

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA BOTANIKY



Thanatóza mnohonožek

diplomová práce



Lucie Čmielová

Studijní obor: Učitelství biologie pro střední školy - Učitelství
geologie a ochrany životního prostředí pro střední školy (N1501),
prezenční studium, akad. rok 2012/13

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Mgr. Ivan H. Tuf, Ph.D.

Olomouc 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Mgr. Ivana H. Tufa, Ph.D., a s použitím uvedené literatury.

V Olomouci

.....

Lucie Čmielová

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému vedoucímu dr. Ivanu H. Tufovi za pomoc a velmi užitečné rady při výzkumné práci a psaní mé diplomové práce. Také bych ráda poděkovala mé rodině, která mi byla během studia vždy velkou oporou.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Bc. Lucie Čmielová

Název práce: Thanatóza mnohonožek

Typ práce: Diplomová práce

Pracoviště: Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, katedra botaniky

Vedoucí práce: RNDr. Mgr. Ivan H. Tuf, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2013

Abstrakt:

Thanatóza je projev nehybnosti, či strnulosti, který je dobře vyvinut u mnoha zvířat jako odpověď na vnější podněty. Jedná se o hraný stav, kterým zvířata předstírají smrt. Thanatóza bývá považována za obranný mechanismus proti predátorům a bývá společná pro savce, ptáky, ryby, plazy, roztoče i hmyz. Tato diplomová práce byla zaměřena na thanatózu mnohonožek u druhu svinule lesní (*Glomeris pustulata*) a špičanky tmavé (*Leptoilulus trilobatus*). K vyvolání thanatózy, byly u obou druhů použity tři mechanické podněty, seřazeny v různých kombinacích. Doby trvání reakcí a počty aplikací stimulů u každého jednotlivce byly zaznamenány, vyhodnoceny a porovnány mezi oběma druhy.

Klíčová slova: thanatóza, mnohonožky, stimuly, touch, drop, squeeze, defenzivní strategie

Počet stran: 36

Počet příloh: 0

Jazyk: čeština

Bibliographical identification

Autor's name and surname: Bc. Lucie Čmielová

Title: Tonic imobility in millipedes

Type of thesis: Master

Institution: Palacký University in Olomouc, Faculty of Science, Department of Botany

Supervisor: RNDr. Mgr. Ivan H. Tuf, Ph.D.

The year of presentation: 2013

Abstract:

Thanatosis is a state of imobility, whitch is well developed in many animals in response to an external stimuluses. An immovable posture is ammused by the animals when feigning death. Thanatosis has been considered a defence mechanism against predators that is shared by mammals, birds, fishes, reptiles, mites and insects. This diploma thesis has been focused on thanatosis in species of the millipedes *Glomeris pustulata* and *Leptoiulus trilobatus*. Thanatosis was evoked by using three mechanical stimuluses for both species, whitch were sorted in various combinations. The times of the reactions and the numbers of application each stimulus for each individual were recorded, evaluated and compared between the two species.

Keywords: thanatosis, millipedes, stimuli, touch, drop, squeeze, defensive strategy

Number of pages: 36

Number of appendices: 0

Language: Czech

OBSAH

1 ÚVOD.....	6
1.1 Charakteristika mnohonožek.....	6
1.1.1 Svinule	8
1.1.2 Mnohonožky	9
1.2 Obranné mechanismy mnohonožek	11
1.2.1 Thanatóza u mnohonožek (<i>Diplopoda</i>)	12
2 CÍL PRÁCE	17
3 METODIKA	17
3.1 Sběr mnohonožek.....	17
3.2 Hlavní experiment	18
3.3 Zpracování dat.....	19
3.3.1 Reaktivita mnohonožek na mechanické podněty.....	20
4 VÝSLEDKY	21
4.1 Podnět vyvolávající nejdelší dobu trvání thanatózy.....	21
4.2 Počet nutných stimulů k vyvolání thanatózy	22
4.3 Doba thanatózy v závislosti na pořadí podnětu.....	24
4.4 Počet nutných stimulů k vyvolání thanatózy s ohledem na pořadí podnětu	25
4.4 Procentuální zastoupení reaktivity k thanatóze.....	27
5 DISKUZE.....	28
6 ZÁVĚR	31
7 LITERATURA.....	33

1 ÚVOD

1.1 Charakteristika mnohonožek

Mnohonožky (*Diplopoda*) patří k členovcům (*Arthropoda*) do podmenu stonožkovci (*Myriapoda*). Jedná se o velmi starobylou a početnou skupinu zvířat, která je rozšířena ve všech světadílech vyjma Antarktidy a obývá téměř všechny typy ekosystémů. Dosud bylo popsáno přes 12 tisíc druhů, celkově se jejich diverzita odhaduje na více než 80.000 druhů (Shelley 2007). Jejich nejstarší fosilie známe ze středního siluru a devonu, velkého rozmachu a diverzity dosáhly již v křídě (Golovatch, Kime 2009).

Rozšíření mnohonožek ovlivňuje mnoho faktorů, hlavním z nich je především půda, ve které žijí. Důležitý je půdní typ a složení svrchních vrstev půdy. Mnohonožky jsou navíc často stenotopní, změnu jednoho faktoru (například vlhkosti) nedokážou tolerovat ani v případě, že ostatní podmínky (např. kvalita opadu, teplota atp.) jsou příhodné (Golovatch, Kime 2009). Globálním zvýšením teploty mohou být druhy žijící v chladnějším podnebí, endemické druhy s nízkou schopností disperse a druhy, které již teď žijí u horní hranice svého teplotního optima, ovlivněny velmi negativně (David, Handa 2010). Všechny mnohonožky mají kutikulu, jež je snadno prostupná pro molekuly vody, proto preferují místa, která rychle nevysychají (pod kameny, v opadu, na povrchu půdy). Jiné druhy se zase vyschnutí brání tím, že se zahrabávají hlouběji do půdy. K tomu je přizpůsobeno i jejich tělo (Blower 1985). Velké množství vody v zamokřených půdách může zvýšit osmotický tlak v buňkách a tím organismus poškodit, stejně jako nedostatek kyslíku (Blower 1985).

Mnohonožky jsou důležitými půdními dekompozitory, hrají tedy významnou roli při rozkladu rostlinného materiálu a tím se podílejí na koloběhu látek v ekosystému (Bano, Krishnamoorthy 1981) a mj. zúrodňují půdu. Jejich aktivita je velice důležitá pro správné fungování mnoha ekosystémů, zvláště v temperátním a boreálním pásu. Mnohonožky se živí především odumřelými částmi rostlin v různém stádiu rozkladu, půdními částicemi a humusem. Například v tropech a temperátní zóně jsou mnohonožky zodpovědné za rozklad přibližně 5–15 % ročního opadu (Hopkin, Read 1992; Golovatch, Kime 2009).

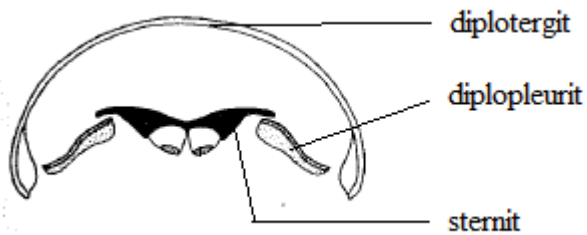
Tělo mnohonožek je složeno z hlavy a trupu. Trup se skládá z jednotlivých článků, přičemž každý nese končetiny. První tři tělní články nesou jeden pár, ostatní pak dva páry končetin (či jsou poslední články bez končetin). Těmto článkům říkáme diplosegmenty. Koncový tělní článek končetiny nemá a nazývá se telson. Dorsální strana je tvořena tzv. tergitem (hřbetním štítkem), ventrální sternitem (břišním štítkem), kromě toho se na bocích těla tvoří pleurity (Blower 1985). Tyto štítky mohou být volné, či mohou srůst, často všechny srůstají v jakýsi kroužek, nazývaný sklerit. Tělo může být na průřezu kruhové, půlkruhové či trojúhelníkovité. Jedinci se zploštělým tělem z břišní strany se díky tomu mohou stáčet v kuličku, př. svinule lesní (*Glomeris pustulata*). Jedinci s tělem v průřezu kruhovým se obvykle stácejí do spirály, což můžeme sledovat např. u špičanky tmavé (*Leptoiulus trilobatus*). Schopnost svinutí mnohonožek je souhrou ohybu jejich článků těla, nohou a svalů. Podle typů ohybů jednotlivých diplosegmentů se mnohonožky dokážou stočit do dokonalé koule nebo do spirály (Blower 1985). Existují různé ekomorfologické kategorie mnohonožek. Jedná se například o typy buldozer, klín, vrtákovitý, válečkovitý či obyvatelé kůry. Každý tento typ stáčení nalezneme u různých mnohonožek. Například typ buldozer či beran je u mnohonožek s mnoha tělními články. Množství nohou a široký první tergite jako beraní, umožní odsouvat zem před sebou, jako buldozer. Příkladem jsou *Julidae*, *Spirobolidae*, *Spirostreptidae*. Klínový ekomorfologický typ najdeme u mnohonožek, které jsou kratší a mají i kratší nohy. Jednotlivé segmenty jsou laterálně rozšířené v kýle. Přední konce jsou zúžené, proto mohou hlavu strčit do štěrbin a tím zjednoduší zbytku těla skulinami pronikat. *Polydesmida* jsou názorným příkladem. Tvar vrtáku nalezneme u mnohonožek, které mají volné sternity nebo pleurity. Přední část je zúžena a postupně se oblouky rozšiřují, tím se rozšiřuje i štěrbina, kterou mnohonožka prolézá. Jako příklad lze uvést *Chordeumatidae* a *Polyzonium*. Pod kůrou žijí drobné mnohonožky s měkkou kutikulou, příkladem jsou chlupule (*Polyxenida*), (Hopkin, Read 1992).

Tyto různé polohy těla jsou vrozené a jedná se o reflexy, kterými zvířata reagují na vnější okolí. Stimuly jako světlo, teplota, gravitace, vlhkost, mechanické podněty, jako je vibrace, kontakt, ale i chemické stimuly, jako pachy ze vzduchu, nebo kontakt zvířete s chemikálií, či rytmické chování, např. denní režim zvířete a podobně, mohou navodit tyto obranné pohyby těl mnohonožek (Cloudsley-Thomson 1952).

1.1.1 Svinule

Svinule (*Glomerida*) jsou typickým příkladem obyvatel lesů. Ve velkém množství se nacházejí v opadu, kde probíhá rychlá dekompozice a preferují zejména vápenaté půdy (Blower 1955). Velikost jejich těla dosahuje od 2,5 do 20 mm. Menší druhy (např. svinulky) jsou šedavé, hnědé nebo bílé, větší svinule jsou zbarveny černými odstíny s červenými, žlutými, či bílými značkami, díky kterým můžeme rozlišovat variabilitu druhů svinulí. Tělo se skládá z hlavy a trupu, přičemž je tělo děleno na jednotlivé segmenty – diplosegmenty. Ty jsou kryty silnými, do oblouku ohnutými dorsálními diplotergity, které se rozšiřují do boků, diplopleurity se přesouvají na břišní stranu těla, kde jsou také dva břišní sternity (Blower 1985; obr. 1). Tělo se tedy skládá z hlavy a třinácti tergítů, přičemž druhý a třetí tergít splývá v tzv. bisyntergum. První tergít je malý a není širší než hlava (Hoffman 1982). Stáčení do kuličky je svinulím umožněno díky jednotlivým segmentům jejich těla, neboť jsou jednotlivé tergity, sternity a pleurity odděleny (Hoffman 1982; Hopkin, Read 1992). Jednotlivé části do sebe zapadají jako klouby a tím dovolí jejich tělu tento ohyb. Trup je tvarován tak, že umožňuje svinulím schovat všechny nohy při stáčení se do tvaru koule. Toto stáčení do kuličky je souhrou svalů a flexorů tohoto skloubení. Střední opora, kolem které se ohýbají dva sousedící kruhy, segmenty, je umožněna díky břišním polovinám kruhů, které jsou na sobě naskládané. Svinule mají ventrální i laterální část; břišní sternity a pleurity jsou na ose ohybu a díky tomu u nich nenastává problém s úplným stočením v kuličku (Blower 1985). Na hlavě mají svinule několik jednoduchých oček – ocelli. Tömösvaryho orgán je velký, ve tvaru podkovy a uložen mezi očkama a tykadly. Tykadla jsou štíhlá a protáhlá; jejich šestý článek je nejdelší a sedmý článek obvykle nese čtyři senzory. Gnatochilarium má jedinečný tvar; jazykové lamely jsou sloučeny v jeden středový sklerit. Tergity jsou obvykle hladké a lesklé, ale u některých druhů mohou být i hrubě zdrsňené. Větší druhy svinulí mají hřbetní žlázu umístěnou na přední hraně každého tergitu, která vylučuje čirou vodnatou lepivou tekutinu. Pravděpodobně se jedná o alomony, ze kterých byl izolován 1,2 dialkyl-4(3H) quinazolin. Nohy svinulí mají šest částí, z nich je tarsus nejdelší. Samci mají 19 párů nohou, samice 17. Poslední pár nohou je u samců modifikován na klíšťkovité telopody. Osmnáctý, někdy sedmnáctý pár nohou je modifikován v paratelopody. Tyto nožky umožňují samci uchopit okraj hřbetních štítků samice při kopulaci. Vejcovody procházejí přes skleritizované cyphopody, které jsou umístěné za druhým párem nohou (Hoffman 1982). Druhů z řádu svinule je dosud popsáno přibližně 250, v Evropě jich žije 157 (Kime, Engoff 2011) a z území České republiky bylo dosud doloženo osm druhů (Tuf, Tufová 2008). Mezi naše zástupce

patří např.: svinule lesní (*Glomeris pustulata*), svinule čtyřpásá (*Glomeris tetrasticha*), drobnulka zemní (*Geoglomeris subterranea*) či svinulka hrbolatá (*Trachysphaera gibbula*), (www.biolib.cz). V této práci budou experimenty zaměřeny na svinuli lesní (*Glomeris pustulata*; obr. 2).



Obrázek 1 Průřez těla svinule (*Glomeris*) s popisem jednotlivých částí, (Blower 1985).



Obrázek 2 Svinule lesní (*Glomeris pustulata*), (www.biolib.cz).

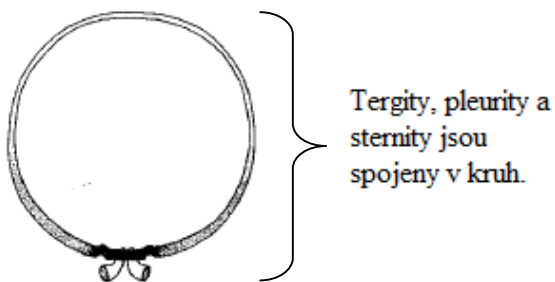
1.1.2 Mnohonožky

Řád mnohonožky (*Julida*) preferují bukové lesy, včetně smíšených. Půdu preferují spíše písčitou. Mnohonožky ke svému životu potřebují vlhčí prostředí a před vysycháním půdy se do ní zahrabávají hlouběji (Blower 1955). Tělo mnohonožek je relativně malé, cylindrického tvaru a jejich délka se pohybuje od 50 do až 150 mm. Skládá se z třiceti a více než devadesáti článků (Hoffman 1982). Sternity břišní strany jejich těla srůstají s pleurity i dorsálními tergity a tím tvoří kruhový sklerit (Blower 1985; obr. 3). Tímto pevným spojením se jednotlivé segmenty nemohou do sebe zakloubit stejným způsobem, jako u svinulí. Proto jejich stáčení probíhá do tvaru spirály (Hopkin, Read 1992). Stáčení u *Julida* je v podobě šroubovité spirály. Stáčení se do spirály není vždy odpovědí na disturbanci. Některé druhy na vyrušení naopak reagují hbitým ohýbáním a prodloužením těla.

Všechny segmenty těla, kromě krku a druhého článku, jsou spojeny ventrálně, buď vazem ventrálních hrotů pleurotergálním obloukem nebo začleněním sternitů do rigidního cylindru. Antény jsou typicky dlouhé a štíhlé se čtyřmi vrcholovými smyslovými kužely. Ocelli jsou obvykle četné, pigmentované a jsou uspořádány v zaoblených nebo oválných

shlucích. Některé druhy jsou ovšem slepé. První, druhý a někdy také sedmý pár nohou je modifikován, redukován nebo rozšířen. Gonopody jsou složeny ze dvou párů přívěšků uložených na sedmém tělním článku, částečně nebo převážně zatažené dovnitř těla (Hoffman 1982). První nebo druhý článek těchto nohou může být přetvořen v sekundární pohlavní strukturu (Hopkin, Read 1992). Coxa předního páru nohou je obvykle vybavena pohyblivým bičíkem na jejich zadní straně. Mandibuly mají normálně čtyři pektinové lamely. Gnatochilarium je podobné u obou pohlaví. U *Julida* je první tergít velmi široký a hlava je pod ním částečně schovaná. První tergít mnohonožky používají jako beranidlo při hloubení nor (Hopkin, Read 1992).

Jeekel (1985) zmínil, že rozšíření řádu *Julida* v jižních oblastech nastalo v mezozoických a pleozoických dobách. Holarktické rozšíření řádu mnohonožek na sever, následovalo po vymírání na severní polokouli (Hopkin, Read 1992). Celkově je zatím známo 34 druhů mnohonožek z řádu *Julida* žijících v České republice (Tuf, Tufová 2008). Zde je uvedeno pár příkladů našich mnohonožek: špičanka tmavá (*Leptoiulus trilobatus*), mnohonožka lesní (*Julus scandinavius*), mnohonožka zemní (*Julus terrestris*), mnohonožka slepá (*Blaniulus guttulatus*), oblanka velká (*Cylindroiulus luridus*), (www.biolib.cz). V této studii budou experimenty zaměřeny na špičanku tmavou (*Leptoiulus trilobatus*), (obr. 4).



Obrázek 3 Průřez těla mnohonožky (*Julida*), s popisem jednotlivých částí (Blower 1985).



Obrázek 4 Špičanka tmavá (*Leptoiulus trilobatus*), (<http://www.boldsystems.org>).

1.2 Obranné mechanismy mnohonožek

Obranu mnohonožek před predátory můžeme rozdělit do tří kategorií – morfologickou, behaviorální a fyziologickou. K morfologické obraně patří uspořádání skleritů, kutikula zpevněná chitinem, uhličitánem vápenatým a zbarvení. Například oranžové skvrny u svinule lesní, či bílé nohy u prstencovky černé, jsou pro predátory výstražným zbarvením (Blower 1985). Například chlupule *Polyxenus fasciculatus* na svém těle nese chomáče štětín, které se lehce odlamují. Mravencům ulpívají mezi kusadly, což je od dalšího útoku odradí (Eisner a kol. 1996).

Behaviorální obranou mohou být různá specifická chování, kterými minimalizují možnost odhalení predátory, orientujícími se zrakem. Mnohonožky, které mají dorsoventrálně zploštělá těla, například *Glomeris marginata*, disponují silným svalstvem, které umožní jejich tělu se svinout do těsně uzavřené koule (Hopkin, Read 1992). Jiné behaviorální obranné mechanismy představuje i jakési zmítání u *Diopsiulus regressus*. Jejich vyprovokováním začnou mnohonožky skákat 2 až 3 cm vysoko nad zem, jemně se sklouznou, běží dopředu a poté znova skočí. Skákání je umožněno díky ohýbání jejich těl. Ohýbáním se vytvoří smyčka, díky které je zvíře schopno zvedat jednotlivé poloviny svého těla (Hopkin, Read 1992). Rychlé svíjivé pohyby těla jako ochranu při vyrušení využívá řada druhů mnohonožek z řádu *Julida* i hrbulí (*Chordeumatida*). Tímto chováním mohou zastrašit predátora, který na ně náhodně narazí při přehrabování opadu, eventuálně v opadu zmizí jeho zrak (Evans, Blower 1973).

Fyziologickou obranou se rozumí produkce různých chemických sloučenin. Sekrece probíhá přes mikroskopické póry, které jsou umístěny na těle mnohonožek. *Penicillata*, *Sphaerotheriida* a *Chordeumatida* tyto obranné žlázy nemají. Eisner s kolegy (1996) zjistili tři hlavní obranné žlázy u mnohonožek. První typ žláz byl zkoumán u *Glomerida*. Bylo zjištěno, že mají osm párů žláz prostupující střed jejich hřbetu od 4. do 11. článku. Každá žláza je obklopena svaly, které pomáhají jejímu otevření. Například *Glomeris marginata* vyprodukuje sekret o hmotnosti 1 až 4 % své váhy. Jedná se většinou o sedativa nebo toxiny. Druhý typ obranných žláz u mnohonožek je relativně jednoduchý. Žlázy jsou složené z kulatého vaku, který obsahuje vlastní senzorycké buňky, které se na povrchu otevírají malými póry. Za normálních okolností jsou póry uzavřené. Sval stimuluje otevření pórů a sekrece může probíhat. Vak není obklopen svaly a síla k vyprodukování sekrece je nejspíš způsobena zvýšením tlaku hemolymfy. Tento typ žláz se nachází u většiny mnohonožek a obsahují velmi

širokou škálu chemických látek. K nejznámějším patří benzoquinony (Hopkin, Read 1992). Třetí typ obranných žláz byl objeven u plochulí (*Polydesmida*), které jako jediné produkují kyanid. Sekrece je umožněna díky dvěma oddílům, které žlázu tvoří. První oddíl produkuje mandelonitril, zatímco druhý oddíl obsahuje enzym, který katalyzuje mandelonitril na kyanid a benzaldehyd. Obsah těchto komor vyrábí speciální sekreční buňky, které jsou na stěnách těchto částí. Sekreční žlázy nejsou přítomny v každém článku jejich těla. *Polydesmida* jsou vysoce efektivní v odpuzování predátorů svými sekrety. Mnohonožky se těmito způsoby brání před napadením malých i velkých predátorů (Hopkin, Read 1992). Některé tyto substance jsou žíravé a dokážou poleptat exoskelety mravenců, nebo jiného hmyzu a taktéž kůži nebo oči i velkých predátorů (Eisner a kol. 1996). Nicméně není pochyb o tom, že i přes tyto obranné mechanismy je hodně mnohonožek predátory usmrceno (Hopkin, Read 1992).

1.2.1 Thanatóza u mnohonožek (*Diplopoda*)

Obranné chování mnohonožek zahrnuje mj. předstírání smrti (thanatóza). Thanatóza je stav ztuhlosti jako reakce na podněty z vnějšího prostředí. Tento stav ztuhlosti byl intenzivně zkoumán zejména u členovců (Prohammer, Wade 1981; Honma a kol. 2006; Miyatake a kol. 2009; Miyatake, Nakayama 2010), ale můžeme ji nalézt u různých druhů živočichů. Thanatóza se u mnohonožek vyznačuje stočením zvířete do kuličky, či spirály (obr 5, 6). Touto polohou těla skryjí své jinak citlivé, zranitelné nohy, hlavu a ventrální část (Blower 1985). Ochota mnohonožek zaujmout obrannou pozici závisí na okolnostech, například mnohonožky obývající kmene stromů musí všechny své nohy udržet přitisknuté k povrchu kmene, i když se stáčejí. Přičemž mnohonožky žijící na zemi, nemusejí působit proti gravitaci a mohou se stočit do dokonalé spirály. Z toho vyplývá, že stáčení těl mnohonožek se může lišit při vykonávání různých aktivit mnohonožek (Srinivasa, Mohanraju 2011).



Obrázek 5 Ukázka svinutí svinule do typické kuličky, (<http://www.nahuby.sk>).



Obrázek 6 Ukázka svinutí mnohonožky *Ommatoiulus moreleti* do charakteristické spirály, (<http://bie.ala.org.au/repo/1064/151/1519048/raw.jpg>).

Výzkumy thanatózy u dalších zástupců členovců

Quadros s kolegy (2012) se zabývala předstíráním smrti (thanatózou) u suchozemských stejnonožců. Ve svém experimentu zkoumala stav této ztuhlosti při mechanickém rušení stejnonožců na druzích *Balloniscus glaber*, *Balloniscus sellowii* a *Porcellio dilatatus*. Použila 3 podněty, které náhodně seřadila a zaznamenávala, zda při nich zvířata stav ztuhlosti navodila a délku trvání této reakce, případně, zda zvířata na daný stimul thanatózu nenavodila. Použité stimuly byly *touch*, *drop* a *squeeze*. Touch spočíval v opakovaném dotyku těla stejnonožce pinzetou. Squeeze bylo lehké zmáčknutí těla zvířete. Drop bylo upuštění stejnonožce z asi 10 cm výšky zpět do kelímku. Pokusy byly navrženy tak, aby stimulovaly různé predátory a přitom nezpůsobily poranění pokusným zvířatům. Každý druh byl testován v jednotlivých dnech a jedinci stejného druhu byli testováni ve stejný den. Podnět drop a squeeze byly opakovány 3x a v případě stimulu touch 5x. Pokud stimul thanatózu nevyvolal, byl jedinec označen jako nereaktivní. Pokud jedinec stav navodil a ukázal charakteristickou formu, byla doba thanatózy zaznamenána stopkami. Za konec odpovědi považovala Quadros mírný pohyb zvířete. Postupy byly opakovány do doby, než byli všichni jedinci podrobeni všem třem stimulům. V této studii se zkoumal vliv dvou faktorů na vyvolání thanatózy: vnitřní (pohlaví a velikost jedinců) a vnější (různé podněty). Ve výsledku byl nalezen vliv velikosti v citlivosti na reakce u *B. sellowii* a také vliv na typy

podnětů u obou *Balloniscus* druhů. *B. sellowii* byl druhem nejméně citlivým a *P. dilatatus* byl nejcitlivější. Menší jedinci druhu *B. sellowii* byli citlivější než jedinci větší. *P. dilatatus* reagoval rychleji, než *Balloniscus* spp., ti naproti tomu měli krátkou reakci. Žádný faktor, jako pohlaví, velikost, ani typ podnětu nevysvětlil různorodost nalezenou v projevech thanatózy. Výsledky ukázaly početnou variabilitu v nastolování stavu ztuhlosti, dokonce i mezi relativně blízkými druhy (Quadros a kol. 2012).

Saxena (1957) studoval thanatózu u svinky obecné (*Armadillidium vulgare*). Účinky stimulů byly prováděny při pokojové teplotě ve sklenkách obsahující vlhkou látku, zeminu a kousky shnilého dřeva. Stimuly vyvolávající thanatózu byly zkoumány u materiálů, jako byl vzduch, nit, štětec, vlákno a tužka. Při zkoumání aplikace vzduchu byla použita dutá skleněná tyčinka, do které se foukalo. Nit byla připevněna na špičatém konci skleněné tyčinky, aby ulehčila aplikaci stimulování určité oblasti těla svinky. Štětec byl vyroben z velbloudí srsti, vlákno bylo na volném konci polepeno, aby bylo tvrdší a nakonec tužka, jejíž plochý konec sloužil k vyvolávání thanatózy. Tužka představovala nejtvrdší podnět k vyvolání thanatózy. 50 zástupců bylo rozděleno do několika velikostních (tj. věkových) kategorií, bylo rozděleno do pěti skupin po desíti (A, B, C, D, E) a byly na nich aplikovány stimuly vzduch, nit, štětec, vlákno a tužka na břišní straně. Výsledky ukázaly, že je zde vzrůst v reakcích od lehkých k silnějším stimulům. Nejdelší reakce byla zaznamenána u podnětu tužka a to 9,23 sekund a žádná reakce byla zaznamenána u stimulu vzduch. Pozorování naznačila, že je zde vztah mezi délkou periody thanatózy a silou podnětu. Také zde bylo zjištěno, že opakováním stimulů, se délka průběhu thanatózy zkracovala. Podněty byly opakovány nejvíce 15x a pokud zvíře neukázalo stav ztuhlosti, bylo označeno za nereagující. Toto nereagování bylo také zmíněno u studie Kozanshikova (1931), který thanatózu pozoroval na bázlivci vrbovém (*Lochmaea capreae* L.) a může ukazovat habituaci testovaných živočichů. Saxena ve své práci studoval i vlivy světelného záření na dobu trvání thanatózy. Zjistil, že světelné expozice mají také na vliv předstírání smrti. Ukázalo se, že doba trvání thanatózy je úměrná světelné intenzitě světla. Stejných výsledků bylo dosaženo u experimentů Holmse (1906) na jehlankách (*Ranatra*). Při vysoké intenzitě světla většina jehlanek thanatózu neukázala, což může být způsobeno světelným podrážděním. Také byl Saxenou pozorován stabilní pokles v trvání stavu ztuhlosti, při zvýšeném času expozice světla. Při stejné intenzitě světla a světelné expozici 2 hodin, ukázaly svinky thanatózu v průměru 8,68 sekund. U šestihodinové světelné expozice se trvání thanatózy snížilo na 3,52 sekund. Saxena (1957) ve své práci také hodnotil vliv teploty na dobu trvání thanatózy a výsledky naznačují, že se trvání doby ztuhlosti snižuje s rostoucí teplotou (Saxena 1957).

Miyatake (2004) ve své studii zkoumal, zda je thanatóza adaptivní a jestli fitness hraje roli v jejím navozování. Experimenty prováděl na potěmnickovi druhu *Tribolium castaneum*. Byly u něj zkoumány tři podmínky přirozeného výběru, individuální odchylky, rozdíly ve fitness a dědičnost předstírání smrti. 48 brouků bylo samostatně umístěno do jamek a thanatóza byla navozována dotekem dřevěné tyčky břicha brouků. Studie spočívala ve vyvolání reakce a měření doby jejího trvání. Dotyk byl opakován, pokud brouk nezačal předstírat smrt. Pokud brouk nereagoval na dva opakující se doteky, byl označen za nereagujícího. Všechny studie byly prováděny mezi 13 a 17 hod v komoře, kde byla udržována teplota 25 °C a 60% vlhkost vzduchu. Na náhodném výběru 100 samic a 100 samců potěmnicka 15 dní starých bylo pozorováno předstírání smrti (F0 generace). Deset samců i samic s krátkým trváním thanatózy byli vybráni jako zástupci linie krátkého trvání, stejně tak bylo vybráno 10 zástupců linie dlouhého trvání thanatózy. Samci a samice z každé linie byli umístěni do plastového pohárku, kde mohli klást vajíčka, po dobu jednoho týdne. Jedinci z vajíček byli rozděleni dle pohlaví a umístěni do jiných plastových kelímků, kde měli možnost se vyvíjet. Když dosáhli stáří 10–15 dní, bylo náhodně vybráno 100 samců a 100 samic z každé linie a opět byl uskutečněn experiment s dobou trvání thanatózy (F1 generace). Dvě vybraná opakování testování pro krátkou i dlouhou linii byla zahájena současně a udržována v komoře. Tyto režimy pokračovaly 10 generací pro každou linii. Potěmníci z takto vyšlechtěných linií s krátkou a dlouhou dobou thanatózy byly podrobeni predančním testům, kdy se thanatóza zkoumala za přítomnosti skákavky. Pavouci byli vloženi vyhladovělí do misky spolu s broukem a bylo pozorováno jejich predanční chování. U predančních testů, pavouk brouka napadal jen, když kořist přišla k pavoukovi blíže. Pavouk útočil, když kořist bojovala, nebo se přemísťovala, pokud však kořist zůstala v nehybnosti a předstírala smrt, predátor o ní, po několika vteřinách, ztratil zájem – kořist přežila. Odpověď potěmníků na přítomnost skákavky v době trvání předstírání smrti ukázala dědičné změny ve schopnosti thanatózy. V desáté generaci výběru byl pozorován jasný rozdíl mezi dvěma vyšlechtěnými liniemi – téměř všichni brouci linie s dlouhou reakcí předstírali smrt (86 %), zatímco brouci linie krátkého trvání předstírání smrti upadli do thanatózy jen občas (7 %). Z pokusů vyplývalo, že predace byla výrazně vyšší u zástupců brouků z linie krátkého předstírání smrti než u linií dlouhého předstírání smrti (Miyatake a kol. 2004).

Arduino a Gould (1984) se zabýval adaptivností stavu nehybnosti na domestikovaných slepicích kura *Gallus gallus*. Kuřata byla vystavována různým podnětům, které ji umožňovaly různé možnosti k útěku. Jednotlivé stimuly byly na slepice aplikovány po dobu 15 sekund. V prvním testu byly podněty vyvolávány v podobě vycpaniny samice jestřába *Accipiter*

cooperi představující tři možnosti k útěku: bezvýznamnou, přiměřenou a dobrou. Bezvýznamná příležitost k útěku spočívala v přímém otočení vycpaniny čelem ke slepici. Přiměřená šance k útěku byla, když byl jestřáb otočen zády, či zde byly uloženy jen jeho napodobeniny očí. Poslední, dobrá možnost k útěku byla, kdy zde vycpanina jestřába ani jeho atrapy očí uloženy nebyly. V tomto experimentu byla testována kuřata naivní ke zkušenostem s navozováním stavu ztuhlosti. Ve druhé sadě testování byly jako stimuly použity dva páry napodobenin jestřábích očí, jakožto bezvýznamná šance k úniku, jeden pár očí představoval přiměřenou možnost k útěku a situace bez nastražených očí charakterizovala dobrou příležitost k úniku. Těmto pokusům byly vystaveny slepice znalé thanatózy. Výsledky ukázaly, že slepice v obou pokusech redukovaly dobu trvání imobility při dobrých možnostech k útekům. Závěry také napovídají, že slepice jsou schopné rozpoznat a ohodnotit pravděpodobnost k únikům. Nehybnost je nejspíše přizpůsobivá část programového chování (Arduino, Gould 1984).

Ohno a Miyatake (2007) se zabývali obranným chováním zrnokaze čínského (*Callosobruchus chinensis*). Zkoumali, zda si zrnokaz vybere předstírání smrti nebo odlet při napadení predátorem. Nejdříve provedli experiment upuštěním brouka z asi 1 cm výšky na plastový talířek. Pokud brouk na stimul nereagoval thanatózou ani na potřetí, byl zaznamenán jako inertní. Z 50 samců bylo vybráno sedm, kteří reprezentovali dlouhou dobu předstírání smrti, a sedm samců, kteří na stimul reagovali krátce, či vůbec. Podobně vybral i samice. Takto vybrané jedince rozmnožil, čímž získal generace, které pomáhaly zkoumat i vnitrodruhovou rozmanitost. Pro pokus testování odlétání, jako obranné reakce, byl ručně vyroben kvádr o rozměrech (50 cm x 50 cm x 30 cm). Uvnitř kvádru byly vytvořeny kruhy s poloměry 5, 10, 15, 20 a 25 cm. Ve středu vrchní části kvádru byla díra, kudy se jednotliví brouci vhadzovali a podle vzdálenosti, kterou po vhození dírou uletěli, byly zaznamenány jednotlivé schopnosti letu. Když brouk doletěl mezi poloměr 5–10 cm, dostal dva body, 10–15 cm tři body, 15–20 cm čtyři body, 20–25 cm pět bodů. Pokud brouk nedoletěl ani k poloměru 5 cm získal pouze jeden bod, když pouze spadl dolů, nezískal nic. Z 50 samců a z 50 samic bylo vybráno sedm samců a sedm samic s nejmenší schopností létat a podobně skupina s vysokou letovou schopností. Výzkum byl prováděn na více než osmi generacích a výsledky ukázaly negativní závislost; zrnokazi se schopností létat dále, ukázali slabší schopnost v předstírání smrti. Naopak brouci, kteří uměli létat méně, byli schopnější ukázat thanatózu (Ohno, Miyatake 2007).

Studií o thanatóze, neboli předstírání smrti u zvířat, je nepřehledné množství. V této práci budou experimenty thanatózy prováděny na dvou druzích mnohonožek; svinuli lesní (*Glomeris pustulata*) a špičance tmavé (*Leptoiulus trilobatus*).

2 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo zjistit dobu předstírání smrti (thanatózu) při aplikaci kombinací různých mechanických podnětů u svinule lesní (*Glomeris pustulata*) a špičanky tmavé (*Leptoiulus trilobatus*). Zjišťovala jsem, zda typ podnětu má vliv na dobu předstírání smrti a kolik stimulů je při různých podnětech zapotřebí, aby mnohonožka reagovala thanátózou. Zjišťovala jsem dále, zda pořadí podnětů má vliv na dobu předstírání smrti.

3 METODIKA

3.1 Sběr mnohonožek

Svinule lesní byly sbírány formou individuálního sběru a to převážně pod kůrou padlých stromů v polomu v NPR Hůrka u Hranic. Jedinci špičanky tmavé byli sesbírání v opadance lesů v Nýdku, v Moravskoslezském kraji. Větší množství jedinců bylo nalezeno po dešti. Počet jedinců každého druhu byl 150, dohromady tedy 300 jedinců. Mnohonožky byly uloženy v plastových boxech (rozměry 19 × 12 × 7 cm). Dno nádob bylo pokryto asi půlcentimetrovou vrstvou sádky, jež byla pravidelně zvlhčována, a obsahovalo pláty kůry z původní lokality, malé množství zeminy a kousky zeleniny (okurky, salát). Nádoby byly umístěny v místnosti s průměrnou teplotou 18 °C.

3.2 Hlavní experiment

Pokusy byly nejdříve prováděny na svinuli lesní. Svinule byly uloženy individuálně v malých plastových kelímcích (lékárnický kelímek s víčkem o průměru 6,5 cm a výšce 3,5 cm), který byl z boku prodírkován, byl do něj vložen kousek vlhkého savého papíru, kousek stromové kůry a kousek zeleniny (okurka, salát). Každý kelímek byl označen číslem (G1, G2, G3,... G150). Série experimentů byly stanoveny tak, aby se pořadí jednotlivých podnětů neopakovaly a byly prostřídány. Zvířata byla rozdělena do skupin po padesáti a na každé skupině byly prováděny jiné kombinace mechanických podnětů v různou denní dobu. Aplikovanými podněty byly dotek (*touch*, *T*), upuštění (*drop*, *D*) a zmáčknutí (*squeeze*, *S*). Tyto podněty byly vybrány, protože představují podněty, kterým mohou být vystaveny i v přírodě – dotek či sevření predátorem, doprovázené případným pádem při vyklouznutí s kusadel, čelistí či zobáku. Podnět touch spočíval v tlačení špičky pinzety do těla mnohonožky, až do okamžiku její reakce ve formě thanatózy. Touch napodoboval hledání mnohonožky hrabáním predátora v opadu, hlíně apod. Při aplikaci podnětu drop byla mnohonožka uchycena pinzetou a upuštěna z asi 10 cm výšky, zpátky do kelímku. Squeeze spočíval v chycení mnohonožky do pinzety a lehkého zmáčknutí, ve snaze stimulovat kousnutí mravence, či zobnutí ptáka (Quadros a kol. 2012). Stimuly byly opakovány až pětkrát – do vyvolání thanatózy. Počet pokusů (stimulů) o navození thanatózy byl během měření zaznamenáván. Pokud podnět reakci u jedince nevyvolal, tato skutečnost byla zaznamenána. Pokud jedinec reagoval thanatózou, bylo trvání tohoto stavu zaznamenáno stopkami. Pokud jedinec v thanatóze setrval více než 15 minut, byla tato skutečnost opět zaznačena a dále se čas již nezaznamenával. Konec odpovědi nastal při jemném pohybu jedince. Kombinace podnětů byly následující: touch, drop, squeeze byly prováděny na zvířatech 1–50; drop, squeeze, touch na zvířatech 51–100 a squeeze, touch, drop na zvířatech 101–150. Každý jedinec byl podroben nejdříve prvnímu podnětu, poté druhému a pak třetímu podnětu. Měření bylo navíc prováděno v různou denní dobu. V zájmu dosažení jasných závěrů z prováděného měření, byly na skupiny živočichů 1–50 aplikovány kombinace podnětů T, D, S v ranních hodinách (7–11 hod). U skupin mnohonožek 51–100 byly podněty D, S, T použity v odpoledních hodinách (12–16 hod). Měření posledních zástupců mnohonožek 101–150 bylo uskutečňováno v hodinách večerních (17–21 hod), (tab. 1). Podněty byly na mnohonožky aplikovány tehdy, když nezaujímal obranný postoj, tj. thanatózu.

Celý tento komplex pokusů byl opakován pětkrát. Opakování měření proběhlo z důvodu dosažení co nejpřesnějších výsledků, případné individuální chování jednotlivých zvířat a pro rozdílnost mezi jednotlivci obou druhů. Pokusy u druhého druhu *Leptoiulus trilobatus* byly prováděny za stejných podmínek, ve stejném pořadí podnětů, opět s aplikací až pěti stimulů, ovšem kelímky byly značeny J1, J2,... J150 a obsahovaly vlhký papír a opadanku, což mělo přiblížit jejich přirozené prostředí výskytu.

Tabulka 1 Přehled kombinací stimulů na daných skupinách zvířat

KOMBINACE PODNĚTŮ	SKUPINY ZVÍŘAT	DENNÍ DOBA APLIKACE PODNĚTŮ (hod)
T, D, S	1 - 50	7 – 11
D, S, T	51 - 100	12 – 16
S, T, D	101 - 150	17 – 21

3.3 Zpracování dat

V programu Microsoft Excel byla do tabulek zapsána všechna měření. Jednotliví jedinci byli vepsáni do sloupce s názvem KÓD, *Glomeris* jako G1–G150 a *Leptoiulus* jako J1–J150. V následujících sloupcích byly zaznamenány jednotlivé podněty a pod tyto sloupce byly vepsány časy thanatóz, které byly daným živočichem vyvolány na daný podnět. Jednotlivé podněty byly opět značeny T pro touch, D drop a S squeeze. Doba předstírání smrti byla poznamenána v sekundách, pro snadnější výpočty. Počet provedení stimulů, než živočich zareagoval thanatózou, byly zaneseny do sloupce Tp – touch-počet, Dp – drop-počet a Sp – squeeze-počet. Těchto počtů pokusů (stimulů) bylo na zvířatech prováděno až pět. V případě, že živočich na žádný stimul nezareagoval ani na pátý pokus, byla v tabulkách zapsána 0. Pokud živočich naopak projevil thanatózu na více než 15 minut, déle se již nestopovalo a v tabulkách bylo zapsáno 1000 sekund. Graficky byla vyjádřena průměrná doba reakce každého druhu pro jednotlivé podněty, variabilita v době předstírání smrti byla znázorněna pomocí směrodatné odchylky. Pomocí statistické metody ANOVA byly testovány shodnosti doby reakce mezi podněty. Statistická významnost výsledku byla posouzena na pětiprocentní

hladině pravděpodobnosti ($p = 0,05$). Analýzy byly provedeny v programu Microsoft Excel z balíku Microsoft Office.

Tímto způsobem byly testovány rozdíly mezi dobou předstírání smrti u jednotlivých druhů s ohledem na 1) typ podnětu a 2) počet stimulů nezbytných k vyvolání thanatózy. Tyto analýzy byly u obou druhů zopakovány ještě s ohledem na pořadí podnětu bez ohledu na jeho typ – tím bylo zjištěno, zda při jedné sérii pozorování mnohonožka zaujme obranou pozici při opakovaném dráždění spíše dříve a na delší dobu, nebo naopak.

3.3.1 Reaktivita mnohonožek na mechanické podněty.

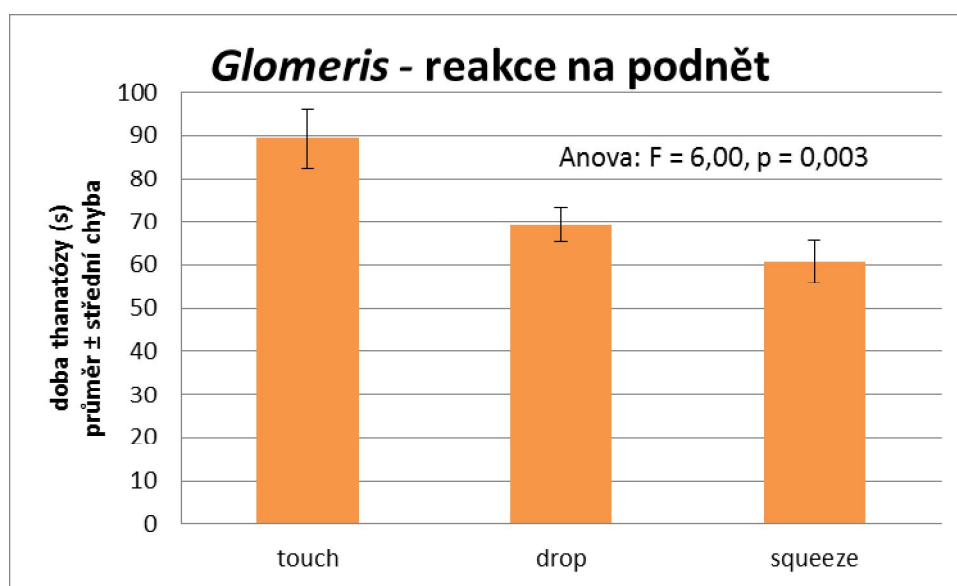
Touto analýzou bylo vyhodnoceno procentuální zastoupení reakcí a nereakcí na mechanické podněty u obou druhů. Nebyly zde důležité typy podnětů, jejich pořadí, počet aplikací stimulů, ani denní doba provádění měření.

Z tabulek, ve kterých byla zapsána všechna opakování měření pro všechny jedince s jejich dobou thanatózy na určité podněty, byli vytríděni ti jedinci, kteří thanátózou nezareagovali ani na jeden typ podnětu. To znamená, jedinci, kteří měli v celém řádku zapsanou 0, byli sečtení zvlášť pro rod *Glomeris* a zvlášť pro rod *Leptoiulus*. Z těchto čísel pak bylo vypočítáno procentuální zastoupení reakcí, či nereakcí na mechanické podněty u svinulí a špičanek. Touto analýzou byla zjištěna „reaktivita“ jednotlivých druhů k mechanickým podnětům.

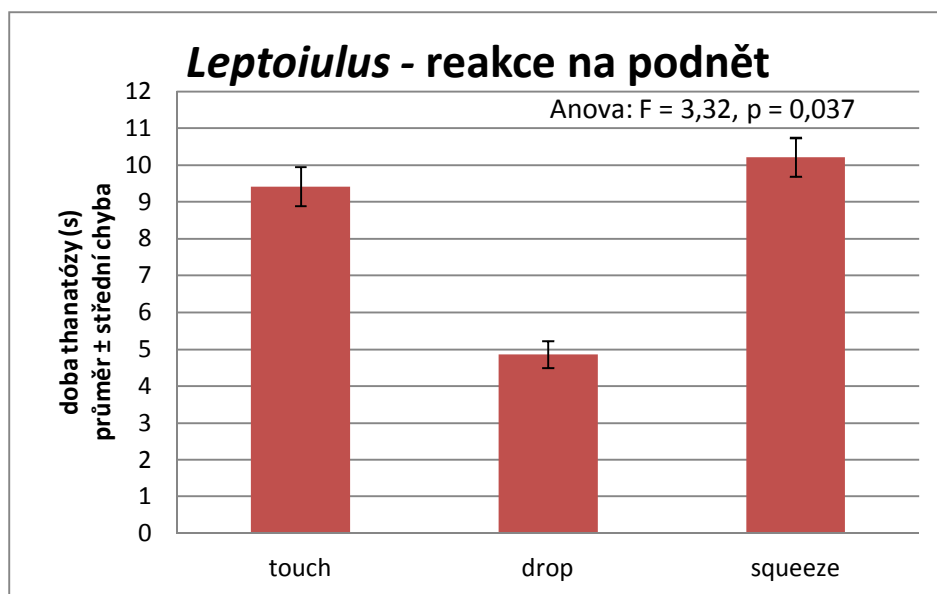
4 VÝSLEDKY

4.1 Podnět vyvolávající nejdelší dobu trvání thanatózy

Z analýzy chování svinule vidíme (obr. 7), že jednotlivé typy podnětů nejsou rovnocenné v době reakce (ANOVA: $F = 6,00$ $p < 0,003$). Svinule reagovaly nejdelší thanátózou na podnět touch, poté drop a jako poslední na squeeze. U mnohonožek rodu *Leptoilulus* byly také významné rozdíly v nastolování thanatózy mezi jednotlivými typy podnětů (ANOVA: $F = 3,32$ $p < 0,037$). Je zřejmé, že špičanky reagovaly nejvíce na podnět squeeze (obr. 8), nejkratší thanátózu u nich vyvolal podnět drop.



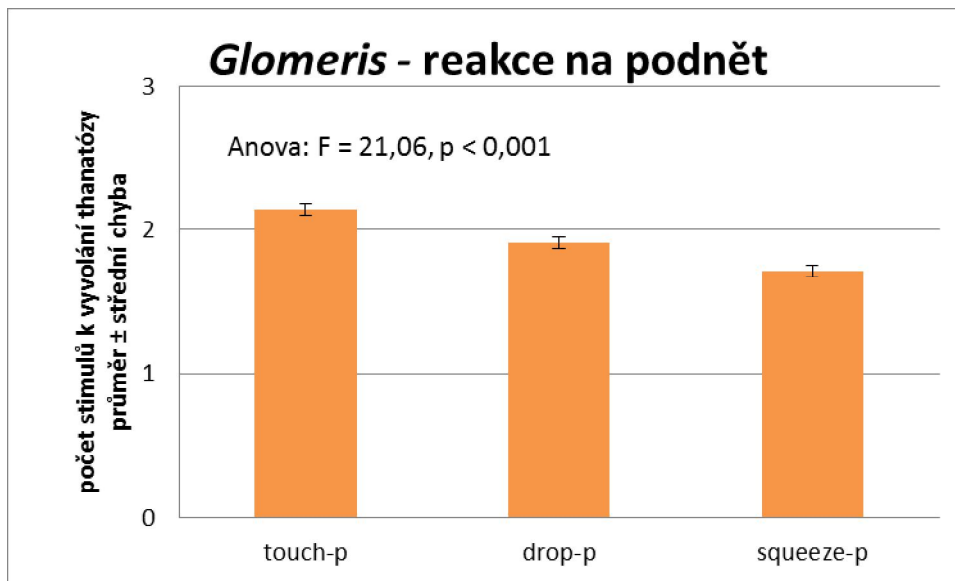
Obrázek 7 Výsledný graf analýzy jednotlivých typů podnětů vyvolávající nejdelší dobu trvání thanatózy u *Glomeris*.



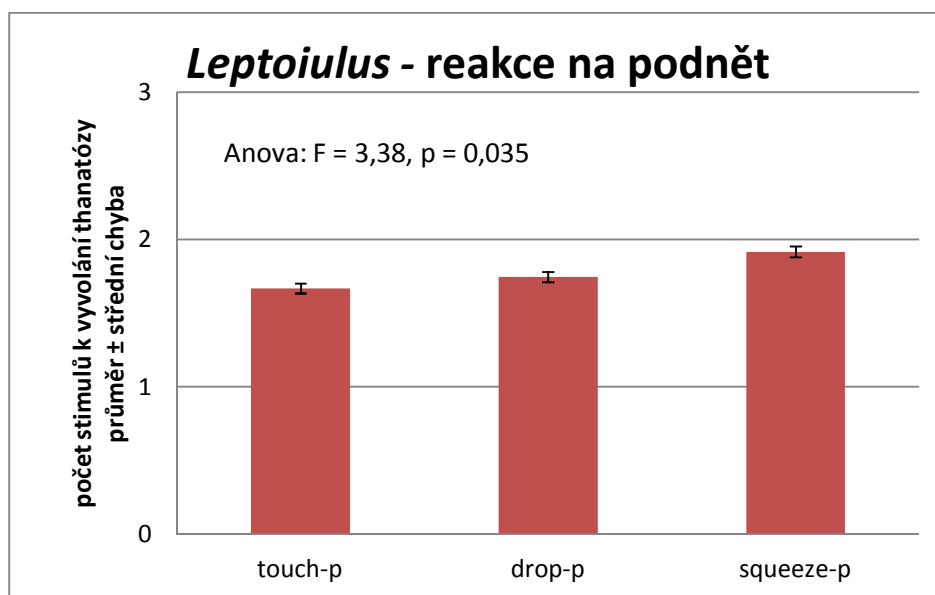
Obrázek 8 Výsledný graf analýzy jednotlivých typů podnětů vyvolávající nejdelší dobu trvání thanatózy u *Leptoilulus*.

4.2 Počet nutných stimulů k vyvolání thanatózy

Oba druhy mnohonožek reagovaly odlišně na jednotlivé podněty. Svinule se stáčela do kuličky nejrychleji (tj. při průměrně nejnižším nutném počtu stimulů) při podnětu squeeze, u podnětu touch bylo nutné k vyvolání thanatózy aplikovat průměrně více než dva stimuly (obr. 9), tyto rozdíly byly statisticky významné (ANOVA: $F = 21,06$, $p < 0,001$). Také u špičanky byly signifikantní rozdíl v počtu nutných stimulů pro vyvolání thanatózy u jednotlivých podnětů (ANOVA: $F = 3,38$, $p < 0,035$), nejnižší počet stimulů k vyvolání thanatózy vyžadoval podnět touch, nejvíce podnět squeeze (obr. 10).



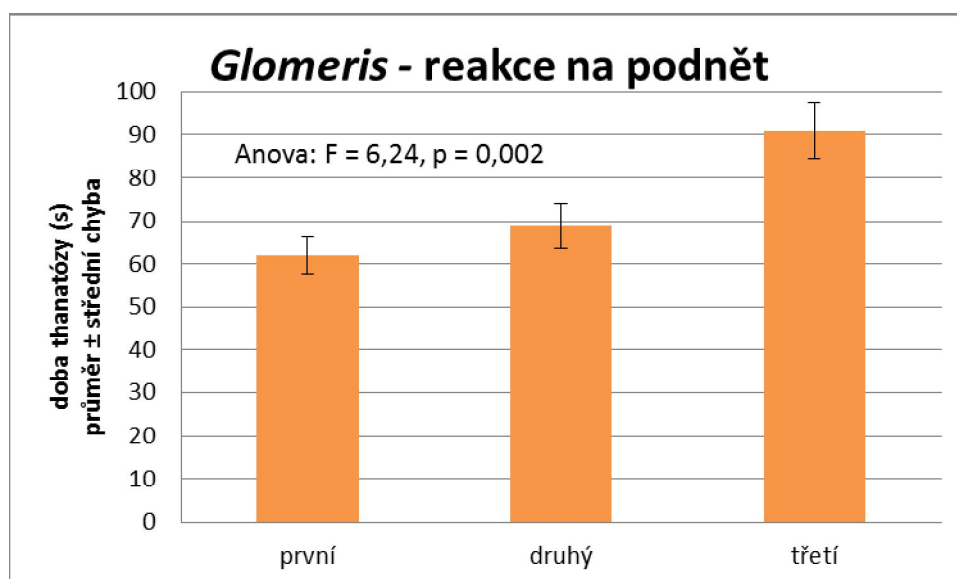
Obrázek 9 Výsledný graf analýzy počtu stimulů k vyvolání thanatózy na počty jednotlivých typů podnětů u *Glomeris*.



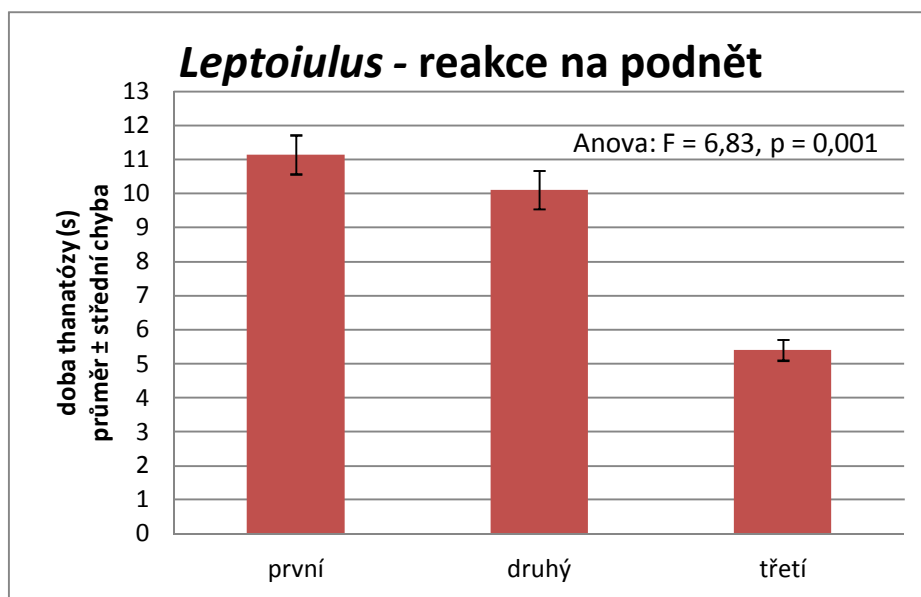
Obrázek 10 Výsledný graf analýzy počtu stimulů k vyvolání thanatózy na počty jednotlivých typů podnětů u *Leptoiulus*.

4.3 Doba thanatózy v závislosti na pořadí podnětu

V průběhu jednoho experimentu byly vždy postupně aplikovány tři podněty v různém pořadí. Tato analýza se zaměřila na vliv pořadí podnětu na dobu trvání thanatózy bez ohledu na typ podnětu. Je zjevné (obr. 11), že doba reakce na podnět se u svinule prodlužovala, doba předstírání smrti na třetí podnět byla statisticky průkazně nejdelší (ANOVA: $F = 6,24$, $p = 0,002$). Opačný výsledek byl zjištěn u špičanky, nejdelší doba předstírání smrti byla na první podnět, ostatní podněty vyvolaly kratší reakci (obr. 12). Také tyto rozdíly byly statisticky průkazné (ANOVA: $F = 6,83$, $p = 0,001$).



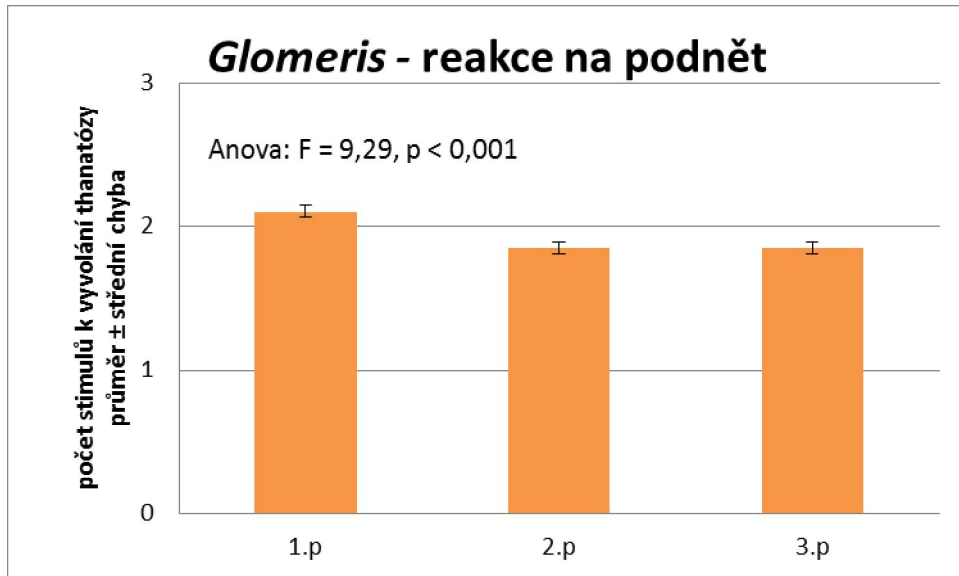
Obrázek 11 Výsledný graf analýzy doby thanatózy na pořadí provádění podnětů u *Glomeris*.



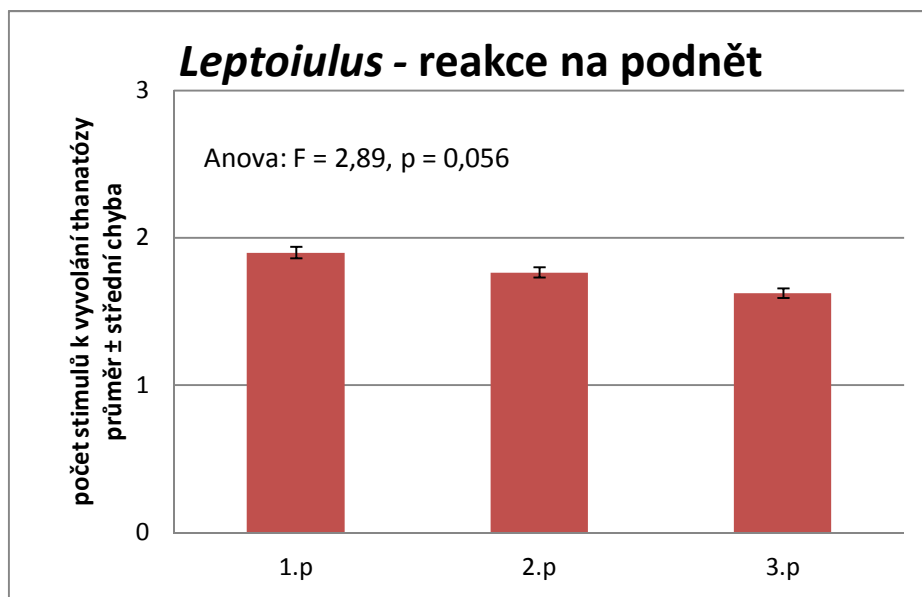
Obrázek 12 Výsledný graf analýzy doby thanatózy na pořadí provádění podnětů u *Leptoiulus*.

4.4 Počet nutných stimulů k vyvolání thanatózy s ohledem na pořadí podnětu

Výsledky pro svinule naznačují, že při provádění prvního podnětu bylo potřeba více než dvou stimulů k navození thanatózy, zatímco u druhého nebo třetího podnětu bylo třeba stimulů méně (obr. 13), tyto rozdíly byly statisticky průkazné (ANOVA: F = 9,29, p < 0,001). Také u špičanky se snižoval počet nutných stimulů k navození thanatózy během experimentu (obr. 14), tyto rozdíly však byly statisticky těsně nad hranicí významnosti (ANOVA: F = 2,89, p = 0,056).



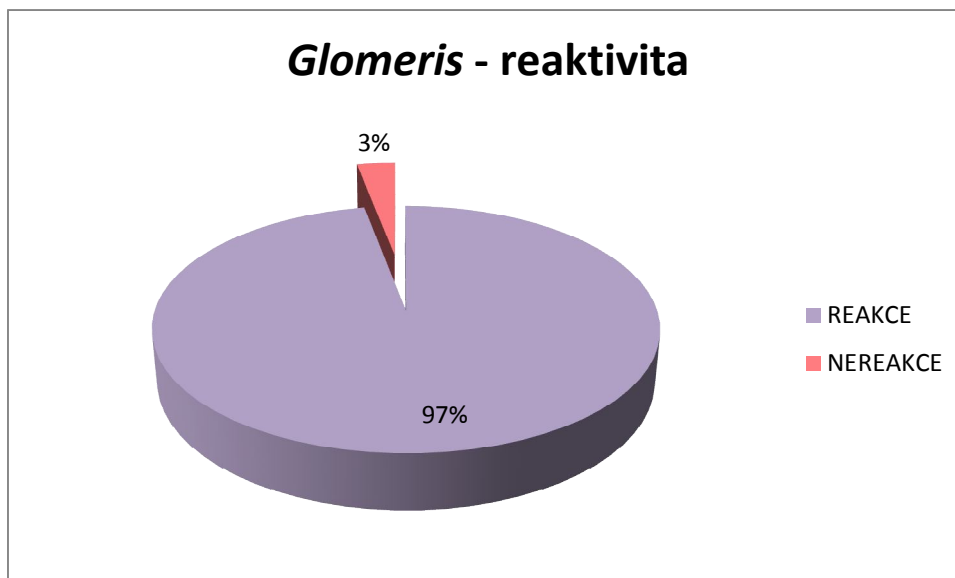
Obrázek 13 Výsledný graf analýzy počtu stimulů k vyvolání thanatózy na pořadí provádění podnětů u *Glomeris*.



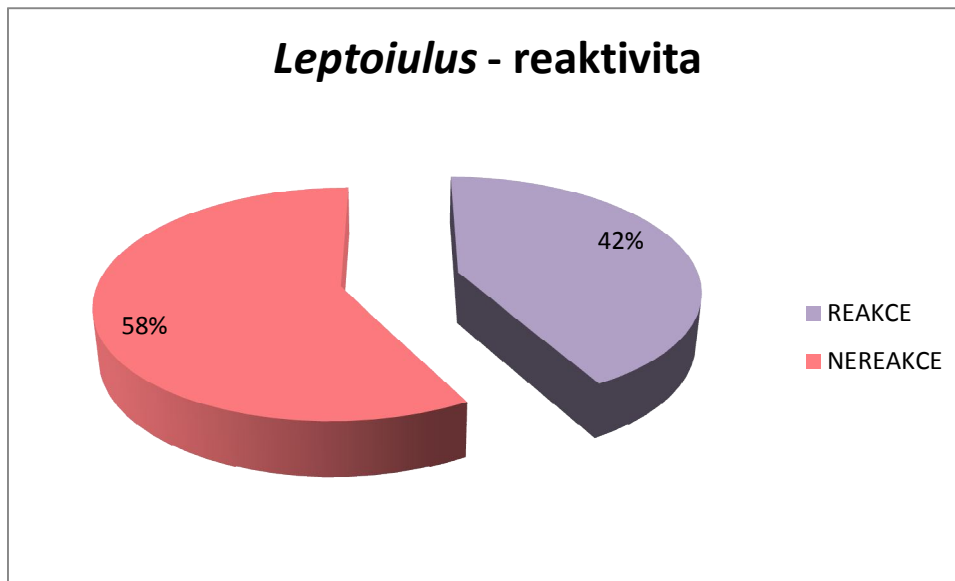
Obrázek 14 Výsledný graf analýzy počtu stimulů k vyvolání thanatózy na pořadí provádění podnětů u *Leptoiulus*.

4.4 Procentuální zastoupení reaktivity k thanatóze

Výsledky z analýzy ukazují (obr. 15, 16), že rod *Glomeris* je k nastolování thanatózy o mnoho citlivější než rod *Leptoiulus*. Reakce v podobě thanatózy na jakýkoli mechanický podnět u *Glomeris* silně převažovala. Po aplikaci mechanického podnětu thanátózu navodilo až 97 % svinulí. Nereakce na mechanický podnět byla zastoupena jen ve 3 %. U rodu *Leptoiulus* se thanátóza na mechanické vyrušení objevila ve 42 %. Zatímco nereakce byla ve větší polovině, tedy v 58 %. Typ podnětu, jeho pořadí, počet stimulů, ani denní doba aplikace zde nefigurovala. Výsledky naznačují, že obrannou strategií u *Glomeris* je většinou případů thanátóza, u *Leptoiulus* převažuje svižné mrskání.



Obrázek 15 Výsledný graf reaktivity na mechanické podněty u *Glomeris*.



Obrázek 15 Výsledný graf reaktivity na mechanické podněty u *Leptoiulus*.

5 DISKUZE

Ve své práci jsem zkoumala, jak mohou různé mechanické podněty navodit thanatózu u mnohonožek (*Diplopoda*). Zjišťovala jsem, zda typ podnětu má vliv na dobu předstírání smrti a kolik stimulů je při různých podnětech zapotřebí, aby mnohonožka reagovala thanatózou. Zjišťovala jsem dále, zda pořadí podnětů má vliv na dobu předstírání smrti. Modelovými živočichy byly druhy svinule lesní (*Glomeris pustulata*) a špičanka tmavá (*Leptoiulus trilobatus*). Mechanické podněty byly vybrány tak, aby napodobovaly útoky různých predátorů. Obranná reakce živočicha bylo nastolení thanatózy, čili stavu ztuhlosti neboli „předstírání smrti“. Thanatóza je mechanismus, kterým někteří živočichové disponují při obranných reakcích (Flasarová 1976). K analýzám byla použita statistická matematická metoda ANOVA, kterou byly zjišťovány rozdíly v době nastolení thanatózy mezi jednotlivými podněty, mezi podněty dle pořadí i rozdíly mezi počtem stimulů potřebných k vyvolání reakce.

Z výsledků vyplývá, že *Glomeris pustulata* je nejcitlivější na podnět touch, na který reaguje nejdelší thanatózou. Druhým podnětem vyvolávajícím nejdelší dobu thanatózy byl drop a třetí squeeze. Svinule tedy rozlišuje typy podnětů, na které reaguje různou dobou thanatózy. Podnět touch může napodobovat predátory; hlavně ty, kteří se přehrabují v listí či

se jím prodírají (Quadros a kol. 2012). Podnět touch u svinulí navodil thanatózu nejspolehlivěji a na nejdelší dobu. Nejdelší reakce v podobě thanatózy na podnět touch mohla být způsobena tím, že se s ním mnohonožky setkávají ve volné přírodě nejčastěji – „každou chvíli do nich někdo šťouchne“. Svinutí do kuličky a předstírání mrtvého může být vhodná reakce, jak neupoutávat pozornost predátora při náhodném kontaktu (Hopkin, Read 1992). Tento stav ztuhlosti byl pozorován už při samotném sběru jednotlivých jedinců a to při hrabání v opadaném listí, či odkývání kůry stromu. Tyto činnosti mohly úzce souviset s jednotlivými podněty. Touch mohl být způsobován hrabáním v opadance a drop při spadnutí jedince z odloupnuté kůry stromů. Z výsledků projevů nejdelšího předstírání smrti u druhu mnohonožek *Leptoiulus trilobatus* je zřejmé, že jsou o mnoho méně náchylné k vyvolání thanatózy než svinule. Při opakování aplikací různých typů podnětů, mnozí jedinci rodu *Leptoiulus* ukázali místo thanatózy naopak zvýšenou aktivitu v podobě „svižného mrskání“. Toto zmítání se je také druh obranné reakce a umožňuje jedincům predátorovi vyklouznout a v opadu se ztratit (Hopkin, Read 1992). V době sběru byly špičanky nalézány v nesvinuté formě a často sebou mrskaly, což může potvrzovat to, že špičanky tmavé nevyužívají thanatózu jako první možnost k ochraně před predátory. Pokud zástupci druhu *Leptoiulus trilobatus* thanátózou reagovali, bylo to nejdéle na podnět squeeze. Nejkratší thanátózu vyvolal podnět drop. Pokud nějaký predátor špičanku upustí (drop) ta se velmi často snaží spíše utéci a mrskat sebou.

Z výsledků analýzy počtu stimulů k vyvolání thanatózy je zjevné, že oba zkoumané druhy mají jiný pattern odpovědi. Svinule reagovaly thanátózou až na průměrně druhý stimul u podnětu touch. Ostatní podněty stačilo aplikovat méně často, aby vyvolaly obranný postoj (thanátózu). Naproti tomu mnohonožky rodu *Leptoiulus* reagovaly nejcitlivěji právě na podnět touch, ostatní podněty bylo třeba aplikovat vícekrát k navození reakce. Vysvětlení lze vidět právě u obvyklosti jednotlivých podnětů v životě obou druhů. Svinule se s dotykem s jinými živočichy setkávají poměrně často, a jelikož žijí ve skupinách, často se jich dotýkají jiné svinule stejného druhu (Dangerfield, Telford 1993). Reagovat na každý dotyk svinutím by proto bylo neefektivní. Až opakovaný dotek může být podobný zájmu predátora, který „ohmatává“ svou kořist. V tom případě je vhodné se svinout a zůstat svinutý velmi dlouho – dokud nebezpečí nepomine. Naproti tomu špičanky v případě náhodného doteku mohou reagovat stočením se do spirály. Naopak, v případě uchopení do kusadel či do zobáku, případně po následném upuštění, je velmi vhodné se začít prudce zmítat. Je pravděpodobné, že zmítající se zvíře lze jen špatně znovu uchopit, eventuálně může být predátor zastrášen

(Hopkin, Read 1992). Thanatózou proto může špičanka reagovat až v případě, že je podnětu squeeze či drop vystavena opakovaně – jako by si „uvědomila“, že dosavadní strategie není účinná. Zmítání a mrskání se jako obrannou strategii využívá i řada jiných druhů živočichů, například hadi (např. Placyk 2012).

Zaměříme-li se na thanatózu, coby obrannou pozici s ohledem na pořadí podnětu, zjistíme, že doba předstírání smrti se během jednoho experimentu u svinulí prodlužovala, zatímco u špičanek se zkracovala. To může souviset s tím, že svinule nemají k dispozici jiné obranné chování, než svinutí se do kuličky. Mnohonožky rodu *Leptoiulus* naproti tomu jsou relativně rychlejší a mohou se po krátké chvíli pokusit z místa, kde jsou opakovaně vyrušovány „nepozorovaně zmizet“ (Hopkin, Read 1992).

Pro oba druhy společně platí, že jedinci se po aplikování více opakování stimulů, stávali citlivější. Tedy u prvního podnětu bylo potřeba k navození thanatózy více stimulů, než u druhého a pak třetího podnětu. Situaci, kdy opakovaný podnět vyvolává silnější či delší reakci, nazýváme jako senzitivace – živočich se učí rozpoznávat podnět a reagovat na něj rychleji či výrazněji (Veselovský 2005). Opačná situace, kdy opakovaný podnět vyvolává slabší reakci a živočich se učí na něj postupně nereagovat, se nazývá habituace.

V reaktivitě na jakýkoli typ podnětu, reagovaly thanatózou častěji jedinci rodu *Glomeris*. Zástupci rodu *Leptoiulus* ve většině případů ukázali obrannou strategii ve formě mrskání a v pouhých 3 % navodili thanatózu. Je patrné, že svinule disponují obrannou strategií ve formě stáčení se do kuličky, kdežto špičanky se umí stočit do spirály, či sebou mrskat. Pokud nějaký predátor svinuli upustí, ta se stočí do kuličky a snaží se na sebe neupozornit. Když predátor upustí špičanku, stočit do spirály se může, ale pokud strategie neuspěje, začne sebou tato mnohonožka hbitě mrskat, tím může predátorovi vyklouznout a v opadu se ztratit (Hopkin, Read 1992). Predátora obou druhů mohou také odpudit i chemické obrany, které mají oba rody k dispozici. *Glomeris* mají výměšky lepivé, tím predátorovi zalepí čelisti, kusadla či zobák. Naproti tomu *Leptoiulus* mají benzoquinony, které jsou hořké a nechutné a taky je možné, že svým mrskáním umožní šířit zápach a tím predátora odpudit (Hopkin, Read 1992).

6 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo zjistit dobu předstírání smrti (thanatózu) při aplikaci kombinací různých mechanických podnětů u svinule lesní (*Glomeris pustulata*) a špičanky tmavé (*Leptoiulus trilobatus*). Zjišťovala jsem, zda typ podnětu má vliv na dobu předstírání smrti a kolik stimulů je při různých podnětech zapotřebí, aby mnohonožka reagovala thanátózou. Zjišťovala jsem dále, zda pořadí podnětů má vliv na dobu předstírání smrti.

Na základě výsledků je patrné, že o mnoho citlivější k navozování thanatózy vůči vybraným mechanickým podnětům jsou jedinci druhu *Glomeris pustulata*, přičemž nejdelší thanátózou reagovali na podnět touch. Nejkratší thanátózu navodil podnět squeeze. U druhu *Leptoiulus trilobatus*, byly výsledky jiné a jedinci se vyznačovali vyšší aktivitou během testování. Špičanka tmavá při aplikacích ukazovala jiný způsob obranné strategie, než svinule lesní. Jednalo se v převážné většině o charakteristické mrskání. Jedinci rodu *Leptoiulus* jsou méně citliví k nastolování thanatózy než *Glomeris*. Pokud špičanka tmavá na podnět thanátózou zareagovala, bylo to nejdéle na podnět squeeze. Nejkratší stav předstírání smrti navodil podnět drop. Pokud tedy predátor špičanku upustí, bude se chtít predátorovi v opadu ztratit a tím přistoupí k obranné reakci zmítání se. Jedinci rodu *Leptoiulus* tedy disponují obrannou reakcí stáčení se do spirály i svižným mrskáním. V různých situacích proto mohou zareagovat jiným typem obranné strategie. Naopak zástupci rodu *Glomeris* se na svou obranu mohou stočit „jen“ do charakteristické pevné kuličky.

Z aplikací počtu stimulů k nastolování thanatózy je zřetelné, že oba zkoumané druhy mají jiné vzorce odpovědí. Svinule lesní reagovaly thanátózou až na průměrně druhý stimul u podnětu touch. Ostatní podněty stačilo aplikovat méně často, aby thanátózu vyvolaly. Vysvětlení můžeme hledat opět ve volné přírodě, kde jsou svinule podnětu touch vystavovány nejčastěji, neboť se vyskytují ve skupinách s ostatními jedinci stejného druhu. Ovšem opakovaný dotek thanátózu může vyvolat. Naproti tomu špičanky tmavé reagovaly nejcitlivěji právě na podnět touch, ostatní podněty bylo třeba aplikovat vícekrát k navození thanatózy. Při náhodném doteku mohou reagovat stočením se do spirály. Naopak, v případě uchopení do kusadel či do zobáku, případně po následném upuštění, je velmi vhodné se začít prudce zmítat.

Doba thanatózy s ohledem na pořadí podnětů se během jednoho experimentu u svinulí prodlužovala, zatímco u špičanek se zkracovala. To může znova souviset s tím, že svinule nemají k dispozici jiné obranné chování, než svinutí se do kuličky. Naproti tomu špičanky jsou relativně rychlejší a mohou se po krátké chvíli pokusit z místa, kde jsou opakovaně vyrušovány zmizet svým mrskáním.

Společně pro oba druhy platí, že se jedinci po aplikování více opakování stimulů stávali citlivější. Na první podnět bylo třeba použít více stimulů k nastolení thanatózy, než u druhého a pak třetího podnětu. Což může napovídat o tom, že se jedinci byli schopni naučit rozpoznávat podnět a rychleji, či výrazněji na něj reagovat.

Bez ohledu na typ podnětu, reagovaly thanátózou častěji svinule. Byli tedy reaktivnější, citlivější k vyvolání thanatózy. Špičanky ve většině případů ukázali obrannou strategii ve formě mrskání a ve zbylých pár procentech navodili thanátózu. Závěrem tedy můžeme opět poukázat na to, že svinule používají jako obrannou strategii stáčení se do kuličky, špičanky disponují stáčením se do spirály i hbitým mrskáním. *Glomeris* tedy ve formě kuličky počká, než rušivý element přejde. Naopak *Leptoiulus* může zvolit, která obrana bude pro něj v daný okamžik efektivnější, či se stočit do spirály nebo sebou zmítat a tak se predátorovi ztratit.

Výsledky obou druhů ukázaly početnou variabilitu v době nastolování thanatózy k různým mechanickým podnětům. Různorodost byla i u počtu stimulů potřebných k tomu, aby mnohonožky zareagovaly thanátózou. Stejně tak i pořadí podnětů mělo vliv na dobu předstírání smrti.

7 LITERATURA

- Arduino, P.J., Gould, J.L. (1984): Is tonic immobility adaptive? *Animal Behaviour*, 32: 921–923.
- Bano, K., Krishnamoorthy, R.V. (1981): Consumatory responses of the millipede *Jonespeltis splendidus* (Verhoeff) in relation to soil organic matter. *Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.)*, 90: 631–640.
- Blower, J.G. (1955): Millipedes and centipedes as soil animals. In: D.K.McE. Kevan (ed.): *Soil zoology. Proceedings of the University of Nottingham Second Easter School in Agricultural Science*, Butterworth Scientific Publications: 138–151.
- Blower, J.G. (1985): Millipedes. *Synopses of the British Fauna*, 35. Leiden/London, Brill/Blackhuys.
- Cloudsley-Thompson, J.L. (1952): The behaviour of centipedes and millipedes. I. Responses to environmental stimuli. *Annals and Magazine of Natural History*, ser. 12, 5: 417–434.
- Dangerfield, J.M., Telford, S.R. (1993): Aggregation in the tropical millipede *Alloporus uncinatus* (Diplopoda: Spirostreptidae). *Journal of Zoology*, 230: 503–511.
- David, J.F., Handa, I.T. (2010): The ecology of saprophagous macroarthropods (millipedes, woodlice) in the context of global change. *Biological Reviews*, 85: 881–895.
- Eisner, T., Eisner, M., Deyrup, M. (1996): Millipede defense: use of detachable bristles to entangle ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93: 10848–10851.
- Evans, M. E. G., Blower, J. G. (1973): A jumping millipede. *Nature*, 246: 427–428.
- Flasarová, M. (1976): O našich svinkách (Isopoda, Oniscidea). *Živa*, 24: 23–24.
- Golovatch, S.I., Kime, R.D. (2009): Millipede (Diplopoda) distributions: A review. *Soil Organisms*, 81: 565–598.
- Hoffman, R.L. (1982): Chilopoda. In: Parker, S.P. (ed.): *Synopsis and classification of living organisms*, vol. 2. McGraw-Hill Book Company, New York: 681–688.

- Honma, A., Oku, S., Nishida, T. (2006): Adaptive significance of death feigning posture as a specialized inducible defense against gape-limited predators. *Proceedings of the Royal Society of London, B* 273: 1631–1636.
- Hopkin, S.P., Read, H.J. (1992): *The Biology of Millipedes*. Oxford Science Publications, Oxford.
- Kime, R.D., Enghoff, H. (2011): *Atlas of the European Millipedes (Class Diplopoda)*. Volume 1. Orders Polyxenida, Glomerida, Platydesmida, Siphonocryptida, Polyzoniida, Callipodida, Polydesmida. Pensoft, Sofia-Moscow.
- Miyatake, T., Katayama, K., Takeda, Y., Nakashima, A., Mizumoto, M., Mizumoto, M. (2004): Is death-feigning adaptive? Heritable variation in fitness difference of death-feigning behaviour. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 271: 2293–2296.
- Miyatake, T., Nakayama, S., Nishi, Y., Nakajima, S. (2009): Tonicly immobilized selfish prey can survive by sacrificing others. *Proceedings of the Royal Society B*, 276: 2762–2767.
- Nakayama, S., Miyatake, T. (2010): A behavioral syndrome in the adzuki bean beetle: Genetic correlation among death feigning, activity, and mating behavior. *Ethology*, 116: 108–112.
- Ohno, T., Miyatake, T. (2007): Drop or fly? Negative genetic correlation between death-feigning intensity and flying ability as alternative anti-predator strategies. *Proceedings of the Royal Society B*, 274: 555–560.
- Placyk, J. S. (2012): The role of innate and environmental influences in shaping antipredator behavior of mainland and insular gartersnakes (*Thamnophis sirtalis*). *Journal of Ethology*, 30: 101–108.
- Prohammer, L. A., Wade, M. J., (1981): Geographic and genetic variation in death-feigning behavior in the flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Behavior Genetics*, 11: 395–340.
- Quadros, A.F., Bugs, P.S., Araujo, P.B. (2012): Tonic immobility in terrestrial isopods: intraspecific and interspecific variability. *ZooKeys*, 176: 155–170.

- Saxena, S.C. (1957): An experimental study of thanatosis in *Armadillidium vulgare* (Latreille). Journal of the Zoological Society of India, 9: 192–199.
- Shelley, R.M. (2007): Taxonomy of extant Diplopoda (Millipeds) in the modern era: Perspectives for future advancements and observations on the global diplopod community (Arthropoda: Diplopoda). Zootaxa, 1668: 343–362.
- Srinivasa, Y.B., Mohanraju, J. (2011): To coil, or not to – activity associated ambiguity in defense responses of millipedes. J Insect Behav, 24:488–496.
- Tuf, I.H., Tuřová, J. (2008): Proposal of ecological classification of centipede, millipede and terrestrial isopod faunas for evaluation of habitat quality in Czech Republic. Čas. Slez. Muz. Opava (A), 57: 37–44.
- Veselovský, Z. (2005): Etologie. Biologie chování zvířat. Academia, Praha.
- <http://bie.ala.org.au/repo/1064/151/1519048/raw.jpg>
- <http://www.boldsystems.org>
- <http://www.naruby.sk>
- www.biolib.cz