

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Katedra ekologie



Česká
zemědělská
univerzita
v Praze

Nikola Gramanová

**Schopnost lumčíka *Dinocampus coccinellae* parazitovat
slunéčka v laboratorních podmínkách**

**Ability of braconid wasp *Dinocampus coccinellae* to infect
ladybirds under laboratory conditions**

Bakalářská práce

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

Konzultant práce: Ing. Michal Řeřicha

© 2021 ČZU v Praze

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Nikola Gramanová

Environmentální vědy
Aplikovaná ekologie

Název práce

Schopnost lumčíka *Dinocampus coccinellae* parazitovat slunéčka v laboratorních podmínkách

Název anglicky

Ability of braconid wasp *Dinocampus coccinellae* to infect ladybirds under laboratory conditions

Cíle práce

Hlavním cílem této bakalářské práce je vypracovat literární rešerši zaměřenou na vztah mezi parazitoidy a jejich hostiteli. Zvláštní pozornost bude věnována evoluci vztahu mezi parazitoidy a hostiteli a specificky druhu *Dinocampus coccinellae* a jeho vazbě na různé druhy slunéček. Součástí práce bude i praktická část (pilotní pokus), která si klade za cíl otestovat možnosti výzkumu úspěšnosti vývoje lumčíka *D. coccinellae* ve slunéčku východním (*Harmonia axyridis*) pomocí laboratorních experimentů.

Metodika

Literární rešerše bude sepsána na základě vědeckých článků dohledaných v databázi Web of Knowledge. Rešerše by měla pokrývat následující témata: popis způsobu života parazitoidů, vývoj vztahu parazitoid-hostitel, popis biologie druhu *Dinocampus coccinellae*. Pilotní pokus bude pomocí experimentálních infekcí v laboratorních podmínkách (parazitoid a slunéčko umístění do společné Petriho misky) zkoumat: a) jak stáří dospělců a krmení lumčíků *D. coccinellae* (1 den staří jedinci bez krmení vs. 3 dni staří nakrmení medem) ovlivňuje jejich chování vůči hostiteli a následnou úspěšnost parazitace slunéček *H. axyridis*; b) jak geografická oblast původu *D. coccinellae* ovlivňuje úspěšnost vývoje parazitoida ve slunéčku východním (*H. axyridis*).

Doporučený rozsah práce

cca 30 stran + přílohy dle potřeby

Klíčová slova

Dinocampus coccinellae, Harmonia axyridis, koevoluce, parazitoid, úspěšnost vývoje

Doporučené zdroje informací

- Castro-Guedes C, Almeida L (2016) Laboratory investigations reveal that *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) is a poor host for *Dinocampus coccinellae* (Hymenoptera: Braconidae) in Brazil. *J Insect Sci.* <https://doi.org/10.1093/jisesa/iew044>
- Ceryngier P et al (2018) Predators and parasitoids of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*, in its native range and invaded areas. *Biol Invasions* 20:1009–1031.
- Firlej A, Lucas E, Coderre D, Boivin G (2007) Teratocytes growth pattern reflects host suitability in a host-parasitoid assemblage. *Physiol Entomol* 32:181–187.
- Fracanti S (2018) Rearing of parasitoid braconid wasp *Dinocampus coccinellae* in a simplified tritrophic system. *Bull Insectol* 71:287–293.
- Knapp et al (2019) Invasive host caught up with a native parasitoid: field data reveal high parasitism of *Harmonia axyridis* by *Dinocampus coccinellae* in Central Europe. *Biol Invasions* 21:2795–2802.
- Koyama S, Majerus MEN (2008) Interactions between the parasitoid wasp *Dinocampus coccinellae* and two species of coccinellid from Japan and Britain. *Biocontrol* 53:253–264.
- Majerus MEN (1997) Parasitization of British ladybirds by *Dinocampus coccinellae* (Schrank) (Hymenoptera: Braconidae). *Br J Entomol Nat Hist* 10:15–24.
-

Předběžný termín obhajoby

2020/21 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Michal Knapp, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Konzultant

Ing. Michal Řeřicha

Elektronicky schváleno dne 12. 3. 2021

prof. Mgr. Bohumil Mandák, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 12. 3. 2021

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 19. 03. 2021

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: Schopnost lumčíka *Dinocampus coccinellae* parazitovat slunéčka v laboratorních podmínkách vypracovala samostatně a citovala jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použila, a které jsem rovněž uvedla na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů.

Jsem si vědoma, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, především ustanovení § 35 odst. 3 tohoto zákona, tj. o užití tohoto díla.

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

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

V Praze dne 30.3.2021

.....

(podpis autora práce)

Poděkování

Ráda bych touto cestou moc poděkovala svému vedoucímu práce Ing. Michalovi Knappovi, Ph.D. za vyhrazený čas pro úspěšné dokončení méjí bakalářské práce, cenné rady a ochotu. Dále bych chtěla poděkovat mému konzultantovi Ing. Michalovi Řeřichovi za vždy pozitivní přístup, odborné rady a pomoc při experimentální části bakalářské práce. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině a přítelovi za podporu během celého studia.

Abstrakt

První část této bakalářské práce obsahuje vypracování literární rešerše zaměřené na téma vztahu mezi parazitoidy a jejich hostiteli. V rešerši je popsán způsob života parazitoidů, koevoluce parazitoid – hostitel, jejich možná adaptace v čase a popis biologie druhu *Dinocampus coccinellae*.

Součástí práce jsou i dva laboratorní experimenty zaměřené na úspěšnost parazitace slunéček *Harmonia axyridis* lumčíkem *D. coccinellae*. V prvním experimentu bylo testováno, zda stáří dospělců lumčíků a jejich krmení ovlivňuje chování vůči hostiteli a následnou úspěšnost parazitace. První den po vykuklení byl dospělý lumčík postupně vložen do pěti Petriho misek (v každé strávil po pěti minutách). V připravených arenách byl vždy samec a samička *H. axyridis*. Další sada opakování byla provedena s lumčíky ve věku tři dní, kteří předtím byli krmeni medem. Cílem bylo zjistit, zda lumčík projevuje preferenci pro nějaké pohlaví hostitele a zda snaha parazitovat hostitele klesá s opakováním experimentu (dalším a dalším nabídnutým párem hostitelů). Dále bylo sledováno, zda úspěšnost parazitace souvisí s počtem útoků (vpichů) lumčíkova ovipozitoru na hostitele. Výsledky ukazují tendenci lumčíků preferovat samičky. Úspěšnost parazitace není ovlivněna jeho krmením, věkem nebo počtem útoků na dané slunéčko.

Ve druhém experimentu bylo cílem zjistit, zda geografická oblast původu (Estonsko a Česká republika) lumčíka *D. coccinellae* ovlivňuje úspěšnost vývoje parazitoida ve slunéčkách *H. axyridis*. Vylíhnuvší se parazitoidi byli pak použiti v laboratorním experimentu, při kterém byla testována úspěšnost vývoje v nabídnutých hostitelích (*H. axyridis* původem z ČR). Lumčiči pocházející z Estonska byli sebráni ze slunéček sedmitečných, jelikož *H. axyridis* se tam zatím nevyskytují. Bylo prokázáno, že geografický původ lumčíka významně ovlivňuje úspěšnost parazitace *H. axyridis*. Z estonských parazitoidů se nevylíhnul ani jeden lumčík další generace. Naproti tomu mnoho českých populací parazitovalo slunéčka *H. axyridis* úspěšně. Vypadá to, že populace *D. coccinellae* vyskytující se v Estonsku skutečně nejsou adaptované na invazní slunéčko *H. axyridis*.

Ještě před deseti lety byl druh *H. axyridis* celosvětově považován za nevhodného hostitele pro *D. coccinellae*. Nejnovější studie ovšem poukazují

na schopnost některých populací *D. coccinellae* překonat imunitní systém *H. axyridis* a úspěšně tento druh parazitovat.

Klíčová slova: *Harmonia axyridis*, koevoluce, parazitoid, úspěšnost vývoje

Abstract

The first part of this Bachelor thesis consists of a literature review focused on the relationship between parasitoids and their hosts. The literature review describes the way of life of parasitoids, coevolution of parasitoids and hosts, their possible adaptation over time and a description of the biology of braconid wasp *Dinocampus coccinellae*. The second part of the thesis consists of two laboratory experiments focused on the success of ladybird parasitization.

In the first experiment, it was investigated whether the age of adult *D. coccinellae* and their feeding affects their behaviour towards the host and subsequent parasitism success. On the first day after hatching, the braconid wasp was gradually placed in five Petri dishes for five minutes. There was always one male and one female *Harmonia axyridis* ladybird per dish. The aim was to find out whether *D. coccinellae* prefers particular host sex for parasitization and parasitization rate is affected by feeding or parasitoid age. Furthermore, I investigated whether the success of the parasitism was attributed to the number of braconid wasp attacks. Results showed that *D. coccinellae* slightly preferred females hosts. The success of the parasite is not affected by its feeding, age or the number of attacks (ovipositor inserts) to the focal ladybird.

In the second experiment, I investigated whether the geographical area of origin (Estonia or Czech Republic) of *D. coccinellae* affected the success of parasitoid development in *H. axyridis* ladybird. Both parasitoid were allowed to lay eggs in *H. axyridis* hosts originated from the Czech Republic. Results indicate strong effects of parasitoid origin parasitism success in *H. axyridis*. No braconid wasp emerged for Estonian populations, while many offspring were produced for Czech populations.

H. axyridis was historically considered a marginal host species for *D. coccinellae*. Recent studies, however, indicate a possible adaptation of some *D. coccinellae* populations to overcome the immune system of *H. axyridis* and parasitize this species successfully.

Keywords: *Harmonia axyridis*, coevolution, parasitoid, success evolution

Obsah

1	Úvod a cíle práce	10
2	Teoretická východiska	11
2.1	Definice parazitoid	11
2.1.1	Rozšíření (Taxonomický rozsah)	11
2.1.2	Životní cykly	12
2.1.3	Význam pro lidstvo	13
2.2	Koevoluce parazitoid – hostitel.....	14
2.2.1	Kvalita hostitele	15
2.3	Parazitoid slunéček <i>Dinocampus coccinellae</i>	16
2.3.1	Životní cyklus <i>Dinocampus coccinellae</i>	17
2.3.2	Hostitelská vazba	18
2.4	Biologie druhu <i>Harmonia axyridis</i>	19
2.4.1	Imunitní systém <i>Harmonia axyridis</i>	21
2.4.2	Parazitace <i>Dinocampus coccinellae</i> v těle <i>Harmonia axyridis</i>	22
3	Metodika	23
3.1	Experiment č. 1	23
3.1.1	Příprava experimentu	23
3.1.2	Průběh experimentu	24
3.1.3	Analýza dat.....	25
3.1.4	Výsledky	26
3.2	Experiment č. 2	30
3.2.1	Příprava experimentu	30
3.2.2	Průběh experimentu	31
3.2.3	Analýza dat.....	31
3.2.4	Výsledky	32
4	Diskuze	35
5	Závěr.....	38
6	Přehled literatury a použitých zdrojů	39
7	Seznam obrázků	47
8	Přílohy	48

1 Úvod a cíle práce

Parazitoidi a jejich hostitelé se vyskytují po celém světě a tvoří až 10 % popsaného hmyzu. Jsou nedílnou součástí mnoha fungujících ekosystémů. Lidé využívají jejich služeb k biologické kontrole řady významných hmyzích škůdců. Tato metoda je velice efektivní hlavně z finančního hlediska a mnohdy má větší přínosy než využívání agrochemikálií ve formě pesticidů.

Parazitoidi svým způsobem života snižují populační hustotu hostitele v krátkém časovém měřítku. Z pohledu evoluce jsou hostitelé a jejich parazitoidi v neustálém závodě ve zbrojení. V rámci tohoto evolučního konfliktu mají schopnost učit se novým věcem jak parazitoidi, tak hostitelé a nacházet nové možnosti, jak svého nepřítele přelstít.

Cílem této práce je vypracovat literární rešerši a přiblížit téma vztahu mezi parazitoidy a jejich hostiteli. Součástí práce je obecný náhled do historie jejich vztahu a koevoluce, a dále popis životních cyklů parazitoidů i jejich význam pro lidstvo. Teoretická část se podrobněji zaměřuje na vztah lumčíka *Dinocampus coccinellae* a různých druhů sluněček. Práce také nastíní možnou adaptaci lumčíka na nového hostitele, sluněčko východní (*Harmonia axyridis*).

Jeden z dalších cílů vychází z experimentální části mé práce. První experiment se zabýval ověřením, zda stáří dospělců lumčíka a jejich krmení ovlivňuje chování vůči hostiteli a následnou úspěšnost parazitace. Součástí tohoto experimentu bylo otestovat, zda lumčík projevuje preferenci pro nějaké pohlaví sluněček a zda snaha parazitovat hostitele klesá s opakováním experimentu. Nakonec bylo sledováno, zda úspěšnost parazitace souvisí s počtem útoků na dané sluněčko.

Druhý experiment (další dílčí cíl) testoval možný vliv původu lumčíka *D. coccinellae* pocházejících ze dvou geografických oblastí na úspěšnost parazitace sluněčka *H. axyridis*.

2 Teoretická východiska

2.1 Definice parazitoid

Parazitoid je organismus, jehož juvenilní stádium se vyvíjí na nebo uvnitř hostitele, jímž se živí, a hostitele nakonec přímo či nepřímo usmrtí (Lenteren & Godfray, 2005). Jsou výjimky, kdy parazitoidi svého hostitele pouze paralyzují na celý proces vývoje a po ukončení buď přežije nebo zemře. Většinou se zde vyskytuje nejjednodušší parazitický vztah, který zahrnuje dva organismy, tedy parazitoida a hostitele. Podle Townsenda (2003) má parazitoid pouze jediného hostitele, kterého typicky na konci larválního vývoje zabíjí. Existují případy, kdy má parazitoid jako svého hostitele jiného parazitoida, tomu se říká hyperparazitoidismus, zde jsou zapojeny tři různé druhy (Vinson, 1976).

Parazitoidi se rozdělují na endoparazitoidy a ektoparazitoidy. Endoparazitoidi se líhnou z vajíček uvnitř nebo na povrchu těla hostitele. Poté se krmí a vyvíjejí uvnitř těla hostitele. Ektoparazitoidi svého hostitele paralyzují (provede rodič či samotný první larvální instar) a vyvíjejí se na povrchu jeho těla nebo v bezprostřední blízkosti těla. Živí se odsáváním tělesné tekutiny přes pokožku hostitele (Strand, 2014).

Parazitoidi jsou charakterizováni dvěma druhy vývojových strategií: idiobiont a koinobiont. Vývojová strategie idiobiont spočívá v tom, že parazitoid zabraňuje jakémukoliv dalšímu vývoji hostitele nebo schopnosti jeho pohybu (Desneux et al., 2009). Je to především z důvodu, aby hostitel parazitoida nepoškodil při pohybu nebo létání. Naopak koinobionti umožňují hostiteli se dále vyvíjet a pohybovat se. Většina ektoparazitů jsou idiobionti a naopak endoparazitickou strategii využívají koinobionti (Harvey et al., 2016).

Někteří parazitoidi umí dokonce ovlivňovat chování svého hostitele, tak aby byla zvýšena úspěšnost vývoje parazitoida. (Weinersmith, 2019).

2.1.1 Rozšíření (Taxonomický rozsah)

Celkem skupina parazitoidů tvoří až 10 % popsáného hmyzu (Vilhelmsen, 2003). Převážná většina parazitoidů se vyskytuje v řádu Hymenoptera (blanokřídlí), kde je popsáno okolo padesáti tisíc druhů a Diptera (dvoukřídlí), kde je popsáno patnáct tisíc druhů parazitoidů. Mezi blanokřídlí patří například Ichneumonidae (lumkovití),

Braconidae (lumčíkovití) nebo Chalcidoidea (chalcidky) (Aigbedion-Atalor et al., 2020). Z řádu Diptera jsou nejznámější zástupci parazitoidů z čeledi Tachinidae (kuklicovití). Parazitoidi se například vyskytují i v řádech Coleoptera (brouci), Lepidoptera (motýli) nebo Neuroptera (síťokřídli) - (Vilhelmsen, 2003).

2.1.2 Životní cykly

K rozmnožování parazitoidi využívají tzn. ovipozitor, což je trubicový orgán využívaný ke kladení nebo vstřikování vajíček do hostitele (Vilhelmsen, 2003). Samička naklade vajíčka dovnitř těla (často nedospělého) hostitele, nebo do jeho bezprostřední blízkosti (Vansant, et al., 2019).

Dospělci volně létají a živí se například medovinou, pylem nebo nektarem (Heimpel, 2019). Nezralá parazitoidní stadia jsou však smrtící, živí se přímo hostiteli a zabíjejí je. Zprvu se mohou živit neživotně důležitými tkáněmi, takže hostitel není zabit, ale nakonec se dostanou až k životně důležitým orgánům, což je pro něj smrtící (Lenteren & Godfray, 2005).

Parazitoidi procházejí úplnou metamorfózou. Jedná se o cyklus, kde hmyz prochází čtyřmi stádii vývoje: vajíčko, larva, kukla a imago nebo dospělec. Z vajíček se prvně líhnou larvy, které se dospělci nepochybují vzhledem ani tvarem. Larvy procházejí několika stádii až se nakonec zakuklí a vylíhne se dospělý jedinec (imago), který je schopný se dále rozmnožovat (Thompson, 2021).

Jejich životní cykly jsou úzce spjaty s životem hostitele. Parazitoidi hledají vhodného hostitele nejčastěji při jejich pohybu nebo když jsou také aktivní (Thompson, 2021). Při svém hledání jsou velmi důslední. Dospělé samičky používají chemické stopy hostitele k jeho nalezení. Dokáží si díky tomu najít vhodného hostitele, i když je jeho hustota populace zrovna malá (Weinersmith, 2019).

Například lumek *Dolichomitus mesocentrus* hledá v kmenech stromů larvy brouků, zejména *Cerambycidae* (tesaříků). Díky svému dlouhému kladélku naklade na larvu tesaříka vajíčko. Z vajíčka se za pár dní vylíhne larva. Larva lumka postupně během průběhu vývoje zkonzumuje larvu tesaříka. Parazitoid potom přezimuje jako larva a až na jaře se zakuklí. Dospělí jedinec se líhne na přelomu května a června (Zwakhals, 2010).

2.1.3 Význam pro lidstvo

Parazitoidi jsou klíčovými druhy pro biologickou kontrolu mnoha druhů hmyzích škůdců (Waage & Hassell, 1982). Poskytují tak zemědělcům cenné ekosystémové služby. Zemědělci je využívají jako přirozené nepřátele škůdců, které chtějí omezovat. To často znamená úmyslné vypouštění odchovaných parazitoidů na určeném místě a cílem je regulace početnosti škůdců na dané lokalitě (Scheiner & Martin, 2020). Tato metoda je velice efektivní hlavně z finančního hlediska, mnohdy má i několikrát větší přínosy oproti využití agrochemikálií ve formě pesticidů. Z hlediska životního prostředí je využití přirozených nepřátel i daleko udržitelnějším přístupem, jelikož parazitoidi jen výjimečně škodí necílovým organismům (Stanley & Preetha, 2016).

Zajímavé je, že některé druhy rostlin úmyslně produkují chemické látky, které lákají parazitoidy do jejich bezprostřední blízkosti. Zajišťují si tak ochranu před herbivorním hmyzem, který by je mohl poškodit nebo zahubit (Scheiner & Martin, 2020).

Bioagens je přípravek na přírodní bázi. Vyskytují se zde organismy různých druhů (bakterie, houby apod.) a nedílnou součástí jsou i parazitoidi. Veškeré tyto složky mají za úkol eliminovat početnosti škůdců (Gal et al., 2020). Všichni parazitoidi a veškeré zbylé složky využívané k biologické ochraně přírody musí být registrovány v seznamu registrovaných přípravků v ochraně rostlin (Gaigher et al., 2015).

Nevýhodou biologické ochrany rostlin je časová náročnost a většinou nemožnost kombinace s pesticidy. Proces je časově daleko delší než u použití chemikálií, za to ale bude mít dlouhodobější výsledky (Gaigher et al., 2015). Mnoho parazitoidů je citlivých na běžně používané insekticidy, zejména na širokospektrální toxiny (Stanley & Preetha, 2016). Insekticidy kromě smrtících účinků mají za následek i subletální účinky, které jsou pozorované u přeživších parazitoidů a mají vliv na jejich reprodukci a poměr pohlaví potomků (Teder & Knapp, 2019).

Před jakýmkoliv vysazením parazitoida musí být znám druh škůdce, který bude huben. Důležitá je také znalost jeho bionomie, což zahrnuje způsob výživy, rozmnožování nebo vhodné prostředí pro život. V neposlední řadě by se mělo dát pozor na předchozí chemizaci a zcela ji vyloučit, popřípadě co nejvíce omezit

(Grasman et al., 2001). Správné načasování aplikace daných parazitoidů na škůdce je klíčová (Waage et al., 1982).

Mezi nejvíce používané a zároveň nejdůležitější parazitoidy patří zástupci z nadčeledi Ichneumonidae (lumkovití), jejichž nedílnou součástí potravy tvoří housenky motýlů a můr. Dále čeleď Braconidae (lumčíkovití), úzce příbuzný z Ichneumonidae, kteří útočí na velké množství jiného hmyzu, včetně mšic. Často využívanými parazitoidy jsou také vosy z nadčeledi Chalcidoidea, které parazitují na vejcích a larvách mšic a molíc (Aigbedion-Atalor et al., 2020).

2.2 Koevoluce parazitoid – hostitel

Parazitoidi, podobně jako predátoři snižují populační hustotu hostitele v krátkém časovém měřítku. Interakce mezi nimi však není jediný faktor ovlivňující populační dynamiku. Jsou to například různé faktory prostředí, jako je klima, stanoviště nebo zdroje potravy (Hackett-Jones et al., 2008).

Parazitoidi se dokážou průběžně přizpůsobovat novým podmínkám a hostitelům (například: prodlužování kladélka či zvýšení jeho pevnosti). Většina parazitoidů je vysoce specializovaná na určitý druh hostitele hmyzu (Forbes et al., 2018) a má tedy vrozenou schopnost zachytit chemické stopy hostitele. Kromě chemických podnětů používají někteří parazitoidy i zvukové, vizuální nebo zvukové signály hostitele (Gross, 1993).

Z pohledu evoluce jsou parazitoidi a hostitelé v neustálém závodě ve zbrojení, který sahá od imunitních odpovědí po různé strategie chování (Dicke et al., 2020). V rámci tohoto evolučního konfliktu mají schopnost učit se novým věcem jak parazitoidi, tak hostitelé (Leavell et al., 2019). Příkladem může být změna chování parazitoida a hostitele v důsledku klimatických změn (Snell-Rood et al., 2019).

Ve chvíli, kdy parazitoid hostitele nalezne, následuje behaviorální, morfologická, fyziologická nebo imunitní obrana hostitele (Gross, 1993). Pro hostitele je vždy výhodnější využít současně více typů obrany (Weseloh, 1976). Při interakci hostitele parazitoida hraje důležitou roli i fenologie. Správné načasování vývoje (kladení snůšky) je pro parazitoida klíčové. Kromě úspěšného naklazení vajíček, správné načasování parazitoidům přináší možnost koexistence více druhů na jediném hostiteli (Hackett-Jones et al., 2008).

Nasonia vitripennis je známý parazitoid *Musca domestica* (moucha domácí). Je to malá chalcidoidní vosa, která napadá kukly mouchy domácí a další z řádu Diptera. Za dlouhé období několika experimentů Pimentel et al. (1963) zkoumali koevoluční interakce hostitelů a parazitoidů v laboratorních podmínkách. Hlavní změna, ke které došlo během experimentů byla, že hostitelské kukly se staly těžší a silnější. Kukla mouchy celkově strávila kratší dobu ve zranitelné fázi životního cyklu. Robustnější kukla je jasné obranné přizpůsobení proti vose. Kratší období kukly odpovídá teoriím z minulosti, že vývoj by se měl zrychlit v průběhu životních fází, kdy rizika úmrtnosti zapříčiněné parazitoidy jsou vysoká (Pimentel et al., 1963).

Teorii tritrofických interakcí představili Price et al. (1980). Popsali vzájemnou komunikaci mezi třemi organismy: rostlinou, býložravcem a souvisejícími přirozenými nepřáteli, včetně predátorů členovců a parazitoidů (Price et al., 1980). Tritrofická interakce je schopnost rostliny si za pomoci vonných látek přivolat na pomoc parazitoida, aby napadl fytofágní hmyz, který ji poškozuje. Po napadení a poškození rostliny fytofágním hmyzem uvolňují směs vonných látek, nazývaných těkavé látky vyvolané býložravci (HIPV). Tyto látky působí buď jako repelenty býložravců (Landolt, 1993; Signoretti et al., 2012), nebo jako atraktanty pro parazitoidy (Anderson & Alborn, 1999; Shiojiri & Takabayashi, 2003). Bylo prokázáno, že HIPV přitahují více než 30 druhů parazitoidů, včetně několika zástupců čeledi Braconidae (Hymenoptera) - (Geervliet et al., 1996). Vzhledem k potenciální užitečnosti parazitických vos pro hubení škůdců, pochopení čichových mechanismů, kterými býložravci a parazitické vosy detekují rostlinu, by mohlo usnadnit využití parazitoidů k účinné ochraně pěstovaných rostlin (Guo & Wang, 2019).

2.2.1 Kvalita hostitele

Pokud parazitoid naklade vajíčka do hostitele, který byl již parazitován, je ohroženo přežití, nebo počet a kvalita vzniklých potomků. Obsazenost hostitele tak má přímý vliv na další vývoj parazitoida (Van Alphen & Nell, 1982). Z tohoto důvodu hraje velkou roli schopnost parazitoida rozpoznat, zda byl daný hostitel již napaden. Odmítnutí hostitele parazitoidem, ve kterém objevil vajíčka jiného jedince (respektive jeho stopy) se nazývá diskriminace hostitele. Tento jev je rozšířen mezi

parazitoidy z řádu Hymenoptera (Hofsvang, 1988). Diskriminace hostitelů je běžná i u nadčeledi Chalcidoidea.

Parazitoidi často ovlivňují i chování hostitele, většinou ve stylu manipulace. Cílem behaviorální manipulace může být snížení predačního tlaku na parazitoida (Tanaka & Ohsaki, 2006), nebo změna vnitřního prostředí hostitele (Kaeslin et al., 2005). K tomu, aby se změna v chování hostitele mohla považovat za adaptaci parazitoida, musí jeho přítomnost v těle hostitele zvyšovat pravděpodobnost jeho dalšího přenosu a vývoje (Weseloh, 1976). Není vždy snadné určit, zda se jedná o úmyslnou manipulaci ze strany parazitoida nebo pouze o reakci hostitele na vývoj parazitoida (Leavell, et al., 2019).

Parazitoidi z čeledí Ichneumonidae a Braconidae používají k ovlivnění hostitele mimo jiné i symbiotické viry. Jedná se o polyDNA viry, které se množí v buňkách vaječníků samičky (Kaeslin et al., 2005) a jsou aplikovány při kladení vajíček, které po určitou dobu zajišťují pasivní ochranu vajíček před imunitní reakcí hostitele. Tyto symbiotické viry jsou naprosto klíčové pro úspěšný životní cyklus parazitoida (Asgari & Schmidt, 1994).

2.3 Parazitoid slunéček *Dinocampus coccinellae*

Dinocampus coccinellae je parazitoidní lumčík, který patří do řádu Hymenoptera, čeledi Braconidae a rodu *Dinocampus*. Nejčastěji parazituje na slunéčkách z tribu Coccinellini. Dospělí *D. coccinellae* mají průhledná membránová křídla. Přední křídla jsou delší než ta zadní (Silva et al., 2012). Dospělý lumčík je velmi drobný a v přírodě jen zřídka pozorovatelný.

Do těla hostitele (slunéček) vkládají vajíčka pomocí ovipozitoru. Ovipozitor neboli kladélko je využíváno některými druhy hmyzu ke kladení vajíček (Vansant, et al., 2019). Zajímavé je, že přežívá ve stádiu kukly (vytvoření kokonu) pod tělem paralyzovaného hostitele. Hostitel je paralyzovaný, aby sloužil jako ochrana parazitoida před predací (Geoghegan et al., 1998).

Laboratorní studie dle Wright et al. (1979) pozorovala páření parazitoidů, potomci původních parazitoidů byly zde pouze samičky. Samečci byli pozorováni jen velmi zřídka. Sameček má štíhlejšímu a celkově drobnějšímu tělo, než samička a bývá tmavší barvy. Sameček nemá ovipozitor (Koyama et al., 2007).

Dosavadní údaje o parazitismu a výskytu *D. coccinellae* u několika druhů sluněček naznačuje, že lumčík preferuje větší druhy sluněček jako hostitele, protože pravděpodobně poskytují dostačující potravní zdroje pro vývoj larvy (Ceryngier et al., 2017).

V Evropě je nejběžnějším druhem lumčíka sluněčko sedmitečné (*Coccinella septempunctata*) - (Obrycki et al., 1985). Nejmenší hostitelé, *Hippodamia parenthesis* produkovali nejmenší dospělé lumčíky. Stejně tak největší hostitelé (*Coccinella septempunctata*), dokázali produkovat největší lumčíky (Ceryngier et al., 2017).

Lumčík není novým parazitoidem ani pro sluněčko východní, oba druhy se společně vyskytují v původním areálu Asie. Zde je považován za okrajového parazitoida sluněčka východního (Koyama & Majerus, 2007). Nově naměřené hodnoty v české populaci *Harmonia axyridis* udávají daleko větší parazitaci lumčíkem než populace sesbírané kdekoli jinde po celém světě. Tyto výsledky poukazují na adaptaci střeoevropské populace *D. coccinellidae* na *H. axyridis*. Vysoká úroveň parazitismu ukazuje na možnost redukce invazního druhu sluněčka pomocí přirozených nepřátel (lumčíka). K ověření hypotézy jsou potřeba další laborotní výzkumy (Knapp et al., 2019).

2.3.1 Životní cyklus *Dinocampus coccinellae*

Dinocampus coccinellae zahajuje parazitismus už jednu hodinu po svém vylíhnutí z kukly. Lumčík preferuje a daleko lépe reaguje na hostitele v pohybu. Hned co spatří hostitele, tak se snaží dostat do jeho bezprostřední blízkosti. Pohybuje zadečkem dopředu a dozadu. Vajíčka do těla hostitele vkládá pomocí ovipozitoru. Vajíčka musí vložit do jakékoliv nechráněné části těla sluněčka. Každý tento pokus není pro lumčíka úspěšný, proto ho většinou opakuje na jednom hostiteli několikrát. Ovšem v těle vybraného hostitele se vyvíjí vždy jen jedna larva (Silva et al., 2012).

Larva se živí částečně buňkami, tzv. teratocyty. Jsou to její vlastní buňky poslané do hemolymfy hostitele, z nichž získává živiny (Strand, 2014). Dalším zdrojem pro larvu mohou být tukové zásoby hostitele, které mu slouží jako zásobárna živin. Studie dále ukázaly, že reakce vyvolané přítomností *D. coccinellae* v těle hostitele může vyvolat zvýšené ukládání energetických zdrojů v těle. Zvyšuje to pravděpodobnost přežití lumčíka přes zimu v hostiteli (Ceryngier et al., 2017).

Inkubační doba larvy lumčička uvnitř těla sluněčka je 18 – 27 dní. Larvy v těle hostitele prodělávají 3 instary. V prvním instaru jsou vybaveny velkými kusadly, která používají k zabíjení jiných vajec a larev v hostiteli (nejsilnější larva vyhrává svého hostitele). Jsou žlutavé barvy, válcovitá a mírně zploštělá, bez nohou, ale s výraznou hlavou (Balduf, 1926; Strand, 2014). Když je larva připravená k zakuklení, tak způsobí paralyzaci hostitele a z těla se dostává pomocí kusadel v zadní části těla. Paralyzaci způsobuje vir RNA pojmenován DcPV. Viry se nejdříve množí v těle larvy a později se dostávají i do těla hostitele. Paralyzují jeho nervové buňky. Sluněčko je při životě, ale nemůže se příliš hýbat (Dheilly et al., 2015). Larva se během pár hodin zakuklí do kokonu připevněném na spodní straně těla sluněčka pomocí vyprodukovaných vláken (Geoghegan et al., 1998). Aposematické zbarvení hostitele zajišťuje larvě lumčička ještě větší bezpečí. Studie z roku 2011 prokázala, že parazitoidní kokony, kterých se účastnilo živé a manipulované sluněčko, utrpěly menší predaci než samostatné kokony nebo kokony pod mrtvými sluněčkami (Maure et al., 2011).

Sluněčko se probere z paralyzace až po několika dnech, když vir RNA vymizí. K tomu dochází až po vylíhnutí dospělého lumčička z kukly (Dheilly et al., 2015). Zda sluněčko přežije napadení parazitoidem závisí na mnoha faktorech. Například u druhu *Harmonia axyridis* jsou časté případy, že sluněčka žijí svůj život nadále. Na druhou stranu existují případy, že vývoj larvy lumčička v těle hostitele byl pro něj tak drastický, že hostitel na následky umírá (Ceryngier et al., 2017). Terénní experiment z roku 2016 naznačuje, že osud parazitovaných sluněček souvisí také s dostupností potravy. Sluněčka, která se živí mšicemi nebo kombinací mšic a pylu se častěji zotavují z parazitismu (od 65 % do 81 %) než ty, které se živí pouze pylem (Maure et al., 2016). Lumčičk má obvykle za jednu sezónu dvě nebo tři generace a nejčastěji přezimuje jako larva prvního instaru v hostiteli (Majerus, 1997).

2.3.2 Hostitelská vazba

Dinocampus coccinellae je druh, schopný parazitovat asi 50 druhů sluněček v různých klimatických podmínkách na celém světě (Koyama et al., 2007). Nejčastěji parazituje tribus Coccinellini (Hoogendoorn & Heimpel, 2002).

Prevalence parazitismu se u hostitelských druhů liší (Majerus, 1997), a to i v rámci konkrétního hostitelského druhu. Lumčík přednostně útočí na dospělé jedince druhů slunéček spíše než na nedospělá stádia (Geoghegan et al., 1998), ale laboratorní studie zdokumentovala, že se dokáže vyvíjet i na larvách nebo kuklách slunéček (Vansant et al., 2019). *D. coccinellae* si jako své hostitele častěji vybírá větší druhy Coccinellidae (Silva et al., 2012). Ve volné přírodě si častěji lumčík vybírá samičky slunéček. Samičky bývají větší a hmotnější než samečci, a to poskytuje parazitoidům větší zdroje pro larvu (Barron & Wilson, 1998). Kromě toho larvy *D. coccinellae* v těle samiččího hostitele, mohou být schopny využívat zdroje z vaječníků a tukového těla, zatímco u samečků mohou energii čerpat pouze z tukového těla (Geoghegan et al., 1997).

2.4 Biologie druhu *Harmonia axyridis*

Harmonia axyridis je vícebarevný asijský brouk. Pochází ze střední a především východní Asie (Chapin et al., 1991). Celá taxonomická historie *H. axyridis* je poměrně komplikovaná a dlouhá. V roce 1773 byl tento druh původně popsán jako *Coccinella axyridis* Pallas. V současné době nese konečný název *H. axyridis* a je umístěn v tribu Coccinellini z rodiny Coccinellidae (Roy et al., 2016). Dá se setkat s celkem běžným názvem halloweenský brouk. Tato přezdívka nejspíše pochází z masivních migrací *H. axyridis*, ke kterým dochází kolem Halloweenu (tj. koncem října v Severní Americe) - (Verheggen et al., 2017)

Zbarvení slunéček je vysoce variabilní. Hlava může být černá, žlutá nebo černá se žlutými znaky. Obecně se barvy krovek mohou pohybovat od žluté, oranžové po červenou barvu. Počet skvrn je také variabilní. Od žádné až po devatenáct černých skvrn na krovkách (Chapin & Brou, 1991). Barevný polymorfismus *H. axyridis* je dědičný a pravděpodobně spojený s řadou několika alel (Osawa, 1993).

Čerstvě nakladená vajíčka jsou světle žluté barvy a postupem času se změní na tmavší žlutou. Přibližně 24 hodin před vylíhnutím larev se celá snůška vajíček zbarví do šedočerné barvy. Instary mohou být relativně snadno odlišitelné na základě zbarvení a velikosti (Chapin & Brou, 1991).



Obr. 1: První instar larvy *Harmonia axyridis* (American insects, 2020)



Obr. 2: Druhý instar larvy *Harmonia axyridis* (Martin, 2016)



Obr. 3: Třetí instar larvy *Harmonia axyridis* (Martin, 2016).



Obr. 4: Čtvrtý instar larvy *Harmonia axyridis* (American insects, 2020)

Stejně jako u ostatních druhů podčeledi Coccinellinae, dochází na konci čtvrtého instaru k zakuklení. Exuvie neboli svlečka z posledního svlékání larvy zůstává připojena k zadnímu konci kukly. Kukla je díky tomu připevněna k substrátu (typem tzv. kukla mumiová) - (Chapin et al., 1991).

Zdá se, že kanibalismus hraje důležitou roli v populační dynamice *H. axyridis* (Osawa, 1993). Wagner et al. (1999) prokázali, že kanibalismus mezi slunéčkem východním je dědičný a existuje variabilita mezi liniemi. Intenzita kanibalismu se zdá být nepřímo úměrná hustotě mšic (Wagner et al., 1999). Přibližně 50 procent kanibalismu je na snůškách vajíček (Osawa, 1993).

Druh byl představen jako prostředek biologické kontroly mšic a kokcidních škůdců, nejprve v Severní Americe a později v Evropě (Koch, 2003). Z některých přirozených biotopů začalo slunéčko východní vytlačovat původní druhy slunéček. Velmi rychle se začalo šířit po celých Spojených Státech. Svědčí jim teplé a slunečné počasí, jehož v posledních letech přibývá. V Evropě bylo záměrně vysazováno od začátku osmdesátých let a v Česku se invazní forma objevila až v roce 2006. Posledních několik let se šíří nekontrolovatelně (Berkvens et al., 2010).

Díky své nadprůměrné schopnosti likvidovat mšice a rychlé reprodukci, se stalo slunéčko oblíbeným přirozeným nepřítelem škůdců vysazovaných na polích a v sadech (Zaviezo et al., 2019). Bohužel slunéčko východní je schopné vytvářet konkurenční tlak i na naše původní druhy slunéček, jako jsou slunéčko sedmitečné (*Coccinella septempunctata*) nebo slunéčko dvojtečné (*Adalia bipunctata*). Díky tomu, že je invazní druh daleko žravější a plodnější. Invazivní úspěch *H. axyridis* byl z části přisuzován slabé populaci přirozených nepřátel, jako jsou predátoři, parazitoidy nebo paraziti (Gegner et al., 2018).

2.4.1 Imunitní systém *Harmonia axyridis*

Harmonia axyridis má několik obranných mechanismů, které ji chrání před přirozenými nepřáteli. Buněčnou imunitu zajišťují hemocyty. Jsou to buňky zprostředkující imunitní reakce hostitele na cizí negativní vlivy (např. parazity, patogeny nebo inertní materiál) - (Firlej et al., 2012). Koncentrace hemocytů se mění během ontogenetického vývoje. Ortogeneze je vývoj jedince, který obvykle začíná oplodněním vajíčka. Tento proces byl zkoumán u *H. axyridis*, u kterého byla nejnižší koncentrace hemocytů naměřena v larválních stádiích. Během ortogeneze se koncentrace hemocytů zvyšovala (Řeřicha et al., 2018). Během vývoje *H. axyridis* se zvyšovalo také množství proteinů přítomných v hemolymfě, které napomáhají k humorálně založeným imunitním reakcím (Řeřicha et al., 2018).

V hemolymfě slunéček východních se také tvoří silný alkaloid harmonin. Díky tomu má pravděpodobně hemolymfa velmi silné antibakteriální účinky, a to může zvyšovat schopnost odolávat před některými patogeny (Beckert et al., 2015).

Studie naznačují, že imunitní systém *H. axyridis* je schopen eliminovat velký podíl vajec *Dinocampus coccinellae* (Firlej et al., 2012). *D. coccinellae* není schopen

rozpoznat hostitele na základě jejich vhodnosti. Samice kladou podobný počet vajec do vhodných i nevhodných hostitelů (Ceryngier et al., 2017).

2.4.2 Parazitace *Dinocampus coccinellae* v těle *Harmonia axyridis*

Během terénního průzkumu v Belgii v roce 2005 byli nalezeni tři dospělci *Harmonia axyridis*, kteří byli úspěšně parazitováni parazitoidem *Dinocampus coccinellae*, což představuje první zmínku o lumčíkovi parazitujícím na *H. axyridis* v Evropě (Berkvens et al., 2010).

Parazitoid napadal dospělé a čtvrté instary slunéček častěji než kukly, nebo třetí instary (Vansant et al., 2019). *H. axyridis* by na základě své velikosti měla patřit k ideálnímu druhu pro lumčíka (Obrycki et al., 1985; Ceryngier et al., 2017). Terénní data ovšem naznačují, že v souladu s předchozími studiemi je *H. axyridis* okrajovým hostitelem pro *D. coccinellae* a to i ve svém původním areálu. Proto je dopad parazitoidů na populaci exotických brouků v současné době minimální (Hoogendoorn & Heimpel, 2002).

Výskyt parazitace lumčíka se zde objevuje daleko méně než u ostatních druhů slunéček stejné velikosti (Ceryngier et al., 2017). Může to souviset s tím, že lumčík nebyl ještě na invazní *H. axyridis* adaptován (Knapp et al., 2019). Tento jev je také přisuzován neschopností lumčíka překonat imunitní obranu *H. axyridis* (Firlej et al., 2012).

Nedávný výskyt druhu *D. coccinellae* v českých populacích slunéčka *H. axyridis* je mnohem vyšší v porovnání s invazivními populacemi odebranými jinde na celém světě. K ověření hypotézy, že se středoevropské populace *D. coccinellae* adaptovaly na využití *H. axyridis* jako svého vhodného hostitele, jsou nutná další experimentální data (Knapp et al., 2019).

Studie z roku 2016 ukazuje větší parazitaci lumčíkem u *H. axyridis* oproti *Coccinella septempunctata*. Výskyt lumčíka u společně se vyskytujících populací *H. axyridis* a *C. septempunctata* naznačuje, že lumčík tyto dva druhy od sebe nerozlišuje (Roy et al., 2016).

3 Metodika

3.1 Experiment č. 1

3.1.1 Příprava experimentu

Celá experimentální část probíhala na Fakultě životního prostředí České zemědělské univerzity v ekofyziologické laboratoři D414. Pod dohledem Ing. Michala Řeřichy a Ing. Michala Knappa, Ph.D.

První část tohoto experimentu začala sběrem snůšek vajíček *Harmonia axyridis*. Vajíčka byla sbírána na přelomu března a dubna roku 2020. Pro účely experimentu byla vychována vlastní slunéčka, aby se dal vyloučit vliv věku nebo možné parazitace druhem *Dinocampus Coccinellae* v přírodě. Lokalita sběru vajíček se nacházela v blízkosti FŽP – ČZU v Praze. Snůšky byly sbírány na spodní straně listnatých stromů a menších keřů. Celkově bylo posbíráno 30 snůšek. Každá snůška byla v laboratoři vložena do samostatné Petriho misky. Líhnutí larev prvního instaru mnohdy trvalo i týden. Těsně před vylíhnutím celá snůška vajíček ztmavla. V tu chvíli byla do Petriho misky přidána vatička s vodou a krmení. Jako krmení se podávala vajíčka zavíječe moučného (*Ephestia kuehniella*).

Larvy druhého instaru byly rozděleny do Petriho misek po pěti jedincích. Pravidelně byla doplňována voda a potrava, aby nedocházelo ke kanibalismu. Jednou za týden byla měněna celá Petriho miska a larvy se dávaly do úplně nových a čistých misek. Na konci čtvrtého instaru se larvy zakuklily a po více než týdnu se vylíhnuli dospělci.

Dospělci byli za pomoci binokulární lupy rozděleni na samičky a samečky a vloženi do Petriho misek maximálně po deseti jedincích. Jednou za dva dny jim byla doplňována voda a krmení.

V druhém kroku příprav bylo v přírodě sesbíráno velké množství dospělých slunéček, u kterých se v laboratoři sledovalo, zda jsou parazitováni lumčíky druhu *D. coccinellae*. Slunéčko, pod kterým se objevil kokon lumčíka bylo ihned separováno od ostatních.



Obr. 5: Slunéčko *Harmonia axyridis* s kokonem lumčíka *Dinocampus coccinellae* (Bagnée, 2018)

3.1.2 Průběh experimentu

V den po vylíhnutí lumčíka bylo připraveno testovací prostředí (pět Petriho misek). V každé byl připraven jeden sameček a jedna samička slunéčka. Lumčík byl vložen do první misky a byl stopován čas pěti minut. Bylo pozorováno a zapisováno, kdy a kolikrát lumčík do slunéčka píchnul kladélkem. Také bylo sledováno, na jaké pohlaví lumčík útočil. Postupně byl lumčík vložen do první až páté Petriho misky. Po posledním opakování byl lumčík separován a byl mu přidán do misky vatový tampónek namočený ve vodě s medem. Lumčík byl takto v klidu dva dny. Použitá slunéčka byla rozdělena do samostatných Petriho misek a byla jim přidána potrava s vodou. Slunéčka byla pozorována v následujících pěti týdnech, zda byla parazitace úspěšná a vylíhne se z nich lumčík druhé generace či nikoliv.

Třetí den se připravilo pět nových Petriho misek, do kterých byl připraven vždy jeden nový sameček a jedna samička slunéčka. Celý experiment byl opakován stejně jako první den. Lumčík byl postupně vkládán do první až páté misky na pět minut. Vždy bylo sledováno, kdy a kolikrát lumčík píchnul samičku nebo samečka. Po dokončení pátého opakování byl lumčík vložen do malé Eppendorfky s 96 % ethanolem a byl společně se slunéčkem, ze kterého se vylíhнул uskladněn do mrazáku. Infikovaná slunéčka byla rozdělena do samostatných Petriho misek a pozorována dalších pět týdnů. Celý tento proces byl opakován s dvaceti lumčíky a celkem 400 slunéčky *H. axyridis*.

3.1.3 Analýza dat

Veškerá data byla analyzována ve statistickém programu R (version 3.6.2., 2020) a byly k tomu použity zobecněné lineární smíšené modely, funkce „glmmPQL“. Celkem bylo vytvořeno pět modelů.

První model byl zaměřený na vliv replikace infikování a efektu prvního a třetího dne stáří lumčíka na úspěšnost parazitace. Jako závislá proměnná bylo zvoleno vylíhnutí/nevylíhnutí jedince *Dinocampus coccinellae* z infikovaného sluněčka. Nezávislé proměnné byly celkem tři. Jedna z nich byla proměnná stav lumčíka (lumčík starý jeden den a bez krmení/lumčík starý 3 dny s krmením). Druhá nezávislá proměnná byla replikace infikování (1. - 5. Petriho miska) a poslední bylo pohlaví sluněčka (samička/sameček). Jako náhodný efekt bylo zvoleno ID jedince lumčíka. Model byl doplněn párovými interakcemi mezi hlavními proměnnými. Bylo zde použito binomické rozdělení.

Druhý model byl stejně jako první zaměřený na vliv replikace infikování a efektu prvního a třetího dne stáří lumčíka na úspěšnost parazitace. Jako závislá proměnná byla tentokrát zvolena Efekt_ano/Efekt_ne (Zda se lumčík vylíhnul nebo sluněčko zemřelo do třiceti dnů od infikování či nikoliv.) Nezávislé proměnné byly stejné jako v prvním modelu: stav lumčíka, replikace infikování a pohlaví sluněčka. Za náhodný efekt bylo zvoleno ID jedince lumčíka. Model byl doplněn interakcemi mezi hlavními proměnnými. Bylo zde použito binomické rozdělení.

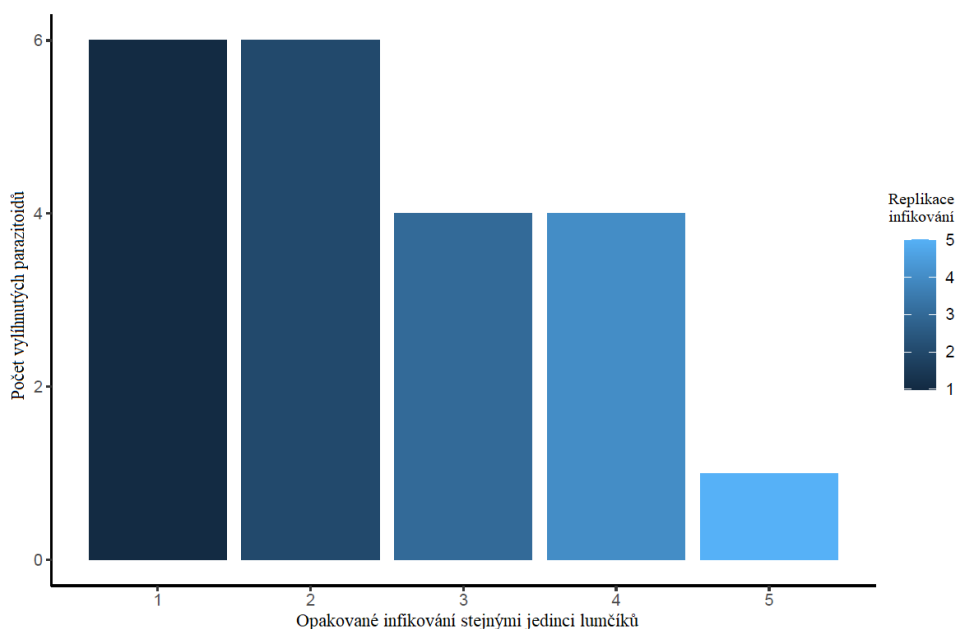
Třetí model se soustředil na to, zda má replikace infikování, efekt prvního a třetího dne stáří lumčíka a pohlaví sluněček vliv na jeho útok. Závislá proměnná byla zvolena Útok_ano/Útok_ne (zaútočil/nezaútočil). Nezávislé proměnné byly stav lumčíka (věk a potrava), replikace infikování a pohlaví sluněček. Náhodný efekt bylo zvoleno ID jedince lumčíka. Model byl doplněn interakcemi mezi hlavními proměnnými a bylo zde použito binomické rozdělení.

Čtvrtý model byl zaměřen na počet útoků lumčíka. Jednalo se o model, ve kterém bylo zjišťováno, zda má replikace infikování, efekt prvního a třetího dne stáří lumčíka a pohlaví sluněčka vliv na jeho počet útoků. Závislou proměnou byl zvolen počet útoků a nezávislé proměnné byly tři: stav lumčíka, replikace infikování a pohlaví sluněček. Jako náhodný efekt bylo použito ID jedince lumčíka. Model byl doplněn interakcemi mezi hlavními proměnnými. Kvůli overdispezi bylo zde použito quapoissonovo rozdělení.

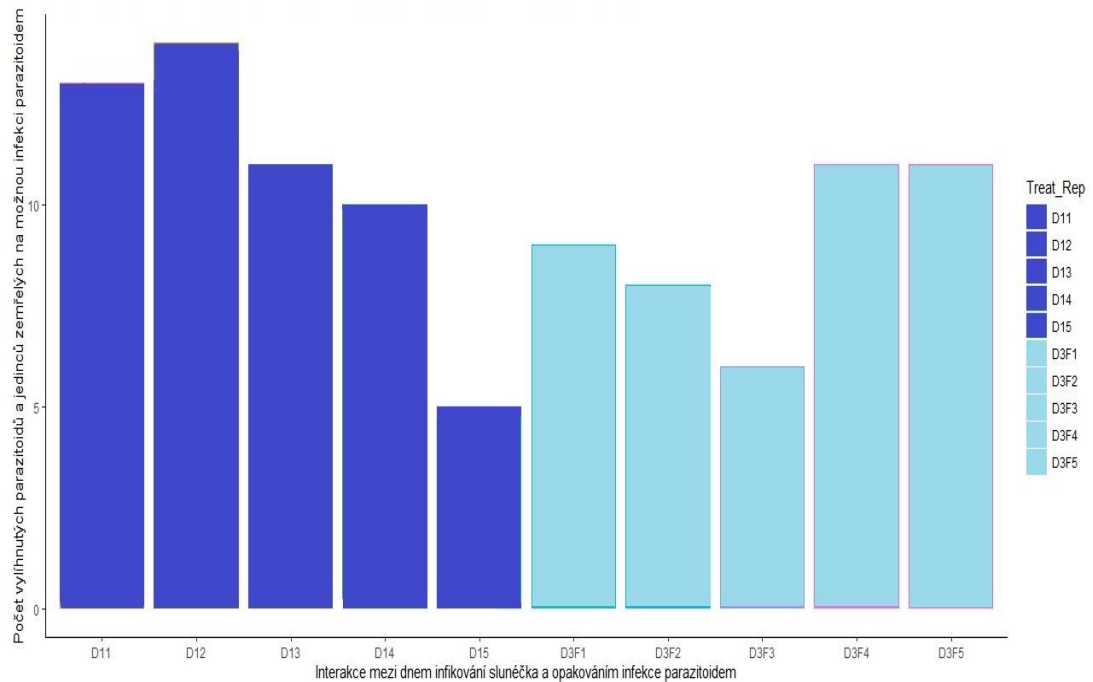
Pátý model byl zaměřen na možnou preferenci lumčíka na jedno pohlaví sluněčka. Analyzovalo se, zda první útok lumčíka byl na samičku nebo samečka. Závislá proměnná byla preference_ano/preference_ne (na jaké pohlaví prvně zaútočil). Nezávislé proměnné byly tři: pohlaví sluněčka, stav lumčíka (věk a potrava) a replikace infikování. Model byl doplněn interakcemi mezi hlavními proměnnými. Bylo zde použito binomické rozdělení.

3.1.4 Výsledky

Jedním z hlavních výsledků tohoto experimentu bylo zjištění, že replikace infikování má vliv na úspěšnou parazitaci lumčíkem *Dinocampus coccinellae* v *Harmonia axyridis* ($P = 0,015$). Větší úspěšnost infikování byla v prvním a ve druhém opakování, kde se celkem vylíhlo 12 parazitoidů (obrázek 6). Statisticky průkazně také vyšlo, že interakce stavu lumčíka (věk a potrava) a replikací infikování má vliv na úspěšnou parazitaci lumčíkem nebo smrt sluněčka do 30 - ti dnů od infikování ($P = 0,026$). Největší úspěšnost měli parazitoidi v prvním a druhém opakování, staří 24 hodin a bez potravy. Druhou největší úspěšnost měli parazitoidi z čtvrtého a pátého opakování, kteří přijímali med a byli staří 3 dny (obrázek 7).

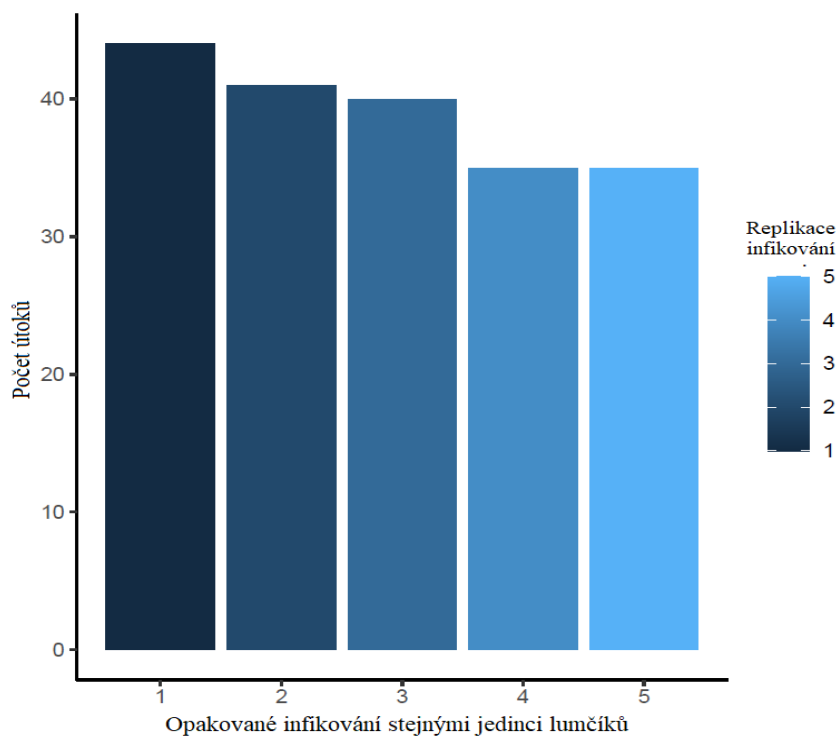


Obr. 6: Graf znázorňující opakované infikování sluněček *Harmonia axyridis* parazitoidy *Dinocampus coccinellae*. Na ose y je počet vylíhnutých parazitoidů a na ose x replikace infikování.

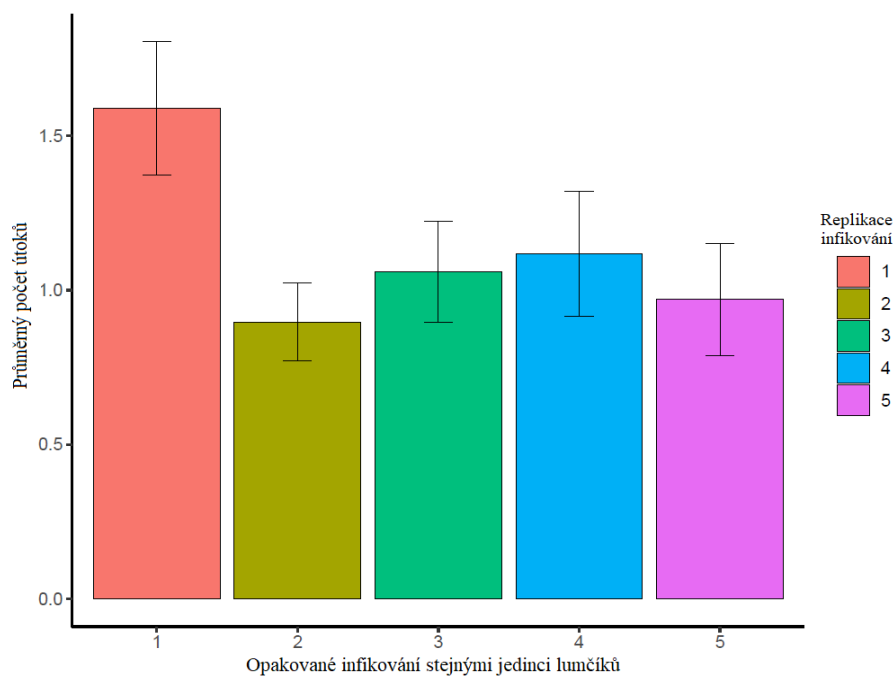


Obr. 7: Graf znázorňující vliv proměnné „efekt“ ve vztahu k interakci opakovaného infikování a dne od infikování. Na ose y jsou počty vyvíhnutých parazitoidů společně s úmrtím slunéček do 30 – ti dnů od infikování. Na ose x je vztah mezi replikací infikování a stavem lumčíka (věk a potrava).

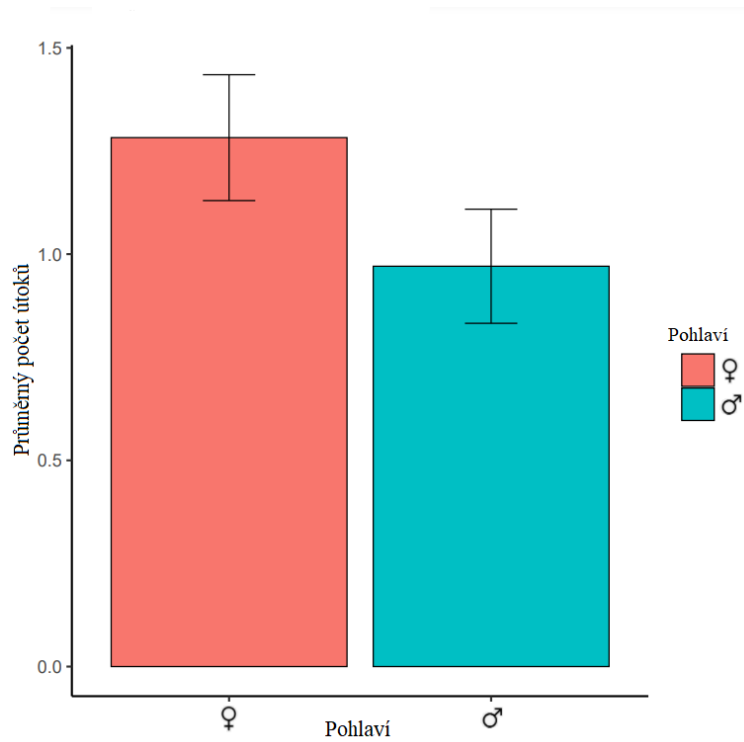
Na obrázku 8 lze pozorovat, vliv replikace opakování na útok/neútok lumčíka *D. coccinellae*. Statisticky nebylo prokázáno, že by replikace infikování měla vliv, zda lumčík zaútočí či nikoliv ($P = 0,065$). Zajímavé je, že na průměrný počet útoků lumčíka má replikaci infikování vliv ($P = 0,022$) a stejně tak i pohlaví slunéček ($P = 0,015$). Největší počet útoků na slunéčko proběhlo při prvním vložení lumčíka do Petriho misky ke slunéčkám a nejméně útoků při druhém vložení lumčíka do Petriho misky (obrázek 9). Větší množství průměrných útoků lumčíka bylo na samičky slunéčka *H. axyridis* (obrázek 10). Statisticky nebylo prokázáno, že by lumčík preferoval některé pohlaví více ($P = 0,051$; obrázek 11). Počet slunéček v experimentu byl poměrně malý pro skutečnou statistickou analýzu preference pohlaví.



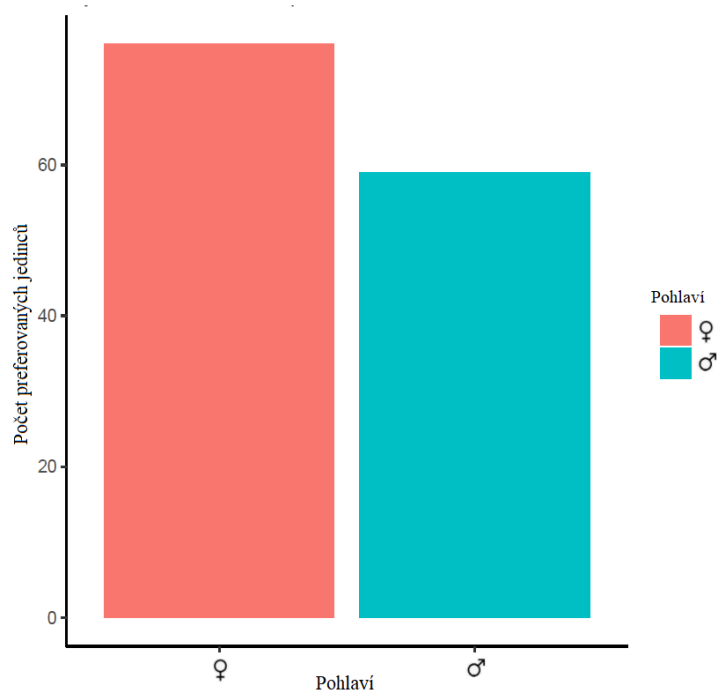
Obr. 8: Graf znázorňující počet útoků parazitoida *Dinocampus Coccinellae* na slunéčko *Harmonia axyridis* v závislosti na opakovaném vpuštění lumčíka do Petriho misky. Na ose y je počet útoků na slunéčko a na ose x replikace infikování.



Obr. 9: Graf znázorňující vztah průměrného útoku parazitoida *Dinocampus coccinellae* v závislosti na replikaci opakování. Na ose y je průměrný počet útoků a na ose x opakované vpuštění parazitoida do Petriho misky



Obr. 10: Průměrný počet útoků lumčika *Dinocampus coccinellae* v závislosti na pohlaví sluněčka

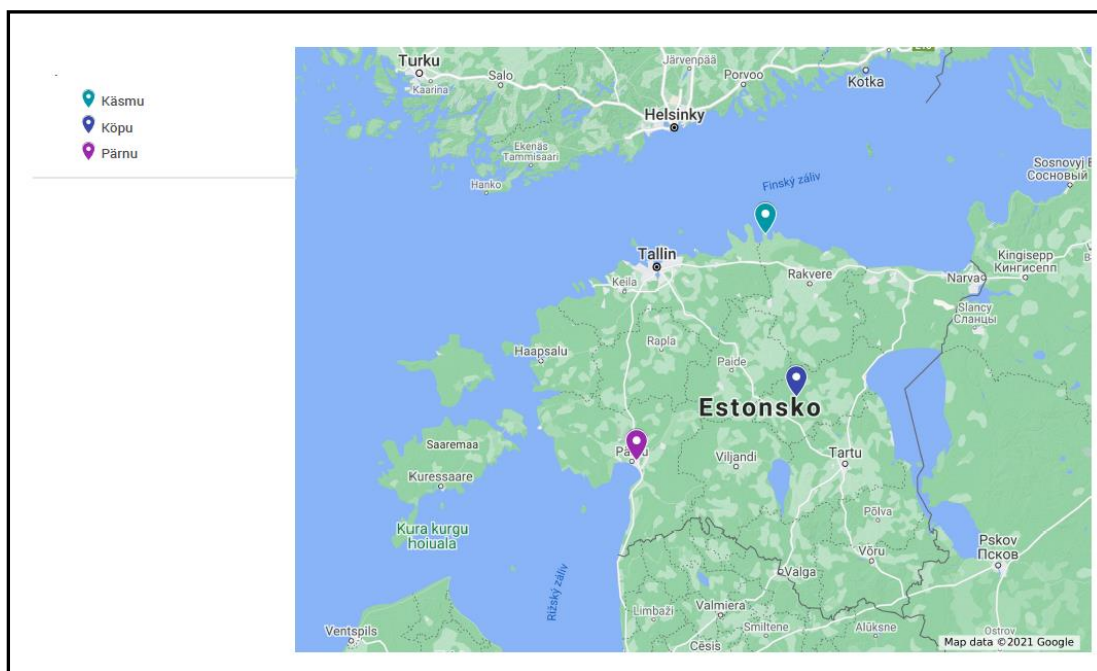


Obr. 11: Graf znázorňující výběr lumčika *Dinocampus coccinellae* mezi pohlavími sluněček *Harmonia axyridis*. Na ose y je počet preferovaných jedinců a na ose x pohlaví.

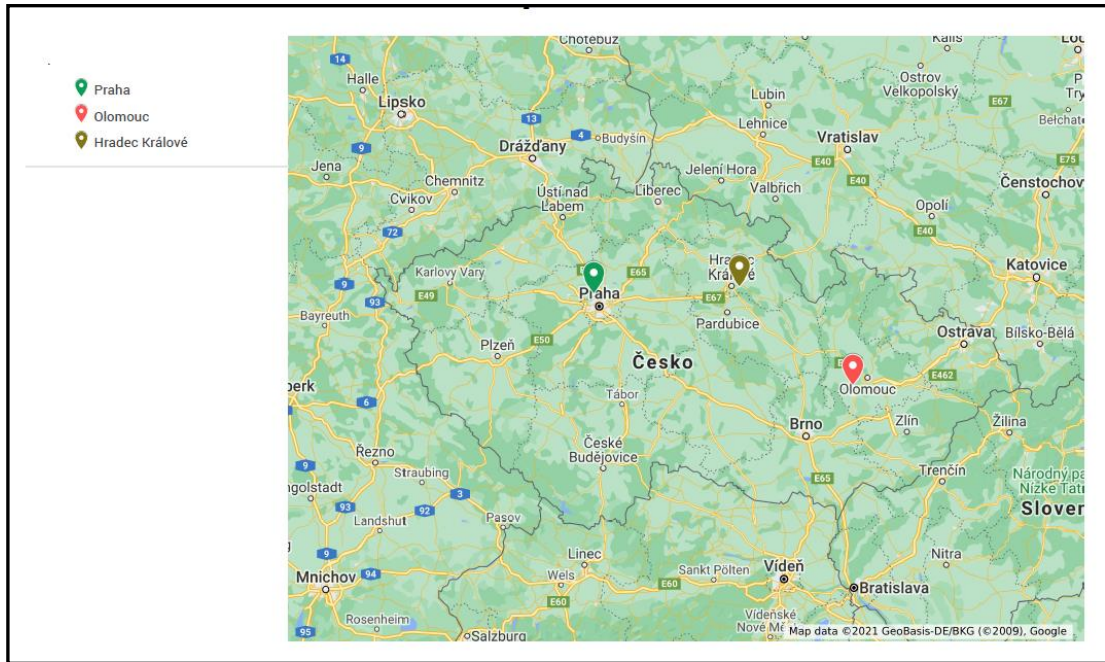
3.2 Experiment č. 2

3.2.1 Příprava experimentu

Parazitoidi použité pro druhý experiment pocházeli částečně z návštěvy Estonska v roce 2019. Tito jedinci byli následně doplněni o lumčíky získané z vybraných lokalit v České republice v letech 2019 a 2020. V rámci každé geografické oblasti bylo posbíráno několik set dospělých sluněček z několika geograficky vzdálených lokalit. Následně byla sluněčka převezena do laboratoře na FŽP ČZU v Praze, krmena a pozorována po dobu několika týdnů. Vylíhnutí parazitoidi z těchto sluněček (kombinace sluněček sedmiletých a východních) dále vstupovali do laboratorní části druhého experimentu.



Obr. 12: Lokality sběru sluněček na parazitoidy *Dinocampus coccinellae* v Estonsku



Obr. 13: Lokality sběru slunéček na parazitoidy *Dinocampus coccinellae* v České republice

3.2.2 Průběh experimentu

Experimentální část probíhala v budově ČZU – FŽP v ekofyziologické laboratoři D 414. Vylíhnutí jedinci (24 hodin staří) lumčíka *Dinocampus coccinellae* (z Estonska a České republiky) byli použiti pro infikování slunéček *Harmonia axyridis*. Tato slunéčka původem z České republiky byla odchována v laboratorních podmínkách, aby bylo jasné, že před experimentem nebyla infikována parazitoidy. Každý parazitoid postupně mohl infikovat 12 slunéček (6 samic a 6 samců). Cílem bylo zjistit, zda se bude u slunéček východních lišit pravděpodobnost infekce parazitoidy pocházejících ze dvou geograficky vzdálených regionů, přičemž v Estonsku se lumčici nemají šanci setkat se slunéčkem východním a tudíž být na něj adaptováni.

3.2.3 Analýza dat

Veškerá data byla analyzována ve statistickém programu R (version 3.6.2., 2020) a byly k tomu použity zobecněné lineární modely, funkce „glm“. Celkem byly vytvořeny tři modely.

První model byl zaměřen na vliv země a pohlaví slunéček na úspěšnost parazitace a vylíhnutí lumčíka. Závislá proměnná byla parazitoid_ano/parazitoid_ne (vylíhnul se /nevylíhnul se). Nezávislé proměnné byly zvoleny dvě: země původu

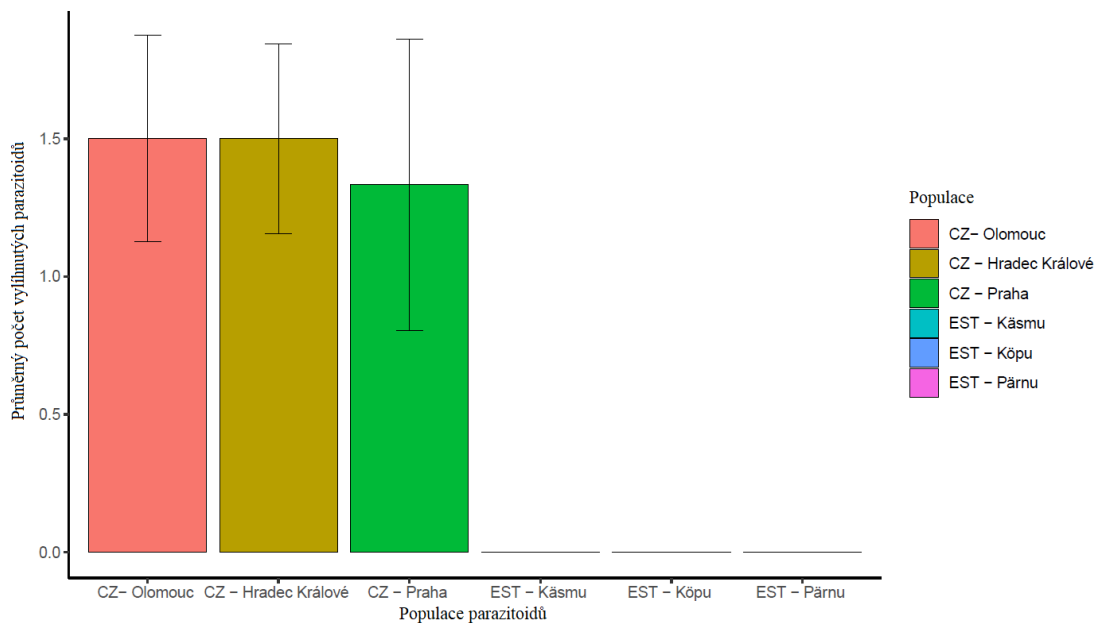
(Estonsko/Česko) a pohlaví slunéček (samička/sameček). Model byl doplněn interakcí hlavní proměnné (pohlaví). Bylo zde použito binomické rozdělení.

Druhý model byl zaměřen na vliv země původu a pohlaví slunéček na jejich úmrtí do třiceti dnů po infekci parazitoidem. Závislá proměnná byla úmrtí_ano/úmrtí_ne (slunéčko umřelo/neumřelo). Nezávislé proměnné byly dvě: země původu (Estonsko/Česko) a pohlaví slunéček (samička/sameček). Model byl doplněn interakcí hlavní proměnné (pohlaví). Bylo zde použito binomické rozdělení.

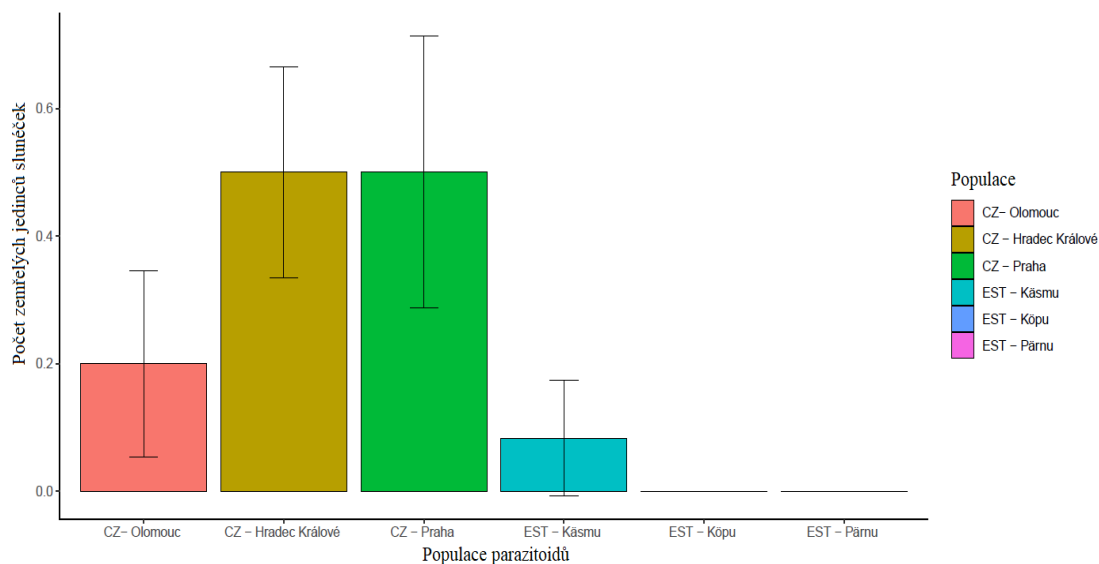
Třetí model byl kombinací dvou předešlých modelů. Byl zaměřen na vliv země a pohlaví slunéček na úspěšnou parazitaci lumčíkem a také možnou úmrtnost slunéček po infekci parazitoidem. Závislá proměnná byla efekt_ano/efekt_ne (vylíhnutí lumčíka nebo smrt slunéčka do třiceti dnů od infikování či nikoliv). Nezávislé proměnné byly dvě: země původu (Estonsko/Česko) a pohlaví slunéček (samička/sameček). Model byl také doplněn interakcí hlavní proměnné (pohlaví) a bylo zde použito binomické rozdělení.

3.2.4 Výsledky

Velmi důležitým výsledkem je, že geografická oblast (země) původu *Dinocampus coccinellae* má vliv na průměrný počet vylíhnutých parazitoidů na různých populacích *Harmonia axyridis* ($P < 0,001$). Z populace Estonských lumčíků se při infikování slunéček *H. axyridis* nevylíhnul žádný lumčík druhé generace, přičemž z české populace se jich vylíhlo mnoho. Na obrázku 14 lze pozorovat průměr vylíhnutých lumčíků druhé generace z různých populací v České republice a Estonsku. Stejně tak i průkazně vyšlo, že geografická oblast (země) původu *D. coccinellae* ovlivňuje průměrnou úmrtnost *Harmonia axyridis* do třiceti dnů po infikaci parazitoidem ($P < 0,001$). Na obrázku 15 lze sledovat průměrný počet úmrtí *H. axyridis* ve vztahu s různými populacemi *D. coccinellae*.

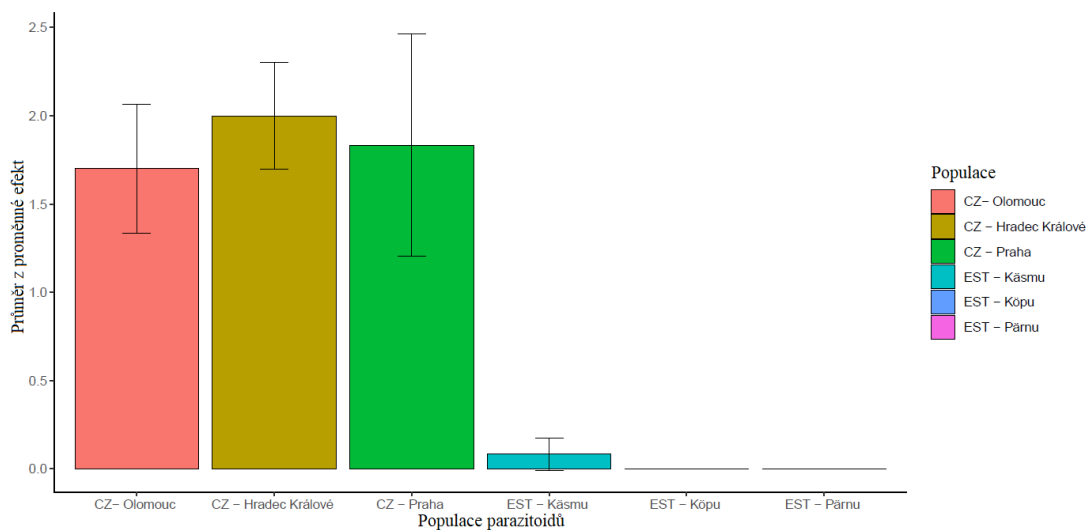


Obr. 14: Graf znázorňující průměrný počet vylíhnutých parazitoidů *Dinocampus coccinellae* druhé generace a sešbíraných parazitoidů *D. coccinellae* první generace na různých lokalitách z České republiky a Estonska.



Obr. 15: Graf znázorňující průměrný počet zemřelých jedinců slunéčka *Harmonia axyridis* na různých populacích parazitoidů *Dinocampus coccinellae* v České republice a Estonsku.

Z analýzy dat je také patrné, že geografická oblast (země) původu *D. coccinellae* má vliv na líhnutí parazitoidů druhé generace nebo úmrtí sluněček do třiceti dnů od infikování parazitoidem ($P < 0.001$; obrázek 16). Úmrtí sluněček mohlo být reakcí na infekci parazitoidem. Ze všech obrázků je jasně vidět, že lumčici z Estonska nejsou schopni infikovat *H. axyridis*.



Obr. 16: Graf znázorňující průměrný počet vylíhnutých parazitoidů *Dinocampus coccinellae* druhé generace nebo úmrtí sluněček *Harmonia axyridis* do třiceti dnů po infikování na různých populacích *D. coccinellae* z České republiky a Estonska.

4 Diskuze

Vztah mezi parazitoidy a jejich hostiteli prošel dlouhým evolučním vývojem. Parazitoidi i hostitelé se spoléhají na své vrozené obranné mechanismy (Gross, 1993). Za dlouhá léta společné koexistence došlo k mnoha adaptacím. Hostitel se co nejvíce snaží ubránit před napadením parazitoida, za to parazitoid se snaží co nejvíce svého hostitele přelstít. V tomto směru zde probíhá nekonečný závod v „přechytračení“ (Dicke et al., 2020).

Existují publikované studie popisující existenci možné preference *Dinocampus coccinellae* na samičky různých druhů slunéček. Důvodů by mohlo být hned několik. Samičky bývají větší a hmotnější než samečci, to poskytuje parazitoidům větší zdroje pro larvu (Barron & Wilson, 1998). V těle samičky slunéčka může parazitoid využívat zdroje z vaječníků i tukového těla (Geoghegan et al., 1997).

V experimentu bakalářské práce bylo použito stejné množství samiček i samečků a převážná většina samiček *Harmonia axyridis* byla opravdu větší než samečci. Statistiky ale nebylo silně prokázáno, že by je lumčík více preferoval. P hodnota vyšla 0.051, což je na hranici. Jedno z vysvětlení může být, že se pracovalo s malým vzorkem slunéček. Osobně si myslím, podle pozorování při experimentu, že lumčík bude opravdu více preferovat větší druhy slunéček. Očekávala jsem, že preference samic bude prokázána i v rámci mého experimentu.

D. coccinellae preferuje a více reaguje na slunéčka v pohybu (Silva et al., 2012). Nejčastěji díky svým tykadlům, která jsou velmi citlivá na dotek a pohyb. V průběhu experimentu se tento jev potvrdil. Kdykoliv slunéčko nebylo v pohybu, tak na něj lumčík neútočil. Celých pět minut v Petriho misce vedle sebe nehybně stáli. Na druhou stranu, když slunéčko bylo v neustálém pohybu v Petriho misce, tak ho lumčík urputně pronásledoval. Během pozorování to vypadalo, že slunéčko schválně zachovávalo klid, aby si ho parazitoid nevšiml. Je možné, že i v tomto směru se slunéčka adaptovala.

Lumčík se snaží vložit vajíčka do nechráněné části těla slunéčka pomocí ovipozitoru (Silva et al., 2012). V experimentu to bylo velmi těžké rozpoznat, zda došlo k úspěšnému vložení ovipozitoru, či nikoliv. Analyzovali jsme, zda úspěšnost parazitace závisí na věku a krmení lumčíka nebo replikaci infikování. Statisticky bylo prokázáno, že úspěšnost vylíhnutí *D. coccinellae* z hostitele je ovlivněna

replikací infikování (to znamená, kolikáté slunéčko po sobě už lumčík infikoval). Větší úspěšnost infikování byla, když se lumčík dostal do styku s prvním nebo druhým párem slunéček. To by mohlo naznačovat, že lumčík má jen určitý počet vajíček na určitý časový úsek a proto je načasovanost útoku velmi důležitá.

Průkazně také vyšlo, že interakce mezi stavem lumčíka (věk a krmení) a replikací infikování má vliv na úspěšnou parazitaci nebo smrt slunéčka do třiceti dnů od infikace. Bohužel zde nešlo dokázat, zda úmrtí slunéčka bylo přirozené nebo umřelo na následky infikování. V těle slunéčka se vždy vyvíjí jen jedna larva (Strand, 2014). Nejsilnější jedinec vyhraje boj o slunéčko. V tomto případě slunéčko nemuselo přežít boj larev uvnitř svého těla a umřelo na drastické následky pojidání larev životně důležitých orgánů (Ceryngier, et al., 2017). Tato hypotéza by mohla být v budoucnu dále testována. Pod mikroskopem by se dalo zkoumat co se nachází uvnitř těla infikovaného slunéčka. Bylo by určitě přínosné vidět, zda je uvnitř těla například několik larev, které se „praly“ o hostitele ten kompetiční zápas nezvládl a na následky zemřel.

V experimentu jsem se také snažila zjistit za jakých podmínek a v jaké míře lumčík útočí na *H. axyridis*. Průkazně nevyšlo, že by nějaký z našich faktorů (pohlaví, replikace infikování, věk nebo krmení lumčíka) měl vliv na to, zda lumčík na slunéčko zaútočil nebo si ho po celou dobu v Petriho misce nevšiml. Jak už jsem nastínila, útok ze strany lumčíka bude více záviset na pohybu samotného slunéčka. Ovšem, když k útoků ze strany lumčíka došlo, tak v počtu samotných útoků hrála roli replikace infikování a pohlaví. K většímu počtu útoků došlo při prvním nebo druhém opakování infikování.

V budoucích experimentech týkajících se úspěšnosti parazitace slunéček parazitoidem *D. coccinellae*, by bylo vhodnější pro větší přesnost a úspěšnost experimentu použít větší množství slunéček a parazitoidů. Více se zaměřit na možnou preferenci pohlaví ze strany parazitoidea a ověřit hypotézu, zda nějaké pohlaví opravdu preferuje více. Celkově se více přiblížit k tématu, co parazitoid u slunéček vyhledává a co ovlivňuje jeho výběr. Nabídnout parazitoidovi různé druhy slunéček, velikostí a sledovat jeho reakce při útoku. Tento proces bude určitě jak časově náročný, tak i velmi pracný.

Je velmi zajímavé, že *D. coccinellae* původem z Estonska, kterým byly v České republice nabídnuty *H. axyridis* neměli žádnou úspěšnost ve vylíhnutí

lumčků druhé generace. Když se infikovala slunéčka *H. axyridis* českým lumčikem, tak parazitace měla úspěch. To nás nutí se zamyslet nad možnou adaptací lumčika v České republice. *D. coccinellae* pocházející z České republiky úspěšně překonávají imunitní systém hostitele *H. axyridis*. Naproti tomu, v Estonsku se druh *H. axyridis* ještě nevyskytuje a je možné, že lumčici *D. coccinellae* pocházející ze severní Evropy nejsou na invazního hostitele ještě adaptovaní. Nedávná studie z roku 2019 se tímto problémem zabývá. Byl pozorován daleko větší výskyt parazitoida *D. coccinellae* v českých populacích *H. axyridis* v porovnání s populacemi odebranými jinde po světě (Knapp et al., 2019).

V následujících experimentech zabývajících se adaptací lumčika *D. coccinellae* by se dala vyzkoušet infekce našich slunéček východních lumčikem na dalších lokalitách, které zatím nejsou přirozenou oblastí pro výskyt *H. axyridis*. Znova poukázat na adaptaci parazitoida na slunéčko východní v oblastech, kde se tyto dva druhy přirozeně vyskytují. V České republice před deseti lety parazitoid také nebyl adaptován na *H. axyridis* a jeho úspěšnost parazitace byla velmi nízká. Dnes už se na základě vědeckých experimentů ukazuje, že se za poměrně krátkou dobu společné koexistence úspěšně adaptoval na *H. axyridis* a parazitoval jej (Knapp et al., 2019).

5 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo přiblížit téma parazitoidů a jejich hostitelů a poukázat na neustálou adaptaci ve vztahu parazitoid hostitel. Celá experimentální část testovala chování parazitoida *Dinocampus coccinellae*, jeho reakci při infikování sluníček *Harmonia axyridis* a ukázku jeho dosavadní adaptace.

Celkem 400 dospělců *H. axyridis* bylo podrobena infekcí parazitoidem *D. coccinellae* a sledováno, zda infekce proběhla úspěšně. Byl prokázán vliv replikace infikování na úspěšné vylíhnutí parazitoida v další generaci, kde byla větší úspěšnost při prvním a druhém opakování infekce. Velmi průkazně vyšlo, že geografická oblast (země) původu parazitoida *D. coccinellae* má vliv na úspěšnou parazitaci *H. axyridis*. Výsledky experimentální části hodnotím kladně, stanovené cíle práce byly splněny.

Ve výzkumu vztahu *D. coccinellae* a sluníček budu i nadále pokračovat ve své diplomové práci. Ráda bych se i detailněji zaměřila na sluníčka, která po infekci parazitoidem do třiceti dnů zemřela, zda jejich smrt byla zapříčiněná vývojem parazitoida v těle či nikoliv. Ráda bych současně i budoucí výsledky z realizovaných experimentů prezentovala na vybrané odborné konferenci a později přispěla k možnosti publikování výsledků v některém z vědeckých časopisů.

6 Přehled literatury a použitých zdrojů

Aigbedion-Atalor P. O., Mohamed S. A., Hill M. P., Zalucki M. P., Azrag A. G. A., Srinivasan R., Ekesi S., 2020: Host stage preference and performance of *Dolichogenidea gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae), a candidate for classical biological control of *Tuta absoluta* in Africa. *Biological Control* 104:215.

Anderson P., Alborn H., 1999: Effects on oviposition behaviour and larval development of *Spodoptera littoralis* by herbivore-induced changes in cotton plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 1: 45-51.

Asgari S., Schmidt O., 1994: Passive Protection of Eggs from the Parasitoid. *Journal of Insect Physiology* 9: 789-795.

Baldur W. V., 1926: The bionomics of *Dinocampus coccinellae* Schrank. *Annals of the Entomological Society of America* 4: 465-498.

Barron A., Wilson K., 1998: Overwintering survival in the seven spot ladybird, *Coccinella septempunctata*. *European Journal of Entomology* 4: 639-642.

Beckert A., Wiesner J., Baumann A., Poppel A. K., Vogel H., Vilcinskas A., 2015: Two c-type lysozymes boost the innate immune system of the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *Developmental & Comparative Immunology* 2: 303-312.

Berkvens N., Bale J. S., Berkvens D., Tirry L., De Clerq P., 2010: Cold tolerance of the harlequin ladybird *Harmonia axyridis* in Europe. *Journal of Insect Physiology* 4: 438-444.

Ceryngier P., Nedvěd O., Grez A. A., Riddick E. W., Roy H. E., San Martin G., Haelewaters D., 2017: Predators and parasitoids of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*, in its native range and invaded areas. *Biological Invasions* 20: 1009–1031.

Consoli F. L., Parra J. R. P., Zucchi R. A., 2010: *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*. Springer-Verlag New York Inc, New York, 482 s.

- Desneux N., Barta R. J., Delebecque C. J., Heimpel G. E., 2009:** Transient host paralysis as a means of reducing self-superparasitism in koinobiont endoparasitoids. *Journal of Insect Physiology* 4: 321-327.
- Dheilly N. M., Maure F., Ravallec M., Galinier R., Doyon J., Duval D., Leger L., Volkoff A. N., Missé D., Nidelet S., Demolombe V., Brodeur J., Gourbal B., Thomas F., Mitta G., 2015:** Who is the puppet master? Replication of a parasitic wasp-associated virus correlates with host behaviour manipulation. *Proceedings of the Royal Society B* 1803.
- Dicke M., Cusumano A., Poelman E. H., 2020:** Microbial symbionts of parasitoids. *Annual Review of Entomology* 1: 171-190.
- Firlej A., Girand P. A., Brehélin M., Coderre D., Boivin G., 2012:** Immune Response of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) Supports the Enemy Release Hypothesis in North America. *Annals of the Entomological Society of America* 2: 328-338.
- Firlej A., Lucas E., Coderre D., Boivin G., 2010:** Impact of host behavioral defenses on parasitization efficacy of a larval and adult parasitoid. *Journal of the International Organization for Biological Control* 3: 339-348.
- Forbes A. A., Bagley R. K., Beer M. A., Hippee A. C., Widmayer H. A., 2018:** Quantifying the unquantifiable: why Hymenoptera, not Coleoptera, is the most speciose animal order. *BMC Ecology* 1: 1-11.
- Gaigher R., Pryke J. S., Samways M. J., 2015:** High parasitoid diversity in remnant natural vegetation, but limited spillover into the agricultural matrix in South African vineyard agroecosystems. *Biological Conservation* 1: 69-74.
- Gal A., Robert C., Accatino F., Claessen D., Lecomte J., 2020:** Modelling the interactions between landscape structure and spatio-temporal dynamics of pest natural enemies: Implications for conservation biological control. *Ecological Modelling* 420: 108912.
- Geervliet J. B. F., Vet L. E. M., Dicke M., 1996:** Innate responses of the parasitoids *Cotesia glomerata* and *C. rubecula* (Hymenoptera: Braconidae) to volatiles from different plant-herbivore complexes. *Journal of Insect Behavior* 4: 525–538.

Gegner T., Schmidtberg H., Vogel H., Vilcinskas A., 2018: Population-specific expression of antimicrobial peptides conferring pathogen resistance in the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *Scientific Reports* 1: 1-7.

Geoghegan I. E., Majerus T. M. O., Majerus M. E. N., 1998: Differential parasitisation of adult and pre-imaginal *Coccinella septempunctata* by *Dinocampus coccinellae*. *European Journal of Entomology* 95: 571-578.

Geoghegan I. E., Thomas W. P., Majerus M. E. N., 1997: Notes on the coccinellid parasitoid *Dinocampus coccinellae* in Scotland. *Entomologist* 116: 179-184.

Grasman J., Herwaarden O. A., Hemerik L., Lenteren J. C., 2001: A two-component model of host-parasitoid interactions: determination of the size of inundative releases of parasitoids in biological pest control. *Mathematical Biosciences* 2: 207-216.

Gross P., 1993: Insect behavioral and morphological defenses against parasitoids. *Annual Review of Entomology* 1: 251-273.

Guo H., Wang Ch. Z., 2019: The ethological significance and olfactory detection of herbivore-induced plant volatiles in interactions of plants, herbivorous insects, and parasitoids. *Arthropod-Plant Interactions* 13: 161-179.

Hackett-Jones E., Cobbold C., White A., 2008: Coexistence of multiple parasitoids on a single host. *Theoretical Ecology* 2: 19-31.

Hance T., Baaren V. J., Vernon P., Boivin G., 2007: Impact of Extreme Temperatures on Parasitoids in a Climate Change Perspective. *Annual Review of Entomology* 52: 107-126.

Harvey J. A., Fei M., Lammers M., Kos M., Zhu F., Heinen R., Poelman E. H., Gols R., 2016: Development of a solitary koinobiont hyperparasitoid in different instars of its primary and secondary hosts. *Journal of Insect Physiology* 90: 36-42.

Heimpel G. E., 2019: Linking parasitoid nectar feeding and dispersal in conservation biological control. *Biological Control* 1: 36-41.

Hofsvang T., 1988: Mechanisms of host discrimination and intraspecific competition in the aphid parasitoid *Ephedrus cerasicola*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 3: 233-239.

Hoogendoorn M., Heimpel G. E., 2002: Indirect interactions between an introduced and a native ladybird beetle species mediated by a shared parasitoid. *Biological Control* 3: 224-230.

Chapin J. B., Brou V. A., 1991: *Harmonia axyridis* (Pallas). The third species of the genus to be found in the United States (Coleoptera: Coccinellidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 3: 630-635.

Kaeslin M., Pfister W. R., Molina D., Lanzrein B., 2005: Changes in the haemolymph proteome of *Spodoptera littoralis* induced by the parasitoid *Chelonus inanitus* or its polydnavirus and physiological implications. *Journal of Insect Physiology* 9: 975-988.

Knapp M., Řeřicha M., Marřiková S., Harabiř F., Kadlec T. Nedvěd O., Teder T., 2019: Invasive host caught up with a native parasitoid: field data reveal high parasitism of *Harmonia axyridis* by *Dinocampus coccinellae* in Central Europe. *Biological Invasions* 9: 2795–2802.

Koch R. L., 2003: The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: A review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. *Journal of Insect Science* 3: 3-32.

Koyama S., Majerus M. E. N., 2007: Interactions between the parasitoid wasp *Dinocampus coccinellae* and two species of coccinellid from Japan and Britain. *Biological Control* 1: 253-264

Landolt P. J., 1993: Effects of host plant leaf damage on cabbage looper moth attraction and oviposition. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 1: 79-85.

Leavell B. C., Bernal X. E., 2019: The cognitive ecology of stimulus ambiguity: a predator–prey perspective. *Trends in Ecology & Evolution* 11: 1048-1060.

Lenteren J. C., Godfray H. C. J., 2005: European science in the Enlightenment and the discovery of the insect parasitoid life cycle in The Netherlands and Great Britain. *Biological Control* 1: 12-24.

Majerus M. E. N., 1997: Parasitization of British ladybirds by *Dinocampus coccinellae*. *British journal of entomology and natural history* 10: 15-24.

Majerus M. E. N., Geoghegan I. E., Majerus T. M. O., 2000: Adaptive preferential selection of young coccinellae hosts by the parasitoid wasp *Dinocampus coccinellae* (Hymenoptera : Braconidae). *European Journal of Entomology* 97: 161-164.

Maure F., Thomas F., Doyon J., Brodeur J., 2016: Host nutritional status mediates degree of parasitoid virulence. *Oikos* 9: 1314-1323.

Maure F., Brodeur J., Ponlet N., Doyon J., Firlej A., Elguero E., Thomas F: 2011. The cost of a bodyguard. *Biology Letters* 7: 843-846.

Obrycki J. J., Tauber M. J., Tauber C. A., 1985: *Perilitus coccinellae* (Hymenoptera: Braconidae): Parasitization and development in relation to host-stage attacked. *Annals of the Entomological Society of America* 6: 852-854.

Osawa N., 1993: Population field studies of the aphidophagous ladybird beetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): life tables and key factor analysis. *Researches on Population Ecology* 35: 335–348.

Pimentel D., Nagel M. P., Madden J. L., 1963: Space-Time Structure of the Environment and the Survival of Parasite-Host Systems. *The American Naturalist* 894: 141-167.

Price P. W., Bouton C. E., Gross P., PcPheron B. A., Thompson J. N., Weis A. E., 1980: Interactions Among Three Trophic Levels: Influence of Plants on Interactions Between Insect Herbivores and Natural Enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1: 41-65.

Roy H. E., Brown P. M. J., Adriaens T., Berkvens N., Borges I., Clusella-Trullas S., Comont R. F., De Clerq P., Eschen R., Estoup A., Evans E. W., Facon B., Gardiner M. M., Gil A., Grez A. A., Guillemaud T., Haelewaters D., Herz A., Honek A., Howe A. G., Hui C., Hutchison W. D., Kenis M., Koch R. L., Kulfan J., Handley L. L., Lombaert E., Loomans A., Losey J., Lukashuk A. O., Maes D., Magro A., Murray K. M., Martin G. S., Martinková, Z., Minnaar I. A., Nedvěd O., Orlova-Bienkowskaja M. J., Osawa N., Rabitsch W., Ravn H. P., Randoni G., Rorke S. L., Ryndevič S. K., Saethre M. G., Sloggett J. J., Soares A. O., Stals R., Tinsley M. C., Vandereycken A., Wielink P., Vigišová S., Zach P.,

Zakharov I. A., Zaviero T., Zhao Z., 2016: The harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*: global perspectives on invasion history and ecology. *Biological Invasions* 18: 997–1044.

Řeřicha, M., Dobeš P., Hyrši P., Knapp M., 2018: Ontogeny of protein concentration, haemocyte concentration and antimicrobial activity against *Escherichia coli* in haemolymph of the invasive harlequin ladybird *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Physiological Entomology* 1: 51-59.

Shiojiri K., Takabayashi J., 2003: Effects of specialist parasitoids on oviposition preference of phytophagous insects: encounter–dilution effects in a tritrophic interaction. *Ecological Entomology* 5: 573-578.

Scheiner Ch., Martin E. A., 2020: Spatiotemporal changes in landscape crop composition differently affect density and seasonal variability of pests, parasitoids and biological pest control in cabbage. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 107051.

Signoretto A. G. C., Penaflor M. F. G. V., Moreira L. S. D., Bento J. M. S., 2012: Diurnal and nocturnal herbivore induction on maize elicit different innate response of the fall armyworm parasitoid, *Campoletis flavicincta*. *Journal of Pest Science* 85: 101–107.

Silva R. B., Cruz I., Figueiredo M. L. C., Pereira A. G., Penteado-Dias A. M., 2012: Occurrence and biology of *Dinocampus coccinellae* parasitising different species of Coccinellidae (Coleoptera) in Neotropical region. *Brazilian Journal of biology* 1: 215-219.

Snell-Rood E. C., Steck M. K., 2019: Behaviour shapes environmental variation and selection on learning and plasticity: review of mechanisms and implications. *Animal Behaviour*. 147-156.

Stanley J., Preetha G., 2016: *Pesticide Toxicity to Non-target Organisms*. Springer, Berlin, 502 s.

Strand M. R., 2014: Teratocytes and their functions in parasitoids. *Current Opinion in Insect Science* 6: 68-73.

- Tanaka S., Ohsaki N., 2006:** Behavioral manipulation of host caterpillars by the primary parasitoid wasp *Cotesia glomerata* (L.) to construct defensive webs against hyperparasitism. *Ecological Research* 21: 570–577.
- Teder T., Knapp M., 2019:** Sublethal effects enhance detrimental impact of insecticides on non-target organisms: A quantitative synthesis in parasitoids. *Chemosphere* 214: 371-378.
- Thompson B. J., 2021:** From genes to shape during metamorphosis: a history. *Current Opinion in Insect Science*. 2021, 43, pp. 1-10.
- Townsend Č. R., Begon M., Harper J. L., 2003:** *Essentials of ecology*. Blackwell Science, Oxford, 530 s.
- Van Alphen J. J. M., Nell H. W., 1981:** Superparasitism and Host Discrimination By *Asobarata Tabida* Nees (Braconidae : Alysiinae), a Larval Parasitoid of *Drosophila*. *Netherlands Journal of Zoology* 2: 232–260.
- Vansant H., Vasquez Y. M., Obrycki J. J., Sethuraman A., 2019:** Coccinellid host morphology dictates morphological diversity of the parasitoid wasp *Dinocampus coccinellae*. *Biological Control* 133: 110-116.
- Verheggen F. J., Vogel H., Vilcinskis A., 2017:** Behavioral and Immunological Features Promoting the Invasive Performance of the Harlequin Ladybird *Harmonia axyridis*. *Frontiers in Ecology and Evolution* 156.
- Vilhelmsen L., 2003:** Flexible ovipositor sheaths in parasitoid Hymenoptera (Insecta). *Arthropod Structure & Development* 2-3: 277-287.
- Vinson B. S., 1976:** Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology* 1: 109-133.
- Waage J. K., Hassell M. P., 1982:** Parasitoids as biological control agents: a fundamental approach. *Biocontrol Science and Technology* 4: 241-268.
- Wagner J. D., Glover M. D., Moseley J. B., Moore A. J., 1999:** Heritability and fitness consequences of cannibalism in *Harmonia axyridis*. *Evolutionary Ecology Research* 1: 375-388.

Weinersmith K. L., 2019: What's gotten into you?: a review of recent research on parasitoid manipulation of host behavior. *Current Opinion in Insect Science* 33: 37-42

Weseloh R. M., 1976: Reduced effectiveness of the gypsy moth parasite, *Apanteles melanoscelus*, in Connecticut due to poor seasonal synchronization with its. *Environmental Entomology* 4: 743–746.

Wright E. J., 1979: Observations on the copulatory behaviour of *Perilitus coccinellae*. *Proceedings of the Entomological Society Of Ontario* 109.

Zaviezo T., Soares A. O., Grez A. A., 2019: Interspecific exploitative competition between *Harmonia axyridis* and other coccinellids is stronger than intraspecific competition. *Biological control* 131: 62-68.

Zwakhals K., 2010: Identification of Western Palearctic *Dolichomitus* species (Hymenoptera: Ichneumonidae: Pimplinae). *Entomologische Berichten* 4: 111-127.

7 Seznam obrázků

Obr. 1: První instar larvy *Harmonia axyridis*

Obr. 2: Druhý instar larvy *Harmonia axyridis*

Obr. 3: Třetí instar larvy *Harmonia axyridis*

Obr. 4: Čtvrtý instar larvy *Harmonia axyridis*

Obr. 5: Slunéčko *Harmonia axyridis* s kokonem *Dinocampus coccinellae*

Obr. 6: Graf znázorňující vliv replikace infikování na počtu vylíhnutých *Dinocampus coccinellae*

Obr. 7: Graf znázorňující vliv stavu lumčika s replikací infikování na počtu vylíhnutých *Dinocampus coccinellae* druhé generace nebo úmrtí sluněček *Harmonia axyridis*

Obr. 8: Graf znázorňující vliv replikace na počtu útoků lumčika *Dinocampus coccinellae*

Obr. 9: Graf znázorňující vliv replikace infikování na průměrném počtu útoků

Obr. 10: Graf znázorňující vliv pohlaví na průměrném počtu útoků

Obr. 11: Graf znázorňující preferenci pohlaví

Obr. 12: Mapa sběru sluněček na parazitoidy *Dinocampus coccinellae* v Estonsku

Obr. 13: Mapa sběru sluněček na parazitoidy *Dinocampus coccinellae* v České republice

Obr. 14: Graf znázorňující vliv geografické oblasti původu *Dinocampus coccinellae* na průměrnou úspěšnost vylíhnutí lumčiků druhé generace

Obr. 15: Graf znázorňující vliv geografické oblasti původu *Dinocampus coccinellae* na průměrnou úmrtnost *Harmonia axyridis*

Obr. 16: Graf znázorňující vliv geografické oblasti původu *Dinocampus coccinellae* na průměrnou úspěšnost vylíhnutí lumčiků druhé generace nebo úmrtí sluněček

8 Přílohy

Příloha 1: Třídění pohlaví slunéček pomocí binokulární lupy.

Příloha 2: Snaha parazitoida *Dinocampus coccinellae* infikovat slunéčko východní.

Příloha 3: Čerstvě vylezlá larva *Dinocampus coccinellae* z těla *Harmonia axyridis*.



Příloha 1: Třídění pohlaví slunéček pomocí binokulární lupy.



Příloha 2: Snaha parazitoida *Dinocampus coccinellae* infikovat slunéčko východní.



Příloha 3: Čerstvě vylezlá larva *Dinocampus coccinellae* z těla *Harmonia axyridis*.