

Univerzita Hradec Králové
Přírodovědecká fakulta
Katedra biologie

Vliv alkaloidů z nepůvodního starčku úzkolistého a autochtonního starčku přímětníku na larvy samotářských včel během jejich vývoje

Diplomová práce

Autor: Jakub Černý
Studijní program: N0588A030001 - Biologie a ekologie
Studijní obor: Biologie a ekologie – spec. biologie živočichů
Vedoucí práce: doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Vliv alkaloidů z nepůvodního starčku úzkolistého a autochtonního starčku přímětníku na larvy samotářských včel během jejich vývoje“ vypracoval samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedl všechny prameny, z kterých jsem vycházel.

V Hradci Králové dne 30. června 2023

.....
Jméno a příjmení

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě bych rád poděkoval vedoucímu své diplomové práce doc. Mgr. Petru Boguschovi, Ph.D. za jeho vstřícnost, trpělivost, odbornou pomoc a rady, které byly důležité pro zhotovení diplomové práce. Dále děkuji panu RNDr. Petru Henebergovi, Ph.D. za postřehy týkající se výsledků, které jsem osobně z nasbíraných dat nedokázal vyčíst. Na závěr bych rovněž rád poděkoval svému otci Janu Černému a matce Petře Černé, kteří mi umožnili na diplomové práci pracovat i doma a pomohli mi získat potřebné květy starčeků. A za pomoc při sbírání květů starčku úzkolistého vděčím rovněž Radkovi Haškovi a Martinu Kostrubaničovi, kteří mi navíc v této nelehké době byli oporou a nebýt jich, tak jsem z osobních důvodů tuto práci ani nedokončil.

Anotace

ČERNÝ J. *Vliv alkaloidů z nepůvodního starčku úzkolistého a autochtonního starčku přímětníku na larvy samotářských včel během jejich vývoje*. Hradec Králové, 2023. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí diplomové práce Petr Bogusch. 85 s.

Abstrakt

Pyrolizidinové alkaloidy jsou sekundární metabolity produkované velkým množstvím rostlin jako obrana proti různými herbivorům. Mezi rostliny produkující tyto toxické látky patří například *Senecio jacobaea* (starček přímětník) a *Senecio inaequidens* (starček úzkolistý). Zatímco je starček přímětník na území České republiky původní, jeho příbuzný starček úzkolistý je zde považován za invazivní druh, který se vlivem lidské činnosti nekontrolovatelně šíří. Původní oblast výskytu tohoto druhu se nachází v jižní Africe. Přestože na problematiku vlivů PA na savce byla vytvořena již celá řada studií, o účincích těchto látek na opylující hmyz se toho doposud příliš neví. Proto byly v rámci diplomové práce zjišťovány vlivy PA obsažené v květenstvích rostlin *S. jacobaea* a *S. inaequidens* na druhy samotářských včel *Osmia bicornis* a *Heriades truncorum*. Panovala zde totiž myšlenka, že by oligolektický druh *H. truncorum* mohl být v rámci své specializace na čeleď *Asteraceae* proti účinkům PA více imunní než polylektický druh *O. bicornis*. Obě dvě rostliny se ve studii ukázaly býti pro larvy druhu *O. bicornis* silně toxické. Nicméně obě tyto rostliny syntetizují podobné sloučeniny, a tak rozdíl v míře jejich vzájemné toxicity nebyl, s ohledem k úmrtnosti larev, pozorován. Bylo však statisticky prokázáno, že se účinky PA z invazivního starčku na jedincích druhu *O. bicornis* projevují celkovým zvětšením těla. Účinky vlivu PA na druh *H. truncorum* bohužel v této práci nemohly být vyhodnoceny vlivem parazita *Melittobia* sp., který se stal zodpovědným za úhyn většiny studovaných larev samotářské včely.

Klíčová slova

Senecio jacobaea, *Senecio inaequidens*, pyrolizidinové alkaloidy (PA), *Osmia bicornis*, *Heriades truncorum*

Annotation

ČERNÝ J. *Vliv alkaloidů z nepůvodního starčku úzkolistého a autochtonního starčku přímětníku na larvy samotářských včel během jejich vývoje*. Hradec Králové, 2023. Diploma Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor Petr Bogusch. 85 p.

Abstract

Pyrrolizidine alkaloids are secondary metabolites produced by a large number of plants as a defence against various herbivores. *Senecio jacobaea* and *Senecio inaequidens* belong among the plants producing these alkaloids. While *S. jacobaea* is native to the Czech Republic, its relative, *S. inaequidens*, is considered an invasive species that spreads uncontrollably due to human activity. The original range of this species is located in southern Africa. Although there have been published numerous studies on the impact of pyrrolizidine alkaloids (PAs) on mammals, little is known about the effects of these compounds on pollinating insects. Therefore, the effects of PAs contained in the flowers of *Senecio jacobaea* and *S. inaequidens* on solitary bee species *Osmia bicornis* and *Heriades truncorum* were investigated as a part of this thesis. The hypothesis was that the oligolectic species *H. truncorum*, specializing on pollen of the *Asteraceae* family, might be less sensitive to the effects of PAs than the polylectic species *O. bicornis*. Both plants were found to be highly toxic to the larvae of *O. bicornis* in the study. However, since both plants synthesize similar compounds, no significant difference in the level of mutual toxicity was observed in terms of larval mortality. Nevertheless, it was statistically demonstrated that the effects of PAs from the invasive ragwort manifest in an overall body enlargement of *O. bicornis* individuals. Unfortunately, the effects of PAs on *H. truncorum* could not be evaluated in this study due to the influence of the parasite *Melittobia* sp., which was responsible for the mortality of most of the studied solitary bee larvae.

Keywords

Senecio jacobaea, *Senecio inaequidens*, pyrrolizidine alkaloids (PAs), *Osmia bicornis*, *Heriades truncorum*

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Literární rešerše	10
2.1	<i>Senecio jacobaea</i> & <i>Senecio inaequidens</i>	10
2.1.1	Rod <i>Senecio</i>	10
2.1.2	Habitus.....	11
2.1.3	Původní areál rozšíření	15
2.1.4	Historie introdukce a šíření.....	16
2.1.5	Šíření v ČR.....	20
2.1.6	Ekologie	22
2.1.7	Toxicita.....	25
2.2	<i>Osmia bicornis</i> & <i>Heriades truncorum</i>	32
2.2.1	Popis.....	32
2.2.2	Rozšíření.....	33
2.2.3	Ekologie	33
2.2.4	Rozmnožování.....	34
2.2.4	Paraziti.....	36
3	Metodika	37
3.1	Motivace a výběr druhů	37
3.2	Příprava extraktu.....	37
3.3	Získávání a očkování larev	38
3.3.1	<i>Osmia bicornis</i>	38
3.3.2	<i>Heriades truncorum</i>	39
3.4	Pozorování	41
3.4.1	<i>Osmia bicornis</i>	41
3.4.2	<i>Heriades truncorum</i>	41
3.5	Získávání výsledků.....	42

4	Výsledky	46
4.1	<i>Osmia bicornis</i>	46
4.1.1	Úmrtnost larev	46
4.1.2	Změny ve strukturách těla.....	52
4.2	<i>Heriades truncorum</i>	56
5	Diskuze	59
6	Závěr.....	67
	Použitá literatura	69
	Přílohy.....	76
	Příloha č. 1	76
	Příloha č. 2	82

1 Úvod

Ve všech přírodních biotopech jsou rostliny vystaveny řadě potenciálních nepřátel. Téměř všechny ekosystémy totiž obsahují široké spektrum bakterií, virů, hub, hmyzu, savců a dalších býložravých živočichů zodpovědných za výrazné snížení prosperity rostlin. Právě kvůli těmto faktorům si některé rostliny vyvinuly obranné mechanismy. Ty mohou být buď mechanické, jako například trny, nebo chemické. V případě chemické obrany si vybrané rostliny syntetizují sloučeniny známé jako sekundární metabolity. Právě tyto sekundární metabolity, mezi něž patří například různé druhy terpenů, fenolické látky a sloučeniny obsahující dusík a síru, chrání rostliny nejen před patogeny, ale hlavně před jejich herbivory (Mazid 2011).

K sekundárním látkám vykazujícím toxickou aktivitu se řadí rovněž pyrolizidinové alkaloidy (PA). Tyto sloučeniny se primárně vyskytují u vybraných druhů rostlin patřících do čeledí *Asteraceae*, *Boraginaceae*, *Fabaceae* a *Orchidaceae* (Jung et al. 2020). Mezi nejznámější druhy rostlin schopné ve svém těle produkovat PA se řadí rostliny z rodu *Senecio*, zejména druhy *Senecio jacobaea* a *Senecio inaequidens*. Zatímco starček přímětník je považován za autochtonní rostlinu a původní druh na území České republiky, starček úzkolistý je zde zapsán jako invazivní druh. V Black listu byl v roce 2016 zařazen do kategorie BL3 (Pergl 2016). Původní oblast jeho výskytu se nachází v jižní Africe (Online Atlas of the British and Irish Flora 2008).

Skupina pyrolizidinových alkaloidů je toxická nejen pro vyšší živočichy, ale také pro některé druhy hmyzu. U savců se pyrolizidinové alkaloidy projevují svými hepatotoxickými a pneumotoxickými účinky. Po požití se tyto látky vstřebávají v trávicím traktu, odkud jsou transportovány do jater. Zde se metabolizují na deriváty pyrrolu, které se váží na proteiny nebo jiné biopolymery (Jung et al. 2020).

Přestože na téma toxicity PA pro savce bylo již vytvořeno nesčetně studií, míra toxicity a způsob působení těchto látek na hmyz nejsou dosud dobře prozkoumány. Na rozdíl od savců jsou hmyzí herbivoři často specializovaní na určitý druh nebo skupinu rostlin (Deprés et al. 2007). Díky této vzájemné koevoluci hmyz – rostlina často dochází k fyziologickým adaptacím vedoucím k rezistenci hmyzích druhů na své živné rostliny (Naumann et al. 2002). Naproti tomu generalisté živící se širší škálou rostlinných čeledí nemusí být na sekundární metabolity přizpůsobeni a mohou tak být jimi negativně ovlivněni (Macel 2011).

V současné době patří mezi největší globální problémy pokles množství hmyzu. V některých částech světa klesly populace různých druhů hmyzu o polovinu a podle vědců z londýnské University College London (UCL) za to může globální oteplování a intenzivní zemědělství (Powney 2019). Nicméně za tento jev bude pravděpodobně zodpovědných více faktorů. Jedním z nich mohou být právě toxické účinky sekundárních metabolitů na larvy opylujícího hmyzu, které se těmito látkami obsaženými v pylu živí. Proto je v této studii zkoumáno, zda jsou toxické látky obsažené v květenstvích starčeků druhů *S. jacobaea* a *S. inaequidens* toxické pro larvy opylovače polylektického druhu *Osmia bicornis* a oligolektického druhu *Heriades truncorum*. Je totiž známo, že největší koncentrace těchto sekundárních metabolitů se u starčku přímětníku a starčku úzkolistého v době kvetení nachází právě v jejich květenstvích (Hartmann et Zimmer 1985, Eller et Chizzola 2016). Z toho vyplývá, že setkání larev všech druhů hmyzu opylujících tyto rostliny s PA v jejich stravě je velmi pravděpodobné.

Druhy *O. bicornis* a *H. truncorum* byly k tomuto výzkumu vybrány především na základě jejich specializace na starček přímětník a starček úzkolistý. Zatímco včela *O. bicornis* opyluje širší škálu rostlinných čeledí a řadí se tak mezi polylektický hmyz, včela *H. truncorum* se specializuje na jedinou čeleď *Asteraceae*, do níž výše uvedené rostliny patří (Westrich 2018). Jedná se tedy o oligolektický druh opylovače, který by tak díky své specializaci na danou čeleď rostlin mohl být fyziologicky adaptován na toxické látky z řad pyrolizidinových alkaloidů.

Je tedy otázkou, zda a jak toxické látky ze skupiny PA obsažené v květenstvích studovaných rostlin ovlivňují jejich polylektické a oligolektické opylovače. Cíle této práce byly tedy následující:

1. Shrnout dosavadní poznatky o rostlinách *S. jacobaea* a *S. inaequidens*, zejména z hlediska jejich šíření a toxicity
2. Zjistit, zda jsou sloučeniny pyrolizidinových alkaloidů (PA) obsažené v květenstvích starčku přímětníku a starčku úzkolistého toxické pro larvy opylujícího hmyzu a jak se to případně projevuje na vývoji intoxikovaných jedinců
3. Vyzorovat, jestli je jedna ze studovaných rostlin toxičtější než druhá a zda není oligolektický druh *H. truncorum* více rezistentní vůči těmto toxickým látkám než polylektický druh *O. bicornis*

2 Literární rešerše

2.1 *Senecio jacobaea* & *Senecio inaequidens*

2.1.1 Rod *Senecio*

Senecio (Linnaeus, 1753) je taxonomické označení pro rod, do kterého spadá velké množství kvetoucích rostlin z čeledi *Asteraceae*. Tento rod se během miocénu rapidně rozrostl a stal se tak jedním z nejpočetnějších rodů kvetoucích rostlin. Řadí se do něj více než 1200 druhů cévnatých rostlin, rozšířených téměř po celém světě. I když jde obvykle o rostliny bylinného charakteru, patří sem rovněž liánovité, polokeřovité, keřovité, sukulentní a stromovité formy. Rod *Senecio* je pojmenovaný podle tendence druhů vytvářet senescentní úbory připomínající chomáče bílých vlasů (Walter et al. 2020). Slovo „*Senecio*“ totiž v překladu znamená „starý pán“ (CRAZY CRITTERS 2022). V České republice se k roku 2004 vyskytovalo 18 druhů rostlin patřících do rodu *Senecio*, z nichž dva byly označeny jako nepůvodní. Některé z nich jsou navíc schopny tvořit křížence. Zajímavostí je, že mnohé druhy této taxonomické skupiny produkují přírodní látky zvané pyrolizidinové alkaloidy. Tyto chemické sloučeniny napomáhají k regulaci interakcí mezi hostitelskými rostlinami rodu *Senecio* a jejich hmyzími konzumenty. Pro obratlovce včetně člověka jsou ovšem pyrolizidinové alkaloidy vysoce toxické, protože způsobují chronické otravy, které postupně vedou až k cirhóze jater. Na území České republiky byly otravy těmito rostlinami pozorovány pouze u dobytka. V jiných částech světa, především ve Střední Asii a Africe, však byly otravy zaznamenány také u lidí. Některé rostliny z rodu starčeků obsahují navíc látky označované jako seskviterpeny, které mají za úkol ochránit jedince před herbivorním hmyzem (Grulich 2004). Mezi toxické druhy rodu *Senecio*, obsahující pyrolizidinové alkaloidy, patří rovněž rostliny známé jako *Senecio jacobaea* (starček přímětník) a *Senecio inaequidens* (starček úzkolistý) (Jung et al. 2020, Eller et Chizzola 2016).



Obr. 1: *Senecio inaequidens*. Foto autor



Obr. 2: *Senecio jacobaea*. Foto autor

2.1.2 Habitus

Starček přímětník se od starčku úzkolistého odlišuje v mnoha morfologických znacích. Jedním z nich je fakt, že každý z těchto dvou druhů náleží k odlišné morfologické formě rostlin. Zatímco se starček úzkolistý řadí, vzhledem k své dřevnatějící dolní části stonku, k polokeřům, jeho příbuzný starček přímětník patří mezi byliny. Tato skutečnost přispívá k dalším vzájemným odlišnostem týkajícím se samotného vzrůstu těchto rostlin. Na rozdíl od starčku přímětníku, který disponuje přímou v horní části větvící se lodyhou, má starček úzkolistý typický tvar polokeře. Díky bohatě se větvícím stonkům, které se od sebe vzdalují již v bazální části rostliny, nabývá tento polokeř spíše kulovitěho tvaru. Dorůstá obvykle výšky pouze 20 až 50 cm, avšak byli zaznamenáni i jedinci dosahující výšky až 1 m. *S. jacobaea* oproti výše zmíněnému polokeři dorůstá obvykle 30 až 90 cm, což z něj dělá v průměru rostlinu vyššího vzrůstu, než je starček úzkolistý (Hoskovec 2007a, b).

K snadnému odlišení těchto dvou druhů starčků přispívají i jejich nápadně odlišné listy. *S. inaequidens* disponuje bezřapíkatými listy, které střídavě dosedají na lodyhu a částečně ji objímají (PLADIAS 2014a). Nabývají čárkovitého tvaru a dosahují délky 2 až 5 cm a šířky 1 až 3 mm. Na vrcholu mají tuhou pichlavou špičkou (Kaplan 2019), okraje jsou většinou

celokrajné či drobně nepravidelně zubaté a báze listů je vždy rozšířená (Mandák et Bímová 2001). V paždí tohoto vegetativního orgánu se obvykle nacházejí svazečky drobných lístků (Kaplan 2019).

Listy na lodyhu u druhu *S. jacobaea* přisedají dvojím způsobem. Na bázi stonku vytvářejí přízemní růžici a v ostatních jeho částech jsou postaveny střídavě. Listy jsou na lodyze uchyceny prostřednictvím řapíku (PLADIAS 2014b). Obecně jsou listy tohoto druhu pavučinatě vlnaté, tuhé, zelené až modrozelené, často s červenou žilnatinou. Řapíkaté listy v přízemní růžici se u mladých jedinců vyznačují lyrovitou, peřenosečnou čepelí s vejčitým, nepravidelně vroubkovaným nebo laločnatým koncovým úkrojkem. Dolní lodyžní listy jsou 2 až 10 cm dlouhé a 2 až 8 cm široké. Jejich čepel je lyrovitá. Vyznačuje se koncovým vejčitým úkrojkem a několika v pravém úhlu odstávajícími postranními úkrojky. Stejně jako listy v přízemní růžici i ony v době květu zasychají. Střední a horní lodyžní listy jsou výrazně zprohýbané, dosahují délky 2 až 8 cm a šířky pouze 1 až 3 cm. Bývají zpravidla peřenosečné až peřenodílné bez zvětšeného koncového úkroju. Postranní úkrojky listu jsou 2 až 10 mm široké a odstávají téměř v pravém úhlu (Gulich 2004).

Jako všechny rostliny z čeledi *Asteraceae*, jsou i květy druhů *S. inaequidens* a *S. jacobaea* uspořádané do mnohokvětého útvaru zvaného úbor (Kocián 2003b). Ten se u obou zmiňovaných druhů skládá ze samičích jazykovitých a oboupohlavných trubkovitých květů. Květy jsou žlutě zbarveny a jejich symetrie je buď aktinomorfní nebo zygomorfní. Zatímco u starčku přímětníku jsou květy uspořádány do květenství označovaného jako chocholičnatá lata úborů, u starčku úzkolistého se květenstvím stává chocholík úborů (PLADIAS 2014a, b). Samotné květní úbory rostliny *S. jacobaea* měří v průměru 15 až 20 mm, což ukazuje, že dorůstají většího průměru než u druhu *S. inaequidens* (Hoskovec 2007b). U toho totiž dosahuje průměr květních úborů pouze 10 až 15 mm (Hoskovec 2007a). Počet jazykovitých květů se u obou rostlin pohybuje mezi 10 až 15 kusy (Hoskovec 2007a, b, Rak 2007). Oba druhy starčků vytvářejí zákrov, který tvoří listeny podpírající květní lůžko. Zákrov je u starčku úzkolistého 6 až 8 mm dlouhý. Jeho listeny jsou tvořeny dvěma žebry, dosahují délky 2 až 3 mm a jejich počet bývá velmi variabilní. Obvykle se však pohybuje mezi 10 až 20 kusy. Listeny nabývají zelené barvy, která se u jejich špičky částečně mění ve fialovou, a vyznačují se bílým suchomázdřitým na okraji třásnitým lemem. Zákrov u starčku přímětníku je zvonkovitého tvaru. Je 8 až 10

mm dlouhý a jeho zákrovní listy jsou kopinaté. Nacházejí se zde zpravidla po třinácti (Grulich 2004).

Grulich (2004) v monografii Květena České republiky uvádí, že rostliny druhů *S. jacobaea* a *S. inaequidens* se navzájem svou dobou kvetení překrývají, jelikož oba druhy začínají kvést v šestém měsíci v roce a odkvétají na podzim. Konkrétně starček přímětník v podmínkách České republiky odkvétá koncem srpna až začátkem září, zatímco jeho příbuzný starček úzkolistý odkvétá ještě o měsíc později. Ovšem nutno podotknout, že z vlastního pozorování kvete starček úzkolistý ještě v polovině listopadu, zatímco konec kvetení starčku přímětníku nastává zřídka kdy později než na přelomu července a srpna. Tyto dvě na první pohled odlišné informace mohou být důsledkem změn klimatu, ke kterým během dvaceti let došlo. Během této doby mohlo dojít k posunu fenofází rostlin, s čímž by souvisela i odlišná doba kvetení.

Po procesu opylení, které je u obou druhů rodu *Senecio* zprostředkováno za pomoci hmyzu (u starčku úzkolistého rovněž způsobem autogamie), dochází ke splynutí samčích a samičích gamet, které vede k vytvoření suchého plodu zvaného nažka. Barva plodů u obou zmiňovaných rostlin nabývá hnědé barvy (PLADIAS 2014a, b). Nažky u druhu *S. jacobaea* bývají 2 až 3 mm dlouhé a jsou opatřeny nezřetelnými podélnými rýhami. Zatímco nažky vzniklé z jazykovitých květů jsou lysé, nanejvýš řídce ochlupené, nažky z květů terče jsou krátce brvitě. Plod je vybaven chmýrem, který je dvakrát delší než nažka a snadno opadá. Nažky druhu *S. inaequidens* jsou válcovitého tvaru, bývají obvykle cca 3 mm dlouhé, a jejich povrch je hustě pokryt krátkými chlupy (Grulich 2004). Plody se mohou u obou druhů rostlin šířit dvěma způsoby, a sice anemochorií a autochorií. Ani u jednoho z jmenovaných druhů rostlin nebylo dosud pozorováno šíření plodů za přispění mravenců (PLADIAS 2014a, b).



Obr. 3: Habitus
(*Senecio inaequidens*). Foto autor



Obr. 4: Habitus
(*Senecio jacobaea*). Foto autor



Obr. 5: List (*Senecio inaequidens*). Foto autor



Obr. 6: List (*Senecio jacobaea*). Foto autor



Obr. 7: Květ (*Senecio inaequidens*). Foto autor



Obr. 8: Květ (*Senecio jacobaea*). Foto autor

2.1.3 Původní areál rozšíření

Původním areálem rozšíření druhu *S. jacobaea* jsou podle dostupných záznamů Evropa a Asie. Konkrétně se jedná o floristickou oblast kategorie Evropa–Západní Asie. Starček přímětník je obecně považován za rostlinu kontinentálního charakteru, což přispělo k tomu, že se východně rostlina rozšířila až po Sibiř. Jižně její geografické rozšíření sahá po poloostrov Malé Asie a severní hranice výskytu leží v Norsku, odkud pochází izolovaný záznam tohoto druhu. Přesné vymezení původního areálu rostliny je však velice obtížné určit, jelikož se rostlina v minulosti rozšiřovala i za přispění člověka, který ji úmyslně či neúmyslně zavlkl i na místa, kam by se rostlina samovolně nemusela dostat. To platí právě především pro vymezení východních a jižních hranic areálu (Harper et Wood 1957). V Evropě je rostlina rozšířena ve většině států. Přirozený souvislý areál výskytu se táhne na západě od Portugalska a Španělska přes Francii, Itálii, Německo až po státy Balkánského poloostrova, k nimž patří například Rumunsko, Bulharsko nebo Řecko. Na území České republiky se starček přímětník považuje taktéž za autochtonní. Naopak v Evropě je rostlina považována za alochtonní druh pouze ve Finsku a na Islandu. V Asii se za areál přirozeného výskytu považují některé státy Jihozápadní Asie, Střední a Východní Asie. V případě Východní Asie jde především o Čínu. Existují však i záznamy o přirozeném výskytu v Alžírsku. Správnost těchto tvrzení však nebyla dosud potvrzena. Existují totiž opodstatněné obavy, že tento druh mohl být zaměněn za morfologicky podobný druh *Senecio erraticus* (CABI 2021).

Za primární areál výskytu starčku úzkolistého se považuje území Jihoafrické republiky, kde byl také poprvé roku 1836 popsán (Online Atlas of the British and Irish Flora 2008). Konkrétně se jedná o oblasti bývalých provincií Transvaal a Natal. Obě provincie se nacházely na území Jihoafrické republiky, avšak koncem 20. století zanikly. Nyní se bývalá provincie Natal označuje jako KwaZulu-Natal a rozumí se jí geografické území ležící při pobřeží Indického oceánu ve východní části JAR. Území náležící bývalé provincii Transvaal se zase nachází mezi řekami Vaal a Limpopo (Siyabona Africa 2021, Britannica 2020).

V těchto oblastech se rostlina přirozeně vyskytuje ve vyšších nadmořských výškách od 1400 do 2850 m. Nejčastěji osidluje strmé kamenité a vlhké travnaté svahy. Dá se ovšem rovněž nalézt v hojném počtu na křemitých píscích nacházejících se na březích toků. Ze své původní domoviny byl starček úzkolistý sekundárně rozšířen za pomoci

člověka na různá ruderalizovaná a narušovaná stanoviště, jako jsou například habitaty kolem cest nebo místa vypálená požárem.

V současné době se tento druh starčku v jižní Africe vyskytuje na širokém spektru stanovišť. Roste hojně jak na suchých, tak i na zamokřených biotopech. Nepohrdne ani kamenitou či hlinitou půdou a nevádí mu dokonce ani otevřené či zastíněné plochy. Z těchto údajů lze snadno odvodit, že *S. inaequidens* je velmi přizpůsobivý druh rostliny. Zdá se, že jediným faktorem ovlivňujícím výskyt starčku na těchto stanovištích je přítomnost konkurenčně silnějších druhů rostlin (Mandák et Bímová 2001).

Přestože dodnes není jasné, kam až se starček samovolně rozšířil a naopak kam byl již introdukován za přispění lidí, považuje se *S. inaequidens* za původní rovněž v Botswaně, Svazijsku, Lesothu, Mosambiku a Namibii, kam se zřejmě samovolně ze svého místa původu rozšířil (Heger 2014).

2.1.4 Historie introdukce a šíření

Původní areál výskytu starčku přímětníku sahá do mnoha států rozkládajících na kontinentu Euroasie. V Evropě je tento druh autochtonní v převážné většině států a v Asii ve více než deseti zemích včetně Sýrie, Kazachstánu a Číny (CABI 2021).

Postupem času byla rostlina *S. jacobaea* náhodně introdukována na území všech zbývajících kontinentů vyjma Antarktidy, kde její výskyt limituje zejména nízká teplota. Uchytila se především v narušených oblastech s vysokými hodnotami srážek ve státech Severní Ameriky, Jižní Ameriky, Oceánie a Afriky (Schmidl 1972a).

Nejstarší záznamy o zavlečení starčku přímětníku do Kanady pochází z Nového Skotska z 50. let 19. století (Harris et al. 1971). Roku 1888 byl popsán rovněž na ostrově Prince Edwarda, kde se o 12 let později stal běžným druhem tamější flóry. Postupně se pak objevoval na území Nového Brunšviku, Québecu a Ontaria (Bain 1991). Přes tato území se následně rozšířil až do Britské Kolumbie, ležící na západě Kanady. Stalo se tak kolem roku 1913 (Harris et al. 1971). Ve většině provincií se rostlina stala natolik rozšířenou, že ji tamní úřady prohlásily za invazivní druh (CABI 2021).

První záznamy o přítomnosti *S. jacobaea* v USA pochází z Kalifornie z roku 1912. O deset let později se rostlina objevila i v Oregonu. V 50. letech 20. století se tato bylina stala častým plevelem rozšířeným podél pobřeží Tichého oceánu. V současnosti je na území USA touto rostlinou nejvíce postižena západní oblast Kaskádového pohoří.

Existují však i zprávy o tom, že se starček rozšířil i na východ od něj. V současné době se druh *S. jacobaea* vyskytuje na většině území USA včetně Aljašky (CABI 2021).

Původem euroasijský druh starčku byl introdukován na území Austrálie mezi lety 1880 a 1890. Poprvé byl zaznamenán v oblasti zvané Victoria. V současnosti je zde hojně rozšířen a představuje tak velký problém hlavně v jižních oblastech státu s vysokými příděly srážek. Zdejší teplé a vlhké klima totiž představuje pro semena této rostliny příhodné podmínky pro klíčení (Schmidl 1972b). Ohniska šíření starčku přímětníku jsou však známá také v Západní Austrálii. Jedná se opět o místa s vyššími úhrny srážek. V oblasti Jižní Austrálie, Západní Austrálie a Tasmánie je rostlina vedena jako invazivní druh (CABI 2021).

Na Nový Zéland byl starček úzkolistý zavlečen před rokem 1874 (Cameron 1935) a dnes se běžně vyskytuje na Severním i Jižním ostrově. Na tomto souostroví se k rostlině přistupuje jako k invazivnímu druhu (CABI 2021).

Harper a Wood (1957) uvádějí, že identifikovali druh *S. jacobaea* rovněž v Argentině. Pozdější záznamy o flóře ovšem toto tvrzení nepotvrdily, ačkoli se zde prokázal výskyt jiných druhů rodu *Senecio*. Co se týče státu Afriky a ostatních zemí Jižní Ameriky, je třeba zmínit, že se starček přímětník hojně vyskytuje na půdě Alžírsko, ostrova Réunion (patřícího Francii), Brazílie a Uruguaye (CABI 2021).

Za původní areál výskytu rostliny *S. inaequidens* se považuje oblast státu Jihoafrické republiky. V dalších státech jižní Afriky se rovněž starček úzkolistý vyskytuje, nicméně není zcela jasné, zda je ve všech těchto zemích původní, nebo se na území některých z nich dostal až s přispěním člověka.

Do Evropy se starček úzkolistý rozšířil pravděpodobně prostřednictvím ovčí vlny, která byla kontaminována semeny této rostliny. První záznam přítomnosti rostliny *S. inaequidens* v Evropě pochází z roku 1889 z Německého města Hannover. O pár let později byl nalezen v dalším německém městě Brémy. Pozdější záznamy o výskytu tohoto druhu pochází z Velké Británie (1908), Belgie (1922), Francie (1935) a Itálie (1947). Všechny tyto oblasti nějakým způsobem souvisely se zpracováním ovčí vlny, což podporuje domněnku introdukce rostliny do Evropy prostřednictvím této komodity (Lafuma et al. 2003).

V první polovině 20. století záznamů o výskytu rostliny postupně přibývalo, avšak vždy se jednalo o lokality, které souvisely buď s transportem nebo zpracováním jihoafrické vlny. Z nepočetného množství lokalit, kde byl starček nalezen, je možno usuzovat, že v této

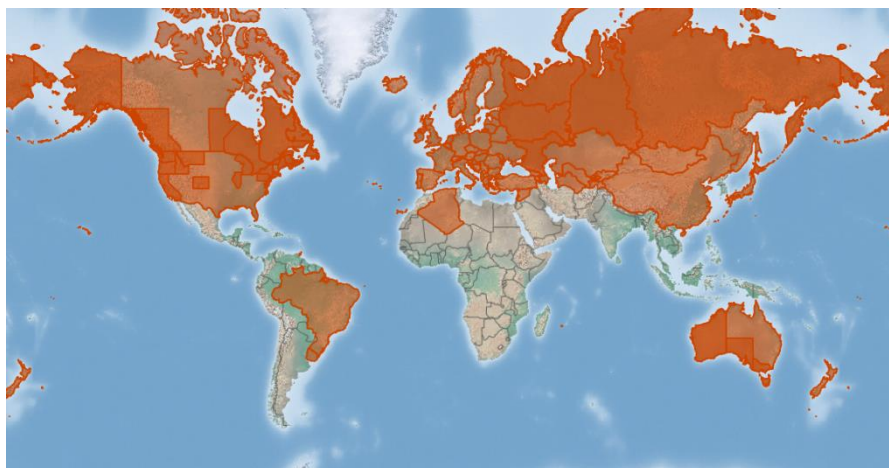
době se rostlina nebyla schopna šířit a kolonizovat tak nová území (Mandák et Bímová 2001).

Zlom přišel v 70. letech 20. století, kdy se rostlina pravděpodobně přizpůsobila odlišným podmínkám severní polokoule a začala se samovolně šířit i do míst, jež nesouvisela se zpracováním ovčí vlny. Podle dostupných záznamů se rostlina šířila ze západní Evropy směrem do střední a jižní Evropy. V roce 2001 bylo známo pět evropských center šíření, kde byl druh zcela aklimatizován. Byly jimi Mazamet (jižní Francie), Calais (severní Francie), Verona (severní Itálie), Liéhe (východní Belgie) a Brémy (severní Německo). Vedle těchto lokalit, kde byl druh zcela přizpůsoben tamějším podmínkám, se však starček objevoval i na mnoha dalších místech Evropy, kam byl lidmi různými způsoby zavlečen. Nejvýchodnější pás výskytu se v roce 2001 táhl přes státy Polska, České republiky a Slovenské republiky (Mandák et Bímová 2001). V současné době se starček vyskytuje rovněž na území některých států Balkánského poloostrova i Skandinávie. Zajímavé je, že tento druh rostliny překonal za relativně krátkou dobu obrovské vzdálenosti a kolonizoval tak za pouhých 50 let většinu států Evropy. Tak rychlého šíření by však nedosáhl bez přispění člověka, který semena této rostliny doposud roznáší prostřednictvím silnic a železnic po celé Evropě. Diaspory se často uchycují například mezi vzorky pneumatik nebo na nákladu převáženého železniční dopravou (Heger 2014).

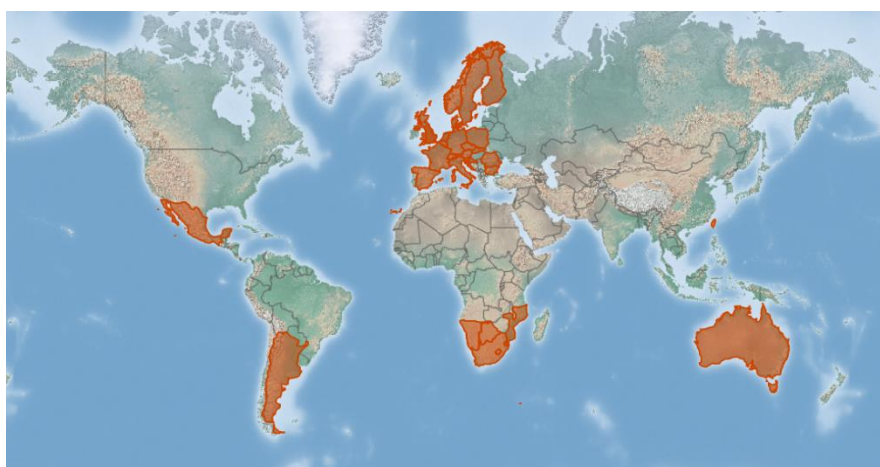
Mimo Evropy byla rostlina druhu *S. inaequidens* také zaznamenána na území Austrálie, Mexika, Argentiny, Brazílie a Kolumbie (Heger 2014).

Opětovné zavlečení rostliny *S. inaequidens* ze států jižní Afriky se zdá být nepravděpodobné, jelikož se ovčí vlna z těchto zemí již nedovází v takovém množství jako v 19. století. Introdukce v důsledku silniční a železniční dopravy do dalších částí Evropy a potažmo Asie je však velmi pravděpodobná, což naznačuje i fakt, že rostlina již byla pozorována v převážné části Evropy. Dále je třeba poznamenat, že většina záznamů o výskytu druhu sice pochází pouze z lokalit nacházejících se poblíž silnic a železnic, nicméně se dá očekávat, že v nejbližší době bude tato rostlina schopna osidlovat i louky a pastviny. Tomuto jevu by mohly pomoci i mírnější zimy, které nastávají v důsledku změny klimatu. Navzdory tomu některé experimentální studie ukázaly, že nárůst teploty o 3 °C by mohl snížit konkurenční zdatnost starčku úzkolistého oproti původní rostlině *Plantago lanceolata* (Verlinden et al. 2014). Zdá se však, že genotypy evropských rostlin starčku úzkolistého pocházejí z původních vysokohorských oblastí jižní Afriky

(Bossdorf et al., 2008), což naznačuje, že by se rostlina mohla šířit rovněž ve vyšších nadmořských výškách. Nasvědčují tomu i evropské nálezy druhu ve výškách okolo 1600 metrů nad mořem (Vacchiano et al. 2013).



Obr. 9: Světová mapa rozšíření *Senecio jacobaea* (Heger 2014)



Obr. 10: Světová mapa rozšíření *Senecio inaequidens* (CABI 2021)

2.1.5 Šíření v ČR

Zatímco je *S. jacobaea* v České republice považován za autochtonní, jeho příbuzný *S. inaequidens* je na našem území nepůvodní.

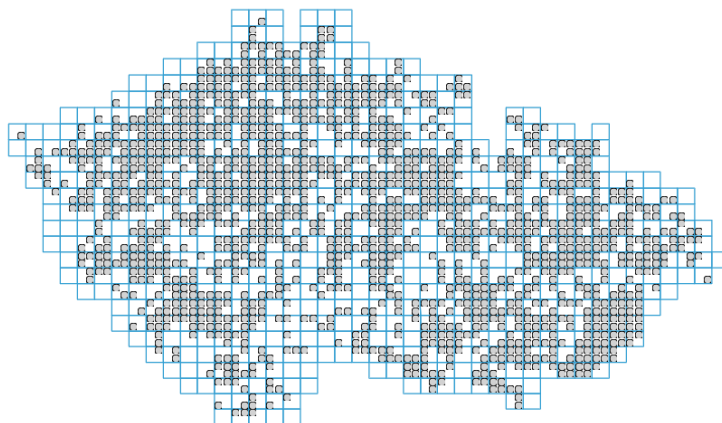
Do České republiky se *S. inaequidens* dostal pravděpodobně z tehdejší Spolkové republiky Německo za pomoci železniční dopravy. Nelze však vyloučit ani přímé zavlečení z jižní Afriky prostřednictvím semen zachycených v ovčí vlně. Tomuto tvrzení nahrává totiž fakt, že před několika lety ve městě Ústí nad Labem zpracovávala ovčí vlnu firma Vlnola, která tak mohla nevědomky přispět k zavlečení tohoto nepůvodního druhu na naše území (Lepší 2003).

První záznam starčku úzkolistého na území České republiky zdokumentoval V. Jehlík 15. října 1997 na překladišti Nové Loubí v Děčíně (Jehlík et al. 2003). Autor nálezu informoval, že se jednalo pouze o jednoho jedince. Druhý nález tohoto druhu byl učiněn Mandákem a Bímovou v roce 1999 na lokalitě v horním Pojizeří, kde se podle autorů nacházela populace čítající několik desítek vitálních jedinců. Jelikož se jednalo o jeden

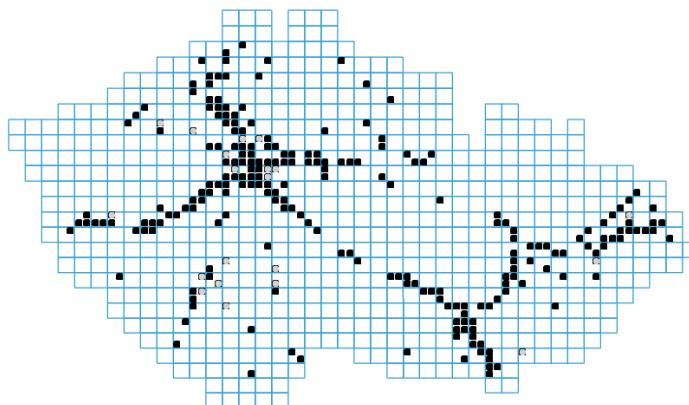
z prvních nálezů rostliny na našem území, je pravděpodobné, že se zde mohlo nacházet také ohnisko, ze kterého se rostlina později rozšířila (Mandák et Bímová 2001).

Postupem času se po České republice starček úzkolistý šířil převážně prostřednictvím železniční dopravy, o čemž svědčí skutečnost, že byl v převážné většině případů nalézán poblíž železničních tratí. V letech 2007 a 2008 byl však zaznamenán rovněž na dálnici D8, čímž se potvrdilo úspěšné šíření starčku po silničních (dálničních) sítích i na území České republiky. Právě dálnice jsou považovány za nejlepší distribuční kanál pro šíření starčku úzkolistého, což bylo již dříve doloženo z jiných zemích Evropy (Kocián 2014).

Centrem výskytu starčku úzkolistého na území České republiky je v současné době hlavní město Praha, kde se primárně vyskytuje na ruderálních stanovištích poblíž kolejnic a cest (PLADIAS 2014b). V minulosti se postupně z tohoto centra začal rozšiřovat a v posledních 20 letech byl zaznamenán téměř ve všech krajích ČR. Jeho výskyt je primárně vázán na dopravní cesty a uzly v nižších až středních polohách. Je však třeba zmínit, že se též vyskytuje ve vyšších nadmořských výškách, i když jeho nálezy jsou v těchto polohách na našem území prozatím ojedinělé (Dvořák 2020).



Obr. 11: Mapa rozšíření *Senecio jacobaea* v ČR (PLADIAS. 2023)



Obr. 12: Mapa rozšíření *Senecio inaequidens* v ČR (Kúr et al. 2023)

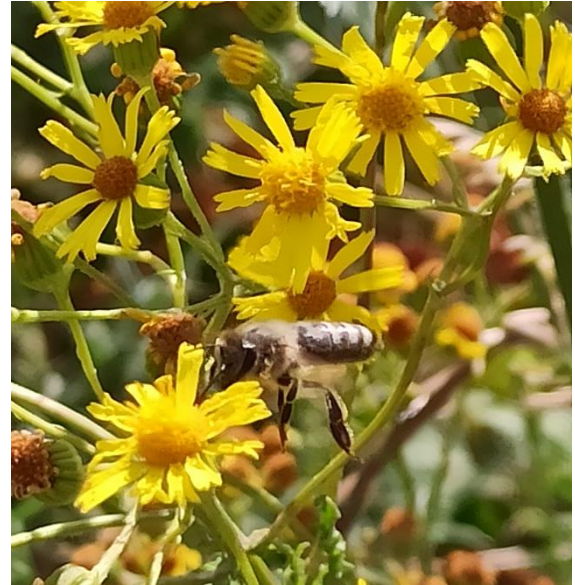
2.1.6 Ekologie

V Evropě se druhy *S. jacobaea* a *S. inaequidens* prezentují několika společnými ekologickými rysy. Oba z uvedených druhů se mohou společně vyskytovat na stanovištích, jako jsou například ruderalní stanoviště podél železničních tratí a silnic. Mohou spolu však koexistovat i na biotopech, jako jsou pastviny (Černý 2021, Vanparys et al. 2011). Určité rozdíly ve stanovištních poměrech se ovšem mezi těmito dvěma druhy nalézt dají. Zatímco starček přímětník roste nejčastěji na suchých loukách, mezích, stepních svazích, v suchých lesních lemech a řidčeji zapojených lesech, starček úzkolistý má raději okraje komunikací, nevyužité plochy, skládky zeminy, náplavy vodních toků nebo třeba výsypky. Na rozdíl od našeho původního druhu starčku nemá rád zapojené porosty. Oba druhy preferují osluněné plochy, ale zvládají i menší či větší zástín a jsou schopné snášet jak hlinité, tak i kamenité podklady (PLADIAS 2014a, b).

Dalším společným znakem může být jejich fenologie, týkající se období kvetení, které se u obou rostlin vzájemně překrývá. Oba tyto druhy rostlin na území České republiky totiž začínají kvést v červnu a odkvétají na podzim. Konkrétně náš původní starček odkvétá již na začátku září a náš nepůvodní druh starčku až v období měsíce října (Grulich 2004). Ovšem z vlastního pozorování lze usoudit, že invazní druh starčku protahuje svoji periodu kvetení až do listopadu, zatímco konec kvetení starčku přímětníku nastává zřídka kdy později než na přelomu července a srpna. Způsob opylení u obou druhů starčků je závislý především na hmyzu. Je však známo, že v menší míře jsou rostliny schopné plodit semena ve formě nažek i po takzvané autogamii (Vanparys et al. 2011). Vanparys et al. (2008) ve své studii provedené v Belgii uvádějí, že se v překrývajícím období kvetení tyto druhy rostlin v reprodukční ekologii vyznačují velmi podobným sdružením jejich opylovačů. Dle jejich pozorování květy obou rostlin navštěvují především opylovači z řádů Hymenoptera a Diptera. Z blanokřídlých se jedná především o druhy *Bombus* spp., *Apis mellifera* a druhy samotářských včel. Ze skupiny dvoukřídlých je pak v tomto směru nejzastoupenější čeledí čeled' Syrphidae. V menší míře pak květy obou rostlin navštěvují rovněž jedinci ze skupiny Coleoptera a Lepidoptera (Vanparys et al. 2008).



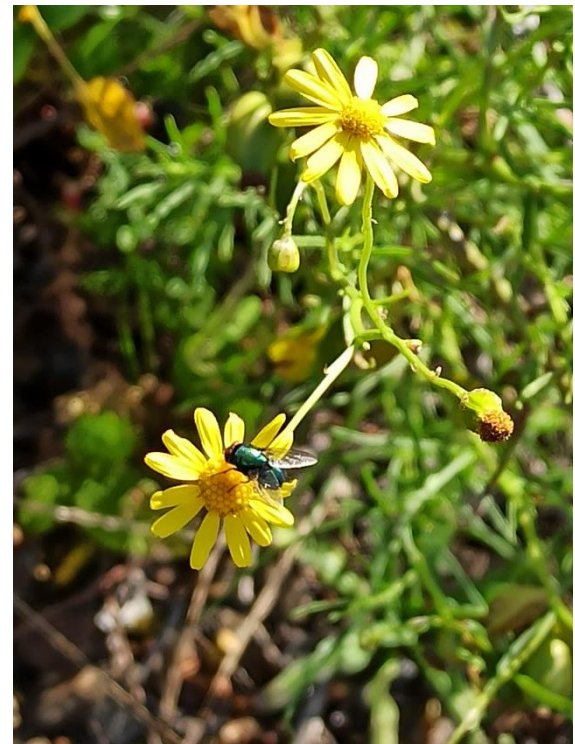
Obr. 13: Jedinec z čeledi Zygaenidae opylující
Senecio jacobaea. Foto autor



Obr. 14: Jedinec z čeledi Apidae opylující
Senecio jacobaea. Foto autor



Obr. 15: Jedinec z čeledi Syrphidae opylující
Senecio inaequidens. Foto autor



Obr. 16: Jedinec z čeledi Calliphoridae opylující
Senecio inaequidens. Foto autor

Zajímavé je zjištění autorů studie Vanparys et al. (2008), že frekvence návštěvnosti jednotlivých úborů starčeků byla vyšší u invazivního druhu. Původní druh *S. jacobaea* však disponuje vyšší hustotou květů na jedné rostlině, a tudíž není překvapením, že návštěvnost hmyzu na jednom jedinci rostliny byla vyšší právě u původního druhu starčku. Tým Vanparys et al. (2011) se pokusil přijít na to, proč je *S. inaequidens* pro opylovače atraktivnější než jeho příbuzný *S. jacobaea*. Vycházeli přitom ze zjištění, že atraktivita květů pro opylující hmyz u některých rostlin, jako *Impatiens glandulifera* a *Taraxacum officinale*, roste s množstvím vyprodukovaného nektaru (Chittka et Schürkens 2001, Lopezaraiza-Mikel et al. 2007, Kandori et al. 2009). Ovšem to se v této studii nepotvrdilo. Naopak bylo zjištěno, že starček přímětník produkuje až pětkrát více nektaru s vyšší koncentrací sacharidů než starček úzkolistý. To znamená, že vyšší návštěvnost starčku úzkolistého nemůže být tímto způsobem vysvětlena a prozatím tak zůstává záhadou (Vanparys et al. 2011).

Vysoká podobnost sdíleného počtu druhů opylovačů mezi těmito dvěma rostlinami se prokázala i v podobném výzkumu v České republice v doposud nepublikované studii Černý (2021), kde se výzkumníci zaměřili především na opylovače z řádu Hymenoptera. Metodikou smýkání nachytali 44 druhů blanokřídlého hmyzu na květech starčku přímětníku a 51 druhů na květech starčku úzkolistého. Po jejich určení se zjistilo, že 26 druhů opylovačů bylo společných pro obě rostliny, což odpovídá více než polovině sdílených opylovačů z řádu Hymenoptera těmito rostlinami. V počtu jedinců, kteří navštívili květy rostlin, pak jasně dominoval náš původní druh rostliny, na které bylo nachytáno 382 jedinců. Na květech invazivního starčku bylo pozorováno pouze 189 jedinců. Je však třeba znovu zmínit, že rostlina starček přímětník disponuje větší hustotou květů než jeho příbuzný starček úzkolistý. To je zřejmě hlavním důvodem toho, proč na rostlině druhu *S. jacobaea* bylo zaznamenáno téměř o 200 jedinců blanokřídlého hmyzu více než na rostlině *S. inaequidens*. Navíc bylo pozorováno, že rostliny starčku úzkolistého rostly samostatně a bylo jich tak početně méně než rostlin druhu *S. jacobaea*, které rostly ve větších uskupeních. Na květech obou druhů rostlin bylo rovněž pozorováno mnoho druhů pestřenek (Syrphidae) a jen málo druhů z řádu Lepidoptera.

Další rozdíl v reprodukční ekologii těchto rostlin byl pozorován v počtu semen, které vyprodukovaly. Zatímco rostlina *S. inaequidens* podle autorů vyprodukovala větší počet nažek, který činil v průměru 78 % z celkového počtu květů v úboru, úbory rostliny *S. jacobaea* obsahovaly v průměru pouze 55 % nažek (Vanparys 2008). Proč tomu tak

bylo, se snažil zjistit tým výzkumníků Vanparys et al. (2011), který navrhl, že by toto mohla vysvětlovat vysoká míra samoopylení u invazivního druhu starčku. Z pokusu samoopylení rostlin u obou druhů ovšem jasně vyplynula velmi nízká produkce semen, která činila něco přes 10 % z celkového počtu květů v úboru. Na druhou stranu při křížovém opylení květů bylo úspěšně u obou druhů oploženo 80 % květů v úboru. Tyto výsledky jasně ukazují, že hypotéza o lepší schopnosti samoopylení u druhu *S. inaequidens* byla mylná. Tým tedy předpokládá, že vyšší fertilita u invazivního druhu starčku může být dána vyšší mírou schopnosti křížení, kterému napomáhá opylující hmyz.

2.1.7 Toxicita

Ve společenství rostlin je obecně hlavním hybatelem evoluce selektivní tlak, který na sebe různé druhy vyvíjejí. Interakce však probíhají nejen mezi samotnými rostlinami, ale také mezi rostlinami a jejich herbivory. Vzájemné působení mezi rostlinou a jejím spásáčem často u obou z nich vede k rozvoji obranných mechanismů, které slouží k vzájemnému přizpůsobování. Zatímco rostliny si jako obranu proti herbivorům často vytvářejí velké množství různých jedovatých metabolitů, specializovaný hmyz se tyto toxické sloučeniny pokouší překonat například tím, že si na ně vyvine rezistenci a je tak schopný je různými způsoby ve svém těle detoxikovat. Koncentrace a složení metabolitů produkovaných rostlinami jsou často spojeny s faktory prostředí, jako je například dostupnost živin či frekvence jejich okusu (Jung et al. 2020).

Mezi rostlinné metabolity patří rovněž skupina sloučenin, která je označována jako pyrolizidinové alkaloidy (PA). Jedná se o sekundární metabolity sloužící rostlinám k obraně vůči různým herbivorům. Vyskytují se zejména u některých druhů rostlin patřících do čeledí *Asteraceae*, *Boraginaceae*, *Fabaceae* a *Orchidaceae* (Jung et al. 2020).

Z chemického hlediska se do skupiny pyrolizidinových alkaloidů řadí více než 200 sloučenin, které jsou odvozeny od alfa-aminokyseliny ornitinu (Bicchi et al. 1985). Vzhledem ke svým hepatotoxickým účinkům mohou být tyto sloučeniny nebezpečné nejen pro spásáče, jako je například kůň nebo dobytek, ale také pro člověka. Toxické však mohou být i pro řadu druhů hmyzu. U spásáčů a lidí se tyto sloučeniny po požití vstřebávají v gastrointestinálním traktu, odkud jsou transportovány do jater. Zde jsou metabolizovány na reaktivní deriváty pyrrolu, které posléze mohou reagovat s proteiny či jinými biopolymery a způsobovat tak akutní či chronickou intoxikaci jater (Jung et al. 2020). Toto se projevuje především nekrózou a cirhózou postiženého orgánu.

PA sloučeniny se však mohou projevovat u postižených jedinců rovněž genotoxickými a karcinogenními účinky (Eller et Chizzola 2016).

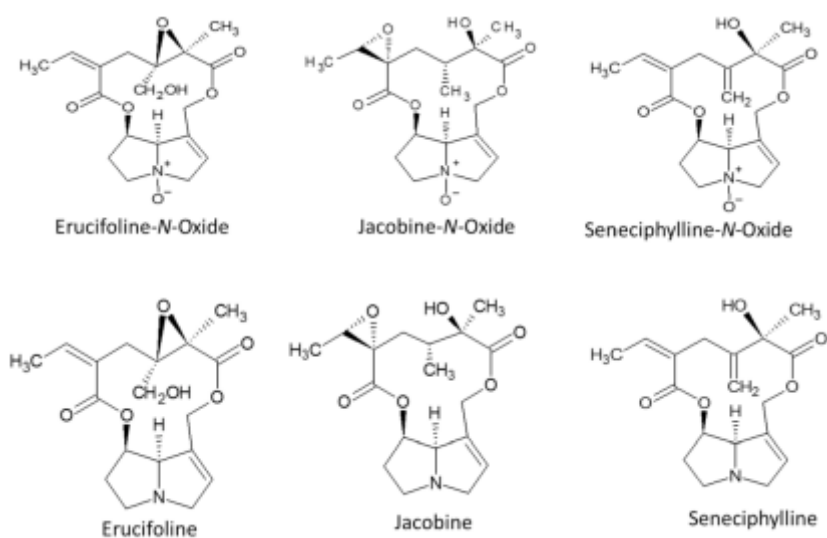
Vliv těchto látek na hmyz je prozatím předmětem současného výzkumu. Zdá se však, že různé sloučeniny ze skupiny pyrolizidinových alkaloidů mají na rozličné druhy hmyzu odlišný účinek. Dokládá to studie z roku 2011, která ukazuje, že negativními důsledky těchto sloučenin trpí především nesespecializovaný hmyz, jako je například *Drosophila melanogaster* či *Frankliniella occidentalis*. Naopak pro specializované druhy hmyzu toxické látky ve formě PA nejen že nepředstavují hrozbu, ale tyto druhy jsou dokonce schopné využít zmiňované alkaloidy jako vodítko k nalezení příslušné rostliny (Macel 2011).

Člověk se může pyrolizidinovými alkaloidy intoxikovat přes gastrointestinální trakt prostřednictvím konzumace produktů, v nichž se tyto toxické sloučeniny vyskytují. Jde především o živočišné výrobky, jako je například vejce, mléko nebo med. Rovněž však existuje riziko příjmu alkaloidů také z čaje, uvařeného z bylin obsahujících tyto sekundární metabolity (Mulder et al. 2015).

Mezi rostliny produkující pyrolizidinové alkaloidy se řadí rovněž mnoho druhů z rodu *Senecio* (*Asteraceae*). Bylo zjištěno, že tyto rostliny produkují širokou škálu pyrolizidinových alkaloidů vykazujících hepatotoxickou a karcinogenní aktivitu. U druhů náležících do rodu *Senecio* jsou tyto toxické sloučeniny syntetizovány v kořenech v podobě senecioninu N-oxidu. Ten je následně z kořenů transportován vodivým pletivem, floémem, do orgánů nadzemní biomasy, kde je transformován do podoby několika příbuzných sloučenin. Do jaké podoby bude senecionin metabolizován, však záleží na konkrétním druhu rostliny. Touto skutečností lze vysvětlit, proč se u odlišných druhů starčeků vyskytují odlišné sloučeniny a jejich rozličné kombinace. Mezi rostliny z rodu *Senecio*, produkující tyto sekundární metabolity, patří rovněž druhy *S. jacobaea* a *S. inaequidens* (Jung et al. 2020, Eller et Chizzola 2016).

S. jacobaea obecně obsahuje široké spektrum pyrolizidinových alkaloidů. Na toto téma již byla zpracována spousta studií napříč desetiletími. Například Hartmann a Zimmer (1985) ve svém výzkumu na základě techniky kapilární plynové kapalinové chromatografie zjistili přítomnost celkem čtyř sloučenin pyrolizidinových alkaloidů v rostlině. Jednalo se o látky zvané senecionin, seneciphyllin, integerrimin a retrorsin. O pár let později bylo v starčku přímětníku identifikováno celkem 16 druhů těchto alkaloidů. Kromě výše zmíněných látek byly v našem původním stračku nalezeny

molekuly sloučenin seneciverninu, jakobinu, jakozinu, erucifolinu a acetylerucifolinu (Witte et al. 1992) V novodobé historii pak roku 2020 bylo u tétohož druhu zaznamenáno 98 různých sloučenin řazených k pyrolizidinovým alkaloidům. Tato studie byla zhotovena v severní části Německa. Autoři se v ní zmiňují, že ve zkoumaných 367 jedincích byla nejhojněji zastoupena složka erucifolinu ve formě N-oxidu. Následovaly sestupně senecionin-N-oxid_Senecivernin-N-Oxid, jakobin-N-oxid, jakobin, erucifolin, seneciphyllin-N-Oxid, seneciphyllin, retrorsin-N-Oxid, senecionin_senecivernin a retrorsin. Těchto deset sloučenin představovalo 80 % celkového obsahu PA v rostlinách *S. jacobaea* (Jung et al. 2020).



Obr. 17: Chemická struktura šesti nejzastoupenějších pyrolizidinových alkaloidů obsažených v rostlině *Senecio jacobaea*. (Jung et al. 2020)

Witte et al. (1992) popsali dva chemotypy, kterými se starček přímětník vyznačuje. Jedná se o typ jakobin a typ erucifolin. Tyto chemotypy byly založeny na rozdílném obsahu PA v květenstvích rostlin. Zatímco se květy jedinců typu jakobin prezentovaly přítomností molekul jakobinu a jakozinu a postrádaly erucifolin, květy rostlin typu erucifolin obsahovaly primárně erucifolin a acetylerucifolin a téměř žádný jakobin. Je však třeba říci, že se oba výše zmíněné chemotypy nelišily v koncentracích ostatních sloučenin ze skupin pyrolizidinových alkaloidů, jako je například senecivernin, senecionin, integerrimin nebo seneciphyllin. Vzácně se podle autorů může vyskytovat i třetí chemotyp, který se vyznačuje přibližně stejným obsahem jakobinu a erucifolinu.

Jung et al. (2020) uvádějí, že průměrná koncentrace PA v jedinci druhu *S. jacobaea* se pohybuje okolo 1032 mg/kg sušiny, což odpovídá 0,1 % hmotnosti suché rostliny. U

jednotlivých populací starčku se přitom průměrné množství sledovaných látek velmi lišilo. Nejnižší průměrná koncentrace PA u jedné z měřených populací činila průměrně 777 mg/kg sušiny. Naopak nejvyšší naměřené hodnoty se u jedné z populací starčku přímětníku průměrně vyšplhaly až na 1666 mg/kg sušiny. Proč existují takové rozdíly mezi obsahem PA v různých populacích, není zcela jisté, ale pravděpodobně jedním ze základních faktorů může být složení půdy. Dokládá to jedna studie z roku 2010, která ukázala, že vyšší koncentrace PA měly rostliny, které rostly v na živiny chudých půdách (Kirk et al. 2010).

Bylo zjištěno, že obsah, koncentrace a rozložení pyrolizidinových alkaloidů v jednotlivých orgánech u starčku přímětníku závisí na fázi vývoje, v jaké se daný jedinec právě nachází. Rozložení těchto sekundárních metabolitů v rostlině se tak během sezóny značně mění. V rané fázi vývoje, kdy výška rostliny dosahuje 3-4 cm, se největší množství alkaloidů, tedy 82 %, nachází v listech a pouhých 18 % v kořenech. Je však třeba zmínit, že v této fázi vývoje rostliny se nejvyšší koncentrace alkaloidů udržuje právě v podzemních orgánech. Po vytvoření květů se pak tyto toxické látky akumulují primárně v reprodukčních orgánech a s přibývajícím květy se zde obsah i koncentrace pyrolizidinových alkaloidů zvyšují. Poté, co rostlina plně rozkvetne, se abundance alkaloidů v úborech pohybuje kolem 80 %. Naopak v období senescence, kdy jsou všechny plody již rozesety po okolí, se nejvyšší množství alkaloidů soustředí v nadzemních orgánech rostliny. V tomto období rozdíl v obsahu alkaloidů mezi nadzemními orgány a kořenem činí 93 % (Hartmann et Zimmer 1985).

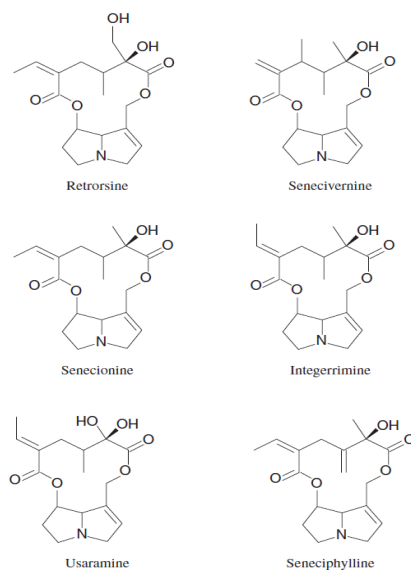
Složení a procentuální zastoupení jednotlivých zkoumaných sloučenin alkaloidů se mezi listy a květy ovšem nijak zvlášť neliší (Hartmann et Zimmer 1985). Hartmann a Zimmer (1985) za použití plynové chromatografie zjistili, že v obou zmíněných orgánech dominuje senecionin, který je sestupně následovaný senecifylinem, integerriminem a retrorsinem. Autoři studie ovšem dodávají, že mezi vzorky odebraných z různých míst byla shledána vysoká variabilita v obsahu jednotlivých látek.

Velkou úlohu v koncentracích a procentuálním zastoupení jednotlivých sloučenin ze skupiny pyrolizidinových alkaloidů mezi jedinci hraje zřejmě také genetická dědičnost. Macel et al. (2004) ve své studii uvádějí, že se potomci jedné klonální linie v procentuálním složení a absolutní koncentraci senecioninu, seneciphyllinu, integerriminu, jakobinu a erucifolinu lišili jen velmi málo v porovnání s ostatními klonálními liniemi z odlišných populací.

Zkoumání variace PA uvnitř a mezi oddělenými populacemi ukázalo, že sice jednotlivé rostliny mohou obsahovat více či méně sloučenin PA, avšak celé jejich populace se liší pouze v množství obsaženého seneciphyllinu a jakobinu. Abundance ostatních pozorovaných molekul se naproti tomu relativně neliší. Co se týká absolutní koncentrace jednotlivých PA v testovaných populacích, tak bylo zjištěno, že se jednotlivé populace starčeků liší pouze v koncentraci sloučeniny jakobinu, zatímco koncentrace ostatních sledovaných molekul je mezi populacemi rostlin relativně shodná (Macel et al 2004).

Mezi druhy rostlin schopné proti herbivorům produkovat obranné látky, náležící do skupiny pyrolizidinových alkaloidů, patří rovněž druh *S. inaequidens*. Bicchi et al. (1985) uvádějí, že za pomoci techniky kapilární plynové chromatografie analyzovali v stračku úzkolistém pět rozdílných složek látek této třídy. Nejhojněji zastoupenou látkou v rostlině byl retrorsin, sestupně následovaný senecioninem, seneciverninem, integerriminem a analogem retrorsinu. Autoři studie navíc na základě molekulové hmotnosti zjistili, že starček úzkolistý obsahuje další dvě molekuly těchto sekundárních metabolitů. Nepovedlo se jim je ovšem identifikovat. Ve studii z roku 2016 se členům výzkumu, zabývajícím se měřením pyrolizidinovými alkaloidů v invazivním druhu starčku, podařilo díky plynové chromatografii separovat devět látek této skupiny alkaloidů. Nicméně na základě hmotnostní spektrometrie se povedlo určit pouze šest z nich. Konkrétně se jednalo o látky senecivernin, senecionin, seneciphyllin, integerrimin, retrorsin a usaramin. Nejzastoupenější látkou v rostlině je podle tohoto výzkumu retrorsin. Sestupně pak následují sloučeniny senecivernin, senecionin (5-10 %), integerrimin (5-7 %), usaramin (3-4 %) a seneciphyllin (1 %) (Eller et Chizzola 2016).

Eller et Chizzola (2016) ve své práci uvádějí, že nejvyšší zastoupení látek z třídy pyrolizidinových alkaloidů ve stoncích a květech měly rovněž molekuly retrorsinu a seneciverninu. Nejvíce retrorsinu se nachází ve stoncích rostliny (68 %) a naopak nejméně v květech (47 %). Množství seneciverninu se podle studie ve stoncích pohybuje pouze okolo 11 %, zatímco v květenstvích jeho obsah může činit až 26 % z celkového zastoupení těchto sekundárních metabolitů.



Obr. 18: Chemická struktura pyrolizidinových alkaloidů obsažených v rostlině *Senecio inaequidens*. (Eller et Chizzola 2016)

Z celkové hmotnosti sušiny samotné rostliny zauímají pyrolizidinové alkaloidy u starčku úzkolistého 0,3-0,4 % (Bicchi et al. 1985). Obsah alkaloidů v rostlině během sezóny ovšem vykazuje určitou dynamiku. Největší množství těchto látek si rostlina vytváří na začátku jejího období růstu a postupem sezóny naopak jejich obsah klesá. Absolutní koncentrace alkaloidů se v celé rostlině během sezóny pohybuje mezi hodnotami 1,14 a 10,7 g/kg sušiny. Průměrné množství alkaloidů za jedno vegetační období se přitom udává na 3,34 g/kg sušiny (Eller et Chizzola 2016).

Průměrný obsah alkaloidů se samozřejmě během sezóny mění rovněž v jednotlivých orgánech. V dubnu, tedy na začátku vegetační sezóny starčku úzkolistého, kdy se rostlina skládá pouze z malých výhonků tvořených stonky s drobnými listy, se koncentrace sekundárních metabolitů v rostlině pohybuje kolem 10,7 g/kg sušiny. Během sezóny se ve stoncích obsah PA postupně snižuje. V listech se však koncentrace těchto látek téměř nemění a zůstávala tak většinu času pod hodnotou 1 g/kg sušiny. Květy starčku úzkolistého se objevují na začátku měsíce června a odkvétají na konci listopadu. Na počátku kvetení se koncentrace toxických látek v květech pohybuje kolem 4 g/kg sušiny, ale s přibývajícím časem se tato koncentrace postupně zvyšuje. V období mezi červencem až říjnem se obsah alkaloidů v květech zvyšuje až na 10 g/kg sušiny, což z nich během vegetační sezóny dělá spolu s mladými výhonky nejchřáněnější orgány rostliny (Eller et Chizzola 2016).

Z výše uvedených informací vyplývá, že oba druhy starčeků produkují jak totožné, tak i odlišné sloučeniny z řad pyrolizidinových alkaloidů. Mezi ty nejzastoupenější společné látky patří senecivernin, senecionin, seneciphyllin, integerrimin a retrorsin (Witte et al. 1992, Eller et Chizzola 2016). V některých hlavních látkách, které produkují, se však vzájemně rozcházejí. Jako příklad lze uvést jakobin, jakozin a erucifolin, které produkuje *S. jacobaea* (Witte et al. 1992), ale v jedincích druhu *S. inaequidens* se tyto látky dle dosavadních studií nevyskytují (Eller et Chizzola 2016). Naopak *S. inaequidens* vytváří sloučeninu usaramin (Eller et Chizzola 2016), která prozatím v *S. jacobaea* nalezena nebyla (Eller et Chizzola 2016). Je však třeba zmínit, že invazivní starček úzkolistý zřejmě obsahuje více sloučenin ze skupiny pyrolizidinových alkaloidů, než v něm dosud bylo nalezeno. Tudíž je možné, že oproti starčku přímětníku bude obsahovat další rozdílné sloučeniny, které dodnes nebyly odhaleny. Tyto dva druhy rostlin se však neliší pouze v produkci odlišných látek, ale i v obsahu a koncentraci látek, které jsou pro ně totožné. A to jak v rámci celé rostliny, tak samozřejmě i s ohledem na jednotlivé orgány (Eller et Chizzola 2016, Jung et al. 2020).

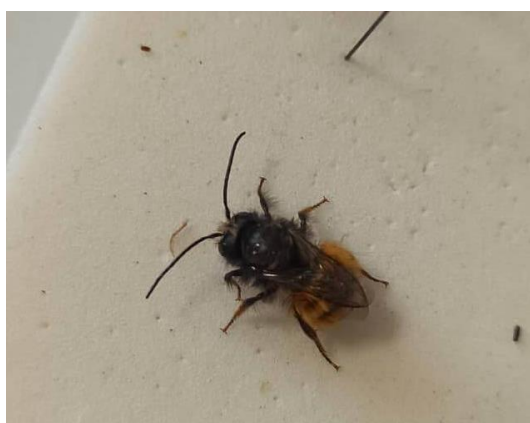
Největší koncentrace těchto sekundárních metabolitů se u starčku přímětníku a starčku úzkolistého v době kvetení nachází v jejich květenstvích. Tento jev lze vysvětlit tím, že orgány potřebné k dalšímu rozmnožování jsou pro rostliny nejcennější, a tudíž jsou více chráněny před různými býložravci. Stejným způsobem se projevují i jiné druhy náležící do rodu *Senecio*. Podobné chování bylo zaznamenáno i u druhu *Cynoglossum officinale* z čeledi *Boraginaceae* (Van Dam et al. 1995). Zdá se tak, že tento trend je mezi rostlinami hojně rozšířen (Hartmann et Zimmer 1985, Eller et Chizzola 2016). Pyrolizidinové alkaloidy se u druhů *S. jacobaea* a *S. inaequidens* nachází nejen v pletivech květů, ale rovněž v nektaru, který produkují. Tento argument je podpořen tím, že včely, živící se nektarem vytvářeným těmito druhy rostlin, produkují med kontaminovaný těmito alkaloidy (Hartmann et Zimmer 1985, Bassignana et al. 2018).

2.2 *Osmia bicornis* & *Heriades truncorum*

V České republice žije více než 600 druhů včel, z nichž přes 90 % netvoří společenstva. Takové včely jsou označovány za samotářské (Dobrá et Dobrý 2023). Na rozdíl od *Apis mellifera*, která žije v eusociálním společenstvu, navíc tyto včely neprodukují med, nemají královnu a ani nežijí v úlech. Zpravidla nejsou agresivní, jelikož nemají v hnízdech med, který by měly potřebovat chránit. Žihadlo mají obvykle pouze samice, které ho používají pouze v krajních případech, kdy se cítí ohroženy. Důležitost samotářských včel je v přírodě nezměrná. Hrají totiž významnou roli v opylování nejrůznějších plodin, květin i stromů (GREEN&BLUE 2015). Do skupiny samotářských včel patří mimo jiné i druhy jako je *Osmia bicornis* (zednice rezavá) a *Heriades truncorum* (dřevobytko obecná). Oba druhy těchto včel se společně řadí do čeledi Megachilidae (BioLib.cz 2023a, b).

2.2.1 Popis

O. bicornis je středně velký druh samotářské včely, dosahující velikosti 8–13 mm. Hrud' tohoto živočicha je šedohnědě ochlupená. Všechny tergity nabývají černé barvy. První tři tergity nesou rezavé chlupy a poslední tři jsou černě chlupaté. Břišní sběrací kartáče se vyznačují žlutohnědou barvou. Samice se, na rozdíl od samce, vyznačuje nápadnými kutikulárními výběžky na klypeu. Tyto výběžky připomínají rohy, proto tato včela je druhovým jménem označována jako *bicornis* (dva rohy). Samci bývají jen o málo menší než samice. Disponují kratšími tykadly a od samice se navíc liší bílým ochlupením přední části hlavy a růžkovitými výčnělky na bázi kusadel (Bogusch et al. 2010).



Obr. 19: Samice druhu *Osmia bicornis*.
Foto autor



Obr. 20: Samec druhu *Osmia bicornis*.
Foto autor

H. truncorum patří mezi menší druhy samotářských včel. Její velikost se pohybuje nejčastěji mezi 6-8 mm. Vyznačuje se černým, krátce zavalitým tělem s úzkými světlými pásky na zadním okraji tergítů. První tergít sestává z ostře ohraničené prohloubené báze. Samice disponuje dvěma zuby na předním štítku. Konec klypeu nese rovněž dva zoubky. Sběrací aparát je žlutavý. Samec se od samice odlišuje na konci podvinutým zadečkem a posledním tergitem, na němž se nacházejí jamky oddělené úzkou lamelou (Bogusch et al. 2010).

2.2.2 Rozšíření

Druh *O. bicornis* je označován za takzvaný eurosibiřský druh vyskytující se ve velké části Palearktické oblasti. Zde rozsah jejího výskytu na severu ohraničují státy Švédska a Dánska, na jihu Španělska a Maroka a na východě její rozšíření sahá až na území Japonska (Else 2012). V České republice se jedná o nejpočetnějšího zástupce rodu, který je hojný nejen v nížinách, ale také ve vyšších polohách (Bogusch et al. 2010).

H. truncorum je považován za západopalearktický druh, jehož rozšíření sahá do celé Evropy. V České republice je tento druh včely považován za hojný až velmi hojný (Bogusch et al. 2010).



Obr. 21: *Heriades truncorum*
(Loppylugs 2019)

2.2.3 Ekologie

Z pohledu ekologie se druhy *O. bicornis* a *H. truncorum* liší v mnoha aspektech svého života. Zatímco v České republice se letová perioda u zednice rezavé pohybuje mezi dubnem až červencem, u dřevobytky obecné je začátek její letové aktivity posunut až na červen, přičemž konec letové periody se datuje na konec září (Bogusch et al. 2010). Jako další výrazný rozdíl mezi těmito druhy včel lze najít ve způsobu jejich opylování. Na rozdíl od polylektického druhu *O. bicornis*, který opyluje podle dosavadních výzkumů celkem 19 čeledí rostlin, mezi něž patří především rostliny z čeledi bobovité (jetel plazivý,

vikev plotní atd.) a růžovité (růže, slivoně, hrušně, třešně atd.), se včela *H. truncorum* specializuje jako oligolektický druh pouze na rostliny z čeledi *Asteraceae* (Westrich 2018). Výzkumy provedené týmy Černý (2021) a Vanparys et al. (2008), které studovaly opylující hmyz na rostlinách *Senecio inaequidens* a *Senecio jacobaea*, naznačují, že oba druhy starčeků opyluje z těchto dvou druhů samotářských včel pouze *H. truncorum*. Druh *O. bicornis* naproti tomu nebyl v těchto studiích zaznamenán ani na jedné ze zmíněných rostlin. Toto lze vysvětlit pouze částečně se překrývající periodou kvetení obou starčeků s letovou periodou zednice rezavé. Naproti tomu se doba kvetení starčku úzkolistého a starčku přímětníku téměř dokonale prolíná s dobou aktivity dřevobytky obecné, která se navíc na rostliny z čeledi hvězdnicovitých specializuje (Westrich 2018, Grulich 2004).

O. bicornis obývá především lesy, okraje lesů, lesní paseky nebo třeba lesostepi. Vykazuje rovněž synantropní chování, a tak ji můžeme najít třeba i na soukromých zahradách, vinicích či městských parcích (Westrich 2018). *H. truncorum* upřednostňuje spíše prosvětlené oblasti, jako jsou okraje lesů, zahrady či paseky (Westrich 2018).

2.2.4 Rozmnožování

Dospělé samice druhu *O. bicornis* se objevují od dubna do července (Bogusch et al. 2010). Hnízdí v již existujících dutinách, jako jsou například prázdná stébla rostlin (stonky rákosu) nebo prázdné chodby jiného hmyzu. Dokáží však zahrnout i pod kůrou stromů, ve spárách dřeva nebo třeba v ulitách plžů. Každé hnízdo sestává z několika lineárně uspořádaných plodových komůrek, v počtu 2-20/30, zásobených pylem smíchaným s trochou nektaru. Do každé jednotlivé komůrky naklade samice na vrchol nasbírané potravy vždy po jednom vajíčku a následně ji uzavře hliněnou či jílovou přepážkou. Vylíhlé larvy postupně konzumují potravu. Poté, co jim potrava dojde, si začnou spřádat kokon, ve kterém se následně zakuklí, za účelem dokončení přeměny v dospělé. Tato přeměna je dokončena zpravidla do konce léta. V dospělosti následně přezimují uvnitř kokonu, z něhož se vylíhnou na jaře následujícího roku. Přestože se samičky zednice rezavé často shromažďují na jednom místě, ve starání se o potomstvo spolu zásadně nespolupracují, a tak každá z nich obstarává potravu pouze pro své potomstvo (Raw 1972).



Obr. 22: Plodové komůrky druhu *Osmia bicornis* s vajíčky a larvami. Foto autor



Obr. 23: Plodové komůrky druhu *Osmia bicornis* s larvami a kokony. Foto autor

Samotářská včela *H. truncorum* hnízdí v prázdných chodbách brouků, opuštěných hnízdech jiných druhů zednic, v mrtvém dřevě všeho druhu a v suchých dutých stoncích rostlin, jako jsou například stébla rákosu. Hnízda jsou strukturně dosti podobná druhu *O. bicornis*. Sestávají z 1-10 plodových komůrek, které jsou uspořádané lineárně za sebou. Do každé komůrky nanese samička potravu ve formě pylu a na ni naklade po jednom vajíčku. Poté komůrku oddělí od sousedící komůrky tenkou (0,5-1,5 mm tlustou) pryskyřičnou přepážkou. Hotové hnízdo s vloženou jalovou komůrkou uzavírá až 1 cm silnou pryskyřičnou zátku s kamínky či písečnými zrnky. V kokonu tento druh přezimuje jako předkukla (Bogusch et al. 2010).



Obr. 24: Plodové komůrky druhu *Heriades truncorum* s vajíčky a larvami. Foto Petr Bogusch

2.2.4 Paraziti

Hnízda obou výše zmíněných druhů včel jsou nezdědka kdy napadány hnízdními parazity. U zednice rezavé parazitují zejména druhy *Chaetodactylus osmiae* a *Cacoxenus indagator* (Zajdel et al. 2014). Tato zvířata se živí pylem a nektarem sbíraným samičkami druhu *O. bicornis*, což ve většině případů vede k hromadnému umírání larev hladem. Dalšími, o něco méně často se vyskytujícími "parazity" této včely, jsou parazitoidi *Monodontomerus obscurus* a *Trichodes apiarius* (Krunić et al. 2005).

V hnízdech dřevobytky obecné často parazituje druh *Sapygina decemguttata*, který klade vajíčka do plodových komůrek. Vylíhlá larvička drvenky pak odstraní vajíčko nebo larvu hostitele a sama se živí na nahromaděných zásobách pylu (Kříženecká 2016). Dalšími parazity této samotářské včely jsou druhy *Cacoxenus indagator* a *Stelis breviscula*, které se u hostitele živí kleptoparazitickým způsobem života (Bogusch et al. 2010).

3 Metodika

3.1 Motivace a výběr druhů

Diplomová práce navazuje na bakalářskou práci stejného autora, jejíž cílem bylo stanovit, jakou měrou a jakými druhy blanokřídlého hmyzu jsou opylovány rostliny druhů *Senecio inaequidens* a *Senecio jacobaea*. Na květech obou zmíněných druhů starčeků byla zjištěna přítomnost nižších desítek druhů a nižších stovek jedinců řádu Hymenoptera, včetně druhu *Heriades truncorum*. Cílem diplomové práce bylo tedy zjistit, jaký vliv mají pyrolizidinové alkaloidy obsažené v květech (pylu a nektaru) rostlin *S. jacobaea* a *S. inaequidens* na vývoj samotářských včel.

Jako modelové organismy pro tento výzkum byly zvoleny včely druhů *Osmia bicornis* a *H. truncorum*. Tyto druhy včel byly vybrány na základě několika kritérií. Hlavní myšlenkou celé práce byl předpoklad, že oligolektické druhy jsou obecně různými způsoby více přizpůsobeny na danou čeleď rostlin, kterou opylují, než druhy polylektické, které navštěvují širší škálu rostlinných skupin. Zároveň bylo třeba vybrat takové druhy, které bude možné ve větším počtu snadno sehnat, kultivovat a bez větších problémů dochovat do dospělosti. V úvahu tedy nepřicházely včely, hnízdící primárně například v ulitách plžů či v zemi, nýbrž druhy jejichž hnízda lze nalézt například v rákosových stéblech nebo v člověkem vytvořených hmyzích blocích. K takovýmto hnízdům se dá relativně snadno dostat a pracovat s nimi, aniž by bylo jimi potřeba více manipulovat. Na základě těchto předpokladů byl vybrán polylektický druh *O. bicornis* a oligolektický druh vázaný na čeleď hvězdicovitých, *H. truncorum*.

Druhy rostlin, o nichž je z mnoha výzkumů známé, že produkují pyrolizidinové alkaloidy, které se vyskytují ve všech jejich částech včetně pylu a nektaru, byly vybrány dle rozdílného původu a na základě předešlého výzkumu provedeného totožným autorem. Jednalo se o náš původní druh rostliny *S. jacobaea* (starček přímětník) a pro Českou republiku invazivní druh *S. inaequidens* (starček úzkolistý).

3.2 Příprava extraktu

Jelikož nebylo možné žádným efektivním způsobem extrahovat pyl obsažený v květech rostlin *S. jacobaea* a *S. inaequidens*, který by se mohl přímo podat larvám zkoumaných včel, musely být k výzkumu použity celé květy zmíněných rostlin. Z těchto orgánů se připravily dva extrakty (po jednom z každé rostliny) (viz níže), které měly simulovat

obsah sesbíraného pylu a nektaru. Pro účely studie byly vybrány populace rostlin ležící v centru hlavního města Prahy. Lokalita použité populace starčku úzkolistého se nachází na bývalém nákladovém nádraží na pražském Žižkově (GPS: 50°05'8.3"N 14°28'48.1"E). Květy této rostliny zde byly sesbírány ve dvou termínech, a to 11.8.2021 a 8.9.2021. Květy z rostlin starčku přímětníku pochází z lokality Čestlice (GPS: 49°59'48.3"N 14°35'18.7"E) ze dne 17.7.2021. Reprodukční orgány získané z obou populací se umístily do igelitového sáčku a přesunuly do hlubokomrazícího boxu, kde zůstaly uchovány na další rok, kdy byl výzkum proveden. Květy rostlin musely být sesbírány o rok dříve z toho důvodu, že druh samotářské včely *O. bicornis* hnízdí časněji, než začíná období fenofáze kvetení vybraných druhů starčků.

Výše zmíněné extrakty, v nichž se nacházely rozpuštěné látky získané z květů obou vybraných druhů starčků, se připravily formou výluhu z květů. Látky v podobě pyrolizidinových alkaloidů obsažených v květech rostlin se do extraktů vyloužily za pomoci čistého 96 % ethanolu. Ten byl poté odpařen a vyluhované alkaloidy ve vodě byly podávány larvám.

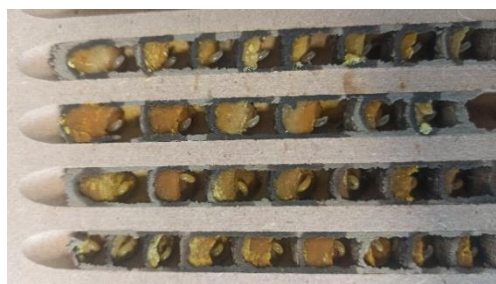
3.3 Získávání a očkování larev

3.3.1 *Osmia bicornis*

Larvy samotářské včely *O. bicornis* byly získány za využití hnízdních bloků (obr. 25), které se umístily na lokality výskytu této včely. Konkrétně se jednalo o Těchlovice (50.2056631N, 15.7194161E), Hradec Králové (50.1860500N, 15.8478700E) a Brno-Starý Lískovec (49.1580883N, 16.5658664E). Po několika týdnech od jejich položení se bloky opět sebraly a převezly na místo, kde měl výzkum pokračovat. V tu dobu se již v blocích nacházela hnízda této včely. Ta byla tvořena plodovými komůrkami, umístěnými lineárně za sebou. Jednotlivé komůrky byly od sebe odděleny hliněnými přepážkami. V každé komůrce se nacházel pyl smíchaný s nektarem, na němž bylo nakladeno vajíčko, nebo zde již dřímala larva 1. či 2. instaru, požívající pyl (obr. 26).



Obr. 25: Hnízdní bloky se zahnížděnou včelou druhu *Osmia bicornis*. Foto autor



Obr. 26: Plodové komůrky druhu *Osmia bicornis* s vajíčkem a larvami. Foto autor

Pro minimální manipulaci s vajíčky a larvami se zvolil takový postup, kdy se tato vývojová stádia ponechala v hnízdních blocích. Nejprve se všechny plodové komůrky postupně očíslovaly po jednotlivých hnízdech. Za použití třech barevných druhů fixů se každá třetí komůrka označila stejnou barvou i číslem. Barva čísla rozlišovala druh podaného extraktu příslušné larvě. Do každé třetí plodové komůrky, označené zelenou číslicí, se na povrch pylu smíchaného s nektarem odpipetovalo po 30 μ l připraveného extraktu vytvořeného z květů starčku úzkolistého. Ten se postupně do pylu vsákl, což zaručilo napuštění pylové hmoty látkami vylouhovanými z květu příslušného druhu starčku za současného vypaření lihu. Stejně tak se do všech červeně číslicí označených komůrek na povrch pylu napipetovalo 30 μ l výluhu z květů starčku přímětníku. Zbylé komůrky, označené černými číslicemi, se žádným způsobem neovlivňovaly a posloužily tak jako kontrolní. Každé z hnízd tedy obsahovalo plodové komůrky ovlivněné extrakty z obou starčků a zároveň jedince, ničím neovlivněné. Tento postup byl zvolen z důvodu co nejmenšího ovlivnění získaných výsledků. Kdyby se totiž všechny plodové komůrky v daném hnízdě očkovaly pouze jedním druhem výluhu, mohlo by dojít ke zkreslení výsledků kvůli například patogenům, parazitům a genetickým nebo jiným vlivům, které by byly hlavním důvodem úhynu jedinců v daném hnízdě.

3.3.2 *Heriades truncorum*

První myšlenkou pro získávání larev druhu *H. truncorum* bylo vytvoření míst k zahnízdění v podobě svazků zhotovených z 40-50 stébel rostliny *Phragmites australis* (obr. 27). Bohužel ani jedna samice tohoto druhu samotářské včely do takto připravených hnízdišť nezavítala.



Obr. 27: Hmyzí domeček zhotovený pro zahnízdění včely *Heriades truncorum*. Foto autor

Sekundárním řešením tohoto problému se tedy staly tzv. hmyzí hotely. Nejprve se musely najít hmyzí hotely, ve kterých včela *H. truncorum* hnízдила. Hnízda zde byla vytvořena buď v dutých stéblech rákosu obecného nebo v dutých větvičkách. Na povolení příslušných orgánů zpravující vybrané hmyzí hotely se potřebná hnízda *H. truncorum* z hotelů vyňala a přesunula do laboratoře.

Zde se stébla rákosu podélně seříznula za pomoci skalpelu a přilepila spodní neseříznutou stranou na čtvrtku. Obsahem každého ze stébel, kde zahnízдила pozorovaná včela, bylo několik málo plodových komůrek, vzájemně od sebe oddělených pryskyřicí. Ve většině z nich byl nanesen pyl, na němž bylo přítomno jedno vajíčko či larva živící se



Obr. 28: Plodové komůrky druhu *Heriades truncorum* s vajíčky a larvami. Foto autor

jím (obr. 28).

Každá komůrka s přítomným vajíčkem či larvou se očíslovala podobně jako v případě plodových komůrek u předešlého druhu, s tím rozdílem, že všechny přítomné komůrky v daném hnízdě byly očíslovány stejnou barvou, a tedy naočkované stejným výluhem. Tato metodika byla zvolena na základě miniaturní velikosti plodových komůrek, kde hrozilo přelití extraktu z jedné komůrky do druhé. To ovšem znamená, že se nebylo možné vyhnout například již výše zmíněným genetickým vlivům, které by teoreticky výsledky mohly ovlivnit. Další postup při očkování byl obdobný jako u včely druhu *O. bicornis*. Lišil se však pouze v objemu extraktu nanášeného na pyl. Vzhledem k cca třetinové hmotnosti druhu *H. truncorum* oproti *O. bicornis* byla zvolena třetinová dávka použitého výluhu o objemu 10 μ l.

3.4 Pozorování

Po naočkování extrakty vytvořenými z květů starčku přímětníku a starčku úzkolistého byly oba druhy včel pozorovány jednou týdně, dokud poslední larva kolem sebe nevytvořila kokon. Výsledky se po každé kontrole zaznamenávaly do předem připravených tabulek, které byly rozděleny na larvy, jejichž potrava byla naočkována extraktem z květů *S. inaequidens*, *S. jacobaea* a na larvy, jejichž pyl nebyl intoxikován. Každá z těchto tří tabulek obsahovala číslo příslušné larvy, datum podání extraktu a datum pozorované změny dané larvy. Sledovány byly pouze dva faktory, a sice datum úhynu daného jedince a datum vytvoření kokonu.

3.4.1 *Osmia bicornis*

U larev *O. bicornis* během této části výzkumu představoval jediný problém parazit rušník (obr. 29), který dle pozorování obsah kokonů vyžíral. Nicméně tohoto parazita se podařilo zavčas odstranit a k znehodnocení výsledků tak nedošlo. Celkově se mu podařilo znehodnotit pouze pět kokonů.



Obr. 29: Rušník sp. Foto autor

3.4.2 *Heriades truncorum*

U larev *H. truncorum* bohužel k znehodnocení výsledků došlo, a to v takové míře, že v této studii nemohly být správně interpretovány. Stalo se tak vlivem dvou faktorů, kterým se jen stěží dalo předejít. Prvním faktorem, který negativním působením značně ovlivnil získané výsledky, byl opět parazit, který často napadá samotářské včely. Řeč je o parazitovi *Melittobia* sp. (obr. 30), kterému se podařilo dostat do hnízd studované včely a naklást do nich vajíčka. Snaha usmrtit dospělce parazita i s jeho vajíčky se ukázala jako

zbytečná, jelikož při každé další kontrole byl parazit v hnízdech *H. truncorum* opět přítomen.



Obr. 30: *Melittobia* sp. Foto autor

Druhým činitelem, díky němuž došlo k znehodnocení výsledků, představovala špatně zvolená metodika. V této části metodické práce se totiž larvy nacházely v podélně seříznutých rákosových stéblech, která byla po dobu prováděného experimentu zakryta velkou čtvrtkou. Tento papír však bohužel nedostatečně přiléhal k jednotlivým hnízdům vytvořených ve stéblech rákosu, a tak se některým larvám podařilo z těchto hnízd vykroutit. Zpočátku vypadal postup metodické práce jako vhodně zvolený, ale postupem času, jak larvy rostly, se v čím dál větším počtu při každé kontrole nacházely mimo svá hnízda. Tyto larvy nebylo možné zpátky přemístit do jejich plodových komůrek, jelikož zpětně nebylo možné zjistit, z jakého hnízda larvy vypadly. Jedinci, kteří vypadli z komůrek, byli navíc v polovině případů nalézáni mrtví. Výsledky byly natolik zkrácené, že bylo rozhodnuto o úplném vynechání tohoto druhu ze studie. Tomuto problému bylo ovšem těžké předejít, jelikož se jednalo o naprosto neočekávanou věc. Byla zde namístež úprava metodické práce, ale v průběhu studie nebylo nalezeno žádné optimální řešení, jak výsledky v této fázi výzkumu zachránit. Tento problém by bylo možné vyřešit za využití trochu odlišného postupu, než jaký byl použit v této studii. Tento postup by se však musel uplatnit již před zahájením pokusu (viz diskuse).

3.5 Získávání výsledků

Po vytvoření kokonů všech larev druhu *O. bicornis* se tato vývojová stádia za pomoci pinzety opatrně vyňala z hnízd a podrobila měření na přístroji KEYENCE VHX-900. Měřena byla pouze délka a šířka kokonu (obr. 32). Všechny získané údaje byly zapsány

do příslušných tabulek. Každý proměřený kokon se následně na dolíhnutí přesunul do mikrozkuhavky Eppendorf. Ty byly následně ucpány vatou tak, aby kokon mohl dýchat a zároveň aby se k nim nedostali žádní parazité, kteří by je mohli poškodit. Každá z mikrozkuhovek byla označena příslušnou barvou a číslem (barevným číslem), který náležel příslušnému jedinci v hníždě.

Po několika týdnech od vytvoření kokonů přeživších larev se v době první poloviny listopadu začali plně metamorfovaní jedinci z kokonů postupně vytahovat. To se provádělo tak, že se nejprve seřízla špička kokonu a následně se z něj daný jedinec vyňal pinzetou. Takto získaní dospělci byli dále přesunuti do eppendorfek, které byly předem naplněny lihem. Líh zaručoval rychlé usmrcení zvířete a zároveň dokonalé zachování jeho struktur (těla a křídel) potřebných k dalšímu měření. V kokonech se však nevyskytovali pouze živí jedinci, nýbrž všechna vývojová stádia. Kromě samců a samic živých plně vyvinutých jedinců zde byly nacházeny larvy, kukly i mrtví nedovyvinutí dospělci (samici i samice). Všechny tyto skutečnosti se opět zapsaly do předem připravených tabulek, rozdělených na larvy, jejichž potrava byla naočkována extraktem z květů *S. inaequidens*, *S. jacobaea* a na larvy, jejichž pyl nebyl intoxikován.

Pro další zjištění, jakým způsobem působí pyrilizidinové alkaloidy na včely, se zvolila metodika měření vybraných částí těchto zvířat. U každého plně vyvinutého dospělé se měřila délka, šířka a plocha obou přených křídel a velikost hlavy, trupu a zadečku.

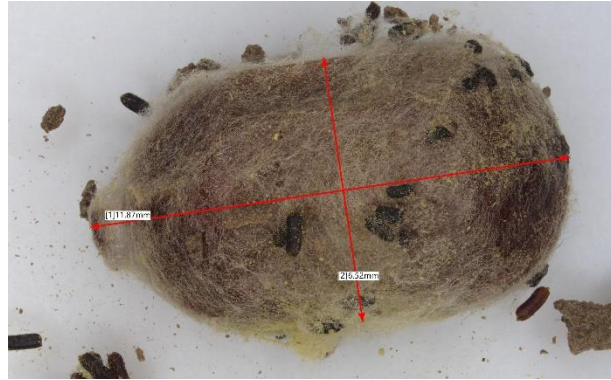
Aby bylo možné změřit požadované parametry předních křídel, bylo nutné z nich nejprve vytvořit preparáty. Ty se zhotovily tak, že se za použití manikurních nůžek oddělila obě křídla od těla. Křídla se stříhala co nejbližší tělu, aby se od něho oddělila i s šupinkou, tegulou. Následně se na čisté podložní sklíčko napipetoval glycerin, který posloužil jako vhodné médium. Do něj se opatrně položilo pravé i levé přední křídlo a následně se tyto struktury přiklopily krycím sklíčkem. Nakonec bylo podložní sklíčko popsáno příslušným číslem určité barvy tak, aby bylo patrné, z jakého jedince byl preparát zhotoven.

Všechny výše zmíněné části se měřily na školním přístroji KEYENCE VHX-900. Na zhotovených preparátech s křídly se měřila šířka, délka (obr. 35) a plocha (obr. 36) obou předních křídel, a to pro zjištění jejich případné asymetrie či abnormalit. Hlava, trup a zadeček se měřily v poloze včely na boku (obr. 34). U měření těchto částí těla se dbalo na to, aby měřená linie kopírovala střední osu těla. Poslední měřený bod se u hlavy nacházel na klypeu v oblasti vkloubení kusadel.

Všechny naměřené údaje byly zapsány do tabulek a podrobeny statistickým výpočtům. V případě určení statisticky signifikantního rozdílu mezi jednotlivými skupinami (K, SJ, SI) s ohledem na množství uhynuvších jedinců bylo využito testu „Two-Propotion z-Test“. Pro ověření rozdílnosti naměřených dat týkajících se velikosti jednotlivých částí těla, se zase využil program Past 4.03.exe, který za pomoci testů „One-way ANOVA“ a „Mann-Whitney pairwise“ určil, zda je možné zamítnutí nulové hypotézy či nikoli (viz výsledky). Pro možnost interpretace zjištěných statistických rozdílností ve velikosti jednotlivých částí těl testovaných skupin (K, SJ, SI) se vytvořily boxploty. Ty byly sestrojeny za využití programovacího jazyka Python.



Obr. 31: Vyjmutí kokonů druhu *Osmia bicornis* z hnízda. Foto autor



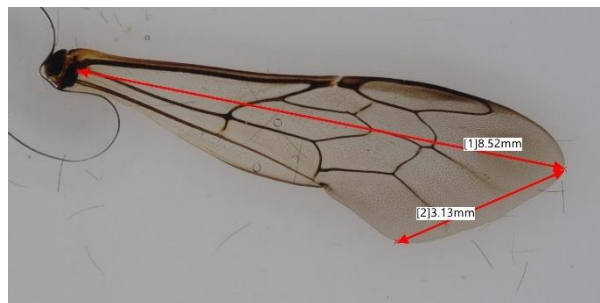
Obr. 32: Měření kokonu druhu *Osmia bicornis*. Foto autor



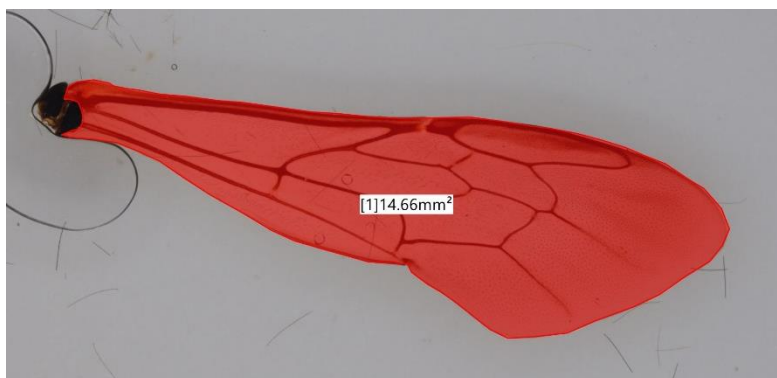
Obr. 34: Měření těla druhu *Osmia bicornis*. Foto autor



Obr. 33: Kokony druhu *Osmia bicornis* v eppendorfkách. Foto autor



Obr. 35: Křídlo druhu *Osmia bicornis* (délka, šířka). Foto autor



Obr. 36: Křídlo druhu *Osmia bicornis* (plocha). Foto autor

4 Výsledky

Míra toxicity starčku přímětníku a starčku úzkolistého byla zjišťována na základě úmrtnosti jedinců druhů *Osmia bicornis* a *Heriades truncorum* ve všech jejich vývojových stádiích. Dále pak, na základě statisticky hodnocených změn v měřených strukturách těla přeživších plně vyvinutých jedinců druhu *O. bicornis*.

4.1 *Osmia bicornis*

U druhu *O. bicornis* bylo získáno celkem 184 larev. Ty byly následně rovnoměrně rozděleny do tří skupin označených pod zkratkami K, SJ a SI. Skupina K (neovlivněná alkaloidy) obsahovala 58 larev tohoto druhu, skupina SJ, ovlivněná alkaloidy z květů starčku přímětníku, obsahovala 64 larev, a skupina SI, intoxikována alkaloidy z květů starčku úzkolistého, skýtala 62 larev.

4.1.1 Úmrtnost larev

Ve skupině larev, které nebyly ovlivněny žádným z extraktů vytvořeného z květů starčků, uhynulo celkem 12 jedinců. Další 2 larvy se nedožily dospělosti, kvůli parazitovi *Anthrenus* sp., který je pozřel ve fázi metamorfózy v kokonech. Zbylí jedinci byli z kokonů vyjmuti ve stádiu životaschopného dospělce.

Celková úmrtnost larev, jejichž potrava byla intoxikována alkaloidy z květů rostliny *Senecio jacobaea*, byla stanovena na 41 mrtvých jedinců. Další 2 larvy byly zničeny ve stádiu metamorfózy v kokonu, rušníkem. Počet životaschopných dospělců se stanovil na 21 jedinců.

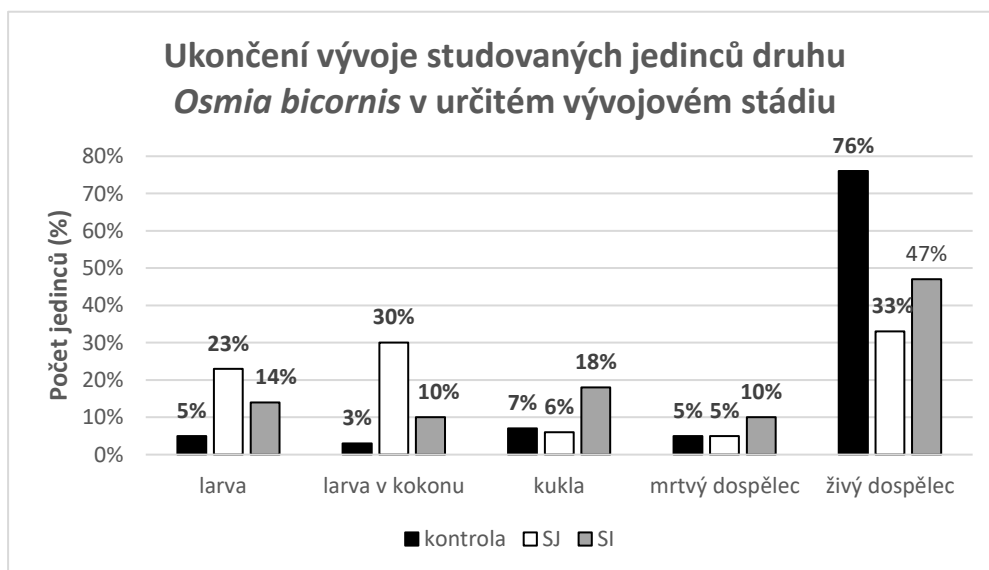
U skupiny larev, jejichž potrava ve formě nektaru a pylu se napustila výluhem z invazivního starčku úzkolistého, byla celková úmrtnost stanovena na hodnotu 32. Dále jeden jedinec byl zničen rušníkem, a to taktéž v období metamorfózy v kokonu. Ostatních 29 jedinců se v kokonech vyvinulo do podoby živých dospělců.

Pro podrobnější výčet toho, kolik jedinců uhynulo v jednotlivých stádiích vývoje, byla zhotovena tabulka 1. Tabulka rovněž obsahuje informace o celkovém počtu jedinců použitých v experimentu a rovněž počet jedinců, kteří se v kokonu plně metamorfovali v životaschopné dospělce.

Tab. 1: Počet studovaných jedinců druhu *Osmia bicornis*, kteří ukončili svůj vývoj v určitém vývojovém stádiu v závislosti na podaném extraktu z příslušného starčku (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku přímětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

	K	SJ	SI
celkový počet jedinců	58	64	62
larva	3	15	9
vyžraný kokon	2	2	1
larva v kokonu	2	19	6
kukla	4	4	11
mrtvý dospělec	3	3	6
živý dospělec	44	21	29

Pro lepší možnost vzájemného porovnání výsledků ze všech tří skupin, týkající se úmrtnosti jedinců v jednotlivých stádiích a jejich přežití, bylo vytvořeno několik grafů (graf 1, 2, 3, 4). Na základě těchto grafů lze odvodit vzájemné rozdíly v úmrtnosti mezi testovanými skupinami. První z grafů je sloupcový (graf 1). Vyjadřuje procentuální úmrtnost jedinců ve všech třech skupinách (K, SJ, SI) v následujících stádiích: larva, larva v kokonu, kukla, mrtvý dospělec. Graf rovněž obsahuje množství přeživších jedinců v každé ze skupin. V grafu 1 chybí procentuální vyjádření predace kokonů rušníkem, proto součet procent u jednotlivých skupin K, SJ a SI nedává dohromady 100 %.



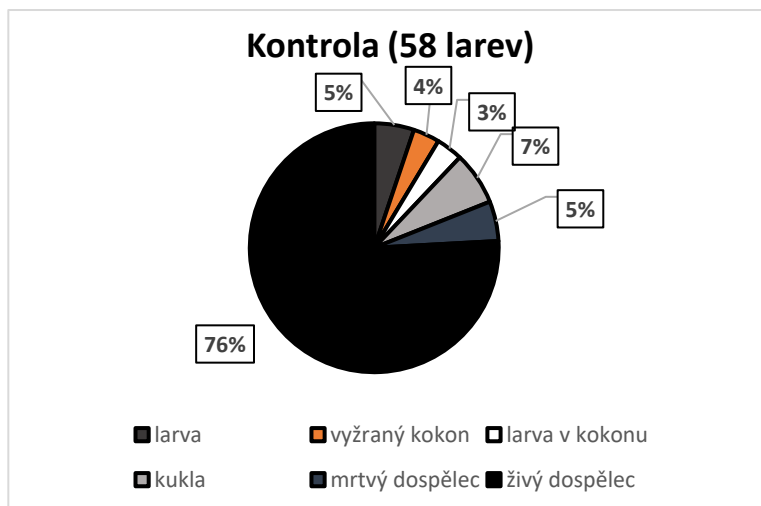
Graf 1: Procentuální množství jedinců, kteří ukončili svůj vývoj v daném vývojovém stádiu. Osa X představuje jednotlivá vývojová stadia a osa Y počet jedinců, kteří ukončili svůj vývoj v určitém vývojovém stádiu.

Z grafu lze vyčíst, že v kontrolní skupině, tedy u jedinců, kteří nebyli ovlivněni alkaloidy z žádného druhu starčku, byla úmrtnost ve všech stádiích relativně nízká. Naopak přeživších jedinců bylo v této skupině mnohem více než v ostatních dvou skupinách.

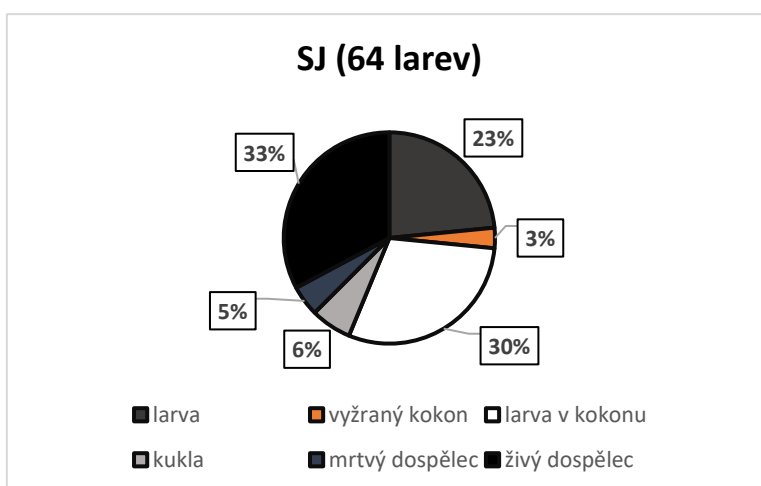
Jedinci náležící do skupin SJ a SI, tedy skupin intoxikovaných pyrolizidinovými alkaloidy z našeho původního starčku přímětníku a z invazivního starčku úzkolistého, se od kontrolní skupiny na první pohled liší celkovou procentuální úmrtností. Dle grafu 1 lze tedy říci, že larvy, které byly vystaveny účinkům alkaloidů z obou druhů starčků, hynuly ve větším počtu než larvy, které těmto alkaloidům vystaveny nebyly.

Při vzájemném porovnání larev, intoxikovaných buď jedním, nebo druhým druhem starčku, je patrné, že jedinci ze skupiny SJ hynuli především ve formě larev. Naproti tomu jedinci, ovlivnění výluhem z invazivního druhu starčku, hynuli v relativně stejném množství v každém ze sledovaných stádií.

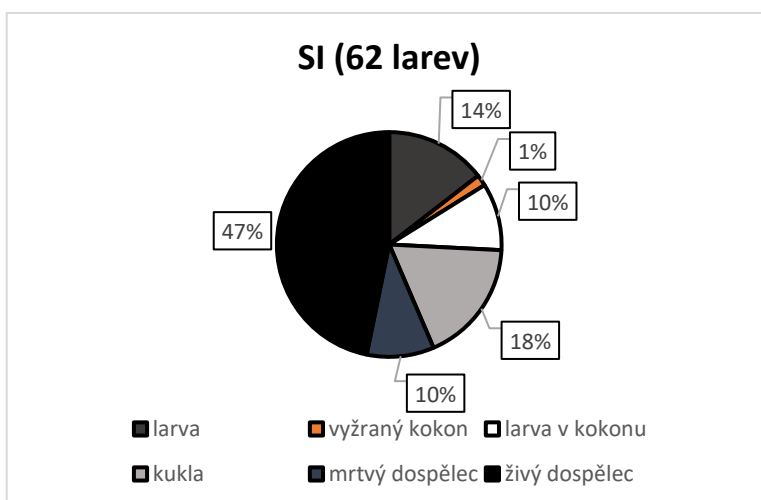
V následujících třech tzv. koláčových grafech (graf 2, 3, 4) je vizualizováno prakticky totéž, jako v grafu 1, s tím rozdílem, že je zde procentuálně znázorněn počet larev znehodnocených rušníkem. Tyto grafy byly do DP přidány za účelem lepší vizualizace procentuální úmrtnosti jedinců v jednotlivých vývojových stádiích a procentuálního počtu životaschopných dospělců. Každý z následujících grafů představuje jednu ze tří skupin, do kterých byly larvy na začátku experimentu rozděleny.



Graf 2: Skupina larev, která nebyla ovlivněna alkaloidy z žádné z rostlin rodu *Senecio*. Graf vyjadřuje procentuální množství jedinců, kteří ukončili svůj vývoj v daném vývojovém stádiu.



Graf 3: Skupina larev, která byla vystavena pyrolizidiovým alkaloidům z rostliny druhu *Senecio jacobaea*. Graf vyjadřuje procentuální množství jedinců, kteří ukončili svůj vývoj v daném vývojovém stádiu.



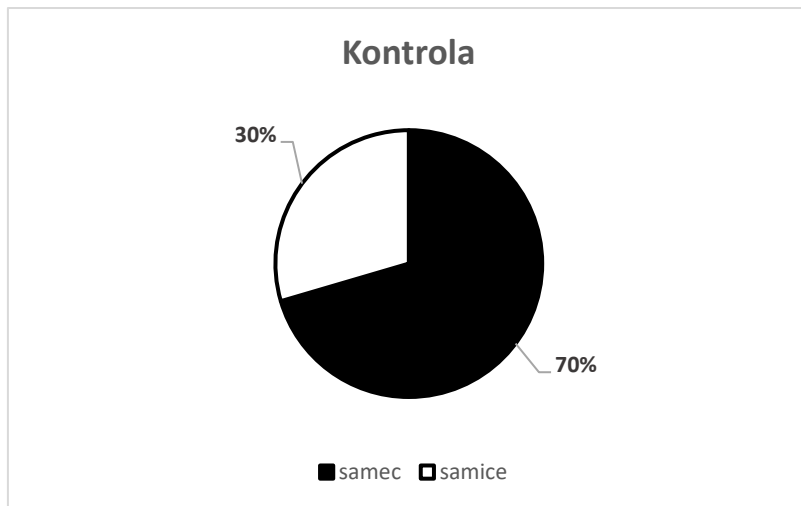
Graf 4: Skupina larev, která byla vystavena pyrolizidiovým alkaloidům z rostliny druhu *Senecio inaequidens*. Graf vyjadřuje procentuální množství jedinců, kteří ukončili svůj vývoj v daném vývojovém stádiu.

Při vzájemném porovnání těchto tří grafů lze odvodit, že nejvíce jedinců, kteří se v kokonu vyvinuli do životaschopné formy dospělého, patřilo do skupiny larev, které nebyly alkaloidy ovlivněny. Naopak podstatně více jedinců uhynulo u skupiny larev, které byly ovlivněny extraktem z rostliny *S. inaequidens* a nejvíce jedinců podlehl v případě vystavení toxickým látkám z rostliny *S. jacobaea*. Dle statistického testu, který se nazývá „Test rozdílů poměrů“ („Test of Difference in Proportional“ nebo „Two-Proportion z-Test“) lze konstatovat, že alkaloidy obsažené v našem původním starčku přímětníku a invazivním starčku úzkolistém jsou zodpovědné za úhyn jedinců druhu *O. bicornis*. V obou případech došlo totiž k zamítnutí nulové hypotézy, která konstatovala, že mezi skupinami jedinců kontroly a SJ (dále SI) není rozdíl v počtu úmrtí na jednocentní hladině významnosti. Naopak rozdíl v úmrtí mezi SJ a SI nebyl statisticky významný. Tzv. se nepodařilo zamítnout nulovou hypotézu na pětiprocentní hladině významnosti. Z toho plyne, že se nulová hypotéza nevyklučuje, a tudíž je možné, že obě studované rostliny mají stejnou míru toxicity pro larvy druhu *Osmia bicornis*. Výpočty pro „Two-Proportion z-Test“ jsou uvedeny v příloze 1.

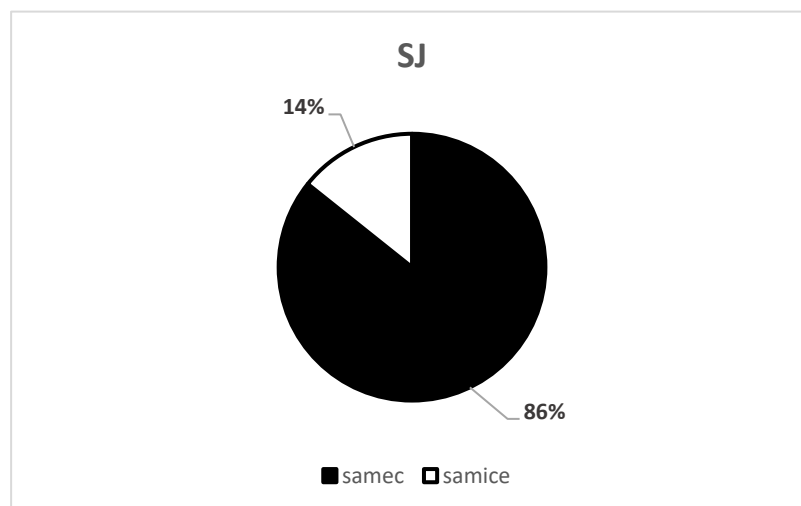
Dále je z grafů SJ (graf 3) a SI (graf 4) patrné, že v případě autochtonního starčku přímětníku uhynulo více jedinců ve stádiu larev (larva a larva v kokonu), než v případě invazivního starčku úzkolistého. Toto tvrzení je opět podloženo testem „Two-Proportion z-Test“, kde byla nulová hypotéza zamítnuta na jednocentní hladině významnosti (viz příloha 1).

Také bylo ověřeno, zda pyrolizidinové alkaloidy produkované starčkem přímětníkem a starčkem úzkolistým mají vliv na konečný poměr živých samců a samic. Takzvaně jestli vlivem alkaloidů ze starčků nedochází k častějšímu úhynu samic či naopak samců.

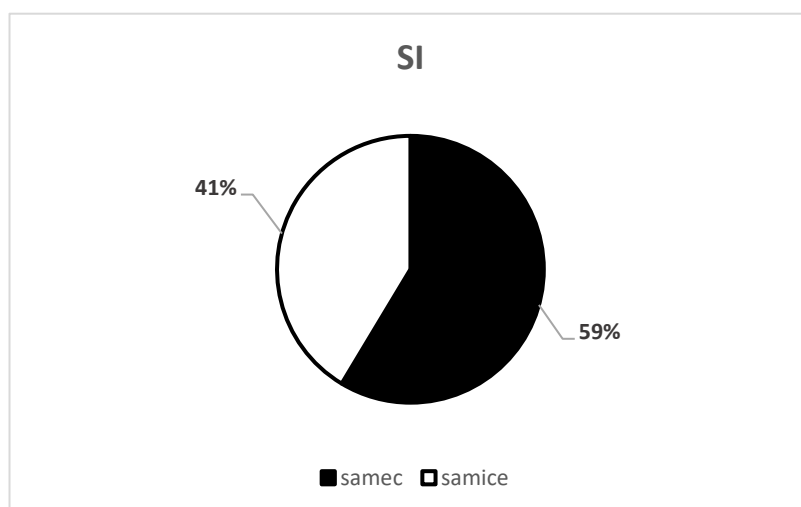
Z celkového počtu 58 jedinců přiřazených ke skupině K přežilo 44 (70 %). Z toho 31 jedinců bylo samčího pohlaví a 13 samičího (graf 5). U skupiny larev intoxikovaných alkaloidy z našeho původního starčku se dospělosti dožilo 21 (33 %) jedinců. Z toho 18 samců a 3 samice (graf 6). U poslední skupiny SI přežilo celkově 29 (47 %) jedinců (graf 4). Z toho bylo 17 samců a 12 samic (graf 7).



Graf 5: Skupina larev, která nebyla ovlivněna alkaloidy z žádné z rostlin rodu *Senecio*. Graf vizualizuje procentuální poměr samců a samic životaschopných dospělců.



Graf 6: Skupina larev, která byla vystavena pyrolizidiovým alkaloidům z rostliny druhu *Senecio jacobaea*. Graf vizualizuje procentuální poměr samců a samic životaschopných dospělců.



Graf 7: Skupina larev, která byla vystavena pyrolizidiovým alkaloidům z rostliny druhu *Senecio inaequidens*. Graf vizualizuje procentuální poměr samců a samic životaschopných dospělců.

Pro posouzení významnosti rozdílů v poměru samců a samic mezi jednotlivými skupinami larev byl opět použit statistický test „Two-Propotion z-Test“. Při porovnávání larev, jejichž potrava byla naočkována extraktem z květů starčku přímětníku a larev ovlivněných alkaloidy ze starčku úzkolistého se skupinou larev, které nebyly ovlivněny toxickými látkami, se signifikantně potvrdilo, že se poměry samců a samic vzájemně liší. Při následném porovnání grafu 2 s grafem 3 můžeme tedy říci, že ve skupině SJ hynulo více samic, než ve skupině K. Naproti tomu při porovnání grafu 2 s grafem 4 je zřejmé, že hynulo více samců. V obou případech byla dokonce nulová hypotéza zamítnuta na jednoprocenní hladině významnosti (viz příloha 1).

Rovněž bylo na základě testu „Two-Propotion z-Test“ statisticky dokázáno, že v případě larev, které byly krmeny pyrolizidinovými alkaloidy z autochtonního starčku, hynulo během vývoje větší množství samic než u larev, intoxikovaných alkaloidy z invazivního starčku úzkolistého. V tomto případě byla nulová hypotéza zamítnuta na pětiprocentní hladině významnosti (viz příloha 1).

4.1.2 Změny ve strukturách těla

Za účelem zjištění, zda látky obsažené v květenstvích starčku přímětníku a starčku úzkolistého ovlivňují průběh vývoje larev druhu *O. bicornis*, byla u všech kokonů změřena jejich délka a šířka. Dále pak u mrtvých i živých plně vyvinutých dospělců ze všech tří pozorovaných skupin byly změřeny a následně v rámci těchto skupin porovnány různé struktury těla. Jednalo se o délku, šířku a plochu obou předních křídel. Dále pak o velikost jednotlivých částí těla (hlava, trup, zadeček). K měření byli využiti všichni dospělí plně vyvinutí jedinci. Ze skupiny K se podařilo dochovat 47 dospělců, ze skupiny SJ 24 a z poslední skupiny SI 35 dospělých jedinců. Je třeba podotknout, že ne všichni dospělí jedinci, kteří se v kokonu nacházeli v uhynulém stavu, byli plně vyvinutí. Takoví jedinci se nebrali dále v potaz, a tudíž se k měření nepoužili. Navíc se u všech jedinců nepodařilo vytvořit preparát z křídel kvůli například roztrženému křídlu při špatné manipulaci. Z těchto důvodů se počty měřených parametrů křídel u jednotlivých skupin K, SJ a SI občas liší od počtu dospělců v daných skupinách. V tabulce 2 se pro lepší představu u každé měřené struktury nachází počet naměřených dat.

Tab. 2: Tabulka obsahuje měřené struktury těla a počet jedinců z každé skupiny, u kterých byla tato struktura měřena (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku přímětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého, LPK = levé přední křídlo, PPK = pravé přední křídlo).

	K	SJ	SI
kokon délka	54	49	53
kokon šířka	54	49	53
dospělci celkem	47	24	35
LPK délka	43	21	33
LPK šířka	44	21	33
LPK plocha	44	20	33
PPK délka	45	19	32
PPK šířka	44	21	32
PPK plocha	44	18	32
hlava délka	45	22	33
trup délka	45	22	33
zadeček délka	45	22	33
celé tělo délka	45	22	33

Následně se získané údaje ze všech tří skupin vzájemně mezi těmito skupinami porovnávaly, čímž se zjišťovalo, jestli rozdíly mezi nimi jsou statisticky signifikantní. K tomuto účelu byl využit program Past 4.03. exe, který na základě vstupních dat a použitého testu dokázal říci, jestli rozdíly měřených struktur v rámci jednotlivých skupin jsou navzájem statisticky významné. Konkrétně se jednalo o dva statistické testy, z nichž se první označuje jako „One-way ANOVA“ a druhý „Mann-Whitney pairwise“. První jmenovaný porovnává, zda existují nějaké statisticky významné rozdíly mezi průměry tří a více testovaných skupin. Naproti tomu test „Mann-Whitney pairwise“ přímo řekne, jaké dvě skupiny jsou od sebe navzájem signifikantně odlišné.

V tabulce 3 jsou obsaženy všechny hodnoty p z obou výše uvedených testů, které udávají, zda v porovnávaných strukturách mezi skupinami K, SJ a SI byly nalezeny významné statistické rozdíly. Hodnota hladiny významnosti pro tyto testy se zvolila na úrovni 0,05.

Tab. 3: Výsledné p-hodnoty pro jednotlivé testované parametry těla jedinců druhu *Osmia bivornis* podle statistických testů „One-way ANOVA“ a „Mann-Whitney pairwise“ (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku přímětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

	One-way ANOVA	Mann-Whitney pairwise		
		K x SJ	K x SI	SJ x SI
kokon délka	0,13	0,09741	0,8713	0,1318
kokon šířka	0,8189	0,9211	0,7295	0,5668
LPK délka	0,06137	0,5386	0,07142	0,3469
LPK šířka	0,06858	0,4361	0,0757	0,4346
LPK plocha	0,09227	0,7227	0,06767	0,1659
PPK délka	0,07749	0,2456	0,09813	0,8151
PPK šířka	0,2066	0,8333	0,201	0,2517
PPK plocha	0,1207	0,9505	0,06954	0,07202
hlava délka	0,1018	0,8622	0,05856	0,112
trup délka	0,2225	0,9255	0,148	0,2829
zadeček délka	0,06941	0,2427	0,04631	0,5138
celé tělo délka	0,06948	0,4792	0,04154	0,279

Z tabulky (Tab. 3) lze vyčíst, že jediné dva statisticky signifikantní rozdíly v měřených strukturách byly naměřeny mezi kontrolou a starčkem úzkolistým. A to konkrétně v rámci velikosti zadečku a celého těla. S přihlédnutím na vytvořené boxploty (viz příloha č. 2) lze tyto výsledky interpretovat tak, že pokud je larva vystavena pyrolizidinovým alkaloidům obsaženým v invazivním druhu starčku, celková délka těla se oproti jedincům, kteří nepozřeli toxické látky ze starčku úzkolistého, zvětšuje. Výsledky dále naznačují, že se všechny jednotlivé části těla jedinců symetricky v případě skupiny SI zvětšují, avšak statisticky významný rozdíl byl zachycen pouze u již zmíněného zadečku. Tuto skutečnost prezentují i již výše zmíněné boxploty (viz příloha 2). V případě hlavy byly výsledky těsně nad hranicí zamítnutí nulové hypotézy. U velikosti křídel se nulovou hypotézu opět nepodařilo zamítnout, nýbrž většina hodnot p zjištěných mezi skupinami K a SI se opět pohybovala nad zvolenou hladinou významnosti. To znamená, že se zřejmě dané skupiny dospělců svými hodnotami parametrů křídel liší (hodnoty u SI rostou oproti K), ale zároveň se neliší natolik, abychom mohli zamítnout nulovou hypotézu na předem stanovené hladině významnosti 0,05. U skupiny SJ se žádné odchylky od standartní

velikosti testovaných částí včely statisticky neprokázaly. Pouze v případě boxplotů vyjadřující velikost zadečku a celého těla (graf 17, 18), jistý náznak ve zvětšení přítomen je.

4.2 *Heriades truncorum*

U druhu *H. truncorum* bylo pro účely výzkumu získáno celkem 108 larev. Ty byly následně rozděleny do tří skupin, podobně jako u předchozího druhu samotářské včely *O. bicornis*. Skupina K obsahovala 29 kontrolních larev. 41 jedinců zařazených do skupiny SJ bylo intoxikovaných výluhem z květů autochtonního starčku přímětníku. Poslední skupina larev čítající 38 jedinců, označená jako SI, byla kontaminována extraktem vytvořeným z květů jihoafrického starčku úzkolistého.

Ve všech třech skupinách byla pozorována vysoká úmrtnost. Konkrétně u kontrolní skupiny K byla úmrtnost larev stanovena na hodnotu 22 jedinců. V téže skupině si kokon dokázalo vytvořit pouze 7 z celkového počtu 29 testovaných larev. U larev, jejichž potrava byla intoxikována pyrolizidinovými alkaloidy z květů starčku přímětníku, byl pozorovaný počet mrtvých jedinců stanoven na 28. Zbylým 13 larvám se podařilo dostat do fáze kokonu. V případě skupiny SI, do které se řadily larvy, jejichž potrava byla kontaminovaná pyrolizidinovými alkaloidy z květů starčku úzkolistého, uhynulo 25 larev a jen 13 z celkového počtu 38 larev si kolem sebe vytvořilo kokon.

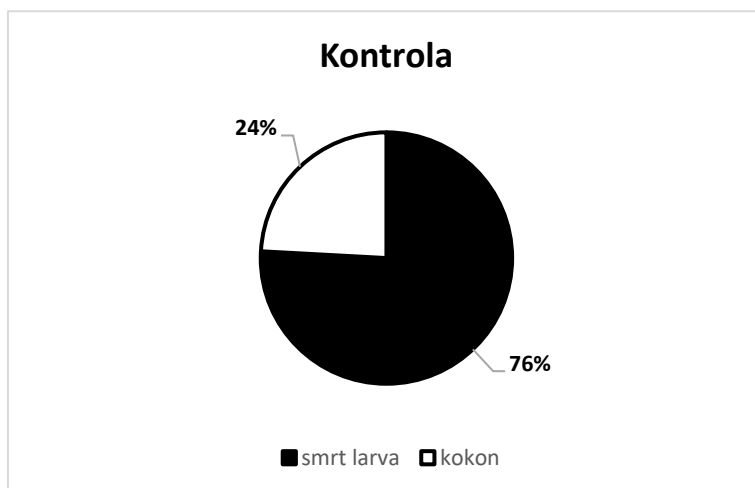
Zde je třeba podotknout, že k úhynu převážné většiny larev ve všech třech testovaných skupinách došlo ještě před vytvořením jejich kokonu. Na této skutečnosti se podílely zejména dva faktory. První z nich byla nevhodně zvolená metodika, kde larvy, vlivem nedokonalého překryvu hnízd v podobě stébel z *Phragmites australis* čtvrtkou, vypadávaly ze svých plodových komůrek, kde došlo k jejich úhynu. Druhý faktor, který sehrál nezanedbatelnou úlohu ve vysoké úmrtnosti larev, byl parazit. Konkrétně se jednalo o parazita *Melittobia* sp., který napadl převážnou většinu zbylých životaschopných larev. A vzhledem k tomu, že i u larev, kterým se podařilo kolem sebe vytvořit ochranou strukturu ve formě kokonu, byla pozorována přítomnost parazita, byl pokus s tímto druhem samotářské včely předčasně ukončen. Existovala zde totiž opodstatněná obava, že by parazit mohl zkreslit případné budoucí výsledky. Navíc po úhynu převážné většiny larev bychom neměli dostatečné množství dat na vytvoření relevantní statistické analýzy.

Pro lepší představu o osudu larev byla vytvořena tabulka (Tab. 4), vyjadřující počet uhynuvších larev a množství jedinců, kteří se dostali do vývojové fáze kokonu.

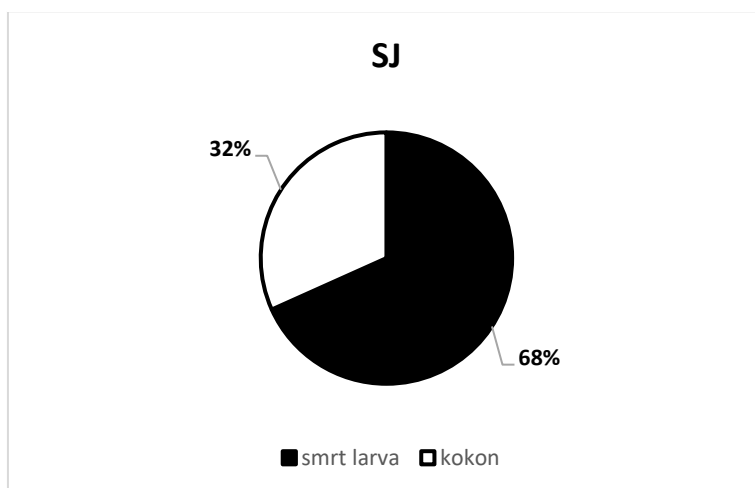
Tabulka 4: Číselné vyjádření počtu úhynu larev a larev, které se dožily stádia kokonu, v rámci třech testovaných skupin (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku přímětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

	K	SJ	SI
celkový počet jedinců	29	41	38
úhyn larva	22	28	25
kokon	7	13	13

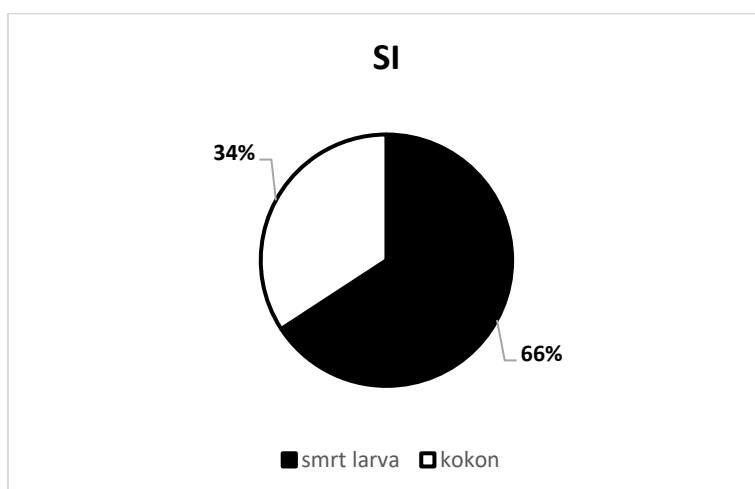
Vzhledem k lepší vizualizaci poměru úmrtnosti jedinců ve stádiu larev ku larvám, které přežily do stádia kokonu, byla tabulka (Tab. 4) doplněna o grafy (graf 8, 9, 10).



Graf 8: Skupina larev, která nebyla ovlivněna alkaloidy z žádné z rostlin rodu *Senecio*. Graf vizualizuje procentuální poměr úmrtnosti jedinců ve stádiu larev ku larvám, které přežily do stádia kokonu.



Graf 9: Skupina larev, která byla vystavena pyrolizidiovým alkaloidům z rostliny druhu *Senecio jacobaea*. Graf vizualizuje procentuální poměr úmrtnosti jedinců ve stádiu larev ku larvám, které přežily do stádia kokonu.



Graf 10: Skupina larev, která byla vystavena pyrolizidiovým alkaloidům z rostliny druhu *Senecio inaequidens*. Graf vizualizuje procentuální poměr úmrtnosti jedinců ve stádiu larev ku larvám, které přežily do stádia kokonu.

5 Diskuze

Cílem této diplomové práce bylo zjistit několik aspektů týkajících se toxicity rostlin druhů *Senecio jacobaea* a *Senecio inaequidens* pro druhy opylujícího hmyzu, *Osmia bicornis* a *Heriades truncorum*. Hlavním účelem studie bylo tedy vyzkoumat, zda vybrané druhy starčeků působí na tyto dva druhy samotářských včel toxickým účinkem a zda není oligolektický druh *H. truncorum* nějakým způsobem na toxické látky obsažené v květech starčeků více přizpůsobený než polylektický druh *O. bicornis*.

Výsledky diplomové práce prokázaly přímou korelaci mezi látkami obsaženými v květech obou druhů starčeků a úmrtností jedinců druhu *O. bicornis* během jejich vývoje. Množství uhynuvších larev krmených extraktem z květů starčku úzkolistého a larev intoxikovaných výluhem z květů starčku přímětníku bylo totiž statisticky signifikantní od úmrtnosti larev alkaloidy neovlivněnými. Tento pokus tedy prokázal, že oba druhy studovaných starčeků jsou pro larvy druhu *O. bicornis* silně toxické.

Získané výsledky tedy potvrdily prvotní domněnku o toxickém působení látek obsažených v květech starčku přímětníku a starčku úzkolistého na polylektický druh *O. bicornis*. Neadaptované druhy hmyzu jsou totiž povětšinou generalisté, což znamená, že se živí širší škálou rostlinných druhů, a tudíž zde neexistuje takový selekční tlak na přizpůsobování se PA jako v případě specialistů. Tyto látky jsou totiž přítomny pouze v některých druzích rostlin. Podobné výzkumy týkající se přežívání jedinců různých druhů hmyzu krmených PA ukazují, že tyto látky mohou být silně toxické i pro jiné skupiny hmyzu, než jsou samotářské včely z řádu blanokřídlých. Například bylo prokázáno, že látka senecionin N-oxid silně snižuje přežívání larev motýla druhu *Philosamia ricini* (Narberhaus et al. 2005). Macel et al. (2005) rovněž ve své studii uvádějí, že přežívání nespécializovaného druhu mšice *Myzus persicae* bylo viditelně ovlivněno některými sloučeninami PA, zatímco jiné strukturně příbuzné sloučeniny PA neměly žádný vliv. To, že některé strukturně odlišné molekuly PA jsou pro některé druhy hmyzu toxičtější než jiné, ukázal rovněž pokus publikovaný ve stejném článku týmem et al. (2005). Výzkum prokázal, že na třásněnky druhu *Frankliniella occidentalis* má větší toxický účinek terciární retrorsin, než retrorsin ve formě N-oxidu. Jedinci krmení retrorsinem ve formě N-oxidu totiž v rámci pokusu umírali v menším měřítku než jedinci vytavení terciárnímu retrorsinu. Tyto testy navíc ukázaly, že látky PA, které neměly žádný negativní účinek na mšice, byly silně toxické pro třásněnky (Macel et al. 2005). To, že

generalisté povětšinou nejsou schopni detoxikovat molekuly PA v rostlině, potvrzuje rovněž studie, která u druhu dvoukřídlého hmyzu *Drosophila melanogaster* po požití PA zjistila genotoxické a mutagenní účinky (Frei et al. 1992).

Nicméně tento výzkum také prokázal, že na základě mortality jedinců druhu *O. bicornis* se oba druhy starčeků vyznačují stejnou měrou toxicity. To, že úmrtnost larev krmených PA z květů starčku přímětníku nebyla statisticky signifikantní od množství uhynutých larev vystavených PA z květů starčku úzkolistého naznačuje, že oba tyto druhy rostlin působí na hmyz podobným účinkem. V případě, že vezmeme v úvahu příbuznost obou rostlin a výskyt některých alkaloidů v obou druzích, nejsou výsledky v tomto ohledu až tak překvapivé. Vzhledem k fylogenetické příbuznosti a působení podobného selekčního tlaku na území České republiky lze předpokládat, že si rostliny v průběhu času vytvořily podobné obranné látky. Tato myšlenka je podpořena studiemi, které zjistily, že obě zmiňované rostliny jsou si v ohledu nejzastoupenějších PA velmi podobné (ale ne stejné) (Witte et al. 1992, Eller et Chizzola 2016). Liší se však svým koncentračním zastoupením v rostlinách (Eller et Chizzola 2016, Jung et al. 2020). Nicméně je třeba vzít v úvahu, že toxické látky obsažené v květech starčku úzkolistého byly získány z populace vyskytující se v České republice. Kdyby se však ke studii využily populace rostliny *S. inaequidens* z jeho původní domoviny, kde na rostlinu působí vlivem jiné fauny odlišný selekční tlak, mohly by se výsledky, dané případnými strukturně odlišnými toxickými látkami v rostlinách, značně lišit. Vystává zde tedy otázka, jestli populace starčku úzkolistého v jižní Africe a ve střední Evropě produkují vzájemně odlišné sloučeniny ze skupiny pyrolizidinových alkaloidů, a jestli se vzájemně liší koncentrací těchto jednotlivých sloučenin. Tyto dva aspekty by totiž mohly způsobit odlišnou míru toxicity mezi populacemi starčku úzkolistého v Evropě a jižní Africe. Macel et. al. (2004) uvádějí, že se jednotlivé populace starčku přímětníku v těchto faktorech skutečně liší, a to dokonce pouze v rámci Evropy. Dá se tedy předpokládat, že podobně tomu tak bude i v případě příbuzného starčku úzkolistého.

Rovněž v rámci diplomové práce byla pozorována větší úmrtnost jedinců ve stádiu larev (larva, larva v kokonu) intoxikovaných PA pocházejících z květů starčku přímětníku než u larev ovlivněných PA ze starčku úzkolistého. Z těchto údajů vyplývá, že PA z autochtonního starčku mají největší toxický účinek na larvy samotářské včely ještě před jejich metamorfózou. Toto rozdílné působení PA mezi starčkem přímětníkem a starčkem úzkolistým na jednotlivá vývojová stádia ukazuje, že zde zřejmě hraje

významnou úlohu rozdílná koncentrace jednotlivých alkaloidů mezi těmito rostlinami (Eller et Chizzola 2016, Jung et al. 2020). Stejně tak by tyto výsledky vysvětlovala rozličnost v některých hlavních látkách, jako je jakobin, jakozin a erucifolin, produkovány autochtonním starčkem (Witte et al. 1992), nebo usaramin, produkovány invazivním starčkem (Eller et Chizzola 2016). Pravděpodobně ale za tímto zjištěním budou stát kombinovaně oba dva faktory.

Faktem také je, že u larev vystavených PA z květů autochtonního starčku během vývoje umíraly především samice. Toto zjištění není až tak překvapivé, jelikož samice jsou obecně u spousty druhů náchylnější na změnu podmínek než samci. Překvapivé naopak je, že u larev vystavených alkaloidům z invazivního starčku úzkolistého umírali především samci. Ovšem při porovnávání poměrů samců a samic v rámci těchto tří testovaných skupin (K, SJ, SI) je třeba mít na paměti, že se dožil dospělosti pouze zlomek jedinců z původní testovací skupiny. Tudíž na prokazatelnost tohoto tvrzení by bylo třeba větší množství dat.

Dále byly v diplomové práci zjišťovány rovněž abnormality, které mohly nastat během vývoje intoxikovaných jedinců. Při porovnávání larev intoxikovaných PA s larvami PA neovlivněnými bylo zjištěno, že alkaloidy obsažené v květech invazivního starčku pravděpodobně způsobují symetrické zvětšení jednotlivých částí těla, včetně křídel. Toto tvrzení dokládají jak statistická data (tab. 3) tak vytvořené boxploty (viz příloha 2). Statisticky signifikantní rozdíly však byly naměřeny pouze u zadečku a celkové velikosti těla. U ostatních částí těla se získané hodnoty pohybovaly těsně nad hladinou významnosti. Zajímavé však je, že se toto zvětšení těla statisticky neprojevovalo na velikosti kokonu, což naznačuje, že účinky látek obsažené v květech starčku úzkolistého nastupují až v období metamorfózy samotné larvy v dospělce. Je však třeba podotknout, že tyto mutagenní a genotoxické účinky by bylo lepší sledovat na strukturních změnách jednotlivých chromozomů postižených jedinců, nebo přímo na změnách nukleotidů v jejich DNA. Skutečnost, že se abnormality způsobené PA projeví i na morfologii testovaných jedinců naznačuje, že jejich genotoxické a mutagenní účinky působí na polylektického opylovače druhu *O. bicornis* velkou měrou. Nicméně je dost možné, že by se již výše zmíněné účinky projeví mnohonásobně vyšší mírou, kdyby alkaloidy byly extrahovány z čerstvých květů studovaných rostlin. A to z toho důvodu, že mohly degradovat i přesto, že byly uloženy v hlubokomrazícím boxu. Pokud by tato úvaha platila,

jisté účinky by mohly být pozorovány i na skupině larev, intoxikovaných PA z našeho původního starčku.

Ačkoliv některé ze studií již dříve jasně prokázaly negativní účinek PA na přežívání různých druhů hmyzu, ohledně jejich dalších účinků na jedince hmyzu během jejich vývoje není moc známo (Macel 2011). Nicméně Vrieling et al. (1991) ve své studii uvádějí, že rychlost růstu mšice *Brachycaudus cardii* negativně korelovala s PA pocházejících z rostliny *S. jacobaea*. Macel et al. (2003) zase prokázali, že růst populace mšice druhu *Myzus persicae*, které se živily na rostlině *S. jacobaea*, byl extrémně zpomalen.

Hmyzí herbivoři jsou však často specializovaní na určitý druh nebo skupinu rostlin (Deprés et al. 2007). Právě tento faktor vedl u spousty druhů hmyzu k fyziologickým adaptacím na specifické sekundární metabolity obsažené ve svých živných rostlinách (Naumann et al. 2002). Není žádnou výjimkou, že mnozí z těchto specialistů používají tyto látky k nalezení hostitelské rostliny. Někteří z nich dokonce tyto chemikálie využívají pro svou vlastní obranu (Macel 2011).

Testovaným hmyzím specialistou v této diplomové práci byl druh *H. trunctorum*. Na základě výše zmíněných informací by se dalo předpokládat, že i tento druh samotářské včely by mohl být proti PA rezistentní. Jedná se totiž o oligolektický druh, který se specializuje na rostliny z čeledi *Asteraceae*, do níž patří mimo jiné i rostliny druhů *S. jacobaea* a *S. inaequidens*. Tuto myšlenku se ovšem v provedené studii vzhledem k znehodnocení testovaných larev parazitem *Melittobia* sp. nepodařilo potvrdit.

Existují však studie, které tuto myšlenku podporují. Některé specializované druhy hmyzu jsou skutečně schopny PA obsažené v jejich těle detoxikovat, a to prostřednictvím N-oxidace (Naumann et al. 2002). Díky ní se potenciálně toxické volné báze PA přeměňují zpět na PA N-oxidy, které nelze přeměnit na toxické deriváty pyrrolu (Hartmann 1999). Například u larvy motýla druhu *Tyria jacobaeae*, který se specializuje na rostlinu *S. jacobaea*, jako mechanismus detoxikace funguje senecionin N-oxygenasa. Ta v hemolymfě N-oxiduje přijaté PA potravou a zabraňuje tak otravě (Naumann et al. 2002). Dalším příkladem, kdy si specializovaný druh hmyzu vytvořil resistenci proti PA v rostlině, je druh *Longitarsus* spp, patřící do skupiny mandelinkovitých. Ten se opět před toxickými látkami brání taktikou jejich N-oxidace (Naberhaus et al. 2003).

Dosud bylo publikováno jen málo studií zabývajících se vlivem PA na vývoj specializovaného hmyzu. Hägele a Rowell-Rahier (2000) ve své studii uvádí, že PA senecifylin přidáný do umělé stravy specializovaných brouků, neovlivnil jejich vývoj.

Stejně tak Macel et al. (2002) nezaznamenali žádné odchylky ve vývoji jedinců druhu *T. jacobaeae* po nakrmení larev sloučeninami PA.

Je zřejmé, že PA nejsou jediné látky obsažené v rostlinách rodu *Senecio* schopné ovlivňovat mortalitu či samotný vývoj intoxikovaných jedinců. Je proto třeba podotknout, že při přípravě extraktů z květů studovaných druhů starčeků došlo mimo zmiňovaných látek ze skupiny PA i k vylouhování jiných látek jako jsou například cukry, seskviterpenoidy (Macel 2011)...

Domněnka ohledně větší resistance oligolektického druhu *H. truncorum* na PA oproti polylektickému druhu včely *O. bicornis* se bohužel v této studii kvůli parazitům nepodařila potvrdit. Předpoklad vycházel z obecného pravidla, že různé druhy živočichů specializující se na určitý druh rostliny nebo skupinu rostlin si v průběhu koevoluce vytváří adaptace. Ať už jde o morfologické adaptace nebo ty fyziologické. V tomto případě by šlo zřejmě spíše o fyziologickou adaptaci na toxické sloučeniny v podobě PA. Způsobů, jak detoxikovat toxické látky uvnitř organismu, existuje spousta. Jak již bylo výše uvedeno, například druh *T. jacobaeae* dokáže za pomoci enzymu senecionin N-oxygenasy obsažené v její hemolymfě přeměňovat reaktivní formy PA na nereaktivní formy. Jiné organismy dokáží zase škodlivé látky detoxikovat díky fixaci těchto sloučenin na příslušné bílkoviny (Lauren 2021). Možností obrany před toxickými látkami ve světě zvířat je skutečně mnoho a lze tedy předpokládat, že i u samotářské včely *H. truncorum* nějaký mechanismus napomáhající detoxikaci PA může být. Na druhou stranu, čeleď *Asteraceae* je nejpočetnější čeleď vyšších rostlin a obsahuje tak široké spektrum druhů (Kocián 2003a). To by mohlo znamenat, že druh *H. truncorum* by nemusel být adaptován na všechny druhy rostlin z této čeledi a pyrolizidinové alkaloidy by tak pro něj mohly být toxické. Je však třeba podotknout, že v rámci skupiny *Asteraceae* není rod *Senecio* jedinou skupinou, která PA obsahuje. Jako další příklad lze uvést rod *Eupatorium* (Hartmann 1999). Existuje zde tedy určitý selekční tlak na to, přizpůsobit se PA. Otázkou zůstává, jestli tento selekční tlak je natolik velký, aby donutil včelu *Heriades truncorum*, se v rámci koevoluce s těmito toxickými rostlinami přizpůsobovat. Naopak u polylektického druhu včely *Osmia bicornis* tento selekční tlak nehraje výraznou roli, a tudíž není žádným překvapením, že jsou PA obsažené v květech starčeků pro její larvy toxické.

Je však třeba podotknout, že larvy samotářské včely *O. bicornis* se pravděpodobně pylem z testovaných rostlin druhů *Senecio* neživí. A to z toho důvodu, že hnízdění samotné včely je posunuto do jarních měsíců (Bogusch et al. 2010), zatímco fenofáze kvetení

starčku přímětníku i starčku úzkolistého začíná až v červnu (viz rešerše) (Grulich 2004). Letová perioda dospělců však trvá od dubna do července (Bogusch et al. 2010), což by znamenalo, že dospělci tohoto druhu by se teoreticky mohli s květy rostliny setkat, a tudíž se látkami PA intoxikovat. Černý (2021) však ve své studii, týkající se mimo jiné i determinace blanokřídlého hmyzu opylující květenství dvou druhů starčeků (*S. jacobaea*, *S. inaequidens*), nezjistili přítomnost druhu *O. bicornis*. Naopak v téže studii se podařilo prokázat, že druh *H. truncorum* opyluje starček přímětník i starček úzkolistý. Nicméně i přesto, že larvy druhu *Osmia bicornis* se na toxickém pylu z rostlin *S. jacobaea* a *S. inaequidens* prozatím neživí, může se v nadcházejících letech stát, že vlivem globálních změn klimatu se fenofáze kvetení těchto rostlin posune do jarních měsíců, čímž by se pyl do jejich stravy dostat mohl.

Přestože se pyl pocházející z vybraných druhů starčeků ve stravě larev druhu *O. bicornis* nemůže prozatím objevit, posloužila tato včela pro výzkum jako vhodný modelový organismus. A to především kvůli vysoké hojnosti a také vzhledem k její schopnosti zahnízdit rovněž v hmyzích hotelích či hnízdních blocích pro samotářské včely, což se v tomto pokusu ukázalo jako výhoda. Larvy včely se totiž mohly nechat bez jakékoli manipulace přímo v hnízdech, zatímco se ovlivnila příslušným extraktem pouze jejich potrava.

Samozřejmě existuje více polylektického hmyzu z řádu blanokřídlých vhodných pro tento experiment. Řeč je například o druzích *Apis mellifera*, *Bombus terrestris* či *Anthophora plumipes*. Problém s provedením totožného experimentu na larvách včely medonosné je ve způsobu vytváření hnízd a také v tom, že dělnice larvy přikrmují během celého vývoje. Tento druh včely si totiž jako hnízda staví plástve, v nichž jsou umístěny jednotlivé plodové komůrky (buňky), které však dělnice zavíčkávají. Zřejmě by bylo možné víčko z buňky nejprve opatrně odstranit a následně překrýt například papírem. Zde by bylo nutné použít takovou metodiku, která by larvám neškodila v jejich vývoji například špatnou manipulací. U dalších dvou jmenovaných druhů blanokřídlého hmyzu se jejich hnízda nacházejí pod zemí. U čmeláka zemního by se dala získat z půdy celá plodová komůrka i s vajíčkem / larvou a pylem. Ale ještě lepší způsob by byl hnízdo přímo koupit a nechat tam čmeláky zahnízdit. Existují totiž hnízda, která se prodávají přímo pro chovatele čmeláků. V případě druhu *Anthophora plumipes* a dalších solitérních druhů včel, které si stavějí hnízda pod zemí, by bylo obtížné získat právě onen pyl. Tyto včely si totiž staví spletité chodbičky v zemi, v nichž tvoří plodové komůrky, a tak by bylo

prakticky nemožné odtud pyl získat. Tudíž využití takových druhů pro tento experiment nepřipadá v úvahu. Navíc polylektický druh *A. plumipes* je stejně jako druh *O. bicornis* jarním druhem, což opět znamená, že se její larvy s pylem studovaných starčeků nemají šanci setkat.

Co se týká výběru oligolektického druhu samotářské včely, tak je druh *H. truncorum* zřejmě nejlepší volbou. Tento živočich totiž hnízdí ve snadno přístupných dutinách tvořených nejčastěji dutým stéblem rákosu a navíc jde o poměrně hojný druh. Ostatní druhy oligolektického hmyzu na území ČR nejsou tak hojné, což by znamenalo nízký počet testovaných jedinců pro statistiku, nebo hnízdí právě v zemi, odkud by se špatně získávaly larvy a hlavně pyl.

Vzhledem k nepodařenému experimentu s druhem *H. truncorum* vlivem špatně zvolené metodiky a hojné parazitaci larev je třeba také prodiskutovat metodickou stránku věci. Hnízda larev tohoto druhu byla získána z rákosových stébel, která se podélně seřízla tak, aby jednotlivé larvy i s potravou byly viditelné. Jelikož má tento druh samotářské včely jednotlivé plodové komůrky odděleny lepkavou pryskyřicí, seříznutí hnízd skalpelem nešlo moc dobře. Ale lze to provést. Problém nastal až po několika týdnech. Jak larvy rostly, začaly jim být jejich plodové komůrky malé, a i přestože se hnízda pokaždé překryla čtvrtkou, nezřídka kdy se stalo, že se larva z hnízda vykroutila a poslala hlady. Proto je na místě vzít v úvahu i jiné alternativy metodické části práce, které by tomuto jevu předešly. Zřejmě by byly možné dva způsoby, jak tomuto zabránit. Za prvé by šlo rozdělit larvy do eppendorfek i s jejich plodovou komůrkou a tím pádem i jejich potravou. To by se ovšem musely jednotlivé plodové komůrky od sebe oddělit, což by nebylo vůbec snadné. Druhým způsobem by bylo uložit v celku seříznutá hnízda v podobě stébel do hnízdních bloků s menším průměrem. Tím by se zamezilo vypadávání larev z plodových komůrek a pokud by seříznutá část stébla byla přitisknuta k hornímu patru hnízdního bloku, zabránilo by se i v přelézání larev v rámci jednotlivých plodových komůrek.

Co se týká zamezení parazitismu larev druhu *H. truncorum*, tak je zde určitě na místě prevence. Ta se týká kontrolování a případného odstranění napadaného hnízda jakýmkoliv parazitem. Protože když se parazit dostane do více hnízd, je velmi obtížné se ho již zbavit. Dobré by bylo také uchovávat larvy v místnosti, kam by se parazit nemohl vůbec dostat nebo nějakým způsobem tuto šanci snížit. Ovšem pravdou je, že se parazitický druh *Melittobia* sp. dostane skoro všude. Při chovu samotářských včel

pro experimentální účely jsou, podle docenta Petra Bogusche, nejčastějším problémem, kromě plísňových onemocnění.

6 Závěr

Zatímco vliv pyrolizidinových alkaloidů na savce je v současnosti rozsáhle studován, o jejich účincích na hmyz toho moc známo prozatím není. Práce, které se touto problematikou zabývají, se navíc zaměřují převážně na adaptované druhy hmyzu, jako je například larva motýla druhu *Tyria jacobaeae*. Na základě nedostatku informací ohledně účinků PA na neadaptovaný hmyz a problematice spojené s úbytkem hmyzu na naší planetě, byla v roce 2022 zhotovena tato studie. Výzkum popisuje účinky PA na opylovače z řádu Hymenoptera. Konkrétně se jedná o samotářské včely druhů *Osmia bicornis* a *Heriades truncorum*, které byly podrobeny účinkům alkaloidů pocházejících z květenství starčku přímětníku a starčku úzkolistého.

U nesespecializované polylektické včely druhu *O. bicornis* bylo zjištěno, že úmrtnost jedinců vystavených PA extrahovaných z květenství invazivního starčku úzkolistého byla statisticky větší než u jedinců alkaloidy neovlivněnými. Stejný výsledek byl pozorován i v případě autochtonního starčku přímětníku. Zdá se však, že oba druhy starčeků jsou pro studovaný druh samotářské včely stejně toxické. Napovídá tomu fakt, že rozdíl v úmrtnosti mezi včelami intoxikovanými PA ze starčku přímětníku a včelami ovlivněnými extraktem z květenství starčku úzkolistého nebyl statisticky významný.

Nicméně je třeba podotknout, že každá z těchto rostlin by mohla mít na larvy včel druhu *O. bicornis* rozdílné účinky. Prvním důvodem tohoto tvrzení je skutečnost, že v případě vystavení larev PA z autochtonního starčku hynuly především samice. Naopak v případě larev intoxikovaných PA ze starčku úzkolistého hynuli především samci. Bohužel vzhledem k nízkému množství přeživších jedinců nelze tato tvrzení brát za zcela statisticky relevantní. Druhým důvodem, proč se domývat, že mají studované rostliny vzájemně odlišný účinek na larvy druhu *O. bicornis*, je fakt, že se skupiny intoxikované starčkem úzkolistým statisticky významně lišily od kontrolní skupiny larev velikostí zadečku a celkovou velikostí těla. Ostatní hodnoty měřených parametrů, jako je například velikost hlavy a plocha křídel, byly mezi kontrolní skupinou a skupinou larev vystavených PA z invazivního starčku těsně nad hladinou zamítnutí nulové hypotézy. Což by šlo interpretovat tak, že při pozření PA ze starčku úzkolistého dochází k symetrickému zvětšení všech částí těla. To naznačuje, že by tyto látky mohly mít na nesespecializované druhy opylujícího hmyzu genotoxické a mutagenní účinky.

Bohužel se v této studii nepodařilo určit, zda jsou PA obsažené ve zmiňovaných druzích starčeků toxické i pro oligolektické opylovače. Druh včely, který se k tomu pokusu vybral,

byl totiž napaden parazitem *Melittobia* sp., který způsobil znehodnocení výsledků. Je však třeba mít na paměti, že druh *H. truncorum*, není plně specializovaným opylovačem na druhy z rodu *Senecio*, ale naopak opyluje mnoho dalších rodů rostlin patřících do čeledi *Asteraceae*, které pyrolizidinové alkaloidy neobsahují. Což naznačuje, že by ani tato včela nemusela být vůči účinkům PA plně rezistentní.

Aby se zjistilo, do jaké míry jsou rostliny obsahující pyrolizidinové alkaloidy pro opylující druhy hmyzu nebezpečné, je třeba dalších studií. Pokud by se v budoucnu ukázalo, že mají tyto rostliny na velkou část polylektického i oligolektického hmyzu negativní efekt, bylo by nasnadě zvážit jejich umělou redukci.

Použitá literatura

- Bain J. F. 1991: The biology of Canadian weeds.: 96. *Senecio jacobaea* L. *Canadian Journal of Plant Science* **71**: 127-140.
- Bassignana M., Mainetti A., Madormo F. 2018: *Invasion of Senecio inaequidens and risks for honey and bee pollen in Aosta Valley (I)* [online]. [cit. 08.03.2021]. Dostupné z WWW: <https://iris.unito.it/retrieve/handle/2318/1694074/484680/SERE_2018_Senecio.pdf>
- Bicchi C., D'Amato A., Cappelletti E. 1985: Determination of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio inaequidens* D.C. by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography* **349**: 23-29.
- BioLib.cz 2023a: *zednice rezavá, Osmia bicornis* [online]. [cit. 4.3.2023]. Dostupné z WWW: <<https://www.biolib.cz/cz/taxon/id70790/>>
- BioLib.cz 2023b: *dřevobytká obecná, Heriades truncorum* [online]. [cit. 4.3.2023]. Dostupné z WWW: <<https://www.biolib.cz/cz/taxon/id70790/>>
- Bossdorf O., Lipowsky A., Prati D. 2008: Selection of preadapted populations allowed *Senecio inaequidens* to invade Central Europe. *Diversity and Distributions* **14**: 676-685.
- Britannica 2020: *KwaZulu-Natal* [online]. [cit. 19.10.2022]. Dostupné z WWW: <<https://www.britannica.com/place/KwaZulu-Natal>>
- CABI. 2021: *Senecio jacobaea (common ragwort)* [online]. [cit. 19.10.2022]. Dostupné z WWW: <<https://www.cabi.org/isc/datasheet/49558>>
- CABI. 2021: *Světová mapa rozšíření Senecio jacobaea* [foto]. In: CABI [online]. [cit. 11.5.2023]. Dostupné z: <<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompndium.49558>>
- Cameron E. 1935: A Study of the Natural Control of Ragwort (*Senecio Jacobaea* L.). *Journal of Ecology* **23**: 265-322.
- Crazy Critters. 2022: *Senecio is a huge genus of Plants with amazing Leaves and Blooms.* [online]. [cit. 10.10.2022]. Dostupné z WWW: <<https://crazycrittersinc.com/senecio-is-a-huge-genus-of-plants-with-amazing-leaves-and-blooms/>>
- Černý J. 2021: Hmyz na květenstvích invazního starčku úzkolistého (*Senecio inaequidens*). Univerzita Hradec Králové, Fakulta Přírodovědná, bakalářská práce, 1-69 pp. (nepublikovaný manuskript).

Deprés L., Davis J., Gallet C. 2007: The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends Ecol Evol* **22**: 298–307.

Dobrá Z., Dobrý P. 2023: *Včelky samotářky* [online].
[cit. 9.3.2023]. Dostupné z WWW: <<https://www.vcelkysamotarky.cz/>>

Dvořák V. 2020: *Senecio inaequidens – starček úzkolistý* [online]. [cit. 3.1.2023].
Dostupné z WWW: <<http://www.naturabochemica.cz/senecio-inaequidens/>>

Eller A., Chizzola R. 2016: *Chemická struktura pyrolizidinových alkaloidů obsažených v rostlině Senecio inaequidens* [foto]. In: Phytochemistry [online]. [cit. 11.5.2023].

Eller A., Chizzola R. 2016: Seasonal variability in pyrrolizidine alkaloids in *Senecio inaequidens* from the Val Venosta (Northern Italy). *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* **150**: 1306-1312.

Else G. R. 2012: *Osmia bicornis* (Linnaeus,1758) [online].
[cit. 4.3.2023]. Dostupné z WWW: <<https://www.bwars.com/bee/megachilidae/osmia-bicornis>>

Frei H., Lüthy J., Brauchli J. 1992: Structure/activity relationships of the genotoxic potencies of sixteen pyrrolizidine alkaloids assayed for the induction of somatic mutation and recombination in wing cells of *Drosophila melanogaster*.
Chemico-Biological Interactions **83**: 1–22.

Green&Blue 2015: *5 things you need to know about solitary bees* [online]. [cit. 26.2.2023].
Dostupné z WWW: <<https://www.greenandblue.co.uk/blogs/news/5-things-you-need-to-know-about-solitary-bees>>

Gulich V. 2004: *Senecio* L. – starček. pp. 250-280. In: SLAVÍK B. et ŠTĚPÁNKOVÁ J. [eds.]: *Květena České republiky, 7. díl*. Academia, Praha, 767 pp. ISBN 80-200-1161-7

Hägele B. F., Rowell-Rahier M. 2000: Choice, performance and heritability of performance of specialist and generalist insect herbivores towards cacalol and seneciphylline, two allelochemicals of *Adenostyles alpina* (*Asteraceae*). *Journal of Evolutionary biology* **13**: 131–142.

Harper J. L., Wood W. A. 1957: Biological flora of the British Isles. *Senecio jacobaea* L. *Journal of Ecology* **45**: 617-637.

Harris P., Zwölfer, H. 1971. Biological control of weeds in Canada, 1959-1968. *Senecio jacobaea* L., tansy ragwort (Compositae). *Technical Communications. Commonwealth Institute of Biological Control* **4**: 97-104.

- Hartmann T., Zimmer M. 1985: Organ-specific Distribution and Accumulation of Pyrrolizidine Alkaloids during the Life History of two Annual *Senecio* Species. *Journal of Plant Physiology* **122**: 67-80.
- Hartmann T. 1999: The chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta* **207**: 483–49.
- Heger T. 2014: *Senecio inaequidens* (South African ragwort) [online]. [cit. 2.1.2023]. Dostupné z WWW: <<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.49557>>
- Heger T. 2014: *Světová mapa rozšíření Senecio inaequidens* [foto]. In: CABI [online]. [cit. 11.5.2023]. Dostupné z: <<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.49557>>
- Hoskovec L. 2007a: *Senecio inaequidens* DC. – starček úzkolistý [online]. [cit. 10.10.2022]. Dostupné z WWW: <<https://botany.cz/cs/senecio-inaequidens/>>
- Hoskovec L. 2007b: *Senecio jacobaea* L. – starček přímětník / starček Jakubov [online]. [cit. 10.10.2022]. Dostupné z WWW: <<https://botany.cz/cs/senecio-jacobaea/>>
- Jehlík V., Ducháček M., Hradil K. 2003: Šíření jihoafrického starčku *Senecio inaequidens* v České republice pokračuje. The expansion of the South African species *Senecio inaequidens* in the Czech republic continues. *Zprávy České botanické společnosti* **38**: 79-83.
- Jung S., Lauter J., Hartung N. M., These A., Hamscher G. 2020: Genetic and chemical diversity of the toxic herb *Jacobaea vulgaris* Gaertn. (syn. *Senecio jacobaea* L.) in Northern Germany. *Phytochemistry* **172**: 112-235.
- Jung S., Lauter J., Hartung N. M., These A., Hamscher G. 2020: *Chemická struktura šesti nejzastoupenějších pyrolizidinových alkaloidů obsažených v rostlině Senecio jacobaea* [foto]. In: Plant Biosystems [online]. [cit. 11.5.2023].
- Kaplan Z., Danihelka J., Chrtek J. jun., Kirschner J., Kubát K., Štech M., Štěpánek J. (eds), 2019: *Klíč ke květeně České republiky*. 2. vydání. Academia, Praha, 1172 pp. ISBN 978-80-200-2660-6
- Kirk H., Vrieling K., Van der Meijden E., Klinkhamer P. G. L. 2010: Species by environment interactions affect pyrrolizidine alkaloid expression in *Senecio jacobaea*, *Senecio aquaticus*, and their hybrids. *Journal of Chemical Ecology* **36**: 378–387.
- Kocián P. 2003a: *Asteraceae – hvězdicovité* [online]. [cit. 28.02.2021]. Dostupné z WWW: <<http://www.kvetenacr.cz/celed.asp?IDceled=7>>

- Kocián P. 2003b: *starček přímětník, Senecio jacobaea* [online]. [cit. 10.10.2022]. Dostupné z WWW: <<http://www.kvetenacr.cz/detail.asp?IDdetail=115>>
- Kocián P. 2014: První nálezy invazního starčku úzkolistého (*Senecio inaequidens*) na dálnicích a rychlostních silnicích Moravy a Slezska (Česká republika). *Acta Carpathica Occidentalis* **5**: 46-55.
- Krunić M., Stanisavljević L., Pinzauti M., Felicioli A. 2005: The accompanying fauna of *Osmia cornuta* and *Osmia rufa* and effective measures of protection. *Bulletin of Insectology* **58**: 141–152.
- Kříženecká H. 2016: *Drvenka desetiskvrnná Sapygina decemguttata* [online]. [cit. 4.3.2023]. Dostupné z WWW: <<https://www.blanokridlivpraze.cz/atlas/detail/?atlid=167>>
- Kúr P., Ducháček M., Kocián P. 2023: *Mapa rozšíření Senecio inaequidens v ČR* [foto]. In: PLADIAS [online]. [Cit. 11.5.2023]. Dostupné z: <<https://pladias.cz/taxon/distribution/Senecio%20inaequidens>>
- Lafuma L., Balkwill K., Imbert E., Verlaque R., Maurice S. 2003: Ploidy level and origin of the European invasive weed *Senecio inaequidens* (*Asteraceae*). *Plant Systematics and Evolution* **243**: 59-72.
- O'Connell L. A., O'Connell J. D., Paulo J. A., Trauger S. A., Gygi S. P., Murray A. W. 2021: Rapid toxin sequestration modifies poison frog physiology. *Journal of Experimental Biology* **224**: jeb230342.
- Loppylugs 2019: *Heriades trunctorum* [foto]. In: iSpot share nature [online]. [cit. 11.5.2023]. Dostupné z <<https://www.ispotnature.org/communities/uk-and-ireland/view/observation/793109/heriades-trunctorum>>
- Macek J., Straka J., Bogusch P., Dvořák L., Bezděčka P., Tyrner P. 2010: *Blanokřídli České republiky I., Žahadloví*. Academia, Praha, 524 pp. ISBN 978-80-200-1772-7
- Macel M., Bruinsma M., Dijkstra S. M. 2005: Differences in effects of pyrrolizidine alkaloids on five generalist insect herbivore species. *Journal of Chemical Ecology* **31**: 1493–1508.
- Macel M., Vrieling K., Klinkhamer P. G. L. 2004: Variation in pyrrolizidine alkaloid patterns of *Senecio jacobaea*. *Phytochemistry* **65**: 865-873.
- Macel M., Klinkhamer P. G. L., Vrieling K. 2002: Diversity of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio* species does not affect the specialist herbivore *Tyria jacobaeae*. *Oecologia* **133**: 541–550.

- Macel M. 2003: On the evolution of the diversity of pyrrolizidine alkaloids: the role of insects as selective forces. Leiden University, Nizozemí, disertační práce (nepublikovaný manuskript).
- Macel M. 2011: Attract and deter: a dual role for pyrrolizidine alkaloids in plant-insect interactions. *Phytochemistry Reviews* **10**: 75–82.
- Mandák B., Bímová K. 2001: Nový druh jihoafrického starčku v České republice - *Senecio inaequidens*. *Zprávy České botanické společnosti* **36**: 29-36.
- Mazid M., Khan T. A., Mohammad F. 2011: Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine* **3**: 232-249.
- Mulder P., López P., Castellari M., Bodi D., Ronczka S. 2015: Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in food. *EFSA Supporting Publications* **12**: 118–133.
- Naberhaus I., Theuring C., Hartmann T. 2003: Uptake and metabolism of pyrrolizidine alkaloids in Longitarsus flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) adapted and non-adapted to alkaloid containing host plants. *Journal of Comparative Physiology* **73**: 483-491.
- Narberhaus I., Zintgraf V., Dobler S. 2005: Pyrrolizidine alkaloids on three trophic levels- evidence for toxic and deterrent effect on phytophages and predators. *Chemoecology* **15**: 121–125.
- Naumann C., Hartmann T., Ober D. 2002: Evolutionary recruitment of a flavin-dependent monooxygenase for the detoxification of host plant-acquired pyrrolizidine alkaloids in the alkaloid-defended arctiid moth *Tyria jacobaeae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**: 6085–6090.
- Online atlas of the British and Irish flora 2008: *Senecio inaequidens* [online]. [cit. 19.10.2022]. Dostupné z WWW: <<https://www.brc.ac.uk/plantatlas/plant/senecio-inaequidens>>
- Pergl J., Sádlo J., Petrusek A., Laštůvka Z., Musil J., Perglová I., Šanda R., Šefrová H., Šíma J., Vohralík V., Pyšek P. 2016: Black, Grey and Watch Lists of alien species in the Czech Republic based on environmental impacts and management strategy. *NeoBiota* **28**: 1-37.
- Pladias. 2014a: *Senecio inaequidens* – starček úzkolistý [online]. [cit. 10.10.2022]. Dostupné z WWW: <<https://pladias.cz/taxon/data/Senecio%20inaequidens#10>>
- Pladias. 2014b: *Senecio jacobaea* – starček přímětník [online]. [cit. 10.10.2022]. Dostupné z WWW: <<https://pladias.cz/taxon/data/Senecio%20jacobaea>>

- Pladias. 2023: *Mapa rozšíření Senecio jacobaea v ČR* [foto]. In: PLADIAS [online]. [Cit. 11.5.2023]. Dostupné z: <<https://pladias.cz/taxon/distribution/Senecio%20jacobaea>>
- Powney G. D., Carvell C., Edwards M., Morris R. K. A., Roy H. E., Woodcock B. A., Isaac N. J. B. 2019: Widespread losses of pollinating insects in Britain. *Nature Communications* **10**: 1018.
- Raw A. 1972: The biology of the solitary bee *Osmia rufa* (L.) (Megachilidae). *Transactions of the Royal Entomological Society of London* **124**: 213–229.
- Schmidl L. 1972a: Studies on the control of ragwort, *Senecio jacobaea* L., with the cinnabar moth, *Calimorpha jacobaeae* (L.) (Arctiidae: Lepidoptera) in Victoria. *Weed Research* **12**: 46-57.
- Schmidl L. 1972b: Biology and control of refwort, *Senecio jacobaea* L., in Victoria, Australia. *Weed Research* **12**: 37-45.
- Siyabona Africa. 2021: *Transvaal Republic* [online]. [cit. 19.10.2022]. Dostupné z WWW: <<http://www.krugerpark.co.za/the-transvaal-republic.html>>
- Vacchiano G., Barni E., Lonati M., Masante D., Curtaz A., Tutino S., Siniscalco C. 2013: Monitoring and modeling the invasion of the fast spreading alien *Senecio inaequidens* DC. in an alpine region. *Plant Biosystems*. **147**: 1139-1147.
- Van Dam N., Witte L., Theuring C., Hartmann T. 1995. Distribution, biosynthesis and turnover of pyrrolizidine alkaloids in *Cynoglossum officinale*. *Phytochemistry* **39**: 287-292.
- Vanparys V., Cawoy V., Mahaux O., Jacquemart A., L. 2011: Comparative study of the reproductive ecology of two co-occurring related plant species: the invasive *Senecio inaequidens* and the native *Jacobaea vulgaris*. *Plant Ecology and Evolution* **144**: 3-11.
- Vanparys V., meerts P., Jacquemart A. 2008: Plant–pollinator interactions: comparison between an invasive and a native congeneric species. *Acta Oecologica* **34**: 361-369.
- Verlinden M., De Boeck H.J., Nijs I. 2014: Climate warming alters competition between two highly invasive alien plant species and dominant native competitors. *Weed Research* **54**: 234-244.
- Vrieling K., Soldaat L. L., Smit W. 1991: The influence of pyrrolizidine alkaloids of *Senecio jacobaea* on *Tyria jacobaeae*, *Brachycaudus cardii* and *Haplothrips senecionis*. *Netherlands Journal of Zoology* **41**: 228–239.

Walter G. M., Abbott R. J., Brennan A. C., Bridle J. R., Chapman M., Clark J., Filatov D., Nevado B., Ortiz-Barrientos D., Hiscock S. J. 2020: *Senecio* as a model system for integrating studies of genotype, phenotype and fitness. *New Phytologist* **226**: 326-344.

Westrich P. 2018: *Die Wildbienen Deutschlands*. Eugen Ulmer, Stuttgart, 824 pp.

ISBN: 978-3-8186-0123-2

Witte L., Ernst L., Adam H., Hartmann T. 1992: Chemotypes of two pyrrolizidine alkaloid-containing *Senecio* species. *Phytochemistry* **31**: 559-565.

Zajdel B., Kucharska K., Kucharski D., Fliszkiewicz M., Gąbka J. 2014: Accompanying fauna of red mason bees in annual and perennial nesting sites. *Medycyna Weterynaryjna* **70**: 745-749.

Přílohy

Příloha č. 1

Two-Propotion z-Test pro ověření signifikantnosti testovaných rozdílů v úmrtnosti jedinců mezi jednotlivými skupinami larev (K = kontrolní, SJ = *S. jacobaea*, SI = *S. inaequidens*) u druhu *Osmia bicornis*.

Tento test umožňuje říci, zda rozdíl mezi dvěma testovanými veličinami (skupinami), které se vzájemně liší počtem testovaných objektů (jedinců), je statisticky významný.

Úmrtnost larev druhu *Osmia bicornis*

skupina	přeživší	uhynulí
K	44 (a)	12 (b)
SJ	21 (c)	41 (d)

H_0 = Míra úmrtnosti jedinců je nezávislá na podaném extraktu z květů *Senecio jacobaea*.

H_1 = Úhyn jedinců druhu *Osmia bicornis* způsobují pyrolizidinové alkaloidy obsažené ve výluzích z květů rostliny druhu *Senecio jacobaea*.

$$p_K = \frac{b}{a+b} = \frac{12}{56} = 0,21$$

$$p_{SJ} = \frac{d}{c+d} = \frac{41}{62} = 0,66$$

$$p = \frac{b+d}{a+b+c+d} = \frac{12+41}{44+12+21+41} = \frac{53}{118} = 0,45$$

$$z = \frac{p_K - p_{SJ}}{\sqrt{p(1-p)\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} = \frac{0,21 - 0,66}{\sqrt{0,45(1-0,45)\left(\frac{1}{56} + \frac{1}{62}\right)}} = \frac{0,45}{\sqrt{0,2475(0,0179+0,0161)}} = \frac{0,45}{\sqrt{0,008415}} = \frac{0,45}{0,0917} = \mathbf{4,907}$$

Zamítáme nulovou hypotézu na jednaprocentní hladině významnosti. Úmrtnost byla způsobená pyrolizidinovými alkaloidy obsaženými v extraktu z květů rostliny *Senecio jacobaea*.

skupina	přeživší	uhynulí
K	44 (a)	12 (b)
SI	29 (c)	32 (d)

H_0 = Míra úmrtnosti larev je nezávislá na podaném extraktu z květů *Senecio inaequidens*.
 H_1 = Úhyn testovaných jedinců způsobují pyrolizidinové alkaloidy obsažené ve výluzích z květů rostliny druhu *Senecio inaequidens*.

$$p_K = \frac{b}{a+b} = \frac{12}{56} = 0,214$$

$$p_{SI} = \frac{d}{c+d} = \frac{32}{61} = 0,525$$

$$p = \frac{b+d}{a+b+c+d} = \frac{12+32}{44+12+29+32} = \frac{44}{117} = 0,376$$

$$z = \frac{p_K - p_{SI}}{\sqrt{p(1-p)\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} = \frac{0,214 - 0,525}{\sqrt{0,376(1-0,376)\left(\frac{1}{56} + \frac{1}{61}\right)}} = \frac{0,311}{\sqrt{0,234624(0,0179+0,0164)}} = \frac{0,311}{\sqrt{0,00805}} = \frac{0,311}{0,0897} =$$

= 3,467

Zamítáme nulovou hypotézu na jednocentní hladině významnosti. Úhyn larev byl způsoben pyrolizidinovými alkaloidy obsaženými v extraktu z květů rostliny *Senecio inaequidens*.

Skupina	přeživší	uhynulí
SJ	21 (a)	41 (b)
SI	29 (c)	32 (d)

H_0 = Míra úmrtnosti jedinců je nezávislá na podaném extraktu z květů *Senecio jacobaea* a *Senecio inaequidens*. Tzv. oba extrakty jsou stejně toxické.

H_1 = Počet mrtvých jedinců je závislý na podaném extraktu. Tzv. výluhy z květů rostlin *Senecio jacobaea* a *Senecio inaequidens* se vzájemně liší svojí mírou toxicity.

$$p_{SJ} = \frac{b}{a+b} = \frac{41}{62} = 0,66$$

$$p_{SI} = \frac{d}{c+d} = \frac{32}{61} = 0,525$$

$$p = \frac{b+d}{a+b+c+d} = \frac{41+32}{21+41+29+32} = \frac{73}{123} = 0,594$$

$$z = \frac{pJ - pSI}{\sqrt{p(1-p)\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} = \frac{0,66 - 0,525}{\sqrt{0,594(1-0,594)\left(\frac{1}{62} + \frac{1}{61}\right)}} = \frac{0,135}{\sqrt{0,241164(0,0161+0,0164)}} = \frac{0,135}{\sqrt{0,007838}} = \frac{0,135}{0,0885} = 1,525$$

Nulovou hypotézu se nepodařilo zamítnout. Existuje tedy možnost, že oba druhy zkoumaných starček působí stejnou mírou toxicity na larvy samotářské včely *Osmia bicornis*.

Úmrtnost ve stádiu larev a larev v kokonu

skupina	přeživší	uhynulí
SJ	28 (a)	34 (b)
SI	46 (c)	15 (d)

H_0 = Počet mrtvých larev je nezávislý na podaném extraktu z květů *Senecio jacobaea* a *Senecio inaequidens*. Tzv. oba extrakty jsou pro stádia larev a larev v kokonu druhu *Osmia bicornis* stejně toxické.

H_1 = Počet mrtvých jedinců je závislý na podaném extraktu. Tzv. výluhy z květů rostlin *Senecio jacobaea* a *Senecio inaequidens* se vzájemně liší svojí mírou toxicity v těchto testovaných stádiích vývoje (larva a larva v kokonu).

$$p_{SJ} = \frac{b}{a+b} = \frac{34}{62} = 0,548$$

$$p_{SI} = \frac{d}{c+d} = \frac{15}{61} = 0,246$$

$$p = \frac{b+d}{a+b+c+d} = \frac{34+15}{28+34+46+15} = \frac{49}{123} = 0,398$$

$$z = \frac{pJ - pSI}{\sqrt{p(1-p)\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} = \frac{0,548 - 0,246}{\sqrt{0,398(1-0,398)\left(\frac{1}{62} + \frac{1}{61}\right)}} = \frac{0,302}{\sqrt{0,239596(0,0161+0,0164)}} = \frac{0,302}{\sqrt{0,0078}} = \frac{0,302}{0,0883} = 3,42$$

Zamítáme nulovou hypotézu na jednoprocentní hladině významnosti. Výluhy z květů rostlin *Senecio jacobaea* a *Senecio inaequidens* se vzájemně liší svojí mírou toxicity v testovaných stádiích vývoje (larva a larva v kokonu).

Úmrtnost samců a samic druhu *Osmia bicornis*

skupina	samci	samice
K	31 (a)	13 (b)
SI	17 (c)	12 (d)

H_0 = Pyrolizidinové alkaloidy obsažené v rostlině *Senecio inaequidens* způsobují úmrtnost všech jedinců bez ohledu na pohlaví.

H_1 = Pyrolizidinové alkaloidy obsažené v rostlině *Senecio inaequidens* se svým toxickým účinkem na jednotlivá pohlaví liší.

$$p_K = \frac{b}{a+b} = \frac{13}{44} = 0,295$$

$$p_{SI} = \frac{d}{c+d} = \frac{12}{29} = 0,414$$

$$p = \frac{b+d}{a+b+c+d} = \frac{13+12}{31+13+17+12} = \frac{25}{73} = 0,333$$

$$z = \frac{p_K - p_{SI}}{\sqrt{p(1-p)\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} = \frac{0,295 - 0,414}{\sqrt{0,333(1-0,333)\left(\frac{1}{44} + \frac{1}{29}\right)}} = \frac{0,119}{\sqrt{0,222111(0,0227+0,0345)}} = \frac{0,119}{\sqrt{0,0127}} = \frac{0,311}{0,1127} = 2,76$$

Zamítáme nulovou hypotézu na jednocentní hladině významnosti. Míra úmrtnost způsobená pyrolizidinovými alkaloidy, obsaženými v extraktu z květů rostliny *Senecio inaequidens*, je závislá na pohlaví jedinců.

skupina	samci	samice
K	31 (a)	13 (b)
SJ	18 (c)	3 (d)

H_0 = Pyrolizidinové alkaloidy obsažené v rostlině *Senecio jacobaea* způsobují úmrtnost všech jedinců bez ohledu na pohlaví.

H_1 = Pyrolizidinové alkaloidy obsažené v rostlině *Senecio jacobaea* se svým toxickým účinkem na jednotlivá pohlaví liší.

$$p_K = \frac{b}{a+b} = \frac{13}{44} = 0,295$$

$$p_{SJ} = \frac{d}{c+d} = \frac{3}{21} = 0,143$$

$$p = \frac{b+d}{a+b+c+d} = \frac{13+3}{31+13+18+3} = \frac{16}{65} = 0,246$$

$$z = \frac{p_K - p_{SJ}}{\sqrt{p(1-p)\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} = \frac{0,295 - 0,143}{\sqrt{0,246(1-0,246)\left(\frac{1}{44} + \frac{1}{21}\right)}} = \frac{0,152}{\sqrt{0,1855(0,023+0,048)}} = \frac{0,152}{\sqrt{0,0132}} = \frac{0,311}{0,115} = 2,7$$

Zamítáme nulovou hypotézu na jednocentní hladině významnosti. Míra úmrtnost způsobená pyrolizidinovými alkaloidy, obsaženými v extraktu z květů rostliny *Senecio jacobaea*, je závislá na pohlaví jedinců.

skupina	samci	samice
SI	17 (a)	12 (b)
SJ	18 (c)	3 (d)

H_0 = Pyrolizidinové alkaloidy obsažené v rostlině *Senecio inaequidens* a *Senecio jacobaea* působí stejnou měrou toxicity na obě pohlaví.

H_1 = Pyrolizidinové alkaloidy obsažené v rostlině *Senecio inaequidens* a *Senecio jacobaea* působí rozdílnou měrou toxicity v závislosti na pohlaví.

$$P_{SI} = \frac{b}{a+b} = \frac{12}{29} = 0,414$$

$$p_{SJ} = \frac{d}{c+d} = \frac{3}{21} = 0,143$$

$$p = \frac{b+d}{a+b+c+d} = \frac{12+3}{17+12+18+3} = \frac{15}{50} = 0,3$$

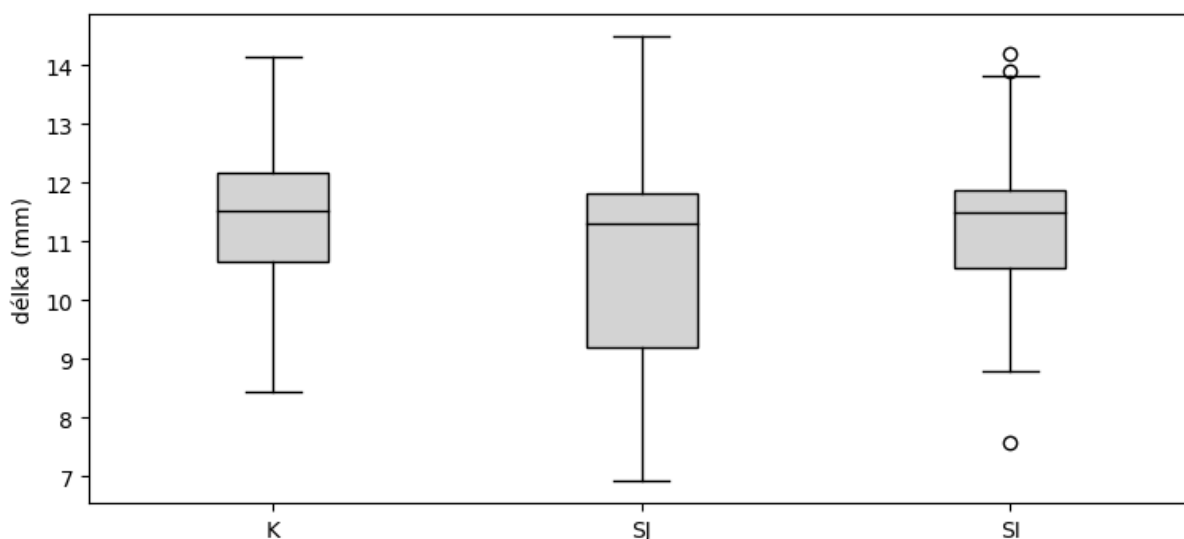
$$z = \frac{pK - pSJ}{\sqrt{p(1-p)\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} = \frac{0,414 - 0,143}{\sqrt{0,3(1-0,3)\left(\frac{1}{29} + \frac{1}{21}\right)}} = \frac{0,271}{\sqrt{0,21(0,0345 + 0,0476)}} = \frac{0,271}{\sqrt{0,017241}} = \frac{0,271}{0,131} = 2,07$$

Zamítáme nulovou hypotézu na pětiprocentní hladině významnosti. Pyrolizidinové alkaloidy obsažené v rostlině *Senecio jacobaea* působí větší mírou toxicity na samice, než tomu je u alkaloidů obsažených v květech druhu *Senecio inaequidens*.

Příloha č. 2

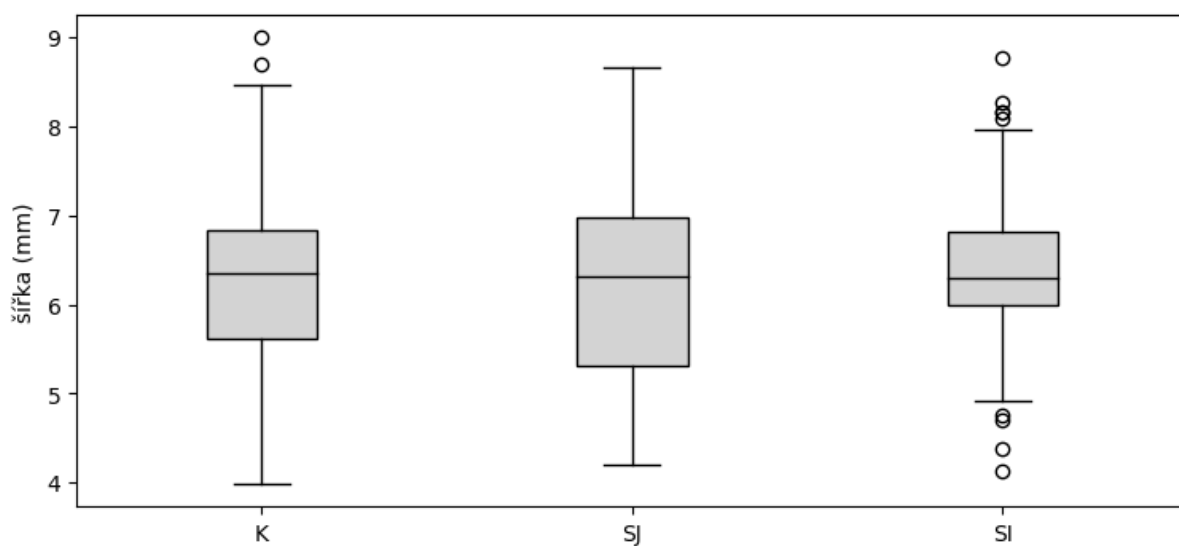
Boxploty vyjadřující odchylky ve velikosti měřených struktur mezi skupinami jedinců SJ, SI a K. Jedinci ve skupině SI a SJ byli intoxikováni pyrolizidinovými alkaloidy z květenství příslušné rostliny (SJ = *S. jacobaea*, SI = *S. inaequidens*). Kontrolní skupina (K) představovala jedince, těmito látkami neovlivněné.

Kokon



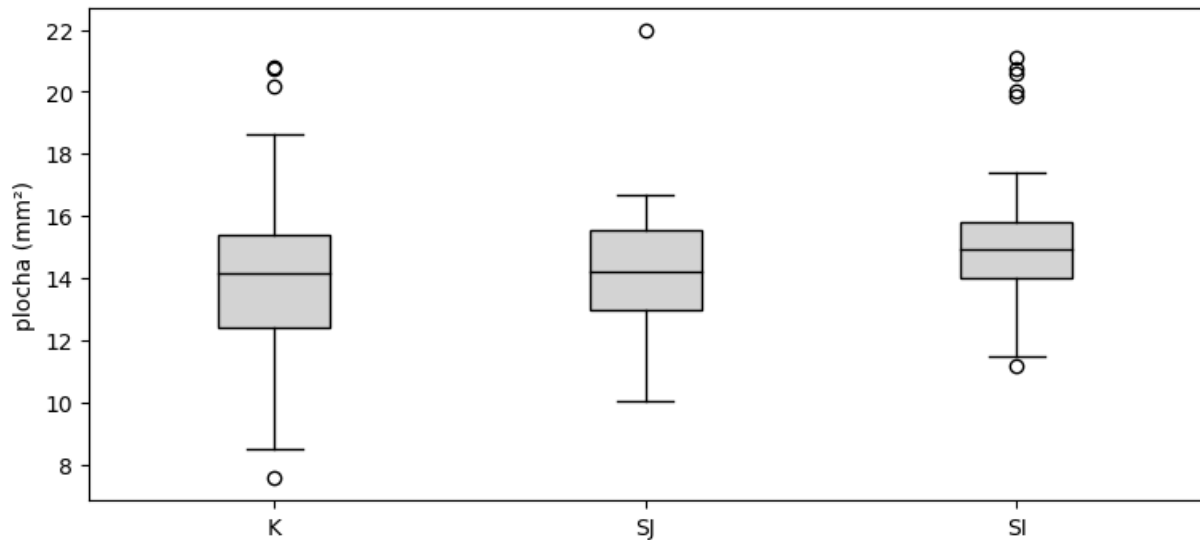
Graf 11: Délka kokonu měřených jedinců jednotlivých testovaných skupin (K, SJ, SI) včel druhu *Osmia bicornis* (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku přímětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

Kokon



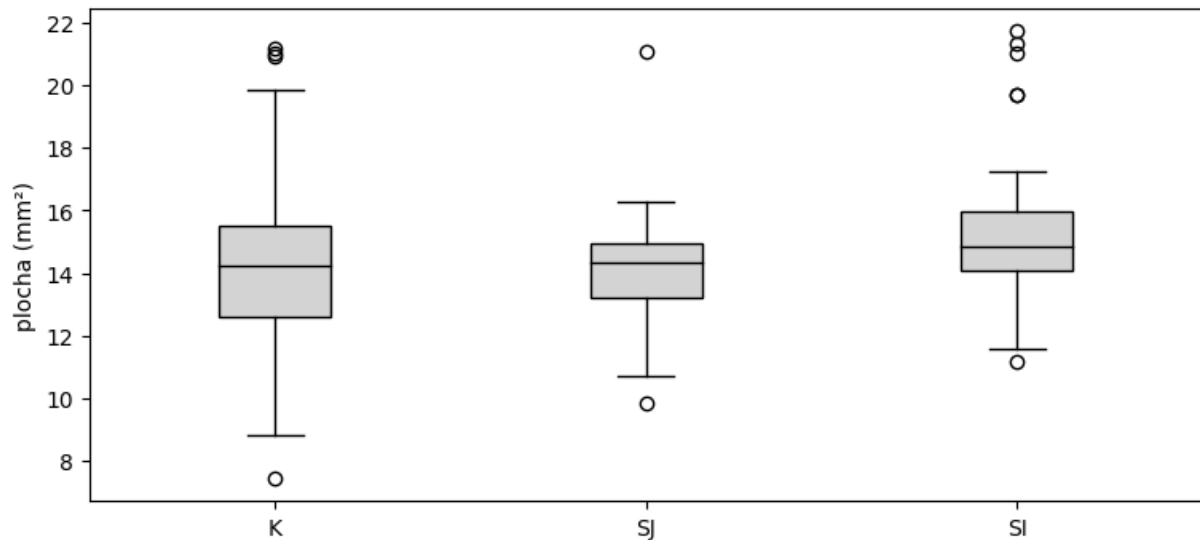
Graf 12: Šířka kokonu měřených jedinců jednotlivých testovaných skupin (K, SJ, SI) včel druhu *Osmia bicornis* (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku přímětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

Levé přední křídlo



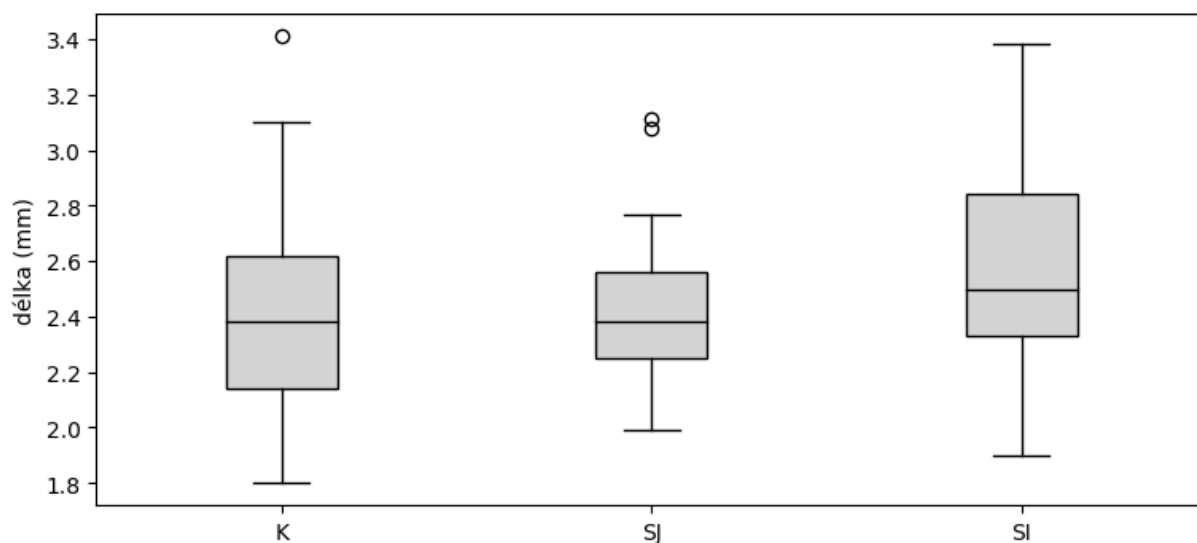
Graf 13: Plocha levých předních křídel měřených jedinců jednotlivých testovaných skupin (K, SJ, SI) včel druhu *Osmia bicornis* (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku průmětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

Pravé přední křídlo



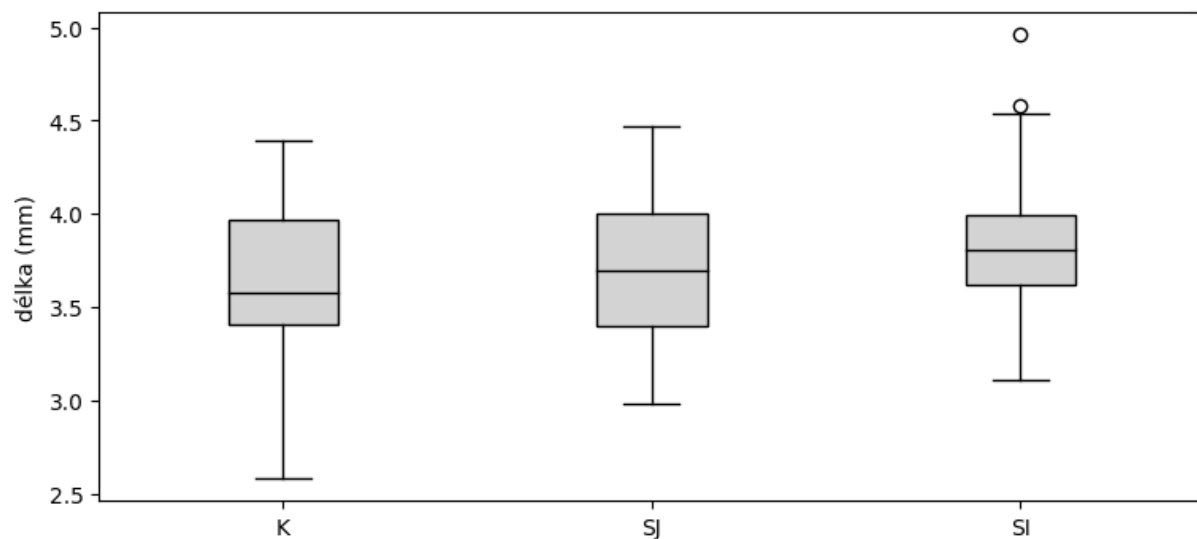
Graf 14: Plocha pravých předních křídel měřených jedinců jednotlivých testovaných skupin (K, SJ, SI) včel druhu *Osmia bicornis* (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku průmětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

Hlava



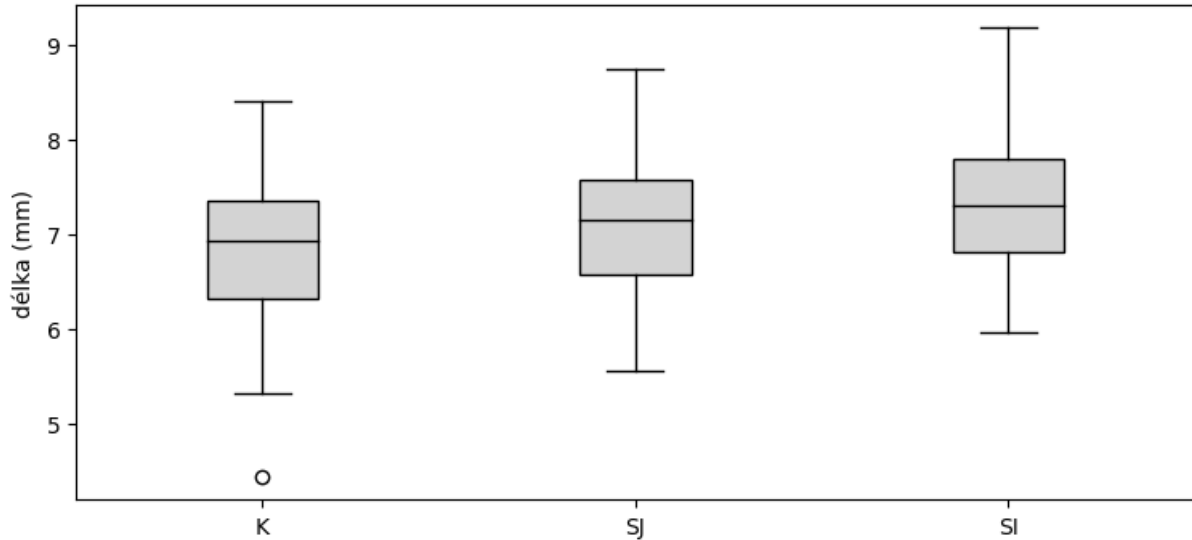
Graf 15: Délka hlavy měřených jedinců jednotlivých testovaných skupin (K, SJ, SI) včel druhu *Osmia bicornis* (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku průmětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

Hrud'



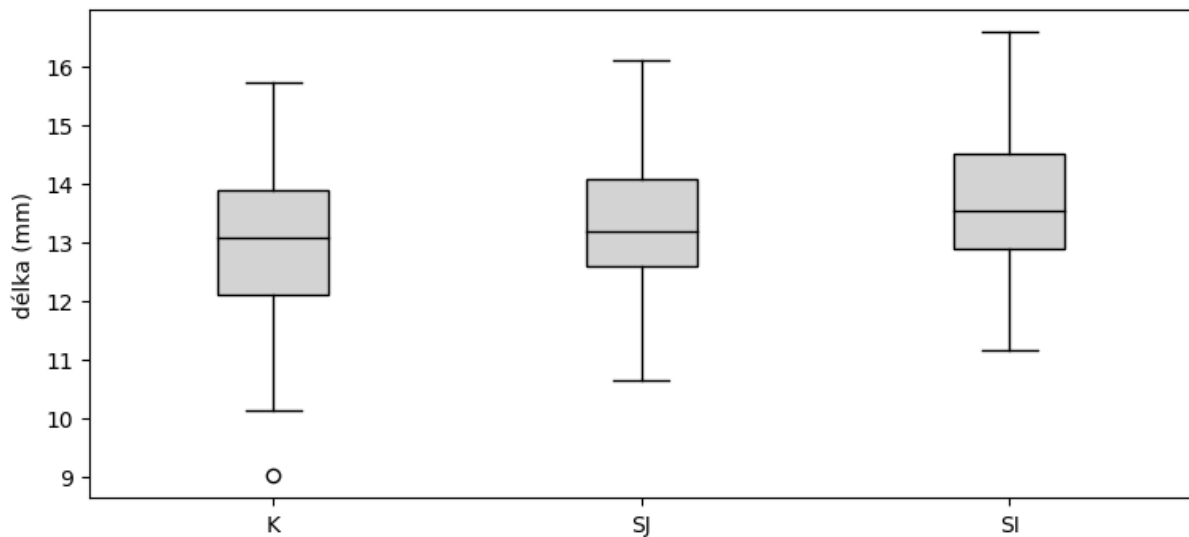
Graf 16: Délka hrudi měřených jedinců jednotlivých testovaných skupin (K, SJ, SI) včel druhu *Osmia bicornis* (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku průmětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

Zadeček



Graf 17: Délka zadečku měřených jedinců jednotlivých testovaných skupin (K, SJ, SI) včel druhu *Osmia bicornis* (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku průmětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).

Celý jedinec



Graf 18: Celková délka měřených jedinců jednotlivých testovaných skupin (K, SJ, SI) včel druhu *Osmia bicornis* (K = kontrolní skupina larev (bez alkaloidů), SJ = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku průmětníku, SI = skupina larev ovlivněna alkaloidy ze starčku úzkolistého).