

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta**



**Geografická variabilita fotoperiodických hodin ruměnice
pospolné (*Pyrrhocoris apterus*)**

Bakalářská práce

Juraj Dobrovodský

Školitel: Mgr. David Doležel Ph.D.

České Budějovice 2011

Dobrovodský, J., 2011: Geografická variabilita fotoperiodických hodin ruměnice pospolné (*Pyrrhocoris apterus*) [Geographical variability of photoperiodic of *Pyrrhocoris apterus*]. 27 stran. Faculty of Science, University of South Bohemia in České Budějovice, Czech Republic.

Anotace

Photoperiodic reaction of linden bugs (*Pyrrhocoris apterus*) are markedly influenced by latitude of Earth. Linden bugs were tested in laboratory conditions. These insect are from 12 different places over Europe from south to north. Linden bugs during experiment show really big differences in photoperiodic reaction. Linden bugs from southern habitats were interrupted diapause and began lay eggs morly earlier whom individuals from northern habitats which interrupted diapause and lay eggs morly later.

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

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

V Českých Budějovicích dne **15. 12. 2011**

.....
Juraj Dobrovodský

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval svému školiteli Davidovi Doleželovi za veškerou pomoc, kterou mi poskytl. Dále bych chtěl poděkovat členům ze své laboratoře - Olze Bazalové, Adamovi Bajgarovi a Slivii Fexové. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat Petře Šarounové za nesmírně velkou pomoc a trpělivost. A také děkuji své mamince za velkou podporu ve studiu.

OBSAH

1. ÚVOD.....	2
1.1. Diapauza.....	4
1.2. Molekulární mechanismy cirkadiálních a fotoperiodických hodin a fyziologie.....	5
1.3. Geografická variabilita ve fotoperiodické odpovědi.....	9
1.4. Příklady diapauzy a cirkadiality v přírodě.....	9
1.5. <i>Pyrrhocoris apterus</i> jako model při studiu fotoperiodismu.....	10
2. CÍLE PRÁCE.....	11
3. METODIKA.....	12
3.1. Udržení chovů.....	12
3.2. Postup pokusu.....	13
3.3. Grafické zpracování – analýza dat.....	13
4. VÝSLEDKY.....	15
5. DISKUSE.....	23
6. ZÁVĚR.....	25
7. LITERATURA.....	26

1. Úvod

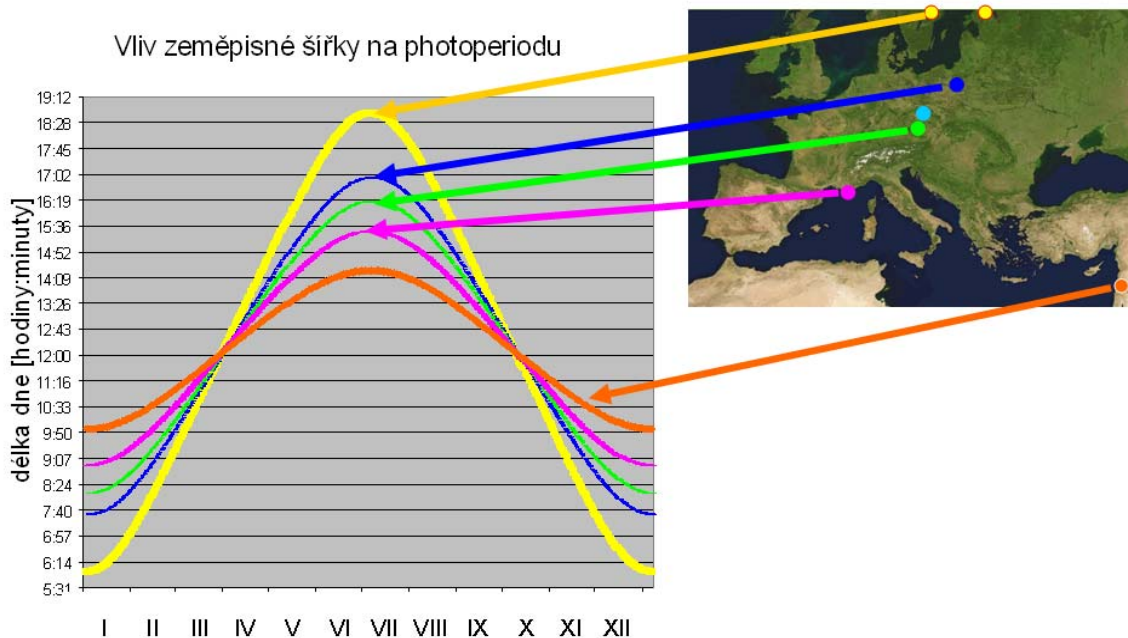
Organismy jsou na Zemi vystaveny změnám vnějších proměnlivých podmínek. Mnohé z těchto změn jsou pravidelné, jako například střídání dne a noci, a proto není překvapující, že u většiny organismů nacházíme vnitřní hodiny, které synchronizují fyziologické děje, metabolismus a chování organismů s těmito pravidelnými změnami. Takovéo circadiánní (z latinského *circa*, což znamená přibližně, a *dias*, což znamená den) rytmy nacházíme například i u sinic *Synechococcus* (Hosokawa et al., 2011), které mnohdy nežijí ani 24 hodin.

Téměř u všech druhů živočichů i rostlin mají circadiánní rytmy velmi důležitou roli. Změny v délce dne a noci jim pomáhají zjistit, v které části sezóny se nacházejí, a pomocí těchto údajů jsou schopni vyhodnotit, či je správný čas se rozmnožit, ztlumit metabolismus nebo migrovat na výhodnější místa (Bradshaw, 2003). Řídí mnoho důležitých dějů, které jsou klíčové pro přežití v přírodě. Nejvýraznějším příkladem je migrace zvířat. Zkracující se den vyvolá vnitřní impulz, který signalizuje, aby se vydali na dlouhou cestu někdy i přes celý kontinent. Rostliny nemají možnost migrace, ale nepřízeň okolního prostředí také musí překonat.

Dalším periodickým střídáním vnějších podmínek jsou, kromě střídání dne a noci, roční období. Naklonění zemské osy způsobuje, že na zemský povrch dopadají sluneční paprsky pod úhlem, který se během oběhu Země kolem Slunce mění. Proto se v souvislosti se zeměpisnou šířkou liší jak množství energie dopadající na jednotku plochy, tak doba, po kterou sluneční paprsky dopadají. A obě tyto hodnoty se periodicky mění během roku, přičemž v rovníkových oblastech je rozdíl minimální, zatímco v polárních oblastech vidíme rozdíly mezi létem a zimou nejvýrazněji (Obr. 1). Střídání ročních období klíčově ovlivňuje život všech živých organismů. Jak už bylo řečeno, projevy ve změně délky dne a změny v ročních obdobích se může u živočichů projevovat různými reakcemi. Široké spektrum živočichů i rostlin používá měření délky dne a noci jako základní klíč pro migraci, rozmnožování a vývoj (William et al. 2006). Circadiánní rytmy jim pomáhají předpovídat změny, které v prostředí nastanou, a tím jim dávají čas na přípravu k vytvoření nezbytných opatření k zajištění přežití (Preetmoninder et al., 2005). Jako příklad mohou posloužit pohyby listů, otevírání a zavírání průduchů a načasování doby kvetení (McClung, 2001). Méně nápadné, ale pro přežití stejně důležité, jsou příprava na zimní spánek či nastartování metabolismu při příchodu nové sezóny. Rostliny jsou schopné své vegetační období – kvetení sesynchronizovat s hmyzím životem (Garner, 1920).

Na Obrázku 1 je vidět, že rozdíly mezi dnem a nocí v různých zeměpisných šířkách je veliký. V severních zeměpisných šířkách zima přichází dříve, když jsou dny ještě delší. Z mapy můžeme vyčíst, že když na jihu v červnu trvá den přibližně 14 hodin, tak na severu, ve stejném ročním období a měsíci, dopadá světlo na zemský povrch až 19 hodin. V posledním měsíci v roce,

v prosinci, když jsou dny nejkratší, je rozdíl v délce doby dopadání slunečního záření na Zemi též velmi značný – na jihu je den dlouhý necelých 10 hodin, a na severu je tato doba dokonce ještě kratší, kolem 5.5 hodiny. Čím více se blížíme k rovníku, tím je zima kratší a přichází později, když jsou i dny znatelně kratší. Z toho důvodu mají živočichové unikátní mechanismus, který jim pomáhá přežít.



Obr. 1 Vliv zeměpisné šířky na fotoperiodu v Evropě.

Zkracující se den je pro hmyz signál, že se blíží zima. Čím více jsme na sever, tím přichází zima dříve, a proto je kritická délka dne delší (Bradshaw et. al 2001).

1.1. Diapauza

Biotop a v něm vládnuocí povětrnostní podmínky se stále mění, jedině v tropech je relativně konstantní. V ostatních typech biotopů musí živočichové čelit neustálým změnám životního prostředí, výkyvům počasí a střídání dostupnosti životně důležitých zdrojů. Jednou z klíčových strategií u živočichů, kteří nemigrují, je diapauza. Diapauza je schopnost, která umožní hmyzu překonat dlouhodobé nepříznivé podmínky a změny ročních období a může nastat v kterémkoliv vývojovém stadiu. Hmyz používá diapauzu jako odpověď právě vůči nepříznivým podmínkám svého životního prostředí. Během diapauzy dochází k mnoha změnám. Mohou to být změny v chování a ve vývoji, dokonce může diapauza vyvolat i změnu v morfologii. Změna v morfologii

může být velmi markantní, jako například změna ve zbarvení, v délce křídel a ve vnější kutikule. Vedle toho dojde k velkému množství behaviorálních změn (Gilbert et al., 2004). Diapauza není jen stav, je to komplex složitých dějů, které na sebe navazují. Je to klidové období, kdy hmyz změní svůj metabolismus, sníží svoji aktivitu a nastane klidový stav. U hmyzu bylo získání schopnosti diapauzy velikým evolučním skokem. Diapauza synchronizuje aktivní stadia s neaktivními podle zdrojů v prostředí. Ve všech případech je diapauza odpovědí na nedostatek nějakého pro život a vývoj důležitého zdroje, což mohou například být světlo, potrava, voda nebo teplo. Hlavním aspektem diapauzy je redukce metabolismu a přečkání nepříznivých podmínek. Podle tohoto rozlišujeme diapauzu jako pouhou redukci metabolismu a na složité geneticky programované diapauzní chování. Dalším typem diapauzy je quiescence, která probíhá jako náhlá odpověď na nečekanou nepřízeň prostředí. Quiescence nastává hlavně tehdy, když dojde k prudkým změnám prostředí. Je jen krátkodobá. Díky schopnosti diapauzy mohl hmyz osídlit i místa, kde mohou nepříznivé podmínky přetrvávat delší dobu.

1.2. Molekulární mechanismy cirkadiálních a fotoperiodických hodin

O molekulární podstatě cirkadiálních hodin máme celkem slušnou představu, díky intenzivnímu studiu v posledních 40 a zejména dvaceti letech.

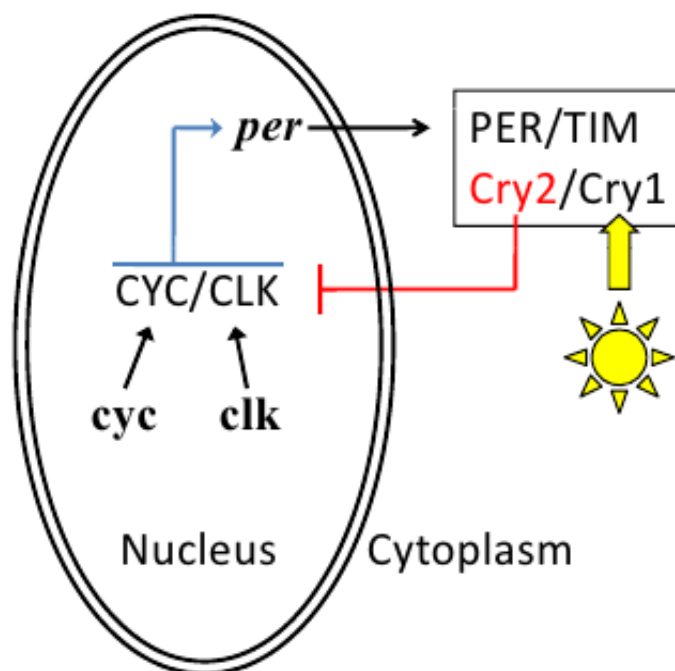
Cirkadiální hodiny generují 24hodinovou periodu přes hormony a synapse. Cirkadiální rytmy jsou generovány speciálními oblastmi v hmyzím těle. Z hlediska vnímání světla se měření délky dne neodehrává jen pomocí očí, ale také pomocí extraretinálních útvarů (Numata et al., 1997). Ty se obvykle nachází na hlavě nebo na mozku, nad kterou je kutikula translucenční nebo ztenšená. Tyto buňky se shlukují po deseti nebo více buňkách v jedné skupině. Mezi sebou jsou propojeny pomocí gap-junctions, synapticky nebo hormonálně. Tyto oblasti se nazývají cirkadiální oscillátory. Dva hlavní oscillátory pro cirkadiálníitu se nachází v mozkovém ganglionu. V hlavovém ganglionu jsou zodpovědnými částmi optický lalok a protocerebrum. V některých případech může funkce měření cirkadiálních rytmů v těchto částech mozku chybět, je jen v jedné nebo v druhé (Wise et al., 2002). Vedle toho nacházíme v hmyzím těle různé lokálně autonomní oblasti, které jsou důležité, ale jsou podřízené. Jako příklad mohou posloužit malpigické trubice, slinné žlázy nebo prothorakální žlázy (Kodrík, 2000). Tyto části mohou spolupracovat, nebo samostatně řídit některé fyziologické děje v těle.

Pro hmyz je nejvíce důležité modré a zelené spektrum světla. Dva hlavní proteiny, které jsou schopné absorbovat toto světlo, jsou cryptochrom(CRY) a opsin (Goto 2002). Kryptochrom je fotoreceptor na bázi flavinů, který je citlivý na modré spektrum světla. Je zodpovědný za seřízení

oscilátorů(Stanewsky et al. 1988).

Základní model hmyzího oscilátoru je postaven na bílkovině kryptochrom (CRY). Jak už bylo řečeno, je to molekula citlivá na světlo, která vytváří různé zpětnovazebné dráhy s pozitivně i negativně aktivními elementy(Bradshaw, 2010).

Obrázek 2 nám ukazuje zjednodušené schéma circadiálních hodin. Transkripce genu *cycle* (*cyc*) je kontinuální a transkripce genu *clock* je rytmická (*clk*). Translatované proteiny CYC a CLK podporují transkripci genu *period* (*per*). *Per* mRNA je transportovaný do cytoplasmy, kde je translatovaný do jeho proteinu PER a vytvoří komplex s *timeless* proteinem (TIM) a proteiny kryptochromu CRY1 a CRY2. CRY1 je fotoreceptor, který umožňuje vnímání tmy a dne pro fotoperiodické hodiny. CRY2 je insenzitivní na světlo a je hlavním transkripčním represorem v tomto systému (Bradshaw, 2010). Celý tento mechanismus jako komplex genu se označuje jako circadiální oscilátor.



Obr.2 Zjednodušené schéma cirkadiálního mechanismu v buňce(Bradshaw 2010)

Na celý oscilátor navazují podřízené neurosekreční orgány, které pomocí hormonů ovlivňují fyziologické a biochemické děje v tele. Důležité hormony v řízení circadianity jsou juvenilní hormon, PTH a ecdysteroidy. Diapauza je řízena z corpora allata, kde se syntetizuje juvenilní hormon, který má spolu s ecdysteroidními hormony velký vliv na diapauzu. Juvenilní hormon je během diapauzy v hemolymfě nedetekovatelný. Juvenilní hormon je terpenoidní hormon z rodiny sesquiterpenů od franezolu. Z fyziologického hlediska má v hmyzím těle nesmírně velký počet úkolů, jako např. embryogeneze, svlékání, metamorfóza, vitelogeneze, vývoj a inhibice ovárií. Reguluje tvorbu vitelogeninů, jejich transport a vstup do oocytů. Juvenilní hormon se vylučuje rytmicky a lze jej změřit, jeho stimulant a inhibitor je vylučovaný z corpora allata. Stimulantem je allotropin, inhibitorem je allostatin. (Gilbert et al., 2004) Juvenilní hormon hraje důležitou roli při rozmnožování, ovlivňuje produkci vitelogenu v tukovém tělese a jeho příjem v gonádách. Ecdysol ovlivňuje růst folikulárních buněk (Kodrík, 2000).

Projevy fotoperiodismu obsahují dva hlavní speciální mechanismy. Fotoperiodický měřič času, který rozlišuje dlouhé a krátké dny a sčítač, který sčítá dlouhé nebo krátké dny, nahromadí informace z měřiče a poté vyvolá potřebný podnět v hmyzím těle (Emerson et al., 2008). Je zajímavé, že samostatná buňka jako hodiny fungovat nemůže (Pickard, 1994).

Kladení vajíček je řízeno pomocí circadiálních hodin. Vyskytují se zde fyziologické i behaviorální rozdíly mezi jednotlivými druhy, což je důležité kvůli okolí, např. pohyb vajíček ve vejcovodu je takto synchronizován (Thompson, 1999).

Circadiální oscilace jako část fotoperiodického měření času a další regulace rytmů ukazuje na to, že jsou složené z více složek a vytváří takzvaný multioscilační systém (Saunders 1990).

O diapauze se lidé většinou domnívají, že se jedná jen o vypínání a zapínání vývoje. Je to překvapivé, ale diapauza je dynamický proces, při kterém dochází k regulaci příjmu energie metabolických látek, ke změnám v příjmu kyslíku atd. Dochází také ke změně v genové expresi a ke snaze o snížení stresových faktorů. Vývoj také nemusí být zablokován, pokračuje dál, i když ve zpomaleném měřítku. Jako příklad nám může posloužit druh komáru *Culex pipiens* (Readio et al., 1999) anebo embryonální vývoj mšice *Acyrtosiphon pisum* (Shingleton et al., 2003)

Diapauza je specifický druh dormance. Další obdobné stavy jsou quiescence či cryptobioza (Košťál, 2006).

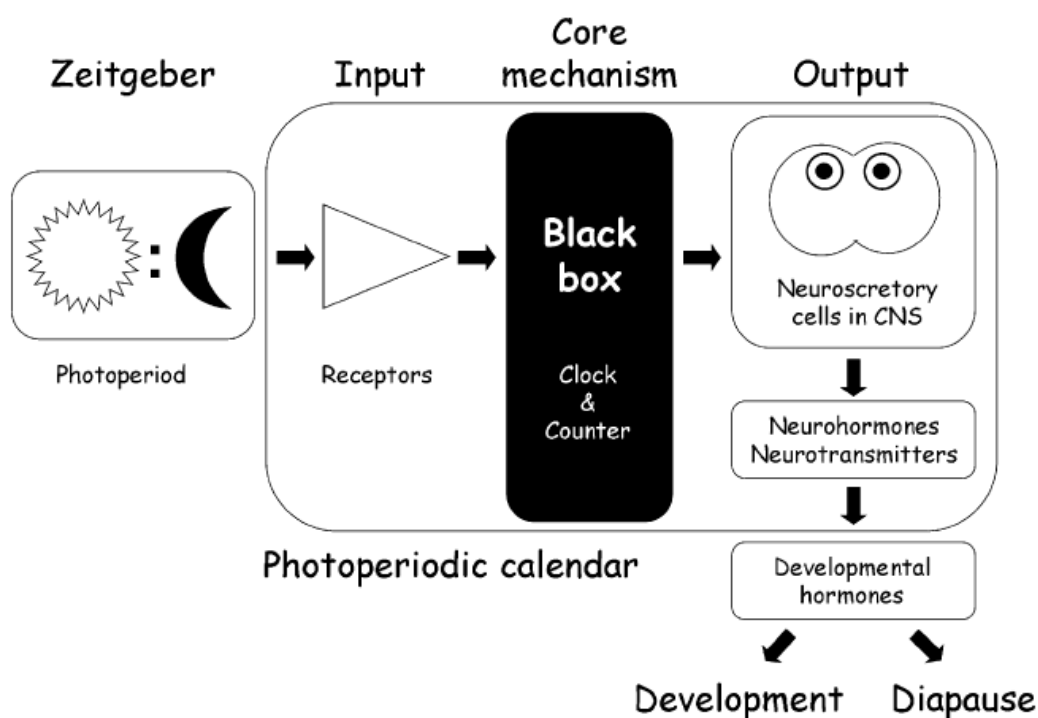
Samotnou diapauzu předchází prediapauzní období, kdy se hmyz rozhoduje, zda má vstoupit do diapauzní fáze, nahromadit energii a připravit se na pozměněný metabolismus. Samotné rozhodování není jednoduchý proces, běží podle striktně daného programu, kde probíhá kumulace kaskády dějů a během této doby může být kdykoliv přerušena. Během diapauzy neprobíhá morfogeneze, jedinec nepřijímá potravu a příjem kyslíku klesne až na 2 – 4 procenta. V mírném pásmu hmyz na toto období hromadí ve svém těle kryoprotektanty, které jej ochrání před

mrazem(Gilbert et al, 2004).

Předpokládá se, že primárním a nejdůležitějším stimulem pro diapauzu, nebo pro její ukončení, je světelná perioda. Zde se setkáváme s výrazem kritická fotoperioda, která má za následky rozhodnutí o další fyziologické děje. Měření kritické fotoperiody je velice citlivé, hmyz dokáže naměřit i rozdíl pouhých 15 minut. Rozhodnutí je velice rychlý děj. Pravděpodobně druhým a možná i stejně významným faktorem je termoperioda. Např. nastane situace, kdy světlo je ještě dostatečné pro rozmnožování, ale dlouhodobý chlad nastartuje diapauzu. Nebo také naopak, den je ještě příliš krátký, ale zvýšená teplota může diapauzu přerušit. (Gilbert et al., 2004)

Další faktory, které mají vliv na daný program jsou kvalita potravy, stálost vegetace, feromony a hustota populace. (Gilbert et al., 2004)

Diapauza se během evoluce objevila vícekrát v různých fylogenetických větvích. Zbývá otázka, zda se vyvinula vícekrát nezávisle, nebo existuje nějaký primitivní předek. Po porovnání roztočů, pavoukoců a hmyzu to vypadá tak, že to mělo stejný základ. Tato hypotéza dává smysl tehdy, když porovnáme některé druhy roztočů, vosy, můry a motýly, kteří k fungování základního mechanismu fotoperiodické indukce hodin potřebují karotenoidy. Dalším důležitým aspektem je, že jak pro hmyz, tak i pro roztoče je důležitější trvání noční fáze než denní. Základní mechanismus u roztočů i hmyzu se skládá z fotoreceptoru, který rozlišuje den a noc (jestli je delší nebo kratší než kritická délka dne) a counter, který začleňuje výsledky hodin do vyhodnocovací části systému (A. Veerman, 2001). Široké spektrum živočichů i rostlin používá měření délky dne a noci jako základní klíč pro migraci, rozmnožování a vývoj (Bradshaw et. al., 2006).



Obr. 3 Základní schéma fotoperiodického kalendáře(Košťál, 2011).

Znázornění základního schématu fotoperiodického kalendáře (Obr. 3). Vnější signály jsou zachyceny pomocí receptoru, který vede tyto impulzy k vnitřním hodinám a ke counteru. Signály jsou posílané dál do centrální nervové soustavy, kde vyvolají řadu dějů, jako například produkci neurohormonů, neurotransmiterů, které mají vliv na produkci hormonů, které ovlivňují vývoj a chování (Košťál, 2011).

1.3. Geografická variabilita ve fotoperiodické odpovědi

Naklonění osy planety o 23,5 stupně způsobuje to, že se střídají roční období a mění se délka dne a noci, což má vliv na živé organismy. Dopad sluneční energie na zemský povrch klíčově ovlivňuje život všech živých bytostí. Ve vývoji tak unikátní věci, jako je měření fotoperiody, hrála roli také geologická stabilita Země, což znamená pravidelnou a stejně dlouhou rotaci Země kolem osy. To zajišťuje den dlouhý 24 hodin (Košťál, 2011).

Sezonní morfologické změny u mšic jsou dobrým příkladem (Marcowitch, 1924). Další příklady sezonality jsou migrace motýlu *danaus* a následná diapauza, diapauza kobylek, cvrčků a různých druhů motýlů, kteří buď jako larva, kukla nebo vajíčko musí přečkat zimu nebo v jiných oblastech kruté léto.

1.4. Příklady diapauzy a cirkadiality v přírodě

V přírodě se vyskytuje nesmírný počet zajímavých příkladů, kde se ve vývoji a morfologii projeví cirkadialita nějakým zajímavým způsobem. Jako první příklad můžeme uvést druh mšice *Aphis forbesi*, který na dlouhé letní dny reaguje tak, že se vyvíjejí jen viviparní samičky, a to partenogeneticky. Jakmile se začnou dny zkracovat a sezona se chýlí k podzimu, mšice změní svojí strategii a začnou se líhnout také samci. Následně pak dochází k pohlavnímu množení (Marcovitch, 1924).

Jako druhý příklad mohou posloužit některé druhy můr. Z housenky můry *Orgyia grandiosella* se vyvíjejí dospělci, kteří mají normální morfologii a produkují malá nediapauzní vajíčka. Generace, která dospívá na podzim, odpovídá na zkracující se dny a přicházející zimu velkými černými diapauzní vajíčky, která jsou schopná přežít zimu (Kimura, 1977). Další můra, která klade diapauzní vajíčka, je druh *Bombyx morii*. Je to příklad maternálně indukované diapauzy (Yamashita, 1996). V pokusu s můrou *Plutella maculipennis* se zjistilo, že délka dne má vliv na délku vývoje. Housenky, které byly osvětleny 15 hodin denně, se vyvinuly během 15 dnů. Ty, které byly ozářené kratší dobu (9 hodin denně), se vyvíjely 18 dní (Atwal, 1955).

Jako vzácný, ale velmi zajímavý příklad, může posloužit druh komára z podřádu *Nematocera*, *Chironomus riparius*, který ve čtvrtém instaru vývoje přijímá potravu i během zimy, roste, ale vývoj imaginálních disků je zablokován (Goddeeris et al., 2001). Obdobný jev můžeme pozorovat u motýlu *Sesamia nonagrioides*, kteří během diapauzy také dál přijímají potravu - sice v malém množství, a dál probíhá svlékání. Při svlékání neroste, jen larvální stádium trvá delší dobu. Vývoj imaginálních disků je taktéž zablokován (López et al., 1955).

Jako příklad diapauzy, kde světlo nehraje roli a kde populační hustota je rozhodující, slouží nematod *Caenorhabditis elegans* (háďátka obecné). Háďátka při přijímání potravy produkují speciální feromon. Tento feromon slouží jako signál pro larvy v třetím instaru. Když je koncentrace feromonu v okolí vysoká, je to pro larvy informace, že hustota populace je vysoká, a tudíž nemá smysl dokončit vývoj v dospělce, z důvodu možného nedostatku potravy. Když koncentrace feromonu v okolí klesne, je to pro larvy signál, že hustota populace klesla a tudíž je vhodný čas dokončit vývoj, protože nehrozí vysoká míra kompetice o potravu (Houthoofd et al., 2004).

V tropech sezonní změny nejsou tak markantní, jako v jiných biotopech, přesto se zde diapauzující hmyz vyskytuje, protože zde nastávají jiné problémy. Například u sarančete *Schistocerca gregaria* vyvolá diapauzu změna kvality potravy. Pokud se v potravě sníží (nebo zcela vymizí) hladina giberelinu nebo eugenolu, samičky pozastaví produkci vajíček (Ellis et al., 1986).

1.5. *Pyrrhocoris apterus* jako model při studiu fotoperiodismu

Zájmovým organismem práce je ruměnice pospolná (*Pyrrhocoris apterus*).

Nadtřída: Šestinožci *Hexapoda*

Třída: Hmyz *Insecta*

Podtřída. Křídlatí *Pterygota*

Řád: Ploštice *Heteroptera*

Čeled: Rumenicovitý *Pyrrhocoridae*

Celosvětově čítají ploštice asi 40 000 druhů, z toho v České republice jich žije asi 900 druhů. První tvorové podobní plošticím byly objeveny v permu.

Tento hmyz je výborným objektem k výzkumu. Je nenáročný na chov, rychle se množí a je celosvětově rozšířený. Vyskytuje se v celé Evropě, v Malé a Přední Asii, na Sibiři, v Indii, v Severní Africe a ve Střední Americe. Takto veliký areál rozšíření umožňuje chronobiologický výzkum v poměrně jemném měřítku. Výhodou také je, že i mezi populacemi, které žijí blízko u sebe, existuje relativně malá pravděpodobnost křížení (Zahradník et al., 2006).

Velikost ruměnice pospolné je velice variabilní, od 7 mm do 17 mm. Tělo je dorzoventrálně

zploštělé. Kromě složených očí mají ještě i 3 jednoduché oči. Ústní ústrojí je bodavě savé. Mají vnější trávení, nabodnou lipové semeno, vystříknou do něj trávící enzymy a vysají natrávenou tekutou potravu (Kodrík, 2000). Zadeček kryjí zkrácené polokrovky, jen migrující jedinci mají dlouhé krovky. Jako potrava jim slouží semena rostlin, hlavně lípy, ale nepohrdnou ani živočišnou potravou. Jejich výstražné zbarvení varuje predátory, že mají nepříjemnou chuť (Zahradník et al., 2006).

Jejich přeměna je nedokonalá. Svlékají se celkem pětkrát. Samička volně vypouští vajíčka do prostředí a nadále se o ně nestará. Vajíčka se líhnou při 25°C po 2 týdnech. Malé nymfy jsou světlé, měkké a krovky mají málo vyvinuté. Při každém svlékání pokrývají krovky větší plochu zadečku. Velikost dospělce velmi závisí na kvalitě potravy (Gilbert et al., 2004).

2. Cíle práce

Cílem této bakalářské práce bylo vyzkoušet změření fotoperiodické křivky ruměnice pospolné (*Pyrrhocoris apterus*) v postupně se prodlužující fotoperiodě.

Druhým úkolem bylo porovnat diapauzní odpověď mezi geografickými liniemi ruměnic pospolných (*Pyrrhocoris apterus*) pocházejících s odlišných zeměpisných šířek a nadmořských výšek.

3. Metodika

3.1 Udržení chovů

Základem celého pokusu je udržení a rozmnožení jednotlivých linií ruměnic. Pro tento účel byly použity skleněné nádoby. Do nádob byla nasypána vrstva semen lípy (*Thillia sp.*) a umístěn poskládaný filtrační papír. Poskládaný papír zvětšuje plochu, po které se mohou ploštice pohybovat. Samozřejmostí je zabezpečení přísunu vody. K tomu byly použity skleněné nádobky naplněné vodou s hrdlem uzavřeným buničinou. Vodu bylo potřeba měnit každý týden kvůli plísním a nečistotám, které ruměnice nanášejí na buničinu. Skleněná nádoba s ruměnicemi byla uzavřena pomocí síťky, která byla připevněna gumičkou. Jednotlivé linie byly umístěny v inkubátoru s permanentní teplotou 25°C a v trvalém světle. K pokusu byly použity ruměnice pospolné z 12-ti různých lokalit z celé Evropy, které jsou zaznamenány v tabulce 1 a znázorněny na mapě (Obr 4).

Lokalita	Souřadnice lokality	Nadmořská výška
Toila	N 59°25'; E 027°31'	44 m.n.m.
Estonsko # 11	N 58°; E 026°15'	60 m.n.m.
Stockholm	N 59°21'; E 018°15'	0-100 m.n.m.
Kocbeře	N 50°24'; E 015°53'	440 m.n.m.
Dvůr Králové	N 50° 25' E 15° 48'	300 m.n.m.
Oldřichovec	N 49°36'; E 014°40'	700 m.n.m.
Chelčice	N 49°07'; E 014°11'	470 m.n.m.
Lyon	N 45°; E 05°	cca 200 m.n.m.
Roanna	N 45°56'; E 011°30'	1000 m.n.m.
Marseille	N 43° E 05°	10 m.n.m.
Safed	N 32°96'; E 035°30'	cca 500-700 m.n.m.
Ma'agal Michael, Nž	N 33° E 034°	0-100 m.n.m.

Tab. 1: Jednotlivé lokality, jejich souřadnice a nadmořská výška.

3.2. Postup pokusu

Ruměnice pospolné byly chovány ve sklenicích, ve kterých byly jednotlivé linie pohromadě. Ploštice od druhého instaru byly udržovány ve fotoperiodě 12/12 (25°C v inkubátoru). Takto byly chované do té doby, dokud nedospěly. Po dosažení dospělosti, zhruba po sedmi dnech, se fotoperioda prodloužila o hodinu. Pokus začal na periodě 12hodin světla/12hodin tmy. Doby, kdy byly ploštice vystaveny světlu, se postupně prodlužovala, až na periodu 22/2. Sklenice, ve kterých byly ploštice chovány, byly kontrolovány 2x - 3x za týden a to až do té doby, dokud samičky nezačaly klást vajíčka. Kladoucí samičky byly ze sklenic rozděleny samostatně do Petriho misek. K samičkám bylo do misek umístěno napajedlo s vodou a několik semen lípy (*Thylia sp.*). Napajedla byla pravidelně měněna, aby se zamezilo rozmnožení plísní, bakterií a roztočů. O kladoucích samičkách byl pořízen záznam, kladoucí samička byla zaznamenána do tabulky. Kladoucí jedinci již nebyli vráceni do inkubátoru. Samičky zůstaly v dané fotoperiodě, dokud nepřestali klást. Samičky, které nekladli, byly vráceny do inkubátoru a fotoperioda jim byla posunuta o jednu hodinu. Uhynulí jedinci nebyli do pokusu započítáni.

3.3 Grafické zpracování – analýza dat

Počet ploštic byl pečlivě zamenán do tabulky (Tab. 2). Pro vyhodnocení dat byl použit program Microsoft Excel. V prvním sloupci jsem vynesl fotoperiodu, druhý představoval jednotlivé dny pokusu, třetí počet kladoucích samic, čtvrtý sloupec znázorňuje celkový počet samic, ze kterých se postupně odečítali kladoucí jedinci a pátý sloupec procenta nekladoucích samic. V grafu je postupováno od 100% k 0, což značí, jak postupně jednotlivé samice ukončovali diapauzu a začínaly klást vajíčka. Na grafu je vynesena souvislost fotoperiody a procenta diapauzních samic. Takto byly vytvořeny tabulky a grafy pro všechny použité linie.



Obr. 4 Mapa lokalit odkud v pokusu použité plošnice pochází.

4. VÝSLEDKY

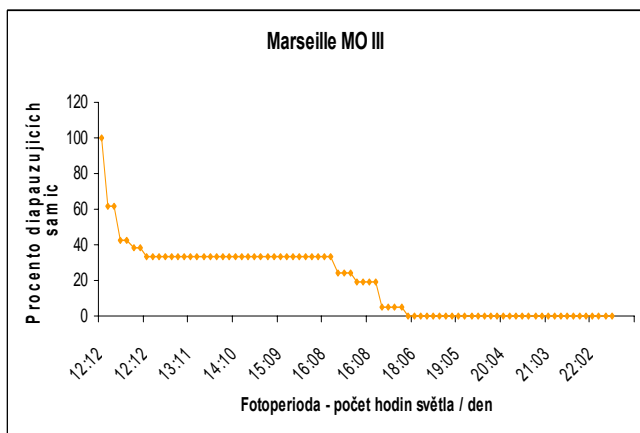
Úkolem práce bylo porovnat fotoperiodickou odpověď ruměnic pocházejících s odlišných zeměpisných lokalit. K pokusu jsem použil ruměnice pospolné z 12-ti lokalit, které představují 16 linií a 424 jedinců. Přehled studovaných linií a počty samic použitých v pokusu jsou uvedeny v Tab. 2. V některých případech bylo z jedné lokality použito více linií (v tabulce jsou uvedena jejich označení), a některé linie byly měřeny opakovaně (v grafech jsou pak jednotlivé pokusy označeny písmeny A, B, C). Jednotlivé linie se liší tím, že ploštice byly odchyceny u jiných stromů anebo v laboratoři byly chovány v laboratoři již delší dobu.

Lokalita	Linie	Počet jedinců v pokusu
Toila	Toila R	22
	Toila 36	37
Estonsko # 11	Estonsko # 11	9
Stockholm	Stockholm	19
Kocbeře	Kocbeře	41
Dvůr Králové	Dvůr Králové	55
Oldřichovec	Oldřichovec	15
Chelčice	iso 20	18
Lyon	Lyon	38
Roanna	Roanna	14
Marseille	D6	27
	Mo II	21
	Mo V	14
	Mo VI	29
Safed	Safed	41
Ma'agal Michael, Nž	Ma'agal Michael, Nž	24

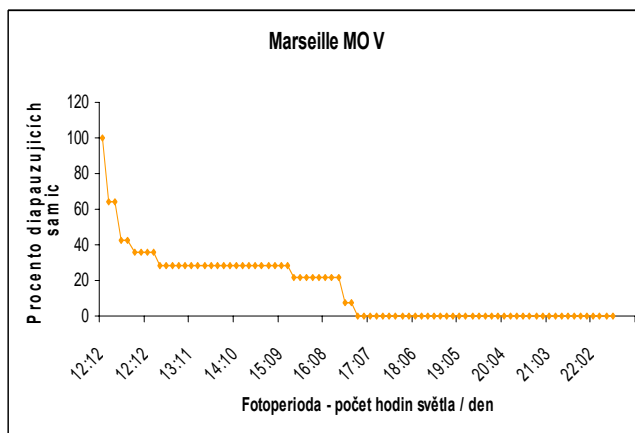
Tab 2. Přehled počtu jedinců použitých v pokusech, lokalita, ze které byly ploštice získány a označení linií použitých v pokusech. Měli jsme k dispozici ploštice z celkem 12ti lokalit severní polokoule, které se lišili geografickou polohou (sloupec 1). Z některých lokalit se nám podařilo získat více linií ploštic (sloupec 2). V posledním sloupci je uveden přesný počet ruměnic použitých v pokusech.

V samotném pokusu byly všechny linie ploštic umístěny do konstantní teploty (25°C) a pomocí měnicích se světelných podmínek byla stanovena křivka kladení každé linie. V grafech je znázorněn počet hodin, kdy byly ploštice vystaveny světlu, a počet hodin, kdy se nacházely ve tmě. Na ose *y* je vyznačeno procento nekladoucích samic, což samozřejmě bylo na začátku pokusu 100%, poté je v každém grafu jasný klesající trend, podle toho, kdy samice začaly klást vajíčka. Jako první jsme stanovovali křivku kladení ploštic z lokality Marseille (obr. 5 – 9). Mezi jednotlivými liniemi z lokality Marseille jsme zjistili jisté rozdíly. Nejvíce podobné jsou linie Marseille Mo III(Obr. 5), Mo V(Obr. 6) a Mo VI B(Obr. 8), . První vlna samic začala klást vajíčka

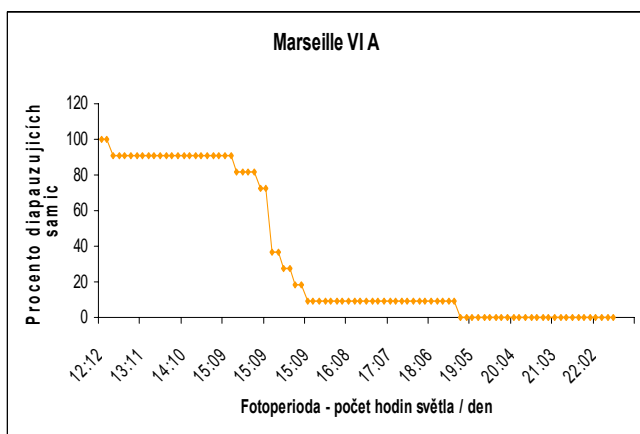
při 12-ti hodinovém osvětlení, poté začaly stagnovat. Zbytek samic začal klást při osvětlení trvajícím 16 hodin. Tyto linie jsou označeny v (Tab. 3).



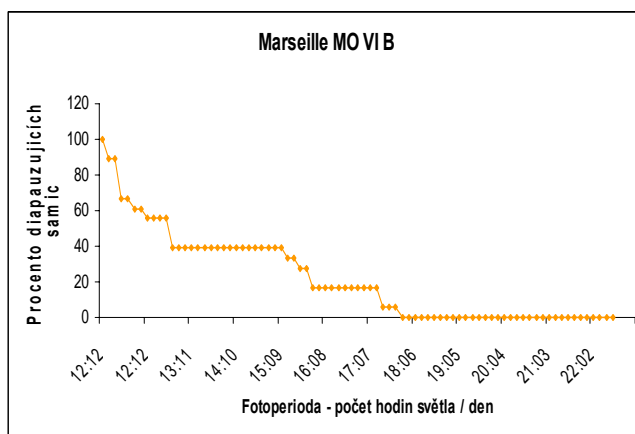
Obr. 5 Kladoucí křivka linie Marseille Mo III. Všechny samice skončily diapauzu ve světelném režimu 18:06.



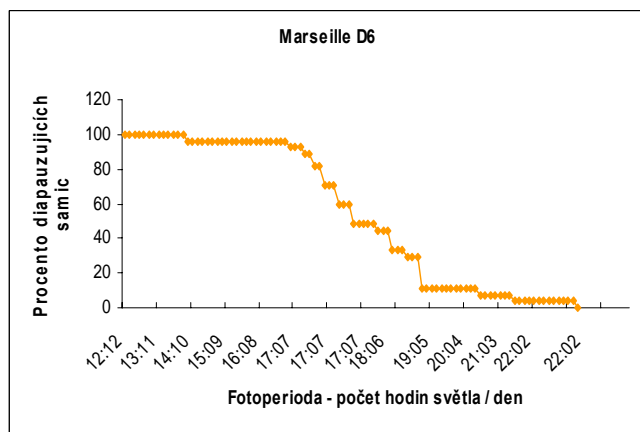
Obr. 6 Kladoucí křivka linie Marseille Mo V. Všechny samice skončily diapauzu ve světelném režimu 17:07.



Obr. 7 Kladoucí křivka linie Marseille VI A. Skončily diapauzu ve světelném režimu 15:09.

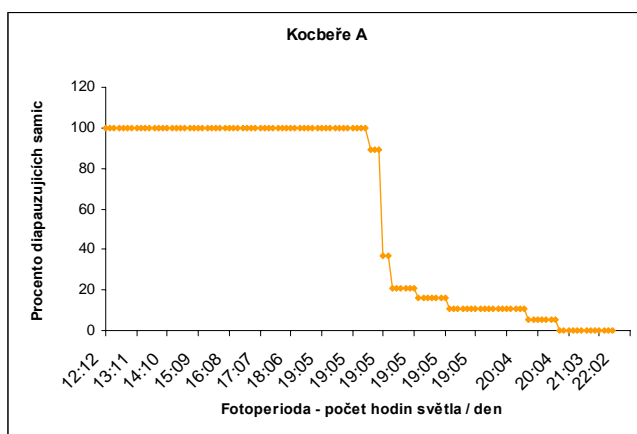


Obr. 8 Kladoucí křivka linie Marseille VI B. Skončily diapauzu ve světelném režimu 15:09.

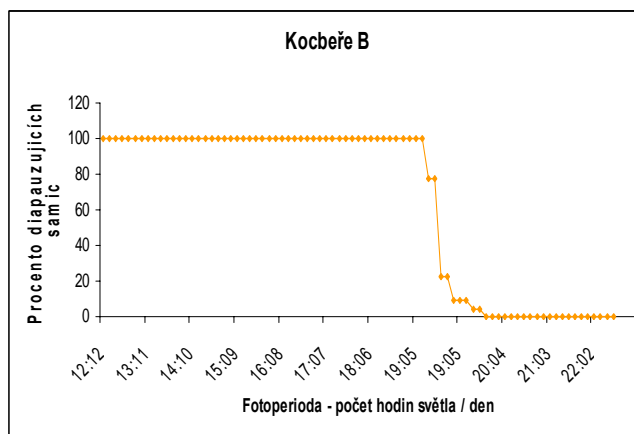


Obr. 9 Kladoucí křivka linie Marseille D6. Skončily diapauzu ve světelném režimu 19:05.

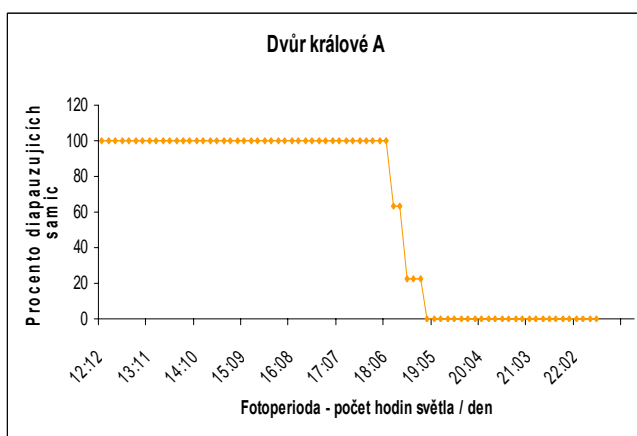
Stanovil jsem křivku kladení u ploščic odchyćených na různych lokalitách v České republice (Obr. 10 – 15). Mezi těmito liniemi není patrný žádný značný rozdíl. Všechny samice začaly klást v přibližně stejných světelných podmínkách. Kocbeře A až B (Obr. 10-11) mají skoro stejnou fotoperiodickou křivku. O něco dřív začaly klást linie Oldřichovec (Obr. 14) a Chelčice(Obr. 15)



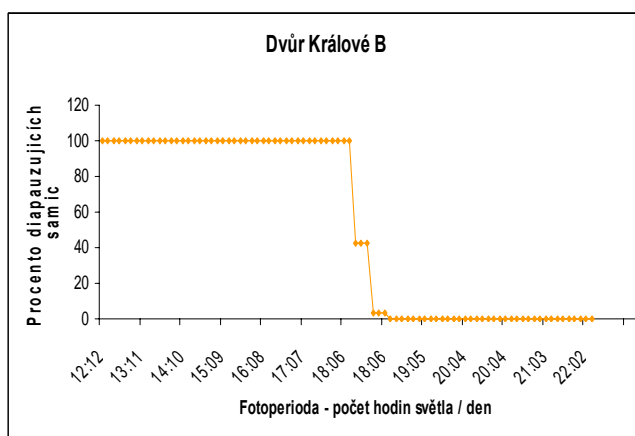
Obr. 10 Kladoucí křivka linie Kocbeře A. Skončily diapauzu ve světelném režimu 21:03.



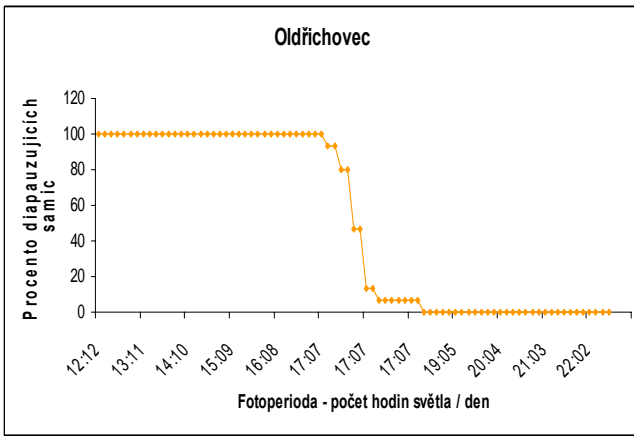
Obr. 11 Kladoucí křivka linie Kocbeře B. Skončily diapauzu ve světelném režimu 19:05.



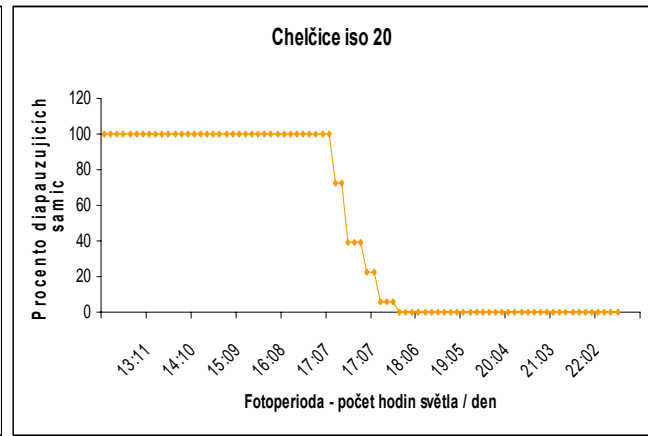
Obr. 12 Kladoucí křivka linie Dvůr Králové A. Skončily diapauzu ve světelném režimu 19:05.



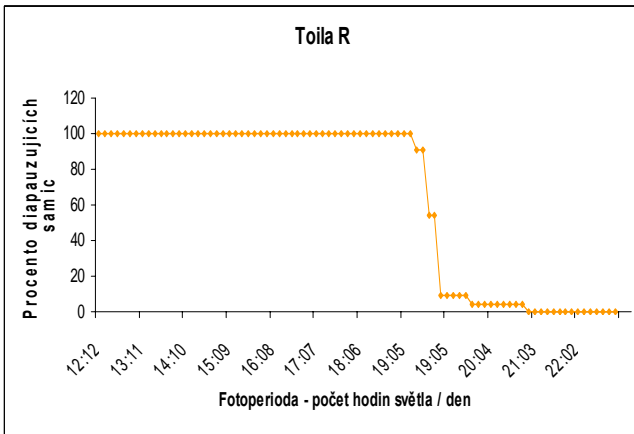
Obr. 13 Kladoucí křivka Dvůr Králové B. Skončily diapauzu ve světelném režimu 19:05.



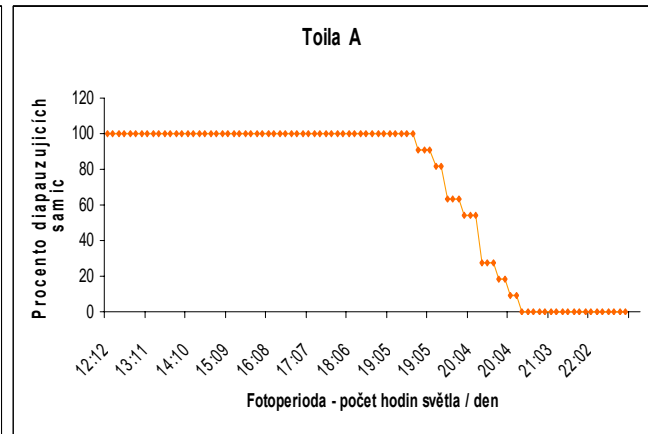
Obr. 14 Kladoucí křivka linie Oldřichovec. Skončily diapauzu ve světelném režimu 19:05.



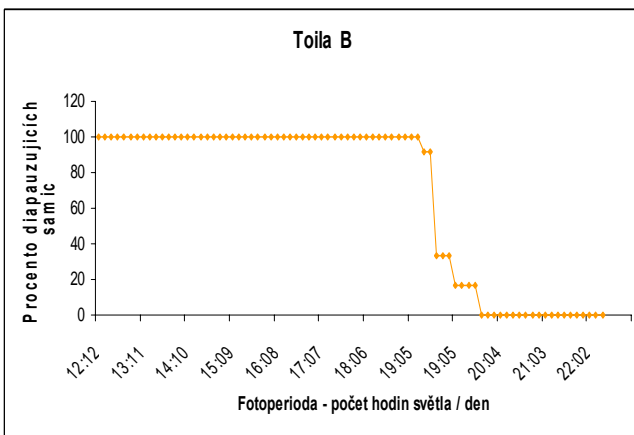
Obr. 15 Kladoucí křivka linie Chelčice iso 20. Skončily diapauzu ve světelném režimu 17:07.



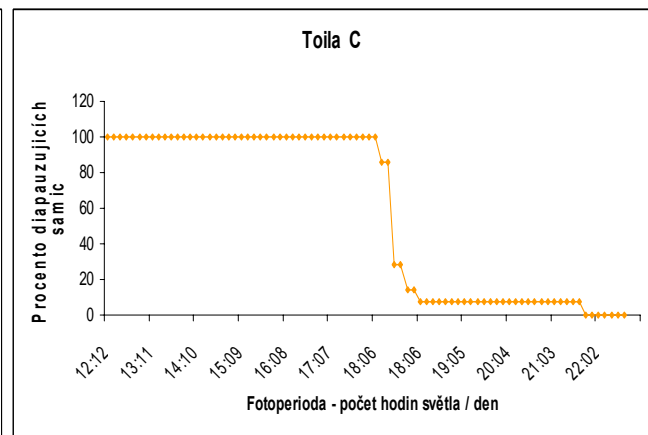
Obr. 16 Kladoucí křivka linie Toila R. Skončily diapauzu ve světelném režimu 19:05.



Obr. 17 Kladoucí Křivka linie Toila A. Skončily diapauzu ve světelném režimu 20:04.

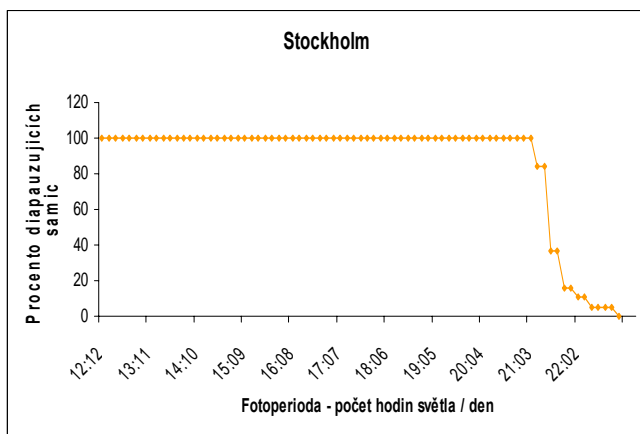


Obr. 18 Kladoucí křivka linie Toila B. Skončily diapauzu ve světelném režimu 19:05.

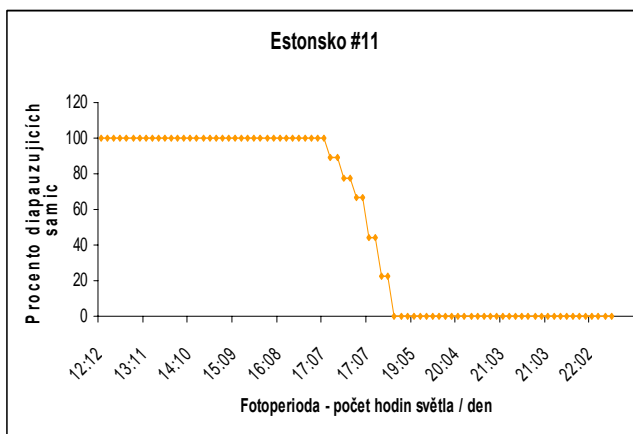


Obr. 19 Kladoucí Křivka linie Toila C. Skončily diapauzu ve světelném režimu 19:05.

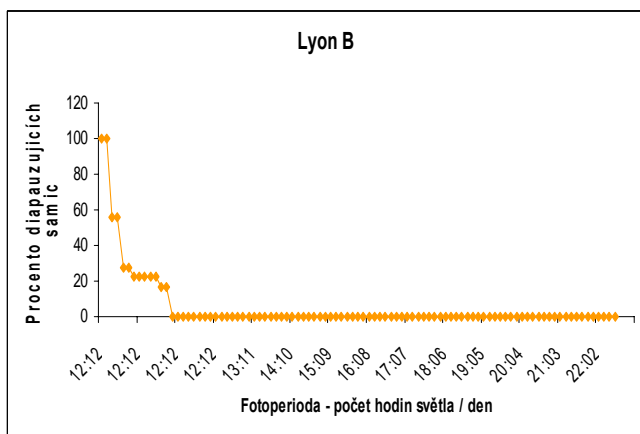
Linie, které byly získány z lokality Toila, patří, vedle linií z Estonska (Obr. 21) a Stockholmu (Obr. 20), k liniím s nejsevernějším výskytem. Stockholmská linie ukončila diapauzu až ve světelném režimu 21:03. Toila C (Obr. 19) začala klást nejdříve při osvětlení trvajícím 18 hodin, linie Toila A a B začaly klást o hodinu později (Obr 17-18).



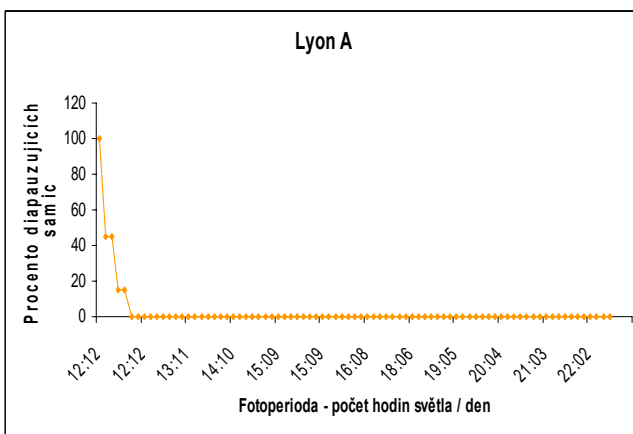
Obr. 20 Kladoucí křivka linie Stockholm. Skončily diapauzu ve světelném režimu 22:02.



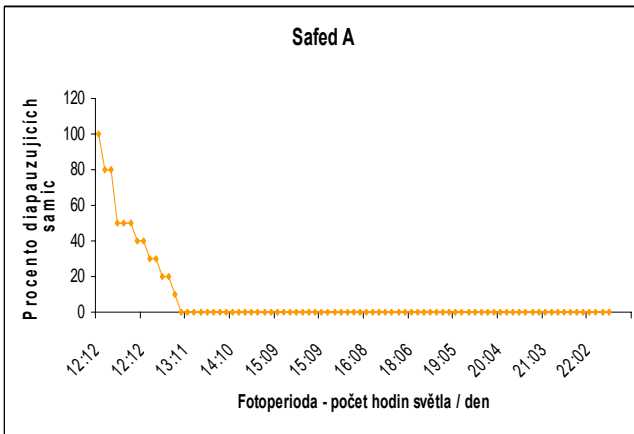
Obr. 21 Kladoucí Křivka linie Estonsko. Skončily diapauzu ve světelném režimu 19:05.



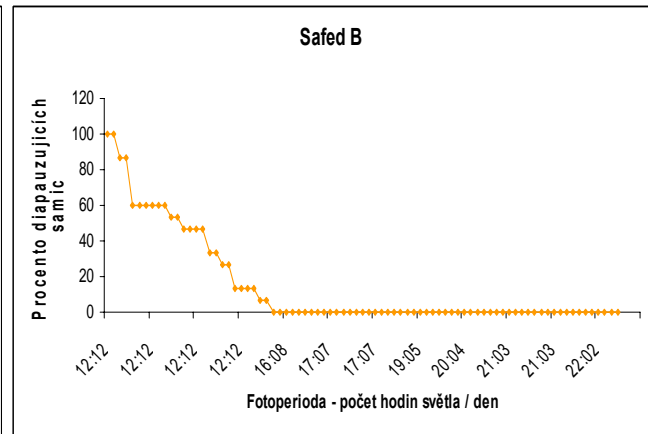
Obr. 22 Kladoucí křivka linie Lyon B. Skončily diapauzu ve světelném režimu 12:12.



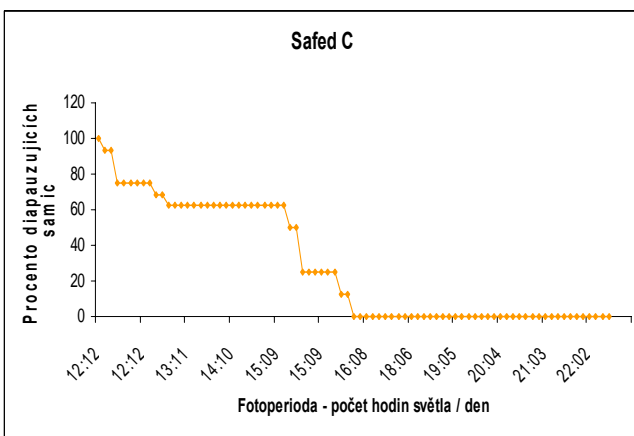
Obr. 23 Kladoucí Křivka linie Lyon A. Skončily diapauzu ve světelném režimu 12:12.



Obr. 24 Kladoucí křivka linie Safed A. Skončily diapauzu ve světelném režimu 12:12.

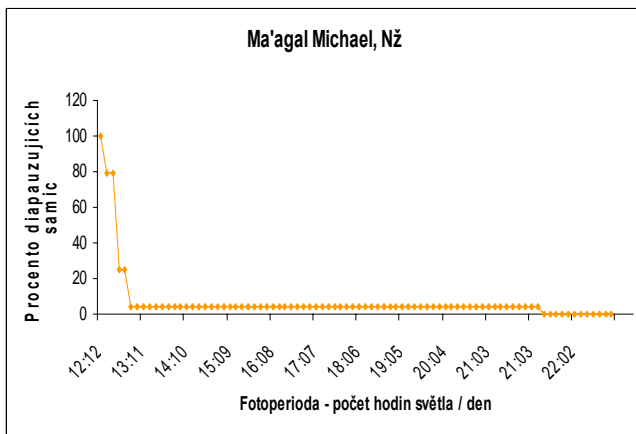


Obr. 25 Kladoucí Křivka linie Safed B. Skončily diapauzu ve světelném režimu 12:12.

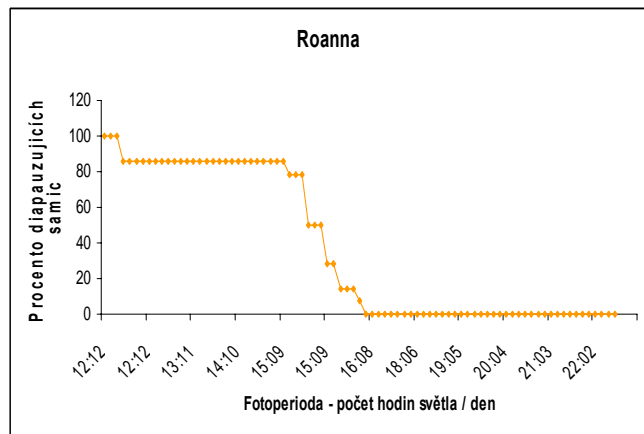


Obr. 26 Kladoucí křivka linie Safed C. Skončily diapauzu ve světelném režimu 15: 09.

Linie Safed A a B(Obr. 24-25), která byla nejnižnější testovanou linií, vykazovala stejný trend jako linie Lyon A a B(Obr. 22-23), tedy při fotoperiodě 12/12. Zajímavou výjimkou je Safed C(Obr. 26) která sice začala klást při fotoperiode 12:12 ale pak jistý čas stagnovala a všechny samice ukočily diapauzu při fotoperiodě 16:08. Může to být důsledek v chybného měření nebo nějakého rušivého elementu.



Obr. 27 Kladoucí křivka linie Ma'agal Michael, Nž. Skončily diapauzu ve světelném režimu 12:12.



Obr. 28 Kladoucí křivka linie Roana. Skončily diapauzu ve světelném režimu 15:09.

Ma'agal Michael, Nž (Obr. 27) je také jednou z linií, které začaly klást brzy. V porovnání s Roanou(Obr. 28) je znatelný rozdíl. Rozdílům by odpovídalo to, že Roana je výše a severněji položená lokalita.

Z grafů je patrné, že linie, které pocházejí z jihu nebo níže položených lokalit, přeruší diapauzu při mnohem kratší světelné periodě, než linie, které pocházejí ze severu nebo vyšších lokalit. Linie Sefad A (Obr. 24) a Sefad B(Obr. 25) a Lyon A(Obr. 23) a Lyon B(Obr. 22) začali klást již při osvětlení trvajícím 12 hodin. Nejvíce hodin pod osvětlením strávily ruměnice pospolné ze Stockholmu(Obr. 20). Tato linie přerušila diapauzu až při osvětlení trvajícím 21 hodin. V tabulce 3 je souhrn všech linií a jejich minimální fotoperiody když ukončily diapauzu a začali klást. S *-kou označené linie vykazují jistou odchylku. -může to být důsledkem nějaké chyby v měření, nebo ve fluktuaci teploty anebo z jiného neznámého důvodu.

Tab. 3 Seznam linií a jejich fotoperiody, při které začali klást. Dále jsou uvedeny souřadnice a nadmořská výška lokalit. S * jsou značené výsledky, které jsou zvláštní.

Linie	Souřadnice lokality	Nadmořská výška	CDL
Toila R	N 59°25'; E 027°31'	44 m.n.m.	19/5
Toila 36			20/4
Estonsko # 11	N 58°; E 026°15'	60 m.n.m.	18/6
Stockholm	N 59°21'; E 018°15'	0-100 m.n.m.	21/3
Kocbeře	N 50°24'; E 015°53'	440 m.n.m.	19/5
Dvůr Králové	N 50° 25' E 15° 48'	300 m.n.m.	18/6
Oldřichovec	N 49°36'; E 014°40'	700 m.n.m	17/7
Chelčice iso 20	N 49°07'; E 014°11'	470 m.n.m	17/7
Lyon	N 45°; E 05°	cca 200 m.n.m.	12/12
Roanna	N 45°56'; E 011°30'	1000 m.n.m	15/9
D6	N 43° E 05°	10 m.n.m.	17/7
Marseille Mo III			12/12*
Marseille Mo V			12/12*
Marseille Mo VI			15/9
Safed	N 32°96'; E 035°30'	cca 500-700 m.n.m.	12/12
Ma'agal Michael, Nž	N 33° E 034°	0-100 m.n.m.	12/12

5. Diskuze

Použitý způsob měření, kdy se perioda postupně prodlužovala, v závěru ukázal, že jednotlivé použité linie se liší. Ačkoliv v pokusu bylo použito málo jedinců, a proto nemá statistické vyhodnocení zatím smysl, můžeme pozorovat znatelné rozdíly mezi jednotlivými liniemi. Původní předpoklad byl, že směrem od rovníku na sever ploštice potřebují delší den k tomu, aby přerušily diapauzu a začaly klást vajíčka. V jednotlivých grafech můžeme pozorovat rostoucí tendenci v čase směrem na sever.

Nápadné je též, že některé linie jsou reprodukcí i za krátkého dne. Jedná se o několik jižních linií ze středomoří. Tento trend byl potvrzen i u dalších jižních linií – z Atén, z Jeruzaléma, středního Řecka a z jihu Slovinska (Vaněčková a Doležel, osobní sdělení). Jsou tyto linie kompletně nefotoperiodické? Nevíme. Nejlogičtějším pokusem je zjistit, zdali při nižší teplotě (případně v kombinaci s termoperiodou) dokážeme indukovat diapauzu. Je možné, že tyto jižní linie skutečně nepotřebují silnou fotoperiodickou regulaci vstupu do diapauzy a vyžadují jen pokles teploty, nebo je snad možné že vůbec nediapauzují. Linie ze střední a severní Evropy pak vykazují klinální variabilitu ve fotoperiodické odpovědi. Přepokládaným důvodem je posun sezóny v různých zeměpisných šířkách. Když se na severu chýlí sezona ke svému konci, na jihu je stále v plném proudu. Obdobná geografická variabilita ve fotoperiodické odpovědi byla popsána u mnoha dalších druhů včetně hmyzu, například u *Drosophila littoralis* (Lankinen 1986) u *D. monatana* (Hoikala, osobní sdělení) nebo u vosičky *Nasonia vitripennis* (van de Zande, osobní sdělení), či komára *Weyomyia smithii* (Bradshaw 1976). Proč tedy studovat tuto variabilitu u dalšího hmyzího organismu? Jedním důvodem je, že výše uvedené druhy létají a tudíž blízké populace se snadno míchají. Vzhledem k tomu, že ruměnice nemigrují ale ani nelétají, mohly by být vhodným modelem pro studium geografické variability i v rámci blízkých lokalit vykazujících odlišné povětrnostní podmínky.

Pochopitelně zeměpisná šířka není jediným určujícím faktorem podnebí na dané lokalitě, dalším podstatným aspektem je nadmořská výška. Tento parametr naše sbírka ploštic pokryla jen velmi předběžně. Určitý trend mezi liniemi sbíranými v Čechách je ale patrný, linie sbírané ve vyšších nadmořských výškách mají fotoperiodickou křivku posunutou k vyšším hodnotám. Toto zjištění je podpořeno paralelními pokusy (Vaněčková, Bajgar a Doležel, osobní sdělení), kde byl zjištěn rozdíl mezi liniemi z polabské nížiny (cca 200 m.n.m.) a horskými liniemi z Krkonoš (650 m.n.m.) a České Sibiře (700 m.n.m). Například v této bakalářské práci popsaná linie Roana, pochází ze stejnojmenné vesnice v Italských Alpách ležící v nadmořské výšce 1000 m. Tato lokalita je jen cca 120 od moře a tudíž by bylo velmi zajímavé a reálné doplnit studovaný materiál o linie pokrývající

nadmořskou výšku 0-1000m v naprosto stejné zeměpisné šířce.

Dalším důvodem, proč studovat geografickou variabilitu ploštic je jejich fylogenetická vzdálenost od výše uvedených holometabomích zástupců (dvoukřídlí a blanokřídlí). Sekvenční data ukazují, že mnohé cirkadiánní geny ruměnice jsou homology savčích genů a tím se ploštice liší od octomilky i komárů (Bajgar, Provazník a Doležel, nepublikováno).

Cílem této práce bylo tedy otestovat jestli u ploštic nacházíme geografickou variabilitu a také najít vhodný a efektivní způsob, jak měřit fotoperiodickou křivku. Pochopitelně je jasné, že fotoperiodická křivka zjištěna tímto gradientovým způsobem je arteficiální hned z několika důvodů. V první řadě existuje prodleva mezi rozhodnutím ploštice, že den je již dostatečně dlouhý a okamžikem, kdy dojde k naklazení vajec. V našem designu pokusu jsou ploštice udržovány v diapauzních podmínkách a prodloužení dne tuto diapauzu ukončí. Doba pobytu v krátkém dni ale též určuje intenzitu diapauzy a tudíž zřejmě i ovlivňuje rychlost, za jak dlouho jsou ploštice schopny přepnout do reprodukčního modu. Obdobně jsou (jako u většiny laboratorních pokusů) data získána za zjednodušených podmínek při konstantní teplotě. Pokles teplot i termoperioda je ale v přírodě podstatným faktorem určujícím diapauzu.

Podstatným přínosem našeho postupu je možnost určit fenotyp pro jednotlivce. A nejen to, tyto samice jsou živé, virginelní a mohou být úspěšně použity do následného křížení (Pecková a Doležel, osobní sdělení). To nám umožní zkřížit linie s výrazně odlišnou fotoperiodickou křivkou, změřit tuto křivku u F1 potomků a poté i u F2 jedinců. U těchto F2 jedinců pak můžeme korelovat fenotyp s výskytem alel pocházejícím buď z jedné či druhé původní linie (Doležel *et al.* 2005). Tato práce tedy ukázala, že máme k dispozici vhodný metodický postup pro studium fotoperiodismu i kvalitní linie ruměnic s rozdílnými fenotypy odpovídající jejich původní lokalitě.

6. Závěr

V této práci bylo cílem zjistit, jestli geografické rozšíření a nadmořská výška mají vliv na fotoperiodické chování ruměnice pospolné. V provedených experimentech se potvrdilo výsledky z pilotních pokusů provedených Davidem Doleželem a Adamem Bajgarem, které ovšem nebyly publikovány. V experimentech bylo zjištěno, že ruměnice pospolné vykazují značnou variabilitu ve fotoperiodickém chování, co se týče diapauzy. Směrem na sever od rovníku samičky potřebují více hodin světla denně k přerušení diapauzy. Důvodem je sklon zemské osy, který ovlivňuje roční období. Samicíky v severních zeměpisných šířkách musí být připraveny na kratší vegetační období, i když den je stejně dlouhý jako v jižnějších oblastech.

V budoucnu je třeba provést další pokusy s větším počtem jedinců z více lokalit, aby bylo možné sestavit jemnější fotoperiodickou mapu. Dále bude třeba statistického vyhodnocení výsledků pokusů, k čemuž je třeba použít více jedinců.

Tato práce ukazuje na to, jak velký má fotoperioda vliv na rozmnožování u ruměnic pospolných. Fotoperioda, a s ní spojená diapauza, je klíčovou strategií v úspěšném rozmnožení a přežití druhu.

7. Literatura

- Atwal, A. S. (1955) Influence of the temperature, photoperiod and food on the speed of development, longevity, fecundity, and other qualities of the diamond-back moth *Plutella maculipennis*(Curtis) (Tineidae, Lepidoptera). *Australian Journal of Zoology*, 3. 185-221.
- Bradshaw, W. E., 1976 Geography of photoperiodic response in diapausing mosquito. *Nature* **262**: 384-386.
- Bradshaw, E. W., Holzapfel, M. C.(2006) Evolutionary response to rapid climate change. *Science*, 312, 1477-1478.
- Bradshaw, E. W., Holzapfel, M. C. (2001) Genetic shift in photoperiodic response correlated with global warming. *PNAS*, 98, 14509-14511.
- Bradshaw, E. W., Quedobeaux M. C., Holzapfel, M. C. (2003) The contribution of a Timer to the evolution of photoperiodic response in the pitcher-plant mosquito *Wyeomyia Smithii*. *Evolution*, 57, 2342-2349.
- Bradshaw, E. W., Holzapfel, M. C.(2010) Circadian clock genes, ovarian development and diapause. *BMC Biology* 8:115.
- Dolezel, D., H. Vaneckova, I. Sauman, and M. Hodkova, 2005 Is period gene causally involved in the photoperiodic regulation of reproductive diapause in the linden bug, *Pyrrhocoris apterus*? *J.Insect Physiol* **51**: 655-659.
- Ellis, P. E., Carlisle, D. B., Osborne, D. (1965) Desert locus: sexual maturation delayed by feeding on senescent vegetation. *Science*, 149, 546-547.
- Emerson, J. K., Alatheia, D. Letaw, W. E. Bradshaw, Holzapfel M. C. (2008) Extrinsic light:dark cycles, rather than endogenous circadian cycles, affect the photoperiodic counter in the pitcher plant mosquito, *Wyeomyia smithii*. *Journal of Comparative. Physiology A- Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 194, 611-615.
- Garner, W. W., Allard, H. A.(1920) Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *Journal of Agricultural Research* 18, 553-606
- Gilbert, L. I., Iatrou, K., Gill, S. S. (2004) *Comprehensive Molecular insect science Volume 3: Endocrinology*, Elsevier.
- Goddeeris, B. R., Vermeulen, A. C., de Gees,t E., Jacobs, H., Baert, B., Ollevier, F. (2001) Diapause induction in the third and fourth instar of *Chironomus riparius* (Diptera) from Belgian lowland brooks. *Archives of Hydrobiology*, 150, 307-327.

- Goto, G. S., Numata, H. (2008) Possible involvement of distinct photoreceptors in the photoperiodic induction of diapause in the flesh fly *Sarcophaga similis*. *Journal of Insect Physiology*, 55, 401-407.
- Hosakawa, N., Tetsuhiro S. Hatekayama, Takashi Kojima, Yoshiyuki Kikuchi, Hiroshi Ito, Hideo Iwasaki (2011), Circadian transcriptional regulation by the posttranslational oscillator without de novo clock gene expression in *Synechococcus*. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 15396-15401.
- Houthoofd, K., Breackmann, B. P., de Vreese, A., Van Eygen, S., Lenaerts, I., Brys, K., Matthijssen, F., Vanfleteren, J. R. (2004) Caloric Restriction, Ins/IGF-1 signaling and longevity in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Belgian Journal of Zoology*, 137, 79-84.
- Thompson, K. J., Sivanesan P. S., Campbell H. R., Sanders K. J. (1999) Efferent neurons and specialization of abdominal segments in grasshoppers. *The Journal of Comparative neurology*, 415, 65-79.
- Kimura, T., Masaki, S. (1977) Brachypterism and seasonal adaptation in *Orgyia thyellina* butler (Lepidoptera, Lymantriidae). *Kontyu*, 45, 97-106.
- Kodrik, D. (2000) Fyziologie hmyzu učební texty, *Entomologický Ústav AV ČR a Biologická fakulta Jihočeská Univerzita*.
- Košál, V. (2006) Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect physiology*, 52, 113-127.
- Košál V. (2011) Insect photoperiodic calendar and circadian clock: Independence, cooperation or unity?. *Journal of Insect physiology*, 57, 538-556.
- Lankinen, P., 1986 Genetic correlation between circadian eclosion rhythm and photoperiodic diapause in *Drosophila littoralis*. *J.Biol.Rhythms* 1: 101-118.
- López, C., Eizaguirre, M., Albajes, R. (1995) Diapause detection and monitoring in the Mediterranean corn stalk borer. *Physiological Entomology*, 20, 330-336.
- Marcowitch, S. (1924) The migration of the *Aphididae* and the appearance of the sexual forms is affected by the relative length of the daily light exposure. *Journal of Agricultural Research*, 27, 513-538.
- McClung R. C. (2001) Circadian rhythms in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 52, 139-162.
- Numata, H. Shiga, S., Morita, A. (1997). Photoperiodic receptors in arthropods. *Zoological Science*, 14, 187-197.
- Pickard, G. E., Tang, W. X. (1994) Pineal photoreceptors rhythmically secrete melatonin. *Neuroscience Letters*, 171, 109-112.
- Preetmoninder, L., Rodrigo A. G., Patrice A. S., McClung, R. C., Green, P. J. (2005) Circadian

- control of Messenger RNA Stability. Association with a Sequence-Specific Messenger RNA decay pathway. *Plant Physiology*, 138, 2374-2385.
- Radio, J., Chen, M.-H., Meola, R., (1999) Juvenile hormone biosynthesis is diapausing and nondiapausing *Culex pipines* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 36, 355-360.
- Sandrelli, F., Tauber, E., Pegoraro, M. (2007), A molecular basis for natural selection at the timeless locus in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 316, 1898-1900.
- Saunders, S. D. (1990) The circadian Basis of ovarian diapause regulation in *Drosophila melanogaster*: is the *period* gene casually involved in photoperiodic time measurement?. *Journal of Biological Rhythms*, 4, 315-331.
- Shingleton, A. W., Sisk, G. C. Stern, David, L.(2003.) Diapause in the pea aphid (*Acyrthosiphon pisum*) is a slowing but not a cessation of development. *BMC Development Biology*, 3, 7.
- Schiesari, L., Charalombos, P. K., Costa, R. (2011) The hormonal and circadian basis for insect photoperiodic timing. *Federation of European Biochemical Societies*, 585, 1450-1460.
- Veerman, A. (2001) Photoperiodic time measurement in insects and mites: a critical evaluation of the oscillator-clock hypothesis. *Journal of Insect Physiology*, 47, 10097-1109.
- Wise, S., Davis, N. T., Tyndale, E., Noveral, J., Folwell, M. G. (2002) Neuroanatomical Studies of period Gene Expression in the Hawkmoth, *Manduca sexta*. *The Journal of Comparative Neurology*, 447, 366-380.
- Yamashita, O. (1996) Diapause hormone of the silkworm *Mombyx morii*: structure, gene expression and function. *Journal of insect Physiology*, 42, 669-679 .
- Zahradník, J., Severa, F. 2004, Hmyz. *Aventium*.