



Pedagogická
fakulta
Faculty
of Education

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

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Pedagogická fakulta

Katedra biologie

Bakalářská práce

**Demonstrace základní charakteristiky populační dynamiky ve školním
akváriu – synchronizace ekdyse a dostupnosti potravy u modelového
organismu**

Vypracovala: Eva Hroudová

Vedoucí práce: RNDr. Tomáš Ditrich, Ph.D.

České Budějovice 2014

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě Pedagogickou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledky obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Písku 27. 6. 2014

Eva Hroudová

.....

Děkuji RNDr. Tomáši Ditrichovi, Ph.D. za odborné vedení mé práce, za cenné rady, trpělivost, čas, zájem a pomoc, kterou mi po celou dobu mé práce věnoval.

Děkuji Mirce Krovové za ochotu a poskytnutí technického zázemí.

Děkuji Mileně Mikeskové, Ivaně Průžové, Anetě Marvanové, Lucii Paulové, Pavle Šalandové Zuzaně Matúšové a Vojtěchu Kolářovi za pomoc s laboratorními chovy.

Děkuji celé své rodině za podporu při vypracování této bakalářské práce, konkrétně pak Michalovi Kyselovi a Jiřině Hroudové.

Abstrakt:

Hroudová E., 2014: Demonstrace základní charakteristiky populační dynamiky ve školním akváriu – synchronizace ekdyse a dostupnosti potravy u modelového organismu.

Bakalářská práce, Pedagogická fakulta JU, České Budějovice, 34 s.

Tato bakalářská práce je zaměřena na synchronizaci ekdyse a dostupnosti potravy u semiakvatické plošnice hladinatky pobřežní (*Microvelia reticulata*) (Heteroptera: Gerromorpha). Ekdyse, neboli svlékání, je období, kdy jedinec shazuje starou kutikulu a postupně ji nahrazuje novou. Hlavním úkolem bylo zjistit, zda má na ekdysi vliv dostupnost potravy. Dalším cílem bylo zhodnotit, jestli by byl takovýto experiment proveditelný ve školních podmínkách.

Během experimentu bylo sledováno celkem 18 kohort s počátečním počtem přibližně 20 jedinců. Všechny kohorty byly krmeny obden a vždy byl zaznamenáván počet svlečených a uhynulých jedinců. Ke sledování závislosti četnosti ekdyse na dostupnosti potravy byly použity tři způsoby analýzy - analýza testem χ^2 , analýza t-testem a analýza hierarchickou ANOVOU. Výsledky ukazují, že dostupnost potravy může mít na ekdysi vliv, přičemž vyšší počet svlékání byl obvykle ve dnech bez dostupné potravy. Je možné, že vyvíjející se nymfy *M. reticulata* jsou limitovány konkurencí a přednostně se svlékají při nedostupné potravě.

Tento dlouhodobý experiment není vhodné použít v běžných školních podmínkách, neboť je velmi časově a prostorově náročný, a neprokázal přesvědčivé výsledky.

Klíčová slova: hmyz, svlékání, ekdyse, kanibalismus, predace, kompetice, *Microvelia*

Výzkum byl podpořen projektem GAČR P505/10/0096.

Vedoucí práce: RNDr. Tomáš Ditrich, Ph.D.

Abstract:

Hroudová E., 2014: Demonstration of the basic characteristics of population dynamics in the school aquarium – synchronization of ecdysis and food availability in a model organism. Bachelor thesis, University of South Bohemia, Faculty of Education, České Budějovice, 34pp.

This bachelor thesis is focused on the synchronization of ecdysis and food availability in semiaquatic bugs *Microvelia reticulata* (Heteroptera: Gerrhormorpha). Ecdysis, or molting, is a process when an individual sheds the old cuticle and gradually replaces it by a new one. The main task was to determine whether the ecdysis is influenced by the presence of food. It was also necessary to assess whether such an experiment would be feasible within the school environment.

There were 18 cohorts with initial number ca 20 individuals each monitored during this experiment. The cohorts were fed every second day and every day the number of molts and deaths was recorded. Three methods of analysis - χ^2 test, t-test analysis and nested ANOVA – were used for determination whether ecdysis depends on food availability. The results show that the food availability may influence the molting, when higher molting rate was usually in the days without food. It is thus possible *M. reticulata* nymphs are limited by competition and prefer molting during the food shortage.

This long-term experiment is not appropriate in a normal school environment, it is very time and space consuming, and failed to show convincing results.

Key words: Insect, ecdysis, molting, cannibalism, predation, competition, *Microvelia*

The research was supported by the project GACR P505/10/0096.

Supervisor: RNDr. Tomáš Ditrich, Ph.D.

Obsah

1. Úvod	1
2. Literární přehled	2
2.1. Stavba těla hmyzu	2
2.2. Vývoj hmyzu	3
2.3. Růst hmyzu.....	3
2.4. Rozdělení hmyzu podle vývoje.....	6
2.4.1. Kukla	7
2.4.2. Metamorfóza	8
2.4.3. Dospělý jedinec	8
2.5. Svlékání (ekdyse)	9
2.5.1. Hormonální regulace	10
2.5.2. Environmentální faktory	11
2.6. Semiakvatické plošnice	15
2.6.1. Postembryonální vývoj	15
2.6.2. Výskyt	16
2.6.3. Potrava.....	16
2.6.4. Studovaný organismus	17
3. Materiál a metody	18
3.1. Analýza dat.....	22
4. Výsledky	23
4.1. Analýza testem χ^2	23
4.2. Analýza t-testem	25
4.3. Analýza hierarchickou ANOVOU	27
5. Diskuse	29
6. Závěr.....	31
Použitá literatura	32

1. Úvod

Svlékání, neboli ekdyse, je typickým projevem vývoje všech členovců i celého velkého taxonu *Ecdysozoa*. Svlékající se jedinci jsou ohroženi nejen samotným procesem ekdyse, ale kvůli dočasně snížené pohyblivosti a ztrátě ochrany sklerotizované kutikuly bývají ohroženi predátory. Toto ohrožení může být umocněno u dravých druhů s běžným kanibalismem a vyskytujících se ve velkých populačních hustotách. Pro jedince z takových populací by možná bylo užitečné, kdyby se proces svlékání řídil nejen vnitřní hormonální regulací, ale i dostupností potravy v populaci. Pokud by se jedinci přednostně svlékali v době, kdy je obecně dostupná potrava, nasycení příslušníci dané populace by mohli hrozit nižším predančním tlakem a tato vlastnost by mohla být rychle zafixována.

Cílem bakalářské práce je navrhnout a provést experiment, který by měl ověřit synchronizaci ekdyse a dostupnost potravy u hladinatky pobřežní (*Microvelia reticulata*) a vyslovení závěru, zda je možné tento pokus využít ve školních podmínkách. Bakalářská práce by měla odpovědět na následující otázky:

- 1) Souvisí ekdyse, respektive proces svlékání hladinatky pobřežní (*Microvelia reticulata*) s aktuální dostupností potravy?
- 2) Je možné tento experiment použít jako demonstraci adaptace na predaci ve školní praxi?

2. Literární přehled

2.1. Stavba těla hmyzu

Tělo hmyzu je tvořeno články, které splývají v tři základní tělní oddíly (tagmata). Jedná se o hlavu (*caput*), hrud' (*thorax*) a zadeček (*abdomen*). Tyto články se skládají z různých skleritů, které se navzájem propojují: hřbetní (*dorsální*), břišní (*ventrální*) a postranní (*laterální, pleurální*) sklerity. Sklerity jsou k sobě připevněny pomocí tzv. švů. Během vývoje mění sklerity svojí velikost, výrazně se mění nebo úplně zanikají. Součástí švů jsou uspořádané výběžky, ke kterým se upíná svalovina. Tyto výběžky nazýváme vnitřní kostra. Na hlavě nebo hrudi můžeme nalézt členěné přívěsky (končetiny), které jsou různě tvořeny a podle tvaru a funkce se dělí na nohy, kusadla, čelisti, tykadla apod. (Pokorný a Šifner, 2004).

Nejmenší oddíl těla je hlava (*caput*), která sestává z šesti článků, které však nejsou vždy zřetelně ohraničeny. Hlavu dělíme dle tvaru na prognátní, která směřuje rovně kupředu, ortognátní, která je skloněna dolů a opistognátní, která je stočena pod tělem nazad. Dále na hlavě můžeme nalézt ústní aparát, tykadla a oči (Zahradník a Severa, 2004).

Další částí těla je hrud' (*thorax*), kterou tvoří tři oddíly, ovšem nejsou stejného tvaru ani funkce. Předohrud' (*prothorax*), středohrud' (*mesothorax*) a zadohrud' (*metatorax*) jsou více či méně oddělené. Na hrudních člancích se nacházejí končetiny a na středohrudi a zadohrudi páry křídel (Zahradník a Severa, 2004).

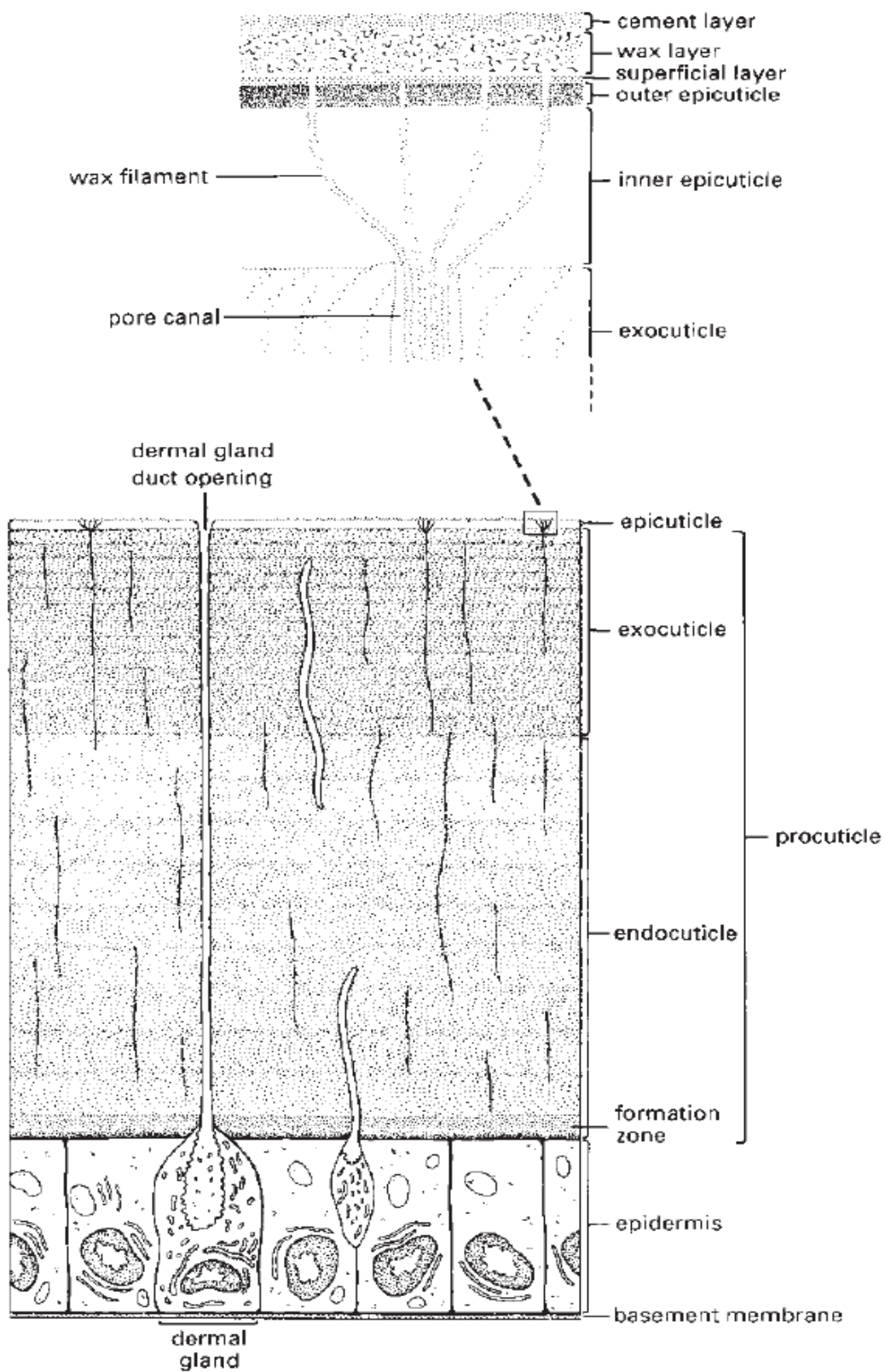
Třetí část hmyzího těla tvoří zadeček (*abdomen*), na kterém ovšem nenajdeme končetiny, výjimkou jsou bezkřídlí, u kterých na zadečku můžeme najít výrůstky. Dále se zde u některých skupin objevují přívěsky, např. u škvorů, jepic a švábů. U některých samic lze nalézt na vrcholu zadečku kladélko, např. u kobytek a blanokřídlych. U hmyzu je zadeček důležitý, protože jsou v něm uspořádány životně důležité orgány (Zahradník a Severa, 2004).

2.2. Vývoj hmyzu

Hmyz lze obecně popsat jako pohlavně se rozmnožující živočichy. Dále se u hmyzu může vyskytovat partenogeneze, kde samci nejsou známi nebo se vyskytují jen v určité krajině a samičky tak musí klást neoplozená vajíčka. Partenogeneze se vyskytuje u mšic, červců, pakobylek, nosatců apod. Většinou se hmyz rozmnožuje pomocí oplozených vajíček (*oviparie*). Mimo oviparních existují i druhy živorodé (*viviparní*), např. některé bejlomorky (Diptera: Cecidomyiidae), řásníci (Strepsiptera) a další zástupci dvoukřídlých (Gullan a Cranston, 2010). Dále se vyskytují i druhy vejcoživorodé (*ovoviviparní*), které kladou vajíčka a poté se z nich velmi brzy líhnou larvy. Mezi ovoviviparní řadíme např. některé třásněnky (Thysanoptera), šváby (Blattidae) a mšice (Aphidae) a další (Gullan a Cranston, 2010). Embryonální neboli zárodečný vývoj začíná oplozením vajíčka a končí vylíhnutím larvy. Existuje celá řada faktorů, na kterých je tato proměna závislá, např. teplota, vlhkost a kvalita prostředí. U hmyzu můžeme najít dva rozdílné způsoby proměny: jednodušší je proměna nedokonalá (*hemimetabolie*) a složitější je proměna dokonalá (*holometabolie*) (viz dále) (Zahradník a Severa, 2004).

2.3. Růst hmyzu

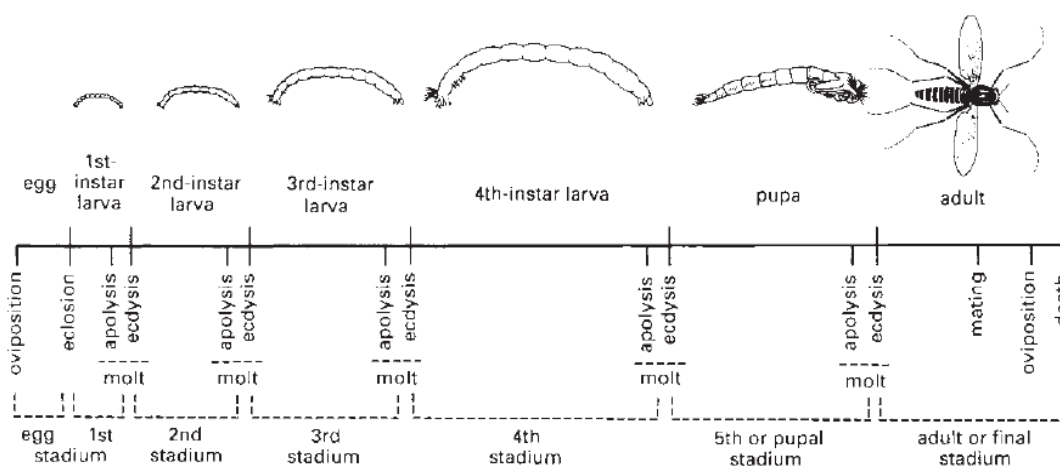
Pro růst hmyzu je velmi důležitá existence vnější kostry (*exoskelet*). Sklerotizovaná vrstva, která se nachází nad pokožkou, se nazývá kutikula. Tato vrstva je bohatá na obsah bílkovin a chitinu. Kutikula je tvořena dvěma vrstvami – tenčí epikutikulou (*epicuticle*, 3 - 0,3 μm) a pod ní je vrstva tlustší prokutikula (*procuticle*, 10 μm – 0,5 mm). Prokutikula se dále dělí na silnější vrstvu endokutikulu a tenčí vrstvu exokutikulu. Rozdělena je taktéž epikutikula, která se skládá ze tří částí - vnitřní, vnější a povrchová epikutikula (u některých druhů hmyzu je pokryta voskovou nebo tukovou vrstvou, která chrání živočichy před dehydratací, odráží dešťovou vodou a UV záření, maskuje jedince a odrazuje predátory (Gullan a Cranston, 2010).



Obr. 1. Znázornění obecné struktury stavby kutikuly u hmyzu (převzato z Hepburn, 1985; Hadley, 1986; Binnington, 1993 in Gullan a Cranston, 2010).

Růst hmyzu neprobíhá plynule, ale je přerušovaný a je omezen jen na pravidelnou dobu při svlékání (ekdyse, ang. ecdysis nebo molting), z důvodu tvrdnutí kutikuly. Během tohoto procesu je stará a těsná kutikula nahrazována novou a větší. Spodní vrstva kutikuly (endokutikula) se začne pomalu rozpouštět a následně je vstřebána. Poté vznikne prázdná dutinka, ve které buňky pokožky sekretují novou kutikulu. Následně dochází k praskání staré kutikuly a vzniku svlečky (*exuvie, molt*). Nakonec se stává nová kutikula pevnou, pigmentovanou a tuhou oporou (Gullan a Cranston, 2010).

Po svlékání, v období největší pružnosti a poddajnosti kutikuly dochází ke zvětšování sklerotizovaných částí těla (vyskytuje se u všech členovců). Než se z jedince stane dospělec, dojde k mnohému opakování tohoto procesu. Každé vývojové stádium, které má rozdílnou kutikulu, odborně nazýváme instar. U každého druhu hmyzu je počet instarů odlišný (Gullan a Cranston, 2010).



Obr. 2. Schematický obrázek životního cyklu ukazuje různé události a etapy ve vývoji hmyzu (pakomára) (převzato z Gullan a Cranston, 2010).

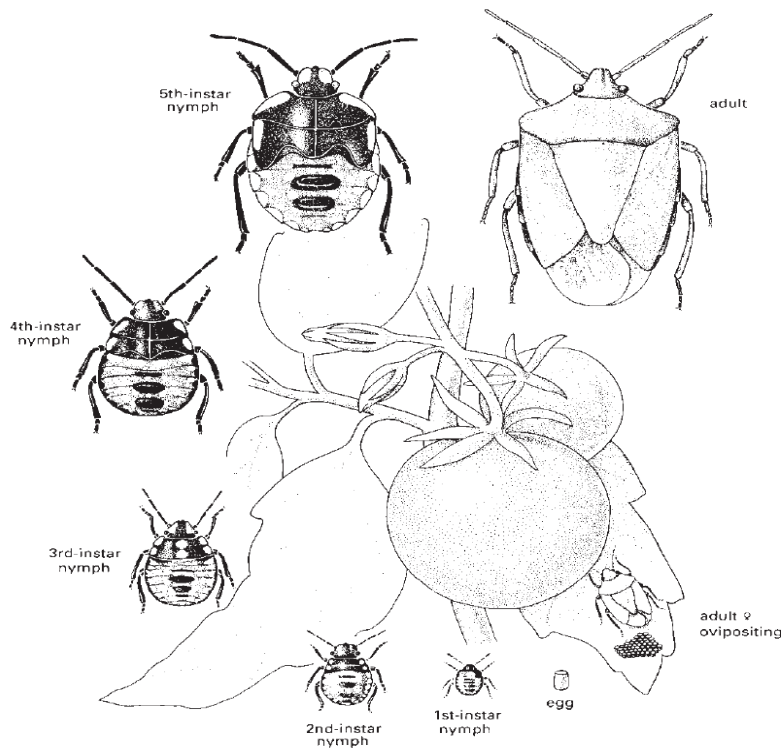
Vývoj hmyzu zahrnuje dvě složky růstu – tzv. molt increment a intermolt period. U svlékacího přírůstku (*molt increment*), měříme sklerotizovanou část těla, ať už v délce nebo šířce, mezi dvěma stádii. U období mezi svlékáním (*intermolt period*) je délka sklerotizované části těla ovlivněna několika faktory, např. rozdílným pohlavím nebo tělesným postižením (ztráta končetin), teplotou, larvální populační hustotou a především dostupností potravy (Gullan a Cranston, 2010).

U většiny hmyzu se vyskytuje tzv. koncové stádium. Pouze u některých druhů, jako např. u bezkřídlého hmyzu (Apterygota), chvostoskoků (Collembola) a vidličnatek (Diplura), se svlékání opakuje až do konce života. Dospělec je u většiny hmyzu koncovým stádiem, který je definován zastavením růstu a svlékáním. Ve fázi dospělce neboli imaga, se hmyz stává reprodukčně zralým. Existuje i tzv. subimago, které se vyskytuje u jepic, je schopné letu, výjimečně reprodukuje a bezprostředně předchází konečnému stádiu dospělce (Gullan a Cranston, 2010).

2.4. Rozdělení hmyzu podle vývoje

Podle způsobu vývoje rozdělujeme hmyz do dvou skupin – hmyz s proměnou dokonalou (*Holometabola*, *Endopterygota*) a s proměnou nedokonalou (*Hemimetabola*, *Exopterygota*). Hemimetabola neprocházejí stádiem kukly, některé druhy tvoří stádium, které je kukle hodně podobné. Naproti tomu Holometabola podstupují složitou proměnu se stádiem kukly. Označení Exopterygota je důsledkem způsobu vývoje křídel, která se nacházejí na vnější straně těla a neprocházejí stádiem kukly. Oproti tomu Endopterygota mají křídla uvnitř těla a jedinci procházejí složitou proměnou se stádiem kukly (Gullan a Cranston, 2010).

U proměny nedokonalé nacházíme tři stupně vývoje: vajíčko - larva (nymfa) – imago. U larvy dochází k několikanásobnému svlékání, čím je larva starší, tím více se podobá imagu. Imago je poslední stádium larvy, které se liší vyvinutými křídly, přítomností pohlavních orgánů a velikostí. Tato proměna se vyskytuje u kobytek (Ensifera), ploštic (Heteroptera), třásněnek (Thysanoptera), termitů (Isoptera), vší (Anoplura), jepic (Ephemeroptera) a vážek (Odonata) (Zahradník a Severa, 2004).



Obr. 3. Životní cyklus hmyzu s proměnou nedokonalou u zástupce *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). Vajíčko, pět larválních instarů a dospělý jedinec na rostlině rajčete (Hely a kol., 1982 in Gullan a Cranston, 2010).

Dokonalá proměna, kterou prochází Holometabola se skládá ze 4 stádií – vajíčko, larva, kukla (pupa) a imago. Larvy nejsou podobné dospělci a nemají základy křídel. Ve stádiu kukly dochází k tzv. období klidu a jedinci nepřijímají potravu. V kukle dochází ke změně orgánů larvy, a tím se jedinec mění v dospělého. Tato proměna je nazývána proměnou dokonalou (Gullan a Cranston, 2010). Do této proměny se zařazují např. motýli (Lepidoptera), blanokřídílí (Hymenoptera) a dvoukřídílí (Diptera), brouci (Coleoptera) a jiné menší řády – chrostíci (Trichoptera), střechatky (Megaloptera), dlouhošijky (Raphidioptera) a blechy (Siphonaptera) (Zahradník a Severa, 2004).

2.4.1. Kukla

Pojem kuklení se používá buď pro svléknutí do instaru kukly anebo pro přeměnu z larvy na kuklu. To, co vypadá jako kukla, ve skutečnosti kukla být nemusí - může se jednat o plně vyvinutého jedince v kuklí kutikule – zahalený (farátní - pharate) dospělce. Kuklu nebo dospělce obklopuje ochranná buňka nebo kokon. Pouze u některých brouků

(Coleoptera), dvoukřídlých (Diptera), motýlů (Lepidoptera) a blanokřídlých (Hymenoptera) ochranná kukla není (Gullan a Cranston, 2010).

Existují dva typy kukel – kukla volná (*exarata*) a kukla mumiová (*obtectata*). U kukly volné nejsou výběžky pevně přitisknuty k tělu, např. končetiny, antény, křídla a čelistní části. Tato kukla má kousací článkované mandibuly, které dospělec používá k prokousání se ven skrz obal kukly. Dolní čelist může být také nečlánkovaná, to znamená, že dospělec nejprve ze sebe shodí kutikulu kukly a poté pomocí mandibul a nohou unikne z kokonu či komůrky. Naopak kukla mumiová má výrůstky pevně připojeny k tělu a kutikula je silně sklerotizována (téměř u všech motýlů (Lepidoptera)). Hmyz s mumiovou kuklou postrádá kokon, např. slunéčka (Cocinelidae). Při přítomnosti kokonu dospělec vylézá z kukly za pomoci zpětně stočených břišních ostnů nebo výstupků na hlavě, např. u většiny motýlů (Gullan a Cranston, 2010).

2.4.2. Metamorfóza

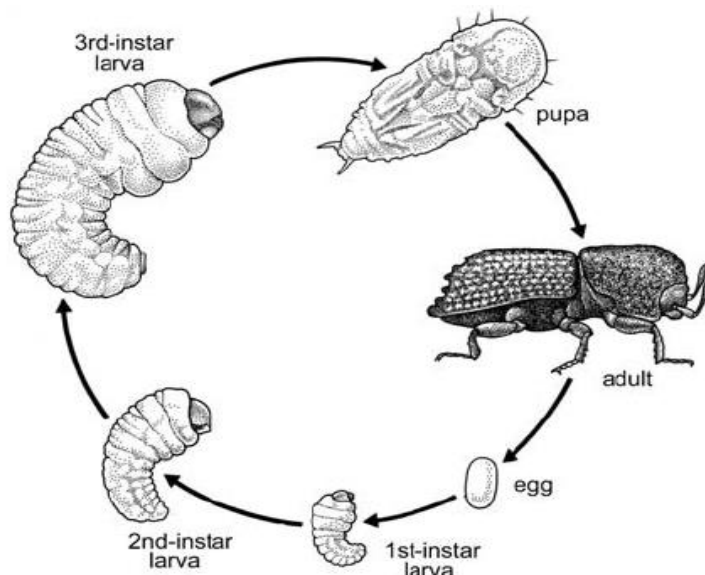
Všichni zástupci křídlatého hmyzu (Pterygota) procházejí během svého životního cyklu různými stupni přeměny, a to z nedospělého stádia do dospělého. Někteří exopterygota např. švábi, vykazují pouze drobné morfologické změny v postembryonálním vývoji, naopak u endopterygota tělo prochází výraznou přestavbou během metamorfózy. Pouze řády, které patří do skupiny Holometabola (=Endopterygota) mají metamorfózu ve stádiu kukly. Změny ve tvaru těla, které jsou hlavní podstatou metamorfózy, se vyznačují rozdílným růstem odlišných částí těla. Orgány, které u larvy nebyly vyvinuty, a které budou funkční u dospělého jedince, rostou rychleji, než je průměrná rychlost růstu organismu. Typickým příkladem je zrychlený růst křídelních základů, ale svou velikost mohou měnit i končetiny, genitálie, gonády a další vnitřní orgány. Alespoň u některého hmyzu je spouštěčem počátku metamorfózy dosažení určité velikosti těla, která naprogramuje mozek na metamorfózu změnou hladiny hormonů (Gullan a Cranston, 2010).

2.4.3. Dospělý jedinec

Jakmile hmyz dosáhne dospělého stádia, už se dále nesvléká (mimo jepice (Ephemeroptera)). Imago je po opuštění kutikuly schopné reprodukce. Počet

reprodukčních cyklů je závislý na druhu a dostatku potravy. Někteří jedinci žijí velmi krátce, nemají žádné nebo redukované ústní ústrojí a létají maximálně 1-2 dny např. jepice (Ephemeroptera) a pakomáři (Chironomidae). Většina hmyzu žije několik týdnů, často měsíců a někdy i let, např. termiti (Isoptera) a královny mravenců (Formicidae) a včel (Apidae) (Gullan a Cranston, 2010).

Dospělý život začíná vylíhnutím z kukly, i když samotná metamorfóza mohla být dokončena dříve, než dospělec z kukly vylezl. Změny v teplotě nebo intenzitě světla a možná i chemické signály mohou synchronizovat vylíhnutí dospělce (Gullan a Cranston, 2010).



Obr. 4. Životní cyklus s proměnou dokonalou. Vajíčko, tři larvální instary, kukla a dospělec. Kůrovcovitý brouk, *Ips grandicollis*, (Coleoptera: Scolytinae) (Johnson a Lyon, 1991 in Gullan a Cranston, 2010).

2.5. Svlékání (ekdyse)

Instar lze definovat jako období od ekdyse k ekdysi právě proto, že shazování staré kutikuly je velmi výrazným jevem. Nový instar začíná existovat až od chvíle apolýzy, což znamená, že epidermis je oddělena od kutikuly předchozího stádia. U většiny druhů hmyzu je apolýza těžko rozeznatelná, nicméně je důležitá, protože mnoho druhů hmyzu

tráví velkou část života jako dospělec, který je uzavřený uvnitř kutikuly předchozího instaru a vyčkává na vhodné podmínky k svlečení do dalšího stádia. V tomto stádiu je hmyz chráněn dvojitou vrstvou kutikuly, která zamezuje ztrátám vody během vývoje a díky které přežívá v nepříznivých podmínkách. Svlékání je složitý proces, který zahrnuje hormonální, epidermální, behaviorální a kutikulární změny, které vedou až ke ztrátě staré kutikuly. Do svlékání jsou aktivně zapojeny epidermální buňky, které zapříčiňují částečný úbytek staré pokožky a utvářejí novou. Svlékání začíná odtažením epidermálních buněk na vnitřním povrchu staré kutikuly, obvykle na předozadní straně. Tato separace je neúplná, protože svaly a sensorické nervy udržují spojení se starou pokožkou. Oddělení pokožky z kutikuly je spojeno nebo následováno mitotickým dělením epidermálních buněk, což vede k nárůstu objemu a povrchu pokožky. Subkutikulární, tzv. apolýzní prostor, který je vytvořen po apolýze, je vyplněn svlékací tekutinou. Dokud epidermální buňky mají ochrannou vnější vrstvu nové kutikuly, není aktivovaný tzv. chitinolytický a proteolytický enzym svlékací tekutiny. Stará kutikula je vstřebávána, zatímco nová kutikula se vytváří ve formě nediferencované prokutikuly (Gullan a Cranston, 2010).

Ekdyse je zahájena se zbytky staré kutikuly, která se dělí podél dorzální linie a je výsledkem zvyšujícího se tlaku v hemolymfě. Obal kutikuly se skládá z nestrávitelného proteinu, lipidu a chitinu ze staré exokutikuly a epikutikuly. Jakmile dojde k uvolnění spojů předchozí kůže, začíná hmyz rozšiřovat svou novou kutikulu. Po rozšíření kutikuly většina těla nebo části těla sklerotizují a dochází ke ztmavení prokutikuly do formy exokutikuly. V době mezi svlékáním se mohou usazovat po ekdysi další proteiny a chitin, které jsou vylučovány z epidermálních buněk a tím se přidávají k vnitřním částem prokutikuly a endokutikuly. Endokutikula může být někdy částečně sklerotizovaná a často je vnější povrch kutikuly pokryt voskovými sekrecemi. Nakonec dochází k ukončení procesu a celý průběh apolýzy může začít znovu (Gullan a Cranston, 2010).

2.5.1. Hormonální regulace

Předchozí události jsou kontrolovány hormony, které působí na epidermální buňky, a tím způsobují změny kutikuly. Dále dochází také k působení na nervový systém, a tím se koordinuje svlékací chování. Je velmi těžké od sebe oddělit hormony zodpovědné za svlékání a ty hormony, které kontrolují morfologické změny. Mezi důležité hormony kontrolující metamorfózu:

1. neuropeptidy, které zahrnují prothoraiotropní hormon (PTTH), ekdysi spouštěcí hormon (ETH) a andecloionní hormon (EH)
2. ekdysosteroidy
3. juvenilní hormon (JH), který je přítomný v různých formách

PTTH sekretují neurosekreční buňky mozku. Tento hormon zahajuje každé svlékání stimulací syntézy ekdysosteroidu a sekrecí prothoracidních a svlékacích žláz. Ekdysosteroid dále zahajuje změny v epidermálních buňkách, což vede k tvorbě nové kutikuly. Svlékání je regulováno juvenilním hormonem, který pak zahajuje expresi dospělých znaků. To znamená, že velké množství juvenilního hormonu v hemolymfě je spojeno se svlékáním larva – larva, menší množství s larva – kukla a pokud chybí juvenilní hormon, dochází úplně ke svlékání kukla – dospělec. Ekdyse se je zprostředkována ETH a při každém svlékání je důležitý EH, který spouští koordinované motorické aktivity spojené s únikem ze staré kutikuly. Neuropeptidy kontrolují sklerotizaci exokutikuly a ukládání endokutikuly po svlékání u mnoha druhů hmyzu (Gullan a Cranston, 2010).

2.5.2. Environmentální faktory

Ekdyse je – mimo zásadní vliv hormonální regulace - ovlivněna velkým množstvím environmentálních faktorů. Detailně byly tyto faktory popsány u krabů (Brachyura). Mezi nejdůležitější z nich patří teplota a salinita, chemické podněty v ústí řek, podmínky stanoviště, vodní vegetace a specifický pach (Forward a kol., 2001). Přestože hmyz samozřejmě nepatří mezi kraby, společně s nimi je součástí taxonu Pancrustacea (Tetraconata) (viz např. Aleshkin a kol. 2009). Protože celý proces ekdyse je v rámci Ecdysozoa poměrně jednotný (Valentine a Collins, 2001), lze předpokládat podobný vliv faktorů ovlivňující ekdysi všech druhů skupiny Pancrustacea. Níže jsou proto shrnuty poznatky o faktorech ovlivňujících proces svlékání u krabů.

2.5.2.1. Teplota a salinita

Larvální vývoj většinou probíhá v pobřežních oblastech, ovšem samotná proměna probíhá často v ústí řek, kde je v létě vyšší teplota. Salinita je v ústí řek nízká díky říčnímu toku. Starší studie považovaly zvýšenou teplotu a salinitu v průběhu larválního vývoje za smrtící podněty. Naopak současné studie ukazují, že salinita nemá skoro žádný negativní

účinek, žádné změny nevyvolává. Tyto studie byly provedeny na tzv. modrém krabovi (*Callinectes sapidus*) (Forward a kol., 2001).

2.5.2.2. *Chemické podněty v ústí řek*

Podle Forwarda a kol. (2001), chemické podněty v ústí řek ovlivňují metamorfózu. V ústí řek jsou aktivní molekuly, které obsahují huminové kyseliny urychlující metamorfózu. Huminové kyseliny jsou heterogenní skupinou chemických látek, které jsou degradovány rostlinami v ústí řek. Právě tyto látky jsou atraktivními podněty pro proměnu a mohou sloužit jako jednoznačný pokyn k usídlení v ústí. Dalšími podněty je amoniak a hypoxie (nedostatek kyslíku) zpomalující metabolismus, což zpomaluje čas metamorfózy (Forward a kol., 2001).

2.5.2.3. *Podněty habitatu*

Vzhledem k tomu, že mnoho druhů krabů obývá určitý specifický habitat, je možné, že podněty z těchto biotopů způsobují metamorfózu. U většiny druhů podněty ze substrátu imaginálního habitatu snižuje TTM (TTM = "time to metamorphosis" = čas do metamorfózy). Neplatí to však univerzálně, například substrát habitatu kraba pobřežního (*Carcinus maenas*) a *Cancer magister* rychlost jejich ekdyse neovlivňuje (Forward a kol., 2001).

Jedním z mála neměnných výsledků napříč všemi druhy, které byly zatím testovány, je, že čisté strukturální napodobeniny přírodních substrátů nemají na TTM vliv. Možným důvodem pro neúčinnost čistých napodobenin substrátů je absence chemických podnětů z biofilmu. Tato hypotéza byla testována Rodriguezem a Epifaniem (2000) pro metamorfózu *Panopeus herbstii* (Rodríguez a Epifanio, 2000 in Forward a kol., 2001). Čisté úlomky skla a oblázky nemají u tohoto druhu na TTM vliv. Nicméně pokud byla mikroskopická sklíčka upravována v místě dospělého biotopu, vytvořil se biofilm, což zvýšilo TTM. Čím déle byly podněty z biofilmu vystaveny prostředí, tím více zvyšovaly svou koncentraci. Normální biofilmy obsahují jak bakterie, tak mikroskopické řasy. Vzhledem k tomu, že TTM byly podobné, když byly megalopy vystaveny biofilmu obsahujícím bakterie s mikroskopickými řasami a biofilmu obsahujícím pouze bakterie, bylo poukázáno na to, že aktivní složka biofilmu pochází z bakterií. Biofilmy se také odlišují v rámci inkubačních stanovišť, protože aktivní biofilm se nevyvinul, pokud byla sklíčka inkubována v

nedospělém biotopu, jako písčité příbřežní oblasti, ale vyvinul se na sklíčkách umístěných v imaginálním biotopu (Forward a kol., 2001).

2.5.2.4. Vodní vegetace

Přítomnost vodní vegetace buď snižuje TTM nebo nemá žádný efekt. Neexistují žádné studie dokazující, že metamorfóza byla zpožděna díky přítomnosti vegetace, ale na druhou stranu megalopová stádia *Callinectes sapidus* umírala velice rychle v přítomnosti zelených řas *Codium fragile*. U ostatních druhů byl TTM *Callinectes sapidus* snížen v přítomnosti slaných bažinatých trav *Spartina alterniflora* a *Phragmites australis* a mořských trav (Forward a kol., 2001). Reakce na mořskou travu se předpokládá, neboť hnízdo z mořských trav slouží jako primární stanoviště pro snůšku u *Callinectes sapidus* (Orth a van Montfrans, 1987; Olmi, 1990 in Forward a kol., 2001).

Výsledky u mikroskopických řas se lišily dle druhů. Některé druhy jsou velmi efektivní při snižování TTM, zatímco u jiných druhů není metamorfóza ovlivněna vůbec. Kromě toho zde není žádný stálý vztah mezi typem řasy (zelená, hnědá nebo červená) a sklonem k ovlivňování TTM. Nejeefektivnější druh řas se vyskytuje v typických osídlených biotopech. Například *Panopeus herbstii* osidluje oblasti, kde je hojnost mořské řasy *Fucus verticulus* a jeho TTM je tak snížen vystavením se této řase. Naopak *Callinectes sapidus* podstupuje larvální vývoj v moři, kde je hojná plovoucí řasa *Sargassum natans*, ale metamorfóza u nich probíhá v ústích řek. Přítomnost *Sargassum natans* nemá žádný efekt na TTM u *Callinectes sapidus* (Forward a kol., 2001).

Účinek různých rostlin je způsoben vypouštěním chemických podnětů buď přímo rostlinou, nebo biofilmem s rostlinou spojeným. Pokud je rostlina inkubována v čisté mořské vodě a poté vyjmuta, výsledná voda snižuje TTM. Tento efekt je spojen s chemickou koncentrací, jak TTM *Callinectes sapidus* klesá, koncentrace *Spartina alterniflora* se zvyšuje. Tento výsledek značí, že by měla být testována řada koncentrací, aby se došlo k závěru, že pach rostliny je neúčinný. Strukturální napodobeniny účinných řas, jako stuhý, černé plastové proužky ložního prádla a nylonové vlasce v kontrolní mořské vodě nemají žádný efekt na TTM. Neúčinnost struktury ve vyprovokování metamorfózy je dále naznačena zjištěním, že TTM je totožný v přítomnosti vody nasycené pachem rostliny a v přítomnosti vody s pachem s přidanými strukturálními napodobeninami. Co se týče funkčního významu, aktivace procesu metamorfózy pomocí

řady rostlin je užitečná pokud jsou megalopy přemístěny na různá místa s různou vodní vegetací (Forward a kol., 2001).

2.5.2.5. Chemické podněty jedinců stejného druhu (“Specifický pach”)

Účinek ve vodě rozpustného specifického pachu na metamorfózu byl stanoven buď vystavením megalop vodě, ve které byli inkubováni dospělci nebo vodě obsahující dospělé. V obou případech byli dospělci i megalopy umístěni ve stejné vodě, ale byli fyzicky odděleni, takže mezi nimi nemohlo dojít ke kontaktu. U většiny druhů specifický pach snížil TTM. Výjimkou byli *Callinectes sapidus* (Forward a kol., 2001) a *Carcinus maenas* (Zeng, 1997 in Forward a kol., 2001), kde neměl pach dospělců na TTM žádný vliv.

Pokusy o charakteristiku chemických podnětů dospělců jsou omezené a nabízejí oblast dalšího zkoumání. O’Connor a Gregg (1998) zjistili, že účinek pachu *Uca pugnax* zůstal zachován po zmrazení a roztátí (O’Connor a Gregg, 1998 in Forward a kol., 2001). Testy s pachy nespécifických druhů byly provedeny se smíšenými výsledky. O’Connor a Gregg (1998) poukázali na to, že pach *Uca minax* neměl žádný účinek na TTM *Uca pugnax* (O’Connor a Gregg, 1998 in Forward a kol., 2001). TTM *Panopeus herbstii* nebyl ovlivněn pachy ryb *Tautoga omotis* a *Fundulus heterclitus* nebo kraby *Callinectes sapidus* a *Uca pugnax* (Weber a Epifanio, 1996; Rodriguez a Epifanio, 2000 in Forward a kol., 2001). Nicméně nastal mírný pokles TTM, když byl *Panopeus herbstii* vystaven pachu kraba *Dyspanopeus sayi*, ústřice *Crassostrea virginica* (Rodriguez a Epifanio, 2000 in Forward a kol., 2001) a kraba *Hemigrapsus sanguineus* (Andrews 2001 in Forward a kol., 2001). Bylo zjištěno, že reakce *Dyspanopeus sayi* byla způsobena jejím blízkým taxonomickým vztahem k *Panopeus herbstii*. Obdobně, chybějící reakce na pach *Callinectes sapidus* a *Uca pugnax* se může vyskytnout, protože tyto druhy jsou si taxonomicky více vzdáleny. Reakce na pach ústřice se mohla vyskytnout, protože *Panopeus herbstii* se ústřicemi živí. Pokud ano, je toto první zpráva o tom, že podnět související s kořistí má účinek na metamorfózu (Rodriguez a Epifanio, 2000 in Forward a kol., 2001). Takové vztahy jsou dobře zdokumentovány u některých dalších mořských bezobratlých (Forward a kol., 2001).

Účinek pachu predátora na metamorfózu představuje oblast budoucího výzkumu. Teoreticky by kolonizace a metamorfóza měly být tlumeny pachy predátorů, což by umožnilo megalopám migrovat do jiných oblastí, kde je riziko predátorů nižší (Forward a

kol., 2001). Tato možnost je podpořena studií osídlení megalopami *Callinectes sapidus* na štetinových kartáčích, které obsahovaly pachy z různých zdrojů (Welch, 1997 in Forward a kol., 2001). Osídlení bylo znatelně sníženo v přítomnosti pachů dospělých krabů *Uca pugilator*, *Uca pugnax*, *Panopeus herbstii* a travní krevety *Palaemonetes pugio*, přičemž všechny tyto druhy aktivně loví megalopy *Callinectes sapidus* (Forward a kol., 2001).

2.6. Semiakvatické ploštice

Většina semiakvatických ploštic je křídlově dimorfická, a to buď dlouhokřídla, krátkokřídla nebo bezkřídla. Semiakvatické ploštice v severní Evropě mají 5 nymfálních vývojových stádií, kterými prochází na vodní hladině, 4 nymfální fáze byly zaznamenány u *Mesovelia Furcata* ve vývoji bezkřídлых i okřídlených dospělců. Larvy jsou docela podobné dospělcům až na velikost, ale jsou obvykle bledší a mají křehčí tělo, křídla nejsou plně tvarována a pohlavní části nejsou rozvinuty. Reprodukčně aktivní dlouhokřídla dospělci pak obvykle ztrácejí schopnost létat, jelikož jsou jejich křídlové svaly rozloženy. Někteří bezkřídla dospělci určitých druhů mohou být nicméně snadno zaměněni za larvy. Dospělí jedinci obvykle žijí na vodní hladině, ale vodu mohou opustit, a to během migrace nebo kvůli přezimování na souši (Andersen, 1996).

Životní cykly severoevropských semiakvatických ploštic jsou buď univoltinní nebo bivoltinní (zřídka polyvoltinní). Dospělci kladou vajíčka na jaře, a vzhledem k tomu, že toto období je v případě většiny druhů velmi dlouhé, oddělení jednotlivých generací může být složité. Každá samička naklade až 250 vajíček za období 2 měsíců či více. Vajíčka se líhnou po 8 až 14 dnech. Postembryonální vývoj trvá 16 až 34 dnů, jeho přesná délka je závislá na teplotě. Dospělci, kteří se svlékají počátkem léta, se okamžitě stávají rozmnožovacími schopnými a dávají vzniknout nové generaci, zatímco ti, co se objevují později, vstupují do předzimní diapauzy a nemnoží se až do následujícího jara (Andersen, 1996).

2.6.1. Postembryonální vývoj

U semiakvatických ploštic se vyskytuje většinou pět svlékání, která probíhají jak na vodní hladině, tak i na pevném podkladě (Sprague, 1956; Andersen, 1982 in Paulová, 2012). Ještě před samotným procesem svlékání začnou nymfy do svého těla nasávat více vody, čímž dochází k naplnění jejich střeva a nymfy jsou méně aktivní. Svlékání probíhá

velmi rychle – střední nohy jsou přichyceny k podkladu a zadní a přední nohy jsou nataženy souběžně s osou těla. Díky nasávání vzduchu dochází k podélnému pukání kutikuly, vzduch prochází i trávící trubicí, prodlužuje se a rozšiřuje zadeček. Jako první se svléká předohrud', následuje středohrud' a jako poslední se svléká zadohrud'. Nově svlečený jedinec je velmi zranitelný, jeho tělo je bledé a přívěsky těla průhledné. Hodinu po svlékání dochází k pigmentaci pokožky, dvě hodiny po svlékání začíná přijímat vodu a potravu. (Andersen 1982 in Paulová, 2012).

Po posledním svlékání nastává tzv. tenerální vývoj, ve kterém dochází k tuhnutí a pigmentaci kutikuly, k růstu vnější kostry a svalů k létání a někdy k resorpci svalů, které fungují jen u okřídlených dospělců a během larválního vývoje. U samic se po posledním svlékání vyvinou vaječníky, u bezkřídлых je tato perioda kratší než u okřídlených (Andersen, 1982 in Paulová, 2012).

2.6.2. Výskyt

Semiakvatický hmyz se vyskytuje většinou v prostředí s čerstvou vodou v severní Evropě. Některé druhy jsou stálými obyvateli poloslané vody, nebo dokonce slaných pobřežních jezírek. Oblíbená místa výskytu se liší velikostí - od malých jezírek až po rozlehlé lesní rybníky a pobřežní jezerní oblasti a dokonce Baltské moře (Andersen, 1996).

2.6.3. Potrava

Co se týče potravy, jsou to především masožravci nebo mrchožrouti živící se mrtvými či polomrtvými členovci, nejčastěji jiným hmyzem. Mají bodavě sací aparát, charakteristický pilovitými hornočelistními stylety, které během stravování vyčnívají daleko za rostrální špičku. Trávení je z velké části extraorální (Andersen, 1996).

Mikrokoryši (lasturnatky a perloočky) mohou představovat základní potravu pro menší semiakvatický hmyz jako různé druhy *Mesovelina* a *Microvelina*. Dospělci a větší larvy se živí především pozemním hmyzem, který je přenášen větrem a usazuje se na vodě, kde se chytí do filmu na hladině, nebo novými dospělci jepic, střechatek, chrostíků, pakomárovitých a ostatních skupin s vodními larvami. Kanibalismus je rovněž častý u mnoha druhů a larvy jsou zranitelné zejména v období, kdy se svlékají (Andersen, 1996).

2.6.4. Studovaný organismus

Studovaným organismem je hladinatka pobřežní (*Microvelia reticulata*). Tato semiakvatická ploštice je černá a svým vzhledem se podobá rašelinatkám, od kterých se liší tykadly se čtyřmi články, dvoubarevnými stehny a za hlavou dvěma cihlovými skvrnami. Je dravá a vyskytuje se především při březích zarostlých stojatých vod. Většinou je apterní (bezkrídlá), vzácněji makropterní (křídlatá) (Hudec a kol., 2007).

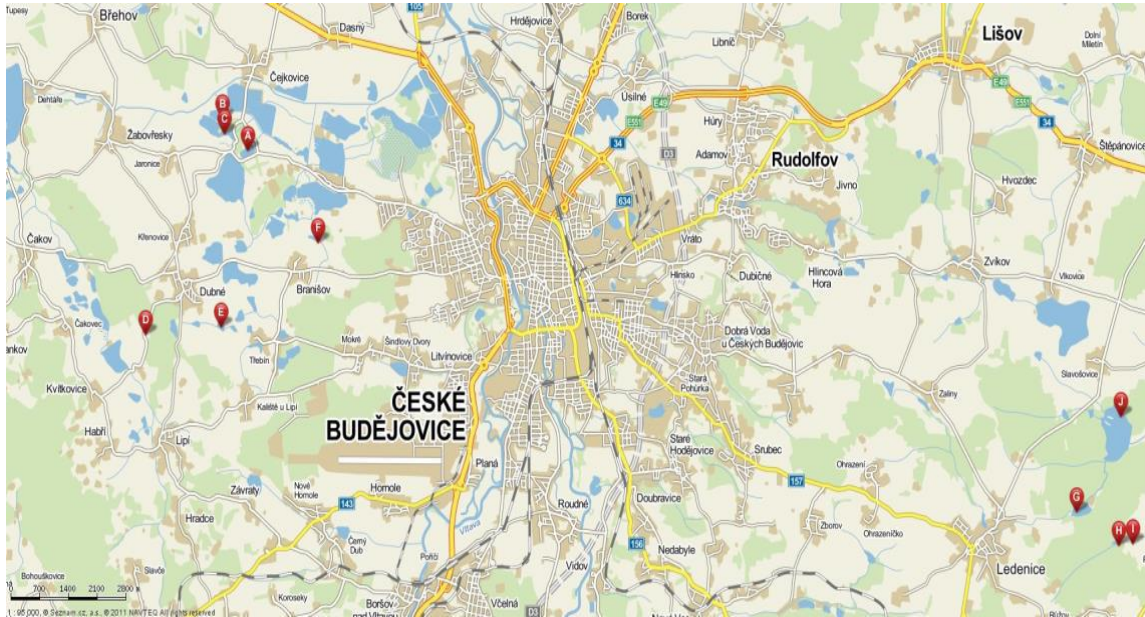
Hladinatka pobřežní se vyskytuje v celé palearktické oblasti. Jejím stanovištěm bývá převážně vodní hladina a litorál stojatých vod. Co se týká potravy, od semiakvatických ploštic se neliší, potravu tedy tvoří drobní členovci nebo topící se a utopený hmyz. Hladinatka pobřežní je v oblasti zaplavených rýžových polích považována za vrcholového predátora. Zde se její potrava skládá z pakomárů a mšic (Namazawa a Kobayashi, 1985 in Paulová, 2012).



Obr. 6. : Hladinatka pobřežní (*Microvelia reticulata*). Foto T. Ditrich.

3. Materiál a metody

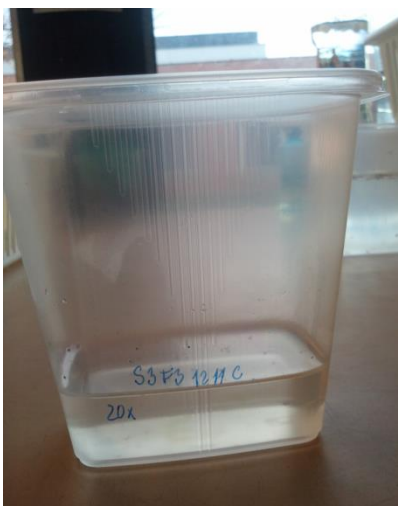
Celý výzkum byl naplánován v souběhu se selekčním experimentem, který podrobně popisuje Marvanová (2013). Tehdy byli v průběhu podzimu 2011 a začátkem jara 2012 odchyceni dospělci hladinatky *M. reticulata* na celkem 10 rybnících v okolí Českých Budějovic.



Obr. 8. : Přehled lokalit, ze kterých byli použiti dospělci pro výzkum heritability rychlosti vývoje. Zdroj: mapy.cz

Po přezimování v umělých podmínkách (0°C, tma), resp. krátké aklimaci v laboratorních podmínkách, byli tito jedinci rozřazeni do celkem tří skupin (replikací) po 40 samcích a 80 samicích. Dospělci byli krmeni mraženými octomilkami (*Drosophila melanogaster*) a mraženým nasmykaným hmyzem (především různé Diptera a Hemiptera – ploštice a křísi). Populace dospělců, držené v plastových boxech o ploše cca 35 x 25 cm s odstátou vodou do výšky cca 3 cm, byly každodenně kontrolovány.

Čerstvě vylíhnuté nymfy prvního instaru (L1) byly odebírány do plastových kelímků (plocha cca 70 cm²) s výškou hladiny (odstátá voda) cca 3 cm. Velikost jednotlivých kohort nymf se pohybovala mezi 8 – 30 jedinci s přednostní velikostí 20 – 25 nymf (pokud byl ten den k dispozici dostatečný počet čerstvých nymf). Přibližně homogenní hustota larválních populací byla dodržována, protože Ditrich a Papáček (2010) detekovali významný vliv larvální hustoty na rychlost vývoje nymf hladinatky *M. reticulata*. Kelímky byly zavíčkované, díky čemuž dosahovala relativní vlhkost vzduchu v kelímcích téměř 100 %. Kelímky byly uchovávány v insektáriu v prostorách Entomologického ústavu (ENTÚ) Biologického centra Akademie věd ČR (BC AVČR) v klimatizované místnosti s kolísající teplotou 22 ± 1.5 °C.



Obr. 9. Vzhled plastového kelímku s počáteční kohortou dvaceti nymf. Foto A. Marvanová.

Vzhledem k tomu, že během celého experimentu bylo každodenně těchto kelímků sledováno velké množství (v jednu dobu až 300 kelímků), byly kelímky naskládány do plastových košíků po devíti kusech a vrstveny až do pěti vrstev. Protože v místnosti byly košíky umístěny podél zdi v mírném teplotním gradientu, byly košíky s kelímky každý den rotovány kvůli zabezpečení srovnatelných podmínek. Stejně tak byla pravidelně rotována jednotlivá „patra“ košíků s kelímky, protože díky zvolenému uspořádání nebyla ve všech patrech shodná intenzita světla ani teplota. Zejména kvůli odfiltrování nežádoucího tepelného působení seshora svítících světelných zdrojů (zářivky cca 40 cm nad horní vrstvou) byla na horní vrstvu kelímků vždy vložena ještě vrstva kelímků naplněných vodou, která sloužila jako pufrční vrstva.



Obr. 10. Vrstvení košíků s kelímky do pater. Foto A. Marvanová.

Nymfy hladinatky *M. reticulata* byly krmeny každý druhý den mraženými octomilkami *D. melanogaster*, *Chymomyza costata* v množství cca jedna octomilka na tři jedince mladších instarů (L1 – L2), jedna octomilka na dva jedince prostředních instarů (L3 – L4) a jedna octomilka na jednu nymfu pátého instaru (L5). Krmení probíhalo současně s každodenní kontrolou kelímků a evidencí svleček (exuvií), živých nymf, uhynulých kusů, případně vysvléknutých dospělců. Při založení kelímku tak byly nymfy nakrmeny, následující den byla stará potrava vyjmuta, další den zase vložena nová atd. Pro potřeby sledované problematiky tedy byly svlečky vyjmuty v den odebrané potravy klasifikované jako ekdyse během dostupné potravy, zatímco svlečky odebrané při krmení nymf byly hodnoceny jako ekdyse při nedostatku potravy (protože v předchozím dni nebyla potrava dostupná). Ve výjimečných případech se stalo, že došlo k chybě a kohorta v jednom kelímku a) byla nakrmena dvakrát po sobě (tři případy) či b) dvakrát za sebou naopak nakrmena nebyla (2 případy). V situaci a) tak byla potom potrava dostupná dva dny za sebou a svlečky byly adekvátně ohodnoceny, v situaci b) naopak dvakrát za sebou nymfy potravu neměly k dispozici. Dospělí jedinci byli z kelímků vždy odebíráni.



Obr. 11. Kohorta nymf hladinatek *M. reticulata*. Patrné jsou živé nymfy i svlečky. Foto A. Marvanová.

Přestože se o chovy průběžně staralo až devět informovaných osob, nebylo možné takto podrobně sledovat všechny kelímky s vyvíjejícími se nymfami (v rámci tohoto výzkumu běželo několik souběžných experimentů). Pro potřeby prezentovaného problému tak bylo vybráno celkem šest kelímků z každé ze tří replikací selekčního experimentu, celkem tedy bylo podrobně sledováno 18 kohort.

3.1. Analýza dat

Ke sledování závislosti četnosti ekdyse na dostupnosti potravy bylo použito tří způsobů analýzy.

První způsob vychází z předpokladu, že jestliže přítomnost potravy neovlivňuje proces svlékání žádným způsobem, budou svlékající se jedinci rovnoměrně rozděleni mezi dny s dostupnou potravou a bez dostupné potravy. Samotná analýza spočívá v provedení χ^2 testu s nulovou hypotézou H_0 : pozorovaná četnost svlékání s dostupnou potravou vs. bez dostupné potravy jsou rozděleny v poměru 1:1. Tento způsob nabízí kromě možnosti otestovat všechna zaznamenaná svlékání i testování jednotlivých kohort.

Druhý způsob vychází ze srovnání každodenního poměru svléknuvších se jedinců (počet svleček / celkový počet jedinců v kohortě za dny s dostupnou potravou vs. bez

dostupné potraviny. Vzhledem k tomu, že jde vlastně o srovnání dvou nezávislých výběrů, je možné tyto poměry svléknuvších porovnat dvouvýběrovým t-testem s nulovou hypotézou H_0 : průměr poměrů svléknuvších se jedinců ve dnech s dostupnou potravou se rovná průměru poměrů svléknuvších se jedinců ve dnech s nedostupnou potravou.

Třetí způsob je také založen na poměru svléknuvších se jedinců. Kromě testování vlivu dostupnosti potravy je však ještě zahrnut vliv jednotlivých kelímků. K otestování tohoto modelu byla použita hierarchická ANOVA (kelímk vnořen do potravního režimu), přičemž potravní režim (dostupná nebo nedostupná potrava) byla klasifikována jako faktor s pevným efektem a kohorta („kelímk“) jako faktor s náhodným efektem. Takto byly testovány dvě nulové hypotézy 1) H_0 : potravní režim (potrava dostupná / nedostupná) neovlivňuje významně poměr svléknuvších se jedinců a 2) H_0 : potravní režim (potrava dostupná / nedostupná) s přihlédnutím k možnému efektu „příslušnost k dané kohortě“ neovlivňuje významně poměr svléknuvších se jedinců.

Jako první den každé kohorty byl analyzován ten den, kdy byla poprvé zaznamenána přítomnost svleček. Takto bylo celkem analyzováno 510 údajů (kohorta/den). Pokud by dostupnost potravy měla na četnost svlékání významný vliv, je možné, že tento vliv by klesal s klesající populační hustotou (snižující se riziko kanibalizmu). Proto byly všechny analýzy provedeny nejen na všech dostupných datech, ale ještě zvláště v kohortách s početností $N \geq 5$. Těchto a nižších hodnot početnosti bylo dosaženo kombinací úhynu jedinců a odebíráním dospělců. Takto bylo analyzováno celkem 417 údajů (kohorta/den).

Všechny statistické testy byly provedeny v programu Statistica 12 (Statsoft, Tulsa, USA), hypotézy byly testovány na hladině významnosti $\alpha = 0.05$.

4. Výsledky

4.1. Analýza testem χ^2

Celkově ve všech kohortách bylo během experimentu zaznamenáno 1100 svléknuvších se nymf. Ve dnech s dostupnou potravou jich bylo 469, ve dnech bez dostupné potravy 631. Při srovnání s očekávaným počtem 550 a 550 (nezávislost svlékání na potravním režimu) bylo zjištěno, že rozdíl je statisticky průkazný ($\chi^2 = 23.56$; $df = 1$, $p =$

10⁻⁶). Při analýze jednotlivých kohort bylo v pěti z 18 případech zjištěno, že počet svlékání ve dnech s dostupnou potravou byl vyšší než počet svlékání s nedostupnou potravou. Pouze v jedné z těchto kohort (ozn. S2170512a) byl tento rozdíl statisticky významný ($P < 10^{-3}$). Ve zbývajících 13 případech, kdy počet svlékání ve dnech s dostupnou potravou byl nižší než ve dnech bez dostupné potravy, byl tento rozdíl statisticky významný v 6 kohortách (tab. 1).

Tabulka 1. Počet zaznamenaných svleček a odpovídající hodnoty P při analýze všech dat testem χ^2 . Zvýrazněny jsou statisticky průkazné hodnoty.

kód kohorty	potrava dostupná	potrava nedostupná	očekávaný počet	dosažená hladina významnosti (P)
S1070512a	27	37	32	0.213
S1070512b	25	41	33	0.049
S1070512c	31	51	41	0.027
S1150512c	17	50	33.5	< 10⁻⁴
S1160512a	21	22	21.5	0.879
S1160512b	23	18	20.5	0.435
S2070512b	29	34	31.5	0.529
S2070512c	28	37	32.5	0.264
S2070512d	23	29	26	0.405
S2160512a	23	20	21.5	0.647
S2170512a	35	11	23	< 10⁻³
S2170512b	20	41	30.5	0.007
S3080512a	33	34	33.5	0.903
S3080512b	31	29	30	0.796
S3080512c	36	29	32.5	0.385
S3170512b	24	66	45	< 10⁻⁵
S3170512c	18	42	30	0.002
S3170512d	25	40	32.5	0.063
všechna data	469	631	550	10⁻⁶

Při analýze pouze těch kohort, kde početnost nymf neklesla pod pět, bylo zaznamenáno celkem 1064 svleček. Ve dnech s dostupnou potravou jich bylo 445, ve dnech bez dostupné potravy 619. Při srovnání s očekávaným počtem 532 a 532 (nezávislost svlékání na potravním režimu) bylo zjištěno, že rozdíl je statisticky průkazný ($\chi^2 = 28.45$; $df = 1$, $p < 10^{-7}$). Při analýze jednotlivých kohort bylo v pěti z 18 případů

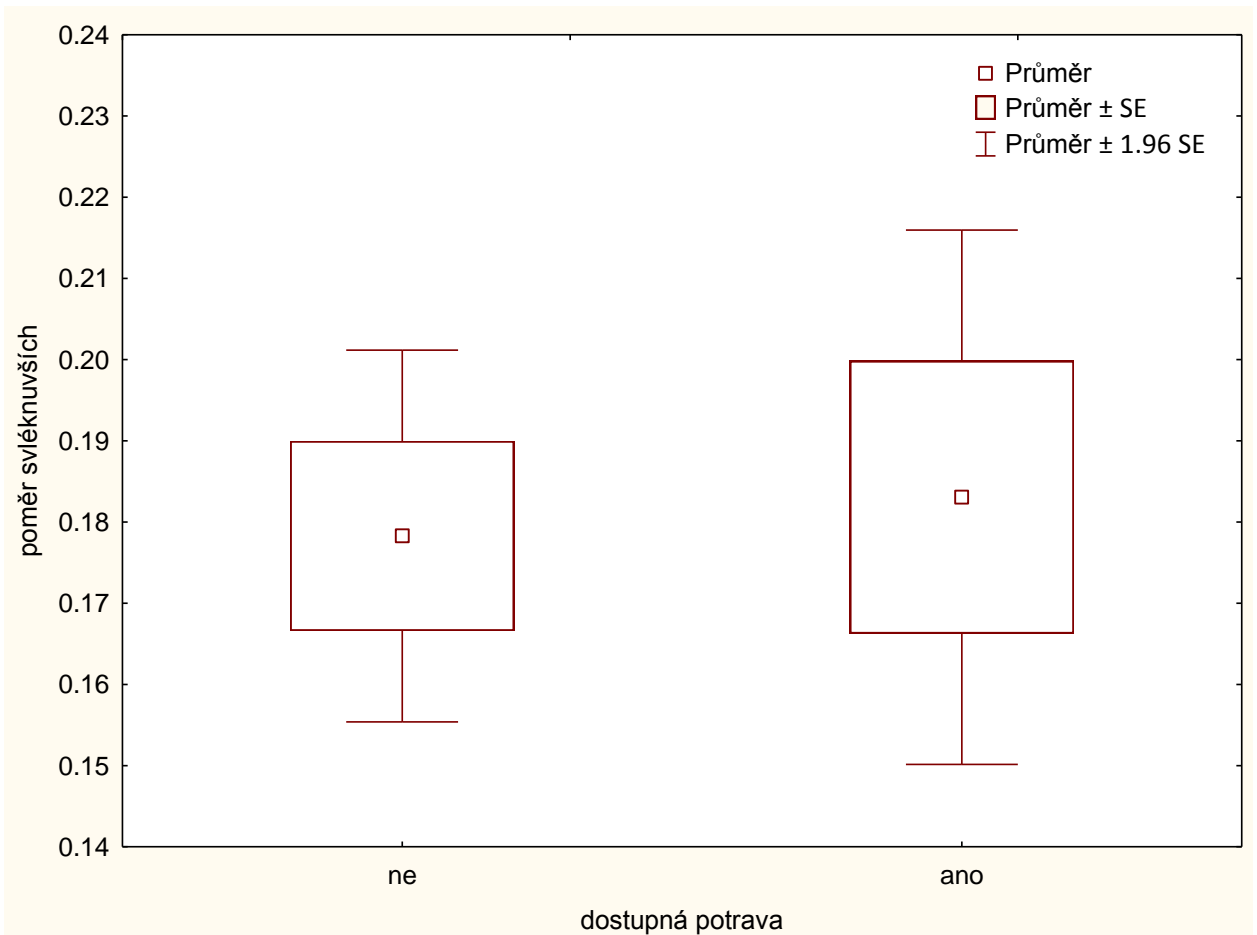
zjištěno, že počet svlékání ve dnech s dostupnou potravou byl vyšší než počet svlékání s nedostupnou potravou. Pouze v jedné z těchto kohort (ozn. S2170512a) byl tento rozdíl statisticky významný ($P < 10^{-3}$). Ve zbývajících 13 případech, kdy počet svlékání ve dnech s dostupnou potravou byl nižší než ve dnech bez dostupné potravy, byl tento rozdíl statisticky významný v 6 kohortách (tab. 2).

Tabulka 2. Počet zaznamenaných svleček a odpovídající hodnoty P při analýze kohort s početností alespoň pět testem χ^2 . Zvýrazněny jsou statisticky průkazné hodnoty.

kód kohorty	potrava dostupná	potrava nedostupná	očekávaný počet	dosažená hladina významnosti (P)
S1070512a	23	37	30	0.07
S1070512b	21	38	29.5	0.027
S1070512c	30	48	39	0.041
S1150512c	15	49	32	< 10⁻⁴
S1160512a	19	22	20.5	0.639
S1160512b	19	17	18	0.739
S2070512b	28	34	31	0.446
S2070512c	28	37	32.5	0.264
S2070512d	21	29	25	0.258
S2160512a	22	18	20	0.527
S2170512a	33	11	22	< 10⁻³
S2170512b	20	41	30.5	0.007
S3080512a	32	33	32.5	0.901
S3080512b	30	29	29.5	0.896
S3080512c	36	29	32.5	0.385
S3170512b	24	66	45	< 10⁻⁵
S3170512c	18	41	29.5	0.003
S3170512d	26	40	33	0.085
všechna data	445	619	532	< 10⁻⁷

4.2. Analýza t-testem

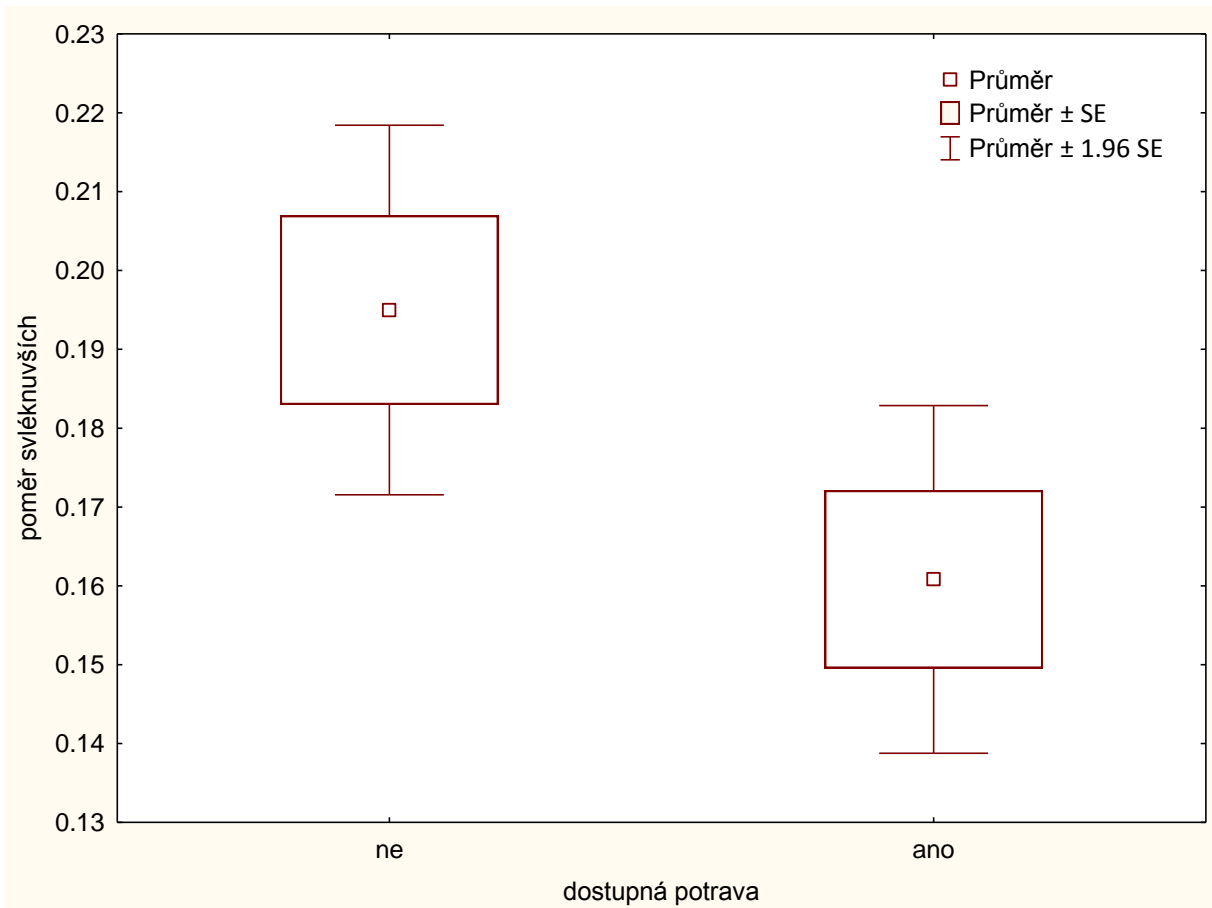
Při hodnocení všech dostupných dat byly analyzovány údaje z 256 kohort / den, kdy dospívající nymfy neměly k dispozici potravu, a 254 kohort / den kdy potrava byla dostupná. Průměrný poměr svléknuvších se jedinců byl v obou režimech podobný – 0.178; resp. 0.183 (obr. 8).



Obr. 7. Poměry svléknuvších se jedinců ve dnech s dostupnou a nedostupnou potravou. Rozdíl není statisticky významný ($p = 0.82$).

Rozdíl mezi poměry není statisticky průkazný ($t = -0.234$; $df = 508$; $p = 0.82$). Protože však nebyla dodržena homogenita rozptylů (F test; $p < 10^{-7}$), byla data analyzována ještě t-testem se separovaným odhadem rozptylů s výslednou hodnotou významnosti také $p = 0.82$.

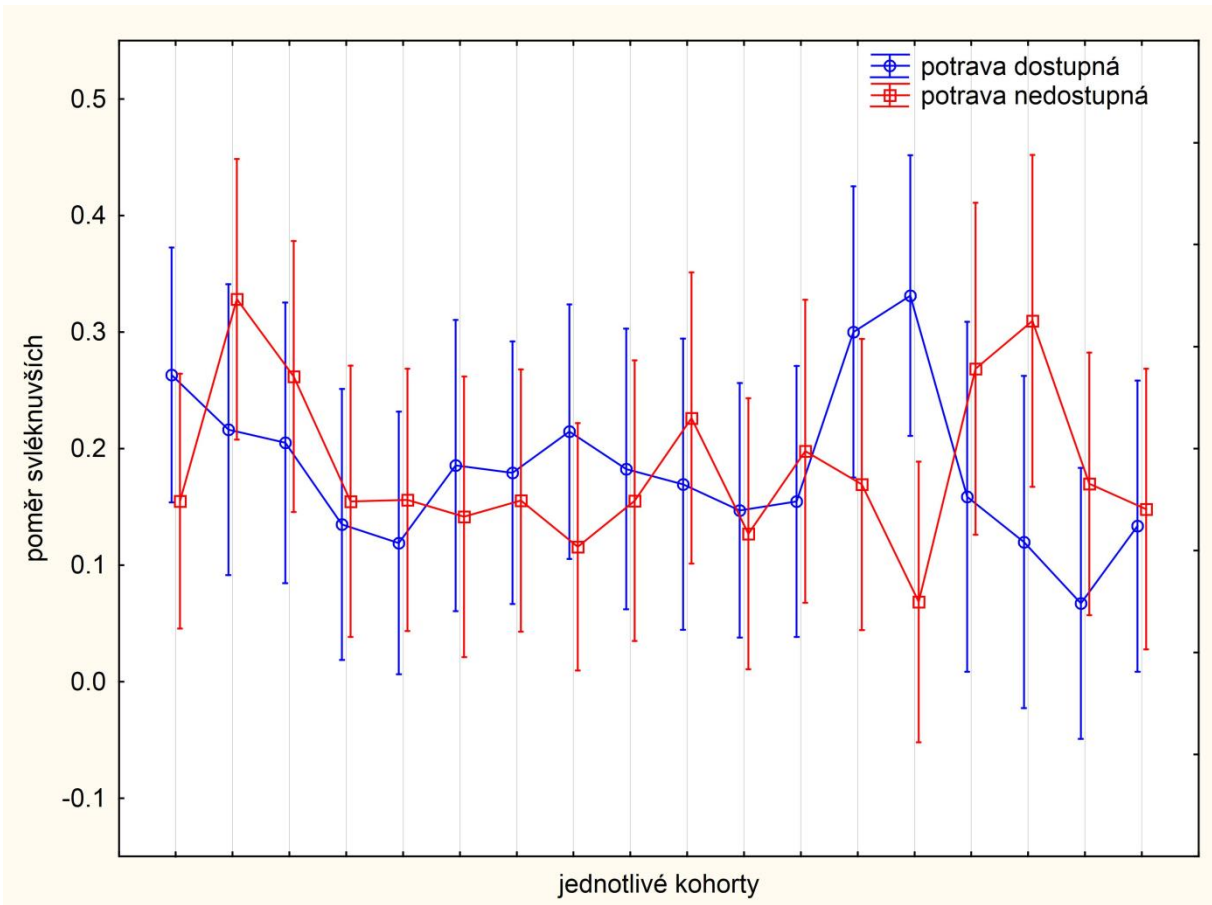
Odlišná situace nastala při analýze kohort s početností alespoň pěti jedinců. Zatímco průměrný poměr svléknuvších se jedinců ve dnech s nedostupnou potravou byl 0.195, ve dnech s dostupnou potravou byl tento poměr 0.161 (obr. 8). Tento rozdíl je statisticky významný ($t = 2.08$; $df = 415$; $p = 0.038$).



Obr. 8. Poměry svléknuvších se jedinců ve dny s dostupnou a nedostupnou potravou při analýze kohort s alespoň pěti jedinci. Rozdíl je statisticky významný ($p = 0.04$). Modifikovaný t-test se separovanými odhady rozptylu nebyl proveden, protože homogenita rozptylu nebyla zamítnuta (F test; $p = 0.398$).

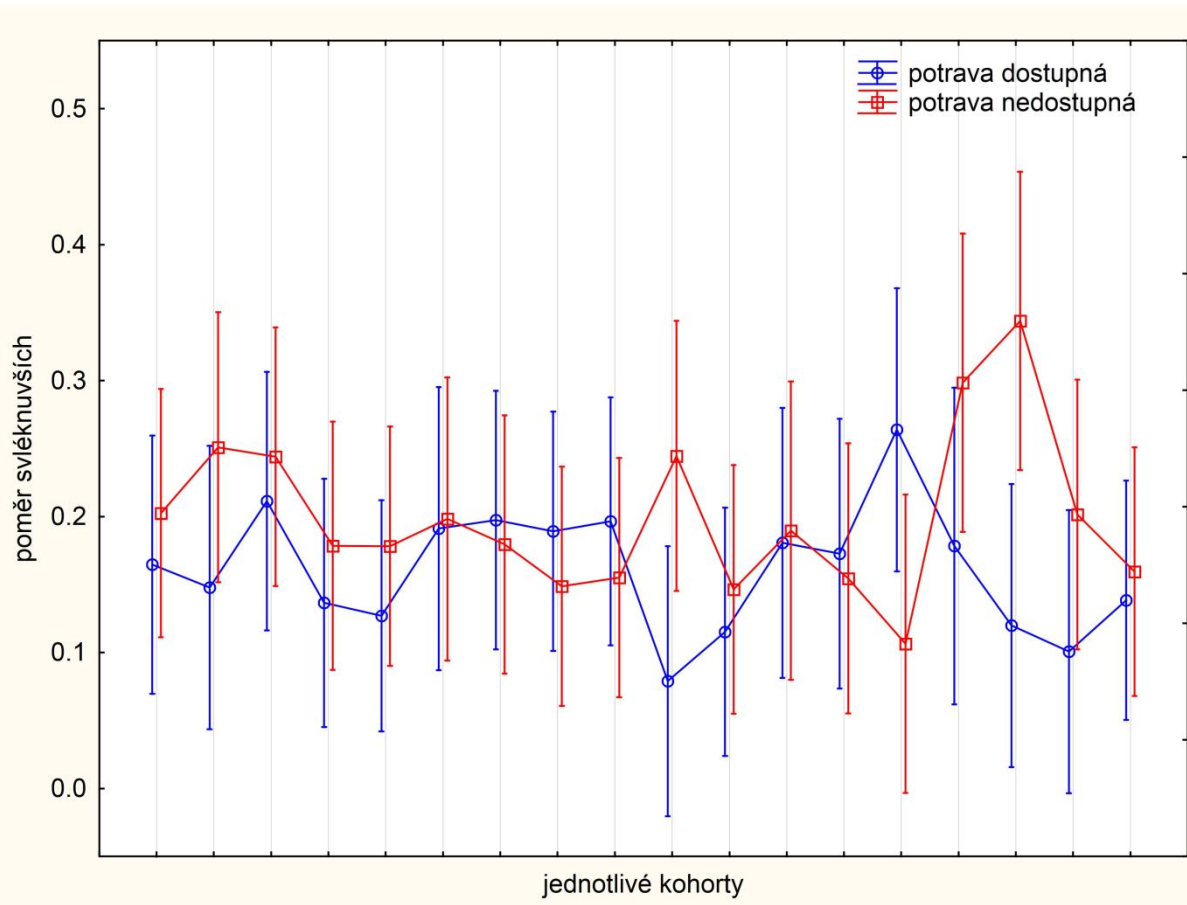
4.3. Analýza hierarchickou ANOVOU

Při analýze hierarchickou ANOVOU kompletních dat nebyl na poměr svléknuvších se nymf zjištěn průkazný vliv ani samotného potravního režimu ($F_{1, 374} = 0.004$; $p = 0.949$) ani kohorty vnořené do potravního režimu ($F_{34, 374} = 1.181$; $p = 0.226$; obr. 9).



Obr. 9. Poměr svléknuvších se nymf v různých kohortách v závislosti na dostupnosti potravy. Vliv dostupnosti potravy ani kohorty není statisticky průkazný. Svislé úsečky označují 0.95 konfidenční interval. Pořadí kohort (zleva doprava) odpovídá pořadí shora dolů v tab. 1 a 2.

Při vyloučení kohort s početností nymf menší než pět byl vliv dostupnosti potravy průkazný ($F_{1, 381} = 4.944$; $p = 0.033$) s průměrně vyšším poměrem svléknuvších se nymf ve dnech s nedostupnou potravou. Vliv kohorty (vnořené do potravního režimu) průkazný nebyl ($F_{34, 381} = 1.019$; $p = 0.442$; obr. 10).



Obr. 10. Poměr svléknuvších se nymf v různých kohortách v závislosti na dostupnosti potravy při zahrnutí kohort s početností alespoň pět. Vliv dostupnosti potravy je statisticky průkazný ($p = 0.033$), vliv kohorty vnořené do potravního režimu průkazný není. Svislé úsečky označují 0.95 konfidenční interval. Pořadí kohort (zleva doprava) odpovídá pořadí shora dolů v tab. 1 a 2.

5. Diskuse

Při analýze dat nejhrubší metodou - χ^2 testem – byl počet zaznamenaných svleček ve dnech s dostupnou potravou vůči dnům s nedostupnou potravou vysoce statisticky významný jak při hodnocení všech dat, tak po odfiltrování kohort s početností menší než pět. Oproti očekávání však více svleček bylo zaznamenáno ve dnech, kdy nymfy neměly dostupnou potravu. Při analýze jednotlivých kohort už situace není tak jednoznačná, ať již vzhledem ke kompletním, anebo odfiltrovaným datům. Nicméně ve třetině případů byl zjištěn statisticky významně odlišný počet zaznamenaných svleček při ne/ dostupné potravě (vzhledem k očekávanému shodnému počtu), přičemž vyšších počtů kdysi bylo v těchto případech dosaženo při nedostupné potravě. Pouze v jedné kohortě byla situace

opačná – signifikantně vyšší počet svleček byl zaznamenán ve dnech s dostupnou potravou. Ve zbývajících 11 kohortách nebyl počet svleček při dostupné a nedostupné potravě rozdílný od vyrovnaného poměru 1:1.

Test dobré shody (χ^2) však patrně není nejvhodnější metodou k analýze těchto dat. Jeho síla silně roste při zvětšujícím se N a již malé rozdíly v počtu pozorovaných a očekávaných případů jsou potom vyhodnoceny jako průkazné. Lepší pohled pravděpodobně poskytují metody, založené na analýze poměru svléknuvších se jedinců v jednotlivých kohortách a dnech. Obě tyto metody v zásadě poskytují stejný obrázek. Zatímco při zahrnutí kompletního datasetu není mezi dny s dostupnou a nedostupnou potravou žádný průkazný rozdíl, při odfiltrování kohort s nízkým počtem nymf (méně než pět) byl vliv dostupnosti potravy statisticky významný, ačkoliv poměrně blízko hladiny významnosti ($p = 0.03$; resp. $p = 0.04$). Každopádně větší poměr svléknuvších se nymf byl vždy ve dnech s nedostupnou potravou.

Rozdílné výsledky při analýze kompletních a odfiltrovaných dat jsou dány především tím, že a) při malém počtu nymf může hrát náhoda značnou roli a b) jediná svlékající se nymfa značně ovlivní výsledný poměr svléknuvších se nymf. Výsledky z redukovaných dat se proto zdají být věrohodnější. Interpretace výsledků tedy musí být taková, že rozhodně nelze tvrdit, že by se nymfy hladinatky *M. reticulata* svlékaly ve větší míře při dostupné potravě. Data naopak naznačují, že pokud dostupnost potravy ovlivňuje proces svlékání, je to 1) buď naopak oproti předpokladu (nymfy se svlékají častěji v době nedostupné potravy), anebo 2) v souladu s předpokladem, ale se zpožděním mezi 24 – 48 h. Pro potvrzení či vyvrácení tohoto (druhého) vysvětlení by bylo nutné komplexně sledovat nakrmené či hladovějící nymfy a podrobně zaznamenávat signály vedoucí ke svlékacímu procesu (zejména úroveň hormonů spouštějící ekdysi).

Z ekologického hlediska by bylo velice zajímavé předchozí (první) vysvětlení – data z tohoto pokusu ukazují skutečnost, tedy že se nymfy častěji svlékají v době nedostupné potravy. I tato vlastnost by mohla být adaptivní, ale pouze v populacích, kde negativní vliv kompetice převyšuje negativní vliv kanibalismu či intraguild predace. Jestliže jsou nymfy *M. reticulata* limitovány především omezeným množstvím potravních zdrojů v dané populaci, bylo by pro ně výhodnější svlékat se v době nedostatku potravy (při ekdysi mají

značně omezenou pohyblivost a nemohou stejně potravu přijímat). Naopak při dostupné potravě by naopak byly aktivní a schopné kompetičního boje s dalšími příslušníky dané populace.

6. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit, zda– li je ekdyse závislá na dostupnosti potravy. Zanalyzováním dat a následným vyhodnocením výsledků bylo zjištěno, že nymfy se svlékají ve větší míře, když je potrava nedostupná.

Vzhledem k relativní náročnosti chovu hladinatky *M. reticulata* se ukázalo, že v běžných školních podmínkách je podobný dlouhodobý experiment neproveditelný.

Použitá literatura

Aleshin V.V., Mikhailov K. V., Konstantinova A. V., Nikitin M. A., Rusin L. Yu., Buinova D. A., Kedrova O. S. a Petrov N. B., 2009: On the phylogenetic position of insects in the Pancrustacea clade. *Molecular Biology* 43(5): 804-818.

Andersen N. M., 1982: The Semiaquatic Bugs (Hemiptera, Gerromorpha). Phylogeny, Adaptations, Biogeography and Classification. *Entomonograph*, 3: 455 s.

Andersen N. M., 1996: Heteroptera Gerromorpha, Semiaquatic Bugs. In: Nilsson N. A. (Ed.): *Aquatic Insects Of North Europe – A taxonomic Handbook*. Apollo Books, Stenstrup, Denmark: 77 – 90 s.

Andrews, W. R., Targett N. M. and Epifanio C. E., 2001. Isolation and characterization of the metamorphic inducers of the common mud crab, *Panopeus herbstii*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 261:121–134.

Ditrich T., Papáček M., 2010: Effect of population density on the development of *Mesovelia furcata* (Mesoveliidae), *Microvelia reticulata* and *Velia caprai* (Veliidae) (Heteroptera: Gerromorpha). *European Journal of Entomology*, 107: 579 – 587 s.

Forward R. B., Tankersley R. A., Rittschof D., 2001: Cues for Metamorphosis of Brachyuran Crabs: An Overview, str. 161-167

Gullan P. J., Cranston P. S., 2010: *The insects an outline of entomology*, 4. vydání, USA: Wiley-blackwell, 584 s.

Hudec, K., Kolibáč, J., Laštůvka, Z., Peňáz, M. & kol., 2007: Příroda České Republiky Průvodce faunou, Academia, str. 120

Namazawa, K. & Kobayashi S., 1985: Predatory Characteristics of *Microvelia reticulata* Burmeister (Hemiptera, Veliidae) and Its Seasonal Prevalence in Paddy Fields. Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology, 29: str. 210–215

O'Connor, N. J. and A. S. Gregg A. S., 1998: Influence of potential habitat cues on duration of the megalopal stage of the fiddler crab *Uca pugnax*. J. Crust. Biol. 18:700–709.

Olmi, E. J., III, van Montfrans J., Lipcius R. N., Orth R. J. and Sadler P. W., 1990: Variations in plankton availability and settlement of blue crab megalopae in the York River, Virginia. Bull. Mar. Sci. 46:230–243.

Orth, R. J. and Montfrans J., 1987: Utilization of a seagrass meadow and tidal marsh creek by blue crabs *Callinectes sapidus*: 1. Seasonal and Antal variation in abundance with emphasis on post-settlement juveniles. Mar. Ecol. Prog. Ser. 41:283–294.

Paulová L., 2012: Vývoj, růst a variabilita jedinců semiakvatické plošnice hladinatky pobřežní (*Microvelia reticulata*) (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae). Diplomová práce, školitel RNDr. Tomáš Ditrich. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Pedagogická fakulta, 93s.

Pokorný V., Šifner F., 2004: Atlas hmyzu, Praha-Litomyšl: Paseka, 176s.

Rodriguez, R. A. and Epifanio C. E., 2000: Multiple cues for induction of metamorphosis in larvae of the common mud crab *Panopeus herbstii*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 195:221–229.

Sprague I. B., 1956: The biology and morphology of *Hydrometra martini* Kirkaldy. Kans. Univ. Sci. Bull. 38: 579 – 693.

Valentine J.W. a Collins A.G., 2001: The significance of moulting in Ecdysozoan evolution. *Evolution & Development*2(3): 152–156.

Weber, J. C. and Epifanio C. E., 1996: Response of mud crab (*Panopeus herbstii*) megalopae to cues from adult habitat. *Mar. Biol.* 126:655–661.

Welch, J. M., Rittschof D., Bullock T. M. and Forward R. B., Jr. 1997: Effects of chemical cues on settlement behavior of blue crab *Callinectes sapidus* postlarvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 154:143–153.

Zahradník J., Severa F., 2004: Hmyz. Praha: Aventinum, 326 s.

Zeng, C., E. Naylor, and Abello P., 1997: Endogenous control of timing of metamorphosis in megalopae of the shore crab *Carcinus maenas*. *Mar. Biol.* 128:299–305.