in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 54, 619–629.

Peck S. B., 2001: 18. Agyrtidae C.G. Thomson, 1859, pp. 247-249. In: Arnett R. H. & Thomas M. C. (eds): *American beetles, Volume 1: Archostemata, Myxophaga, Adepaga, Polyphaga: Staphyliniformia*. Boca Raton, London, New York & Washington, CRC Press, xv + 443 pp

Petruška F., 1964: Příspěvek k poznání pohyblivosti několika druhů brouků nalétávajících na mršiny (Col. Silphidae et Histeridae). *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis, Facultas Rerum Naturalium* 16: 159–187.

Pfennig, D. W., a Levis, N., 2017: Phenotypic Plasticity. *BioEssays* 19: 519–525.
PUKOVSKI, E. 1933: Ökologische Untersuchungen an *Necrophorus* F. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere* 27: 518–586.

Pukowski E., 1933: Ökologische Untersuchungen an *Necrophorus* F. *Zeitschrift für Ökologie und Morphologie der Tiere* 27: 518–586.

Ratcliffe B. C., 1996: The Carrion Beetles (Coleoptera: Silphidae) of Nebraska. *Bulletin of University of Nebraska State Museum*: 1–100.

Reichholf, J. H., & Steinbach, G., 2003: The effect of climate change on terrestrial ecosystems—an approach to the effect analysis. *Naturwissenschaften*, 90(12), 495-505.

Ridgeway, J. A., Midgley, J. M., Collett, I. J., & Villet, M. H., 2014: Advantages of using development models of the carrion beetles *Thanatophilus micans* (Fabricius) and *T. mutilatus* (Castelneau) (Coleoptera: Silphidae) for estimating minimum post mortem intervals, verified with case data. *International journal of legal medicine*, 128, 207-220.

Rivers D.B., Dahlem G. A., 2014: *The Science of Forensic Entomology*. John Wiley & Sons, Ltd., 174-220

Růžička J. & Jakubec P., 2017: Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. Red List of Threatened Species of the Czech Republic. In: Hejda, Radek & Farkač, Jan & Chobot, Karel. (2017), pp. 417–418

Růžička J. & Schneider J., 2004: Family Silphidae Latreille, 1807. In: Löbl I. & Smetana A. (eds): Catalogue of Palearctic Coleoptera, Vol. 2: Hydrophiloidea – Histeroidea – Staphylinoidea. Apollo Books, Steensrup, pp. 229–237.

Růžička J., 1992: The immature stages of central European species of *Nicrophorus* (Coleoptera, Silphidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 89: 113-135.

Růžička J., 1994: Seasonal activity and habitat associations of Silphidae and Leiodidae: Cholevinae (Coleoptera) in central Bohemia. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 58: 67–78.

Růžička J., 2005: Silphidae. In: Farkač J., Král D. & Škorpík M. (eds): Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. (Red list of threatened species in the Czech Republic. Invertebrates). Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha, pp. 429.

Růžička, J., Latella, L., & Schawaller, W., 2015: New data on *Apteroloma* (Coleoptera: Agyrtidae) of central Asia and the Himalayas with a new synonymy. *Zootaxa*, 3974(1), 93-105.

Salt, RW., 1961: Principy mrazuvzdornosti hmyzu. Výroční přehled entomologie, 6 (1), 55-74.

Scott M.P., 1998: The ecology and behavior of burying beetles. *Annual Review of Entomology*, 43: 595–618.

Sharma, Ruichi, Rakesh Kumar Garg a J.R. Gaur, 2015: Various methods for the estimation of the post mortem interval from Calliphoridae: A review. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. 2015, 5(1), 1-12.

Schmalensee, L., Gunnarsdóttir K., Näslund J., Gotthart K., Lehmann P. a Ghalambor C., 2021: Thermal performance under constant temperatures can accurately predict insect development times across naturally variable microclimates: Silphidae). *Ecology Letters*, 24(8), 1633-1645.

Sikes D. S., 2005: Silphidae Latreille, 1807. In: Beutel R. G. & Leschen R. A. B. (eds): Handbook of Zoology, Volume IV: Arthropoda: Insecta, Part 38: Coleoptera, Beetles. Volume 1: Morphology and Systematics (Archostemata, Adephaga, Myxophaga, Polyphaga partim). Walter de Gruyter, Berlin & New York, pp. 288–296.

Sikes D. S., 2008: Carrion beetles (Coleoptera: Silphidae). In: Capinera J. L. (ed.): Encyclopedia of Entomology. Volume 1: A–C, 2nd Edition. Springer, Berlin, pp. 749–758.

Sinensky, M., 1974: Homeoviscous adaptation – homeostatic process that regulates viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 71, 522–525.

Springett B. P., 1968: Aspects of the relationship between burying beetles, *Necrophorus* spp., and the mite, *Poecilochirus necrophori* Vitz. *Journal of Animal Ecology* 37: 417–424.

Špicarová N., 1974: Diurnal activity of young individuals of the species *Necrophorus germanicus* (Col. Silphidae). *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis, Facultas Rerum Naturalium* 47: 179–188.

Špicarová N., 1982: K ekologii druhů čeledí Silphidae a Staphylinidae. Autoreferát kandidátské disertace. Olomouc, Ediční středisko University Palackého, 27 s.

Šuláková H., 2014: Forezní entomologie – když smrt je začátek. Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR, Živa 5/2014, 250.

Šustek Z., 1981: Mrchožroutovití Československa (Coleoptera, Silphidae). *Zprávy Československé Společnosti Entomologické při ČSAV, Klíče k určování hmyzu* 2: 1–47.

Švec Z. & Růžička J., 1993: Leiodidae. In: Jelínek J. (ed.): Checklist of Czechoslovak Insects IV (Coleoptera). Seznam československých brouků. *Folia Heyrovskyana, Suppl.*

Teets, N.M., Elnitsky, M.A., Benoit, J.B. et al., 2008: Rapid cold-hardening in larvae of the Antarctic midge *Belgica antarctica*: cellular cold-sensing and a role for calcium. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294, R1938–R1946.

Teets. M. N. a Denlinger D. L., 2013: Physiological mechanisms of seasonal and rapid cold-hardening in insects. *Physiol. Entomol.*, 38: 105-116.

Thompson, S.N., 2003: Trehalose – the insect ‘blood’ sugar. *Advances in Insect Physiology*, 31, 205–285.

Tomčala, A., Tollarová, M., Overgaard, J. et al., 2006: Seasonal acquisition of chill tolerance and restructuring of membrane glycerophospholipids in an overwintering insect: triggering by low temperature, desiccation and diapause progression. *Journal of Experimental Biology*, 209, 4102–4114.

Velásquez Y. & Vilorio AL., 2009: Effects of temperature on the development of the Neotropical carrion beetle *Oxelytrum discicolle* (Brullé, 1840) (Coleoptera: Silphidae). *Forensic Sci Int* 185:107–109.

Yancey, P.H., 2005: Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *Journal of Experimental Biology*, 208, 2819–2830.

Yang, P. J., Carey, J. R., Dowell, R. V., 1994: Temperature Influence on the Development and Demography of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) in China. *Environmental Entomology* 23: 971–974.

Yi, S.-X. & Lee, R.E., 2011: Rapid cold-hardening blocks cold-induced apoptosis by inhibiting the activation of pro-caspases in the flesh fly *Sarcophaga crassipalpis*. *Apoptosis*, 16, 249–255.

Yi, S.-X., Moore, C.W. & Lee, R.E., 2007: Rapid cold-hardening protects *Drosophila melanogaster* from cold-induced apoptosis. *Apoptosis*, 12, 1183–1193

Yocum, G.D., 2001: Differential expression of two HSP70 transcripts in response to cold shock, thermoperiod, and adult diapause in the Colorado potato beetle. *Journal of Insect Physiology*, 47, 1139–1145.

Yoder, J.A., Benoit, J.B., Denlinger, D.L. & Rivers, D.B., 2006: Stress-induced accumulation of glycerol in the flesh fly, *Sarcophaga bullata*: evidence indicating anti-desiccant and cryoprotectant functions of this polyol and a role for the brain in coordinating the response. *Journal of Insect Physiology*, 52, 202–214.

Zahiri, B., Fathipour, Y., Khanjani, M., Moharramipous, S., & Zalucki, M. P., 2010: Preimaginal Development Response to Constant Temperatures in *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae): Picking the Best Model. *Environmental Entomology* 39 (1): 177–189.

Zakhvatkin, Y. A., 2001: General Entomology Course. Kolos, Moscow, (in Russian), 376 pp.

Zheng, F. S., Du, Y. Z., Wang, Z. J., & Xu, J. J., 2008: Effect of temperature on the demography of *Galerucella birmanica* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Insect Science* 15: 375–380.

1.19 Internetové zdroje

GBIF, 2023: Global biodiversity information facility.

Online: <https://www.gbif.org/species/4448510>

AOPK, 2024: Agentura ochrany přírody a krajiny: Mapový server AOPK ČR.

Online: <https://portal.nature.cz/w/druh-9390#/>