

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**  
**ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

**Studijní program:** B4106 Zemědělská specializace  
**Studijní obor:** Biologie a ochrana zájmových organismů  
**Katedra:** Katedra biologických disciplín  
**Vedoucí katedry:** doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
**VLIV FOTOPERIODY NA PRODUKCI VAJÍČEK**  
**STRAŠILKY *PERUPHASMA SCHULTEI***

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

Autor: Pavla Tochorová

České Budějovice, 2012

Prohlašuji, že svoji diplomovou 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 diplomové práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 24. dubna 2012.....

Pavla Tochorová

### **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce Mgr. Michalu Berecovi, Ph.D. za velkou trpělivost, věnovaný čas, odborné rady a korektury. Dále bych chtěla poděkovat doc. RNDr. Oldřichu Nedvědovi, CSc. za poskytnutí technického zázemí a panu Jiřímu Doxanskému, který k pokusu zapůjčil dostatečný počet chovných jedinců.

V neposlední řadě děkuji své rodině, která mě podporovala v průběhu celého studia.

## **Vliv fotoperiody na produkci vajíček strašilky *Peruphasma schultei***

### **Abstrakt**

Cílem práce je zjistit význam fotoperiody pro kladení vajíček druhu *Peruphasma schultei*. Teoretická část se zabývá obecným popisem reprodukce a embryonálního vývoje u strašilek. Uvedeny jsou také klimatické faktory ovlivňující fyziologické děje a krátký popis biologického rytmu u hmyzu.

Pokusní jedinci byli chováni ve třech rozdílných fotoperiodách s konstantní teplotou 25 °C, kde probíhaly kontroly a sběr vajec ve dvouhodinových intervalech. Na základě statistického vyhodnocení dat byl prokázán vliv fotoperiody, času a jejich interakce na počet nakladených vajíček a rozdílnost průběhu kladení v jednotlivých fotoperiodách.

**Klíčová slova:** fotoperioda, kladení, biologický rytmus, *Peruphasma schultei*

## **The photoperiodicity effect on *Peruphasma schultei* eggs production**

### **Abstract**

The aim is to determine the importance of photoperiod for oviposition of *Peruphasma schultei*. The theoretical part covers common description of the reproduction and embryonic development of phasmid. Included the climatic factors affecting physiological action and brief description of the biological clock of insects.

Experimental individuals were kept in three different photoperiods with constant temperature of 25 °C. Control and collection of eggs ran at intervals of two hours. It was shown the influence of photoperiod, time and their interaction on the number of eggs and imposed the difference in putting across time.

**Key words:** photoperiod, egg laying, biological rhythm, *Peruphasma schultei*

# OBSAH

<b>1. Úvod</b> .....	6
<b>2. Literární rešerše</b> .....	7
2.1 Reprodukce a embryonální vývoj strašilek .....	7
2.1.1 Páření .....	7
2.1.2 Partenogeneze .....	7
2.1.3 Kladení .....	7
2.1.4 Vajíčko a embryonální vývoj .....	8
2.1.5 Diapauza .....	9
2.2 Klimatické faktory ovlivňující fyziologické děje hmyzu .....	10
2.2.1 Teplota .....	10
2.2.2 Voda, vzdušná vlhkost .....	11
2.2.3 Sluneční záření, fotoperioda .....	12
2.3 Biologické hodiny u hmyzu .....	13
<b>3. Metodika</b> .....	16
3.1 Materiál .....	16
3.2 Vybraný druh .....	16
3.3 Podmínky pokusu a režim dne .....	19
3.4 Technické zázemí .....	20
3.5 Zaznamenání a zpracování dat .....	20
<b>4. Výsledky</b> .....	21
4.1 Statistické zpracování dat .....	21
<b>5. Diskuse</b> .....	26
<b>6. Závěr</b> .....	29
<b>7. Seznam použité literatury</b> .....	30

# 1. ÚVOD

Přestože jsou klimatické faktory navzájem provázané, střídání světelné a temnostní fáze v průběhu dne má zásadní vliv na fyziologické děje probíhající v hmyzím organismu, jeho ekologii a vývoj. Nejenže je fotoperioda spolehlivým indikátorem změny klimatu, ale funguje také jako časovač, který upřesňuje a synchronizuje vnitřní biorytmy. V nepřírodných světelných podmínkách, kde chybí možnost seřízení biologických hodin pomocí střídání světla a tmy, dochází ke změnám pravidelné denní rytmicity v chování organismů.

Tato práce si dává za cíl zjistit význam fotoperiody pro produkci vajíček strašilky *Peruphasma schultei* při konstantní teplotě. To bude možné prostřednictvím umístění chovaných jedinců v kontrolovaných laboratorních podmínkách, kde budou sledovány rozdíly mezi třemi fotoperiodami: 12:12, konstantní tma a konstantní světlo. S velkou pravděpodobností lze předpokládat, že na základě zvolených extrémních podmínek budou rozdíly mezi jednotlivými režimy poměrně markantní. Jelikož se jedná o živočicha s převážně noční aktivitou, můžeme očekávat nejvyšší frekvenci kladení v temnostní fázi dne. Otázkou zůstává, zda se bude pravidelně opakovat skokový nárůst počtu vajíček v určitou denní dobu, nebo bude kladení rozptýleno do celé skotofáze. Jakmile dojde k přechodu na celotmavou fotoperiodu, patrně se produkce vajíček po určitém čase rovnoměrně rozdělí do celého dne a četnost kladení by se také mohla mírně zvýšit. Naopak přechod do fotoperiody konstantního světla by mohl znamenat trvale nevhodné podmínky pro produkci vajíček a po uplynutí potřebné doby pravděpodobně dojde k úplné minimalizaci kladení.

Přihlédneme-li k přírodním podmínkám v oblasti původního výskytu zkoumané strašilky *Peruphasma schultei*, jejíž domovinou je podrost hustých mlžných lesů, lze také říci, že díky minimu dopadajícího světla může být vliv fotoperiody na produkci vajíček i jiné fyziologické děje zcela zanedbatelný.

## 2. LITERÁRNÍ REŠERŠE

### 2.1 Reprodukce a embryonální vývoj strašilek

#### 2.1.1 Páření

U strašilek, které se rozmnožují pohlavně (sexuálně), většinou trvá proces kopulace několik hodin. Sameček, který bývá subtilnější, se přichytí na samičím hřbetě a stočí zadeček do polohy snadného spojení s koncem zadečku samice. To je umožněno pomocí zevních přichycovacích orgánů samce, který zachytí samičku mezi subgenitální a supragenitální ploškou. Následuje složitý proces předání spermatoforu (Tochorová, 2010). K páření dochází většinou v noci, ale pro některé druhy je charakteristické nepřetržité spojení páru (*Peruphasma schultei*).

#### 2.1.1 Partenogeneze

Vedle pohlavního rozmnožování se u strašilek setkáváme také s jevem zvaným thelytokie, která je druhem partenogeneze, kdy se z neoplozených vajíček líhnou pouze nymfy samičího pohlaví. Dále pak rozlišujeme arrhenotokii (z neoplozených vajíček se líhnou samci, z oplozených pak samice) a amphitokii, kdy se z neoplozených vajíček líhnou obě pohlaví (Hůrka & Čepická, 1978).

Na rozdíl od sexuální reprodukce, partenogeneze již nestanoví žádnou možnost přestavby genů. Takováto populace má tedy mnohem větší genetickou stabilitu, ale ta může být nevýhodou v měnícím se prostředí. Ovšem partenogeneze má i výhody v podobě snížení výdeje energie na hledání opačného pohlaví, apod. U několika druhů se samci v chovech vůbec nevyskytují a někdy dokonce není potvrzen ani jejich výskyt v přírodě. U vajíček druhů, které se mohou rozmnožovat pohlavně i pomocí partenogeneze platí, že vajíčka vzniklá partenogenezí mají prodlouženou dobu inkubace a snížené procento líhnivosti v porovnání s vajíčky oplozenými. Mezi takovéto druhy patří například *Medauroidea extradentata*, *Extatosoma tiaratum* či *Aretaon asperrimus* (Tochorová, 2010).

#### 2.1.2 Kladení

Celý řád Phasmatodea je typický svou vysokou produkcí vajíček, přičemž některé druhy dokáží za svůj život naklást až kolem tisíce kusů. Kladení samotné představuje proces, kdy je vajíčko vypuzeno ven z genitálií, což bývá spojeno s určitým typem chování (Kodřík, 2000). Nejčastěji dochází k jednoduchému

odkládání vajíček na substrát, někdy je ale tato technika zdokonalena tím, že samice vajíčka odmrští pomocí pohybu zadečku. Několik druhů klade svá vajíčka do štěrbin v kůře, na rostliny nebo do substrátu pomocí nepravého kladélka, sem se řadí např. *Sungaya inexpectata* (Tochorová, 2010).

### 2.1.3 Vajíčko a embryonální vývoj

Vajíčka strašilek jsou svým tvarem, velikostí i barvou poměrně různorodá a často se setkáváme i s výraznými povrchovými strukturami. Kombinace jejich vlastností je jedinečná: bývají poměrně velká, oválná až soudečkovitá, někdy zploštělá, na první pohled často připomínají semena rostlin. Kromě tohoto existuje i velká rozmanitost ve tvaru a velikosti mikropylární plošky (Sellick, 2009). Studiu vajíček je dnes přikládán velký význam z důvodu lepší identifikace rodičovského jedince a jeho přesnějšího zařazení do systému (to potvrzuje i práce, kterou vydal v roce 2005 uznávaný odborník Oliver Zompro). Vajíčka strašilek mají totiž pro identifikaci ideální vlastnosti, které vajíčkům některého hmyzu chybí, tj. dostatečnou velikost, dlouhotrvající stálou barvu a tvar díky pevné skořápce, možnost preparace zralých vajíček z mrtvých preparátů, apod. (Sellick, 1992).

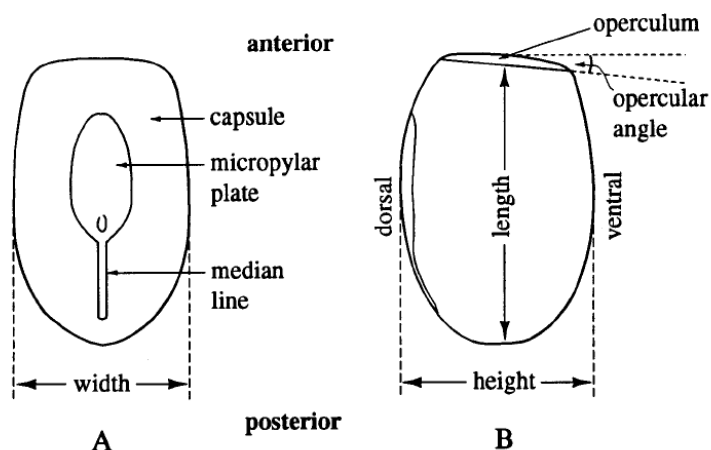
Popis vajíček řádu Phasmatodea je dnes již poměrně jednotný. Mezi základní pojmy patří operculum, které by se dalo charakterizovat jako víčko, jež se při líhnutí nymfy otevírá. Na něj může přisedat capitulum, což je malý kulovitý výčnělek, který má někdy tendenci s věkem odpadávat. Capitulum se vyskytuje pouze u 40 % druhů, a to jen u vajíček kladených volně na substrát (Sellick, 2009). Mikropylární plošku můžeme najít na dorzální straně vajíčka. V její spodní části se pak nachází malý otvor, tzv. mikropyle (Kovařík & Pecina, 2000).

Vajíčko hmyzu je pokládáno za zralé ihned po ukončení tvorby jeho obalů, tj. primárního obalu (membrana vitellina) a chorionu. Ten pak dále dělíme na endochorion a exochorion, který je inkrustovaný vápenatými solemi. Vaječné obaly mají nezastupitelnou funkci v podobě ochrany vajíčka a zajištění funkcí důležitých pro jeho správný vývoj včetně dýchání.

Vzhledem k tomu, že se jedná o vajíčka bohatá na žloutek, začíná jejich vývin povrchovým rýhováním, kdy se blastodermální zárodečný terč objevuje na povrchu. Z něj vzniká tzv. zárodečný proužek, který postupně roste, prodlužuje se a dělí na jednotlivé segmenty, zatímco zárodek se otáčí o 180°. K jeho nepatrnému zpětnému natočení dochází při vzniku zárodečných obalů amnionu a serózy.



Přetáčení dále pokračuje, zatímco se diferencují základy končetin, embryo pronikne amniem a serózou, až dosáhne hlavou na opačnou stranu žloutku. Hlava se posléze dostává pod operculum a hřbet pod mikropylární plošku, abdomen se prodlužuje stejně jako končetiny, které se definitivně formují. Po celkovém dokončení embryonálního vývoje včetně sklerotizace je nymfa připravena na proces líhnutí (Tochorová, 2010).



**Obr. 1:** Terminologie popisu vajíčka u strašilek. A značí dorzální stranu, B laterální (Sellick, 1994).

#### 2.1.4 Diapauza

Diapauza je geneticky naprogramovaný proces, kdy dochází k zastavení vývoje vlivem určitých podmínek prostředí. K pokračování vývoje dojde až po uplynutí geneticky určené doby a po odeznění faktorů, které ji zapříčinily (teplota, fotoperioda, vlhkost...). Jedná se o velice pozoruhodný proces, který má za úkol zajistit, aby se jedinec vylíhnul či dospěl do co nejlepších podmínek pro život a rozmnožování (Buchar, 2000). U různých druhů hmyzu, které nemohou migrovat, je výskyt diapauzy orientován na rozličné stádium, může se tedy jednat o vajíčko, kuklu, larvu či dospěléce, ale nejběžnější je u stádií primárně odolnějších, tedy u vajíček a kulek. Nejedná se jen o pasivní reakci na měnící se životní prostředí, ale spíše o aktivně indukovaný stav, který předchází nepříznivé přírodní situaci na základě faktorů, které samy o sobě stresující nejsou (Schiesari et al., 2010). Výskyt diapauzy je častý především v oblastech, kde se střídají extrémní období, která musí daný organismus nějak překonat. Jako signál pro spuštění diapauzy může sloužit řada faktorů jako je teplota, vlhkost či pH. Nejdůležitějším činitelem je však fotoperioda, která je spolehlivým ukazatelem sezónních změn. Fotoperioda je ale rozhodující jen v rozsahu určitých mezních teplot, které jsou druhově specifické.

Mimo toto rozpětí (teplota je příliš nízká či vysoká) ztrácí fotoperioda účinnost a teplota se stane hlavním faktorem. Jako jednoduchý přepínač mezi diapauzou a nondiapauzou slouží kritická délka noci (Saunders, 2009).

Během diapauzy dochází vedle behaviorálních změn i ke změnám morfologickým, jako je například změna zbarvení či délka křídel (Košťál, 2011). Obecně platí, že diapauza je řízena v první řadě hormonálně. Uvádí se, že hormon ekdyson diapauzu spouští a juvenilní hormon ji ukončuje (Kodrík, 2000). U bource morušového a několika dalších druhů hmyzu byl zjištěn diapauzní hormon.

Dalším dormantním stavem je kviescence, která je přímou a okamžitou reakcí na nepříznivé faktory prostředí. Vývoj tedy pokračuje ihned, jakmile tyto podmínky pominou (Bruce-White & Shardlow, 2011).

## **2.2 Klimatické faktory ovlivňující fyziologické děje hmyzu**

### **2.2.1 Teplota**

Protože hmyz obecně patří do skupiny piokilotermmích organismů, jejichž tělesná teplota kolísá v závislosti na teplotě vnějšího prostředí, stává se pro něj teplota velmi významným činitelem, který ovlivňuje jeho veškerou činnost. Vždy platí, že v důsledku změny teploty vnějšího prostředí dochází i ke změně intenzity metabolismu. S růstem teploty intenzita metabolismu a tím i spotřeba kyslíku stále stoupá, až dosáhne své maximální hodnoty. Jestliže i pak teplota dále roste, dochází k destrukčním procesům, nebo dokonce ke smrti jedince. Život ve vyšších teplotách přináší některé výhody, ale také mnoho nevýhod, např. snížení délky života. Jednou z výhod existence v nízkých teplotách je to, že energetické nároky ze strany metabolismu jsou nízké, takže jedinec přežije v době nedostatku potravy déle (Tochorová, 2010).

Ovšem i samotný hmyz může svou teplotu jistými způsoby regulovat, a to pomocí:

#### **a) behaviorální termoregulace**

Je založena na získávání externího tepla ze substrátu, ale hlavně ze slunečního záření. Princip je založen na expozici maximální plochy těla ke zdroji tepla, čímž se zvýší jeho absorpce. Při nutnosti ochlazení pak hmyz vyhledává chladnější místa. Svůj význam má také zbarvení povrchu těla, kde platí, že tmavší jedinci se rychleji ohřívají a mohou být tedy dříve aktivní.

## **b) fyziologické termoregulace**

Zakládá se na tvorbě a využití metabolického tepla, což je možné hlavně díky mohutné létací svalovině. Toho využívají např. včely nebo mûry, které zvyšují svoji teplotu rychlými stahy svalů před vzletem. Uchování tepla je zajištěno pomocí izolačních útvarů, jako jsou různé šupiny, chlupy apod. Pro ochlazování hmyz využívá zrychlení cirkulace hemolymfy a její odvod do neizolovaných částí těla, kudy je teplo vyzařováno do okolí (Kodrík, 2000).

U zástupců hmyzu se také setkáváme s četnými adaptačními mechanismy, které jim pomáhají přežít extrémní teploty nebo jejich změny. V případě vysokých teplot dojde k produkci specifických proteinů v cytoplasmě buněk, které brání denaturaci ostatních proteinů. Naopak jako adaptace na velmi nízkou teplotu se v hemolymfě tvoří specifické částice, tzv. krystalizační centra, které způsobí zamrznutí vody kolem nich a ne v buňkách.

Teplota má samozřejmě vliv i na vývoj hmyzu, kde je důležitým pojmem tzv. fyziologický čas, který udává vztah mezi teplotou a dobou vývoje, která je pro daný druh hmyzu charakteristická. Dalo by se říci, že čas, který je nutný k vývoji, je násoben teplotou, která je vyšší než teplotní vývojový práh (teplota pod kterou neprobíhá vývoj, jen bazální metabolismus). To ve zkratce znamená, že až do dosažení jisté zlomové teploty platí, že se doba potřebná na vývoj se zvyšující teplotou snižuje. Velmi nízké nebo velmi vysoké teploty mohou být škodlivé nebo letální. Hmyz, který musí být schopen přežít nějaké extrémní teploty, často přistupuje k diapauze nebo k migraci.

Teplota a fotoperioda jsou pro hmyz důležitými sezónními ukazateli, teplota samotná má ale rozhodující funkci hlavně v extrémním prostředí. Protože teploty ukazují jasné trendy až v dlouhodobém horizontu, je pro hmyz obvykle obtížné zpracovat tyto informace způsobem, který by umožnil včasnou sezónní reakci.

### **2.2.2 Voda, vzdušná vlhkost**

Fyziologické děje u hmyzu ovlivňuje i vlhkost vzduchu, která je pro suchozemský hmyz nepřímou úměrnou ztrátám vody z organismu. Relativní vlhkost vzduchu (= poměrná vlhkost) rozumíme poměr mezi okamžitým množstvím vodních par ve vzduchu a množstvím par, které by měl vzduch o stejném tlaku a teplotě při plném nasycení. Udává se v procentech a je známý její vliv na fyziologický čas, tedy na vývojové děje u hmyzu.

Hmyz má různou toleranci ke ztrátám vody z těla, a pokud je vystaven nebezpečí dehydratace, snaží se jí zabránit výhodnou stavbou těla i etologickými projevy. Některé druhy mají například na povrchu těla chlupy, šupiny, voskový povlak nebo silně sklerotizovaný integument, který snižuje ztrátu vody odpařováním. Také zavírání spirakul a noční aktivita vedou k omezení ztráty vody.

### **2.2.3 Sluneční záření, fotoperioda**

Střídání světelné (fotofáze) a temnostní fáze (skotofáze) v průběhu 24 hodin má zásadní vliv na fyziologické děje hmyzu, jeho ekologii a vývoj. Zvláště je to patrné v sezónních klimatech a to i u tropického hmyzu, kde jsou rozdíly v délce světelného dne minimální. Fotoperioda poskytuje hmyzu díky svému neměnnému charakteru jeden z nejspolehlivějších signálů o nastupující změně klimatu (Danks, 2007) a ten má možnost se přizpůsobit hibernačními stavy či migrací. Prodlužující se délka světelného dne informuje o postupu sezóny k období, ve kterém probíhá jejich hlavní životní aktivita a dochází k synchronizaci hmyzu s výskytem jeho potravy. Jako u většiny klimatických vlivů nelze striktně oddělit vliv fotoperiody a tepla na nástup a ukončení diapauzy, protože tyto hodnoty spolu úzce souvisí. Ovšem teplota má mnohem menší informativní hodnotu, jelikož široce kolísá i v rámci jednoho dne.

Vliv fotoperiody může být v některých případech zcela zásadní, např. larvy parazitické vosy *Cotesia melanoscela* byly vystaveny dlouhé fotoperiodě (více než 18 h) a vyvinuly se prakticky nepřetržitě až do dospělosti. Při stejné teplotě byl proveden pokus s použitím krátké fotoperiody (méně než 16 h) a jedinci vstoupili do diapauzy (Speicht et al., 2008). Někdy se fotoperiodou spouští děje značně časově vzdálené. Např. u bource morušového (*Bombyx mori*) má fotoperioda u mateřské generace vliv na výskyt diapauzy u potomků další generace (Kodrík, 2000). Další prokázanou funkcí fotoperiody je její vliv na migraci motýla *Danaus plexippus* (Froy et al., 2003).

Fotoperioda není spolehlivým ukazatelem pro hmyz žijící na velmi tmavých místech, jako jsou půdy nebo rostlinné tkáně. Zde tento faktor nahrazují signály smysluplné pro konkrétní lokalitu.

### ***Vnímání světla u hmyzu***

Hlavním orgánem zraku jsou u řádu Phasmatodea dvě bočně umístěné oválné složené oči, které jsou tvořeny velkým počtem omatidií. Ty mají tvar šestibokého jehlanu a jejich počet se zvyšuje v závislosti na instaru. Např. nymfa *Carausius morosus* má po vylíhnutí 285 omatidií a při dosažení dospělosti se jejich počet zvýší až na 620 (Meyer-Rochow & Keskinen, 2003).

U strašilek, které jsou typické svou převážně noční aktivitou, se vyskytují superpoziční omatidia. Ty se vyznačují pohyblivými pigmentovými zrny, která se při snížení viditelnosti soustřeďují jen v okolí dioptrického aparátu. Tím jsou pigmentové buňky propustné pro paprsky směřující k sítnici i jiných facet. Takové uspořádání umožňuje vnímat i světlo nízké intenzity. Ve dne pak může dojít k rovnoměrnému rozptýlení pigmentu a omatidium pak funguje jako apoziční (Kodrík, 2000). Schopnost vnímání barev je zajištěna přítomností dvou druhů očních pigmentů. Jeden reaguje na zelené a žluté světlo, druhý na světlo modré a ultrafialové. Obecně platí, že hmyz hůře vnímá červený konec spektra, kdežto vnímá dobře barvy směrem k UV oblasti.

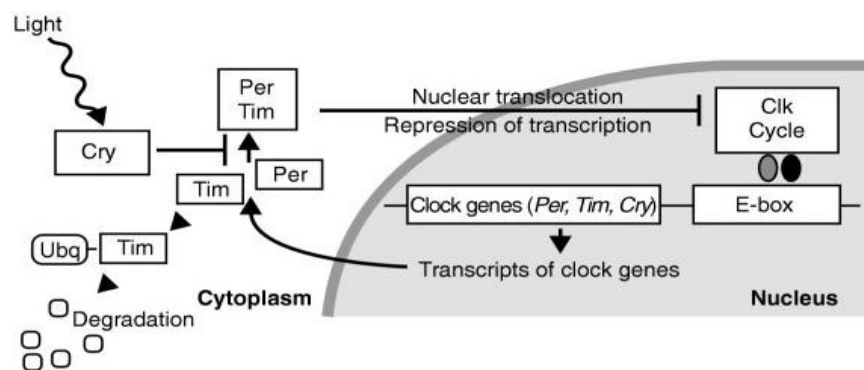
Kromě složených očí (oculi compositi) se u této skupiny hmyzu vyskytují i jednoduchá očka (ocelli), která jsou umístěna na rozhraní čela a temene. Ty jsou citlivá především na změny intenzity světla a podílejí se tak na registraci cirkadiálních rytmů.

### **2.2 Biologické hodiny u hmyzu**

Hmyz i mnohé další organismy vykazují v rámci dne jistou rytmicitu, která má za úkol zvýšit jejich fitness prostřednictvím synchronizace životních procesů se změnami prostředí. To je možné prostřednictvím vnitřních cirkadiálních hodin, které s pomocí nervových či humorálních cest synchronizují jednotlivé rytmy, měří délku světelné části dne a vytvářejí základní jednotku řídicího systému denní aktivity. Za seřizování cirkadiálních hodin zodpovídají fotoreceptory kryptochromy, které jsou citlivé na modré a ultrafialové části světelného spektra. Nejvýznamnějším projevem tohoto složitějšího systému je především sám rytmus pohybové aktivity, dále pak potravní chování, rozmnožování, ekdyze, změny v uvolňování hormonů a metabolismu.

Cirkadiální biologické hodiny jsou tedy biochemické oscilátory s délkou cyklu 24 hodin, které jsou pomocí kryptochromů každé ráno resetovány. U zvířat je centrální oscilátor umístěn v mozku, kde kontroluje cirkadiální chování celého organismu stejně jako periferní oscilátory v některých tkáních. Oscilace je způsobena transkripční zpětnovazebnou smyčkou, která zahrnuje řadu hodinových transkripčních faktorů: period (PER), timeless (TIM), clock (CLK), Bmal1 a kryptochromy (Lin & Todo, 2005).

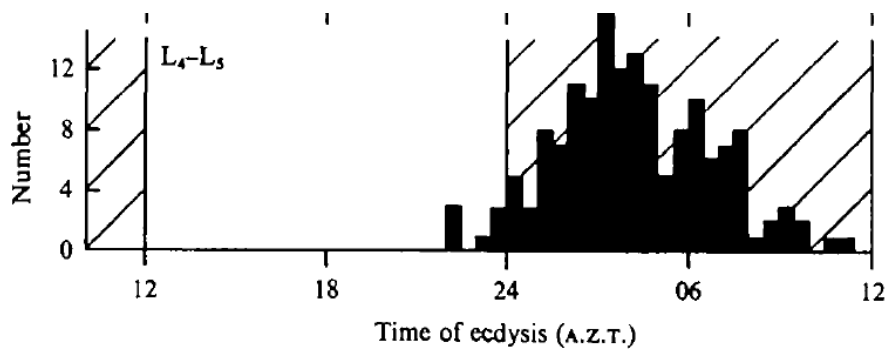
Jako modelový živočich byla využita octomilka obecná (*Drosophila melanogaster*), u které se kryptochrom vyskytuje převážně jako jaderný protein, který zprostředkovává regulaci cirkadiálních hodin světlem, ale může být rovněž nalezen v cytosolu buňky. Světlo stimuluje interakci mezi kryptochromem a TIM, která podporuje ubiquitinaci a následnou degradaci TIM, čímž potlačí tvorbu PER-TIM heterodimeru. Tím je umožněna transkripce hodinových genů (PER, TIM, CRY) a fáze cirkadiální oscilace je obnovena (Obr. 2). Základní stavební jednotky jsou u různých druhů hmyzu podobné, ale liší se mechanismus jejich činnosti (Lin & Todo, 2005).



**Obr. 2:** Regulace cirkadiálních hodin pomocí kryptochromu u *Drosophila melanogaster* (Lin & Todo, 2005).

U většiny živočichů se střídá během dne několik fází aktivity s několika fázemi klidu. Při podrobnějším pohledu zjistíme, že nejvyšší aktivita je po probuzení a k dalšímu vrcholu činnosti dochází před uložením ke spánku. Většina životně důležitých biorytmů má výrazný vztah k vnějším oscilacím, jako je rytmus opakování světla a tmy, přílivy, měsíční cykly apod. Těmto vnějším cyklům říkáme časovače (Zeitgeber), protože upřesňují a synchronizují vnitřní rytmy organismu (Veselovský, 2005).

Cirkadiální systém je decentralizovaný, nesídlí jen v cerebrálním ganglionu, ale je složen z mnoha periferních „hodin“, z nichž některé mohou být zcela na mozku nezávislé (Giebultowicz, 1998). Již v roce 1972 byl proveden pokus na housenkách nočních motýlů bource morušového (*Bombyx mori*) a martináče čínského (*Antheraea pernyi*), kde byla zkoumána periodicita svlékání v závislosti na denní fázi. Z výsledků vyplývá, že ke svlékání dochází v konkrétní denní době, která je závislá na instaru a druhu. V průběhu pokusu byly housenkám kauterizovány ocelli a doba pravidelné ekdyze se nezměnila (Truman, 1972). Na obrázku je znázorněna četnost svlékání u housenek martináče ve čtvrtém instaru, která dosahovala vrcholu mezi třetí a čtvrtou hodinou ráno (Obr. 3).



**Obr. 3:** Čas a četnost svlékání housenek *Antheraea pernyi* ve čtvrtém instaru chovaných při 25 °C a fotoperiodě 12:12 (Truman, 1972).

V umělých světelných podmínkách bez styku s vnějším světem můžeme po delší době pozorovat, že doba denní periody se z původních 24 hodin každým dnem o něco posunuje. Zřetelně se ukazuje, že bez denního seřizování časovačem vnitřní hodiny nejdou zcela přesně (Veselovský, 2005).

Cirkadiální pacemaker může být nastaven již krátkými světelnými podněty (tzv. diskretní synchronizace). Světelný impuls, jemuž je organismus vystaven v první polovině subjektivní noci, vyvolá zpoždění pacemakeru, tedy zpoždění nástupu nočních fází rytmu. Naopak impuls v druhé polovině subjektivní noci vyvolá předběhnutí pacemakeru. Záleží též na délce trvání světelného vjemu: déle trávající světelný impuls vyvolá větší posun pacemakeru než krátký. Směr a velikost posunu fáze biorytmu znázorňuje tzv. fázově responsní křivka (Rajchard, 1999).

### 3. METODIKA

#### 2.3 Materiál

Jako pokusný objekt byla zvolena strašilka druhu *Peruphasma schultei*, a to hlavně pro svůj nenáročný chov, vysokou produkci vajíček a relativně snadnou dostupnost na trhu. Při výběru byla zhodnocena i skutečnost, že vajíčka jsou relativně velká, výrazná, a jsou kladena na povrch substrátu. Část jedinců potřebných pro pokus pochází z mého chovu a zbytek párů byl vypůjčen z chovu ZOO Plzeň. Po převozu byli jedinci umístěni v klimaboxu s režimem 12:12 a 25 °C po dobu jednoho týdne.

V pokusu byla využita bisexuální populace dvaceti párů, která byla rozdělena do dvou terárií. Za stejných podmínek byly v externí nádobě chovány dva záložní páry pro případ úhynu některého pokusného zvířete.

#### 2.4 Vybraný druh

**PSG 270 *Peruphasma schultei* Conle & Hennemann, 2005**

Tato strašilka je řazena do čeledi Pseudophasmatidae, podčeledi Pseudophasmatinae, samotný rod *Peruphasma* obsahuje dalších sedm druhů, které pochází z Bolívie, Columbie, Peru a Velikonočních ostrovů. Druh je pojmenován podle německého herpetologa Dipl. Biol. Rainera Schulteho (nevládní organizace INIBICO, Tarapoto, Peru), který jej v roce 2002 objevil.

#### *Vzhled*

Druh se snadno odlišuje od ostatních zástupců rodu *Peruphasma* díky černému sametovému povrchu těla, které je pokryto drobnými chloupky. Mezi další znaky živých exemplářů patří nápadné žluté až světle oranžové oči, červenohnědá ústní část a černá tykadla se žlutými příčnými pruhy. U obou pohlaví jsou přítomna tegmina a alae, jejichž povrch je bíle síťovaný. Alae mají po rozevření výraznou červenou barvu, což slouží jako výstražné znamení, tegmina jsou zakrnělá a bez funkce.

Samičí tělo je oproti samci robustní, 43–55 mm dlouhé, tykadla 35–40 mm, tegmina 3,4–4,1 mm a alae 5,5–6,5 mm. Samec je velmi podobný samici, ale jeho tělo je menší a štíhlejší, délka 38–43 mm, tykadla 35–40 mm, tegmina 2,5–2,8 mm a alae 4,4–4,8 mm. Nymfy jsou po vylíhnutí nevýrazně hnědé s bílými skvrnami na konci tykadel, brzy se však zbarvením podobají dospělcům.



Oválná vajíčka mají matnou hladkou hnědou skořápku s černým nepravidelným mramorováním. Operkulum téměř kruhové, velmi mírně konvexní. Na dorzální straně vajíčka je oválná mikropylární ploška (1,2–1,5 mm) a v její dolní části se nachází velmi malá mikropyle. Výrazná střední čára začíná asi v polovině mikropylární plošky a pokračuje směrem ke spodní oblasti vajíčka. Rozměry v mm: délka: 3,8–4,0, šířka: 2,7–2,9, výška: 3,0–3,1 (Conle & Hennemann, 2005). Žloutek je zbarven do červena.

Je popsána i „pink wing” forma *Peruphasma schultei*, která se odlišuje menší nápadností barev: alae jsou bledě růžová, ústní část žlutohnědá a žloutek vajíčka je spíše bezbarvý (Van de Kamp, 2011).

### ***Výskyt a etologie***

Jako jediná oblast výskytu je uváděna velmi malá přírodní rezervace o rozloze 5 ha, což znamená vysokou endemitu, kvůli které je druh chráněn nevládní organizací INIBICO (Instituto de Investigación Biológica de las Cordilleras Orientales) ve spolupráci s peruánskou vládou. Toto území se nachází na severní hranici Peru, v jižním cípu oblasti Cordillera del Condor v nadmořské výšce od 1200 do 1800 m n. m. Pohoří je špatně přístupné, obsahuje husté mlžné lesy s vápencovým podkladem, a proto vyniká mimořádně bohatou biodiverzitou a četnými endemickými druhy zvláště z oblasti rostlin a avifauny (Ponce & Ghersi, 2003). Přirozeným prostředím *Peruphasma schultei* jsou malé formace zakrslých „trpasličích“ porostů. Podle R. Schulteho se přes den ukrývají za listy velkých tilandsií (*Bromeliaceae*), které rostou v původní lokalitě na svislých skalních útesech (Conle & Hennemann, 2005). V chovech žijí skrytě jen nymfy, které se často ve skupinách schovávají v seschlých listech na zemi, nebo na zadní straně listu krmné rostliny. V původní domovině přijímá tento druh jen rostliny rodu *Schinus* sp. (čeleď *Anacardiaceae*).

Stejně jako většina Pseudophasmatinae (*Anisomorpha*, *Pseudophasma*) je i tento druh známý svojí chemickou obranou. Při ohrožení dojde k rozevření alae a z prothorakální žlázy je vypuštěn dráždivý sekret peruphasmal obsahující glukózu. Ten napadá převážně sliznice a je charakteristický ostrým zápachem a bílým zbarvením (Dossey, 2006). Pro tento druh je charakteristická převážně noční aktivita.

## **Chov**

Poměrně brzy od objevení se tento druh stal pro svůj neobvyklý vzhled a poměrně snadný chov jedním z nejčastějších chovanců řádu strašilky ve světě i v České republice. České obchody a chovatelé jej nabízí většinou pod názvem strašilka ďábelská a cena za jedince se pohybuje od 20 do 60 Kč. K chovu je nutné insektárium se středně vlhkým režimem o vlhkosti 40–60 % a dostatečným odvětráváním.

Pro chov v Evropských podmínkách se používají jako náhradní živné rostliny převážně zástupci čeledi *Oleaceae* (*Ligustrum*, *Forsythia*, *Syringa*) a *Caprifoliaceae* (*Lonicera*, *Symphoricarpos*). Při dodržení vhodných chovných podmínek dochází při vývoji nymf k velmi malým ztrátám a dospělci se dožívají poměrně vysokého věku.

## **Rozmnožování a vývoj**

Tento druh se rozmnožuje pouze pohlavně. Dospělí samci tráví většinu života spojením se samičkou, což má za účel zabránit případnému oplodnění jiným samcem. Samice začíná produkovat vajíčka nejdříve čtrnáct dní po posledním svleku, přičemž produkce vajec může být poměrně vysoká (3–10 denně). Dospělá samice snáší periodicky v určitých snůškách, vajíčka pouští volně na substrát. Doba inkubace na lignocelu při konstantní teplotě 25 °C je 91–128 dní, v závislosti na teplotě, vlhkosti či fotoperiodě se tato doba může měnit. Vajíčka strašilky *Peruphasma schultei* dosahují vysoké líhnivosti kolem 90 %, nymfy se líhnou převážně za tmy (Tochorová, 2010).

Díky relativní dlouhověkosti tohoto druhu často dochází k setkání rodičovských jedinců se svými potomky. Vývoj nymf trvá s ohledem na podmínky prostředí méně než šest měsíců.

## 2.5 Podmínky pokusu a režim dne

Samotný pokus probíhal v kontrolovaných laboratorních podmínkách, tedy v klimaboxech s konstantní teplotou 25 °C a fotoperiodou v poměru světlo/tma:

1. 12:12 (světelná fáze od 6:00 do 18:00)
2. konstantní světlo
3. konstantní tma

Teplota byla záměrně zvolena vyšší, čímž byla zajištěna dostatečná aktivita pokusných jedinců a tím i vyšší snáška vajíček. V teráriích byla neustále měřena vzdušná vlhkost, přičemž čidlo digitálního vlhkoměru bylo opětovně vloženo do chovného terária bezprostředně po provedení pravidelné kontroly. K pravidelnému rosení pomocí rozprašovače docházelo obden, čímž bylo dosaženo průměrné vzdušné vlhkosti 50–60 %. Jelikož byla v prostoru klimaboxu umístěna velká Petriho miska s vodou, nikdy neklesala vzdušná vlhkost pod 40 %.

Jedinci v pokusu byli krmeni pouze ptačím zobem (*Ligustrum*) z důvodu jeho dobré dostupnosti ve městech. Výměna potravy a čištění terária probíhalo podle potřeby, většinou však dvakrát týdně.

Obě chovná terária měla stejné rozměry: 24×17×16 cm, víko bylo celoskleněné, bez síťkových větracích otvorů. Ty nebyly potřeba, jelikož k cirkulaci vzduchu docházelo při pravidelné kontrole. Kvůli usnadnění lokalizace vajíček nemohl být na dně chovné nádoby žádný substrát. Terária byla odlišena pomocí barevných nádob na vodu (zelená a oranžová), kde byla umístěna potrava. Hrdlo těchto nádob bylo překryto filtračním papírem, aby bylo zamezeno případnému naklazení vajíček do vody.

U každé fotoperiody probíhaly kontroly kladení nepřetržitě po dobu šesti dní, a to vždy v pravidelném intervalu dvou hodin. Aby nedošlo k porušení biorytmu zkoumaných jedinců v temné fázi fotoperiody, bylo nutné dohledat vajíčka jen s pomocí tlumeného červeného světla s vlnovou délkou nad 650 nm.

## **2.6 Technické zázemí**

Terária s pokusnými živočichy byla umístěna v klimaboxu Sanyo INCUBATOR MIR-153, který se nacházel v pavilonu B Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, a to v laboratoři katedry zoologie B 247. Později byl klimabox přestěhován do přístrojovny, protože se jedná o malou místnost bez oken, kde mohla být zajištěna absolutní tma. To bylo nutné při přechodu na celotmavou fotoperiodu.

Délku vyrovnané fotoperiody zajišťovaly programátory UFESA typu DT01, které byly napojeny na příruční zářivku. Pro manipulaci ve tmavé části dne byl využíván červený režim diodové svítilny. K měření vzdušné vlhkosti a kontrole teploty byl použit HAGEN Exo Terra Combo teploměr/vlhkoměr digitální.

## **2.7 Zaznamenání a zpracování dat**

Pravidelná vizuální kontrola probíhala ve dvouhodinových intervalech. Z terária bylo odstraněno skleněné víko a pomocí entomologické pinzety byla dohledána a vyjmuta nakladená vajíčka. Ta byla umístěna do speciální nádoby a jejich nález byl zapsán do záznamové tabulky spolu s datem, časem nálezu a specifikací terária.

Pro analýzu výsledků jsem použila faktoriální Anovy, jako vysvětlovanou proměnnou použila počet nakladených vajíček, jako vysvětlující světelný režim pokusu a dobu kladení. V případě, že data neměla normální rozložení, byla transformována pomocí druhé odmocniny. Pro porovnání rozdílů mezi časovými úseky měření v rámci jednotlivých fotoperiod byl použit Post Hoc Tukey HSD test (StatSoft, Inc., 2009).

## 4. VÝSLEDKY

### 4.1 Statistické zpracování dat

Jak je patrné z tabulky č. 1, faktoriální Anova prokázala signifikantní vliv fotoperiody ( $F = 81,105$ , d. f. = 2,  $p < 0,001$ ) a času ( $F = 5,936$ , d. f. = 11,  $p < 0,001$ ) na počet nakladených vajíček. Stejně tak byl zjištěn prokazatelný vliv interakce periody a času,  $F = 11,664$ , d. f. = 22,  $p < 0,001$ .

**Tab. 1:** Výsledky statistické analýzy.

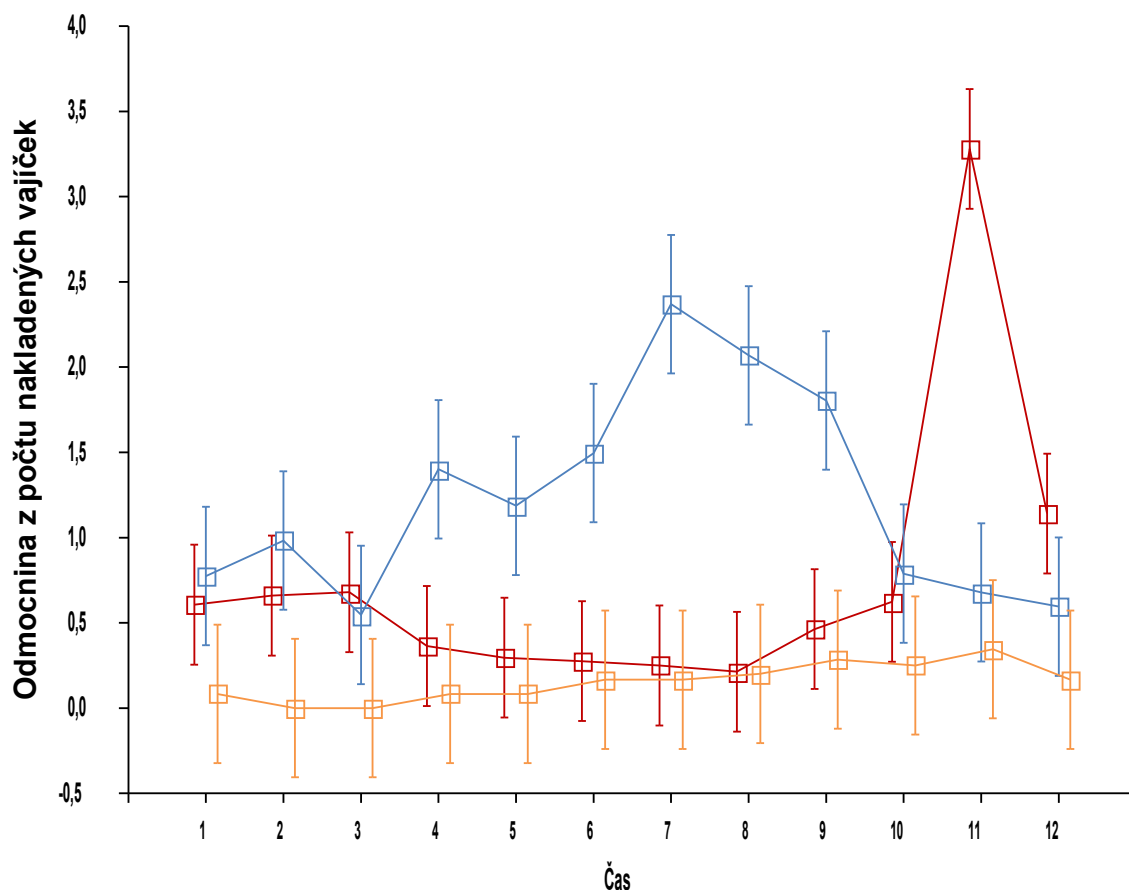
	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
intercept	234,177	1	234,177	457,737	$p < 0,001$
perioda	82,986	2	41,493	81,105	$p < 0,001$
čas	33,403	11	3,037	5,936	$p < 0,001$
perioda*čas	131,282	22	5,967	11,664	$p < 0,001$
chyba	227,149	444	0,512		

Mnohonásobným porovnáváním Post Hoc Tukey HSD test odhalil statisticky významný rozdíl mezi všemi dvojicemi,  $p < 0,001$  (Tab. 2).

**Tab. 2:** Výsledky testování pomocí Post Hoc Tukey HSD testu. Jednotlivé fotoperiody jsou v tabulce reprezentovány čísly: vyrovnaná (1), celotmavá (2) a celosvětelná (3).

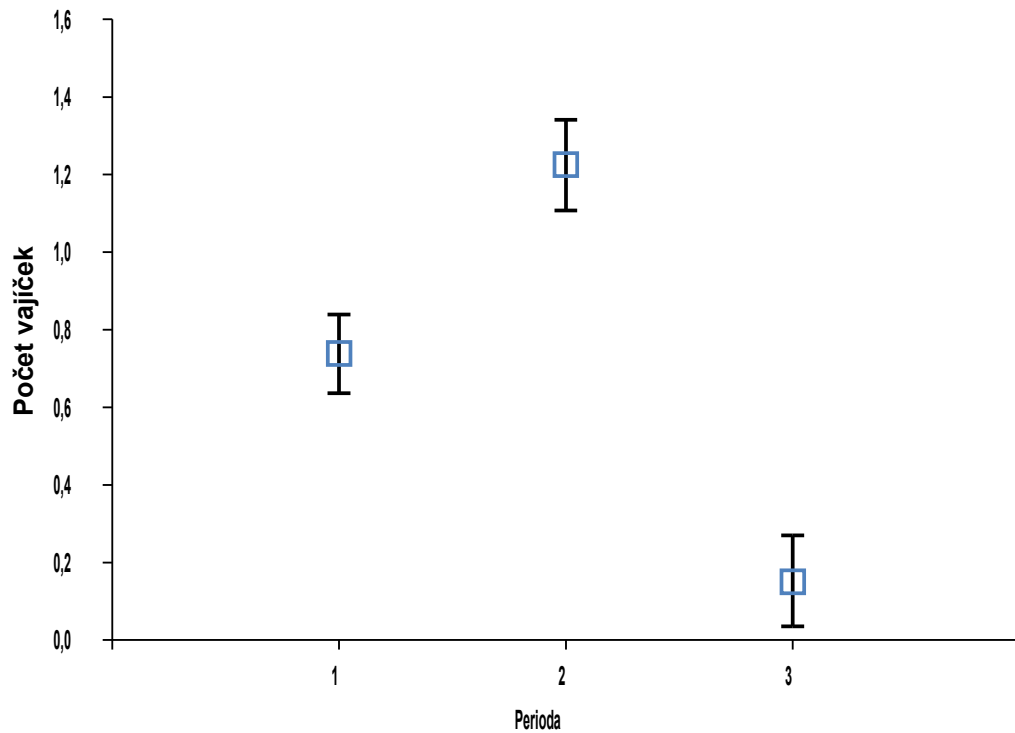
perioda	1	2	3
1		$p < 0,001$	$p < 0,001$
2	$p < 0,001$		$p < 0,001$
3	$p < 0,001$	$p < 0,001$	

Srovnáme-li závislost kladení na čase v jednotlivých fotoperiodách, zjistíme, že celosvětelná fotoperioda dosahovala trvale velmi nízkých hodnot bez výrazných výkyvů. Oproti tomu u fotoperiody s vyrovnanou délkou světla a tmy docházelo pravidelně ke skokovému nárůstu počtu nakladených vajíček dvě hodiny po setmění, tedy ve 20:00. Průměrně nejvyšších hodnot dosahuje kladení v celotmavé fotoperiodě, kde jsou vajíčka kladena relativně rovnoměrně (Obr. 4).



**Obr. 4:** Závislost kladení na čase v jednotlivých fotoperiodách. Na ose x je zobrazen dvouhodinový interval měření v průběhu dne, který začíná půlnoční kontrolou (1 = 22:00–0:00). Oranžová křivka znázorňuje celosvětelnou fotoperiodu, červená barva pak fotoperiodu vyrovnanou a modrá konstantní tmu.

Obrázek 5 znázorňuje rozdílnost kladení v jednotlivých fotoperiodách. Nejvyšší počet nakladených vajíček byl zaznamenán ve fotoperiodě konstantní tmy. Zde dosahoval průměru  $1,22 \pm 3,3$  vajíček nakladených za dvouhodinový časový úsek, druhou nejvyšší hodnotu měla vyrovnaná fotoperioda:  $0,74 \pm 3,3$ , a výrazně nejnižší množství vajíček bylo nakladeno ve fotoperiodě celosvětelné:  $0,15 \pm 0,48$ .



**Obr. 5:** Vztah světelné periody a počtu vajíček nakladených za dvouhodinový časový úsek. Graf zobrazuje průměr z počtu nakladených vajíček  $\pm$  směrodatná odchylka. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé fotoperiody: vyrovnaná (1), konstantní tmy (2) a konstantního světla (3).

Post Hoc Tukey HSD test odhalil jasnou odlišnost kladení v čase mezi 18:00 a 20:00 hodinou a všemi ostatními intervaly v režimu vyrovnané délky světla a tmy (Tab. 3). V režimu konstantní tmy je situace složitější (Tab. 4), nejodlišněji se jeví perioda 7 (10:00–12:00). Ve fotoperiodě konstantního světla nebyla nalezena žádná rozdílnost mezi časovými úseky (Tab. 5).

**Tab. 3:** Výsledky testování pomocí Post Hoc Tukey HSD testu pro vyrovnanou fotoperiodu. V záhlaví jsou uvedeny dvouhodinové intervaly měření v průběhu dne (1 = 22:00–0:00).

Čas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,001	0,981
2	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,999	1,000	1,000	0,001	0,996
3	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	0,998	1,000	1,000	0,001	0,998
4	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,001	0,409
5	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,001	0,222
6	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	0,001	0,181
7	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	0,001	0,136
8	1,000	0,999	0,998	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	0,001	0,087
9	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	0,001	0,733
10	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		0,001	0,988
11	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
12	0,981	0,996	0,998	0,409	0,222	0,181	0,136	0,087	0,733	0,988	0,001	

**Tab. 4:** Výsledky testování pomocí Post Hoc Tukey HSD testu pro fotoperiodu konstantní tmy. V záhlaví jsou uvedeny dvouhodinové intervaly měření v průběhu dne (1 = 22:00–0:00).

Čas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		1,000	1,000	0,976	1,000	0,870	0,000	0,005	0,135	1,000	1,000	1,000
2	1,000		1,000	1,000	1,000	0,999	0,001	0,075	0,628	1,000	1,000	1,000
3	1,000	1,000		0,530	0,968	0,279	0,000	0,000	0,008	1,000	1,000	1,000
4	0,976	1,000	0,530		1,000	1,000	0,239	0,945	1,000	0,983	0,868	0,671
5	1,000	1,000	0,968	1,000		1,000	0,023	0,450	0,981	1,000	0,999	0,990
6	0,870	0,999	0,279	1,000	1,000		0,475	0,994	1,000	0,895	0,639	0,401
7	0,000	0,001	0,000	0,239	0,023	0,475		1,000	0,995	0,000	0,000	0,000
8	0,005	0,075	0,000	0,945	0,450	0,994	1,000		1,000	0,006	0,001	0,000
9	0,135	0,628	0,008	1,000	0,981	1,000	0,995	1,000		0,156	0,047	0,016
10	1,000	1,000	1,000	0,983	1,000	0,895	0,000	0,006	0,156		1,000	1,000
11	1,000	1,000	1,000	0,868	0,999	0,639	0,000	0,001	0,047	1,000		1,000
12	1,000	1,000	1,000	0,671	0,990	0,401	0,000	0,000	0,016	1,000	1,000	



**Tab. 5:** Výsledky testování pomocí Post Hoc Tukey HSD testu pro fotoperiodu konstantního světla. V záhlaví jsou uvedeny dvouhodinové intervaly měření v průběhu dne (1 = 22:00–0:00).

Čas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
2	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
3	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
4	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
5	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
6	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
7	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
8	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000
9	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000
10	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000
11	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000
12	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	

## 5. DISKUSE

Různé aspekty vlivu fotoperiody na biologické rytmy jsou zkoumány napříč živočišnou i rostlinnou říší. Zaměříme-li se na reprodukci u skupiny bezobratlých, zjistíme, že ve vztahu k fotoperiodě jsou poměrně probádanou třídou plži (Gomot, 1990; Hunter & Stone, 1986; Wijnsman, 1989). Zde byl nejčastěji sledován vztah mezi délkou světelné fáze dne a teplotou. Například u mořského plže *Aplysia californica*, jehož rozmnožování je sezónní, bylo prokázáno, že produkce vajíček dosahuje nejvyšších hodnot v krátkodenní fotoperiodě (8:16) (Wayne & Block, 1992). U sladkovodního korýše *Procambarus clarkii*, který patří do třídy rakovci, došlo ke zvýšení kladení prostřednictvím prodloužení světelné fáze dne. Důležitou roli zde ale hraje i teplota která řídí nástup ovariálního rozvoje a samotné reprodukce (Daniels et al., 1994).

V souvislosti s rozmnožováním hmyzu se většina odborných studií zaměřuje na výskyt a průběh diapauzy. Zde je fotoperioda jakožto spolehlivý ukazatel sezónních změn označována jako nejdůležitější faktor pro její zahájení (Danks, 2007; Fantinou, 2004; Tauber & Tauber, 1970). Vliv na délku inkubace a líhnivost vajíček se podařilo prokázat u strašilek *Peruphasma schultei* a *Ramulus artemis*. Výsledky této práce jasně ukazují výrazné prodloužení inkubace ve fotoperiodě konstantní tmy. Nejvyššího procenta líhnivosti dosáhly oba sledované druhy ve vyrovnané fotoperiodě (12:12). Nymfy *Peruphasma schultei* vykazovaly vyšší procento líhnutí v tmavé denní fázi (Tochorová, 2010). Délka fotoperiody má rovněž prokazatelný účinek na vývoj nymfy v dospělosti a periodicitu svlékání v závislosti na denní fázi (Truman, 1972).

Cílem této diplomové práce bylo prokázat účinek fotoperiody na produkci vajíček strašilky *Peruphasma schultei* při konstantní teplotě. Výsledná data dokazují významný vliv fotoperiody, času a jejich interakce na počet nakladených vajíček. V režimu s vyrovnanou délkou světla a tmy docházelo pravidelně ke skokovému nárůstu produkce vajíček dvě hodiny po nástupu temnostní fáze dne. Ve fotoperiodě konstantního světla dosahovaly hodnoty kladení trvale nízkých hodnot na rozdíl od fotoperiody konstantní tmy, kde byl průměrný počet nakladených vajíček nejvyšší. Tyto výsledky mají pravděpodobně souvislost s převážně noční aktivitou zkoumaného druhu.

Vliv fotoperiody na snášku vajíček byl prokázán i u brouka *Anthonomus grandis grandis*. Tento druh s denní aktivitou byl vystaven pěti fotoperiodám: 10:14, 12:12, 14:10, 24:0 a 00:24 (L:D). Z výsledků vyplývá, že nejvyšší hodnoty kladení byly zaznamenány u vyrovnané fotoperiody (12:12), k poklesu došlo v režimu konstantního světla (24:0) a nejnižší produkce vajíček byla ve fotoperiodě konstantní tmy (0:24) (Greenberg et al., 2008). O dva roky dříve byl u tohoto druhu sledován ve čtyřhodinových intervalech čas snášky. Začátek fotofáze byl stanoven na 7:00, přičemž nejvíce vajíček bylo nakladeno v prvním časovém bloku 7:00–11:00 a u následujících měření se hodnoty postupně snižovaly (Greenberg et al., 2006). Sledovaný druh tedy produkoval největší množství vajíček na začátku své denní aktivity stejně jako strašilka *Peruphasma schultei*.

Výzkum kladení v závislosti na fotoperiodě byl prováděn i u invazivního škůdce lesáka skladištního (*Oryzaephilus surinamensis*). Ve stálé teplotě bylo chováno sedm kmenů tohoto druhu ve fotoperiodách 24:0, 12:12 a 0:24 (L:D), jejichž produkce vajíček se sice navzájem lišila, ale vždy převládalo kladení ve skotofázi. Průměrný počet nakladených vajíček byl vždy nejvyšší ve fotoperiodě konstantní tmy, ve zbylých režimech se hodnoty lišily s ohledem na kmenovou příslušnost (Fleming, 2008). Podobných výsledků bylo dosaženo ve studii zabývající se snáškou vajíček octomilky obecné (*Drosophila melanogaster*). Pokusní jedinci byli chováni ve fotoperiodách konstantního světla a konstantní tmy. V obou periodách byla zachována denní rytmicita, ale nejvyšších průměrných hodnot kladení bylo dosaženo ve fotoperiodě konstantní tmy (Kannan et al., 2012).

U drobného motýla *Stenoma catenifer*, který je charakteristický svou soumráchnou a noční aktivitou, byl sledován čas kladení v závislosti na fotoperiodě. Kontroly probíhaly ve dvouhodinových intervalech od začátku skotofáze (18:00) do jejího konce (6:00). Křivka kladení postupně rostla a po dosažení svého vrcholu (24:00–2:00) začala strmě klesat (Nava et al., 2005). To je v přímém rozporu s výsledky této práce, kde u fotoperiody s vyrovnanou délkou světla a tmy docházelo pravidelně ke skokovému nárůstu počtu nakladených vajíček dvě hodiny po setmění. Zjištěné údaje tedy ukazují, že reakce na světelné podmínky může být značně druhově specifická. Tuto teorii podporuje i výzkum prováděný u motýla *Cryptophlebia illepidata* z čeledi obalečovitých. Zde došlo

k nejvyšší intenzitě kladení především v posledních dvou hodinách před začátkem skotofáze (Shearer, 1995).

Nebylo by jistě bez zajímavosti zaměřit se v dalším zkoumání na průběh a rychlost reakce při změně světelných podmínek. Zde můžeme formulovat domněnku, že původní denní rytmicita hmyzu po určitý čas přetrvává a k jejím změnám bude docházet až postupně. Dosavadní pozorování ale naznačuje, že odezva na přechod k režimu konstantního světla bude téměř okamžitá a odpovědí na změnu budou nulové hodnoty kladení. Reakce na zavedení režimu konstantní tmy se zřejmě dostaví později, ale stále se bude pohybovat v řádech několika hodin.

## 6. ZÁVĚR

Chovné páry strašilky *Peruphasma schultei* byly v pokusu vystaveny třem světelným režimům při konstantní teplotě 25 °C. Výsledky statistické analýzy odhalily významný vliv fotoperiody, času a jejich interakce na množství vajíček a průběh kladení. Post Hoc Tukey HSD test prokázal odlišnosti mezi některými časovými úseky měření v rámci jednotlivých fotoperiod. Ve fotoperiodě s vyrovnanou délkou světla a tmy (12:12) pravidelně docházelo ke skokovému nárůstu nakladených vajíček dvě hodiny po nástupu skotofáze. To dokládá převážně noční aktivitu vybraného druhu. Jakmile došlo u pokusných jedinců k přechodu do fotoperiody konstantního světla (24:0), ihned nastalo markantní snížení produkce vajíček až na úplné minimum. Oproti tomu vedl nástup režimu konstantní tmy (0:24) ke zvýšení průměrného denního počtu nakladených vajíček, které bylo rozprostřeno poměrně rovnoměrně a bez výrazných výkyvů.

## 7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Beck S. D.**, 1975: Photoperiodic Determination of Insect Development and Diapause. *Journal of Comparative Physiology*. **103**: 227–245.
- Brower L. P.**, 1961: Studies on the Migration of the Monarch Butterfly I. Breeding Populations of *Danaus Plexippus* and *D. Gilippus Berenice* in South Central Florida. *Ecological Society of America*. **42**: 76–83.
- Bruce-White Ch., Shardlow M.**, 2011: *A Review of the Impact of Artificial Light on Invertebrates*. London: Buglife, pp 32.
- Buchar J.**, 1992: *Stručný přehled zoologie bezobratlých*. Praha: Katedra zoologie přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy, pp 114.
- Conle O. V., Hennemann F. H.**, 2005: Studies on neotropical Phasmatodea I: A remarkable new species of *Peruphasma* Conle & Hennemann, 2002 from Northern Peru (Phasmatodea: Pseudophasmatidae: Pseudophasmatinae). *Zootaxa*. **1068**: 59–68.
- Daniels W. D., D'Abramo L. R., Graves K. F.**, 1994: Ovarian Development of Female Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*) as Influenced by Temperature and Photoperiod. *Journal of Crustacean Biology*. **14**: 530–537.
- Danks H. V.**, 2007: The elements of seasonal adaptations in insects. *Canadian Entomologist*. **139**: 1–44.
- Dolezel D., Zdechovanova L., Sauman I., Hodkova M.**, 2008: Endocrine-dependent expression of circadian clock genes in insects. *Cellular and Molecular Life Sciences*. **65**: 964–969.
- Dossey A. T.**, 2006: *Chemical biodiversity and signaling: Detailed analysis of FMRFamide-like neuropeptides and other natural products by NMR and bioinformatics*. Disertační práce. University of Florida, pp 213.
- Fantinou A. A., Perdikis D. CH., Zota K. F.**, 2004: Reproductive responses to photoperiod and temperature by diapausing and nondiapausing populations of *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera – Noctuidae). *Physiological Entomology*. **29**: 169–175.

- Fleming D. A.**, 2008: The influence of photoperiod upon the productivity of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae). *Journal of Stored Products Research*. **44**: 213–218.
- Froy O., Gotter A. L., Casselman A. L., Reppert S. M.**, 2003: Illuminating the circadian clock in monarch butterfly migration. *Science*. **300 (5623)**: 1216–1217.
- Giebultowicz J. M.**, 1998: Insect circadian clocks: is it all in their heads? *Journal of Insect Physiology*. **45**: 791–800.
- Gomot A.**, 1990: Photoperiod and temperature interaction in the determination of reproduction of the edible snail, *Helix pomatia*. *Journals of Reproduction & Fertility Ltd*. **90**: 581–585.
- Greenberg S. M., Armstrong J. S., Sétamou M., Sappington T. W., Coleman R. J., Liu T.-X.**, 2006: Circadian rhythms of feeding, oviposition, and emergence of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Insect Science*. **13**: 461–467.
- Greenberg S. M., Sappington T. W., Adamczyk J. J., Liu T.-X., Setamou M.**, 2008: Effects of Photoperiod on Boll Weevil (Coleoptera: Curculionidae) Development, Survival, and Reproduction. *Environmental Entomology*. **37(6)**: 1396–1402.
- Holecová M.**, 2012: *Vybrané kapitoly z etológie hmyzu*. Bratislava: AQ-BIOS, pp 117.
- Hunter R. D., Stone L. M.**, 1986: The effect of artificial photoperiod on growth and reproduction in the land snail *Cepaea nemoralis*. *International journal of invertebrate reproduction and development*. **9**: 339–344.
- Hůrka K., Čepická A.**, 1978: *Rozmnožování a vývoj hmyzu*. Praha: SPN, pp 224.
- Kannan N. N., Reveendran R., Dass S. H., Manjunatha T., Sharma V. K.**, 2012: Temperature can entrain egg laying rhythm of *Drosophila* but may not be a stronger zeitgeber than light. *Journal of Insect Physiology*. **58**: 245–255.

- Kodrík D.**, 2000: *Fyziologie hmyzu: učební texty*. České Budějovice: Entomologický ústav Akademie věd České republiky a Biologická fakulta Jihočeské univerzity, pp 217.
- Košťál V.**, 2011: Insect photoperiodic calendar and circadian clock: Independence, cooperation, or unity? *Journal of Insect Physiology*. **57**: 538–556.
- Kovařík F., Pecina P.**, 2000: Strašilky. In *Hmyz: chov morfologie*. Jihlava: Madagaskar, pp 296.
- Lin Ch., Todo T.**, 2005: The cryptochromes. *Genome Biology*. **6**: 220.
- Meyer-Rochow V. B., Keskinen E.**, 2003: Post-embryonic photoreceptor development and dark/light adaptation in the stick insect *Carausius morosus* (Phasmida, Phasmatidae). *Applied Entomology and Zoology*. **38 (3)**: 281–291.
- Nava D. E., Parra J. R. P., Diez-Rodríguez G. I., Bento J. M. S.**, 2005: Oviposition Behavior of *Stenoma catenifer* (Lepidoptera: Elachistidae): Chemical and Physical Stimuli and Diel Pattern of Egg Laying. *Annals of the Entomological Society of America*. **98 (3)**: 409–414.
- Obenberger J.**, 1955: *Entomologie II: systematická část 1., kapitola VII. Řád Phasmatodea – strašilky*. Praha: ČSAV, pp 725.
- Ponce C. F., Ghersi F.**, 2003: *Cordillera del Condor (Peru-Ecuador)*. Paper prepared for the workshop on Transboundary Protected Areas in the Governance Stream of the 5<sup>th</sup> World Parks Congress, Durban, pp 7.
- Rajchard J.**, 1999: *Základy ekologické fyziologie obratlovců*. České Budějovice: Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity, pp 162.
- Rajchard J., Balounová Z., Vysloužil D.**, 2002: *Ekologie I*. České Budějovice: Kopp, pp 121.
- Roberts M.**, 1994: *Parapachymorpha spinosa* Notes. *Phasmid Study Group Newsletter*. **58**: 11.
- Saunders D. S.**, 2009: Circadian rhythms and the evolution of photoperiodic timing in insect. *Physiological Entomology*. **34**: 301–308.



- Sellick J.**, 1992: The Phasmid Egg. *Phasmid Studies*. **1**: 8–9.
- Sellick J.**, 1994: A redefinition of the orientation terminology of phasmid eggs. *Phasmid Studies*. **3**: 1–2.
- Sellick J.**, 1994: Phasmida (stick insect) egg from the Eocene of Oregon. *Palaeontology*. **37 (4)**: 913–921.
- Sellick J.**, 2009: The range of egg capsule morphology within the phasmatodea and its relevance to the taxonomy of the order. *Italian Journal of Zoology*. **64**: 97–104.
- Shearer P. W., Jones V. P., Riedl H.**, 1995: Diel periodicity and circadian control of oviposition by *Cryptophlebia illepada* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental entomology*. **24 (5)**: 1229–1233.
- Schiesari L., Kyriacou Ch. P., Costa R.**, 2011: The hormonal and circadian basis for insect photoperiodic timing. *FEBS Letters*. **585**: 1450–1460.
- Schowalter T. D.**, 2011: *Insect ecology, An Ecosystem Approach*. London: Elsevier, pp 633.
- Speight M., Hunter M., Watt A.**, 2008: *Ecology of Insects: concepts and applications*. Singapore: Wiley-Blackwell, pp 628.
- StatSoft Inc.**, 2009: STATISTICA (data analysis software system), version 9.0. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Tauber M. J., Tauber C. A.**, 1970: Photoperiodic Induction and Termination of Diapause in an Insect: Response to Changing Day Lengths. *Science*. **167**: 170.
- Tochorová P.**, 2010: *Vliv fotoperiody na vývoj vybraných druhů strašilek*. České Budějovice. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zemědělská fakulta. Katedra biologických disciplín.
- Truman J. W.**, 1972: Physiology of insect rhythms, I. Circadian organization of the endocrine events underlying the moulting cycle of larval tobacco hornworms. *The Journal of Experimental Biology*. **57**: 805–820.

- Van de Kamp T.**, 2011: The “pink wing” morph of *Peruphasma schultei* Conle & Hennemann, 2005 (Phasmatodea: Pseudophasmatidae). *Entomologische Zeitschrift*. **121**: 55–58.
- Veselovský Z.**, 2005: *Etologie: biologie chování zvířat*. Praha: Academia, pp 408.
- Wayne N. L., Block G. D.**, 1992: Effects of Photoperiod and Temperature on Egg-Laying Behavior in a Marine Mollusk, *Aplysia californica*. *The Biological Bulletin*. **182**: 8–14.
- Wijsman T. C. M.**, 1989: Glycogen and galactogen in the albumen gland of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis*: Effects of egg laying, photoperiod and starvation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. **92**: 53–59.
- Wolda H.**, 1988: Insect seasonality: why? *Annual Review of Ecology and Systematics*. **19**: 1–18.
- Yang Y. Y., Liu Y., Teng H. J., Sauman I., Sehnaal F., Lee H. J.**, 2010: Circadian control of permethrin-resistance in the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology*. **56**: 1219–1223.
- Zahradník J., Severa F.**, 2004: *HMYZ*. Praha: Aventinum, pp 326.
- Zompro O.**, 2005: A key to the genera of the Phasmatodea: Areolate (Insecta). *Phasmid Studies*. **12**: 11–24.