

Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích

rok 2009



Magisterská práce

# **Chemická obrana slunéček proti mravencům**

Bc. Adéla Rozsypalová



Vedoucí práce : doc. RNDr. Oldřich Nedvěd, CSc.

Bc. Rozsypalová A. (2009): Chemická obrana sluněček proti mravencům  
[Chemical defence of ladybirds against ants, Mgr. thesis, in Czech] – 43 pp., Faculty of  
Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic

## **ANOTACE**

Tato práce studovala nechutnost alkaloidů osmi druhů sluněček (*Adalia bipunctata*,  
*Calvia quatuordecimguttata*, *Coccinella septempunctata*, *Cynegetis impunctata*,  
*Exochomus quadripustulatus*, *Halyzia sedecimguttata*, *Harmonia axyridis*,  
*Psyllobora vigintiduopunctata*) pro mravence *Lasius niger*. Reakce na extrakty z jednotlivých  
druhů sluněček není korelována s velikostí těla. Mírná závislost je pouze na zbarvení.

## **SUMMARY**

This work studied distastefulness of alkaloids of eight ladybird species (*Adalia bipunctata*,  
*Calvia quatuordecimguttata*, *Coccinella septempunctata*, *Cynegetis impunctata*,  
*Exochomus quadripustulatus*, *Halyzia sedecimguttata*, *Harmonia axyridis*,  
*Psyllobora vigintiduopunctata*) for ants *Lasius niger*. The reaction to extracts of various  
ladybird species isn't correlated with their size. There is a weak relationship of distastefulness  
on ladybird coloration.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěla bych poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Oldřichu Nedvědovi, CSc. za veškerou  
pomoc při zdolávání všech úskalí spojených s prací se záladným a ne vždy spolupracujícím  
hmyzem. Dále svým rodičům a bratrovi Martinovi, kteří se mnou ochotně jezdili do přírody  
nahánět sluněčka a nechali se kousat mravenci a dalším hladovým hmyzem a samozřejmě  
všem přátelům, kteří se jakkoliv podíleli na realizaci této práce.

## **PROHLÁŠENÍ**

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

V Českých Budějovicích, dne 4.1.2009

.....

# OBSAH

<b>1. ÚVOD</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1. MUTUALISMUS MRAVENCŮ A STERNORRHYNCHA</b> .....	<b>3</b>
1.1.1. INTERAKCE MEZI MRAVENCÍ A SLUNÉČKY .....	4
<b>1.2. OBRANA SLUNÉČEK PROTI MRAVENCŮM</b> .....	<b>7</b>
1.2.1. BEHAVIORÁLNÍ OBRANA .....	7
1.2.2. FYZIKÁLNÍ OBRANA .....	7
1.2.3. CHEMICKÁ OBRANA .....	9
<b>1.3. ODLIŠNÁ AGRESIVITA MRAVENCŮ</b> .....	<b>14</b>
<b>1.4. MYRMEKOFÍLIE</b> .....	<b>16</b>
1.4.1. PŘÍPAD <i>COCCINELLA MAGNIFICA</i> .....	16
1.4.2. PŘÍPAD <i>PLATYNASPIS LUTEORUBRA</i> .....	18
1.4.3. EVOLUCE MYRMEKOFÍLIE SLUNÉČEK .....	19
<b>1.5. POKUSY SE SLUNÉČKY</b> .....	<b>19</b>
1.5.1. SLUNÉČKA A SÝKORKY .....	19
1.5.2. SLUNÉČKA, MRAVENCÍ A KŘEPELKY .....	20
<b>1.6. CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>24</b>
<b>1.7. TESTOVANÉ DRUHY</b> .....	<b>24</b>
1.7.1. <i>ADALIA BIPUNCTATA</i> .....	24
1.7.2. <i>CALVIA QUATUORDECIMGUTTATA</i> .....	24
1.7.3. <i>COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA</i> .....	24
1.7.4. <i>CYNEGETIS IMPUNCTATA</i> .....	24
1.7.5. <i>EXOCHOMUS QUADRIPUSTULATUS</i> .....	24
1.7.6. <i>HALYZIA SEDECIMGUTTATA</i> .....	25
1.7.7. <i>HARMONIA AXYRIDIS</i> .....	25
1.7.8. <i>PSYLLOBORA VIGINTIDUOPUNCTATA</i> .....	25
1.7.9. <i>LASIVUS NIGER</i> .....	25
<b>2. METODIKA</b> .....	<b>25</b>
<b>2.1. EXTRAKCE ALKALOIDŮ</b> .....	<b>25</b>
<b>2.2. PRŮBĚH POKUSU</b> .....	<b>26</b>
<b>3. VÝSLEDKY</b> .....	<b>26</b>
<b>4. DISKUSE</b> .....	<b>30</b>
<b>5. ZÁVĚR</b> .....	<b>32</b>
<b>6. LITERATURA</b> .....	<b>33</b>

# 1. ÚVOD

Slunéčka se často dostávají do konfliktu s mravenci, neboť ke svému rozmnožování potřebují konzumovat mšice nebo červce. Řada kolonií mšic je však chráněna a opečovávána mravenci, proto slunéčka vyvinula řadu obranných taktik, aby se mravencům ubránila.

## 1.1. MUTUALISMUS MRAVENCŮ A STERNORRHYNCHA

Hmyz, který je asociován s mravenci, se nazývá myrmekofilní (z řeckého *murmex* = mravenec). Myrmekofilní mšice a červci (mšicosaví, Sternorrhyncha) vykazují behaviorální a strukturální modifikace. Když mravenec narazí na takový hmyz, hladí ho svými tykadly. To indukuje u mšic nebo červců potlačení jejich běžného obranného chování jako je odkopnutí, útěk, pád z rostliny nebo pevné přitisknutí k podkladu. Místo toho zvednou abdomen a uvolní kapičky medovice, kterou mravenec začne sát. Medovice je bohatá na sacharidy a taktéž obsahuje aminokyseliny, amidy, proteiny, minerály a vitamíny B (Way 1963; Carroll a Janzen 1973; Hölldobler a Wilson 1990). Mravenci také získávají proteiny jako predátoři mšic nebo červců. Výhodou pro mšice či červce je zlepšení jejich hygieny díky odstraňování staré pokožky, mrtvých mšic a medovice (Way 1954; Banks 1958; Seibert 1992), zvýšení vývojové rychlosti, zvětšení velikosti těla dospělců, plodnosti a reprodukční rychlosti (El-Ziady a Kennedy 1956; Banks 1958; El-Ziady 1960) a ochrana před nepřáteli (Bartlett 1961; Banks 1962; Jiggins et al. 1993).

Myrmekofilní druhy mšic jsou známy tím, že alarmují mravence uvolňováním feromonu, pokud jsou napadeny slunéčky (Neult et al. 1976). V důsledku tohoto chování si řada druhů jako je *Coccinella septempunctata*, *Coccinella undecimpunctata* a *Adalia bipunctata* vyvinula unikátní adaptivní chování, díky němuž jsou tolerovány evropským lesním mravencem *Formica polyctena* podél jeho potravních, pachem označených cest. Ve střední Evropě jsou slunéčka často nacházena, jak se shromažďují na vegetaci a hnízdním materiálu obklopujícím kupky lesních mravenců. Nedostatek mšic přitahuje slunéčka na okraje lesů (Telenga 1948). Brzy ráno na jaře a v létě mravenci vyrážející za potravou vytvářejí 10-15 cm široké a 20-250 m dlouhé zástupy a rozprchnou se po lese. Slunéčka se pak hemží a občas přelétávají nad těmito potravními zástupy mravenců, když následují jejich pachové stopy. Pozdější výzkumy tohoto úkazu odhalily, že *C. septempunctata* je schopná orientovat se díky pachovým cestičkám *F. polyctena* a získávat tak informace o vzdálenosti a směru potravního zdroje,

stejně jako je získávají ohniví mravenci ze svých pachových cestiček a jako včely, které se informují pomocí tanečků (Haldane a Spurway 1954; Wilson 1962). Na jaře (a na podzim) vznikají nové pachové cesty vedoucí k novým zdrojům medovice (mšice, červci...) a právě v této době se slunéčka probouzejí z diapauzy a začínají hledat potravu, převážně medovici produkující *Sternorrhyncha*. Kvůli ochraně mšicosavého hmyzu před predátory a parazitoidy se tak mravenci dostávají do konfliktu s řadou druhů (Rosen 1990; Dixon 1998).

### **1.1.1. INTERAKCE MEZI MRAVENCÍ A SLUNÉČKY**

Majerus a kol. (2007) dělí tyto interakce na tři typy. První a nejdůležitější je, když mravenci pečující o mšicosavý hmyz kompetují s afidofágními nebo kokcidofágními slunéčky o zdroje. Druhý typ, kdy slunéčka se údajně krmí mravenci, ačkoliv pouze jeden druh slunéčka (*Ortalia pallens*) je považován za specialistu na mravence (Harris 1921). Třetí typ, kdy mravenci snad loví slunéčka. Nejeftektivnější je však dělení těchto interakcí na kompetitivní a nekompetitivní.

#### **Kompetitivní interakce mravenec-slunéčko, zahrnující *Sternorrhyncha***

Existuje významný důkaz, že o mšicosavé pečující mravenci jsou agresivnější k slunéčkům vyskytujícím se v sousedství jimi chráněných kolonií než kdekoliv jinde. Tato skutečnost je označována jako majetnické chování (Way 1963). Agresivita je zaměřena nejen proti dospělým, ale i proti larválnímu stádiu. Dospělci jsou obvykle vyháněni od mšicosavých kolonií (Bradley 1973; McLain 1980; Itioka a Inoue 1996; Sloggett 1998), zatímco měkké larvy jsou chyceny a odneseny pryč od kolonie, shozeny z rostliny nebo zabity (Bradley 1973; Vinson a Scarborough 1989; Bach 1991; Jiggins et al. 1993; Sloggett a Majerus 2003).

Studie srovnávající výskyt slunéček v přítomnosti nebo nepřítomnosti mravenců ukazují, že mravenci redukují počet slunéček v blízkosti jimi chráněných kolonií mšic a červců (Mariau a Julia 1977; McLain 1980; Völkl a Vohland 1996; Bradley 1973; Reimer et al. 1993; Itioka a Inoue 1996; Jutsum et al. 1981). Vyloučení slunéček z kolonií je výhodné jak pro chráněné mšice (Banks 1962; Mariau a Julia 1977; Reimer et al. 1993), tak i pro chráněné červce (Bradley 1973).

#### **Slunéčka lovcí mravenci chráněná *Sternorrhyncha***

Řada slunéček je považována za myrmekofilní. Zatímco takové druhy obvykle žijí v blízkosti mravenčích hnízd, většina nemymekofilních slunéček se živí hmyzem chráněným mravenci pouze v případě, že nechráněného je nedostatek (Sloggett a Majerus 2000a). Z toho vyplývá, že rozdíly ve velikosti, agresivitě a rozšíření chráněných mravenců a velikosti, chování a

obraných schopnostech slunéček nepochybně ovlivňují výsledek interakcí mezi slunéčky a mravenci.

Nejdetailnější práce zabývající se predací slunéček na chráněných a nechráněných mšicosavých zahrnuje afidofágní druhy v mírném pásu. Afidofágní slunéčka se obvykle rodí v období, kdy je dostatek mšic a dospělci se živí nechráněnou kořistí (Majerus 1994; Hodek 1996; Sloggett 1998). Následkem toho se nedospělá slunéčka (včetně myrmekofilních) jen vzácně dostanou do konfliktu s mravenci chránícími mšice. Pouze v letech, kdy je celkový nedostatek mšic, budou larvy slunéček zkoušet napadat mravenci chráněné mšice (Sloggett 1998). Naproti tomu dospělá slunéčka se dostávají do konfliktu s mravenci chránícími mšice každoročně v pozdním létě, když se začínají vykrmovat pro přezimování. Kvůli nedostatku mšic v této době se živí alternativní potravou jako je pyl, nektar, míza, medovice, nespecifiční bezobratlí a příslušníci vlastního druhu (Hodek 1996; Sloggett a Majerus 2000b). Tolerance dospělých slunéček k agresivitě mravenců se pak stává důležitou – ty s malou tolerancí jsou donuceny krmít se alternativní potravou.

Řada studií o efektu mravenců na slunéčka zahrnuje jednotlivé druhy slunéček (Bradley 1793; Itioke a Inoue 1996) nebo výsledky pro všechna slunéčka dohromady (Banks a Macaulay 1967; Bristow 1984). Nicméně dvě studie ukazují, jak se slunéčka liší svou tolerancí vůči mravencům, dokonce i když jsou vyloučeni vyložení myrmekofilové. DeBach (1951) uvádí, že 66% jedinců *Rhizobius lophanthae* bylo nalezeno v přítomnosti mravenců *Iridomyrmex humilis* chránících červce *Aonidiella aurantii* na citrusu, ale pouze 15% jedinců rodu *Chilocorus* bylo nalezeno v téže situaci. Ve studii z anglického borového lesa byli monitorováni jedinci šesti druhů slunéček, dvou typů mšic a přítomnost či nepřítomnost mravenců od jara do podzimu (Sloggett 1998; Sloggett a Majerus 2000a). Slunéčka zahrnovala čtyři jehličnanové specialisty – *Myrrha octodecimguttata*, *Anatis ocellata*, *Myzia oblongoguttata* a *Harmonia quadripunctata*; generalistu *Coccinella septempunctata* a myrmekofilní *Coccinella magnifica*. Mšice zahrnovaly *Schizolachus pineti*, která není chráněná mravenci, a dva druhy *Cinara* ve dvou přílehlých sekcích – jedna s řadou hnízd *Formica rufa*, zatímco ve druhé žádná hnízda nebyla, proto sloužila jako kontrolní stanoviště. Mšice *Cinara* na *Pinus sylvestris* na mravenčím stanovišti byly mravenci chráněny po většinu sezóny, zatímco ty na kontrolním stanovišti byly bez ochrany. Analýza výskytu jednotlivých druhů slunéček na obou stanovištích během léta umožnila determinaci tolerance k mravencům.

*Myrrha octodecimguttata* a *Anatis ocellata* byly málo tolerantní; tyto druhy se vyskytovaly na mravenčím stanovišti poté, co v září mravenci zmizeli. Třetí druh, *H. quadripunctata*,

vykazoval nízkou toleranci a vyskytoval se méně na mravenčím stanovišti než na kontrolním. *Coccinella septempunctata* dopadla obdobně s mírně vyšší tolerancí. *M. oblongoguttata* byla nalezena převážně na kontrolním stanovišti během brzkého léta, kdy byl mšic dostatek. *C. magnifica* se vyskytovala více na mravenčím stanovišti než na kontrolním. Co se larev týče, na *P. sylvestris* byli nalezeni jedinci pěti druhů, zatímco larvy *C. septempunctata* se zde nevyskytovaly. Larvy *M. octodecimguttata* nebyly nalezeny na mravenčím stanovišti. Larvy *A. ocellata*, *H. quadripunctata* a *M. oblongoguttata* se vyskytovaly více na kontrolním stanovišti a larvy *C. magnifica* se omezovaly na mravenčí stanoviště. Z těchto výsledků sestavili Sloggett a Majerus (2000a) pořadí šesti slunéček dle jejich tolerance k mravencům: *M. octodecimguttata* + *A. ocellata* < *H. quadripunctata* < *C. septempunctata* < *M. oblongoguttata* < *C. magnifica*. Vyvodili, že *C. magnifica* je pravý myrmekofil, zatímco *M. oblongoguttata* se vůči mravencům nějakým způsobem brání, ať už jde o dospělé nebo larvy. Dospělci *C. septempunctata* koexistují s *F. rufa* v případě, že mšic je nedostatek, ale v jejich přítomnosti se nemnoží.

Potravní teorie předpovídá, že afidofágní slunéčka se raději živí chráněnými mšicemi, když jsou nechráněné mšice vzácné (Stephens a Krebs 1986). V mírné pásu jsou nechráněné mšice vzácné v pozdním létě, zatímco chráněné kolonie jsou v této době rozšířené (Mahdi a Whittaker 1993; Sloggett a Majerus 2000a).

### **Nekompetitivní interakce**

Nekompetitivní interakce jsou všechny, ke kterým dochází mimo chráněné kolonie mšicosavých, plus situace, kdy mravenci jsou predátory slunéček. Tyto interakce jsou důležité, neboť ovlivňují prostorové preference a rozšíření slunéček v prostředí. Pokud mravenci narazí na slunéčka mimo kolonie mšicosavých, tak je buď napadnou nebo ignorují v závislosti na druhu mravence. Mezi mravence napadající slunéčka v sousedství chráněných mšicosavých a ignorující je kdekoliv jinde patří *Lasius niger* (El-Ziady a Kennedy 1956; Banks 1962), *Formica fusca* (Rathcke et al. 1967), *Iridomyrmex humilis* (Dechene 1970) a *Myrmica ruginodis* (Jiggins et al. 1993). Naopak někteří mravenci, kteří loví hmyz, útočí na slunéčka pokaždé, když se s nimi setkají, a tím vylučují řadu slunéček ze svého potravního pásma.

Většina empirických poznatků je založena na předkládání slunéček zajatým, hladovým mravenčím koloniím a interakce neodráží, co se děje v přírodě. Hays a Hays (1958) zjistili v laboratoři, že hladoví *Solenopsis invicta* zabili a zkonzumovali pět druhů slunéček, zatímco Wilson a Oliver (1969) našli pouze jeden druh slunéčka mezi 4056 druhy kořisti těchto mravenců a Sterling (1979) zjistil, že přítomnost *S. invicta* neredukuje počet slunéček

na bavlníkových polích. Tyto rozdíly v bádání poukazují na to, že rozdělení interakcí mezi mravenci a slunéčky na kompetitivní a nekompetitivní je příliš povrchní. Nicméně je pravděpodobné, že vysoce agresivní mravenci mají větší vliv na rozšíření slunéček než mravenci, kteří napadají slunéčka pouze v blízkosti kolonií mšicosavých.

## **1.2. OBRANA SLUNÉČEK PROTI MRAVENCŮM**

Tolerance slunéček vůči mravencům závisí na obranných schopnostech slunéček. Slunéčka využívají řadu mechanismů, když čelí mravenčí agresivitě (Pasteels et al. 1973; Richards 1980, 1985; Majerus 1994). Tato obrana může být behaviorální, fyzikální či chemická, některá je používána v závislosti na období životního cyklu a jiná se objevuje jak u dospělců, tak u nedospělých stádií.

### **1.2.1. BEHAVIORÁLNÍ OBRANA**

Většina slunéček při napadení mravenci využívá některý typ obranného chování. Larvy nejčastěji utíkají nebo padají na zem, zatímco dospělci mohou navíc uletět (Banks 1962; Bradley 1973; Itioka a Inoue 1996). U dospělců je alternativou prchání tzv. „clamp down“, kdy jedinec stáhne končetiny těsně pod tělo, přitlačí hlavu k toraxu a přitiskne se k substrátu (Bradley 1793; Jiggins et al. 1993; Majerus 1994). Druhy z podčeledi Chilacorinae mají velmi plochou břišní stranu a rozšířené okraje krovek, takže jejich kontakt s povrchem je velice těsný a chrání tak zranitelnou spodní stranu slunéčka před útoky mravenců.

Mnoho prepup a kukel umí nadzvednout přední část těla jakožto odezvu na dotyk. Toto „pupal flicking“ chování (Majerus 1994) může být opakováno několikrát. Eisner a Eisner (1992) navrhli, že toto chování je obranou proti mravencům, kdy spoje mezi abdominálními články fungují jako „nastražená past“ poškozující mravencům různé tělní přívěsky. Nicméně pravděpodobnějším důvodem pro toto chování je obrana proti kukelním parazitoidům, jako jsou hrbilky (Diptera: Phoridae) (Disney et al. 1994).

Zatím je nejasné, zda se tato behaviorální obrana vyvinula jako specifická odpověď na agresivitu mravenců nebo jako všeobecný mechanismus proti predátorům a parazitoidům, ačkoliv Sloggett (1998) naznačuje, že některá z těchto chování jsou více vyvinutá u druhů, které se často dostávají do kontaktu s mravenci.

### **1.2.2. FYZIKÁLNÍ OBRANA**

Chorion vajíček slunéček je relativně slabý a pravděpodobně není efektivní obranou proti mravenčím kusadlům.



Exoskelet larev je měkký a lehce propíchnutelný. Nicméně mnoho larev slunéček je pokryto chloupky a ochlupenými výrůstky (Richards 1980), které mohou poskytovat určitou ochranu před mravenčím útokem, ačkoliv to zatím nebylo experimentálně dokázáno (Sloggett 1998).

Exoskelet kukel je relativně tvrdý. I když není nedobytný pro predátory či parazitoidy, poskytuje určitou ochranu před útokem mravenců. Navíc, s výjimkou Coccinellinae, Sticholotinae a několika málo druhů z ostatních podčeledí, řada druhů využívá poslední larvální svlečku jako ochranu kukly (Richards 1980). Tato svlečka není úplně odstraněna, ale zůstává okolo kukly. Tato přídavná vrstva, která občas bývá trnitá či vosková, může představovat obecnou obrannou adaptaci.

Některé larvy slunéček mají povrch pokrytý sítí z voskových vláken. Pope (1979) se domnívá, že tato vosková vrstva byla adaptací na útoky mravenců. Zprv, pro mravence může být obtížné zakousnout se do ní a zadruhé, protože je vosk lepkavý, musí mravenec přerušit útok a začít si čistit ústa. Účinnost voskové obrany zkoušeli Völkl a Vohland (1996) u dvou druhů rodu *Scymnus*. Prokázali, že mortalita normálních larev (s voskem) *S. nigrinus* a *S. interruptus* způsobená útokem *Formica polyctena* a *Lasius niger* byla nižší než u larev, jimž byl vosk odstraněn. Ačkoliv byly některé normální larvy usmrceny, mravenci museli přerušit svůj útok a začali si čistit ústa. Třetí adaptivní funkcí larválního vosku může být mimetismus. Některé druhy slunéček s larvami pokrytými voskem se živí voskovými mšicemi (vlnatkami) a červci a své kořisti se dosti podobají. Je možné, že mravenci chránící tyto mšice ignorují takto vybavené larvy, protože je nerozeznají. Toto tvrzení bylo podpořeno pokusy – larvy slunéčka *Cryptolaemus montrouzieri* byly ignorovány mravenci *Pheidole megacephala* v koloniích červců s voskem, ale byly těmito mravenci napadány v koloniích červce *Coccus viridis*, který vosk nemá (Bach 1991). Vosk, který pokrývá larvy slunéček, si tyto larvy sekretují samy. Naproti tomu larvy některých zlatooček (Neuroptera) získávají vosk od své kořisti a přilepují si ho na záda (Eisner et al. 1978). Tyto larvy se často živí na mravenci chráněných mšicích. V případě, že voskový povrch mšic a larev zlatooček je nerozeznatelný, mravenci tyto larvy nenapadají.

Některé kukly slunéček také mají voskový povrch. Larva *Scymnodes lividigaster* namaže voskem místo, kde se uchytlí před kuklením (Richards 1980). Vzniklá kukla je pokryta voskem a chloupky. Richards (1980) předpokládá, že vosk i chloupky slouží k odstrašení mravenců a dalších predátorů. Pokud je to tak, není jasné, zda mravence odpuzuje fyzikální bariéra, kterou tvoří pokryv kukly, struktura vosku, jeho chemické složení, barva nebo kombinace všeho (Richards 1980; Sloggett 1998). Kukla slunéčka *Rodatus major* má velmi

hustý vosk, který má kromě funkce fyzikální bariéry proti agresi mravenců i mimetickou funkci. Druh se živí převážně vajíčky červce *Monophlebulus pilosior*, který je často chráněn mravenci rodu *Iridomyrmex*. Richards (1985) předpokládá, že vosk propůjčuje *R. major* podobu vajíček červce.

Hlavní fyzikální obranou dospělých slunéček proti útoku mravenců je jejich tvrdý dorsální povrch. Společně s behaviorální obranou je důležitou bariérou chránící před zraněním ze strany mravenců. Jemné chloupky, které pokrývají krovky některých slunéček, jsou zřejmě přidavnou ochranou.

### 1.2.3. CHEMICKÁ OBRANA

Slunéčka jsou velmi dobře známa svým výrazným zbarvením, které je považováno za aposematické, prezentující nechutnost (Brakefield 1985; Majerus 1994). Tato nechutnost je převážně chemická. Slunéčka reflexivně krvácí, sekretují odporně páchnoucí nechutnou tekutinu z tibio-femorálních spojů u dospělců a dorsálního povrchu u larev a kukel. Slunéčka obsahují zejména řadu alkaloidů (Daloze et al. 1995) a pyrazinů (Moore et al. 1990). Rozmanitost obranných chemikálií u slunéček a rozmanitost v koncentracích sloučenin vyskytujících se ve směsi naznačuje, že tento hmyz byl jedním z prvních, který začal využívat kombinatorickou chemii ve své obraně (Schröder et al. 1998).

Slunéčka mohou syntetizovat obranné látky ve svém vlastním těle nebo je sekvestrovat z potravy. Pasteels (2007) popisuje, jakým způsobem získávají toxiny mšice, obvyklá potrava slunéček. Vosk na povrchu těla je pro mnoho mšic nejběžnější způsob chemické obrany proti parazitoidům či malým predátorům zahrnujících larvy slunéček (Dixon 1958; Edwards 1966). Další obrana může být odvozena od rostlin. Ne všechny mšice jsou vhodné jako potrava pro slunéčka (Hodek 1973). Například oleandrová mšice *Aphis nerii* je pro mnoho slunéček toxická, nikoli však pro slunéčko *Adonia variegata* Goeze (Iperti 1965). V Řecku se *Adonia variegata* vyvíjela normálně, pokud se krmila *Aphis nerii* živící se na *Nerium oleander* nebo *Cynanchum acutum*, ale pokud se krmila mšicemi živícími se na *Cionura erecta*, normálně se nevyvíjela (Pasteels 1978). Během vývoje byla vyšší mortalita, přeživší dospělci neměli krovky a křídla a samice byly méně plodné a žily kratší dobu. *Aphis nerii* proto musí z *Cionura erecta* získávat zatím neznámé chemikálie, které jsou pro slunéčka toxické. Těmito toxiny však nejsou kardenolidy, které jsou přítomné u *Nerium oleander*, ale ne u *Cionura erecta*.

Sekvestrace rostlinných toxinů herbivory pro svou vlastní obranu je široce rozšířená a byla zaznamenána u řady mšic (Rothschild et al. 1970). Přítomnost kardenolidů u *Aphis nerii*

vysvětluje její toxicitu pro slunéčka, s výjimkou adaptovaného druhu *Adonia variegata*. Pyrrolizidinové alkaloidy jsou pro změnu sekvestrovány mšicí *Aphis jacobaeae* Schrank (Witte et al. 1990), chinolozidinové alkaloidy sekvestrují mšice *Macrosiphum albifrons* Essig, *Aphis cytisorum* Hartig a *Aphis genistae* Scopoli (Wink et al. 1982; Wink a Römer 1986; Wink a Witte 1991) a glukosinoláty mšice zelná *Brevicoryne brassicae* (Francis et al. 2001). Mšice sekvestrující chinolozidinové alkaloidy a glukosinoláty jsou toxické či odpudivé pro predátory včetně slunéček (Wink a Römer 1986; Francis et al. 2001). Koncentrace kardenolidů (Malcolm 1990) a chinolozidinových alkaloidů (Wink a Römer 1986) byla u mšic sice nižší než u rostlin, ale i tak dostatečná, aby je chránila, zatímco koncentrace pyrrolizidinových alkaloidů (Witte et al. 1990) a glukosinolátů (Francis et al. 2001) byla u mšic vyšší než u rostlin. U *Brevicoryne brassicae* přesáhla bioakumulace glukosinolátů dokonce patnáctkrát koncentraci u rostlin. Rostlinné toxiny nejsou obsaženy jen ve stěvu mšic, ale mohou být ukládány kdekoliv v těle. Tyto toxiny jsou také částečně vylučovány a nacházeny i v medovici.

Mnoho slunéček na svou obranu využívá varovné zbarvení nebo zápach – mohou využívat pyraziny (Moore et al. 1990), které jsou mimo jiné používány jako agregační feromon slunéčkem sedmitečným (Al Abassi et al. 1998). Slunéčka jsou hlavně chráněna proti mravencům a ptákům autogenními alkaloidy, které akumulují ve své krvi (hemolymfě) a pak je uvolňují pomocí reflexního krvácení (Pasteels et al. 1973; Marples et al. 1989). Diverzita alkaloidů syntetizovaných slunéčky je ohromná: homotropany, alifatické a aromatické aminy, pyrrolidiny, piperidiny, azamakrolidy, makrocyclické polyaminy, chinolin, 3-oxachinolizidin atd. (Daloze et al. 1995; King a Meinwald 1966; Laurent et al. 2005). Tyto alkaloidy jsou často pojmenovány po svých nositelích, proto se můžeme setkat s precoccinellinem, chilocorinem, adalinem, harmoninem, hyperaspinem, calvinem, epilachninem atd. (Laurent et al. 2005). Zatím bylo identifikováno okolo 50 různých alkaloidů u 43 druhů slunéček.

Většina druhů syntetizuje jeden nebo několik málo alkaloidů, které se u fytofágních slunéček mohou lišit v závislosti na vývojovém stádiu. Příbuzné druhy mají tendenci mít tytéž alkaloidy. Většina, ne-li všechny tyto alkaloidy, je syntetizována jednoduchou cestou, kdy jsou k hydrokarbonovému řetězci přidány dusíkaté atomy pocházející z aminokyselin (Laurent et al. 2003). Selekční faktory vedoucí k tak velké diverzitě zatím zůstávají utajeny. Jednou z možností je, že se různé alkaloidy vyvinuly jako odpověď na tlak různých predátorů, ale zatím není mnoho důkazů potvrzujících tuto teorii. V podstatě je zaznamenán jen jeden přirozený nepřítel slunéček, který se adaptoval na jejich alkaloidy. Parazitoidní lumčík *Dinocampus coccinellae* Schrank je přitahován alkaloidy precoccinellinem a myrrhinem

(Al Abassi et al. 2001). Podobnost alkaloidů nalezených u různých druhů slunéček je spíše důsledkem jejich příbuznosti než obrana proti stejným nepřítelům.

Alkaloidy ale nechrání slunéčka před kanibalismem, ačkoliv mohou snížit riziko vnitrodruhové predace. Slunéčka mohou být imunní ke svým vlastním toxinům, ale nemusí být nutně imunní k alkaloidům jiných slunéček. Možný vliv vnitrodruhové predace na vývoj chemické obrany je ilustrován výzkumem, při kterém se zjistilo, že larvy slunéček více váhají před konzumací vajíček jiných druhů než svých vlastních. Samice dodávající svým vajíčkům alkaloidy a alkany také slouží k rozpoznávání druhů (Hemptinne et al. 2000c).

Využití obranných látek z potravy bylo zaznamenáno také u slunéček. *Coccinella undecimpunctata* sekvestruje kardenolidy z *Aphis nerii*, která je sama sekvestruje z hostitelské rostliny (Rothschild et al. 1973). Přítomnost kardenolidů ale nikdy nebyla zaznamenána u *Adonia variegata*, která se *Aphis nerii* také živí (Iperti 1965). Slunéčko sedmitečné, které se normálně touto mšicí neživí, z ní kardenolidy nesekvestruje (Rothschild et al. 1970). Nicméně sekvestruje pyrrolizidinové alkaloidy z *Aphis jacobaeae*, která je zase získává ze *Senecio inaequidens* (Witte et al. 1990).

Obranné chemikálie řady slunéček jsou nechutné nebo toxické pro mnoho predátorů (Morgan 1986; Pasteels et al. 1973; Brakefield 1985; Marples et al. 1989), ale ne pro všechny (Muggleton 1978; Majerus 1994; Majerus a Majerus 1997). Všeobecně platí, že reflexní krvácení je nechutné pro mravence (Stäger 1929; Happ a Eisner 1961; Pasteels et al. 1973; Sloggett 1998). Mimoto mravenci kontaminovaní hemolymfou slunéček se hůře pohybují, neboť tato hemolymfa vysychá a přitom lepí (Stäger 1929; Bhatkar 1982). Míra, se kterou dospělá slunéčka reflexně krvácejí v odpovědi na útok mravenců, závisí na druhu a okolnostech. Někteří pozorovatelé uvádějí, že slunéčka krvácejí ojediněle, dokonce i když byla napadena mravenci (Marples 1993; Jiggins et al. 1993), zatímco jiní vyzkoumali, že slunéčka krvácejí okamžitě, jakmile jsou napadena (Banks 1962; Bhatkar 1982). Majerus (1994) uvádí, že reflexní krvácení je využíváno dospělými sluněčky proti mravencům jakožto poslední obrana, pokud ostatní druhy obrany, jako je odlétnutí, selhaly. Reflexní krvácení je náročné ztrátou tekutiny kvůli energii vynaložené na syntézu chemikálií (de Jong et al. 1991; Holloway et al. 1991, 1993). Proto je krvácení využito pouze ve chvíli, kdy ostatní mechanismy selhaly a slunéčko je ve vážném ohrožení (Majerus 1994). Sloggett (1998) srovnal náklady a výnosy a vyvodil, že reflexní krvácení se nevyvinulo nejprve jako obrana proti mravencům. Udává, že slunéčka se většinou dostávají do konfliktu s mravenci v době, kdy nechráněných mšicosavých je nedostatek. V tomto období budou mít slunéčka málo rezerv, a proto by je reflexní krvácení stálo relativně vysoké ztráty.

Happ a Eisner (1961) prováděli pokusy na dospělých fytofágního slunéčka *Epilachna varivestis*, kdy jim na různé části těla a krovek přikládali horkou jehlu a sledovali jejich reakce. Krvácení bylo nejčastější reakcí. Jediným stimulem, který byl neefektivní, bylo přiložení jehly na zadní stranu zadečku mezi křídla (je to místo, které samozřejmě není zpočátku predátorem napadáno). Zájem vyvolalo zjištění, že nohy nekrvácí simultánně, ale každá individuálně a to tak, že krvácí končetina nejbližší k danému stimulu. Pokud je stimul opakovaně aplikován na stejném místě, začne se nejdříve zvětšovat původní kapka na nejbližší končetině a pak se začne objevovat krvácení i na dalších nohách, nejdříve na těch na téže straně a následně na straně opačné. Kapky se někdy vlévají do lateroventrálních okrajů těla, což je způsobeno pohybem nohou. Pokud však došlo k celkové stimulaci (uchopení jedince), krvácení se objevovalo na všech šesti nohách. Hemolymfa vystavená vzduchu koaguluje a během několika minut ztvrdne v krustu. Tato krusta brouku nijak nepřekáží a během normální aktivity sama odpadne. Množství hemolymfy, kterou mohou brouci ztratit, je značné, nebyly pozorovány žádné škodlivé následky po ztrátě šesti kapek, po jedné z každé nohy. Někteří jedinci sice zemřeli, ale to bylo pravděpodobně způsobeno popálením horkou jehlou. Krvácení se vyskytuje také u larev rodu *Epilachna*, ale nemůže být považováno za autokrvácení v pravém slova smyslu, neboť se objevuje pouze na straně poranění. Měkké tělo larev je pokryto trny a pokud se ulomí, objeví se v místě zlomu malá kapka hemolymfy. Toto lokální krvácení může mít efekt na menší predátory, kteří spíše způsobí lokální než velké zranění.

Happ a Eisner (1961) dále prováděli pokusy na dospělých a larvách rodu *Epilachna* a mravencích *Formica exsectoides*. Dospělci slunéček byli přímo přeneseni do hnízda mravenců, kde byli okamžitě napadeni, mravenci k nim směřovali ve skupinách a kousali je. Někdy byli brouci uchopeni za různé přívěsky, ale častěji, protože předstírali smrt a stáhli nohy pod tělo, byli uchopeni za krovky. Jakmile mravenec brouka kousnul, došlo ke krvácení z nejbližšího kolenního spoje. Kapka se pak přenesla na tykadla mravence a obvykle se dostala k ústům. Mravenec okamžitě slunéčko pustil, začal rychle ustupovat a intenzivně se čistit nebo pomalu chodil a třel si svá potřísněná ústa o substrát. Toto chování bylo pozorováno i při setkání s jinými členovci využívajícími obrannou sekreci (Eisner, Meinwald a Monro 1961). Další obranné mechanismy se objevily poté, co hemolymfa začala koagulovat a stala se viskózní a lepkavou. Mravencům se často slepila tykadla, noha se přilepila k tykadlu nebo se jim slepily ústní orgány a nemohly se pohybovat. Také skupiny mravenců se k sobě přilepily. Vždy došlo k zotavení, ale mravencům zabralo minuty až hodinu očistit se od sraženiny.

Happ a Eisner (1961) mimo jiné experimentovali i s larvami. Mravenci je také kousali, ale většinou jen ulomili jeden či více ostnů. Kapky hemolymfy, které se pak uvolnily, byly pro mravence silně repelentní a měly stejný efekt jako u dopělců.

Obrana rodu *Epilachna* je velmi účinná proti mravencům a předpokládá se, že bude mít obdobný účinek i na další predátory.

Zajímavé je, že někteří motýli se také živí medovicí hmyzu chráněného mravenci a vylučují tekutinu, ale ta pro mravence není repelentní, nýbrž atraktivní (Hinton 1951).

V minulosti se často objevovaly spory, zda jde u slunéček skutečně o krev (hemolymfu) nebo o produkt speciálních žláz (Hollande 1911; McIndoo 1916; Rabaud 1922). Happ a Eisner (1961) se díky svým pokusům domnívají, že jde spíše o hemolymfu, neboť má její rysy – obsahuje tytéž buňky a také malinké kuličky, které jsou typické pro hemolymfu slunéček (Grégoire 1955).

Je pozoruhodné, že fytofágní slunéčko *Epilachna varivestis* krvácí ihned, jakmile je napadeno mravenci (Happ a Eisner 1961). Tento druh syntetizuje obrovské množství obranných alkaloidů (Eisner et al. 1986; Attygalle et al. 1993a, b; Proksch et al. 1993; Shi et al. 1997; Radford et al. 1997). Sloggett (1998) argumentuje, že je to možné díky tomu, že *E. varivestis* se živí rostlinami, takže na rozdíl od predátorů bude minimálně limitována potravou, a proto si může dovolit vynaložit více zásob na chemickou obranu a reflexní krvácení. Jasně každopádně je, že larvy slunéček krvácí, když jsou napadeny mravenci (El-Ziady a Kennedy 1956; Happ a Eisner 1961; Bradley 1973; Sloggett 1998). Je to z toho důvodu, že mravenci mohou larvám způsobit větší zranění než dospělým slunéčkům (Majerus 1994). Může to být způsobeno i tím, že larvy se vyskytují v době dostatku kořisti, proto jsou méně limitovány zásobami než dospělci (Sloggett 1998).

Agresivita mravenců pravděpodobně hrála malou roli v počátečním vývoji reflexního krvácení u slunéček. Nicméně mohlo to mít roli při formování správné rovnováhy obranných schopností slunéček proti různým predátorům, parazitům a patogenům. U slunéček, která se často setkávají s mravenci, bude více zásob věnováno do obrany proti mravencům (a méně proti dalším nepřítelům) než u druhů, které se setkávají s mravenci jen výjimečně. Mravenci redukují hustotu potenciálních predátorů a parazitoidů slunéček vyskytujících se v oblastech krmení mravenců, čímž vytvářejí prostor bez nepřátel (Jeffries a Lawton 1984). Pokud to tak skutečně je, pak slunéčka, která se běžně vyskytují spolu s mravenci, včetně myrmekofilů, budou investovat méně zdrojů do obrany proti predátorům/parazitům, kteří jsou odstraněni mravenci, než druhy, které se jen výjimečně vyskytují společně s mravenci (Sloggett 1998).

Vajíčka a některé kukly slunéček také mají chemickou obranu. Vajíčka afidofágních slunéček obsahují obranné chemikálie, které odpuzují některé predátory (Agarwala a Dixon 1992; Majerus 1994; Hemptinne et al. 2005), včetně mravenců (Godeau 1997; Sloggett 1998). Například dělnice *F. rufa* považují vajíčka *C. septempunctata* za repelentní, ačkoliv mohou vajíčka zničit (Sloggett 1998). Některé kukly slunéček (Chilocorini) reflexně krvácí a tato krev má určitý deterentní efekt na mravence. Kukly *E. varivestis* mají povrch krytý žláznatými chloupky, z nichž každý produkuje kapičku alkaloidu, který je repelentní pro mravence (Attygalle et al. 1993a).

### 1.3. ODLIŠNÁ AGRESIVITA MRAVENCŮ

Slunéčka jsou považována za důležitého predátora mšic kvůli své hojnosti a nenasytnosti (Obrycki a Kring 1998; Müller a Godfray 1999). Jednotlivé druhy se liší morfologií, velikostí a chováním a tyto faktory mohou mít vliv na frekvenci mravenčích útoků. Například malé slunéčko *Scymnus posticalis* je mravenci ignorováno, zatímco velké slunéčko *Harmonia axyridis* Pallas je od kolonií mšic mravenci často vyháněno (Kaneko 2002, 2003a). Mimo jiné Völkl a Vohland (1996) zjistili, že voskový povrch slunéčka *Scymnus interruptus* Goeze funguje jako mechanická obrana proti útokům mravenců. Toto zjištění podporuje fakt, že útoky mravenců se budou lišit mezi jednotlivými druhy slunéček v závislosti na jejich vývoji. Tato agresivita mravenců také ovlivňuje sílu mravenců napadajících slunéčka (Kaneko 2003a, b; Katayama a Suzuki 2003). Mimoto množství potravy spotřebované slunéčky by také mohlo být faktorem, který ovlivňuje rozdíly v napadání mravenců různých druhů slunéček, protože velká slunéčka by mohla mít tendenci zůstat v koloniích mšic déle, neboť mají větší potravní požadavky. Delší pobyt měl pravděpodobně za následek větší útoky mutualistických mravenců, a proto se očekává, že velká slunéčka jsou častěji napadána mravenci než malá slunéčka. Ačkoliv je množství spotřebované potravy důležitým faktorem ve vztazích mezi mutualistickými mravenci a afidofágními slunéčky, naše chápání tohoto jevu není zcela kompletní.

Příkladem může být *Coccinella septempunctata brucki* a *Propylea japonica*, které se liší svými potravními nároky, neboť se liší i svou velikostí (Kurosawa et al. 1985), což opět ovlivňuje sílu interakcí mezi slunéčky a mravenci. Tadashi Takizawa a Hironori Yasuda v roce 2005 provedli pokus, při kterém zjišťovali účinky mutualistických mravenců *Lasius japonicus* na potravní chování dvou již zmiňovaných slunéček. Zjistili, že mravenci spíše napadali dospělé *C. septempunctata* než její larvy, zatímco u *P. japonica* nebyly

nalezeny žádné signifikantní rozdíly mezi napadáním dospělců a larválních stádií. Procento dospělců *C. septempunctata* napadených mravenci bylo vyšší než u dospělců *P. japonica*, ale nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly v napadení larev obou druhů. U *C. septempunctata* bylo procento dospělců, kteří utekli, dvakrát vyšší než u larev, ačkoliv rozdíl opět nebyl signifikantní. U *P. japonica* bylo procento dospělců, kteří utekli, signifikantně vyšší než procento larev. Z tohoto pokusu vyplynulo, že množství požadované potravy ovlivňuje rozdíly v počtu mravenčích útoků. Dospělci *C. septempunctata* sežerou více mšic než jiné druhy a vývojová stádia, což vyúsťuje ve vyšší procento napadání mutualistickými mravenci. Mnoho studií ukázalo, že stoupající požadavky na potravu vedou k silnějším interakcím mezi jedinci (Yasuda a Kimura 2001; Yasuda et al. 2001, 2004; Rosenheim et al. 2004). U obou druhů platilo, že dospělci po napadení mravenci utíkali častěji než larvy, ačkoliv rozdíl v útěcích mezi dospělci a larvami u *C. septempunctata* nebyl průkazný, a larvy měly větší tendenci zůstat na rostlině než utéct. Tento rozdíl by mohl být způsoben tím, že pro dospělá sluněčka je jednodušší odlétnout pryč z rostliny a zkusit si najít jinou kolonii mšic. Mimoto larvy by na zemi mohly být napadeny mravenci a dalšími predátory při snaze najít novou rostlinu s mšicemi. Právě tendence larev setrávat na rostlině déle než dospělci může být připisována predačnímu riziku.

Ačkoliv mají dospělci krovky, které se zdají být dobrou obrannou proti útokům mravenců (Völkl 1995; Hodek a Honek 1996) a ukazují obranné chování (Jiggins et al. 1993; Völkl 1995; Sloggett et al. 1998), procento utíkajících dospělců po napadení mravenci bylo vyšší než u larev. To také může mít souvislost s vysokou pohyblivostí dospělců oproti larvám. Oproti tomu nízké procento utíkajících larev, které mají měkký a méně chráněný povrch, je způsobeno jejich nízkou schopností najít si kořist po opuštění rostliny. Dospělci *C. septempunctata* byli napadáni častěji než *P. japonica*, ale na rostlinách setrávalo stejné procento dospělců.

Jsou i další faktory, které mohou ovlivňovat útoky mravenců na sluněčka, například velikost těla, zbarvení a chemické látky. Všeobecně se sluněčka liší morfologií, jako je jejich velikost a zbarvení krovek. Protože je *C. septempunctata* větší než *P. japonica*, možná ji mravenci najdou snáze než *P. japonica*. Pokud by to byla pravda, měli by mravenci napadat obě vývojová stádia *C. septempunctata* častěji než *P. japonica*. K tomu ale nedocházelo, takže se zdá, že velikost těla není kritickým faktorem ovlivňujícím rozdíly v napadání mezi těmito dvěma druhy, ačkoliv Kaneko (2002, 2003a, b) píše, že mutualističtí mravenci nemají negativní vliv na počet malých sluněček, zatímco počet velkých sluněček redukuje.



Jiným faktorem je zbarvení, ve kterém se oba druhy, využitě v tomto pokusu, liší. Také však nebylo zjištěno, že by tento faktor byl důležitým, neboť nebyly zjištěny žádné rozdíly v napadání slunéček, která byla nabarvena různými barvami (Jiggins et al. 1993).

V neposlední řadě jsou zde chemické látky. Je dobře známým faktem, že slunéčka proti predátorům sekretují toxickou tekutinu (Hodek a Honek 1996). Látky obsažené v této tekutině jsou druhově specifické (Marples et al. 1989; de Jong et al. 1991; Holloway et al. 1991) a mohly by ovlivňovat útoky mravenců na slunéčka. Pokud je totiž jejich toxicita pro mravence škodlivá, měla by také ovlivnit jejich agresivitu, ale to bude možná odhaleno v dalších studiích.

Katayama a Suzuki (2003) také zjistili, že intenzita mravenčích útoků na slunéčka závisí na druhu mravenců.

## 1.4. MYRMEKOFÍLIE

Malý počet druhů slunéček je pravidelně v kontaktu s jedním nebo více druhy mravenců a mohou být myrmekofilní (Berti et al. 1983; Sloggett 1998). U *Scymnus fenderi* a *S. formicarius* pochází možnost jejich myrmekofílie ze záznamů, kdy byli dospělci a kukly viděni pohromadě s mravenci. Myrmekofílie *Hyperaspis acanthicola* je založena na nálezích larev uvnitř akátových trnů opuštěných mravenci, a proto také mohou být nespolehlivé. Ale myrmekofílie dalších taxonů je jistější. U druhů *Brachiacantha quadripunctata*, *B. ursina*, *Hyperaspis reppensis* a *Ortalia pallens* je myrmekofílie přítomna pouze u larev. U všech druhů byly larvy nalezeny v hnízdech mravenců a živily se chráněnými červci, *O. pallens* se dokonce živila hostitelskými mravenci (Sloggett 1998). Larvy a kukly slunéčka *Thalassa saginata* se vyvíjejí v hnízdech mravence *Dolichoderus bidens* (Berti et al. 1983). Larvy napodobují kutikulární lipidy mravenčích larev, ačkoliv není známo, že by se jimi živily (Orivel et al. 2004).

U *Coccinella magnifica* a *Platynaspis luteorubra* jsou adaptace k myrmekofílii patrné jak u larev, tak u dalších vývojových stádií. Oba druhy byly podrobně studovány.

### 1.4.1. PŘÍPAD *COCCINELLA MAGNIFICA*

*Coccinella magnifica* je známý myrmekofil (Sloggett et al. 2002). Vyskytuje se na většině palearktické oblasti a její distribuce je výsledkem asociace s mravenci. V severozápadní Evropě se vyskytuje v oblastech, kde mravenci *F. rufa* loví.

Donisthorpe (1919-1920) umístil *C. magnifica* a *C. septempunctata* na hnízda *F. rufa* – první byla jen nepatrně napadána, zatímco druhá byla napadána dost důrazně. Pontin (1959) a

Majerus (1989) zaznamenali stejné pozorování. Někteří výzkumníci zjistili, že dospělec *C. magnifica* při napadení mravenci silně krvácí (Donisthorpe 1919-1920), zatímco jiní zjistili, že její obrana proti útoku mravenců jen vzácně zahrnuje reflexní krvácení (Majerus 1989; Jiggins et al. 1993).

Je spousta hypotéz, které se snaží vysvětlit, proč mravenci málo útočí na *C. magnifica*. Jednou z nich je, že *C. magnifica* vylučuje látku, která odpuzuje mravence (Majerus 1989; Sloggett 1998) tím, že prezentuje nechutnost nebo toxicitu. Jiná říká, že slunéčka mohou vylučovat chemikálie, které napodobují pach mravence, popř. pach mšic (Majerus 1989). Třetí možností je, že *C. magnifica* vylučuje chemikálii, která je pro mravence škodlivá (Donisthorpe 1919-1920). Terénní a laboratorní studie zabývající se interakcemi mezi *C. magnifica* či jinými slunéčky a *F. rufa* byly použity pro testování těchto hypotéz (Sloggett et al. 1998; Sloggett a Majerus 2003). Jeden z experimentů se zabýval chováním *F. rufa* k *C. magnifica* a *C. septempunctata* nacházejících se na potravních cestách a v mravenci chráněných koloniích mšic. Na cestách byla *C. magnifica* občas napadena, ale mnohem méně než *C. septempunctata*. Toto zjištění je důležité, Godeau et al. (2003) ukázal, že *C. magnifica* sleduje mravenčí cesty, aby lokalizovala kolonie mšic. Navíc, *C. magnifica* zůstávala v mravenci chráněných koloniích déle a byla úspěšnější v lovení mšic než *C. septempunctata*. Ačkoliv mravenci napadali oba druhy, stupeň agrese proti *C. septempunctata* byl vyšší než proti *C. magnifica*. Jako odpověď na útok *C. septempunctata* spadla z rostliny nebo odletěla častěji než *C. magnifica*. Dospělci *C. septempunctata* také často odpovídali na útok reflexním krvácením, zatímco *C. magnifica* tak nečinila nikdy. Larvy obou druhů krvácely při napadení, ale ačkoliv larva *C. magnifica* krvácela méně často než larva *C. septempunctata*, odpuzovala mravence více (Sloggett a Majerus 2003). Larva *C. magnifica* také byla často nalezena v situacích, které minimalizovaly agresi mravenců – krmila se na mšicích vytlačených z mravenčích cest nebo nechráněných koloniích. Mimoto *C. magnifica* klade vajíčka mimo chráněné kolonie mšic, a to blízko těch nechráněných (Sloggett a Majerus 2003).

Sloggett (1998) se také zabýval chemií *C. magnifica* a *C. septempunctata*. Zjistil, že mrtvá *C. septempunctata* byla častěji napadána na mravenčích cestách než *C. magnifica*, i když obě těla byla zbavena krovek nebo křídel. Z toho vydedukoval, že nízký stupeň agrese mravenců vůči *C. magnifica* má chemický základ. Analýza kutikulárních lipidů obou druhů ukázala drobné rozdíly a slabou podobnost s povrchovými lipidy *F. rufa* (Lognay, Sloggett a Hemptinne v Sloggett 1998). S ohledem na podobnost mezi povrchovými lipidy *C. magnifica* a *F. rufa* Sloggett (1998) usoudil, že obrana *C. magnifica* vůči mravencům není založena na chemických mimikry. Kromě toho podobnost v kutikulárních lipidech u *C. magnifica* a

*C. septempunctata* činí nepravděpodobné, že by *C. magnifica* získala svou imunitu napodobováním dalších elementů habitatu (Sloggett 1998). Sloggett usoudil, že obrana *C. magnifica* je pravděpodobně založena na chemických repelentech a že tyto chemikálie jsou alkaloidy a možná i pyraziny. Zatímco dominantním alkaloidem, který produkuje většina druhů rodu *Coccinella* je coccinellin a precoccinellin, *C. magnifica* produkuje hippodamin a convergin (Dixon 2000; Sloggett 2005) a convergin je pro mravence více odpuzující než coccinellin (Pasteels et al. 1973).

#### **1.4.2. PŘÍPAD *PLATYNASPIS LUTEORUBRA***

Völkl (1995) ukázal, že *P. luteorubra* je pravým myrmekofilem a larvy jsou často nacházeny v asociaci s mravenci chráněnými mšicemi. Intenzivní terénní studie na různých rostlinách ukazují, že larvy *P. luteorubra* se častěji vyskytují v chráněných než nechráněných koloniích.

Tento druh má spoustu morfologických a behaviorálních adaptací k životu s mravenci, což mu umožňuje přístup k mravenci chráněným zdrojům. Mravenci nerozeznají larvu *P. luteorubra* jako nebezpečí pro své mšice. Může to být i tím, že larva má neobvyklý, červce připomínající tvar a pomalé nenápadné pohyby. Völkl také předpokládá, že larva produkuje kamuflážní chemikálie. Studie v Německu ukazují, že když byly larvy přenášeny mezi koloniemi mravenci chráněných mšic, *Aphis fabae* a *Metopeurum fuscoviride*, odpověď mravenců na ně se změnila. Larva přenesená do nové kolonie konspecifických mšic nebyla atakována, zatímco larva přenesená do kolonie jiného druhu atakována byla (Oczenascheck 1997). Analýza larválních kutikulárních lipidů ukázala, že jsou shodné jak v typu, tak kvantitě s lipidy jejich kořisti. Protože kutikulární lipidy těchto dvou mšic se liší v kvalitě i kvantitě, změna kořisti vedla ke změně lipidů a tudíž i ke zlepšení efektivity larválních chemických mimikry. Je to velice účinná forma pachových mimikry, protože larvy nemusí vyrábět rozdílné koktejly mimetických chemikálií, když se živí odlišnou kořistí.

Völkl (1995) zjistil, že kukly *P. luteorubra* byly často napadány *L. niger*, ale husté dlouhé chlupy je chránily před zraněním. Chemické mimikry larvy nejsou přenášeny do pupálního stádia. Pravděpodobně je to kvůli tomu, že v kutikulárních sloučeninách kukly převažují alkoholy nad lipidy.

V Belgii se dospělci sluněčka *P. luteorubra* často živí mšicemi *A. fabae* chráněnými mravenci *L. niger* (Godeau 2000). Nedvěd (nepublikováno) nacházel opakovaně larvy, kukly a dospělá sluněčka *P. luteorubra* na pustorylu *Philadelphus coronarius* napadeném mšicemi *Aphis philadelphii* pod ochranou mravence *L. niger*. Dospělci jsou mravenci často napadáni a

odpovídají odlétnutím nebo „clamping down“. Myrmekofílie *P. luteorubra* je adaptivní. Larvy v chráněných koloniích chytí více kořisti než larvy v nechráněných a také dospělci vyvíjející se v chráněných koloniích jsou větší než ti vyvíjející se v nechráněných (Völkl 1995).

### 1.4.3. EVOLUCE MYRMEKOFÍLIE SLUNÉČEK

V adaptacích, které si vyvinuly dva nejlépe prostudované druhy myrmekofilních slunéček a které jim umožňují žít s mravenci, najdeme pozoruhodné rozdíly. Larvy *Platynaspis luteorubra* chemicky napodobují mšice tím, že sekvestrují mimetické chemikálie přímo z potravy. *Coccinella magnifica* používá mravence odpuzující chemikálie, stejně jako fyzikální a behaviorální obranu. I přes tyto rozdílné adaptace je hlavní důvod myrmekofílie pravděpodobně tentýž: umožnit jim žít se mravenci chráněnými mšicemi, když je ostatních mšic nedostatek. Komparativní práce na *C. magnifica* a *C. septempunctata* umožňují spekulovat o evoluci myrmekofílie. Sloggett a Majerus (2000a) ukazují, že *C. septempunctata* má určitou toleranci k *F. rufa* během period, kdy je mšic nedostatek. Toto slunéčko je netolerantní k nízké dostupnosti mšic, a proto si možná vyvinulo malou toleranci k mravencům.

Myrmekofílie má určité výhody – redukce energetických nákladů spojených s migrací za potravou, snížení kompetice s dalšími druhy živíci se mšicemi a snížení denzity predátorů a parazitoidů slunéček (Sloggett a Majerus 2000a). Život v blízkosti agresivních mravenců možná dává myrmekofilním slunéčkům výhodu být v „prostoru bez nepřátel“. U *P. luteorubra* žijících s mravenci došlo ke snížení množství infekcí spojených s parazitoidní vosičkou *Homalotylus platynaspis* (Völkl 1995). Stejně tak Majerus (1994) a Sloggett et al. (2004) uvádějí, že *C. magnifica* je méně parazitována lumčíkem *Dinocampus coccinellae* než *C. septempunctata* žijící v témže habitatu.

## 1.5. POKUSY SE SLUNÉČKY

### 1.5.1. SLUNÉČKA A SÝKORKY

Ptáci se při výběru potravy řídí hlavně zrakem, proto je pro hmyz výhodné být aposematickým. Aposematismus je jev, kdy nebezpečná, nepoživatelná nebo pro predátora jinak nepříjemná kořist dává tuto svou vlastnost najevo výstražným zbarvením. Účinnost optického signálu zesiluje uspořádání barev – obvykle červená až žlutá v kombinaci s černou v podélných nebo příčných pruzích nebo různých skvrnách (Endler 1981; Alatalo a Mappes

1996, 2000; Lindström et al. 2001). Pestré zbarvení a jiné výstražné signály by se měl predátor rychle naučit asociovat s nechutností, nepoživatelností, toxicitou, ostny, trny, žihadlem či jinými pro predátora škodlivými vlastnostmi a při příštím setkání se takovéto kořisti raději vyhnout (Edmunds 1974; Gittlemann a Harvey 1980; Guilford 1986; Roper a Redston 1987; Speed 1993b, 2000).

Výzkumy ukazují, že ptáci berou na zřetel v první řadě barvu varovného signálu a až po té kontrast a vzor (Gamberale-Stille a Guilford 2003). Čím je výstražný signál nápadnější, tím silnější reakci u ptáka vyvolá a ten se rychleji naučí takovéto kořisti vyhýbat (Roper a Redston 1987).

M. Dolenská (2006) provedla pokus, kdy sýkorám *Parus major* předkládala několik druhů slunéček. Testovala reakci dospělců na slunéčka lišící se barvou podkladu, vzorem zbarvení a velikostí. Mezi testované druhy patřili *Coccinella septempunctata*, *Exochomus quadripustulatus*, *Subcoccinella vigintiquatuorpunctata* a *Cynegetis impunctata*. Dále testovala reakci dospělých sýkor na *Coccinella septempunctata* bez varovného zbarvení, kdy bylo slunéčko nabarveno nahnědo a reakci sýkor na slunéčka *Coccinella septempunctata* zbavená krovek. Bylo zjištěno, že *Cynegetis impunctata* byl ze čtyř testovaných druhů napadán nejčastěji. Slunéčko sedmítečné zbarvené nahnědo bylo taktéž často napadáno a ještě častěji, když bylo zbaveno krovek. Z těchto pokusů vyplývá, že pro ptáky není při výběru potravy podstatná její velikost stejně jako počet, tvar a barva teček, ale velmi důležitá je přítomnost tečkovaného vzoru. Z tohoto důvodu byl *Cynegetis* často napadán. Dalším důležitým faktorem je tvar slunéčka. *Coccinella septempunctata* zbavená krovek byla často napadána z důvodu, že ptákům spíše než slunéčko připomínala mouchu.

### 1.5.2. SLUNÉČKA, MRAVENCÍ A KŘEPELKY

Nejprve byly izolovány dva alkaloidy, coccinellin a precoccinellin, ze slunéčka sedmítečného (Tursch et al. 1971a). Tyto alkaloidy jsou odpovědné za ochranu tohoto druhu a jsou velmi repelentní pro mravence *Myrmica rubra*. Byla zjištěna molekulární struktura těchto sloučenin. Následně byly nalezeny alkaloidy u třech dalších aposematických druhů *Hippodamia convergens*, *Adalia bipunctata* a *Propylea quatuordecimpunctata* (Tursch et al. 1972, 1973).

Ne všechna slunéčka jsou aposematická, takže je důležité studovat, zda přítomnost alkaloidů u slunéček je obecná. Také je užitečné stanovit účinnost chemické obrany slunéček. Toto bylo studováno pomocí mravence *Myrmica rubra* a křepelek *Coturnix coturnix* Pasteels et al. (1973):

Slunéčka několika druhů byla nasbírána v Belgii, Francii a Švýcarsku a uložena v methanolu. *Hippodamia convergens* byla nasbírána v Kalifornii a *Cycloneda sanguinea* na Galapážských ostrovech. *Henosepilachna signatipennis* byla nasbírána na Nové Guineji, poskytnuta doktorem Moorem.

Všechny pokusy byly provedeny s mravencem *Myrmica rubra* chovaným podle metody popsané Tricotem a evropská křepelka *Coturnix coturnix* poskytnuta z chovů byla udržovaná v laboratoři.

Chemické metody ve studii Pasteelse et al. (1973) byly následující – kolem 50 jedinců každého druhu slunéčka bylo homogenizováno v 10 ml methanolu. Získaná suspenze byla odfiltrována a ještě několikrát promytá methanolem. Roztok byl odpařen pod nízkým tlakem a pevný zbytek rozpuštěn ve vodném roztoku kys. chlorovodíkové 10% (2x25 ml). Roztok byl protřepán s chloroformem (2x25 ml), následně neutralizován amoniakem a nově extrahován chloroformem (3x25 ml) – tyto roztoky byly spojeny a vysušeny pod nízkým tlakem. Odparek obsahoval zásadité sloučeniny přítomné ve slunéčkách.

Tato směs byla čištěna chromatograficky na hliníkové koloně. Jednotlivé rozdělené alkaloidy byly charakterizovány podle své hmotnosti (HITACHI-PERKIN ELMER-RMU, 60), podle své R<sub>f</sub> (na aluminiové destičce s Dragendorffovým nosičem) a dle svého infračerveného spektra.

### **Výskyt alkaloidů u slunéčkovitých**

Rozdíl mezi aposematickými a neaposematickými druhy není vždy jednoduché stanovit. I v rámci druhu se zbarvení mění. O druzích nejvíce kryptických (s nevýraznou barvou) se Pasteels et al. (1973) domnívali, že alkaloidy nemají. Žádné alkaloidy nebyly tehdy zjištěny u slunéček *Pullus auritus*, *Pullus suturalis*, *Rhizobius litura* a *Aphidecta obliterata*, čili jsou to druhy se zbarvením šedým, béžovým nebo hnědým bez výrazného vzoru. Naproti tomu nejvíce aposematická slunéčka obsahovala jeden nebo více identifikovaných druhů alkaloidů.

Vajíčka, larvy a dospělci *C. septempunctata* obsahují coccinellin a precoccinellin. Naproti tomu mšice, kterými se larvy živily, žádné alkaloidy neobsahují. Ty jsou syntetizovány přímo slunéčky. Druhy s alkaloidy i bez nich se mohou vyskytovat jak mezi slunéčky fytofágními (Epilachninae), tak mezi slunéčky dravými.

Alkaloidy, jejichž molekulární struktura byla již dávno přesně známá, patří slunéčkům z tribu Coccinellini. Sloučeniny coccinellin, precoccinellin, propylein a hippodamin jsou blízké deriváty a mohou být změněny jednoduchým metabolickým mechanismem mezi sebou i s adalinem.

Pasteels et al. (1973) věděli, že některé druhy rodů *Adonia*, *Harmonia* a *Calvia* mají alkaloidy takové molekulové hmotnosti, že jejich molekulární strukturu předpokládali za zcela odlišnou.

Výsledky souhlasí s taxonomií, například dva druhy rodu *Adalia* obsahují stejný alkaloid adalin a tři druhy rodu *Coccinella* obsahují coccinellin. Podle fylogeneze dle Sasajihho se zdálo, že alkaloidy se nacházejí u velmi odvozených linií.

### **Ochrana před mravenci**

Test byl proveden Pasteelsem et al. (1973) s osmi druhy slunéček, kde u pěti byly známy alkaloidy (*Coccinella septempunctata*, *Propylea quatuordecimpunctata*, *Thea vigintiduopunctata*, *Calvia quatuordecimguttata* a *Adalia bipunctata*) a u tří dosud ne (*Subcoccinella vigintiquatuorpunctata*, *Rhizobius litura* a *Aphidecta oblitterata*). Pět kusů slunéček od každého druhu bylo umístěno do blízkosti hnízda mravence *Myrmica rubra*. Vědělo se, že jedlí členovci (různé mouchy) nabízení stejným způsobem byli rychle zaneseni do hnízda a zkonsumováni, takže mravenci by mohli přijímat slunéčka stejným způsobem. Mravenci při prvním kontaktu se slunéčky ustupovali, nakonec je odvěkli mimo hnízdo. Během transportu byli mravenci vzrušeni, rychle pobíhali, často se zastavovali a čistili si ústní ústrojí a tykadla. Během hodiny méně vzrušení mravenci zatáhli několik slunéček dovnitř hnízda, ale většina byla během čtvrt nebo půl hodiny odmítnuta a nekonsumována. Takové chování nebylo nikdy pozorováno s jedlým druhem hmyzu.

Mravenci odmítali slunéčka různě intenzivně. *Coccinella septempunctata*, *Propylea quatuordecimpunctata* a *Thea vigintiduopunctata* jsou nejlépe chráněny, neboť nebyly nikdy transportovány dovnitř hnízda. Ačkoliv *Calvia* a *Adalia* byly někdy zavlečeny do hnízda, většinou byly odmítány. Slunéčka bez známých alkaloidů (*Aphidecta*) byla pro mravence jedlá. Zbylé dva druhy rodu *Rhizobius* a *Subcoccinella* byly částečně zavlečeny do hnízda, takže bylo předpokládáno, že obsahují nějaký jiný typ obranné sloučeniny.

### **Biologický test s extrakty**

Mravenci vykazovali repelentní chování i při kontaktu s pouhými extrakty ze slunéček (Pasteels et al. 1973). Extrakt nebo frakce odpovídající vždy 10 jedincům byl přenesen na filtrační papír o průměru 4,5 cm. Stejný filtrační papír byl nasáknut čistým rozpouštědlem jako kontrola. Doprostřed těchto dvou papírků byl umístěn plastický terčik a na něj jedna kapka roztoku cukru. Po odpaření rozpouštědla (methanolu) byly papírky umístěny poblíž mravenců. Proporce mravenců, kteří se krmili na papírku nasáklém roztokem alkaloidu, vůči počtu mravenců, kteří se krmili na obou dohromady, umožnily stanovit, jestli je daná

koncentrace repelentní. Papírky byly u mravenců 15 minut a počet mravenců počítán každou minutu.

### **Měření repelentní aktivity coccinellinu a converginu pro mravence**

Pokus byl uspořádán jako minulý (Pasteels et al. 1973), ale mravenci měli na vybranou mezi čistou vodou a vodním roztokem se známou koncentrací alkaloidu. Poměr odpuzených

mravenců se počítal podle vzorce: 
$$X = 2 \left[ \left( 100 \frac{B}{A+B} \right) - 50 \right],$$

kde X je procento odpuzených mravenců, B je počet mravenců, kteří pili čistou vodu, A je počet mravenců, kteří pili roztok alkaloidu. Pro každou koncentraci bylo uděláno pět testů u různých pěti hnízd.

Convergin měl repelentní schopnost asi 1,5x vyšší než coccinellin. Koncentrace  $10^{-3}$  mol coccinellinu a  $7 \times 10^{-4}$  mol converginu odpuzuje 50% mravenců. Nejnižší aktivní koncentrace je  $5 \times 10^{-4}$  mol coccinellinu a  $2 \times 10^{-4}$  mol u converginu. Rozdíly v aktivitě mezi oběma alkaloidy přetrvávají při různých koncentracích.

Při stejném experimentu s použitím benzochinonu bylo odpuzováno 50% mravenců při koncentraci  $1,6 \times 10^{-3}$  mol a  $10^{-3}$  mol už prakticky nebylo aktivní. Oba alkaloidy jsou aktivnější než benzochinon ve vodném roztoku.

Coccinellin tvoří 1,5% suché hmotnosti slunéčka sedmitečného a jeho koncentrace v hemolymfě je asi  $3 \times 10^{-2}$  mol. Přítomnost tohoto alkaloidu dostatečně vysvětluje imunitu tohoto druhu před mravenci.

Naše vlastní experimenty s extrakty slunéček byly založeny právě na tomto typu z mnoha pokusů Pasteelse a jeho kolektivu (1973).

### **Ochrana před křepelkami**

Autoři (Pasteels et al. 1973) neověřili přímo repelentní aktivitu alkaloidů proti obratlovcům, zřejmě kvůli celkovému malému množství sloučeniny vzhledem k velikosti predátora. Nemohli tedy konstatovat, že slunéčka, která podle tehdejších znalostí neměla mít alkaloidy, jsou snadněji akceptovaná než ta, co alkaloidy známé měla. Křepelka nespolkne hmyz hned, klovně do něj, vezme hmyz do zobáku, upustí ho a to zkusí ještě jednou až dvakrát, až ho nakonec spolkne.

Pět slunéček osmi druhů bylo předkládáno třem křepelkám. Počet slunéček pozřených každou křepelkou byl zaznamenán. Několik jedinců nebylo pozřeno, ani do nich nebylo klovnuto. Tři druhy bez známých alkaloidů byly akceptovány všemi křepelkami. Druhy s alkaloidy jedna křepelka odmítala a zbylé dvě jich sežraly spoustu. Jen *C. septempunctata* byla odmítnuta všemi třemi křepelkami.



## 1.6. CÍLE PRÁCE

Cílem práce bylo sestavit pořadí toxicity jednotlivých druhů slunéček a korelovat ho s prostředím, ve kterém slunéčka žijí, s jejich potravou, zbarvením a velikostí. Pracovala jsem s osmi druhy slunéček: *Adalia bipunctata*, *Calvia quatuordecimguttata*, *Coccinella septempunctata*, *Cynegetis impunctata*, *Exochomus quadripustulatus*, *Halyzia sedecimguttata*, *Harmonia axyridis* a *Psyllobora vigintiduopunctata*. Testovanými mravenci byl druh *Lasius niger*.

## 1.7. TESTOVANÉ DRUHY

### 1.7.1. ADALIA BIPUNCTATA

Je 3,5–5,5 mm velké slunéčko, které je variabilní. Typická forma je červená se dvěma černými tečkami a u odvozené formy dochází ke splývání center melanizace, takže je slunéčko převážně černé. Běžně ho nalezneme v zahradách nebo na stromech. Živí se mšicemi.

### 1.7.2. CALVIA QUATUORDECIMGUTTATA

5–6,5 mm velké slunéčko, které je hnědé se čtrnácti bílými tečkami. Najdeme ho na různých listnatých dřevinách a živí se mšicemi a merami.

### 1.7.3. COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA

Slunéčko sedmitečné je 5–8 mm velké a má typické červené zbarvení se sedmi černými tečkami. Kromě hlubokých lesů ho najdeme téměř všude. Jeho hlavní potravou jsou mšice, může však lovit řadu dalšího drobného hmyzu.

### 1.7.4. CYNEGETIS IMPUNCTATA

Je 3–4 mm velké slunéčko, jehož krovky jsou pokryté jemnými chloupky. Jedinci střeoevropské populace nemají žádné nebo jen několik nepravidelných teček. Najdeme ho na travnatých plochách, kde se živí fytofágně.

### 1.7.5. EXOCHOMUS QUADRIPUSTULATUS

Je 3–5 mm velké slunéčko, které je černé s červenými tečkami. Najdeme ho v jehličnatých lesích, parcích a křoví. Jde o druh převážně kokcidofágní, ale živí se i mšicemi.

### **1.7.6. HALYZIA SEDECIMGUTTATA**

6–9 mm velké slunéčko je oranžové s bílými tečkami. Najdeme ho v prosluněných lesích a na listech. Živí se převážně padlím, ojediněle mšicemi.

### **1.7.7. HARMONIA AXYRIDIS**

5–9 mm velké slunéčko, které je ve zbarvení vysoce variabilní. Může být oranžové až červené s tečkami i bez teček nebo černé se dvěma až čtyřmi červenými tečkami. Najdeme ho na stromech v zahradách a parcích. Jde o slunéčko afidofágní.

### **1.7.8. PSYLLOBORA VIGINTIDUOPUNCTATA**

Toto 2,5–3,5 mm velké slunéčko je žluté s vysokým počtem černých teček. Dává přednost teplým osluněným lesním okrajům, mezím, suchopárům a podobným místům s řídkou vegetací. Druh je potravně specializován, živí se různými druhy padlí, což jsou parazitické houby.

### **1.7.9. LASIUS NIGER**

Tento mravenec se vyskytuje v Evropě, Asii, severní Africe a Severní Americe. Jeho hnízdo bývá ukryto pod kameny, ve starých pařezech nebo v kmenech stromů, ale často jde o kupu zeminy v bylinné vegetaci. Oblíbenou potravou dospělých mravenců je medovice červců a mšic. Cestičky mezi koloniemi mšic a mraveništěm jsou vyznačeny chemicky a mnohdy jsou zakryté.

## **2. METODIKA**

### **2.1. EXTRAKCE ALKALOIDŮ**

Ze slunéček byly vyizolovány alkaloidy následujícím způsobem. Slunéčko byla zváženo na analytických vahách, bylo k němu přidáno 400 µl methanolu a bylo rozmixováno. Suspenze se odstředila v centrifuze a tekutina se odsála. Opět bylo přidáno 400 µl methanolu, směs se promíchala, odstředila v centrifuze a tekutina se odsála do připravené ependorfky. Z extraktu se nechal odpařit methanol proudem dusíku za zvýšené teploty. Po odpaření se přidal 4,5 násobek hmotnosti slunéčka 1% vodného roztoku sacharózy a 4,5 násobek hmotnosti slunéčka hexanu. Tekutina se promíchala na vortexu při 1200 ot/min a nechala odstředit v centrifuze. Hexan s rozpuštěnými lipidy, který se oddělil v horní části, byl odstraněn

pipetou. Nakonec byl přidán 4% vodný roztok sacharózy v poměru 1:1 a takto byl získán extrakt alkaloidů ze slunéčka v koncentraci 1:9.

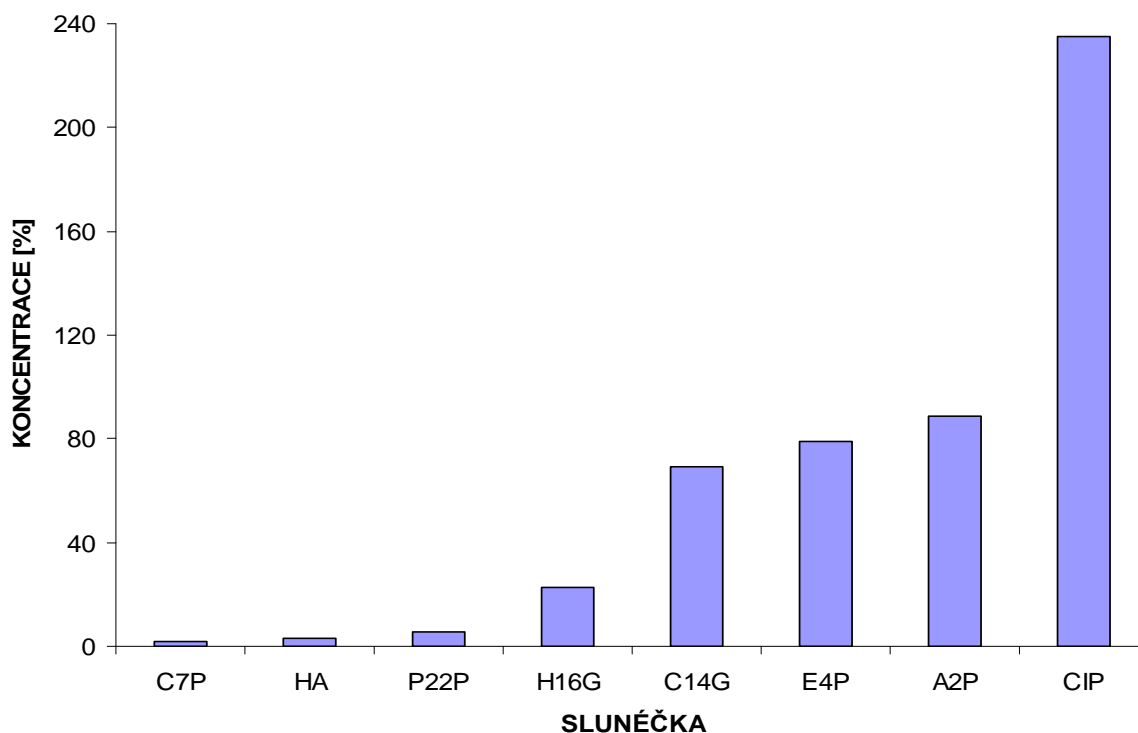
## 2.2. PRŮBĚH POKUSU

Mravenci *Lasius niger* z přírody byli přeneseni do plastového boxu o rozměrech 38x28,5x3 cm po 50 jedincích a nechali se 16 hodin vyhladovět, k dispozici měli pouze vodu. Po 16 hodinách jim byla voda odebrána a dána možnost vybrat si mezi 50  $\mu$ l 4% sacharózy a 50  $\mu$ l roztoku alkaloidu smíchaného se sacharózou. Oba vzorky byly nakapány na mikroskopovací podložní sklíčko ve vzdálenosti cca. 2 cm. Po pěti minutách byli spočítáni mravenci u obou vzorků. Pět minut je pro mravence nezbytná doba, aby se vzpamatovali z vyrušení a mohli se rozhodnout, kterou z kapek si zvolí. Tento pokus byl opakován pro každou koncentraci extraktů z jednotlivých druhů slunéček desetkrát. Koncentrace byly modifikovány podle reakce na základní extrakt.

Závislost reakce mravenců na koncentraci extraktu byla proložena logistickou křivkou:  $RP = \frac{\text{Exp}(b \cdot (C_{50} - c))}{1 + \text{Exp}(b \cdot (C_{50} - c))}$ , kde RP je snášlivost, tj. relativní počet mravenců u kapky s alkaloidem (0 = kapka zcela odmítána, 1 = přijímána stejně jako kontrolní roztok cukru), c je relativní koncentrace alkaloidu, b je parametr udávající sklon esovité křivky,  $C_{50}$  je koncentrace, při které je přijatelnost roztoku s alkaloidem poloviční oproti kontrole.

## 3. VÝSLEDKY

Mezi nejvíce nechutná slunéčka patří *Coccinella septempunctata*, *Harmonia axyridis* a *Psyllobora vigintiduopunctata*. Uprostřed se nachází *Halysia sedecimguttata*, *Calvia quatuordecimguttata* a *Exochomus quadripustulatus* společně s *Adalia bipunctata*. Slunéčko *Cynegetis impunctata* nebylo pro mravence nijak zvlášť nechutné (viz. Graf 1).



Graf 1 – Pořadí nechutnosti (odpuzující koncentrace extraktu  $C_{50}$ ) jednotlivých druhů sluněček pro mravence *Lasius niger*.

C7P – *Coccinella septempunctata*, HA – *Harmonia axyridis*

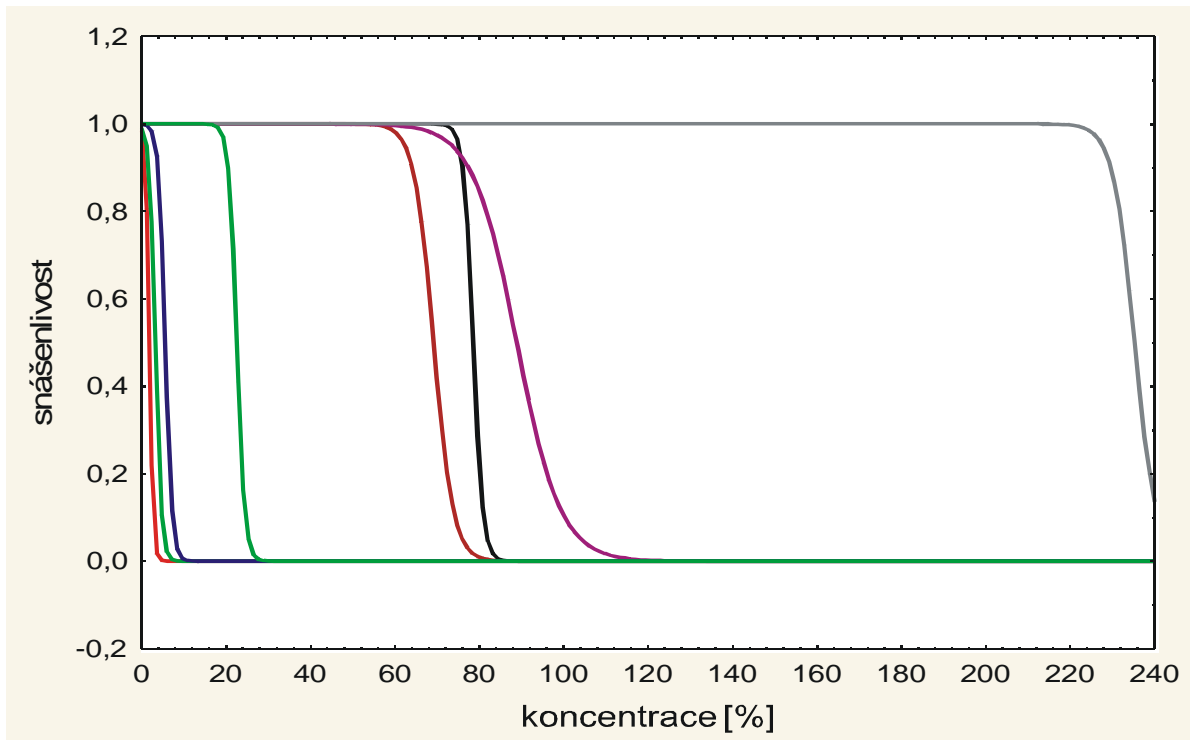
P22P – *Psyllobora vigintiduopunctata*, H16G – *Halyzia sedecimguttata*

C14G – *Calvia quatuordecimguttata*, E4P – *Exochomus quadripustulatus*

A2P – *Adalia bipunctata*, CIP – *Cynegetis impunctata*

Reakce na extrakty z jednotlivých druhů sluněček se výrazně lišila. U některých byla odmítána koncentrace nižší než je v živém sluněčku, zatímco u jiných byla odmítána koncentrace srovnatelná s koncentrací u živého sluněčka (viz. Graf 2). Vysoké koncentrace extraktu nebyly mravenci přijímány, pili pouze roztok sacharózy. Při středně nízkých koncentracích již někteří jedinci extrakt pili a při nízkých koncentracích se počet jedinců pijících extrakt a samotnou sacharózu začal vyrovnávat.

Rozdíly v reakcích na extrakty byly pozorovány i v chování. Po ochutnání vysoké koncentrace extraktu mravenci od kapky rychle utekli a začali se čistit. Při středně nízkých koncentracích od kapky pomalu ustupovali a čistili se jen někteří. Při nízkých koncentracích setrvali u kapky a pili tak dlouho, dokud neměli průhledný abdomen a poté šli informovat ostatní jedince. Tato komunikace probíhala pouze u mravenci přijímaných koncentrací, u nepřijímaných ke komunikaci nedocházelo.



Graf 2 – Průběh reakce mravenců na koncentrace extraktů z jednotlivých druhů slunéček. 1 = roztok přijmut, 0 = roztok odmítnut. Proloženo logistickou křivkou.

*Coccinella septempunctata*, *Harmonia axyridis*, *Psyllobora vigintiduopunctata*,  
*Halyzia sedecimguttata*, *Calvia quatuordecimguttata*, *Exochomus quadripustulatus*,  
*Adalia bipunctata*, *Cynegetis impunctata*

Bylo zjištěno, že míra reakce na extrakty ( $C_{50}$ ) není výrazně korelována s tělesnou velikostí slunéček; mírná nekvantifikovaná závislost reakce je pouze na zbarvení (viz. obr. 1-8, kde jsou slunéčka srovnána od nejvíce odmítaného druhu po druh nejméně odmítaný).



Obr. 1 – *Coccinella septempunctata*



Obr. 2 – *Harmonia axyridis*



Obr. 3 – *Psyllobora vigintiduopunctata*



Obr. 4 – *Halysia sedecimguttata*



Obr. 5 – *Calvia quatuordecimguttata*



Obr. 6 – *Exochomus quadripustulatus*



Obr. 7 – *Adalia bipunctata*



Obr. 8 – *Cynegetis impunctata*

## 4. DISKUSE

Sestavené pořadí nechutnosti slunéček pro mravence *Lasius niger* bylo *Coccinella septempunctata*, *Harmonia axyridis* a *Psyllobora vigintiduopunctata*; dále *Halyzia sedecimguttata*, *Calvia quatuordecimguttata* a *Exochomus quadripustulatus* společně s *Adalia bipunctata*; zatímco slunéčko *Cynegetis impunctata* nebylo pro mravence nijak zvlášť nechutné. Reakce na extrakty není korelována s velikostí slunéček – nejvíce odmítaná slunéčka *Coccinella septempunctata* a *Harmonia axyridis* jsou sice velká, ale dalším hodně odmítaným slunéčkem byla *Psyllobora vigintiduopunctata*, což je druh malý.

Mírná závislost je pouze na zbarvení. Více byly odmítány druhy se světlým podkladem a výraznými tmavými tečkami (viz. Obr. 1) jako je *C. septempunctata* a *H. axyridis*, jejichž podklad je červený s černými tečkami, a dále *P. vigintiduopunctata*, která je žlutá s černými tečkami. Ačkoliv je *A. bipunctata* také považována za aposematický druh, v pořadí nechutnosti se umístila předposlední.

Extrakt z *Cynegetis impunctata* byl dobře přijímán, což bylo překvapivé. Jde sice o druh, který je nevýrazný, má hnědou barvu, ale jeho přijímání bychom spíše očekávali u ptáků, kteří se při vybírání potravy orientují zrakem, nikoliv však u mravenců, jejichž orientace je založena především na čichu. Jedním z faktorů, proč je toto slunéčko hůře chráněno, může být, že jde o druh fytofágní. Sice žije na trávě a často se tak dostává do kontaktu s lučními mravenci rodu *Lasius*, ale protože se neživí mšicemi, nemají pravděpodobně mravenci potřebu ho napadat. Tato teorie je ovšem v kontrastu s výsledky u slunéčka *P. vigintiduopunctata*, které se živí padlím a nemělo by tudíž být pro mravence nijak nebezpečné. I přesto obsahuje alkaloidy, které jsou pro mravence dost odpuzivé. Stejně je to s pořadím druhu *H. sedecimguttata*, které se mšicemi živí jen ojediněle a přesto se v pořadí nechutnosti umístilo před afidofágními druhy *E. quadripustulatus* a *A. bipunctata*.

*C. septempunctata*, *P. vigintiduopunctata*, *C. impunctata* jsou výhradně bylinné druhy, zatímco *H. axyridis*, *H. sedecimguttata*, *C. quatuordecimguttata*, *E. quadripustulatus* a *A. bipunctata* jsou druhy stromové, tudíž zde není žádná jasná korelace s prostředím.

O druzích nejvíce kryptických (s nevýraznou barvou) se Pasteels et al. (1973) domnívali, že alkaloidy nemají. Žádné alkaloidy nebyly tehdy zjištěny u slunéček *Pullus auritus*, *Pullus suturalis*, *Rhizobius litura* a *Aphidecta oblitterata*, čili jsou to druhy se zbarvením šedým, béžovým nebo hnědým bez výrazného vzoru. Naproti tomu nejvíce aposematická slunéčka obsahovala jeden nebo více identifikovaných druhů alkaloidů. Alkaloidy však byly nakonec nalezeny i u druhů kryptických.

V jeho testech s mravenci *Myrmica rubra* odmítali mravenci slunéčka různě intenzivně. *Coccinella septempunctata*, *Propylea quatuordecimpunctata* a *Psyllobora vigintiduopunctata* jsou nejlépe chráněny, neboť nebyly nikdy transportovány dovnitř hnízda. Ačkoliv *Calvia* a *Adalia* byly někdy zavlčeny do hnízda, většinou byly odmítány. Tímto testem byla ověřena chemická ochrana slunéček proti mravencům. V námi prováděných testech s mravenci *Lasius niger* se slunéčka *Coccinella septempunctata* a *Psyllobora vigintiduopunctata* umístila na prvním (*C. septempunctata*) a třetím (*P. vigintiduopunctata*) místě, tudíž jako slunéčka pro mravence velmi nechutná.

Stejný výsledek vyšel i při pokusu s křepelkami (Pasteels et al. 1973), kdy *C. septempunctata* byla odmítnuta všemi třemi testovanými jedinci *Coturnix coturnix*. Jde tedy zjevně o druh dobře chráněný. Při těchto testech však také bylo zjištěno, že predátoři stejného druhu mohou reagovat různě. Brower (1964) konstatoval, že někteří jedinci sojky modré akceptovali a jiní odmítali středně chráněné motýly. Autoři si myslí, že pokud je mezi motýly polymorfismus, bude ochrana evolučně selektovaná. Je zajímavé, že mezi druhy odmítanými jednou z křepelk byla *Adalia bipunctata*, která je velice polymorfní. Je známo, že podíl různých forem *A. bipunctata* kolísá s charakterem prostředí. V jistých podmínkách může být výhodnější jedna forma než v jiných.

*Subcoccinella vigintiquatuoropunctata* byla v práci Pasteelse a kol. (1973) zařazena mezi druhy neobsahující alkaloidy, ale toto tvrzení je v kontrastu s výsledky práce Dolenské a kol. (2006), která toto slunéčko společně s dalšími druhy (*Coccinella septempunctata*, *Exochomus quadripustulatus* a *Cynegetis impunctata*) předkládala sýkorkám *Parus major*. *Subcoccinella vigintiquatuoropunctata* byla odmítána stejně jako *C. septempunctata* a *E. quadripustulatus*. *Cynegetis impunctata* byl ze čtyř testovaných druhů napadán nejčastěji, což souhlasí i s našimi výsledky.

Slunéčka nejsou chráněna všechna stejně. Jednotlivé typy alkaloidů mohou být různě účinné a obsah v jednotlivých druzích slunéček se může lišit. Může se lišit i množství alkaloidů mezi jedinci stejného druhu. Též sezónní variabilita se může vyskytovat, přítomnost coccinellinu ve vajíčkách ukazuje, že jiný obsah alkaloidů v samičce bude před a po snůšce. Chemická ochrana slunéček tudíž nemusí být úplná a konstantní. Mění se s množstvím faktorů, které zatím nebyly analyzovány.

Případná přítomnost jiných obranných látek není vyloučena. V testech Pasteelse a kol. (1973) byli mravenci odpuzováni i některými slunéčky, u nichž alkaloidy do té doby zjištěny nebyly. Alkaloidy nejsou cítit, ale slunéčka mají odpuzující zápach. Také Nedvěd podle své



osobní zkušenosti říká, že hořká jsou všechna slunéčka, ale při jejich malé velikosti není člověk schopný rozlišit různou intenzitu jejich chuti.

Zatím bylo identifikováno okolo 50 různých alkaloidů u 43 druhů slunéček, práce zabývající se chemickou obranou slunéček však zdaleka nekončí.

## 5. ZÁVĚR

Sestavili jsme pořadí nechutnosti osmi druhů slunéček pro mravence *Lasius niger* (*Coccinella septempunctata* > *Harmonia axyridis* > *Psyllobora vigintiduopunctata* > *Halyzia sedecimguttata* > *Calvia quatuordecimguttata* > *Exochomus quadripustulatus* > *Adalia bipunctata* > *Cynegetis impunctata*) a srovnali ho s prostředím, ve kterém slunéčka žijí, s jejich potravou, zbarvením a velikostí. Bylo zjištěno, že reakce mravenců na extrakty není jednoznačně korelována s velikostí slunéček, mírná závislost je na zbarvení. Dále se neprokázalo, že potrava, kterou se slunéčka živí nebo prostředí, ve kterém žijí, jsou důležitými faktory ovlivňujícími chování mravenců.

## 6. LITERATURA

- Agarwala B.K., Dixon A.F.G.** (1992) Laboratory study of cannibalism and interspecific predation in ladybirds. *Ecol Entomol*, **17**, 303–309.
- Al Abassi S., Birkett M.A., Petterson J., Pickett J.A., Woodcock C.M.** (1998) Ladybird beetle odour identified and found to be responsible for attraction between adults. *Cell Mol Life Sci*, **54**, 876–879.
- Al Abassi S., Birkett M.A., Petterson J., Pickett J.A., Wadhams L.J., Woodcock C.M.** (2001) Response of the ladybird parasitoid, *Dinocampus coccinellae*, to toxic alkaloids from the seven-spot ladybird, *Coccinella septempunctata*. *J Chem Ecol*, **27**, 33–43.
- Alatalo R.V., Mappes J.** (1996) Tracking the evolution of warning signals. *Nature*, **383**, 708–710.
- Alatalo R.V., Mappes J.** (2000) Initial evolution of warning coloration: comments on the novel world method. *Animal Behaviour*, **60**, F1–F2.
- Attygalle A.B., McCormick K.D., Blankespoor C.L., Eisner T., Meinwald J.** (1993a) Azamacrolides: a family of alkaloids from the pupal defensive secretion of a ladybird beetle (*Epilachna varivestis*). *Proc Natl Acad Sci USA*, **90**, 5204–5208.
- Attygalle A.B., Xu S.-C., McCormick K.D., Meinwald J.** (1993b) Alkaloids of the Mexican bean beetle, *Epilachna varivestis* (Coccinellidae). *Tetrahedron*, **49**, 9333–9342.
- Bach C.E.** (1991) Direct and indirect interactions between ants (*Pheidole megacephala*), scales (*Coccus viridis*) and plants (*Pluchea indica*). *Oecologia*, **87**, 233–239.
- Banks C.J.** (1958) Effects of the ant *Lasius niger* (L.) on the behaviour and reproduction of the black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. *Bull Entomol Res*, **49**, 701–714.
- Banks C.J.** (1962) Effects of the ant *Lasius niger* (L.) on insects preying on small populations of *Aphis fabae* (Scop.) on bean plants. *Ann Appl Biol*, **50**, 669–679.
- Banks C.J., Macaulay E.D.M.** (1967) Effects of *Aphis fabae* Scop. And of its attendant ants and insect predators on yields of field beans (*Vicia faba* L.). *Ann Appl Biol*, **60**, 445–453.
- Berti N., Boulard M., Duverger C.** (1983) Fourmis et Coccinelles: revue bibliographique et observations nouvelles. *Bull Soc Entomol Fr*, **88**, 271–275.
- Bhatkar A.P.** (1982) Orientation and defense of ladybeetles (Coleoptera: Coccinellidae), following ant trail in search of aphids. *Folia Entomol Mex*, **53**, 75–85.

- Bradley G.A.** (1973) Effect of *Formica obscuripes* (Hymenoptera: Formicidae) on the predator-prey relationship between *Hyperaspis congressis* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Toumeyella numismaticum* (Homoptera: Coccidae). *Can Entomol*, **105**, 1113–1118.
- Brakefield P.M.** (1985) Polymorphis Müllerian mimicry and interactions with thermal melanism in ladybirds and a soldier beetle: a hypothesis. *Biol J Linn Soc*, **26**, 243–267.
- Bristow C.M.** (1984) Differential benefits from ant attendance to two species of Homoptera on New York Ironweed. *J Anim Ecol*, **53**, 715–726.
- Brower L.P., Brower J.V.Z.** (1964) Birds, butterflies and plant poisons: a study in ecological chemistry. *Zoologica, N.Y.*, **49**, 137–159.
- Carroll C.R., Janzen D.H.** (1973) Ecology of foraging by ants. *Annu Rev Ecol Syst*, **4**, 231–257.
- Daloz D., Braekman J.-C., Pasteels J.M.** (1995) Ladybird defence alkaloids: structural, chemotaxonomic and biosynthetic aspects (Col.: Coccinellidae). *Chemoecology*, **5/6**, 173–183.
- DeBach P., Fleschner C.A., Dietrick E.J.** (1951) A biological check method for evaluating the effectiveness of entomophagous insects. *J Econ Entomol*, **44**, 763–766.
- Dechene R.** (1970) Studies of some behavioural patterns of *Iridomyrmex humilis* Mayr (Formicidae, Dolichoderinae). *Wasmann J Biol*, **28**, 175–184.
- Disney R.H.L., Majerus MEN, Walpole M.** (1994) Phoridae (Diptera) parasitising Coccinellidae (Coleoptera). *Entomologist*, **113**, 28–42.
- Dixon A.F.G.** (1958) The escape responses shown by certain aphids to the presence of the coccinellid beetle *Adalia decempunctata* (L.) *Trans R Entomol Soc London*, **110**, 319–334
- Dixon A.F.G.** (1998) *Aphid Ecology, 2nd edition*. Blackie, Glasgow.
- Dixon A.F.G.** (2000) *Insect predator-prey dynamics: ladybird beetles and biological control*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Dolenská M., Nedvěd O., Veselý P., Tesařová M., Fuchs R.** (2006) *Aposematismus vybraných druhů slunéček (Coccinellidae): testování vlivu zbarvení a dalších ochranných prvků na chování ptačího predátora sýkory koňadry (Parus major)*. Jihočeská univerzita, České Budějovice.
- Donisthorpe HstJK** (1919–1920) The myrmecophilous ladybird *Coccinella distincta*, Fald., its life history and association with ants. *Entomol Rec J Var*, **32**, 1–3.
- Edmunds M.** (1974) *Defence in animals. A survey in antipredator defences*. Longman, Essex.

- Edwards J.S.** (1966) Defence by smear: supercooling in the cornicle wax of aphids. *Nature*, **211**, 73–74.
- Eisner T., Eisner M.** (1992) Operation and defensive role of „gin traps“ in a coccinellid pupa (*Cycloneda sanguinea*). *Psyche*, **99**, 265–274.
- Eisner T., Hicks K., Eisner M.** (1978) „Wolf-in-sheep’s clothing“ strategy of a predaceous insect larva. *Science*, **199**, 790–794.
- Eisner T., Goetz M., Anaeshansley D., Ferstandig-Arnold G., Meinwald J.** (1986) Defensive alkaloid in the blood of the Mexican bean beetle (*Epilachna varivestis*). *Experimentia*, **42**, 204–207.
- Eisner T., Meinwald J., Monro A., Ghent R.** (1961) Defence mechanism of arthropods - I. The composition and function of the spray of the whipscorpion, *Mastigoproctus giganteus* (Lucas) (Arachnida: Pedipalpida). *J Insect Physiol*, **6**, 272–298.
- El-Ziady S., Kennedy J.S.** (1956) Beneficial effects of the common garden ant *Lasius niger* L., on the black bean aphid, *Aphis fabae* Scopoli. *Proc R Entomol Soc Lond A*, **31**, 61–65.
- Endler J.** (1981) An overview of the relationship between mimicry and crypsis. *Biological Journal of the Linnean Society*, **16**, 25–31.
- Feeny P.** (1975) Biochemical coevolution between plants and their insect herbivores. In: Gilbert L., Raven P.H. (eds) *Coevolution of animals and plants*. University of Texas Press, Austin, pp 3–19.
- Francis F., Lognay G., Wathelet J.P., Haubruge E.** (2001) Effects of allelochemicals from first (*Brassicaceae*) and second (*Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*) trophic levels on *Adalis bipunctata*. *J Chem Ecol*, **27**, 243–256.
- Gamberale-Stille G., Guilford T.** (2003) Contrast versus colour in aposematic signals. *Animal Behaviour*, **65**, 1021–1026.
- Gittleman J.L., Harvey P.H.** (1980) Why are distasteful prey not cryptic? *Nature*, **286**, 149–150.
- Godeau J.-F.** (1997) Adaptations á la cohabitation avec des fourmis: le cas de *Coccinella magnifica* Redtenbacher. Mémoire de D.A.E., Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, 44 pp.
- Godeau J.-F.** (2000) Coccinelles amies des fourmis. 2/2/ Groupe de Travail Coccinulla. *Feuille de Contact*, **2**, 10–15.
- Godeau J.-F., Hemptinne J.-L., Verhaeghe J.-C.** (2003) Ant trail: a highway for *Coccinella magnifica* Redtenbacher (Coleoptera: Coccinellidae). In Soares AO, Ventura MA,

- Garcia V, Hemptinne J.-L. (eds) Proceedings of the 8th International Symposium on Ecology of Aphidophaga: Biology, Ecology and Behaviour of Aphidophagous Insects. Arquipélago: Life and Marine Sciences, Supplement, 5pp, 79–83.
- Guilford T.** (1986) How Do Warning Colors Work - Conspicuousness May Reduce Recognition Errors in Experienced Predators. *Animal Behaviour*, **34**, 286–288.
- Haldane C.B.S., Spurway H.** (1954) A statistical analysis of communication in *Apis mellifera* and a comparison with communication in other animals. *Insectes Sociaux*, **1**, 247–283.
- Happ G.M., Eisner T.** (1961) Hemorrhage in a Coccinellid beetle and its repellent effects on ants. *Science*, **134**, 329–331.
- Harris RHTP** (1921) A note on *Ortalia pallens* Muls. *S Afr J Sci*, **17**, 170–171.
- Hays S.B., Hays K.L.** (1958) Food habits of *Solenopsis saevissima richteri* Forel. *J Ecol Entomol*, **52**, 455–457.
- Hemptinne J.-L., Lognay G., Gauthier C., Dixon A.F.G.** (2000c) Role of surface chemical signals in egg cannibalism and intraguild predation in ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemoecology*, **10**, 123–128.
- Hemptinne J.-L., Magro A., Majerus MEN** (2005) *Les Coccinelles*. Delachaux et Niestlé, Paris.
- Hinton H.E.** (1951) Myrmecophilous Lycaenidae and other Lepidoptera — a summary. *Proc South Lond ent Nat Hist Soc*, **1949–50**, 111–175.
- Hodek I.** (1996) Food relationships. In: Hodek I., Honek A. (eds) *Ecology of Coccinellidae*. Kluwer, Dordrecht, pp 143–238.
- Hodek I.** (1973) *Biology of Coccinellidae*. Academia, Prague.
- Hodek I., Honek A.** (1996) *Ecology of Coccinellidae*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 464 pp.
- Hollande A.C.** (1911) L'autohémorrhée ou le rejet du sang chez les. insects ( toxicologie du sang). *Arch Anat Microsc*, **13**, 171–318.
- Hölldobler B., Wilson E.O.** (1990) *The ants*. Springer, Berlin Heidelberg New York.
- Holloway G.J., de Jong P.W., Brakefield P.M., de Vos H.** (1991) Chemical defense in ladybird beetles (Coccinellidae). I. Distribution of coccinelline and individual variation in defence in 7-spot ladybirds (*Coccinella septempunctata*). *Chemoecology*, **2**, 7–14.
- Holloway G.J., de Jong P.W., Ottenheim M.** (1993) The genetics and cost of chemical defence in the 2-spot ladybird (*Adalia bipunctata* L.). *Evolution*, **47**, 1229–1239.

- Iperti G.** (1965) Contribution á l'étude de la spécificité chez les principales coccinelles aphidiphages des Alpes-Maritimes et des Basses-Alpes. *Entomophaga*, **10**, 159–178
- Itioka T., Inoue T.** (1996) The role of predators and attendant ants in the regulation of a population of the citrus mealybug *Pseudococcus citriculus* in a Satsuma orange orchard. *Appl Entomol Zool*, **31**, 195–202.
- Jiggins C., Majerus MEN, Gough U.** (1993) Ant defence of colonies of *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae), against predation by ladybirds. *Br J Entomol Nat Hist*, **6**, 129–138.
- de Jong P.W., Holloway G.J., Brakefield P.M., de Vos H.** (1991) Chemical defence in ladybird beetles (Coccinellidae). II. Amount of reflex fluid, the alkaloid adaline and individual variation in defence in 2-spot ladybirds (*Adalia bipunctata*). *Chemoecology*, **2**, 15–19.
- Jutsum A.R., Cherrett J.M., Fisher M.** (1981) Interactions between the fauna of citrus trees in Trinidad and the ants *Atta cephalotes* and *Azteca* sp. *J Appl Ecol*, **18**, 187–195.
- Kaneko S.** (2002) Aphid-attending ants increase the number of emerging adults of the aphid's primary parasitoid and hyperparasitoids by repelling intraguild predators. *Entomol Sci*, **5**, 131–146.
- Kaneko S.** (2003a) Different impacts of two species of aphid-attending ants with different aggressiveness on the number of emerging adults of the aphid's primary parasitoid and hyperparasitoids. *Ecol Res*, **18**, 199–212.
- Kaneko S.** (2003b) Impacts of two ants, *Lasius niger* and *Pristomyrmex pungens* (Hymenoptera: Formicidae), attending the brown citrus aphid, *Toxoptera citricidus* (Homoptera: Aphididae), on the parasitism of the aphid by the primary parasitoid, *Lysiphlebus japonicus* (Hymenoptera: Aphididae), and its larval survival. *Appl Entomol Zool*, **38**, 347–357.
- Katayama N., Suzuki N.** (2003) Bodyguard effects for aphids of *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae) as related to the activity of two ant species, *Tetramorium caespitum* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) and *Lasius niger* L. (Hymenoptera: Formicidae). *Appl Entomol Zool*, **38**, 427–433.
- King A.G., Meinwald J.** (1966) Review of the defensive chemistry of coccinellids. *Chem Rev*, **96**, 1105–1122.
- Kurosawa Y., Hisamatsu S., Sasaji H.** (1985) *The Coleoptera of Japan in Color*. Vol. 3. Hoikusha Publishing, Osaka. 500 pp.

- Laurent P., Braekman J.-C., Daloze D., Pasteels J.M.** (2003) Biosynthesis of defensive compounds from beetles and ants. *Eur J Org Chem*, **15**, 2733–2743.
- Laurent P., Braekman J.-C., Daloze D.** (2005) Insect chemical defense. *Top Curr Chem*, **240**, 167–229.
- Lindström L., Alatalo R.V., Lyytinen A., Mappes J.** (2001) Predator experience on cryptic prey affects the survival of conspicuous aposematic prey. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*, **268**, 357–361.
- Mahdi T., Whittaker J.B.** (1993) Do birch trees (*Betula pendula*) grow better if foraged by wood ants? *J Anim Ecol*, **62**, 101–116.
- Majerus MEN** (1989) *Coccinella magnifica* (Redtenbacher) – a myrmecophilous ladybird. *Br J Entomol Nat Hist*, **2**, 97–106.
- Majerus MEN** (1994) *Ladybirds*. No. 81, New Naturalist Series. Harper Collins, London.
- Majerus MEN, Majerus TMO** (1997) Predation of ladybirds by birds in the wild. *Entomol Mon Mag*, **133**, 55–61.
- Majerus MEN, Sloggett J.J., Godeau J.-F., Hemptinne J.-L.** (2007) Interactions between ants and aphidophagous and coccidophagous ladybirds. *Popul Ecol*, **49**, 15–27.
- Malcom S.B.** (1990) Chemical defence in chewing and sucking insect herbivores: plant-derived cardenolides in the monarch butterfly and oleander aphid. *Chemoecology*, **1**, 12–21.
- Mariau D., Julia J.F.** (1977) Nouvelles recherches sur la cochenille du cocotier *Aspidotus destructor* (Sign). *Oléagineux*, **32**, 217–224.
- Marples N.M., Brakefield P.M., Cowie R.J.** (1989) Differences between the 7-spot and 2-spot ladybird beetles (*Coccinellidae*) in their toxic effects on a bird predator. *Ecol Entomol*, **14**, 79–84.
- McLain D.K.** (1980) Relationships among ants, aphids and coccinellids on wild lettuce. *J Georgia Entomol Soc*, **15**, 417–418.
- Moore B.P., Brown W.V., Rothschild M.** (1990) Methylalkylpyrazines in aposematic insects, their hostplants and mimics. *Chemoecology*, **1**, 43–51.
- Morgan C.L.** (1896) *Habit and instinct*. London.
- Muggleton J.** (1978) Selection against the melanic morphs of *Adalia bipunctata* (two-spot ladybird): a review and some new data. *Heredity*, **40**, 269–280.
- Müller C.B., Godfray H.C.J.** (1999) Predators and mutualists influence the exclusion of aphid species from natural communities. *Oecologia*, **119**, 120–125.

- Neult L.R., Montgomery M.E., Bowers W.** (1976) Ant-aphid association: Role of aphid alarm pheromone. *Science*, **192**, 1349–1351.
- Obrycki J.J., Kring T.J.** (1998) Predaceous coccinellidae in biological control. *Annu Rev Entomol*, **43**, 295–321.
- Oczenascheck C.** (1997) *Chemische Ökologie der Entwicklungsstadien des Marienkaefers Platynaspis luteorubra Goeze*. Unpublished diploma thesis, University of Bayreuth.
- Pasteels J.M.** (1978) Apterous and brachypterous coccinellids at the end of the food chain, *Cionura erecta* (Asclepiadaceae)-*Aphis nerii*. *Entomol Exp Appl*, **24**, 379–384.
- Pasteels J.M.** (2007) Chemical defence, offence and alliance in ants-aphids-ladybirds relationships. *Popul Ecol*, **49**, 5–14.
- Pasteels J.M., Deroe C., Tursch B., Brakeman J.C., Daloze D., Hootele C.** (1973) Distribution et activités des alcaloïdes défensifs des Coccinellidae. *J Insect Physiol*, **19**, 1771–1784.
- Pontin A.J.** (1959) Some records of predators and parasites adapted to attack aphids attended by ants. *Entomol Mon Mag*, **95**, 154–155.
- Pope R.D.** (1979) Wax production by coccinellid larvae (Coleoptera). *Syst Entomol*, **4**, 171–196.
- Proksch P., Wite L, Wray V., Hartmann T.** (1993) Ontogenic variation of defensive alkaloids in the Mexican bean beetle *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Entomol Gener*, **18**, 1–7.
- Radford P., Attygalle A.B., Meinwald J., Smedley S.R., Eisner T.** (1997) Pyrrolidinoxazolidine alkaloids from two species of ladybird beetles. *J Nat Prod*, **60**, 755–759.
- Rathcke B., Hamrum C.L., Glass A.W.** (1967) Observations of the interrelationships among ants and aphid predators. *Mich Entomol*, **1**, 169–173.
- Reimer N.J., Cope M.-L., Yasuda G.** (1993) Interference of *Pheidole megacephala* (Hymenoptera: Formicidae) with biological control of *Coccus viridis* (Homoptera: Coccidae) in coffee. *Environ Entomol*, **22**, 483–488.
- Richards A.M.** (1980) Defence adaptations and behaviour in *Scymnodes lividigaster* (Coleoptera: Coccinellidae). *J Zool Lond*, **192**, 157–168.
- Richards A.M.** (1985) Biology and defensive adaptations in *Rodatus major* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey, *Monophlebus pilosior* (Hemiptera: Margarodidae). *J Zool Lond A*, **205**, 287–295.



- Roper T.J., Redston S.** (1987) Conspicuousness of Distasteful Prey Affects the Strength and Durability of One-Trial Avoidance-Learning. *Animal Behaviour*, **35**, 739–747.
- Rosen D.** (1990) (ed) *Armoured scale insects: their biology, natural enemies and control*. Vol B Elsevier, Amsterdam.
- Rosenheim J.A., Limburg D.D., Colfer R.G., Fournier V., Hsu C.L., Leonardo T.E., Nelson E.H.** (2004) Herbivore population suppression by an intermediate predator, *Phytoseiulus macropilis*, is insensitive to the presence of an intraguild predator: an advantage of small body size? *Oecologia*, **140**, 577–585.
- Rothschild M., von Euw J., Reichstein T.** (1970) Cardiac glycosides in the oleander aphid *Aphis nerii*. *J Insect Physiol*, **16**, 1141–1145.
- Rothschild M., von Euw J., Reichstein T.** (1973) Cardiac glycosides in a scale insect (*Aspidiotus*), a ladybird (*Coccinella*) and a lacewing (*Chrysopa*). *J Entomol A*, **48**, 89–90.
- Schröder F.C., Farmer J.J., Attygalle A.B., Smedley S.R., Eisner T., Meinwald J.** (1998) Combinatorial chemistry in insects: a library of defensive macrocyclic polyamines. *Science*, **281**, 428–431.
- Seibert T.F.** (1992) Mutualistic interactions of the aphid *Lachnus allegheniensis* (Homoptera: Aphididae) and its tending ant *Formica obscuripes* (Hymenoptera: Formicidae). *Ann Entomol Soc Am*, **85**, 173–178.
- Shi X.W., Attygalle A.B., Meinwald J.** (1997) Defense mechanisms of arthropods. 149. Synthesis and absolute configuration of two defensive alkaloids from the Mexican bean beetle, *Epilachna varivestis*. *Tetrahedron Lett*, **38**, 6479–6482.
- Sloggett J.J.** (1998) *Interactions between coccinellids (Coleoptera) and ants (Hymenoptera: Formicidae) and the evolution of myrmecophily in Coccinella magnifica Redtenbacher*. Unpublished PhD thesis, University of Cambridge.
- Sloggett J.J., Majerus MEN** (2000a) Aphid-mediated coexistence of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) and the wood ant *Formica rufa*: seasonal effects, interspecific variability and the evolution of a coccinellid myrmecophile. *Oikos*, **89**, 345–359.
- Sloggett J.J., Majerus MEN** (2000b) Habitat preferences and diet in the predatory Coccinellidae (Coleoptera): an evolutionary perspective. *Biol J Linn Soc*, **70**, 63–88.
- Sloggett J.J., Majerus MEN** (2003) Adaptations of *Coccinella magnifica*, a myrmecophilous coccinellid to aggression by wood ants (*Formica rufa* group). II. Larval behaviour, and ladybird oviposition location. *Eur J Entomol*, **100**, 337–344.

- Sloggett J.J., Völkl W., Schulze W., von der Schulenberg J.H., Majerus MEN** (2002) The ant-associations and diet of the ladybird *Coccinella magnifica* (Coleoptera: Coccinellidae). *Eur J Entomol*, **99**, 565–569.
- Sloggett J.J., Webberley K.M., Majerus MEN** (2004) Low parasitoid success on a myrmecophilous host is maintained in the absence of ants. *Ecol Entomol*, **29**, 123–127.
- Sloggett J.J., Wood R.A., Majerus MEN** (1998) Adaptations of *Coccinella magnifica* Redtenbacher, a myrmecophilous coccinellid, to aggression by wood ants (*Formica rufa* group). I. Adult behavioral adaptation, its ecological context and evolution. *J Insect Behav*, **11**, 889–904.
- Speed M.P.** (1993b) When Is Mimicry Good for Predators. *Animal Behaviour*, **46**, 1246–1248.
- Speed M.P.** (2000) Warning signals, receiver psychology and predator memory. *Animal Behaviour*, **60**, 269–278.
- Stäger R.** (1929) Warum werden gewisse Insekten von den Ameisen nicht verzehrt? *Z Insbiol*, **24**, 227–230.
- Stephens D.W., Krebs J.R.** (1986) *Foraging theory*. Princeton University Press, Princeton.
- Sterling W.L., Jones D., Dean D.A.** (1979) Failure of the red imported fire ant and too reduce entomophagous insect and spider abundance in a cotton agroecosystem. *Environ Entomol*, **8**, 976–981.
- Takizawa T., Yasuda H.** (2006) The effects of attacks by the mutualistic ant, *Lasius japonicus* Santschi (Hymenoptera: Formicidae) on the foraging behavior of the two aphidophagous ladybirds, *Coccinella septempunctata brucki* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) and *Propylea japonica* Thunberg (Coleoptera: Coccinellidae). *Appl Entomol Zool*, **41**, 161–169.
- Telenga N.A.** (1948) Izd. Akad. nauk Ukr. SSR, Kiev, 120pp.
- Tursch B., Dalozé D., Dupont M., Hootelé C., Kaisin M., Pasteels J.M., Zimmermann D.** (1971a) Coccinellin, the defensive alkaloid of the beetle *Coccinella septempunctata*. *Chimia*, **25**, 307.
- Tursch B., Dalozé D., Hootelé C.** (1972) The alkaloid of *Propylea quatuordecimpunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae). *Chimia*, **26**, 74.
- Tursch B., Braekman J.C., Dalozé D., Hootelé C., Losman D., Karlsson R., Pasteels J.M.** (1973) Chemical ecology of arthropods. VI. Adaline, a novel alkaloid from *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera, Coccinellidae). *Tetrahedron Lett.* **14**, 201–202.

- Vinson S.B., Scarborough T.A.** (1989) Impact of the imported fire ant on laboratory populations of cotton aphid (*Aphis gossypii*) predators. *Fla Entomol*, **72**, 107–111.
- Völkl W.** (1995) Behavioural and morphological adaptations of the coccinellid, *Platynaspis luteorubra* for exploiting ant-attending resources (Coleoptera: Coccinellidae). *J Insect Behav*, **8**, 653–670.
- Völkl W., Vohland K.** (1996) Wax covers in larvae of two *Scymnus* species: do they enhance coccinellid larval survival? *Oecologia*, **107**, 498–503.
- Way M.J.** (1954) Studies on the association of the ant *Oecophylla longinoda* (Latr.) with the scale insect, *Saissetia zanzibarensis* (Williams). *Bull Entomol Res*, **45**, 113–134.
- Way M.J.** (1963) Mutualism between ants and honeydew producing Homoptera. *Annu Rev Entomol*, **8**, 307–344.
- Wilson E.O.** (1962) Chemical communication among workers of the fire ant *Solenopsis saevissima*. II. an information analysis of odour trails. *Anim Behav*, **10**, 148–158.
- Wilson N.L., Oliver A.D.** (1969) Food habits of the imported fire ant in pasture and pine forest areas in southeastern Louisiana. *J Econ Entomol*, **62**, 1268–1271.
- Wink M., Römer P.** (1986) Acquired toxicity – the advantages of specializing on alkaloid-rich lupins to *Macrosiphon albifrons* (Aphididae). *Naturwissenschaften*, **73**, 210–212.
- Wink M., Witte L.** (1991) Storage of quinolizidine alkaloids in *Macrosiphum albifrons* and *Aphis genistae* (Homoptera: Aphididae). *Entomol Gener*, **15**, 237–254.
- Wink M., Hartmann T., Witte L., Rheinheimer J.** (1982) Interrelationship between quinolizidine alkaloid producing legumes and infesting insects: Exploitation of the alkaloid-containing phloem sap of *Cytisus scoparius* by the Broom aphid (*Aphis cytisorum*). *Z Naturforsch*, **37c**, 1081–1086.
- Witte L., Ehmke A., Harmann T.** (1990) Interspecific flow of pyrrolizidine alkaloids. *Naturwissenschaften*, **77**, 540–543.
- Yasuda H., Evans E.W., Kajita Y., Urakawa K., Takizawa T.** (2004) Asymmetric larval interactions between introduced and indigenous ladybirds in North America. *Oecologia*, **141**, 722–731.
- Yasuda H., Kikuchi T., Kindlmann P., Sato S.** (2001) Relationships between attack and escape rates, cannibalism, and intraguild predation in larvae of two predatory ladybirds. *J Insect Behav*, **14**, 373–384.
- Yasuda H., Kimura T.** (2001) Interspecific interactions in a tri-trophic arthropod system: effects of a spider on the survival of larvae of three predatory ladybirds in relation to aphids. *Entomol Exp Appl*, **98**, 17–25.