

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

Vliv vybraných fungicidů na rozmnožování členovců

Bakalářská práce

Autor:	Jakub Svoboda
Studijní program:	(32) B1501 Biologie
Studijní obor:	Systematická biologie a ekologie
Vedoucí práce:	RNDr. Pavel Pech, PhD.

Hradec Králové

červen 2016

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedl všechny prameny, z kterých jsem vycházel.

V Hradci Králové dne:

Jakub Svoboda

Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat RNDr. Pavlu Pechovi, PhD. za vedení bakalářské práce, pomoc se sběrem mravenců, jejich určováním, cenné připomínky a rady, které mi poskytl při zpracování tohoto tématu.

Dále bych chtěl tímto poděkovat doc. RNDr. Františku Malířovi, PhD. za poskytnutí některých informačních zdrojů o fungicidech a dále za vysvětlení některých chemických pojmů.

Na závěr můj dík patří mé přítelkyni Ivetě a rodičům za podporu.

Anotace

SVOBODA, J. Vliv vybraných fungicidů na rozmnožování členovců. Hradec Králové, 2016. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Pavel Pech, Ph.D. 45 s.

Náplní této práce je objasnění vlivu vybraných v zemědělství používaných fungicidů na plodnosti královen mravence *M. rubra*.

První část bakalářské práce tvoří charakteristika mravenčího rodu *Myrmica*.

Ve druhé části je popsán mravenčí druh *Myrmica rubra*, který byl pro tento pokus vybrán.

Třetí část práce tvoří charakteristika veškerých mnou použitých fungicidů.

Klíčová slova:

Myrmica rubra, mravenec, královna, fungicid, plodnost

Annotation

Svoboda, J. The effect of chosen fungicides on reproduction of arthropods. Hradec Králové, 2016. Bachelor work on the Přírodovědecká fakulta Univerzity Hradec Králové. The leader of the bachelor work RNDr. Pavel Pech, Ph.D. 45p.

The aim of this work is to clarify the indirect influence of fungicides used in agriculture on reproduction of queen ant *Myrmica rubra*.

In the bachelor work are characterized the genus *Myrmica*, *M. rubra* (the species used for experiment) and used fungicides.

The influence of selected fungicides on the reproduction of *M. rubra* queen was studied experimentally.

Key words:

Myrmica rubra, ant, queen, fungicide, fertility

Obsah

Úvod.....	1
Teoretická část.....	3
1 <i>Myrmica</i> spp.....	3
1.1 Zařazení do systému.....	3
1.2 Světové rozšíření.....	3
1.3 Kolonie	3
1.4 Zakládání kolonií.....	3
1.5 Potrava	4
2 <i>Myrmica rubra</i> (Linnaeus, 1758).....	6
2.1 Světové rozšíření.....	6
2.2 Výskyt.....	6
2.3 Orientace v prostoru.....	7
2.4 Potrava	8
2.5 Doba rojení	8
2.6 Hnízdo	8
2.7 Semiklaustrální nezávislý způsob zakládání kolonie	9
2.8 Význam v přírodě.....	10
2.8.1 Zvyšování množství prvků	10
2.8.2 Změna pH	10
2.8.3 Ovlivnění fyzikálních vlastností	10
2.8.4 Myrmekochorie	11
2.8.5 Hostitel rodu <i>Phengaris</i>	12
2.8.6 Ovlivňování opylování rostlin hmyzem	13
2.8.7 Odnášení mrtvých těl živočichů	13
3 Fungicidy.....	14
3. 1 Charakteristika	14
3.2 Albendazol	14
3.2.1 Chemická charakteristika	14
3.2.2 Použití.....	15
3.2.3 Vedlejší účinky	16
3.2.4 Mechanismus působení	16

3.3 Thiophanate-methyl	17
3.3.1 Chemická charakteristika	17
3.3.2 Používání.....	17
3.3.3 Vedlejší účinky	17
3.3.4 Mechanismus působení	18
3.4 Carbendazim	18
3.4.1 Chemická charakteristika	18
3.4.2 Používání.....	19
3.4.3 Vedlejší účinky	19
3.4.4 Mechanismus působení	19
3.5 Epoxiconazol.....	20
3.5.1 Chemická charakteristika	20
3.5.2 Použití.....	20
3.5.3 Vedlejší účinky	20
3.5.4 Mechanismus působení	21
3.6 Flusilazol	21
3.6.1 Chemická charakteristika	21
3.6.2 Použití.....	21
3.6.3 Vedlejší účinky	21
3.6.4 Mechanismus působení	22
3.7 2-(2-chlorophenyl)benzimidazol	22
3.7.1 Charakteristika	22
Pokusná část.....	23
4 Metodika.....	23
4.1 Sběr kolonií	23
4.2 Krmení.....	23
4.3 Zbylé přípravy před začátkem pokusu.....	23
4.3.1 Čekací doba 1 týden	23
4.3.2 Obdržení fungicidů.....	23
4.3.3 Rozdělení královen do skupin.....	24
4.4 Počátek pokusu.....	24
4.4.1 Umístění.....	24
4.4.2 Průběh.....	24

4.4.3 Ukončení pokusu.....	25
4.4.4 Statistická analýza	25
5 Výsledky	25
Diskuze	28
Závěr.....	30
Seznam použitých zdrojů	30
Literatura	30
Internetové zdroje:.....	37

Úvod

Cílem této práce je objasnit vliv člověkem užívaných chemických látek využívaných běžně například v zemědělství jako fungicidy proti cizopasným houbovým chorobám a jako léčiva užívající se ke zbavení vnitřních parazitů na plodnosti královen jednoho z nejběžnějších mravenců a to zástupce *Myrmica rubra*, který se vyskytuje právě na narušovaných lokalitách, jako jsou louky a pole.

Tento pokus byl motivován velice podobným výzkumem P. Heneberga a P. Pecha, kteří k pokusu používali stejný materiál, avšak jiný fungicid. Hlavním cílem jejich výzkumu bylo zjistit, zda příjmem rozpuštěného benomylu lze vyléčit napadené královny *M. rubra* parazitickou houbou *Rickia wasmannii*, neboť sami navazovali na pokus, při kterém byli od tohoto dospělého členovců napadajícího parazita vyléčení švábi. Na začátku jejich pokusu byly nachytány královny mravenců jednak z napadených, tak i zdravých hnízd, které byly dány do petriho misek, kde měly stejné podmínky, až na potravu. Ty z nich, které byly napadené, přijímaly stejně tak jako někteří zdraví jedinci roztok benomylu o koncentraci 1 mg/ml, avšak zbytek nenapadených z nich přijímal vodu. Jejich jídelníček byl dále doplněn medem a částí těla cvrčka domácího. Veškeré královny byly drženy v zajetí po dobu šesti týdnů, tedy do chvíle, kdy se v petriho misce objevila první larva. Na konci pokusu, tedy po vylíhnutí larev, bylo u napadených jedinců prokázáno, že benomyl královny *M. rubra* nevyléčí, ale naopak všem královnám, které ho přijímaly, uškodí. U nenapadené skupiny, která přijímala po dobu pokusu roztok benomylu se totiž projevila menší plodnost než u té zdravé, která přijímala pouze vodu. Z původních 18 +/- 8,4 kleslo vlivem benomylu množství vajíček na jednu královnu až na 3,7 +/- 5,2 (Pech et Heneberg, 2015).

Negativní vliv této chemické látky na plodnost zástupce mravenců byl hlavním důvodem k podobným výzkumům, neboť se o těchto účincích na hmyz ví velice málo. Za zmínku například stojí, že byl benomyl celosvětově používán již od druhé poloviny šedesátých let minulého století, avšak kvůli jeho negativním vlastnostem na zdravé živočichů a člověka, se kterými se dostal do styku například potřísněním během jeho aplikace, nebo konzumací plodin, které jím byly ošetřeny, byl v mnoha zemích nahrazen jinými prostředky. Vyznačoval se například tím, že již v malých koncentracích vykazoval toxické účinky na pokožku, avšak později se i projevily pokusy na živočiších jakožto mikrotubulický jed, který působí inhibičně na syntézu β -tubulinu a tím brání tvorbě samčích pohlavních buněk. Avšak snížení plodnosti byla po jeho příjmu do těla sledována dokonce i u samic některých živočichů. Dalším nebezpečím pro člověka u této látky je možný karcinogenní účinek, který při opakovaných, nebo déle trvajících expozicích tato chemikálie může způsobit. Toxicky naštěstí nepůsobí na hmyzí opylovače, kterými jsou včely, neboť by tím mohlo dojít v oblastech jeho aplikace k úbytku opylování a tím pádem i ke změně druhové skladby rostlin, které včely právě potřebují jakožto opylovače k vytvoření generativních orgánů, tedy semen (Nové fungicidy, 1977).

Látky, kterými byl benomyl nahrazen, by v případě expozice alimentární cestou nebo jejich vdechnutím měly působit šetrněji. Z tohoto důvodu se s ním dnes můžeme setkat pouze v zemích, kde není zakázán. Mezi takové patří například rozvojové oblasti světa (www.who.int).

Mnou zkoumané fungicidy, kterými jsou albendazol, carbendazim, epoxiconazol, flusilazol, thiophanate-methyl a 2-(2-chlorophenyl)benzimidazol byly vybrány z několika důvodů.

Prvním z nich je skutečnost, že se jedná o hojně ve světě používané účinné látky, jejichž aplikací a působením dochází k ničení chorob způsobených houbovými mikroorganismy, tedy plísněmi, na zemědělských plodinách a na dalším pro člověka důležitém materiálu.

Druhým faktem je, že většina těchto látek, až na epoxiconazol a flusilazol, které se řadí mezi tzv. triazolové látky, patří dle své chemické struktury do benzimidazolové skupiny, do které patří i již zmíněný benomyl. Ten má navíc velice blízký vztah s účinnými látkami carbendazimem a thiophanate-methylem.

V poslední řadě je důležité zmínit i vliv albendazolu, který byl vybrán hlavně proto, že se na celém světě používá ve formě léčiva.

Hlavním cílem této bakalářské práce je objasnit vliv v zemědělství používaných fungicidů na plodnost královen běžně se vyskytujícího druhu mravence *Myrmica rubra*. V případě prokázání výrazného snížení plodnosti, nebo toxického účinku by mohla vést k používání šetrnějších chemických látek v zemědělství.

Teoretická část

1 *Myrmica* spp.

1.1 Zařazení do systému

Rod *Myrmica* se řadí do říše živočichů (*Animalia*), kmene členovců (*Arthropoda*), třídy hmyzu (*Insecta*), řádu blanokřídlých (*Hymenoptera*), čeledi mravencovitých (*Formicidae*), podčeledi (*Myrmicinae*) a rodu mravenec (*Myrmica*).

Velikost rodu *Myrmica* se na počátku 21. století v roce 2002 odhadovala přibližně na 150 do té doby popsanych druhů (Czechowski et al., 2002). Do roku 2016 se vlivem dalších nálezů a používáním moderní technologie zjistilo, že druhů existuje více, neboť byly objeveny at' žijící, tak fosilní pozůstatky zástupců tohoto rodu. Jeho velikost se tedy nyní odhaduje na 196 dosud známých druhů, z nichž deset je již fosilních (www.antcat.org).

1.2 Světové rozšíření

Zástupce rodu *Myrmica* tvoří převážně Holarktické formy, z nichž se většina vyskytuje v oblasti Palearktu a jen malá část v Nearktu. Většina druhů převážně obývá více či méně humidní stanoviště, lesy, otevřená stanoviště a stepi. Domovinou pro některé z nich jsou i hory, jako je tomu například v tundře, kde se nadmořská výška výskytu některých druhů pohybuje i přes 3600 m. Podobně je tomu například i v Himalájích v oblasti Tibetu, kde mohou být některé kolonie nalezeny i ve výšce 4500-4800 m. n. m. (Czechowski et al., 2002)

1.3 Kolonie

Kolonie těchto mravenců se nacházejí v zemi často pod různými kameny, kousky dřeva, kůry, v kořenech stromů, polenech, větvích ležících na zemi a také pod mechy. Kolonie lze také objevit v trsech trávy a dokonce i v lidském odpadu (Seifert, 2007).

Hnízda mohou obsahovat od několika stovek až po několik tisíc jedinců, kteří jsou tvořeny převážně dělnicemi. Dle počtu vyskytujících se královen se dále dělí na monogynní, které mají jednu královnu a polygynní, které jich mohou obsahovat až sto najednou (Czechowski et al., 2002).

1.4 Zakládání kolonií

Zakládání kolonií je u mravenců nejdůležitějším procesem, během něhož dočasně okřídlené mladé královny spolu s okřídlenými samečkami vylétají ze svých mateřských hnízd za účelem páření a následného vzniku nového hnízda. Tento děj je také znám jako svatební let (Keller et Passera, 1989; Obenberger, 1948) neboli rojení mravenců (Sadil, 1955).

Jedná se vlastně o počáteční a nejdůležitější fázi, kterou si neoplozená mladá královna musí projít, aby získala od sameček jiných hnízd, ale téhož druhu, zásobu samčích pohlavních buněk, kterými jsou spermie (Stille, 1996; Keller et Passera,

1989). Sperma je po kopulaci uloženo v důležitém orgánu spermatéce, nacházející se v zadečce, ve které je poté schopno vydržet i několik let v inaktivovaném stavu, přičemž při kladení oplodněných vajíček se jeho část uvolní a následně aktivuje. Jedná se tedy o velice důležitý orgán, bez něhož by nová kolonie nevznikla (Hölldobler et Wilson, 1997).

Způsob vzniku nového hnízda po svatebním letu však není u všech druhů mravenců stejný. Na základě odlišností se dělí na dva hlavní způsoby, kterými jsou závislý a nezávislý způsob, které se dále dělí na několik druhů (Stille, 1996; Keller et Passera, 1989).

Ty mohou probíhat v různé vzdálenosti od mateřského hnízda. Buď jsou nová samostatná mraveniště vytvořena daleko od toho původního, nebo se vyskytují v jeho blízkosti (Seifert, 2007).

Pro některé druhy rodu *Myrmica* je specifické postupné pokrývání daného biotopu, čímž tak vytváří „husté sítě“ svých kolonií relativně na malém prostranství. Nevýhodou této strategie je, že se ony druhy nerozšíří do vzdálených lokalit, avšak na druhou stranu tímto dominují svému působišti (Seifert, 2007).

1.5 Potrava

Rod *Myrmica* je tvořen zástupci menších až větších robustnějších forem. Většina těchto druhů hledá potravu převážně na zemském povrchu, avšak některé z nich lze spatřit i na bylinách. Většina z nich však žije převážně predátorským způsobem života (Czechowski et al., 2002)

Tento ať už čistě, či kombinovaný zoofágní způsob života, je pro druhy podčeledi *Myrmicinae* ve střední Evropě vzácný (Seifert, 2007).

Odhaduje se však, že tito mravenci ať už v husté vegetaci, nebo vyskytující se na volných prostranstvích, mohou za snižování počtu zástupců pavouků a létajícího hmyzu až o 40%, jako tomu bylo při pozorování v severních Karpatech. Tímto tvoří přirozeného predátora pro mnoho druhů těchto živočichů (Seifert, 2007).

Rychlost shánění potravy závisí na několika faktorech. Jedním z nich je velikost samotné kolonie, jelikož ta velice souvisí s množstvím dělnic hledajících potravu. Platí zde pravidlo, že čím více dělnic běhá mimo hnízdo a hledá, tím větší jsou šance a především zisky. Osvědčuje se zde hlavně metoda spolupráce, která snižuje dobu hledání a zvyšuje zisk. Jako druhý faktor se uvádí velikost těla, respektive hlavové části hledajících dělnic, které mají oproti ostatním větší šanci na ulovení velké kořisti a jejího následného dopravení do hnízda bez pomoci ostatních (Véle et al., 2011).

Hledají především výživnou potravu obsahující sacharidy a bílkoviny, přičemž existuje mnoho způsobů jak si tyto zdroje opatřit (Véle et al., 2011).

Jedním z těchto způsobů je například tzv. trofobiotický vztah mravenců s některými parazitujícími živočichy na rostlinách, jako jsou například mšice (*Aphis* sp.) a jiní. Ty za ochranu před predátory a dále za udržování jejich hygieny odklizováním jejich výkalů mravencům poskytují cukernaté šťávy, které ze svého

těla vylučují (Czechowski et al., 2002; Seifert, 2007). Tyto látky vylučované těly mšic se označují jako medovice a jsou pro mravence velice výživné, neboť obsahují velké množství cukrů, aminokyselin, minerálů, vitamín B a až 13% esenciálních bílkovin. Pro tento způsob získávání potravy je u některých druhů tohoto rodu specifické stavění úkrytů z písku, hlíny a zbytků rostlin, ve kterých jsou poté mšice před nejrůznějšími predátory, kterým může být například slunéčko sedmítečné (*Coccinella septempunctata*), ukryty (Czechowski et al, 2002; Seifert, 2007).

Existují však i takoví zástupci tohoto rodu, kteří se vyznačují parazitickým způsobem života na koloniích jiného druhu rodu *Myrmica* (Czechowski et al., 2002). Jako příklad tohoto pro jednu stranu nevýhodného vztahu lze uvést například trvalý parazitismus druhu *Myrmica hirsuta* Elmes, 1978 na koloniích zástupce *Myrmica sabuleti* Meinert, 1861 a *Myrmica lonae* Finzi, 1926, nebo dále druh *Myrmica karavajevi* Arnol'di, 1930, který parazituje u druhů *Myrmica rugulosa* Nylander, 1849 a *Myrmica scabrinodis* Nylander, 1846 (Seifert, 2007).

Potravu však mohou získávat i jiným způsobem a to pitím nektaru z květenství rostlin, jako je tomu tak například u rostlinné čeledi miříkovitých (*Apiaceae*) (Czechowski et al., 2002) nebo u vikve plotní (*Vicia sepium*) z čeledi bobovitých (*Fabaceae*) (Seifert, 2007). Mezi další rostliny, jejichž nektar mravenci pijí, patří dokonce i některé fialky, na kterých mravenci spíše parazitují, neboť z boku květ prokousnou a vypijí samotný nektar, který slouží hlavně jako lákadlo pro hmyzí opylovače, které potřebují ke svému opylení a následnému vytvoření semen (Seifert, 2007).

Některé druhy mravenců tohoto rodu se dokonce rády živí i šťavnatými plody rostlin, na které narazí (Seifert, 2007).

Mnoho druhů se ale také živí myrmekochorním způsobem, tedy takovým, kdy dělnice roznášejí za potravu bohatou na živiny semena některých rostlin. Na tomto způsobu roznášení semen se v Holarktických lesích právě nejvíce podílí rod *Myrmica* (Seifert, 2007).

Avšak výběr potravy záleží především na přítomnosti potravinových zdrojů v okolí mravenčí kolonie. Ty totiž nejsou vždy stejné, neboť sběrem různých vyhozených zbytků se mohou na odlišných místech jiných hnízd stejného druhu značně lišit (Véle et al., 2011). Toto je vysvětlováno tím, že mravenci svůj jídelníček řídí především dle toho, co se vyskytuje v jejich blízkém okolí, přičemž však upřednostňují ten zdroj potravy, který lze obstarat nejsnazším způsobem (Czechowski et al., 2002).

2 *Myrmica rubra* (Linnaeus, 1758)

2.1 Světové rozšíření

Myrmica rubra, též znám jako červený mravenec (Seppä et Walin, 1996), je zástupcem živočichů obývajících oblasti mírného pásu. Tento druh původně osídloval jen lokality vyskytující se na kontinentech Evropy a Asie (Fischer et al., 2005; Fokuhl et al., 2007; Seppä et Walin, 1996; Groden et al., 2005; Garnas et al., 2014; Czechowski et al., 2002), avšak později byl výskyt jeho kolonií zaznamenán i v oblasti severovýchodní části Spojených Států Amerických ve státě Maine (Groden et al., 2005) a dále také na území Britské Kolumbie (Naumann et Higgins, 2015). Na všech těchto nepůvodních lokalitách působí negativně na původní druhy mravenců, neboť je oproti těm místním vysoce agresivní, což má za následek snižování jejich populací (Garnas et al., 2014; Naumann et Higgins, 2015).

Dříve se také za jeho domovinu považovalo i Japonsko, avšak později se ukázalo, že je tato informace mylná, neboť se jednalo o jiný druh (Czechowski et al., 2002).

2.2 Výskyt

Není raritou tohoto běžně se vyskytujícího živočicha objevit, jelikož se může vyskytovat na místech, na kterých často pobýváme, aniž bychom o jeho přítomnosti věděli. Nejčastěji se s ním můžeme setkat v oblastech s trvalým travním porostem a vyšší hladinou spodní vody (Czechowski et al., 2002), neboť optimální podmínky právě pro tento druh jsou mezofilní vlhké oblasti. Díky těmto podmínkám jeho výskytu ho lze najít i na místech častých záplav, neboť je na ně jako druhý, hned po *Myrmica gallienii* Bondroit, 1920, ze svého rodu nejlépe přizpůsobený. Důkazem toho je jeho obrovský výskyt v trvalých nivách některých řek, kde hustota jeho kolonií na 100 m² tvoří až 105 hnízd (Seifert, 2007).

Dá se na něho běžně narazit také například na loukách, pasekách ale i v lesích, kde se však vyskytuje vzácněji (Fokuhl et al., 2007; Pech, 2014; Czechowski et al., 2002), avšak je-li les stinnější, tak jeho přítomnost zde může být i ve velkém zastoupení (Seifert, 2007).

Přesto jsou za nejčastější místo jeho výskytu považovány lidské zahrádky (Fokuhl et al., 2007; Pech, 2014; Czechowski et al., 2002; Seifert, 2007). Kromě přírodních a polopřírodních oblastí ho lze běžně ještě objevit ve městech (Dvořáčková, 2012; Seifert, 2007), avšak podmínkou jeho přítomnosti je trvalý travní porost (Dvořáčková, 2012).

Přítomnost jeho kolonií na těchto místech je prokázána a vysvětlována tím, že tento mravenec patří mezi jedny z prvních živočichů, kteří osídlují trvale či často narušované lokality a to ať aktivitou lidí, nebo jiných živočichů (Pech, 2014).

Podle nálezů různých kolonií na mnoha lokalitách jeho výskytu bylo prokázáno, že se nevyskytuje v oblastech s vyšší nadmořskou výškou, než je 800 m. n. m. (Fischer et al., 2005) a dále v oblastech xerothermních a těch, které jsou velice řídké zarostlé (Seifert, 2007).

2.3 Orientace v prostoru

Dělnice mravenců se při hledání potravy a následné cesty zpět do hnízda spoléhají na vnímání dvou hlavních smyslů, kterými jsou zrak a čich. To, že pro svoji orientaci potřebují tyto živočichové, kteří část svého života tráví pod zemským povrchem i zrak, je patrné již z morfologie jejich oka. Avšak tuto tezi dokázal pokus, při kterém dělnice hledaly cestu z postaveného labyrintu při různém osvětlení, přičemž jim v některých případech měly pomoci i čichové podněty umístěné člověkem. Nejčastěji totiž našly dělnice cestu z bludiště při optimálním osvětlení a to pouze za použití čichových vodítek. Výsledek tedy dokazuje, že jsou zástupci *Myrmica rubra* závislí na svém čichu, neboť hlavně jeho pomocí zachycují různé pachy, avšak zrak je pro ně stejně tak důležitý z hlediska zapamatování si cest, kterými se denně pohybují (Cammaerts, 2012).

Jeden z dalších podobných pokusů, který obohatil vědomosti ohledně orientace a vizuální paměti u mravenců, byl prováděn v Rusku, kde se taktéž používalo člověkem vyrobené bludiště, avšak zde byli jedinci *Myrmica rubra* v onom bludišti nejprve ubytováni. Po jejich několikadenním navyknutí si jeho vnitřním prostorům jim byla část potomstva odebrána a následně přesunuta do jiného labyrintu, které bylo naprosto totožné s tím, ve kterém zbytek kolonie žil doposud. Snůška byla umístěna do prostor, které v obydleném bludišti nebyly dělnicemi příliš prozkoumávány, a tudíž se předpokládalo, že dané prostory mnoho z nich nezná. Následně bylo do tohoto nového bludiště na jedno místo umístěno několik dělnic, které měly ukryté potomstvo najít. Ve druhém případě byla snůška dána do naprosto pro ně cizích míst jiného bludiště, které obsahovalo osově symetrické prostory, po čemž byli následně do středu dáni dospělí jedinci mravenců, kteří stejně tak jako v předchozím případě měli za úkol ono potomstvo nalézt. Výsledek pokusu ukázal, že naprosto nové prostředí je pro mravence často těžké si zapamatovat a orientovat se v něm, zatímco prostory, kterými se většina z nich alespoň několikrát pohybovala, si dělnice dokázaly částečně zapamatovat a byly tak v nalezení potomstva mnohem úspěšnější (Dachevski et al., 1990).

Za orientaci pomocí čichu mohou i feromony uvolňované z oblasti u jedové žlázy na konci zadečku, které mravenec uvolňuje jeho táhnutím za sebou. Tuto dnes známou skutečnost potvrzuje pokus, při kterém byla člověkem v laboratorních podmínkách uměle vyrobena feromonová látka 3 - ethyl - 2, 5 - dimethylpyrazine, kterou byla vždy v blízkosti mravenčích hnízd mnoha vybraných druhů vytvořena cestička. Během sledování se ukázalo, že tuto látku sledují druhy jako *Messor bouvieri* Bondroit, 1918, *Manica rubida* Latreille, 1802, *Atta sexdens* Linnaeus, 1758, *Tetramorium caespitum* Linnaeus, 1758, *Pheidole pallidula* Nylander, 1849 a dokonce bylo sledování cestiček vytvořených z této látky potvrzeno až u 13 druhů rodu *Myrmica* včetně *M. rubra*. Tato skutečnost dokazuje, že minimálně tyto druhy používají stejnou feromonovou látku a hlavně poukazuje na důležitosti čichu jakožto orientačního smyslu (Jackson et al., 1989).

2.4 Potrava

Dospělé dělnice tohoto druhu jsou převážně masožravé (Konečná, 2015), avšak neopovrhnu ani rostlinnou potravou, což vypovídá o jejich všežravém způsobu života (Fischer et al., 2005).

Je o nich velice dobře známo, že využívají mnoho zdrojů potravy, do kterých však nepatří pravá granivorie, neboli požívání celých částí rostlinných semen (Seifert, 2007).

Živočišnou potravu pro ně není zas tak snadné získat, jelikož je to stojí spoustu úsilí a energie, kterou vynaloží jak do rychlého pohybu k nalezení, tak udolání kořisti, kterou ještě musí celou přinést až do hnízda (Curry, 1994).

Z tohoto důvodu si často potravu hledající dělnice pomáhají značením cestiček pomocí chemických signálů, kterými s ostatními potravu hledajícími členkami kolonie komunikují. Pachové cestičky jim totiž prozradí, zda daná cesta vede k nějakému zdroji či nikoli (Fokuhl et al., 2007).

Avšak v jistých případech je pro ně získání živočišné potravy relativně snadné, neboť tu a tam se mnoho kolonií tohoto druhu vyskytuje v místech, kde je mrtvých živočichů dostatek (viz odnášení mrtvých těl živočichů) (Seifert, 2007).

Je o nich známo, že si chovají ve velkém množství na keřích a stromech mšice, ze kterých mají medovici, ale mohou je využít i jako zdroj živočišné potravy (Seifert, 2007).

Další způsob výživy zajišťují také semena myrmekochorních rostlin, jejichž pro mravence jedlá část je velice bohatá na různé zdroje živin (viz myrmekochorie) (Fokuhl et al., 2007).

O zástupci mravenců *M. rubra* je také známo, že sbírá nektar z květů některých rostlin, jako je tomu tak například u dobromysli (*Origanum* sp.) a vikve plotní (*Vicia sepium*) (Seifert, 2007).

M. rubra si může dokonce potravu částečně opatřit i mutualistickým vztahem s larvou motýla rodu *Phengaris* (viz hostitel rodu *Phengaris*), který mravencům za službu péče, která se v lepším případě skládá pouze z ubytování a krmení, poskytuje šťávy bohaté na živiny (Véle et al., 2011).

2.5 Doba rojení

Mladé královny *M. rubra*, které jsou připravené k nejdůležitějšímu svému úkolu, tedy k páření, se rojí v teplých letních obdobích, tedy od počátku července do konce září (Sadil, 1955; Czechowski et al., 2002; Seifert, 2007).

Existují ale i výjimky, neboť ve vyšších nadmořských výškách lze rojení spatřit i v období října (Czechowski et al., 2002).

2.6 Hnízdo

Myrmica rubra si vytváří malá hnízda v zemi, která se nad zemským povrchem vyznačují malou kupičkou vyhrabané zeminy o výšce několika centimetrů (Curry, 1994; Sadil, 1955; Czechowski et al., 2002).

Obvykle je staví pod různým materiálem, ať přírodním, nebo člověkem vytvořeným, který jim slouží jako ochrana vrchní části. (Czechowski et al., 2002).

Často se také ale mohou vyskytovat v různých kamenitých podkladech nebo ve shnilém dřevě (Seifert, 2007).

Avšak samotná ubytovací část se vyskytuje pod povrchem země, která může průměrně měřit 12 cm a více (Curry, 1994; Sadil, 1955).

Za zmínku také stojí, že oproti některým druhům, jako je například *Myrmica ruginodis*, staví mravenec žahavý hnízda nedaleko od svého mateřského, čímž si zajišťuje dominanci v areálu svého výskytu. Tímto vytváří tzv. polydomní kolonie daného stanoviště a může tak dlouhodobě konkurovat v potravních zdrojích i agresivním druhům mravenců, jako jsou *Lasius niger* Linnaeus, 1758 a *Lasius platythorax* Seifert, 1991 (Seifert, 2007).

Kolonie druhu *M. rubra* zpočátku obývá jediná královna, za což se označují jako „monogynní“ (Seifert, 2007), avšak později jich často obsahují více a označují se proto jako „polygynní“ (Pearson, 1985; Sadil, 1955; Seppä et Walin, 1996; Czechowski et al., 2002; Seifert, 2007).

Zároveň jsou často tak velké, že mohou poskytovat domov několika stovkám až tisícům dělnic (Czechowski et al., 2002).

2.7 Semiklaustrální nezávislý způsob zakládání kolonie

M. rubra je druh mravence, jehož královna po svatebním letu zakládá kolonie takzvaným semiklaustrálním způsobem (Sadil, 1955). Při tomto způsobu je pro ni samotná cesta mimo hnízdo velice nebezpečná, neboť jí během ní může ulovit některý z predátorů, či prostě při nedostatku vody může zemřít na dehydrataci (Peeters, 2012).

Po oplodnění přisedá na zem, kde si pomocí druhého a třetího páru končetin odlomí již nepotřebná křídla, která by ji mohla překážet v pohybu (Hölldobler et Wilson, 1997).

Najde vhodný úkryt, kterým může být například drobný otvor v zemi, do kterého následně naklade první snůšku vajíček, o které dále sama pečuje tak dlouho, dokud z nich nevzniknou larvy prvních dělnic (Sadil, 1955; Obenberger, 1948; Keller et Passera, 1989). Ty zpočátku krmí vajíčky, jež vytváří z energie, kterou získává ze svých létacích svalů (Peeters, 2012).

A je to právě aktivní lovení mimo svůj úkryt, který je jedním ze znaků nezávislého semiklaustrálního způsobu zakládání kolonií. Hlavní příčinou tohoto pro královnu rizikového jednání je skutečnost, že tělo královny neobsahuje tak velké množství rezervních tukových zásob (Keller et Passera, 1989; Seifert, 2007), díky kterým by si mohla dovolit být celou dobu uzavřená v bezpečí, jako je tomu například u královen praktikujících nezávislý klaustrální způsob zakládání kolonie (Keller et Passera, 1989).

V případě, že by mladá královna během lovení zemřela, znamenalo by její úmrtí zánik i celého jejího potomstva (Keller et Passera, 1989; Peeters, 2012).

2.8 Význam v přírodě

2.8.1 Zvyšování množství prvků

Přibývání živin v okolí mravenčí kolonie je dáno obrovskou aktivitou těchto tvorů, kdy dělnice přináší do svých hnízd jak živočišný, tak rostlinný materiál, který slouží jako potrava, přičemž případné zbylé části v něm zanechají, nebo je nedaleko od hnízda vyhodí (Forgarait, 1998; Frouz, 2002; Czechowski et al., 2002). Tento transport různých částí rostlin a živočichů se na obohacení o živiny nejvíce podílí z důvodu obrovského zastoupení tohoto druhu v přírodě a hlavně počtu dělnic v jednom hnízdě (Curry, 1994).

Po snědení potravy dochází po určité době k jejímu vyloučení z těla v podobě nestrávených zbytků, které stejně jako nesnědené části těl živočichů a rostlin, vyskytující se uvnitř hnízda, podlehnou vlivem dekompozitorů, tzv. rozkladačů, mineralizaci, tedy rozkladu na základní látky, kterými jsou chemické prvky. K tomuto obohacování o živiny dochází především v místě největšího výskytu jedinců, kterým je centrální část hnízda. Méně k tomuto obohacování dochází v částech postranních, neboť tam se tolik jedinců nevyskytuje. Míra obohacení půdy o prvky je dána především stravou mravenců a její rozdílné složení je právě hlavním důvodem, proč se u jednotlivých druhů liší (Forgarait, 1998; Frouz, 2002). U *M. rubra* přibývá především množství uhlíku, fosforu a v menším množství také vápníku, hořčíku a draslíku (Curry, 1994; Forgarait, 1998; Frouz, 2002). Obohacování půdy o prvky je důležité především na chudších půdách, kde je živin podstatně méně než na těch živinami bohatých (Forgarait, 1998).

2.8.2 Změna pH

Sice přesný způsob tohoto vlivu není znám, ale mnohým měřením bylo dokázáno, že aktivitou těchto tvorů dochází ke změně pH půdy v místě jejich výskytu (Curry, 1994; Frouz, 2002; Forgarait, 1998). Na tom se podílí především dva hlavní faktory a to velikost hnízda a jeho stáří (Frouz, 2002). Půdní pH je totiž svým každodenním působením mravenců zvyšováno, v případě že je kyselější, nebo naopak snižováno, pokud má zásaditější charakter. Hodnota se přitom v obou případech vždy posouvá směrem k neutrální hodnotě (Forgarait, 1998; Frouz, 2002).

2.8.3 Ovlivnění fyzikálních vlastností

Změna těchto vlastností je závislá především na počtu nacházejících se mravenišť na určité ploše území, tedy na hustotě, dále životnosti kolonie a především na aktivitě samotných mravenců, kteří jsou jejími hlavními činiteli (Frouz, 2002). Ti totiž během stavby hnízda prohlubují chodbičky do větší délky a hloubky půdy a dále budují komůrky, aby mohli rozšířit svoji populaci. Touto činností dochází k vynášení podzemního materiálu výše k povrchu půdy a následně k tvorbě větších pórů půdních částic, což má za následek zlepšení jejího provzdušnění, avšak zhoršení schopnosti zadržování vody (Forgarait, 1998; Frouz, 2002).

2.8.4 Myrmekochorie

Myrmekochorie je jedním z typů zoochorie, tedy procesu, při kterém jsou semena přenášena pomocí živočichů (Konečná, 2012).

V tomto případě se však jedná o dlouhotrvající složitý oboustranně prospěšný vztah mezi mravenci a rostlinami, který se řadí mezi tzv. mutualistické vztahy. Ty se vyznačují především svojí stabilitou, která trvá pouze do doby, kdy si jsou obě partnerské strany navzájem prospěšné a ani jedna z nich toho druhého nepodvádí (Gorb et Gorb, 2003; Konečná, 2015).

Rostliny, které jsou v tomto mutualistickém vztahu, se označují jako tzv. myrmekochorní a vyznačují se nabízením mravencům potravy bohaté na živiny. Ty totiž díky svým morfologickým, anatomickým a biochemickým adaptacím vytvářejí na semenech tuková tělíska známá též jako „masíčka“ neboli tzv. elaiosomy (Gorb et Gorb, 2003; Konečná, 2012; Konečná, 2015; Fokuhl et al., 2007; Bologna et Claire, 2015), které obsahují celou řadu látek, jako jsou karbohydráty, bílkoviny, mastné kyseliny, vitamín B1, vitamín C a dále také sacharidy, zejména glukózu, fruktózu, škroby a další (Gorb et Gorb, 2003; Konečná, 2012; Konečná, 2015; Seifert, 2007).

Jelikož tyto látky nejsou u všech semen ve stejném zastoupení stejné, tak právě jejich přítomnost má mravence přesvědčit o tom, že právě semena jejich druhu jsou pro ně ta nejvýhodnější, čímž zvyšují své šance na jejich roznos (Gorb et Gorb, 2003).

Mravenčí dělnice na oplátku za tyto výživné látky semena přenáší směrem do svých hnízd (Bologna et Claire, 2015; Nešpor, 2003).

Během cesty samotná dělnice onu výživnou část na semeni buď sní po cestě, nebo ji i spolu se semenem ztratí, přičemž může být objevena a odnesena nějakým jiným mravencem, ale mnohem častěji ji přinese do hnízda. Tam jimi přednostně krmí larvy, pro jejichž životní cyklus jsou velice důležité (Konečná, 2015).

Stejně tomu je u *M. rubra*, u kterého se během pokusu, kdy jedné skupině byla poskytnuta semena myrmekochorních rostlin, jako jsou ladoňka dvoulistá (*Scila bifolia*) a dymnivka dutá (*Carydalis cava*), zatímco kontrolní skupině nikoli, projevila jejich důležitost. Elaiosomy dokrmované larvy prokázaly větší rezistenci proti zimnímu období, neboť jich mnohem více přežilo, a dále také došlo oproti druhé kontrolní skupině ke zvýšení plodnosti u královny (Konečná, 2012).

Úbytek mortality larev u kolonií živící se těmito na živiny bohatými výběžky semen rostlin byl zaznamenán i při dalším pozorování počtu jedinců jednotlivých hnízd. Při tomto výzkumu se však dospělo i k závěru, že kolonie, které se živí odlišným způsobem mají nejenže méně larev, ale za to také i více královen v každém hnízdě (Fokuhl et al., 2007).

Důležitost této stravy pro *M. rubra* dokázala i změřená rychlost přenosu generativních částí rostlin z místa nálezu a následného odebrání elaiosomu, které u tohoto druhu mravence trvalo přibližně necelé dvě hodiny, během nichž veškerá semena byla odnesena. Oproti tomu například *Lasius niger*, který potravu získává

chováním mšic, oddělil pouze 3% těchto na živiny bohatých částí od semen a to za šest hodin, tedy třikrát delší dobu (Konečná, 2015).

Avšak při zkoumání rostlinných semen v několika hnízdech druhu *Myrmica rubra* a následným jejich určením, bylo zjištěno, že tento mravenec na rozdíl od některých ostatních druhů nerozšiřuje pouze některé konkrétní druhy rostlin, ale většinu, jejichž semena mají „masíčko“. Dá se tedy říci, že nemají oblíbenou rostlinu, které by dávali přednost před ostatními, ale že sbírají veškerá semena myrmekochorních rostlin vyskytujících se v jejich okolí (Forgarait, 1998).

Po přinesení semen do hnízd snědí larvy samotné masíčko a zbylé neporušené klíčení schopné semeno je poté dělnicemi odneseno buď do komůrky mraveniště, nebo na smetiště. Další možností může být jeho vyhození mimo hnízdo (Nešpor, 2003).

Důležité ovšem je, že neporušená semena mají šanci vyklíčit daleko od své mateřské rostliny a tím zvýšit svojí populaci na oné lokalitě a zajistit tak přežití svého druhu (Gorb et Gorb, 2003; Konečná, 2015; Hölldobler et Wilson, 1997; Nešpor, 2003).

K dalším výhodám tohoto vztahu mezi mravenci a rostlinami patří to, že přenos semen zajišťuje menší predaci jejich generativních částí různými hlodavci a navíc může zajistit jejich přesun na stanoviště bohaté na živiny, jako je již zmíněné mravenčí smetiště, kde má později semeno mnohem větší šance na vyklíčení a uchycení se (Konečná, 2012).

Z tohoto hlediska je tento vztah velice důležitý, neboť samotný roznos semen je významnou fází životního cyklu kvetoucích rostlin, který stanovuje dynamiku přírodních stanovišť druhů, dále ovlivňuje jejich uspořádání, strukturu, sukcesí vegetace a podporuje tím i jejich opylování, neboť se jedná o kvetoucí rostliny, které lákají opylovače (Gorb et Gorb, 2003).

2.8.5 Hostitel rodu *Phengaris*

Zástupce živočicha modrásek (*Phengaris*) je ohrožený rod motýla, který se vyskytuje na některých oblastech Evropy a Asie (Tartally et Varga, 2005; Fric et al., 2007).

V přírodě ho lze nalézt na vysoce využívaných vlhkých loukách, na kterých se ale musí vyskytovat jednak specifická rostlina, kterou například v případě modráska očkovaného (*Phengaris teleius*) je krvavec toten (*Sanguisorba officinalis*) (Vrba, 2012), tak určitý druh mravence, v jehož hnízdě bezpečně dospěje, aniž by byl sežrán (Wynhoff, 1998; Seifert, 2007). Životní cyklus tohoto živočicha začíná jako nakladené vajíčko na krvavci totenu, nedaleko kolonie například již zmíněného zástupce *Myrmica rubra* (Wynhoff, 1998).

Při pozorování následně vylíhlých housenek se ukázalo, že dojde-li k naklazení vajíček a vylíhnutí larvy motýla ve vzdálenosti větší než 1 m od hnízda, tak s největší pravděpodobností housenka nebude objevena a zemře. Avšak to zda bude, či nebude objevena, záleží především na velikosti mravenčí kolonie a na hustotě kolonií (Véle et al., 2011).

Na krvavci totenu se z vajíčka vylíhne housenka, která se rostlinou živí. Ta ji dále po svleku do 4. instaru opouští a padá z ní na zem (Wynhoff, 1998; Hölldobler et Wilson, 1997; Seifert, 2007). Na zemi začne následně vylučovat z těla kapičky, kterými přiláká dělnice mravence *M. rubra*, jehož jsou sociálními parazity (Dierks et Fischer, 2009; Solazzo et al., 2015).

Při kontaktu s dělnicí housenka začne křivit tělo do písmene S, čímž právě imituje mravenčí larvu (Seifert, 2007).

Díky takovému napodobování chování, vzhledu, zvuku mravence a především díky podobným chemickým signálům na povrchu svého těla, jsou housenky rychle odneseny do mraveniště (Solazzo et al., 2013; Véle et al., 2011; Solazzo et al., 2015), kde následně probíhá sekundární kamufláž motýlích larev, neboť na sebe přebírají pach potomstva mravenců (Seifert, 2007).

Tento adoptovaný živočich je pro mravence užitečný pouze tím, že se jeho vylučovanými kapičkami přiživují, avšak za nemalou cenu (Fiedler, 1990). Larva motýla ukrytá mezi snůškou, tedy mravenčími larvami, v případě hladovění tyto mladé členy kolonií požírá a to až do doby svého zakuklení (Hölldobler et Wilson, 1997; Wynhoff, 1998; Fric et al., 2007).

Nakonec se vylíhne v dospělého motýla, který mraveniště opouští, aby se mohl spářit a v případě, že se jedná o samičku, tak aby nakladla další vajíčka na rostlinu krvavec totem (Wynhoff, 1998).

2.8.6 Ovlivňování opylování rostlin hmyzem

Opylování kvetoucích rostlin je hlavním krokem k vytvoření generativních orgánů, tedy semen. K tomu může docházet různými způsoby a jedním z nich je opylování pomocí živočichů, jako jsou například zástupci bezobratlých, mezi které patří včela, čmelák a další. Avšak celý proces probíhající v přírodě může být negativně ovlivněn přítomností některých mravenců, kteří se z různých příčin mohou vyskytovat na květech. Tato teze byla potvrzena při pokusu, kdy bylo odchyceno několik desítek jedinců *M. rubra* a dále několik běžných opylovačů, kterými byli včely (*Apis* sp.) a čmeláci (*Bombus* sp.). Zpočátku byly všechny druhy drženy odděleně v uzavřeném prostředí s rozkvetlými rostlinami netýkavek (*Impatiens* sp.), avšak mravenci po určitou dobu byli necháni stranou, aby hladověli. Na začátku pokusu bylo několik dělnic mravence rozmístěno vždy po jedné na některý z květů, ze kterých mravenci začali ihned pít nektar. Potom k nim postupně byli vpouštěni již zmínění hmyzí opylovači. Konečný výsledek byl často takový, že na ně zástupci druhu *M. rubra*, v případě přiletu některého z opylovačů, ihned zaútočili kousáním nebo bodáním, čímž odehnali jak včely, tak i čmeláky. Tímto způsobem mohou v přírodě, v případě hladovění a nedostatku jiné potravy, snižovat šanci na reprodukci některých rostlin (Cembrowski, 2014).

2.8.7 Odnášení mrtvých těl živočichů

Užitek živočicha *M. rubra* spočívá i v blízkosti pozemních rychlostních komunikací, kde na některých místech tvoří velmi početné kolonie vzdálené přibližně 0,5-2 m od krajnice, kde dochází každodenním provozem ke střetům

hmyzu nebo větších obratlovců s dopravou. Mrtví živočichové poté pro dělnice tohoto druhu mravence představují relativně snadný a velmi početný zdroj potravy a z tohoto důvodu jsou tato větší či menší těla postupně odnášena kousek po kousku k nim do hnízd (Seifert, 2007).

3 Fungicidy

3.1 Charakteristika

Fungicidy jsou hojně používanými chemickými prostředky, které lidem slouží jako ochrana především rostlinného a živočišného materiálu před jejich znehodnocením, které způsobují plísně (Zbirovský et Myška, 1957).

Zpočátku člověk využíval přírodní fungicidy, které byly biologicky snadno odbouratelné a metabolizovatelné v prostředí, neboť v půdě a ve vodě vydržely kratší dobu a projevovaly se především malým toxickým účinkem vůči bezobratlým živočichům a obratlovcům (Lemos et al., 2011).

Od první poloviny dvacátého století začal člověk téměř po celém světě vyrábět syntetické fungicidy, kterých sice dokázal vyrobit ohromné množství, avšak tyto látky samy o sobě začaly být pro okolní prostředí a živočichy, kteří jim byli vystaveni po určitou dobu, mnohem škodlivější (Lemos et al., 2011).

Negativní účinky těchto vyrobených látek spočívají především v ovlivnění organismů cílových, tedy plísní, ale také necílových. Těmi mohou být zástupci užitečného hmyzu, jako například včely. Ty totiž mohou během opylování při přelétávání z květu na květ následkem opakované expozice s těmito látkami hynout (Zbirovský et Myška, 1957). Tento negativní účinek na včely a ostatní živé organismy, které jsou těmito látkami zasaženy, se může projevit snížením jejich populace, pozměněným chováním živočicha, snížením jeho plodnosti, poškozením imunitního systému a ovlivněním jeho fyziologie, jako je například prodloužená doba přeměny larválního stádia v dospělce (Lemos et al., 2011).

Avšak jelikož každá tato člověkem vyrobená a používaná chemická látka neúčinkuje na veškeré zástupce parazitických hub, dochází tak stále ke vzniku nových a účinnějších chemikálií, které se liší svým složením, strukturou, působením a názvem (Zbirovský et Myška, 1957). A je to právě složení a struktura chemických látek, které mají hlavní vliv na jejich působení. Příkladem je například benzenové jádro, které obsahují veškeré mnou při pokusu užívané fungicidy, které je především známé svojí škodlivostí tím, že může způsobit například snížení počtu bílých krvinek v těle živočichů (McMurry, 2007), aplastickou anémii a dokonce rakovinu (www.who.int).

3.2 Albendazol

3.2.1 Chemická charakteristika

Albendazol je látka patřící mezi benzimidazoly, která se za normálních podmínek vyskytuje ve formě bílého prášku. Ten se velice špatně rozpouští

ve vodě, a z tohoto důvodu se musí přijmout s potravou, přičemž dojde k jeho promísení s různými látkami, jak jsou například rostlinné či živočišné tuky (Dědková, 2015).

Při podání této látky dochází metabolickými procesy odehrávajícími se v těle, konkrétně v játrech, k přeměně na jeho účinný hlavní metabolit albendazol sulphoxid, který se dále přeměňuje na albendazol sulphon (Dědková, 2015; Gokbulut et al., 2006; www.drugs.com). Oba tyto jeho metabolity poté kolují v gastrointestinálním traktu, avšak albendazol sulphoxid má jako jediný z těchto dvou látek biologický aktivní účinek proti vnitřním parazitům (Dědková, 2015).

3.2.2 Použití

Jak již bylo v chemické charakteristice naznačeno, tak albendazol je svým užíváním na rozdíl od ostatních mnou v pokusu používaných chemikálií tak trochu jedinečný, neboť se používá hojně v lékařství (Gross, 2003) ve formě anthelmintik, tedy látek působících proti parazitickým organismům typu hlístic, tasemnic a motolic (Ghazaei, 2007; Dědková, 2015; Sanyal et al., 2004; www.fao.org; www.who.int).

Jeho účinky se využívají při onemocněních typů průjmů nebo při různých systémových onemocněních, způsobených parazitickými organismy jako například hmyzomorkami, které kromě hmyzu napadají též i savce včetně člověka (Didier, 1997; Gross, 2003).

Jako jednou z nejčastěji účinných látek obsažených v lécích se užívá u osob nakažených virem HIV při léčbě mikrosporodiózy (Didier, 1997), nebo se dá použít i pro odčervení, tedy zbavení se přítomnosti parazita vši dětské, která lidstvo sužuje dlouhou řadu let (Akisu et al., 2006).

Dále se používá k odčervení zvířat při eliminaci a předcházení vzniku nervové coenurózy, která je způsobena larvou tasemnice. Ty se přenášejí většinou ve formě vajíček v trusu psovitých šelem, které mají ve svých střevech tasemnici vrtohlavou (*Taenia multiceps*). V podobě vajíček zůstávají na trávě, dokud nejsou alimentární cestou přijaty společně s potravou pasoucími se živočichy, nejčastěji ovce, které poté napadají (Ghazaei, 2007).

Používá se ale také k odčervení lidí, jako tomu bylo například v Guatemalle, kde se po dobu necelých 3 měsíců albendazol přijímal s potravou, po čemž se prokázal jako výborný lék ke zbavení se škrkavky dětské (*Ascaris lumbricoides*) (Watkins et al., 1995).

Tohoto účinku u této látky využívá především světová zdravotnická organizace v rozvojových zemích, ve kterých v rámci odčervovací kampaně napadeným lidem vnitřními parazity zdarma dodávají tablety anthelmintik pro jejich vyléčení. Jednou z takových zemí je například Indie, ve které se podával jako lék právě albendazol. Od roku 2013 do roku 2015 tam množství do té doby dodávaných léčiv vzrostl přibližně až na 720 milionů kusů. Avšak jen za rok 2015 se potvrdilo 89 milionů vyléčených lidí, což mělo za následek pokles v nastávajícím roce dodaných léčiv téměř o 80 milionů kusů (www.who.int).

Ačkoli existuje více případů, kdy jeho účinky byly v porovnání s jinými medikamenty mnohem silnější, tak ne vždy však vykazovalo jeho užívání v medicínském oboru stoprocentní účinek, který by zabránil po ukončení příjmu albendazolu znovuobjevení těchto parazitů (Caumes et al., 1993). Byly totiž zaznamenány i případy, kdy se vnitřní parazité typu škrkavek a jiných po dvou týdnech znovuobjevili. Z tohoto důvodu je toto anthelmintikum potřeba přijímat pravidelně, aby se dokázalo jejich přítomnosti zabránit (Caumes et al., 1993).

K podobným výsledkům se dospělo i léčbou dětí v Bangladéši, kde však byl zaznamenán o jednu třetinu menší léčebný účinek při odstraňování tenkohlavce lidského (*Trichuris trichiura*) v porovnání se škrkavkou dětskou (*Ascaris lumbricoides*) (Hall et Nahar, 1993).

Na některých jiných místech v Bangladéši přestal být albendazol proti tenkohlavci účinný (Watkins et al., 1995), za což mohla i skutečnost, že v případě stálého používání jednoho a toho samého anthelmintika hrozí vytvoření rezistence těchto vnitřních parazitů (Dědková, 2015).

3.2.3 Vedlejší účinky

Oba tyto metabolity, tedy již zmíněný albendazol sulphoxid a albendazol sulphon, lze nalézt i v trusu zvířat, která tuto chemikálii přijímala jakožto léčivo. Tento jejich výskyt ve výkalech vedl k provedení pokusu, kdy se zkoumal vliv těchto látek na jiné bezobratlé, kterými byli zástupce dvoukřídlých *Musca vetustissima* a zástupce brouků *Onthophagus taurus*, taktéž známý jako lejnožrout. Tito živočichové se trusem v přírodě obvykle živí a není tak vyloučené, že léčiva proti vnitřním parazitům na ně mohou vykazovat i neblahý vliv. Proto byli někteří tito jedinci odebráni a následně pozorováni, přičemž přijímali kontaminované výkaly. Ve výsledku se albendazol pro ně prokázal jako neškodná látka, která nemá negativní vliv na snižování plodnosti, úhyn larev či předčasný úhyn dospělých jedinců (Wardhaug et al., 2001).

Obrovské riziko tato látka představuje i pro člověka, neboť hrozí, že v případě podávání příliš velkých dávek se stane nebezpečnou a to z důvodu potvrzení teratogenní účinnosti, která je charakteristická vytvářením u plodu některých vrozených vad (Dědková, 2015).

3.2.4 Mechanismus působení

Albendazol na jiné živočichy, obzvláště na různé vnitřní parazity účinkuje smrtelně, neboť jejich tělu brání v hospodaření s glukózou, což má za následek zabránění tělu vytvářet energii ve formě ATP (adenosintrifosfát), které má postupně čím dál méně. Jejím nedostatkem totiž zabraňuje parazitujícím živočichům v pohybu, což se u nich později projeví smrtelným efektem (Dědková, 2015; <http://apvma.gov.au/>).

Jelikož se může stát, že dotyčný živočich přijímá několik léků najednou, hrozí zde riziko synergického účinku, tedy takového, kdy dochází k vzájemnému zesilování účinku léčiv. Proto se tento účinek zkoumal i na tuto látku, avšak žádný takový vliv nebyl dosud zjištěn (Akisu et al., 2006).

3.3 Thiophanate-methyl

3.3.1 Chemická charakteristika

Thiophanate-methyl se jako čistá látka vyskytuje v podobě drobných krystalků bílého zbarvení, které se velice špatně rozpouští ve vodě, avšak dobře v organických rozpouštědlech (Nové fungicidy, 1977; www.fao.org).

Na základě své chemické struktury je stejně tak jako již v úvodu zmíněný benomyl zařazen do benzimidazolové skupiny fungicidů (Sanyal et al., 2004).

Je hlavním metabolitem carbendazimu a jako jeho maximální přijatelná denní dávka, která se může vyskytovat ve zbytkovém množství na ošetřované zemědělské plodině, se uvádí hodnota 0,08 mg/kg tělesné hmotnosti (www.who.int).

Jedná se o chemickou látku pravděpodobně karcinogenní pro člověka, která při pouhém styku s pokožkou může způsobovat kožní onemocnění (Chauhan et Bhattacharya, 2012).

3.3.2 Používání

Jedná se o hojně v zemědělství využívaný systémový fungicid s širokým spektrem účinku obzvláště účinným proti parazitickým houbovým onemocněním mnoha typů plodin (Sanyal et al., 2004).

Byl vyroben v roce 1969 a je dodnes dostupný ve formě prášku, který se přidává do určité kapaliny, ve které se rozpustí. Po aplikaci na rostlinnou část je téměř stoprocentně účinný při léčbě brukvovitých rostlin (*Brassicaceae*), avšak méně například u jabloní a proto je nutné ho aplikovat opakovaně, aby se dostavil požadovaný výsledek. Používá se jako postřik, ale také jako zálivka a mořidlo. Je obzvláště účinný v bojích s mnoha parazitickými houbami, které způsobují úhyn kořenů rostliny (Nové fungicidy, 1977).

Používá se zejména k ochraně uskladněných posklizňových plodin (www.fao.org).

Při porovnání s již zmíněným benomylem ohledně ničení houbových chorob je sice méně efektivní, ale i tak je hojně využíván pro své kurativní vlastnosti (Nové fungicidy, 1977).

Podobně je tomu i při porovnání s carbendazimem, který zpomaluje růst mycelií téměř stoprocentně již v malých koncentracích, zatímco thiophanate-methyl tento účinek vykazuje pouze při vysokých dávkách (Kopacki et Wagner, 2006).

3.3.3 Vedlejší účinky

S tímto fungicidem byl prováděn pokus, při kterém byl s potravou podáván několika jedincům bígla obojího pohlaví. Hlavním cílem tohoto pokusu bylo zjistit, jako moc je nebezpečný při ústním podání, jelikož se může vyskytovat na některých zemědělských produktech, se kterými by mohl člověk přijít do kontaktu. Podáváním různých koncentrací této látky se zjistilo, že u samic tohoto plemene psa s rostoucí podávanou koncentrací, stejně tak jako u samců, dochází k ubývání na tělesné hmotnosti, avšak u samic byl tento pokles znatelnější.

Dále se ukázalo, že různé koncentrace mohou mít vliv na zvětšování či zmenšování hmotnosti některých životně důležitých orgánů jako jsou například játra. Zároveň nebyl prokázán negativní efekt na plodnost a embryonální vývoj štěňat (www.who.int). Naprosto opačný výsledek byl pozorován při pokusech na myších, u nichž se prokázal aneuploidní účinek, tedy takový, který vyvolá početní změnu chromozomů ve všech buňkách těla (www.who.int).

Obecně je však známo, že se jedná o látku vykazující mírnou akutní toxicitu, avšak v případě déletrvajících, případně opakovaných expozičních, se může projevit jako karcinogen a reprodukčně toxická látka (www.fao.org).

3.3.4 Mechanismus působení

Do rostliny se thiophanate-methyl absorbuje spolu s vodou, kdy je přijat kořenovým systémem (Chauhan et Bhattacharya, 2012) a následně transportován dřevními cévními svazky, tedy xylémem vzhůru do nadzemní části rostliny.

Do rostliny se může také dostat po použití postřiků, kdy je absorbován povrchem listů (<http://apvma.gov.au/>).

Těmito dvěma způsoby se může dostat kamkoli do jejího těla, kde se projeví jeho účinek (Chauhan et Bhattacharya, 2012). Například po jeho proniknutí do pletiv začne ihned likvidovat podhoubí parazitických houbových organismů (Nové fungicidy, 1977).

Disponuje léčebnými i ochrannými účinky rostlin (Chauhan et Bhattacharya, 2012; <http://apvma.gov.au/>), jako je například inhibice syntézy β -tubulinu u cizopasných organismů, které rostlinu napadají (www.fao.org), čímž dochází k zpomalení vytváření mikrotubulů při buněčném dělení (Dědková, 2015).

3.4 Carbendazim

3.4.1 Chemická charakteristika

Jedná se o synteticky vytvořenou čistě bíle zbarvenou krystalickou látku, která se špatně rozpouští jak v organických rozpouštědlech, tak ve vodě (Nové fungicidy, 1977).

Jeho používání v zemědělství je jednak rozšířené pro svoje ochranné a léčebné účinky, které se projevují na napadených rostlinách a dále také pro schopnost účinně hubit houbovitě mikroorganismy, tedy plísně. Rovněž také z dalšího důvodu, kterým je skutečnost, že carbendazim není toxický pro včely, které s ním přijdou do kontaktu (Nové fungicidy, 1977; <http://apvma.gov.au/>).

Hlavní metabolit carbendazimu je, jak již bylo výše zmíněno, thiophanate-methyl a on sám je hlavním metabolitem již v úvodu zmíněného benomyly (www.sigmaaldrich.com; Hess et Nakai, 2000). Z tohoto důvodu je i on sám řazen do benzimidazolové skupiny chemických látek, neboť jeho chemická struktura je těm ostatním podobná (Nové fungicidy, 1977).

3.4.2 Používání

Carbendazim se dodnes používá jako systémový prostředek s širokým spektrem účinků. Jedná se o antifungální látku (www.drugs.com), tedy takovou, která slouží k hubení houbových chorob znehodnocujících kvalitu obilovin, košťálovin, bavlny a dalších plodin. Skvěle účinkuje zejména proti padlím a používá se ve formě zálivek, postřiků a mořidel (Nové fungicidy, 1977; <http://apvma.gov.au/>).

Jeho aplikací se roztok do těla rostliny dostane pomocí podzemní části, tedy kořene, nebo nadzemní části, tedy rostlinných pletiv (<http://apvma.gov.au/>).

Při léčení některých onemocnění je nutné ho používat aplikovaně po delší dobu, aby se projevil příznivý účinek (Nové fungicidy, 1997).

3.4.3 Vedlejší účinky

Carbendazim je nebezpečný především pro samce savců, kteří ho přijali společně s potravou, neboť u nich poté lze sledovat poškození Sertoliho buněk ve varlatech, což vede k abnormálnímu vývoji spermií, kdy se spermiím příliš zvětšuje hlavová část, což nakonec vede k neplodnosti (Hess et Nakai, 2000).

U samců krys, kteří ho přijímali ve vyšších dávkách spolu s potravou, bylo zjištěno, že zpomaluje vývoj spermií (www.fao.org), způsobuje cirhózu jater a dokonce poškozuje plod v těle matky. Avšak i přes to jsou tyto negativní účinky této chemikálie závislé především na její podané dávce a proto se v některých případech carbendazim ani nepovažuje za činitele genových mutací či strukturních chromozomových změn (www.fao.org).

V posledních letech je tomu však jinak, neboť projevuje toxický účinek na savce, včetně člověka. Z tohoto důvodu veškeré přípravky, které carbendazim obsahují, musí mít na sobě označení, že se jedná o látku nebezpečnou, která i při malých koncentracích dokáže poškodit lidské orgány, jako jsou játra a brzlík a dále musí obsahovat údaj o jeho genotoxicitě a poškození reprodukční schopnosti. Poté také musí každý jeho prostředek obsahovat informaci, že carbendazim je možným karcinogenem pro člověka (<http://apvma.gov.au/>).

3.4.4 Mechanismus působení

Stejně tak jako již v úvodu zmíněný benomyl a dále thiophanate-methyl, tak i carbendazim zpomaluje syntézu β -tubulinu (Pfeil et Dellarco, 2005; www.fao.org), pro což je stejně tak i on považován za mikrotubulický jed (Hess et Nakai, 2000).

Syntéza β -tubulinu je důležitá pro oddělení chromozomů během buněčného dělení, kdy z jedné mateřské buňky vznikají dvě dceřiné. Tímto způsobem může nastat aneuploidie buňky, kdy v genetické sadě všech buněk přebývá či chybí právě jeden chromozom obsahující genetickou informaci (Pfeil et Dellarco, 2005).

Při své aplikaci na napadených rostlinách negativně působí přímo na původce choroby, kdy způsobuje u mnoha druhů houbových organismů redukci jejich mycelií (Kopacki et Wagner, 2006), avšak necíleně působí také negativně na bezobratlé živočichy, kteří se na onom místě právě vyskytují. Často takto

dochází ke snížení jejich populace až o polovinu jedinců, avšak i přes to byl vyhodnocen jako neškodná, či mírně škodlivá látka (Lemos et al., 2011).

3.5 Epoxiconazol

3.5.1 Chemická charakteristika

Epoxiconazol se podle své chemické struktury řadí mezi tzv. triazolové fungicidy, které jsou hojně využívány v zemědělství (Benton et Cobb, 1995; Bertelsen et al., 2001; Lemos et al., 2011; Monod et al., 2004; Taxvig et al., 2007). Podobně jako u ostatních zmíněných látek je i on ve vodě špatně rozpustný (Roy et al., 2000).

3.5.2 Použití

Při pokusu byl spolu s dalšími fungicidy, které účinkují na jiném principu, zkoušen jako prostředek k vyléčení napadeného ječmene. Aby se zjistil jeho účinek, byl použit na některých napadených rostlinách samotný a na jiných v kombinaci s ostatními látkami. Po jeho aplikaci a po následné sklizni se i přes skutečnost, že částečně snížil nákazu, neprokázal jako dobrý prostředek sloužící k hubení houbových chorob, pokud je používán sám. Avšak je velice účinný, pokud se aplikuje v kombinaci s dalšími fungicidy, jejichž hlavní mechanismy účinku jsou zcela odlišné. Přesto se aplikace samotného epoxiconazolu vyplatila alespoň tím, že dokázal zvýšit množství nadzemní biomasy ječmene a tím i výtěžnost (Cooke et al., 2004).

Avšak v některých jiných případech, kdy jeho léčivý účinek byl podobný, se neosvědčil ani následným nárůstem nadzemní části plodin (Benton et Cobb, 1995; Bertelsen et al., 2001), což dokazuje pokus na hojně rozšířeném zástupci rostlin, kterým byl svízel přítula (*Galium aparine*), kdy byl zkoumán jeho vliv na jeho rostlinná pletiva. Jeden týden po jeho aplikaci se výška rostlin snížila téměř o polovinu původní hodnoty a o týden později se o třetinu zmenšila plocha listů. U listů však došlo k protáhnutí buněk palisádového a houbového parenchymu, což mělo za následek jejich ztloustnutí a zvýšení hmotnosti. Dále byl také zaznamenán nárůst množství chlorofylu (Benton et Cobb, 1995).

Avšak při každoroční opakované aplikaci, jako je tomu například v Číně při ochraně rýže, dochází u parazitických houbových organismů k vytváření rezistence a tak tento triazolový přípravek postupně ztrácí na své účinnosti (Chen et al., 2013; Klix et al., 2007).

3.5.3 Vedlejší účinky

Pro zástupce savců, včetně člověka, kteří s touto chemikálií přijdou do styku, vykazuje mírně zdraví škodlivé účinky (Lemos et al., 2011).

V případě časté expozice s touto látkou hrozí projevení se karcinogenního účinku (www.pesticideinfo.org).

Jeho působením v praxi dochází často k ovlivnění necílových živých organismů, čímž ovlivňuje například prodloužení doby těhotenství a rozvíjení druhotných

samčích pohlavních orgánů u samic. Epoxiconazol působí negativně ve žlázách s vnitřní sekrecí, v nichž dochází k poruše klíčových enzymů podílejících se na vzniku steroidních hormonů. Tímto způsobem je ovlivněna hladina hormonů u těhotných samic a jejich plodů (Taxvig et al., 2007).

Dokonce bylo laboratorními pokusy zjištěno, že v případě vystavení některého ze savců tomuto fungicidu může být ovlivněn i reprodukční vývoj jeho potomstva (Taxvig et al., 2007).

Další z jeho účinků byl zkoumán na pstruhu duhovém (*Oncorhynchus mykiss*), u kterého silně potencuje gonadotropin k indukci dospívání oocytů. Avšak při expozici vyšších dávek toto zrání oocytů podporuje epoxiconazol přímo (Monod et al., 2004).

3.5.4 Mechanismus působení

Epoxiconazol účinkuje přímo na houbovité organismy, u kterých brání v biosyntéze sterolu (Bertelsen et al, 2001; Roy et al., 2000).

Při jeho aplikaci na napadenou rostlinu značně zpomaluje růst mycelia na povrchu listů, ale téměř nezabrání vyklíčení spor (Bertelsen et al., 2001; Klix et al., 2007).

Dále chrání rostlinu před stárnutím, které je jednak způsobeno zvýšenou hladinou škodlivého kyslíku superoxidu a naopak sníženou hladinou enzymu superoxid dismutázy (Wu et Tiedemann, 2001), tak houbovými parazity (Bertelsen et al., 2001).

3.6 Flusilazol

3.6.1 Chemická charakteristika

Flusilazol je syntetický chemický výrobek, který je dle své struktury řazen mezi triazolové fungicidy, které jsou hojně využívány v zemědělství (Colombo et al., 1991; Doignon et Rozes, 1992; Romani et Beffagna, 1991).

Jednou z jeho vlastností je podobně jako u některých ostatních zmíněných triazolů velice špatná rozpustnost ve vodě (Roy et al., 2000).

3.6.2 Použití

Flusilazol je systematický velice účinný fungicid sloužící k tlumení různých chorob na plodinách způsobených houbovými organismy. Využívá se například proti padlím, plísním, ale také například k vyléčení napadených květů subtropických ovocných dřevin (Lonsdale et Kotze, 1993).

Některé druhy roztočů si na něho kvůli jeho každoroční aplikaci na stejných místech vytvořily odolnost, která zvyšuje jejich šance na přežití a zároveň tak snižuje účinek této používané látky (Hagley et Biggs, 1989).

3.6.3 Vedlejší účinky

Dále je o jeho účinku známo, že dokáže zahubit většinu dravých roztočů, avšak populace evropského *Panonychus ulmi* Koch se na několika oblastech po jeho užívání zvýšila (Hagley et Biggs, 1989).

V některých zaznamenaných případech dokonce došlo jeho aplikací k většímu růstu původně napadených rostlin a tím následně i k zvýšenému výnosu za sklizené plodiny (Lonsdale et Kotze, 1993).

Podobně tomu bylo při aplikaci na napadenou řepku ozimou, kde po vyléčení vykazoval kladný vliv z hlediska vytvoření většího množství semen v jejích plodech na rozdíl od neléčené kontrolní skupiny (Matysiak et Kaczmarek, 2013).

Flusilazol má dokonce schopnost pozměňovat obsah sterolů v kvasince *Saccharomyces cerevisiae*. S jeho rostoucí koncentrací dochází u buněk této kvasinky, které mu jsou vystavené, k vytvoření velice silné vazby (Trzaskos et Henry, 1989), čímž jsou s ním v bližším kontaktu a dále tím dochází i k větší tekutosti polopropustné plazmatické membrány. Zvyšuje se tak u nich také množství volných krátkých mastných kyselin, které ve svém řetězci obsahují od šesti do čtrnácti atomů uhlíku (Doignon et Rozes, 1992).

U vodní rostliny morovinky hustolisté (*Elodea densa*) bylo po její expozici s nízkou koncentrací flusilazolu u buněk listů zaznamenán pokles prvků draslíku a chloru, ale také i pokles pH vnitřního prostředí buněk (Romani et Beffagna, 1991). Naopak pokud byla rostlina vystavena vyšší koncentraci, způsobil fungicid zvýšení propustnosti plazmatické membrány u jednotlivých buněk (Colombo et al., 1991; Romani et Beffagna, 1991).

3.6.4 Mechanismus působení

Hlavním jeho mechanickým účinkem, pro který je široce používán je inhibice biosyntézy sterolu u parazitických houbových organismů (Howell et Stipanovic, 1994; Romani et Beffagna, 1991; Smith et al., 1991).

Zpomaluje syntézu ergosterolu tím, že do něho začlení kyselinu octovou (Henry, 1990).

Tento mechanismus z něho dělá vysoce účinnou látku, která s rostoucí koncentrací účinněji zabraňuje růstu mycelií (Kopacki et Wagner, 2006; Smith et al., 1991).

3.7 2-(2-chlorophenyl)benzimidazol

3.7.1 Charakteristika

2-(2-chlorophenyl)benzimidazol, taktéž znám jako chlorfenazol (www.who.int; www.sigmaaldrich.com), se za normálních podmínek vyskytuje v pevném skupenství v podobě prášku, který je nerozpustný ve vodě (www.who.int).

Je charakterizován jako nebezpečná látka, která po vdechnutí a jeho požití působí škodlivě na zdraví organismů. V případě zasažení očí může vážně poškodit zrak (www.who.int).

V případě, že by došlo k potřísnění pokožky touto chemickou látkou, se mohou projevit její leptavé účinky (www.sigmaaldrich.com).

Pokusná část

4 Metodika

4.1 Sběr kolonií

Sběr kolonií a jejich přebírání probíhalo po dobu tří týdnů od 13. 5. 2015 do 3. 6. 2015 celkem na dvou lokalitách.

Na první z lokalit v přírodní památce Na Plachtě v Hradci Králové bylo nalezeno osm kolonií nebo jejich částí. Na druhé bylo nalezeno šest kolonií nebo jejich fragmentů. Kolonie byly následně v igelitových pytlích přemístěny do laboratoře, kde z nich byly vybrány královny.

4.2 Krmení

Každá královna byla umístěna do skleněné petriho misky o průměru 90 mm. Potrava se skládala z malého množství medu a článku larvy potemníka moučného (*Tenebrio molitor*), přičemž každých pět dní byla měněna za novou. Kapka medu byla podávána na ústřížku plastové fólie o rozměrech přibližně 2x2 cm, aby se předešlo znečištění misky. Články larvy potemníka byly podávány tak, aby dlouhodobě nedošlo k nevyrovnanému přísunu živin jednotlivým královnám (protože např. hlavová část larvy obsahuje méně tuku než zbytek těla). Každá petriho miska dále obsahovala vatou utěsněnou eppendorfovou zkumavku se 2 ml roztoku fungicidu nebo kontroly.

4.3 Zbylé přípravy před začátkem pokusu

4.3.1 Čekací doba 1 týden

Ačkoliv již byly nasbírány všechny královny, tak samotný výzkum vlivu fungicidů na jejich plodnost ještě nemohl začít. Prvním důvodem byla obrovská plodnost královen, které po svém uzavření v petriho miskách kladly obrovské množství vajíček, jejichž počet se pohyboval kolem dvaceti až třiceti kusů na jedince. Z tohoto důvodu bylo nutné ještě týden počkat, neboť pokud by na to nebyl brán zřetel a nakladená vajíčka byla ponechána, tak by výsledky jednotlivých skupin fungicidů včetně kontrolní skupiny byly téměř totožné.

Bylo tedy nutné vyčkat a nechat královnu navyknout si cizímu prostředí a teprve poté těsně před nasazením fungicidů jí veškerá vajíčka z misky, které byly dosud naklady, odklidit a misku vyčistit, aby se minimalizovala možnost vzniku plísní.

4.3.2 Obdržení fungicidů

9. 6. 2015 mi bylo od vedoucího práce předáno šest různých roztoků fungicidů rozpuštěných v pětiprocentním roztoku etanolu, jejichž koncentrace byla 1 g/l.

Mezi těmito roztoky chemických látek se vyskytoval carbendazim, albendazol, epoxiconazol, flusilazol, thiophanate-methyl a 2-(2-chlorophenyl)benzimidazol.

Poslední skupina, tedy sedmá, byla kontrolní a tvořil jí samotný pětiprocentní roztok etanolu. Ten byl zde obsažen z toho důvodu, že byl použit jako rozpouštědlo u ostatních skupin.

4.3.3 Rozdělení královen do skupin

Před započítím pokusu bylo původně plánováno královny rozdělit vždy po jedenácti na jednu skupinu. Avšak jelikož sedm královen těsně před zahájením pokusu uhynulo, došlo k rozhodnutí, že jich bude použito pouze deset na jednu skupinu. Při jejich přenosu domů uhynuly další tři, což mělo za následek snížení počtu zkoumaných jedinců u tří skupin na devět královen. Celkem bylo tedy rozděleno 67 královen do sedmi skupin.

K tomuto nerovnoměrnému rozdělení došlo po úvaze, že v případě dalšího sběru královen a čekací doby jednoho týdne, by mohli uhynout další jedinci, což by opět znamenalo další sběr a čekací dobu. Dále také hrozilo, že se etanol ze svého 5% roztoku používaného jednak pro kontrolní skupinu, tak jako rozpouštědlo pro fungicidy, odpaří, což by v případě výparu u jakékoli skupiny způsobilo vznik nestejných podmínek než u ostatních. Ta by se dále mohla projevit na plodnosti královen a tím pádem by mohla ovlivnit samotný pokus.

Po devíti jedincích tedy měly ve skupině látky albendazol, epoxiconazol a thiophanate-methyl.

I přes nestejný počet v jednotlivých skupinách byla vždy snaha do každé z nich dát královny z různých hnízd, aby byly namíchaný a nedošlo k případnému možnému ovlivnění výsledku, který by mohl být způsoben například větší plodností matek z jednoho hnízda. K tomuto mi sloužily označení typu H s uvedenou číslicí, která mi prozradila, že například královna H2 pochází z jiného hnízda než královna H6 atd.

Bohužel i zde počet královen na zkoumaný fungicid nevycházel tak, aby se každá skupina skládala vždy z jedinců z odlišných kolonií, neboť královen bylo v hnízdech různé množství, takže některé z nich byly zastoupeny i dvěma jedinci z jednoho hnízda.

4.4 Počátek pokusu

Po označení všech misek s královnami byly veškeré misky spolu s fungicidy a zásobou pětiprocentního roztoku etanolu převezeny v plastovém boxu ke mně domů, kde pokus o den déle od jejich převzetí, tedy 10. 6. 2016, započal.

4.4.1 Umístění

Zpočátku byly královny umístěny v podkroví s orientací okna na západ, avšak z důvodu vysokých teplot byly po jednom týdnu přesunuty do přízemní místnosti s orientací oken taktéž na západ k lesu.

4.4.2 Průběh

Mravencům byla stejně tak jako v období před začátkem pokusu obměňována potrava jednou za pět dní.

Pokus probíhal zpočátku bez obtíží, avšak v jeho průběhu nastaly komplikace. První z nich byla zvýšená teplota v podkroví, která zřejmě byla jednou z příčin tvorby plísní u kontrolní skupiny. Druhou komplikací byl úhyn několika královen z různých skupin.

Pro pokus důležitým momentem bylo období mezi druhým a třetím krmením, tedy od desátého do patnáctého dne, jelikož uhynuly veškeré královny skupiny s fungicidem flusilazol, které stejně jako ostatní byly vystaveny naprosto stejným podmínkám, až na již zmíněnou chemickou látku obsaženou v eppendorfově zkumavce, kterou po celou dobu přijímaly.

4.4.3 Ukončení pokusu

24. 7. 2015 jsem ukončil pokus a spočítal vajíčka jednotlivých skupin. Následně jsem vypočítal aritmetický průměr vajíček jednotlivých skupin, směrodatnou odchylku a pokus celkově vyhodnotil.

4.4.4 Statistická analýza

Výsledky byly analyzovány Kruskal-Wallis testem v programu Statistica 9. Z testů byla vypuštěna skupina s flusilazolem, protože všechny královny v průběhu pokusu zahynuly.

5 Výsledky

Kontrolní skupina obsahovala na konci pokusu průměrně 3,1 +/- 2,18 vajíčka. Směrodatná odchylka zde vypovídá o velké rozdílnosti počtu vajíček u jednotlivých královen, neboť jejich počet se zde pohyboval v rozmezí 1 až 7. Vliv na to má i tvorba plísní, která se vyskytla pouze u této skupiny a zničila většinu vajíček (viz závěr).

Albendazol obsahoval průměrně 1,55 +/- 1,25 vajíčka na královnu. Výsledky zde dosahovaly ve dvou případech spodní hranice 0 a ve dvou případech horní hranice, kterou tvořil počet 3 vajíček. Za tento výsledek může i skutečnost, že na tuto skupinu bylo vybráno pouze 9 jedinců a nikoli 10 jako v ostatních případech.

Flusilazol neobsahoval žádná vajíčka, neboť veškeré královny následky příjmu fungicidu nepřežily, avšak projevil se svoji toxicitou.

Epoconazol tvořilo stejně tak jako u albendazolu 9 královen. Průměrně každá z nich vytvořila 1,55 +/- 1,42 vajíček na královnu. Některé z nich však neměly v petriho misce vajíčka žádná, avšak i zde se našli jedinci, kteří jich na konci pokusu měli 2-4 kusy.

Thiophanate-methyl skupina měla 2,33 +/- 2,12 vajíčka na královnu. Jejich počet u jednotlivců se pohybuje v rozmezí 0 až 7 kusů. Ze získaného výsledku je patrné, že některé královny tomuto fungicidu odolávají více než ostatní.

Carbendazim skupina snížila plodnost nejvíce (nepočítám-li toxický vliv flusilazolu) a to na 0,9 +/- 0,95 vajíček na královnu. U devíti z nich se výsledek pohybuje v rozmezí 0-1, avšak jediná z nich byla více rezistentní, neboť měla 7 vajíček.

2-(2-chlorophenyl)benzimidazol obsahoval 1,5 +/- 2,04 vajíček na královnu. Pět královen nevytvořilo žádná, ale u dvou se opět projevila větší rezistence proti negativnímu vlivu fungicidu.

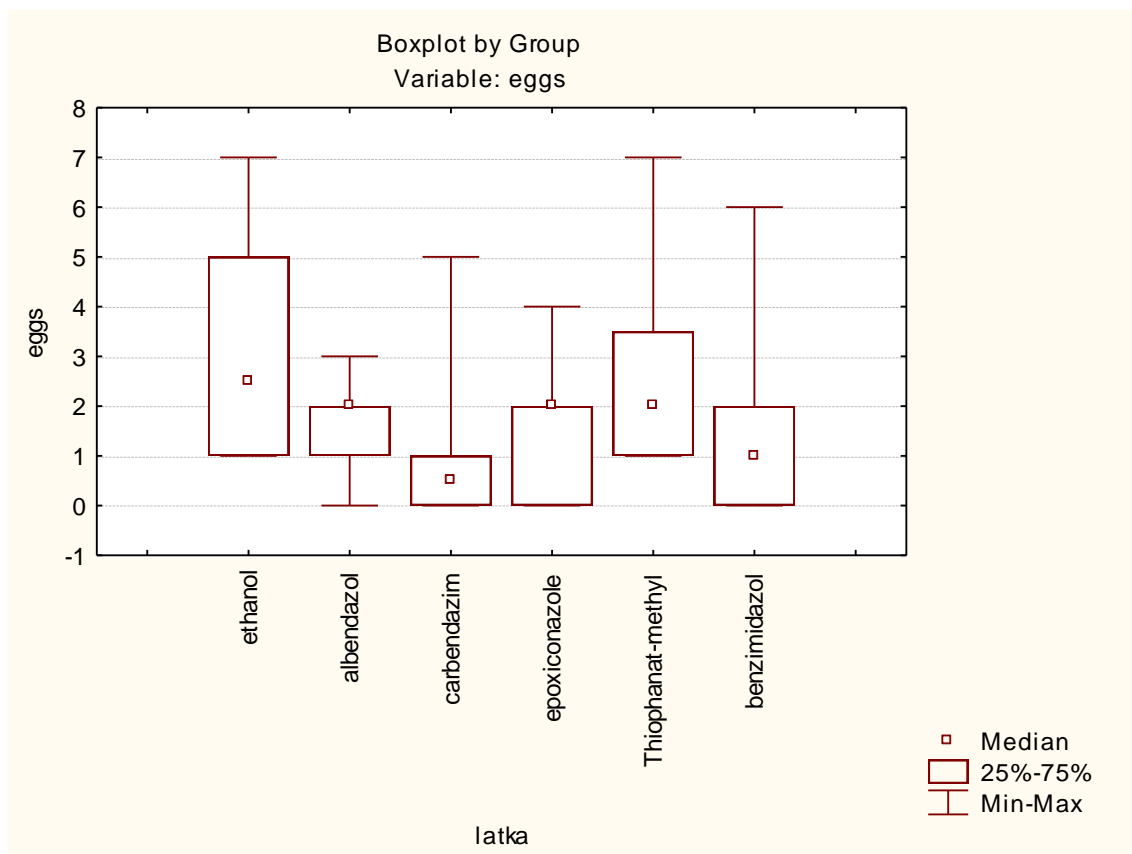
Přehledný počet jednotlivých skupin a vajíček u každé z královen (Tab. 1).

Statistická analýza nenašla žádné průkazné rozdíly v počtu nakladených vajíček mezi testovanými skupinami. (H=10.59; p=0.06) (Tab. 2). Na hranici průkaznosti je pouze vliv carbendazimu (Tab. 2).

		Skupina testovaných roztoků						
		K	A	F	E	T	C	2B
Počet nakladených vajíček	K1	2	0	+	0	3	0	0
	K2	1	2	+	3	2	1	0
	K3	2	2	+	2	4	0	2
	K4	3	1	+	2	1	0	6
	K5	6	1	+	0	0	1	0
	K6	1	3	+	0	7	5	2
	K7	7	3	+	4	2	1	1
	K8	1	2	+	2	1	1	0
	K9	3	0	+	1	1	0	4
	K10	5		+			0	0
Aritmetický průměr		3,1	1,55	0	1,55	2,33	0,9	1,5
Směrodatná odchylka		2,18	1,25		1,42	2,12	0,95	2,04

Tab. 1 – Výsledná množství nakladených vajíček královnami různých pozorovaných skupin

Vysvětlivky: K – kontrolní skupina
 A – albendazol
 F – flusilazol
 E – epoxiconazol
 T – thiophanate-methyl
 C – carbendazim
 2B – 2-(2-chlorophenyl)benzimidazol



Obr. 1 Průměrné počty a variabilita nakladených vajčků královnami v různých pokusných skupinách

	ethanol	albenda zol	carbenda zim	epoxiconazo le	benzimid azol	Thiophan at-methyl
Ethanol		1	0,066141	1	1	1
Albendazol	1		1	1	1	1
Carbendazim	0,066141	1		1	1	0,315183
Epoxiconazole	1	1	1		1	1
Benzimidazol	1	1	1	1		1
Thiophanat-methyl	1	1	0,315183	1	1	

Tab. 2 - Hodnoty p z výsledků Kruskal-Wallisova testu rozdílů v kladení vajčků mezi pokusnými skupinami.

Diskuze

Výsledky práce byly negativně ovlivněny tvorbou plísní u kontrolní skupiny, která jako jediná neobsahovala žádný fungicid. Tato skupina 5% roztoku etanolu měla i přesto největší počet nakladených vajíček, avšak domnívám se, že nebýt vzniku plísní, která jich většinu zničila, tak by prokazatelné výsledky ovlivnění plodnosti byly prokazatelné i u pozorovaných skupin albendazolu, epxiconazolu a 2-(2-chlorophenyl)benzimidazolu. Větší rozdíl v plodnosti by vykazoval taktéž i thiophanate-methyl, u kterého je počet vajíček téměř shodný s ovlivněnou kontrolní skupinou. Velký úbytek lze pozorovat u carbendazimu, u něhož průměrně na jednu královnu nepřipadá ani celé jedno vajíčko. Nejtoxickéjším fungicidem je však flusilazol, který v dané koncentraci byl tak toxický, že během dvou týdnů usmrtil veškerých deset královen své skupiny.

Dalším faktorem, který mohl u všech skupin ovlivnit plodnost, bylo použití 5% roztoku etanolu jakožto rozpouštědla jednak pro skupiny fungicidů, tak pro samotnou kontrolní skupinu. O etanolu je všeobecně známo, že účinkuje negativně na plodnost, avšak byl použit jako rozpouštědlo již v předchozím pokusu s benomyem, který prováděl P. Heneberg a P. Pech (viz úvod), kteří ho taktéž použili jako látku, která měla usnadnit rozpuštění fungicidu. Bohužel se ukázalo, že byl použit zbytečně, neboť fungicid nerozpustil.

Za vznik plísně může nejspíše dlouhá pětidenní obměna potravin, hlavně moučného červa, který byl v kontaktu s podložím petriho misky a občas na ni část jeho útrobu vytekla. Další vliv na to mohl mít trus mravenců, který taktéž vytvářel pro houbové mikroorganismy úrodný substrát k uchycení a vytvoření kolonie. Avšak hlavním důvodem jejich vzniku je výskyt jejich spor na prachových částicích v prostředí provádění krmení a na povrchu používaných předmětů, které byly pro pokus nezbytné a přišly s těmito pro plísně živnými substráty do styku. Další příčinou mohly být vysoké teploty v podkroví, kde pokus částečně probíhal.

Nabízí se několik variant, jak výsledky pokusu zlepšit pro další podobná zkoumání. Za prvé, je třeba mravencům obměňovat potravu častěji a to například jednou za 3 dny. Za druhé, jelikož obsah segmentu moučného červa občas vytekl na podloží petriho misky, bylo by dobré ho taktéž pokládat na kousek folie, která se při novém krmení dá snadno vyndat a očistit. Dalším faktorem, který vytvořil vhodné prostředí pro tvorbu plísní, byl trus mravenců, se kterým se musí v tomto případě počítat. Případné jeho odstraňování není doporučeno ze stejných důvodů jako zbylé části po červovi. Dalo by se ho však zbavit v případě vyměňování použitých petriho misek za čisté vysterilizované, do kterých by královna po každém krmení byla umístěna. Takto by šance na vznik plísní byla téměř nulová, avšak obrovskou nevýhodou by v tomto případě byl přesun nakladených vajíček, u kterých by hrozilo velké riziko jejich zničení. Tím by došlo k zabránění vylihnutí larvy, jejíž přítomnost v misce dává signál pro ukončení pokusu.

V poslední řadě plísním pomohla i vysoká vzdušná vlhkost, která byla způsobena vlivem vysokých teplot a následným výparem tekutin z eppendorfových zkumavek. Tomu však v letních dnech je těžké zabránit, neboť venkovní teploty v červnu a červenci dosahovaly hodnot přibližně kolem 32°C.

Další variantou, která by výsledky zlepšila je použít více královen na každou skupinu, neboť příliš nízký počet opakování je další pravděpodobnou příčinou nenalezení průkazných rozdílů. Královny ve většině skupin s fungicidy kladly méně vajíček než v kontrolní skupině, ale rozdíly nebyly dostatečně velké pro statisticky průkazný výsledek. Z tohoto důvodu je pravděpodobné, že při použití většího počtu královen ve skupině by výsledky statisticky průkazné byly.

Jelikož se negativní vliv těchto látek na zástupce *M. rubra* prokázal pouze u flusilazolu, neboť ostatní skupiny nemají staticky prokazatelný výsledek, tak lze těžko vyhodnotit, v případě jejich používání v praxi, jejich negativní dopad na další bezobratlé živočichy, kteří se často vyskytují v místech aplikace těchto chemických látek. Avšak u carbendazimu, jehož hodnota byla na hranici prokazatelnosti, lze odhadovat negativní vliv.

Například není znám účinek u většiny těchto látek na včely, které jako zástupkyně hmyzích opylovačů mají obrovský význam jak pro člověka, tak pro tvorbu většiny rostlinných plodů, které následně pomáhají rostlinám v množení. V případě jejich expozice s fungicidy a jejich neblahého účinku, kterým může být později klidně i smrt, by mělo náhlé snížení populace neblahý vliv na zastoupení rostlin v okolí.

Naopak, i kdyby docházelo jejich vlivem ke snížení populace jen u mravenců zakládajících kolonie nezávislým semiklaustálním způsobem, tak by stejně došlo k výraznému ovlivnění abiotických a biotických faktorů daného prostředí, kde došlo k aplikaci.

Jak již bylo zmíněno v teoretické části bakalářské práce, hrají mravenci důležitou úlohu v přírodě pouhou stavbou svých hnízd, při kterých zlepšují půdní vlastnosti. Jen prostým zvětšováním svých příbytků a vynášením materiálu ze spodních vrstev, provzdušňují půdu. Ta sice nezadrží tolik vody, avšak má lepší podmínky pro rozkladné procesy. Dále nutno dodat, že pouhým každodenním přinášením rostlinné či živočišné potravy z okolního prostředí mění pH místa své kolonie směrem k neutrální hodnotě, což je důležité zejména pro růst některých rostlin, kterým nevyhovují například kyselé hodnoty. V neposlední řadě snížení populace může způsobit i zánik jiných druhů ať rostlin nebo živočichů, kteří onen druh mravence potřebují pro své rozmnožování a vývoj.

Obrovské riziko tato hrozba představuje pro motýla rodu *Phengaris*, který potřebuje pro zachování svého druhu jednak určitý druh rostliny, tak vhodného mravence jako například mravence žahavého *Myrmica rubra*, u něhož jeho larvy mají velikou pravděpodobnost, že nebudou sežrány a dají tak vznik novým pohlavně aktivním jedincům. V případě vymizení tohoto mravence z dané lokality se může stát, že housenku odnese k sobě do hnízda jiný druh tohoto bezobratlého živočicha, který ji sežere a motýl na oné lokalitě může časem i vymizet. V druhém

případě, že v okolí působením fungicidů nebudou mravenci, může nastat situace, kdy housenka zemře, neboť ji nebude nikdo krmit.

Na závěr nutno zmínit myrmekochorii, při které jsou roznášena semena rostlin, čímž mravenci napomáhají ke zvětšování areálu jejich výskytu. I zde by se bez mravenců negativně projevila daná lokalita na rostlinném zastoupení, neboť ne každý druh preferuje danou rostlinu.

Závěr

Fungicid flusilazol by se neměl v zemědělství používat, neboť jeho vysoká toxicita byla prokázána. V případě jeho použití dojde u mladých královen zakládajících nové kolonie nezávislým semiklaustálním způsobem, k jejich úmrtí. Tímto způsobem mohou být negativně ovlivněny půdní vlastnosti daných stanovišť jejich výskytu, nebo i další živé organismy, které mravence potřebují a to ať ke svému rozšíření (viz myrmekochorie) nebo přežití (viz *Phengaris*).

U ostatních testovaných látek lze těžko objasnit jejich negativní dopad na plodnost, neboť jak již bylo zmíněno v diskuzi, kontrolní skupina byla ovlivněna výskytem plísní, což zabránilo statistickému prokázání negativního účinku fungicidů. Avšak statistické zpracování výsledku skupiny carbendazim naznačují, že je velice pravděpodobný, avšak kvůli plísním u kontrolní skupiny neprokázaný negativní dopad na plodnost královen mravence.

Další podobné pokusy se zkoumáním vlivu těchto v zemědělství používaných látek na plodnost různých členovců jsou velmi žádoucí, neboť fungicidů existuje obrovské množství, avšak jejich účinek na bezobratlé živočichy je u mnohých druhů neznámý.

Seznam použitých zdrojů

Literatura

AKISU, C., DELIBAS, B. S. et AKSOY, U. Albendazole: Single or Combination Therapy with Permethrin against *Pediculus Capitis*. *Pediatric Dermatology*. 2006, 23(2), 179-182. ISSN: 0736-8046.

BENTON, M. J. et COBB, H. A. The plant growth regulator activity of the fungicide, epoxiconazole, on *Galium aparine* L. (cleavers). *Plant Growth Regulation*. 1995, 17(2), 149-155. ISSN: 0167-6903.

BERTELSEN, R. J., NEERGAARD, E. et SMEDEGAARD-PETERSEN, V. Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. 2001, 50(2), 190-205. ISSN: 1365-3059.

BOLOGNA, A. ET CLAIRE, D. Steep Decline and Cessation in Seed Dispersal by *Myrmica rubra* Ants. *PLOS ONE*. 2015, 10(9), ISSN: 1932-6203.

CAMMAERTS, M.-C. Navigation system of the ant *Myrmica rubra* (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*. 2012, 16(1), 111-121. ISSN: 1994-4136.

CAUMES, E., DANIS, M., DATRY, A., GAXOTTE, P. et GENTILINI, M. A randomized trial of ivermectin versus albendazole for the treatment of cutaneous larva migrant. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene (TROY SOC TROP MED H)*. 1993, 49(5), 641-644. ISSN: 0035-9203.

CEMBROWSKI, R. A., TAN, G. M., THOMSON, J. D. et FREDERICKSON, M. E. Ants and Ant Scent Reduce Bumblebee Pollination of Artificial Flowers. *The American Naturalist*. 2014, 183(1), 133-139. ISSN: 1537-5323.

CHAUHAN, J. et BHATTACHARYA, G. X-ray crystallographic and I-R studies of systemic fungicide thiophanate methyl. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2012, 3(3), 900-909. ISSN: 0975-6299.

CHEN, Yu, YAO, Jian, WANG., Wen-Xiang, GAO, Tong-Chun., YANG, Xue. et ZHANG, Ai-Fang. Effect of epoxiconazole on rice blast and rice grain yield in China. *European Journal of Plant Pathology*. 2013, 135(4), 675-682. ISSN: 0929-1873.

COOKE, L. R., LOCKE, T., LOCKLEY, K. D., PHILLIPS, A. N., SADIQ, M. D. S., COLL, R., BLACK, L., TAGGART, P. J. et MERCER, P. C. The effect of fungicide programmes based on epoxiconazole on the control and DMI sensitivity of *Rhynchosporium secalis* in winter barley. *Crop protection*. 2004, 23(5), 393-406. ISSN: 0261-2194.

COLOMBO, R., CERANA, R. ET LADA, P. Effect of penconazole and flusilazole on the tonoplast of *Acer pseudoplatanus* cells. *Plant Science*. 1991, 76(2), 167-174. ISSN: 0168-9452.

CURRY, J. P. Grassland Invertebrates: Ecology influence on soil fertility and effects on plant growth. Vyd. 1. Springer, 1993. ISBN 978-0412165207.

CZECHOWSKI, W. RADCHENKO, A. ET CZECHOWSKA, W. The Ants (Hymenoptera, Formicidae) of Poland. 1. Vyd. Warszawa: Museum & Institute of Zoology, 2002. ISBN: 8385192980.

DACHEVSKII, B. A., KARAS, A. Ya et UDALOVA, G. P. Behavioral plasticity of *Myrmica rubra* ants during learning in a multi-alternative symmetrical labyrinth. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 1990, 20(1), 18-26. ISSN: 0097-0549.

DĚDKOVÁ, Tereza. *Navození rezistence hlístic na albendazol*. Hradec Králové, 2015.

Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze. Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. Katedra biochemických věd.

DIDIER, S. E., Effects of albendazole, fumagillin, and TNP-470 on microsporidial replication in vitro. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1997, 41(7), 1541-1546. ISSN: 1098-6596.

DIERKS, A. et FISCHER, K. Habitat requirements and niche selection of *Maculinea nausithous* and *M. teleius* (Lepidoptera: Lycaenidae) within a large sympatric metapopulation. *Biodiversity and Conservation*. 2009, 18 (13), 3663-3676. ISSN: 0960-3115.

DOIGNON, F. et ROZES, N. Effect of triazole fungicides on lipid metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. *Letters in Applied Microbiology*. 1992, 15(4), 172-174. ISSN: 1472-765X.

DVOŘÁČKOVÁ, Markéta. *Mravenci (Hymenoptera, Formicidae) Hradce Králové*. Hradec Králové, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Hradec Králové. Přírodovědecká fakulta.

FIEDLER, Konrad. New information on the biology of *Maculinea nausithous* and *M. teleius* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Nota Lepidopterologica*. 1990, 12(4), 246-256. ISSN: 0343-7536.

FISCHER, R. C., ÖLZANT, M. S, WANEK, W. et MAYER, V. The fate of *Corydalis cava* elaiosomes within an ant colony of *Myrmica rubra*: elaiosomes are preferentially fed to larvae. *Insectes sociaux*. 2005, 52(1), 55-62. ISSN: 0020-1812.

FOKUHL, G., HEINZE, J et POSCHLOD, P. Colony growth in *Myrmica rubra* with supplementation of myrmecochorous seeds. *The Ecological Society of Japan*. 2007, 22(5), 845-847. ISSN: 0912-3814.

Forgarait, P. J. Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review. *Biodiversity and Conservation*. 1998, 7, 1221-1244, ISSN: 0960-3115.

FRIC, Z., PECH, P. et KONVIČKA, M. Species-Specificity of the *Phengaris (Maculinea)* – *Myrmica* Host System: Fact or myth? (Lepidoptera: Lycaenidae; Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*. 2007, 50(3), 1-21. ISSN: 0361-6525.

FROUZ, Jan. Úloha mravenců v půdních procesech. *Formica*. 2002, 5(1), 25-33. ISSN: 1805-1200.

GARNAS, J, GRODEN. E. ET DRUMMOND, F. A. Mechanism of Competitive

Displacement of Native Ant Fauna by Invading *Myrmica rubra* (Hymenoptera: Formicidae) Populations. *Environmental Entomology*. 2014, 43**(6)**, 1496-1506. ISSN: 0046-225X.

GHAZAEI, C. Evaluation therapeutic effects of antihelminthic agents albendazole, fenbendazole and praziquantel against coenurosis in sheep. *Small Ruminant Research*. 2007, 71**(1-3)**, 48-51. ISSN: 0921-4488.

GOKBULUT, C., CIRAK, V. Y. et SENLIK, B. Plasma Disposition and Faecal Excretion of Netobunin Metabolites and Enantiospecific Disposition of Albendazole Sulphoxide Produced in Ewes. *Veterinary Research Communications*. 2006, 30**(7)**, 791-805. ISSN: 1573-7446.

GORB, Elena et GORB, Stanislav. Seed dispersal by Ants in a Deciduous Forest Ecosystem: Mechanisms, Strategies, Adaptations. Boston: Kluwer Academic Publishers, c2003. ISBN 1402013795.

GRODEN, E., DRUMMOND A., F., GARNAS, J. et FRANCEOUR, A. Distribution of an Invasive Ant, *Myrmica rubra* (Hymenoptera: Formicidae), in Maine. *Journal of Economic Entomology*. 2005, 98**(6)**, 1774-1784. ISSN: 0022-0493.

GROSS, U. Treatment of microsporidiosis including albendazole. *Parasitology research*. 2003, 90**(1)**, 14-18. ISSN: 0932-0113.

HAGLEY, C. A. E. et BIGGS, R. A. Effects of three fungicides on populations of a phytophagous and several predacious mites (*Acarina*) on apple. *Experimental & Applied acarology*. 1989, 6**(3)**, 253-256. ISSN: 0168-8162.

HALL, A. et NAHAR, Q. Albendazole and infections with *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* in children in Bangladesh. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (T ROY SOC TROP MED H)*. 1993, 88**(1)**, 110-112. ISSN: 0035-9203.

HENRY, J. M. Mode of action of the fungicide flusilazole in *Ustilago maydis*. *Pest Management Science*. 1990, 28**(1)**, 35-42. ISSN: 1526-4998.

HESS, R. A. et NAKAI, M. Histopathology of the male reproductive system induced by the fungicide benomyl. *Histology and histopathology*, 2000, 15**(1)**, 207-224: ISSN: 1699-5848.

HÖLLDOBLER, Bert a WILSON, O. Edward. Cesta k mravencům. Vyd. 1. Praha: Academia, 1997, 198 s., il. příl. ISBN 80-200-0612-5.

HOWELL, R. C. et STIPANOVIC, D. R. Effect of Sterol Biosynthesis Inhibitors on Phytotoxin (Viridiol) Production by *Gliocladium virens* in Culture. *Phytopathology*. 1994, 84(9), 969-972. ISSN: 0031-949X.

JACKSON, B. D., WRIGHT, P. J. et MORGAN, E. D. 3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine, a component of the trail pheromone of the ant *Messor bouvieri*. *Experimentia*. 1989, 45(5), 487-489. ISSN: 0014-4754.

KELLER, Laurent et PASSERA, Luc. Size and fat content of gynes in relation to the mode of colony founding in ants (Hymenoptera; Formicidae). *Oecologia*. 1989, 80(2), 236-240. ISSN: 0029-8549.

KLIX, B. M., VERREET, J. A. et BEYER, M. Comparison of the declining triazol sensitivity of *Gibberella zeae* and increased sensitivity achieved by advances in triazole fungicide development. *Crop protection*. 2007, 26(4), 683-690. ISSN: 0261-2194.

KONEČNÁ, Marie. Mravenci jako roznašeči semen v luční vegetaci. České Budějovice, 2012. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Přírodovědecká fakulta.

KONEČNÁ, Marie. Myrmekochorie – evoluční a ekologické souvislosti. České Budějovice, 2015. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Přírodovědecká fakulta.

KOPACKI, M. et WAGNER, A. Effect of some fungicides on mycelium growth of *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. Pathogenic to chrysanthemum (*Dendrathera grandiflora* Tzvelev). *Agronomy Research*. 2006, 4(Special issue), 237-240. ISSN: 1406-894X.

LEMOS, F., SARMENTO, A. R., TEODORO, V. A., SANOS, R. G. et NASCIMENTO, R. I. Agroecological Strategies for Arthropods Pest Management in Brasil. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*. 2011, 3(1), 142-154. ISSN: 2212-7984.

LONSDALE, J. H. et KOTZE, J. M. Chemical control of mango blossom diseases and the effect on fruit set and yield. *Plant disease*. 1993, 77(6), 558-562. ISSN: 0191-2917.

MATYSIAK, K. et KACZMAREK, S. Effect of Chlorocholine Chloride and Triazoles-Tebuconazole and Flusilazole on Winter Oilseed Rape (*Brassica Napus* Var. *Oleifera*

L.) in Response to the Application Term and Sowing Density. *Journal on Plant Protection Research*. 2013, 53(1), 49-88. ISSN: 1427-4345.

MCMURRY, John. Organická chemie. Vyd. 1. V Brně: VUTIUM, 2007. ISBN 978-80-214-3291-8.

MONOD, G., RIME, H., BOBE, J. et JALABERT, B. Agonistic effect of imidazole and triazole fungicides on in vitro oocyte maturation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2004, 58(2-5), 143-146. ISSN: 0141-1136.

NAUMANN, K et HIGGINS, R., J. The European fire ant (*Hymenoptera: Formicidae*) as an invasive species: impact on local ant species and other epigeic arthropods. *The Canadian Entomologist*. 2015, 147(5), 592-601. ISSN: 0008-347X.

NEŠPOR, Jiří. Myrmekochorie – doklad vlivu mravenců na biodiverzitu a ekologickou stabilitu. *Formica*. 2003, 6(1), 12-13. ISSN: 1805-1219.

Nové fungicidy: studijní zpráva. Praha: Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, 1977.

OBENBERGER, Jan. Ze života mravenců. Praha: Universum, 1948, 221s.

PEARSON, B. Relatedness of Normal Queens (Macrogynes) in Nests of the Polygynous Ant *Myrmica rubra* Latreille. *Evolution*. 1982, 36(1), 107-112. ISSN: 0014-3820.

PECH, Pavel. Jak reagují společenstva mravenců na změny prostředí. *Živa*. 2014, 124(2), 79-82. ISSN: 0044-4812.

PECH, P. et HENEBERG, P. Benomyl treatment decreases fecundity of ant queens. *Journal of Invertebrate Pathology*. 2015, 130(1), 61-63. ISSN: 0022-2011.

PEETERS, Ch. Convergent evolution of wingless reproductives across all subfamilies of ants, and sporadic loss of winged queens (*Hymenoptera, Formicidae*). *Myrmecological News*. 20112,

ROMAIN, G. et BEFFAGNA, N. Effect of some triazole fungicides on intracellular pH and on cell membrane permeability in leaves of *Elodea densa* (Planch.) Casp. *New Phytologist*. 1991, 117(3), 431-437. ISSN: 1469-8137.

ROY, C., GAILLARDON, P. et MONTFORT, F. The effect of soil moisture content on the sorption of five sterol biosynthesis inhibiting fungicides as a function of their

physicochemical properties. *Pest Management Science*. 2000, 56(9), 795-803. ISSN: 1526-4998.

SADIL, Josef. Naši mravenci. 1. vyd. Praha: Orbis, 1955, 224, [3] s., [20] s. obr. příl.

SANYAL, P. K., CHAUHAN, J. B. et MUKHOPADHYAYA P. N. Implication Implications of Fungicidal Effects of Benzimidazole Compounds on *Duddingtonia flagrans* in Integrated Nematode Parasite Management in Livestock. *Veterinary Research Communications*. 2004, 28(5), 375-385. ISSN: 1573-7446.

SEIFERT, Bernhard. Die Ameisen Mittel- und Nordeuropas. Görlitz/Tauer: Lutra-Verl.-und-Vertriebsges, 2007. ISBN 3936412030.

SEPPÄ, P. et WALIN, L. Sociogenetic organization of the red ant *Myrmica rubra*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 1996, 38(3), 207-217, ISSN: 0340-5443.

SMITH, D. F., PARKER, M. D. et KÖLLER, W. Sensitivity Distribution of *Venturia maequalis* to the Sterol Demethylation Inhibitor Flusilazole: Baseline Sensitivity and Implications for Resistance Monitoring. *Phytopathology*. 1991, 81(4), 392-396. ISSN: 0031-949X.

SOLAZZO, G., MORITZ, R. F. A. et SETTELE, J. Choice behaviour of *Myrmica rubra* workers between and larvae of their *Phengaris (Maculinea) nausithous* nest parasites. *Insectes Sociaux*. 2013, 60 (1), 57-64. ISSN: 0020-1812.

SOLAZZO, G., SEIDELMANN, K. et ROBIN, M., et al. Tetracosane on the chicle of the parasitic butterfly *Phengaris (Maculinea) nausithous* triggers the first contact in the adoption process by *Myrmica rubra* foragers. *Physiological entomology*. 2015, 40(1), 10-17. ISSN: 1365-3032.

STILLE, Marie. Queen/worker thorax volume ratios and nest-founding strategies in ants. *Oecologia*. 1996, 105(1), 87-93. ISSN: 0029-8549.

TARTALLY, András et VARGA, Zoltán. *Myrmica rubra* (hymenoptera: Formicidae): the first data on host-ant specificity of *Maculinea nausithous (Lepidoptera: Lycaenidae)* in Hungary. *Myrmecological News*. 2005, 21(7), 55-59. ISSN: 1994-4136.

TAXVIG, C., HASS, U., AXELSTAD, M., DALGAARD, M., BOBERG, J., ANDEASEN, R. H. et VINGHAARD, M. A. Endocrine – Disrupting Activities In Vivo of the Fungicides Tebuconazole and Epoxiconazole. *Toxicological Sciences*. 2007, 100(2), 464-473. ISSN: 1096-0929.

TRZASKOS, M. J. et HENRY, J. M. Comparative effects of the azole-based fungicide flusilazole on yeast and mammalian lanosterol 14 alpha-methyl demethylase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1989, 33(8), 1228-1231. ISSN: 0066-4804.

VÉLE, A, HOLUŠA, J. et HLÁSNY, T. Food Gathering Efficiency of the Common Red Ant (*Myrmica rubra*): Impact for Butterflies of the Genus *Phengaris*. *Sociobiology*. 2011, 57(2), 397-410. ISSN: 2447-8067.

VRBA, Pavel. Opuštěné vojenské prostory jako významná refugia motýlí fauny. *Živa*. 2012, 124(5), 251-254. ISSN: 0044-4812.

WARDHAUGH, G. K., HOLTER, P. et LONGSTAFF, B. The development and survival of free species of coprophagous insect after feeding on the reces of sheep treated with controlled-release formulations of ivermectin or albendazole. *Australian Veterinary Journal*. 2001, 79(2), 125-132. ISSN: 1751-0813.

WATKINS, E. W., CRUZ, R. J. et POLLITT, E. The effects of deworming on indicators of school performance in Guatemala. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (TROY SOC TROP MED H)*. 1995, 90(2), 156-161. ISSN: 0035-9203.

WU, Yue-Xuan et TIEDEMANN, A. Physiological Effects of Azoxystrobin and Epoxiconazole on Senescence and the Oxidative Statut of Wheat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2001, 71(1), 1-10. ISSN: 0048-3575.

WYNHOFF, Irma. Lessons from the reintroduction of *Maculinea telesius* and *M. nausithous* in the Netherlans. *Journal of Insect Conservation*. 1998, 2 (1), 47-57. ISSN: 1572-9753.

ZBIROVSKÝ, Miroslav et MYŠKA, Jaromír. Insekticidy - fungicidy - rodenticidy. 1. vyd. Praha: ČSAV, 1957.

Internetové zdroje:

AntCat. *An online Catalog of the Ant sof the World* [online]. [2016-05-01]. Dostupné z: <http://www.antcat.org/>.

Australian Government. *Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority* [online]. © Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority 2014 [2016-04-29]. Dostupné z: <http://apvma.gov.au/>.

Drugs.com. *Drugs.com* [online]. © 2000 – 2016 Drugs. Com [2016-03-13]. Dostupné z <http://www.drugs.com/>.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Food and Agriculture Organization of the United Nations* [online]. © FAO, 2016 [2016-03-04]. Dostupné z: <http://www.fao.org/home/en/>.

Sigma-Aldrich. *Sigma-Aldrich* [online]. © 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. [2016-03-20]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/>.

The Pesticide Action Network Pesticide Database. *The Pesticide Action Network Pesticide Database* [online]. © 2000-2014 Pesticide Action Network, North America [2016-03-04]. Dostupné z: <http://www.pesticideinfo.org/>.

World Health Organization. *World Health Organization* [online]. © WHO 2016 [2016-03-04]. Dostupné z: <http://www.who.int/en/>.