

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**

**FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ**

**KATEDRA EKOLOGIE**



**Vliv velikosti těla na úspěšnost přezimování slunéček  
(Coleoptera: Coccinellidae)**

Effects of body size on winter survival in ladybirds  
(Coleoptera: Coccinellidae)

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Bakalant: Patka Jiří

Vedoucí práce: Ing. Michal Knapp, Ph. D.

2020

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně, pod vedením Ing. Michala Knappa, Ph.D., a že jsem zde uvedl všechny literární prameny a zveřejněné publikace, ze kterých jsem čerpal. Další informace mi byly poskytnuty Ing. Michalem Řeřichou. Dále prohlašuji, že se tištěná verze shoduje s verzí odevzdanou v Univerzitním informačním systému.

V Praze dne 30.06.2020

.....

## **Poděkování**

Rád bych poděkoval celé své rodině a mým kamarádům za podporu, za zlepšování nálady a přečkání těžkých chvil po celou dobu mého studia na ČZU. Dále bych rád poděkoval Ing. Michalovi Řeřichovi za pomoc při sbíráních dat a za pevné nervy ve chvílích, které strávil nad opravou mé bakalářské práce. Poslední poděkování patří vedoucímu práce Ing. Michalovi Knappovi, Ph.D. za velkou ochotu a pozitivní přístup poskytovat mi celé spektrum rad a různých přínosů do bakalářské práce.

V Praze 30.6.2020

.....

## Abstrakt

Hmyz musí během života překonávat nepříznivé podmínky a jedna z nich je změna ročních období. Hmyz se řadí mezi ektotermní živočichy. Nedokáže si udržet stálou tělesnou teplotu. Právě změna ročního období a tím spojená změna teploty a fotoperiody, ovlivňuje činnost hmyzu. Hmyz se přesto adaptoval a úspěšně přezimuje i za nízkých zimních teplot.

Strukturní velikost těla je klíčovým rysem organismů. Vyčteme z ní informace o daném živočichovy. Jestli se velikost daného jedince liší od průměrných hodnot, znamená to výkyv určitého biotického nebo abiotického faktoru.

V metodické části bakalářské práce byl proveden experiment, při kterém se zkoumalo přezimování slunéček *Harmonia axyridis* v závislosti na strukturní velikosti těla a pohlaví. Brouci byli odchyceni z volné přírody a rozvezeni na lokality s různou nadmořskou výškou, kvůli variabilitě teplot (sledování určitého gradientu teplot). Teploty byly po celou dobu přezimování pravidelně zaznamenávány dataloggrem. Po jarním sběru následovalo ujištění v determinaci pohlaví a měření strukturní velikosti těla.

V mnou zkoumané práci velikost těla značně ovlivnila míru přežití při různých teplotách. Zajímavé bylo, že velikost těla ovlivnila nejvíce míru přežití v intervalu od 5,75 do 7,2 mm, v tomto intervalu se totiž nacházeli jedinci s nejmenší mírou úmrtnosti. Pod i nad tímto intervalem převažovala mortalita nad vitalitou.

Mezi rysy *Harmonia axyridis* patří pohlavní dimorfismus, samice je zpravidla větší než samec. Předpokládal jsem, že samice budou mít větší signifikantně vyšší míru přežívání zimy než samci. Tento trend se neprokázal, samice měli jen o 3 % větší míru přežití než samci. Velikost těla u většiny bezobratlých i obratlovců ovlivňuje schopnost přežití během zimního období. *Harmonia axyridis* není výjimkou, i u ní strukturní velikost těla značně ovlivňuje úspěšnost přezimování. Ačkoliv pohlaví značně ovlivňuje velikost těla, která poté ovlivňuje schopnost přežití, tak samotné pohlaví nemá na úspěšnosti přezimování žádný vliv. Nejzajímavější část výsledků je spojení tří faktorů, konkrétně směrodatné odchylky teplot, strukturní velikosti těla a pohlaví, faktory totiž ve společné interakci průkazně ovlivňují úspěšnost přezimování.

Klíčová slova:

*Harmonia axyridis*, hmyz, pohlaví, přezimování, strukturní velikost těla, teplota

## **Abstract**

Insects must overcome adverse conditions during their lifetime and one of them is the change of seasons. Insects are ectothermic animals. It cannot maintain a constant body temperature. It is the change of the season and the associated change of temperature and photoperiod that affects the activity of insects. Nevertheless, the insect has adapted and successfully overwinters even at reduced temperatures.

Structural body size of insects is a factor that affects many functions. Although the structural size of the body itself is greatly influenced by a number of abiotic and biotic factors, such as temperature or the amount of food, it indirectly affects survival rates over the winter.

In the methodical part of the bachelor's thesis, an experiment was performed in which the hibernation of ladybugs *Harmonia axyridis* was examined depending on the structural size of the body and sex. The beetles were captured from the wild and transported to localities with different altitudes, due to temperature variability (monitoring a certain temperature gradient). Temperatures were regularly recorded by a data logger throughout the winter. The spring collection was followed by reassurance in determining the sex and measuring the structural size of the body.

In my work, the body size greatly affected survival rate at different temperatures. Interestingly, the body size affected the survival rate the most in the range from 5.75 to 7.2 mm, as individuals with the lowest mortality rates were in this interval. Below and above this interval, the mortality prevailed over vitality.

The features of *Harmonia axyridis* include sexual dimorphism, the female is usually larger than the male. I assumed that females would have a significantly higher rate of winter survival than males. This trend was not proven, females had only a 3 % higher survival rate than males. Body size in most invertebrates and vertebrates affects the ability to survive during the winter. *Harmonia axyridis* is no exception, the structural size of its body also significantly affects the success of hibernation. Although gender greatly affects body size, which affects survival ability, gender itself has no effect on the success of hibernation. The most interesting part of the results is the combination of three factors, namely the standard deviations of temperatures, structural body size and sex, because the factors in a collective interaction demonstrably affect the success of hibernation.

Keywords:

*Harmonia axyridis*, hibernation, insect, sex, structural body size, temperature

# 1 Obsah

2	Úvod.....	1
3	Cíle .....	2
4	Důležitost vlivu přezimování pro hmyz .....	3
4.1	Souvislosti s velikostí těla a vlivem na přezimování.....	3
4.2	Faktory ovlivňující schopnost přežít zimu.....	5
4.2.1	Abiotické.....	5
4.2.2	Biotické.....	7
4.3	Způsoby přezimování a adaptace hmyzu pro přezimování.....	10
4.3.1	Druhy „tolerantní“ k zmrznutí .....	11
4.3.2	Druhy „vyhýbající se“ zmrznutí.....	11
4.4	Klidová stádia během přezimování.....	12
4.4.1	Kviescence .....	12
4.4.2	Diapauza.....	12
4.5	Shrnuté poznatky o přezimování čeledi slunéčkovití s důrazem na Haxy.....	13
5	Metodika.....	16
5.1	Představení studovaného druhu Harmonia axyridis.....	16
5.2	Popis realizace experimentu .....	16
5.2.1	Odchyt a příprava jedinců .....	16
5.2.2	Rozmístění experimentálních krabiček na lokality.....	17
5.3	Naměřená data k přezimování .....	17
5.4	Měření strukturní velikosti těla .....	19
5.5	Statistická analýza dat .....	20
6	Výsledky .....	22
6.1	Interakce mezi pohlavím .....	23
6.2	Vliv měnící se teploty na přežití.....	24
6.3	Schopnost přežití závislé na pohlaví .....	25
6.4	Vliv strukturní velikosti na přežití .....	26
7	Diskuse .....	27
8	Závěr .....	30
9	Přehled použité literatury a zdrojů.....	31
10	Přílohy .....	38

## 2 Úvod

V nedávné době se objevilo hned několik alarmujících studií, které poukazují na výrazný pokles biodiverzity hmyzu. Tento pokles může vést až k nenávratnému ohrožení celých ekosystémů. Kromě negativních vlivů na pokles diverzity, jako jsou intenzifikace zemědělství, změny hospodaření v krajině či urbanizace, mohou výrazně ovlivňovat klesající trend biodiverzity hmyzu také klimatické změny. Probíhající změna klimatu ovlivňuje všechny organismy, hmyzem nevyjímaje. Většina studií zkoumá účinky zvýšené teploty během vegetačního období (léta) a proto účinky vyšších zimních teplot (např. v temperátní zóně) zůstávají méně vysvětlené. Přitom efektivní přezimování je pro mnoho druhů klíčové pro jejich přežití (Buxton et al. 2018). Změna klimatu způsobuje snížení biomasy hmyzu. Taková ztráta silně ovlivňuje nejen hmyzožravé druhy. Ztráta biomasy totiž ovlivňuje celý evropský ekosystém (Hallmann et al. 2017).

V méj bakalářské práci se proto budu věnovat studiu přezimujících sluněček *Harmonie axyridis* (Pallas, 1773). Během experimentální části bakalářské práce byla sluněčka vystavována širokému rozpětí teplotních podmínek v laboratorních i přírodních podmínkách napříč územím Čech. V bakalářské práci je studován vliv teplotních podmínek během přezimování a velikosti těla na přežívání. Změna klimatu ovlivňuje teplotu během přezimování, která má poté významný efekt na fyziologii hmyzu (Sánchez-Bayo and Wyckhuys 2019). Pokud se zvýší průměrná teplota, může například docházet ke snižování tukových zásob, z důvodu zrychlených metabolických procesů. Tukové zásoby pak chybí v období dormance, což může mít letální efekt na jedince. Tento jev se zkoumal u jedinců *Osmia ribifloris* (Cockerell, 1900), kteří pro snížení teploty migrovaly do vyšších nadmořských výšek a šířek (CaraDonna, Cunningham, and Iler 2018).

### 3 Cíle

Cílem práce je vypracovat literární rešerši o přezimování temperátního hmyzu. Rešeršní část klade důraz na vliv velikosti těla na přežívání hmyzu během přezimování.

Jako součást bakalářské práce byl realizován vlastní experiment zkoumající vliv teploty prostředí a velikosti těla hmyzu na úspěšnost přežívání po přezimování. Experimentální část tak doplňuje literární rešerši přímo o vlastní výsledky, které jsou konfrontovány v diskuzi práce. Modelovým organismem v experimentální části byl druh slunéčka východního (*Harmonia axyridis*). Slunéčko *Harmonia axyridis* je invazní druh hmyzu a tato práce tak zároveň může přispět novými poznatky k teplotní biologii druhu.



## 4 Důležitost vlivu přezimování pro hmyz

Přečkání zimy je leckdy náročné, proto je důležité se na ni dostatečně připravit. Důležité je uchovat co nejvíce energie z potravy, která byla zkonsumována před zimním obdobím. Dalším důležitým krokem je najít si vhodné místo k přezimování, s ideálními podmínkami, které značně ovlivňuje schopnost přečkat nehostinné podmínky. Tím přežívají silní jedinci (selekční tlak), kteří se po „přečkání“ zimy začínají rozmnožovat, vytvářet vlastní potomstva či v některých případech dokončují svůj ontogenetický vývoj do dospělce (Meyer, Senulis, and Reinartz 2016).

Pro většinu druhů hmyzu je zimní období stresující doba, kde se snaží vhodně hospodařit s energetickými zásobami. Existují dokonce i druhy, které tento problém nemají a jsou plně aktivní přes zimní období. Aktivně vyhledávají potravu a dokonce u nich dochází k rozmnožování. Pro aktivní život potřebují teplotu okolo 0 °C, je-li tepleji kopulační cyklus se neuskuteční. Do skupiny aktivně žijících druhů přes zimu patří například sněžnice matná – *Boreus hyemalis* (Linnaeus, 1767) nebo Sněžnice lesklá-*Boreus westwoodi* (Hagen, 1866). Oba druhy se vyskytují na území ČR (Šrámek 2006).

### 4.1 Souvislosti s velikostí těla a vlivem na přezimování

Velikost těla je jedním z nejdůležitějších rysů u jedince. Velikost tělních částí je zkoumána napříč všemi odvětvími biologie. Je důležitá jak pro rostliny, tak i pro obratlovce a bezobratlí. Má důležitou úlohu při schopnosti držet konkurenceschopnost. Například čím je větší medvěd, tím si snadněji uchrání teritorium před konkurencí a tím si zachová důležitou potravu na zimu. Větší medvěd si také dokáže uchovat větší objem tukových zásob a tím lépe přečkat nepříznivé podmínky v zimním období (“Winter Ecology Teacher ’ s Guide,” 2010).

U bezobratlých (včetně hmyzu) je velikost těla ještě důležitějším prvkem než u obratlovců. Do současné velikosti se hmyz formoval již od prvohor (karbonu), v této době velikost hmyzu dosahovala gigantických rozměrů. Například nad zemí se vznášely gigantické vážky, které dosahovaly rozpětí křídel až 70 cm

(*Meganeura monyi*-Brongniart, 1885). Extrémní velikost těla hmyzu byla způsobena zvýšenou koncentrací kyslíku v atmosféře o 10-15 % v porovnání s dnešní dobou (Harrison, Kaiser, and VandenBrooks 2010). Kromě kyslíku ovlivňuje velikost těla také teplota prostředí. Cyklické změny klimatu během jednotlivých ér Země ovlivňovaly velikost těla u hmyzu. Díky tomu velikost rostla a klesala v řádu jednotek centimetrů v průběhu vývoje druhů. Velikost těla je tedy neustále se měnící rys jedince, který závisí na faktorech abiotických i biotických (Steven L. Chown and Gaston 2010). Různé druhy hmyzu mohou mít různou velikost buněk i různý počet, obojí závisí na rychlosti metabolické rovnice daného jedince. Větší velikost buněk a také větší množství poté ovlivňuje velikost celého jedince. Buňky přenášejí metabolickou energii ve formě ATP a fosfagenů (u hmyzu je to fosfoarginin). Energie je potřebná pro fungování tělních systému, podle toho, jakou daný jedinec vykonává aktivní činnost (lov, let, rozmnožování...). Na molekulu ATP jsou navázány fosfo-anhydridové vazby, které obsahují značné množství energie. Energie se při hydrolýze uvolňuje a je využita na chod funkcí. Zmíněné procesy potřebují na výrobu ATP zdroj ADP, který se syntetizuje z trehalózy, glycerolu a z aminokyselin, které hmyz přijímá v potravě (Toprak et al. 2020). Každá buňka funguje jako samostatná jednotka a vyrábí si vlastní energii ze společného zdroje. Přebytečná energie má za následek zvětšení velikosti těla, kvůli navýšení počtu buněk, velikosti buněk nebo kombinací u daného jedince (S. L. Chown et al. 2007).

Teplota je faktor, který zasahuje do procesu metabolismu. Teplota má za následek zvýšenou nebo sníženou činnost metabolických procesů. Působení příliš vysoké okolní teploty na organismus má za následek urychlení metabolických procesů, které vedou ke snížení velikosti těla, k různorodému zbarvení (termální melanismus) nebo při velkém zahřátí k denaturaci aminokyselin a k náhlé smrti (Toprak et al. 2020). Studie z roku 2013 zaznamenávala měnící se zbarvení a velikost těla u dospělých jedinců *Harmonia axyridis* se zvyšováním okolní teploty. Účinky zvýšené teploty byly různorodé podle pohlaví a stádia vývoje, ve kterém se daný jedinec nacházel. Velikost těla dospělého jedince byla ovlivněna ve stádium larvy a kukly (Knapp and Nedvěd 2013). Mezi biotické faktory, které ovlivňují strukturní velikost patří dostupnost potravy. Dostatek kvalitní potravy vede k normálnímu růstu. Velikost těla je proto klíčová ve schopnosti uložení

vysokého množství potravy. Větší strukturní velikost představuje možnost tvorby dostatečných tukových zásob, které jsou důležité pro úspěšné přezimování. Popsaný jev byl zkoumán na střevlíčku ošlejchovým (*Anchomenus dorsalis*-Pontoppidan, 1763). Jedinci byli v laboratorních podmínkách vystaveni dlouhodobému hladovění při teplotě 20 °C. Odolnější na stresovou situaci bez příjmu potravy byly samice, které přežili bez potravy o 81 dní déle než samci. Ve stejné studii byl zkoumán další biotický faktor (pohlavní dimorfismus). U střevlíčka *Anchomenus dorsalis* dorůstají větších rozměrů samičky. Samice pak mají větší tukové zásoby a mohou být lépe vybaveny na přečkání v zimních obdobích. Tenhle jev je dán evolučně, kvůli tvorbě vajec a tím větší investici energie do reprodukce. (Knapp 2016).

## 4.2 Faktory ovlivňující schopnost přežít zimu

Faktorů ovlivňující přezimování u hmyzu je celá řada. Dělení může být různé (např. přímé a nepřímé), ale nejčastěji se dělí na abiotické a biotické. Abiotické vlivy působí z vnějšího okolí (například teplota, otřesy atd.). Biotické faktory jsou definovány, jako faktory, při kterých organismus ovlivňuje jiný organismus. Například patogeny, predace nebo parazitismus (Küllli Hiiesaar, 2009).

### 4.2.1 Abiotické

#### A) Teplota

Teplota je u hmyzu velmi důležitý abiotický činitel. Hmyz je ektotermní, poikilotermní organismus, což znamená, že není schopný řídit si svoji teplotu. Proto je pro hmyz klíčová teplota okolí. Na první pohled se může zdát, že je to pro hmyz pouze nevýhoda, ale má to i své výhody. Například funkce, které jsou velmi energeticky náročné, jsou během přezimování omezeny, protože hmyz nemusí převážnou část energie převést a zachovat pro stálou tělesnou teplotu (Kodrík 2004)

Právě kvůli tomu je teplota u hmyzu velmi důležitý činitel. Dokáže ovlivnit jejich plodnost, postupný růst, délku vývoje. Tyto vlastnosti jedince ovlivňuje teplota nepřímo přes metabolismus. Když se mění venkovní teplota, mění se i metabolismus hmyzu. Kdyby byl hmyz vystavený pouze přímé teplotě, nebyl by tak rozšířenou říší živočichů (Meyer, Senulis, and Reinartz 2016).

U hmyzu můžeme zaznamenat dva mechanismy pro hospodaření s teplotou.

Behaviorální termoregulaci-využívá hmyz, aby získával tepelnou výměnu z určitého substrátu nebo přímo ze slunečního záření. Když se naopak potřebuje ochladit, vyhledává stinná, chladnější místa. U společenského hmyzu se můžeme setkat i se schopností regulace okolní teploty prostředí, a tím nepřímo i těla. Například, když včely chtějí zvýšit teplotu v úlu, začnou intenzivně mávat křídly a tím pádem pohybem uvolňovat určité teplo (Timothy D. Schowalter 2016).

Fyziologická termoregulace je adaptací v mohutné létající svalovině. Ta je především během letu schopná produkovat metabolické teplo. Jedinec musí vyrovnávat dvě protichůdné tendence. Pro uchování tepla se hmyz adaptoval a vytvořil si izolaci hrudi, pomocí kutikulárních výběžků (např. šupiny, vlásky nebo chlupy). Zabránění přehřátí svaloviny je zajištěno kombinací letu a plachtění nebo zrychlením cirkulace hemolymfy a jejím odvodem do neizolovaných částí těla. Proto některé druhy před tím, než vzlétnou, musí zahřát svalovinu na správnou teplotu, aby mohli bezpečně vzlétnout. (Kodrík 2004).

Např. čeled' lišajovití musí zvýšit teplotu svaloviny asi na 30 °C, teprve potom jsou schopni letu. Při letu dosahuje teplota svaloviny až 40 °C. Teplota je také určující faktor pro rozmnožení a virulenci patogenů (Barth et al. 2018).

## B) Vlhkost

Vlhkost vzduchu je dalším důležitým abiotickým faktorem ovlivňující metabolické děje v organismu. Výkyvy vlhkosti vzduchu mění délku diapauzy. Nepřímo také určuje ztrátu vody v organismu. Schopnost vnímat vlhkost je spojena s termoreceptory, které většinou sídlí na tykadlech (např. u termitů) nebo na tarsálních člancích (např. u brouků). Vlhkost také určuje množství patogenů u přezimujícího hmyzu. Ideální vlhkost lze těžko odhadnout kvůli rozdílným způsobům přezimování hmyzu i různorodosti patogenů (např. viry, houby), ale odhadem by se relativní vlhkost měla pohybovat okolo 25-40 procenty (T D Schowalter 2011). Vlhkost vzduchu s teplotou společně ovlivňují přezimování jedince. Větší vlhkost vzduchu tvoří větší obsah vody na povrchu přezimujících jedinců, což má za následek s teplotou pod 0 °C zamrznutí (Lidwien Raak-van den Berg et al. 2012).

### C) Světlo

Dalším důležitým faktorem fyziologických dějů v organismu je světlo. Ovlivňuje dormanci, jako jsou diapauza a kviescence. Většina hmyzu má schopnost světelnou aktivitu měřit a pokud dojde k určité prahové hodnotě, tak přizpůsobit své fyziologické děje (Timothy D. Schowalter 2016; Kodrík 2004). Rozlišujeme podle vnímání světla dvě skupiny hmyzu:

#### a) Dlouhodenní

Druhy velmi aktivní v letním čase. Ke zpomalení až zastavení fyziologických procesů (kviescence a dormance) dochází u této skupiny v zimním období. Pokud fotosenzitivní stádium zažije dlouhý den, nedochází k diapauze. Patří sem většina známého hmyzu (Kodrík 2004).

#### b) Krátkodenní

Druhy velmi aktivní na jaře a na podzim. Ke zpomalení až zastavení fyziologických procesů (kviescence a dormance) dochází u této skupiny, jak v zimním, tak i v letním čase. Pokud fotosenzitivní stádium zažije dlouhý den, nedochází k diapauze (T D Schowalter 2011).

## 4.2.2 Biotické

### A) Potrava

Dostupnost a množství potravy ovlivňuje růst jedince a ukládání v podobě tukových zásob. Ze zásob poté čerpají energii na minimální chod životních funkcí v období kviescence. Larva nebo dospělý jedinec musí nashromáždit před začátkem dormance, co nejvíce energie z potravy. Dostatečné množství potravy vede k přiměřenému růstu a správnému vývoji, naopak nedostatek potravy vede ke špatnému vývoji nebo ke zpomalení růstu jedince. Existuje hmyz, který při nedostatku potravy jen zpomalí svůj růstový potenciál, ale nezastaví se na určitém bodě velikosti. To značí také snížení počtu jedinců v roce. Další skupina má většinou každoročně stejně početnou populaci, ale dochází k rozdílným příjmům potravy u jednotlivých jedinců. Jedinci s menším příjmem potravy mají poté kratší strukturální velikost těla než jedinci

s dostatečným množstvím potravy. Efekt byl zkoumán například u roháče obecného (*Lucanus cervus*- Linnaeus, 1758) (Harvey and Gange 2006).

### B) Agregace

Před zimou dochází k shlukování jedinců. U hmyzu toto chování pozorujeme nejčastěji u brouků. Shlukování jedinců (agregace) nastává automaticky u jedince a je vnitřně motivováno. Důležitá je také velikost agregace. Malý počet jedinců při nepříznivých podmínkách je často neefektivní, kvůli malé výměně tepla (Hodek, van Emden, and Honěk 2012). Hmyz používá agregační feromony. Agregační feromon působí jak na samice, tak i na samce. Agregace se poté tvoří v místě vypuštění za účelem obrany, dostupnosti potravy, pozdější reprodukce nebo jejich vzájemných kombinací (Kodrík 2004).

### C) Pohlaví

Z pohledu k přezimování lze říct, že někdy je efektní být samec, jindy zase samice. U řady sociálního hmyzu přežívá zimu pouze samice. Ta přečkává zimu pod zemí například v různých norách nebo lidském obydlí. Královna je před zimou (dormanci) oplodněná samcem (např. vosy obecné-*Vespa vulgaris*- Linnaeus, 1758) (T D Schowalter 2011).

Dalším faktorem spojeným s pohlavím je tzv. pohlavní dimorfismus. Průměrná dospělá samice je větších rozměrů než průměrný dospělý samec, což může mít důsledek v podobě větších energetických zásob. Tento trend platí často pro druhy, které přežívají jako imago (Knapp 2016).

### D) Patogeny a predátoři

Pokud se jedinec dokáže dostatečně schovat před zimou, neznamená to, že má už vyhráno. Přes zimu se nesetká jen s nepříznivou teplotou, vlhkostí nebo špatnou dostupností potravy. V místech, kde přečkává zimu, ať je to půda, trouchnivějící listí, kůra stromů či drobná sněhová pokrývka, se setkává s nejrůznějšími predátory aktivními pod zemí (např. krtek obecný-*Talpa europaea*-Linnaeus, 1758). Další aktivní predátoři, kteří vyhledávají potravu

způsobem narušování sněhové pokrývky přes zimu, mohou být savci z řádu sudokopytníků (např. srnec obecný- *Capreolus capreolus*-Linnaeus, 1758)- (“Winter Ecology Teacher ’ s Guide,” 2010). Celoročním predátorem hmyzu (i v přezimujícím období) jsou ptáci. Do jedné skupiny predátorů v zimním čase patří ptáci z řádů šplhavců, kteří vyhledávají hmyz pod kůrou stromů (např. strakapoud velký-*Dendrocopos major*-Linnaeus, 1758). Když už přezimující hmyz odolá potenciálním útokům predátorů, tak se musí vypořádat ještě s patogeny. Patogeny mohou nabývat nejrůznějších forem přes bakterie, viry až po houby. Pro úspěšný vývoj těchto organismů musí být vhodné abiotické podmínky (viz. kapitola 1.2.1) (Kodrík 2004). Známým patogenem pro *Harmonia axyridis* je vřeckovýtrusná houba *Hesperomyces virescens*, která svého hostitele významně poškozuje (Haelewaters, De Kesel, and Pfister 2018). Entomopatogenní houby jsou významný problémový patogen pro hmyz. Do organismu se dostávají pozřením houbové propagule. Druhým způsobem je přímo přes kontakt s kutikulou. Pro tuto funkci jsou vybaveny enzymatickým aparátem obsahující lipázy, proteázy a chitinázy. Řada hmyzu si vyvinula obranné mechanismy. Například dokážou zvýšit svoji tělesnou teplotu nebo si hledají ideální místa s vhodnou vlhkostí a teplotou. Některé druhy hmyzu se chrání tím, že si vybírají k přezimování extrémní místa. Například slunéčko bodlákové-*Semiadalia undecimnotata* (Schneider, 1792) přežívá zimu tak, že se vystavuje mrazivému vzduchu, kde jiné druhy nepřežijí (Kub 2017).

Dalším ochranným prostředkem před patogeny je imunitní systém. Proniknutí patogenu do organismu spouští vrozený imunitní systém, který rozliší vlastní buňky od patogenů a zahájí fagocytózu (pohlčení vetřelecké látky specializovanou buňkou). Další procesy patřící do imunitního systému je nodulace a enkapsulace. Oba zmíněné procesy fungují na podobném principu. Při nodulaci hemocyty obalí cizorodý patogen a zabraňují mu v dalším šíření. Využívá se při velkém nárůstu patogenů v těle. U enkapsulace dochází k tvorbě buněčných valů, které také oddělí a zabráni dalšímu šíření patogenu. Využívá se při pohlčení patogenů větších rozměrů, které nemůžou hemocyty pohlct (Hyršl 2018).

### 4.3 Způsoby přezimování a adaptace hmyzu pro přezimování

Jedním ze způsobů přezimování hmyzu je zahrabávání do mechů či půd. Teplota pod povrchem je totiž už v 10 cm půdy podstatně příznivější a více konstantní. Dalším způsobem přezimování hmyzu je hledání nejrůznějších skrýší, například v jeskyních. Zajímavé je, že v současném světě některé druhy hmyzu vyměnili přirozené stanoviště pro přezimování (jeskyně) za polopřirozené (budovy a domy). Existují také druhy hmyzu, u kterých můžeme pozorovat tzv. hromadné přezimovací shluky (agregace). Takhle zimu přežívá například mnou zkoumané invazní sluněčko východní (*Harmonia axyridis*- (*Pallas, 1773*)). Společenstva hmyzu, jako jsou například včely, si pečlivě vybírají a upravují své úly či hnízda, dané místo vyčistí, vydezinfikují a pryskyřičným propolisem zalepí všechny zbytečné otvory. Poté jsou připravené přečkat zimu. Vodní hmyz má také své způsoby přezimování. Například znakoplavky přezimují pod ledem. Využívají kyslík, který produkují vodní rostliny. U druhů využívajících migrace směrem na jih (k nižším zeměpisným šířkám) je proces přezimování potlačen. Existují dokonce i skupiny hmyzu, které přežívají zimu ve stádiu subimaga nebo jako vajíčka. Často jsou pod zemí, kde přežívají nepříznivé podmínky během zimy (např. *Enisfera, Aphidoidea*) (Durak 2014).

Zaleží nejen na lokalitě a druhu hmyzu, ale také na nadmořské výšce. Se stoupající nadmořskou výškou klesá množství lesního porostu, což znamená méně úkrytů pro přečkání zimy. To má za následek, že v horských oblastech najdeme ojedinělé druhy hmyzu. Hmyz, který v horských oblastech přezimuje využívá často sněhovou pokrývku jako izolaci. Dále to může být svah nebo dřeviny malého růstu (Borovice kleč-*Pinus mugo*) (Unterweger et al. 2018).

V horských oblastech, také můžeme spatřit chionofilní zástupce hmyzu. Takové druhy se plně aktivně pohybují po mechové pokrývce, kolem spadlé kůry stromů, jehličím nebo i na sněhové pokrývce. Mezi chionofilní druhy patří pavoučnice sněžná-*Chionea lutescens* (Lundström, 1907), u kterých je aktivita vysoká okolo teplot od -4 do 0 °C. Po povrchu sněhu se pohybují i samičky po dobu kladení vajíček (Šrámek 2006).

Hmyz každoročně podstupuje nepříznivé podmínky během zimy. Není proto divné, že si vyvinul adaptační ústrojí a tělní mechanismy pro toleranci extrémně nízkých teplot. Nízká teplota může způsobit u hmyzu tvorbu ledových krystalů. Ty



mechanicky narušují buňky a tkáně, kvůli zvětšujícímu se objemu v porovnání s vodou. Spojením krystalů a hemolymfy se vytvoří zahušťovací roztok, který poté odčerpává osmoticky vodu z buněk. Jeli led v organismu, nedochází k transportu kyslíku a jiných látek v těle. V jiném případě se buňka poškodí až při rozmrzání. Začne silně nasávat vodu z mezibuněčného prostoru a popraská buněčná membrána. Každý druh hmyzu si proto vyvinul ochranné mechanismy (dva základní způsoby), které pomáhají překonat sílu chladu a mrazu (T D Schowalter 2011).

#### **4.3.1 Druhy „tolerantní“ k zmrznutí**

Tato skupina hmyzu preferuje velmi nízké teploty pod bodem mrazu. Strategie takového hmyzu je naplánovat si pozvolné zmrznutí svého organismu. Při probíhající zmrznutí začne vypouštět do hemolymfy nukleátory. Tím tvořící se krystaly porostou řízeně a buňka má čas se vyrovnat s osmotickým tlakem. Organismus musí nahromadit vysoké koncentrace viskózních kryoprotektantů, které snižují průtočnost vody v organismu a stěžují zamrznutí a její dostupnost pro krystalizaci. Dále jsou přítomné i hysterezní proteiny. Jejich funkce je zpomalení růstu krystalů ledu. Druhy přezimující tímto způsobem, přežívají dlouhou dobu i při velmi nízkých teplotách. Patřím sem hmyz s proměnou dokonalou (např. larva *cantharis fusca*- Linnaeus, 1758) nebo zástupci z řádu *Lepidoptera* nebo *Neuroptera* (Sinclair, Addo-Bediako, and Chown 2003).

#### **4.3.2 Druhy „vyhýbající se“ zmrznutí**

U této skupiny hmyzu naopak nesmí dojít k tvorbě krystalů v organismu. Hmyz začíná vypouštět do hemolymfy tzv. kryoprotektanty, které zabraňují zmrznutí. Kryoprotektanty oddalují teplotní bod, při kterém dojde ke zmrznutí tělních tekutin. Mezi známé kryoprotektanty patří glycerol, sorbitol. Obě látky patří mezi alkoholy, které mohou být v hemolymfě zastoupené hodnotou 10 % a více. Dále to mohou být různé cukry (např. trehalóza) nebo aminokyseliny. Nevýhodou u této skupiny je riziko při prudké změně teploty. Když teplota prudce vzroste nebo klesne může docházet k tzv. chladovému šoku (Kodrík 2004).

Zajímavým kryoprotektantem jsou hysterezní proteiny (THF – thermal hysteresis factors), které se nabalují na již vzniklá ledová jádra a zastavují jejich růst. Tato adaptace byla přiřazena již mnohým druhům hmyzu, ale potvrzené dlouhodobé přežívání v nízkých teplotách pomocí této adaptace bylo zaznamenáno jen u několika druhů hmyzu (např. *Epirrita autumnata*-Borkhausen, 1794) (Markkula, Turunen, and Rasmus 2019).

#### **4.4 Klidová stádia během přezimování**

Aktivování klidového stádia patří k nejdůležitějším faktorům pro přežití zimy. Klidové stádium je proces, při kterém hmyz nepřijímá potravu, není v aktivním pohybu, nerozmnožuje se a jeho základní fyziologické funkce jsou nastaveny na minimální spotřebu energie (T D Schowalter 2011).

##### **4.4.1 Kviescence**

Klidové stádium, které předchází diapauze. Proces, který okamžitě reaguje na změnu vnějšího prostředí. Nedochozí k úplnému zastavení životních funkcí. Při navrácení optimálních vnějších podmínek organismus začne reagovat okamžitou aktivitou. Dochází k ní zpravidla před diapauzou. Hlavně kvůli zadržení tukových zásob (ve formě glykogenu), kterých je zapotřebí v diapauze (Košťál 2006).

##### **4.4.2 Diapauza**

Proces, při kterém je hmyz v „hlubší“ kviescenci. Přerušování vývoje spojené s fyziologickými změnami, které mohou nadále pokračovat, i když se vnější podmínky vrátily do optimální úrovně. Diapauza je kódovaná v genech a může trvat od několika dnů až po měsíce. Vyskytuje se u všech vývojových stádií u hmyzu s proměnnou dokonalou, je to kukla, larva, imago, vajíčko a u hmyzu s proměnnou nedokonalou přezimuje ve formě vajíčka. Každý druh hmyzu tedy vstupuje do diapauzy v jiném stádiu svého vývoje. Například druh *Harmonia axyridis* podstupuje diapauzu ve vývoji imago (Raak-Van Den Berg et al. 2013).

Oproti tomu řada druhů z řádu motýlů podstupuje diapauzu v larválním stádiu. Kvůli odlišnému životnímu stádiu se liší i strategie jednotlivých druhů před

procesem diapauzy. Hmyz, který upadá do diapauzy ve formě imago musí před tímto stavem vynaložit větší úsilí pro nahromadění energie než ostatní vývojové formy (Xiao et al. 2017).

## 4.5 Shrnuté poznatky o přezimování čeledi slunéčkovití s důrazem na Haxy

### A) Přezimování slunéčkovitých (*Coccinellidae*)

Slunéčkovití patří mezi hmyz „vyhýbajícímu se zmrznutí“ (viz 1.3.2 druhy „vyhýbající se“ zmrznutí), takže před zimním obdobím si jedinci sníží svůj bod podchlazení. Poté si začnou tvořit v těle myo-inositol, což je derivát monosacharidu, který se nachází v každé živé buňce. Poté začíná kviescence, která je vyvolána hlavně teplotou. Před ní si musí vyprázdnit trávicí soustavu a načerpat dostatečné množství energie ve formě tuku (glykogenu). Z glykogenu se poté syntetizuje glycerol, který slouží jako hlavní kryoprotektant. Začátkem ledna upadají do diapauzy, která je spouští, jak teplotou, tak i změnou světla. V únoru diapauza končí a jedinec přechází do klidového stádia, ze kterého poté jedinci zvýšením okolní teploty procitají a rozptylují se z místa „spánku“ (Holecová et al. 2018).

Zimu přečkávají ve formě imago, kterou přečkávají ve dvou různě starých formách. „novější“ forma jsou nově narození jedinci a druhá „starší“ forma jsou jedinci narození už v minulém roce (Berkvens, Bale, et al. 2010a).

Zimoviště slunéčkovitých se nacházejí v nižších polohách, odkud se jedinci posléze rozletí na nejbližší rašící stromy, kde nejdříve seženou potravu a s postupující sezónou, jak jdou vhodné podmínky a potrava neustále výše, se slunéčkovití přesouvají i do vyšších poloh, odkud se na konci sezóny vracejí zpět na zimoviště (Hodek, van Emden, and Honěk 2012).

Místo k přezimování si hledají slunéčkovití za různých podmínek. Místo může být určené potravní dostupností. Takové místo je například pod různými dřevinami nebo bylinami, pod hlínou, kameny nebo v různých štěrbinách kůry. Na listech těchto dřevin a bylin se vyskytuje hlavní zdroj potravy mšicovití (*Aphidinae*-Latreille, 1802). Takovéto podmínky splňuje celá škála míst, proto se také naše slunéčka vyskytují na celé řadě stanovišť.

První z našich druhů slunéček, slunéčko velké (*anatis ocellata*-Linnaeus, 1758), které obývá jehličnaté lesy a kraje lesů. Ze stromu je to například smrk ztepilý-*picea abies*, modřín opadavý-*larix decidua* nebo jedle bělokorá-*abies alba*). Slunéčko velké přezimuje pod kůrou těchto stromů, pod korunou mladých stromků nebo spadlým jehličím a dalšími zbytky stromů (odlomená kůra, spadená větev). Listnaté lesy poté patří slunéčku čtrnáctitečnému (*propylea quatuordecimpunctata*-Linnaeus, 1758) a desetitečnému (*adalia decempunctata*-Linnaeus, 1758). K úkrytům před zimou si vybírají škvíry a díry ve stromech, mezery mezi kameny nebo zahrabávání do vrstvy půdy (Timothy D. Schowalter 2016).

Posledním druhem slunéčkovitých, který je Slunéčko sedmítečné (*Coccinella septempunctata*-Linnaeus, 1758). Slunéčko sedmítečné je synantropní druh, žijící v blízkosti lidských sídel, sadů, zahrádkách a v parcích. Zimní úkryt si tedy hledá v blízkosti potravy, jako ostatní slunéčka. Jedná se o místa pod kameny, štěrbinami v narušeném zdivu nebo v půdě (Holecová et al. 2018; Hodek, van Emden, and Honěk 2012).

#### B) Přezimování slunéčko východní (*Harmonia axyridis*)

Přezimování začíná na podzim v teplých dnech, kdy se ze dne na den ochladí a změní se fotoperioda světla. Před zimou se *Harmonia axyridis* nachází na stanovišti, kde se žíví hlavně ovocem (hroznové víno, jablka). Ovoce musí mít narušený povrch (slupku), *Harmonia axyridis* není schopná svými kusadly narušit povrch daného ovoce. Energie a živiny získané z ovoce poté slouží k vytvoření tuků, které poté využije na minimální chod organismu během hibernace a ke tvorbě kryoprotektantů (Seko, Abe, and Miura 2019a). Při změně teploty a fotoperiody začíná masivní migrace ve velkých rojích k nápadným siluetám (např. skály, stromy nebo budovy), které mají jedinci na obzoru. Po přistání na daný objekt se rozhodne, jestli zůstane nebo odejde podle vlastnosti substrátu. Zůstane-li jedinci začnou hledat trhliny, kde by mohli přezimovat. Jedinec, který našel vhodné místo, vypouští agregační feromon. Feromon poté naláká zbytek jedinců na dané místo. Agregační feromon láká jak samce, tak i samice. Jestli existuje více takových trhlín, může se tvořit více agregací na jednom objektu čítající až kolem tisíce brouků (Durieux et al. 2015). Poté si jedinci vyprázdňují střeva a zbaví se přebytečné vody a zahajují dormanci. Při změně fotoperiody a větším snížením průměrné

teploty zahajují diapauzu (Raak-Van Den Berg et al. 2013). Na jaře po skončení hibernace, se jedinci rozlétají do svých krmných ploch (Durieux et al. 2015).

## 5 Metodika

### 5.1 Představení studovaného druhu *Harmonia axyridis*

Dospělec sluněčka *Harmonia axyridis* je dlouhý přibližně 4,8-8,2 mm a široký 4-6,6 mm, jeho tělo je mírně vyklenuté, zkráceně oválné. Vyznačují se polymorfismem, který má za následek výrazné zbarvení. Polymorfismus je podle většiny studií dědičný a pravděpodobně spojený s řadou geneticky uspořádaných alel (Hodek, van Emden, and Honěk 2012). Na zbarvení má vliv i teplota během stádia kukly. Důkazem je hojná četnost tmavě zbarvených populací, v Asii a v Severní Americe se tmavě zbarvení jedinci objevují jen vzácně. Tento druh sluněčka si vytváří mnoho variet. V Evropě se v největším počtu nacházejí var. *succinea*, var. *spectabilis* a var. *conspicua*. Nomotypická var. *axyridis* je velmi hojná především ve Střední Asii. Biotop rozšíření mají nejčastěji blízkosti keřů a stromů, nejčastěji na javorech, ořešácích, vrbách, jabloních a dalších. Hojně se objevuje i na celé řadě polních plodin (Durieux et al. 2015).

Místem jejího původu je Asie, s pravděpodobným rozšířením od pohoří Altaj na západě k pobřeží Tichého oceánu na východě a od jihu Sibíře na severu až po Jižní Čínu na jihu. Do ostatních lokalit byla zavedena jako agens biologické ochrany rostlin (Tayeh et al. 2015). *Harmonia axyridis*, jako naše domácí sluněčko *Coccinella septempunctata* (Linnaeus, 1758) je predátor lovcí převážně mšice a hmyz podobné velikosti. Výhodou asijského druhu sluněček je, že při nedostatku potravy dokáží obstarat alternativní zdroj. Například živení se na vinných hroznech (Roy et al. 2016).

### 5.2 Popis realizace experimentu

#### 5.2.1 Odchyt a příprava jedinců

Před začátkem experimentu bylo nutné zajistit dostatečný počet jedinců sluněček východních. Jedinci se odchytávali ve volné přírodě pomocí exhaustoru. Odchyty probíhaly na lokalitách: Nučice-Praha západ (344 m n. m; GPS: 50.0184769N, 14.2299697E), Konětopy (184 m n.m; GPS: 50.2764039N, 14.6538239E) a Zababeč (420 m n.m; GPS: 50.6158206N, 14.2114781E) v období podzimu. Odchycení jedinci se dále chovali v laboratořích do převozu na dané lokality (viz. Tabulka 1)

### 5.2.2 Rozmístění experimentálních krabiček na lokality

Odchycení jedinci byli poté shromážděni v jednotlivých experimentálních krabičkách. Krabička měla kvádrotvový tvar (viz příloha 2). Také simulovala dobrou vzdušnost děrami na horní straně. Každá krabička nesla označení podle cílového místa a datalogger (Typ: HOBO U23 Pro v2 Temperature/Relative Humidity Data Logger). Zařízení zaznamenávalo každých 15 minut teplotu během celé zimy. Na dané lokality (viz tabulka 1) byly krabičky odvezeny v období od listopadu 2017 do prosince 2017. Data z roku 2018/2019 mi byly poskytnuty vedoucím práce. Cílem bylo dosáhnout gradientu nadmořské výšky mezi jednotlivými experimentálními krabičkami se sluněčkem *H. axyridis*. Výškový gradient byl vybrán z důvodu teplotních rozdílů na jednotlivých mikrostanovištích během zimního období. Ve spolupráci s konzultantem bakalářské práce Ing. Michalem Řeřichou jsme rozmístili krabičky napříč územím Čech. Já jsem odvezl sadu šesti krabiček na Šumavu, zde byly vybrány tři různé lokality. Na každou lokalitu jsem umístil dvě krabičky. První krabičku jsem umístil u země (označil jsem si místo). Umístění na zem modelovalo situaci přezimování. *Harmonia axyridis* se totiž agreguje v puklinách nebo různých zemních dírách, kde je vyšší teplota i vlhkost vzduchu (Hodek, van Emden, and Honěk 2012). Druhá experimentální krabička byla zatlučena hřebíkem na kmen stromu, v cca 2,3-2,5 m od země. Doplnil bych, že to může částečně modelovat úkryt pod kůrou stromů, kde je naopak menší teplota, ale i menší vlhkost vzduchu (Hodek, van Emden, and Honěk 2012). Další dvě experimentální krabičky byly rozmístěné u horské chaty Pancíř (1214 m n. m. a dvě u lanovky Špičák (886 m n. m.) a poslední dvě u pensionu Azalka-Hofmanky (1 085 m n. m.). Po zimním období byly krabičky sebrány a odvezeny do laboratoře na fakultě D414 – MCEV II. Lokality, které rozmístil konzultant mojí bakalářské práce jsou uvedené v tabulce č. 1.

### 5.3 Naměřená data k přezimování

Datalogger měří teplotu každou hodinu. Data pro zimu 2018/19 mě byla poskytnuta od vedoucího práce Ing. Michala Knappa, Ph.D. Lokality zůstaly obdobné u obou roků měření. V druhé sezóně byla opět snaha o výškový a teplotní gradient. Data byla z dataloggrů předělána do programu Excel a zpracována (viz tabulka 1)

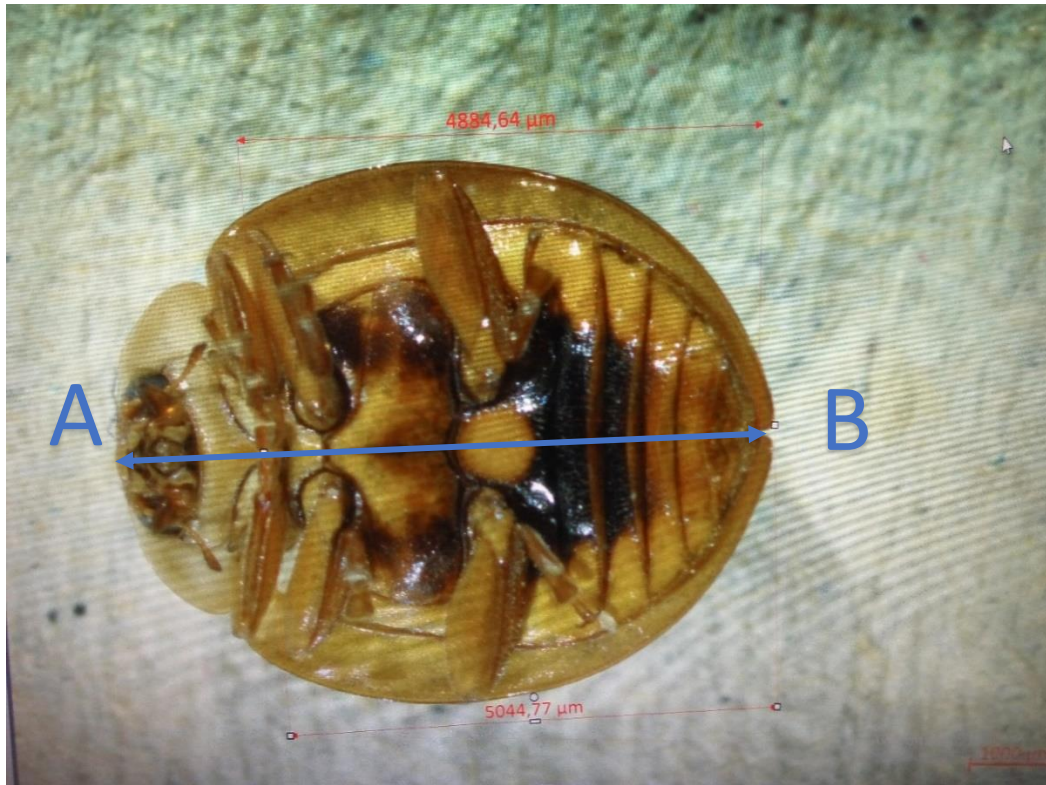
Tabulka 1: Tabulka se základními informacemi o lokalitách a naměřených teplotách

Site ID	Name of site	GPS	t - mean (°C)	t - minimum (°C)	t - standard deviation (°C)	Survival of individuals (%)	winter season
L1	Střecha MCEV II	50.1300303N, 14.3738181E	1,567	-14,965	4,164	F = 39 %, M = 27 %	2018
L2	Experimentální nádrže FŽP: uvnitř přístřešku	50.1300303N, 14.3738181E	2,359	-11,776	3,699	F = 68 %, M = 56 %	2018
L3	Experimentální nádrže FŽP: venku	50.1300303N, 14.3738181E	1,937	-11,058	3,355	F = 100 %, M = 78 %	2018
L4	Morřina - sušárna bytovka	49.9528353N, 14.2086328E	1,978	-10,916	3,252	F = 80 %, M = 63 %	2018
L5	Farkáň - půda domu	50.0605658N, 14.3809919E	2,997	-10,774	3,575	F = 18 %, M = 20 %	2018
L6	Morřina - louka	49.9528353N, 14.2086328E	3,607	-8,182	2,955	F = 47 %, M = 52 %	2018
L7	Morřina - půda domu	49.9528353N, 14.2086328E	2,771	-7,527	3,137	F = 75 %, M = 75 %	2018
L8	Štoly Amerika - větrané místo	49.9535522N, 14.1882533E	4,054	0,887	1,382	F = 30 %, M = 26 %	2018
L9	Střecha MCEV II	50.1300303N, 14.3738181E	2,286	-9,202	3,975	F = 73 %, M = 87 %	2019
L10	Farkáň - zahrada u domu	50.0605658N, 14.3809919E	2,237	-8,331	3,309	F = 60 %, M = 67 %	2019
L11	Experimentální nádrže FŽP: venku	50.1300303N, 14.3738181E	2,230	-8,264	3,554	F = 100 %, M = 100 %	2019
L12	Počítačem řízený klimabox	50.1300303N, 14.3738181E	2,029	-7,738	4,871	F = 27 %, M = 33 %	2019
L13	Konečtopy - zahrada u domu	50.2764039N, 14.6538239E	2,254	-6,802	3,505	F = 60 %, M = 53 %	2019
L14	Experimentální nádrže FŽP: uvnitř přístřešku	50.1300303N, 14.3738181E	3,743	-5,698	3,837	F = 33 %, M = 26 %	2019
L15	Stožecké sedlo	50.8395992N, 14.5957844E	0,897	-3,986	2,522	F = 100 %, M = 100 %	2019
L16	Štoly Amerika - cca 100 m od větraného místa	49.9535522N, 14.1882533E	5,577	1,099	1,763	F = 100 %, M = 100 %	2019
L17	Štoly Amerika - větrané místo	49.9535522N, 14.1882533E	5,217	1,425	2,172	F = 67 %, M = 63 %	2019



## 5.4 Měření strukturní velikosti těla

V polovině března jsme krabičky odvezli do laboratoře (D414 – MCEV II), kde jsme pozorovali, kolik jedinců se probudí ze stavu dormance. Roztřídili jsme jedince na mrtvé a živé a poté všechny zamrazili. U všech brouků jsme určili pohlaví. Pohlaví slunéček lze stanovit podle tvaru posledního viditelného sternitu (břišního článku) nebo podle zbarvení na hlavě a hrudi. Samičky Slunéčka východního mají poslední sternit trojúhelníkovitý, s předním okrajem rovným, s povrchem lehce vyklenutým, samečkové s předním okrajem obloukovitým, s povrchem lehce vydutým (Hodek, van Emden, and Honěk 2012). Následně jsem u všech jedinců pro zimu 2017/2018 změřil strukturní velikost těla. Strukturní velikost těla jsme stanovili následovně, bod A se nacházel na hlavě mezi očima, bod B se nacházel na posledním zadečkovém článku (viz obrázek 2). Daného jedince jsme opatrně položili na Petriho misku krovkami dolů. V programu od firmy ZEN jsem si našel bod A, který jsem si označil a vztyčil přímkou na bod B. Spojením bodů A a B vznikla úsečka. Velikost této úsečky určuje strukturní velikost těla daného jedince. Používala se technika od firmy ZEN, do které spadá, jak mikroskop, tak i software na měření v počítači. Celkem jsem změřil 300 jedinců.



Obrázek 1: Fotografie z měření velikosti těla v softwaru ZEN s popisem

## 5.5 Statistická analýza dat

Analýza dat probíhala ve statistickém programu R verze 3.5.1. Použili jsme zobecněný lineární model se smíšenými efekty (GLMM) Vysvětlovanou proměnou bylo přežití (survival). Vysvětlujícími proměnnými bylo pohlaví (Sex) a strukturní délka (Lenght), mezi těmito vysvětlujícími proměnnými byly zahrnuty interakce. Další vysvětlující proměnná byly vypočítané popisné statistiky z průběžných teplot (Tmean, Tmin, Tsd). Jako náhodný efekt jsme do modelu zahrnuli rok (Year) a lokalitu (Site). Rozdělení dat bylo binomické, jedinec buď zimu přežil nebo nepřežil.

Dále jsme analyzovali, jestli je strukturní délka těla závislá na pohlaví jedince. Po zjištění normality dat pomocí shapirovo testu a histogramu jsme stanovili další model. Vysvětlovanou proměnnou byla v tomto případě strukturní velikost těla (Lenght) a vysvětlující bylo pohlaví (Sex).

Poslední sestavený model byl zaměřen na vlivu teploty na přežití jedinců. Vysvětlovanou proměnnou bylo tedy přežití (survival) sluníček a vysvětlující průměrnou teplota (Tmean), minimální teplota (Tmin) a směrodatná odchylka teploty (Tsd). Šlo o binomické rozdělení dat.

**Hlavní H0:**

Strukturální velikost *Harmonia axyridis* neovlivňuje úspěšnost přežití v zimním období

**Vedlejší: H0:**

Teplota během zimního období neovlivňuje úspěšnost přežití v zimním období *Harmonia axyridis*

Pohlaví neovlivňuje úspěšnost přežívání *Harmonia axyridis* během zimního období

## 6 Výsledky

Strukturní velikost těla byla změřena u 579 jedinců *Harmonia axyridis*. V roce 2018 bylo zkoumáno 300 jedinců a v roce 2019 bylo zkoumáno 279 jedinců. Nejkratší naměřená strukturní délka patřila samci a činila 4,92 mm, jedinec přezimování přežil. Naopak nejdelší délka byla změřena samici v roce 2019 s poznávacím číslem J267, která zimu nepřežila, a činila 7,59 mm. Celkový počet samců činil 292 a samic 287 (design experimentu byl vyvážený). Jedinců, kteří přežili přezimování bylo 338 (kolem 59 %).

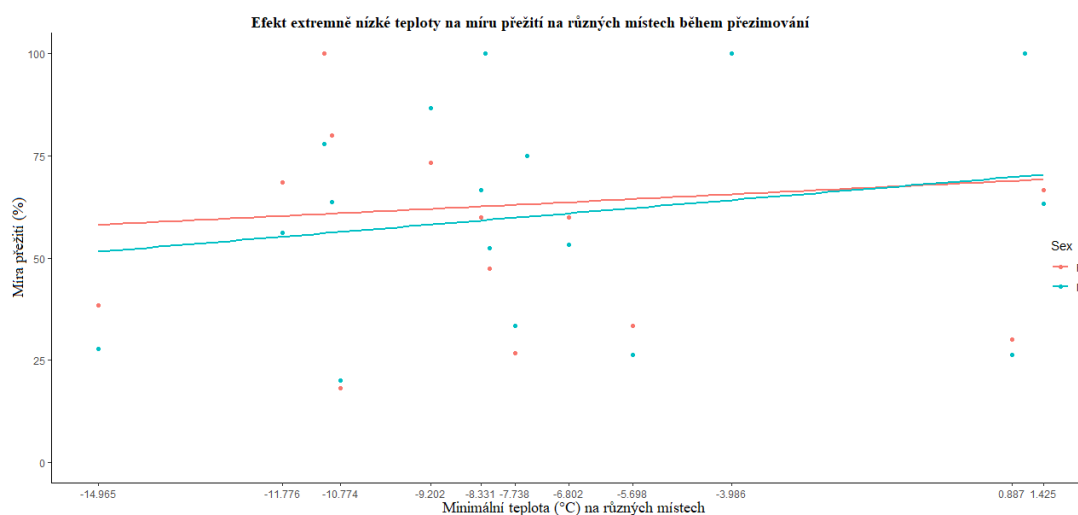
H<sub>0</sub> je zamítnuta, strukturní velikost těla *Harmonia axyridis* ovlivňuje úspěšnost přežití v zimním období

H<sub>0</sub> je zamítnuta, teplota ovlivňuje úspěšnost přežití u *Harmonia axyridis*

Přijetí H<sub>0</sub>, pohlaví neovlivňuje úspěšnost přežití *Harmonia axyridis*

## 6.1 Interakce mezi pohlavím

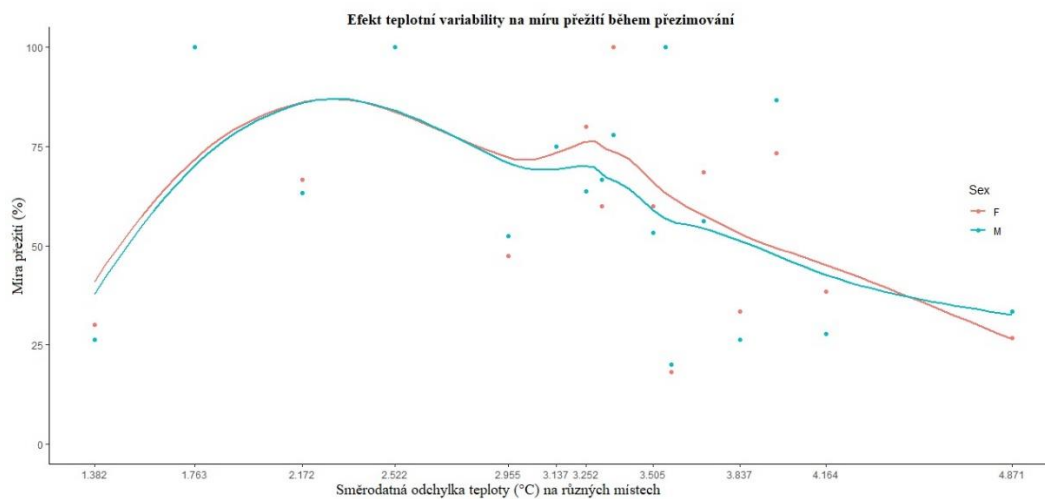
Graf znázorňuje interakci mezi pohlavími. Osa x představuje teplotní minimum v numerických hodnotách v reálných číslech. Osa y představuje procentuální přežití po zimním období. Z grafu lze vyčíst rozdílnou schopnost přežití mezi pohlavími v nejnižších teplotách. Se snižujícím teplotním minimem se lépe vypořádají samice než samci. Výsledek vyšel signifikantní (GLMM-binomial,  $F=9,084$ ;  $P<0,0027$ ).



Obrázek 2: Graf zobrazující závislost vysvětlujících proměnných. Vytvořeno v programu R pomocí balíčku ggplot 2 (R Core Team 2014)

## 6.2 Vliv měnící se teploty na přežití

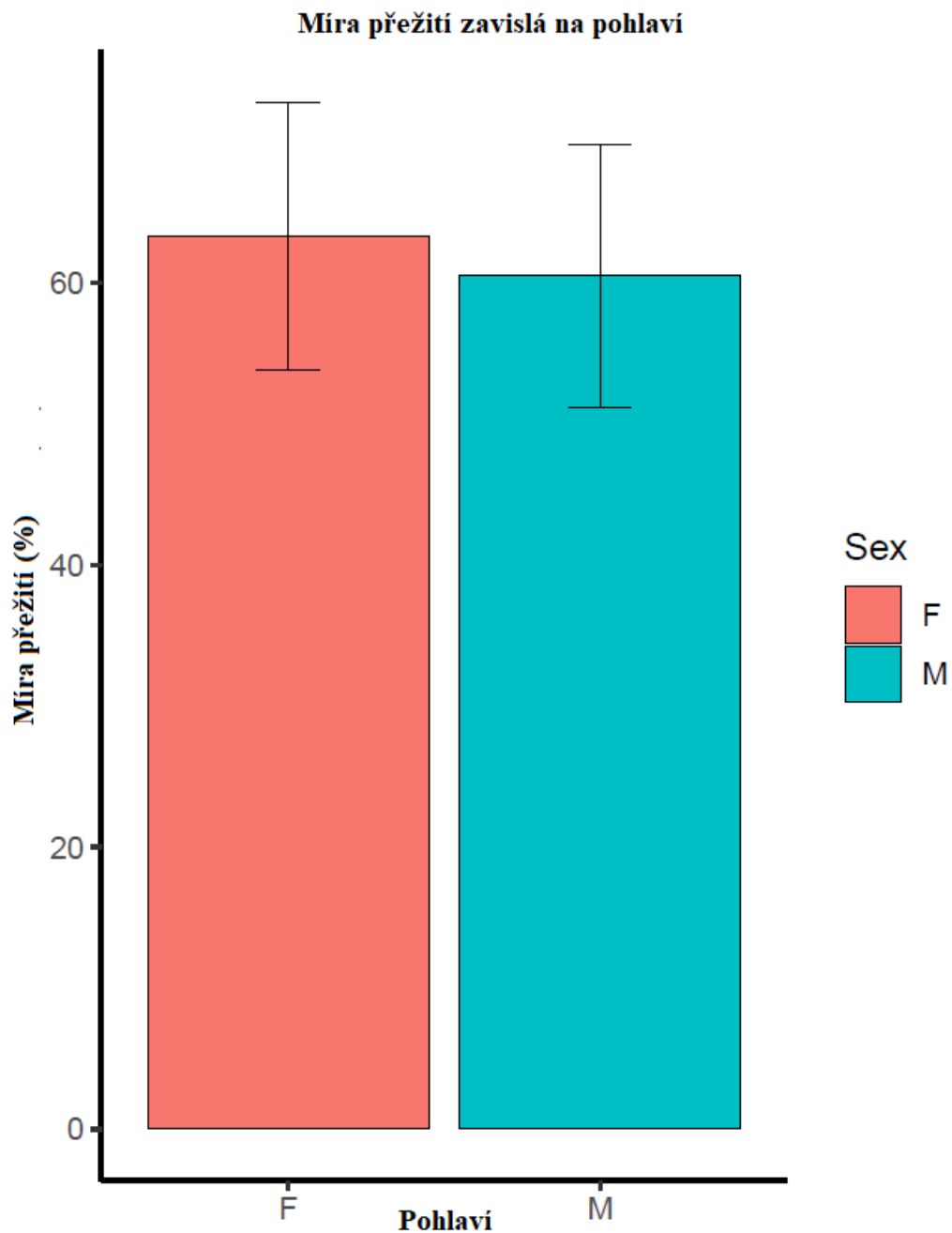
Data pro *Harmonia axyridis* z roku 2017/2018 a 2018/2019 ze všech lokalit. Samice mají lepší toleranci na měnící se teplotu okolo 3 °C. Křivky jednotlivých pohlaví se skoro kopírují. Výsledek vyšel signifikantně (GLMM-binomial,  $F=4.787; P<0,029$ ).



Obrázek 3: Graf znázorňující schopnost přežití na změně směrodatné odchylky teploty. Vytvořeno v programu R pomocí balíčku ggplot 2 (R Core Team 2014)

### 6.3 Schopnost přežití závislé na pohlaví

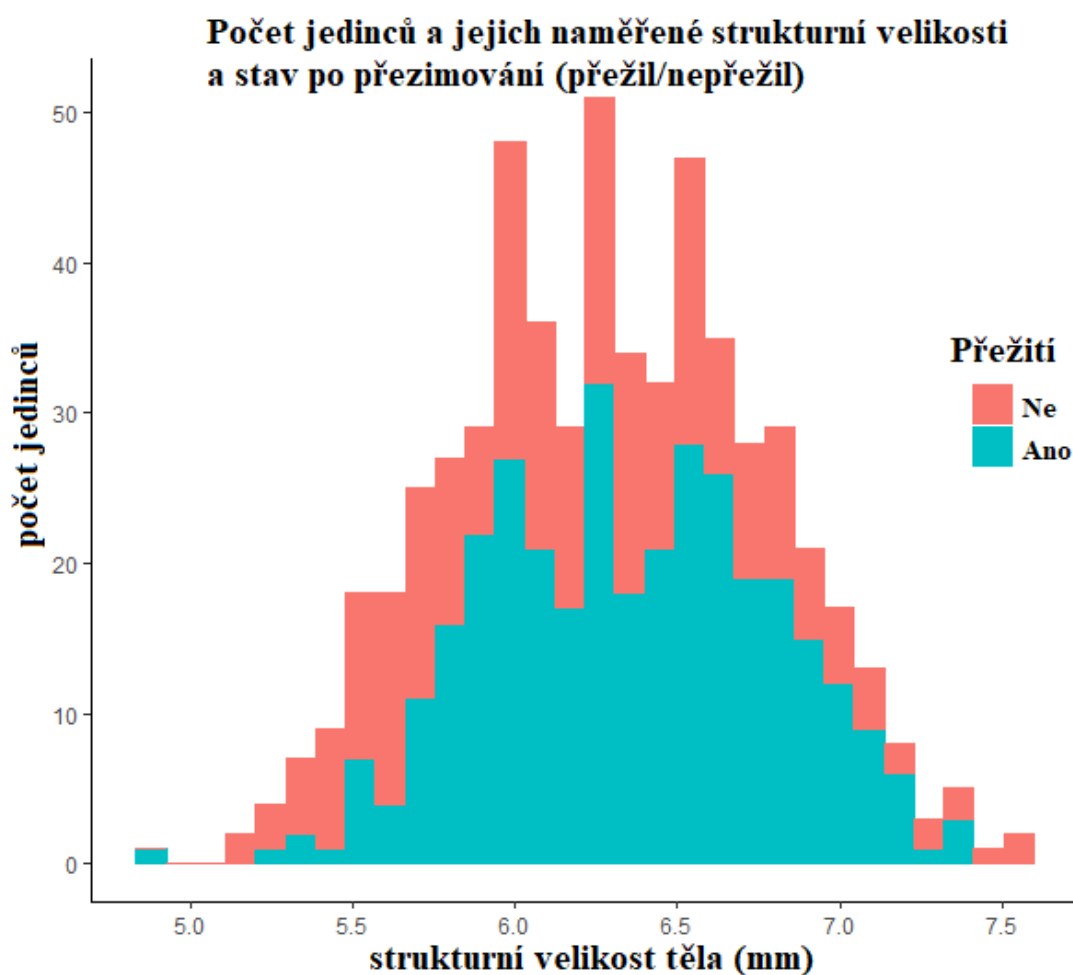
Rozdíl v přežití mezi samicí a samcem není významný. GLMM-binomial,  $F=0,6$ ;  $P > 0,387$ . Samotné pohlaví ovlivňuje délku jedince ( $P < 0,001$ ), ale na přežití nemá vliv.



Obrázek 4: Graf znázorňující celkovou schopnost přežití mezi pohlavími. Vytvořeno v programu R pomocí balíčku ggplot 2 (R Core Team 2014)

## 6.4 Vliv strukturní velikosti na přežití

Graf lze rozdělit na tři intervaly. První interval, který nabývá hodnot od 4,92 mm do 5,75 mm, se jeví jako neefektivní strukturní velikost pro přežití zimy. Počet jedinců v intervalu od 4,8 mm do 5,75 mm je 83. V tomto intervalu je větší míra úmrtí než přežití až na hodnotu 4,8 mm, kde byla větší vitalita než mortalita. Do dalšího intervalu jsem rozdělil jedince s velikostí od 5,75 mm do 7 mm. Tento interval se značí nižší mírou úmrtnosti a větší mírou přežitých jedinců. V části intervalu se míra úmrtí pohybuje do 40 %. Poslední interval jsem rozdělil od 7 mm do 7,59 mm. Tady až na výjimku platí, že míra úmrtí je větší než míra přežití.



Obrázek 5: Graf znázorňující vysvětlovanou schopnost přežití na vysvětlující strukturní velikosti těla. Vytvořeno v programu R pomocí balíčku ggplot 2 (R Core Team 2014)



## 7 Diskuse

Strukturní velikost těla je důležitým vysvětlujícím faktorem v říši hmyzu. Strukturní velikost těla je určena více faktory. Závisí na genetické informaci daného jedince, která musí být obohacována dostatečným množstvím ideálních abiotických a biotických faktorů (Harrison, Kaiser, and VandenBrooks 2010). Takto bohatá směs faktorů připraví daného jedince na přečkání nepříznivých období (například zimního období).

Velikost těla u hmyzu značí hojnost potravních zdrojů během jeho vývoje. Větší jedinec je schopen lépe snášet nepříznivé podmínky, jako je hladovění, tlak predace nebo přezimování (Steven L. Chown and Gaston 2010; Knapp 2016). V mé práci vyšla strukturní velikost těla signifikantní. Ovlivnila tedy silně přežití studovaných jedinců. Je tedy shodná s výsledky o velikosti ze studie z roku 2010 (Steven L. Chown and Gaston 2010). Zajímavý je interval velikostí od 7 do 7,6 mm, kde převládá mortalita nad vitalitou. Tento jev může být vysvětlen malým vzorkem jedinců s velikostí v tomto intervalu (počet jedinců v intervalu 7 do 7,6 mm:  $n=10$ ). Jiným vysvětlením může být vyplývání tukových zásob. Jedinec nebyl vystaven dostatečně nízké teplotě, takže neproběhla hluboká diapauza (Raak-Van Den Berg et al. 2013).

Teploty během zimního období nešlo řídit (ve studii byla snaha zajistit „přirozené“ podmínky pro přezimování sluníček napříč teplotním (výškovým) gradientem. Další abiotické faktory, jako je například vlhkost nebo množství a intenzita srážek také vycházely z reálných podmínek v daném mikrohabitatu. Větší vlhkost vzduchu tvoří větší obsah vody na povrchu přezimujících jedinců, což má za následek zamrznutí (Lidwien Raak-van den Berg et al. 2012). Důležité je zmínit, že v mém experimentu má každá lokalita, každé polopřirozené (vytvořené) stanoviště k přezimování odlišnou vlhkost, zástin či jiné množství a intenzitu srážek. Například není-li ideální vlhkost přezimovacího místa, dochází k útoku patogenů na hostitele. Jedná se o houby, viry a bakterie (Overgaard and MacMillan 2017). Přestože v mé bakalářské práci nebyla sledována vlhkost vzduchu, tak v pozdějších analýzách se data uplatní.

*Harmonia axyridis* migrují v početných skupinách a tvoří agregace například ve štěrbinách skal. Štěrbiny a různé pukliny ve skalách si *Haromie axyridis* vyhledávají nejčastěji orientované na jih, západ a jihozápad (Lidwien Raak-van

den Berg et al. 2012). Takto orientované úkryty si vybírají kvůli tomu, aby mohli vnímat změnu délky dne a noci a na jaře (snaha přejít urychleně ze stádia dormance do normálního stavu) (Raak-Van Den Berg et al. 2013). Naše vytvořená místa k přezimování nebyla vždy orientovaná pouze k východu. Některá místa mohla být po celou dobu přezimování v zástínu. Faktor světla mohl ovlivnit míru přežití zkoumané skupiny jedinců.

Ve studii (Berkvens, Bale, et al. 2010b) se zabývali přežitím a tolerancí *Harmonia axyridis* v Evropě. Ukázalo se, že *Harmonia axyridis* snese teplotu okolo 0 až 5 °C s mortalitou 50 % při době okolo čtyř měsíců. Výsledky studie se shodují s výsledky mého experimentu (ve dvanácti lokalitách ze sedmnácti). Mortalita je podobná nebo menší u stejných průměrných teplot v rozmezí od 0 až do 5 °C. (Tabulka 1). Na těchto lokalitách byla naměřená nízká minimální teplota, mohlo proto dojít ke zmrznutí organismu i přes kryoprotektanty. Dalším faktorem, který hraje významnou roli při přezimování a závisí i na velikosti je pohlaví. U *Harmonia axyridis* dochází k pohlavnímu dimorfismu, samička je zpravidla větší než sameček (Knapp 2014). Existuje názor, že samička je větší, aby si mohla uchovat více energie ve formě tukových zásob na reprodukční období (Knapp 2016). Ačkoliv v mojí práci míra přežití závisí na strukturní velikosti, tak vliv pohlaví se signifikantně neprokázal. Nezáleží tedy na pohlaví, ale na intervalech strukturních velikostí, do kterého se daný jedinec dostane. Pokud nezáleží na pohlaví, může přežívání záviset na řadě faktorů a interakcemi mezi těmito faktory. Míra přežití může například záviset na interakci pohlaví, vlhkosti a hmotnosti těla. Interakce nebyla v mojí práci zkoumána, ale může být vstupní branou pro příští studie (budoucí vědecký článek). Zajímavé je, že samice *Harmonia axyridis* lépe hospodaří s vodou v organismu. Při ukládání tuků je voda velmi důležitá a hmyz ji přijímá během období dormance z vlhkosti okolního vzduchu (Berkvens, Landuyt, et al. 2010). Podobný vztah mezi vlhkostí vzduchu a pohlavím může být také zajímavý pro zkoumání v dalších studiích.

Tukové zásoby získávají *Harmonia axyridis* z glukózy ve formě ovocné šťávy. Samice shromažďují vyšší objem tukových zásob než samci (Seko, Abe, and Miura 2019b). Energii takhle uschovanou samice využívá po celou dobu v diapauze až k reprodukčnímu cyklu (Knapp 2016). Velké množství tukových zásob přispívá k přežití nižších teplot. Jelikož hmyz využívá glycerol jako hlavní kryoprotektant

(Berkvens, Bale, et al. 2010b). Harmonie byli v experimentu krmeny pouhou bílkovinou stravou, mohlo proto u jedince dojít k vytvoření nízkého obsahu tuku. Nízký obsah tuku poté mohl být příčinou úmrtí. V studii z roku 2019 krmili dospělí jedince *Harmonia axyridis* vodou, cukrem a bílkovinou stravou po dobu 25-30 dní. Takto krmení jedinci byli schopni přežít 110 dní s 90 % úspěšností za teploty 5 °C (Sun et al. 2019). Podobným složením stravy by mohli být jedinci krmeni v následujících experimentech.

Zajímavá interakce je mezi pohlavím, velikostí těla a teplotou (Tsd). Zde můžeme vidět trend, kdy kombinace těchto tří prvků ovlivňuje míru přežití. Kromě velikosti těla, samo o sobě pohlaví ani teplota (Tsd) neovlivňuje míru přežití. Vysvětlením může být fakt, že samice u *Harmonia axyridis* snesou lépe nižší teplotu, kvůli většímu procentu tělesného tuku (Raak-Van Den Berg et al. 2013).

Všechny vzorky byly měřeny vlastní metodou, která se popisuje v kapitole 4.4 Měření strukturní velikosti těla. Metoda mohla zapříčinit drobné chyby v měření. Naměřená velikost vznikala úsečkou mezi dvěma body, které se nacházeli na břišní straně těla. Úsečka je část přímky mezi dvěma body. Vykreslovaná je ve 2D prostoru (Grundel and Overton 2014). Krovková část *Harmonia axyridis* je mírně zakulacená a vykreslovaná tedy ve 3D prostoru, mohlo dojít k různým záklonům buď k bodu A nebo k bodu B a tím se minimálně změnila velikost. Dále mohlo dojít k nepřesnému zvolení jednoho z bodů z důvodu poškození vzorku. Vzorek byl příliš vysušený, poškozený během přežívání nebo během transportu z lokality do laboratoře. Jedna experimentální krabice odcizena nebo ztracena ve sněhové pokrývce. V konečném důsledku se , ale jedná o efektivní, rychlou a systematickou metodu měření strukturní velikosti těla.

## 8 Závěr

V práci byl zkoumán vliv strukturní velikosti těla *Harmonia axyridis* v závislosti na přežívání během přezimování. Předpokládalo se, že jedinci s větší strukturní velikostí těla budou mít menší mortalitu než jedinci s menší velikostí těla. Během přezimování se mění teplota, která byla v experimentální části práce také analyzována. U teploty se také předpokládalo, že bude ovlivňovat schopnost přežití.

Ze statistické analýzy výsledků vyšla strukturní velikost těla signifikantní, takže ovlivňuje schopnost přežití během zimy. Efektivní velikost se zdá být od 5,75 mm do 7 mm. Velikost mimo tento interval má příliš malý počet jedinců nebo se mortalita pohybovala nad 55 %.

Slunéčko východní (*Harmonia axyridis*) patří k druhům, které netolerují zmrznutí. Přesto dokáže přežít ve velmi nízkých teplotách, především z důvodu vytvoření početných agregací na vhodném místě. V mojí práci se slunéčka musela vypořádat s různou škálou teplot. Variabilitu teplot zajišťovali lokality s odlišnými nadmořskými výškami.

Přežití je velmi často ovlivňováno také pohlavím. U slunéčka východního se vyskytuje pohlavní dimorfismus. Samička je průměrně větší než sameček. Z analýzy dat nevyšlo pohlaví signifikantně. Proto není pro úspěšné přezimování důležité, jestli jste sameček nebo samička.

Odlišnost této studie od dřívějších počínala v různorodosti abiotických faktorů na daných lokalitách. Lokality měly odlišné teplotní průměry, vlhkost, zástin nebo intenzitu srážek či velikost sněhové pokrývky. Výhodou této studie byl výsledek, že *Harmonia axyridis*, jako invazivní druh slunéčka, se dokáže vypořádat právě z různorodostí teplot. Další odlišností této studie je odchyt jedinců z volné přírody. Experiment byl více přiblížen k přirozenému přezimování *Harmonia axyridis*. Studie úspěšně prokázala skvělé přizpůsobení *Harmonia axyridis* na škálu různorodých abiotických faktorů. Všechny dosud uvedené informace vytvářejí z *Harmonia axyridis* velmi úspěšný invazivní druh, který se vhodně adaptoval na střeoevropské klima.

## 9 Přehled použité literatury a zdrojů

- Berkvens, Nick, Jeffrey S. Bale, Dirk Berkvens, Luc Tirry, and Patrick De Clercq. 2010a. “Cold Tolerance of the Harlequin Ladybird *Harmonia Axyridis* in Europe.” *Journal of Insect Physiology* 56 (4): 438–44. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.11.019>.
- . 2010b. “Cold Tolerance of the Harlequin Ladybird *Harmonia Axyridis* in Europe.” *Journal of Insect Physiology* 56 (4): 438–44. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.11.019>.
- Berkvens, Nick, Carmen Landuyt, Koen Deforce, Dirk Berkvens, Luc Tirry, and Patrick de Clercq. 2010. “Alternative Foods for the Multicoloured Asian Lady Beetle *Harmonia Axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae).” *European Journal of Entomology* 107 (2): 189–95. <https://doi.org/10.14411/eje.2010.025>.
- Buxton, Rachel T., Megan F. McKenna, Mary Clapp, Erik Meyer, Erik Stabenau, Lisa M. Angeloni, Kevin Crooks, and George Wittemyer. 2018. “Efficacy of Extracting Indices from Large-Scale Acoustic Recordings to Monitor Biodiversity.” *Conservation Biology* 32 (5): 1174–84. <https://doi.org/10.1111/cobi.13119>.
- CaraDonna, Paul J., James L. Cunningham, and Amy M. Iler. 2018. “Experimental Warming in the Field Delays Phenology and Reduces Body Mass, Fat Content and Survival: Implications for the Persistence of a Pollinator under Climate Change.” *Functional Ecology* 32 (10): 2345–56. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13151>.
- Chown, S. L., E. Marais, J. S. Terblanche, C. J. Klok, J. R.B. Lighton, and T. M. Blackburn. 2007. “Scaling of Insect Metabolic Rate Is Inconsistent with the Nutrient Supply Network Model.” *Functional*

*Ecology* 21 (2): 282–90. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01245.x>.

Chown, Steven L., and Kevin J. Gaston. 2010. “Body Size Variation in Insects: A Macroecological Perspective.” *Biological Reviews* 85 (1): 139–69. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2009.00097.x>.

Durak, Roma. 2014. “The Overwintering Strategy of the Anholocyclic Aphid *Cinara Tujafilina*.” *Physiological Entomology* 39 (4): 313–21. <https://doi.org/10.1111/phen.12077>.

Durieux, Delphine, Axel Vandereycken, Emilie Joie, Eric Haubruge, and J Verheggen. 2015. “Agregační Chování *Harmonia Axyridis* Za Zimních Podmínek,” 670–78.

*Ecology and Behaviour of The*. n.d.

Grundel, Sara, and Michael L. Overton. 2014. “Variational Analysis of the Spectral Abscissa at a Matrix with a Nongeneric Multiple Eigenvalue.” *Set-Valued and Variational Analysis* 22 (1): 19–43. <https://doi.org/10.1007/s11228-013-0234-7>.

Haelewaters, Danny, André De Kesel, and Donald H. Pfister. 2018. “Integrative Taxonomy Reveals Hidden Species within a Common Fungal Parasite of Ladybirds.” *Scientific Reports* 8 (1): 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34319-5>.

Hallmann, Caspar A., Martin Sorg, Eelke Jongejans, Henk Siepel, Nick Hofland, Heinz Schwan, Werner Stenmans, et al. 2017. “More than 75 Percent Decline over 27 Years in Total Flying Insect Biomass in Protected Areas.” *PLoS ONE* 12 (10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185809>.

Harrison, Jon F., Alexander Kaiser, and John M. VandenBrooks. 2010.

- “Atmospheric Oxygen Level and the Evolution of Insect Body Size.” *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277 (1690): 1937–46. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0001>.
- Harvey, Deborah J., and Alan C. Gange. 2006. “Size Variation and Mating Success in the Stag Beetle, *Lucanus Cervus*.” *Physiological Entomology* 31 (3): 218–26. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2006.00509.x>.
- Hodek, Ivo, Helmut F. van Emden, and Alois Honěk. 2012. “Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae).” *Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae)*. <https://doi.org/10.1002/9781118223208>.
- Holecová, Milada, Peter Zach, Katarína Hollá, Miroslava Šebestová, Mária Klesniaková, Anna Šestáková, Alois Honěk, et al. 2018. “Overwintering of Ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) on Scots Pine in Central Europe.” *European Journal of Entomology* 115: 658–67. <https://doi.org/10.14411/EJE.2018.065>.
- Hyršl, Pavel. 2018. “Imunita-Hmyzu-a-Dalsich-Bezobratlych-Zivocichu-1,” 32–34.
- Knapp, Michal. 2014. “Emergence of Sexual Size Dimorphism and Stage-Specific Effects of Elevated Temperature on Growth Rate and Development Rate in *Harmonia Axyridis*.” *Physiological Entomology* 39 (4): 341–47. <https://doi.org/10.1111/phen.12079>.
- . 2016. “Relative Importance of Sex, Pre-Starvation Body Mass and Structural Body Size in the Determination of Exceptional Starvation Resistance of *Anchomenus Dorsalis* (Coleoptera: Carabidae).” *PLoS ONE* 11 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151459>.

- Knapp, Michal, and Oldřich Nedvěd. 2013. “Gender and Timing during Ontogeny Matter: Effects of a Temporary High Temperature on Survival, Body Size and Colouration in *Harmonia Axyridis*.” *PLoS ONE* 8 (9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074984>.
- Kodrík, Dalibor. 2004. “Fyziologie Hmyzu,” 1–220.
- Koštál, Vladimír. 2006. “Eco-Physiological Phases of Insect Diapause.” *Journal of Insect Physiology* 52 (2): 113–27. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.09.008>.
- Kub, Alena. 2017. “Entomopatogenní Houby – Nerovný Souboj.”
- Lidwien Raak-van den Berg, C., Jeltje M. Stam, Peter W. De Jong, Lia Hemerik, and Joop C. van Lenteren. 2012. “Winter Survival of *Harmonia Axyridis* in The Netherlands.” *Biological Control* 60 (1): 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.10.001>.
- Markkula, Inkeri, M. Turunen, and S. Rasmus. 2019. “A Review of Climate Change Impacts on the Ecosystem Services in the Saami Homeland in Finland.” *Science of the Total Environment* 692: 1070–85. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.272>.
- Meyer, Gretchen A., Joseph A. Senulis, and James A. Reinartz. 2016. “Effects of Temperature and Availability of Insect Prey on Bat Emergence from Hibernation in Spring.” *Journal of Mammalogy* 97 (6): 1623–33. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw126>.
- Overgaard, Johannes, and Heath A. MacMillan. 2017. “The Integrative Physiology of Insect Chill Tolerance.” *Annual Review of Physiology* 79 (1): 187–208. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034142>.
- Raak-Van Den Berg, C. Lidwien, Peter W. De Jong, Lia Hemerik, and



- Joop C. Van Lenteren. 2013. “Diapause and Post-Diapause Quiescence Demonstrated in Overwintering *Harmonia Axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) in Northwestern Europe.” *European Journal of Entomology* 110 (4): 585–91. <https://doi.org/10.14411/eje.2013.079>.
- Roy, Helen E., Peter M.J. Brown, Tim Adriaens, Nick Berkvens, Isabel Borges, Susana Clusella-Trullas, Richard F. Comont, et al. 2016. “The Harlequin Ladybird, *Harmonia Axyridis*: Global Perspectives on Invasion History and Ecology.” *Biological Invasions* 18 (4): 997–1044. <https://doi.org/10.1007/s10530-016-1077-6>.
- Sánchez-Bayo, Francisco, and Kris A.G. Wyckhuys. 2019. “Worldwide Decline of the Entomofauna: A Review of Its Drivers.” *Biological Conservation* 232 (September 2018): 8–27. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020>.
- Schowalter, T D. 2011. *Insect Ecology: An Evolutionary Approach*. <http://books.google.co.za/books?id=2KzokTLIysQC&pg=PA360&dq=effects+of+herbivory+on+ecosystem+processes&hl=en&sa=X&ei=YQpqU5C5KI fG7AaWrIGoCw&ved=0CDcQ6AEwAg#v=onepage&q=herbivory&f=false>.
- Schowalter, Timothy D. 2016. *Insect Ecology: An Ecosystem Approach: Fourth Edition*. *Insect Ecology: An Ecosystem Approach: Fourth Edition*.
- Seko, Tomokazu, Junichiro Abe, and Kazuki Miura. 2019a. “Effect of Supplementary Food Containing *Artemia Salina* on the Development and Survival of Flightless *Harmonia Axyridis* in Greenhouses.” *BioControl* 64 (3): 333–41. <https://doi.org/10.1007/s10526-019-09935-3>.

- . 2019b. “Effect of Supplementary Food Containing *Artemia Salina* on the Development and Survival of Flightless *Harmonia Axyridis* in Greenhouses.” *BioControl* 64 (3): 333–41.  
<https://doi.org/10.1007/s10526-019-09935-3>.
- Sinclair, Brent J., A. Addo-Bediako, and Steven L. Chown. 2003. “Climatic Variability and the Evolution of Insect Freeze Tolerance.” *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 78 (2): 181–95. <https://doi.org/10.1017/S1464793102006024>.
- Šrámek, Petr. 2006 “A Jiní Hmyzí Otužilci,” 78–80.
- Sun, Yuan Xing, Ya Nan Hao, Chang Zhong Liu, and Sen Shan Wang. 2019. “Artificial Diet Is Fruitful Pre-Storage Nutrition for Long-Term Cold Storage of Laboratory-Reared *Harmonia Axyridis* (Pallas) Adults.” *Biological Control* 139.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104075>.
- Tayeh, Ashraf, Ruth A. Hufbauer, Arnaud Estoup, Virginie Ravigné, Léa Frachon, and Benoit Facon. 2015. “Biological Invasion and Biological Control Select for Different Life Histories.” *Nature Communications* 6. <https://doi.org/10.1038/ncomms8268>.
- Toprak, Umut, Dwayne Hegedus, Cansu Doğan, and Gözde Güney. 2020. “A Journey into the World of Insect Lipid Metabolism.” *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, no. April: e21682.  
<https://doi.org/10.1002/arch.21682>.
- Unterweger, Philipp Andreas, Jorinde Klammer, Manuela Unger, and Oliver Betz. 2018. “Insect Hibernation on Urban Green Land: A Winter-Adapted Mowing Regime as a Management Tool for Insect Conservation.” *BioRisk* 2018 (13): 1–29.  
<https://doi.org/10.3897/biorisk.13.22316>.

“Winter Ecology Teacher ’ s Guide.” 2010 Thanks to all of the Glacier National Park Education Rangers and Interpretive Staff for help with this guide. It is a work in progress. Please direct corrections, comments, or additions to Laura Law, 888-5837, [laura\\_law@nps.gov](mailto:laura_law@nps.gov). Cover artwork is by Robin Peterson and is available as a color poster through the Glacier Natural History Association, 406-888-5756.

Xiao, Haijun, Junhui Chen, Liyuan Chen, Chao Chen, and Shaohui Wu. 2017. “Exposure to Mild Temperatures Decreases Overwintering Larval Survival and Post-Diapause Reproductive Potential in the Rice Stem Borer *Chilo Suppressalis*.” *Journal of Pest Science* 90 (1): 117–25. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0769-0>.

## 10 Přílohy

### Seznam příloh:

**Příloha 1:** Aparatura na měření (od firmy ZEN)

**Příloha 2:** Funkční krabička sloužící k přezimování

**Příloha 3:** Napodobení přirozeného zimoviště *Harmonia axyridis*

**Příloha 4:** Graf znázorňující úspěšnost přezimování mezi samcem a samici na různých lokalitách v roce 2018

**Příloha 5:** Graf znázorňující úspěšnost přezimování mezi samcem a samici na různých lokalitách v roce 2019



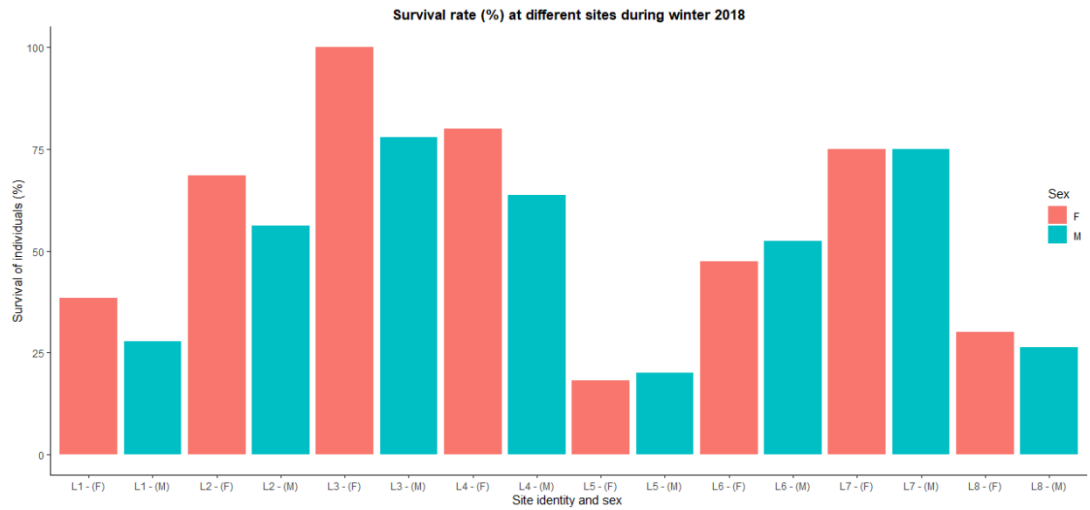
**Příloha 1:** Aparatura na měření (od firmy ZEN)



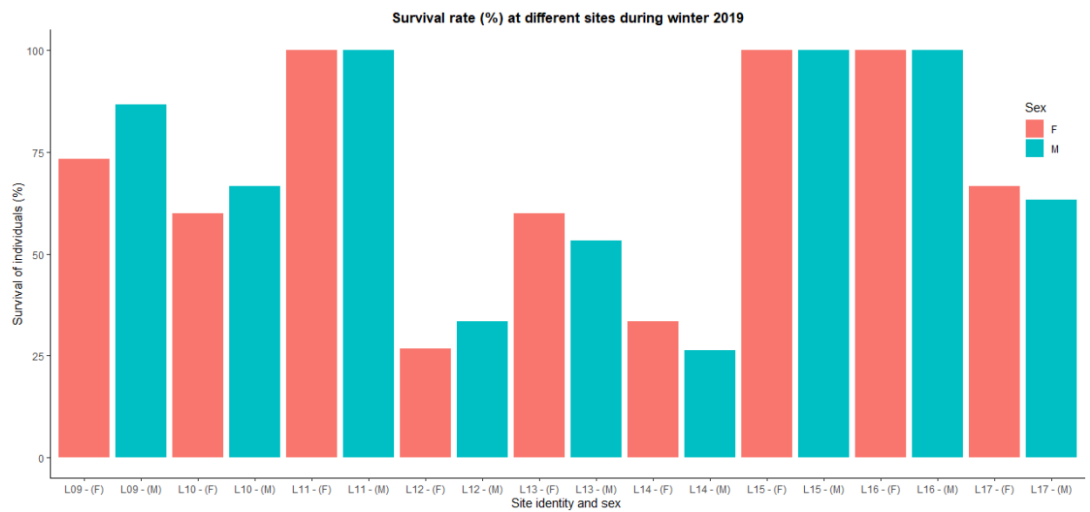
**Příloha 2:** Funkční krabička sloužící k přezimování



**Příloha 3:** Napodobení přirozeného zimoviště *Harmonia axyridis*



**Příloha 4:** Graf znázorňující úspěšnost přezimování mezi samcem a samici na různých lokalitách v roce 2018



**Příloha 5:** Graf znázorňující úspěšnost přezimování mezi samcem a samici na různých lokalitách v roce 2019