



Fakulta zemědělská
a technologická
Faculty of Agriculture
and Technology

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra biologických disciplín

Diplomová práce

Vliv kapsaicinu na střevní mikrobiom švába *Blattica dubia*

Autor práce: Bc. Jakub Žahourek

Vedoucí práce: doc. Mgr. Michal Berec, Ph.D.

České Budějovice
2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracoval pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne

.....
Podpis

Abstrakt

Ve své práci se zabývám parazitofaunou střevního mikrobiomu švábů *Blattica dubia*. Konkrétně se věnuji třem skupinám potencionálně patogenních organismů vyskytujících se ve střevním traktu farmově chovaných švábů, a to nálevníkům (*Nyctotherus*), gregarinám (Gregarinae) a roupům (Thelastomatidea) a možností využití sekundárního rostlinného metabolitu rostlin rodu *Capsicum*, kapsaicinu, jako antiparazitního přípravku k odčervování bezobratlých.

Produkce farmově chovaného hmyzu posledních několik let skokově roste a v nadcházejících desetiletích se předpokládá až několikanásobný nárůst objemu produkce v tomto odvětví zemědělství. Komerčně produkováný hmyz je již na celém světě využíván jako krmivo pro hospodářská zvířata, náhrada rybí moučky, bionafta, potrava pro lidi a jako krmivo pro zvířata v zájmových chovech.

Hmyz je považován za nový revoluční zdroj bílkovin s výrazně menším environmentálním dopadem v porovnání s běžnými hospodářskými zvířaty.

Navzdory velkému počtu chovaných jedinců a zájmu mnoha producentů nebyl plně pochopen vliv parazitů na farmově chovaný hmyz. Parazité, kteří v přírodě nepůsobí žádné významné onemocnění, nabývají v kultuře na síle a se zvyšující parazitizací se zvedá i jejich virulence a mají tedy přímý vliv na produktivitu chovaných zvířat. Dodnes není známé žádné účinné antiparazitikum, které by tyto infekce eliminovalo bez velkých ztrát ošetřovaných jedinců.

Využití bioaktivních látek rostlinných krmiv, jakožto přirozených obraných látek tvořených rostlinami, se jeví jako vhodné řešení tohoto problému a již dnes nabývají v chovech hospodářských zvířat na významu.

V této práci se podařilo prokázat snížení prevalence gregarin a roupů v kolonii švábů po podání paprik s různým obsahem kapsaicinu. Nedošlo však k celkovému odstranění parazitů z pozorované kolonie. Distribuce nálevníků rodu *Nyctotherus* nebyla terapií nijak zásadně ovlivněna.

Klíčová slova: alkaloidy, *Blattica dubia*, kapsaicin, Gregarinae, *Nyctotherus* paraziti, terapie, Thelastomatidae

Abstract

In my thesis, I study the parasitofauna of the gut microbiome of the cockroach *Blattella germanica*. Specifically, I focus on three groups of potentially pathogenic organisms occurring in the intestinal tract of farmed cockroaches, namely the ciliates (*Nyctotherus*), gregarines (Gregarinae) and pinworms (Thelastomatidea), and the possibility of using a secondary plant metabolite of plants of the genus *Capsicum*, capsaicin, as an agent to de-parasitization of invertebrates.

The production of farmed insects has been growing rapidly in the last few years and is expected to increase several-fold in the next few decades. Commercially produced insects are already being used worldwide as livestock feed, fishmeal substitute, biodiesel, human food and as pet food.

Insects are considered a revolutionary new source of protein with significantly less environmental impact compared to common livestock.

Despite the large number of farmed individuals and the interest of many producers, the impact of parasites on farmed insects has not been fully understood. Parasites that do not cause any disease in nature gain strength in culture, and as parasitemia increases, so does their virulence and here they have a direct effect on the production of farmed animals. To this day, there is no known effective anti-parasiticide that can eliminate these infections without great loss of treated animals.

The use of bioactive substances in plant feeds as natural defensive agents formed by plants seems to be a suitable solution to this problem and is already growing in importance in livestock farming.

In the present work, it was possible to demonstrate a reduction in the prevalence of gregarines and pinworms in a colony of cockroaches after feeding by peppers with different volume of capsaicin. However, there was no total elimination of the parasites from the observed colony. The distribution of ciliates of genus *Nyctotherus* was not significantly affected by the treatment.

Keywords: alkaloids, *Blattella germanica*, capsaicin, Gregarinae, *Nyctotherus*, parasites, therapy, Thelastomatidae

Poděkování

Rád bych poděkoval svému školiteli doc. Mgr. Michalovi Berecovi, Ph.D. za ochotu, vstřícný a otevřený přístup k mým, často neortodoxním, nápadům během celé tvorby diplomové práce. Dále bych rád poděkoval doc. RNDr. Josefu Navrátilovi, Ph.D. za pomoc se statistickým vyhodnocením mnou nashromážděných dat a v neposlední řadě také RNDr. Marii Jalovecké, Ph.D., prof. RNDr. Tomáši Scholzovi, CSc a prof. RNDr. Ivanu Čepičkovi, Ph.D. za pomoc se správnou determinací všech parazitických organismů. Velké díky patří i MVDr. Janě Kvičerové, Ph.D. za konzultaci a rady v oblasti biologie a systematiky sledovaných druhů parazitů.

Obsah

Úvod.....	8
1 Biologie švábů.....	11
1.1 Švábi čeledi Blaberidae	11
1.1.1 Životní cyklus a rozmnožování	12
1.1.2 Habitat.....	12
1.2 Druh <i>Blaptica dubia</i>	13
1.2.1 Potrava.....	13
1.2.2 Komerční význam a využití	13
2 Parazité švábů.....	16
2.1 Gregariny (Apicomplexa: Gregarinasina: Eugregarinorida)	16
2.2 Nálevníci (Ciliophora).....	19
2.3 Roupi (Nematoda: Oxyuridomorpha: Thelastomatidae).....	21
3 Metodika a pokusný materiál	25
3.1 Materiál.....	25
3.1.1 Švábi.....	25
3.1.2 Zdroj kapsaicinu.....	26
3.1.3 Scovilleova stupnice.....	26
3.2 Metodika.....	27
3.2.1 Pitva švábů a mikroskopie	27
3.2.2 Kvantifikace parazitů	28
3.2.3 Statistická analýza.....	28
3.3 Mortalita	29
4 Výsledky	30
4.1 Prevalence.....	30
4.2 Atraktivita jednotlivých odrůd	31

4.3	Vliv kapsaicinu (jednorozměrné analýzy).....	32
4.3.1	Gregariny.....	32
4.3.2	Nálevníci	33
4.3.3	Roupi.....	34
4.4	Ovlivnění střevní mikrofauny kapsaicinem.....	35
4.5	Váha (přírůstky).....	37
5	Diskuse.....	39
	Závěr	43
	Seznam použité literatury.....	44
	Seznam příloh.....	53

Úvod

V poslední době roste poptávka po potravinách a je nutné zajistit nové zdroje výživy, a to především v rozvojových zemích, kde se stále setkáváme s problémy s podvýživou. Hmyz jako zdroj potravy a jeho možné způsoby využití a zavádění v kulturách, které entomofággii opomíjely, se jeví jako vhodné řešení nedostatku potravin. Entomofággie v mnoha kulturách zaujímá své místo ve společnosti a ukazuje velký potenciál hmyzu jako zdroje krmiva a potravy (Rumpold and Schlüter, 2013).

Předpokládá se, že lidská populace do roku 2100 vzroste na asi 11 miliard, což bude znamenat vyšší tlak na již tak křehký systém produkce potravin (Huis et al., 2019). Spolu s potřebou snížit množství spotřebovávané vody a produkce skleníkových plynů se očekává zvýšení poptávky po alternativních udržitelných zdrojích bílkovin a produktů z nich vytvářených. Bezobratlí živočichové z akvakultury a průmyslově chovaný hmyz se mají stát důležitým zdrojem bílkovin pro lidskou spotřebu a pro krmení hospodářských a domácích zvířat (Huis et al., 2013). S rozvojem potravinářského a krmivářského hmyzího průmyslu je třeba i lépe pochopit biologii komerčně chovaného hmyzu, aby bylo možné pochopit roli, kterou hrají v chovu hmyzu jejich mikroorganismy, jak při udržování jejich zdraví hmyzu, tak při vzniku onemocnění. Od roku 2016, kdy byl hmyz uznán jako hospodářská zvířata, se odvětví chovu hmyzu v Evropě rychle rozvíjí, aby uspokojil celosvětovou poptávku po kvalitnějších potravinách s ohledem na společenské a environmentální zájmy.

Hmyz, který je v mnoha částech světa tradiční potravinou, je velmi výživný a bohatý na bílkoviny. Kromě velkého množství aminokyselin a mastných kyselin, taktéž obsahuje pestré spektrum minerálních látek a vitamínů. Jejich obsah se ovšem v různých druzích jedlého hmyzu liší. V rámci tohoto tvrzení jsou diskutována rizika a přínosy entomofággie (Da Silca et al., 2020).

V České republice byl přijetím novely veterinárního zákona č. 166/1999Sb., v roce 2019, hmyz zařazen do stejné kategorie jako tradiční hospodářská zvířata. Novela zákona č. 166/1999 z 15. ledna 2020 umožnila produkovat hmyz pro lidskou spotřebu, konkrétně se jedná o druhy: potěmník moučný (*Telebrio molitor*), cvrček domácí (*Acheta domestica*), cvrček banánový (*Grillus assimilis*), saranče stěhované (*Locusta migratoria*). Dále se jedná o dalších hmyzích druzích, které by na tento seznam mohli být zařazeny, jako např. saranče všežravé (*Schistocerca gregaria*), šváb argentinský (*Blattica dubia*), šváb turkystánský (*Schelfordela tartara*) atd...

V roce 2017 bylo jen v Evropě vyprodukováno 6000 tun hmyzu. Odhaduje se, že celosvětová produkce hmyzu dosáhne do konce roku 2023 cca 100 000 tun a do roku 2030 se předpokládá až desetinásobný nárůst (Derrien et al., 2018).

Šváby jsou ovšem významní původci „food-borne Pathogens“. Ve svém těle jsou schopni nést značné množství patogenních organismů, kterým slouží jako vektorů infekce. Donkor (2020) ve své práci uvádí záchyty patogenních kmenů bakterií, hub a parazitů, které byly nalezeny v tělech synantropních švábů. Mezi časté záchyty patří například *Stafylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* nebo bakterie rodu *Pseudomonas*. Ve švábech také diagnostikoval infekční stadia parazitů jako améby (*Entamoeba coli* a *E. histolytica*), helminti (*Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Enterobius vermicularis*, *Hymenolepis nana*, *Taenia* spp. a *Trichuris trichura*), prvoci (*Cyclospora cayatanensis*, *Cryptosporidium parvum*, *Giardia duodenalis*), ale také původce mykotických infekcí (*Aspergillus fumigans*, *A.niger*, *Candida* spp., *Rhizopus* spp.). Švábi tedy mohou mít v určitých oblastech významný vliv na transmissi „food-borne infections“.

S rozvojem potravinářského a krmivářského průmyslu, jak již bylo uvedeno výše, je třeba nově pochopit biologii a nároky průmyslově využívaných druhů hmyzu. Je třeba zhodnotit, jakou roli hraje hmyzí mikrobiom v jejich vývoji a růstu a jaký je jeho vliv na zdraví hmyzu a při vzniku onemocnění. Zatímco mnoho projektů zaměřených na mikrobiomy se soustředí na bakterie, houby nebo viry, důležitou součástí těchto společenstev mohou být také protisty, ale i jiné eukaryotické organismy. Dosavadní zkušenosti s intenzivním chovem bezobratlých ukazují, že tyto parazité, ačkoli jsou často v přirozené populaci neškodní, mohou rychle proniknout do chovných kolonií a způsobit rozsáhlé škody. Hlavní skupiny entomopatogenních parazitů s potenciálem infikovat hmyz, který je v současné době chován jako potrava jsou Amoebozoa, Apicomplexa, Ciliates, Chlorophyta, Euglenozoa, Ichtyosporea a Microsporidia. Existují však klíčové mezery v chápání toho, jak mnoho z těchto entomopatogenů ovlivňuje biologii hostitele. Pro mnohé z nich navíc existují buď jen velmi omezené nebo dokonce žádné molekulární údaje, což brání zavedení molekulárních detekčních metod. V současné době je nutné vyvíjet a používat nové molekulární nástroje ve spojení se standardními molekulárními diagnostickými metodami, aby bylo možné pomoci odhalit jejich biologii a předpovědět účinky těchto málo prozkoumaných protistních parazitů v intenzivních chovech hmyzu (Bessette and Williams, 2022).

Stejně jako všechna farmově chovaná zvířata trpí hmyz, tedy i šváby na vyšší výskyt parazitárních infekcí, který může být ovlivněn celkových welfare chovu. Díky vysoké denzitě chovaných jedinců, omezenému prostoru a s tím související vysoké hladině autoinfekcí může při zavlečení patogenu do chovu dojít k rychlému přemnožení a následnému snížení produktivity chovaných zvířat, jejich úhynům a následným ekonomickým ztrátám (Bessette and Williams, 2022; Barrett et al., 2022).

Podmínky v chovech hmyzu jsou značně odlišné. Výrobci hmyzu se aktuálně pohybují především na lokální úrovni, zároveň existuje jen malé množství studií, které by tyto rozdíly dokumentovaly (Barrett et al., 2022).

V posledních letech lze pozorovat rostoucí trend používání rostlinných léčivých přípravků k léčbě široké škály problémů (od nespavosti, úzkosti, obezity, bronchiálního astmatu, zácpy, zánětu dásní, ekzémů a varixů až po syndrom imunodeficiency). Za velmi populární jsou považovány i různé alkaloidy (Capasso, 2000), mezi které spadá i kapsaicin.

Kapsaicinoid kapsaicin je alkaloid, který v různých koncentracích produkuje plody rodu *Capsicum* (čeleď Solanaceae) a který je většinou zodpovědný za jedinečnou vlastnost téměř všech chilli papriček, a to jejich výraznou štiplavost. Extrémně pálivá a palčivá chuť derivátů kapsaicinu chrání rostliny před býložravci a tato vlastnost je příčinou velké obliby chilli papriček pro použití jako koření v gastronomii po celém světě. Kapsaicin se však uplatňuje také v tradiční medicíně, například pro lokální uvolňování bolesti, snižování hmotnosti a jako kardioprotektivum (Füchtbauer et al., 2021).

Práce Füchtbauera et al. (2021) poskytuje důkazy o tom, že kapsaicin a jeho deriváty představují slibné doplňkové možnosti léčby bakteriálních infekcí nezávislé na antibiotikách. Celkový potenciál vlivu kapsaicinu na eliminaci patogenů nebyl dosud plně prozkoumán a není vyloučen ani antimykotický a antiparazitní efekt.

Cílem této práce bylo prokázat antiparazitický vliv kapsaicinu na prvoky a hlístice vyskytující se v trávicím traktu komerčně chovaných švábů a zhodnotit možnost využití této terapie k odstranění potenciálních patogenů v chovech hmyzu.

1 Biologie švábů

Švábi (Blattodea) jsou starobylým řádem hmyzu. Podle paleontologických nálezů se první švábi dnešního typu objevili již ve svrchním karbonu, tedy před 340 miliony let. V dlouhodobé historii svého se vyvinulo velké množství druhů, jak velice přizpůsobivých svému životnímu prostředí, tak i druhů vysoce specializovaných na určité podmínky. Vyskytují se na všech kontinentech kromě Antarktidy. Na ostrovech vzniklo velké množství endemických druhů. Například na Kubě se vyskytuje 85 druhů švábů, z nichž je 54 endemitů. Velký počet druhů je kosmopolitní a mnoho dalších druhů se přepravou zboží také rozšířilo po celém světě, ale nejedná se vždy o druhy synantropní (Kovařík, 2000).

Standardní tělo švába je zploštělé a široce oválné, s velkým, štítovitým pronotem pokrývajícím hlavu, ventrálně nasazeným žvýkacím ústním ústrojím, a dlouhými segmentovanými tykadly. První pár křídel je typicky kožovitý a druhý (zadní) pár blanitý.

Nymfy se líhnou z ooték, po inkubační době trvající od několika dní až po několik měsíců v počtu kolem dvaceti jedinců. A stejně jako u ostatních zástupců hemimetabolního hmyzu se nápadně podobají dospělcům, ačkoliv se do určité míry mohou lišit ve tvaru a barvě; samozřejmě je absence křídel (Bell, 2007; Kovařík, 2000).

Švábi jsou označováni jako typičtí omnivoři a často jsou řazeni mezi skladištní škůdce. Potravní návyky takto synantropních druhů jsou nejlépe prozkoumány. Přesto termín všežraví není zcela adekvátní. Ačkoliv existuje mnoho oportunních druhů, vyvinulo se i velké množství vysoce specializovaných druhů. Přestože většina zástupců švábů, kteří žijí synantropně nebo jsou chováni v zajetí pro komerční nebo laboratorní účely nejsou v potravě vybíravá, mohou však preferovat různé složky potravy, což může být ovlivněno stářím, pohlavím, reprodukční nebo vývojovou fází jedince (Bell, 2007).

1.1 Švábi čeledi *Blaberidae*

Do této čeledi patří největší známé druhy švábů dorůstající velikosti až 120 mm. Jedná se o ploché, mohutné šváby se silně otrněnými holeněmi, uzpůsobenými k hrabání. Druhy této čeledi jsou živorodé a jsou rozšířeny v tropických a subtropických oblastech po celém světě. Některé druhy jsou příležitostnými synantropními škůdci (např. *Nauphoeta cinerea*) (Kovařík, 2000).

Blaberidae (1020 druhů) je evolučně nejmladší čeleď švábů, která prošla nejrozsáhlejší adaptivní radiací. Skupina je primárně tropická. Její zástupci jsou obecně terestričtí, lze je nalézt v opadance, v humusu atd., ačkoli některé druhy jsou i stromové. Několik druhů žije mimo svůj přirozený areál výskytu synantropně, jako například *Nauphoeta cinerea*, *Pycnoscelis surina* a *Rhyparobia maderae*. *Pycnoscelis surina* se může vyskytovat ve sklenících, v teplejších podnebích i venku, kde může vážně poškozovat kořeny plodin (Wu, 2013).

1.1.1 Životní cyklus a rozmnožování

Téměř u všech popsaných druhů švábů se samci během svého života páří s více samičkami. Někdy jsou pářící systémy švábů přirovnávány ke švýcarskému nožíku, kdy jsou pohlavní orgány švábů „vyzbrojeny“ různými západkami, svorkami a svěrači, které spojují pár zadečky k sobě a brání mu v předčasném ukončení kopulace (Bell, 2007).

Je však obtížné určit, kolik partnerů k páření má samice ve volné přírodě, což lze u hmyzu, který většinou žije skrytě a má noční aktivitu, očekávat. Málo prostudované jsou také jejich námluvy a „svatební“ tance (Bell, 2007).

Samice z čeledi Blaberidae patří do skupiny „živorodých“ švábů, které vykladou vajíčka v blanité ootéce na kraj zadečky. Zde celou ootéku přetočí na bok a natáhnou do svého inkubačního vaku, který mají uložen ve spodní části zadečky, kde se vajíčka vyvíjejí až do vylíhnutí (Kovařík, 2000).

Čerstvě vylíhlé nymfy jsou světlé a měkké, a okamžitě po vylíhnutí začnou požírat zbytky blanité ootéky. Následně zůstávají schovány pod samičí, dokud jejich exoskelet neztvrdne (Kovařík, 2000).

Stejně jako jiný hemimetabolní hmyz jsou nymfy švábů značně podobné dospělým s absencí tegmin a křídel. Rané instary obou pohlaví se neliší barvou, tvarem, ani velikostí. Mláďata jsou slabě sklerotizovaná a často jim chybí znaky pro identifikaci druhů. Například nymfy mnoha druhů se po vylíhnutí zahrabávají do půdy a je obtížné od sebe odlišit různé druhy z důvodu neúplného vývoje pronotálních a tergalních rysů. V důsledku toho je přirozená ontogeneze mláďat u mnoha druhů švábů prakticky neznámá (Bell, 2007).

1.1.2 Habitat

Švábi čeledi Blaberidae se vyskytují téměř ve všech biotopech; obývají tropické a mírné lesy, pastviny, vřesoviště, stepi, slané bažiny, pobřežní společenstva a pouště. Jsou aktivní v celé vertikální dimenzi suchozemského prostředí, od horního lesního

zápoje až hluboko do půdy. Obývají jeskyně, doly, duté stromy, nory a podkorní prostory. Nacházejí se také v suchých listech, hniјících kmenech stromů, epifytech, boreálních vodních tůňích, hnízdech sociálního hmyzu, hlodavců, ptáků, a člověkem vytvořených konstrukcích, jako jsou obydlí, lodě a letadla (Roth and Willis, 1960).

1.2 Druh *Blaptica dubia*

Většina druhů rodu *Blaptica*, patřícího rovněž do čeledi Blaberidae, žije v tropických a subtropických oblastech. *Blaptica dubia* je 450 mm velký šváb s výrazným sexuálním dimorfismem. Samci mají křídla, ale létají jen zřídka. Z důvodu absence přísavných terčů nebo areol mezi drápky, nedokáží dospělci ani nymfy lézt na hladké povrchy.

Blaptica dubia je ovoviviparní druh rodící živá mláďata. Tento typ reprodukce je pro čeleď Blaberidae typický (Wu, 2013). Samice vypouštějí 22–28 nymf. Ty dospívají po 10–12 měsících, přičemž vývoj samců je o jeden instar kratší než vývoj samic, jako je tomu ostatně u všech ostatních druhů švábů (Kovařík, 2000).

1.2.1 Potrava

Blaptica dubia je oportunním druhem švába. Zjevné býložravci nejsou limitováni jen konzumací zelených částí cévnatých rostlin. Potrava švábů zahrnuje pyl, nektar, mízu, pryskyřici, kořeny, kůru, větvičky, květy a ovoce atd. (Lepschi, 1989). Mimo jiné také ochotně přijímají houby a další organismy (Hunt, 2003).

Stejně jako velké množství býložravců a detritivorů i mnoho druhů švábů, včetně *B. dubia*, příležitostně zahrnuje do své potravy i živočišné tkáně (Gorton, 1980).

Nedílnou součástí jejich potravy je i detrit. Ten je nutričně velmi odlišný od rostlinné nebo živočišné potravy, protože byl kolonizován a pozměněn množstvím mikroorganismů. Detrit sestává z odumřelé hmoty, degradovaného humusu, rozpuštěné organické hmoty, hub, bakterií, prvoků, hlístic a jejich metabolických produktů (Nalepa et al., 2001; Scheu a Setälä, 2002).

Odumřelý rostlinný materiál v různém stupni rozkladu je hlavním zdrojem potravy švábů v mnoha biotopech. Platí to zejména pro druhy žijící v blízkosti nebo vně přízemního patra tropického lesa, kde mají na dosah neomezené množství rozkládající se hmoty (Scheu a Setälä, 2002).

1.2.2 Komerční význam a využití

Blaptica dubia je jedním z nejčastěji chovaných švábů pro krmné účely pro mnoho druhů plazů a obojživelníků. Vyhovuje mu chov v početných koloniích a s vrstvou

mírně vlhkého substrátu, ale dobře prosperuje i bez substrátu při chovu na „suchu“ (Kovařík, 2000).

Ve srovnání s jinými zdroji potravy, jako jsou cvrčci a larvy brouků, obsahuje *B. dubia* vyšší procento bílkovin, snadněji se udržuje, a na rozdíl od jiných švábů produkuje jen slabý zápach. V důsledku toho se stává stále oblíbenější součástí krmné dávky nejen mezi chovateli obojživelníků a plazů (Wu, 2013).

Tlaky ve společnosti vedly k tomu, že se na trhu objevily produkty na bázi hmyzích bílkovin, a další jsou ve vývoji. Mnoho chovatelů psů (*Canis familiaris*) a koček (*Felis silvestris catus*) věnuje značnou pozornost hmyzímu krmivu jako udržitelnému a někdy dokonce zdraví prospěšnému zdroji bílkovin. Ačkoli se často objevují skepse o chutnosti, nutriční kvalitě, zdravotních účincích hmyzího krmiva na psy a kočky, nehledě na jeho udržitelnost a vhodnost. Na rozdíl od psů, přirozená strava koček běžně obsahuje hmyz, ale podíl na celkové biomase je u většiny méně než 0,5 %. Přestože jsou tyto výrobky zvířaty velmi ochotně přijímány, stále se nabízí otázka vhodnosti jejich použití. V posledních letech probíhá více dlouhodobých studií, které monitorují hodnoty dusíku a rozklad bílkovin v trusu takto krmených zvířat, jakož i studií, které se zaměřují na zdraví prospěšný vliv hmyzu na organismus konzumenta (Bosch a Swanson, 2021).

Konzumace hmyzu není neznámá ani v lidské populaci. V některých částech Mexika jsou běžně pojídáni mravenci, kobylky a larvy některých druhů brouků, z nichž mnohé jsou považovány za lahůdky. Kulinářská úprava hmyzu je také známa z mnoha zemí Latinské Ameriky, Afriky a Asie (Conconi, 1976). V rozporu s prvotním očekáváním nemusí být představa o konzumaci hmyzu lidmi nutně odporná. Conconi (1976) provedl průzkum v populaci čítající 30 000 jedinců z USA, která byla tvořena primárně ženami v domácnosti, kuchaři a vědci a získal 82 % kladnou odpověď na možnost zařadit hmyz do své stravy.

Mezi dominantní benefity chovu hmyzu jako potravin se řadí produkce kvalitní živočišné bílkoviny bez antibiotik, anabolik a jiné nežádoucí chemie díky obrovské celoroční plodnosti a krátkému výkrmovému cyklu hmyzu ([cit. 17.08.2022]. Dostupné z: <http://svzh.cz/perspektivy-chovu-hmyzu>). Dále podstatně nižší požadavky na zábor zemědělské půdy při investiční výstavbě než v klasické živočišné výrobě – na 10-12 tun roční produkce je zapotřebí zhruba 100 m² ploch včetně ploch skladovacích a pomocných. Zpracovatelnost hmyzu do produktu je takřka 100 %. Dalším pozitivem je bezodpadové hospodářství (trus hmyzu je schválen Ústředním kontrolním

a zkušební ústavem zemědělským jako výtečné organické hnojivo), a šetrnost k životnímu prostředí (hmyz nezapáchá, není hlučný, a díky enzymatickému trávení produkuje minimální množství metanu). Chov hmyzu není finančně tak náročný z důvodu možnosti zkrmování dostupných domácích krmiv produkovaných místními farmáři – např. obilnin, brambor, jablek, mrkve apod., a minimálními nároky na pitnou vodu (hmyz má zanedbatelnou spotřebu vody, což je do budoucna velmi pozitivní ukazatel). Hmyz přijímá vodu většinou ze vzdušné vlhkosti nebo z přijímané potravy, takže na produkci 1 kg hmyzu je zapotřebí zhruba 1,5-2 l vody, přičemž pro hovězí dobytek činí spotřeba vody cca 150 l/kg. U produkce vepřového a drůbežího masa je to o něco méně, nicméně stále se jedná o takřka stonásobně nižší spotřebu vody na výrobu stejně kvalitní živočišné bílkoviny, jako jsou tradiční druhy masa ([cit. 17.08.2022]. Dostupné z: <http://svzh.cz/perspektivy-chovu-hmyzu>).

Tvrzení, že hmyzí proteiny mají nižší dopad na životní prostředí, než bílkoviny z masa hospodářských zvířat ovšem není zcela relevantní, jelikož většina komerčně produkovaných švábů je krmena krmnými směsmi, které obsahují bílkoviny původem z hospodářských zvířat. Zpravidla se jedná o různé druhy krmných mouček (např. rybí moučka) (Bosch a Swanson, 2021). Přesto lze s ohledem na nárůst světové populace korelující se spotřebou i poptávkou po mase uvažovat o hmyzu jako o alternativním zdroji bílkovin s menším dopadem na životní prostředí (van Huis, 2013).



Obr.č. 1-1: *Blattica dubia* (Žahourek, 2022)

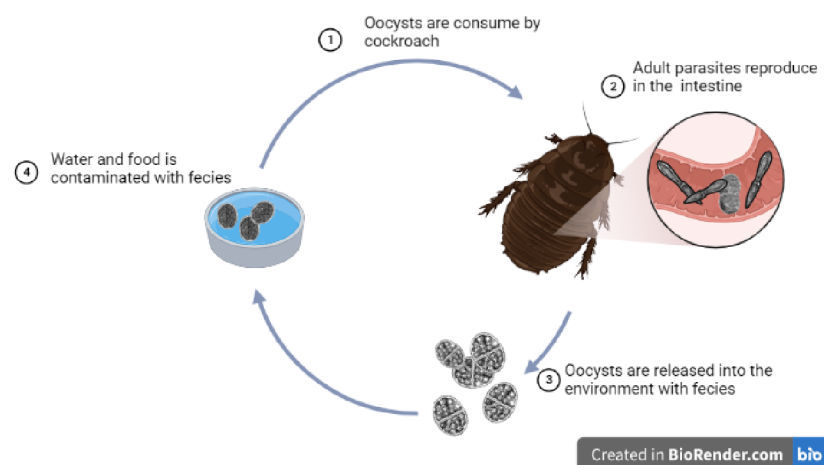
2 Parazité švábů

2.1 Gregariny (Apicomplexa: Gregarinasina: Eugregarinorida)

Gregariny neboli hromadinky jsou parazité trávicího traktu bezobratlých patřící do kmene Apicomplexa. Dosud bylo popsáno přibližně 500 druhů gregarin. Většinou se jedná o monoxenní parazity, jejichž trofozoiti (vegetativní stadia) žijí vtlačeni do hostitelské buňky. Některé gregariny jsou však zcela intracelulární. Trofozoit je buňka značných rozměrů, obvykle měří 200–300 μm . Přichycení k hostitelské buňce zajišťuje přední část zoitu modifikovaná v jednoduchý váček (mukron) nebo ve složitý přichycovací orgán (epimerit) s různými výběžky a háčky (Volf a Horák, 2007).

Po fázi růstu opouštějí dospělí trofozoiti hostitelské buňky a pohybují se klouzavým pohybem v lumenu střeva. Z uvolněných trofozoitů vznikají tzv. gamonti (předsexuální stadia) (Volf a Horák, 2007), kteří mívají obvykle dvě části: přední protomerit a zadní, větší deutomerit, ve kterém je jádro. Obě části jsou od sebe odděleny prstenčovým zaškrcením. Na předním konci protomeritu se většinou nachází tzv. epimerit, který je vytvořen přeměnou konoidu. Epimerit slouží k invadaci do hostitelské buňky a je druhově specifické. Po započetí syzygie je u obou partnerských buněk epimeryty resorbovány (Hausmann a Hülsmann, 2003).

Gamonti se skládají k sobě a encystují v kulovité gametocysty. V nich se jeden z gamontů mění na množství samičích gamet, a druhý na přibližně stejné množství samčích gamet. Gamety kopulují a vznikají z nich silnostěnné oocysty, které obsahují ve většině případů osm sporozoitů. Poté oocysty opouštějí gametocystu a spolu s trusem odcházejí z těla hostitele. Nový cyklus začíná pozřením oocyst novým hostitelem (Volf a Horák, 2007; Adl et al., 2019).

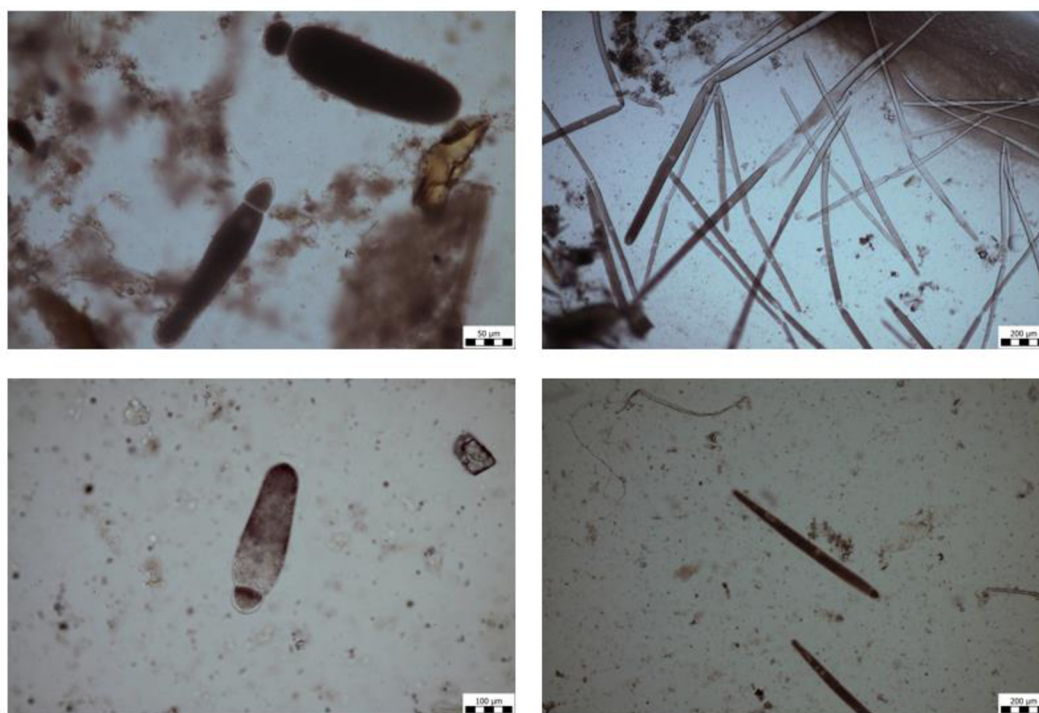


Obr.č. 2-1: Životní cyklus gregarin (Žahourek, 2022; in Biorender)

U švábů existuje korelace mezi abiotickými podmínkami, ve kterých se jedinec vyskytuje, a rychlostí a vývojem parazitů. Se zvyšující se teplotou se aktivita gregarin v hostiteli snižuje, a při extrémních podmínkách mohou svého hostitele i opustit (Smith et al., 2008).

Gregariny u švábů poprvé našel Siebold (1839), který popsal druh *Gregarina blattarum* u *Blatta orientalis*. Tento druh gregariny byl následně zaznamenán i u švábů druhů *Blattella germanica*, *Parcoblatta pensylvanica* a *Periplaneta americana* (Magalhaes, 1900).

Gamonti gregarin rodu *Protomagalhaensia* jsou hadovitě protáhlí. Jednotlivé druhy se liší především morfologií epimeritu a oocyst. Z popsaných druhů rodu *Protomagalhaensia* má pouze *P. wolfi* obdeltoidní epimerit. Oocysty *P. wolfi* nemají žádný apikální trn nebo hrbolek a jsou výrazně větší než oocysty jiných druhů tohoto rodu. Ze 33 známých druhů rodu *Leidyana* se u švábů vyskytují pouze *L. haasi* a *L. migrator*. Obecně jsou gamonti *L. migrator* delší a více anizometrické než gamonti *L. haasi*, přičemž větší délka odráží výrazně delší deutomerity u *L. migrator*. Protomerity gamontů *L. haasi* jsou delší, ale podstatně užší než u *L. migrator*, i když gamonti *L. migrator* jsou celkově větší. *L. migrator* i *L. haasi* se vyznačují eliptickými oocystami, které se liší morfologií a celkovou velikostí. Gametocysty *L. migrator* jsou přibližně 3krát větší než u *L. haasi* (Clopton et al., 2006).



Obr.č. 2-2: Gregariny (Žahourek, 2022)

Lopes a Alves (2005) ve své studii uvádějí, že nemocní švábi se vyznačují oteklým břichem, pomalejším pohybem při vysokém výskytu prvoka a kratšími tykadly než zdraví jedinci. Mrtví infikovaní švábi měli tmavé tělo a vykazovali hnilobný zápach, což svědčilo o septikémii. Infikovaný hmyz byl všeobecně náchylnější a méně vitální než jedinci parazitů prostí.

Gregariny infikující hmyz jsou řazeny do dvou skupin: Neogregarinorida a Eugregarinorida. Několik směrů jejich výzkumu naznačuje, že eugregariny mohou kolísat v symbiotickém spektru mezi mutualismem, komensalismem a parazitismem (Rueckert et al., 2019). I když eugregariny odvádějí živiny hostitele ve svůj prospěch, vzhledem k jejich lehké parazitické zátěži, nevyvolávají poškození hostitele. Nicméně v podmínkách velkochovů hmyzu, může dojít k silnému uvolňování jejich gametocyst a k vysoké parazitární zátěži chovaného hmyzu (Lange a Lord, 2012). Za těchto okolností mohou ucpat střevo hostitele, a způsobit tak vyčerpání živin a výrazné zpomalení vývoje s vysokou úmrtností. Tato hypotéza byla pozitivně testována na potěmnikovy *Tribolium castaneum* infikovaného *Gregarina cuneata* (Gigliolli et al., 2016). V chovech potěmníků moučných (*Tenebrio molitor*), který je jedním z nejvýznamnějších druhů komerčně produkovaného hmyzu, může mít spektrum symbiotických gregarin pozitivní vliv na vývoj hostitele, zvyšovat fitness a dlouhověkost (Valigurová, 2012). Nicméně *Gregarina niphandrodes* infikující dospělce potěmníků při silných infekcích negativně ovlivňuje jejich dlouhověkost (Rodriguez et al., 2007), při infekci *G. cuneata* bylo pozorováno poškození střevních epitelových buněk potěmníků (Lipa, 1967). Další druh eugregarin, vyskytující se u rovnokřídlého hmyzu (Orthoptera), *G. garnhami*, byla diagnostikována u 38,5 % druhů rovnokřídlého hmyzu odchyceného z přírody (pět druhů ze třinácti druhů), neexistují však žádné informace o potenciálních patologických účincích na hostitele v přirozeném prostředí ani v intenzivních chovech (Abdel et al., 2015).

Neogregariny bývají obecně patogennější než eugregariny, protože jim stadium merogonie poskytuje masivní proliferační kapacitu (Lange a Lord, 2012). Řád Neogregarinorida obsahuje šest čeledí, které jsou všechny hmyzí parazité (Archibald et al., 2017). Běžnými druhy jsou *Mattesia dispora*, *M. oryzaephili*, *M. trogodermae* a *Farinocystis tribolii*, které infikují hmyzí škůdce skladovaných obilovin, ovoce a ořechů (Lange a Lord, 2012). *Mattesia dispora* způsobuje mortalitu potěmníka *T. castaneum* (Laird, 1959). Vysoká virulence *M. dispora* byla rovněž prokázána u motýlů (Lepidoptera), kde vede k destrukci tukových tělísek a následnému úhynu hostitele (Lipa,

1967). *Farinocystis tribolii* je běžným parazitem brouků skladovaného obilí, zejména *T. castaneum* a *T. confusum* (Žižka, 1953), ale byl nalezen i u jiných druhů brouků z čeledi Telebrionidae. Stejně jako mnoho dalších protistů se i neogregariny zřejmě vyhýbají rozpoznání imunitním systémem hostitele a nevyvolávají melanizaci ani fagocytózu (Lange a Lord, 2012).

2.2 Nálevníci (Ciliophora)

Ciliophora zahrnuje více jak 8 000 druhů, jejichž společné znaky spočívají v morfologii a životních cyklech. Kromě velice početných cilií (řasinek) je lze charakterizovat třemi dalšími rysy: specifickou stavbou kortexu, jaderným dualismem, a konjugací jako sexuálním procesem svého životního cyklu (Hausmann a Hülsmann, 2003).

Cilie jsou uspořádány v podélných řadách zvané kinety. U některých zástupců jsou vyvinuty jen v části životního cyklu. Kolem ústního ustrojí se mohou adhezí jednotlivě spojovat do složitějších útvarů jako jsou například undulující membrány (Volf a Horák, 2007).

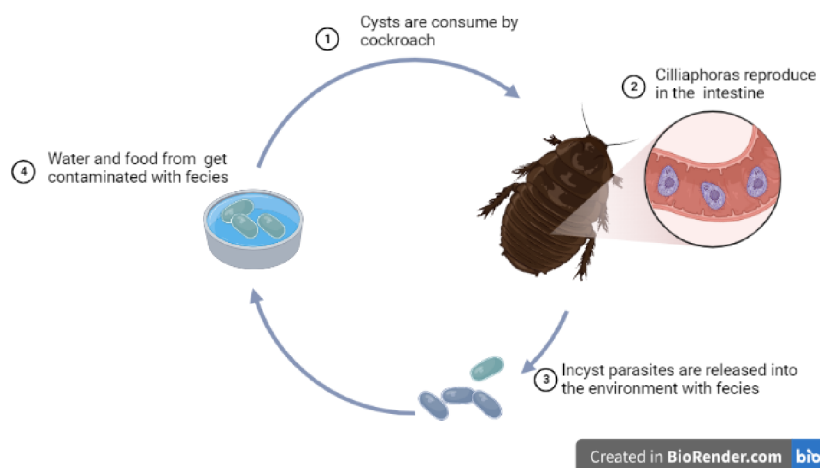
Složitě utvářený povrch buňky zvaný kortex se skládá z vlastního membránového povrchu (pelikuly) s přidruženými mikrotubulárními a fimbriálními strukturami. Pelikula je složena z membrány obalující celého nálevníka, pod níž je systém zploštělých měchýřků (kortikálních alveolů), které k sobě mozaikovitě přiléhají (Volf a Horák, 2007).

Přítomnost dvou morfologicky i funkčně odlišných jader se nazývá jaderný dualismus (obou typů jader může být v buňce více). Diploidní mikronukleus (generativní jádro) neobsahuje téměř žádnou RNA a dělí se uzavřenou mitózou. V haploidním makronukleu (vegetativním jádru) probíhá transkripce (Volf a Horák, 2007).

Sexuálním procesem nálevníků je konjugace, při níž se spojují dvě buňky téhož druhu. Během této částečné fúze, která může trvat několik hodin, dojde ke vzájemné výměně haploidních jader, vzniklých z mikronukleu. Po této migraci jader se oba jedinci oddělí. Z těchto tzv. exkonjugantů mohou, alespoň potenciálně, vzejít nové, vegetativně se množící klony (Hausmann a Hülsmann, 2003).

Nálevníci jsou prvoci vyskytující se běžně ve sladkých vodách a vyznačující tělem složeným z kinetosomů. Nálevníci infikující hmyzí hostitele jsou obvykle komenzálové (*Nyctotherus* sp.). Přesto existuje několik druhů, které jsou entomopatogenní a jsou schopné proniknout do hostitele a do jeho tkání (Corliss and Coast, 1976). *Balan-tidium* spp. je komenzální nálevník, která obývá trávicí trakt hmyzu, zejména švábů a

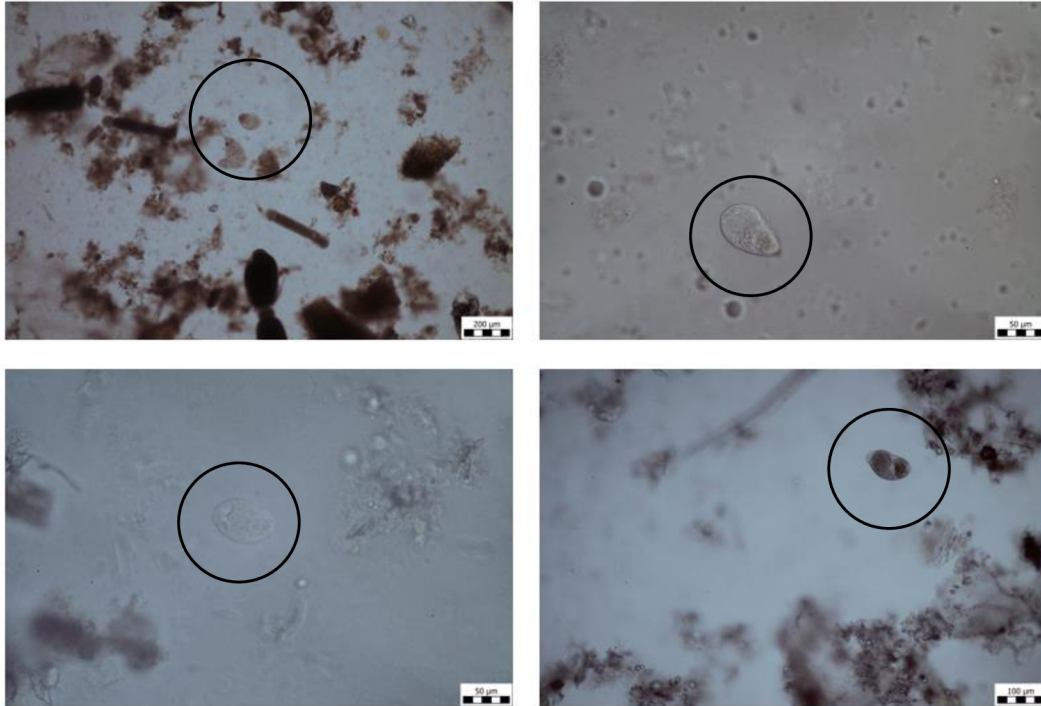
termitů. Další nálevníci, jako například *Rhabdostyla* spp. jsou ektoparazity některých bezobratlých, včetně hmyzu (Regali-Selegim and Peritrich, 2004). Známe dva entomopatogenní taxony nálevníků, kterými jsou Hymenostomatida a Tetrahymenidae. O těchto nálevnících je známo, že většinou způsobují infekční onemocnění u dvoukřídlého hmyzu (Diptera), jako jsou komáři a bráněnky, které mohou být infikovány rody *Tetrahymena* spp. nebo *Lambornella* spp. (Corliss a Coast, 1976).



Obr.č. 2-3: Životní cyklus nálevníku rodu *Nychtotherus* sp. (Žahourek, 2022; in Biorender)

Ve střevech švábů, ale i jiných členovců se běžně vyskytují nálevníci řádu Clevelandellida. Nejběžnější švábi nálevníci spadají do endokomezálního rodu *Nychtotherus* (Hausmann a Hülsmann, 2003).

Infekce nálevníky rodu *Nychtotherus* probíhá orofekální cestou. Ačkoliv švábi své výkaly nekonzumují, často jimi kontaminují své zdroje potravy a vody. Aktivita nálevníků v hostiteli je s největší pravděpodobností ovlivněna přítomností jednoho nebo i více druhů bakterií, které se ovšem nevyskytují u všech švábů. Zdá se, že absence těchto bakterií vede ke tvorbě velkých zásobních granul, díky čemuž jsou trofozoiti a



Obr.č. 2-4: *Nyctotherus* sp. (Žahourek, 2022)

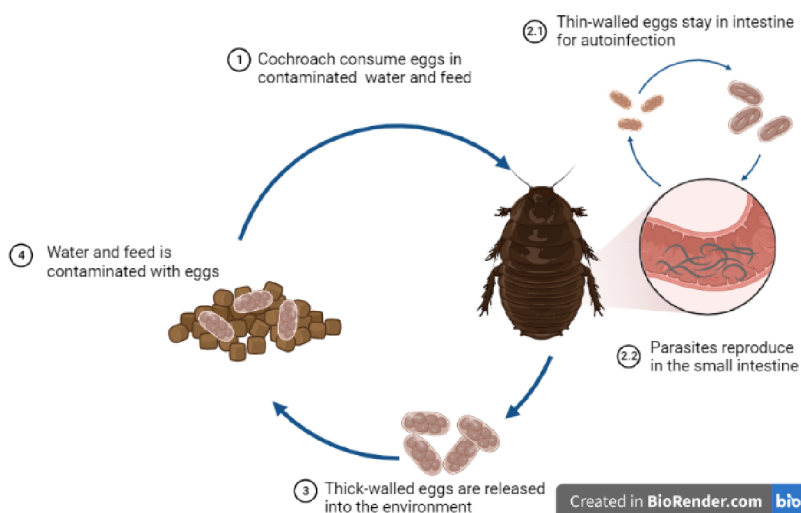
cysty podstatně menší. Z tohoto důvodu se mohou u různých druhů nebo dokonce populací švábů vyskytovat fenotypově rozdílní nálevníci téhož druhu (Hoyte, 1961).

Nálevníci rodu *Nyctotherus* se také běžně vyskytují v trávicím traktu plazů, primárně u herbivorních druhů želv a ještěřů. I když se nejedná o obligátní parazity, mohou se za určitých podmínek stát fakultativními patogeny s klinickými projevy jako jsou průjem a nechutenství. Ačkoliv neexistuje spojitost mezi druhy rodu *Nyctotherus* parazitujícími u plazů s druhy parazitujícími u švábů, není možné vyloučit, že hmyz může sloužit jako vektor pro cysty jak plazích nálevníků, tak i jiných potenciálních patogenů (Mader, 2006).

2.3 Roupi (Nematoda: Oxyuridomorpha: Thelastomatidae)

Thelastomatidae patří mezi roupy, cizopasíci v tlustém nebo slepém střevě. Jedná se o drobné geohelmintní hlístice s oxyuridním jícnem (Horák a Scholz, 1998). Vývoj a přenos je podobný u druhů hostitelsky specifických k obratlovcům i bezobratlým. Samičky kladou vajíčka do perianální oblasti, larvy se vyvíjejí do larev třetího instaru uvnitř vaječných obalů a čekají na pozření hostitelem. Roupi jsou parazité obecně s nízkou patogenitou, a někteří jsou považováni spíše za komenzály (Volf a Horák, 2007).

Pro mnoho druhů je typický haplodiplo systém, kdy se z neoplozených vajíček líhnou samci a z oplozených samice, jako je tomu například i u blanokřídlého hmyzu (Adamson, 1984). U některých druhů byla zaznamenána poecilogynie a poecilogonie, kdy jeden typ samic klade silnostěnná vajíčka sloužící k přenosu mezi hostiteli a druhý typ klade tenkostěnná vajíčka s plně vyvinutou larvou, která slouží k autoinfekci stávajícího hostitele (Adamson, 1984; Volf a Horák, 2007).



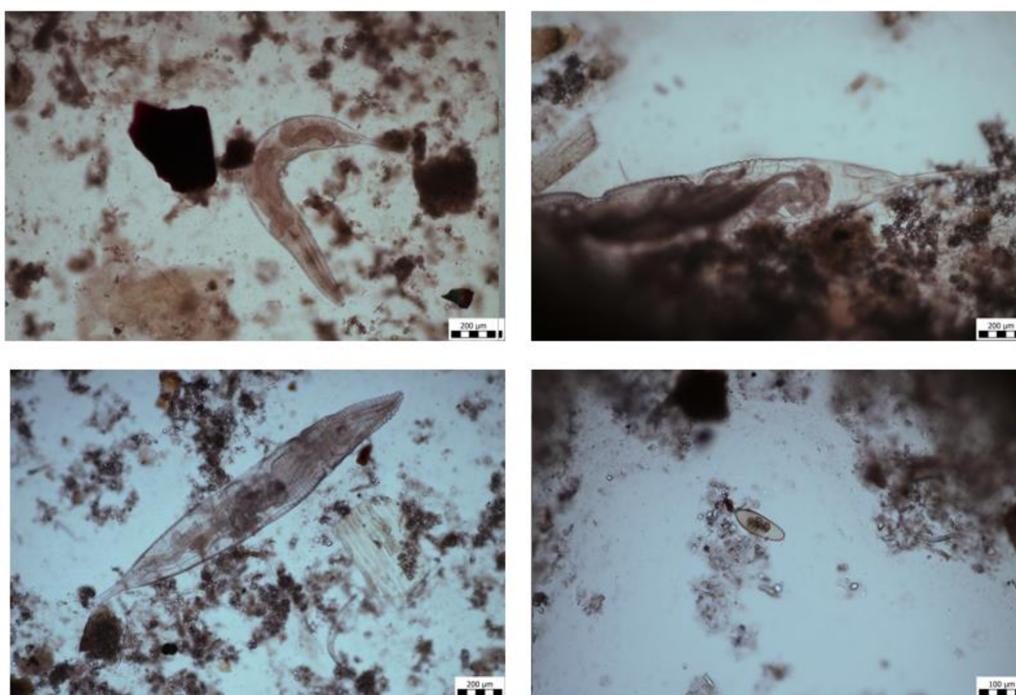
Obr.č. 2-5: Životní cyklus hmyzích roupů (Žahourek, 2022; in Biorender)

U roupů lze zaznamenat zřetelný pohlavní dimorfismus. Jedinci obou pohlaví jsou téměř průhlední se zužujícími se kuželovitými, nitkovitými ocásky, které tvoří 25-39 % délky těla. U dospělých samic lze dobře detekovat vajíčka uvnitř tělní dutiny. V těle samic lze ojediněle detekovat i oválné larvy prvního nebo druhého vývojového stádia s kuželovitým koncem těla. Délka dospělých samic čeledi *Thelastomatidae* se pohybuje mezi 1890-2892 μm a šířka 200-276 μm . Vajíčka jsou oválná s četnými póry nepravidelně rozmístěnými na povrchu a mírnou špičkou, jejich délka v těle švába se pohybuje mezi 106-139 μm a šířka mezi 44-53 μm . Délka těla samců je 676-931 μm a šířka 53-70 μm . (Kobayashi, 2021; Blanco et al., 2012).

Nadčeleď *Thelastomatidea* zahrnuje široké spektrum hostitelů. Vyskytují se u švábů, mnohonožek, mnoha druhů brouků, ale i u rovnokřídlého hmyzu (Carreno, 2014). Roupí této skupiny lze detekovat v zadní části střeva, a byli nalezeni u mnoha druhů švábů po celém světě. Ještě častěji se vyskytují u švábů chovaných v zajetí, kde jsou švábi chováni v početných koloniích a snáze se setkávají se svým vlastním trusem, čímž se výrazně zvyšuje riziko infekce (Ozawa a Hasegawa, 2018).

Podle Chakravarty a Biswas (1963), Singh a Kaur (1988), či Shah (2007) patří mezi nejběžnější parazity švábů některé druhy rodů *Hammerschmidtella*, *Thelastoma* a *Leidyne*.

Prevalence roupů u synantropně žijících druhů švábů se pohybuje kolem 67 % a průměrný počet roupů na infikované šváby byl $1,6 \pm 0,75$ (SD); 89,4 % veškerých roupů tvořily dospělé samice. V laboratorních podmínkách, které se dají považovat za obdobné s podmínkami v chovech, jsou prevalence ještě vyšší a často je infikováno více než 90 % jedinců (Kobayashi, 2021).



Obr.č. 2-6: Roupí nadčeledi Thelastomatidea (Žahourek, 2022)

Roupi nadčeledi Thelastomatidea jsou považováni za endokomenzály trávicího traktu hmyzu. Při velmi silných infekcích ovšem mohou obsadit značnou část trávicího ústrojí a snížením reprodukční schopnosti švába může dojít i k mechanickému poškození trávicí trubice. Životaschopnost a distribuci těchto helmintů lze ovlivnit složením krmné dávky, poměrem cukrů, tuků a bílkovin, ale také vlákniny, vitamínů, minerálů a dalších organických látek jako jsou rostlinné alkaloidy, fenoly a aldehydy (Peregrine, 1976).

Thelastomatoidea jsou velmi variabilní, co se týče hostitelské specifity, která ovlivňuje jejich šíření v populaci. Čtyři z pěti čeledí jsou vysoce hostitelsky specifické:

Hystriognathidae se vyskytují pouze u vrubounovitých brouků (Scarabaeidae), Protreloidiidae u švábů, Pseudonymidae u brouků čeledi Hydrophilidae a Travassosinematidae především u krtonožek. Naproti tomu čeleď Thelastomatidae byla zaznamenána u brouků, švábů, dvoukřídlého hmyzu, mnohonožek, krtonožek, jednoho pavoukovce a jedné mnohonožky, což naznačuje, že se u této čeledi vyskytuje mnohem nižší míra specifity (Adamson a Waerebeke, 1992). Práce Jexe et al. (2006) uvádí, že až 54 % druhů roupů této čeledi se vyskytuje u více druhů hostitelů z různých ekologických biotopů.

Přestože parazitické hlístice mají zjevně potenciál mít negativní účinky na hostitele, jejich rozmanitost v rámci chovaného hmyzu dosud nebyla plně prozkoumána, protože diagnostika parazitických protistů se v minulosti opírala pouze o jejich mikroskopickou a morfologickou identifikaci (Solter et al., 2012).

Přestože protisté i parazitické hlístice mají zjevně potenciál mít negativní účinky na hostitele, jejich rozmanitost v rámci chovaného hmyzu dosud nebyla plně prozkoumána, protože diagnostika parazitických protistů se v minulosti opírala pouze o jejich mikroskopickou a morfologickou identifikaci (Solter et al., 2012). V současnosti se využívají molekulární biologické metody, jako je polymerázová řetězová reakce (PCR), bar coding a v poslední době i vysokokapacitní sekvenování (Bass, 2020; Geisen et al., 2021; Santoferrara et al., 2020). 18S (malá ribozomální podjednotka) je nejrozšířeněji používaným genetickým čárovým kódem pro eukaryotickou studii diverzity protistů (López-García et al., 2001; de Vargas et al., 2005; Gong a Marchetti, 2019). Geny 18S kódují hlavní molekulu RNA tzv. malé podjednotky ribozomu a jako takové jsou konzervovány napříč všemi druhy buněk. Ve srovnání s jinými genovými markery, které nabízejí jemnější rozlišení pro studium malých eukaryot 18S rRNA umožňuje zkoumat eukaryoty jako celek a navrhopvat nové metody pro studium rozmanitosti malých eukaryot. Cílem je vytvořit konstrukci hustších a robustnějších referenčních fylogenetických stromů (Santoferrara et al., 2020).

Je zřejmé, že parazitické hlístice běžně infikují nebo jsou spojeny s hmyzem, který je v současné době chován pro potraviny a krmiva (v oblasti působnosti evropského nařízení). Nicméně plná rozmanitost, rozsah hostitelů a potenciál způsobovat onemocnění v tomto společenstvu dosud nebyly plně prozkoumány. Kromě toho, vzhledem k nedostatečnému ekologickému a fyziologickému rozsahu hostitelů a genových sekvencí, jsou specifické vlastnosti mnoha parazitů nejisté (Barrett et al., 2022).

3 Metodika a pokusný materiál

3.1 Materiál

3.1.1 Švábi

Pro pokus byli použiti švábi druhu *Blattica dubia*, kteří patří mezi nejčastěji komerčně chované druhy používané primárně pro krmné účely. Pokusní jedinci pocházeli ze tří různých komerčních chovů a jejich celkový objem činil 3 litry. Chovné boxy byly umístěny v insektáriu entomologického ústavu AVČR při teplotě 35 °C s nočním poklesem na 30 °C a slabém osvětlení s fotoperiodou 18:6 (dlouhý den).

Všechny chovné nádoby byly vybaveny papírovými kartony od vajec, vertikálně poskládanými po celém objemu boxu. Dále byla každá nádoba vybavena miskou s hydrogelem sloužící jako zdroj vody a miskou se suchou krmnou směsí skládající se z obilnin, olejnin, píce, masové moučky, rostlinných olejů a krmného cukru (Tab. 3-1).

Tabulka 3-1: Nutriční hodnoty v 1 kg sypké krmné směsi

surovina	m/kg
Tuk	65 g
Vláknina	65 g
Popel	60 g
NL	230 g
Vit. A	20 000 mg
Vit. D3	1 500 mg
Vit. E	80 mg.
Ca	10 g
P	7 g

3.1.2 Zdroj kapsaicinu

Jako zdroj kapsaicinu byly použity čtyři odrůdy tří druhů chilli papriček. Feferonky (*Capsicum frutescens*) s přibližnou hodnotou 1000 SHU, jalapeno (*C. annuum*) s 2 500 – 8 000 SHU, rawit „bird eye“ (*C. annuum*) s 60 000 – 100 000 SHU a habanero (*C. chinense*), které dosahují hodnot 150 000 – 350 000 SHU (Tab 3-2).

Všechny papriky jedné odrůdy byly rozmělněny do homogenní kašovité směsi a až do doby spotřeby uchovány v zamražením stavu při teplotě -12 °C. Všechny použité papriky pocházely od stejného dodavatele a lze tedy předpokládat, že byly pěstované ve stejných podmínkách a byli ošetřovány a hnojeny stejnými látkami.

Tabulka 3-2: Srovnání obsahu kapsaicinu

zdroj kapsaicinu	SHU	%
feferonka	1 000	0,006
jalapeno	2 500 – 8 000	0,016
rawit	60 000 – 100 000	0,375 – 0,625
habanero	150 000 – 350 000	0,938 – 2,188
carolina rapper	2 200 000	13,75
pepřový sprej	5 300 000	33,125
čistý kapsaicin	16 000 000	100

3.1.3 Scovilleova stupnice

Scovilleova stupnice uvádí četné odrůdy chilli papriček seřazené podle jejich pálivosti a obsahu kapsaicinu ve Scoville Heat Units (SHU). Stupeň pálivosti chilli papričky se dnes určuje pomocí moderní vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Původní výpočet však pochází ze sensorických metod, kdy pět a více respondentů popíjelo naředěný roztok kapsaicinu, až do té doby, dokud nebyl detekovatelný. Původní SHU jednotky tedy označují, kolikrát musí být kapsaicin naředěn, aby ho nebylo při požití sensoricky detekovat (scovillescole.org, 2019).

3.2 Metodika

Všichni jedinci byly umístěni do společného boxu po dobu dvou měsíců před pokusem. Po dvou měsících od smísení švábů z různých zdrojů byly stanoveny prevalence pro stěžejní skupiny helmintů a prvoků. Náhodně bylo vybráno 400 jedinců ve váze 0,5 – 1 g a byly rozmístěny do pěti boxů o velikosti 28x15x20cm po 50 kusech.

Skupinám Sk1–Sk4 byla podávána jedna odrůda papriky po celou dobu pokusu. Box označený K1 sloužil jako kontrolní a po celou dobu pokusu přijímal pouze kompletní krmnou směť a gelovou hmotu jako zdroj tekutin.

Před podáním zdroje krmiva s obsahem kapsaicinu byla z pokusných boxů odejmuta suchá krmná směs a šváby se podrobili půstu po dobu 48 hodin. Poté jim bylo podáváno 25 g paprikového pyrre ve třech intervalech. První dva intervaly byly dlouhé 24 hodin a švábům bylo podáno 10 g paprikového pyrre. Třetí interval trval 12 hodin a šváby dostali ke konzumaci 5 g pyrre. Po každém intervalu byl zbytek pyrre usušen, zvážen a odečtem od množství sušiny v původní dávce (Tab. 3–3). Tímto způsobem bylo možné určit jaké množství krmiva šváby v daném intervalu zkonzumovali.

Tabulka 3-3: Množství sušiny v paprikovém pyrre

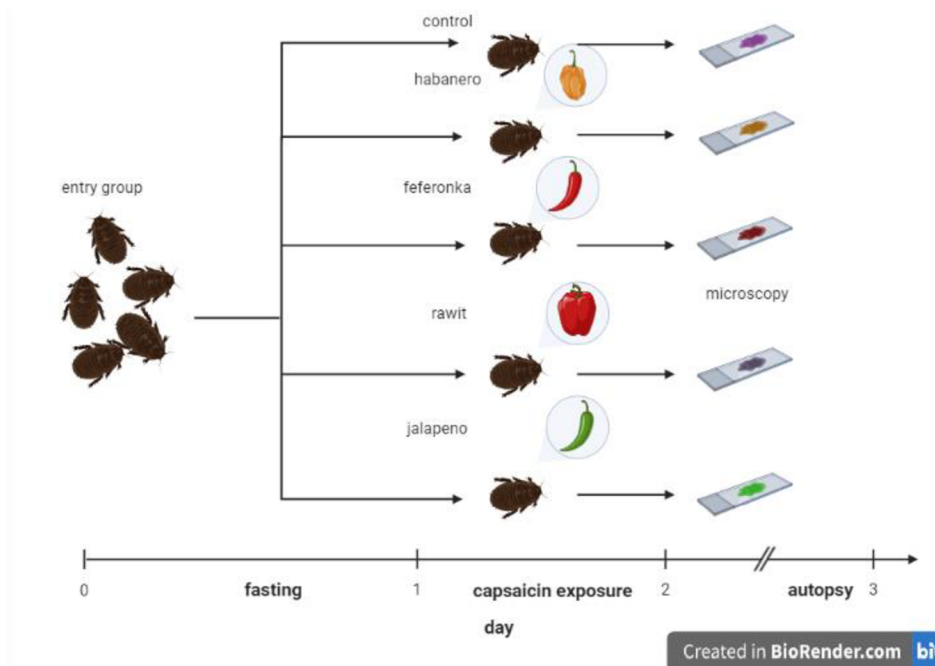
odrůda papriky	hmotnost hydratovaného pyrre	hmotnost sušiny
feferonka	10 g	0,52 g
<u>jalapeno</u>	10 g	1,3 g
rawit	10 g	1,53 g
habanero	10 g	1,14 g

3.2.1 Pitva švábů a mikroskopie

Vždy po ukončení třetího intervalu, kdy bylo švábům podáváno pouze paprikové pyrre, bylo z každé skupiny odebráno deset jedinců. Před pitvou byly jedinci zváženi a byla porovnána jejich průměrná hmotnost a zhodnocen průměrný týdenní přírůstek mezi jednotlivými pokusnými skupinami.

Z jejich trávicí trubice byla společně s fyziologickým roztokem PBS (Phosphate Buffered Saline) vytvořena suspenze. Tato recemická směs byla mikroskopována mi-

kroskopem Olympus CX31. Z preparátů byla stanovena přítomnost a kvantita střevních hlístic zastoupenými roudy nadčeledi Thelastomatidae a prvoků–gregarin (Gregarinea) a nálevníků (Ciliophora), reprezentovanými endokomenzálním rodem *Nycthothus*.



Obr.č. 3-1: Schéma pokusu (Žahourek, 2022; in Biorender)

3.2.2 Kvantifikace parazitů

Množství parazitů různých skupin bylo hodnoceno semikvantitativní formou pomocí systému křížků. Jeden křížek (+) označoval slabé infekce, dva křížky (++) středně silné infekce a tři křížky (+++) silné a velmi silné infekce.

3.2.3 Statistická analýza

Statisticky byl otestován vliv jednotlivých druhů paprik a pořadí pitvy a jejich kombinace na relativní četnost výskytu jedinců dané skupiny parazitů a vliv terapie na přírůstky jednotlivých skupin.

Jednorozměrné analýzy: byla použita robustní two-way ANOVA založená na testování ořezaného průměru s post hoc testem (počítáno v R pomocí package WRS2) za použití příkazu `t2way` a `mcp2a` s ořezáním 10 % dat (případě nálevníků 5 %, aby zůstala zachována variabilita v některých kombinacích nezávislých proměnných). One-way ANOVA byla použita k porovnání hmotností jednotlivých skupin (počítáno v microsoft Excel)

Vícerozměrné analýzy k posouzení, zda existují rozdíly ve výskytu tří typů parazitů a jestli na jejich společný výskyt mají vliv proměnné paprika a pitva. Byla použita metoda PCA následovaná RDA s dopředným výběrem proměnných – obě byly vysoce průkazné, data nebyla transformována.

3.3 Mortalita

Během pokusu ve všech pokusných skupinách uhynulo maximálně 3,5 % jedinců (3-7 ks). Nejvíce švábů uhynulo v kontrolní skupině a ve skupině krmené feferonkami. Nejméně naopak ve skupině krmené odrůdou rawit (tab. 3-4). Mezi mortalitou pokusných zvířat a obsahem kapsaicinu v krmivu není žádný zřetelný vztah.

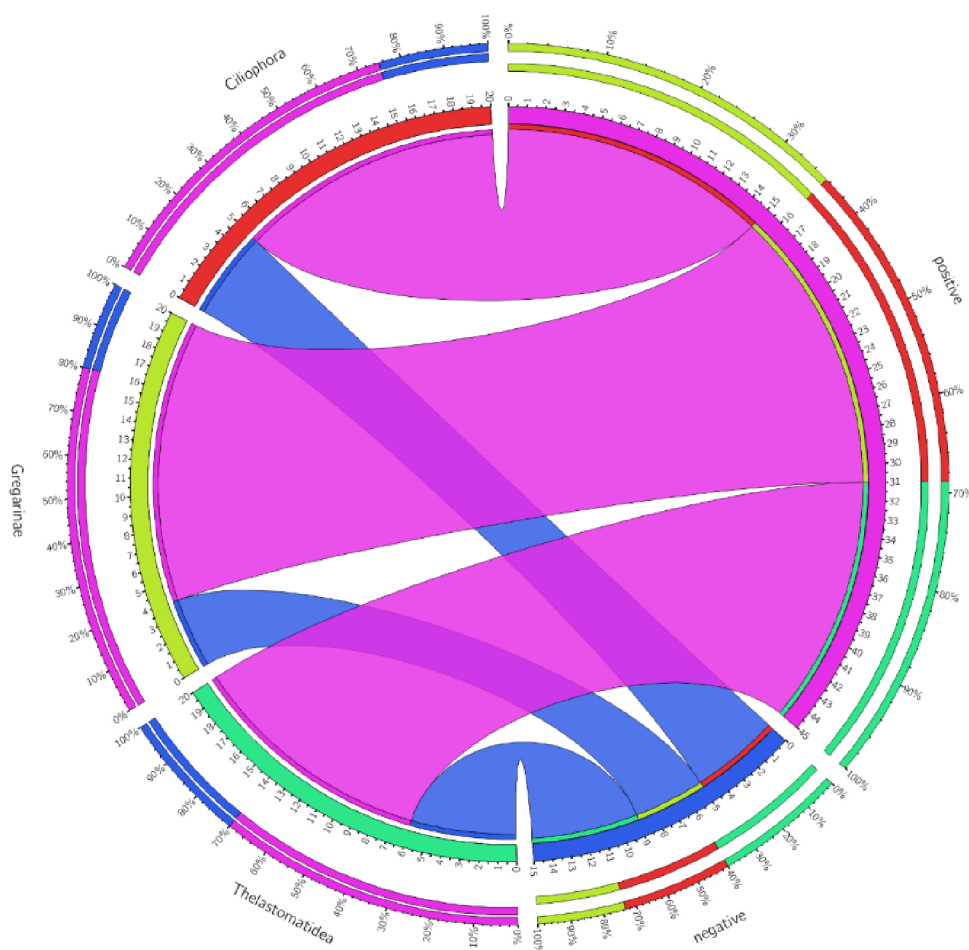
Tabulka 3-4: Mortalita v jednotlivých skupinách

	ks	%
Habanero	5	2,5
Rawit	3	1,5
Jalapeno	4	2,0
Feferonky	7	3,5
Kontrola	7	3,5

4 Výsledky

4.1 Prevalence

Prevalence tří druhů zastoupených parazitů byla determinována před začátkem pokusu z dvaceti náhodně vybraných jedinců. Nálevníci byli zastoupeni u 70 % švábů, roupy 75 % a gregariny u 80 % jedinců (graf 4-1). Fialové pásy v grafu značí prevalenci pozitivních jedinců, modrými pásy jsou vyznačeny negativní jedinci. Červená barva v grafu znázorňuje nálevníky, žlutá gregariny a zelená roupy. Příslušné barevné pruhy okolo grafu symbolizují pozitivní a negativní procenta švábů, kteří byli nebo nebyli infikováni konkrétním druhem parazita.



Graf 4-1: Prevalence nálevníků, gregarin a roupů ve sledované kolonii švábů

4.2 Atraktivita jednotlivých odrůd

Švábi během celého pokusu konzumovali obdobné množství paprikového pyré a atraktivita krmiva se během sledovaného období nesnižovala (tab. 4-1). Švábi krmeni habanerem každý týden zkonsumovali průměrně 0,057g (SD 0,011147) sušiny, rawitem 0,043g (SD0,018228), odrůdou jalapeno 0,053g (SD 0,004848) a feferonkami 0,026g (SD 0,001639).

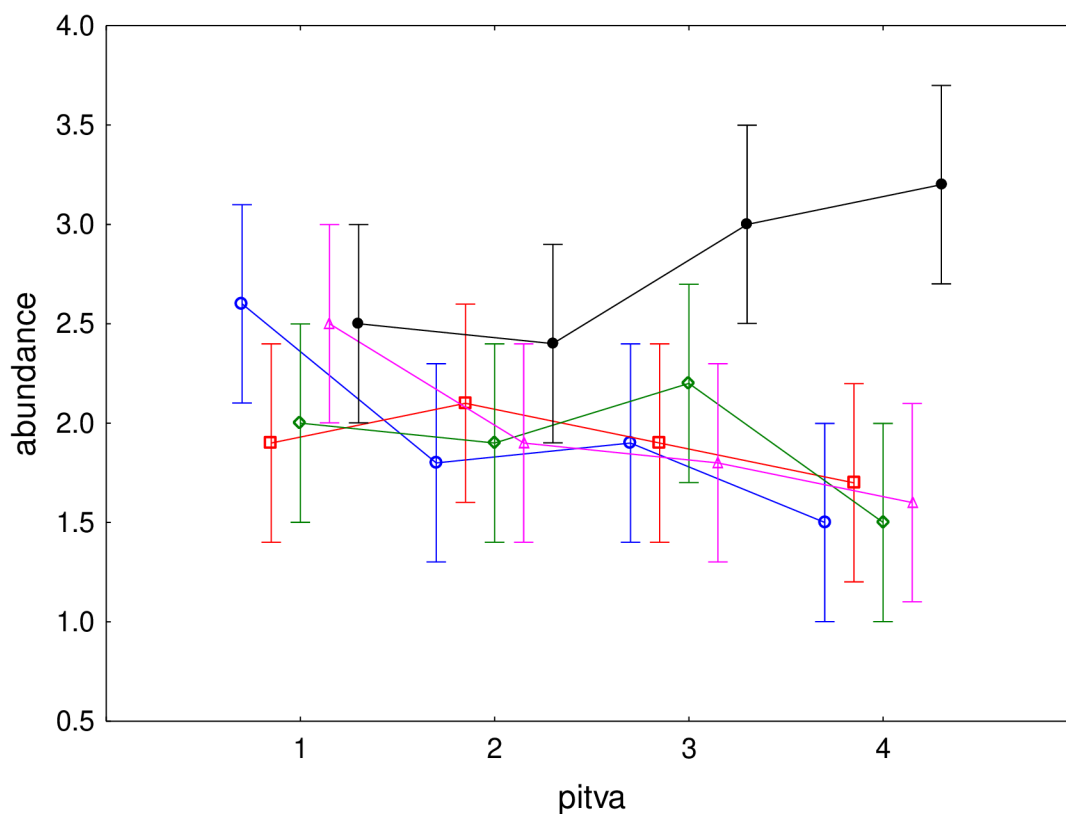
Tabulka 4-1: Příjem sušiny

Zkonzumovaná sušina/ zvíře (g)	habanero	rawit	jalapeno	feferonky
<u>Pitva 1</u>	0,050	0,067	0,057	0,023
<u>Pitva 2</u>	0,046	0,047	0,058	0,026
<u>Pitva 3</u>	0,055	0,016	0,046	0,027
<u>Pitva 4</u>	0,075	0,040	0,051	0,027
Sušina v 25 g	2,85	3,38	3,25	1,3

4.3 Vliv kapsaicinu (jednorozměrné analýzy)

4.3.1 Gregariny

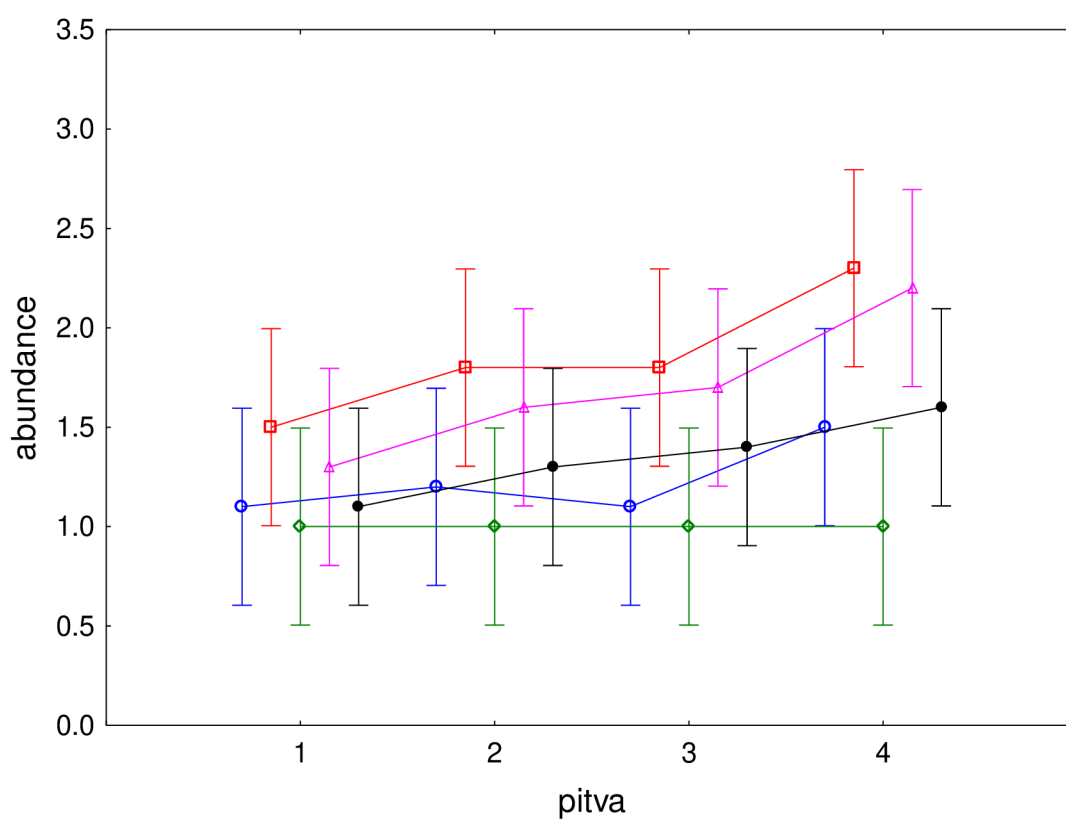
Prevalence gregarin se signifikantně snížila u všech skupin konzumující jakékoliv papriky. Naopak u kontrolní skupiny bylo možno pozorovat rostoucí trend (graf 4-2) (paprika: value = 37,8220, P = 0,001; pitva: value = 6,3036, P = 0,115; paprika/pitva: value = 28,1845, P = 0,034). Vliv jednotlivých paprik na gregariny se mezi sebou nijak neliší. Rozdíly mezi robustními ANOVAMI byly potvrzeny post-hoc testem.



Graf 4-2: Vliv terapie na infekci gregarinami (černá = kontrola; modrá = habanero; červená = rawit; zelená = jalapeno; růžová = feferonka)

4.3.2 Nálevníci

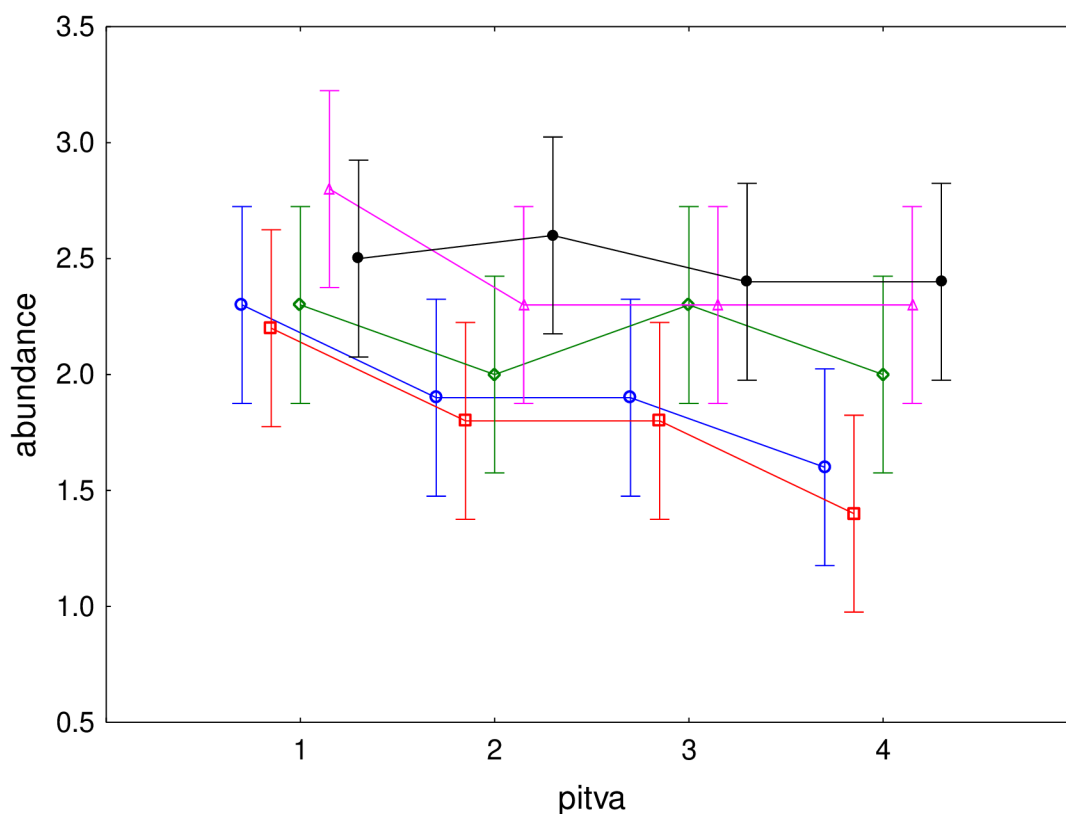
Nálevníci byli méně častí v pitvách 1 až 3 a mezi šváby krmenými habanerem a jalapeno papričkama. Konečné vyšší hodnoty byly měřeny pro kontrolní skupinu, feferonky a rawit, nižší pro jalapeno a halapeno (paprika: value = 25,4713, P = 0,001; pitva: value = 9,4713, P = 0,034; paprika/pitva: value = 6,3621, P = 0,928), kdy byli ve čtvrté (konečné) pitvě naměřeny významně vyšší hodnoty (graf 4-3). Post-hoc test potvrdil rozdíly robustními ANOVAMI.



Graf 4-3: Vliv terapie na infekci nálevníky (černá = kontrola; modrá = habanero; červená = rawit; zelená = jalapeno; růžová = feferonka)

4.3.3 Roupí

Množství diagnostikovaných roupů klesá s časem pitvy. U švábů krmených paprikami bylo první měření nejvyšší a poslední nejnižší. U všech skupin bylo možné pozorovat sestupný trend. Významně nižší hodnoty jsou u švábů krmených habanero a rawit, tedy papriky s vyšším obsahem kapsaicinu (paprika: value = 25,4713, P = 0,001; pitva: value = 9,4713, P = 0,034; paprika/pitva: value = 6,3621, P = 0,928) (graf 4-4). Výsledek robustních ANOV byl opět povezen post-hoc testem.



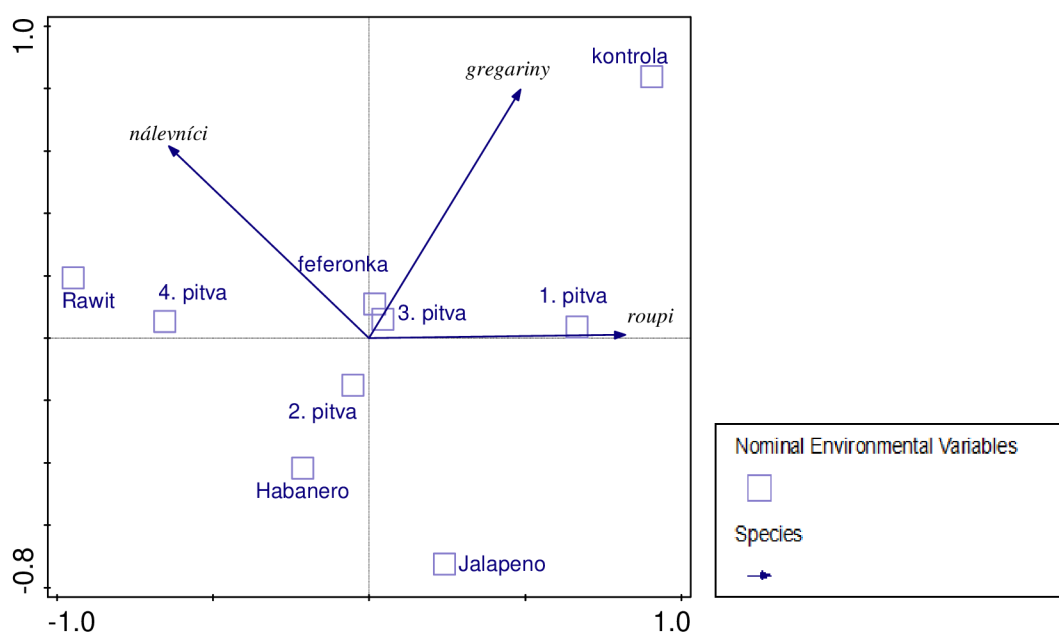
Graf 4-4: Vliv terapie na infekci roupí (černá = kontrola; modrá = habanero; červená = rawit; zelená = jalapeno; růžová = feferonka)

4.4 Ovlivnění střevní mikrofauny kapsaicinem

Grafy PCA a RDA si jsou podobné. Na společný výskyt všech tří skupin parazitů mají vliv obě měřené proměnné. Gregariny společně s roupy převažují ve střevech švábů krátce po podání paprik a ve střevech švábů nekrmených paprikami. S nálevníky se častěji setkáme po delší době od krmení paprikami, naopak méně často u švábů krmených typy halapeno a jalapeno. Tyto papriky nemají na výskyt nálevníků v porovnání s gregarinami a roupy. Během pokusu došlo k zvýšení procentuálního poměru nálevníku oproti roupům a gregarinám (graf 4-5; graf 4-6).

Tabulka 4-2: Výsledek PCA analýzy

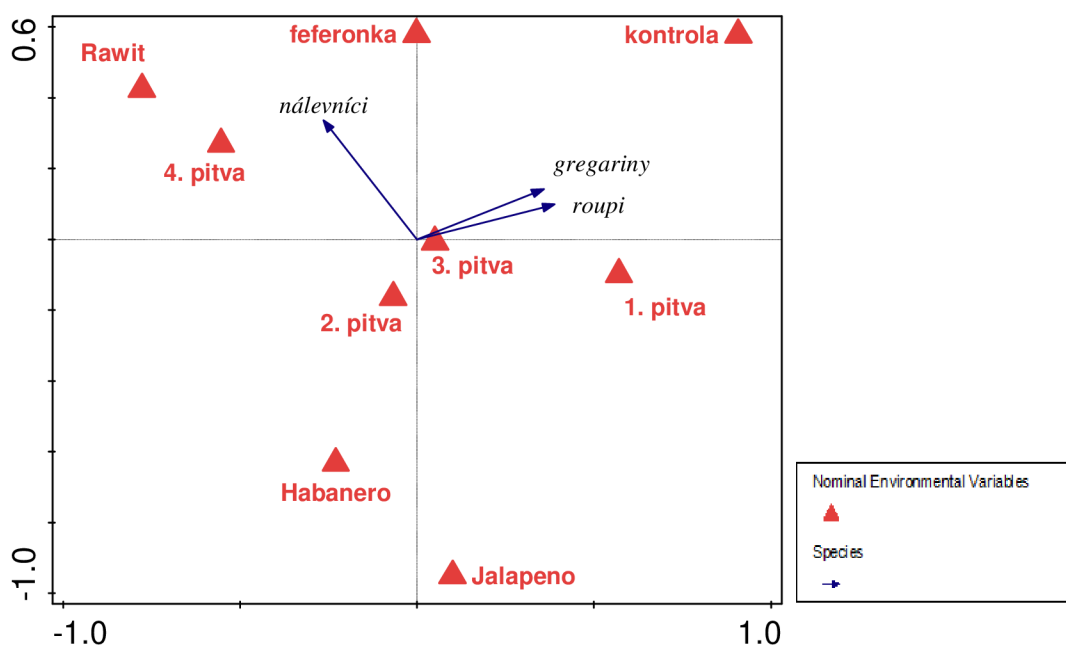
Adjusted explained variation is 15.34%				
Statistic	Axis 1	Axis 2	Axis 3	Axis 4
Eigenvalues	0.4413	0.3375	0.2212	-
Explained variation (cumulative)	44.13	77.88	100.00	-
Pseudo-canonical correlation (suppl.)	0.5048	0.3605	0.3484	-



Graf 4-5: Analýza výskytu tří druhů parazitů, jejich společného výskytu a vlivu proměnných paprika a pitva (PCA)

Tabulka 4-3: Výsledek RDA analýzy

Adjusted explained variation is 15.34%				
Statistic	Axis 1	Axis 2	Axis 3	Axis 4
Eigenvalues	0.1165	0.0478	0.0188	0.3363
Explained variation (cumulative)	11.65	16.43	18.31	51.95
Pseudo-canonical correlation (suppl.)	0.5170	0.3934	0.2716	0.0000
Explained fitted variation (cumulative)	63.61	89.72	100.00	-

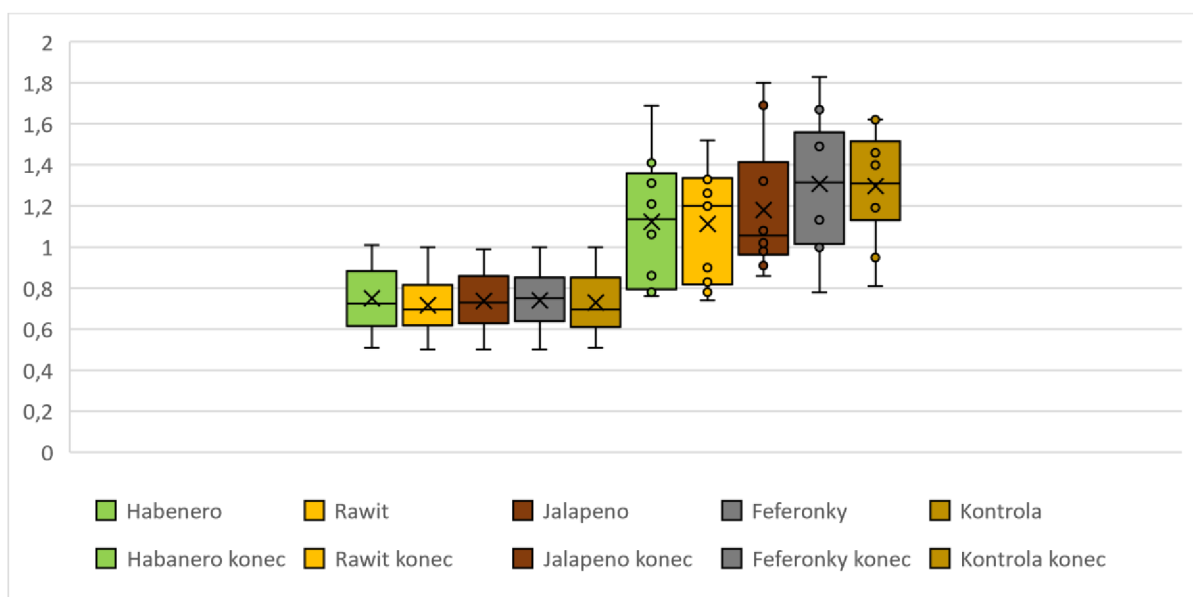


Graf 4-6: Analýza výskytu tří druhů parazitů, jejich společného výskytu a vlivu proměnných paprika a pitva (RDA)

4.5 Váha (přírůstky)

Největší hmotnostní přírůstek byl pozorován u kontrolní skupiny a skupiny krmené feferonkami, které z použitých odrůd obsahují nejméně kapsaicinu. Nižší přírůstky byly pozorovány u skupiny krmenou středně pálivými paprikami (jalapeno). Ještě nižší přírůstek byl pozorován u švábů, kteří konzumovali silně pálivé odrůdy papriček (habanero a rawit) (tab. 4-3). One-way ANOVA test ovšem při hladině významnosti 0,05 potvrdil nulovou hypotézu o neexistenci rozdílů mezi jednotlivými skupinami na začátku pokusu ($p=0,8237$), tak na jeho konci ($p=0,4552$). Rozdíly nebyly nalezeny ani při porovnání pokusných skupin s kontrolní (habanero $p=0,2059$; rawit $p=0,1473$; jalapeno $p=0,3964$; feferonky $p=0,9370$) (graf 4-7).

Graf 4-7: Průměrný přírůstek během pokusu



Tabulka 4-4: Přírůstek za jednotlivé týdny

	Habanero	Rawit	Jalapeno	Feferonky	Kontrola
Vstupní m	0,75 (SD 0,15)	0,72 (SD 0,14)	0,74 (SD 0,15)	0,74 (SD 0,13)	0,73 (SD 0,14)
<u>Pitva 1</u>	1,24 (SD 0,17)	1,50 (SD 0,22)	1,16 (SD 0,22)	1,21 (SD 0,20)	1,12 (SD 0,25)
Přírůstek	-0,10	-0,40	0,17	-0,10	-0,14
<u>Pitva 2</u>	1,14 (SD 0,27)	1,10 (SD 0,20)	1,33 (SD 0,18)	1,20 (SD 0,21)	0,98 (SD 0,26)
Přírůstek	0,20	-0,10	-0,16	0,12	0,35
<u>Pitva 3</u>	1,34 (SD 0,36)	1,00 (SD 0,21)	1,17 (SD 0,35)	1,32 (SD 0,3)	1,33 (SDS 0,18)
Přírůstek	-0,22	0,10	0,10	-0,20	-0,30
<u>Pitva 4</u>	1,12 (SD 0,30)	1,10 (SD 0,26)	1,18 (SD 0,31)	1,30 (SD 0,32)	1,30 (SD 0,26)
Celkový přírůstek	0,37	0,37	0,46	0,56	0,57

5 Diskuse

V mé práci se podařilo prokázat antiparazitní vliv kapsaicinu vůči roupům nadčeledi Thelastomatidea a antiparazitní účinek terapie chilli papričkami vůči gregarinám. U obou výše zmíněných skupin parazitů jsem během pokusu pozoroval výrazné snížení parazitémie. Negativní vliv terapie na nálevníky rodu *Nyctotherus* nebyl pozorován. Metodika použitá při pokusu nijak neovlivnila mortalitu švábů. Jedinci vystavováni vyšším koncentracím kapsaicinu ovšem vykazovali mírně nižší přírůsteky na hmotnosti.

Fytoterapie je vzhledem ke známým vedlejším účinkům syntetických léků, dlouhé historii bylinné medicíny a důvěře veřejnosti v léčebné účinky rostlin, vhodnou alternativou k léčbě střevních infekcí, poruch, ale také nemocí jako je dysmenorea. Syntetické léky mají mnoho známých nežádoucích vedlejších účinků, fytoterapie se oproti tomu těší větší důvěře veřejnosti díky své dlouhé historii, přírodnímu původu, širokému spektru možného využití i menšímu dopadu na životní prostředí. Je třeba poznamenat, že různé rostliny obsahují rozmanité bioaktivní sloučeniny a že některé z nich mají vlastnosti účinné proti různorodým zdravotním komplikacím. Jedná se v podstatě o složité chemické koktejly s různými vlastnostmi, a tedy i s různými biologickými účinky (Mahmoud et al., 2015).

Antiparazitický vliv kapsaicinu na parazitické houby, bakterie a prvoky, kteří mohou poškodit své hostitele byl prokázán ve studii Mezenese et al. (2022), který ve své práci použil extrakt z *Capsicum chinense*, jenž byl v mé práci reprezentován odrudou habanero. Mezenese et al. (2022) prokázali, že kapsaicin vykazuje zjevné antimykotické účinky. Kromě toho může významně inhibovat produkci faktorů virulence (jako je tvorba biofilmu a hemolytická aktivita), které jsou důležité pro vznik a udržení kvasinkových infekcí způsobených *Candida glabrata* a *C. tropicalis*. Dále prokázali antiparazitární potenciál kapsaicinu v koncentracích, které nejsou toxické pro hostitelské buňky, což svědčí o selektivitě této látky vůči *Candida* spp. a *Toxoplasma gondii*, která stejně jako gregariny spadá do kmene Apicomplexa a lze tedy předpokládat obdobný mechanismus působení látek z *C. chinensis* na oba druhy parazitů. Klesající trend parazitémie *T. gondii* po aplikaci kapsaicinu byl obdobný jako u švábích gregarin v mé práci.

V roce 2020 byl také objeven inhibiční efekt kapsaicinu na enzym TcAK (*Trypanosoma cruzi* arginine kinase) u epimastigotů prvoka *Trypanosoma cruzi*, který je původcem Chagasovy choroby, kdy klesla aktivita epimastigotů o 50 % po přidání 2 mM roztoku kapsaicinu (Valera-Vera, et al., 2020).

Práce Mezenese et al. (2022), jejíž výsledky odpovídají mým, prokazuje pozitivní efekt terapie *Capsicum chinensis* k eliminaci a omezení expanze některých výše zmíněných potenciálních patogenů, jako jsou roupy, střevní prvoci, ale také například bakterie rodu *Staphylococcus*. Klesající trendy jsou svým sestupem a časem srovnatelné s výsledky mé práce.

Adamson et al. (1992) se zabývali šířením hmyzích roupů spolu se svými hostiteli a prozkoumali možnou úlohu vnitrodruhové konkurence při omezování populací. Prokázali přítomnost roupů v hmyzích hostitelích během celého roku, ovšem prevalence byla závislá na ročním období a stáří jednotlivých zvířat. Výrazně více hlístic, stejně jako já ve své práci, našli u samic, které jsou větší a nabízejí parazitům více prostoru a větší množství živin.

Existují jen omezené informace o odčervování bezobratlých živočichů. Kombinace benzimidazolu a fluorochinolonu podávaná sklípkanům v zájmových chovech k eliminaci parazitických hlístic čeledi Panagrolaimidae není u hmyzu považována za účinnou (Pizzi et al. 2003).

Terapie Pyrantel pamoate 10 % se prokázala jako vhodná pro krátkodobé ošetření švábů. Při delším používání, začaly počty hlístic ve střevě navzdory terapii stoupat. Ivermectin rovněž nelze považovat za vhodné anthelmintikum pro bezobratlé hostitele. Protože při použití v koncentracích od 0,05–0,5 % nemá vliv na střevní hlístice a ve vyšších dávkách je již entomopatogenní. Nejlepších v dosavadních výsledcích bylo dosaženo s Piperazine citrate 22,5 %, kdy v množství 20–200 ppm došlo ke snížení prevalence cca o 30–50 %. Terapie ovšem byla doprovázena mortalitou o 15–25 % vyšší v porovnání s kontrolní skupinou (Kobayashi et al., 2020). V průběhu mého pokusu byla mortalita 1,5–3,5 % bez rozdílů mezi pokusnými a kontrolními skupinami.

Inhibiční efekt na aktivitu po podání paprik rodu *Capsicum* byl prokázán také u kroužkoců (*Eisenia foetida*, *Pheretima posthuma*, *Tubifex tubifex*) a to při koncentraci kapsaicinu 131,85 a 98,80 mg/100 g (Coronel, 2022), což jsou několika násobně vyšší koncentrace než kapsaicinu než u paprik, které byly použity v mé práci. Díky rozdílné ochotě švábů přijímat papriky s vyšším obsahem kapsaicinu, lze předpokládat

částečné či úplné odmítnutí terapie a nabízí se otázka, zda by tato koncentrace nepoškodila samotná zvířata či také nesnížila jejich fitness.

Maliszewskaa et al. (2019) aplikovali švábům *Periplaneta americana* 5 % a 10 % roztok kapsaicinu a během 24 hodin pozorovali prudkou acidobazickou dysbalanci ve střevě švába. Toto dočasné ochromení trávicího traktu může snížit resorpci živin, což může být příčina nižšího hmotnostního přírůstku, který signifikantně, ač statisticky nevýznamně klesal se zvyšujícím se množstvím kapsaicinu v podávaných paprikách. Maliszewskaa et al. (2019) taktéž uvádí, že při obou použitých dávkách pozorovali oproti kontrole vysokou mortalitu pokusných švábů. Nejsilnější paprika v mém pokusu, habanero, obsahuje cca 2 % kapsaicinu. Při této koncentraci nebyla pozorována rozdílná úroveň mortality ve skupinách švábů krmených paprikami, tak v porovnání s kontrolní skupinou.

Po podání papriček se sekundárně vyšším obsahem kapsaicinu vlivem šlechtění (habanero) byl prokázán o 30% nižší výskyt parazitoidních vosiček *Euplectrus platyhypenae* u housenek motýlů *Spodoptera latifascia*. Housenky ušetřené pálivější odrůdou papriček se ovšem kuklily po výrazně delší době, než jedinci krmení mírnějšími odrůdami a jedinci v kontrolní skupině. Nižší byla i jejich váha při kuklení (až o 50 %) a také celková úspěšnost při kuklení a metamorfóze (Chabaane, et al., 2022). Šváby, které jsem během pokusu krmil silnějšími odrůdami (habanero, rawit) rovněž vykazovali nižší přírůstek po porovnání s kontrolní skupinou, který byl ovšem po statistické analýze označen za nevýznamný. U méně pálivých odrůd (jalapeno, feferonky) byl rozdíl v porovnání s kontrolní skupinou zanedbatelný. Přesto by bylo vhodné zhodnotit vliv této terapie na celkový vývoj švábů a zjistit, zde existují rozdíly ve velikosti a váze adultních jedinců podrobených terapii kapsaicinem v porovnání s naivními zvířaty.

Velikost chovných zvířat (především samic) může ovlivňovat i jejich plodnost. Snížená plodnost po aplikaci kapsaicinu byla prokázána u komárů (*Anopheles stephensi*) a to jak u samců sající cukerný roztok s přidaným kapsaicinem, tak i u samic krmených myším sérem obohaceným o kapsaicin (2mg/kg) (Wang, et al., 2022).

U octomilek (*Drosophila*) a potemníků (*Tenebrio molitor*) byl prokázán vliv kapsaicinu na vznik střevní dysplazie a následné snížení příjmu potravy (Li, et al., 2020; Olszewska and Tegowska, 2011). Tento fakt může být jednou z příčin nižšího přírůstku švábů ošetřených kapsaicinem. Každopádně by bylo vhodné otestovat vliv terapie na celkový vývoj a konečnou fekunditu testovaných jedinců.

Velká část literatury o společenstvech parazitů u hmyzu pochází z doby před genomickou érou, a proto poskytuje údaje pouze na podporu morfologické identifikace, ale ne molekulární. Ačkoli mnoho parazitů má ve volné přírodě jen zanedbatelný patogenní vliv na své hostitele, masové podmínky chovu mají potenciál zvýhodnit zatížení parazity a vytvořit podmínky které mohou vést k tomu, že normálně symbiotické nebo benigní infekce způsobí závažné onemocnění. To zdůrazňuje potřebu většího povědomí o protistních patogenech v souvislosti s rozvojem odvětví chovu hmyzu (Besette and Williams, 2022). To bude zahrnovat zvýšené úsilí o rozvoj molekulárních nástrojů pro sledování jejich souvislosti se špatným zdravotním stavem hmyzu a případně vývoj modelových systémů hostitel-parazit a genomických zdrojů, které by umožňovaly lepší pochopení molekulárního základu jejich patogenity (Besette and Williams, 2022).

K objasnění antiparazitického, antimykotického a antibakteriálního efektu kapsaicinu a k pochopení cest, kterými tato molekula tento účinek uplatňuje, je však zapotřebí studií zahrnujících mikroskopii a molekulární testy (Da Silca, et al. 2020). Je také třeba zhodnotit vliv této terapie na samotného hostitele. Měly by být také provedeny studie in vivo pro zhodnocení toxicity a chování kapsaicinu v boji proti patogenům v hostiteli, aby se potvrdily výsledky prezentované v mé práci i ve výše zmíněných studiích.

Závěr

Monitoring a kontrola parazitů ve farmových chovech zvířat představuje důležitý faktor ovlivňující produktivitu chovanců. Silná parazitémie roupy a prvoky byla pozorována ve švábech ze všech chovů, které byly v mé práci použity. Pouze u 5 % švábů nebyli na začátku pokusu nalezeni žádní parazité. 15 % jedinců bylo infikováno jedním druhem parazitů, 35 % dvěma druhy parazitů a u 45 % švábů nalezeni všechny tři skupiny cizopasníků.

Využití kapsaicinu k eliminaci parazitárních infekcí u kulturně chovaných švábů se jeví jako vhodná selektivní terapie. U všech švábů, kteří konzumovali papriky s obsahem kapsaicinu bylo prokázáno snížení prevalence gregarin. Vliv na roupy byl závislý na množství kapsaicinu v přijaté potravě. Silnější klesající trend infekce koreloval s obsahem kapsaicinu v krmivu. Nejslabší byl pozorován u švábů, kteří konzumovali feferonky (1000 SHU). Nejsilnější klesající trend infekce byl naopak u švábů, kteří konzumovali odrůdu habanero (150 000 - 350 000 SHU). U nálevníků rodu *Nycthothus*, kteří jsou většinou považováni za endokomenzály a nemají patogenní vliv (Mader, 2006), byl pozorován slabý klesající trend u všech skupin, který však nekoreloval s obsahem kapsaicinu v krmivu.

Švábi, kterým jsem během pokusu předkládal papričky s různým obsahem kapsaicinu, je ochotně přijímali bez ohledu na jejich pálivost. Jediná výjimka byla pozorována během třetího týdne pokusu, u odrůdy rawit, kdy bylo zkonsumováno o 69 % méně sušiny v porovnání s ostatními týdny. Tato dysbalance byla s největší pravděpodobností způsobena větším počtem svlékajících se jedinců ve skupině. Také se podařilo prokázat, že koncentrace, které jsme v pokusu použili (0,006 – 2,188 %) nemají vliv na úmrtnost švábů. Vyšší dávky kapsaicinu ovšem mohou negativně ovlivnit růst švábů. Zvířata krmena silně pálivými odrůdami vykazovala mírně nižší, statisticky nevýznamné přírůstky na váze v porovnání se šváby krmenými mírně pálivými paprikami a kontrolní skupinou.

Bylo by tedy vhodné ověřit vliv této terapie na růst a vývoj švábů a také její dopad na jejich reprodukční schopnosti a plodnost. Je také potřeba lépe prozkoumat patogenní vliv parazitů na své hostitele v chovech, jejich diverzitu a distribuci, hostitelskou specifitu a fylogenetické vztahy jednotlivých druhů parazitů.

Seznam použité literatury

ABDEL R. et al. (2015). "The Incidence of the Protozoa *Malamoeba locustae* and *Gregarina granhami* in three Acridian Communities during Summer Month. " *Danish Journal Entomology; Nematology*, 1, 1–8.

ADAMSON, D. and WAEREBEKE V. (1992). "Revision of the Thelastomatoidea, Oxyurida of invertebrate hosts: 1. Thelastomatidae." *Systematic Parasitology*, 21, pp. 21-64.

ADAMSON, M. L. (1984). L'haplodiploidie des oxyurida-Incidence de ce phénomène dans le cycle évolutif. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 59(4), 387-413.

ADAMSON M. (1994). "Evolutionary patterns in life histories of Oxyurida. " *International Journal for Parasitology*, 24, 1167–1177.

ARCHIBALD J. M. et al. (1990). *Handbook of the Protists*. Second Edition, Switzerland, ISBN 978-3-319-28147-6.

BAHMANI, M., et al. (2015). "Effect of Iranian herbal medicines in dysmenorrhea phytotherapy." *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2: 519-526.

BARRETT, M., et al. (2022). "Welfare considerations for farming black soldier flies, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): a model for the insects as food and feed industry." *Journal of Insects as Food and Feed*, 1-30.

BASS, D. and del CAMPO, J. (2020). "Microeukaryotes in animal and plant microbiomes: Ecologies of disease?" *European Journal of Protistology*, 76, 125719.

BELL, J. W. et al. (2007). "Cockroaches: Ecology, Behavior, and Natural History. Baltimore." *The Johns Hopkins University Press*., 248 pp., 0-8018-8616-3.

BESSETTE, E. and WILLIAMS, B. (2022). "Protists in the Insect Rearing Industry: Benign Passengers or Potential Risk?" *Insects*, 13.5: 482.

BISWAS, P. K., and CHAKRAVARTY G. K. (1963). "The systematic studies of the zoo-parasitic oxyuroid nematodes." *Zeitschrift für Parasitenkunde* 23.5: 411-428.

BLANCO, M. et al. (2012). "Morphological and molecular characterisation of the entomoparasitic nematode *Hammerschmidtella diesingi* (Nematoda, Oxyurida, Thelastomatidae)." *Acta Parasitologica* 57.3: 302-310.

BOSCH, G. and SWANSON, K. S. (2021). "Effect of using insects as feed on animals: pet dogs and cats." *Journal of Insects as Food and Feed* 7.5: 795-805.

CARRENO, R. A. (2014). "The systematics and evolution of pinworms (Nematoda: Oxyurida: Thelastomatoidea) from invertebrates." *The Journal of parasitology* 100.5: 553-560.

CAPASSO, R., et al. (2000). Phytotherapy and quality of herbal medicines. *Fitoterapia*, 2000, 71: S58-S65.

CONCONI, J. R. (1976). "Los insectos, nueva fuente de alimentacidn." *Conex. Conacyt*, Mexico 45(7), 13.

CORLISS, J.O. and COAST, D.W. (1976). "A new cuticular cyst-producing tetrahymenid ciliate, *Lambornella clarki* n.sp., and the current status of ciliatosis in culicine mosquitoes." *Transactions of the American Microscopical Society*. 1976, 95, 725–739.

CORONEL, E. et al. (2022). "Crushed *Capsicum chacoense* Hunz Fruits: A Food Native Resource of Paraguay with Antioxidant and Anthelmintic Activity." *International Journal of Food Science*.

CLOPTON, R. E. and Hays J. J. (2006). "Revision of the genus *Protomagalhaensia* and description of *Protomagalhaensia wolfi* n. comb. (Apicomplexa: Eugregarinida: Hirmocystidae) and *Leidyana haasi* n. comb. (Apicomplexa: Eugregarinida: Leidyaniidae) parasitizing the lobster cockroach, *Nauphoeta cinerea* (Dictyoptera: Blaberidae)." *Comparative Parasitology* 73.2: 137-156.

COUNTWAY, P.D. et al. (2005). "Protistan Diversity Estimates Based on 18S rDNA from Seawater Incubations in the Western North Atlantica". *Journal of Eukaryotic Microbiology.*, 52, 95–106.

DA SILVA L., et al. (2020). "Edible insects: An alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. " *Food chemistry*, 311: 126022.

DE VARGAS, C. et al. (2015). "Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean." *Science*, 348, 1261605.

DERRIEN, C. and BOCCUNI A. (2018). "Current Status of the Insect Producing Industry in Europe. In Edible Insects in Sustainable Food Systems." *Springer International Publishing: Cham, Switzerland*; pp. 471–479.

DONKOR, E. S. (2020). "Cockroaches and food-borne pathogens." *Environmental health insights* 14: 1178630220913365.

FÜCHTBAUER, S., et al. (2021). "Antibacterial properties of capsaicin and its derivatives and their potential to fight antibiotic resistance—A literature survey. " *European Journal of Microbiology and Immunology*, 11.1: 10-17.

GREINER E. C. and DOUGLAS R. M. (2006), *Reptile Medicine and Surgery*, second edition), Pondicherry, ISBN 9781118977682.

GEISEN, S., et al. (2019). "A user guide to environmental protistology: primers, metabarcoding, sequencing, and analyses." *BioRxiv*, 850610.

GHOST, C.M., (2000). "Life Histories of Three New Coccidian Parasites from Three Coleopteran Stored-grain Pests of India." *Acta Protozool.*, 39, 233–240.

GONG, W. and MARCHETTI, A. (2019). "Estimation of 18S Gene Copy Number in Marine Eukaryotic Plankton Using a Next-Generation Sequencing Approach." *Frontiers in Marine Science*, 6, 219.

GORDON, R. E. J. (1980). "A comparative ecological study of the wood cockroaches in Northeastern Kansas." *The University of Kansas Science Bulletin*. 52:21–30.

GIGLIOLLI, A.A.S. et al., (2016). "The life cycle of *Gregarina cuneata* in the midgut of *Tribolium castaneum* and the effects of parasitism on the development of insects." *Bulletin of Entomological Research*, 106, 258–267.

HAUSMANN, K. a HÜLSMANN N., Protozoologie. Praha: Academia, 2003. ISBN 80-200-0978-7.

HOYTE, H. M. D. (1961). "The protozoa occurring in the hind-gut of cockroaches. III. Factors affecting the dispersion of *Nyctotherus ovalis*." *Parasitology* 51.3-4: 465-495.

HORÁK, P. a Tomáš SCHOLZ, T., Biologie helmintů. Praha: Karolinum, 1998. ISBN 80-7184-782-8.

HUNT, J. H. (2003). "Cryptic herbivores of the rainforest canopy." *Science*. 300: 916–917.

CHABAANE, Y., et al., (2022). "Altered capsaicin levels in domesticated chili pepper varieties affect the interaction between a generalist herbivore and its ectoparasitoid." *Journal of Pest Science* 95.2: 735-747.

JEX, A. R. et al., (2006). "The importance of host ecology in thelastomatoid (Nematoda: Oxyurida) host specificity." *Parasitology International*, 55.3: 169-174.

KOBAYASHI, M., et al. (2021). "Prevalence of *Blatticola blattae* (Thelastomatiidae) in German cockroaches *Blattella germanica* in Japan." *Journal of Veterinary Medical Science* 83.2: 174-179.

KOBAYASHI, M., et al., (2020). "Effects of anthelmintics on the pinworm *Blatticola blattae* in laboratory-reared German cockroaches *Blattella germanica*." *Parasitology research* 119.9: 3093-3097.

KOVAŘÍK, František. Hmyz: chov, morfologie. Jihlava: Madagaskar, 2000. ISBN 80-86068-24-2.

OZAWA, S., & HASEGAWA, K. (2018). "Broad infectivity of *Leidynema appendiculatum* (Nematoda: Oxyurida: Thelastomatidae) parasite of the smokybrown cockroach *Periplaneta fuliginosa* (Blattodea: Blattidae)." *Ecology and evolution*, 8(8), 3908-3918.

ROTH, L. M. and WILLIS, E. R. (1960). "The biotic associations of cockroaches." *Smithsonian Miscellaneous Collections*, 141 (1):1-440.

SANTOFERRARA, L.; et al. (2020). "Perspectives from Ten Years of Protist Studies by High-Throughput Metabarcoding." *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 67, 612-622.

SCOVILLESIZE.ORG (2019). Chili Pepper Scoville Scale – The Scoville Scale | [online]. [cit. 24.12.2021]. Dostupné z: <https://scovillesize.org/chili-pepper-scoville-scale/>

SCHEU, S., SETALA, H. (2002). "Multitrophic interactions in decomposer food webs. In Multitrophic Level Interactions. T. Tscharrntke and B. Hawkins, editors." *Cambridge University Press, Cambridge*. 223-264.

SDEBOLD, C., VON, T. (1839). "Beitrage zur Naturgeschichte der wirbellosen Thiere. IV. Ueber die zur Gattung Gregarina Gehorigen Helminthen." *Neuest Schrift der Naturforschen Gesellschaft in Danzig* 3, 56-71.

SHAH, M.M. (2007). "Some studies on insect parasitic nematodes (Oxyurida, Thelastomatoidea, Thelastomatidae) from Manipur, North-East India." *Acta Parasitologica*, 52, 346-362.

SINGH H.S., KAUR H. (1988). "On a new nematode, *Hammerschmidtella bisiri* n. sp. from *Periplaneta americana* Linn." *Indian Journal of Parasitology*, 12, 187-189.

SOLTER, L.F., et al., (2012). "Research methods for entomopathogenic microsporidia and other protists." *In Manual of Techniques in Invertebrate Pathology; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands*,; pp. 329–371.

SMITH, J., COOK, T.J. (2008). "Host specificity of five species of Eugregarinida among six species of cockroaches (Insecta: Blattodea)." *Comparative Parasitology*, 75.2: 288-291.

LAIRD, M., (1959). "Gregarines from laboratory colonies of flour beetles, *Tribolium castaneum* Herbst and *T. confusum* Duval." *Canadian Journal of Zoology*., 37, 378–381.

LANGE, C.E. and LORD, J.C. (2012). "Protistan Entomopathogens." *In Insect Pathology; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands*,; pp. 367–394.

LEPSCHI, B. J. (1989). "A preliminary note on the food of *Imblattella orchidae* Asahina (Blattellidae)." *Australian Entomological Magazine*. 16: 41–42

LI, Y., et al., (2020). "Capsaicin functions as *Drosophila* ovipositional repellent and causes intestinal dysplasia." *Scientific Reports* 10.1: 1-11.

LIPA, J.J., (1967). "Studies on Gregarines (Gregarinomorpha) of Arthropods in Poland."; *Instytut Biologii Doświadczałnej im. M. Nenckiego Polskiej Akademii Nauk*: Warsaw, Poland,.

LÓPEZ-GARCÍA, P., et al., (2001). "Unexpected diversity of small eukaryotes in deep-sea Antarctic plankton." *Nature*, 409, 603–607.

LOPES, R. B., and ALVES, S. B., (2005). "Effect of Gregarina sp. parasitism on the susceptibility of *Blattella germanica* to some control agents." *Journal of invertebrate pathology* 88.3: 261-264.

LOSCHIAVO, S.R., (1969). "A coccidian pathogen of the dermestid *Trogoderma parabile*." *Journal of Invertebrate Pathology.*, 14, 89–92.

MAGALHABS, P. S. DE (1900). "Notes d'helminthologie brossilienne." *Archives de parasitologie* 3, 34-69.

MALISZEWSKA, J., et al., (2019). "Capsaicin-induced dysregulation of acid-base status in the American cockroach." *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 54.8: 676-680.

MENEZES, R. P, et al. (2022). "Antimicrobial, Antivirulence, and Antiparasitic Potential of Capsicum chinense Jacq." Extracts and Their Isolated Compound Capsaicin." *Antibiotics* 11.9: 1154.

NALEPA, C. A., et al., (2001). "Rediscovery of the wood-eating cockroach *Cryptocercus primarius* (Dictyoptera: Cryptocercidae) in China, with notes on ecology and distribution." *Acta Zootaxonomica Sinica.* 26: 184–190.

OLSZEWSKA, J. and TEĞOWSKA, E., (2011). "Opposite effect of capsaicin and capsaizepine on behavioral thermoregulation in insects." *Journal of Comparative Physiology A*, 197: 1021-1026.

PEÑA-ESPINOZA, M., et al. (2018). "Antiparasitic activity of chicory (*Cichorium intybus*) and its natural bioactive compounds in livestock: a review." *Parasites & vectors*: 1-14.

PEREGRINE, P. C. (1974). "The effects of host diet on *Thelastoma attenuatum* (Nematoda: Thelastomatidae) populations in cockroaches." *Journal of helminthology* 48.1: 47-57.

PIZZI, R., et al., (2003). "Oral nematode infection of tarantulas." *Veterinary record* 152.22: 695-695.

PURRINI, K., (1976). "*Adelina tribolii* Bhatia und *A. mesnili* Pérez (Sporozoa, Coccidia) als Krankheitserreger bei Vorrats." *schädlichen Insekten im Gebiet von Kosova, Jugoslawien. Anz. Schädli. Pflanzenschutz Umweltschutz*, 49, 51–53.

REGALI-SELEGHIM, M.H. (2004). "Peritrich epibiont protozoans in the zooplankton of a subtropical shallow aquatic ecosystem (Monjolinho Reservoir, Sao Carlos, Brazil)." *Journal of Plankton Research*, 26, 501–508.

RODRIGUEZ, Y. et al. (2007). "Individual and Population Effects of Eugregarine, *Gregarina niphandrodes* (Eugregarinida: Gregarinidae), on *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae)." *Environmental Entomology*, 36, 689–693.

RUECKERT, S. et al., (2019). "The Symbiotic Spectrum: Where Do the Gregarines Fit? " *Trends Parasitology* 35, 687–694.

RUMPOLD, A. et al. (2013). "Nutritional composition and safety aspects of edible insects." *Molecular nutrition & food research*, 2013, 57.5: 802-823.

SRINIVASAN, R., and D. D. AMALRAJ. (2003). "Efficacy of insect parasitoid *Dirhinus himalayanus* (Hymenoptera: Chalcididae) & insect growth regulator, triflumuron against house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae)." *Indian Journal of Medical Research* 118: 158.

VAN HUIS, A., et al. (2013). *Edible insects: future prospects for food and feed security*. No. 171. Food and agriculture organization of the United Nations, first edition, Rome, ISBN 978-92-5-107595-1.

VALERA-VERA, E. A., et al. (2020). "Effect of capsaicin on the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*." *FEMS Microbiology Letters*, 367.23.

VALIGUROVÁ, A. (2012). "Sophisticated Adaptations of *Gregarina cuneata* (Apicomplexa) Feeding Stages for Epicellular Parasitism." *Waller RF, editor. PLoS ONE*, 7, e42606.

VOLF, P. a HORÁK P., Paraziti a jejich biologie. Praha: Triton, 2007. ISBN 978-80-7387-008-9.

WANG, J., et al. (2022). "Capsaicin decreases fecundity in the Asian malaria vector *Anopheles stephensi* by inhibiting the target of rapamycin signaling pathway." *Parasites & Vectors* 15.1: 1-11.

WU, H. (2013). "Biology of *Blaptica dubia* (Blattodea: Blaberidae)." PhD Thesis, Graduate Faculty of Auburn University.

ŽIŽKA, Z., (1977). "Fine structure of the neogregarine *Farinocystis tribolii* Weiser, 1953. Developmental stages in sporogony and parasite-host relations." *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 54, 217–228.

..

Seznam příloh

Seznam tabulek

Tabulka 3-1: Nutriční hodnoty v 1 kg sypké krmné směsi	25
Tabulka 3-2: Srovnání obsahu kapsaicinu	26
Tabulka 3-3: Množství sušiny v paprikovém pyré.....	27
Tabulka 3-4: Mortalita v jednotlivých skupinách	29
Tabulka 4-1: Příjem sušiny	31
Tabulka 4-2: Výsledek PCA analýzy	35
Tabulka 4-3: Výsledek RDA analýzy	36
Tabulka 4-4: Přírůstek za jednotlivé týdny	38

Seznam grafů

Graf 4-1: Prevalence nálevníků, gregarin a roupů ve sledované kolonii švábů.....	30
Graf 4-3: Vliv terapie na infekci gregarinami (černá = kontrola; modrá = habanero; červená = rawit; zelená= jalapeno; růžová = feferonka).....	32
Graf 4-4: Vliv terapie na infekci nálevníky (černá = kontrola; modrá = habanero; červená = rawit; zelená= jalapeno; růžová = feferonka).....	33
Graf 4-5: Vliv terapie na infekci roupí (černá = kontrola; modrá = habanero; červená = rawit; zelená= jalapeno; růžová = feferonka)	34
Graf 4-6: Analýza výskytu tří druhů parazitů, jejich společného výskytu a vlivu proměnných paprika a pitva (PCA).....	35
Graf 4-7: Analýza výskytu tří druhů parazitů, jejich společného výskytu a vlivu proměnných paprika a pitva (RDA).....	36
Graf 4-8: Průměrný přírůstek během pokusu.....	37

Seznam obrázků

Obr.č. 1-1: <i>Blattica dubia</i> (Žahourek, 2022).....	15
Obr.č. 2-1: Životní cyklus gregarin (Žahourek, 2022; in Biorender).....	16
Obr.č. 2-2: Gregariny (Žahourek, 2022)	17
Obr.č. 2-3: Životní cyklus nálevníku rodu <i>Nyctotherus</i> sp. (Žahourek, 2022; in Biorender)	20
Obr.č. 2-4: <i>Nyctotherus</i> sp. (Žahourek, 2022)	21
Obr.č. 2-5: Životní cyklus hmyzích roupů (Žahourek, 2022; in Biorender).....	22
Obr.č. 2-6: Roupy nadčeledi Thelastomatidea (Žahourek, 2022).....	23
Obr.č. 3-1: Schéma pokusu (Žahourek, 2022; in Biorender).....	28
