ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA EKOLOGIE

Vliv velikosti těla na odolnost hmyzu vůči stresu z nedostatku vody

Does body size modulates desiccation resistence in insects?

Bakalářská práce

Marek Gazárek

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

© 2019 ČZU v Praze

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Marek Gazárek

Aplikovaná ekologie

Název práce

Vliv velikosti těla na odolnost hmyzu vůči stresu z nedostatku vody

Název anglicky

Does body size modulates desiccation resistance in insects?

Cíle práce

Cílem práce bude vypracovat literární rešerši na téma odolnosti hmyzu vůči stresu z nedostatku vody (vysychání). Součástí práce bude i laboratorní experiment zkoumající odolnost několika druhů sluněček vůči vysychání a specificky faktory determinující vnitrodruhové rozdíly.

Metodika

Rešerše bude vypracována především na základě vědeckých článků vyhledaných na Web of Knowledge. Vedle základního přehledu o odolnosti hmyzu vůči vysychání by měla rešerše obsahovat přehled základních adaptací hmyzu, které mají zabránit ztrátě vody či snížit její spotřebu. Zvláštní pozornost by měla být věnována vlivu velikosti těla na odolnost vůči vysychání. V laboratorním experimentu bude zkoumána odolnost několika našich běžnějších druhů sluněček vůči vysychání. Specificky bude zkoumán vliv velikosti těla a pohlaví na proměnlivost odolnosti vůči vysychání mezi jedinci uvnitř téhož druhu.

Doporučený rozsah práce

cca. 30 stran + přílohy

Klíčová slova

nedostatek vody, vysychání, hmyz, sluněčka, odolnost vůči stresu

---

Doporučené zdroje informací

Engl T et al. (2018): Ancient symbiosis confers desiccation resistance to stored grain pest beetles. Mol. Ecol. 27: 2095-2108.

Gibbs AG et al. (2003): Evolution of water conservation mechanisms in Drosophila. J. Exp. Biol. 206: 1183-1192.

Hodek I et al (2012): Ecology and Behaviour of the Ladybird beetles (Coccinellidae). Blackwell Publishing Ltd.

Chown SL et al. (2011): Water loss in insects: An environmental change perspective. J. Insect Physiol. 57: 1070-1084.

Chown SL (2001): Physiological variation in insects: hierarchical levels and implications. J. Insect Physiol. 47: 649-660.

Předběžný termín obhajoby

2018/19 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Michal Knapp, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Elektronicky schváleno dne 27. 11. 2018

doc. Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 28. 11. 2018

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 24. 04. 2019

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci "Vliv velikosti těla na odolnost hmyzu vůči stresu z nedostatku vody" vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce Ing. Michala Knappa, Ph.D. a že jsem uvedl veškeré literární prameny a publikace ze kterých jsem čerpal.

V Praze dne 24.04.2019 _____

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval své rodině a snoubence Elišce Nekardové za podporu při studiu. Dále všem, co se podíleli na sběru slunéček a v neposlední řadě patří velké poděkování vedoucímu a školiteli Ing. Michalu Knappovi, Ph.D. za trpělivost a neskonalou ochotu a pomoc.

Vliv velikosti těla na odolnost hmyzu vůči stresu z nedostatku vody

Abstrakt

Voda patří mezi nejdůležitější abiotické faktory ovlivňující přežívání hmyzu. Velikost těla může při nedostatku zdrojů přímo či nepřímo ovlivnit fyziologický stav jedince, jak díky možným větším zásobám ve větším těle, tak snížením ztráty vody (v důsledku nižšího poměru povrchu ku objemu těla), ale i například možností získávat vodu srážením vzdušné vlhkosti na větším povrchu těla.

Předmětem mého laboratorního experimentu bylo měření odolnosti vůči vysychání několika původních druhů sluněček a jednoho invazního druhu slunéčka, *Harmonia axyridis*. V bakalářské práci jsem zejména zkoumal, jak souvisí průměrná velikost těla druhů s jejich odolností vůči vysychání a dále jaký vliv má velikost těla a pohlaví na rozdíly v odolnosti vůči vysychání mezi jedinci uvnitř téhož druhu.

Brouci byli po týdnu krmení pro přibližnou standardizaci počáteční kondice vystaveni experimentu testujícímu jejich vysychání (bez přístupu ke zdrojům potravy a vody). Každý jedinec byl umístěn samostatně do své Petriho misky. Experiment probíhal v klimaboxech za konstantní teploty (20 °C) a relativní vlhkosti (ca. 50 %), v režimu dlouhého dne (16:8 světlo:tma). Pro ověření vlivu stresu z nedostatku vody a stravy na mortalitu sluněček probíhalo souběžně měření délky přežívání i pro krmené jedince.

Zdá se, že velikost těla může mít zásadní vliv na přežívání jedince v souvislosti s vysycháním. Větší druhy jako *Coccinella septempunctata, Harmonia Axyridis* a *Coccinella quinquepunctata* přežívaly stres déle než ostatní menší druhy. Tělesná kondice a velikost těla (délka elytronu) pozitivně ovlivnily přežívání za stresových podmínek na vnitrodruhové úrovni. Je zajímavé, že samci byli více rezistentní než samice.

Klíčová slova: Nedostatek vody, vysychání, hmyz, slunéčka, odolnost vůči stresu, *Harmonia axyridis*

Does body size modulates desiccation resistence in insects?

Abstract

Water belongs to the most important abiotic factors influencing survival of adult insects. Under food and water stress, body size can influence individual resistance via amount of stored nutrients and decreased water loss caused by the higher body surface to volume ratio. Some desert species can employ larger body size to gather water from air humidity. The aim of experimental part of this Bachelor thesis was to measure desiccation resistance of several Central European ladybird species including invasive *Harmonia axyridis*. I investigated how body size and body condition were related to desiccation resistance. In addition, differences in desiccation resistance between sexes was investigated.

Field collected ladybirds were fed for several days to standardize their physiological state (body condition) and then subjected to the desiccation experiment (were kept without food and water resources). Beetles were individually placed into Petri dishes and were placed into climatic chambers set to the constant temperature (20°C), related humidity (about 50 %) and long-day photoperiod (16:8 light:dark). At the same time control individuals (provided with food and water) were exposed to the same abiotic conditions to test the effect of stress treatment.

The larger species as *Coccinella septempunctata*, *Harmonia axyridis* and *Coccinella quinquepunctata* were more resistant compared to smaller species. Body condition and body size (elytron length) positively affected survival under stressful conditions at the intraspecific level. Interestingly, males were more resistant compared to females.

Keywords: Insect, ladybirds, desiccation, desiccation resistance, *Harmonia axyridis*

Obsah

Teoretická část:

1. Úvod 10

1.2 Evoluce hmyzu a revoluční novinka – schopnost létat 10

1.3 Evoluce brouků 10

1.4 Evoluce slunéčkovitých 11

2. Hmyz a stres 12

2.1 Biotické faktory 12

2.1.1 Predace 12

2.1.2 Mikroorganismy 13

2.1.3 Parazitoidi a parazité 13

2.1.4 Konkurence 14

2.2 Abiotické faktory 14

2.2.1 Teplota 14

2.2.2 Vlhkost 15

2.2.3 Hlad a žízeň 15

3. Role velikosti těla ve vysychání hmyzu 16

4. Adaptace hmyzu na vysychání 18

4.1 Fyziologické adaptace 18

4.1.1 Klidové fáze 19

4.1.2 Tukové zásoby 21

4.1.3 Metabolická voda 21

4.2 Morfologické adaptace 21

4.2.1 Exoskeleton 21

4.2.2 Subelytrální komora 22

4.3 Ostatní druhy adaptací 22

4.3.1 Mikrobiální mutualismus 22

4.3.2 Pohlavní dimorfismus a vysychání hmyzu 23

Experimentální část:

5. Metodika **24**

5.1 Popis sledovaných druhů **24**

5.2 Popis experimentu **26**

5.2.1 Sběr jedinců **26**

5.2.2 Chov **26**

5.2.3 Experiment vystavení stresu **26**

5.3 Analýza dat **27**

6. Výsledky **28**

7. Diskuze **30**

8. Závěr **31**

9. Přehled použité literatury **33**

Teoretická část:

1. Úvod

Na světě je podle odhadů až 8 milionů druhů hmyzu, z čehož popsaných druhů známe okolo jednoho milionu (Chapman, 2009). Za jejich úspěchem stojí vysoká rychlost speciace umožněná krátkými životními cykly a přirozeně nízká míra vymírání, která je daná vysokou reprodukční schopností umocněnou o efektivní velikost populace. Mezi další výhody lze řadit malý poměr povrchu těla k objemu, kterou poskytuje členovcům ochranný exoskelet, možnost létat u většiny druhů a larva umožňující rychlejší vývoj ale také možnost prodloužené diapauzy v nepříznivých podmínkách (Engel, 2015). To vše činí hmyz jednou z nejúspěšnějších skupin organismů na naší planetě. Najdeme jej na téměř všech suchozemských a sladkovodních stanovištích. Přes pouště a pralesy až po rybníky. Pár druhů lze dokonce nalézt ve slaných vodách. Mezi jednotlivými druhy lze pozorovat pestrou morfologickou rozmanitost, avšak žádný z nich nedosahuje velkých tělesných proporcí (Myers, 2001).

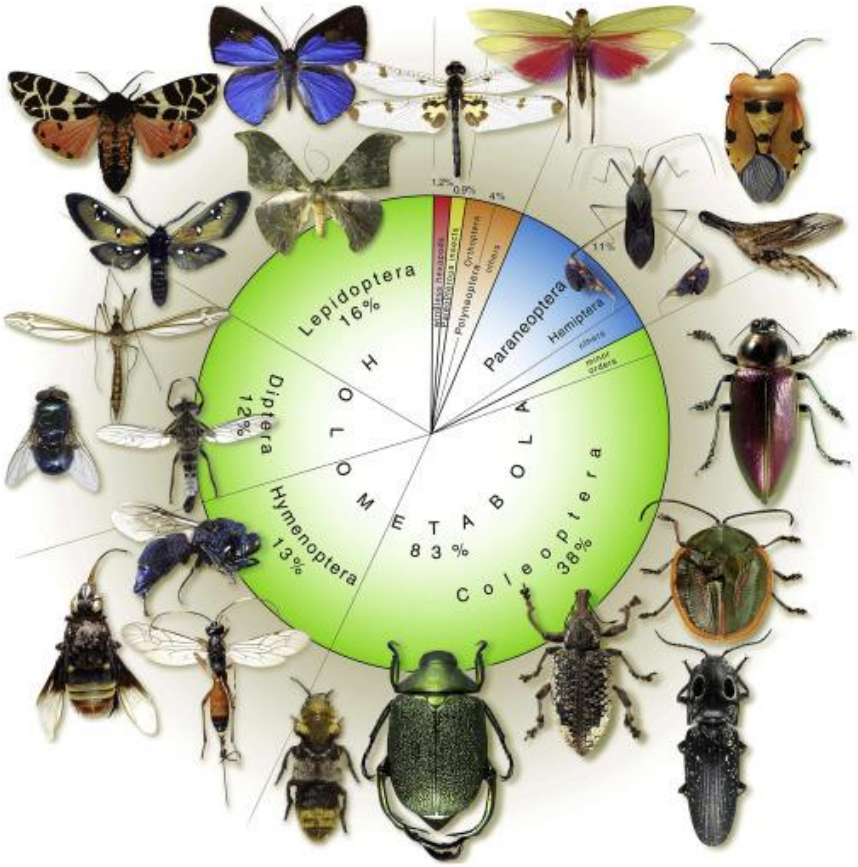
1.2 Evoluce hmyzu a revoluční novinka - schopnost létat

Nejviditelnějšími zástupci podkmene šestinohých je okřídlený hmyz, který tvoří okolo 98.5% všech známých šestinohých. Křídla a postupné zdokonalování se v letu po miliony let pomohla hmyzu stát se natolik úspěšným, přesto prvním stupněm k úspěchu byla kolonizace souše (Grimaldi, 2010). Nejvíce fosilních nálezů pochází ze středního karbonu, ale existují nálezy podstatně starší, patřící z velké části primitivnímu bezkřídlému hmyzu. Zachovalá kusadla *Rhyniognatha hirsti* pravděpodobného předchůdce řádu *Odonata* (vážky) z raného Devonu však naznačují, že zástupci podtřídy křídlatých mohli být přítomni mnohem dříve (Alexander, 2018).

Zkoumání pošvatek naznačilo, že dospělci některých druhů jsou příliš slabí na to, aby mohli létat, a proto využívají plácání křídel jako nástroj k pohybu po vodní hladině. K pohybu postačovala i krátká křídla, což bylo pravděpodobně přechodnou fází evoluce létání. Pokud se u vodního hmyzu s pohyblivými žábrami plně vyvinulo dýchání, bylo mu umožněno přesouvat se po hladině i s malými a slabými křídly. Selekce pro rychlejší „klouzání“ pak vedla k prodloužení a zrychlení křídel spolu se zpevněním svalové soustavy. Tato morfologická vylepšení nejprve umožnila se krátce vznést nad vodní hladinu, což nakonec vedlo až k plnohodnotnému letu (Alexander, 2018).

1.3 Evoluce brouků (*Coleoptera*)

Největší zastoupení mezi hmyzem patří broukům (*Coleoptera*) (Tomoyasu et al., 2009). Známe přes 350 000 popsaných druhů brouků, jež zahrnují asi 25 % všech popsaných druhů živočichů a řadí se tak k nejúspěšnějším skupinám zvířat na planetě (Resh, 2003). Důležitým morfologickým znakem ovlivňujícím evoluční úspěch brouků jsou tvrzená přední křídla zvaná krovky. Toto vylepšení nazývané jako "exoskeletalizace" je kombinací mnoha složitých procesů, jejichž výsledkem je tlustější, pevnější a pigmentovaná pokožka hmyzu. Krovky pomáhají broukům odolávat mechanickému stresu, brání dehydrataci a pomáhají se lépe přizpůsobit různorodému životnímu prostředí. Jak došlo k přeměně křídel na krovky zatím není dostatečně prozkoumáno (Tomoyasu et al., 2009).



Obrázek 1 Koláčový graf pro zastoupení nejpočetnějších řádů hmyzu. Lze vypozorovat, že největší zastoupení mezi řády mají brouci (38%). Zdroj: (Engel, 2015)

1.4 Evoluce slunéčkovitých (*Coccinellidae*)

Druhové bohatství brouků je výsledkem jedné z biologicky největších evolučních radiací. Rozmanitost řádu však není výsledkem jediného faktoru jako například fytofágní specializace na krytosemenné rostliny způsobená adaptativní radiací následující rychlou diverzifikaci krytosemenných rostlin přibližně před 100 miliony lety. Hypotéza „krytosemenné exploze“ je často brána jako klíčový faktor diverzifikace řádu motýlů a řádu blanokřídlých. Společenstvím krytosemenných rostlin však nelze vysvětlit rozmanitost brouků, protože většina z nich nejsou fytofágní a jejich předci byli většinově mykofágní (živící se myceliem hub) anebo saprofágní (živící se odumřelými částmi organismů). Odpověď na diverzifikaci nefytofágní linie mohou poskytnout slunéčka (*Coccinellidae*). Slunéčka jsou morfologicky rozmanitá, obývající různorodá prostředí. Zahrnující zhruba 6000 druhů velikosti od 0,8 mm do 18 mm. Vykazují širokou trofickou různorodost zahrnující druhy herbivorní, antofilní, mykofágní ale i vysoce specializované na mšice, molice a další bezobratlé (Seago et al., 2011).

Z analýzy vývoje slunéčkovitých plynou čtyři korelace diverzifikace, dvě ekologické a dvě morfologické: přechod z mykofágie na masožravost obrněných štítenkovitých (*Diaspididae*), přechod v predaci z obrněných štítenkovitých na neobrněné. Trofické posuny od mykofágie k predaci byly sledovány u několika linií mykofágních brouků zahrnující nejméně čtyři nadčeledi *Cucujoidea*, preadaptace mykofágů mohla mít tento průběh: (1) mykofágní předci; (2) brouci živící se plísní

rostoucí na sladké „medovině“ mšicosavého (*Sternorrhyncha*) hmyzu; (3) přechod k predaci mšicosavých (Seago et al., 2011).

Přechod z mykofágie na afidofágii je jistě nejdůležitějším faktorem ve vývoji slunéčkovitých. Dalším pravděpodobným urychlovačem speciace slunéčkovitých je původ larválních obranných mechanismů proti mravencům včetně voskových exsudantů a dorzálních obraných žláz (Seago et al., 2011).

2. Hmyz a stres

Hmyz stejně jako jiné organismy ovlivňují biotické i abiotické stresory, které mohou být umocněny negativním důsledkem antropogenní aktivity. Jako stresor lze označit jakýkoliv faktor, jež dokáže narušit homeostázi, fyzickou zdatnost nebo výkonost hmyzu (Kaunisto et al., 2016). Každé stanoviště je prostorově i troficky omezené stejně jako doba, po kterou jsou na stanovišti vhodné podmínky pro daný druh (Hodek et al., 2012).

Mezi nejvlivnější stresory vytvořené lidskou činností patří klimatické změny, fragmentace a znečišťování biotopů a zavlečení invazních druhů (Kaunisto et al., 2016). Nejvíce stresujícími abiotickými faktory pro hmyz jsou teplota (Wojda, 2017) a nedostatek zdrojů (Petsakou et Perrimon, 2016) zejména vody (Reynierse et al., 1972). Mezi biotické řadíme parazity a mikroorganismy jako jsou bakterie (Hodek et al., 2012).

2.1 Biotické faktory

2.1.1 Predace

Na obranu vůči predátorům si hmyz vytvořil různé mechanismy, mezi které patří například citlivý sluch. Noční můry se tak mohou vyhýbat echolokaci netopýrů, což jim zvyšuje šanci na přežití o 40 – 50 % oproti neslyšícímu hmyzu. Motýlí čeleď přástevníkovití (*Arctiidae*) dokonce využívá ke své ochraně jedinečnou taktiku. Pokud detekuje echolokaci netopýra, vyšle silné ultrazvukové cvaknutí směrem k predátorovi a zmatený netopýr tak přeruší svůj útok (Yager, 2012).

Dalším obraná strategie hmyzu proti predátorům je aposematismus. Součástí aposematismu je primární obrana zastoupená většinou výrazným zbarvením, pachy nebo zvuky. Sekundární obrana se skládá z chemické obrany či vybraných morfologických znaků. Aposematismus varuje možné predátory před možnou toxicitou jedince. Predátor má po prvním ulovení aposematicky zbarveného jedince špatnou zkušenost a dále se těmto cílům vyhýbá. Množství varovných znaků může přímo korelovat s množstvím chemické obrany, příkladem může být slunéčko sedmitečné (*Coccinella septempunctata*) (Rojas et al., 2015). Většinu hmyzožravých ptáků tak ochranné zbarvení od predace slunéček odrazuje. Pouze některé druhy nemají s predací problém, patří mezi ně například vrabec polní, naopak sýkora koňadra se jim plně vyhýbá (Nedvěd, 2014). K obraně proti možným predátorům z řad obratlovců pomáhá kromě výstražného zbarvení také reflexní krvácení (Seago et al., 2011), při kterém dochází k vytlačení hemolymfy tvořené alkaloidy (Hodek et al., 2012).

Ostatní hmyz a pavouci jsou jako predátoři slunéček zanedbatelní, mírný vliv na snížení početnosti má však dravá ploštice *Podisus maculiventris* (Nedvěd, 2014) a

mravenci, kteří se dostávají do konfliktu se slunéčky při obraně mšic (Hodek et al., 2012).

2.1.2 Mikroorganismy

Mikroorganismy mohou přímo podporovat nebo ohrožovat fyziologické procesy uvnitř těla jedince, což vede k prospěšným (vzájemným) nebo škodlivým (patogenním) důsledkům pro hostitele (Eleftherianos et al., 2017).

Slunéčka napadají různé druhy bakterií. Například *Adalia bipunctata* je ohrožena hned čtyřmi rody bakterií, jež zabíjí samčí embrya, patří sem rod *Spiroplasma,* dva druhy rodu *Wolbachia* a jeden rodu *Ricketsia* (Hodek et al., 2012). (Nedvěd, 2014) však uvádí, že bakterie rodu *Spiroplasma* sice dokážou selektivně zabíjet samčí embrya, to však nemá na populaci zásadní vliv, protože nevyvinutá vajíčka žerou čerstvě vylíhlé samičí larvy, které tím získávají výhodu proti larvám z ostatních snůšek.

2.1.3 Parazitoidi a parazité

Parazitizace hlísticemi *Parasitylenchus bifurcatus* má vliv na spotřebu tukových zásob a snižuje početnost způsobenou atrofií pohlavních orgánů (Nedvěd, 2014).

Existují však skupiny parazitoidů specializujících se přímo na slunéčka. Například zástupci čeledi kuklicovití (*Tachinidae*) způsobují slunéčkům impotenci. Občasným parazitoidem slunéček jsou také hrbilky zaměřujících se na larvy a kukly, po napadení slunéček rodem *Phalacrotophora* se v těle vyvine několik parazitoidů najednou a hostitel poté hyne (Nedvěd, 2014).

Mezi parazity můžeme zařadit larvy lumčíka *Dinocampus coccinellae,* jež napadá různé druhy slunéček (Nedvěd, 2014). Pokles predace nastává při vývoji posledního instaru *Dinocampus coccinellae* (Berkvens et al., 2010).

Parazitický roztoč *Coccipolipus hippodamiae* se šíří hlavně při kopulaci ale i během těsného kontaktu zimujících slunéček. V Evropě je zatím nejvíce napadáno slunéčko dvoutečné (*Adalia bipunctata)*. Parazit žije zakousnutý na spodní straně krovek a má za následek omezenou plodnost samic a sníženou délku života obou pohlaví (Nedvěd, 2014).

Hesperomyces virescens patří k obligátním ektoparazitům parazitujícím na více než 30 druzích dospělců slunéčkovitých. *Hesperomyces virescens* dokončuje celý svůj životní cyklus na povrchu těla hostitele, kde jsou z jednotlivých askospor přímo tvořeny stélky této parazitické houby. Tyto stélky mohou vyrůst na kterékoliv části těla hmyzu a jejich pakořínky mohou pronikat do pokožky hmyzu přibližně 3μm hluboko. Experimenty ale i pozorování v terénu naznačuje, že spoustu behaviorálních i životních znaků slunéčka *Harmonia axyridis* napomáhá k šíření parazita napříč populacemi. Přenos probíhá v aktivní části sezóny většinou během pohlavního styku, což je indikováno reprodukční strategií houby. Na rozdíl od jiných hostitelů je *Harmonia axyridis* se svojí kombinací životního stylu zahrnujícího více generací za rok s vysokou promiskuitou a tvorbou velkých přezimujících agregací vhodným hostitelem, který náhodně zvyšuje přenos parazita mezi generacemi. Vzhledem k tomu, že zimoviště slunéček bývají často suchá, je pravděpodobné že je voda odebírána hostiteli a napomáhá tak vysychání organismu. To je umožněno haustoriem prorostlým skrze kůži hmyzu. Pro omezený počet studí bylo zjištěno pouze několik negativních efektů na slunéčka: pokles frekvence páření samic, snížená citlivost vlivem početných stélek na jednotlivých částech hlavy včetně tykadel a kusadel, ztráta

hybnosti jedné či více končetin v důsledku porostu stélek u těžce infikovaných jedinců, nižší šance na přežití zimy zejména u samců a v neposlední řadě předčasná úmrtnost (Haelewaters et al., 2017).

2.1.4 Konkurence

Využívání zdrojů nepůvodními druhy predátorů je neohleduplné a můžou až drasticky snižovat početnost kořisti. Regulace mšic invazním druhem *Harmonia axyridis* dostává původní druhy pod konkurenční tlak, což vede ke snižování stavu domácích slunéček (Nedvěd, 2014).

Ekologické studie potvrzují, že mezidruhová kompetice o společný zdroj ovlivňuje rozšíření a hojnost druhu (Cornelissen et al., 2013).

Mezi konkurenci lze zařadit vnitrodruhový ale i mezidruhový kanibalismus, který ohrožuje slabší jedince, zato silnějším poskytuje výživu a konkurenční výhody (Pervez et al., 2006). Při nedostatku kořisti může být kanibalismus poslední možností k vývoji v dospělce, kdy starší instary pojídají mladší. Obětování slabších instarů však vede k přežití silnějších, kteří v dospělosti dostanou šanci hledat přirozenou kořist (Pervez et Omkar, 2011).

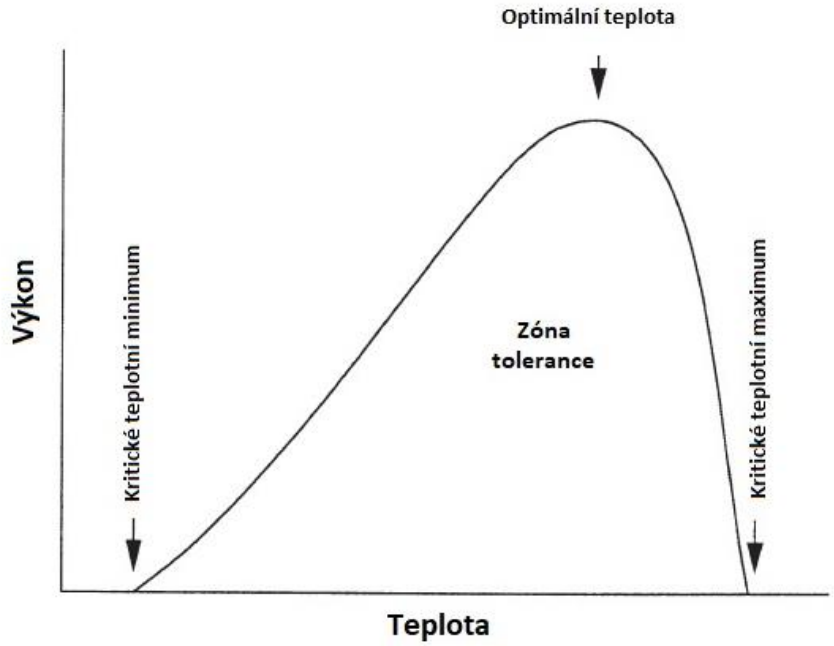
2.2 Abiotické faktory

2.2.1 Teplota

Mezi nejběžnější faktor vytvářející selektivní tlak na všechny organismy včetně hmyzu patří teplota (Wojda, 2017).

Hmyz spadá mezi poikilotermní (studenokrevné) živočichy, a proto je až na výjimky odkázán na teplotu prostředí. Mezi ně patří některé včely, mouchy a můry, které dokážou za letu vytvořit teplo pomocí svalových kontrakcí, a naopak některé druhy cikád, kobylek a jiných pouštních druhů se schopností ochlazovat se tělesným výparem. Specializace jednotlivých druhů na odlišná prostředí udává širokou teplotní valenci pro přežití, výkon nebo reprodukci. Teplotní křivka výkonu (Obr. 2) vymezuje tělesnou teplotu potřebnou k aktivitě (zóna tolerance). Dolní hranice extrému je kritické teplotní minimum a horní hranice kritické teplotní maximum. Vytvořená křivka prokazuje, že aktivita může mít teplotu, při které je výkon optimální (optimální tělesná teplota). Je zajímavé, že mimo optimální teplotu je výkon razantněji snížen na horní hranici teplotní stupnice než na hranici dolní. Při možnosti volby hmyz automaticky vybírá prostředí s optimální teplotou prostředí, avšak dominantní teploty převažující většinu roku tuto možnost nenabízí a ovlivňují tak růst, vývoj a rozmnožování (Resh, 2003).

Teplota je důležitým faktorem i pro úspěšný růst, vývoj a reprodukci slunéčkovitých. Zvýšení teploty může zkrátit vývojové období a nižší teplota odráží schopnost vývoje jedinců v dospívání. V laboratorním prostředí bylo zjištěno, že například pro úspěšný vývoj rodu *Propylea* je optimální teplota 27°C. Nejvíce náchylné jsou první instary, zatímco jedinci před zakuklením umírají nejméně mezi 20 - 30°C. Nejodolnější vajíčka vůči nízkým teplotám má *Coccinela septempunctata* se schopností přežít při teplotě 6.8°C. Při sledování několika populací druhu *Propylea quatuordecimpunctata* na území Kanady, Francie a Turecka bylo zaznamenáno nejvyšší přežívání při teplotě 22°C a nejnižší při teplotě 26°C (Pervez et Omkar, 2011).



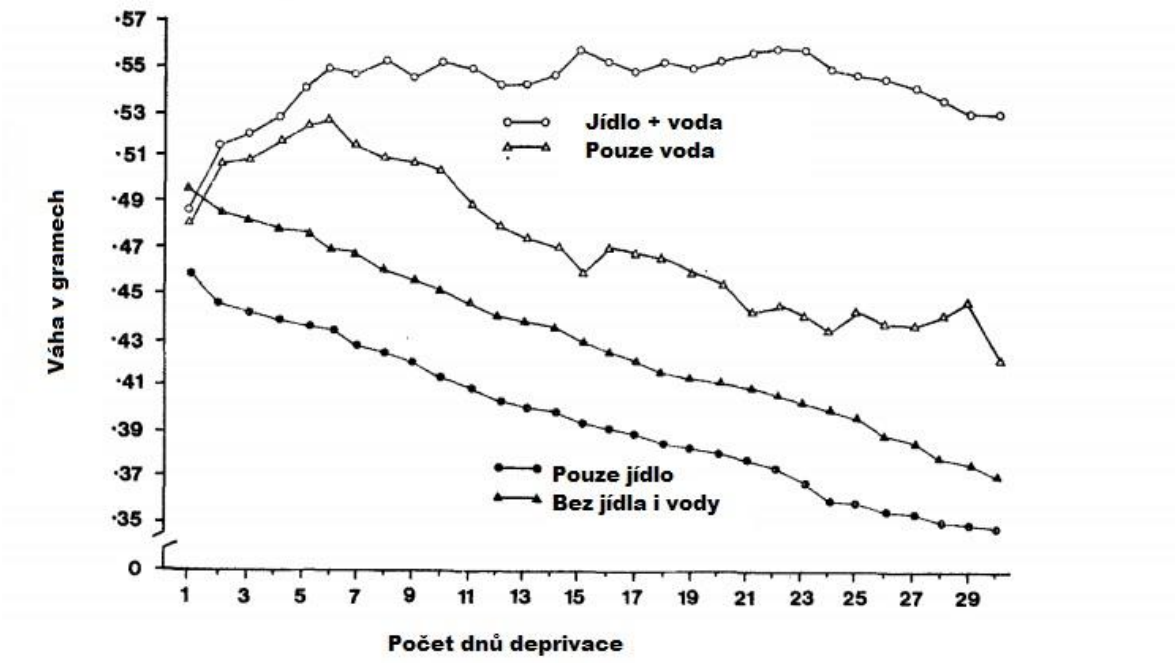
Obrázek 2 Teplotní křivka výkonu vymezující zónu tolerance, kritické teplotní minimum, optimální teplotu a kritické teplotní maximum při níž může být vykonávána určitá aktivita. Všimněte si, že nad optimální teplotou je pokles výkonu obvykle razantnější než směrem k dolní hranici (modifikováno podle: Resh, 2003)

2.2.2 Vlhkost

Vlhkost ovlivňuje slunéčka hlavně během larválního vývoje, kdy nízká vlhkost (30% RH) zvyšovala podíl samců na 62-71%, oproti tomu střední vlhkost (60% RH) už pouze na 48-52% a naopak vysoký podíl vzdušné vlhkosti (90% RH) napomáhá 61-82% převaze samic. Přežívání larev v dospělé brouky se liší při krmení mšicemi, kdy je pro přežívání krmného materiálu potřeba vyšší vlhkosti a naopak v nižší vlhkosti při krmení mraženými vajíčky zavíječe moučného, které při vyšší vlhkosti rychle plesniví (Nedvěd, 2014).

2.2.3 Hlad a žízeň

Hlad a žízeň lze chápat jako dvě hlavní potřeby k přežití nejen u hmyzu (Petsakou et Perrimon, 2016). Hladovění může být interpretováno jako neschopnost přijímat potravu v důsledku jejího nedostatku. Stres vyvolaný nedostatkem potravy zvyšuje jedinci agresivitu a konkurenci a může vést až ke kanibalismu (Scharf, 2016). Nedostatek potravy a vody patří mezi faktory snižující tělesnou hmotnost. Při výzkumu efektu hladovění a žíznění na tělesnou hmotnost a aktivitu švábů bylo zjištěno, že závislost na zdroji potravy a vody je velká, avšak dostupnost vody byla důležitějším faktorem než dostupnost jídla (Reynierse et al., 1972).



Obrázek 3 Váha v gramech závislá na deprivaci švábů nedostatkem jídla a vody v řádu dnů (modifikováno podle: Reynierse et al., 1972).

3. Role velikosti těla ve vysychání hmyzu

Změna klimatu ohrožuje do budoucna většinu organismů. V souvislosti se studiem změny klimatu bylo zjištěno, že na nárůst teplot mohou být fyziologicky citlivější organismy žijící okolo rovníku než ty v mírném pásu. Obecně jsou však organismy rovníkového pásma více tolerantní vůči vysokým teplotám, protože se častěji blíží k hladině kritického teplotního maxima. Dosažení kritického teplotního maxima je definováno jako ztráta svalové kontroly v důsledku toho, že jedinec nedokázal vyhledat přijatelnější prostředí. Evoluční reakce na změnu klimatu jsou předpokládány spíše u druhů, jež mají krátkou generační dobu (Diamond et al., 2012).

Hmyz je vzhledem k malé velikosti těla velmi zranitelný vůči ztrátě tělesných tekutin v důsledku dvou nejvýznamnějších abiotických faktorů – teplotě a dostupnosti vodních zdrojů (Addo-bediako et al., 2001) a tento problém se výrazně zhoršuje v horkých a suchých oblastech (Gibbs et al., 2003). Role velikost těla hraje významnou úlohu ve snižování ztrát vody v těle díky nižšímu poměru plochy těla k objemu. Menší jedinci odolávají lépe chladným podmínkám a větší pak vyšším teplotám (Lann et al., 2011). Odolnost se může u různých druhů suchozemských členovců měnit v závislosti na pohlaví. Vztah mezi povrchem a objemem se tak může lišit v důsledku tvaru těla daného pohlaví a ovlivňuje tak rozdílnou odolnost vůči vysychání. Větší jedinci mají více zásob než menší a jsou také těžší. Kromě rozdílů ve velikosti těla najdeme mezi samci a samicemi rozdíly v reprodukčních požadavcích na zdroje. Na druhou stranu je

mnoho dalších faktorů ovlivňujících odolnost k vysychání a to například různé behaviorální, morfologické a fyziologické adaptace (Tejeda et al., 2014). Například pouštní druhy jsou lépe adaptované na vysychání než druhy mesické (z oblastí dobře zásobených vodou), dokážou ukládat větší zásoby vody v podobě sacharidů a lipidů a v neposlední řadě můžou být tolerantní k velké ztrátě tělesných tekutin. Ačkoli existují pouštní druhy hmyzu, které jsou adaptované na ztrátu tělních tekutin pod 50 % oproti normálnímu stavu. Nejsou však nutně nejlepší v přežívání dehydratačního stresu. Fakticky jsou v toleranci ztráty tělesných tekutin lepší vodní brouci jako například *Peltodytes aquaticus* z čeledi *Haliplidae* (plavčíkovití) Nutno však poznamenat, že původní obsah tělesných tekutin tohoto brouka je nadprůměrný oproti jinému hmyzu. Nejdůležitější rozdíl mezi druhy členovců z aridních oblastí a druhy mesickými je v tom, že aridní druhy dokážou vodu udržet déle a ztrácejí ji tak pomaleji. Tato adaptace byla již dříve pozorována u škorpionů, brouků, mravenců, pavouků a také octomilek (Gibbs et al., 2003).

K dosažení homeostáze vody může hmyz využívat kombinaci mechanismů jako je tvorba metabolické vody, snižování ztrát vody a zvýšení tolerance k dehydrataci (Fouet et al., 2012). Udržování homeostáze zahrnuje například snižování tělesné teploty nebo zachování vodní bilance. Jedná se o náročný proces spotřebovávající zásoby živin. Základem při dehydrataci je snižování aktivity a vyhýbání se suchému prostředí. Pro detekci změny ve vzdušné vlhkosti využívá hmyz hydrosenzory na tykadlech. Tyto senzory lze nalézt u různých taxonů jako jsou včely, kobylky, mouchy, brouci a jiné. Sledování vlhkosti je provázáno se sledováním teploty, tu hmyz hlídá pomocí teplotních bílkovinových receptorů situovaných na různých částech těla jako jsou nohy, břicho nebo ústa. Jakákoliv změna vede okamžité reakci v podobě změn v aktivitě, orientaci nebo k hledání vhodnějších podmínek (Chown et al., 2011). Některé pouštní druhy využívají odpařování k tělesné termoregulaci ale jedná se o druhy, které mají přístup k velkému množství vody jako například cikády krmící se xylémem rostlin (Gibbs et al., 2003). U jiných pouštních druhů najdeme menší kutikulární transpiraci a v některých případech mají i nižší rychlost metabolismu, můžou tak být odolnější než druhy mesické o stejné velikosti těla (Addo-bediako et al., 2001). Například u *Drosophila melanogaster* byla pozorována změna strategie stravování, která zvýšila obsah tělesných tekutin a jejich zadržování v hemolymfě, dále pak zvýšení zásob sacharidů a lipidů, které produkují metabolickou vodu což zlepšuje toleranci k dehydrataci (Tejeda et al., 2014).
Drosophila (Octomilky) obývají široké spektrum stanovišť včetně pouští a mezi jednotlivými druhy jsou rozdílné adaptace k přežívání. Způsoby, jak ztrácet vodu jsou však u všech druhů stejné. Mezi nejčastější patří vylučováním zadečkem a ústy, transpirace skrze pokožku a respirační ztráty vody způsobené odpařením skrze spirakuly (průdušnice) (Gibbs et al., 2003). Ztráta vody vylučováním zaujímá přibližně 6% celkové ztráty (Gibbs et al., 2003) vlivem dýchání je ztraceno přibližně 10% tělesných tekutin (Addo-bediako et al., 2001). Největší podíl na vysychání má však ztráta skrze pokožku. K potlačení této ztráty využívá hmyz svrchní vrstvu pokožky nasycenou tuky, která svou vodotěsností pomáhá zadržovat vodu v těle (Chown et al., 2011).

Odolnost vůči extrémním teplotám se mezi populacemi *Drosophila melanogaster* postupně mění v rámci zeměpisné šířky od severu k jihu jako následek přímého či nepřímého vlivu selekce. Jako důkaz může být kratší doba pro zotavení po teplotního šoku. Na jihu vlivem vysokých teplot a na severu vlivem nízkých teplot. Postupný přechod z obou světových stran směrem ke středu mírného pásu dobu zotavení prodlužuje. Tyto adaptační přechody nazýváme klinální variabilita. Vyjadřují

proměnlivost vnitrodruhových znaků vlivem vnějších podmínek a můžou ovlivňovat velikost těla, velikost vajec nebo konkurenceschopnost jedinců. Vliv selekce potlačuje nevhodné geny a vybrané geny jako například „heat shock response“ gen, který ovlivňuje rozdílnou citlivost vůči vysokým teplotám ponechává. Je prokázáno, že vystavení některých jedinců *Drosophila melanogaster* dostatečně vysokým teplotám vede ke genové expresi (proces, při kterém je informace uložená v genu reálně pozměňuje buněčnou strukturu nebo funkci) vedoucí k postupné aklimatizaci na tyto teploty (Hoffmann et al., 2002). Při srovnání dvou druhů octomilek *Anastrepha ludens* a *Drosophila melanogaster* bylo zjištěno, že přizpůsobování se suchému prostředí u *A. ludens* vede ke zvyšování odolnosti vůči vysychání, prodloužené době pro vývoj larev, zpožděné reprodukci, vyšší hmotnosti a některým dalším fyziologickým změnám. U vybraných jedinců *Anastrepha ludens* se v laboratorních podmínkách podařilo délku přežívání stresu prodloužit na dvojnásobek už po desáté generaci (Tejeda et al., 2016). Také *Drosophila melanogaster* dokáže vlivem selekce zvýšit odolnost vůči vysychání už u desáté generace (Chown et al., 2011). Zvýšení poměru mezi povrchem a objemem pomáhá zabránit ztrátě tělesných tekutin. Větší velikost těla je evoluční reakce, vedoucí k vyšší odolnosti vůči vysychání. V neposlední řadě větší mouchy lépe využívají zdroje a díky této výhodě jsou zaopatřeny větší zásobou vody a tuků což samo o sobě zvyšuje jejich odolnost (Tejeda et al., 2016).

Jedním z možných mechanismů ovlivňující klinální variabilitu jsou chromozomální inverze zajišťující příznivé kombinace alel, které pomáhají adaptaci danému prostředí (Fouet et al., 2012).

Dalším příkladem molekul chránícím vůči vysychání mohou být geny kódující akvaporiny. Jedná se o ochranné proteiny („heat shock proteins“), které dokáží regulovat výměnu vody přes membránu (Chown et al., 2011). U *Drosophila melanogaster* ovlivňuje dostupnost živin během larválního vývoje odolnost vůči teplu a chladu nebo produkci vajec u samic. Nedostatek bílkovin ovlivňuje růst a plodnost. Avšak mírné hladovění může zvýšit toleranci k vyšším teplotám a prodloužit tak přežívání. U *Drosophila melanogaster* jsou pohlaví a výživa výrazně ovlivňující proměnné pro odolnost vůči vysychání. Dostatek proteinů ve stravě může prodloužit přežívání až o 9%. Samice na proteinové stravě jsou až o 31 % odolnější vůči vysychání oproti samcům (Andersen et al., 2010). U samic octomilky *Drosophila melanogaster* je prokázána lepší odolnost vůči vysychání spojená s vyšším obsahem těchto proteinů (Lann et al., 2011). Je pravděpodobné, že ochranné proteiny zvyšují toleranci k vysokým teplotám (Andersen et al., 2010).

4. Adaptace hmyzu na vysychání

4.1 Fyziologické adaptace

Pravidelnému a opakovanému vystavování se podmínkám prostředí vznikly různé mezidruhové i mezipopulační rozdíly v adaptacích: otužilost, odolnost a tolerance na vysoušení, rychlost metabolismu či výskyt kutikulárních uhlovodíků, které zvyšují odolnost vůči vysychání. Například je známo, že rychlost metabolismu se mění s velikostí těla (Chown, 2001). Vliv velikosti těla na fyziologické vlastnosti lze pozorovat na úrovni druhu, populace i jednotlivce. Velikost těla ovlivňuje obsah vody a tuků v těle, maximální tolerovanou ztrátu vody a míru ztráty vody. Rychlost ztráty tělesných tekutin daná efektem velikosti těla je vázána na druh, zatímco tolerovaný limit pro ztrátu vody spolu s obsahem vody a tuků jsou ovlivněny velikostí těla na úrovni jednotlivce. Fyziologické změny, ke kterým dochází na úrovni jednotlivců mají

nepostradatelný vliv na přirozený výběr. Tyto změny později přechází na úroveň populace (Chown, 2001).

Ztráta vody je způsobena vylučováním, kutikulární transpirací a dýcháním. Tyto ztráty lze ovlivnit snížením při vylučování, změnou propustnosti pokožky vlivem uloženého množství a složení kutikulárních lipidů a také ovládáním spirakul. Ztráta tělesných tekutin se také snižuje větším poměrem povrchu těla k objemu, díky čemuž je větší hmyz lépe adaptovaný na vysychání. Větší tělo je také větším úložištěm zásob jak vody ve tkáních a hemolymfě, tak glykogenu a lipidů ze kterých lze jejich katabolickým rozkladem vytvářet metabolickou vodu. Při experimentu vystavení stresu vysychání bylo u komára *Anopheles gambiae* pozorováno delší přežívání u samic pravděpodobně spojené s větší průměrnou velikostí těla (Fouet et al., 2012).

Zajímavou fyziologickou adaptaci lze pozorovat u fytofágních brouků z čeledi potemníkovití (*Tenebrionidae*) (Addo-bediako et al., 2001). Konkrétně druh *Onymacris unguicularis* (sběrač rosný) patřící k této čeledi dokáže získávat vodu ze vzdušné vlhkosti. V jinak velmi suchém prostředí vytváří rozdíl teplot každé ráno mlhu, kterou dokáže brouk využít ve svůj prospěch. Nakloní zadeček směrem vzhůru a pomocí povrchu těla zachytává kapičky vzdušné vlhkosti, které díky podélným rýhám na krovkách ztékají až k hlavě kde jsou absorbovány pomocí úst. Získává tak až 34 % své celkové váhy (Chown et al., 2011).

4.1.1 Klidové fáze

Dormance

Dormancí můžeme označovat jakýkoliv neaktivní klidový stav, který potlačuje či zastavuje vývoj, většinou doprovázený snížením rychlosti metabolismu (Košťál, 2006), jež pomáhá přežívat hmyzu v nepříznivých podmínkách včetně vysokých či nízkých teplot nebo omezené dostupnosti zdrojů potravy a vody (Resh, 2003). Lze sem zahrnout také poporodní klid samic (Košťál, 2006). Vyskytuje se v rozlišných formách, které se často široce liší intenzitou a dobou trvání od mírné krátkodobé deprese (klidové fáze neboli kviescence) až po hlubokou dlouhodobou pravou diapauzu (Resh, 2003).

Kviescence je adaptace na krátké období nepříznivých podmínek zejména vysokých nebo nízkých teplot (Resh, 2003). Je to okamžitá reakce na nevhodné životní podmínky při které dochází k přerušení aktivity (Košťál, 2006). Její výhodou je, že v případě náhlého zlepšení podmínek pomůže hmyz rychle navrátit k aktivitě. Kviescence je výhodná zejména v oblastech s nestabilním počasím jako jsou pouště či vysokohorské oblasti (Resh, 2003). Také dostupnost vody má výrazný vliv na aktivitu hmyzu (Chown et al., 2011).

Životní cyklus hmyzu je ovlivněn adaptací na sezónní změny a tlakem okolního prostředí zahrnujícím teplotu, vlhkost a dostupnost potravin. Pokud se optimální podmínky zhorší, často vstupuje jedinec do stavu diapauzy (Min et al., 2018). **Diapauza** je podmíněna genetickým naprogramováním jako ochranná reakce na nepříznivý stav okolí. Hmyz dle vzorce předvídá nástup zhoršených podmínek a jako reakci včasně aktivuje potřebné fyziologické procesy zahrnující akumulaci lipidových a sacharidových rezerv či ukládání kutikulárních lipidů, které zvyšují odolnost proti vysychání. Mezi důležité faktory spouštějící diapauzu může patřit teplota a vlhkost, nebo změna fotoperiody (Resh, 2003). Diapauza je proces skládající se z několika fází, přes přípravu postupným zpomalením metabolismu, následné zahájení a udržení až po samotné ukončení. Během diapauzy se u hmyzu může měnit dynamika v závislosti na

stavu teploty, fotoperiody vlhkosti, dále vlivem hormonů nebo stresu. Mechanismy spouštějící diapauzu byly pozorovány v různých genech. Jedná se o geny kódujících ochranné proteiny („heat shock proteins“) , geny podílejících se na rychlosti metabolismu a ukládání rezerv, geny, které ovlivňují tvorbu hormonů a v neposlední řadě ty, které nastavují „vnitřní hodiny“ a mají na svědomí rozpoznání potřeby uchýlit se do diapauzy (Košťál, 2006).

Estivace a hibernace

Pravá diapauza je hluboký stav klidu, který začíná ještě před nástupem nepříznivých podmínek (Košťál, 2006). Diapauza je u mnoha druhů hmyzu nastartována změnou fotoperiody, u *Drosophila melanogaster* je však vyvolání diapauzy spíše záležitostí změny teplot a až sekundárně vlivem změn ve fotoperiodě (Anduaga et al., 2018). Nepříznivé podmínky ovlivňující hmyz se výrazně liší v letním a zimním období. Mezi estivujícím a hibernujícím hmyzem můžeme sledovat podobné znaky diapauzy, od zastavení vývoje, snížení rychlosti metabolismu a akumulace živin až po zvýšenou ochranu těla v podobě voskových obalů, kokonů napomáhajícím vydržet dlouhý čas ve stavu dormance (Resh, 2003). Hmyz se na zimní či letní diapauzu připravuje dopředu, a to hlavně zvýšením zásob. Míra metabolismu je během ní konstantní (Košťál, 2006).

Letní spánek neboli estivace je forma dormance, kterou můžeme hledat zejména v aridních oblastech. Může být vyvolán automaticky nebo vědomě v důsledku kombinace signálů jako jsou změna světelného režimu a teplota. V případě že se jedná o automatické jednání, průběh je totožný se zimní diapauzou neboli hibernací (Resh, 2003). Existuje speciální druh diapauzy zvaný kryptobióza, do kterého se můžou dostat embrya, larvy nebo i dospělci některých druhů bezobratlých. Jedná se o extrémní stav absolutní metabolické suprese. Organismus v tu chvíli nevykazuje žádné viditelné známky života a může v tomto stavu přečkat v podstatě neomezeně dlouho. K tomuto stavu dochází zejména při vyschnutí vlivem vysokých teplot nebo mrazu a aktivita se navrací až po obnovení příznivých podmínek (Košťál, 2006). Larvy čeledi *Chironomidae* (pakomárovití) přechází při odpařování vody ze skalních dutin do strnulosti a v případě ponoření do vody jsou schopny zpětné aktivity i po letech v klidovém stavu. Stav kryptobiózy pomáhá přežít larvě i při snížení obsahu tělesné vody na pouhé 4 % a vystavení krátké expozici od +102 ° C do -270 ° C (Resh, 2003).

Zpomalení metabolismu vlivem klidových fází

V době diapauzy je zpomalen metabolismus, který je přesměrován ke tvorbě trehalózy a aktivaci uložených cukrů. Tyto procesy pomáhají hmyzu déle setrvat v klidovém stavu (Anduaga et al., 2018). Díky zpomalení metabolismu dokáže hmyz snížit ztrátu vody v důsledku snížení výměny plynů. Podmínkou ale je, aby byl schopný regulovat otevírání spirakul. V případě, že činnost spirakul nelze regulovat, ztráta tělesných tekutin zůstane vysoká i při zpomalení metabolismu. Úbytek vody respirací představuje přibližně 10 % a méně celkové ztráty, což naznačuje, že transpirace pokožkou je hlavním parametrem ztráty tělesných tekutin (Gibbs et al., 2003). V souvislosti s odolností vůči vysychání je rychlost metabolismu jedním z klíčových faktorů. Druhy s nízkou rychlostí jsou na ztrátu tělních tekutin lépe adaptované (Lann et al., 2011). Kyselina močová jako konečný produkt metabolismu bílkovin pomáhá

chránit vůči osmotickému tlaku vzniklého během vysychání vlivem ztráty vody z buněk (Andersen et al., 2010).

4.1.2 Tukové zásoby

Pro hmyz v diapauze je typické spotřebovávat nashromážděné tukové zásoby. Mezi hlavní složky deposit patří tuky a sacharidy. Tyto zásoby hmyz akumuluje ještě před vypuknutím diapauzy a jeho přežití je často vázáno na množství metabolických rezerv. Jak již bylo potvrzeno mnoha studiemi slunéček v diapauze, pro mnohé druhy je běžné nadměrné hromadění tukových zásob, pokud je dostatek potravy. U druhu *Hippodamia undecimnotata* (slunéčko jedenáctiskrvnné) byl zaznamenán úbytek tukových zásob na čtvrtinu po 8 měsících hibernace. Poměry spotřebovaného tuku ve zkoumaném období 8 měsíců hibernace se lišilo jak mezidruhově tak mezipohlavně. U zástupců druhu *Coccinella septempunctata* se snížil obsah tuků u samců o 49% a u samic o 61%, dále *Adalia bipunctata* se lišila v poměru 75% ku 87% a pro *Propylea quatuordecimpunctata* byl poměr 71% ku 60%. Je zajímavé, že samice spotřebovávají více zásob, mají k tomu však možnost, jelikož ukládají více tuku než samci, a to až na 160% (při hodnotě 100% pro samce) proti druhému pohlaví. U obsahu uložených sacharidů jsou samice ještě o něco lepší a sice dokážou uložit až na 200% (při hodnotě 100% pro samce) zásob oproti samcům (Hodek et al., 2012).

Spotřeba zásob je výrazně ovlivněna okolní teplotou. Při vyšší teplotě na konci léta a začátku podzimu byla spotřeba zásob u *Hippodamia undecimnotata* mnohem větší než následná spotřeba v zimě (Hodek et al., 2012).

4.1.3 Metabolická voda

Aridní oblasti vytváří velký tlak na získávání a uchování vody v těle hmyzu. Obrana proti vysychání může být zvýšena různými mechanismy. Patří mezi ně zvětšování zásob vody přímo nebo tvorba vody metabolické (Fouet et al., 2012). Metabolickou vodu získává hmyz spalováním tukových rezerv, což mu napomáhá zvyšovat obsah tělesných tekutin (Hodek et al., 2012). Schopnost vytvářet metabolickou vodu je u rodu *Drosophila* stejná pro obě pohlaví (Gibbs et al., 2003).

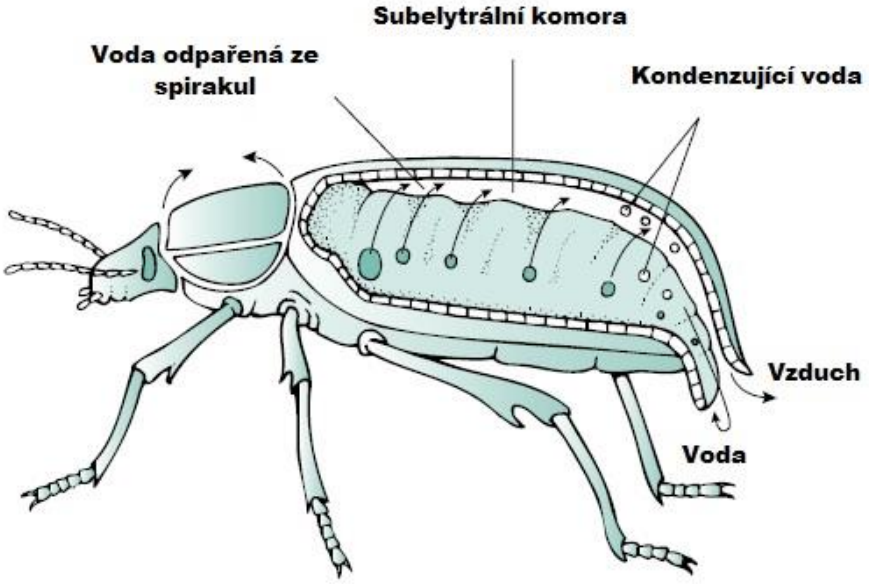
4.2 Morfologické adaptace

4.2.1 Exoskeleton

Exoskeleton je nebuněčný materiál pokrývající svrchní část pokožky. Jeho vlastnosti a vzhled jsou mezidruhově velmi variabilní. Slouží jako bariéra mezi tělním nitrem a okolním prostředím, pomáhá chránit proti vysychání a průniku nežádoucích mikroorganismů. Přestože je jeho struktura celistvá, najdeme lokální rozdíly – pružné části často navazují na těžce sklerotizovanou vrstvou. Většina dospělců okřídleného hmyzu je pokryta ztuhlým exoskeletonem primární kutikuly, která je ohebná, avšak plní funkci tvrdého ochranného brnění proti mechanickému poškození (Resh, 2003).

4.2.2 Subelytrální komora

Hmyz může reagovat na změnu v dostupnosti vody různými způsoby. Avšak v jejím nedostatku může být ztráta tělních tekutin nevyhnutelná například vlivem dýchání (Chown et al., 2011). Tuto ztrátu dokáže pouštní hmyz snížit za předpokladu, že může ovládat spirakuly a omezit míru dýchání. V nedostatku tekutin můžou chránit hmyz také jeho krovky, které jsou již na pohled velice pevné a často bývají bílé a vysoce reflexní, aby lepším odrazem světla zvyšovaly odolnost vůči vysychání. Pod nimi lze u některých druhů nalézt subelytrální komoru (Obr. 4) (Willmer et al., 2005), která napomáhá šetřit tělesné tekutiny (Chown et al., 2011). Vzduch uvnitř komory je o něco studenější a proto část vody odpařená ze spirakul kondenzuje a ve formě malých kapiček ztéká po povrchu hřbetu, kde vodu zpětně absorbují spirakuly nebo zadeček (Willmer et al., 2005).



Obrázek 4 Subelytrální komora brouka čeledi *Tenebrionidae* (Potemníkovití). Lze pozorovat schéma koloběhu vody při otevření spirakul od kondenzace až po zpětné vstřebání do těla prostřednictvím zadečku (modifikováno podle: Willmer et al., 2005).

4.3 Ostatní druhy adaptací

4.3.1 Mikrobiální mutualismus

Mikrobiální mutualismus hraje významnou roli v evoluci hmyzu. Důvodem jsou různorodé ekologické výhody, které dokáže poskytnout svému hostiteli. Studie hmyzu ukázaly některé z výhod, které symbiont poskytuje jako například usnadnění zpracování a detoxikaci potravy nebo obranu vůči přirozeným nepřátelům. Existují studie o symbiontech, kteří svému hostiteli pomáhají zvýšit odolnost vůči vysokým teplotám (Engl et al., 2018).

Ekologická nika silážních prostorů obilí vytváří prostředí se spoustou potravy, ale naopak velmi nízkou vlhkostí. I přesto se několik skupin brouků dokázalo vyrovnat s prostředím s vlhkostí výrazně odlišnou jejich původním biotopům. U většiny z těchto skupin bylo zjištěno, že poskytují útočiště nitrobuněčným bakteriálním symbiontům. Mutualismus mezi bakteriemi a brouky různých čeledí napomáhá k přežívání v prostředí s nízkou vlhkostí. U druhu *Oryzaephilus surinamensis* (lesák skladištní) byla prokázána eliminace důsledků vysoušení jako snížení melanizace a tloušťky pokožky. U aposymbiotických brouků bylo potvrzeno snížení růstu populace, větší náchylnost k vysoušení a s tím spojená úmrtnost, což dokládá, že symbióza broukům zvyšuje odolnost proti vysoušení. Navzdory fylogenetické vzdálenosti čeledí *Bostrichidae* a *Silvanidae* bylo všech osm zkoumaných brouků v symbióze s bakteriemi větve *Bacteroides* (Engl et al., 2018).

4.3.2 Pohlavní dimorfismus a vysychání hmyzu

Pohlavní dimorfismus komára *Anopheles gambiae* existuje ve velikosti těla ale i v odolnosti vůči vysychání (Fouet et al., 2012). Samice *Drosophila melanogaster* například akumulují oproti samcům více lipidů, což vede k větším zásobám. Díky tomu jsou odolnější vůči vysychání (Andersen et al., 2010). U některých jiných druhů hmyzu, např. vosy z čeledi trněnkovití (*Tiphiidae*), existuje pohlavním dimorfismus v rychlosti metabolismu, která je u samců vyšší než u samic. Rozdíly v rychlosti metabolismu jsou dány odlišným životním stylem. Jelikož samci aktivně vyhledávají samice, mají oproti nim větší aktivitu, což vedlo k tomu, že jejich létací svalstvo je mohutnější než u samic a tím pádem spotřebovávají více energie. Dalším důkazem větší rychlosti metabolismu samců můžou být dva druhy brouků čeledi tesaříkovití (*Cerambycidae*), kteří aktivně vyhledávají brouky stejného druhu, aby mezi sebou soupeřili, kdo vyběhne po kmeni stromu nahoru a dolů dříve, oproti samicím, které dávají přednost hledání potravy a míst ke snůšce (Tomlinson et Phillips, 2015).

Experimentální část:

5. Metodika

Experiment byl realizován za účelem získat informace o odolnosti vůči vysychání několika domácích druhů slunéček včetně invazního slunéčka *Harmonia axyridis.* Hlavním cílem experimentu bylo zjistit, jak ovlivňuje velikost těla toleranci k vysoušení organismu. Velikost těla může přímo ovlivnit stav zásob v těle, které můžou napomoci k přežití stresových podmínek. Vzhledem k tomu, že velikost těla a zásob se může lišit mezipohlavně, vedlejším úkolem bylo zjistit, jakou roli v dané toleranci hraje pohlaví.

5.1 Popis sledovaných druhů

Harmonia axyridis (Pallas 1773)

Původní areál výskytu je od východu Asie po Kazachstán. Vlivem umělého vysazení v Severní Americe a Evropě se invazně rozšířila. V Evropě ji najdeme téměř všude kromě nejteplejších oblastí mediteránu (Nedvěd, 2015) a chladnějších oblastí severní Evropy (Roy et al., 2016). Požírá mšice, mery, červce, pyl ale i vajíčka a larvy jiných druhů slunéček. Vyhledává listnaté stromy a keře, méně často ji najdeme na bylinách nebo jehličnanech. Hojně zastoupená ve městech, parcích i zahradách. Zimuje hromadně ve skalách, v budovách nebo pod kůrou stromů. Tělo je široce oválné přibližně 5 – 8 mm velké, silně klenuté. Nejběžnější evropská forma succinea má žlutooranžové až červené krovky s 0 – 19 tečkami okrouhlého nebo mírně hranatého tvaru. Forma spectabilis zaujímající asi 8 % evropské populace má černé krovky se dvěma velkými okrouhlými skvrnami červené barvy na každé krovce (Nedvěd, 2015).

Coccinella septempunctata (Linnaeus, 1758)

Jedná se o velmi hojný druh ve střední Evropě, areálem však zasahuje od tundry až po Indii. Hlavní složka potravy jsou mšice a ostatní drobný hmyz nebo pyl. Obývá rozlišná stanoviště včetně antropogenních, zaměřující se na bylinné ale i stromové patro. Najdeme ji na růžích či kopřivách, javoru i borovici. Zimuje pospolu v opadaném listí nebo vyschlé trávě na kopcích nebo okraji lesa, občas v budovách. Tělo je široce oválné, klenuté lesklého dojmu přibližně 5 – 8 mm velké. Krovky jsou oranžově červené u některých jedinců až karmínové s charakteristickými sedmi okrouhlými tečkami černé barvy (Nedvěd, 2015).

Propylea quatuordecimpunctata (Linnaeus, 1758)

Vyskytuje se od tundry po stepy s hojným zastoupením ve střední Evropě. Preduje mšice. Najdeme ji na polích či loukách, v listnatých a jehličnatých lesích. Tělo oválné, středně klenuté přibližně 3,5 – 5 mm velké (Nedvěd, 2015). Vzhledem pestrá s barevným pozadím od krémové do žluté až světle oranžové. Čtrnáct teček je na krovkách často spojeno dohromady (Pervez et Omkar, 2011).

***Tytthaspis sedecimpunctata* (Linnaeus, 1761)**

Hojné rozšíření ve středoevropském areálu. Mezi hlavní složku potravy patří pyl a konidie hub zejména padlí a rzí, výjimečně se živí drobným hmyzem. Vyhledává trávy a kvetoucí byliny, vzácně obývá dřeviny. Na zimu se agreguje ve skupinách čítajících mnoho tisíc jedinců a zimuje v trsech trávy nebo na zdích. Tělo je 2,5 – 3,3 mm velké, silně klenuté a široce oválné. Krovky jsou béžovožluté barvy se čtyřmi černými tečkami na každé krovce podél švu, dalších pět teček podél okraje se různě slévá a výsledný počet skvrn je mezi 10 až 12, výjimečně až 18 (Nedvěd, 2015).

***Cynegetis impunctata* (Linnaeus, 1767)**

Areál výskytu je zejména v eurosibiřské oblasti s hojným místy přehlíženým středoevropským rozšířením. Druh obývající zejména širokolisté trávy, které jsou hlavní složkou potravy, zimu i léto přečkává skrytý v půdě. Tělo matně hnědé průměrné velikosti 3 – 4,5 mm, nejsilněji klenuté z našich domácích druhů slunéček. Krovky jsou u středoevropské populace beze skvrn osázené hrubým a jemným jamkováním (Nedvěd, 2015).

***Adalia decempunctata* (Linnaeus, 1758)**

Druh hojně rozšířený ve střední Evropě. Preduje mšice. Najdeme jej v listnatých lesích a parcích převážně na dubu, javoru, lípě, vzácně na jehličnatých stromech nebo bylinách. Tělo je oválné středně klenuté o velikosti 3,5 – 5 mm. Krovky jsou obvykle červené, okrové nebo žluté barvy s pěti černými nebo hnědými tečkami na každé z nich (Nedvěd, 2015).

***Calvia quatuordecimguttata* (Linnaeus, 1758)**

Areál rozšíření zasahuje hranice tundry, v Americe na jih až do Mexika, ve střední Evropě druh hojný. Obývá listnaté lesy zejména olše a vrby a lípy. Preduje hlavně mšice a mery, výjimečně nedospělé stádium mandelinek. Tělo oválné průměrně 4 – 6 mm velké středně klenuté. Krovky jsou rezavohnědé barvy každá se 7 okrouhlými skvrnami bílé barvy (Nedvěd, 2015).

***Adalia bipunctata* (Linnaeus, 1758)**

Areál rozšíření v holoarktické oblasti ale i Africe, dříve velmi hojným druhem ve střední Evropě s poklesem početnosti v posledních desetiletích. Preduje mšice. Obývá různá stanoviště, včetně antropogenních. Vyhledává stromové a bylinné patro, např. lípu, vrbu, javor, černý bez nebo kopřivy. Zimu přečkává převážně pod kůrou stromů ale i na budovách. Tělo je oválné mírně klenuté asi 3,5 – 5,5 mm velké. Typická forma má krovky červené barvy každá s jednou okrouhlou černou tečkou (Nedvěd, 2015).

***Coccinella quinquepunctata* (Linnaeus, 1758)**

Areál rozšíření tohoto druhu je od nížin do hor, od tundry na severu až po Saharu na jihu s hojným středoevropským výskytem. Mezi hlavní složku potravy patří mšice, mery a larvy mandelinek. Pokrývá řadu stanovišť od lesů až po zahrady, kde obývá bylinné patro zejména kopřivy ale také lípy či borovice. Na zimu se agreguje do skupin

a zimuje převážně v opadaném listí nebo v šiškách na hranici lesa. Tělo je široce oválné, klenuté lesklého dojmu přibližně 3,5 – 5 mm velké. Krovky jsou oranžové barvy obvykle doplněny o 5 okrouhlých černých teček (Nedvěd, 2015).

5.2 Popis experimentu

5.2.1 Sběr jedinců

Pro experiment bylo vybráno devět druhů slunéček, které se běžně vyskytují na území České republiky, z nichž invazní druh *Harmonia axyridis* byl zařazen ve dvou barevných formách (světlá succinea a černá spectabilis). Většina sbíraných druhů je afidofágní, nicméně pro lepší výpovědní hodnotu byl do experimentu zahrnutý také jeden fytofágní a jeden mykofágní druh. Sledované druhy se lišily velikostí těla (3 – 8 mm), ale i vlastním místem výskytu od aridních až po mesické biotopy.

Ve vysoké trávě byla ke sběru využita smýkací síť, naopak ke sběru jednotlivců z listů kopřiv nebo bezových keřů byl aplikován sběrný nástroj exhaustor. Sběr jedinců probíhal především v Praze (N 50°3.61', E 14°22.83') a jejím okolí, dále pak v okolí Týnce nad Sázavou (N 49°49.70', E 14°35.56'), Břízska (N 49°54.28', E 13°31.11') a Mikulášovic (N 50°58.09', E 14°21.68') na přelomu května a června 2016.

5.2.2 Chov

Chov slunéček včetně následného experimentu probíhal v laboratořích situovaných na Mezifakultním centru environmentálních věd České zemědělské univerzity v Praze pod dohledem školitele Ing. Michala Knappa Ph.D. Slunéčka byla roztříděna na druhy a ve skupinách umístěna do Petriho misek. Pro sjednocení fyziologického stavu sledovaných jedinců byl všem jedincům před začátkem experimentu podáván dostatek vody a potravy. U afidofágních jedinců se jednalo o vajíčka zavíječe, fytofágům byla podávána stébla širokolistých druhů trav a pyl ve formě květů pampelišek, mykofágům rez a pyl. Příprava probíhala v klimaboxech s fotoperiodou přirozenou letnímu období a konstantní teplotou okolo 23° C. Dříve nasbíraní brouci byli vystaveni přípravě až 20 dní, pozdější nejméně 7 dní před startem hlavního experimentu.

5.2.3 Experiment vystavení stresu vlivem nedostatku vody a jídla

Experiment započal 24. června 2016. Nejprve bylo zjištěno pohlaví jedinců. Dále byli brouci zváženi pomocí váhy (výrobce Sartorius) s přesností do 10^{-5} g a následně umístěni samostatně do prázdných Petriho misek. Hlavní skupina zaujímající brouky vystavené stresovým podmínkám experimentu čítala maximálně 50 jedinců jednoho druhu (pro každou formu u *Harmonia axyridis*). Souběžně s hlavním experimentem probíhal experiment kontrolní, pro zjištění, zda jedinci skutečně hynou vlivem stresu z nedostatku zdrojů. Všem kontrolním jedincům byla po celou dobu experimentu podávána druhově preferovaná strava včetně zdroje vody ve formě navlhčených kuliček papíru. Počet kontrolních jedinců byl maximálně 20 na každý druh. Všechny Petriho misky byly umístěny do klimatických komor s nastavenou konstantní teplotou 20 °C a fotoperiodou dlouhého dne (16:8 světlo:tma). Přestože relativní vlhkost během experimentu mírně kolísala, blížila se však 50 %.

První měsíc experimentu probíhala kontrola a zápis uhynulých jedinců každý druhý den, souběžně probíhalo krmení kontrolních jedinců. Později frekvence kontrol

klesla na dvě kontroly týdně. Po skončení experimentu byla u všech brouků změřena velikost těla. K měření byl využit mikroskop Carl Zeiss Stemi 508 s digitalní kamerou AxioCam ERc 5s a software ZEN. Předmětem měření byla délka krovek a šířka štítu.

5.3 Analýza dat

Prvním úkolem při zpracování nasbíraných dat bylo srovnat, zda skutečně přežívání stresovaných jedinců ovlivňuje stres vyvolaný z nedostatku zdrojů vody a jídla ve srovnání s délkou života krmených jedinců. K tomu byl využit obecně lineárně smíšený model (GLMM) s rozdělením chyb typu quasipoisson pro respektování variability v datech. Jako závislá proměnná byla zvolena délka přežívání zastoupená počtem dnů, jako nezávislá pak faktor srovnávající dvě úrovně (brouci vystavení stresu vs. krmení jedinci). Jako náhodný efekt byl zadán druh. Významnost nezávislých proměnných byla testována pomocí F-testu. Data obsahovala 318 brouků pocházejících z šesti druhů slunéček (kontrolní režim byl proveden jen pro druhy, pro které bylo k dispozici dost jedinců). Byl testován předpoklad, že délka přežívání nezávisí na dostupnosti zdrojů.

Pro prokázání, zda velikost těla ovlivňuje druhovou odolnost vůči vysychání byl použit GLM s quaisipoissonovým rozdělením chyb. Závislou proměnnou byla určena střední hodnota přežívání jednotlivých druhů a střední hodnotou váhy těla každého druhu pak proměnná nezávislá. Významnost nezávislých proměnných byla testování Chí-kvadrát testem. Byl testován předpoklad, že střední hodnota přežívání druhů nezávisí na střední hodnotě velikosti těla.

K porovnání vlivu přirozených stanovišť (aridní nebo mesický) na odolnost jedinců vůči vysychání byl testován pomocí ANOVY. Reziduály ze vztahu délky přežívání a tělesné hmotnosti z předešlého modelu byly využity jako závislá proměnná, aby se předešlo matoucímu vlivu velikosti těla a areál výskytu jako proměnná nezávislá. Významnost nezávislých proměnných byla testována pomocí F-testu. K výše uvedeným analýzám byly použity střední hodnoty 10 druhů slunéček. Byl testován předpoklad, že přežívání druhů závisí na typu jejich přirozeného stanoviště.

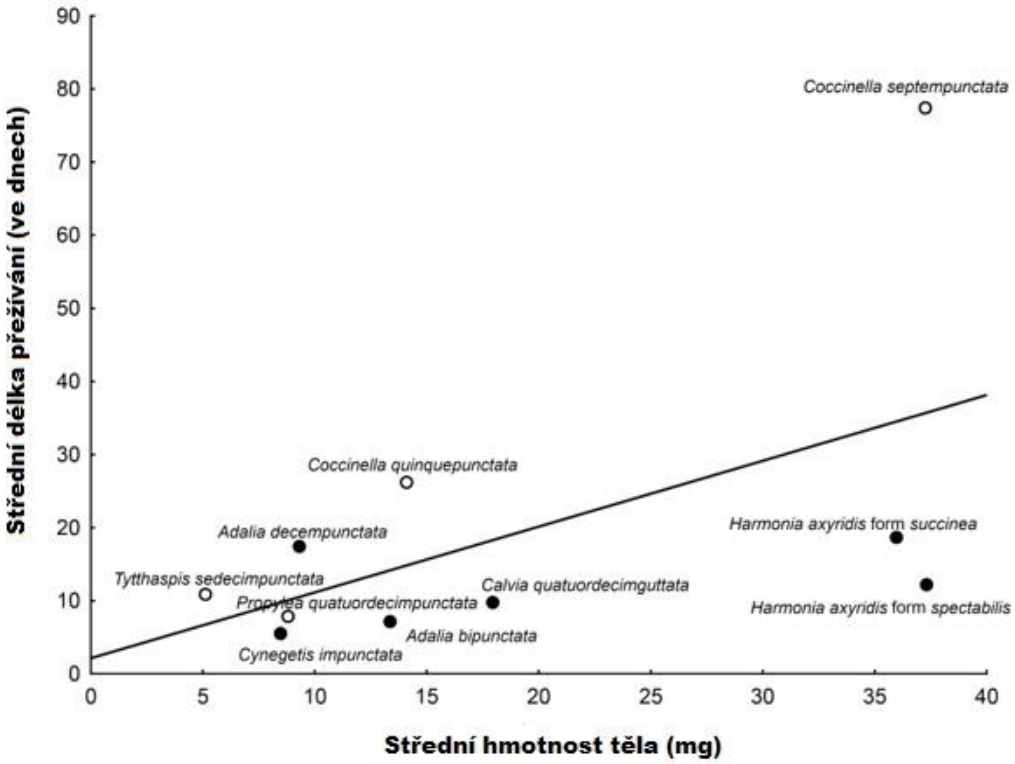
Ke zjištění hlavních faktorů ovlivňujících vnitrodruhové rozdíly v odolnosti stresu byly použity zobecněné lineární modely s náhodnými efekty (GLMM) s quasipoissonovým rozdělením chyb. Závislou proměnnou byla zvolena délka přežívání ve dnech a za nezávislou proměnnou pohlaví, tělesná hmotnost a velikost těla. Náhodným efektem byla příslušnost k jednotlivým druhům. Byly vytvořeny jednotlivé modely umožňující zkoumat čistý efekt jednotlivých proměnných (ostatní nezávislé proměnné byly využity vždy jako kovariáty). Testování vlivu tělesné hmotnosti vlastně představuje testování vlivu tělesné kondice (velikost těla je již v modelu použita jako kovariáta a hmotnost relativizovaná k velikosti těla představuje jeden z možných způsobů měření kondice; obdobou je u lidí používaný BMI). Byl testován i předpoklad, že délka přežívání nezávisí i na interakcích mezi tělesnou hmotností, pohlavím a velikostí těla. Významnost nezávislých proměnných byla testována F-testem u všech modelů. Velikost těla byla reprezentována záznamy na první ose analýzy hlavních komponent (PCA), kde byla použita délka krovek a šířka hřbetního štítu jako vstupní proměnné. Samostatné analýzy hlavních komponent byly vytvořeny pro každý druh i formu zvlášť. Analýzy vnitrodruhových rozdílů byly založeny na datech hojnějších druhy nebo formy (v zastoupení nejméně 17 brouků na druh/formu). GLMM byly fitovány pomocí funkce „glmmPQL“ z knihovny „nlme“

(Pinheiro et al.,2013) v programu R (R Development Core Team, 2017). Analýzy hlavních komponent byly vytvořeny pomocí programu Canoco 5 (Smilauer and Leps, 2014).

6. Výsledky

Experimentální vysychání skutečně ovlivnilo úmrtnost sledovaných jedinců, což bylo prokázáno na základě porovnání dlouhodobějšího přežívání stresovaných jedinců a kontrolních brouků (zásobovaných jídlem i vodou) (GLM: $Chi^2_{9,285} = 45.12$, $P < 0.001$). Zamítli jsme nulovou hypotézu na hladině významnosti $\alpha=0.001$ tzn. že úmrtnost jedinců závisí na dostupnosti zdrojů.

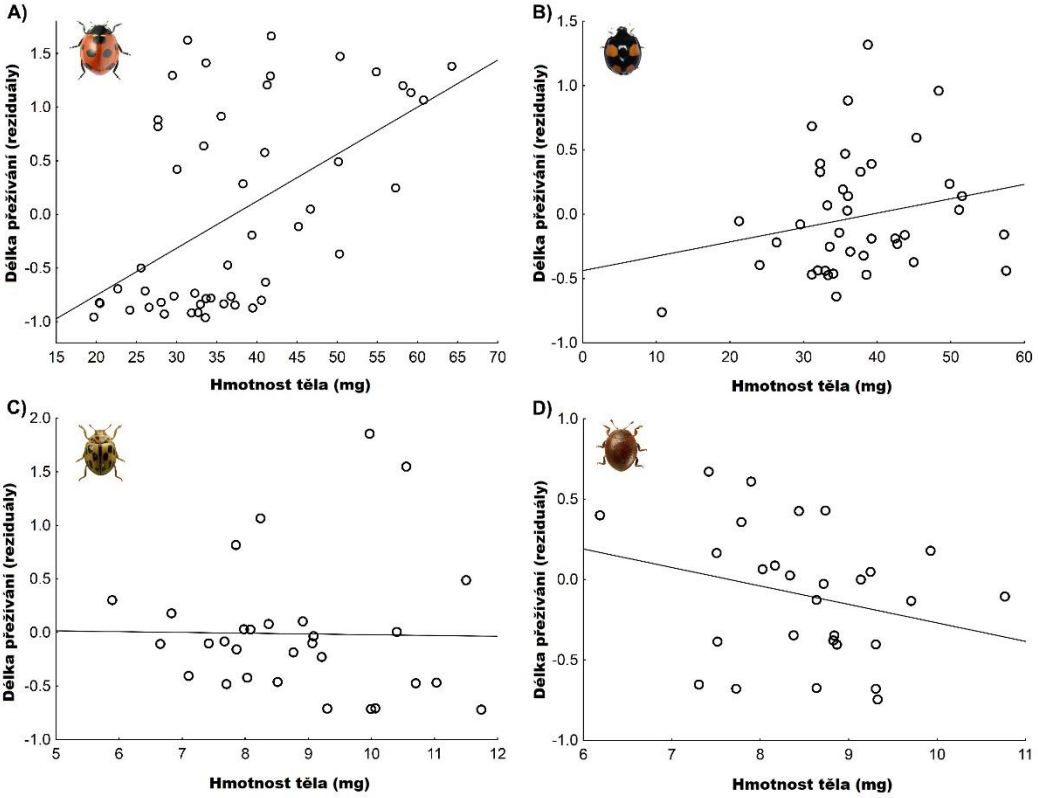
Hmotnost těla průkazně ovlivnila délku přežívání stresovaných slunéček na mezidruhové úrovni (GLM: $Chi^2_{1,8} = 17.65$, $P = 0.024$), kdy větší druhy vykazují delší přežívání (Obr. 5). Také typ přirozeného stanoviště hraje významnou roli v přežití slunéček, kdy aridní druhy vykazovaly zvýšenou odolnost v přežívání (Obr. 5).



Obrázek 5 Vztah mezi odolností vůči vysychání (střední délka přežívání) a hmotností těla druhů včetně druhových preferencí přirozeného prostředí. Aridní druhy reprezentují prázdná kolečka, druhy mesické plná kolečka.

Odolnost vůči vysychání v rámci téhož druhu je ovlivněna několika faktory, nejdůležitější je však tělesná kondice reprezentována tělesnou hmotností korigovanou na velikost těla a pohlaví (GLMM: $F_{1,262} =$, $P < 0.001$; Obr. 6). Brouci v lepší kondici (s větší tělesnou hmotností při stejné strukturální velikosti) přežívali obecně (u většiny druhů) déle, ale u některých druhů signifikantní vztah mezi tělesnou kondicí a

odolností vůči vysychání nebyl pozorován (Obr. 6, panel C a D). Odolnost jedinců mezi oběma pohlavími se nelišila, tento faktor však nebyl daleko od hladiny signifikance 0,05 (GLMM: $F_{1,262} = 3.81$, $P = 0.052$), kdy samci byli o něco málo více odolní než samice (po odstranění efektu velikosti těla a tělesné hmotnosti; tyto byly využity jako kovariáty v analýze). Na závěr bylo prokázáno, že odolnost ve vysychání je částečně ovlivněna strukturní velikostí těla (GLMM: $F_{1,263} = 5.08$, $P = 0.025$). Jedinci s větší velikostí těla jsou lehce odolnější při stresu z nedostatku zdrojů.



Obrázek 6 Efekt tělesné kondice na odolnost vůči vysychání uvnitř vybraných druhů (tělesná hmotnost upravená o efekt velikosti těla a pohlaví) : *Coccinella septempunctata* (A), *Harmonia axyridis* forma spectabilis (B), *Propylea quatuordecimpunctata* (C) a *Cynegetis impunctata* (D).

7. Diskuze

Přežívání hmyzu ovlivňuje mnoho faktorů, které můžeme rozdělit na biotické a abiotické. V době, kdy svět ovlivňují následky globálního oteplování, se může většina organismů včetně hmyzu nacházet v situaci nedostatku vodních zdrojů a jsou vystaveni vlivům extrémního počasí. Sucho a vysoké teploty nutí organismy vyhledávat vhodnější podmínky, ty však nemusí být zárukou přežití, a ne vždy je možné optimální prostředí nalézt. Organismus hmyzu je proto nucen se těmto podmínkám vyrovnat. Podle (Chowna, 2001) je opakované vystavování stresům prostředí vede k adaptacím, které určitým druhům dávají větší pravděpodobnost přežití. Že jsou adaptace důležité pro přežívání hmyzu se potvrdilo i v mém experimentu, kdy *Coccinella Septempunctata*, obývající různorodá prostředí včetně suchých luk měla nejlepší výsledky v délce přežívání a ke všemu vytvořila absolutní rekord neuvěřitelných 214 dní bez zdrojů vody a jídla. Významný prvkem mohou být také ochranné proteiny nebo větší zásoby tuků. Jedná se o adaptace některých aridních druhů, která jim pomáhá zvyšovat odolnost vůči vysychání (Andersen et al., 2010).

V experimentu vysychání jsem zkoumal, jaké vnitrodruhové rozdíly ovlivňují přežití jedinců devíti druhů slunéček. Existuje zde vliv pohlaví a velikosti těla? Hmyz je dehydratován různými způsoby. Na tyto ztráty si evolučně vytvořil rozlišné adaptace, v mém experimentu jsem zkoumal, jak důležitá je pro přežití stresu vysychání tělesná kondice daná velikostí těla a tělesnou váhou. Větší hmotnost značí větší rezervoár pro uskladnění tuků. Ty mají podle (Andersena et al., 2010) přímý vliv na kvalitu ale i kvantitu kutikulárních uhlovodíků, které pomáhají zadržet vodu v těle a ovlivňují příjem vody tělesnou buňkou. U větších jedinců je pak jednoznačně potvrzena menší ztráta tělesných tekutin v souvislosti menšího poměru mezi plochou a objemem těla. Větší jedinci se tak lépe vyrovnávají s vysokými teplotami (Lann et al., 2011). To samé se potvrdilo i v mém experimentu. Větší druhy jako *Coccinella Septempunctata* a *Harmonia axyridis* přežívaly podstatně déle než jiné druhy.

(Gibbs et Pomonist, 1995) uvádí, že hydroizolační schopnosti kutikulárních lipidů, které se skládají hlavně z uhlovodíků jsou závislé na jejich biofyzikálních vlastnostech. Tyto lipidy vytváří bariéru, která brání nadměrnému odpařování tělesných tekutin. Podle jejich množství obsaženého v pokožce pak pomáhají suchozemským členovcům vyrovnávat se různorodému prostředí. Při zkoumání kvantitativního a kvalitativního složení uhlovodíků u mravenců *Pogonomyrmex barbatus*, zjistila (Tissot et al., 2001), že obsah uhlovodíků u mravenců v laboratoři, je až dvakrát vyšší než u mravenců v poli. Složení uhlovodíků dané vyšším obsahem alkanů bylo ovlivněno změnou klimatu, kdy se změna projevila už 20 dní po odebrání mravenců z pole vlivem nižší vlhkosti v laboratorním prostředí. Další výraznou roli v obsahu a složení uhlovodíků pak hraje dieta. Rostlinná strava mravenců *Pogonomyrmex barbatus* na poli, kteří sbírají semena rostlin čeledi *Poaceae*. ovlivnila obsah a složení jejich kutikulárních lipidů oproti laboratorním mravencům *Pogonomyrmex barbatus* krmených stravou s vysokým obsahem bílkovin. Bílkovinová strava ovlivnila také jejich metabolismus. (Jacob et al., 1986) pozoroval podobné změny mezi *Coccinella septempunctata* a *Cynegetis impunctata*, kdy *Coccinella septempunctata* měla více než dvakrát větší podíl alkanů v uhlovodících.

V mém experimentu bylo u většiny druhů prokázán vliv tělesné kondice na přežití stresu vysychání. Pouze u *Propylea quatuordecimpunctata* (Obr. 6 panel C) a *Cynegetis impunctata* (Obr. 6 panel D) tato skutečnost nebyla jednoznačná. Pro druh *Propylea quatuordecimpunctata* vyšla souvislost mezi přežíváním a tělesnou kondicí

konstantní. Nelze přímo říci, zda přežívání tělesná kondice více či méně ovlivňuje. To může být ovlivněno vztahem mezi krmenými jedinci a jedinci zúčastněnými experimentu vysychání. Zástupci *Propylea quatuordecimpunctata* měli ze všech druhů nejlepší výsledky v přežívání mezi kontrolními (krmenými) jedinci, dokonce lepší než *Coccinella septempunctata*. Nicméně měli nejhorší výsledek mezi stresovanými, kde se spolu s *Adalia bipunctata* dělili o druhý nejhorší výsledek v průměrném počtu přežitých dnů. *Cynegetis impunctata* byla pravděpodobně ovlivněna její rostlinnou stravou. Kdy obsah jejích kutikulárních lipidů může být ponížen vlivem rostlinné stravy. Také její vlhký habitat, kdy obývá a konzumuje zelené širokolisté trávy snižuje podle (Tissot et al., 2001) obsah alkanů v kutikulárních uhlovodících, které napomáhají přežívat stres způsobený vysycháním. Oproti *Coccinella septempunctata* je snížen obsah alkanů až dvojnásobně (Jacob et al., 1986). *Coccinella septempunctata* patřila k největším druhům a *Cynegetis impunctata* k nejmenším v mém experimentu.

Jelikož měla *Cynegetis impunctata* v průměrném počtu přežitých dní nejhorší výsledky a *Coccinella septempunctata* výsledky nejlepší, má pravděpodobně tělesná kondice zastoupená velikostí těla a hmotností (obsah tuků jež ovlivňují kvalitu a kvantitu uhlovodíků) zásadní vliv na přežívání stresu způsobeném vysycháním.

Dalším předmětem zkoumání bylo zjistit, zda má pohlaví vliv na větší odolnost vůči vysychání. (Hodek et al., 2012) píše, že samice sluněček jsou v ukládání tuků až o 160 % lepší než samci a o celých 200 % v ukládání sacharidů, to je může činit odolnější vůči vysychání oproti samcům. Také (Andersen et al., 2010) uvádí, že samice *Drosophila melanogaster* jsou na proteinové stravě o 31 % odolnější než samci. V mém experimentu se však vztah mezi pohlavím a odolností neprokázal dostatečně signifikantní a je zajímavé, že mírně odolnější se ukázali být samci. Hlavním důvodem, proč tomu tak je, může být fakt, že slunéčka byla odchytávána v průběhu aktivní sezony. To znamená, že samice spotřebovávaly spoustu živin pro tvorbu vajec, a tak se energetické zásoby mohly zásadním způsobem redukovat. Na začátku experimentu vysychání kladly oplodněné samice vajíčka. Pro lepší výpovědní hodnotu otázky odolnosti v rámci pohlaví je nutné další zkoumání. Navrhuji, aby se sběr sluněček uskutečnil na konci vegetačního období, kdy samci a samice budou ve stejné kondici, jelikož se obě pohlaví musí maximálně připravit na zimování. Nejlépe sběr na zimovištích.

8. Závěr

Cílem práce bylo porovnat, zda má velikost těla a pohlaví vliv na odolnost vůči vysychání. První zmíněné se podařilo u většiny druhů jednoznačně prokázat. Vliv pohlaví bude potřeba ještě detailněji prozkoumat v dalších studiích. Role velikosti těla se ukázala jako důležitý faktor ovlivňující přežívání jedinců při nedostatku vodních zdrojů a jídla.

Moje práce byla jedinečná v tom, že jsme v experimentu vysychání porovnávali slunéčka. V předchozích studiích byla často upřednostňována *Drosophila melanogaster* a to zejména z důvodu jejího krátkého životního cyklu. Dále se nám podařilo odpovědět na spoustu vedlejších otázek. Jednou z nich je vliv přirozené potravy, kdy mšicožravé druhy měly v přežívání drtivou převahu oproti mykofágní *Tytthaspis sedecimpunctata* a fytofágní *Cynegetis impunctata*, která měla vůbec nejhorší výsledek v délce přežívání, průměrně pouhých 5 dnů. Experiment nám také pomohl porovnat, jak jsou naše původní slunéčka konkurence schopné oproti

invaznímu slunéčku *Harmonia axyridis.* Ukázalo se, že dvě domácí slunéčka dokážou *Harmonia axyridis* konkurovat. *Coccinella quinquepunctata* se umístila spolu s *Harmonia axyridis* na druhém místě a *Coccinella septempunctata* byla v přežívání dokonce lepší.

Do budoucna je potřeba komplexněji rozebrat, nakolik skutečně ovlivňuje přežívání nedostatek jídla a z jaké míry je úmrtnost způsobená nedostatkem vody. Dále je potřeba lépe vysvětlit, jakou roli v přežívání hraje pohlaví.

9. Přehled použité literatury

Addo-bediako, A., Chown, S. L., Gaston, K. J. 2001. Revisiting Water Loss in Insects : a Large Scale View. Journal of Insect Physiology. 47 (12). 1377–1388. doi: 10.1016/S0022-1910(01)00128-7.

Alexander, D. E. 2018. A Century and a Half of Research on the Evolution of Insect Flight. Arthropod Structure and Development. 47 (4). 322–327. doi: 10.1016/j.asd.2017.11.007.

Andersen, L. H., Kristensen, T. N., Loeschcke, V., Toft, S., Mayntz, D. 2010. Protein and Carbohydrate Composition of Larval Food Affects Tolerance to Thermal Stress and Desiccation in Adult Drosophila melanogaster. Journal of Insect Physiology. 56 . 336–340. doi: 10.1016/j.jinsphys.2009.11.006.

Anduaga, M. A., Nagy, D., Costa, R., Kyriacou, C. P. 2018. Diapause in Drosophila melanogaster – Photoperiodicity , Cold Tolerance and Metabolites. Journal of Insect Physiology. 105 (January). 46–53. doi: 10.1016/j.jinsphys.2018.01.003.

Berkvens, N., Moens, J., Berkvens, D., Amin, M., Tirry, L., Clercq, P. De 2010. Dinocampus coccinellae as a Parasitoid of the Invasive Ladybird Harmonia axyridis in Europe. Biological Control. 53 (1). 92–99. doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.11.001.

Chapman, A. D. 2009. Numbers of Living Species in Australia and the World. 2nd editio. Australian Biological Resources Study (ABRS). ISBN: 978-0-642-56860-1.

Chown, S. L. 2001. Physiological Variation in Insects: Hierarchical Levels and Implications Hardiness. . 47 . 649–660. doi: 10.1016/S0022-1910(00)00163-3.

Chown, S. L., Sørensen, J. G., Terblanche, J. S. 2011. Water Loss in Insects : An Environmental Change Perspective. Journal of Insect Physiology. 57 (8). 1070–1084. doi: 10.1016/j.jinsphys.2011.05.004.

Cornelissen, T., Daniele, C., Guimarães, D. C., Paulo, J., Viana, R., Silva, B. 2013. Interspecific Competition Influences the Organization of a Diverse Sessile Insect Community. Acta Oecologica. 52 . 15–18. doi: 10.1016/j.actao.2013.07.001.

Diamond, S. E., Sorger, D. M., Hulcr, J., Shannon, L. 2012. Who Likes it Hot ? A Global Analysis of the Climatic , Ecological , and Evolutionary Determinants of Warming Tolerance in Ants. Global Change Biology. 18 . 448–456. doi: 10.1111/j.1365-2486.2011.02542.x.

Eleftherianos, I., Yadav, S., Kenney, E., Cooper, D., Ozakman, Y., Patrnogic, J. 2017. Role of Endosymbionts in Insect-Parasitic Nematode Interactions. Trends in Parasitology. 34 (5). 430–444. doi: 10.1016/j.pt.2017.10.004.

Engel, M. S. 2015. Insect Evolution. Current Biology. 25 . 868–872. doi: 10.1016/j.cub.2015.07.059.

Engl, T., Eberl, N., Gorse, C., Kr, T., Schmidt, T. H. P., Plarre, R., Adler, C., Kaltenpoth, M. 2018. Ancient Symbiosis Confers Desiccation Resistance to Stored Grain Pest Beetles. Molecular Ecology. 27 (8). 2095–2108. doi: 10.1111/mec.14418.

Fouet, C., Gray, E., Besansky, N. J., Costantini, C. 2012. Adaptation to Aridity in the Malaria Mosquito Anopheles gambiae : Chromosomal Inversion

Polymorphism and Body Size Influence Resistance to Desiccation. PLoS ONE. 7 (4). doi: 10.1371/journal.pone.0034841.

Gibbs, A. G., Fukuzato, F., Matzkin, L. M. 2003. Evolution of water conservation mechanisms in Drosophila. The Journal of Experimental Biology. 206 . 1183–1192. doi: 10.1242/jeb.00233.

Gibbs, A., Pomonist, J. G. 1995. Physical Properties of Insect Cuticular Hydrocarbons : The Effects of Chain Length , Methyl-Branching and Unsaturation. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. 112 (2). 243–249. doi: 10.1016/0305-0491(95)00081-X.

Grimaldi, D. A. 2010. 400 Million Years on Six Legs: On the Origin and Early Evolution of Hexapoda. Arthropod Structure and Development. 39 (2–3). 191–203. doi: 10.1016/j.asd.2009.10.008.

Haelewaters, D., Zhao, S. Y., Ted, S. C., Luka, D. K., Herz, A., Hesketh, H., Hui, C., Kleespies, R. G., Losey, J. E., Minnaar, I. A., Murray, K. M., Rebecca, D. I. S., Tove, R. S., Paul, S., Zhao, Z., Ceryngier, P., Roy, H. E. 2017. Parasites of Harmonia axyridis : Current Research and Perspectives. Biocontrol. 62 (3). 355–371. doi: 10.1007/s10526-016-9766-8.

Hodek, I., Emden, H. F., Honěk, A. 2012. Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae). 1st editio. Blackwell Publishing Ltd. ISBN: 9781405184229.

Hoffmann, A. A., Anderson, A., Hallas, R. 2002. Opposing Clines For High and Low Temperature Resistance in Drosophila melanogaster. Ecology Letters. 5 . 614–618. doi: 10.1046/j.1461-0248.2002.00367.x.

Jacob, J., Hansseni, H., Institut, B., Germany, W. 1986. Distribution and Variability of Cuticular Hydrocarbons Within the Coleoptera. Biochemical Systematics and Ecology. 14 (2). 207–210. doi: 10.1016/0305-1978(86)90064-5.

Kaunisto, S., Ferguson, L. V, Sinclair, B. J. 2016. ScienceDirect Can We Predict the Effects of Multiple Stressors on Insects in a Changing Climate ? Current Opinion in Insect Science. 17 . 55–61. doi: 10.1016/j.cois.2016.07.001.

Košťál, V. 2006. Eco-Physiological Phases of Insect Diapause. Journal of Insect Physiology. 52 . 113–127. doi: 10.1016/j.jinsphys.2005.09.008.

Lann, C. Le, Roux, O., Serain, N., Alphen, J. J. M. Van, Vernon, P., Baaren, J. Van 2011. Thermal Tolerance of Sympatric Hymenopteran Parasitoid Species : Does it Match Seasonal Activity ? Physiological Entomology. 36 . 21–28. doi: 10.1111/j.1365-3032.2010.00758.x.

Min, H., Sung, D., Cho, Y. 2018. The Monitoring of Sand Dune Insects Using Pitfall Trap in Goraebul Beach, Yeongdeok-gun, South Korea. Journal of Asia-Pacific Biodiversity. 11 (1). 32–38. doi: 10.1016/j.japb.2017.11.001.

Myers, P. 2001. "Insecta" (dostupné On-line), Animal Diversity Web. Accessed September 26, 2012. http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Insecta.html

Nedvěd, O. 2014. Slunéčko východní (Harmonia axyridis) - pomocník v biologické ochraně nebo ohrožení biodiverzity? Certifikovaná metodika pro praxi. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. p. 1-65. ISBN: 9788073944902.

Nedvěd, O. 2015. Brouci čeledi slunéčkovití (Coccinellidae) střední Evropy. 1. vydání. Praha. Academia. ISBN: 978-80-200-2495-4.

Pervez, A., Gupta, A. K., Omkar 2006. Larval Cannibalism in Aphidophagous Ladybirds: Influencing Factors, Benefits and Costs. Biological Control. 38 (3). 307–313. doi: 10.1016/j.biocontrol.2006.04.013.

Pervez, A., Omkar 2011. Ecology of Aphidophagous Ladybird Propylea Species: A Review. Journal of Asia-Pacific Entomology. 14 (3). 357–365. doi: 10.1016/j.aspen.2011.01.001.

Petsakou, A., Perrimon, N. 2016. "ISN't Thirst Sweet?" Says the Fly. Cell. 166 (4). 796–797. doi: 10.1016/j.cell.2016.07.038.

Resh, Vincent H., C. T. R. 2003. Encyclopedia of Insects. 1st editio. Elselvier Science (USA). ISBN: 2002106355.

Reynierse, B. Y. J. H., Manning, A., Cafferty, D. 1972. The Effects of Hunger and Thirst on Body Weight and Activity in the Cockroach (Nauphoeta cinerea). Animal Behaviour. 20 . 751–757. doi: 10.1016/S0003-3472(72)80147-7.

Rojas, B., Valkonen, J., Nokelainen, O. 2015. Quick Guide - Aposematism. Current Biology. 25 . 350–351. doi: 10.1016/j.cub.2015.02.015.

Roy, H. E., Brown, P. M. J., Adriaens, T., Berkvens, N., Borges, I., Richard, S. C., Patrick, F. C., Rene, D. C., Estoup, A., Evans, E. W., Facon, B., Gardiner, M. M., Gil, A., Grez, A. A., Guillemaud, T., Haelewaters, D., Herz, A., Honek, A., Howe, A. G., Hui, C., Hutchison, W. D., Kenis, M., Koch, R. L., Kulfan, J., Lawson, L., Eric, H., Antoon, L., Losey, J., Lukashuk, A. O., Maes, D., Magro, A., Murray, K. M., San, G., Zdenka, M., Ingrid, M., Oldr, A. M., Naoya, M. J. O., Wolfgang, O., Hans, R., Ravn, P., Rondoni, G., Rorke, S. L., Ryndevich, S. K., Sloggett, J. J., Onofre, A., Riaan, S., Matthew, S., Zach, P., Vandereycken, A., Wielink, P. Van, Vigla, S. 2016. The Harlequin Ladybird , Harmonia axyridis : Global Perspectives on Invasion History and Ecology. Biological Invasions. 18 (4). 997–1044. doi: 10.1007/s10530-016-1077-6.

Scharf, I. 2016. The Multifaceted Effects of Starvation on Arthropod Behaviour. Animal Behaviour. 119 . 37–48. doi: 10.1016/j.anbehav.2016.06.019.

Seago, A. E., Giorgi, J. A., Li, J., Ślipiński, A. 2011. Phylogeny, Classification and Evolution of Ladybird Beetles (Coleoptera: Coccinellidae) Based on Simultaneous Analysis of Molecular and Morphological Data. Molecular Phylogenetics and Evolution. 60 (1). 137–151. doi: 10.1016/j.ympev.2011.03.015.

Tejeda, M. T., Arredondo, J., Liedo, P., Peréz-Staples, D., Ramos-Morales, P., Francisco, D.-F. 2016. Reasons For Success : Rapid Evolution For Desiccation Resistance and Life-history Changes in the Polyphagous Fly Anastrepha ludens. Evolution - International Journal Of Organic Evolution. 70 (11). 2583–2594. doi: 10.1111/evo.13070.

Tejeda, M. T., Arredondo, J., Pérez-staples, D., Ramos-morales, P., Liedo, P., Díaz-fleischer, F. 2014. Effects of Size , Sex and Teneral Resources on the Resistance to Hydric Stress in the Tephritid Fruit Fly Anastrepha ludens. Journal of Insect Physiology. 70 . 73–80. doi: 10.1016/j.jinsphys.2014.08.011.

Tissot, M., Nelson, D. R., Gordon, D. M. 2001. Qualitative and Quantitative Differences in Cuticular Hydrocarbons Between Laboratory and Field Colonies of Pogonomyrmex barbatus. Comparitive Biochemistry and Physiology Part B. 130 (3). 349–358. doi: 10.1016/S1096-4959(01)00436-5.

Tomlinson, S., Phillips, R. D. 2015. Differences in Metabolic Rate and Evaporative Water Loss Associated With Sexual Dimorphism in Thynnine Wasps. Journal of Insect Physiology. 78 . 62–68. doi: 10.1016/j.jinsphys.2015.04.011.

Tomoyasu, Y., Arakane, Y., Kramer, K. J., Denell, R. E. 2009. Repeated Co-options of Exoskeleton Formation During Wing-to-Elytron Evolution in Beetles. Current Biology. 19 (24). 2057–2065. doi: 10.1016/j.cub.2009.11.014.
Willmer, P., Stone, G., Johnston, I. 2005. Environmental Physiology of Animals. 2nd editio. Blackwell Publishing. ISBN: 1405107243.
Wojda, I. 2017. Temperature Stress and Insect Immunity. Journal of Thermal Biology. 68 . 96–103. doi: 10.1016/j.jtherbio.2016.12.002.
Yager, D. D. 2012. Predator Detection and Evasion by Flying Insects. Current Opinion in Neurobiology. 22 (2). 201–207. doi: 10.1016/j.conb.2011.12.011.