

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vliv sexuální aktivity na délku života u hmyzího modelu

Autor: Hana Blažková
Vedoucí práce: Doc. RNDr. Magdalena Hodková, CSc.

České Budějovice 2008

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Blažková, H., 2008: Vliv sexuální aktivity na délku života u hmyzího modelu. [Effect of sexual activity on longevity in an insect model. Bc. Thesis, in Czech.] – 33 p., Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

ANOTACE

Current models state that costs of reproduction include the costs of mating and egg production. In the linden bug *Pyrrhocoris apterus*, the cost of mating was manifested as reduced longevity in both males and females. Mating also affected oviposition pattern, with increased rate of egg production in early ages followed by reduced rate of egg production in later ages. However, different longevity of mated and virgin females cannot be explained in terms of differences in lifetime egg production that was lower in mated females. The independence of longevity on the egg production itself is supported by finding that extirpation of the ovary has no effect on female longevity. Thus, mating seems to affect longevity through pathways outside the ovary.

Tato práce je součástí projektu č. 206/05/2222 financovaného Grantovou agenturou České republiky.

PROHLÁŠENÍ

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, elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 7.1.2008

.....
Blažková Hana

Poděkování:

V první řadě bych chtěla upřímně poděkovat své školitelce Doc. RNDr. M. Hodkové, Csc. za cenné rady, laskavost, ochotu, velkou pomoc a podporu při zpracování této práce. Dále děkuji Hance Vaněčkové, Bc. a Ph.D. paní Mikešové za pomoc s kontrolou ploštic, RNDr. I. Hodkovi za cenné poznatky a rady. Můj dík patří i rodině, příteli a přátelům za pevné nervy a víru ve mně.

OBSAH

<u>1. ÚVOD</u>	5
<u>1.2 Evoluce stárnutí</u>	5
<u>1.2.1 Mutace akumulující teorie</u>	5
<u>1.2.2 Pleiotropní teorie</u>	6
<u>1.2.3 Disposable soma teorie</u>	6
<u>1.2.4 Alternativní hypotéza k disposable soma teorii</u>	7
<u>1.3 Modelové organismy</u>	8
<u>1.4 Reprodukce & délka života & plodnost</u>	8
<u>1.4.1 Drosophila melanogaster</u>	9
<u>1.4.2 Sociální hmyz</u>	10
<u>2. CÍLE PRÁCE</u>	11
<u>2.1 Vliv páření na délku života</u>	11
<u>2.2 Vliv páření na plodnost</u>	11
<u>2.3 Vztah mezi plodností a délkou života</u>	11
<u>3. MATERIÁL A METODIKA</u>	12
<u>3.1 Pokusná zvířata</u>	12
<u>3.2 Metodika</u>	12
<u>3.2.1 Vliv sexuální aktivity a plodnosti na délku života</u>	12
<u>3.3 Grafické a statistické zpracování dat</u>	14
<u>4. VÝSLEDKY</u>	15
<u>4.1 Vliv páření na délku života samic</u>	15
<u>4.2 Vliv páření na délku života samců</u>	16
<u>4.3 Vliv páření na průměrnou délku života, dobu ovipozice a post-ovipozice</u>	17
<u>4.4 Vliv páření na délku života, dobu ovipozice a post-ovipozice u jednotlivých samic</u>	18
<u>4.5 Vliv páření na intenzitu kladení samic</u>	20
<u>4.6 Vliv páření na celkovou plodnost</u>	21
<u>5. DISKUZE</u>	22
<u>5.1 Vliv reprodukce na délku života</u>	22
<u>5.1.1 Vliv páření na délku života samic a intenzitu kladení</u>	22
<u>5.1.2 Vliv kladení na délku života samic</u>	23
<u>5.1.3 Vliv páření na délku života samců</u>	25
<u>5.2 Ovlivnění délky života páry stejného pohlaví</u>	25
<u>6. ZÁVĚR</u>	27
<u>7. LITERATURA</u>	28
<u>Tabulky</u>	32

1. ÚVOD

1.1 Stárnutí

Stárnutí je proces, který je součástí životního cyklu všech živočichů. Délka života je pro daný druh charakteristická a má genetický základ spojený s vlivy způsobu života (Rosypal et al. 2003). Některé organismy zestárnou během několika dnů krátce po rozmnožování (např. lososi či úhoři), u organismů s neukončeným růstem (ryby či plazi) a dobrou schopností regenerace poškozených tkání dokonce příznaky stárnutí jen velmi těžko rozpoznáváme (Flegr 2005). Stárnutí se projevuje chátráním těla a snižováním efektivity a účinnosti fungování organismu, hromaděním se různých defektů v organismu a jeho klesající schopností tyto defekty opravovat a nahrazovat vadné či odumřelé buňky novými. Zhoršování jednotlivých životních funkcí vede nakonec ke smrti jedince.

O tom, proč organismy stárnou a v důsledku stárnutí umírají, existuje řada teorií (Flegr 2005).

1.2 Evoluce stárnutí

Dřívější teorie vysvětlující evoluci stárnutí byly takové, že senescence se vyvinula za účelem limitovat velikost populace (Kirkwood a Austad 2000) a uvolňovat prostor pro nové jedince daného druhu (Flegr 2005). Tím by bylo umožněno průběžné evoluční přizpůsobování populací měnícím se životním podmínkám. Zásadní tržlinou v této interpretaci bylo to, že u mnoha druhů žijících ve volné přírodě nepřispívá stárnutí významně k mortalitě (Kirkwood a Austad 2000). Zvířata v přírodě umírají (kromě semelparních) zpravidla vlivem predace, infekce, hladu, zimy, úrazu („extrinsic mortality“), tedy ne stářím. V podstatě nežijí tak dlouho, aby zestárla.

Vzácnost starých zvířat ve volné přírodě dává ve skutečnosti klíč k základním myšlenkám, jež jsou stavební jednotkou všech současných evolučních teorií stárnutí (Kirkwood a Austad 2000).

1.2.1 Mutace akumulující teorie

Prvního, koho napadla tato hypotéza byl Medawar (1952). Jeho teorie považuje za příčinu stárnutí relativně nižší účinnost selekce při odstraňování mutací snižujících viabilitu starších jedinců (Flegr 2005). Důvodem je to, že téměř všichni jedinci v populaci projdou raným stádiem životního cyklu, zatímco pozdějšími stádii jen ti jedinci, jež se toho dožijí a

nepodlehnu dříve např. predaci. V důsledku snížené účinnosti selekčního tlaku v pozdních stádiích životního cyklu se v populaci mohou genetickým posunem hromadit mutace, které se projevují negativně v těchto pozdních stádiích, a naopak se relativně snižuje šance na fixaci mutací, které by se projevovaly v těchto pozdních stádiích pozitivně (Gavrilova et al. 1998).

1.2.2 Pleiotropní teorie

O několik let později Williams (1957) prosazoval mnohem aktivnější mechanismus, jak se mutace způsobující stárnutí hromadí. Jeho teorie je známá jako antagonistická pleiotropní teorie. Jestliže se určitá mutace projevuje z hlediska viability pozitivně v raném stadiu životního cyklu, bude se v populaci fixovat, neboť je účinnost selekce větší v raných stádiích životního cyklu jedince (Flegr 2005). Z této teorie vyplývá (Pedersen 1995), že zhoršování životaschopnosti v průběhu stárnutí způsobují svými projevy nahromaděné mutace s antagonistickými účinky, přesněji řečeno ty z nich, které přinášejí selekční výhodu pro mladé jedince a zároveň nevýhodu pro jedince staršího (Flegr 2005). V tomto případě se stárnutí vyvinulo z důvodu *trade-off* mezi prospěšností na začátku života organismu a cenou za tento užitek v jeho pozdějších letech.

1.2.3 Disposable soma teorie

V roce 1977 Thomas Kirkwood navrhl *disposable soma* teorii. V souladu s touto hypotézou je negativní vztah mezi délkou života a reprodukcí následkem omezené dostupnosti zdrojů: např. produkce gamet (vedoucí ke zvýšení plodnosti) využívá zdroje jinak nutné pro údržbu somatických tkání (jinak by tyto zdroje prodlužovaly život organismu). *Disposable soma* teorie tedy predikuje, že organismy musí optimalizovat rozdělení zdrojů mezi opravu a údržbu těla a další funkce (růst, reprodukce) za účelem maximalizace své fitness (která se odráží v produkci potomstva). Nezbytnost *trade-off* plyne z toho, že zdroje využití v jedné funkci nemohou být k dispozici pro funkci druhou. V nebezpečných podmínkách (např. kde se vyskytuje predace) je délka života limitována vysokou vnější mortalitou a zdroje jsou využívány do reprodukce na úkor oprav škod v organismu. Naopak v méně riskantních podmínkách jsou zdroje použity na somatickou údržbu, a tak se zpomalí rychlost stárnutí. Předpokládá se, že se alokační strategie vyvinula za účelem toho, aby organismus přežil nepříznivé podmínky (např. nedostatek potravy nebo zimu).

Ačkoli je hranice mezi pleiotropní a *disposable soma* teorií značně neostrá, druhá hypotéza se spíše soustředí na popsání mechanismů způsobujících stárnutí – zvláště na roli

somatické údržby a opravy, kdežto pleiotropní teorie vysvětluje stárnutí z hlediska působení genů (Kirkwood a Austad 2000).

Tyto tři teorie poskytují komplementární vysvětlení, proč se stárnutí vyskytuje. Rozhodujícím činitelem v délce života organismu se zdá být hladina vnější mortality. Pokud je vysoká, délka života jedince bude nízká, v krátké době ochabne síla selekce, škodlivé geny se budou akumulovat v brzkém věku, a tím pádem selekce pro vyšší hladinu tělesné údržby a opravy bude nízká. Organismus je tedy předpovězen ke krátkému životu, i když je studován v bezpečných podmínkách (Kirkwood a Austad 2000). Naopak při nízké hladině vnější mortality odloží selekce účinky škodlivých genů, zpomalí se rychlost stárnutí a prodlouží se reprodukční období.

1.2.4 Alternativní hypotéza k *disposable soma* teorii

Pokroky v molekulární biologii odkrývají mechanismy, které jsou v rozporu s dosavadním pohledem na *trade-off*, které je způsobeno nerovnoměrným rozdělením zdrojů. Tato poměrně nová alternativní hypotéza vychází především ze studií na hád'átku *Caenorhabditis elegans*. Nepovažuje za příčinu prodloužení délky života sterilitu, avšak negativní asociaci mezi reprodukcí a délkou života připisuje přítomnosti či absenci molekulárního signálu, který nějakým způsobem ovlivňuje tyto 2 jevy.

K vytvoření této hypotézy přispělo zkoumání zárodečných a somatických buněk v gonádách *Caenorhabditis elegans*. Vyoperováním zárodečných buněk se život hád'átka značně prodloužil. Avšak odstraněním celých gonád (které obsahují jak zárodečné, tak somatické buňky) nedošlo ke změnám v délce života, i když byly zárodečné buňky odstraněny a tím pádem zabráněno reprodukci. Zárodečné buňky nejspíše produkují signál, který zkracuje délku života, a somatické buňky v gonádách opačný signál se stejnou silou, který život hád'átka prodlužuje (Hsin a Kenyon 1999). Podle tohoto zjištění odstranění zárodečných buněk prodlouží délku života přes signální událost spíše než redukcí reprodukčních nákladů (Barnes a Partridge 2003). Avšak u *D. melanogaster* nedošlo odstraněním zárodečných buněk k prodloužení její délky života. Zřejmě je vztah mezi reprodukcí a délkou života kontrolován u octomilky jinou signální dráhou než u hád'átka (Barnes et al. 2006).

1.3 Modelové organismy

Rozsáhlé studie zabývající se mechanismy stárnutí jsou převážně omezené na dvoukřídlé (*Diptera*), z nichž je nejvíce využívána *Drosophila melanogaster*. V posledních letech je také zvýšená pozornost soustředěna na sociální blanokřídlé (*Hymenoptera*) s neobvykle dlouho žijící královnou, kam spadají např. včely, vosy a mravenci. Zjistilo se, že jejich odlišné kasty velmi závisí na epigenetických faktorech jako na výživě či hormonálních podnětech. Z toho plyne, že členové se stejným nebo podobným genotypem vykazují odlišnou délku života.

Hmyz nabízí další výhody, pokud je vybrán jako modelový organismus. Může být vypěstován ve velkém množství za velmi krátkou dobu. Většina z nich patří mezi krátce žijící organismy. Sdílejí mnoho základních metabolických podobností s dalšími bezobratlými jakož i s obratlovci (Collatz 2003).

Samozřejmě nejen hmyz slouží ke studiu stárnutí. K druhému nejvýznamnějšímu modelovému organismu patří háďátko *Caenorhabditis elegans*, které zřejmě vyvrací *disposable soma* teorii. V neposlední řadě se zkoumání délky života týká i obratlovců, a to převážně hlodavců.

V této vědecké práci byla za modelový organismus vybrána ruměnice pospolná (*Pyrrhocoris apterus*). Jedná se o polyandrií a polygamní krátkokřídlý hmyz (Schöfl a Taborsky 2002), pro který je charakteristický život v početných populacích. Bývají často k vidění na patě starých stromů – hlavně lip, ale i jiných. Živí se šťávou z lipových semen a jinými rostlinnými šťávami.

1.4 Reprodukce - délka života - plodnost

Zvýšená reprodukce je často spojená s redukcí délky života u rozličných organismů (Barnes et al. 2006). Vysvětlení této „ceny za reprodukci“ bývá nezřídka přes nedostatek zdrojů, které se buď odkloní od somatické údržby či reprodukce (Kirkwood 1977, Law 1979). Jelikož zdroje tím, že jsou omezené, nemohou být maximálně využity do všech funkcí, povede tento stav u jedinců k negativnímu vztahu mezi reprodukcí a údržbou těla. Příkladem tohoto *trade-off* by mohlo být vzájemné ovlivňování délky života a plodnosti. Např. mezi ptáky a savci je dlouhý život spojen s nízkou plodností (Holmes et al. 2001). U experimentálních zásahů, které pozměnily délku života organismu (jako např. single-gene mutace či střídme stravování) tato manipulace ovlivnila i plodnost jedince (Partridge et al.

2005). Avšak existuje mnoho výjimek, které naznačují, že *trade-off* možná není obligátní. Vyskytují se mutace, u kterých je délka života prodloužena bez viditelného ovlivnění plodnosti. Podobně redukce plodnosti nemusí nutně vést k prodloužení života (Barnes et al. 2006).

1.4.1 *Drosophila melanogaster*

Cena za reprodukci se projevuje v době, kdy reprodukční aktivita nepříznivě ovlivní budoucí přežití a plodnost (Williams 1966). U samičky octomilky se za reprodukční procesy, které zkracují její délku života považuje jak vyšší intenzita kladení vajíček, tak i samotné páření se samci, kteří ovlivňují rychlost kopulace v takové frekvenci, která má za následek pokles reprodukčního úspěchu samičky (Fowler a Partridge 1989). Frekvence páření u samců, která maximalizuje jejich fitness je vyšší než frekvence, kterou vyžadují samice, aby maximalizovaly svůj reprodukční úspěch. Samice vystavované vyšší frekvenci páření trpěly zřejmě sníženou fitness (snížená délka života a reprodukční úspěch) následkem proteinů ze samčích buněk přídatných žláz. Odstraněním těchto žláz dojde k prodloužení života samic téměř na úroveň panenských. Tyto produkty mají vliv na vyšší intenzitu kladení a kromě toho ničí i spermie předchozích partnerů. Navíc snižují ochotu samičky k páření 1-2 dny po kopulaci. Genetické zastoupení samce v další generaci bude tím vyšší, čím vyšší bude počet vajíček oplozených jeho spermii při každém spáření. Počet oplozených vajíček závisí tedy na době, než samička projeví ochotu znovu se spářit, na rychlosti kladení vajíček během této doby a na úspěchu samce zabránit oplození vajíček jejími předchozími partnery. Efekt těchto produktů je tedy v evolučním zájmu partnera (Chapman et al. 1995). Pro samičku by naopak bylo nejvýhodnější, kdyby optimalizovala dobu kladení na delší časový úsek bez ohledu na otcovství potomstva (Chapman et al. 1995), z tohoto důvodu je výsledkem odlišných zájmů samiček a samců sexuální konflikt mezi pohlavími. Není zcela jasné, zda protein sám je zodpovědný za urychlené stárnutí samiček, nebo jestli je jeho škodlivý efekt způsoben asociací s dalšími ejakulačními molekulami. Navíc se zdá, že tyto proteiny stimulují produkci vajíček uvolněním juvenilního hormonu (JH) z *corpora allata* a tím urychlí vývoj oocytů v ováriích. Zvýšená hladina JH negativně souvisí s délkou života i u jiných druhů hmyzu (Wigby a Chapman 2005). Tedy to vypadá, že spíše než kompetice (*trade-off*) o zdroje zde hrají úlohu procesy, které ovlivňují metabolismus *Drosophily* a tento zásah do jejího metabolismu se odráží ve zvýšené intenzitě kladení vajíček. Samotné kladení vajíček zřejmě není nákladné co se týče délky života, protože pokud se u samiček znemožnilo kladení tím, že se jim odstranily zárodečné buňky, jejich život se neprodloužil, tudíž je toto zjištění v rozporu

s všeobecnou domněnkou, že produkce a kladení vajíček musí přinést nějaké náklady samičce (Barnes et al. 2006).

Cena za sexuální aktivitu u samců se předpokládala být relativně malá, když samec přispívá pouze gametami do svých potomků (Partridge a Farquhar 1981). Avšak i u nich dochází vlivem kopulace k výraznému snížení délky života. K jejich energetickým nákladům pravděpodobně patří produkce spermií a látek z přídatných žláz, dodatečné náklady vytváří i svalový pohyb nutný k rozmnožování.

1.4.2 Sociální hmyz

Odlišné reprodukční zájmy samců a samic často způsobují sexuální konflikt. Samci mnoha druhů manipulují samicou přenosem látek z přídatných žláz, které zvýší samicí krátkodobou plodnost na úkor její očekávané délky života a reprodukční schopnosti (Schrempf a Heinze 2005), např. jak bylo popsáno u *D. melanogaster*.

U sociálního hmyzu zřejmě dochází k redukci sexuálního konfliktu. Ve všech takovýchto koloniích má královna mimořádně dlouhý život v rozmezí 4 – 8 let u vos a nad 30 let u termitů (Collatz 2003). Žije 500krát déle než samci a 10krát déle než dělnice (nerozmnožující se jedinci). Pro samce je navíc výhodné, pokud je délka života královen prodloužena, jelikož sexuální potomci se rodí až poté, co je vybudována sterilní dělnická síla (Schrempf a Heinze 2005). U královny mravence rodu *Cardiocondyla obscurior* má páření dokonce pozitivní vliv na délku jejího reprodukčního úspěchu. Královny, které se pářily s fertilním či sterilním samcem, měly značně delší život a začaly klást vajíčka mnohem dříve než královny panenské. Avšak jen ty královny, které dostávaly životaschopné spermie vykazovaly zvýšenou plodnost. U sociálního hmyzu se zřejmě nevyskytuje *trade-off* mezi pářením, plodností a délkou života. Tedy delší život reprodukčních jedinců je nezávislý na investicích do reprodukce, avšak může být propojený s aktem páření či s látkou přijatou během samotné kopulace (Schrempf a Heinze 2005).

V současnosti není známo, zda látka přenášená samci má přímý či nepřímý vliv (např. aktivuje produkci antioxidantů v těle samičky) na prodloužení délky života královny (Schrempf a Heinze 2005). Zřejmě zde hrají velkou roli i okolní podmínky. U studie Hartmann a Heinze (2003) rozmnožující se jedinci mravenců *Plathyrea punctata* chráněné hnízdem žili mnohem déle, než ti nereprodukční vystavovaní vnějším podmínkám.

2. CÍLE PRÁCE

Cílem této bakalářské práce bylo zhodnotit vliv sexuální aktivity na délku života u hmyzího modelu a ověřit, zda se výsledky přiklánějí k *disposable soma* teorie či k nové alternativní hypotéze. Jako modelový organismus posloužila ploštice ruměnice pospolná (*Pyrrhocoris apterus*).

2.1 Vliv páření na délku života

- zjistit, zda páření ovlivňuje délku života samců a samic *Pyrrhocoris*

2.2 Vliv páření na plodnost

- zjistit, zda má kopulace vliv na plodnost samic (zda je plodnost odlišná u kopulujících a panenských samic)

2.3 Vztah mezi plodností a délkou života

- zjistit, zda plodnost (čili kladení vajíček) zkracuje délku života pářícím se samicám

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1 Pokusná zvířata

Jako modelový organismus k této vědecké práci byla použita ploštice *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera) pocházející z chovů Entomologického ústavu AVČR v Českých Budějovicích. Laboratorní chovy byly založeny nasbíráním ploštic v přírodě v jihočeské obci Chelčice, která se nachází poblíž Českých Budějovic. Ploštice byly chovány v termostatech při teplotě 26 ± 2 °C a udržovány v proti-diapauzní fotoperiodě 18 h světla : 6 h tmy (režim dlouhého dne, Long Day, LD). Krmeny byly lipovými semeny a vodou.

V laboratorních podmínkách trvá vývoj ploštic 4-5 týdnů od vajíčka do imaginálního svlékání, při kterém procházejí 5 larválními instary. Kromě toho je pro samice ploštic charakteristické kladení vajíček bez přítomnosti samce (samozřejmě vajíčka nejsou oplozená, takže nový jedinec nevzniká).

Ploštice byly chovány v Petriho miskách jak individuálně, tak i v párech. Včetně lipových semen a vody jim byl do Petriho misek přidáván skládaný filtrační papír pro zvětšení vnitřního povrchu.

3.2 Metodika

3.2.1 Vliv sexuální aktivity a plodnosti na délku života

Ke zkoumání vlivu sexuální aktivity a plodnosti na délku života byly postupně prováděny 2 pokusy. Každý z pokusů trval přibližně 4-5 měsíců.

1. pokus

Ploštice pocházely z 28. generace (F28) od doby, co byly nasbírány v obci Chelčice. Jak jsem zmínila v předešlém odstavci, prochází ploštice několika larválními instary. Před svlečením na imago se samci a samičky přendávali do odlišných sklenic, aby nedošlo ke spáření (v 1 sklenici jen samci, v 2. jen samičky). Poté se ploštice přesunuly do Petriho misek. Celkem jsem měla 4 skupiny po 30 Petriho miskách (dohromady 120 misek; ploštic bylo v izolovaných skupinách 30, v párech 60, celkově 180). V tabulkách jsou barevně vyznačeni jedinci, kteří se zkoumali.

1. skupina	2. skupina	3. skupina	4. skupina
Izolované samičky ♀	Izolovaní samci ♂	páry (♀♂) (sledovány jen ♀)	páry (♀♂) (sledování jen ♂)

Ploštice byly kontrolovány obden a do tabulek zaznamenávána mortalita samců a samic a počet vajíček nakladených samicemi (jak u izolovaných ♀, tak i u párů, kde byla zkoumána ♀). U párů, kde jsem se zajímala jen o samce, nebyla počítána vajíčka, jen zapsáno, že nějaká byla a zda proběhla kopulace.

Pokud došlo k uhynutí některé izolované ploštice, Petriho miska se zrušila. Jestliže chcípl partner u párů, kde uhynulý člen nebyl ten zkoumaný, vyměnil se za ploštici z náhradních sklenic, jejíž život se nezkoumal (v náhradních sklenicích byly ploštice chovány hromadně). Každých 14 dní jim bylo vyměňováno pití, lipová semínka a filtrační papír.

Ploštice byly vždy po zkontrolování dány do termostatu. Skupiny byly mimoto umístěny pro přehled do 4 plastových vaniček. Poloha vaniček v termostatu byla průběžně měněna, aby život ploštic nebyl ovlivňován teplotní zónací.

2. pokus

Ploštice pocházely ze 4. a 5. generace od nasbíraných ploštic z Chelčicka. Ještě než se z ploštic stala imaga, byli samci a samice nacházející se zatím v 5. instaru odděleni a samice chovány v jiné sklenici než samci. Tentokrát jsem měla 6 skupin, jelikož jsem navíc zkoumala, zda se páry stejného pohlaví vzájemně ovlivňují a zkracují si tím život. Každá skupina obsahovala 30 Petriho misek (dohromady 180 misek; izolované skupiny – 30 ploštic, páry – 60 ploštic, celkem 300).

1. skupina	2. skupina	3. skupina	4. skupina	5. skupina	6. skupina
Izolované ♀	izolovaní ♂	páry (♀♀) kompetice	páry (♂♂) kompetice	páry (♀♂) sledována ♀	páry (♀♂) sledován ♂

Jako v předešlém případě jsem do tabulek zaznamenávala úmrtí samců a samic. U izolovaných samic a u párů, kde jsem se zajímala jen o samicu, jsem počítala i množství vajíček. Stejně tak i u párů, kde byly dvě samice. U samců jsem zaznamenávala jen mortalitu. Pokud uhynula izolovaná ploštice, Petriho miska se zrušila. U párů odlišného pohlaví, kde uhynul nezkoumaný člen, došlo k jeho výměně za ploštici novou (dospělé stadium, cca 7 dní stará) z náhradních sklenic. Pokud došlo k úhynu ploštice u páru stejného pohlaví, kde jsem

zkoumala výskyt vzájemného ovlivnění, mrtvá ploštice se odstranila a pokud v této skupině byla další ploštice jen jedna, spojila jsem je znovu do páru.

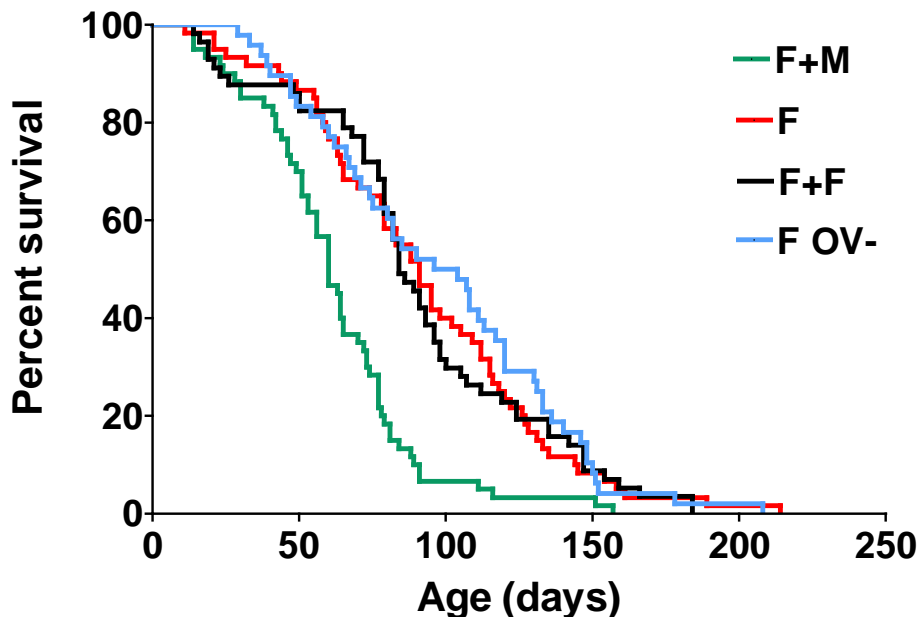
Plošticím byl každých 14 dní vyměňován filtrační papír, lipová semínka a voda jako v předešlém případě. Kontrolovány byly obden a uchovávány v termostatu.

3.3 Grafické a statistické zpracování dat

Výsledky pokusu 1 a 2 pro izolované jedince a heterosexuální páry byly spojeny. Logrank test byl použit pro hodnocení podobnosti délky života mezi dvěma skupinami. Rozdíl mezi průměrnými hodnotami byl hodnocen pomocí t-testu nebo jednocestné ANOVY a Tukey post-testu. Vliv páření na průběh kladení byl hodnocen pomocí dvoucestné ANOVY a Bonferroni post-testu. GraphPad Prism 4 software byl použit pro všechna statistická hodnocení.

4. VÝSLEDKY

4.1 Vliv páření na délku života samic

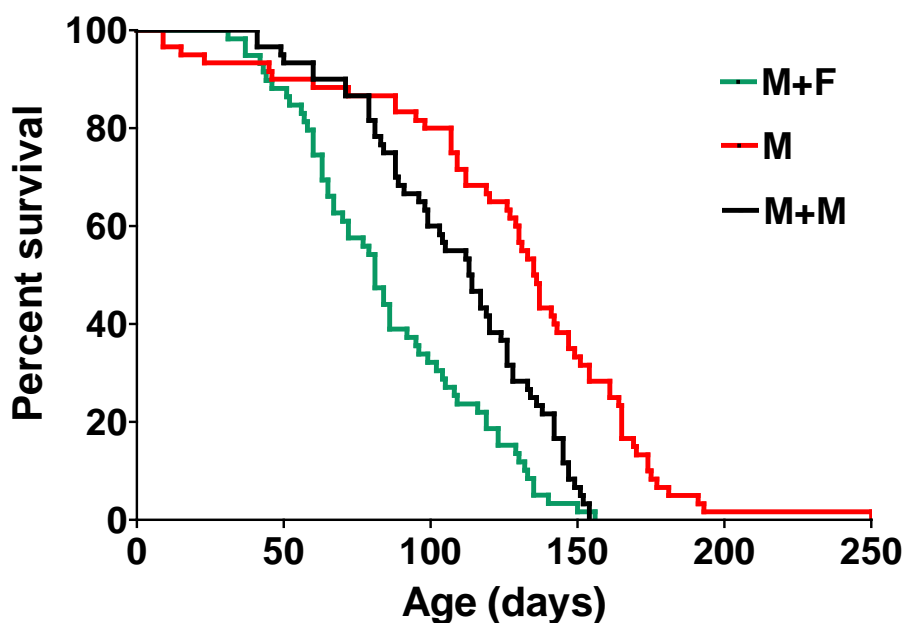


Obr. 1: Vliv páření na délku života samic

F+M=samice v páru se samcem, **F**=samice izolovaná, **F+F**=samice v páru se samicí, **F OV-** =samice bez ovarii. Počet jedinců a průměr délek života viz Tabulka 1A, statistické hodnocení rozdílu v délce života viz Tabulka 1B. Hodnoty pro samičky bez ovarii byly převzaty z práce Hodková (2008).

Z grafu je patrné, že páření má na délku života samic značně negativní vliv. Ve srovnání se samicemi v páru se samcem, je průměrná délka života signifikantně ($P < 0,0001$) delší u izolovaných samic (o 48%), u samic v páru se samicí (o 44%) a u izolovaných samic s odstraněnými ovarii (o 58%). Naproti tomu nebyl signifikantní rozdíl v délce života u ostatních skupin samic (F, F+F, F OV-). U F+F jsem tudíž nepotvrdila to, že by si samičky pobýváním spolu vzájemně zkracovaly život. U samic, kterým byla experimentálně odstraněna ovaria se předpokládalo, že se jejich délka života prodlouží, když se jim tím zabránilo zrání vajíček a kladení. Jejich délka života se však neliší od samic samotných či samic v páru se samicí, tudíž se zde nabízí myšlenka, že kladení a produkce vajíček nemá na životnost samic vliv. Tyto dva parametry (délka života-kladení) jsou zřejmě vzájemně nezávislé, alespoň u izolovaných samic.

4.2 Vliv páření na délku života samců



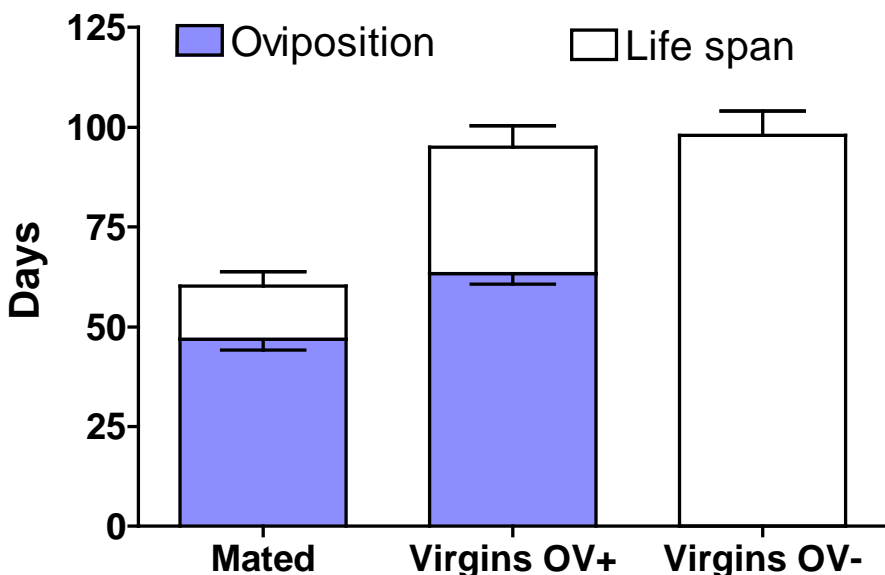
Obr. 2: Vliv páření na délku života samců

M+F=samec v páru se samicí, M=samec samotný, M+M=samec v páru se samcem.

Počet jedinců, medián a průměr délek života viz Tabulka 2 A, statistické hodnocení rozdílu v délce života viz Tabulka 2 B.

Ve srovnání se samci v páru se samicí je průměrná délka života izolovaných samců prodloužena o 50% ($P < 0,0001$) a o 27% ($P = 0,0001$) u samců v páru se samcem. Na rozdíl od samic je také signifikantní rozdíl ($P = 0,0087$) v délce života izolovaných samců a samců v páru se samcem. Bylo zpozorováno, že tyto samci se snaží spářit i s partnerem stejného pohlaví, jejich zkrácení života je pravděpodobně důsledkem vyvíjení svalové aktivity související s pářením.

4.3 Vliv páření na průměrnou délku života, dobu ovipozice a post-ovipozice

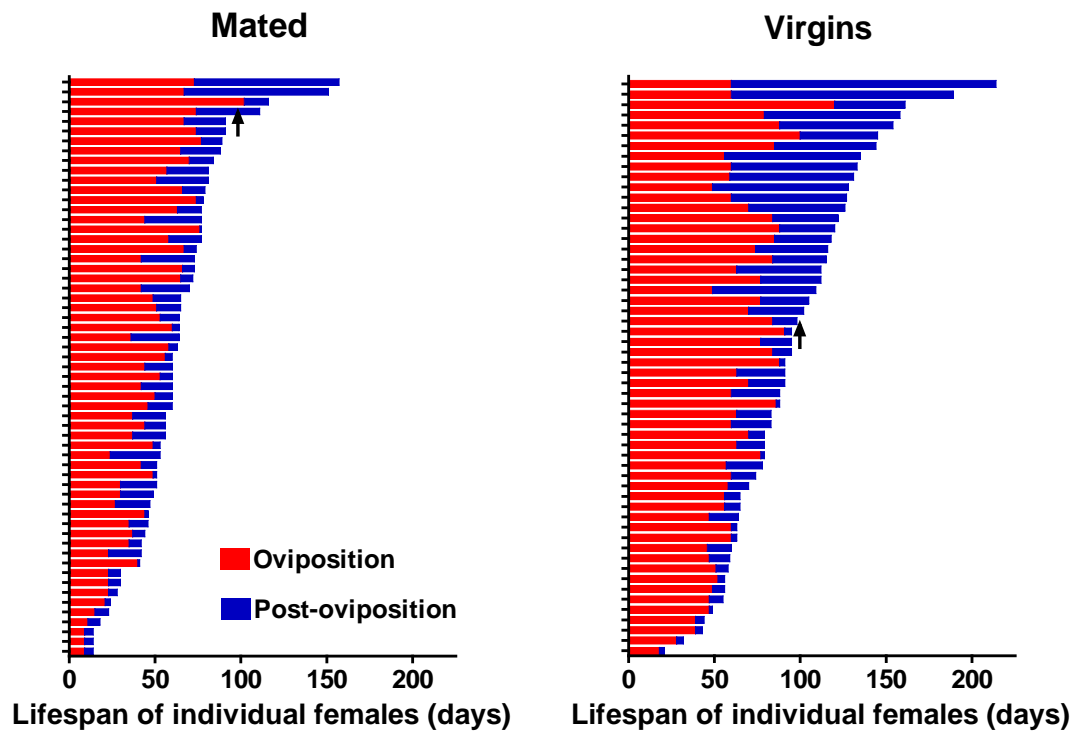


Obr. 3: Vliv páření na průměrnou délku života, dobu ovipozice a post-ovipozice
Počet jedinců, číselné hodnoty a statistické hodnocení rozdílů viz Tabulka 1A, B a 3.

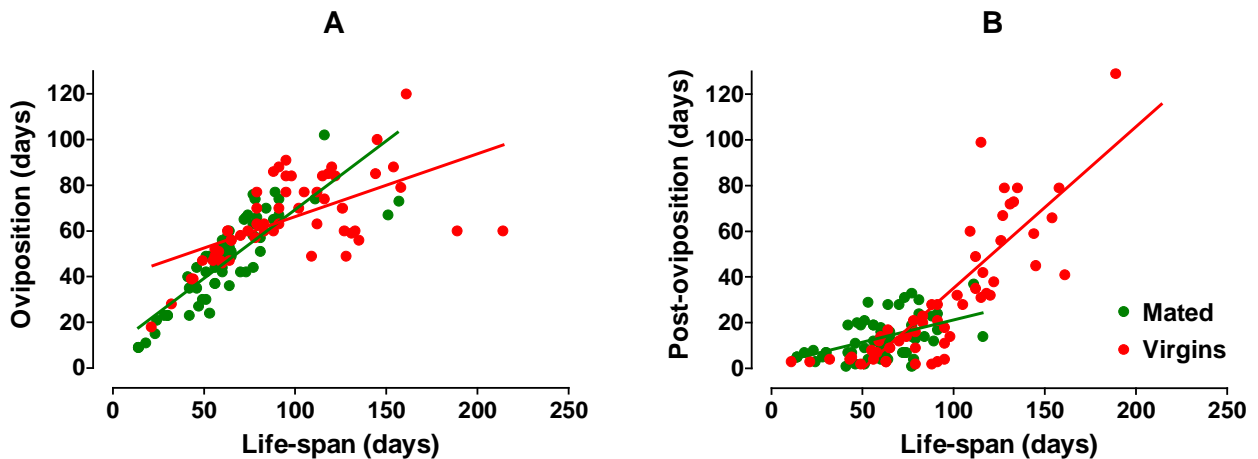
Graf znázorňuje průměrné hodnoty délek života pářících se a panenských samiček, dob kladení (ovipozice) a dob, kdy samičky již nekladly (post-ovipozice). Jak jsem již popsala na Obr. 1, rozdíly v délce života pářících se a panenských samiček byly vysoce signifikantní ($P < 0,0001$), pokud jsem porovnála samičky panenské se samičkami kastrovanými, jejich život se výrazně nelišil.

Ve srovnání s pářícími se samičkami je u panenských samiček signifikantně ($P < 0,0001$) prodloužena jak doba kladení, tak doba po ukončení kladení. Je zajímavé, že zatímco ovipoziční období je prodlouženo o 35%, post-ovipoziční období je prodlouženo relativně mnohem více, o 138%. Panenské samičky tak mají prodloužen život především díky post-ovipozičnímu období, které u nich zaujímá 34 % jejich života. Páření zkracuje především tu část života samiček, která již není důležitá pro produkci potomstva.

4.4 Vliv páření na délku života, dobu ovipozice a post-ovipozice u jednotlivých samic



Obr. 4: Vliv páření na délku života, dobu ovipozice a post-ovipozice u jednotlivých samic



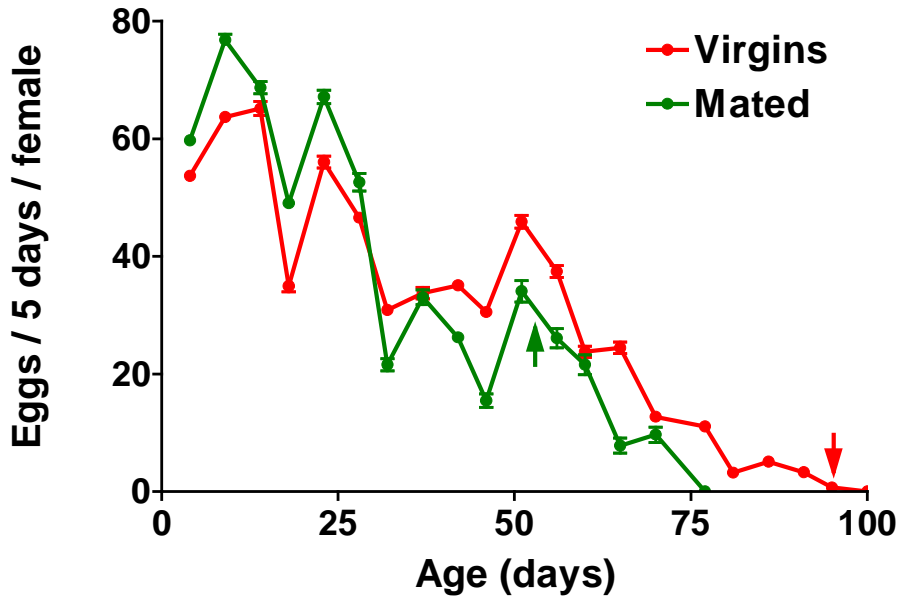
Obr. 5: Vztah mezi (A) délkou života a dobou ovipozice, (B) délkou života a dobou post-ovipozice

(A) Kopulující samice, $n=59$, $r^2=0,71$, $P<0,0001$; panenské samice, $n=58$, $r^2=0,33$, $P<0,0001$; srovnání sklonu (slope) regresních přímk: $F=14,28$, $Dfn=1$, $Dfd=113$, $P=0,00025$.

(B) Kopulující samice, $n=59$, $r^2=0,24$, $P<0,0001$; panenské samice, $n=58$, $r^2=0,74$, $P<0,0001$; srovnání sklonu regresních přímk: $F=32,80$, $DFn=1$, $DFd=111$, $P<0,0001$.

Analýza výsledků u jednotlivých samic ukázala, že u kopulujících samic se doba kladení prodlužuje s dobou života – čím delší život, tím delší OP (Obr. 4 Mated). Naproti tomu doba kladení u panenských samic se po dosažení určitého stáří (přibližně 100 dnů) již dále s věkem neprodlužuje, ale prodlužuje se doba po ukončení kladení (Obr. 4 Virgins). Tomu odpovídají rozdíly v regresních přímkách. Zatímco korelace mezi délkou života a dobou kladení je silnější u kopulujících samic ($r^2=0,71$) než u panenských samic ($r^2=0,33$) (Obr. 5 A), korelace mezi délkou života a dobou post-ovipozice je silnější u panenských samic ($r^2=0,74$) než u kopulujících samic ($r^2=0,24$) (Obr. 5 B). Doba kladení je pravděpodobně omezena maximálním reprodukčním potenciálem, který nemůže být překročen ani u dlouho žijících samic.

4.5 Vliv páření na intenzitu kladení samic



Obr. 6: Vliv páření na intenzitu kladení samic

Počáteční n je 30 samic pro obě skupiny. Šipky znázorňují věk, kdy přežívá 50% samic. Výsledky byly hodnoceny pomocí dvoucestné ANOVY a Bonferroni post-testem. Intenzita kladení je ovlivněna jak pářením ($F=17,05$, $DFn=1$, $DFd=699$; $P<0,0001$), tak věkem samic ($F=561,88$, $DFn=14$, $DFd=699$; $P<0,0001$). Počet vykladených vajíček u dvou skupin samic se lišil ($P<0,001$) ve všech časových obdobích kromě dnů 15, 35, 60 a 70. Hodnocení však není zcela přesné, protože samice v průběhu pokusu postupně hynou.

Výsledky naznačují, že páření zvyšuje intenzitu kladení na začátku života samic, což má za následek výrazný pokles kladení vajíček v jejich pozdějším věku a kratší život (*trade-off*). Izolované samičky kladou na začátku života méně oproti samičkám kopulujícím, avšak s postupujícím věkem převýší intenzitu kladení pářících se samiček, snižování intenzity je u nich pomalejší. Celková intenzita kladení (počet vajíček / den ovipozice) je o něco vyšší u kopulujících samic než u panenských samic, ale rozdíl je poměrně malý (Tabulka 3).

4.6 Vliv páření na celkovou plodnost

Celkový počet vajíček a snůšek vykladených za život je vyšší u izolovaných samic než u samic v páru se samcem nebo v páru se samicí (Tabulka 3). Izolované samice tedy žijí déle než kopulující samice (Obr. 1), přestože vykladou větší počet vajíček. Navíc samice v páru se samicí vykladly nižší počet vajíček než izolované samice (Tabulka 3), ale doba života byla u obou skupin stejná (Obr. 1). Tím se tedy potvrzuje domněnka, že kladení pravděpodobně neovlivňuje délku života samic (počet vajíček u $F > F+F=F+M$; délka života u $F=F+F > F+M$), která je navíc potvrzená zjištěním, že úplné zabránění kladení (vyjmutí ovaríí) nevede k prodloužení délky života (Obr. 1).

5. DISKUZE

5.1 Vliv reprodukce na délku života

Obecně se za reprodukční náklady, které zkracují délku života hmyzu, považuje samotné páření a produkce a kladení vajíček (Fowler a Partridge 1989; Chapman et al. 1995). Zde se snažím tyto dva parametry podrobně rozebrat a shrnout poznatky provedené na *Pyrrhocoris apterus*.

5.1.1 Vliv páření na délku života samic a intenzitu kladení

U mnoha studií slouží ke zkoumání vlivu sexuální aktivity na délku života modelový organismus *Drosophila melanogaster*. Tyto studie (např. Malick a Kidwell 1966; Partridge et al. 1986; Partridge a Fowler 1989; Chapman 1992; Chapman et al. 1993, 1995; Partridge et al. 1995; Ueyama a Fuyama 2003) zjistily, že kopulace snižuje délku života samičkám octomilky obecné a tato redukce v přežívání se často chápe jako „cena za páření“. Kromě octomilky se tento jev prokázal i u *Ceratitis capitata* (Chapman et al. 1998) či u *Callosobruchus chinensis* (Yanagi a Miyatake 2003) a u mnoha dalších druhů (Stearns 1992).

I já jsem potvrdila toto zjištění, avšak na jiném modelovém organismu – ploštici *P. apterus*, kde panenské samičky žily mnohem déle než pářící se samičky a rozdíl mezi nimi byl vysoce signifikantní. Kromě toho měl samec znatelný vliv na vyšší intenzitu kladení na začátku života samiček, která se ale s postupujícím věkem snižovala a byla převýšena samičkami bez partnera.

Vysvětlení, proč samičky, které kopulují, vykazují tak výrazné snížení délky života nabízí studie Wigby a Chapman (2005) či studie Chapman et al. (1995), které zkoumaly negativní vliv páření na *D. melanogaster*. Tyto studie považují za příčinu předčasného stárnutí samiček proteiny z přídatných žláz samců. Odstraněním těchto žláz totiž dojde ke značnému prodloužení délky života pářících se samiček (Chapman et al. 1993, 1995). Navíc samičky kopulující se samci, kteří mohli tvořit spermie, ale ne produkty z přídatných žláz, a proto stále produkovali potomstvo, žily téměř stejně dlouho jako samičky panenské (Chapman et al. 1995). Podle studie Wigby a Chapman (2005) tyto produkty ovlivňují v těle samičky takové procesy, které vedou k vyšší frekvenci páření a k vyšší intenzitě kladení vajíček na začátku života. Samčími produkty by mohla být ovlivňována *corpora allata* samic, kde způsobí uvolnění juvenilního hormonu, který stimuluje vývoj oocytů v ováriích, avšak na úkor zkrácení délky života (Wigby a Chapman 2005). Tyto látky se nejspíše vyvinuly z toho

důvodu, aby zvýhodňovaly a zvyšovaly fitness samce na úkor fitness samičky (urychlují kladení vajíček, podporují samčí úspěch v kompetici spermií), tedy jsou předmětem sexuálního konfliktu mezi pohlavími (Chapman et al. 1995).

Že páření (a tedy samčí produkty) pravděpodobně ovlivňuje kladení, bylo prokázáno i u studií Partridge et al. (1986), Burnet et al. (1973) či Baumann (1974) na *D. melanogaster*, kde pářící se samičky na začátku života kladly více vajíček než samičky panenské, které je v kladení převýšily v pozdějších stádiích života. Pokud byl u pářících se samiček odstraněn partner, jejich kladení vajíček a délka života se s krátkým zpožděním rovnala samičkám panenským ve stejném věku. Tedy vliv samce na kladení vajíček a rychlost přežívání je zřejmě reverzibilní (Partridge et al. 1986).

Avšak Chapman et al. (1998) nemohl najít na středozevní mušce *Ceratitis capitata* důkaz toho, že by páření zvyšovalo produkci vajíček pomocí látek přenášených ze samčích přídatných žláz, u těchto samiček neměla kopulace žádný vliv na intenzitu kladení, i když se jim délka života snižovala. V tomto směru je *Ceratis capitata* pravděpodobně výjimka.

Páření nemusí mít jen negativní vliv na délku života samiček, to bylo zpozorováno u studie Schrempf a Heinze (2005) na královnách mravenců *Cardiocondyla obscurior*. Zde se zřejmě nevyvinul sexuální konflikt mezi pohlavími, jelikož královny, které se pářily, žily mnohem déle a začaly klást vajíčka dříve než samičky panenské. U královen tudíž látky, které jim předávají samci během kopulace, mají pozitivní vliv na jejich délku života. Pro druh je to výhodné, protože nejprve se v těchto koloniích tvoří sterilní dělnice a až poté, sexuální potomci.

Je vidět, že u mnoha druhů hmyzu vliv páření na délku života samiček závisí na tom, zda je to prospěšné a výhodné pro opačné pohlaví. Z mých pokusů vyplývá, že u plošnice *P. apterus* pravděpodobně dochází k sexuálnímu konfliktu mezi pohlavími, který má za následek intenzivnější kladení samiček na začátku života, avšak jejich kratší život.

5.1.2 Vliv kladení na délku života samic

Páření sice zvyšovalo intenzitu kladení na začátku života samiček, ale celkový počet vajíček byl vyšší u panenských samic, přestože jejich život byl delší. Nelze však vyloučit, že náklady na produkci vajíček se liší u pářících se a panenských samic. Pro definitivní závěr o vlivu produkce vajíček na zkrácení života pářících se samic bude nutné provést další pokusy, např. pozorovat vliv páření na délku života kastrovaných a kontrolních samic.

Pokud se panenským samičkám *P. apterus* operativně odstranila ovaria, a tak se zabránilo kladení, jejich délka života se nezměnila. Tudíž se domníváme, že samotné kladení vajíček není pro samičky nákladné, co se týče délky života (pokud nebereme v potaz diapauzu), alespoň u panenských samic; kdyby nákladné bylo, muselo by se to projevit změnou v délce života.

Toto zjištění je v souladu se studií Barnes et al. (2006), kde odstranění zárodečných buněk nepřineslo samičkám *D. melanogaster* prodloužení jejich délky života, i když klást již nemohly. Podle Barnes et al. (2006) jsou to specifické signální procesy, které umožňují reprodukci (tedy i kladení vajíček), které jsou nákladné z hlediska délky života spíše než produkce vajíček jako taková.

Naproti tomu u studie Yanagi a Miyake (2003) samicím *Callosobruchus chinensis* byl život zkracován nezávisle jak pářením, tak i produkcí vajíček (pářící se samice, které nekladly vajíčka měly kratší život než samice panenské, ale delší život než samice, které se pářily a ještě kladly).

Sgró a Partridge (1999) zabránili *D. melanogaster* v kladení ozářením nebo mutací *ovo^D* a to vedlo k prodloužení její délky života, což je v rozporu s výsledky Barnes et al. (2006). Ozářením navozená sterilita u samic *Ceratitidis capitata* (Chapman et al. 1998) měla stejný účinek na jejich délku života jako u samic octomilky. Ozářením má kromě vlivu na ovaria pravděpodobně i další vedlejší účinky, které by mohly odstranit i hlavní signály řídící délku života.

Podle práce Hodková (2008) je život panenských samic *P. apterus* zkrácen signály z *pars intercerebralis* mozku (pravděpodobně vlivem insulin-podobného peptidu) a signály z *corpora allata* (juvenilním hormonem). Odstranění ovarii u samic *P. apterus* neovlivnilo život pravděpodobně proto, že dále působily signály řídící délku života. To je podporováno zjištěním, že odstranění *corpora allata* prodloužilo život kastrováním samicím (Hodková 2008). Tím by výsledky podporovaly spíše alternativní hypotézu než *disposable soma* teorii, tedy to, že *trade-off* mezi reprodukcí a délkou života sice existuje, avšak redukce v délce života je způsobena signálními procesy a ne přesunem látek ze somatické údržby do samotné produkce vajíček. Délka života panenských a pářících se samic by mohla být řízena stejnými signály, jejichž intenzita se liší.

Že tkáňové signály zprostředkované hormony hrají klíčovou roli v reprodukčních nákladech bylo prokázáno i u studií Tatar et al. (2003) či Williams (2005). Molekulární studie na rozličných organismech zahrnujících háďátka, octomilku a myš (Tatar et al. 2003; Katic a Kahn 2005; Partridge et al. 2005) odhalily to, že mutace v insulinové signální dráze vede

k prodloužení jejich délky života. Mutace v genu, který kóduje insulinový receptor (*InR*) redukovala u samic *D. melanogaster* biosyntézu juvenilního hormonu v *corpora allata* in vitro (Tatar et al. 2001; Tu et al. 2005). Aplikace analogu juvenilního hormonu na sterilní *InR* mutanty vedla k zahájení vitellogenese a k opětovné redukci délky života (Tatar et al. 2001). Předpoklad, že život zkracuje juvenilní hormon je podporován zjištěním, že odstranění *corpora allata* prodlouží život u sarančat (Pener 1972) a martináčů *Danaus plexippus* (Herman a Tatar 2001; Tatar a Yin 2001).

5.1.3 Vliv páření na délku života samců

Nejen samice *P. apterus* měly vlivem páření zkrácen život, sexuální aktivita měla negativní dopad i na opačné pohlaví. Redukce v délce života samců by se dala vysvětlit podle Partridge a Farquhar (1981), kteří zkoumali tento jev na samcích *D. melanogaster*.

Podle této studie je délka života samců octomilky zkrácena vlivem svalového pohybu při páření a produkcí spermatu a látek z přídatných žláz. Partridge a Andrews (1985) zjistili, že zvýšená mortalita samců *D. melanogaster* vlivem páření je reversibilní, a pokud došlo k ukončení sexuální aktivity, jejich délka života byla s krátkým zpožděním stejná jako u samců po celý život bez samičky. Pravděpodobně jejich zvýšená mortalita trvá do té doby, dokud se nenaplní přídatné žlázy a spermie ve varlatech (Partridge a Andrews 1985).

Kromě *D. melanogaster* byla délka života samce vlivem páření zkrácena i u *Callosobruchus maculatus* (Pauku a Kotiaho 2005).

5.2 Ovlivnění délky života u párů stejného pohlaví

Jelikož *P. apterus* žije v přírodě ve větších skupinách, zajímala jsem se i o to, zda se příslušníci stejného pohlaví vzájemně ovlivňují a zkracují si tím život. Pokud jsem zkoumala páry samic, nezaznamenala jsem žádnou změnu v délce života, která se shodovala se samicemi bez partnera. Celkový počet vajíček vykladených izolovanými samicemi však podstatně převyšoval počet vajíček u samic v páru. Mechanismus tohoto efektu zatím neznáme.

Výsledky u samců byly zcela jiné. Délka života párů samců byla zkrácena v porovnání se samotnými samci, i když toto zkrácení nebylo tak silné jako u párů samce se samicí. Bylo pozorováno, že samci se snaží spářit i s partnerem stejného pohlaví, tedy jsem dospěla k

názoru, že se jim život zkrátil svalovou aktivitou, kterou vynaložili ve snaze se spářit s druhým samečkem.

Zdá se tedy, že kromě samotného páření je délka života samce zkrácena i svalovou aktivitou, která kopulaci předchází. Jsou důkazy u *D. melanogaster* a tarantule *Hygrolycosa rubrofasciata*, že ku příkladu jen samotné námluvy mohou snižovat život samců (Cordts a Partridge 1996, Mappes et al. 1996, Kotiaho 2000).

6. ZÁVĚR

Shrnutí výsledků:

- sexuální aktivita snižuje délku života samcům a samičkám *P. apterus*
- páření ovlivňuje průběh kladení vajíček (na začátku života zvýšení intenzity kladení u pářících se samiček oproti samičkám panenským, s věkem pokles a převýšení kladení samičkami izolovanými)
- celkový počet vykladených vajíček je nižší u pářících se samic než u panenských
- odstraněním ovarií se život panenských samiček neprodloužil; produkce vajíček a kladení zřejmě nemá vliv na délku života
- u zkoumání vzájemného ovlivnění délky života páry stejného pohlaví zjištěno to, že samci si vzájemně život zkracují (snaha se s druhým samcem spářit), samice nikoliv (ale vzájemně si ovlivňují počet vykladených vajíček)

Hypotézy:

- u samců je vlivem sexuální aktivity život zkrácen svalovým pohybem a dále zatím nám neznámými faktory, které souvisejí přímo s kopulací (zřejmě produkce spermatu a látek z přídatných žláz)
- u samic partner opačného pohlaví přispívá k jejich snížení délky života a k vyšší intenzitě kladení pravděpodobně vlivem produktů přídatných žláz (produkty → stimulují *corpora allata* k vyšší produkci JH → JH urychluje zrání vajíček, ale jeho vyšší hladina v organismu snižuje délku života samic); *trade-off* zřejmě není v alokaci zdrojů do produkce vajíček, ale v molekulárních signálech
- u samic bez ovarií se život neprodloužil pravděpodobně proto, že se neodstranily hlavní signály, které ovlivňují reprodukci

Další cíle:

- samičky bez ovarií pářit se samcem (ověřit, zda produkce vajíček neovlivňuje délku života pářících se samiček)
- zkoumat vliv reprodukce na délku života samic z molekulární stránky (produkty přídatných žláz, hormonální signály, exprese specifických signálů)

7. LITERATURA

- Barnes, A. I. and Partridge, L. (2003) Costing reproduction. *Anim. Beh.* 66: 199-204.
- Barnes, A. I., Boone, J. M., Jacobson, J., Partridge, L., Chapman, T. (2006) No extension of lifespan by ablation of germ line in *Drosophila*. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 273: 939-947.
- Baumann, H. (1974) Biological effects of paragonial substances PS-1 and PS-2, in females of *Drosophila funebris*. *J. Insect Physiol.* 20: 2347-2362.
- Burnet, B., Connolly, K., Kearney, M. and Cook, R. (1973) Effects of male paragonial secretion on sexual receptivity and courtship behaviour of female *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* 19: 2421-2431.
- Collatz, K.-G. (2003) Aging and environmental conditions in insects. In: Osiewacz, H. D. (Ed.), *Aging of Organisms*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 99-123.
- Cordts, R., Partridge, L. (1996) Courtship reduces longevity of male *Drosophila melanogaster*. *Anim. Beh.* 52: 269-278.
- Flegr, J. (2005) *Evoluční Biologie*. Academia, Praha.
- Fowler, K. and Partridge, L. (1989) A cost of mating in female fruitflies. *Nature* 338: 760-761.
- Gavrilova, N. S., Gavrilova, L. A., Evdokushkina, G. N., Semyonova, V. G., Gavrilova, A. L., Evdokushkina, N. N., Kushnareva, Y. E., Kroutko, V. N. and Andreyev, A. Y. (1998) Evolution, mutations, and human longevity: European royal and noble families. *Hum. Biol.* 70: 799-804.
- Hartmann, A. and Heinze, J. (2003) Lay eggs, live longer: Division of labor and life span in a clonal ant species. *Evolution* 57: 2424-2429.
- Herman, W. S., Tatar, M. (2001) Juvenile hormone regulation of longevity in the migratory monarch butterfly. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 268: 2509-2514.
- Hodková, M. (2008) Tissue signaling pathways in the regulation of lifespan and reproduction in females of the linden bug, *Pyrrhocoris apterus*. *J. Insect Physiol.* 54. In press.

- Holmes, D. J., Fluckiger, R. and Austad, S. N. (2001) Comparative biology of aging in birds: an update. *Exp. Gerontol.* 36: 869-883.
- Hsin, H. and Kenyon, C. (1999) Signals from the reproductive system regulate the lifespan of *C. elegans*. *Nature* 399: 362-366.
- Chapman, T. (1992) A cost of mating with males that do not transfer sperm in female *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* 38: 223-227.
- Chapman, T., Hutchings, J., Partridge, L. (1993) No reduction in the cost of mating for *Drosophila melanogaster* females mating with spermless males. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 253: 211-217.
- Chapman, T., Liddle, L. F., Kalb, J. M., Wolfner, M. F., Partridge, L. (1995) Cost of mating in *Drosophila melanogaster* females is mediated by male accessory gland products. *Nature* 373: 241-244.
- Chapman, T., Miyatake, T., Smith, H. K., Partridge, L. (1998) Interactions of mating, egg production and death rates in females of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 265: 1879-1894.
- Katic, M., Kahn, C.R. (2005). The role of insulin and IGF-1 signaling in longevity. *Cell. Mol. Life Sci.* 62: 320-343.
- Kirkwood, T. B. L. (1977) Evolution of ageing. *Nature* 270: 301-304.
- Kirkwood, T. B. L. and Austad, S. N. (2000) Why do we age? *Nature* 408: 233-238.
- Kotiaho, J. S. (2000) Testing the assumptions of conditional handicap theory: costs and conditional dependence of a sexually selected trait. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 48: 188-194.
- Law, R. (1979) Optimal life histories under age-specific predation. *Am. Nat.* 113: 3-16.
- Malick, L. E. and Kidwell, J. F. (1966) The effect of mating status, sex and genotype on longevity in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 54: 203-209.
- Mappes, J., Alatalo, R. V., Kotiaho, J., Parri, S. (1996) Viability costs of condition-dependent sexual male display in a drumming wolf spider. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 263: 785-789.

- Partridge, L., Fowler, K., Trevitt, S. and Sharp, W. (1986) An examination of the effects of males on the survival and egg-production rates of female *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* 32: 925-929.
- Partridge, L. and Andrews, R. (1985) The effect of reproductive activity on the longevity of male *Drosophila melanogaster* is not caused by an acceleration of ageing. *J. Insect Physiol.* 31: 393-395.
- Partridge, L. and Farquar, M. (1981) Sexual activity reduces lifespan of male fruitflies. *Nature* 294: 580–581.
- Partridge, L., Gems, D., Withers, D. J. (2005) Sex and death: What is the connection? *Cell* 120: 461-472.
- Paukku, S., Kotiaho, J. S. (2005) Cost of reproduction in *Callosobruchus maculatus*: effect of mating on male longevity and the effect of male mating status on female longevity. *J. Insect Physiol.* 51: 1220-1226.
- Pedersen, B. (1995) An evolutionary theory of clonal senescence. *Theor. Popul. Biol.* 47: 292-320.
- Pener, M. P. (1972) The corpus allatum in adult acridids: the inter-relation of its functions and possible correlations with the life cycle. In: Hemming, C.F., Taylor, T.H.C. (Eds.), *Proceedings of the International Study Conference on the Current and Future Problems of Acridology*. Centre for Overseas Pest Research, London, pp. 135-147.
- Rosypal, S. (2003) *Přehled Biologie*. Scientia, Praha.
- Schöfl, G., Taborsky, M. (2002) Prolonged-tandem formation in firebugs (*Pyrrhocoris apterus*) serves mate-guarding. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 52: 426-433.
- Schrempf, A., Heinze, J., Cremer, S. (2005) Sexual cooperation: Mating increases longevity in ant queens. *Curr. Biol.* 15: 267-270.
- Sgró, C. M. and Partridge, L. (1999) A delayed wave of death from reproduction in *Drosophila*. *Science* 286: 2521-2524.
- Stearns, S. C. (1992) *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford.

- Tatar, M., Bartke, A., Antebi, A. (2003) The endocrine regulation of aging by insulin-like signals. *Science* 299: 1346-1351.
- Tatar, M., Kopelman, A., Epstein, D., Tu, M.-P., Yin, C.-M., Carofalo, R. S. (2001) A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science* 292: 107-110.
- Tatar, M., Yin, C.-M. (2001) Slow aging during insect reproductive diapause: why butterflies, grasshoppers, and flies are like worms. *Exp. Gerontol.* 36: 723-738.
- Tu, M-P., Yin, C-M., Tatar, M. 2005. Mutations in insulin signaling pathway alter juvenile hormone synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Gen. Compar. Endocrinol.* 142: 347-356.
- Ueyama, M., Fuyama, Y. (2003) Enhanced cost of mating in female sterile mutants of *Drosophila melanogaster*. *Genes & Genet. Syst.* 78: 29-36.
- Wigby, S. and Chapman, T. (2005) Sex peptide causes mating costs in female *Drosophila melanogaster*. *Curr. Biol.* 15: 316-321.
- Williams, G. C. (1966) Natural selection, the cost of reproduction and a refinement of Lack's principle. *Am. Nat.* 100: 687-690.
- Williams, T. D. (2005) Mechanism underlying the costs of egg production. *BioScience* 55: 39-48.
- Yanagi, S., Miyatake, T. (2003) Costs of mating and egg production in female *Callosobruchus chinensis*. *J. Insect Physiol.* 49: 823-827.

Tabulky

Tabulka 1A

Délka života samic (dny)

	n	medián	průměr±SEM
F+M	60	60	62,2±3,7
F+F	60	84	89,2±5,4
F	60	91	92,6±5,3
F OV-	48	100	98,0±6,1

vysvětlení zkratk viz Obrázek 1

Tabulka 1B

Statistické hodnocení rozdílů v délce života samic

	F+M vs F	F+M vs F+F	F+M vs F OV-	F vs F+F	F vs F OV-	F+F vs F OV-
Logrank test	P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	P=0,89 ns	P=0,57 ns	P=0,55 ns
ANOVA a Tukey post-test	P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	P=0,65 ns	P=0,51 ns	P=0,28 ns

Tabulka 2A

Délka života samců

	n	medián	průměr±SEM
M+F	60	81	85,71±4,2
M+M	60	113,5	108,8±4,0
M	59	135,5	128,4±6,1

vysvětlení zkratk viz Obrázek 2

Tabulka 2B

Statistické hodnocení rozdílů v délce života samců

	M+F vs M+M	M+F vs M	M vs M+M
Logrank test	P<0,0010	P<0,0001	P<0,0001
ANOVA a Tukey post-test	P=0,0001	P<0,0001	P=0,0087

Tabulka 3

Hodnoty reprodukčních parametrů samic (průměr ± SEM, t-test)

	F	F+M	F+F	F+M vs F, t-test
Doba ovipozice (dny)	63,3±2,7	46,9±2,6		P<0,0001
Doba post-ovipozice (dny)	31,7±4,3	13,3±1,2		P<0,0001
Počet snůšek za život	11,9±0,5	9,4±0,5		P=0,0003
Počet vajíček za život	562,3±24,4	454,8±22,2	432,9*	P=0,002
Počet vajíček/den ovipozice	9,1±0,3	10,3±0,4		P=0,018
n	58	59	60	

* Celkový počet vajíček za život na jednu samici (celkový počet vajíček / počet samic). Jelikož byly dvě samice pohromadě, nebylo možno rozlišit počet vajíček vykladených jednotlivými samicemi.