

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA EKOLOGIE



Faktory ovlivňující odolnost hmyzu vůči extrémním teplotám: jak parazitické houby ovlivňují slunéčka

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

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

Konzultant: David Neil Awde, Ph.D.

Bakalant: Klára Vaněčková

2023

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Klára Vaněčková

Aplikovaná ekologie

Název práce

Faktory ovlivňující odolnost hmyzu vůči extrémním teplotám: jak parazitické houby ovlivňují slunéčka

Název anglicky

Factors affecting insect tolerance to extreme temperature: the case of ladybirds and their parasitic fungi

Cíle práce

Hlavním cílem bakalářské práce bude vypracovat rešeršní část popisující odolnost hmyzu vůči extrémním teplotám. Navazujícím cílem bude realizovat experiment zkoumající, jak infekce ektoparazitickou houbou ovlivňuje odolnost slunéček východních (*Harmonia axyridis*) vůči teplotnímu stresu.

Metodika

Literární rešerše bude provedena na základě dohledání relevantních článků v databázi Web of Science. Rešerše bude obsahovat obecné informace o odolnosti hmyzu vůči extrémním teplotám, metodické informace, jak tuto odolnost měřit a možné faktory, které odolnost hmyzu ovlivňují. Detailněji bude pojata kapitola popisující, jak je odolnost hmyzu vůči extrémním teplotám ovlivněna patogeny a parazity.

Experimentální část práce bude zkoumat vliv ektoparazitické houby *Hesperomyces harmoniae* na teplotní odolnost slunéčka východního *Harmonia axyridis*. Laboratorní měření bude provedeno opakovaně v létě a na podzim (před přezimováním slunéček), přičemž vždy budou porovnávána slunéčka zdravá a infikovaná. Měřena bude odolnost vůči nízkým teplotám (chill coma temperature) i vůči vysokým teplotám (heat knock down time). Analyzován bude i vliv vážnosti infekce vyjádřený jako počet plodnic *Hesperomyces harmoniae* vyvinutých na těle daného slunéčka.

Doporučený rozsah práce

cca 30 stran textu + přílohy

Klíčová slova

ekofyziologie, *Harmonia axyridis*, *Hesperomyces harmoniae*, preferovaná teplota, přežívání, teplotní biologie

Doporučené zdroje informací

- Hector, TE; Hoang, KL; Li, JD; King, KC (2022) Symbiosis and host responses to heating. *TRENDS IN ECOLOGY & EVOLUTION* 37: 611-624.
- Litchman, E; Thomas, MK (2023) Are we underestimating the ecological and evolutionary effects of warming? Interactions with other environmental drivers may increase species vulnerability to high temperatures. *OIKOS* (in press)
- Porras, MF; Navas, CA; Marden, JH et al. (2020) Enhanced heat tolerance of viral-infected aphids leads to niche expansion and reduced interspecific competition. *NATURE COMMUNICATIONS* 11: 1184.
- Rangel, DEN; Fernandes, EKK; Dettenmaier, SJ; Roberts, DW (2010) Thermotolerance of germlings and mycelium of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium* spp. and mycelial recovery after heat stress. *JOURNAL OF BASIC MICROBIOLOGY* 50: 344-350.
- St Leger, RJ (2021) Insects and their pathogens in a changing climate. *JOURNAL OF INVERTEBRATE PATHOLOGY* 184: 107644.

Předběžný termín obhajoby

2022/23 LS – FŽP

Vedoucí práce

doc. Ing. Michal Knapp, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Elektronicky schváleno dne 24. 3. 2023

prof. Mgr. Bohumil Mandák, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 24. 3. 2023

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 25. 03. 2023

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: Faktory ovlivňující odolnost hmyzu vůči extrémním teplotám: jak parazitické houby ovlivňují slunéčka vypracovala samostatně a citovala jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použila, a které jsem rovněž uvedla na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů. Jsem si vědoma, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, především ustanovení § 35 odst. 3 tohoto zákona, tj. o užití tohoto díla.

Jsem si vědoma, že odevzdáním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a to i bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Svým podpisem rovněž prohlašuji, že elektronická verze práce je totožná s verzí tištěnou a že s údaji uvedenými v práci bylo nakládáno v souvislosti s GDPR.

V Praze dne 2023

.....

(podpis autora práce)

Poděkování

Ráda bych na tomto místě poděkovala vedoucímu práce doc. Ing. Michalu Knappovi, Ph.D. za jeho vstřícnost, trpělivost během poskytování odborných rad a pozitivní přístup k práci. Dále děkuji David Neil Awde, Ph.D za pomoc během provádění experimentální části práce a jeho cenné rady. V neposlední řadě bych ráda poděkovala rodině za její podporu a trpělivost během mého studia.

Abstrakt

Extrémní teplotní podmínky prostředí jsou jedny z nejdůležitějších environmentálních faktorů ovlivňující přežívání hmyzu. Teplota zažitá během života zásadně ovlivňuje jeho fyziologii, ekologii, chování a z dlouhodobého pohledu i evoluční adaptace hmyzu. Schopnost jednotlivců reagovat na nepříznivé podmínky prostředí, jako je tepelný stres, je navíc vysoce důležitá pro přizpůsobení se probíhajícím změnám klimatu včetně globálního oteplování.

Ve své bakalářské práci jsem zkoumala vliv parazitické houby *Hesperomyces harmoniae* na odolnost slunéček vůči nízké a vysoké teplotě. Jako modelový druh jsem použila invazní slunéčko východní, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). U brouků jsem měřila jejich heat knockdown time (čas, kdy jedinec dosáhne svého teplotního maxima a přestane se hýbat) a chill coma temperature (teplota, při které se jedinec dostane do komatózního stavu, projevuje se úplným zastavením pohybu). Měření proběhla opakovaně ve dvou fenologicky odlišných částech roku: 1) v létě během vrcholu vegetační sezóny a 2) během podzimních migrací na zimoviště, tedy v období, kdy se slunéčka chystají vstoupit do zimní diapauzy.

Ve své práci jsem potvrdila, že parazitická houba *Hesperomyces harmoniae* má průkazný vliv na teplotní toleranci slunéček. Infikovaní jedinci měli vyšší chill coma temperature (a tedy nižší toleranci pro extrémně nízké teploty), než jedinci neinfikovaní. Naopak heat knockdown time (tedy tolerance pro extrémně vysoké teploty) se mezi infikovanými a neinfikovanými jedinci nelišila. Z výsledků dále vyplynulo, že nejen výskyt ektoparazitické houby *Hesperomyces harmoniae*, ale i velikost těla a sezóna mají vliv na odolnost slunéček vůči extrémně nízkým teplotám, přičemž tato odolnost byla vyšší na podzim než v létě a klesala s velikostí těla jedince. Odolnost slunéček vůči vysokým teplotám byla vyšší v létě než na podzim a vyšší pro samečky než pro samičky.

Klíčová slova

Ekofyziologie, *Harmonia axyridis*, *Hesperomyces harmoniae*, preferovaná teplota, přežívání, teplotní biologie

Abstract

Extreme temperature conditions are one of the most important environmental factors affecting insect survival. The temperature experienced during life fundamentally changes the physiology, ecology, behavior and, from a long-term perspective, the evolutionary adaptation of an insect. In addition, the ability of individuals to respond to adverse environmental conditions such as heat stress is very important for adapting to ongoing climate changes, including global warming.

In my bachelor's thesis, I investigated the effect of a parasitic fungus, *Hesperomyces harmoniae*, on the resistance of ladybugs to low and high temperatures. I used the invasive eastern ladybug, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) as a model species. In the case of beetles, I measured their heat knockdown time (the time when an individual reaches stops moving after exposure to an extreme high temperature) and chill coma temperature (the temperature at which an individual stops moving and falls into a comatose state). Measurements were carried out repeatedly in two phenologically different parts of the year: 1) in summer during the peak of the growing season and 2) during autumn migrations to the wintering grounds, i.e. in the period when ladybirds are about to enter winter diapause.

In my work, I confirmed that the parasitic fungus *Hesperomyces harmoniae* has a demonstrable effect on the temperature tolerance of ladybugs. Infected individuals had higher chill coma temperatures (and thus lower tolerance for cold temperatures) than uninfected individuals. On the contrary, heat knockdown time (i.e., tolerance for extremely high temperatures) did not differ between infected and uninfected individuals. The results also showed that body size and season have an effect on the resistance of ladybirds to extremely low temperatures; resistance was higher in autumn than in summer and decreased with the body size of the individual. Resistance to high temperatures was higher in summer than in autumn for males than for females.

Keywords

Ecophysiology, *Harmonia axyridis*, *Hesperomyces harmoniae*, preferred temperature, survival, thermal biology

Obsah

1	Cíl práce.....	9
2	Úvod do problematiky extrémních teplot	9
2.1	Vysoké teploty	10
2.2	Nízké teploty	11
2.3	Diapauza.....	13
2.4	Estivace	14
3	Faktory ovlivňující tělesnou teplotu a odolnost hmyzu.....	14
3.1	Termoregulace	14
3.1.1	Behaviorální termoregulace.....	15
3.1.2	Fyziologická termoregulace	15
3.2	Vliv teploty na život hmyzu	16
3.2.1	Adaptace na nízké teploty.....	16
3.2.2	Adaptace na vysoké teploty.....	18
3.3	Biotické faktory	18
3.4	Abiotické faktory	19
3.5	Vztah mezi teplotním stresem a adaptací	20
3.6	Změna tolerance extrémních teplot v důsledku přítomnosti parazitů a patogenů.....	21
3.6.1	Behavioral fever	23
4	Metodika experimentální části bakalářské práce	23
4.1	Studovaný organismus – Slunéčko východní (<i>Harmonia axyridis</i>)	23
4.1.1	Charakteristika čeledi Coccinellidae	23
4.1.2	Charakteristika zkoumaného druhu.....	24
4.1.3	Invaznost slunéčka <i>Harmonia axyridis</i>	25
4.2	Parazitická houba <i>Hesperomyces harmoniae</i>	25
4.3	<i>Harmonia axyridis</i> jako hostitel parazitické houby <i>Hesperomyces harmoniae</i>	26
4.4	Popis experimentu	27
4.4.1	Popis odchyty a péče o jedince.....	28
4.4.2	Specifika měření.....	29
4.4.3	Analýza dat.....	31
5	Výsledky	32
6	Diskuse	36
7	Závěr.....	39
8	Použitá literatura	40
9	Přílohy	46

1 Cíl práce

Cílem první části bakalářské práce je vytvořit literární rešerši o faktorech ovlivňující odolnost hmyzu vůči extrémním teplotám a jeho odpověď v podobě adaptací na tyto stresové faktory.

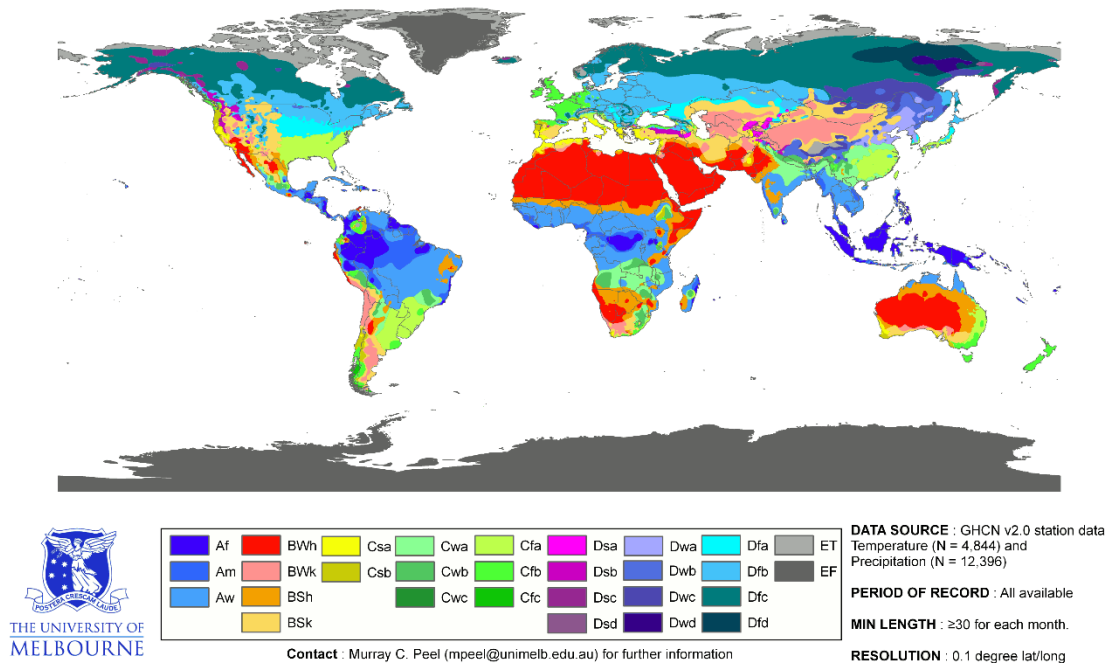
Cílem praktické části bakalářské práce je zrealizovat experiment, kdy bude měřeno, jak parazitická houba *Hesperomyces harmoniae* ovlivňuje infikované jedince slunéčka *Harmonia axyridis* z pohledu jejich odolnosti vůči extrémním teplotám (heat knockdown time a chill coma temperature). Vyhodnocen bude rozdíl mezi odolností infikovaných a neinfikovaných jedinců a dále bude analyzován vliv velikosti těla, pohlaví jedince a sezóny (léto vs. podzim).

2 Úvod do problematiky extrémních teplot

Oteplování, nejvýznamnější aspekt globální změny životního prostředí, již ovlivňuje většinu ekosystémů na Zemi. Globální oteplování zvyšuje pravděpodobnost extrémních klimatických událostí, jako je sucho a vlny veder (Drijfhout et al., 2015). Předpovídání vlivu teploty na dynamiku a distribuci hmyzu nyní i v budoucnu vyžaduje podrobné pochopení vztahu mezi teplotou a výkonem hmyzu.

Klimatické podmínky v suchozemských biotopech napříč světem mohou být klasifikovány podle Köppenova systému. Tento systém zahrnuje letní i zimní podnebí, která jsou rozdělena do pěti klasifikačních skupin světového klimatu. Köppenův systém poskytuje pohled na světové podnebí použitelný i z hlediska přezimujícího hmyzu (Peel et al., 2007).

World map of Köppen-Geiger climate classification



Obrázek 1: Schématické znázornění teplotního klima světa podle Köppenova systému, kde je stanoveno 5 hlavních klimatických pásem s 11 základními klimatickými typy. Klimatická pásma jsou značeny velkými písmeny: A (tropy), B (aridní podnebí), C (mírné podnebí), D (boreální podnebí), E (studené podnebí). Zdroj: Peel et al., 2007.

2.1 Vysoké teploty

Většina hmyzu zažije teplotní výkyvy, které mohou zapříčinit subletální či letální poranění způsobené extrémně vysokými teplotami. Tyto teploty ovlivňují fyziologické procesy uvnitř jedince, ale i fungování celých ekosystémů. Časté extrémně vysoké teploty mohou dokonce u hmyzu vést k adaptivní evoluci (Kearney et al., 2009).

Díky globální změně klimatu podstatně roste i frekvence výskytu extrémně vysokých teplot, a i maximální dosažené teploty se budou v budoucnu neustále zvyšovat.

Schopnost hmyzu reagovat na teplotní extrémny je ovlivněna tím, zda byl jedinec v období vývoje vystaven teplotním extrémům. Například, hmyz více toleruje vysoké teploty, když byl v minulosti již vystaven na krátké období vysoké teplotě (Colinet et al., 2015). V důsledku toho má výskyt teplotních extrémů z kraje vegetační sezóny větší následky na hmyz než extrémny vyskytující se později v sezóně.

Citlivost hmyzu na klimatické změny se může lišit mezi hmyzem žijícím v mírném a tropickém pásu. Bozinovic et al. (2011) navrhli hypotézu proměnlivosti klimatu (climate variability hypothesis), podle které existuje pozitivní vztah mezi

šířkou termální tolerance organismu a úrovní klimatické variability, která se zvyšuje s rostoucí zeměpisnou šířkou. Z toho vyplývá, že druhy mírného podnebí budou odolnější vůči teplotním extrémům než druhy tropické. Většina živočichů mírného pásu je dobře přizpůsobená sezónním změnám teploty (teplé léto, studená zima), což se odráží do jejich životního cyklu, který je úzce spjatý se sezónními změnami teplot. Hmyz tropického podnebí je citlivý jak na teplotní extrémy, tak na dlouhodobější oteplování. Teploty tropického podnebí jsou relativně stabilní v čase (Colinet et al., 2015). Proto tropický hmyz synchronizuje svůj životní cyklus podle množství srážek, období sucha a dešťů než podle teploty. Je důležité zmínit, že tropické druhy žijí blízko svých teplotních limitů a jsou tak náchylné i na mírné oteplení (Lister & Garcia, 2018).

Reakcí na extrémní teploty může být snížení fyzické aktivity hmyzu, vyhledávání chladnějšího mikroklima, například zahrabání se do půdy, nebo přemístění do nižších částí jejich živných rostlin, kde dochází k menšímu teplotnímu stresu (Hemmings & Andrew, 2017).

Druhy vyskytující se v boreálních a polárních oblastech nejsou vystaveny vysokým teplotám natolik, aby mohli pocítit teplotní stres jimi způsobený. Polární druhy mají relativně vysoké kritické teplotní maximum (CT_{max}), které není moc proměnlivé napříč druhy.

2.2 Nízké teploty

Přezimující hmyz se musí vyvarovat poranění a úhynu v důsledku zmražení tělních tekutin a metabolických narušení plynoucích z vystavením se nízkým teplotám. Hmyz se adaptoval a vyvinul behaviorální strategie, kterými umí zmírnit škodlivé účinky nízkých teplot prostředí (Danks, 1996).

Nízké teploty mohou u hmyzu způsobit poranění dvěma různými způsoby, jednak zranění související s mrazem a dále nemrzoucí metabolické poškození (non-freezing metabolic injury). Formování ledových krystalků v tělních tkáních může způsobit fyzické zranění, ale i metabolické poškození, jako je například osmotický stres a anoxie, také ovlivňuje přežívání (Storey & Storey, 1987).

Pro klasifikaci zimního podnebí používáme hlavní klimatické zóny: tropickou, subtropickou, mírnou, boreální a polární. Zimní podnebí suchých oblastí jsou chladnější, rozdíly mezi dnem a nocí jsou větší než ve vlhčích oblastech ve stejné zóně.

Zóny zimního podnebí se liší stupněm a trváním stresu, který působí na přezimující hmyz. Hmyz, který je napřímo vystavený velmi nízkým teplotám vzduchu, například až $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, je ve větším teplotnímu stresu. Ne všichni hmyz přezimuje na stanovištích, které jsou napřímo vystaveny teplotě vzduchu. Zdržují se na stanovištích, na kterých je stupeň trvání chladných teplot mírnější díky menšímu vystavení okolnímu prostředí. Vliv zde má topografický a vegetativní efekt, oslunění, izolace a energetický tok (Oke, 1987).

Přirozená stanoviště přezimujícího hmyzu byla rozdělena do tříd podle jejich stupně vystavení teplotě okolního vzduchu: nechráněné (přezimující na vegetaci, př.: stromech, keřích nebo jiných strukturách nad povrchem země), částečně chráněné (přezimující na vegetaci nebo na zemní povrchové biomase), chráněné (přezimující pod povrchem půdy).

Tropické podnebí: v podnebí s tropickým klimem není hmyz vystaven žádnému stresu z nízkých teplot, teplota je vzácně klesá pod $10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Subtropické klima: v subtropickém podnebí jsou zimy krátké a teplota vzduchu klesne pod $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ na 1-3 měsíce. Hmyz vystavený těmito teplotám potřebuje určitou odolnost proti mrazu, není však vystaven stresu.

Mírné podnebí: v mírném podnebí, kromě oceánské zóny, je zimní sezóna, během které okolní teplota klesá pod $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ na 3-8 měsíců. Napadne zde i sněhová pokrývka, pod kterou hmyz nachází útočiště a je chráněn před okolní teplotou. Kolísání teploty a doba vystavení nízkým teplotám je zde větší než v jiných podnebných pásích. Proto by zde úroveň přizpůsobení, tak aby nedošlo ke zmrznutí nebo metabolickému poškození, měla být více různorodá než v ostatních zónách. Mírné oceánské a teplé kontinentální podnebí nevystavuje hmyz příliš nízkým teplotám, ale potenciální nebezpečí z metabolického poranění může přetrvávat 3-6 měsíců. Hmyz přezimující v nechráněných a částečně chráněných habitatech může být vystaven kolísajícím teplotám kvůli polárním a subtropickým vzduchovým vlnám (Nedvěd et al., 1998).

Zimy v suchých oblastech jsou chladnější a sušší, sněhová pokrývka je lehčí a nevydrží ležet moc dlouho. Teploty v mírném studeném kontinentálním podnebí klesají hluboko pod $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, mrazivé teploty přetrvávají 4-7 měsíců. Tam, kde napadne více sněhu, jsou teploty na povrchu a uvnitř půdy mnohem vyšší než teplota vzduchu a obecně zůstávají nad $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Boreální podnebí: podle Köppenovy klasifikace je tento typ podnebí charakteristický dlouhou, obvykle velmi mrazivou zimou a krátkým chladným nebo mírným létem. Krátké zimní dny a omezené solární záření snižují denní výkyvy teplot. Studený polární vzduch zde dominuje. Sněhová pokrývka je těžká a trvalá. Okolní vody v boreálních oceánských zónách zmírňují teplotu ledového polárního vzduchu, který se drží kolem 0 °C. Boreální kontinentální podnebí mají často minima teploty vzduchu pod -40 °C. Teploty povrchu země a půdy se drží nad -15 °C, neboť sníh tvoří bariéru dost odolnou, takže chrání tato stanoviště před přímým kontaktem s kolísáním teploty vzduchu.

Polární podnebí: zimy jsou zde dlouhé a dny velmi krátké, proto rozdíly teplot mezi dnem a nocí jsou velmi nepatrné. Sněhová pokrývka je jen lehká. Díky silným větrům se v některých oblastech nevyskytuje a v jiných může tvořit sněhové závěje. Přezimujícím hmyz nenalézá úkryt v půdě, jelikož zde převládá permafrost. Ani přezimování ve sněhových závějích není ideální, neboť sníh na jaře taje pomalu, a to omezuje vývoj a rozmnožování hmyzu, které jsou už tak vázány na krátce trvající léto (Danks et al., 1996). Teplota podnebí tundry severní polokoule klesá i pod -50 °C. Přezimující hmyz musí být skvěle přizpůsobený na freezing i non-freezing zranění.

2.3 Diapauza

Diapauza je klidový stav, při kterém dochází k přerušení růstu a vývoje jedince. Diapauza je jeden z hlavních důvodů, proč hmyz přežívá extrémně nepříznivé podmínky okolního prostředí (Petrásek et al., 1992). Můžeme se s ní setkat u většiny druhů bezobratlých živočichů za účelem vyrovnání se s nepříznivými podmínkami prostředí (Košťál, 2006). Ovlivňuje fyziologii i chování. Její nástup je stimulován podněty dlouho před jejím samotným začátkem, například změnou délky fotoperiody, teploty, kvality potravy aj. Diapauza se může u hmyzu vyskytovat ve stádiu vajíčka, larvy, kukly i imaga (Petrásek et al., 1992). Tento způsob přezimování je využíván téměř všemi druhy hmyzu. Doba trvání je několik měsíců, v případě dlouhodobých stresových podmínek může trvat i více než rok (Willmer et al., 2005).

Z metabolického hlediska probíhá diapauza velmi ekonomicky. V průběhu diapauzy má hmyz extrémně redukovanou dýchací činnost, velmi viskózní tělní tekutiny a vysoký podíl nemrznoucích látek jako je glycerol. Hlavním zdrojem energie jsou tuky (Petrásek et al., 1992). Některé herbivorní druhy mohou trávit ve stavu diapauzy více než deset měsíců v roce a aktivní bývají pouze v době, kdy kvetou jejich

hostitelské rostliny. Většina druhů se pro ukončení diapauzy musí vystavit vysokým teplotám, aby došlo k jejímu přerušení (Petrásek et al., 1992).

2.4 Estivace

Estivace je stav, který se vyskytuje u živočichů vystavených vysokým teplotám. Je to forma hypotermie umožňující živočichům přežít nepříznivé podmínky okolního prostředí, stejně jako hibernace. K hibernaci dochází zpravidla v zimě, naopak s estivací se setkáváme v létě (Randall et al., 2002). Dochází ke zpomalení metabolismu, dýchání a srdečního tepu, a tím ke snížení veškerých energetických nároků.

Estivace je pozorovaná v populacích, které se hojně vyskytují v suchých nebo semiaridních oblastech. Jako příklad nám slouží rod *Sphincterochila* což jsou suchozemští plži z čeledi Sphincterochilidae. Lze je nalézt zcela vystavené slunci a teple na pouštních površích, které v polovině léta mohou dosahovat až 70 °C. *Sphincterochila boissieri*, která se vyskytuje v izraelských a egyptských pouštích, v závislosti na rozsahu expozice přežívá vnitřní teploty mezi 50 - 55 °C. Kromě toho je tento pouštní hlemýžď schopen snížit svou ztrátu vody na minimum během estivace, takže může vydržet delší období bez deště a jakéhokoli jiného vnějšího zásobování vodou (Schmidt-Nielsen et al., 1971).

3 Faktory ovlivňující tělesnou teplotu a odolnost hmyzu

3.1 Termoregulace

Hlavním zdrojem tepla poikilotermních (~studenokrevných) organismů je jejich okolí, zejména sluneční záření. Tudíž je i jejich aktivita závislá na okolní teplotě. V létě jsou aktivnější a zimu přečkávají ve strnulém stavu. Biologicky účinná je pouze ta část tepelné energie, která je absorbována do tkání organismů. V přírodě se teplota pohybuje v rozmezí +40 °C až -50 °C, v závislosti především na zeměpisné poloze a na ročním období (Petrásek et al., 1992).

Poikilotermní organismy produkují metabolické teplo pomaleji ve srovnání s endotermními živočichy. Díky malým izolačním schopnostem povrchu těla se metabolické teplo ztrácí do okolního prostředí. Na druhou stranu je jejich povrch těla vysoce teplotně vodivý, takže snadno přijímají teplo ze svého okolí (Jánský, 1988).

Poikilotermní organismy jsou jen do jisté míry a pouze krátkodobě schopny regulovat svojí tělesnou teplotu. Při vysokých teplotách okolí organismy snižují teplotu svého těla pomocí zvýšené transpirace vody z těla. Při nízkých teplotách naopak ohřívají své tělo zrychleným metabolismem.

U létavého hmyzu je důležitá svalová kontrakce, která dokáže svou prací zvýšit tělesnou teplotu, pomocí hrudních svalů (vibracemi těla a chvěním svalů). Také šupinky či štětinky slouží pro udržení teploty jako izolant (Petrásek et al., 1992).

3.1.1 Behaviorální termoregulace

Behaviorální termoregulace je mechanismus získávání tepla ze substrátu nebo přímo ze slunečního záření vyhříváním se a vystavováním maximální plochy těla zdroji tepla. Tím se zvýší jeho absorpce. Pro ochlazení těla se hmyz přesouvá do stinných a chladnějších míst (Kordík, 2004).

Existuje také vztah mezi regulací teploty a zbarvením jedince. Příkladem může být chování pouštních brouků z čeledi Tenebrionidae. Tmavěji zbarvení jedinci jsou aktivnější v době nižších teplot (nejvíce zrána), zatímco u světlejších jedinců je největší aktivita zaznamenávána až při zvýšené teplotě prostředí. Tento fenomén je nazván „teplotní melanismus“ (Heinrich, 1993).

U sociálního hmyzu, jako jsou mravenci, včely nebo všekazi, se setkáváme se schopností regulace teploty okolního prostředí, a tím nepřímo také těla. Například včely mohou snižovat svojí tělesnou teplotu větráním úlu či rozstříkáváním vody uvnitř úlu, kdy se při odpařování vody spotřebovává skupenské teplo a teplota klesá. Zvýšit svojí tělesnou teplotou mohou za pomoci intenzivního mávání křídel, kdy svalová práce produkuje teplo, a shlukováním jedinců, kdy se metabolické teplo konzervuje uprostřed včelího shluku (Kordík, 2004).

3.1.2 Fyziologická termoregulace

Mohutné létací svaly jsou schopny produkovat metabolické teplo, což umožňuje poikilotermnímu hmyzu chovat se částečně jako endotermní organismy (Heinrich, 1993). S tímto se setkáváme během letu, kdy hmyz musí vyvážit uchování tepla, které je nutné pro činnost svaloviny, a jeho ztrátu, která zabraňuje přehřátí. Uchování tepla je zajištěno izolací hrudi pomocí šupin, chlupů či vlásků. Zabránit přehřátí lze kombinováním aktivního letu a plachtění, se kterým se můžeme setkávat u motýlů (Lepidoptera) (Willmer & Stone, 1997). U některých druhů hmyzu, jako je například

lišaj, může svalovina plně fungovat až po zahřátí na určitou hodnotu. Tudíž před samotným vzletem uvede do činnosti létací svaly a teprve po zahřátí na určitou teplotu je schopný samotného letu.

3.2 Vliv teploty na život hmyzu

Rozmezí teploty, ve které se daný druh hmyzu vyskytuje a přežívá v ní, se liší v souvislosti se schopností adaptace druhu či vývojového stádia na teplotní podněty vnějšího prostředí. Lepší schopnost adaptace mají druhy eurytermní, kteří žijí a snášejí široký rozsah teplot neboli mají širokou vitální zónu. Na rozdíl od nich stenotermní druhy mají úzký rozsah teploty výskytu, kterou snášejí a těžko se přizpůsobují.

Z fyziologického hlediska je druhově dána nejvyšší letální teplota pro jedince. Organismus již nezvládá metabolické pochody a dostane se na tzv. horní kritickou teplotu (CT_{max}). Po překročení kritické teploty dochází k nevratným změnám. To samé platí pro nízké teploty, kdy se setkáváme s tzv. dolní kritickou teplotou (CT_{min}) (Sinclair, 2015).

Velmi obtížné je také vymezení tzv. optimální teploty, která leží uvnitř vitální zóny. Za optimální teplotu lze považovat teplotu, ve které se jedincům daří, růst těla je intenzivní a obecně zde optimálně fungují všechny metabolické procesy (Petrásek et al., 1992).

Teplota působí velmi podstatně na průběh metabolických procesů, ovlivňuje rychlost chemických reakcí ve tkáních. Se stoupající teplotou se zrychluje metabolismus, s klesající teplotou se naopak zpomaluje (Petrásek et al., 1992).

3.2.1 Adaptace na nízké teploty

Velký počet druhů poikilotermního hmyzu přečkává nepříznivé zimní podmínky díky chladové odolnosti (fyziologické a biochemické změny), probíhající v průběhu hibernace spojené s diapauzou (Petrásek et al., 1992).

Poikilotermní organismy, které jsou adaptované na chladné prostředí, používají jednu ze strategií při vystavení chladu. Druhy vyhýbající se zamrznutí (freeze avoidance) udržují tělní tekutiny v tekutém stavu pod jejich běžným bodem tání. Dochází u nich k nahromadění kryoprotektantů, tj. látek zabraňujících zmrznutí, v hemolymfě. U druhů tolerujících zamrznutí (freeze tolerance) dochází k rychlému zamrznutí mezibuněčných tekutin tak, že nedojde k poškození buněčných struktur. Přežívají tvorbu ledu ve tkáních.

Organismy vyhýbající se zamrznutí drží své tělní tekutiny v tekutém stavu díky odstraňování ledových nukleátorů, které iniciují formování ledu. Syntetizují nemrzoucí proteiny, akumulují cukry a vícesytné alkoholy (polyoly), jako je například glycerol, které snižují teplotu krystalizace a stabilizují membrány v nízkých teplotách (Bale & Hayward, 2010). Hmyz musí přežít chladná období v metastabilním podchlazeném stavu. Organismy jsou v neustálém nebezpečí tvorby ledových krystalků ve tkáních. Existuje však celá řada příkladů živočichů, jako je malý karabidský brouk, *Pterostichus hrelicorrtis* (Coleoptera, Carabidae), který přezimuje v rozkládajících se pařezech a poraženém dřevě (Baust & Miller, 1970), kteří přežili dlouhodobé teploty až do -25°C . (Miller, 1982; Ring, 1982). Bylo zaznamenáno, že někteří živočichové na podzim před nástupem nízkých teplot přestávají přijímat potravu a vyprazdňují se jejich střeva (Cannon & Block, 1988).

Organismy tolerující zamrznutí vytváření ledových krystalků v jejich tělních tkáních přežívají. Díky přítomnosti ledu v jejich tělech je super cooling capacity (SCC – tekutina je pod bodem mrazu, ale ještě stále se netvoří led) malá a tělesné tekutiny typicky krystalizují při relativně vysokých teplotách pod bodem mrazu (Zachariassen, 1985), ve většině případů -5°C až -10°C .

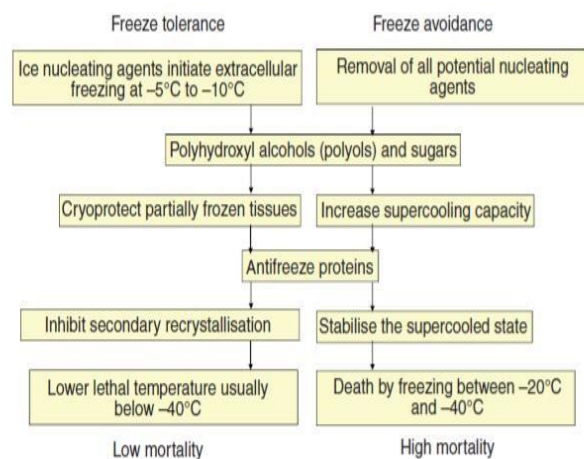


Fig.2. Schematic representation of the main biochemical components involved in the freeze-tolerance and freeze-avoidance strategies of an overwintering insect (see Bale, 2002).

Obrázek 2: Znárodnění hlavních biochemických komponentů pro přezimující strategie hmyzu (hmyz tolerující zamrznutí a hmyz vyhýbající se zamrznutí). U strategie hmyzu tolerujícího zamrznutí dochází k menší úmrtnosti než u strategie vyhýbání se zamrznutí. Zdroj: Bale & Hayward, (2010)

Hmyz vyhýbající se zamrznutí se nejspíše nachází v oblastech, kde teploty neklesají k velmi nízkým extrémním teplotám. Jelikož pravděpodobnost, že u nich dojde k vytvoření krystalků ledu ve tkáních, se s klesající teplotou okolí zvětšuje. Proto hmyz tolerující zamrznutí můžeme nalézt v oblastech s extrémně nízkými

teplotami (Zachariassen, 1985; Ring, 1982). Hmyz, který se neumí přizpůsobit extrémně nízkým teplotám, hyne.

3.2.2 Adaptace na vysoké teploty

Pro většinu hmyzu je relativně krátké vystavení teplotě 40 °C až 50 °C letální. Extrémní vysoké teploty mohou vést jak k tepelnému zranění, tak ke změnám na molekulární či fyziologické úrovni. Extrémní vysoké teploty mohou způsobovat denaturaci bílkovin (proteinů). Hmyz může produkovat a akumulovat konkrétní molekuly, které zabraňují denaturaci bílkovin či inaktivaci buněk během extrémně vysokých teplot (Bowler, 2018).

Extrémní vysoké teploty mohou indukovat změnu velikosti těla jedince, tzv. temperature-size rule. Při vývoji ve vysokých teplotách se obecně rodí menší jedinci, a to díky jejich zrychlenému metabolismu a vývoji. Tato teorie nemusí být vždy pravdivá, neboť větší jedinci bývají lépe fyziologicky odolnější vůči extrémním teplotám. U malých jedinců dochází snadněji k dehydrataci a přehřívání (Gardner et al., 2011).

Heat shock protein zajišťuje přežití organismu v extrémně vysokých teplotách. Funkce těchto proteinů spočívá v tom, že při vysokých teplotách zabraňují denaturaci a agregaci běžných bílkovin. Jejich výskyt je podmíněn působením stresu na jedince. HSP se vyskytují jak při extrémních, tak při normálních teplotách či jako ochrana proti toxickým chemikáliím. Heat shock proteiny se exprimují během několika sekund po vystavení stresoru a působí v organismu po dobu několika hodin (Lopez-Martinez et al., 2008).

Jako behaviorální adaptaci proti vysokým teplotám využívá hmyz možnosti migrace či disperze. Zvířata vyhledávají vhodnou polohu a stín, aby zabránila zisku tepla ze slunce. Mezi fyziologické adaptace patří především zrychlený metabolismus jedince a zvýšený výdej tepla z těla. Přizpůsobují se hlavně mechanismy oběhové soustavy a hospodaření s vodou a solemi (Petrásek et al., 1992).

3.3 Biotické faktory

Biotické faktory zahrnují vlivy ostatních organismů na sledované organismy. Mezi nejvýznamnější biotické faktory patří dostupnost potravy a hustota populace. Dostatek potravy má vliv na růst a vývoj jedince. U většiny druhů je geneticky dána velikost těla. Nedostatek potravy má za následek prodloužení vývoje a zmenšení velikosti těla.

Naopak nedostatku potravy a přehučení populace larev má vliv na výslednou velikost těla. Ta je důležitá u adaptace na výkyvy teploty.

Hustota populace také ovlivňuje velikost těla jedince a občas i jeho zbarvení, například u sarančat, kde existuje fázový dimorfismus. Některé druhy vytváří individuální a skupinové fáze, které se liší fyziologicky a zbarvením. Nízká hustota populace má za následek vývoj individuální se světlým uniformním zbarvením a větší velikostí těla dospělého. Naopak u vyšší hustoty populace dochází k vývoji skupinových jedinců, kteří jsou menší a mají charakteristicky tmavší zbarvení (Petrásek et al., 1992).

Patogeny a paraziti mají jistý vliv na toleranci hmyzu vůči extrémním teplotám. Parazit či patogen působí jako zátěž na organismus a metabolické pochody jedince. Organismus musí investovat energii, jak do vyrovnání se s nepříznivými podmínkami prostředí, tak do boje proti patogenu či parazitu. Pro jednotlivé interakce hmyz - patogen bude mít změna klimatu komplikované těžko předvídatelné dopady. Virulence patogenu i imunita hostitele hmyzu jsou vnitřně spojeny s generalizovanými reakcemi na stres a u patogenu i hostitele dochází k rozsáhlým kompromisům s výživou (např. kvalitou hostitelské rostliny), růstem a reprodukcí (Leger, 2021).

3.4 Abiotické faktory

Abiotické faktory zahrnují vlivy neživého prostředí působící na organismy v něm žijící. Tyto faktory limitují výskyt organismů a podmiňují jejich geografické rozšíření.

Fotoperioda a s ní spojená následná diapauza má u hmyzu hlavní vliv na vývoj a ekologii hmyzu v oblastech se sezónním klimatem. Hmyz za pomoci měnicí se fotoperiody spolehlivě rozpozná změny v ročních obdobích. Rozlišujeme dvě denní fáze, světelnou (fotofáze) a temnou (skotofáze) (Leather et al., 1993). Jelikož je hmyz studenokrevný, jeho tělesná teplota kolísá podle teploty prostředí. Všechny následné procesy hmyzu, jako je růst, vývoj nebo aktivita, jsou závislé na teplotě. Například k vývoji jedince je potřeba určitá množství tepla, tzv. vývojové teplo. To znamená, že vývoj v chladnějším prostředí trvá, déle než vývoj v prostředí teplejším. Výhodou života v chladnějším prostředí je pomalejší metabolismus jedince a stačí mu menší zásoby energie (Petrásek et al., 1992).

3.5 Vztah mezi teplotním stresem a adaptací

Adaptace úzce souvisí se stresovými situacemi. Hans Selye, zakladatel teorie stresu, se domnívá, že za každou změnou vnějšího prostředí následuje stresová odpověď (Selye, 1959). Odpovědi hmyzu na vnější podmínky prostředí jsou označovány jako stresové. To však může vést k mylné domněnce, že stresové děje jsou pro organismus pouze škodlivé. Naopak vztah mezi přítomností stresové reakce a přirozenou adaptací jedince se dá považovat za kladný. Pozitivní biologický význam přítomnosti stresové reakce vede k rozšíření životaschopnosti daného organismu. Umožňuje mu přežít v širším rozmezí změn podmínek vnějšího prostředí. Adaptace vedoucí k přítomnosti efektivních stresových reakcí jsou tedy jakousi obranou před nepříznivými činiteli, jako jsou například extrémní teploty (Petrásek et al., 1992).

Velikost těla je důležitá u adaptace na výkyvy teploty. Větší jedinec je odolnější na tyto výkyvy, jelikož čím větší je tělo jedince, tím odolnější na teplotu je. Stejnou důležitost má i zbarvení jedinců. Tmavší formy lépe přitahují teplo než formy světlé (Gardner et al., 2011).

Rod *Drosophila* slouží jako skvělý modelový systém pro výzkum biologie, ekologie, evoluce a genetiky, protože tyto mušky mají výhodu malého těla a krátkého životního cyklu a extrémně snadného chovu v laboratorních podmínkách (Folk et al., 2006). Mnoho studií octomilek z rodu *Drosophila* bylo provedeno jako demonstrace adaptace hmyzu na klimatické změny, zejména na extrémní teploty (Hoffmann et al., 2003). Octomilky se snadno behaviorálně přizpůsobují extrémním teplotám, přemísťují se do optimálních mikrohabitátů, což je jejich hlavní adaptivní strategie na změnu teploty prostředí. Také si tyto mušky snadno upravují své fyziologické vlastnosti/reakci na změnu klimatu pomocí fenotypové plasticity jedinců, tzv. aklimatizací/aklimací (Noh et al., 2017). V neposlední řadě jsou octomilky evolučně plastické i na úrovni genů, pod tlakem vlivu prostředí se mění genetická struktura populací a vznikají nové mutace genů, které se relativně rychle fixují (Hoffmann and Sgrò, 2011). Populace různého geografického původu mají často odlišnou reakci na stejné extrémní teplotní podmínky. Plasticita vůči teplotnímu šoku (heat shock) typicky klesá s rostoucí zeměpisnou šířkou. Tudíž tropické a subtropické populace mají větší odolnost vůči teplotnímu stresu. I když plasticita teplotní tolerance druhů z rodu *Drosophilla* a dalších druhů hmyzu je prospěšná pro tlumení teplotního stresu v přírodě, nesmíme opomenout cenu za aklimatizaci. Schopnost přežití a hledání potravy může být snížena po aklimatizaci na teplo nebo chlad. Aklimatizace na chlad

většinou zvýší toleranci vůči chladu, zatímco negativně ovlivní toleranci na teplo (Kristensen et al., 2008).

Dalšími příklady vztahu mezi adaptací a stresem můžeme najít u čmeláků (rod *Bombus*). Klimatická změna je považována za jednu z hlavních příčin neustálého úbytku blanokřídlého hmyzu, alespoň některých skupin, jako jsou čmeláci. Klimatická změna může také ovlivnit dlouhodobé přežívání populace a druhů na lokalitě pod vlivem extrémních teplotních extrémů, má vliv na produktivitu a přežití kolonie (Rasmont et al., 2015). Oven et al. (2016) ve své studii ukázal, že druhy čmeláků obývajících vyšší nadmořskou výšku mají větší šířku teplotní tolerance než druhy údolní. Hmyz přemísťující se do vyšších nadmořských výšek zažije chladnější klimatické podmínky, což spustí silnější selekční tlak na mrazuvzdornost než na teplotní toleranci (Sunday et al., 2011). Poměr mezi povrchem těla a objemem má určitý vliv na teplotní toleranci. Menší jedinci kvůli menšímu povrchu a objemu těla hůře zadržují teplo. Byla provedena studie na *Bombus terrestris*, nejhojnějším druhu čmeláků v Evropě, zkoumající vnitrodruhové rozdíly v teplotní toleranci mezi poddruhy, které obývají oblasti od Středomoří po jižní Skandinávii (Rasmont et al., 2008). Je známo devět poddruhů vyskytujících se v tomto rozpětí, každý osidluje prostředí s různými klimatickými podmínkami. Lze očekávat, že si každý z těchto devíti poddruhů vyvinul vnitrodruhovou adaptaci, aby se vyrovnali s různými teplotami, kterým jsou vystavováni. U čmeláčích dělnic i královen bylo měřeno CTmin a CTmax a zda jejich tělesná velikost mohla ovlivnit teplotní limity. Očekávalo se, že u čmeláků budou pozorovány vnitrodruhové rozdíly v toleranci chladu i tepla. Z výsledků vyplývá, že tato hypotéza byla potvrzena a čmeláčí poddruhy jsou skutečně adaptovány na lokální prostředí. Královny měly obecně vyšší toleranci na chlad než dělnice (Maebe et al., 2021).

3.6 Změna tolerance extrémních teplot v důsledku přítomnosti parazitů a patogenů

Paraziti a patogeny mohou pozměnit chování a fyziologii hostitele. Tyto změny se mohou projevit i v teplotní toleranci hostitele vůči extrémním teplotám, avšak účinky parazitů a patogenů na teplotní toleranci hostitele byly jen zřídka studovány u hmyzu. Působením stresu a narušení homeostázy, patogen může podstatně snížit teplotní tolerance svého hostitele při infekci.

Rychlost růstu houbových patogenů, a tedy i rychlost infekce, závisí na teplotě. Obecně nejlépe rostou entomopatogenní houby v mírných teplotách. Například 23 °C pro *Beauveria brongniartii*, 25 °C pro *Beauveria bassiana* či 27 až 28 °C pro *Metarhizium anisopliae* (Ferron, 1978).

V roce 2021 byla provedena studie zkoumající houbovou infekci, *Beauveria bassiana*, a její vliv na teplotní toleranci a dobrovolné vystavení se extrémním teplotám jak u mšic *Acyrtosiphon pisum*, tak u jejich predátora slunéčka *Hippodamia convergens*. Tolerance vůči nízkým teplotám se měnila podle míry nakažení jedince. Plísňová infekce snížila tepelnou toleranci *Acyrtosiphon pisum* a *Hippodamia convergens* v průměru o 7 °C, respektive 4 °C ve srovnání se zdravými jedinci. Pokud jde o toleranci vůči chladu, účinek patogenu byl druhově specifický. Infikované mšice měly srovnatelnou úroveň tolerance vůči chladu se zdravými jedinci, ale schopnost slunéček odolávat chladu byla snížena podle zátěže patogenem (Porras et al., 2021). Studie se také zabývala dobrovolným vystavením extrémním teplotám za přítomnosti infekce v těle. Předpokládá se, že vyvolání „horečky“ pomůže hostiteli snížit zátěž patogenem, a to buď zvýšením účinnosti jeho imunitního systému, nebo přímým poškozením patogenů citlivých na teplotu, když jejich tělesná teplota stoupne nad optimální patogeny (Elliot et al., 2002).

Z výsledků vyplynulo, že infekce snižuje dobrovolné vystavení slunéček extrémním teplotám. Také byl pozorován nárůst mortality u infikovaných jedinců vystavených extrémním teplotám. Očekávání, že houbová infekce bude u slunéček potlačena tzv. behaviorální horečkou (behavioral fever), nebylo potvrzeno (Porras et al., 2021).

Jiný příklad teplotně závislého vztahu patogenu a hostitele poskytuje studie zkoumající, jak bakterie *Pasteuria ramosa* redukuje horní a spodní teplotní limity samců a samic hrotnatky *Daphnia magna*. Bylo zjištěno, že neinfikované samice *Daphnia* jsou mnohem odolnější vůči tepelnému stresu než samci. Přítomnost patogenu ovšem neguje jakoukoli výhodu samic v odolnosti proti teplotnímu stresu. *Daphnia magna* byly vystaveny 37 °C, dokud nedošlo k imobilizaci, běžně označované jako heat knockdown time. V průměru byl heat knockdown time o 6 minut kratší u zdravých samců než u zdravých samic, pro infikované jedince tento rozdíl mezi pohlavími zmizel. Samci a samice *Daphnia* se liší například velikostí těla, která potenciálně souvisí s jejich schopností vyrovnávat se s tepelným stresem a patogenní

infekcí. Ovšem co se týče dávky patogenu, bylo vypořádováno, že změny v zátěži významně neovlivnily heat knockdown time (Laidlaw et al., 2020).

3.6.1 Behavioral fever

Teplotokrevní živočichové zvyšují svou tělesnou teplotu jako odpověď na infekci v jejich těle. Pyrogen, látka vyvolávající horečku, stimuluje produkci prostaglandinu, který zapříčiňuje horečku. Zvýšená tělesná teplota zpomalí vývoj mikrobiálního vetřelce a stimuluje imunitní systém infikovaného hostitele (Hasday et al., 2000; Kozak et al., 2000).

Poikilotermní organismy, jako je hmyz, nemohou měnit svou tělesnou teplotu změnou jejich metabolismu. Místo toho využijí behaviorálních strategií a přesunou se na místo s vyšší teplotou okolí nebo se umístí tak, aby jejich tělo absorbovalo více slunečního tepla. Příkladem tohoto chování je zejména ještěrka obecná. Tento fenomén behaviorální horečky (behavioral fever), kdy se organismus dobrovolně vystaví vyšší teplotě, než je jeho normální tělesná teplota, je považován jako součást imunitní odpovědi hmyzu (Louis et al., 1986).

Zvyšování tělesné teploty nad optimum je energeticky náročné díky zrychlenému metabolismu organismu. Reakce infikovaného organismu je vždy trade-off mezi náklady na imunitní odpověď, rychlostí metabolismu a energetickými podmínkami potřebnými v daném životním období.

4 Metodika experimentální části bakalářské práce

4.1 Studovaný organismus – Slunéčko východní (*Harmonia axyridis*)

4.1.1 Charakteristika čeledi Coccinellidae

Slunéčkovití (Coccinellidae) jsou kosmopolitně rozšířená čeleď brouků čítající více jak 6 000 druhů v 360 rodech. Slunéčka jsou malí až středně velcí brouci s velikostí těla 1 až 10 mm, tělo je kulaté až elipsovité, kupolovitěho tvaru. Slunéčka mají často nápadně zbarvené krovky: žlutě, oranžově či černě s různými variantami skvrn. Larvy mají 4 instary (stádia), přičemž jednotlivé instary mohou být odlišně zbarveny. Dospělci slunéček mají tzv. krvácivý reflex, kdy ze svých kloubů na nohou vypouštějí žlutou hemolymfu (Knapp et al., 2018). Tento obranný mechanismus používají při nebezpečí (Nedvěd, 2015).

Slunéčkovití brouci jsou známí zejména jako významní predátoři mšicosavého hmyzu (mšice, molice, mery a červci), ale rozsah druhů kořisti, které mohou různé druhy slunéček konzumovat, je mnohem širší. Slunéčka jsou přirození nepřátelé i dalších významných škůdců. Různé větší druhy slunéček mohou napadat i housenky nebo larvy brouků. Dravé druhy slunéček jsou považovány za jedny z nejznámějších a nejvýznamnějších přirozených nepřátel v rámci regulace škůdců v zemědělství. Jejich „služby“ jsou využívány zejména v sadech (Koch, 2003).

Dospělci jsou dobří letci a v krajině se koncentrují na místa s dostatkem potenciální potravy jak pro sebe, tak i pro své larvy. Jejich rozmnožování probíhá především na jaře či v létě (některé druhy se rozmnožují až do léta). Charakteristické je opakovaným i několik hodin trvajícím pářením. Samec při páření vpraví do samice několik spermatoforů. Samice většinou klade snůšku vajíček čítající 20-80 kusů v blízkosti potenciální kořisti (Nedvěd, 2015). Po několika dnech se z vajíček líhnou larvy 1. instaru, které velmi brzy vyhledají svou potravu a začnou se živit. Vývoj čtyř larválních stádií trvá jeden až čtyři týdny v závislosti na teplotě a zdrojích potravy. Na konci 4. instaru se larva zakuklí a po 4-10 se líhne dospělý jedinec.

Část druhů se shromažďuje ve velkých počtech k zimnímu spánku. Dospělci se při výběru zimoviště řídí svými vnitřními požadavky na různé abiotické faktory (např. teplota, vlhkost). Jako zimoviště si často vybírají různé štěrby ve skalách, trsy rostlin na jižních svazích anebo často ve skulinách lidských obydlí.

4.1.2 Charakteristika zkoumaného druhu

Slunéčko východní (*Harmonia axyridis*) je dravý brouk původem z východní Asie. Velikost odpovídá našemu slunéčku sedmitečnému s délkou těla 6 - 9 mm a šířkou 4 - 7 mm. Tento druh žije především na keřích a listnatých stromech. Jeho výskyt je vázán na místa s dostatkem potravní nabídky, mezi kterou patří zejména mšice, mery, červci, popřípadě jiné drobné měkké druhy hmyzu. Slunéčko východní bylo v minulosti záměrně šířeno a vysazováno mimo svůj domovský areál na několika kontinentech jako biologická ochrana rostlin proti hmyzím škůdcům (Nedvěd, 2014). Roku 1916 byl druh introdukován do Severní Ameriky za účelem ochrany rostlin (Koch, 2003)., následně byl roku 1964 introdukován i do evropských zemí. Avšak zavádění slunéčka mimo svůj areál vedlo v severní Americe ke zrození invazního druhu křížením dvou poddruhů *Harmonia axyridis*. Svým rychlým šířením a populační expanzí se druh stal obtížným hmyzem. Populace často zimují v lidských obydlích,

vypouštějí obranné páchnoucí látky a okusují ovoce a hrozny. Její žravost může vést k vytlačení původních, často užitečných druhů hmyzu.

Slunéčko východní je vysoce polymorfní (variabilní) ve zbarvení. Existuje zde jak fenotypové plasticita (výskyt a velikost černých teček jsou ovlivněny teplotou prostředí, kde se slunéčko vyvíjelo), ale známe i několik geneticky podmíněných barevných forem tohoto druhu. V České republice je nejrozšířenější světlá forma *succinea* s různým rozmístěním tečkování podle podmínek prostředí, přijímané potravy nebo stáří jedince (Nedvěd, 2014; Knapp et al., 2013).

4.1.3 Invaznost slunéčka *Harmonia axyridis*

Původním areálem výskytu sluníčka východního je východní Asie – Japonsko, Čína, Mongolsko, Korea, Vietnam a ruská Sibiř. Jelikož na rozdíl od druhů evropských či severoamerických slunéček *Harmonia axyridis* požívá i mery (Psylloidea), byly prováděny pokusy o rozšíření slunéčka východního do dalších zeměpisných oblastí, jako možného predátora v biologické ochraně zemědělských rostlin. Po několika desetiletí nedocházelo k samovolnému udržení a rozšíření invazních populací, ale po zkřížení dvou linií nakonec v Severní Americe vznikla úspěšná invazní populace a slunéčko východní se stalo nejinvaznějším slunéčkem na světě. Evropská invazní populace má oproti laboratorní formě o hodně vyšší schopnost přežívání v klidovém stavu, vyšší odolnost vůči patogenům (například entomopatogenní houba *Beauveria bassiana*), ale nižší plodnost (Tayeh et al., 2012). Na mimořádných invazních vlastnostech evropské populace se podílelo zkřížení dvou vzdálených populací, ke které došlo v Americe.

V České republice byl objeven první nález invazního slunéčka východního na jaře roku 2007 ve starém třešňovém sadu na úpatí vrchu Oblík v Českém středohoří. Dodatečně bylo vystopováno několik nálezů z roku 2006 v Praze, Lánech, Kamenici ve středních Čechách a v Brně. Od roku 2007 probíhá invazivní šíření i v České republice (Nedvěd, 2014).

4.2 Parazitická houba *Hesperomyces harmoniae*

Hesperomyces je rod hub z čeledi Laboulbeniaceae. Jde o obligátního ektoparazita hmyzu a jiných členovců, ale brouci jsou jejich nejčastějšími hostiteli (Majewski, 2008). *Hesperomyces harmoniae* je komplex několika druhů s vysokou mírou specializace, hostitelské specificity (Haelewaters et al. 2016).

Houba absolvuje celý životní cyklus na povrchu těla (kutikule) živého hostitele, kde se tvoří jednotlivé stélky a plodnice (thalli). Kompaktní plodnice jsou přichyceny k vnější kutikule hostitele pomocí melanizované koncové části (Kesel, 2011). Plodnice se tvoří na kterékoli části těla hmyzu. Druh *Hesperomyces* se typicky šíří během aktivních interakcí hostitele s nenakaženým jedincem hostitelského druhu. Předpokládá se, že k přenosu dochází během období krmení a páření, kdy dochází k sexuálnímu kontaktu. Proto se lze *Hesperomyces harmoniae* považovat za sexuálně přenosnou chorobou hmyzu (Haelewaters et al., 2016).

Herperomyces harmoniae je ektoparazit některých druhů rodu Coccinellidae. Její výskyt byl až do roku 1990 považován za relativně vzácný, nálezy byly hlášeny jen v teplých oblastech v různých částech světa. V poslední době byla houba *Hesperomyces harmoniae* mnohem častěji zaznamenávána. Více z posledních záznamů bylo ze severnějších, více chladných oblastí než záznamy dřívější. Tyto změny v početnosti a geografickém rozmístění jsou propojeny s některými rysy *Harmonia axyridis*, jako je její početnost, počtem generací během roku, vysokou mírou promiskuity a přezimováním ve velkých počtech. Tyto vlastnosti u jednoho druhu jej mohou učinit vhodným pro *Hesperomyces harmoniae* a jiné parazity, kteří vyhledávají blízký kontakt mezi hostiteli pro efektivní přenos parazita (Ceryngier et al., 2013).

4.3 *Harmonia axyridis* jako hostitel parazitické houby *Hesperomyces harmoniae*

Slunéčka jsou hostitelskými organismy rodu *Hesperomyces*, včetně *Hesperomyces harmoniae*. Je zaznamenáno, že infikuje slunéčka v mnoha částech světa, včetně Severní a Jižní Ameriky, Asie a Evropy (Ceryngier et al., 2012). Tato interakce mezi hostitelem a parazitickou houbou byla prvně objevená v Ohiu, USA v roce 2002 (Garcés & Williams, 2004) a následně na mnoha lokalitách na východu a středu USA. V zimě roku 2006 byla *Herperomyces harmoniae* poprvé zaznamenán na druhu *Harmonia axyridis* v Evropě během jeho hibernace v Meise poblíž Bruselu, Belgie. Toho času z pozorovaných 203 jedinců slunéček bylo pouze 0,5 % jedinců nalezeno s plodnicemi parazitické houby. V zimě 2010 bylo již na stejném místě nalezeno 96,5 % přezimujících jedinců infikovaných *Hesperomyces* (Kesel, 2011).

V lednu roku 2010 byl proveden experiment, kdy byla agregace slunéček spatřena na venkovní zdi v kampusu Justus-Liebig university, Geissen v Německu. Mnoho z těchto slunéček bylo nakaženo parazitickou houbou. Slunéčka byla sesbírána a následně zabita zamražením při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dohromady ze 134 sesbíraných slunéček bylo 106 (79,1 %) jedinců nakaženo houbou *Hesperomyces harmoniae*. Z výsledků vyplývá, že v průměru bylo více plodnic na samcích než na samicích, 63,4 plodnic na samce vs. 30,9 plodnic na samici. Plodnice *Hesperomyces harmoniae* byly nalezeny na různých částech těla hostitele.

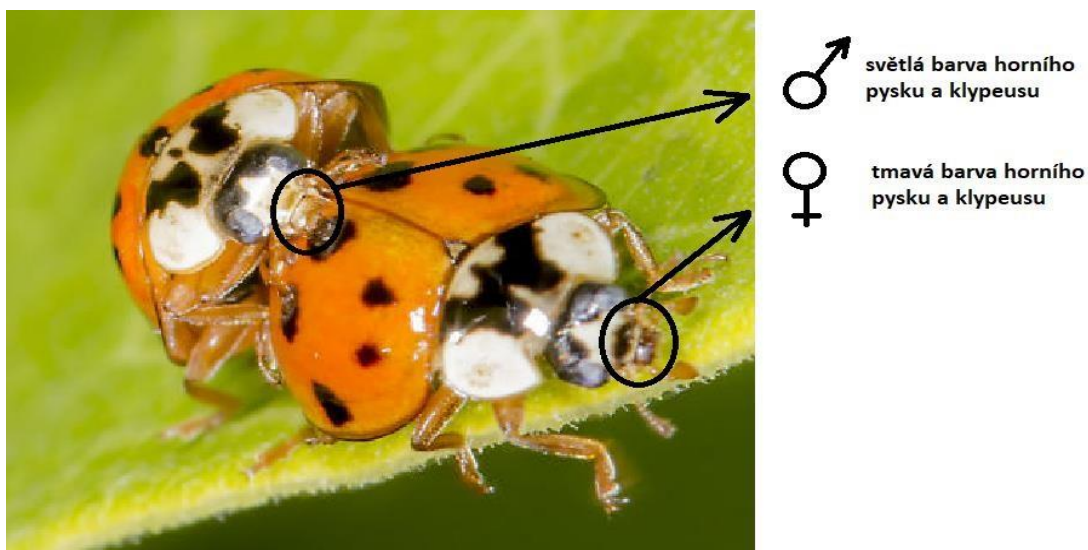
Hypotéza útěku od přirozených nepřátel (enemy release hypothesis) předpokládá, že invazivní druh může získat početní převahu nad druhy původními, jelikož je v novém areálu rozšíření méně limitovaný přirozenými nepřáteli než druhy původní. Toto mohlo přispět k invazivnosti *Harmonia axyridis*. Nicméně prvotní výhody invazivního druhu se mohou v pozdější fázi invaze změnit v nevýhodu, kdy se vetřelec stane více citlivý na přirozené nepřátele. Toto může vysvětlit nedávný úspěch *Hesperomyces harmoniae* ve využívání *Harmonia axyridis* jako hostitele. Jako běžně rozšířený generalista může *Harmonia axyridis* produkovat velké populace schopné hostit hojnou populaci parazitů. Paraziti mohou být kvůli promiskuitě *Harmonia axyridis* účinně přenášeni během páření. Přezimování slunéček v masových agregacích může také přispět k šíření parazita (Welch et al., 2001).

4.4 Popis experimentu

V svém experimentu jsem měřila, jak přítomnost patogenní houby *Hesperomyces harmoniae* ovlivní odolnost brouků *Harmonia axyridis* vůči nízké a vysoké teplotě. Měřila jsem jejich chill coma temperature (CTmin) a heat knockdown time (HKT). Chill coma temperature je taková teplota, při níž je jedinec vystaven kriticky nízké teplotě. Mnoho druhů hmyzu se dostane do stavu podobnému kómatu (Sinclair, 1999). Tento komatózní stav se nazývá chladové kóma a projevuje se úplným zastavením pohybu. Heat knockdown time je taková teplota, při které je jedinec vystaven kriticky vysoké teplotě. Při dosažení tohoto stavu se jedinec přestane hýbat. Při experimentu jsme brali v potaz i okolní faktory, jako je pohlaví jedince, přítomnost parazitické houby *Herperomyces harmoniae*, tělesná velikost jedince a sezóna, ve které se jedinec vyskytoval (léto, podzim).

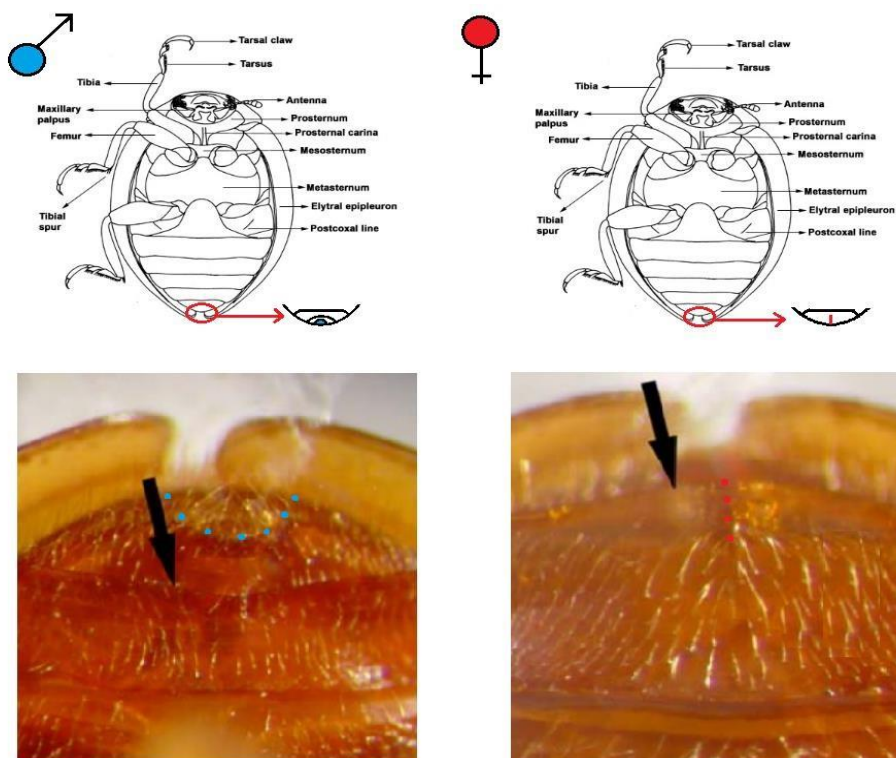
4.4.1 Popis odchyty a péče o jedince

Jedinci použítí v tomto experimentu byli sebráni na lokalitě u Kolína ve Středočeském kraji metodou individuálního sběru za pomoci exhaustoru. Sběr probíhal ve dvou turnusech, první v létě, druhý na podzim během proletu brouků na zimoviště za vytváření masivních agregací. Po sebrání byli brouci převezeni do laboratoře FŽP-ČZU v Praze, kde probíhalo následné rozpoznání pohlaví a umístění jedinců do petriho misek. Pohlaví se rozpoznává podle zbarvení horního pysku kousacího ústrojí a klypeusu, což je čelní štítek kryjící shora svrchní pysk slunéček. V případě problematického zbarvení také podle tvaru posledního zadečkového článku. Samice má horní pysk a tečku klypeu černé barvy (viz. Obrázek 3). Samci naopak mají tyto znaky v bílé barvě.



Obrázek 3: Určení pohlaví dle barvy horního pysku a klypeusu. Upraveno dle: <https://bugguide.net/node/view/1121454>

V případě jedinců s méně melanizovaným tělem může dojít při determinaci k záměně. Proto je jistější způsob rozpoznání podle tvaru posledního zadečkového článku, kde je vyústění kopulačních orgánů. Pod binokulární lupou u samic vidíme zřetelný znak v podobě vystouplé „čárky“ a u samců znak v podobě „obloučku“ (vykousnutí pro penis, viz. Obrázek 4).



Obrázek 4: Určení pohlaví dle tvaru posledního zadečkového článku. Upraveno dle: http://www.angelfire.com/bug2/j_poorani/morphology.htm

Následně jsem všechna sluněčka prohlédla a prozkoumala přítomnost parazitické houby *Hesperomyces harmoniae* (Laboulbeniales: Laboulbeniaceae). Pro experiment, jak ovlivňuje parazitická houba *Hesperomyces harmoniae* odolnost sluněček vůči extrémním teplotám, jsem použila jedince s infekcí i jednice bez infekce.

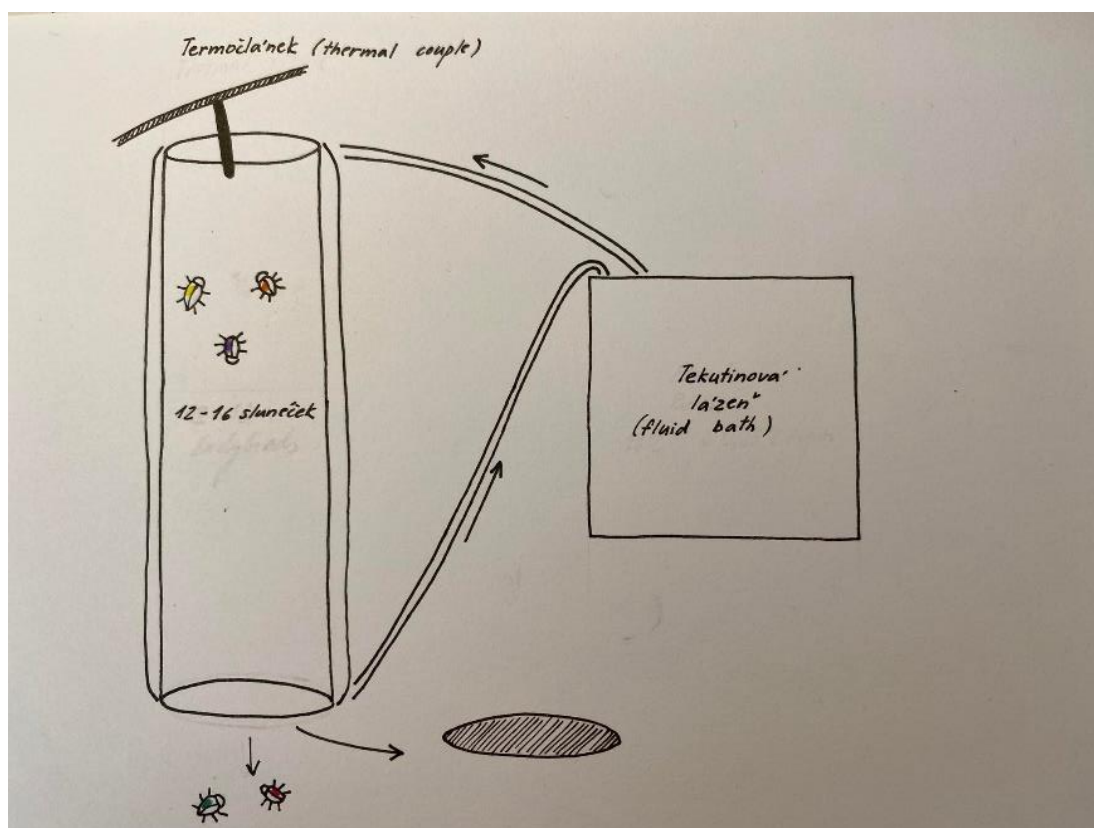
Jedince jsem chovala jednotlivě v petriho miskách. Každé 2 až 3 dny jsem jim vyměňovala vodu a žrádlo v petriho miskách. Každému jedinci jsem přiřadila jedinečné identifikační číslo.

4.4.2 Specifika měření

Pro měření teplotní tolerance v rámci tohoto experimentu jsem provedla měření chill coma temperature a heat knock down time v rámci dvou individuálních měření.

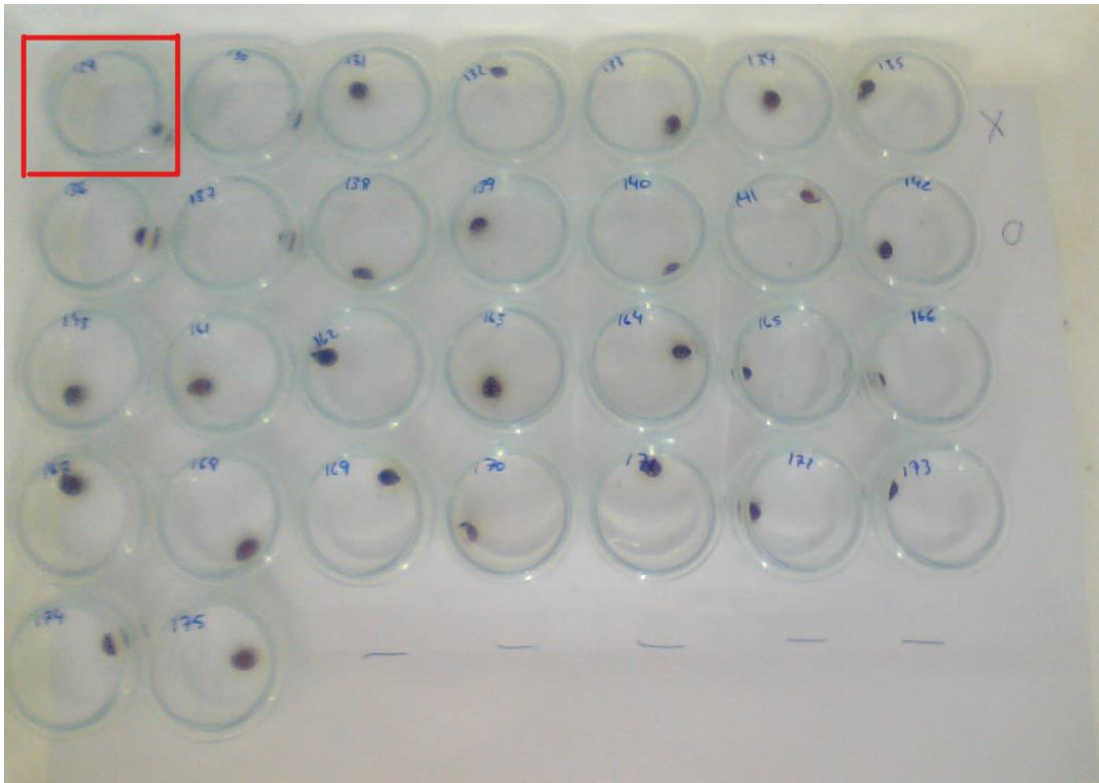
Pro měření chill coma temperature jsem použila tekutinovou lázeň (fluid bath), která kontrolovala teplotu tekutiny proudící kolem sloupce se sluněčky. Stisknutím tlačítka napájení jsem zapnula teplotní zařízení tekutinové lázně, následně byl zapnut program zvýšení a udržení teploty lázně na 25 °C. Dále jsem vyčkala 5-10 minut, než se lázeň stabilizovala na požadovanou teplotu. Následně jsem sluněčka ve skupinách po 12 až 16 jedincích umístila do sloupce. Každý jedinec byl před samotným experimentem označen barevnou kombinací na krovky, aby nedošlo k záměně při

identifikaci a zaznamenávání chill coma temperature jedince. Dále jsem na horní stranu sloupce umístila termočlánek (thermal couple), který měřil aktuální teplotu sloupce. Zmáčknutím startu na tekutinové lázni začalo měření chill coma temperature. Původní teplota 25 °C klesala každou minutu o 0,25 °C. Zapnutím termočlátku se spustilo zaznamenávání teploty uvnitř válce. Po dosažení 11 °C jsem odstranila spodní zátku sloupce a sesbírala jsem jedinci spadlé na spodní zátku. Nakonec jsem zaznamenala čas a teplotu, při které jedinec dosáhl chill coma temperature. Sluněčka, která dosáhnou svého chill coma temperature, ztrácí nervosvalovou funkci a padala na dno baňky.



Obrázek 5: nákres tekutinové lázně a sloupce sloužící ke zjišťování CTmin jedince.

Pro měření heat knock down time jsem jedince po jednom umístila do skleněných petriho misek. Poté jsem je umístila do tepelné komory, kde byli vystaveni teplotě 45 °C. Byl pořízen videozáznam aktivity jednotlivých sluněček, dokud se nepřestala hýbat a dosáhla svého heat knockdown time. Pro následné vyhodnocení jsem použila program BATTSI version 2.0, ve kterém jsem analyzovala videonahrávky jednotlivých sluněček. Do programu jsem nahrála požadované video s jedinci, označila jsem čtverečkem místo jednotlivého sluněčka. Program mi vyhodnotil čas, ve kterém jednotlivé sluněčko dosáhlo heat knockdown time.



Obrázek 6: Analyzování HKT v programu BATTSI version 2.0.

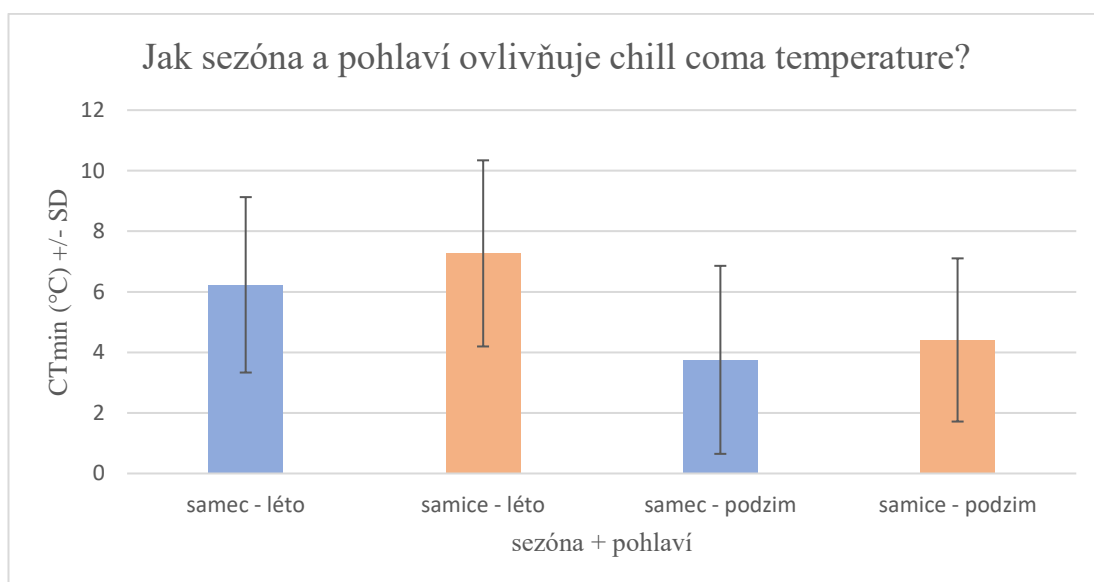
Po dokončení obou experimentů jsem jedince přemístila do malých epruvet, které na sobě měly své unikátní identifikační číslo a následně jsem je umístila do mrazáku, kde zemřeli. Na mrtvých jedincích jsem pod binokulární lupou Zeiss s digitální kamerou zjišťovala počet plodnic a velikost těla každého jedince. Strukturální velikost těla byla měřena pomocí nástrojů analýzy obrazu v programu Zeiss Zen Lite.

4.4.3 Analýza dat

Pro analýzu výsledků byl použit program R verze 3.3.2 (R Core Development Team, 2019). Vliv velikosti těla, pohlaví jedince, přítomnost infekce a sezóny, ve které bylo měření provedeno, byl analyzován pomocí regresních modelů (linear models, ANCOVA). Pro zjištění průkazností jednotlivých proměnných byly použity F-testy.

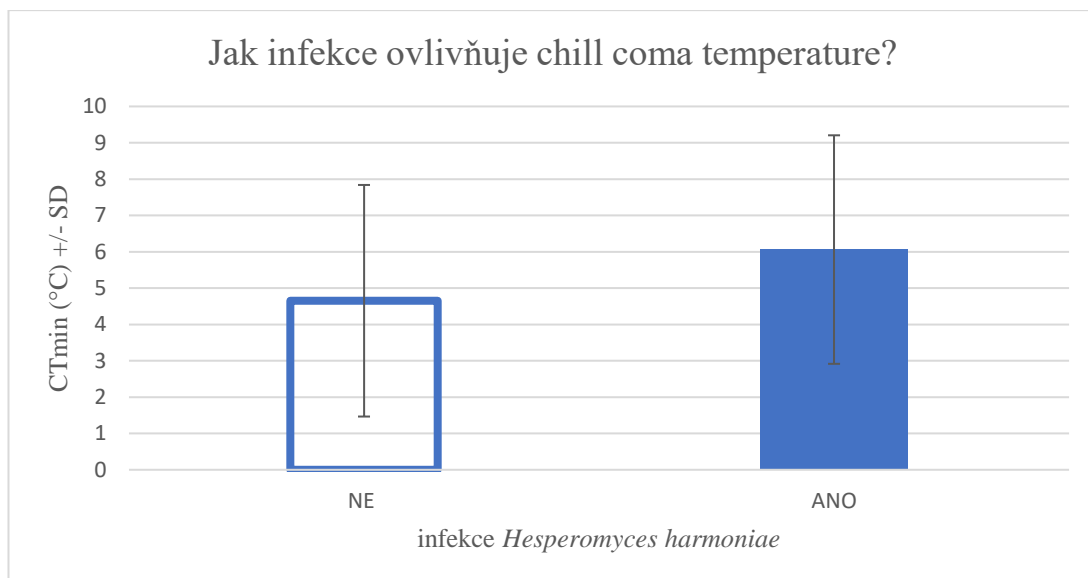
5 Výsledky

Hlavním výsledkem mého experimentu je zjištění, že infekce parazitické houby *Hesperomyces harmoniae* skutečně ovlivňuje teplotní toleranci slunéčka *Harmonia axyridis*. Kromě infekce zde mohly hrát roli i ostatní faktory (velikost těla jedince, pohlaví a sezóna odchyty).



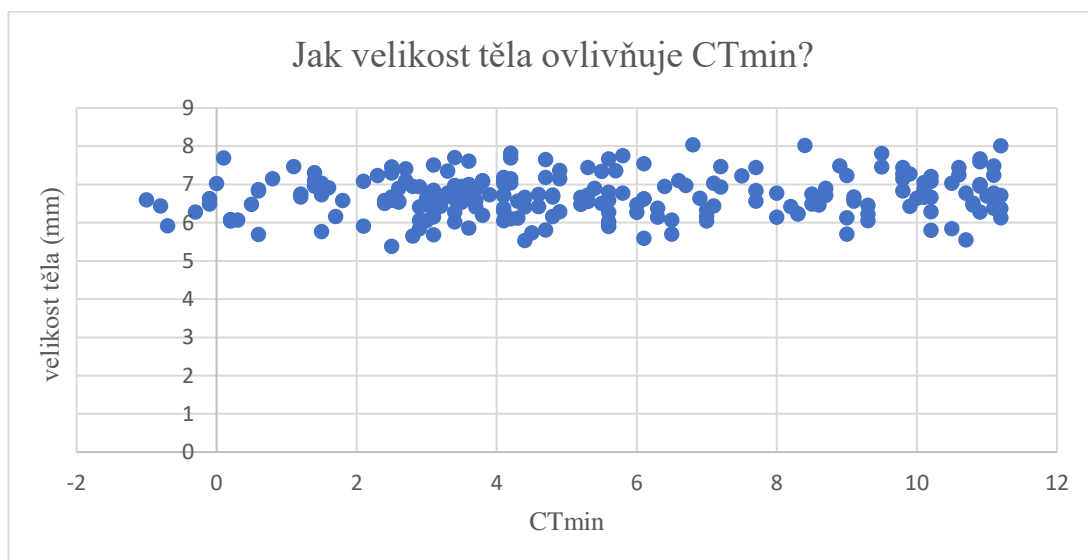
Obrázek 7: Graf znázorňující, jak sezóna a pohlaví ovlivňuje CTmin

Obrázek 7 ilustruje, že sezóna odchyty má větší vliv na výslednou CTmin než pohlaví jednotlivých jedinců, které CTmin neovlivňuje. Tato skutečnost může být vysvětlena adaptací na roční období. Podzimní jedinci jsou připraveni na nastupující zimní období s nižšími teplotami než jedinci vystavováni vysokým teplotám v období letním. Zajímavé je, že samci mají nižší CTmin jak samice.



Obrázek 8: Graf znázorňující, jak infekce parazitickou houbou *Hesperomyces harmoniae* ovlivňuje CTmin jedinců.

Obrázek 8 ilustruje vliv infekce *Hesperomyces harmoniae* na CTmin jedinců. Vyplývá z něj, že neinfikovaní jedinci mají nižší CTmin než jedinci infikovaní.

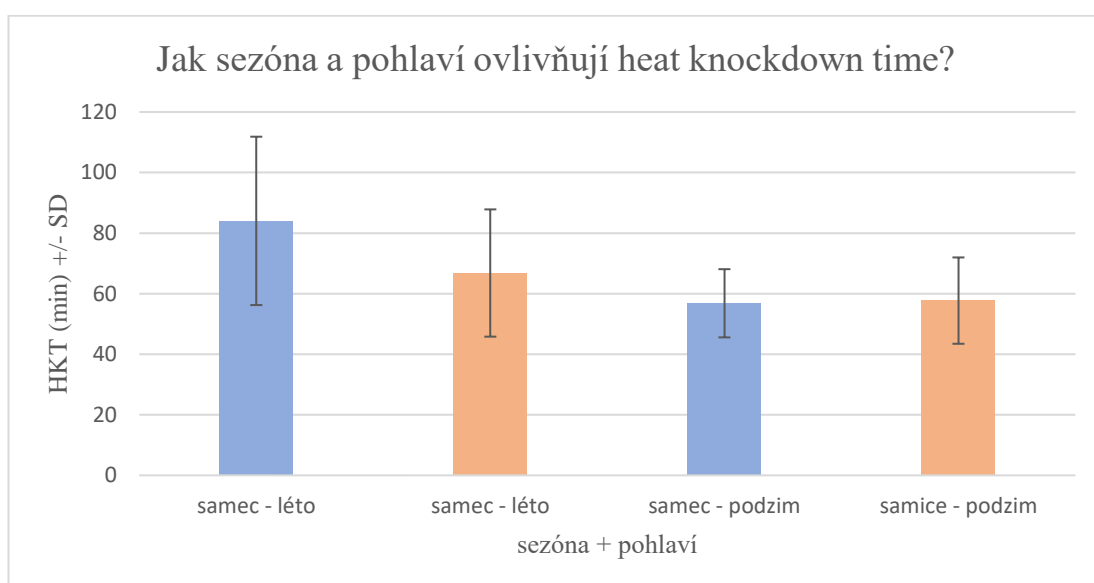


Obrázek 9: Graf znázorňující, jak velikost těla ovlivňuje CTmin jedinců.

Obrázek 9 znázorňuje, zda má velikost těla vliv na CTmin. Vyplývá z něj, že velikost těla nijak závažně CTmin neovlivňuje. Při statistické analýze však tento vztah vyšel marginálně průkazný ($P = 0,038$).

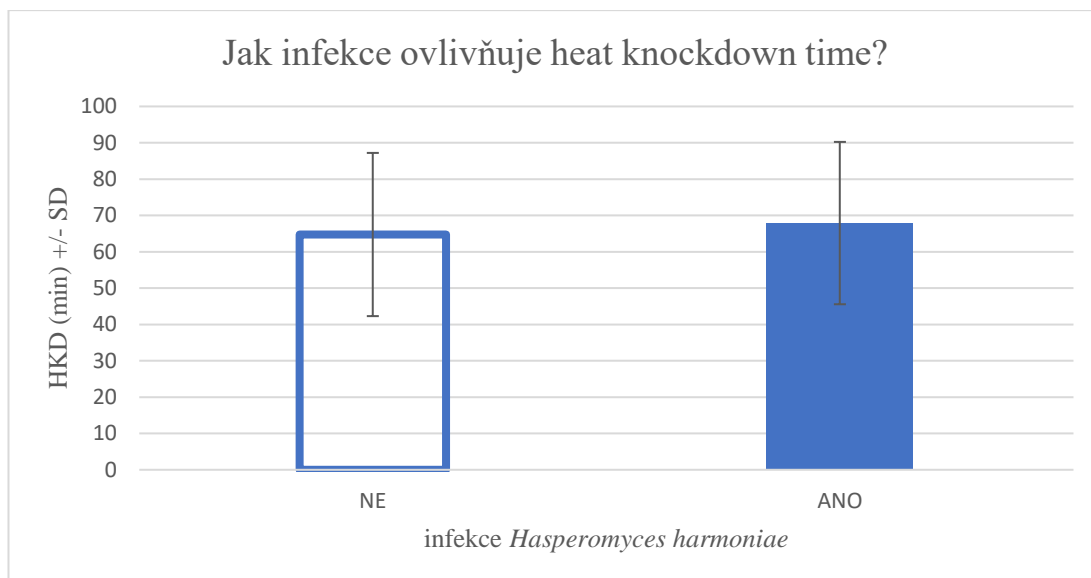
CTmin	DF	F-hodnota	P-hodnota
Velikost	1	4,360	0,038
Infekce <i>Hesperomyces</i>	1	14,246	< 0,001
Sezóna	1	48,560	< 0,001
Pohlaví	1	0,919	0,339

Obrázek 10: Tabulka s výsledky statistických testů pro CTmin jedinců. Možné faktory ovlivňující CTmin jsou: velikost jedince, přítomnost infekce *Hesperomyces harmoniae*, sezóna odchyty a pohlaví jedince.



Obrázek 11: Graf znázorňující, jak infekce parazitickou houbou *Hesperomyces harmoniae* ovlivňuje HKT.

Z obrázku 11 můžeme vypořadovat, že sezóna má opět větší vliv na HKT jedinců než jejich pohlaví, které ovšem také ovlivňuje HKT jedince. Letní jedinci vydrželi déle vystavení vysoké teplotě než jedinci podzemní.

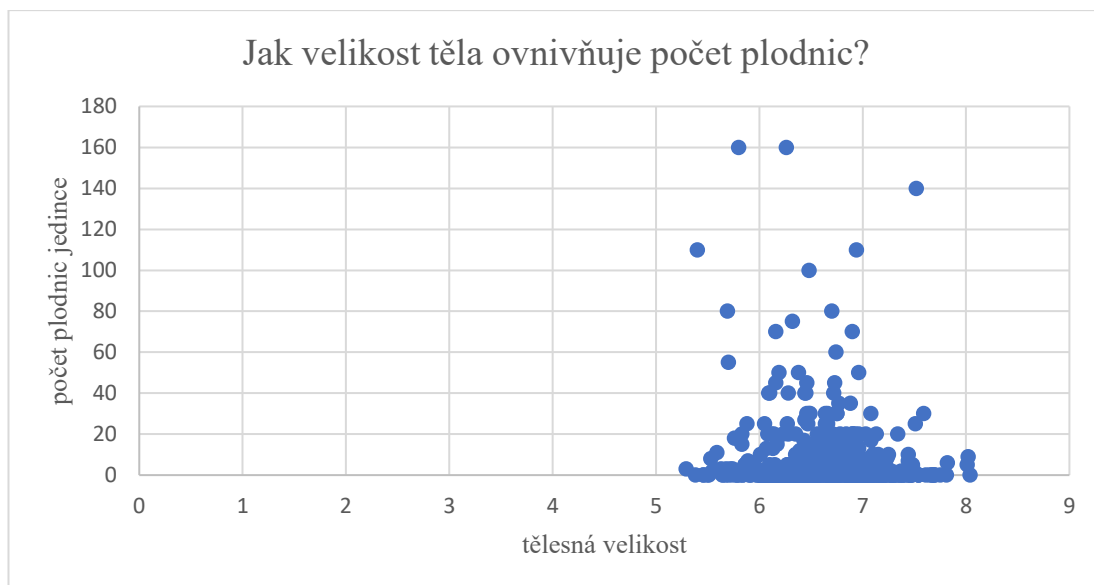


Obrázek 12: Graf znázorňující, jak sezóna a pohlaví ovlivňuje HKT

Vliv infekce *Hesperomyces harmoniae* se tentokrát neukázal jako faktor ovlivňující HKT jedinců.

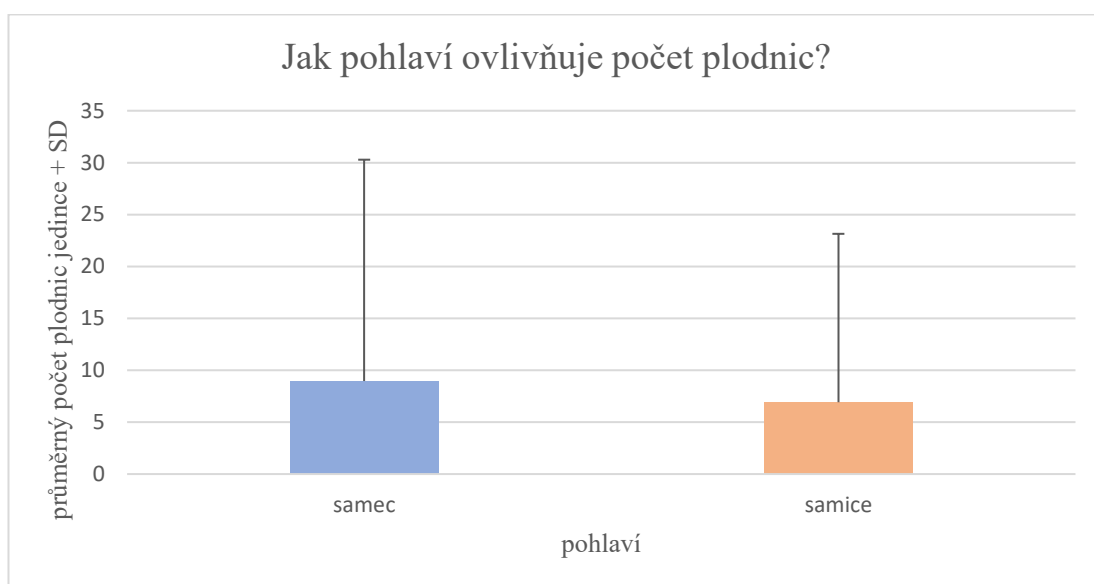
HKT	DF	F-hodnota	P-hodnota
Velikost	1	3,774	0,053
Infekce <i>Hesperomyces</i>	1	1,405	0,237
Sezóna	1	47,526	< 0,001
Pohlaví	1	9,017	0,003

Obrázek 13: Tabulka s výsledky statistického testu pro HKT jedinců. Možné faktory ovlivňující HKT jsou: velikost jedince, přítomnost infekce *Hesperomyces harmoniae*, sezóna odchyty a pohlaví jedince.



Obrázek 14 : Graf znázorňující, jak velikost jedince ovlivňuje počet plodnic.

Obrázek 14 zobrazuje, že počet plodnic úzce nesouvisí s tělesnou velikostí jedince. Při statistické analýze však tento vztah vyšel marginálně průkazný ($P = 0,048$).



Obrázek 15: Graf znázorňující, jak pohlaví jedince ovlivňuje počet plodnic.

Na rozdíl od tělesné velikosti jedince, pohlaví jedince nemá vliv na počet plodnic přítomných u nakaženého jedince.

6 Diskuse

Nejzásadnějším výsledkem mého experimentu je prokázání vlivu parazitické houby *Hesperomyces harmoniae* na toleranci invazivního sluněčka východního (*Harmonia axyridis*) vůči extrémně nízkým teplotám. Teplota prostředí je významným faktorem,

který podstatně ovlivňuje aktivitu a přežívání hmyzu, jelikož hmyz patří mezi poikilotermní organismy.

Virulence patogenů i imunita hostitele jsou neodmyslitelně spojeny s tím, jak slunéčka reagují na stres. Po vystavení jedinců extrémním teplotám a po podrobném srovnání výsledků infikovaných a neinfikovaných slunéček jsem došla k závěru, že neinfikovaný jedinec má nižší chill coma temperature (vydrží chladnější podmínky prostředí), než jedinec infikovaný patogenem. Naopak u heat knockdown time jsem ze statistického testu zjistila, že infekce neovlivňuje čas dosažení kritické teploty tak moc, jako ostatní faktory (sezóna a pohlaví jedince). Očekávala jsem, že stejně jako u experimentu Elliot et al. (2002), dojde při vystavení infikovaného jedince vysoké teplotě k vyvolání horečky. Takzvaná behaviorální horečka pomůže hostiteli snížit zátěž patogenem, a to buď zvýšením účinnosti jeho imunitního systému, nebo přímým poškozením patogenů citlivých na teplotu, když jejich tělesná teplota stoupne nad optimální patogeny. Tento scénář by mohl nastat i v tomto případě, jelikož infikovaná slunéčka nemají snížený heat knockdown time. Tato data o teplotních preferencích jsme měřili, a právě je zpracováváme. Nejsou však ještě součástí mé bakalářské práce.

Velikost těla hrála větší roli u měření chill coma temperature, než u měření heat knockdown time. Obecně platí, že čím větší je tělo, tím odolnější vůči extrémní teplotě jedinec je. Největší tolerance na nízké teploty se však ukázala u nenakažených samců. S ohledem na jejich menší tělesnou velikost bych očekávala, že to bude naopak (tj. samice budou mít nižší CT_{min} než samci). Ve své práci González-Tokman et al. (2021) měřil tepelnou toleranci (kritické tepelné maximum, CT_{max}) u brouků z čeledi vrubounovití (Scarabaeidae) vystavených toxickému parazitocidinu vylučovanému v trusu skotu, se známými negativními účinky na brouky vystavené imunitní výzvě. CT_{max} byla vyšší u větších brouků, což zdůrazňuje význam velikosti těla pro tepelnou toleranci u ektotermních živočichů.

Pohlaví jedince úzce souvisí s trendem tělesné velikosti jedince. Díky pohlavnímu dimorfismu u hmyzu jsou samice často o trochu větší jak samci (Teder et al., 2014). Každé pohlaví je často nápadně odlišné v mnoha aspektech jejich morfologie, rozmnožování, odolnosti vůči infekci, a dokonce i teplotní snášenlivosti. Byla provedena studie, zda přítomnost patogenu snižuje sexuální dimorfismus v horních tepelných limitech hostitele. Byla zkoumána reakce samců a samic *Daphnia magna* na bakteriální infekci *Pasteuria ramosa* a tepelný stres. Bylo zjištěno že samice *Daphnia*, pokud nejsou infikovány, jsou mnohem odolnější vůči tepelnému stresu než

samci. Infekce neguje jakoukoli výhodu, kterou samice mají (Laidlaw et al., 2020). V mém experimentu jsem došla k závěru, že samci mají větší odolnost vůči tepelnému stresu, ať už vůči nízkým, tak vůči vysokým teplotám. Překvapivé je, že letní samci vydrželi ze všech nejdéle v tepelném stresu, s ohledem na jejich menší velikost těla.

Sezóna také ovlivňuje chill coma temperature i heat knockdown time. Sezóna, ve které se určití jedinci vyskytovali, přirozeně ovlivňuje jejich teplotní toleranci vůči extrémním teplotám. Letní jedinci měli vyšší toleranci vůči vysokým teplotám než jedinci podzimní. Podzimní jedinci měli vyšší toleranci vůči nízkým teplotám, jelikož musí být přizpůsobeni na blížící se nástup zimy a s ní spojeny teploty pod bodem mrazu. Toto není úplně běžné. Většina studií ukazuje, že zde není trade-off mezi CT_{min} a CT_{max}. Jako příklad slouží studie Sørensen (2015), kdy byla na jaře pozorována *Drosophila subobscura*, která přezimuje jako larva a kukla. S rostoucími teplotami na jaře se tyto mouchy potýkají s vyššími minimálními a maximálními teplotami v jejich přirozeném mikrobiotopu. Jedinci *Drosophila* byli aklimatizováni v laboratoři na 20 °C po dobu jedné generace a byla jim porovnána kritická tepelná maxima (CT_{max}) a minima (CT_{min}) s jedinci odebranými přímo z jejich přirozeného mikrohabitatů. Obě populace (laboratorní a terénní) byly následně obě drženy v laboratoři při 20 °C a testovány na jejich CT_{max} a CT_{min} každý třetí den po dobu 28 dnů. Studie předpokládala, že mouchy aklimatizované na své přirozené mikrobiotopy měly mít zvýšenou odolnost proti chladu, bez ztráty tepelné tolerance. Zatímco negativní korelace mezi tolerancí vůči chladu a teplu je typicky pozorována v laboratorních studiích. V této studii u *Drosophila subobscura* tyto předpoklady nebyly pozorovány.

Z hlediska dalších výzkumů by bylo vhodné do analýz zahrnout i vážnost infekce (počty plodnic vyskytující se na infikovaných jedincích). V práci jsem se rozhodla pracovat pouze s informací, zda je jedinec nakažený či nikoli. Zajímavé je také, že infekce *Hesperomyces harmoniae* negativně ovlivňuje chill coma temperature, ale neovlivňuje heat knockdown time. V dalším výzkumu by bylo zajímavé zanalyzovat, zda při vystavení sluněček vysokým teplotám dojde k reakci v podobě behaviorální horečky, a zda by vystavení jedince vysokým teplotám oslabilo parazitickou houbu *Hesperomyces harmoniae*. Dále bych si ráda laboratorně odchovala vlastní novou generaci sluněček a kontrolovaně nakazila část jedinců parazitickou houbou. Práce s jedinci z volné přírody nám neposkytuje informace o jejich stáří, jelikož určování stáří sluněček podle zbarvení není spolehlivé, a neznáme

ani další detaily o jejich fyziologickém stavu (zda prožili nějakou vážnou infekci či například trpěly hlady v nějaké části svého života).

Slunéčka v ekosystému zaujímají roli ochrany rostlin před škůdci. Pomáhají regulovat množství mšic v porostech plodin (zejména je užitečné v sadech), ale zároveň tento druh vytlačuje původní druhy slunéček, jelikož je méně potravně specializovaný a jeho larvy úspěšně napadají i vývojová stadia dalších druhů užitečného hmyzu, včetně slunéček.

7 Závěr

Bakalářská práce spočívala ve zjišťování, zda má parazitická houba *Hesperomyces harmoniae* vliv na teplotní toleranci slunéčka východního (*Harmonia axyridis*). Praktická část výzkumu se odehrávala v laboratorních podmínkách v zázemí České zemědělské univerzity v Praze.

Infikovaní a neinfikovaní jedinci byli vystaveni extrémním teplotním podmínkám a bylo u nich měřeno chill coma temperature a heat knockdown time. Analýzou dat byl prokázán vliv parazitické houby na teplotní toleranci slunéček vůči extrémně nízkým teplotám.

Výsledky experimentu hodnotím kladně, stanovené cíle práce byly splněny. Z hlediska dalších výzkumů by bylo vhodné do analýz zahrnout i vážnost infekce (počty plodnic vyskytující se na infikovaných jedincích). V práci jsem se rozhodla pracovat pouze s informací, zda je jedinec nakažený či nikoli. Dále bych si ráda laboratorně odchovala vlastní novou generaci slunéček a kontrolovaně nakazila část jedinců parazitickou houbou. Práce s jedinci z volné přírody nám neposkytuje informace o jejich stáří, jelikož určování stáří slunéček podle zbarvení není spolehlivé, a neznáme ani další detaily o jejich fyziologickém stavu.

8 Použitá literatura

BALE J. S. & HAYWARD S. A. L., 2010: Insect overwintering in a changing climate. *Journal of Experimental Biology*. 213: 980-994.

BAUST J. G. & MILLER L. K., 1970: Variations in glycerol content and its influence on cold-hardiness in the Alaskan carabid beetle *Pterostichus hrwvicornis*. *Journal of Insect Physiology*. 16: 979-990.

BOWLER K., 2018: Heat death in poikilotherms: Is there a common cause? *Journal of Thermal Biology*. 76: 77-79.

BOZINOVIC F., CALOSI P., & SPICER, J. I., 2011: Physiological correlates of geographic range in animals. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 42: 155-179.

CANNON R. J. C. & BLOCK W., 1988: Cold tolerance of microarthropods. *Biological Review*. 63: 23-77.

CERYNGIER P., ROY H.E. & POLAND R.L, 2012: Natural enemies of ladybird beetles. In Hodek I., van Emden H.F. & Honek A. (eds): *Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae)*. Blackwell, Chichester. 375–443.

CERYNGIER P. & Twardowska, K., 2013: *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) as a host of the parasitic fungus *Hesperomyces virescens* (Ascomycota: Laboulbeniales, Laboulbeniaceae): a case report and short review. *European Journal of Entomology*. 110: 549–557.

COLINET H., SINCLAIR B. J., VERNON P. & RENAULT D., 2015: Insects in fluctuating thermal environments. *Annual Review of Entomology*. 60: 123–40.

DANKS H. V., 1996: The winter integration of studies of insect coldhardiness. *European Journal of Entomology*. 93: 383-403.

DRIJFHOUT B., BATHIANY S., BEAULIEU C., VROVKIN V., CLASSEN M., HUNTINGFORD C., SCHEFFER M., SGUBIN G. & SWINGEDOUW D., 2015: Catalogue of abrupt shifts in Intergovernmental Panel on Climate Change climate models. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112: E5777-E5789.

ELLIOT S. L., BLANFORD S., & THOMAS M. B., 2002: Host–pathogen interactions in a varying environment: Temperature, behavioural fever and fitness. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 269: 1599-1607.

FERRON P., 1978: Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*. 23: 409-442.

FOLK D. G., ZWOLLO P., RAND D. M. & GILCGRIST G. W., 2006: Selection on knockdown performance in *Drosophila melanogaster* impact thermotolerance and heat-shock response differently in females and males. *Journal of Experimental Biology*. 209: 3964-3973.

GARCÉS S. & WILLIAMS R., 2004: First record of *Hesperomyces virescens* Thaxter (Laboulbeniales: Ascomycetes) on *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*. 77: 156–158.

GARDNER J. L., PETERS A., KEARNEY M. R., JOSEPH L. & HEINSOHN R., 2011: Declining body size: a third universal response to warming? *Trends in Ecology and Evolution*. 26: 285-291.

GONZÁLEZ-TOKMAN D., GIL-PÉREZ Y., SERVÍN-PASTOR M., ALVADOR F., ESCOBAR F., BAENA-DÍAZ F., GARCÍA-ROBLEDO C., MARTÍNEZ-M. I., 2021: Effect of Chemical Pollution and Parasitism on Heat Tolerance in Dung Beetles (Coleoptera: Scarabaeinae). *Journal of Economic Entomology*. 114: 462–467.

HAELEWATERS D., MINNAAR I., CLISSELLA-TRULLAS S., 2016: First finding of the parasitic fungus *Hesperomyces virescens* (Laboulbeniales) on native and invasive ladybirds (Coleoptera, Coccinellidae) in South Africa. *Parasite*. 23: 5.

HASDAY J. D., FAIRCHILD K. D. & SHANHOLTZ C., 2000: The role of fever in the infected host. *Microbes Infect*. 2: 1891-1904.

HEINRICH B., 1993: The hot-blooded insects: Strategies and mechanisms of thermoregulation. *Harvard University Press*, 601.

HEMMINGS Z., & ANDREW N. R., 2017: Effects of microclimate and species identity on body temperature and thermal tolerance of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Austral Entomology*, 56: 104–114.

HOFFMANN A. A. & SGRO C. M., 2011: Climate change and evolutionary adaptation. *Nature*. 470: 479–485.

HOFFMANN A. A., SØRENSEN J. G. & LOESCHCKE V., 2003: Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: Bringing together quantitative and molecular approaches. *Journal of Thermal Biology*. 28: 175–216.

JÁNSKÝ L., 1988: Fyziologie živočichů a člověka. Přírodovědecká fakulta, UK Praha.

KEARNEY M., SHINE R. & PORTER W. P., 2009: The potential for behavioral thermoregulation to buffer “cold-blooded“ animals against climate warming. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106: 3835-40.

KESEL A. D., 2011: *Hesperomyces* (Laboulbeniales) and coccinellid hosts. *Sterbeekia*. 30: 32–37.

KRISTENSEN T. N., HOFFMANN A. A., OVERGAARD J, SORENSEN J. G., HALLAS R., LOESCHCKE V., 2008: Costs and benefits of cold acclimation in field-released *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 216–221.

KNAPP M., NEDVĚD O., 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: e74984.

KNAPP M., DOBEŠ P., ŘEŘIČHA M., HYRŠL P., 2018: Puncture vs. reflex bleeding: Haemolymph composition reveals significant differences among ladybird species (Coleoptera: Coccinellidae), but not between sampling methods. *European Journal of Entomology* 115: 1-6.

- KOCH R. L., 2003: The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: a review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. *Journal of Insect Science*. 3: 1-16.
- KORDÍK D., 2004: Fyziologie hmyzu - učební texty, Entomologický ústav Akademie věd české republiky a Biologická fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 220.
- KOŠŤÁL V., 2006: Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology*. 52: 113-127.
- KOZAK W., KLUGER M. J., TESFAIGZI J., KOZAK A., MAYFIELD K. P., WACHULEC M. & DOKLADNY K., 2000: Molecular mechanisms of fever and endogenous antipyresis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 917: 121-134.
- LAIDLAW T., HECTOR T. E., SGRÒ C. M., HALL M. D., 2020: Pathogen exposure reduces sexual dimorphism in host's upper thermal limits. *Ecology and Evolution*. 10: 12851-12859.
- LEATHER S. R., WALTERS K. F. A., BALE J. S., 1993: The Ecology of Insect Overwintering. *Cambridge University Press*. 255.
- LEGER R. J. S., 2021: Insects and their pathogens in a changing climate, *Journal of Invertebrate Pathology*, 184: 107644.
- LISTER B. C. & GARCIA A., 2018: Climate-driven declines in arthropod abundance restructure a rainforest food web. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 115: E10397-E10406.
- LOPEZ-MARTINEZ G. & DENLINGER D. L., 2008: Regulation of heat shock protein in the apple maggot *Rhagoletis pomonella* during hot summer days and overwintering diapause. *Physiological Entomology*. 33: 346-52.
- LOUIS C., JOURDAN M. & CABANAC M., 1986: Behavioral fever and therapy in a rickettsia-infected Orthoptera. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 250: R991-R995.

MAEBE K., DE BAETS A., VANDAMME P., VEREECKEN N. J., MICHEZ D. & SMAGGHE G., 2021: Impact of intraspecific variation on measurements of thermal tolerance in bumble bees, *Journal of Thermal Biology*. 99: 103002.

MAJEWSKI T. 2008: Atlas of the Geographical Distribution of Fungi in Poland. Fasc. 4. Laboulbeniales. *Szafer Institute of Botany*, Polish Academy of Sciences, Kraków. 240.

MILLER L. K., 1982: Coldhardinessstrategies of some adult and immature insects overwintering in Interior Alaska, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 73: 595-604.

MITZY F. P., AGUDELO-CANTERO G. A. , SANTIAGO-MARTÍNEZ M. G., NAVAS C. A., LOESCHCKE V., GIVSKOV J. & RAJOTTE E. G., 2021: Fungal infections lead to shifts in thermal tolerance and voluntary exposure to extreme temperatures in both prey and predator insects. *Scientific Reports*. 11: 21710.

NEDVĚD O., 1998: Modelling the relationship between cold injury and accumulated degree days in terrestrial arthropods. *Functional Ecology* 5: 816-824.

NEDVĚD O., 2014: Slunéčko východní (*Harmonia axyridis*) - pomocník v biologickém boji nebo ohrožení biodiverzity. Certifikovaná metodika pro praxi, Jihočeská univerzita, České Budějovice. 65.

NEDVĚD O., 2015: Brouci čeledi slunéčkovití (Coccinellidae). *Academia*. 1: 304.

NOH S., EVERMAN E. R., BERGER C. M. & MORGAN T. J., 2017: Seasonal variation in basal and plastic cold tolerance: Adaptation is influenced by both long- and short-term phenotypic plasticity. *Ecology & Evolution*, 7: 5248–5257.

OKE T. R., 1987: Boundary Layer Climates. 2nd edition, Methuen Co., London, New York. 435.

OVEN K. J., GIRI S., DILLON M. E., 2016: Altitudinal variation in bumble bee (*Bombus*) critical thermal limits. *Journal of Thermal Biology*. 59: 52–57.

- PEEL M. C., FINLAYSON B. L. & McMAHON T. A., 2007: Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification, *Hydrology Earth and System Sciences*. 11: 1633-1644.
- PETRÁSEK R., 1992: Fyziologie adaptací u živočichů a člověka. 1. vydání Brno: Masarykova universita. 162.
- PORRAS M. F., NAVAS C. A., MARDEN J. H., MESCHER M. C., De MORALES C. M., PINCEBOURDE S., ... & CAROL T. A., 2020: Enhanced heat tolerance of viral-infected aphids leads to niche expansion and reduced interspecific competition. *Nature communications*. 11: 1184.
- RANDALL D., BURGGREN W. & FRENCH K., 2002: Eckert Animal Physiology: Mechanisms And Adaptations. *Experimental Physiology*. 736.
- RASMONT P., COPPEE A., MICHEZ D. & De MEULEMEESTER T., 2008: An overview of the *Bombus terrestris* (L.1758) subspecies (Hymenoptera, Apidae). *Annales de la Société entomologique de France*. 44: 243–250.
- RASMONT P., FRANZEN M., LECOCQ T., HARPKE A., CASTRO L., CEDEBREG B., DVORAK L., FTZPATRICK U., GONSETH Y., HAUBRUGE E. & et al., 2015: Climatic Risk and Distribution Atlas of European Bumblebees. *BioRisk*, 10: 1-236.
- RING R. A., 1982: Freezing-tolerant insect with low supercooling points. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 73: 605-612.
- SCHMIDT-NIELSEN K., TAYLOR C. R., & SHKOLNIK A., 1971: Desert snails: Problems of the heat water and food. *Journal of Experimental Biology*, 55: 385-398.
- SELYE H., 1959: Perspectives in stress research. *Perspectives in biology and medicine*, 2: 403-416.
- SINCLAIR B. J., 1999: Insect cold tolerance: How many kinds of frozen? *European Journal of Entomology*. 96: 157-164.
- SINCLAIR B. J., 2015: Linking energetics and overwintering in temperate insects. *Journal of Thermal Biology*. 54: 5-11.

SØRENSEN J. G., KRISTENSEN T. N., LOESCHCKE V. & SCHOU M. F., 2015: No trade-off between high and low temperature tolerance in a winter acclimatized Danish *Drosophila subobscura* population. *Journal of Insect Physiology*. 77: 9-14.

STOREY K. B. & STOREY J. M., 1987: Freeze tolerance: constraining forces, adaptive mechanisms. *Canadian Journal of Zoology*. 66: 1122–1127.

SUNDAY J. M., BATES A. E. & DULVY N. K., 2011: Global analysis of thermal tolerance and latitude in ectotherms. *Proceedings of the Royal Society*. 278: 1823–1830.

TAYEH A., ESTOUP A., LAUGIER G., LOISEAU A., TURGEON J., TOEPFER S. & FACON B., 2012: Evolution in biocontrol strains: insight from the harlequin ladybird *Harmonia axyridis*. *Evolutionary applications*, 5: 481-488.

TEDER T., 2014: Sexual size dimorphism requires a corresponding sex difference in development time: a meta-analysis in insects. *Functional Ecology*. 28: 479-486.

WILLMER P. & STONE G., 1997: Temperature and water relations in desert bees. *Journal of Thermal Biology* 22: 453-465.

WELCH V. L., SLOGGETT J. J., WEBBERLEY K. M. & HURST G. D. D., 2001: Short-range clinal variation in the prevalence of a sexually transmitted fungus associated with urbanisation. *Ecological Entomology*. 26: 547-550.

ZACHARIASSEN K. E., 1985: Physiology of cold tolerance in insects. *Physiological Reviews*. 65: 799-832.

9 Přílohy

Seznam příloh:

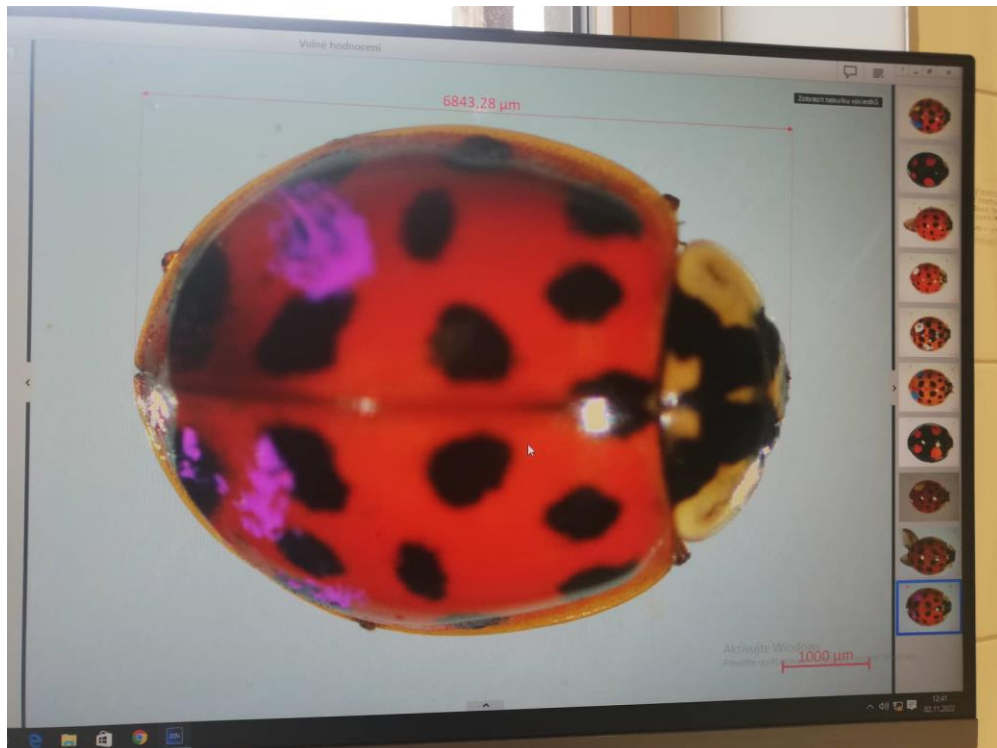
Příloha 1: Starání se o slunéčka: vyměňování vody a žrádla v petriho miskách.

Příloha 2: Měření strukturní velikost těla pomocí programu Zeiss Zen Lite.

Příloha 3: Třídění slunéček podle pohlaví.



Příloha 1: Starání se o slunéčka: vyměňování vody a žrádla v petriho miskách.



Příloha 2: Měření strukturální velikost těla pomocí programu Zeiss Zen Lite.



Příloha 3: Třídění sluněček podle pohlaví.