

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

**Vybrané ekofyziologické charakteristiky nových
invazivních škůdců v zemědělství**

Bakalářská práce

Kateřina Janská

Školitel: Ing. Bořek Miklas

Školitel - specialista: RNDr. Petr Doležal, Ph.D.

České Budějovice 2013

Janská, K., 2013: Vybrané ekofyziologické charakteristiky nových invazivních škůdců v zemědělství. [Selected ecophysiological characteristics of the new invasive pests in agriculture. Bc. Thesis, in Czech.] – 45 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

The aim of this thesis was to gather and review information on biology and ecophysiology of four invasive species that are considered to be important pests in agriculture. Following species were chosen for the review: *Tuta absoluta*, *Epitrix spp.*, *Ostrinia nubilalis* and *Diabrotica virgifera virgifera*. Experimental part of the thesis consists of ecophysiological and survival experiments conducted on one of the selected species – *Diabrotica virgifera virgifera*. The influence of temperature and photoperiod on egg diapause termination was tested in the laboratory. A comparison of adult survival on three different diets is also included.

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

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, 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 12.12.2013

.....

Kateřina Janská

Poděkování:

Děkuji především Petru Doležalovi za odborné vedení práce, obětování času a trpělivost. Také děkuji Bořkovi a Martině za ochotu a pomoc v laboratoři. Markétě děkuji za cenné rady a pomoc při statistickém zpracování výsledků, Honzovi za řadu cenných připomínek. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat mé rodině za velkou podporu.

Obsah

1. ÚVOD	1
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	3
2.1. Biologické invaze.....	3
2.2. Invazivní druhy	4
2.2.1. <i>Tuta absoluta</i>	4
2.2.2. <i>Epitrix</i>	7
2.2.3. <i>Ostrinia nubilalis</i>	13
2.2.4. <i>Diabrotica virgifera virgifera</i>	17
3. CÍLE PRÁCE.....	24
4. MATERIÁL A METODY.....	25
4.1. Vajíčka bázlivce kukuřičného	25
4.2. Přežívání dospělců bázlivce kukuřičného na různých potravách	26
4.3. Statistické vyhodnocení výsledků	27
5. VÝSLEDKY	28
5.1. Vajíčka bázlivce kukuřičného	28
5.2. Přežívání dospělců bázlivce kukuřičného na různých potravách	28
6. DISKUZE	31
6.1. Diapauza bázlivce kukuřičného	31
6.2. Přežívání dospělců na různých typech potravy	34
7. ZÁVĚR.....	37
8. POUŽITÁ LITERATURA.....	38

1. ÚVOD

Jako biologickou invazi označujeme děj, při němž dochází k přemístění organismů do nových, často geograficky vzdálených oblastí, kde po založení stabilní populace pokračují v dalším šíření. Tento fenomén není historicky nikterak nový a zdaleka ne všechny biologické invaze lze asociovat s lidskou činností, nicméně zeměpisný rozsah, frekvence a počet druhů považovaných za invazivní začal postupně narůstat jako přímý důsledek rozšíření dopravy a obchodu v posledních pěti stoletích, enormně pak především v posledních 200 letech (Mack et al., 2000). Bez ohledu na aktivní či pasivní povahu přesunu druhů do nových stanovišť je takový proces vždy významným ohrožením biologické rozmanitosti, přičemž následné škody na životním prostředí mohou mít i hospodářsko-ekonomický význam. Škodlivý potenciál však nelze paušalizovat, jelikož mnoho nově se vyskytнувších druhů nepůsobí žádné zjevné škody a pro nově osídlený ekosystém nepředstavují hrozbu (Memmott et al., 2005). Na druhé straně je však pouhá přítomnost nepůvodního druhu v novém prostředí z ochránářského hlediska většinou považována za škodlivou a potenciálně ohrožující. Například v důsledku výkyvu v abiotických faktorech prostředí může druh změnit své základní ekologické vlastnosti včetně dosažení dominantního postavení ve společenstvu, které dosud zaujímaly dlouhodobě adaptované původní druhy, a tím dokonce narušit fyzikální vlastnosti celého ekosystému, jako je koloběh některých látek a prvků. V konečném důsledku pak může být významně narušena biologická rozmanitost, produktivita zemědělských systémů, provázanost přírodních ekosystémů, a v neposlední řadě rovněž lidské zdraví (Mack et al., 2000).

Zvláště v posledních letech je biologickým invazím věnována velká pozornost vzhledem k tomu, že jsou považovány za průvodní jev globálních změn. Nedávný výzkum ukázal, že některé z těchto změn, jako jsou například zvýšená depozice dusíku a koncentrace CO₂, zvýhodňují skupiny druhů, které sdílejí určité fyziologické vlastnosti či vlastnosti životního cyklu, které jim umožňují využít různých prvků globálních změn (Dukes et al., 1999).

Jako příklad typicky invazivního druhu je možno uvést brouka z čeledi mandelinkovitých (*Chrysomelidae*), bázlivce kukuřičného (*Diabrotica virgifera virgifera*), který je zároveň modelovým objektem této práce. Tento druh byl popsán kolem roku 1980 v Severní Americe, odkud se začal poměrně rychle šířit dál. V roce 1992 byl poprvé zavlečen do Evropy, když se při mezikontinentálním letu dostal do zemí bývalé Jugoslávie (Meinke et al., 2009). Do roku 2002 byl tento brouk detekován ve 14 zemích Evropy a chybí prakticky

pouze ve Skandinávii, kde pro něj nejsou vhodné klimatické podmínky (Moeser, 2003). Navíc se po celém areálu rozšíření včetně nově osídlených oblastí stal velmi vážným škůdcem kukuřice. Škody způsobují hlavně larvy, které napadají kořenový systém kukuřice. Roční výnosové ztráty jsou jen v USA odhadovány na 1 miliardu dolarů (Weseller et al., 2010), ekonomický dopad na evropské státy je odhadován na 500 miliónů euro za rok (Moeser, 2003). Přesto, že tento brouk patří mezi jednoho z nejvýznamnějších škůdců na kukuřici v Severní Americe i v Evropě, naše znalost jeho životního cyklu, zejména ve vztahu k přezimování či mechanismům řídicím voltinismus a kladení vajíček, je stále nedostatečná.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Biologické invaze

Hrozba, kterou představují invazní druhy pro biodiverzitu, je všeobecně známá (Kennis et al., 2008). Invaze nepůvodních druhů jsou považovány za jednu z nejdramatičtějších ekologických událostí posledních desetiletí (Oliveira et al., 2013). Ačkoli hmyz tvoří velkou část nepůvodní fauny na celém světě (Kennis et al., 2008) a přestože hmyzí škůdci ničí značnou část zemědělské úrody, v globálním měřítku hmyzí škůdci způsobují ztráty 7,9 až 15,1% na výnosech hlavních plodin (Oliveira et al., 2013). Navzdory tomu se však zdá, že je hmyzu věnována menší pozornost než rostlinám, obratlovcům nebo vodním organismům. Invazní hmyz může ovlivnit přirozenou biodiverzitu prostřednictvím přímé interakce nebo nepřímě, prostřednictvím kaskádovitých efektů a dalších mechanismů, například zavlečením nemocí nebo kompeticí o potravu a prostor (Kennis et al., 2008).

Geografické překážky, jako jsou oceány, pohoří a ledovce rozčlenily světovou biotu do komunit během 400 milionů let dlouhé hmyzí evoluce. Jak se kontinenty oddělovaly nebo srážely, klima se změnilo a oceány ustoupily, rozsahy druhů se neustále posouvaly. V důsledku těchto změn někdy došlo k tomu, že druhy byly zavlečeny do komunit, ve kterých se předtím nevyvíjely. Ale tyto změny byly poměrně pomalé. Růst světové lidské populace během posledního tisíce let přinesl změny v našem chování, které výrazně zrychlily rozpad bariér, které bránily přemístování druhů. Například dobytí vzdálených koutů světa Evropany bylo doprovázeno přesuny různých druhů hmyzu a to jak úmyslně, například vysazením domácích druhů, jako jsou včely, tak náhodně, například nežádoucími přesuny švábů.

Mnoho záměrně zavlečených hmyzích druhů je obecně považováno za prospěšné a většina náhodně zavlečených druhů zřídka dosáhnou vysoké populační početnosti. Nicméně, některé populace nepůvodních druhů se v novém prostředí stanou zvláště četné a způsobují značné ekologické škody (Liebhold et al., 2008). Nepůvodní druhy mohou ovlivnit ekosystémy pozmeněním behaviorálních a ekologických interakcí mezi původními druhy, což často způsobuje velké změny, jako jsou přímé druhové výměny nebo změny jejich ekosystémových funkcí. Kromě toho mohou invazivní druhy ohrožovat biologickou rozmanitost snížením genetické variability a narušením genofondu dané populace, což má

za následek vymírání endemických druhů a další změny v ekosystémech (Oliveira et al., 2013).

Kromě ekologických důsledků mají invaze nepůvodních druhů na svědomí také závažné ekonomické a sociální dopady. Naprostá většina zavlečených organismů má potenciál být v novém prostředí agresivnější než v původním. Důvodem jsou příznivé klimatické podmínky, nedostatek přírodních konkurentů a predátorů a bohaté potravní zdroje, což vede ke značným škodám na úrodě, pastvinách a v lesích (Oliveira et al., 2013).

Biologické invaze lze rozdělit do tří odlišných populačních procesů: jako nástup se označuje proces, při kterém jsou jednotlivci dopraveni do nových oblastí mimo původní dosah, jako založení pak proces, při kterém populace vzroste na dostatečnou úroveň tak, že zánik už je velmi nepravděpodobný, a jako rozšíření invaze těchto druhů do nových oblastí.

Vzhledem ke stále se zvyšující míře nepůvodních druhů, i přesto, že se pouhá menšina z nich stane destruktivními škůdci, není pochyb o tom, že se jedná o problém, který se často vymyká kontrole. Ačkoli technologické a socioekonomické pokroky ulehčily rozvoj světového obchodu a cestování, tyto postupy bohužel nedoprovázel rozvoj účinných strategií, které by předešly náhodným přepravám invazivních škůdců (Liebhold et al., 2008).

2.2. Invazivní druhy

2.2.1. Tuta absoluta

Makadlovka *Tuta absoluta* je považována za typický invazivní druh, díky své schopnosti rychle se vyvíjet ve vhodných mikroklimatických podmínkách, úspěšně osídlit nové oblasti a způsobovat zde rozsáhlé ekonomické škody (Desneux et al., 2010). Představuje jednoho z nejvýznamnějších škůdců rajčat. Taxonomicky je řazena do řádu motýli (*Lepidoptera*), čeledi makadlovkovití (*Gelechiidae*).

Původním areálem tohoto škůdce je Jižní Amerika, kde se šíří od roku 1970. Poprvé byl jako škůdce potvrzen v Peru, od 80. let 20. století je jeho výskyt zaznamenáván v Argentině, Bolívii, Brazílii, Chile, Kolumbii, Ekvádoru, Paraguayi, Peru, Uruguayi a Venezuele. V Evropě se tento druh poprvé objevil v roce 2006, a to ve Španělsku. Z prvního ohniska

výskytu se začal šířit do dalších evropských států, hlavně v oblasti Středomoří, protože tato oblast se klimaticky podobá Jižní Americe (Desneux et al., 2010).

V roce 2007 byla *Tuta absoluta* detekována v několika sklenících kolem španělského pobřeží, kde způsobovala vážné škody na rajčatech. V následujícím vegetačním období již byla makadlovka hlášena jako škůdce rajčat ve všech hlavních oblastech jejich pěstování na pobřeží Španělska. V letech 2008 a 2009 zaznamenali tohoto škůdce i v Itálii, jižní Francii, Řecku, Portugalsku, Maroku, Alžírsku a Tunisku. Ve Francii byla původně objevena na konci roku 2008 na ostrově Korsika a v různých oblastech na francouzské Riviéře, v roce 2009 dále rozšířila svůj geografický areál na sever a jihozápad. V Řecku byl v roce 2009 tento druh přítomen na pevnině a na ostrově Kréta. Kromě toho, byla *T. absoluta* pozorována i v některých evropských zemích s chladnějším podnebím, jako je Švýcarsko, Velká Británie a Nizozemsko. Poslední záznamy o výskytu tohoto škůdce pocházejí z jižního Německa a Kypru, ve sklenících pak z Rumunska, Bulharska, Turecka, Litvy a Středního východu (Desneux et al., 2010).

Hostitelské rostliny

Tuta absoluta napadá především rostliny z čeledi lilkovitých (*Solanaceae*). Rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*) je hlavním hostitelem tohoto škůdce, který napadá jeho nadzemní části. Může se ale žít, vyvíjet a rozmnožovat i na jiných plodinách, jako jsou lilek brambor (*Solanum tuberosum*), lilek vejcoplodý (*Solanum melongena*), paprika (*S. muricatum*) nebo tabák (*Nicotiana tabacum*) (Šimala et al., 2011). Stejně tak může napadat i ušlechtilé rostliny z čeledi *Solanaceae* (*S. nigrum*, *S. eleagnifolium*, *S. bonariense*, *S. sisymbriifolium*, *S. saponaceum*, *Lycopersicum puberulum* atd.) a další přirozeně se vyskytující hostitelské rostliny, jako je *Datura ferox*, *D. stramonium* a *Nicotiana glauca*. Na bramborách *T. absoluta* napadá pouze nadzemní části, čímž nepřímo brání vývoji hlíz a žírem na listech snižuje hospodářský výnos. Zvláště za vhodných klimatických podmínek může takovéto poškození mít i nezanedbatelný ekonomický význam. Od doby, kdy byl tento škůdce zavlečen do Evropy, byly označeny další druhy rostlin jako alternativní hostitelé. Například, v sicilském skleníku byla *T. absoluta* nalezena na angreštu (*Physalis peruviana*), v Itálii byla zaznamenána na fazoli (*Phaseolus vulgaris*), kustovnici (*Lycium sp.*) a slézi (*Malva sp.*). To ukazuje výraznou tendenci tohoto druhu využívat různé rostliny jako své sekundární hostitele a to nejen zástupce čeledi *Solanaceae* (Desneux et al., 2010).

Poškození hostitelských rostlin způsobují pouze larvy především na listech a stoncích, v menší míře i na květech a plodech. Ve stoncích a plodech vyžírají chodbičky, na listech se projevují tvorbou charakteristických min. Minování je druh žíru, kdy je vyžírán pouze parenchym rostlinného pletiva, přičemž obě pokožky jsou zachovány. Pokud jsou napadeny listy, rostlina zcela odumře, vyžírání chodbiček ve stoncích způsobuje deformaci rostliny (Březíková, 2011).

Životní cyklus

Životní cyklus se skládá ze čtyř vývojových stádií: vajíčko, larva, kukla a dospělec. Dospělci obvykle kladou vajíčka jednotlivě nebo v malých shlucích, nejčastěji na spodní stranu listů nebo na stonky. Vajíčka jsou velmi malá (0,36 x 0,22 mm), oválná, krémově bílá až žlutá. Po vylíhnutí mladé larvy přelezou na listy nebo plody, na kterých se živí a vyvíjejí, nejdříve jsou bělavé a postupně tmavnou do světle růžové barvy. Larva prochází čtyřmi larválními instary, obvykle za 12-15 dní (Tropea Garzia et al., 2012). Mají dobře vyvinutou hlavu a tři páry hrudních končetin. Dorůstají do velikosti 8 mm (Březíková, 2011). Pokud mají k dispozici dostatek potravy a klimatické podmínky jsou příznivé, žír probíhá téměř nepřetržitě a larvy obvykle nevstupují do diapauzy (Tropea Garzia et al., 2012). Ke kuklení dochází především na listech a v půdě, někdy jsou kukly chráněny tenkým hedvábným kokonem. Kukla, velká 5-6 mm, je válcovitého tvaru a má světle hnědou barvu. Asi po pěti dnech ztmavne a z kukly vylézá dospělec. Dospělci jsou drobní motýli měřící 6-7 mm, jsou šedí až hnědí s černými skvrnami na předních křídlech (Desneux et al., 2010). Zadní křídla mají lichoběžníkový tvar a jsou na nich dlouhé třásně. Charakteristickým znakem jsou dlouhá a nahoru protažená makadla, tykadla jsou nitkovitá (Březíková, 2011). Samičky jsou větší než samečkové (**Obr. 1**).

Životní cyklus velmi závisí na podmínkách prostředí a dle teplotních podmínek trvá od vajíčka do dospělce cca 29-38 dní (Šimala et al., 2011). Za příznivých podmínek může tento škůdce vytvořit 8-12 generací za rok. Jedná se o teplomilný druh, jehož spodní vývojový práh je 14 a horní vývojový práh 30 °C. Samičky přežívají přibližně 10 až 15 dnů, samečci jen 6 až 7 dnů. Samičky se páří pouze jednou za den a za svůj život jsou schopné pářit se až šestkrát. Nejplodnější kladení nastává asi po sedmi dnech od prvního páření, kdy samičky vykladou více než 70% vajíček. Během života samičky mohou produkovat až 260 vajíček (Desneux et al., 2010). Škůdce může prezimovat ve stádiu vajíčka, kukly nebo jako dospělec (Šimala et al., 2011), přičemž v chladnějších obdobích převažuje stádium kukly. Ve

středomořských podmínkách však mohou být dospělci *Tuta absoluta* pozorováni po celý rok (Tropea Garzia et al., 2012).



Obr. 1 Makadločka *Tuta absoluta* (Březíková, 2011).

Předpokládaný vývoj rozšíření

Rajče je považováno za nejvhodnější hostitelskou rostlinu pro *T. absoluta* a jeho pěstování může být rozhodujícím faktorem pro rozšíření *T. absoluta* v Evropě a v zemích středomořské pánve. Za klíčové producenty rajčat je považováno devět středomořských zemí (Turecko, Egypt, Itálie, Španělsko, Řecko, Maroko, Portugalsko, Tunisko, Alžírsko), a právě v tomto regionu se vytváří potenciální rezervoár potravy pro *T. absoluta*. Sezónní dostupnost potravy v oblastech s mírným klimatem je navíc částečně kompenzována pěstováním plodin ve sklenících. Mimo brambor, které jsou rovněž známy jako hostitelské rostliny, by měla být zvláštní pozornost věnována luštěninám, které jsou alternativní hostitelé tohoto škůdce. Luštěniny přitom mají relativně dlouhé období sklizně ve srovnání s lilkovitými. Pokud *T. absoluta* rozšíří svůj hostitelský rozsah i na tyto rostliny, pak její šíření po celé Evropě nemusí být nutně omezeno na oblasti, kde jsou pěstovány rajčata. Ačkoli obchodování s rajčaty se zdá být aktuálně primárním prostředkem šíření *T. absoluta* v rámci Evropy, jistý význam může mít i kolonizace nových oblastí aktivním letem nebo pasivně s pomocí větrných proudů (Deusneux et al., 2010).

2.2.2. Epitrix

Dřepčící rodu *Epitrix* jsou taxonomicky řazeni do řádu brouci (*Coleoptera*), čeledi mandelinkovití (*Chrysomelidae*). Jejich anglické pojmenování „flea beetles“ neboli bleší brouci vychází ze schopnosti dospělců při vyrušení skákat jako blechy, což jim umožňuje výrazně rozšířené coxy třetího páru končetin. Celosvětově bylo zatím popsáno okolo 180 druhů dřepčíků rodu *Epitrix*, z nichž většina, asi 130 druhů, se vyskytuje v Severní a Střední

Americe, v Jižní Americe bylo do roku 2009 zaznamenáno pouze 12 druhů (Boavida and Germain, 2009). Poprvé byl tento rod zaznamenán v Severní Americe kolem roku 1860, přičemž zřejmě jen několik druhů je původních v Evropě. Dva druhy žijí i v České republice. Mezi nejznámější druhy patří *Epitrix tuberis*, *Epitrix cucumeris* a *Epitrix similaris* z nichž všechny už byly zaznamenány v Evropě. *Epitrix tuberis* se začal šířit ze Severní Ameriky a je považovaný za nejvíce škodlivého dřepčíka, *Epitrix similaris* byl poprvé zaznamenán ve Španělsku a Portugalsku v roce 2004 (Eyre et al., 2012; Růžička, 2011).

Hostitelské rostliny

Dřepčící patří mezi oligofágní druhy, živící se převážně na rostlinách z čeledi lilkovitých (*Solanaceae*). Brambory, *Solanum tuberosum*, jsou hlavní hostitelskou rostlinou *Epitrix tuberis*, *Epitrix cucumeris*, *Epitrix similaris* a *Epitrix subcrinita*. Larvy žírem poškozují vzhled hlíz. Dospělci se mohou vyskytovat na všech nadzemních částech rostliny, poškození nadzemních částí brambor dospělci však nemá většinou hospodářský dopad na rostlinu. Brouci mohou napadat i jiné plodiny z této čeledi, jako je lilek vejcoplodý (*Solanum melongena*), paprika (*Capsicum spp.*), tabák (*Nicotina tabacum*) a řadu plevelů (Boavida and Germain, 2009).

Poškození hlíz je způsobeno larvami, které žijí v kořenovém systému hostitelských rostlin. Na povrchu hlíz brambor vyžírají typické chodbičky (**Obr. 2**). *Epitrix tuberis* je nejškodlivější druh tohoto rodu, pravidelně způsobuje velké škody na hlízách brambor. Vytváří na povrchu hlíz dlouhé klikaté žlábký (Růžička, 2011). Toto poškození má za následek, že jsou hlízy neprodejné jako konzumní brambory. Dospělci vyžírají typické kruhové díry především na listech, ale mohou se vyskytovat na všech nadzemních částech rostliny. Poškození nadzemních částí rostlin dospělými brouky obvykle nemá hospodářský význam (Boavida and Germain, 2009).



Obr. 2 Poškozená hlíza s mělkými subepidermálními zvlněnými rýhami (Boavida and Germain, 2009).

Životní cyklus

Životní cyklus všech dřepčičků rodu *Epitrix* je podobný (Eyre et al., 2012). Samičky kladou drobná vajíčka bělavé barvy ve shlucích do půdy, přičemž velikost vajíčka odpovídá zhruba špendlíkové hlavičce. Larvy jsou bělavé, štíhlé, dorůstající velikosti asi 5 mm, poslední stadia larev postupně tmavnou. Dospělí brouci jsou drobní a tmavě zbarvení, měřící pouze 1,5 až 2 mm. Mají oválné tělo, na štítu a krovkách s výraznými světlými chloupky, nitkovitá tykadla složená z jedenácti článků a poměrně velké oči (Růžička, 2011; Boavida and Germain, 2009). Dřepčičí *E. tuberis* mohou hostitele střídat, ale neexistuje žádný přesvědčivý důkaz o tom, že dokáží migrovat na dlouhé vzdálenosti. O *E. cucumeris* se uvádí, že dospělci nejsou schopni létat, zřejmě na základě pozorování v terénu (Eyre et al., 2012).

Epitrix tuberis je druh, který byl jako první z rodu *Epitrix* zaznamenán v Evropě. Společně s dalšími dvěma brouky z čeledi mandelinkovití (*Chrysomelidae*), kteří patří mezi hlavní škůdce zemědělských plodin (*L. decemlineata* a *Diabrotica virgifera virgifera* Leconte), se *E. tuberis* rychle šířil do nových lokalit v Severní Americe během 20. století. Tento druh pravděpodobně původně pochází ze státu Colorado a způsobuje zde škody na bramborách nejméně od roku 1904. Během následujících 13 let se rozšířil na východ přes západní Nebrasku a Jižní Dakotu a na západ do Washingtonu a Oregonu. V letech 1940 až 1953 se *E. tuberis* rozšířil také do vnitrozemí britské Columbie. Předpokládá se, že pronikl do krajů Del Norte a Siskiyou v Kalifornii, především v souvislosti s rozvojem strojů na obdělávání půdy a dopravních prostředků (Eyre et al., 2012).

V roce 2004 bylo zaznamenáno poškození hlíz brambor, typické právě pro larvy tohoto druhu, v severní části Portugalska. Do roku 2008 se rozšířil i do Španělska.

Epitrix tuberis má dvě kompletní generace za rok. Přezimuje v zemi na polích, na kterých byly pěstovány brambory v předchozích sezónách ve stádiu dospělého. V průběhu května vylézají dřepčící z půdy a přesouvají se zpět na rostliny, jejichž listy se živí a samičky zde kladou vajíčka. Období kladení trvá 35 až 55 dní, larvy se líhnou po 3 až 14 dnech. Vývoj larvy trvá 2 až 4 týdny. Larva se kuklí v půdě, kde se po několika dnech líhnou dospělci. Vývoj druhé generace je o něco pomalejší než vývoj první generace, důvodem mohou být nižší teploty ve druhé polovině vegetační sezony. Dospělci druhé generace vstupují do diapauzy, kterou tráví v půdě (Růžička, 2011; Eyre et al., 2012). Kladení vajíček samičkami první generace dává vznik larvám druhé generace, které se živí vyvíjejícími se hlíзами v srpnu a září. Žír způsobuje vážné vzhledové vady a poškození hlíz. Dospělci druhé generace, kteří se líhnou v září a říjnu, se přesouvají na okraje polí, kde přezimují v půdě (Kabaluk and Vernon, 2000).

Epitrix cucumeris (**Obr. 3**) a *Epitrix similaris* (**Obr. 4**) patří mezi málo prozkoumané druhy a o jejich životním cyklu je k dispozici jen málo informací (Boavida and Germain, 2009). O *Epitrix cucumeris* je známo, že se vyskytuje v USA, Kanadě a v Mexiku, v Evropě byl poprvé zaznamenán na Azorských ostrovech, odkud se rozšířil do Portugalska a Španělska. Má pouze jednu generaci za rok. Přezimující dospělci vylézají z půdy na jaře. V průběhu léta, zhruba 5 týdnů, se živí na nadzemních částech rostliny, poté se přesouvají na místa, kde přezimují. *Epitrix similaris* má pravděpodobně více než jednu generaci ročně, ale jiné údaje o tomto druhu nejsou v současné době dostupné (Růžička, 2011).



Obr. 3 *Epitrix cucumeris* (Boavida and Germain, 2009).



Obr. 4 *Epitrix similaris* (Boavida and Germain, 2009).

Ochrana

Ačkoli brouci rodu *Epitrix* nezpůsobují tak významné škody na bramborách jako mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata*), jejich kontrola za pomoci insekticidů je díky skrytému způsobu života larev obtížnější. Protože insekticidy jsou tak účinné pouze proti

dospělcům, avšak cílená insekticidní opatření v místech škodlivého výskytu mohou vést k omezení rozsahu populace (Eyre et al., 2012).

Předpokládaný vývoj rozšíření

V březnu 2012 byla schválena mimořádná opatření ke snížení rizika dalších zavlečení brouků rodu *Epitrix* do EU a ke snížení rychlosti šíření *E. similaris* a *E. cucumeris* v rámci EU. Dovoz brambor do států EU ze zemí, kde se vyskytuje rod *Epitrix* nyní bude povolen pouze v případě, že byly pěstovány v oblastech, kde se tyto škůdci nevyskytují. Některé členské státy EU (Kypr, Řecko, Itálie, Malta, Portugalsko a Španělsko) mají na tento dovoz z některých kanadských provincií výjimku. Jediným státem, který tuto výjimku od roku 1999 aktivně využívá, je však Portugalsko. Je proto možné předpokládat, že právě dovoz brambor z těchto oblastí by mohl být původním ohniskem zavlečení dřepčiků na portugalskou pevninu, i když to dosud nebylo potvrzeno. Porto bylo hlavním přístavem, kam byly brambory přiváženy, a právě v tomto regionu byly poprvé zaznamenány škody na bramborách způsobené tímto škůdcem. Nárůst škod způsobených brouky rodu *Epitrix* v Portugalsku v letech 2004 a 2008, a jeho šíření do Španělska naznačují, že v případě neexistence oficiálních kontrol, by rozšíření tohoto škůdce mohlo být rychlé (Eyre et al., 2012). Členské státy musí rovněž provádět roční mapování dřepčiků, zejména na pěstovaných bramborách a bramborových hlízách určených k transportu a prodeji. Je-li potvrzena přítomnost *Epitrix* při tomto mapování, musí být stanoveny vymezené oblasti, skládající se ze zamořené zóny a tzv. nárazníkové zóny. Bramborové hlízy pocházející z vymezených oblastí mohou být vyváženy z těchto oblastí pouze tehdy, pokud splňují stejné požadavky jako ty, které platí pro hlízy brambor dovážené ze zamořených oblastí mimo EU a je k nim přiložen rostlinolékařský pas. I když tato opatření sníží možnost dalšího člověkem zprostředkovaného šíření na dlouhé vzdálenosti, nebudou moci zabránit dalšímu přirozenému šíření těchto škůdců. Proto je třeba vyvinout opatření pro zacházení s *E. similaris* a *E. cucumeris* na evropských kultivarech brambor, v místním podnebí a dle poznatků upravit agronomické výrobní systémy. Distribuce a význam škůdce *E. cucumeris* v Severní Americe naznačují, že se stane minimálně stejně významným i v Evropě. Šíření a postavení škůdce *E. similaris* v Severní Americe je mnohem méně jasné, což částečně pramení z jeho podobnosti s *E. tuberosa*, a tak je obtížné jeho potenciální distribuci a vliv v Evropě předvídat (Eyre et al., 2012).

2.2.3. *Ostrinia nubilalis*

Zavíječ kukuřičný, *Ostrinia nubilalis*, je škůdce původem z Jižní Ameriky, který se rozšířil do zemí mírného podnebného pásu v Evropě, severní Africe a východní Asii, kde rovněž působí významné ekonomické škody. Vyskytuje se i v Severní Americe, kam byl pravděpodobně zavlečen mezi lety 1909 až 1914, pravděpodobně na kukuřici dovážené z Maďarska nebo Itálie. V 80. letech minulého století se začal rychle šířit na sever Kanady a jih Floridy a Mexika. Ovlivňuje produkci kukuřice, ale i dalších plodin jako jsou bavlna, brambory, mnoho druhů zeleniny a další. Jedná se o polyfágní druh, jeho vývojový cyklus může probíhat až na 200 hostitelských rostlinách. Napadá prakticky všechny vyšší byliny se stonkem dostatečně silným, aby byl zaručen vývoj larev. Celkové ztráty na výnosech spojené s tímto škůdcem jsou jen v USA odhadovány na 1 miliardu dolarů ročně (Marcon et al., 2003). Taxonomicky je tento hmyz řazen do řádu motýli (Lepidoptera; Noctuidae), čeledi zavíječovití (Pyraliae).

Životní cyklus

Počet generací se pohybuje od jedné do čtyř za rok, především v závislosti na počasí. V klimatických podmínkách České republiky má *Ostrinia nubilalis* jednu, výjimečně dvě generace za rok. Výskyt druhé generace limituje ve střední Evropě fotoperiodismus. Ve Střední Americe má generace tři až čtyři. Evropští zavíječi přezimují v larválním stadiu. Diapauza je pravděpodobně vyvolána zkracováním dne před koncem vegetační sezóny. Ke kuklení a líhnutí dospělců pak dochází brzy na jaře. Letová aktivita dospělců a kladení vajíček obvykle vrcholí během června až července a během srpna až září v oblastech s jednou až dvěma generacemi ročně. V jižních oblastech se třemi generacemi, se motýlí lety a kladení vajíček obvykle vyskytují v květnu a koncem června a srpna. V místech se čtyřmi generacemi jsou dospělci aktivní od dubna do září. Početnost populací příznivě ovlivňuje vlhké a chladnější počasí.

Samičky kladou vajíčka první generace na kukuřičných polích a na sekundárních hostitelských rostlinách. Obvykle kladou 15 až 20 vajíček v nepravidelných shlucích na spodní stranu listů. Vajíčka jsou oválná, zploštělá, smetanové barvy. Měří asi 1 mm na délku a 0,75 mm na šířku, jedno vajíčko odpovídá asi poloviční velikosti špendlíkové hlavičky. Postupně tmavnou na béžovou až světle hnědou barvu. Teplotní hranice pro vývoj vajíček je okolo 15 °C a líhnou se většinou po čtyřech až devíti dnech. Nově vylíhlé larvy jsou asi 1,5 mm dlouhé s černou hlavou, pěti páry panožek a světle žlutým tělem nesoucím několik řad

malých černých nebo hnědých skvrn. Larvy procházejí pěti až šesti instary. Plně vyvinutá larva je asi 25 mm dlouhá. Larvy zavíječe kukuřičného se živí na všech částech rostliny kromě kořene. Mladé larvy začínají žít v přeslenu, od druhého instaru pak vyžírají pletivo uvnitř stébla a v palici kukuřice. Délka trvání jednotlivých instarů je závislá na teplotě. Spodní vývojový práh larev je asi 11 °C. Diapauzní vývoj nastupují larvy posledního instaru, které přezimují v tunelech ve stonku kukuřice nebo ve stonku jiného vhodného hostitele. Diapauza může být vyvolána kombinací různých faktorů, jako jsou zkracující se délka dne, klesající teplota a kvalita potravy. Průměrná délka vývoje larev se pohybuje okolo 50 dnů, ale může se výrazně lišit v závislosti na počasí. Kuklí se v dubnu nebo květnu nebo později, pokud se vyskytuje více než jedna generace. Kukly mají žlutohnědou barvu a měří od 13 do 17 mm. Kukla je často, ale ne vždy obalena tenkým kokonem. Délka kukelního vývoje je v polních podmínkách okolo 12 dní a spodní teplotní hranice pro vývoj je asi 13 °C. Dospělci se líhnou pozdě na jaře. Můry jsou poměrně malé. U tohoto druhu je výrazný pohlavní dichroismus. Sameček je menší, s rozpětím křídel 20-26 mm, štíhlejší a má tmavší zbarvení (Cook et al., 2003; Carter, 1984). Jeho přední křídla jsou skořicově hnědá s příčnou žlutou páskou. Zadní křídla jsou šedá se širším žlutým pruhem na středu. Zadeček je hnědý, delší a štíhlejší, špičatě zakončený, vždy přesahuje křídla. Samičky, jejichž rozpětí křídel je 25-34 mm, mají přední křídla okrově žlutá s dvěma příčnými tmavšími čarami. Zadní křídla jsou slámově žlutá, střední čarou a páskou před lemem. Zadeček, který je tupě zakončený, je světle šedavě hnědý a nepřesahuje křídla (**Obr. 5**) (Březíková, 2007). Dospělé můry začínají klást vajíčka druhé generace na kukuřičných polích osetých pozdní kukuřicí. Doba kladení trvá přibližně 14 dní, kdy samičky kladou v průměru 20 až 50 vajíček za den, během svého života většinou nakladou 400-600 vajíček (Cook et al., 2003; Carter, 1984).



Obr. 5 Samec (nahore) a samice (dole) zavíječe kukuřičného (Březíková, 2007).

Vliv podmínek prostředí na zavíječe kukuřičného

Úspěšnost přežívání nedospělých stádií *O. nubilalis* je do značné míry ovlivněna počasím. Silné srážky, krupobití, nebo teploty nad 32 °C trvající několik dnů během líhnutí vajíček mohou významně zvýšit úmrtnost mladých larev. Nízká vlhkost vzduchu, nízké noční teploty, silný déšť a vítr zkracují délku života dospělců a negativně ovlivňují kladení vajíček. Dospělci se před pářením shromažďují v hustém porostu na okrajích kukuřičných polí. Za příznivých podmínek oplozené samičky v noci opouští tato místa a kladou vajíčka na rostliny kukuřice. Hagerman (1997) ve svých testech potvrdil, že meteorologické podmínky v období kladení vajíček jsou pravděpodobně hlavním faktorem určujícím velikost populace v daném roce. Období největšího kladení vajíček většinou trvá dva týdny, obvykle na konci července. V bivoltinních oblastech jsou dva vrcholy, obvykle na přelomu června a znovu na konci srpna. Teplé večery s rosou maximalizují kladení vajíček a zvyšují riziko poškození v terénu. Za podmínek pro kladení nevhodných (chladné, vlhké počasí) setrvávají můry na místě a ke kladení vajíček nedochází (Showers et al., 1976, 1980). Mladé larvy jsou extrémně citlivé. Ty, které spadnou na zem nebo do kapky vody nebo mají nedostatek potravy, velmi pravděpodobně rychle zahynou. Většina larev nepřežije déle než několik dní, protože podlehnou vysychání, hmyzím predátorům nebo se utopí v dešťové vodě. Další významné

faktory negativně ovlivňující četnost populace *O. nubilalis* jsou parazité, houbové patogeny nebo hmyzožraví ptáci, zvláště pokud se plochy kukuřice nacházejí v blízkosti lesa.

Přezimování zavíječů je ovlivňováno počasím jen v malé míře, protože diapauzní larvy jsou schopny přežít velmi nízké teploty, odolávají chladným teplotám až do $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Gillyboeuf et al., 1997). Významnou měrou však mortalitu během zimy zvyšují savci a ptáci, kteří se živí hmyzem (Hagerman, 1997).

Diapauza zavíječe kukuřičného

Do diapauzy obvykle vstupují larvy pátého instaru druhé generace, které přezimují v tunelech ve stoncích kukuřice nebo v zemi v blízkosti rostliny. Indukce i ukončení diapauzy byly v laboratorním experimentu ovlivněny fotoperiodou. Diapauza byla indukována u většiny populace, pokud byly larvy vystaveny déle než 12 hodin. K ukončení diapauzy naopak docházelo s maximální intenzitou při dlouhém dni, 16 hodin světlo a 8 hodin tma (Skopik et al., 1986). Beck (1987) ve své studii uvádí i další faktory, které určují intenzitu larvální diapauzy. Kromě délky temné fáze dne (skotofáze) je dle něj intenzita diapauzy závislá i na teplotě. 12 hodin ve tmě vyvolalo u sledovaných larev větší intenzitu diapauzy než delší nebo kratší skotofáze. Zintenzivnění diapauzy se vyskytlo u larev vystavených kromě krátkého dne i teplotě $19\text{ }^{\circ}\text{C}$. Naopak při vyšších teplotách 22 a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ nabylo pozorováno (Beck, 1987).

Přezimující diapauzní larvy zavíječe kukuřičného, *Ostrinia nubilalis*, jsou schopny přežít zmrazení svých extracelulárních tělních tekutin, a proto mohou být označovány jako tolerující zmrznutí (Gluborlajsik et al., 1992). Chladová tolerance diapauzních larev se oproti nediapauzním významně zvyšuje. Starší prediapauzní larvy pátého instaru jsou více tolerantní k chladu než mladší larvy pátého instaru a vykazují schopnost odolávat i teplotám pod nulou. Skutečnost, že diapauzní larvy jsou více tolerantní k chladu než nediapauzní, je všeobecně známa a byla prokázána u mnoha druhů hmyzu. To potvrzuje přímou souvislost mezi diapauzou a chladovou odolností (Andreadis et al., 2008). Důkazy pro výše uvedená pozorování byly shromážděny v četných fyziologických studiích. Zvláštní důraz byl kladen na změny v metabolismu sacharidů, zejména glycerolu a trehalózy (Peypelut et al., 2001). Gluborlajsik et al. (1992) ve své studii uvedl, že během zimy 1988 - 1989, kdy se teploty pohybovaly okolo -20 až $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, byl glycerol jediným polyhydroxyalkoholem přítomným ve významném množství u přezimujících larev. Na jaře hladina glycerolu klesla. Rovněž hladina trehalózy se zvýšila během zimy a klesla v dubnu. U larev zavíječe kukuřičného

může hladina glycerolu a trehalózy sloužit k predikci ukončení diapauzy 2 – 3 měsíce před kuklením (Peypelut et al., 2011). Stáří larev je dalším faktorem, který ovlivňuje schopnost akumulace glycerolu. Hladina glycerolu je výrazně vyšší u 45 dní staré diapauzní larvy, ve srovnání s 90 dní starou diapauzní larvou. Diapauzní larvy mají 5krát až 13krát vyšší hladinu glycerolu než nediapauzní (Andreadis et al., 2008).

2.2.4. *Diabrotica virgifera virgifera*

Bázlivec kukuřičný, *Diabrotica virgifera virgifera*, je považován za monovoltinní hmyz přezimující ve stádiu vajíček a patřící mezi jednoho z největších škůdců kukuřice v USA. Larvy napadají kořeny kukuřice, což vede ke snížení příjmu živin a snížení růstu rostlin. Larvy bázlivce se můžou vyvíjet na kukuřici a na několika málo dalších hostitelích. Dospělci jsou schopni disperze na poměrně velké vzdálenosti. Přibližně polovina bázlivců vykonává tzv. triviální lety, kdy urazí vzdálenost 117 až 425 m za jeden den a u některých oplozených samic jsou zdokumentovány migrační lety na vzdálenosti až 24 km (Carrasco et al., 2010).

Taxonomicky tento hmyzí škůdce patří do řádu brouci (*Coleoptera*), čeledi mandelinkovití (*Chrysomelidae*). Původně pochází pravděpodobně z centrální Ameriky. V 80. letech 20. století se tento druh stal největším škůdcem na kukuřici v Severní Americe, odkud byl zavlečen do Evropy (Kuhlmann and Van der Burgt, 1998). V Evropě byl bázlivec kukuřičný poprvé zaznamenán v Srbsku (v bývalé Jugoslávii), nedaleko letiště v Bělehradu v roce 1992, kam byl zřejmě zavlečen při mezikontinentálním letu ze středozápadu USA. Následně byly vyvinuty široké mezinárodní kooperativní sítě pro sledování šíření tohoto invazivního druhu v Evropě z jeho původního ohniska zamoření. Šíření bázlivce po celé bývalé Jugoslávii a sousedních zemích má za následek každoročně se rozrůstající zamořené oblasti, které už dosahují rozlohy více než 400 000 km². Do roku 2007 tato oblast zahrnovala části Německa, Polska, Rakouska, České republiky, Slovenska, Maďarska, Rumunska, Ukrajiny, Slovinska, Chorvatska, Bosny a Hercegoviny, Srbska a Černé Hory. Rychlost rozsahu expanzí se velmi liší rok od roku, v průměru se pohybuje okolo 40 km za rok (Meinke, 2009).

Faktory přispívající k rychlosti a způsobu šíření tohoto škůdce v Evropě dosud nejsou přesně známé. Topografické prvky, jako jsou vysoké nadmořské výšky a velké vodní plochy,

mohou ovlivnit rychlost a směr šíření v Evropě, ale nezdá se, že by byly nepřekonatelné. Vysoké hory mohou být překonávány dospělci po silnici nebo železnici, které vedou podél úzkých údolí. Nedávná expanze bázlivce z Maďarska na Ukrajinu po cestách v Karpatech je toho dobrým příkladem. Nízké teploty ve vyšších nadmořských výškách nebo v severních zeměpisných šířkách mohou výrazně omezit rozsah expanze, jelikož schopnost přizpůsobit se chladnějším teplotám v průběhu diapauzy je klíčovým faktorem ovlivňujícím rychlost expanze (Meinke, 2009).

Životní cyklus

Bázlivec kukuřičný má jednu generaci za rok (Berger, 2001). K páření brouků dochází většinou během července a srpna (Ball, 1957) a samičky jsou často oplodněny bezprostředně po vylíhnutí. Vajíčka začínají klást samičky klást zhruba po 10 dnech do blízkosti kukuřičných stonků (Berger, 2001). Během života se mohou pářit mnohokrát, s výjimkou doby aktivního kladení vajíček (Branson et al., 1977). Vícenásobné páření se u samiček pravděpodobně vyskytuje jako reakce na dřívější neúspěšné pokusy, jelikož oplodněné samičky jsou obvykle pro samečky neatraktivní (Bartlett and Chiang, 1977). Bartlett a Chiang (1977) tvrdí, že samičky po úspěšném páření přestanou produkovat pohlavní feromony. Ball and Chaudhury (1973) jako první prokázali existenci pohlavního feromonu samiček bázlivce kukuřičného. Samičky vylučují tento feromon z kutikulárních pórů nacházejících se v 7. abdominálním segmentu (Lew and Ball, 1978). Nejvyšší reakce na feromony se vyskytují u 7 až 9 dní starých samečků (Guss, 1976) v časech mezi 8:30 až 12:30 a mezi 15:30 až 18:30 (Dobson and Teal, 1986). Teploty pod 15 °C potlačují jejich odpověď. Těžší samičky jsou pro samečky více atraktivní než ty lehčí, což naznačuje, že pohlavní výběr není zcela náhodný (Kang and Krupke, 2009).

Kladení vajíček a plodnost jsou značně ovlivněny stářím samičky (Elliott et al., 1990). Samičky začínají klást vajíčka, když jsou zhruba 20 dní staré (Short and Hill, 1972). Optimální teplota pro kladení vajíček se pohybuje v rozmezí mezi 15,6-18,3 °C. Přesto, že jsou samičky schopné za ideálních podmínek naklást více než 1000 vajíček, jen zřídka se přiblíží tomuto číslu při kladení v poli (Ball, 1957). Biotický potenciál pravděpodobně hodně závisí na polních podmínkách (Hein and Tollefson, 1987). Většina vajíček (asi 80%) je nakladena do horních 15 cm půdy (Ball, 1957), ale některé samičky mohou klást vajíčka až 30-35 cm hluboko (Weiss et al., 1983). Více vajíček je kladeno v brázdě (do mezery mezi řádky) než do vlastního řádku a preferována jsou spíše krytá a vlhká místa (Guss 1976).

Dále bylo zjištěno, že kladení vajíček stimulují zvýšené koncentrace ozonu (Schroeder et al., 2006). Po několika dnech od nakladení vajíčka vstupují do diapauzy. Diapauzní vajíčka musí pravděpodobně před vylíhnutím na sklonku jara projít chladovým obdobím. Prahová teplota pro ukončení diapauzy se v tomto případě pohybuje okolo 11 °C, přičemž byly zaznamenány odlišnosti v rámci populací z různých regionů.

Čerstvě vylíhlé larvy se přesouvají do půdy, kde začnou žít na kořenech kukuřice (Hodgson, 2008), jsou maličké, měřící zhruba 1,2 mm a téměř bezbarvé, ale postupně bělají. Starší larvy jsou krémové barvy se zřetelnou hnědou hlavou a tmavým štítem na svrchní straně. Úplně vyvinuté larvy měří 10 až 18 mm (Berger, 2001). Období larválního žíru obvykle začíná na začátku června a trvá až do konce července (Bryson et al., 1953). Larvální vývoj trvá 27 až 71 dní, kdy larvy procházejí třemi instary (Berger, 2001), nástup a trvání tohoto období je silně ovlivněn sezónními teplotními výkyvy a půdními podmínkami (Musick and Fairchild, 1971). Optimální teplota pro larvální vývoj se pohybuje od 18 do 30 °C (Fisher, 1986), minimální hraniční teplota se odhaduje na 9 °C (Jackson and Elliott, 1988). Samečci se vyvíjejí rychleji než samičky. Během líhnutí se většina larev nachází v horních 10 cm kořenové zóny (Bergman et al., 1981). Larvy prvního a druhého instaru se pohybují od špičky kořene směrem k bázi rostliny a zanechávají za sebou viditelné chodbičky. Larvy třetího instaru se vyskytují hlavně na velkých kořenech blízko stonku rostliny (Berger, 2001). Larvy mají jen omezenou schopnost pohybu v půdě a její fyzikální vlastnosti jsou významným faktorem pro úspěšné zachycení populace v nové lokalitě. V půdách s velikostí pórů 0,15 mm nebo menší je pohyb značně omezený (Gustin and Schumacher, 1989). Vysychání larev a zvýšená mortalita je vyšší v písčitých než v jílovitých půdách, půdy s vysokou koncentrací písku jsou také obecně drsnější a mohou poškodit kutikulu larev (Turpin and Peters, 1971).

CO₂ gradient je výsledkem dýchání kořenového systému v půdním profilu a je hlavním způsobem, jak larvy lokalizují kořeny kukuřice (Strnad et al., 1986). Larvy vykazují největší odezvy na oxid uhličitý při koncentracích v rozmezí 2,5 - 4,2 mmol/mol - koncentrace v blízkosti kořenů kukuřice je přibližně 4,3 mmol/mol. Larvy projevují toxické příznaky při koncentracích nad 300 mmol/mol (Bernklau and Bjostad, 1998).

Larvy bázlivce kukuřičného vykazují dva odlišné typy chování při vyhledávání potravy. Zatímco vystavení hostitelskému pletivu vede ke složitému, lokalizovanému potravnímu chování, styk s nehostitelským pletivem navozuje tzv. toulavé chování (relativně rovný

pohyb v půdě). Larvy urazí v půdě i 100 cm, aby našly svého hostitele (Short and Luedtke, 1970). Prodloužení doby hledání však může mít kritické následky, jelikož hladovění zvyšuje úmrtnost a snižuje schopnost larev proniknout do kořenové tkáně (Branson, 1989). Hladovění trvající 24 až 72 hodin vede k 48-100 % mortalitě. Pohyb v půdě je pozitivně korelován se stářím a velikostí larev (Schumann and Vidal, 2012). Během žíru jsou larvy vystaveny vnitrodruhové i mezidruhové kompetici (Woodson, 1994). Kromě kompetice ovlivňují larvy v mnoha ohledech také vlastnosti a fenologie hostitele (Moeser and Vidal, 2004). Stáří rostlin ovlivňuje přežívání, růst a vývoj larev, jelikož starší rostliny jsou méně vhodnými hostiteli než mladší rostliny. Larvy vylíhnuté na počátku umírají v menší míře než ty, které se vylíhnou později (Chege et al., 2005).

Larvy se začínají kuklit od poloviny června do konce července (Berger, 2001). Kukly jsou průsvitně bílé a jsou podobné stádiu dospělce. Dospělí brouci se líhnou po 5 až 10 dnech, dosahují délky 5 až 6 mm, jsou žlutí se třemi černými pruhy po stranách křídel. Tloušťka černých pruhů je značně variabilní a někdy se i překrývají, takže se křídla mohou jevit jako celá černá (**Obr. 6**). Samičky jsou o něco větší (Hodgson, 2008). Počet brouků objevujících se z kukuřičných polí koreluje s počtem vajíček nakladených během předchozího vegetačního období (Weiss and Mayo, 1985). Samečci se začínají objevovat přibližně o týden dříve než samičky. V polních podmínkách brouci žijí přibližně 44 až 55 dní (Ball, 1957), ale za optimálních podmínek se životnost zvyšuje a může se přiblížit až 100 dnům (Hill, 1975). Délka života je ovlivněna dobou líhnutí - brouci, kteří se vylíhli dříve během vegetačního období, žijí déle než ti, co se vylíhli později (Boetel and Fuller, 1997). Čerstvě vylíhli dospělci okusují nejprve listy, později se přesouvají na kukuřičné vlásky a štrápe (Bryson et al., 1953; Ball, 1957). Výživové vlastnosti potravních zdrojů jsou důležité např. pro plodnost, která se zvyšuje, pokud brouci konzumují čerstvé vlásky a pyl (Elliott et al., 1990).

Rostliny kukuřice uvolňují velké množství sloučenin, které lákají dospělé bázlivce kukuřičného. Těkavé látky uvolňované z vlásků kukuřice vyvolávají při měření elektroantennogramu tykadel dospělců výraznou odezvu (Hibbard et al., 1997). Zejména indol je silný atraktant (Andersen and Metcalf, 1986), ovšem vzhledem k tomu, že je silně uvolňován z potravy, má jen omezený vliv na syté dospělé. Další atraktivní sloučeniny jsou geranylaceton, linalool, methylsalicylát a α -terpineol (Hammack, 1996). Kromě atraktantů produkuje kukuřice celou řadu látek, které slouží jako potravní atraktanty neboli fagostimulanty. Patří sem především některé aminokyseliny jako β -alanin, L-alanin a L-serin

jsou (Kim and Mullin, 1998) a cucurbitaciny, hořké látky získané z rostlin čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*) (Metcalf et al., 1980).

Dospělci bázlivce kukuřičného jsou nejvíce aktivní při teplotách okolo 25 °C (VanWoerkom et al., 1980). Nízké teploty a tma jejich aktivitu omezují (Isard et al., 2004). Přibližně 85 % brouků se i během rozmnožování uvnitř porostu pohybuje pomaleji než 10 m/den. Letová schopnost bázlivců je obecně spíše nízká a významnou měrou ji může negativně ovlivnit silný vítr, během nějž dospělci nelétají (VanWoerkom et al., 1983). Naproti tomu atmosférické fronty mohou rozptýlit dospělé do značných vzdáleností (Grant and SeEVERS, 1989). Witowski et al. (1975) popsal lety brouků jako bimodální, s nejvyšší letovou aktivitou v době 2 až 3 hodiny po východu a před západem slunce, kdy se teploty pohybovaly mezi 22 až 27 °C. Kromě počasí ovlivňuje let také stáří a pohlaví. Samečci se z domovského pole nerozšiřují na takovou vzdálenost jako samičky (Hill and Mayo, 1980). Let samiček lze rozdělit na triviální a vytrvalý. Triviální lety jsou kratší (trvajících několik minut) a pomalejší (16 m/min) než vytrvalé lety (mohou trvat hodinu nebo déle při rychlosti až 49 m/min) (Coats et al., 1986).



Obr. 6 Dospělec bázlivce kukuřičného (Hodgson, 2008).

Žír nově vylíhlých larev je patrný především na kořenových vláscích. Jak se larvy vyvíjejí a zvyšují se jejich požadavky na množství potravy, zavrtávají se hlouběji do kořenů rostliny.

Kořenové špičky hnědnou, případně jsou na nich patrné léze a často mohou být viditelné i tunely, které způsobily larvy žírem pletiva. Během intenzivního žíru může být primární a sekundární kořenový systém úplně zničen. Napadené kořeny nemohou absorbovat vodu tak efektivně jako zdravé kořeny. Poškození kořenů kukuřice rovněž zvyšuje pravděpodobnost, že bude stonek a kořen napaden houbovými chorobami. Většinou jsou tunely patrné na větších kořenech. Dospělí brouci způsobují škodu žírem na nadzemních částech kukuřice, především na bliznách kukuřice a způsobují hluchost klasů, ale větší hospodářské škody způsobené dospělci jsou vzácné (Berger, 2001; Hodgson, 2008).

Diapauza bázlivce kukuřičného

Bázlivec kukuřičný přezimuje ve stádiu vajíček nakladených v půdě. Zimní dormance se skládá z několika fází: pre-diapauzy, diapauzy a post-diapauzy (Košťál, 2006). Diapauza vajíček a rychlost embryonálního vývoje jsou ovlivněné nízkou teplotou (Krysan, 1972). V mírných oblastech, jsou vajíčka kladena do půdy v průběhu července až září. Embryogeneze pravděpodobně začíná nakladením nebo krátce po něm, ale vývoj embrya se zastaví zhruba po 11 - 13 dnech při teplotě 20 °C, kdy vajíčka přejdou do diapauzy (Meinke et al., 2009).

Údaje o průměrné délce diapauzy vajíček bázlivce kukuřičného se značně liší v rámci různých dříve publikovaných studií, které byly vesměs prováděny na jedincích z různých populací. Uvádí se délka v rozmezí 78 až 163 dní, ale i mezi jedinci téže populace byly zjištěny výrazné rozdíly. V přirozených podmínkách mírného pásu je diapauza ukončena během zimy, kdy je teplota půdy trvale nižší než 11 °C, které jsou uváděny jako spodní teplotní hranice pro vývoj. Postdiapauzní vajíčka následně zůstávají neaktivní ve stavu postdiapauzní kviescence, dokud teplota půdy nestoupne nad 11 °C. Navzdory drobným odchylkám byl tento jev pozorován u většiny vajíček bázlivce kukuřičného v mírných oblastech.

Při teplotách půdy vyšších než 11 °C začíná postdiapauzní vývoj až vylíhnutím, které v laboratoři nastává zhruba po 14 až 20 dnech po zchlazení při konstantní teplotě 20 - 25 °C, přičemž byly opět pozorovány mezipopulační rozdíly. Optimální teplota pro vývoj postdiapauzních vajíček je okolo 28 °C. Mnoho faktorů jako mikroklíma, obdělávání půdy a její vlastnosti ovlivňují teplotu půdy v dané hloubce, a tím i předvídatelnost líhnutí vajíček.

Kromě optimální teploty potřebují postdiapauzní vajíčka k úplnému vývoji také vodu, kterou absorbují ze svého okolí. Pokud nemají k dispozici vodu, postdiapauzní vývoj se zastaví a

přejdou do stavu kviescence. Velikost embrya se v této době většinou pohybuje v rozmezí 300-600 μm . Vajíčka zůstávají v dormantním stavu, dokud voda nepříjde do kontaktu s vajíčkem a dokud není absorbována. Diapauzní vajíčka schopnost absorpce vody přes membránu nevykazují, což ukazuje na změnu propustnosti membrány vajíčka po ukončení diapauzy.

Toto zjištění podporuje i fakt, že bázlivec kukuřičný má tropický nebo subtropický původ, s následnou kolonizací do Severní Ameriky. Diapauza vajíček v Mexiku nastává během období sucha, kdy není k dispozici kukuřice, a je následována kviescencí. Počátek období dešťů umožňuje vajíčkům pokračování postdiapauzního vývoje a larvy se z vajíček líhnou synchronně s vývojem hostitelských rostlin. Předpokládá se, že tento typ diapauzy se vyvinul jako strategie k přežití suchých podmínek, a tím došlo zároveň k preadaptaci bázlivce kukuřičného pro přežití chladného období v mírných oblastech (Meinke et al., 2009).

3. CÍLE PRÁCE

1. Zvládnout metodiku chovu bázlivce kukuřičného v laboratorních podmínkách pro navazující magisterskou práci.
2. Srovnat úmrtnost vajíček během různých metod chovu.
3. Porovnat výtěžnost při skladování vajíček na hlíně a agaru.
4. Provést pilotní pokusy testující vliv podmínek (teplota, fotoperioda) na ukončení diapauzy vajíček v laboratoři.
5. Porovnat přežívání kladoucích dospělců bázlivce kukuřičného na třech různých potravách.

4. MATERIÁL A METODY

4.1. Vajíčka bázlivce kukuřičného

Experimenty s vajíčky bázlivce kukuřičného probíhaly v laboratořích a v insektáriu Entomologického ústavu v Českých Budějovicích od podzimu 2012 do jara 2013. Testovali jsme za jakých podmínek je ukončeno přezimování diapauzních vajíček a porovnávali, v jakých podmínkách vajíčka nejlépe přežívají.

Dospělí brouci byli nasbíráni během léta 2012 na jižní Moravě a dovezeni do Českých Budějovic, kde byli umístěni spolu s květináči s rostlinami kukuřice do insektária. Od konce srpna a během celého září samičky do těchto květináčů kladly vajíčka. Od října byla v laboratoři pod stereomikroskopem vybírána vajíčka z hlíny v květináčích a následně přenášena na Petriho misky. Výběr vajíček trval zhruba 1 měsíc. Všechna vybraná vajíčka byla rozdělena do Petriho misek vždy po 30 kusech a uložena do čtyř různých teplot: venkovní teploty, -10 °C, 5 °C a 9 °C, kde zůstala 14, 30, 50 a 70 dnů. Po vyjmutí vajíček z chladu, byla všechna přemístěna do inkubátoru (Sanyo MIR 175, Sanyo Ltd., Japonsko), který byl nastaven na teplotu 25 °C a fotoperiodu 18:6 (foto:skotofáze).

Květináče s hlínou, ze kterých byla vybírána vajíčka, byly rovněž umístěny do chladu pro případ, že by v nich zůstala nějaká vajíčka. Byly umístěny do tří různých teplot, a to do 0 °C, 5 °C a 9 °C. Květináče zůstaly v chladu 4 měsíce a nebyly po celou dobu nijak ošetřovány. Po čtyřech měsících byly květináče přeneseny z chladu do klimatizovaného boxu v insektáriu, kde byla nastavena konstantní teplota 25 °C a fotoperioda 18:6 hodin (foto:skotofáze).

První dvě Petriho misky s vajíčky byly přeneseny po 14 dnech pouze z venkovní teploty a z teploty -10 °C do inkubátoru (25 °C, fotoperioda 18:6). Vajíčka byla dána na Petriho misky s naklíčenou kukuřicí, byla průběžně kontrolována a zalévána.

Druhá skupina vajíček byla přenesena na 5% agar s 10% methylparabenem. Agar byl uvařen ve vodní lázni, 125 ml destilované vody v kádince bylo přivedeno k varu, poté do ní bylo přidáno 5 g agaru, který byl před tím navážen na analytických vahách. Směs byla intenzivně míchána, dokud nezhoustla. Poté byla kádinka vyjmuta z vodní lázně, když agar trochu vychladl, bylo do něj pomocí pipety přidáno 5 µl 10% methylparabenu, aby se zabránilo plesnivění. Vzniklá směs byla nalita do čtyř Petriho misek. Vajíčka byla přenesena ze všech

čtyřech teplot, ve kterých byla uložena celkem 30 dní, umístěna na agar v Petriho miskách a přenesena do inkubátoru (25 °C, fotoperioda 18:6). Petriho misky s uloženými vajíčky byly kontrolovány dvakrát týdně a ošetřovány 0,01% roztokem tetracyklinu.

Třetí a čtvrtá skupina vajíček byly přeneseny z venkovní teploty a z -10 °C, 5 °C a 9 °C, kde byly uloženy po dobu 50, respektive 70 dní. Před uložením do inkubátoru (25 °C, fotoperioda 18:6), byly umístěny na 5% agar, který byl připraven ve vodní lázni stejným způsobem, jako bylo popsáno výše. Do vychladlého 5% agaru bylo přidáno 5 µl 20% methylparabenu, aby se předešlo plesnivění vajíček a dále ještě 5 µl 0,01% tetracyklinu proti bakteriální infekci. Dále byl agar po uvaření a vychladnutí ošetřen 4% zásobním roztokem methylparabenu. Vajíčka byla v inkubátoru kontrolována dvakrát týdně a ošetřena 1% roztokem tetracyklinu.

4.2. Přežívání dospělců bázlivce kukuřičného na různých potravách

Tento experiment probíhal na dospělých bázlivce kukuřičného v insektáriu Entomologického ústavu v Českých Budějovicích. Pokus byl zahájen 2.9.2013 a ukončen 4.11.2013, přičemž cílem bylo zjistit, na které potravě brouci nejlépe přežívají. Při experimentu byly použity tři různé potraviny: umělá potrava uvařená v laboratoři, komerčně dostupná umělá potrava od firmy BioServe a klasy kukuřice.

Dospělci byli rozděleni do 15 krabiček po osmi a po dobu dvou měsíců byli krmeni všemi výše zmíněnými potravinami. Na pokus bylo tedy použito celkem 120 jedinců, z čehož vždy 40 bázlivců dostávalo jeden typ potravy. První skupině brouků byla podávána umělá potrava, která byla předem připravena v laboratoři: do kádinky bylo odměřeno 500 ml destilované vody a kádinka byla umístěna do vodní lázně. Poté byly na analytických vahách naváženy následující ingredience: 50 g kukuřičné mouky, 15 g pšeničných klíčků, 25 g sacharózy, 5 g kaseinu, 7,5 g kvasnic, 5 g celulózy, 4 g agaru, 1 g kyseliny askorbové, 0,5 g kyseliny sorbové, 50 mg cholesterolu a malé množství potravinářského barviva. Všechny tyto ingredience byly přimíchány do horké vody a za stálého míchání byla směs vařena, dokud nezhoustla. Po vyndání kádinky z vodní lázně, byla směs přelita na Petriho misku a uložena do lednice pro další použití. Druhá skupina brouků byla chována na umělé potravě BioServe, poslední skupina byla krmena kukuřicí. Do každé krabičky byla přidána lékovka s vodou. Brouci byli kontrolováni jednou týdně, kdy jim vždy byla dána čerstvá potrava a vyměněna lahvička s vodou. Zároveň byli brouci každý týden přepočítáni a počet živých jedinců byl zapsán do tabulky.

4.3. Statistické vyhodnocení výsledků

Výsledky byly vyhodnoceny v programu STATISTICA v. 7.2 (StatSoft Inc. Tulsa, OK, USA). Na vyhodnocení pokusu přežívání na různých druzích potravy byla použita metoda Survival analysis. Ke zjištění rozdílu mezi jednotlivými skupinami byl použit Gehan-Wilcoxonův test s Bonferroniho korekcí.

5. VÝSLEDKY

5.1. Vajíčka bázlivce kukuřičného

Za dobu našeho sledování se žádná vajíčka přenesená na naklíčenou kukuřici nebo na agar nevylíhla, zřejmě proto, že byla v chladu uložena příliš krátkou dobu. Podařilo se nám optimalizovat podmínky, za kterých vajíčka nejméně trpěla plísněmi. Vajíčka přenesená z venkovní teploty a z $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ na naklíčenou kukuřici plesnivěla téměř okamžitě. Při první kontrole vajíček v inkubátoru - po třech dnech - již byla na vajíčkách pozorována plíseň. Druhá skupina vajíček, která byla v chladu uložena 30 dní a přenesena na 5% agar s 10% methylparabenem začala plesnivět po pěti dnech. Poslední dvě skupiny vajíček přenesené z chladu po 50 a 70 dnech, které byly dány opět na 5% agar, tentokrát s 20% methylparabenem a 0,01% tetracyklinem neplesnivěly.

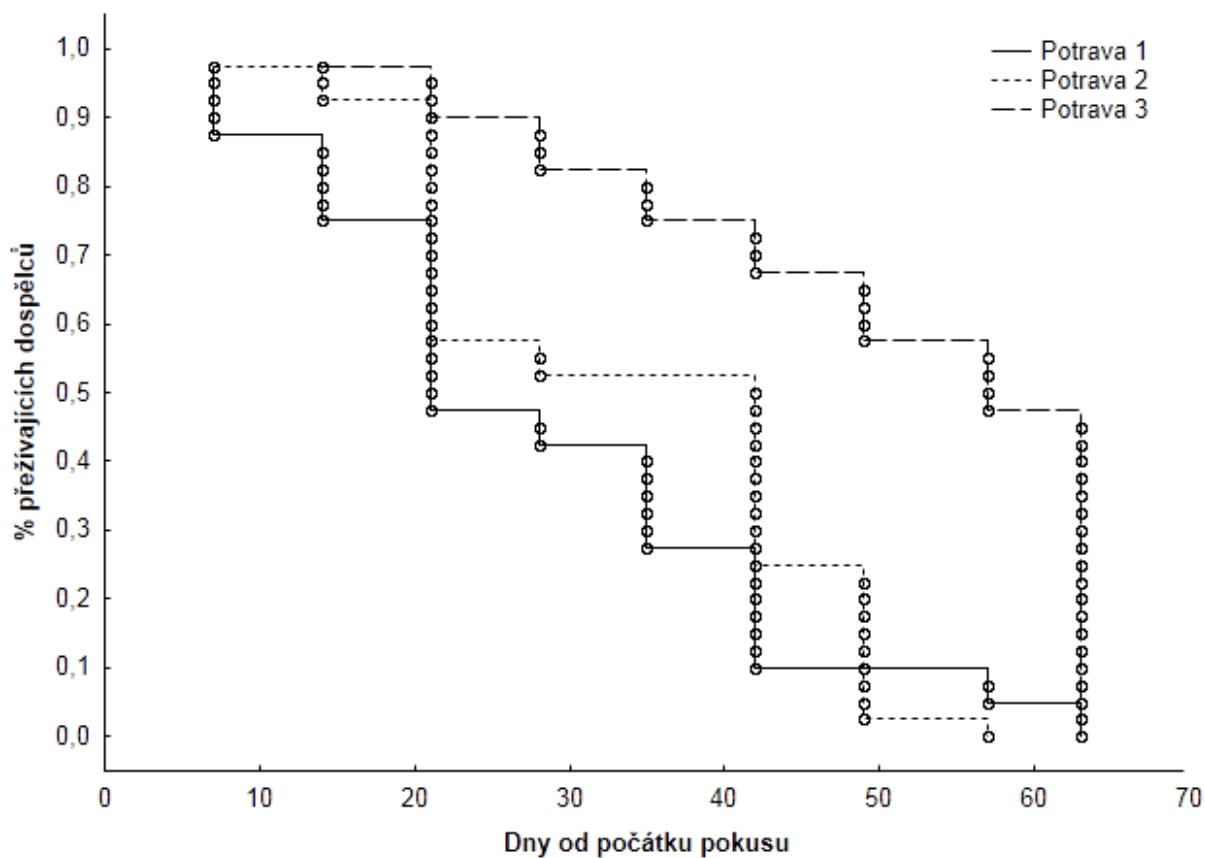
V květináči s hlínou, který byl umístěn v teplotě $9\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 4 měsíců a poté přenesen do klimatizovaného boxu ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$, fotoperioda 18:6), se zhruba po dvou měsících vylíhly 4 larvy. V květináčích, které byly umístěny v teplotách 0 a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ žádné živé larvy zaznamenány nebyly.

5.2. Přežívání dospělců bázlivce kukuřičného na různých potravách

Počet živých jedinců chovaných na třech typech potravy zaznamenávaný v týdenních intervalech zobrazuje **Tab. 1**. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami byly zjišťovány pomocí Gehan-Wilcoxonova testu s Bonferroniho korekcí. Rozdíl mezi skupinami chovanými na umělé potravě (Potrava 1) a potravě od BioServu (Potrava 2) není statisticky průkazný ($p = 0,15906$). Skupina chovaná na kukuřici (Potrava 3) se od obou skupin statisticky významně liší ($p = 0,00000$). Grafické zpracování dat za pomoci metody analýzy přežívání je na **Obr. 7**.

Tab. 1 Tabulka zobrazuje počet živých jedinců zaznamenaný v týdenních intervalech na třech různých potravách. Potrava 1 byla umělá potrava připravená v laboratoři. Potrava 2 byla komerčně dostupná potrava BioServe. Potrava 3 se skládala z klasů kukuřice.

	Potrava 1					Potrava 2					Potrava 3				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Datum	Počet jedinců					Počet jedinců					Počet jedinců				
2.9.2013	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
9.9.2013	7	5	8	8	7	8	8	8	7	8	8	8	8	8	8
16.9.2013	7	5	6	5	7	8	7	7	7	8	8	7	8	8	8
23.9.2013	3	4	5	1	6	7	5	7	4	0	8	6	7	8	7
30.9.2013	3	4	4	1	5	7	5	5	4	0	6	6	7	8	6
7.10.2013	3	2	3	0	3	7	5	5	4	0	6	6	7	7	4
14.10.2013	1	2	1	0	0	7	0	3	0	0	5	6	6	6	4
21.10.2013	1	2	1	0	0	0	0	1	0	0	4	6	3	6	4
29.10.2013	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	3	5	4
4.11.2013	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Obr. 7 Graf zachycuje procento přeživších dospělců bázlivce kukuřičného na třech různých potravách zaznamenávané v týdenních intervalech. Potrava 1 je umělá potrava vyrobená v laboratoři, Potrava 2 je komerčně dostupná potrava BioServe a Potrava 3 jsou čerstvé klasy kukuřice.

6. DISKUZE

6.1. Diapauza bázlivce kukuřičného

Bázlivec kukuřičný přezimuje ve stádiu vajíčka v půdě. Vajíčka jsou kladena do půdy během pozdního léta. Larvy vylíhlé na sklonku vegetační sezóny mají vysokou úmrtnost v důsledku nedostatku potravy nebo časnějšího nástupu nízkých teplot. Úspěšnost přezimování je zajištěna produkcí diapauzních vajíček (Coats et al., 1986). Délka diapauzy se zkracuje směrem na sever, protože kratší je zde i doba mezi kladením vajíček a nástupem nízkých teplot (Krysan, 1982; Coats et al., 1986). Přesto, že jsou vajíčka bázlivce kukuřičného dobře přizpůsobena k přežití nízkých teplot, dlouhodobé vystavení teplotám pod bodem mrazu zvyšuje jejich mortalitu (Chiang, 1973, Gustin 1981). Několik studií bylo zaměřeno na stanovení teplotních limitů pro vývoj a na definování optimálních chladových podmínek pro skladování diapauzních vajíček. Patel et al. (1967) zjistil, že líhnutí vajíček bylo sníženo při teplotě -2 °C a že vystavení vajíček teplotám -10 nebo -23 °C na dobu šesti nebo více týdnů zabránilo jejich líhnutí. Gustin (1981) označil teplotu půdy -7,5 °C jako dolní hranici přežití, protože při nižších teplotách zaznamenal u přezimujících vajíček výraznou mortalitu. Rovněž Palmer et al. (1977) uvádí, že nízké teploty ovlivňují úspěšnost přežívání vajíček.

Poměrně málo informací je známo o chladové odolnosti diapauzních vajíček. Ellsbury et al. (2004) porovnával přežívání vajíček v extrémně nízkých teplotách u dvou druhů bázlivce kukuřičného, *Diabrotica virgifera virgifera* a bázlivce severního, *Diabrotica barberi*. Vajíčka vystavil krátkodobě (po dobu 1 hodiny) teplotám -12, -17,5 a -21,5 °C ve třech různých režimech vlhkosti (sucho, vlhko, mokro) a porovnával jejich mortalitu. Některá vajíčka obou druhů byla vystavena až -27 °C, toto podchlazení přežívala ve větší míře vajíčka bázlivce severního. Vajíčka *Diabrotica virgifera virgifera* byla naproti tomu odolnější účinkům vysušení. Mortalita vajíček, která byla v suchu, byla nižší u vajíček bázlivce severního zejména při teplotách -12 a -17,5 °C, mnohem vyšší pak při teplotě -21,5 °C, bez ohledu na režim vlhkosti. Výsledky naznačují, že měření vlhkosti a teploty v půdním prostředí mohou sloužit k odhadu přežívání přezimujících vajíček bázlivce kukuřičného. Z této studie je také zřejmé, že teploty hluboko pod bodem mrazu způsobují vysokou úmrtnost vajíček u obou druhů bázlivce (Ellsbury et al., 2004).

Hraniční teplota vyvolávající ukončení diapauzy se pohybuje okolo 11 °C, přičemž mírné odlišnosti byly zaznamenány v rámci populací z různých regionů (Hodgson et al., 2008).

Levine et al. (1992) zkoumal teplotní hranici a teplotní požadavky pro líhnutí vajíček bázlivce kukuřičného v laboratorních podmínkách. Vajíčka pocházela od dospělců, kteří byli nasbíráni v kukuřičném poli v Illinois v USA na konci srpna 1986. Vajíčka nakladená mezi 12. a 17. srpnem byla v laboratoři uložena v teplotě 24 °C po dobu 14 dní. Poté byla vajíčka uložena v simulační komoře po dobu 5 měsíců (předpokládali, že během této doby byla ukončena diapauza). Poté byla vajíčka přesunuta ze simulační komory do čtyř inkubátorů s teplotami 26,7 °C, 21,1 °C, 18,3 a 15,6 °C, vše v režimu bez osvětlení. V dalším inkubátoru se střídaly teploty 26,7 °C (16 hodin) a 15,6 °C (8 hodin). Do každého inkubátoru bylo umístěno vždy 50 vajíček. Životnost vajíček (indikována líhnutím larev) se pohybovala od 84 do 92% a byla podobná pro všech pět teplotních režimů. Rychlost vývoje prvního líhnutí se lineárně zvyšovala se zvyšující teplotou. Doba do prvního líhnutí byla 72 dnů při teplotě 15,6 °C, 39 dnů při teplotě 18,3 °C, 23 dnů pro teplotu 21,1 °C, 21 dnů pro střídající se teploty 26,7 a 15,6 °C a 15 dnů pro teplotu 26,7 °C. Doba potřebná pro vylíhnutí 50% vajíček byla 114 dnů při teplotě 15,6 °C, 56 dnů při teplotě 18,3 °C, 43 dnů pro teplotu 21,1 °C, 33 dnů pro střídající se teploty 26,7 a 15,6 °C a 29 dnů pro teplotu 26,7 °C. Hraniční teplota pro první líhnutí larev bázlivce kukuřičného byla 12,7 °C, pro 50% líhnutí byla hraniční teplota 11,2 °C. Wilde (1971) uvedl jako teplotní hranici pro první líhnutí 11,1 °C, která platila pro populace z Minesoty. Branson (1987) zaznamenal první líhnutí vajíček po 14 dnech v teplotě 25 °C u populace z Jižní Dakoty. Wilde et al. (1972) uvedl první a 50% líhnutí vajíček bázlivce kukuřičného v Jižní Dakotě při teplotě 20 °C po 20,2, resp. 38 dnech. V této studii bylo zaznamenáno první a 50% líhnutí za kratší dobu než uvádí Levine et al. (1992) při mírně vyšší teplotě 21,1 °C. Tato zjištění se shodují s postřehy Levina et al. (1992), že vajíčka bázlivce kukuřičného ze severnějších populací mají tendenci líhnout se dříve než vajíčka z jižních zeměpisných šířek a že pravděpodobně existují fyziologické rozdíly mezi populacemi.

Studie zabývající se délkou chladného období, kterým musí vajíčka projít, aby došlo k ukončení diapauzy, rovněž nemají jednotné výsledky. Krysan et al. (1984) uvádí, že chladové období dlouhé 4 měsíce je nutné pro synchronizaci líhnutí. Jackson et al. (1988) zaznamenal první líhnutí vajíček poté, co byla uložena v teplotě 8 °C po dobu 7 až 8 měsíců a následně inkubována ve 25 °C. Během našeho experimentu bylo testováno, za jakých podmínek je ukončena diapauza vajíček v laboratorních podmínkách. Diapauzní vajíčka byla držena v různých chladných teplotách a poté inkubována při teplotě 25 °C a fotoperiodě 18:6 (foto:skotofáze). Vajíčka byla uložena v chladu po dobu maximálně 70 dní, přičemž právě

příliš krátké chladové období bylo pravděpodobně hlavním důvodem, proč se žádná vajíčka nevylíhla. Jediným pozitivním výsledkem během celého pokusu byly čtyři vylíhnuté larvy, které byly nalezeny v květináči s hlínou, do kterého samičky kladly vajíčka během předchozího léta. Květináč byl uložen v chladu (9 °C) po dobu 120 dní a poté byl 2 měsíce inkubován v klimatizovaném boxu (25 °C, fotoperioda 18:6). Delší chladové období, kterému byla vajíčka v květináči vystavena, pravděpodobně mělo největší vliv na líhnutí larev, což je v souladu s výše zmíněnými výsledky Krysana et al. (1984) a Jacksona et al. (1988).

Branson (1976) ve své studii zkoumal vliv různě dlouhých chladových období na počátek líhnutí vajíček. Před tím, než byla vajíčka uložena do chladu, byla po dobu dvou týdnů ponechána v inkubátoru při teplotě 20-22 °C, poté byla vajíčka *Diabrotica virgifera* vystavena období chladu (5 °C), které trvalo 1 až do 60 týdnů, a uložena zpět do teploty 20-22 °C, přičemž byla hodnocena jejich životaschopnost a rychlost líhnutí. Po zchlazení, které trvalo 16 nebo více týdnů, začalo první líhnutí průměrně 19. den po přenosu do tepla, vrchol nastal 23. den (po 5 dnech od zahájení líhnutí) a doba líhnutí trvala průměrně 5 týdnů. Chladné období kratší než 3 týdny negativně ovlivnilo dobu prvního líhnutí. Pokud však nízká teplota trvala 4 až 60 týdnů, načasování líhnutí nebylo nijak ovlivněno. Životaschopnost vajíček bázlivce nebyla ovlivněna chladovým obdobím dlouhým až 12 týdnů. Vystavení chladu delší než 16 týdnů však mělo negativní dopad na přežívání. Roční zchlazení způsobilo úhyn 80% vajíček (Branson, 1976).

Izolační vlastnosti půdy významně ovlivňují úspěšnost přezimování vajíček. Nedostatek dešťových nebo sněhových přeháněk během zimy nebo na začátku jara snižuje teplotu půdy a zvyšuje úmrtnost vajíček (Calkins and Kirk, 1969). Je rovněž nepravděpodobné, že by občasná teplá období ukončila diapauzu předčasně (Gustin, 1981). S nástupem jara, kdy jsou vajíčka ve stádiu postdiapauzní kviescence, musí absorbovat vodu, aby dokončila embryonální vývoj (Krysan, 1978). Když byla vajíčka uložena v teplotě 25 °C a 96% relativní vlhkosti, kontakt s vodou vyvolal líhnutí průměrně za 13 dní. Pokud byla vystavena chladu (5 °C), vyžadovala k líhnutí průměrně 20 dnů. Vajíčka, která byla vystavena chladu (5 °C) při kontaktu s vodou absorbovala pouze zanedbatelné množství vody. Když vajíčka dokončila diapauzu v 5 °C, kde byla umístěna po dobu 4 měsíců, začala absorbovat vodu asi šest dnů po umístění do inkubátoru s 25 °C. Během následujících několika dnů vajíčka zvýšila svou hmotnost zhruba o 42 až 70 µg. Vajíčka, která dokončila diapauzu ve 25 °C a 96% relativní vlhkosti významně absorbovala vodu během 24 hodin po jejím ukončení.

Příjem vody přes membránu může být tedy u *D. virgifera* dobrým ukazatelem přechodu do post-diapauzního stavu a kviescence způsobená nízkou vlhkostí (96 %) již představuje jen od diapauzy oddělenou dormanci (Krysan, 1978). Během post-diapauzního vývoje se úmrtnost vajíček pohybuje v rozmezí 2-42 % (Branson, 1987).

Meinke et al. (2009) předpokládá, že diapauza u bázlivce kukuřičného se vyvinula jako strategie k přežití suchých podmínek, čímž zároveň došlo k jeho k preadaptaci pro přežití chladného období v temperátní oblasti. Krysan et al. (1977) ve své studii porovnával diapauzu vajíček ze subtropického a mírného pásu. Zjistil, že vajíčka bázlivce kukuřičného, která pochází ze subtropického Mexika, jsou odolnější vůči vysychání a mají intenzivnější diapauzu ve srovnání s vajíčky z Jižní Dakoty. Diapauza se u obou populací vyskytuje ve stejném stupni embryonálního vývoje a v obou případech může být udržována dormance při relativní vlhkosti nižší než 100%. Oba výše zmínění autoři tak dospěli ke shodným závěrům, resp. Meinke et al. (2009) potvrdil po více než třiceti letech hypotézu vyslovenou Krysanem et al. (1977).

6.2. Přežívání dospělců na různých typech potravy

Guss and Krysan (1973) vyvinuli první suchou potravu pro dospělé *Diabrotica undecimpunctata howardi*. Zjistili, že když je *Diabrotica undecimpunctata howardi* chována na umělé suché potravě, normálně přežívá a rozmnožuje se. Kladení vajíček brouky krmenými na suché potravě bylo srovnatelné s brouky krmenými čerstvými listy bobů a nebyly pozorovány žádné rozdíly v životnosti vajíček (Guss and Krysan, 1973). Tato potrava byla později pozměněna pro použití pro *Diabrotica virgifera virgifera* a *Diabrotica barberi*. Pro udržování laboratorních chovů a některé experimenty, jsou tyto potravu velmi užitečné a kromě nutriční vyváženosti je třeba zdůraznit i nízké výrobní náklady. Jako jedinou nevýhodu tohoto typu potravy můžeme zmínit výrobu ve formě granulí, což působilo problémy při manipulaci s brouky nebo jejich přepravě. Branson et al. (1988) vyvinul novou potravu pro dospělé bázlivce kukuřičného s vylepšenou strukturou a rozhodl se porovnat přežívání dospělců na obou typech potravy. Pokusné jedince sledoval po dobu osmi týdnů a kromě potravy byla do všech mističek přidána lahvička s vodou jako zdroj vlhkosti. Potrava i voda byly měněny dvakrát týdně. Mističky byly uloženy v teplotě 25 °C a fotoperiodě 13:11 (foto:skotofáze). Vajíčka byla sbírána dvakrát týdně. Mezi potravy nebyly prokázány žádné rozdíly. Brouci krmení novou potravou kladli stejné množství vajíček jako brouci jako brouci chovaní na suché granulované stravě, nelišila se ani životnost vajíček.

Dřívější laboratorní studie zabývající se reprodukční biologii a přežíváním *Diabrotica virgifera virgifera* byly zpravidla prováděny s použitím jediného typu potravy, která byla obvykle považována za optimální, nebo alespoň adekvátní pro udržení normálních životních pochodů zkoumaných jedinců. Na vlivy, které se mohou vyskytovat v přírodě a působí v potravě kvalitativní změny, nebyly brány ohledy. Elliot et al. (1990) ve své studii zkoumal, jaké změny jsou vyvolány u dospělců *Diabrotica virgifera virgifera*, pokud jsou krmeni různými vývojovými stádii kukuřice. Dospělí brouci byli chováni na třech růstových fázích kukuřice, které jsou broukům běžně k dispozici během líhnutí v poli. Růstové fáze kukuřice byly následující: (A) poté, co se objevily střapce, ale před vytvořením vlásků, (B) během růstu kukuřičných vlásků, (C) po opylení, kdy vlásky začaly hnědnout. Celý experiment trval 12 týdnů. Skupina deseti čerstvě vylíhlých samečků a pěti samiček, které byly 14 dní staré, byla umístěna do plastové krabičky, skupin bylo celkem 24. Vždy do osmi krabiček byl umístěn jeden typ potravy a lahvička s vodou. Všechny krabičky byly umístěny do komory, kde byla konstantní teplota 24 °C a 60% relativní vlhkost. Čerstvá potrava byla dospělcům poskytována 3krát týdně a zároveň byli počítáni a odstraňováni mrtví brouci. Průměrný počet nakladených vajíček byl pro režimy A, B a C 125, 235 a 179. Střední délka života pak ve stejném pořadí 7,2; 7,2 a 6,7 týdnů. Brouci v režimu A nakladli ve starším věku větší počet vajíček, než brouci z režimů B a C (Elliot et al., 1990).

Během našeho experimentu bylo porovnáváno přežívání dospělců *Diabrotica virgifera virgifera* na třech typech potravy v laboratoři. Brouci byli chováni na následujících typech potravy: umělé potravě vyrobené v laboratoři, na komerčně dostupné umělé potravě BioServe a na čerstvých klasech kukuřice. Celý pokus trval 9 týdnů. Krabičky s dospělci byly uloženy v teplotě 25 °C a fotoperiodě 18:6 (foto:skotofáze). Nejlépe brouci přežívali na čerstvé kukuřici, přežívání na obou typech umělé potravy bylo nižší. Přežívání dospělců chovaných na umělé potravě vyrobené v laboratoři bylo nejnižší, ale statisticky se významně nelišilo od přežívání dospělců na umělé potravě BioServe.

Ludwig et al. (1975) provedl experiment, který sloužil k určení rozdílů v potravě mezi dospělci *Diabrotica virgifera virgifera* a *Diabrotica longicornis*. Byly prokázány statisticky významné rozdíly. Brouci pro experiment byli nasbíráni na polích s kukuřicí v severovýchodní Nebrasce a byl zkoumán a identifikován obsah jejich střev. Některé významné rozdíly byly prokázány nejen mezi druhy, ale i mezi samečky a samičkami v rámci jednotlivých druhů: střevo obsahovalo různé poměry kukuřičných listových pletiv, kukuřičného pylu, kukuřičných vlásků, pylu plevelů, plísňových spor, a spor parazitujících

hromadinek (*Gregarina*). *Diabrotica longicornis* se živila ve větší míře pyly jiných rostlin než kukuřice. Ve střevech *Diabrotica virgifera* naopak kukuřice převažovala. Vyšší procento spor hromadinek obsahovalo střevo druhu *Diabrotica virgifera virgifera*, přičemž ve střevě samečků jich bylo více než ve střevě samic. Obsahy střev dokazují, že samečci jsou v poli mnohem mobilnější než samičky (Ludwig et al., 1975).

Fisher et al. (1986) se při svém experimentu zabýval vlivem potravy, kterou byli krmeni rodičovští dospělci, na následné poškození kukuřice žírem larev dceřiné generace. Experiment probíhal na kukuřičných polích, kam autoři přenesli vajíčka samic z laboratorního chovu, které byly krmeny buď umělou suchou potravou nebo čerstvou potravou (např. listy nebo klasy kukuřice). Potomstvo samic krmených umělou stravou způsobilo mnohem větší škody na kořenech kukuřice než potomstvo samic krmených kukuřicí. Z této studie vyplývá, že výběr vhodné potravy je významný faktor, který je třeba zohlednit při zakládání laboratorního chovu (Fisher et al., 1986).

7. ZÁVĚR

V této práci byly shrnuty dostupné informace o čtyřech invazivních hmyzích druzích, které jsou považovány za velmi destruktivní škůdce v zemědělství. V rámci experimentální části práce byly provedeny pokusy s diapauzními vajíčky a dospělci bázlivce kukuřičného. Podařilo se nám optimalizovat podmínky udržování vajíček bázlivce kukuřičného v laboratorních podmínkách. Nejlepší metodou je podle konečných výsledků 5% agar s přidaným 20% methylparabenem a 0,01% tetracyclinem, protože vajíčka uchovávaná tímto způsobem neplesnivěla. Při experimentu s dospělci bázlivce kukuřičného jsme vyhodnotili úspěšnost přežívání na třech různých typech potravy. Procento přeživších bylo nejvyšší u brouků chovaných na čerstvé kukuřici v porovnání s brouky chovanými na umělé potravě vyrobené v laboratoři a brouky chovanými na komerčně dostupné potravě BioServe. Procento brouků přeživších na umělé potravě BioServe bylo nejnižší, ale významně se nelišilo od brouků chovaných na umělé potravě vyrobené v laboratoři.

Zvládnutí metodiky chovu bázlivce kukuřičného v laboratorních podmínkách bylo základním předpokladem pro další práci s tímto druhem v navazující magisterské práci.

8. POUŽITÁ LITERATURA

Andersen, J. F., Metcalf, R. L. (1986): Identification of a volatile attractant for *Diabrotica* and *Acalymma* spp. from blossoms of *Cucurbita maxima* duchesne. *Journal of Chemical Ecology*, 12: 687-699.

Andreadis, S. S., Vryzas, Z., Paradopoulou-Mourkidou, E., Savopoulou-Soultani, M. (2008): Age-dependent changes in tolerance to cold and accumulation of cryoprotectants in overwintering and non-overwintering larvae of European corn borer *Ostrinia nubilalis*. *Physiological Entomology*, 33: 365-371.

Ball, H. J. (1957): On the biology and egg-laying habits of the western corn rootworm. *Journal of Economic Entomology*, 50: 126-128.

Ball, H. J., Chaudhury, M. F. B. (1973): A sex attractant of the western corn rootworm. *Journal of Economic Entomology*, 66: 1051-1054.

Bartlett, R. J., Chiang, H. C. (1977): Field studies involving the sex-attractant pheromones of the western and northern corn rootworm beetles. *Environmental Entomology*, 6: 853-861.

Beck, P. D. (1987): Factors influencing the intensity of larval diapause in *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Insect Physiology*, 33: 523-528.

Berger, H. K. (2001): The western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*): a new maize pest threatening Europe. *OEPP/EPPO Bulletin*, 31: 411-414.

Bergman, M. K., Tollefson J. J., Hinz P. N. (1981): Sampling scheme for estimating populations of corn rootworm larvae. *Environmental Entomology*, 10: 986-990.

Bernklau, E. J., Bjostad, L. B. (1998): Reinvestigation of host location by western corn rootworm larvae (Coleoptera: Chrysomelidae): CO₂ is the only volatile attractant. *Journal of Economic Entomology*, 91: 1331-1340.

Boavida, C., Germain, J. F. (2009): Identification and pest status of two exotic flea beetle species newly introduced in Portugal: *Epitrix similaris* Genter and *Epitrix cucumeris* (Harris). *EPPO Bulletin*, 39: 501-508.

Boetel, M. A., Fuller, B. W. (1997): Seasonal emergence-time effect on adult longevity, fecundity, and egg viability of northern and western corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 26: 1208-1212.

Branson, T. F. (1976): Viability and hatching pattern of eggs of the western corn rootworm exposed to chill period of different durations. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 19: 77-81.

Branson, T. F. (1987): The contribution of pre-hatch and post-hatch development to protandry in the chrysomelid, *Diabrotica virgifera virgifera*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 43: 205-208.

- Branson, T. F.** (1989): Survival of starved neonate larvae *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 62: 521-523.
- Branson, T. F., Guss, P. L., Jackson, J. J.** (1977): Mating frequency of the western corn rootworm. *Annals of the Entomological Society of America*, 70: 506-508.
- Branson, T. F., Jackson, J. J.** (1988): An improved diet for adult *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 31: 353-355.
- Bryson, H. R., Wilbur, D. A., Burkhardt, C. C.** (1953): The western corn rootworm, *Diabrotica virgifera* Lec. in Kansas. *Journal of Economic Entomology*, 46: 995-999.
- Březíková, M.** (2007): Zavíječ kukuřičný, *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796). Ministerstvo zemědělství ČR, ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 1-8.
- Březíková, M.** (2011): Nový škůdce rajčat – makadlovka (*Tuta absoluta*). Ministerstvo zemědělství ČR, ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 1-2.
- Calkins, C. O., Kirk, V. M.** (1969): Effect of winter precipitation and temperature on overwintering eggs of 12 of northern and western corn rootworm. *Journal of Economic Entomology*, 62: 541-543.
- Carrasco, L. R., Mumford, J. D., MacLeod, A., Harwood, T., Grabenweger, G., Leach, A. W., Knight, J. D., Baker, R. H. A.** (2010): Unveiling human-assisted dispersal mechanism in invasive alien insects: integration of spatial stochastic simulation and phenology models. *Ecological Modelling*, 221: 2068-2075.
- Carter, D. J.** (1984): Pest Lepidoptera of Europe. *Series Entomologica*, 31: 210-211.
- Chege, P. G., Clark, T. L., Hibbard, B. E.** (2005): Alternate host phenology affects survivorship, growth, and development of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae. *Environmental Entomology*, 34: 1441-1447.
- Chiang, H. C.** (1973): Bionomics of the northern and western corn rootworms. *Annual Review of Entomology*, 18: 47-72.
- Coats, S. A., Tollefson, J. J., Mutchmor, J. A.** (1986): Study of migratory flight in the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 15: 620-625
- Cook, K. A., Ratcliffe, S. T., Gray, M. E., Steffey, K. L.** (2003): European Corn Borer (*Ostrinia nubilalis* Hubner). University of Illinois, Department of Crop Science, 1-3.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, Burgio, G., Arpaia, S., Narváez-Vasquez, C., González-Cabrera, J., Catalán Ruescas, D., Tabone, E., Frandon, J., Pizzol, J., Poncet, Ch., Cabello, T., Urbaneja, A.** (2010): Biological invasion of European tomato crops by

Tuta absoluta: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. Journal of Pest Science, 83: 197-215.

Dobson, I. D., Teal, P. E. A. (1986): Field studies of the temporal response patterns of male *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte and *D. barberi* Smith and Lawrence to 8*R*-methyl-2*R*-decyl propanoate. Physiological Entomology, 11: 405-410.

Dukes, J. S., Mooney, H. A. (1999): Does global change increase the success of biological invaders? Tree, 14: 135-139.

Elliott, N. C., Gustin, R. D., Hanson, S. L. (1990): Influence of adult diet on the reproductive biology and survival of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 56: 15-21.

Ellsbury, M. M., Lee, R. E. (2004): Supercooling and cold-hardiness in eggs of western and northern corn rootworms. Entomologia Experimentalis et Applicata, 111: 159-163.

Ellsbury, M. M., Schumacher, T. E., Gustin, R. D., Woodson, W. D. (1994): Soil compaction effect on corn rootworm populations in maize artificially infested with eggs of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). Environmental Entomology, 23: 943-948.

Eyre, D., Giltrap, N. (2012): *Epitrix* flea beetles: new threats to potato production in Europe. Pest Management Science, 69: 3-6.

Fisher, J. R., Jackson, J. J., Sutter, G. R., Branson, T. F. (1986): Influence of adult diet to corn by larvae of the western corn rootworm *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology, 79: 114-115.

Gillyboeuf, N., Lavenseau, L., Peypelut, L. (1997): Two different cold resistance in corn boring caterpillars of a same biotope. Bulletin de la societe zoologique de France-evolution et zoologie, 122: 22-31.

Gluborlajsic, G., Block, W., Worland, R. (1992): Comparison of the cold hardiness of 2 larval lepidoptera (*Noctuidae*). Physiological entomology, 17: 148-152.

Grant, R. H., Seevers, K. P. (1989): Local and long-range movement of adult western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) as evidenced by washup along Southern Lake Michigan Shores. Environmental Entomology, 18: 226-272.

Gustin, R. D. (1981): Soil temperature environment of overwintering western corn rootworm eggs. Environmental Entomology, 10: 483-487.

Gustin, R. D., Schumacher, T. E. (1989): Relationship of some soil pore parameters to movement of first-instar western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). Environmental Entomology, 18: 343-346.

Guss, P. L. (1976): The sex pheromone of the western corn rootworm (*Diabrotica virgifera*). Environmental Entomology, 5: 219-223.

- Guss, P. L., Krysan, J. L.** (1973): Maintenance of the southern corn rootworm on a dry diet. *Journal of Economic Entomology*, 66: 352-353.
- Hagerman, P.** (1997): European corn borer in sweet corn and other horticultural crops. 17.11.2013. www.omafra.gov.on.ca/english/crops/facts/97-019.htm.
- Hammack, L.** (1996): Corn volatiles as attractants for northern and western corn rootworm beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: *Diabrotica* spp.). *Journal of Chemical Ecology*, 22: 1237-1253.
- Hein, G. L., Tollefson, J. J.** (1987): Model of the biotic potential of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) adult populations, and its use in studying population dynamics. *Environmental Entomology*, 16: 446-452.
- Hibbard, B. E., Randolph, T. L., Bernklau, E. J., Abou-Fakhr, E. M., Bjostad, L. B.** (1997): Electroantennogram-active components of maize silk for adults of the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 26: 285-296.
- Hill, R. E.** (1975): Mating, oviposition patterns, fecundity and longevity of the western corn rootworm. *Journal of Economic Entomology*, 68: 311-315.
- Hill, R. E., Mayo, Z. B.** (1980): Distribution and abundance of corn rootworm species as influenced by topography and crop rotation in Eastern Nebraska. *Environmental Entomology*, 9: 122-127.
- Hodgson, E. W.** (2008): Western corn rootworm. Published by Utah State University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory, 1-4.
- Isard, S. A., Spencer, J. L., Mabry, T. R., Levine E.** (2004): Influence of atmospheric conditions on high-elevation flight of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 33: 650-656.
- Jackson, J. J., Elliott, N. C.** (1988): Temperature-dependent development of immature stages of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 17: 166-171.
- Kabaluk, J. T., Vernon, R. S.** (2000): Effect of crop rotation on populations of *Epitrix tuberis* (Coleoptera: Chrysomelidae) in potato. *Journal of Economic Entomology*, 93: 315-322.
- Kang, J., Krupke, Ch. H.** (2009): Influence of weight of male and female western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) on mating behaviors. *Annals of the Entomological Society of America*, 102: 326-332.
- Kennis, M., Auger-Rozenberg, Marie-Anne, Roques, A., Timms, L., Péré, Ch., Cock, M. J. W., Settele, J., Augustin, S., Lopez-Vaamonde, C.** (2008): Ecological effects of invasive alien insects. *Journal Biological Invasions*, 11: 21-45.

- Kim, J. H., Mullin, Ch. A.** (1998): Structure - phagostimulatory relationships for amino acids in adult western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*. *Journal of Chemical Ecology*, 24: 1499-1511.
- Košt'ál, V.** (2006): Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology*, 52: 113-127.
- Krysan, J. L.** (1972): Embryonic stage of *Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) at diapause. *Annals of the Entomological Society of America*, 65: 768-769.
- Krysan, J. L.** (1978): Diapause, quiescence, and moisture in the egg of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera*. *Journal of Insect Physiology*, 24: 535-540.
- Krysan, J. L.** (1992): Diapause in the nearctic species of the virgifera group of *Diabrotica*: Evidence for tropical origin and temperate adaptations. *Annals of the Entomological Society of America*, 75: 136-142.
- Krysan, J. L., Branson, T. F., Castro, G. D.** (1977): Diapause in *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae): Comparison of eggs from temperate and subtropical climates. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 22: 81-89.
- Krysan, J. L., Jackson, J. J., Lew, A. C.** (1984): Field termination of egg diapause in *Diabrotica* with new evidence of extended diapause *D. barberi* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 13: 1237-1240.
- Kuhlmann, U., Van der Burgt, A. C. M.** (1998): Possibilities for biological control of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, in Central Europe. *Biocontrol News and Information*, 19: 59-68.
- Levine, E., Gray, M. E.** (1994): Use of cucurbitacin vial traps to predict corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larval injury in a subsequent crop of corn. *Journal of Entomological Science*, 29: 590-600.
- Levine, E., Oloumi-Sadeghi, H., Ellis, C. R.** (1992): Thermal requirements, hatching patterns, and prolonged diapause in western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) eggs. *Journal of Economic Entomology*, 85: 2425-2432.
- Lew, A. C., Ball, H. J.** (1978): The Structure of the apparent pheromone-secreting cells in female *Diabrotica virgifera*. *Annals of the Entomological Society of America*, 71: 685-688.
- Liebhold, A. M., Tobin, P. C.** (2008): Population ecology of insect invasions and their management. *Annual Review of Entomology*, 53: 387-408.
- Ludwig, K. A., Hill, R. E.** (1975): Comparison of gut contents of adult western and northern corn rootworms in Northeast Nebraska. *Environmental Entomology*, 4: 435-438.
- Mack, R. N., Simberloff, D., Lonsdale, W. M., Evans, H., Clout, M., Bazzar, F. A.** (2000): Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10: 689-710.

- Marcon, P. C. R. G., Taylor, D. B., Mason, C. E., Hellmich R. L.** (1999): Genetic similarity among pheromone and voltinism races of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae). *Insect Molecular Biology*, 8: 213-221.
- Meinke, L. J., Sappington, T. W., Onstad, D. W., Guillemaud, T., Miller, N. J., Komáromi, J., Levay, N., Furlan, L., Kiss, J., Toth, F.** (2009): Western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) population dynamics. *Agricultural and Forest Entomology*, 11: 29–46.
- Memmott, J., Craze, P. G., Harman, H. M., Syrett, P., Fowler, S. V.** (2005): Blackwell Publishing, Ltd. The effect of propagule size on the invasion of an alien insect. *Journal of Animal Ecology*, 74: 50–62.
- Metcalf, R. L., Metcalf, R. A., Rhodes, A. M.** (1980): Cucurbitacins as kairomones for diabroticite beetles. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77: 3769-3772.
- Moeser, J.** (2003): Nutritional ecology of the invasive maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte in Europe. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Fakultät für Agrarwissenschaften der Georg-August Universität Göttingen, 9p.
- Moeser, J., Vidal, S.** (2004): Do alternative host plants enhance the invasion of the maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae, Galerucinae) in Europe? *Environmental Entomology*, 33: 1169-1177.
- Musick, G. J., Fairchild, M. L.** (1971): Field studies on rate of hatch of western corn rootworm eggs in Missouri during 1965-68. *Journal of Economic Entomology*, 64: 9-11.
- Oliveira, C. M., Auad, A. M., Mendes, S. M., Frizzas, M. R.** (2013): Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agriculture. *Journal of Applied Entomology*, 137: 1-15.
- Palmer, D. F., French, L. K., Chiang, H. C.**(1977): Effects of chill temperatures on developing western corn rootworm eggs. *Environmental Entomology*, 6: 862-864.
- Patel, K. K., Apple, J. W.** (1967): Ecological studies on eggs of the northern corn rootworm. *Journal of Economic Entomology*, 60: 496-500.
- Peypelut, L., Gillyboeuf, N., Gourdoux, L., Moreau, R., Anglade, P., Lavenseau, L.** (2011): Physiology of larval diapause: a tool for insect pest management. *Invertebrate reproduction and development*, 22: 109-116.
- Růžička, T.** (2011): Dřepčící rodu *Epitrix*. Ministerstvo zemědělství ČR, ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 1-2.
- Schroeder, J. B., Gray, M. E., Ratcliffe, S. T., Estes, R. E., Long, S. P.** (2006): Effects of elevated CO₂ on a variant of the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 35: 637-644.

- Schumann, M., Vidal, S.** (2012): Dispersal and spatial distribution of western corn rootworm larvae in relation to root phenology. *Agricultural and Forest Entomology*, 14: 331-339.
- Short, D. E., Hill, R. E.** (1972): Adult emergence, ovarian development, and oviposition sequence of the western corn rootworm in Nebraska. *Journal of Economic Entomology*, 65: 685-689.
- Short, D. E., Luedtke, R. J.** (1970): Larval migration of the western corn rootworm. *Journal of Economic Entomology*, 63: 325-326.
- Showers, W. B., Berry, E. C., Kaster, L. V.** (1980): Management of second generation European corn borer by controlling moths outside the corn field. *Journal of Economic Entomology*, 73: 88-91.
- Showers, W. B., Reed, G. L., Robinson, J. F., DeRozari, M. B.** (1976): Flight and sexual activity of the European corn borer. *Environmental Entomology*, 5: 1099-1104.
- Skopik, S. D., Takeda, M.** (1986): Photoperiodic control of diapause induction and termination in *Ostrinia nubilalis*: Two different clocks? *Journal of biological rhythms*, 1: 137-143.
- Strnad, S. P., Bergman, M. K., Fulton, W. C.** (1986): First-instar western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) response to carbon dioxide. *Environmental Entomology*, 15: 839-842.
- Šimala, M., Milek, T., Seljak, G.** (2011): The results of the monitoring of South American tomato moth *Tuta absoluta* POVOLNY, 1994 (*Lepidoptera: Gelechiidae*) in 2010 in Croatia. Zbornik predavanj in referatov 10. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo - Plant Protection Society of Slovenia, 293-297.
- Tropea Garzia, G., Siscaro, G., Biondi, A., Zappala, L.** (2012): *Tuta absoluta*, a South American pest of tomato now in the EPPO region: biology, distribution and damage. *EPPO Bulletin*, 42: 205-210.
- Turpin, F. T., Peters, D. C.** (1971): Survival of southern and western corn rootworm larvae in relation to soil texture. *Journal of Economic Entomology*, 64: 1448-1451.
- VanWoerkom, G. J., Turpin, F. T., Barrett Jr., J. R.** (1980): Influence of constant and changing temperatures on locomotor activity of adult western corn rootworms (*Diabrotica virgifera*) in the laboratory. *Environmental Entomology*, 9: 32-34.
- Weiss, M. J., Mayo, Z. B.** (1985): Influence of corn plant density on corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) population estimates. *Environmental Entomology*, 14: 701-704.
- Weiss, M. J., Mayo, Z. B., Newton, J. P.** (1983): Influence of irrigation practices on the spatial distribution of corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) eggs in the soil. *Environmental Entomology*, 12: 1293-1295.

Wessler, J., Fall, E. H. (2010): Potential damage costs of *Diabrotica virgifera virgifera* infestation in Europe – the “no control” Scenario. *Journal of Applied Entomology*, 134: 385-394.

Wilde, G., Chiang, H. C., Hibbs, E. T., Lawson, D. E. (1972): Variation in egg hatch among western and northern corn rootworms from six midwestern states. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 45: 259-263.

Witkowski, J. F., Owens, J. C., Tollefson, J. J. (1975): Diel activity and vertical flight distribution of adult western corn rootworms in Iowa cornfields. *Journal of Economic Entomology*, 68: 351-352.

Woodson, W. D. (1994): Interspecific and intraspecific larval competition between *Diabrotica virgifera virgifera* and *Diabrotica barberi* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 23: 612-616.